

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-61-67>

Изменение STR-профиля клеток в процессе получения стабильной клеточной линии

А.А. Мальченкова, Е.Н. Кособокова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Екатерина Николаевна Кособокова ekkos@mail.ru

Введение. Потеря гетерозиготности, утрата Y-хромосомы и другие типы генетических изменений характерны для опухолевых линий. Стандартные методы для выявления таких изменений трудоемки, времязатратны и дороги. Рутинный лабораторный анализ подлинности и отсутствия внутривидовой контаминации клеточных линий методом профилирования коротких tandemных повторов (short tandem repeats – STR) позволяет контролировать некоторые генетические изменения, которые клетки претерпевают в процессе жизненного цикла.

Цель исследования – контроль подлинности и генетической изменчивости клеток в ходе получения стабильной клеточной линии.

Материалы и методы. Профилирование проводили для первичных клеточных культур, для образцов ксенографтов mel Lap nude, mel Kas nude и mel Pet nude, а также в ходе культивирования клеток на 8, 10, 20-м пассажах культуры mel Lap, на 10-м, 20-м пассажах культуры mel Kas и на 5, 10, 20, 49-м пассажах культуры mel Pet, а также после выведения из заморозки архивированных образцов.

Результаты. Для культуры mel Lap к 8-му пассажу наблюдали потерю гетерозиготности в локусе SE33, а далее генетический профиль сохранялся стабильным. Клетки mel Kas к 10-му пассажу потеряли гетерозиготность по 2 локусам SE33 и D6S1043, а также в локусе CSF1PO на 0-м пассаже наблюдали амплификацию аллелей 11, 12, 13. Впоследствии культура сохраняла устойчивый STR-профиль. Клеточная культура mel Pet к 5-му пассажу потеряла гетерозиготность практически по всем исследуемым локусам, но далее ее STR-профиль сохранялся неизменным на протяжении 49 пассажей и в материале ксенографта.

Заключение. Метод STR-профилирования позволяет не только контролировать генетическую стабильность в клеточной линии и отсутствие внутривидовой контаминации при культивировании, но и, будучи быстрым и дешевым, может использоваться в качестве дополнительного первичного теста на наличие значительных генетических изменений в клетках.

Ключевые слова: клеточные линии, подлинность, внутривидовая контаминация, короткие tandemные повторы, STR-профилирование

Для цитирования: Мальченкова А.А., Кособокова Е.Н. Изменение STR-профиля клеток в процессе получения стабильной клеточной линии. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):61–7.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-61-67>

Changes in the STR profile of cells in the process of obtaining a stable cell line

Anastasiia A. Malchenkova, Ekaterina N. Kosobokova

N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Ekaterina Nikolaevna Kosobokova ekkos@mail.ru

Background. Loss of heterozygosity, loss of the Y chromosome, and other types of genetic alterations are characteristic of tumor cell lines. Standard methods for detecting such changes are effort- and time-consuming, and costly. Routine laboratory analysis of the authenticity and absence of intraspecific cell lines contamination using short tandem repeats (STR) profiling also allows for monitoring some genetic changes that cells undergo during the life cycle. The location of some potential STR loci is close to regulatory oncogenic loci, so many researchers note the prognostic and diagnostic utility of using STR profiling at the primary stage of genetic characterization of cell lines.

Aim. Control of cell identity and genetic variability during the establishment of a stable cell line.

Materials and methods. Profiling was carried out for primary cell cultures, for xenografts samples mel Lap nude, mel Kas nude and mel Pet nude, as well as during cell culture at 8th, 10th, 20th passages of the mel Lap, at 10th, 20th passages of the mel Kas and at 5th, 10th, 20th, 49th passages of the mel Pet, as well as after defrosting archived samples.

Results. For the mel Lap culture, by passage 8, a loss of heterozygosity was observed at the SE33 locus, and then the genetic profile remained stable. By passage 10, mel Kas cells lost heterozygosity for two loci SE33 and D6S1043, and in the CSF1PO locus at passage 0, amplification of three alleles was observed – 11, 12, 13. Subsequently, the culture maintained a stable STR profile. By the 5th passage, the mel Pet cell culture lost heterozygosity for almost all the studied loci, but then its STR profile remained unchanged throughout 49 passages and in the xenograft material.

Conclusion. The STR profiling method allows not only to monitor genetic stability in a cell line and the absence of intraspecific contamination during cultivation, but also, being fast and cheap, can be used as an additional primary test for significant genetic changes in cells.

Keywords: cell lines, authenticity, intraspecific contamination, short tandem repeats, STR profiling

For citation: Malchenkova A.A., Kosobokova E.N. Changes in the STR profile of cells in the process of obtaining a stable cell line. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):61–7. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-61-67>

Введение

Корреляция степени генетической изменчивости опухолевых клеток с прогнозом заболевания, ответом на терапию, агрессивностью новообразования и другими важными показателями в последнее время активно исследуется и рассматривается в качестве прогностического фактора. Было замечено, что высокая степень генетической изменчивости является отличительной чертой клеточных культур некоторых нозологий (например, лейкозов [1]). Нередко генетическая нестабильность опухолевых клеток коррелирует с агрессивностью опухоли. Потеря гетерозиготности также чаще детектируется у злокачественных опухолей, нежели у доброкачественных, и является важным молекулярным событием в канцерогенезе некоторых опухолей [2–4].

Описанные генетические изменения часто можно обнаружить даже при изучении коротких tandemных повторов (short tandem repeats – STR), или STR-профиля [5]. Хотя изначально STR-маркеры разрабатывались не под клинические нужды, обнаружено, что расположение некоторых потенциальных STR-локусов близко к регуляторным онкогенным локусам, поэтому многие исследователи отмечают прогностическую и диагностическую пользу применения данного метода в качестве дополняющего цитогенетические исследования, а также основного – при исследовании архивного материала (FFPE-блоков) [6, 7].

Недостатком является то, что с помощью STR-профилирования можно засвидетельствовать изменения, но метод не позволяет установить причину и часто – точную локализацию генетического изменения. Однако такая точность не требуется на I этапе диагностики, а простота и дешевизна метода – преимущества, позволяющие повсеместно внедрить его в рутинную практику в качестве дополнительно-

го первичного теста на наличие значительных генетических изменений в клетках.

В рамках данной работы STR-профилирование осуществляли для контроля подлинности и отсутствия внутривидовой контаминации на всех ключевых этапах при получении стабильной клеточной линии. В ходе работы с клеточными культурами нами замечены случаи генетической изменчивости клеток в ходе пассирования, которые и будут описаны ниже.

Наблюдение вели за 3 клеточными культурами меланом человека: mel Pet, mel Kas и mel Lap [8]. Стабильность клеточной линии подтверждали, если на протяжении 10 пассажей ее STR-профиль не претерпевал критических изменений. Под критическими изменениями подразумевают отличие профиля клеток от полученного профиля первичной культуры более чем на 80 % [9]. Если совпадение профилей на протяжении пассирования, после заморозки и нового цикла пассирования, а также при изучении ксенографтного образца опухоли составляло ≥ 80 %, то клеточную культуру считали стабильной [9].

Цель исследования – контроль подлинности и генетической изменчивости клеток в ходе получения стабильной клеточной линии.

Материалы и методы

Экстракция ДНК. Выделение ДНК из клеток и образцов ксенографтов проводили с помощью набора реактивов DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколом производителя. Количество ДНК оценивали флуориметрически с помощью набора Qubit™ dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

STR-профилирование образцов. Профилирование на основе коротких tandemных повторов осуществляли на приборе 3500xL Genetic Analyzer (Thermo

Fisher Scientific, США) с помощью набора реактивов COrDIS «ЭКСПЕРТ 26» («Гордиз», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Подробно методика осуществления полимеразной цепной реакции и анализа продуктов амплификации описана в ранее опубликованной работе [10].

Профилирование проводили для первичных клеточных культур для образцов ксенографтов mel Lap nude, mel Kas nude и mel Pet nude, а также в ходе культивирования клеток на 8, 10, 20, 20/4/0-м пассажах культуры mel Lap; 10, 20, 23/0-м пассажах культуры mel Kas; 5, 10, 20, 49-м пассажах – культуры mel Pet.

Анализ STR-профилей осуществляли в программе GeneMapper Software v. 6.0 в соответствии с принятыми в международном стандарте алгоритмами [9].

Результаты и обсуждение

Метод STR-профилирования выбран для контроля качества при выведении стабильной клеточной линии из первичной культуры на основании международных рекомендаций. Исследованы STR-профили первичных опухолевых клеток, ранних и поздних пассажей, а также пассажи клеток, выведенных из хранения, и биоматериал ксенографтов данных клеточных линий, выращенных на мышах BALB/c nude.

В табл. 1–3 представлены STR-профили клеточных культур mel Lap, mel Kas и mel Pet, полученные на разных пассажах и из биоматериала ксенографтов (nude).

Для культуры mel Lap к 8-му пассажиру наблюдали потерю гетерозиготности в локусе SE33, а далее генетический профиль сохранялся стабильным.

Таблица 1. Изменение профилей коротких tandemных повторов клеток mel Lap в процессе первичного культивирования

Table 1. Alteration of short tandem repeats profiles in mel Lap during primary culture

Маркер Marker	mel Lap					
	пассаж pass				после криоконсервации after cryopreservation	nude
	0	8	10	20		
CSF1PO	9, 11	9, 11	9, 11	9, 11	9, 11	9, 11
D10S1248	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15
D12S391	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19
D13S317	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11
D16S539	12	12	12	12	12	12
D18S51	14	14	14	14	14	14
D19S433	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14
D1S1656	12, 15	12, 15	12, 15	12, 15	12, 15	12, 15
D21S11	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31
D22S1045	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14
D2S1338	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25
D2S441	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14
D3S1358	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17
D5S818	11	11	11	11	11	11
D6S1043	19	19	19	19	19	19
D7S820	10, 14	10, 14	10, 14	10, 14	10, 14	10, 14
D8S1179	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13
DYS391	10	10	10	10	10	10
FGA	19, 25	19, 25	19, 25	19, 25	19, 25	19, 25
GENDER	XY	XY	XY	XY	XY	XY
SE33	20, 30.2	30.2	30.2	30.2	30.2	30.2
TH01	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3

Окончание табл. 1
End of table 1

Маркер Marker	mel Lap					
	пассаж pass				после криоконсервации after cryopreservation	nude
	0	8	10	20		
TPOX	11	11	11	11	11	11
vWA	15, 19	15, 19	15, 19	15, 19	15, 19	15, 19
Yindel	2	2	2	2	2	2

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: красным полужирным шрифтом выделены аллели, отличающиеся от наблюдаемых для первичной культуры клеток, nude — образец ксенографта данной клеточной линии, выращенный на мышах BALB/c nude.

Note. Here and in Tables 2, 3: alleles that differ from those observed in the primary cell culture are highlighted in bold red, nude — a xenograft sample of this cell line grown on BALB/c nude mice.

Таблица 2. Изменение профилей коротких tandemных повторов клеток mel Kas в процессе первичного культивирования
Table 2. Alteration of short tandem repeats profiles in mel Kas during primary culture

Маркер Marker	mel Kas				
	пассаж pass				nude
	0	10	20	23	
CSF1PO	11, 12, 13	11, 13	11, 13	11, 13	11, 13
D10S1248	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14
D12S391	17, 18	17, 18	17, 18	17, 18	17, 18
D13S317	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12
D16S539	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13
D18S51	11	11	11	11	11
D19S433	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14
D1S1656	12, 18.3	12, 18.3	12, 18.3	12, 18.3	12, 18.3
D21S11	28, 29	28, 29	28, 29	28, 29	28, 29
D22S1045	16	16	16	16	16
D2S1338	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17
D2S441	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14
D3S1358	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16
D5S818	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12
D6S1043	11, 14	14	14	14	14
D7S820	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11
D8S1179	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14
FGA	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22
GENDER	X	X	X	X	X
SE33	15, 19	15	15	15	15

Окончание табл. 2
End of table 2

Маркер Marker	mel Kas				
	пассаж pass				nude
	0	10	20	23	
TH01	7	7	7	7	7
TPOX	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9
vWA	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18

Примечание. Здесь и в табл. 3: локусы *DYS391* и *Yindel* для данной клеточной культуры не представлены, поскольку в них не наблюдалась амплификация. Это справедливо, так как данные локусы расположены на Y-хромосоме, а данная клеточная культура имеет XX-хромосомы по кариотипу.
Note. Here and in Table 3: the *DYS391* and *Yindel* loci are not represented for this cell culture because no amplification was observed in them. This is true because these loci are located on the Y chromosome, and this cell culture has XX chromosomes by karyotype.

Таблица 3. Изменение профилей коротких tandemных повторов клеток *mel Pet* в процессе первичного культивирования
Table 3. Alteration of short tandem repeats profiles in *mel Pet* during primary culture

Маркер Marker	mel Pet				
	пассаж pass				
	0	5	10	20	49
CSF1PO	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12
D10S1248	13, 14	14	14	14	14
D12S391	21, 23	21	21	21	21
D13S317	11, 13	11	11	11	11
D16S539	11, 13	13	13	13	13
D18S51	15, 17	17	17	17	17
D19S433	15	15	15	15	15
D1S1656	11, 18.3	11	11	11	11
D21S11	30, 32.2	32.2	32.2	32.2	32.2
D22S1045	11, 15	15	15	15	15
D2S1338	16, 17	16	16	16	16
D2S441	11, 14	11	11	11	11
D3S1358	15, 17	15	15	15	15
D5S818	11	11	11	11	11
D6S1043	11, 12	11	11	11	11
D7S820	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10
D8S1179	13, 14	14	14	14	14
FGA	20, 21	20	20	20	20
GENDER	X	X	X	X	X
SE33	15, 21	15	15	15	15
TH01	9	9	9	9	9
TPOX	8, 9	8	8	8	8
vWA	14, 19	14	14	14	14

Клетки mel Kas к 10-му пассажу потеряли гетерозиготность по 2 локусам SE33 и D6S1043, а также в локусе CSF1PO на 0-м пассаже наблюдали амплификация 3 аллелей — 11, 12, 13. Впоследствии культура сохраняла устойчивый STR-профиль, а в локусе CSF1PO детектировалось 2 аллеля 11 и 13. При STR-профилировании в нескольких повторах наблюдали появление 3 аллелей в 1 локусе на 0-м пассаже, что может объясняться гетерозиготностью опухоли или частичными поломками хромосомы в клетке, однако ограничения метода не позволяют точно установить причину данного явления.

Клеточная культура mel Pet к 5-му пассажу потеряла гетерозиготность практически по всем исследуемым локусам, но далее ее STR-профиль сохранялся неизменным на протяжении 49 пассажей и в материале ксенографта.

При расчете числа (%) совпадения STR-профилей первичных опухолевых клеток с клеточными культурами на 10-м пассаже по формуле Tanabe [11] для культуры mel Kas получили 96,3 %, а для mel Lap — 99,4 %. Применение данного алгоритма подсчета не корректно, поскольку при изучении профиля становится очевидно, что клетки mel Pet потеряли гетерозиготность уже на 5-м пассаже во всех локусах, кроме CSF1PO, D19S433, D5S818, D7S820 и TH01. Однако при сравнении оставшихся аллелей с аллелями первичных клеток видно, что соблюдается строгое совпадение.

Вышеописанные расчеты позволяют сделать вывод о том, что после 10-го пассажа нам удалось получить 3 стабильные клеточные линии, 1 из которых,

потеряв гетерозиготность, сохранила в дальнейшем свой генетический профиль.

В процессе получения из 3 первичных культур клеток стабильных клеточных линий мы осуществляли контроль их подлинности и отсутствия внутривидовой контаминации посредством STR-профилирования. В ходе работы наблюдали разную степень генетической изменчивости культур клеток на протяжении пассирования: от выпадения 1 аллеля в локусе до практически полной потери гетерозиготности в исследованных локусах. В итоге удалось получить 3 стабильные клеточные линии из первичных клеточных культур, которые сохраняли свой генетический профиль при дальнейших манипуляциях.

Наблюдаемые мутации в локусах могут быть обусловлены рядом причин, как то: хромосомные aberrации (в том числе наблюдаемая однородительская дисомия [6]), точечные мутации и др.

Заключение

В процессе получения стабильных клеточных линий мы наблюдали генетические изменения, которые в зависимости от линии затрагивали либо отдельные локусы, либо большую часть генома. Мы используем метод STR-профилирования в новом качестве, и полученные результаты подтверждают, что он позволяет не только контролировать генетическую стабильность в клеточной линии и отсутствие внутривидовой контаминации при культивировании, но и, будучи быстрым и дешевым, может использоваться в качестве дополнительного первичного теста на наличие значительных генетических изменений в клетках.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Parson W., Kirchebner R., Mühlmann V. et al. Cancer cell line identification by short tandem repeat profiling: power and limitations. *FASEB J* 2005;19(3):434–6. DOI: 10.1096/fj.04-3062fje
2. Alves L.N., Wolfgramm E.V., de Castro Neto A.K., Louro I.D. Analysis of microsatellite instability and loss of heterozygosity in ovarian cancer: a study in the population of Espírito Santo, Brazil. *Genet Mol Res* 2013;12(2):1996–2001. DOI:10.4238/2013.June.14.2
3. Byrom J., Mudaliar V., Redman C.W. et al. Loss of heterozygosity at chromosome 9q22–31 is a frequent and early event in ovarian tumors. *Int J Oncol* 2004;24(5):1271–7. PMID: 15067351
4. Garcia A., Bussaglia E., Machin P. et al. Loss of heterozygosity on chromosome 17q in epithelial ovarian tumors: association with carcinomas with serous differentiation. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(2):152–7. DOI: 10.1097/00004347-200004000-00009
5. Huang X., Weimer J., von Wurmb-Schwark N. et al. Alteration of STR profiles in ovarian carcinoma cells during primary culture. *Arch Gynecol Obstet* 2016;294(2):369–76. DOI: 10.1007/s00404-016-4018-9
- Рисинская Н.В., Кожевникова Я.А., Ковалева В.А. и др. Потеря гетерозиготности в профиле коротких tandemных повторов (STR) опухолевой ДНК у пациентов с *de novo* диагностированным острым лимфобластным лейкозом как паттерн аномального кариотипа опухоли. *Клеточная терапия и трансплантология* 2020;9(3):22–3. Risinskaya N.V., Kozhevnikova Y.A., Kovaleva V.A. et al. Loss of heterozygosity in the short tandem repeat (STR) profile of tumor DNA of *de novo* diagnosed ALL patients as a pattern of abnormal karyotype. *Kletochnaya terapiya i transplantologiya* = CTT Journal 2020;9(3):22–3. (In Russ.).
6. Никулина Е.Е., Фирсова М.В., Рисинская Н.В. и др. Оценка потери гетерозиготности в STR-локусах опухолевой ДНК у пациентов с плазмочитомами при множественной миеломе на основе молекулярного анализа сложных архивных образцов опухоли. *Клиническая онкогематология* 2022;15(2):156–66. DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-156-166
- Nikulina E.E., Firsova M.V., Risinskaya N.V. et al. Evaluation of heterozygosity loss in STR-loci of tumor DNA in multiple

- myeloma patients with plasmacytoma based on the molecular analysis of complex archival tumor samples. *Klinicheskaya onkologematologiya* = Clinical Oncohematology 2022;15(2): 156–66. (In Russ.).
DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-156-166
7. Kosobokova E.N., Kalinina N.A., Konoplina K.M. et al. Human metastatic melanoma cell lines panel for *in vitro* and *in vivo* investigations. *Mol Pathol* 2024;5(1):11–27.
DOI:10.3390/jmp5010002
8. ANSI/ATCC ASN-0002-2022: Authentication of Human Cell Lines: Standardization of Short Tandem Repeat (STR) Profiling. URL: <https://webstore.ansi.org/standards/atcc/ansiatccasn00022022>.
9. Кособокова Е.Н., Мальченко А.А., Калинина Н.А., Косоруков В.С. Использование метода профилирования на основе коротких tandemных повторов для подтверждения подлинности клеточных линий в биобанках. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2022;21(11):3386.
DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3386
- Kosobokova E.N., Malchenkova A.A., Kalinina N.A., Kosorukov V.S. Using short tandem repeat profiling to validate cell lines in biobanks. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika* = Cardiovascular Therapy and Prevention. 2022;21(11):3386. (In Russ.).
DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3386
10. Tanabe H., Takada Y., Minegishi D. et al. Cell line individualization by STR multiplex system in the cell bank found cross-contamination between ECV304 and EJ-1/T24. *Tissue Cult Res Commun* 1999;18:329–38.
DOI: 10.11418/jtca1981.18.4_329

Вклад авторов

A.A. Мальченко: написание текста рукописи;

E.N. Кособокова: редактирование рукописи.

Author's contributions

A.A. Malchenkova: writing the text of the manuscript;

E.N. Kosobokova: editing the text of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

A.A. Мальченко / A.A. Malchenkova: <https://orcid.org/0000-0003-2201-0472>

E.N. Кособокова / E.N. Kosobokova: <https://orcid.org/0000-0002-4660-8519>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке Минздрава России в рамках исследования № 1022040600453-9-3.2.21;3.4.2.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of Russia in the framework of the research No. 1022040600453-9-3.2.21;3.4.2.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протоколы опытов были утверждены на заседании локального этического комитета НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Statement of the welfare of animals. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes. The protocols of the experiments were approved at a meeting of the local ethical committee of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.

Статья поступила: 21.05.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: 00.00.2024.

Article received: 21.05.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: 00.00.2024.