

## Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава России

Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Гненная Н. В., Межевова И. В., Шамова Т. В., Ващенко Л. Н., Колесников В. Е., Новикова И. А., Кит О. И.

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии" Минздрава России. Ростов-на-Дону, Россия

Биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России представляет собой многоступенчатую инфраструктуру с объемными коллекциями биологических образцов, дополненных обширными и хорошо аннотированными клиническими и патологическими данными о пациентах, включая медицинские изображения, патологическую гистологию и молекулярный анализ биообразцов. На сегодняшний день в биобанке ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России содержатся коллекции первичных и immortalized клеточных линий различных онкологических нозологий человеческого происхождения. Коллекция первичных клеточных линий сформирована из образцов послеоперационного материала, отобранного в ходе удаления опухолей различной локализации (рак молочной железы, рак простаты, рак легкого). Все клеточные линии проходили внутренний контроль качества на отсутствие контаминантов (экзогенных вирусов, микоплазм и L-форм бактерий), жизнеспособность и культивировались без антибиотиков. На базе собранных образцов выполнено существенное количество научных проектов в области биомедицины, результаты которых описаны в настоящей статье.

**Ключевые слова:** клеточный биобанк, персонализированная медицина, онкология.

**Отношения и деятельность:** нет.

**Поступила** 01/09-2022

**Рецензия получена** 03/10-2022

**Принята к публикации** 06/10-2022



**Для цитирования:** Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Гненная Н. В., Межевова И. В., Шамова Т. В., Ващенко Л. Н., Колесников В. Е., Новикова И. А., Кит О. И. Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава России. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3397. doi:10.15829/1728-8800-2022-3397. EDN MWVYOR

### Bioresource collection of cell lines and primary tumors of the National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia

Timofeeva S. V., Filippova S. Yu., Sitkovskaya A. O., Gnennaya N. V., Mezhevova I. V., Shamova T. V., Vashchenko L. N., Kolesnikov V. E., Novikova I. A., Kit O. I.

National Medical Research Center of Oncology. Rostov-on-Don, Russia

The Biobank of the National Medical Research Center of Oncology is a multi-layered infrastructure with large collections of biological samples, complemented by extensive and well-annotated clinical and pathological patient data, including medical images, pathological histology, and molecular analysis of biosamples. To date, the biobank of the National Medical Research Center of Oncology contains collections of primary and immortalized cancer cell lines of human origin. The collection of primary cell lines was formed from samples of postoperative material taken during the removal of tumors of various localizations (breast cancer, prostate cancer, lung cancer). All cell lines underwent internal quality control for contaminants (exogenous viruses, mycoplasmas and bacterial L-forms), viability and were cultivated without antibiotics. On the basis of the collected samples, a significant number of projects in the field of biomedicine were carried out, the results of which are described in this article.

**Keywords:** cell biobank, personalized medicine, oncology.

**Relationships and Activities:** none.

Timofeeva S. V.\* ORCID: 0000-0002-5945-5961, Filippova S. Yu. ORCID: 0000-0002-4558-5896, Sitkovskaya A. O. ORCID: 0000-0002-6035-1756, Gnennaya N. V. ORCID: 0000-0002-3691-3317, Mezhevova I. V. ORCID: 0000-0002-7902-7278, Shamova T. V. ORCID: 0000-0002-4555-8556, Vashchenko L. N. ORCID: 0000-0002-3051-6628, Kolesnikov V. E. ORCID: 0000-0002-9979-4095, Novikova I. A. ORCID: 0000-0002-6496-9641, Kit O. I. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

\*Corresponding author:

timofeeva.sophia@gmail.com

**Received:** 01/09-2022

**Revision Received:** 03/10-2022

**Accepted:** 06/10-2022

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: timofeeva.sophia@gmail.com

[Тимофеева С. В.\* — н.с. лаборатории клеточных технологий, ORCID: 0000-0002-5945-5961, Филиппова С. Ю. — н.с. лаборатории, ORCID: 0000-0002-4558-5896, Ситковская А. О. — к.б.н., зав. лабораторией клеточных технологий, ORCID: 0000-0002-6035-1756, Гненная Н. В. — м.н.с. лаборатории, ORCID: 0000-0002-3691-3317, Межевова И. В. — м.н.с. лаборатории, ORCID: 0000-0002-7902-7278, Шамова Т. В. — м.н.с. лаборатории, ORCID: 0000-0002-4555-8556, Ващенко Л. Н. — д.м.н., профессор, зав. отделением опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы, ORCID: 0000-0002-3051-6628, Колесников В. Е. — д.м.н., хирург отделения абдоминальной онкологии № 2, ORCID: 0000-0002-9979-4095, Новикова И. А. — к.м.н., зам. генерального директора по науке, ORCID: 0000-0002-6496-9641, Кит О. И. — д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор, ORCID: 0000-0003-3061-6108].

**For citation:** Timofeeva S. V., Filippova S. Yu., Sitkovskaya A. O., Gnennaya N. V., Mezhevova I. V., Shamova T. V., Vashchenko L. N., Kolesnikov V. E., Novikova I. A., Kit O. I. Bioresource collection of cell lines and primary tumors of the National Medical Research Center of Oncology

of the Ministry of Health of Russia. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3397. doi:10.15829/1728-8800-2022-3397. EDN MWVYOR

НАСБИО — Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию, СИЭЛ — силиконовый эластомер, ФСК — фетальная сыворотка коров, BVMRI-ERIC — Biobanking and BioMolecular resources Research Infrastructure — European Research Infrastructure Consortium, EPMA — European Association for Predictive, Preventive & Personalised Medicine, ISBER — International Society for Biological and Environment Repositories, NBK — National Biobank of Korea (Национальный биобанк Кореи), RVK — ротавирусы группы К.

### Ключевые моменты

#### Что известно о предмете исследования?

- В настоящее время в Биобанке ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России хранится порядка 15 тыс. образцов различного биоматериала, включая постоянные и первичные клеточные культуры, образцы свежесзамороженных первичных опухолей рака.

#### Что добавляют результаты исследования?

- На базе фонда коллекций Биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России проводятся исследования в области иммунологии и персонализированной медицины.

### Key messages

#### What is already known about the subject?

- Currently, the Biobank of the National Medical Research Center of Oncology stores about 15 thousand samples of various biomaterials, including permanent and primary cell cultures, samples of fresh frozen primary cancer.

#### What might this study add?

- Research in the field of immunology and personalized medicine is carried out on the basis of the Biobank of the National Medical Research Center of Oncology.

## Введение

В настоящее время по мнению ведущего Международного общества биологических и экологических репозиториев ISBER (International Society for Biological and Environment Repositories), сформированного в 1999г, биобанк определяется как официально физически или виртуально существующее учреждение, которое может собирать, обрабатывать, хранить и распространять биологические образцы, а также ассоциированную с ними клиническую информацию [1]. Деятельность более тысячи биобанков во всем мире координируется международными, региональными и национальными организациями. В свою очередь, сами коллекции биологических образцов разделяют по типу биоматериала, популяции, стадии и степени всевозможных заболеваний на основе клинических данных пациентов [2].

Например, в Европе находится одна из ведущих организаций в области биобанкирования — EPMA (European Association for Predictive, Preventive & Personalised Medicine), которая представлена в 54 странах мира и активно продвигает проекты по персонализированной медицине [3, 4]. Известно, что самое большое количество — 636 биобанков — располагается на территории США [5]. В то же время в Европе работает сеть биобанков BVMRI-ERIC (Biobanking and BioMolecular resources Research Infrastructure — European Research Infrastructure Consortium), которая включает 325 биобанков из 20 стран Европы, а также ор-

ганизация EuroBioBank (eurobiobank.org), которая объединяет 22 биобанка. В Азии находится Национальный биобанк Кореи (NBK — National Biobank of Korea), который интегрирован с 17 региональными корейскими биобанками. В России создана Национальная Ассоциация Биобанков и Специалистов по биобанкированию (НАСБИО, nasbio.ru), которая насчитывает >30 биобанков, среди которых и биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России.

Биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России работает в соответствии с рекомендациями по организации структуры биорепозиториев и этическими требованиями последнего издания "Передовых практик ISBER" и на основе стандарта ISO 9001 [6, 7] (рисунок 1). Таким образом, биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России представляет собой отдельную инфраструктуру с большими сложными коллекциями биологических образцов, дополненных обширными и хорошо аннотированными клиническими и патологическими данными о пациентах, включая медицинские изображения, патологическую гистологию и молекулярный анализ биообразцов. Коллекции образцов криохранилища формируются в зависимости от задач и проектов ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России [8].

В настоящее время в Биобанке ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России хранится ~15 тыс. образцов различного биоматериала, в т.ч. постоянные и первичные клеточные культуры, образцы



Рис. 1 Структура биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России.

свежезамороженных первичных опухолей рака, кровь и микробиота от пациентов с опухолями различной нозологии.

Все клеточные линии, которые содержатся в нашем биобанке свободны от контаминантов и культивируются без антибиотиков. В коллекцию входит 26 постоянных клеточных линий человеческого происхождения различных нозологий (рисунок 2), а также некоторые первичные клеточные линии.

Для создания первичных культур лаборатория клеточных технологий получает от клинических подразделений послеоперационный материал, отобранный в ходе удаления опухоли, с соблюдением следующих условий: доля опухолевых клеток в образце не <20%; соблюдение временного интервала заморозки образца в жидком азоте не более 20 мин с момента экстракции образца в операционной. В зависимости от патологии применяют либо метод первичных эксплантатов, либо ферментативной диссоциации или механической дезагрегации [9] (рисунок 3).

Наряду с этим мы депонировали для коллекции первичных опухолей гистологически верифицированные парные образцы замороженных биоптатов рака молочной железы, колоректального рака, рака желудка, поджелудочной железы, пищевода, легкого, а также редкие коллекции миеломы и детских солидных опухолей различной локализации [8].

Кроме того, благодаря совместной работе клинических и научных подразделений, собраны редкие коллекции биообразцов микробиоты у пациентов с диагнозом рак легкого и коллекция периферической крови у женщин с множественной миеломой [10] для изучения патогенетических механизмов канцерогенеза и поиска новых молекулярно-генетических предикторов.

Таким образом, на основе собранных коллекций в ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России были проведены научные исследования в области биомедицины и клеточных технологий, некоторые результаты которых описаны ниже.

#### Проекты, выполненные на базе биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России

На базе фонда коллекций первичных клеточных линий исследовали энергетический фенотип клеток линий рака молочной железы. В качестве материала для исследования использовали природное соединение берберин из корней растений рода *Berberis* sp. и клеточные линии рака молочной железы BT20, BT474 и MDA-MB-453. Клетки выращивали в питательной среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 10% фетальной сыворотки коров (ФСК) (HyClone, США) при 37° С и 5% CO<sub>2</sub>. Исследование энергетического фенотипа проводили на анализаторе внеклеточных потоков Seahorse XFp Analyzer (Agilent, США) с использованием набора Seahorse XFp Cell Energy Phenotype Test (Agilent, США) согласно протоколу производителя. В ре-

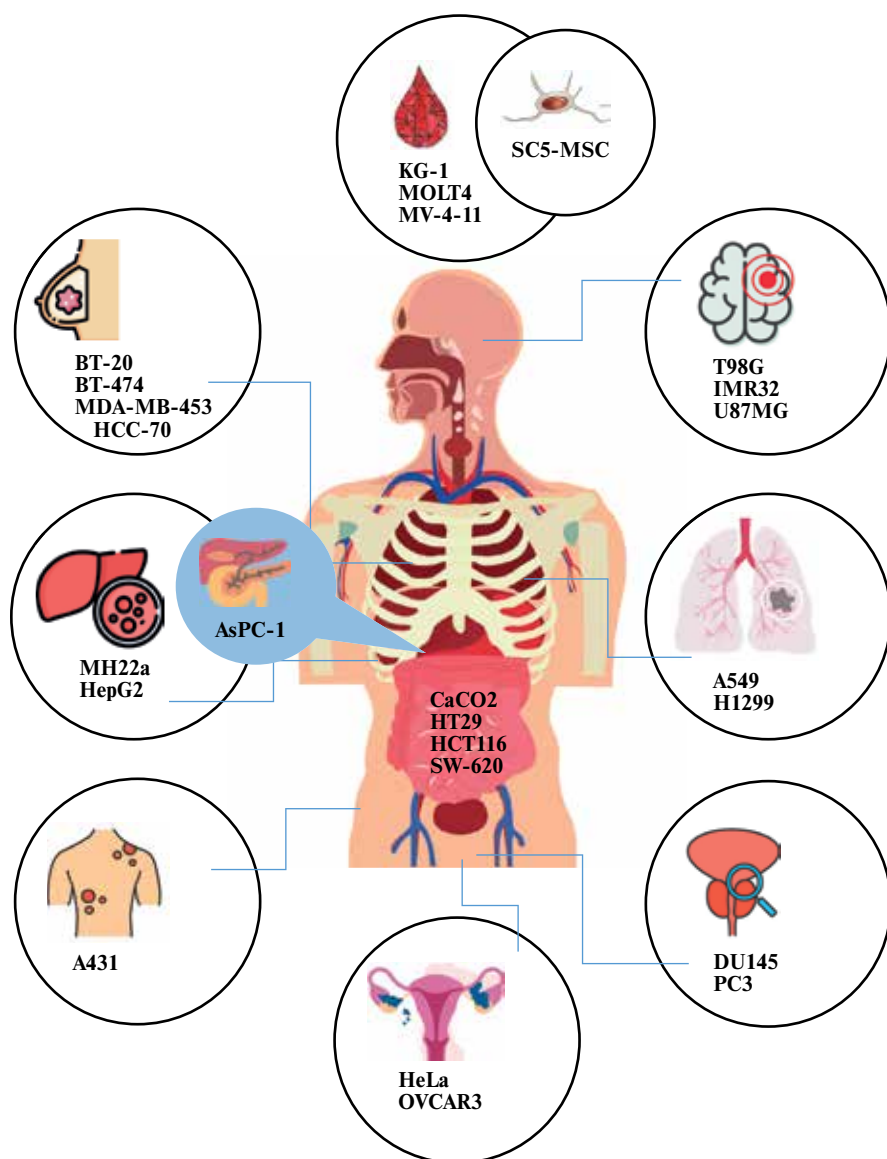


Рис. 2 Иммутиализованные клеточные линии биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России [8].

зультате исследования впервые было обнаружено, что помимо угнетения клеточного дыхания берберин вызывает снижение гликолитического резерва клеток рака молочной железы. Исходя из этого, берберин способствует формированию низкоэнергетического фенотипа с пониженной способностью сопротивляться стрессовым воздействиям, что делает это соединение перспективным адьювантом в химиотерапии рака молочной железы [11].

Еще одним направлением явилось изучение цитотоксического действия онколитических неклассифицированных ротавирусов группы К на культуры клеток T98G и U87MG *in vitro*. В исследовании были использованы штаммы ротавирусов, ранее выделенные в Ростовском институте микробиологии и паразитологии, получившие рабочее название ротавирусы группы К (RVK). Штаммы были охарактеризованы как ротавирусные с помощью элек-

тронно-микроскопических, серологических и генетических методов, аттенуированы и в настоящее время являются апатогенными [12]. Онколитическое действие RVK штаммов № 100 и № 228 определяли в цитотоксическом тесте с МТТ на двух клеточных линиях глиом U87MG и T98G. Результаты анализа уровня апоптоза в культуре клеток U87MG в контроле и после воздействия RVK показали, что в концентрации вирусных частиц  $10^7$  частиц/мл доля клеток на поздней стадии апоптоза увеличивалась в 1,9 раза по сравнению с контролем (23,3 и 12,4%, соответственно). В ходе настоящего исследования была обнаружена разная чувствительность культур глиом к исследованным ротавирусным штаммам, а также разная активность этих штаммов с более выраженным литическим действием RVK на клетки U87MG. В связи с этим мы отметили онколитический эффект штаммов RVK на клетки U87MG [13].

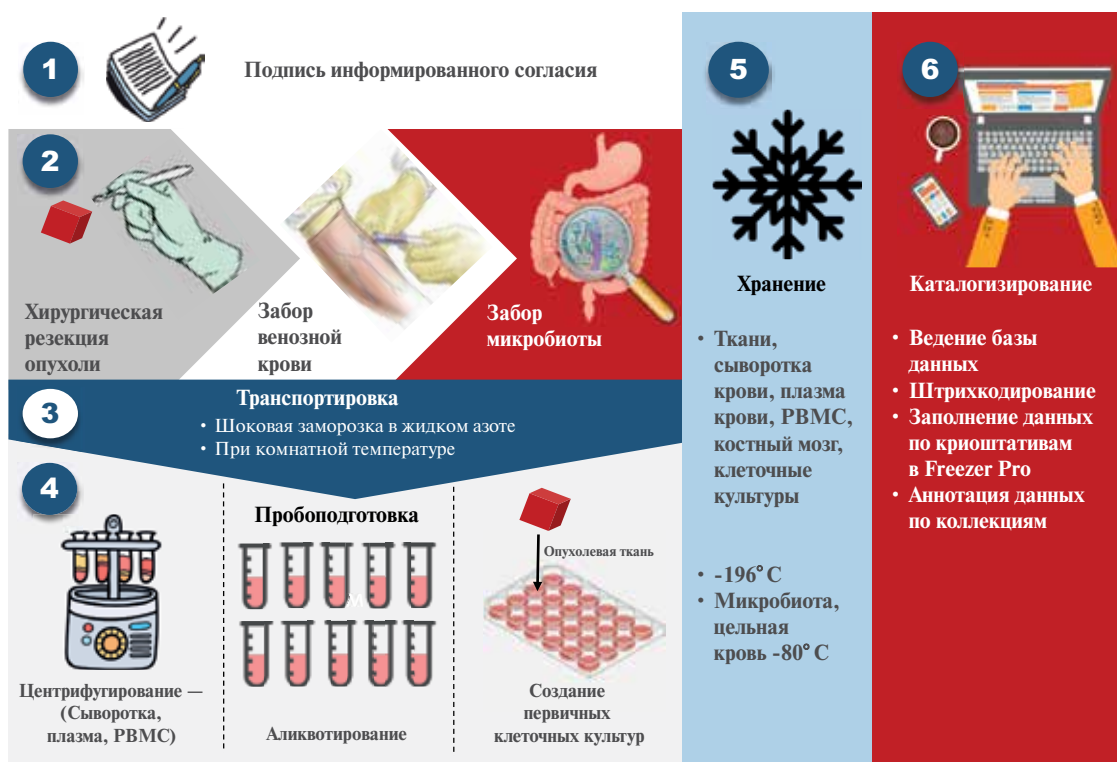


Рис. 3 Схема работы биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России.  
 Примечание: РВМС — peripheral blood mononuclear cells (моноклеарные клетки периферической крови).

Наряду с этим исследовали микросателлитную нестабильность первичных клеточных линий низкодифференцированных глиальных опухолей на разных пассажах. Микросателлитный анализ был выполнен на первичных культурах анапластической астроцитомы и глиобластомы с использованием следующих маркеров: D17S250, D2S123, D5S346, NR21, NR24, NR27, BAT25, BAT26 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). В первичной культуре клеток анапластической астроцитомы после 6-го пассажа наблюдалось изменение в локусе D17S250 (148-148/148-152) по сравнению с первичным материалом опухолевой ткани пациента. Было показано, что первичные клеточные линии глиобластомы являются генетически более стабильными в сравнении с первичными клеточными линиями анапластической астроцитомы [14].

Кроме того, в рамках проекта по созданию персонализированной 3D модели микроокружения опухоли были протестированы методы висячей капли и 3D принтинга. В первом случае оценивали возможность применения покрытия из силиконового эластомера (СИЭЛ) 159-330 (Россия) для модификации метода висячей капли. Для этого изучили цитотоксические свойства покрытия СИЭЛ 159-330 и его влияние на процесс формирования клеточных сфероидов в висячей капле, а материалом для исследования были клетки культуры рака молочной железы BT-474. В результате эксперимента было по-

казано, что в процессе образования клеточного сфероида в висячей капле покрытие СИЭЛ 159-330 по сравнению с полистиролом способствует ускоренной агрегации клеток в нижней части капли. Кроме того, образующиеся на покрытии из СИЭЛ 159-330 сферойды обладают более компактной структурой и механической прочностью, что делает их более устойчивыми к манипуляциям и дает возможность использовать СИЭЛ 159-330 в 3D-культурах клеток редких и малочисленных клеточных популяций, например, стволовых клеток опухоли или минорных субпопуляций лимфоцитов [15].

Для создания 3D моделей микроокружения опухоли рака молочной железы тестировали условия и режимы печати конструкторов, состоящих из инкапсулированных опухолевых клеток постоянных клеточных линий рака молочной железы BT-20 и MDA-MDB474. В настоящем исследовании использовали метод экструзионной 3D печати на биопринтере BIO X (Cellink, США) с биочернилами на основе альгината и метакрилата желатина GelMa. Напечатанные конструкторы полимеризировали двумя способами: химическим или фотоотверждением. В результате удалось спроектировать квадратные, 3-слойные конструкторы с инкапсулированными клетками рака молочной железы из биочернил GelMa с помощью фотоотверждения, которое способствовало сохранению клеточной морфологии, приближенной к наблюдаемой *in vivo* [16].



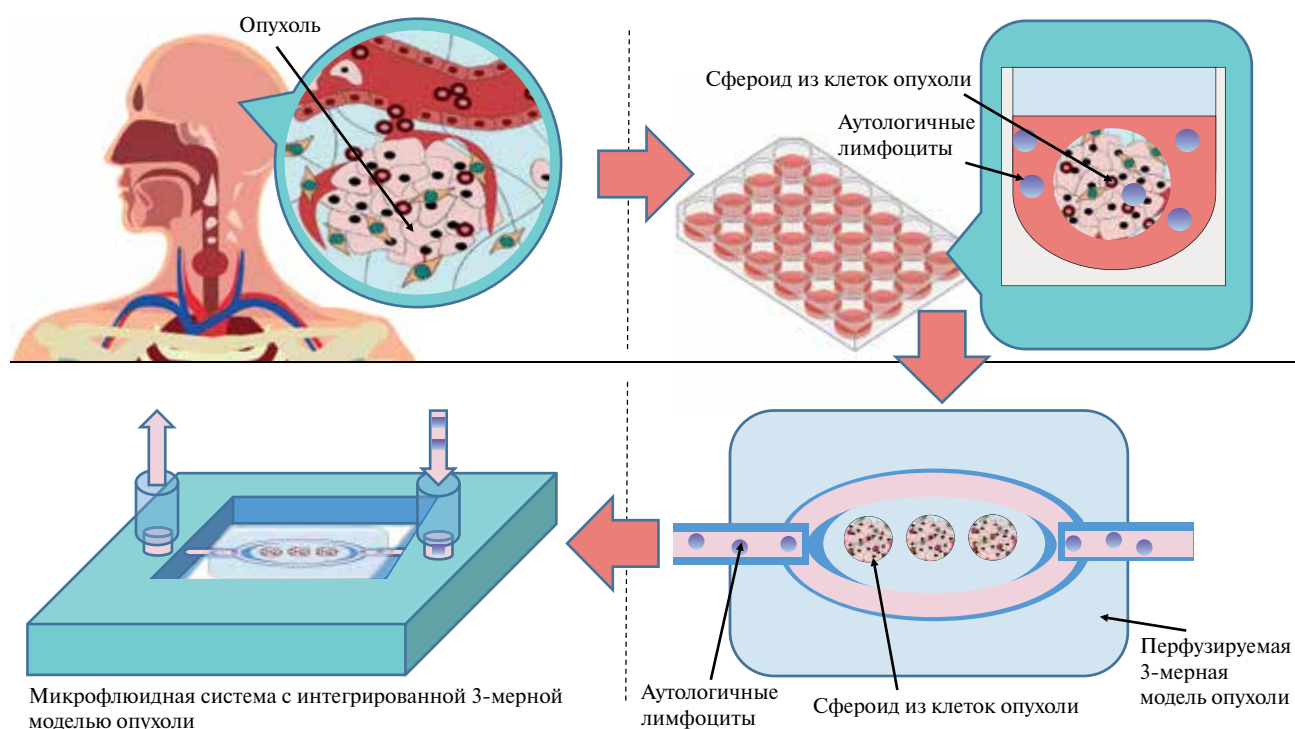


Рис. 4 Создание *in vivo* подобной тест-системы для исследования специфической фармакологической активности противоопухолевых препаратов.

## Перспективы

В качестве ближайших планов — создание конструкторов микроокружения опухоли с использованием первичных клеточных линий различных нозологий. Кроме того, есть стремление к созданию гетерогенных конструкторов с использованием различных типов клеток в зависимости от патологии.

В перспективе планируется создание *in vivo* подобной тест-системы для оценки эффективности противоопухолевых лекарственных препаратов, обладающей свойствами опухоли, за счёт воспроизведения *in vitro* взаимодействий первичных клеточных культур рака и клеток микроокружения опухоли (рисунок 4).

В таких моделях, наряду с повторением клеточного состава первичной опухоли, воспроизводятся и химические градиенты, играющие важную роль в процессах устойчивости клеток опухоли к лекар-

ственной терапии, а также взаимодействие с локальным и системным иммунитетом. Тест-системы на основе таких моделей могут быть востребованы как в доклинических исследованиях, так и в персонализированном подборе лекарственной терапии.

## Заключение

Таким образом, отработанный алгоритм работы клинических и научных подразделений ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России обеспечивает базу для проведения исследований и гарантирует высокое качество биообразцов, надежное долговременное хранение и тщательно проверенную информацию по каждому образцу.

**Отношения и деятельность:** все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

## Литература/References

1. Anisimov SV, Glotov AS, Granstrem OK, et al. Biobanks and biomedical progress: Proceedings of scientific works/ ed. By Anisimov SV. St. Petersburg: Svoyo izdatel'stvo, 2018. 225 p. (In Russ.) Анисимов С. В., Глотов А. С., Гранстрем О. К. и др. Биобанки и прогресс биомедицины: Сб. научн. тр. под ред. С. В. Анисимова. Санкт-Петербург: Свое издательство, 2018. 225 с. ISBN: 978-5-4386-1648-1.
2. Drapkina OM. Russian National Association of Biobanks and Biobanking Specialists — a tool for integrating Russian biobanks and increasing the efficiency of biomedical research. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2020;19(6):2757. (In Russ.) Драпкина О. М. Российская "Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию" — инструмент интеграции российских биобанков и повышения эффективности биомедицинских исследований. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(6):2757 doi:10.15829/1728-8800-2020-2757.
3. Coppola L, Cianflone A, Grimaldi AM, et al. Biobanking in health care: evolution and future directions. J Transl Med. 2019;17(1):172. doi:10.1186/s12967-019-1922-3.

4. Liu A, Pollard K. Biobanking for Personalized Medicine. *Adv Exp Med Biol.* 2015;864:55-68. doi:10.1007/978-3-319-20579-3\_5.
5. Patil S, Majumdar B, Awan KH, et al. Cancer oriented biobanks: A comprehensive review. *Oncol Rev.* 2018;12(1):357. doi:10.4081/oncol.2018.357.
6. Pruckij V, Granstrem O, Anisimov S. The biobanks as a key infrastructural element of the progress of Biomedicine. *Biobanks and biomedical progress.* St.Petersburg: Svoe izdatel'stvo. 2018;9-24. (In Russ.) Пруцкий В., Гранстрем О., Анисимов С. Биобанки как ключевой инфраструктурный элемент прогресса биомедицины. *Биобанки и биомедицинский прогресс.* СПб.: Свое издательство. 2018;9-24.
7. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Sivakova OV, et al. Quality management in biobank. World tendencies and experience of biobank of FSI "NMRC for preventive medicine" of the Ministry of healthcare of Russia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics).* 2019;64(6):380-4. (In Russ.) Покровская М. С., Борисова А. Л., Сивакова О. В. и др. Управление качеством в биобанке. Мировые тенденции и опыт биобанка ФГУ "НМИЦ профилактической медицины" Минздрава России. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2019;64(6):380-4. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-6-380-384.
8. Kit OI, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, et al. Biobank of the National Medical Research Center of Oncology of the Russian Ministry of Health as a resource for research in the field of personalized medicine. *Modern oncology.* 2022;24(1):6-11. (In Russ.) Кит О. И., Тимофеева С. В., Ситковская А. О. и др. Биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России как ресурс для проведения исследований в области персонализированной медицины. *Современная онкология.* 2022;24(1):6-11. doi:10.26442/18151434.2022.1.201384.
9. Mezheva IV, Sitkovskaya AO, Kit OI. Primary cultures of tumor cells: modern methods of obtaining and maintaining *in vitro*. *South Russian journal of oncology.* 2020;3(1):36-49. (In Russ.) Межева И. В., Ситковская А. О., Кит О. И. Первичные культуры опухолевых клеток: современные методы получения и поддержания *in vitro*. *Южно-российский онкологический журнал.* 2020;3(1):36-49. doi:10.37748/2687-0533-2020-1-3-5.
10. Gnennaya NV, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, et al. Creation of a collection of blood samples from patients with multiple myeloma. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021;20(8):3043. (In Russ.) Гненная Н. В., Тимофеева С. В., Ситковская А. О. и др. Создание коллекции образцов компонентов крови больных множественной миеломой. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2021;20(8):3043. doi:10.15829/1728-8800-2021-3043.
11. Filippova SYu, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, et al. Effect of berberine on the energy phenotype of breast cancer cell lines. *International Journal of Applied and Basic Research.* 2021;10:42-6. (In Russ.) Филиппова С. Ю., Тимофеева С. В., Ситковская А. О. и др. Влияние берберина на энергетический фенотип клеток линий рака молочной железы. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2021;10:42-6.
12. Kolpakov SA, Kolpakova EP. Unclassified human viruses of the Reoviridae family. Topical issues of diagnosis and prevention of infectious and parasitic diseases in the south of Russia. 2016:243-7. (In Russ.) Колпаков С. А., Колпакова Е. П. Неклассифицированные вирусы человека семейства Reoviridae. *Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний на юге России.* 2016:243-7.
13. Sitkovskaya AO, Filippova SYu, Zlatnik EYu, et al. Cytotoxic effect of unclassified group k rotaviruses on T98G and U87MG cell cultures *in vitro*. *Cytology.* 2020;62(3):189-200. (In Russ.) Ситковская А. О., Филиппова С. Ю., Златник Е. Ю. и др. Цитотоксическое действие неклассифицированных ротавирусов группы к на культуры клеток T98G и U87MG *in vitro*. *Цитология.* 2020;62(3):189-200. doi:10.31857/S0041377120030062.
14. Sitkovskaya AO, Rostorguev EE, Timofeeva SV, et al. Study of microsatellite instability in primary cell lines of poorly differentiated glial tumors. *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine.* 2020;10(3):39-42. (In Russ.) Ситковская А. О., Росторгуев Э. Е., Тимофеева С. В. и др. Исследование микросателлитной нестабильности в первичных клеточных линиях низкодифференцированных глиальных опухолей. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины.* 2020;10(3):39-42. doi:10.37279/2224-6444-2020-10-3-39-42.
15. Filippova SYu, Sitkovskaya AO, Vashchenko LN, et al. Application of silicone coating to obtain cell spheroids by the hanging drop method. *Journal of Biomedical Research.* 2022;10(1):44-51. (In Russ.) Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Ващенко Л. Н. и др. Применение покрытия из силикона для получения клеточных сфероидов методом висячей капли. *Журнал медико-биологических исследований.* 2022;10(1):44-51. doi:10.37482/2687-1491-Z089.
16. Timofeeva SV, Shamova TV, Sitkovskaya AO. 3D bioprinting of the tumor microenvironment: recent advances. *Journal of General Biology.* 2021;82(5):389-400. (In Russ.) Тимофеева С. В., Шамова Т. В., Ситковская А. О. 3D-биопринтинг микроокружения опухоли: последние достижения. *Журнал общей биологии.* 2021;82(5):389-400. doi:10.31857/S0044459621050067.