

ПОЛУЧЕНИЕ IN VITRO И ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РАКА КИШЕЧНИКА

© *А. П. Давыдов-Синицын, О. В. Баженова, М. А. Лисковых, Л. Л. Чечик,
С. В. Пономарцев, А. Н. Томилин, Е. Н. Толкунова*

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург,
и С.-Петербургский государственный университет;
электронный адрес: ads707@ya.ru*

В настоящей работе впервые описано получение в культуре субпопуляции раковых стволовых клеток из линии слабометастазирующей карциномы прямой кишки человека MP101 путем отбора из исходной популяции клеток, активно экспрессирующих характерный ген эмбриональных стволовых клеток — *ОСТ4*. Мы представляем доказательства того, что полученные клетки обладают повышенным клоногенным и опухолевым потенциалом в сравнении с исходной популяцией, что согласуется с гипотезой об определяющей роли раковых стволовых клеток в развитии злокачественных новообразований.

Ключевые слова: раковые стволовые клетки, туморогенность, *Ост4*.

Принятые сокращения: ОТ-ПЦР — обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция, РСК — раковые стволовые клетки, СЕА — carcinoembryonic antigen (раковый эмбриональный антиген).

Рак кишечника по частоте встречаемости занимает третье место в структуре онкологических заболеваний в России и в мире. Сравнительно недавно была выдвинута гипотеза о том, что главную роль в развитии злокачественных новообразований играет небольшая субпопуляция раковых клеток, обладающая характеристиками стволовых клеток, — раковые стволовые клетки (РСК). Рядом авторов показано, что РСК отличаются от основной массы дифференцированных раковых клеток первичных опухолей способностью к асимметричному делению, самовоспроизведению и дифференцировке, сниженной скоростью пролиферации, большей устойчивостью к радиационной и химиотерапии, плоидностью, экспрессией некоторых маркеров стволовых клеток и длиной теломера (Bonnet, Dick, 1997; Jessup, Thomas, 1998; Al-Hajj et al., 2004; Xu et al., 2009). Дифференцируясь, раковые клетки, наоборот, активно размножаются, но становятся менее пластичными, чем стволовые клетки. Пути дальнейшего развития дифференцированных потомков РСК предопределены экспрессией генов и ограничены. Накапливаются экспериментальные доказательства возможности злокачественной трансформации мультипотентных взрослых стволовых клеток и их более коммитированных потомков в лейкемические или опухолегенные раковые стволовые клетки (Huntly et al., 2004; Matsui et al., 2008; Zhu et al., 2009).

Основываясь на современных литературных данных, считают, что предраковые стволовые клетки происходят из нормальных тканевых стволовых клеток или дифференцированных зрелых клеток после репрограммирования. В поддержку этой гипотезы опухолегенеза можно

привести ряд экспериментальных данных, касающихся изоляции из первичной раковой ткани небольшой популяции незрелых опухолевых клеток со свойствами стволовых клеток (Al-Hajj, Clarke, 2004; Prince et al., 2007; Zhang et al., 2008; Huang et al., 2009). Эта популяция составляет, по данным литературы, 0.1—3 % от общего числа опухолевых клеток. Она может культивироваться *in vitro* в виде раковых клеточных линий разной тканевой принадлежности. РСК характеризуются специфическими маркерами, такими как теломераза, алкогольдегидрогеназа, CD133, CD44, CXCR4, рецептор KIT и транскрипционные факторы, такие как *ОСТ3/4*, *NANOG* и *SOX2* (Mitsumori, Barta, 2010).

В действительности, как любой вид ткани, раковая опухоль имеет иерархическую структуру, состоящую из генетически гетерогенных клеток в различном состоянии: клетки в предраковом состоянии, первичные раковые клетки, дифференцированные раковые клетки, мигрирующие клетки, РСК, которые играют роль в развитии и прогрессе заболевания (Liu et al., 2011). Подобная дифференциация клеток опухолей приводит к гетерогенности опухоли, что влечет за собой снижение восприимчивости к лечению. Если придерживаться современных гипотез о гетерогенности популяций первичных опухолей с присутствием в них небольшой фракции клеток с признаками стволовых и о большей способности РСК к метастазированию (Hostetter et al., 1990), то интересно оценить роль стволового компонента и вклад маркеров стволовых клеток в способность раковых клеток к пластичности, инвазивности и метастазированию для различных видов рака. Происхождение, свойства, особенности и возмож-

ность регулирования роста РСК при возникновении различных видов рака — одни из наиболее актуальных вопросов современной молекулярной онкологии.

Полученные из тканей рака прямой кишки клеточные линии представляют собой ценный источник клеток, отражающих свойства опухолей, из которых они были изначально изолированы. Эти клетки могут образовывать *in vitro* структуры, схожие с криптами кишечника — ткани, из которой они произошли, и быть использованы в качестве модели для изучения рака данного типа. Опубликованы доказательства того, что именно субпопуляция, обогащенная по РСК с использованием характерных поверхностных маркеров, при культивировании в матригеле приводит к образованию так называемых мегаколоний, характеризующихся криптообразными структурами (Yeng et al., 2010).

В настоящей работе предпринята попытка выделить популяцию стволовых клеток рака прямой кишки человека из клеток низкодифференцированной, слабометастазирующей клеточной линии рака прямой кишки MIP101, а также выполнен сравнительный анализ туморогенности и сферообразующей способности клеток, отобранных по усиленной экспрессии маркера стволовых клеток Oct4, относительно исходной популяции раковых клеток прямой кишки MIP101.

Материал и методика

Культивирование клеток линии рака прямой кишки MIP101 проводили в среде RPMI 1640 (Gibco, США), содержащей 10 % телячьей эмбриональной сыворотки (Sigma, США). Клетки пересевали с использованием раствора трипсина (Gibco, США) 1 раз в 3 сут в соотношении 1 : 3. Для наработки вирусных частиц использовали клетки линии эмбриональной почки человека HEK293T, которые культивировали в среде DMEM, содержащей 10 % телячьей эмбриональной сыворотки (Sigma, США), и пересевали через каждые 3 сут в соотношении 1 : 4. Эмбриональные стволовые клетки человека E14, использованные в качестве положительного контроля, культивировались в среде Knockout DMEM (Gibco, США) с добавлением 15 % телячьей эмбриональной сыворотки (Sigma, США), 1× культуральной смеси заменимых аминокислот NEAA (Gibco, США), фактора-ингибитора лейкемии LIF и β-меркаптоэтанола согласно принятой методике (Лисковых и др., 2011).

Упаковка вирусных частиц и заражение клеток *in vitro* вирусом. Для сборки вирусных частиц клетки линии 293T трансфицировали кальций-фосфатным методом, вводя плазмидную конструкцию на основе лентивирусного интегрирующегося вектора, а также вспомогательные плазмиды для обеспечения сборки вирусных частиц (<http://tcf.epfl.ch/page-6766-en.html>).

Среду, в которой культивировали трансфицированные клетки, собирали в течение 48 ч после трансфекции, содержащиеся в ней вирусные частицы концентрировали ультрацентрифугированием по стандартной методике (<http://tcf.epfl.ch/page-6764.html>).

Инфекцию раковых клеток лентивирусом проводили в 24-луночном планшете, в который за 1 сут до заражения высекали клетки линии MIP101 с плотностью 100 тыс. клеток на 1 лунку. К клеткам добавляли 10 мкл концентрированных вирусных частиц. Заражение проводили в среде для культивирования клеток линии MIP101. Через

3 сут после вирусного заражения клетки пересевали на 10-сантиметровые культуральные чашки (Falcon, США). На следующие сутки в среду добавляли антибиотик пуромидин (Sigma, США) в концентрации 30 мкг/мл на 1 мл среды. Селекцию проводили, меняя среду каждые 2 сут, в течение 10—14 сут. Вырастающие колонии отбирали индивидуально и после обработки трипсином высекали на лунку 6-луночного планшета.

Тест на формирование опухолей. Клетки исходной линии MIP101 и клонов, отобранных на устойчивость к пуромидину после вирусного заражения, инъецировали иммунодефицитным лабораторным мышам линии Nude (производные линии BALB/c, гомозиготные по мутации *Foxn1nu*) подкожно в область бедра по 500 тыс. на 1 укол. Вырастающие опухоли измеряли через 20 и 30 сут после инъекции.

Анализ сферообразования на низкоадгезивном субстрате проводили в среде DMEM-F12 с добавлением 20 нг/мл EGF, 20 нг/мл bFGF, 1 % супплемента B27 и 1-кратной культуральной смеси антибиотиков. Для проведения эксперимента клетки, растущие в монослое, обрабатывали раствором трипсина до состояния одноклеточной суспензии, проводили подсчет клеток в камере Горяева, после чего перенесли по 100 мкл суспензии с концентрацией 1000 кл./мл в лунки 96-луночного низкоадгезивного планшета. Через 1 сут добавляли по 25 мкл свежей среды того же состава, далее культивировали клетки в течение 10 сут. По окончании срока в каждой лунке подсчитывали сферы размером более 90 мкм.

Культивирование в Матригеле проводили по стандартной методике, модифицированной для линий эпителиальных карцином кишечника (Yeng et al., 2010). Клетки обрабатывали раствором трипсина до состояния одноклеточной суспензии, брали по 50 мкл суспензии, содержащей 1000 клеток, и смешивали с Матригелем (BD Biosciences, США) в равных объемах. Далее смесь помещали в лунку 96-луночного планшета, полимеризовали при 37 °C и добавляли по 100 мкл культуральной среды в каждую лунку. Культивирование проводили в бессывороточной среде RPMI 1640 с антибиотиками и L-глутамином в течение 2—4 нед. Количество и морфологию растущих «мегаколоний» анализировали с помощью светового фазово-контрастного микроскопа.

Работу с рекомбинантными ДНК проводили по стандартным методикам.

В работе использовали следующие реактивы: моногидрофосфат натрия, дигидрофосфат натрия, хлорид калия, хлорид кальция, хлорид магния, бычий сывороточный альбумин, параформальдегид, Тритон X-100, ампициллин, канамицин, фенол и хлороформ (Sigma, США); Trisma Base (Fluka, США); глюкоза, хлорид натрия, дрожжевой экстракт и пептон (Difco, США); обезжиренное сухое молоко (Roth, Германия); трипсин, смесь антибиотиков и антимикотиков, глутамин и среды для культивирования клеток эукариот (Gibco, США); FBS (Invitrogen, США).

Результаты и обсуждение

Коллекция клеточных линий рака прямой кишки, полученная на основе слабометастазирующей линии MIP101 (Thomas, et al., 2011), была любезно предоставлена О. В. Баженовой. В данной работе использовали базовую линию MIP101 и ее модифицированную производ-

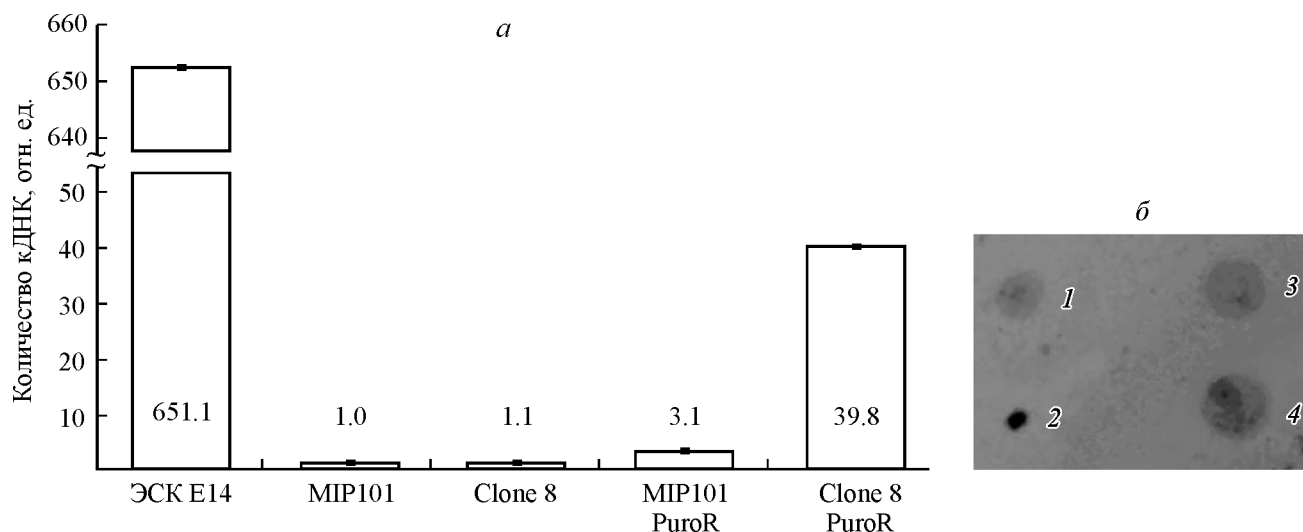


Рис. 1. Оценка уровня экспрессии OCT4 в различных производных клеточной линии MIP101.

а — результаты ОТ-ПЦР в реальном времени с праймерами, специфичными для *OCT4* (над столбцами указаны их точные значения); первый столбец — эмбриональные стволовые клетки (позитивный контроль). б — результат дот-гибридизации клеточных лизатов с антителами к Oct4: 1 — клетки эмбриональной почки HEK293T (негативный контроль), 2 — эмбриональные стволовые клетки E14 (позитивный контроль), 3 — клетки карциномы прямой кишки MIP101, 4 — MIP101, отобранные на устойчивость к пуromицину (PuroR).

ную — MIP101 клон 8, экспрессирующий карциноэмбриональный антиген (CEA, cancer embryonic antigen) и характеризующийся повышенным метастатическим потенциалом.

Мы провели заражение клеток исходной линии MIP101 и ее производной (MIP101 клон 8) лентивирусом с генетической конструкцией, разработанной в нашей лаборатории (Лисковых и др., 2011). На селективной среде, содержащей антибиотик пуromицин, отбирали трансдуцированные клетки, несущие трансгенную конструкцию и экспрессирующие эндогенный маркер эмбриональных стволовых клеток *OCT4*, вследствие чего приобретшие устойчивость к пуromицину. Остальные клетки погибали по причине исходной чувствительности к данному антибиотику. Известно, что ген *OCT4* — ключевой маркер эмбриональных стволовых клеток и клеток-предшественников гамет. По нашей гипотезе, экспрессия *OCT4* может являться также свойством субпопуляции РСК данного типа. Используемая нами генетическая конструкция позволяет высокоспецифично отбирать клетки, экспрессирующие *OCT4*, а также при необходимости прицельно уничтожать эти клетки с помощью противовирусного препарата — ганцикловира, чувствительность к которому

обеспечивается за счет активации гена тимидинкиназы. Использование в векторе слитой генетической конструкции, экспрессирующей ген тимидинкиназы и ген устойчивости к пуromицину в едином транскрипте, позволяет гарантировать синхронную экспрессию обоих генов под действием транскрипционного фактора Oct4. Отобранные на основании устойчивости к пуromицину клоны проанализировали с использованием метода ПЦР на наличие в их геноме интегрированного гена тимидинкиназы. Подтвердив его наличие, мы проверили чувствительность клеток к ганцикловиру и определили, что после 7-суточной обработки ганцикловиrom клетки погибают (результаты не показаны).

Убедившись, что отобранные клоны являются результатом интеграции вносимой конструкции, мы проанализировали их на наличие мРНК и белкового продукта гена *OCT4* (рис. 1). Для этого использовали ОТ-ПЦР в реальном времени и точечную гибридизацию клеточных лизатов с антителами против человеческого Oct4. Анализировали исходную клеточную линию MIP101 и ее производную — MIP101 клон 8, отличающуюся от исходной наличием экспрессии CEA. Кроме того, анализировали тотальную популяцию клеток-производных от описанных клеточных линий, которые после инфекции лентивирусом приобрели устойчивость к пуromицину (MIP101-PuroR, clone 8-PuroR). Анализ выявил повышенный уровень транскрипта гена *OCT4* в клетках, устойчивых к пуromицину, причем если селекция производных от линий MIP101 привела к повышению уровня в 3 раза, то при отборе производных клон 8 уровень мРНК увеличился более чем в 13 раз. В рамках настоящей работы мы не приводим анализ производных клон 8, однако необходимо отметить, что клон 8 получен из линии клеток MIP101 и отличается исходно только наличием экспрессии CEA и повышенной способностью к метастазированию.

Было бы интересно проверить, чем обеспечено такое повышение уровня *OCT4* при обогащении популяции этих клеток РСК и связано ли это со способностью к метастазированию. В качестве положительного контроля

Размеры опухолей у иммунодефицитных мышей после подкожного введения им опухолевых клеток — производных линии MIP101, устойчивых к пуromицину, на 20-е и 30-е сут после инъекции

Клетки	Диаметр опухоли на разных сроках, мм	
	20-е сут	30-е сут
MIP101 (исходные)	2.3 ± 2.1	6.0 ± 1.4
MIP101.1	7.0 ± 2.8	11.7 ± 3.2
MIP101.4	7.3 ± 3.5	12.0 ± 1.7
MIP101.15	3.7 ± 1.2	5.3 ± 1.2
MIP101.16	4.0 ± 1.7	5.2 ± 1.1

Примечание. Приведены средние значения и их стандартные отклонения.

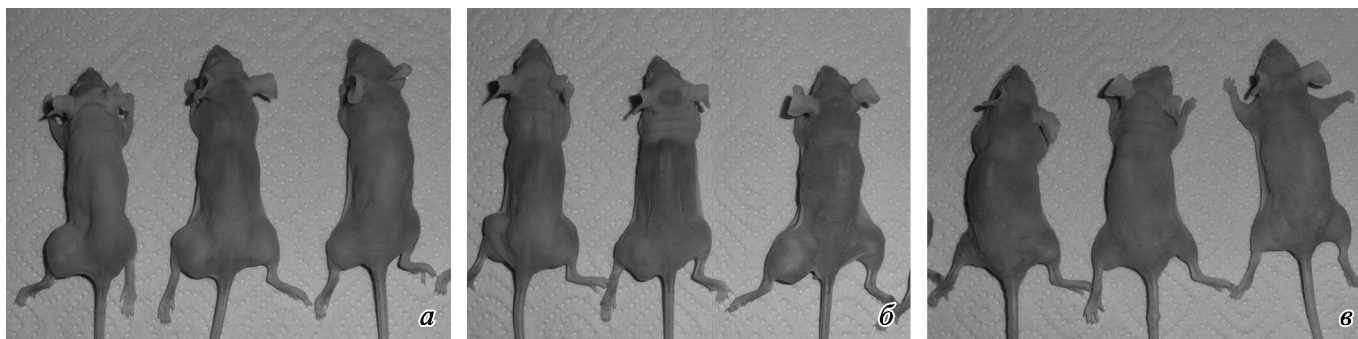


Рис. 2. Внешний вид опухолей у иммунодефицитных мышей после подкожного введения опухолевых клеток — различных производных линии MIP101. 30-е сут после введения.

Правое бедро (все мыши) — клетки MIP101.16 (негативный контроль), левое бедро — клетки MIP101.1 (а), MIP101.4 (б) и MIP101.15 (в).

мы использовали мРНК эмбриональных стволовых клеток мыши линии E14. По результатам проверки можно сделать вывод о том, что при отборе мы действительно получаем обогащенную популяцию клеток, экспрессирующих *OCT4*, которые, согласно нашей гипотезе, могут являться РСК. При анализе экспрессии *OCT4* на уровне белка мы отметили повышение ее уровня у клеток, устойчивых к пуромичину, по сравнению с исходными клетками линии MIP101. В качестве положительного контроля использовали лизат клеток линии E14, а негативным контролем служил лизат клеток эмбриональной почки НЕК293Т человека.

Для сравнения жизнеспособности и пролиферации опухолевых клеток *in vivo* были проведены инъекции обогащенной популяции стволовых раковых клеток иммунодефицитным мышам линии Nude и оценена их опухолеогенная активность в сравнении с исходной популяцией. В таблице приведены размеры опухолей, полученных при подкожном введении мышам анализируемых клеточных линий: исходной линии MIP101 и ее производных — клонов 101.1, 101.4 и 101.15, отобранных после заражения вирусом по устойчивости к пуромичину и чувствительных к ганцикловиру, а также клона 101.16, несущего в геноме тимидинкиназу, но не гибнущего на ганцикловиру и, следовательно, спонтанно приобретшего устойчивость к пуромичину. На рис. 2 представлен внешний вид опухолей, возникающих у мышей при подкож-

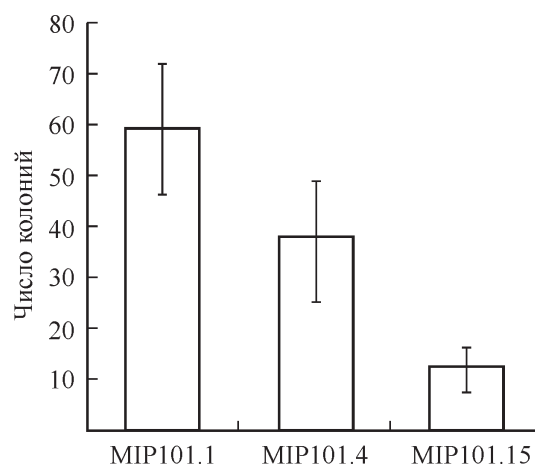


Рис. 3. Число колоний различных производных линии MIP101 при культивировании на низкоадгезивном субстрате.

Вертикальные отрезки — стандартное отклонение от среднего.

ном введении клонов 101.1, 101.4 и 101.15 (левое бедро) и клона 101.16, использованного в качестве негативного контроля (правое бедро). Разница в размере опухолей очевидна и заметно отличается для анализируемых субклонов (см. таблицу): если введение клеток 101.15 приводит к формированию сравнительно мелких опухолей, по

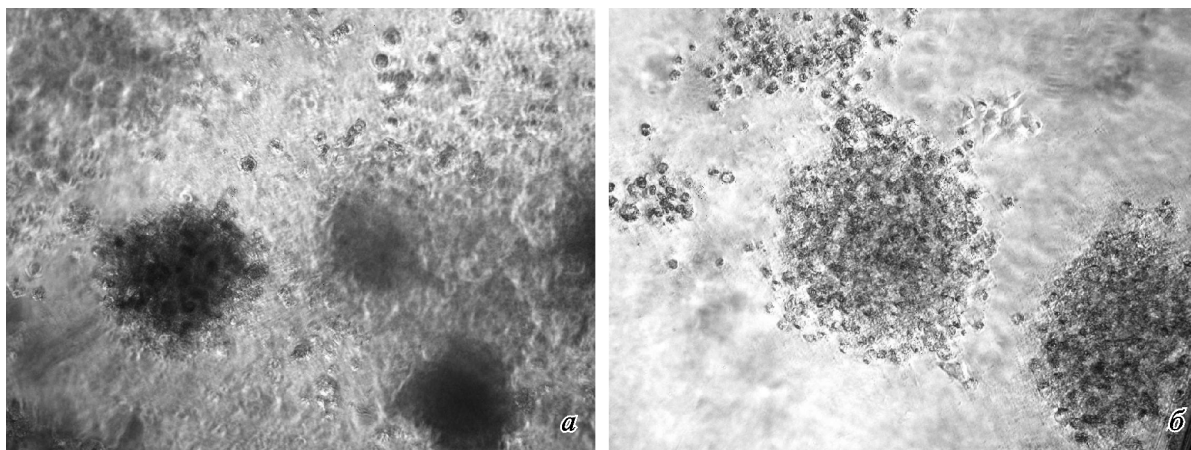


Рис. 4. Внешний вид колоний различных производных линии MIP101 при культивировании в Матригеле: исходные MIP101 (а) и MIP101.8 (б).

размеру сравнимых с негативным контролем (5.3/5.2 мм) и исходным клоном МР 101 (5.3/6.0 мм), то клетки субклонов 101.1 и 101.4 порождают опухоли существенно большего размера — 11.7 и 12.0 мм соответственно.

Полученные клеточные линии мы оценивали по способности образовывать сферы при культивировании на чашках Петри с низкоадгезивной поверхностью. На рис. 3 представлено усредненное число колоний размерами более 90 мкм по результатам 24 повторностей для клонов 101.1, 101.4 и 101.15. Необходимо отметить, что клон 101.1, характеризовавшийся при подкожном введении высокой опухоленностью и дававший опухоли размером 11.7 мм, образовывал и наибольшее число колоний при суспензионном культивировании (около 60 колоний на лунку). И напротив, клон 101.15 образует самые мелкие подкожные опухоли (5.3 мм) и минимальное число сферических колоний (около 15 на лунку).

Культивирование клеток исходной линии МР101 и ее производных в Матригеле пока не позволило нам оценить эффективность обогащения клеточной популяции раковыми стволовыми клетками, поэтому работа с использованием этого метода для получения и анализа морфологии возникающих «мегаколоний» будет продолжена. На данном этапе мы можем сказать, что по морфологии колонии предполагаемых РСК (клон 101.8, рис. 4) более рыхлые и более склонны к распространению в Матригеле. Говорить о доле клеток, образующих мегаколонии, пока преждевременно.

Итак, в настоящей работе впервые описано получение в культуре субпопуляции РСК из клеток карциномы МР101 методом введения трансгенной конструкции, содержащей Ост4-зависимый энхансер. Полученные клетки обладают повышенным клоногенным и опухолевым потенциалом. Несомненный интерес представляет сравнение РСК, выделенных из линии МР101, и ее производных, различающихся по метастатическому потенциалу.

Настоящая работа является совместным проектом Лаборатории молекулярной биологии стволовых клеток Института цитологии РАН и кафедры генетики СПбГУ и выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 11-04-01711) и ФЦП (Госконтракт 16.512.11.2085).

Список литературы

Лисковых М. А., Чуйкин И. А., Раян А., Сафина Д. А., Толкунова Е. Н., Минина Ю. М., Жданова Н. С., Дыбан П. А., Маллинс Дж., Костылева Е. И., Чихирджина Е. В., Бадер М., Алена Н., Томилин А. Н. 2011. Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток крысы: анализ условий репрограммирования и культивирования. Цитология. 53 (12): 939—945.

Al-Hajj M., Clarke M. F. 2004. Self-renewal and solid tumor stem cells. *Oncogene*. 23 : 7274—7282.

Al-Hajj M., Wicha M. S., Benito-Hernandez A., Morrison S. J., Clarke M. F. 2004. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 (7) : 3983—3988.

Bonnet D., Dick J. 1997. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 3 (7) : 730—737.

Hostetter R. B., Augustus L. B., Mankarious R., Chi K. F., Fan D., Toth C., Thomas P., Jessup J. M. 1990. Carcinoembryonic antigen as a selective enhancer of colorectal cancer metastasis. *J. Nat. Cancer Inst.* 82 (5) : 380—385.

Huang Q., Zhang Q. B., Dong J., Wu Y. Y., Shen Y. T., Zhao Y. D., Zhu Y. D., Diao Y., Wang A. D., Lan Q. 2009. Glioma stem cells are more aggressive in recurrent tumors with malignant progression than in the primary tumor, and both can be maintained long-term *in vitro*. *BMC Cancer*. 8 : 304.

Huntly B. J., Shigematsu H., Deguchi K., Lee B. M., Mizuno S., Duclos N., Rowan R., Amaral S., Curley D., Williams I. R., Akashi K., Gilliland D. G. 2004. MOZ-TIF2, but not BCR-ABL, confers properties of leukemic stem cells to committed murine hematopoietic progenitors. *Cancer Cell*. 6 : 587—596.

Jessup J. M., Thomas P. 1998. CEA and metastasis: a facilitator of site-specific metastasis. In: Stanner C. P. (Ed.) *Cell adhesion and communication mediated by the CEA family: basic and clinical perspectives*. New York: CRC Press. 195—222.

Liu H. G., Chen C., Yang H., Pan Y. F., Zhang X. H. 2011. Cancer stem cell subsets and their relationships. *J. Transl. Med.* 9 : 50—59.

Matsui W., Wang Q., Barber J. P., Brennan S., Smith B. D., Borrello L., McNiece L., Lin L., Ambinder R. F., Peacock C., Watkins D. N., Huff C. A., Jones R. J. 2008. Clonogenic multiple myeloma progenitors, stem cell properties, and drug resistance. *Cancer Res.* 68 : 190—197.

Mimeault M., Barta S. K. 2010. New advances on critical implication of tumor- and metastasis-initiating cells in cancer progression, treatment resistance and disease recurrence. *Histol. Histopathol.* 8 : 1057—73.

Prince M. E., Sivanandan R., Kaczorowski A., Wolf G. T., Kaplan M. J., Dalerba P., Weissman I. L., Clarke M. F., Allis L. E. 2007. Identification of subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head and neck squamous cell carcinoma. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 104 : 973—978.

Thomas P., Forse R. A., Bajenova O. V. 2011. Carcinoembryonic antigen (CEA) and its receptor hnRNP M are mediators of metastasis and the inflammatory response in the liver. *Clin. Exp. Metastasis*. 28 (8) : 923—932.

Xu Q., Yuan X., Tunici P., Liu G., Fan X., Xu M., Hu J., Hwang J. Y., Farkas D. L., Black K. L., Yu J. S. 2009. Isolation of tumor stem-like cells from benign tumors. *Br. J. Cancer*. 101 (2) : 303—311.

Yeung T. M., Gandhi S. C., Wilding J. L., Muschel R., Bodmer W. F. 2010. Cancer stem cells from colorectal cancer-derived cell lines. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 107 (8) : 3722—3727.

Zhang S., Balch C., Chan M. W., Lai H. C., Matei D., Schilder J. M., Yan P. S., Huang T. H., Nephew K. P. 2008. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res.* 68 : 4311—4320.

Zhu L., Gibson P., Currie D. S., Tong Y., Richardson R. J., Bayazitov I. T., Poppleton H., Zakharenko S., Ellison D. W., Gilbertson R. J. 2009. Prominin 1 marks intestinal stem cells that are susceptible to neoplastic transformation. *Nature*. 457 : 603—607.

IN VITRO DERIVATION AND CHARACTERIZATION OF A COLORECTAL CANCER STEM
CELL SUBPOPULATION

*A. P. Davydov-Sinitsyn, O. V. Bazhenova, M. A. Liskovykh, L. L. Chechik,
S. V. Ponomartsev, A. N. Tomilin, E. N. Tolkunova*

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, and S.-Petersburg State University;
e-mail: ads707@ya.ru

In present publication we describe for the first time the obtainment of cancer stem cells from a weakly metastatic human colorectal carcinoma cell line MIP101 via selecting from the native population the cells that express intensively an embryonic stem cell marker, POU5F1 (Oct4). We provide the evidence that these cells possess an elevated clonogenic and tumorigenic potential when compared to the native population, and this correlates to the hypothesis of cancer stem cells' primary role in the development of malignant neoplasms.

Key words: cancer stem cells, tumorigenicity, POU5F1 Oct4.
