МРНТИ 76.29.49 DOI: 10.58318/2957-5702-2025-23-50-84
Обзорная статья

КЛЕТОЧНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В МОДЕЛИРОВАНИИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА И ИХ ПОТЕНЦИАЛ В ПРЕЦИЗИОННОЙ МЕДИЦИНЕ

А.К. Наханов, С.К. Коканов, А.А. Теребай*, Л.Г. Мараховская

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан
* s.kokanov@biosafety.kz

Аннотация. Онкологические заболевания являются одной из самых актуальных проблем человечества. К сожалению, современные методы профилактики и лечения рака не поспевают за тенденцией увеличения смертности и появления новых случаев данных заболеваний. Одной из причин этого является отсутствие доклинических моделей *in vitro*, которые бы точно имитировали человеческие опухоли, их разнообразную морфологию, молекулярные характеристики и микроокружение. Исследования опухолей, их морфологические характеристики, прогноз лечения, терапевтические подходы до сих пор проводятся на двухмерных моделях культур клеток и животных. Однако двухмерные модели культур клеток имеют ограничения из-за отсутствия тканеспецифической архитектуры, биохимических сигналов и взаимодействия между клетками и окружающей матрицей, поэтому они не могут точно отображать и моделировать сложные процессы *in vivo*. В свою очередь использование животных для моделирования опухолевых заболеваний и тестирования на них лекарственных препаратов не только дорогостоящее и трудоемкое занятие, но также данные модели не могут имитировать биологические реакции людей из-за видовых различий. Трехмерные модели ткани более подходящие в плане морфологии, миграции, пролиферации, реакции на лекарственное лечение, а также экспрессии генов и белков, более точно имитируют рост тканей *in vivo*. В данном обзоре приведены современные научные данные по использованию клеточных биотехнологий для изучения канцерогенеза и их потенциал в прецизионной медицине.

Ключевые слова: культура клеток, органоиды, онкология, in vitro - модели, канцерогенез, прецизионная медицина.

Введение

Онкологические заболевания являются одной из наиболее актуальных проблем современной медицины. По данным пресс-релиза Всемирной организации здравоохранения, от 1 февраля 2024 г., в 2022 г. во всем мире было зарегистрировано 20 млн новых случаев рака и 9,7 млн случаев смерти от онкологических заболеваний, при этом прогнозируется, что к 2050 г. эта цифра вырастет на 77% и достигнет 35 млн. Быстрый рост глобального бремени рака является следствием как старения населения и демографического роста, так и изменения в подверженности людей воздействию факторов риска, некоторые из которых связаны с уровнем социально-экономического развития [1].

В Казахстане проблема онкологических заболеваний также стоит остро, что привело к принятию Комплексного плана по борьбе с онкологическими заболеваниями в Республике на 2023-2027 годы. Согласно официальной статистике в нашей стране ежегодно регистрируется более 37 тысяч новых случаев онкологических заболеваний, от которых умирают более 13 тыс. человек. На учете состоят более 205 тыс. человек с онкопатологией. Особую тревогу вызывает тот факт, что 56% заболевших – это граждане трудоспособного возраста от 18 до 64 лет. По статистике на первом месте среди онкологических заболеваний находится рак молочной железы (13,2%), на втором месте – рак легкого (10%), на третьем месте – колоректальный рак (9,3%).

Несмотря на значительные достижения современной медицины отсутствие глубокого понимания биологии рака является ключевым препятствием для исследования патогенеза, инвазивности и отслеживания метастазов опухолей, а также новых терапевтических подходов и лекарственных препаратов [2, 3]. Как и в других отраслях медицины, исследования в онкологии, , глубоко опираются на надежную и репрезентативную модельную структуру. Выбор наиболее подходящей модели, которая наилучшим образом отражает ту или иную опухолевую систему, является одной из реальных трудностей для исследования рака [4]. Модели рака, как естественного, так и искусственного происхождения, должны иметь черты, наиболее сходные с раковыми

заболеваниями. Однако неспособность in vitro моделей имитировать гетерогенность человеческих раковых клеток, их микросреду и стромальный компартмент препятствуют глубокому пониманию патогенеза опухоли, терапевтических эффектов и побочных реакций [5].

Современные экспериментальные системы для изучения рака человека включают: двумерные линии раковых клеток, 3D-модели органоидов, живые организмы, такие как *Drosophila melanogaster, Danio rerio* (зебрафиш), генетически модифицированные мышиные модели, свиней, ксенотрансплантаты, полученные от пациентов (PDX), а также вычислительные биоинформационные модели рака.

Типы органоидных культур

В течение десятилетий, благодаря своей относительной простоте использования, масштабируемости и низкой стоимости, двумерные клеточные культуры служили краеугольным камнем для изучения биологии раковых клеток и открытия лекарств. Эти модели позволили провести значительную исследовательскую работу над молекулярными механизмами, лежащими в основе опухолеобразования и помогли идентифицировать биомаркеры и лекарственные мишени для терапии пациентов. Вместе с тем, двумерные линии раковых клеток, растущих в культуральной среде или ксенотрансплантаты не способны в полной мере воспроизводить сложность человеческих раковых заболеваний. Ограничения связаны с дефицитом клеток, инициирующих опухоли, отсутствием специфического для человека опухолевого микроокружения (TME) и внеклеточного матрикса (ECM), а также генетической изменчивости, возникающей в результате длительного культивирования и пассажей in vitro. Для моделей ксенотрансплантатов, полученных от пациентов (PDX), доступность образцов, логистические и экономические проблемы, а также этические соображения препятствуют их широкому и всестороннему применению в фундаментальных исследованиях и персонализированной медицине.

Появление трёхмерных органоидныхкультур предложило альтернативный подход, который может преодолеть разрыв между *in vitro* 2D-клеточными линиями и *in vivo*-мышиными моделями для исследования рака. Органоиды могут быть получены из двух типов стволовых клеток: взрослых стволовых клеток (ASC), которые являются тканеспецифичными, или плюрипотентных стволовых клеток (PSC), которые могут быть либо индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками (iPSC), либо эмбриональными. В этом обзоре мы специально сосредоточимся на использовании этих органоидных моделей для изучения рака, описывая и сравнивая различные органоидные модели рака, которые представляют различные стадии опухолегенеза, и обсуждая их вклад в исследование рака, а также их ограничения.

Протоколы получения органоидов ASC и PSC принципиально различны. Органоиды ASC поддерживаются различными факторами роста в среде, имитирующими нормальный гомеостаз стволовых клеток. Создание органоидов PSC включает в себя пошаговую дифференциацию посредством добавления факторов роста последовательным образом, который имитирует клеточную сигнализацию во время развития эмбриона. Полученные модели рака также имеют явные преимущества и недостатки, которые следует учитывать при выборе подходящей модели для исследования. Тем не менее, органоиды ASC и PSC являются взаимодополняющими подходами и вместе они дают возможность изучить весь процесс развития опухоли почти во всех видах рака у человека.

В 2009 году было проведено знаковое исследование, показавшее что трехмерные кишечные органоиды можно создать из кишечных стволовых клеток Lgr5+ мыши [6]. Клетки культивировались в матригеле и поддерживались в долгосрочной культуре с добавлением факторов, регулирующих нишу стволовых клеток (ноггин, R-спондин1 и эпидермальный фактор роста [EGF]). По сути, эта система была разработана для имитации аспектов ниши, в которой обычно находятся кишечные стволовые клетки (ISC). *In vivo* кишечный эпителий организован в миллионы структур крипта-ворсинка, при этом ISC расположены у основания крипт. Кроме того, EGF усиливает пролиферацию крипт посредством активации сигнального пути Ras [7]. Ингибирование передачи сигналов костного морфогенетического белка (BMP) в ворсинках ноггином приводит к образованию многочисленных эктопических криптовых единиц [8]. Примечательно, что для воспроизведения этого в культуре для успешного формирования органоида потребовалось только добавление R-спондина1, EGF и ноггина. Последующее исследование показало, что клетки Панета, находящиеся между стволовыми клетками Lgr5+, поставляли источник Wnt [9]. Матригель предоставил матричный компонент для прикрепления с целью

формирования трехмерных органоидов, поскольку он напоминал богатую ламинином основу кишечных крипт [10]. Эти органоиды имели кишечные крипто-ворсинчатые структуры, содержащие все типы кишечных клеток, повторяющие физиологические кишечные структуры исходной ткани.

Параллельно другая группа разработала альтернативный метод культивирования кишечных органоидов: модель интерфейса «воздух-жидкость» (ALI), которая включала культивирование фрагментов кишечной ткани мыши, содержащих как эпителиальные, так и мезенхимальные клетки в коллагеновой матрице, частично подвергавшейся воздействию воздуха [11]. После этих двух прорывных исследований протоколы были успешно адаптированы для культивирования человеческих органоидов, полученных из ASC, из ряда нормальных тканей, а также соответствующих им раковых опухолей. Улучшения протоколов повысили эффективность формирования органоидов, что позволило создавать опухолевые органоиды из небольших биопсий, мочи, цервикальных мазков и даже циркулирующих опухолевых клеток (CTC). В результате стало возможным создание больших живых биобанков человеческих опухолевых органоидов [12-55].

В последние годы число органоидных биобанков резко возросло, выступая в качестве ценных ресурсов как для фундаментальных и клинических исследований. Органоидные модели стали коммерчески доступными через различные каналы, такие как Human Cancer Models Initiative, American Type Culture Collection или MilliporeSigma. Эти биобанки охватывают широкий спектр моделей опухолей, воспроизводя морфологическую и молекулярную гетерогенность опухолей пациентов. Напротив, многие молекулярные подтипы не имеют репрезентативных 2D линий раковых клеток. Кроме того, были созданы клеточные модели предраковых поражений из органов, таких как кишечные гиперпластические полипы, сидячие зубчатые аденомы (SSA) полипы, тубуловиллезные аденомы, обычные тубулярные аденомы [24, 27, 56], предраковый эндометриоз, гиперплазия эндометрия [18], плоскоклеточная метаплазия шейки матки [57, 58], желудочно-кишечная метаплазия [45, 46], дисплазия желудка [47, 59], эпителий Барретта [55, 60], интраэпителиальная неоплазия поджелудочной железы (PanIN) [41], и ряд предраковых заболеваний печени [61]. Дополнительные органоиды ASC были получены от пациентов, имеющих гетерозиготные мутации генов предрасположенности к раку зародышевой линии [56, 62, 63]. Сравнение органоидов, полученных из опухоли, и исходной опухолевой ткани с использованием анализов на основе мультиомики подтверждает, что органоиды стабильно сохраняют молекулярный спектр родительской опухоли в долгосрочной культуре [27, 47, 64-67].

Проблемы получения органоидов

В работах [68, 69]. подробно изложены современные протоколы создания раковых органоидов. Каждый из них был разработан с учетом глубоких биологических знаний органа/типа рака и обширных исследований методом проб и ошибок для повышения эффективности. Условия культивирования нормальных и опухолевых органоидных культур описаны в других работах [13-21, 24, 27, 30-47, 50, 55, 70-78]. Для каждого типа рака были сделаны определенные изменения, чтобы помочь избежать заражения нормальных клеток, а также повысить жизнеспособность раковых стволовых клеток.

Тем не менее, нормальные органоиды в исходной объединенной смеси могут вытеснять опухолевые органоиды и в конечном итоге доминировать в культуре, особенно когда условия культивирования не могут специально благоприятствовать опухолевым клеткам. Поэтому проверка чистоты опухоли с помощью секвенирования всего экзома (WES) или секвенирования панели захвата мишени имеет важное значение, поскольку морфология раковых органоидов часто может быть неотличима от нормальных органоидов. Стратегии по смягчению загрязнения нормальных клеток и повышению эффективности протокола включают изъятие факторов ниши, которые больше не требуются при некоторых видах рака из-за распространенных онкогенных мутаций. Например, изъятие Wnt3a и R-spondin1 значительно улучшило формирование органоидов колоректального рака (КРР) [22], тогда как отмена EGF была эффективна при создании органоидов панкреатической протоковой аденокарциномы (PDAC) [39], поскольку >80% КРР и >90% PDAC несут мутации *APC* и *KRAS* соответственно. При раке желудка добавление nutlin3a при удалении Y-27632, A8301, EGF и FGF10 из культуральной среды также улучшило показатели [45], Аналогичное влияние может оказать и изменение способа получения образцов. Например, отбор проб вдоль серозной стороны желудочно-кишечного тракта повышает чистоту опухоли [47], и ручной сбор опухолевых органоидов во время пассирования может помочь устранить загрязнение нормальными клетками.

Другие методы повышения жизнеспособности опухолевых органоидов включали добавление Y-27632 во время изоляции клеток при культивировании рабдоидных опухолевых органоидов и удаление ингибитора p38 при культивировании органоидов эндометриального рака [18]. Использование бессывороточного, стабилизированного афамином Wnt3a обеспечивает стабильную культуру органоидов PDAC, поскольку сыворотка в стандартной кондиционированной среде Wnt3a запускает клеточное старение органоидов поджелудочной железы [39]. Большинство типов органоидов культивировались в базовой среде, содержащей AdDMEM/F12, HEPES, GlutaMAX и пенициллин/стрептомицин, но с некоторыми исключениями. Даже с модификациями протокола некоторые распространенные типы рака по-прежнему остаются трудно имитируемыми с помощью органоидов, что указывает на необходимость дальнейшей оптимизации протокола. Интересно, что альтернативный метод, называемый условным перепрограммированием, включающий совместное культивирование облученных фибробластных питающих клеток мыши и переваренных первичных здоровых или раковых клеток в присутствии ингибитора ассоциированного белка киназы (ROCK) (Y-27632), позволяет осуществлять долгосрочное культивирование первичных эпителиальных клеток практически из любого типа клеток в течение ста дней, не требуя генетических манипуляций [79, 80]. Эта технология успешно применялась для создания клеточных культур, полученных от пациентов с немелкоклеточным раком легких (НМРЛ) [81], рак от простаты [79], и клеточные культуры аденоидно-кистозной карциномы (АКК) [82]. Условно перепрограммированные клетки рака простаты и АКК вызывали опухоли у мышей с ксенотрансплантацией [79, 82], что предполагает потенциальную альтернативу для типов рака с низким уровнем образования органоидов.

Одно из основных различий между органоидами рака ASC и двумерными линиями раковых клеток заключается в том, что органоиды остаются зависимыми от факторов ниши и взаимодействий клетка-клетка/клетка-матрикс для выживания. В результате, глубокая функциональная характеристика может быть выполнена на органоидах опухоли путем систематического изъятия основных факторов ниши, добавления/изъятия ингибиторов или культивирования в условиях без матрикса [39, 45, 46]. В этом процессе выявляются ассоциации генотип-фенотип, которые возникают во время канцерогенеза. Несколько исследований органоидов рака, полученных из ASC без мутаций в генах WNT, таких как *APC* или *CTNNB1*, раскрыли механизмы, обеспечивающие независимость Wnt/R-спондина [39, 45]. Эти исследования дали представление о вкладе сигнализации Wnt в формирование морфологического разнообразия и гетерогенности клеточных состояний в опухолях. Двойной нокаут *CDH1/TP53* в нормальных желудочных органоидах привел к диффузно-подобному фенотипу GC, который был связан с независимостью R-спондина [45]. Аналогичным образом анализы отмены выявили Wnt- и R-спондин-независимые подгруппы органоидов PDAC [39]. Также оценивалась отмена ингибитора Rock и/или условия роста без Matrigel. Одно исследование органоидов GC показало, что независимость клетка-клетка/клетка-матрикс коррелировала с инфильтративным краем опухоли, прогрессирующей стадией опухоли и метастазами, а также транскриптомной сигнатурой, связанной с более короткой общей и безрецидивной выживаемостью в общедоступных наборах данных пациентов с GC [46]. Опухолевые органоиды, выделенные из более глубокой подслизистой оболочки рака желудка на ранней стадии, в меньшей степени зависели от межклеточной адгезии по сравнению с парными опухолевыми органоидами, выделенными из поверхностной слизистой оболочки, что свидетельствует о том, что разные части опухоли у одного и того же пациента могут вести себя по-разному.

Органоиды сохраняют разнообразие линий и пластичность клеток исходной ткани. Например, здоровые органоиды простаты и груди содержат люминальные и базальные клетки-предшественники, которые дают начало как базальным, так и люминальным линиям [62, 76]. Примечательно, что эпителиальные органоиды молочной железы, полученные от носителей мутации BRCA1, показали более высокую долю люминальных предшественников, что отражает увеличение люминальных предшественников, которые служат популяцией, инициирующей рак, у носителей мутации BRCA1. Секвенирование РНК отдельных клеток показало, что органоиды, полученные из опухоли Вильмса, состоят из трех различных типов клеток (эпителиальных, стромальных и бластематических) [30], и органоиды рака толстой кишки дикого типа *APC* со слиянием *RSPO* сохранили свой потенциал дифференциации после отмены Wnt, подобно здоровым органоидам толстой кишки [27]. Добавление или удаление экзогенных Wnt3a и R-спондина

способно регулировать спецификацию гистологического подтипа и клеточную пластичность желудочного рака диффузного типа или нормальных желудочных органоидов с двойным нокаутом *CDH1/TP53* , позволяя им адаптироваться к форме перстневидных или неперстневидных клеток соответственно [49]. Эти наблюдения тесно связаны с ситуацией *in vivo* в человеческом GC, где клетки перстневидного типа видны в областях с низким RSPO3, а диффузная морфология клеток без перстневидного типа связана со стромальной экспрессией RSPO3.

Аналогично, PDAC можно транскрипционно разделить на два состояния клеток: более агрессивное базальноподобное и классическое. Используя секвенирование РНК отдельных клеток, исследование выявило промежуточное состояние клеток, через которое могут проходить раковые клетки при переходе между классическим и базальноподобным состояниями [83]. Примечательно, что исследование с использованием биопсий пациентов и соответствующих органоидов показало, что органоиды имели тенденцию к потере базального состояния *in vitro*, которое затем можно было восстановить путем изъятия основных факторов ниши в культуральной среде. Органоиды, обработанные TGF-β, были направлены в сторону более агрессивного, базальноподобного состояния, тогда как изъятие TGF-β приводило к тому, что органоиды возвращались в классическое состояние. Эти результаты предполагают, что условия роста или микросреда могут модулировать пластичность клеток и состояния клеток. Различные состояния клеток затем приводят к различной чувствительности к противораковым препаратам. Эти данные согласуются с другим исследованием по отслеживанию линий, в котором органоиды PDAC, экспрессирующие многоцветные флуоресцентные белки, были трансплантированы мышам. Эксперимент показал, что классические и базальные фенотипы могут быть получены из одной привитой клетки [84]. Таким образом, подтип опухоли в большей степени определялся микроокружением, а не только генетикой.

Эта работа ясно показывает, что органоиды имеют большие перспективы для будущих исследований механизмов пластичности опухолей и переходов состояний клеток при раке человека, двух процессов, которые невозможно изучить в клеточных линиях из-за их ограниченной гетерогенности. В сочетании с редактированием CRISPR-Cas9 для включения репортеров, отслеживанием линий и кассетами абляции в раковые органоиды с последующей ксенотрансплантацией мышам, технология органоидов может быть дополнительно использована для оценки субпопуляций опухолевых клеток, включая раковые стволовые клетки, а также во время инициации рака, метастазирования и переносимости лекарств. Например, *EGFP* и кассеты отслеживания линий, включенные в локус *LGR5* в органоидах CRC, полученных от пациентов, подтвердили, что раковые стволовые клетки EGFP-LGR5+ инициируют опухолевые ксенотрансплантаты с высокой эффективностью и что опухолевые клетки принимают иерархическую организацию, напоминающую организацию нормального эпителия толстой кишки [85]. В двух других исследованиях проводилась ксенотрансплантация органоидов CRISPR-инженерии колоректального рака с использованием кассет абляции, специфичных к *LGR5,* для наблюдения за эффектом уничтожения стволовых клеток рака LGR5+ в опухолях [86, 87]. В обоих исследованиях устранение клеток LGR5+ изначально блокировало рост опухоли, но после того, как специфическая абляция *LGR5* была отключена, повторный рост опухоли был вызван популяцией клеток Lgr5− из дифференцированных линий, которые регенерировали клетки Lgr5+. Метастазы в печень были отложены до повторного появления этих клеток Lgr5+.[85]Ксенотрансплантированные органоиды, несущие индуцируемый репортер Lgr5-EGFP-Confetti, продемонстрировали, что метастазы в печени засеиваются клетками Lgr5−, но метастатический рост зависит от повторного появления клеток Lgr5+ [88]. Система отслеживания генетической линии в ксенотрансплантированных органоидах человеческого рака колоректального рака выявила спящие клетки LGR5+p27+, которые обеспечивали обратимое состояние лекарственной устойчивости, зависящее от адгезии к *COL17A1* на границе раздела, клетка-матрица [89]. Аналогичным образом, другое исследование по отслеживанию происхождения выявило отдельную популяцию стволовых клеток КРР, состоящую из латентных клеток Lgr5+ с высокой экспрессией Mex3a, которые могли подавлять программу генов Wnt/стволовых клеток, чтобы защитить себя от химиотерапии, и стали преобладающей остаточной популяцией опухоли после лечения [90]. В то же время другое исследование показало, что остаточные опухолевые клетки, ответственные за рецидив колоректального рака, характеризовались высокой экспрессией EMP1, а абляция клеток EMP1+ с помощью CRISPR предотвратила рецидив метастазов у мышей с ксенотрансплантацией [91].

Способность сохранять внутриопухолевую гетерогенность и субклональную архитектуру

первичной опухоли является еще одной уникальной особенностью раковых органоидов. В когорте органоидов GC несколько случаев показали субпопуляции клеток с онкогенной амплификацией *ERBB2* или *FGFR2* и без нее, имитируя региональную гетерогенность, наблюдаемую в опухолевой ткани *in vivo*. Поразительно, но эта гетерогенность сохранялась в долгосрочной культуре. Также было показано, что раковые органоиды сохраняют вирусные геномы в долгосрочной культуре, что позволяет проводить исследования инфекционно-ассоциированных видов рака. Органоиды, полученные из карцином желудка или носоглотки (НПК), ассоциированных с вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), смогли сохранить вирусный геном ВЭБ и вирусную латентность [35, 47], в отличие от большинства клеточных линий 2D NPC, которые уже утратили свои геномы EBV. Таким образом, раковые органоиды более точно воспроизводят первичную опухоль по сравнению с клеточными линиями 2D, предлагая мощный инструмент для исследования сигнальных путей, внутриопухолевой гетерогенности и инфекционно-ассоциированного опухолеобразования.

Возможность культивировать здоровые эпителиальные клетки из самых разных органов открывает перспективы для изучения поэтапного развития рака и понимания последствий воздействия канцерогенов окружающей среды. Рак эпителиальных органов является наиболее распространенным злокачественным новообразованием, связанным со старением населения, но факторы, вызывающие накопление соматических мутаций в ASC, и то, как они способствуют злокачественной трансформации, не до конца изучено.

Кишечная крипта предлагает уникальную модель для изучения соматических мутаций и клональной экспансии. Объединенные органоидные культуры, полученные из слизистой оболочки кишечника , как правило, являются поликлональными и получены из набора многих желез, причем каждая отдельная крипта характеризуется субклональными соматическими мутациями, которые в основном состоят из мутаций-пассажиров. ISC конкурируют в пределах отдельных крипт, в конечном итоге дрейфуя в сторону моноклональности. Таким образом, клонированные органоиды из отдельных нормальных клеток позволяют проводить функциональные исследования, которые могут быть бесценны для понимания процессов, связанных с раком. Например, клонированные органоиды, выделенные от пациентов с язвенным колитом, показали повторяющиеся мутации усечения, которые часто были биаллельными и включали путь IL-17-NF-κB, что согласуется с клональной экспансией, наблюдаемой в тканях язвенного колита [92-94]. Хотя эти мутации не были обогащены при раке, они придавали устойчивость к апоптозу, вызванному ИЛ-17А, в клонированных органоидах, улучшая выживаемость клеток в воспалительной среде.

Клонированные здоровые органоиды также можно подвергать длительному культивированию в отсутствие или в присутствии лекарственных препаратов, инфекционных агентов или с использованием редактирования генов CRISPR-Cas9 для выявления врожденной генетической нестабильности, характеристики мутационных сигнатур и идентификации мутагенных агентов. В конечной точке культивирования может быть выполнен последний этап клонирования для расширения отдельных клонированных клеток для секвенирования. Впоследствии мутации из родительского клона отфильтровываются для выявления мутаций, которые были приобретены *in vitro*.

В одном исследовании CRISPR-Cas9 использовался для удаления генов репарации ДНК, *MLH1* и *NTHL1*, с последующим субклонированием и WGS. Они обнаружили, что органоиды с дефицитом *MLH1* имели мутационный профиль, соответствующий CRC с дефицитом репарации несоответствий, тогда как органоиды с дефицитом *NTHL1* имели профиль, связанный с мутационной сигнатурой, которая ранее была выявлена у одной пациентки с раком молочной железы с бессмысленной мутацией зародышевой линии в *NTHL1* [95]. Кроме того, воздействие на кишечные органоиды комбинации двух препаратов, ганцикловира (GCV) и микофенолата мофетила (MMF), воссоздало мутационную сигнатуру, наблюдаемую у пациента с колоректальным раком, который ранее получал эти два препарата для лечения цитомегаловирусной инфекции и реакции «трансплантат против хозяина», что позволяет предположить, что мутационная сигнатура в органоидах была вызвана GCV и дополнительно усилена MMF [96]. Напротив, нормальные желудочные или кишечные органоиды пациентов с синдромом Линча, имеющих гетерозиготную мутацию зародышевой линии , не демонстрировали повышенных показателей мутаций , что указывает на отсутствие гаплонедостаточности до установления второй инактивирующей мутации [63].

Повторение мутационных сигнатур в органоидах может быть достигнуто путем

инфицирования микробами. Так, кишечные органоиды, подвергавшиеся в течение 5 месяцев повторным люминальным инъекциям генотоксичных *pks* $^{+}$ *Escherichia coli*, патогена, известного тем, что он вызывает двухцепочечные разрывы ДНК в культивируемых клетках, продемонстрировали мутационную сигнатуру, также наблюдаемую в подгруппе пациентов с КРР, но не при других типах рака. Это открытие подразумевает прошлое воздействие pks+ *E. coli* как потенциальный канцерогенный фактор у этих пациентов [97]. Здоровые человеческие органоиды также были инфицированы другими типами микробов, включая бактерии и вирусы, которые, как известно, связаны с развитием рака. Примерами являются инфицирование человеческих желудочных органоидов *Helicobacter pylori*, патогеном, вызывающим язву желудка и GC, что приводит к воспалительной реакции, обычно наблюдаемой *in vivo* [50] и увеличение пролиферации эпителия [98]. В другом исследовании были получены органоиды из нормальной ткани слизистой оболочки полости рта человека и подвергнуты отдельному инфицированию вирусами простого герпеса и папилломавируса человека [21]. Обе органоидные линии показали увеличение вирусной ДНК, которое сохранялось даже после пассирования, что подразумевает длительную инфекцию. Кроме того, модель iPSC и ASC подчеркивает потенциал моделей органоидов печени человека для изучения инфекции вируса гепатита B (HBV) и репликации *in vitro*, с возможным будущим применением для исследования прогрессирования HBV в HCC [99, 100]. Эти исследования способствовали разработке методологий для изучения участия микробиома в развитии опухолей, которое ранее было плохо изучено из-за отсутствия надлежащих моделей *in vitro* и на животных.

Создание опухолевых органоидов непосредственно из образцов пациентов остается сложной задачей. В качестве альтернативы органоиды ASC могут быть получены из генетически модифицированных мышиных моделей (GEMM) и быстро расширены *in vitro* для создания биобанков [101, 102]. Нормальные или ранние неопластические органоиды человека или GEMM служат хорошим инструментом для изучения ранних путей эволюции рака. Исследование совместного культивирования показало, что органоиды мыши с мутацией Apc секретируют Notum. Когда эти органоиды с мутацией Apc были совместно культивированы с кишечными органоидами мыши дикого типа, Notum подавлял рост органоиды дикого типа, заставляя ISC дикого типа дифференцироваться и вызывая клональную фиксацию ISC с мутацией Apc [103, 104]. В соответствии с этими результатами лечение ингибитором Notum до индукции мутации Apc у мышей снижало образование аденом. Эти исследования подчеркивают, как генетические мышиные модели и органоиды могут работать в синергии и использоваться для существенного ускорения научных открытий. Органоиды мышей легко геномно редактировать, чтобы вызвать мутации драйверов, и их можно привить сингенным и иммунокомпетентным мышам для моделирования опухолегенеза и метастазирования. Например, для моделирования развития CRC органоиды мышей, несущие различные комбинации мутаций драйверов, полученные либо из опухолей/метастазов GEMM, либо посредством редактирования генов *ex vivo* , были трансплантированы в стенку слепой кишки сингенных мышей для аутохтонного образования опухолей и развития метастазов [102, 105, 106]. Подобные модели подтвердили роль сигнализации TGF-β в микросреде опухоли в стимуляции уклонения от иммунного ответа и опосредовании метастазов рака. В другом исследовании была создана мышиная модель рака толстой кишки, подобная человеческой, и были идентифицированы клетки EMP1 $^{+}$ как клетки, вызывающие метастатический рецидив [91]. Аналогичным образом органоиды опухолей молочной железы можно получить из опухолей GEMM в течение 2-3 недель и ортотопически трансплантировать для формирования опухолей, которые повторяют эпителиальную морфологию и реакцию на лекарственные препараты исходной опухоли [101]. Также были разработаны иммунокомпетентные органоидные мышиные модели рака яичников [107] и аденокарцинома легких [108], которые представляют более надёжную платформу для изучения патогенеза рака по сравнению с GEMM, создание которых является трудоёмким и технически сложным процессом.

CRISPR-Cas9 использовался для создания здоровых органоидов с комбинацией драйверных мутаций для воссоздания рака. Два основополагающих исследования одновременно продемонстрировали, что сочетание сконструированных мутаций *APC , TP53 , KRAS* или *PIK3CA* и *SMAD4* привело к образованию человеческих кишечных органоидов с ростом, независимым от всех факторов ниши стволовых клеток, и способностью формировать опухолевые трансплантаты с признаками инвазивной карциномы у мышей [109, 110]. Ортотопическая трансплантация этих четверных мутантных органоидов в слепую кишку мыши вызвала макроскопические метастазы в

легкие и печень [111]. Сверхэкспрессия Noggin в человеческих органоидах с тройным нокаутом (*APC* $^{-/-}$, *TP53* $^{-/-}$ и *KRAS* ^{G12D}), которая имела ограниченный потенциал роста *in vivo*, когда Noggin не был сверхэкспрессирован, привела к метастазам в печени, аналогичным органоидам с четверным мутантом. Поскольку эти органоиды могли расти независимо от всех факторов ниши, результаты повышают вероятность того, что независимость ниши может опосредовать метастазирование. Однако нельзя исключать и другие, пока неизвестные факторы. Например, первичный CRC, полученный от пациента, и парные метастатические органоиды всегда демонстрировали конкордантную зависимость от фактора ниши, а некоторые метастатические органоиды печени, полученные от пациента, оставались в высокой степени зависимыми от них [24]. Нестабильность хромосом также может быть способствующим фактором [110-116].

Опубликовано несколько моделей, описывающих путь зубчатой неоплазии CRC. В одном исследовании были сконструированы крупные хромосомные перестройки для генерации генов слияния R-спондина вместе с мутациями *BRAFV*^{600E} и *TP53* в органоидах толстой кишки человека [117-120]. Ксенотрансплантация этих органоидов в толстую кишку мыши привела к образованию зубчатых поражений, воспроизводящих морфологию человеческих SSA. Сверхэкспрессия *GREM1* в дополнение к *BRAFV* ^{600E}, нокауту *TP53* и слиянию R-спондина в органоидах привела к образованию ксенотрансплантатов, которые образовывали полиповидные опухоли у мышей с гистологическими признаками, похожими на традиционные зубчатые аденомы. Интересно, что человеческие SSA-органоиды RNF43 $^{-/-}$ были менее зависимы от R-спондина по сравнению с нормальными толстокишечными органоидами, что обеспечивает функциональную поддержку патогенной роли мутации RNF43 в пути зубчатой неоплазии [56]. В другом исследовании нормальные органоиды толстой кишки, сконструированные с мутацией *BRAF* ^{V600E}, подвергались лечению TGF-β. TGF-β и вызывали апоптоз в нормальных органоидах, но не в мутантных органоидах *BRAF* ^{V600E}, которые вместо этого вызывали эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) и транскрипционный профиль, имитирующий те, которые наблюдаются в зубчатых неоплазиях человека [121]. Помимо генетических поражений, вызванных мутациями генов-драйверов рака, роль нестабильности хромосом во время прогрессирования опухоли также может быть изучена с использованием органоидов. В частности, нормальные органоиды толстой кишки, сконструированные с пятью мутациями-драйверами опухоли (*APC, SMAD4, TP53, KRAS* ^{G12V} и *PIK3CA* ^{E545K}), были способны образовывать микрометастазы в печени после инъекции в селезенку мышей [110]. Напротив, хромосомно нестабильные аденомные органоиды, сконструированные с тремя драйверами (*SMAD4, TP53, KRAS* ^{G12V} или *PIK3CA* ^{E545K}), индуцировали макрометастазы в печени, образуя крупные метастатические опухоли, демонстрирующие гистологическую злокачественность. С постоянно растущей доступностью пренеопластических или ранних неопластических органоидных моделей, которые охватывают различные формы генетических или эпигенетических аберраций, исследователи теперь имеют беспрецедентные возможности для уточненного изучения факторов, способствующих возникновению опухолей.

Геномные скрининги CRISPR также использовались в нормальных органоидах для выявления целей онкогенеза. Два исследования проводили скрининг CRISPR-Cas9 в кишечных органоидах человека и выявили основные мишени, которые обеспечивают устойчивость к ингибированию роста, опосредованному TGF-β, что необходимо для развития CRC [122, 123]. Аналогичный скрининг был проведен на органоидах желудка мышей, подвергнутых отмене Wnt3a в культуре, для выявления ранее неучтенных факторов, способствующих активации Wnt [124]. В целом, эти исследования в нормальных или ранних неопластических органоидах показали, что редактирование генома нескольких генов-драйверов рака, в последовательности или в комбинации, может моделировать патогенез рака *in vivo*, предоставляя ценную информацию о функциях этих генов в прогрессировании рака. Более того, успех применения скрининга CRISPR по всему геному в нормальных органоидах служит доказательством концепции для ее будущего применения в опухолевых органоидах в качестве средства выявления генетических уязвимостей для ответа на лечение или резистентности.

Органоиды также могут быть получены из PSC, как эмбриональных, так и индуцированных. Человеческие эмбриональные стволовые клетки подчиняются этическим нормам, которые не позволяют их широко использовать. Напротив, iPSC включают перепрограммирование соматических клеток обратно в плюрипотентность. Первый шаг включает направленную дифференциацию iPSC в три зародышевых слоя (энтодерму, эктодерму и мезодерму). Затем клетки культивируются в

трехмерной матрице со специфическими факторами роста и сигнализации, которые направляют их к линиям желаемого органа [125]. Одной из основных задач этой модели является точная имитация in vitro всех биохимических сигналов in vivo , которые управляют дифференциацией клеток и трехмерной организацией тканей в точно правильные моменты времени, в нужных местах и концентрациях, которые будут иметь место во время эмбрионального развития. Органоиды, полученные из PSC, были созданы путем первоначальной обработки человеческих PSC активином А для управления энтодермальной идентичностью, а затем инкубации с FGF4 и Wnt3a для содействия спецификации прямой кишки. Этот протокол в конечном итоге привел к появлению кишечных органоидов, которые экспрессировали специфические кишечные маркеры, такие как CDX2 и KLF5 [126]. С тех пор технология органоидов PSC широко используется для моделирования заболеваний [127, 128]. На сегодняшний день успешно создано множество органоидов, полученных из PSC, в том числе для мозга [129], желудка [98], легких [130], поджелудочной железы [131], пищевода [132], почек [133], печени [134]. Все эти модели дали важные знания о биологии стволовых клеток и развитии органов [135].

Однако одним важным предостережением для использования органоидов, полученных из PSC, для исследования рака является то, что у них отсутствуют приобретенные мутации генов рака , которые органоиды ASC получили непосредственно из опухолевой ткани, сохраненной в культуре. Чтобы обойти эту проблему, были предприняты попытки напрямую перепрограммировать раковые клетки в PSC, чтобы понять неопластические процессы. Однако было относительно мало успешных результатов, большая часть которых в основном касается рака крови, включая PSC, полученных из острого миелоидного лейкоза [136], хронического миелоидного лейкоза [137, 138] и ювенильного миеломоноцитарного лейкоза [139]. Несмотря на то, что iPSC, полученные из лейкозных клеток, несли те же генетические аберрации, они, как правило, не обладали лейкемогенным потенциалом. Однако, когда их индуцировали для дифференциации в гемопоэтические стволовые клетки, их лейкозный фенотип снова проявился [136]. Тем не менее, этот подход дает возможность банкировать лейкозные образцы и изучать взаимодействие между мутациями, специфичными для пациента, и фенотипами заболевания. Альтернативной стратегией является инженерия онкогенных мутаций в клетках PSC, с последующей индуцированной дифференциацией в определенные органы для моделирования рака поджелудочной железы, легких, желудка, сетчатки и мозга.. Особенно успешным оказался метод создания мозговых органоидов из PSC, где редактирование CRISPR-Cas9 использовалось для создания мозговых органоидов с большим количеством наиболее частых одиночных и комбинированных мутаций, наблюдаемых в опухолях мозга. Полученные неопластические церебральные органоиды представляли собой различные типы опухолей мозга, включая примитивные нейроэктодермальные опухоли центральной нервной системы и глиобластому.

Кроме того, дифференцированные церебральные органоиды, полученные из PSC , использовались в качестве здоровых суррогатов мозга для изучения взаимодействия опухолевых и глиальных клеток. Совместное культивирование церебральных органоидов со стволовыми клетками глиомы или традиционные линии клеток рака легких, можно было моделировать среду мозга и анализировать миграцию клеток и взаимодействие клеток, имитируя вторжение глиобластомы или эпителиальную злокачественную опухоль, которая метастазировала в мозг [140, 141].

Наконец, перепрограммирование нормальных соматических клеток от пациентов с синдромом предрасположенности к раку в PSC использовалось для моделирования различных типов рака у пациентов с мутациями генов APC , GNAS или BRCA1 зародышевой линии.

Тестирование лекарственных препаратов на органоидных моделях

Одним из преимуществ *in vitro* систем по сравнению с животными моделями является их способность к высокопроизводительным скринингам чувствительности к препаратам. В частности, линии раковых клеток десятилетиями использовались для оценки эффективности препаратов перед применением в моделях *in vivo*. Об этом свидетельствуют исследования, проведенные The Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) [142] и The Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC) [143], целью которых является создание ресурсной базы данных для выявления коррелятивных связей между ответами на лекарства и геномами рака и, в свою очередь, для руководства персонализированным лечением. Аналогичным образом, органоиды, полученные от пациентов с раком, могут быть адаптированы для крупномасштабного роботизированного скрининга лекарств [22]. Исследование, подтверждающее концепцию, с использованием органоидов колоректального рака, полученных от пациентов, проиллюстрировало эффективность цетуксимаба и Нутлина-3а в

отношении ингибирования роста органоидов рака дикого типа *KRAS* и *TP53* [22]. Было проведено множество других анализов скрининга лекарственных препаратов в раковых органоидах, включая молочную железу, мочевой пузырь, печень [31, 32, 144], яичники [36, 51, 145], поджелудочную железу, простату [14, 146], и желудок. Некоторые из полученных *in vitro* реакций на лекарства были дополнительно подтверждены в экспериментах *in vivo* с использованием ксенотрансплантатов. Недавние усовершенствования протоколов позволили проводить скрининг нормальных, прекурсорных и опухолевых органоидов, повысили масштабируемость и расширили область считывания данных от анализов жизнеспособности клеток до высокосодержательного фенотипирования на основе изображений [147, 148]. Были также описаны благоприятные корреляции между генами и лекарственными препаратами:

- органоиды рака молочной железы с повышенной экспрессией *HER2,* которые были чувствительны к афатинибу;

- мутантные желудочные органоидых ARID1A, - чувствительны к атаксии-телеангиэктазии и ингибиторам Rad3-связанной киназы (ATR);

- органоиды рака поджелудочной железы с мутацией *MTAP* - отреагировали на ингибитор PRMT5;

- органоиды рака толстой кишки с эпигенетическим подавлением *CHFR* , которые демонстрировали чувствительность к паклитакселу [148].

Помимо использования раковых органоидов для подтверждения известных ассоциаций генов и лекарств, была тщательно протестирована способность органоидных моделей предсказывать клинические ответы на стандартные терапии. Биобанк метастатического КРР и гастроэзофагеальных органоидов продемонстрировал согласованные ответы между пациентами и раковыми органоидами на стандартное лечение, паклитакселом и 5-фторурацилом [64]. Исследования с другими типами раковых органоидов также продемонстрировали их надежность в прогнозировании терапевтического ответа пациентов [16, 21, 37, 47, 51, 149].

Более того, продольные органоиды PDAC, полученные от одного и того же пациента, отражали постепенное приобретение устойчивости к химиотерапевтическому лечению. Помимо прогнозирования реакции на лекарственные препараты, несколько современных органоидных моделей рака прямой кишки продемонстрировали потенциал для прогнозирования реакции на химиолучевую терапию *in vitro*, а также *in vivo* при приживлении в прямую кишку мыши посредством эндолюминальных инъекций [26, 28]. Примечательно, что в большинстве этих исследований участвовало лишь небольшое количество пациентов, что потребовало проведения более масштабных корреляционных исследований и более длительного наблюдения за пациентами для подтверждения истинного прогностического потенциала этих органоидов, полученных от пациентов.

Еще одной важной задачей скрининга лекарственных средств на основе органоидов является выявление новых терапевтических мишеней. Предварительные исследования скрининга лекарственных средств на различных когортах органоидов показали обнадеживающие данные, предлагающие несколько стратегий лечения онкологических больных, несмотря на необходимость дальнейшей проверки в более крупной когорте раковых органоидов. Например, подгруппа первичных органоидов рака печени показала ингибирование роста при лечении ингибитором внеклеточной сигнально-регулируемой киназы (ERK) (SCH772984), но они были устойчивы к большинству других клинически значимых соединений, которые были протестированы, с результатами, подтвержденными на мышах с ксенотрансплантатами [31]. Кроме того, модель органоида рабдоидного рака у детей и соответствующая модель PDX выявили неддиляцию как привлекательную терапевтическую цель [150]. Что еще более важно, это исследование оценило токсичность ингибитора неддиляции, MLN4924, на здоровых тканях, включая почки, гепатоциты и органоиды тонкого кишечника, подчеркнув возможность использования нормальных органоидов для тестирования токсичности.

В другом исследовании была создана панель биспецифических антител двойного нацеливания против раковых стволовых клеток, а биобанк органоидов CRC, полученных от пациентов, использовался для функционального скрининга [29]. При этом парные здоровые органоиды применялись для оценки токсичности терапевтических антител на ранней стадии разработки. Исследование успешно идентифицировало потенциальное терапевтическое биспецифическое антитело с плечом EGFR и LGR5 , MCLA-158, против нескольких типов эпителиального рака,

экспрессирующих LGR5. Хотя органоиды рака ASC являются исследовательской моделью для выявления взаимодействий между лекарственными средствами и генами, органоиды, полученные из ASC или PSC с онкогенными мутациями, созданными с помощью CRISPR, имея низкий фон соматических мутаций, могут точно идентифицировать синтетических летальных партнеров или препараты (отдельно или в комбинации), которые могут воздействовать на определенные гены или пути. Например, высокопроизводительный скрининг >2000 малых молекул в желудочных органоидах с нокаутом ARID1a/TP53 идентифицировал чувствительность мутантных клеток ARID1a к ингибиторам гистондеацетилазы и сурвивина [118]. Аналогичным образом был проведен скрининг малых молекул для эпигенетических препаратов на органоидах рака мочевого пузыря, полученных от мышей, несущих мутации *Trp53, Rb1* и *Pten*, а также сверхэкспрессию *Kras* и *c-Myc,* что позволило идентифицировать *Sirt1* как терапевтическую мишень [151]. Кроме того, был успешно проведен скрининг лекарственных препаратов, содержащих небольшую панель ингибиторов EGFR, на неопластических церебральных органоидах, полученных изPSC [115]. Несмотря на то, что для лечения требовался длительный период в 40 дней, это исследование продемонстрировало ингибирующий рост афатиниба на подгруппе органоидов GBM с повышенной активацией EGFR. По сравнению с нормальными органоидами сетчатки, лечение карбоплатином, рапамицином или двумя ингибиторами селезеночной тирозинкиназы (SYK) вызывало апоптоз клеток в моделях органоидов ретинобластомы, полученных из PSC, с дефектом RB1 , что предоставило альтернативную модель, помимо клеточных линий ретинобластомы человека , для дальнейшей проверки их эффективности [120]. Наконец, органоиды, полученные из ASC из проверенных моделей трансгенных мышей, позволяют быстро охарактеризовать реакции на лекарственные препараты и их клеточные, механистические, функциональные и фармакологические эффекты. Желудочные органоиды, полученные из образцов опухолей моделей трансгенных мышей с определенными мутациями, представляющими различные подтипы GC, показали различные реакции на лекарственную терапию *in vitro* [152]. Другое исследование показало, что линии диффузных клеток рака желудка, а также желудочные органоиды, полученные из трансгенной мышиной модели рака желудка диффузного типа, экспрессирующие $RhoA^{Y42C/+}$ в сочетании с потерей *Cdh1*, были чувствительны к ингибиторам фокальной адгезивной киназы (FAK), что подтверждает актуальность FAK в качестве терапевтической мишени при этом типе рака [153].

Таким образом, парные модели органоид-мышь позволяют эффективно, и параллельно тестировать реакцию на лекарственные препараты, обусловленные конкретным набором геномных аберраций, обеспечивая беспристрастный и воспроизводимый анализ.

Хотя модели PDX считаются надёжным представлением опухолей *in vivo*, они характеризуются высокой стоимостью, имеют низкий процент успеха трансплантации и требуют длительного времени культивирования. Модели органоидных ксенотрансплантатов, полученные от пациентов, выглядят более предпочтительно. Наиболее простой метод заключается в подкожной инъекции здоровых, раковых или генетически модифицированных органоидов совместно с матригелем в мышей [109, 119, 153], которая не требует продвинутых хирургических навыков для выполнения и дает легко наблюдаемые показания. Однако подкожная трансплантация органоидов может иметь низкие показатели приживления и не воспроизводит естественную микросреду опухоли, поскольку отсутствие сосудистой сети препятствует поставке нишевых факторов, необходимых для роста опухоли. Для преодоления этого ограничения нескольким группам несколько групп вводили раковые/сконструированные органоиды в почечную субкапсулу или селезенку голых мышей, обе из которых являются высоковаскулярными средами, которые обеспечивают обильное снабжение пересаженных органоидов питательными веществами, гормонами, факторами роста и кислородом, значительно увеличивая скорость приживления [21, 110]. Трансплантированные клетки могут напрямую попадать в кровоток и метастазировать в печень, где они размножаются в направлении вторичных поражений, что делает ее идеальной платформой для изучения метастазов в печени человеческих опухолей. Тем не менее, эта модель все еще не может воспроизвести естественную микросреду опухоли рака. Это ограничение проиллюстрировано исследованием, в котором Wnt и R-спондин-зависимые GC-органоиды не смогли прижиться в почечной субкапсуле, если они не были совместно введены с Wnt и R-спондин-продуцирующими фибробластами, полученными из кишечных органоидов [45].

Было разработано несколько моделей ортотопических ксенотрансплантатов, предлагающих более физиологически релевантную микросреду для формирования ксенотрансплантата. Однако

они предполагают сложные и инвазивные хирургические процедуры. По сравнению с почечной капсулой или подкожным пространством, среда нативной ткани обеспечивает факторы роста, которые поддерживают приживление органоида, о чем свидетельствует повышенная эффективность ксенотрансплантата органоидов GC диффузного типа в толстой кишке, скорее всего, из-за наличия Wnt и R-спондина в этой среде [49]. До настоящего времени раковые органоиды вводились непосредственно в хвостовую часть поджелудочной железы, серозную оболочку желудка, и яичниковую сумку мышей NGS, причем каждое из этих исследований демонстрировало способность органоида воспроизводить опухолеобразующий процесс. В нескольких исследованиях также была успешно выполнена ортотопическая трансплантация органоидов мыши в слизистую оболочку слепой кишки, что не требовало хирургических разрезов [102, 105, 106]. Этот метод впоследствии был адаптирован для трансплантации органоидов колоректального рака полученных из толстой кишки человека в толстую кишку мышей [154]. Такие методы позволяют проводить эндоскопический мониторинг формирования ксенотрансплантата и могут применяться к нормальным человеческим органоидам для отслеживания клеточных линий *in vivo*. В другом исследовании сообщалось, что чувствительность к препаратам *in vitro* может быть воспроизведена в их ортотопической модели *in vivo* [37]. В целом эти работы подчеркивают высокую ценность моделей ортотопических ксенотрансплантатов на основе органоидов для углубления нашего понимания опухолеобразования в соответствующем физиологическом контексте.

Проблемы и перспективы применения органоидных технологий

Несмотря на то, что технология органоидов произвела революцию в исследовании рака и имеет широкий спектр потенциальных применений, она все еще сталкивается с техническими ограничениями. Хотя органоиды, полученные из опухолей ASC, как правило, геномно стабильны [13, 31, 32, 47], существуют исключения. Как обсуждалось выше, нормальные органоиды, полученные из объединенных кишечных желез, могут дрейфовать в сторону клонального доминирования при длительном культивировании [27], что ограничивает их использование для полногеномных скринингов CRISPR. Органоиды также могут получать новые мутации в долгосрочной культуре, хотя такие мутации, как правило, субклональные, случайные и в основном затрагивают некодирующие области. Органоиды с присущей им геномной нестабильностью могут приобретать мутации быстрее, как показано в исследовании с микросателлитным нестабильным опухолевым органоидом [17]. Интересно, что такая присущая нестабильность была использована для моделирования ранних стадий эволюции опухолей. Например, одно исследование отслеживало изменения числа копий хромосом в желудочных органоидах, сконструированных с мутацией *TP53*, и отметило прогрессирующую анеуплоидию в течение 2 лет [155]. Даже когда геномные и мутационные профили органоидов стабильны, фенотипическая нестабильность может быть результатом изменений условий роста. Подгруппа органоидов уротелиального рака продемонстрировала люминальный подтип в родительской опухоли, но затем перешла в базальный подтип как органоиды, несмотря на отсутствие обнаруживаемых изменений в частоте субклональных мутаций. Эти базальные органоиды затем вернулись к люминальному фенотипу при выращивании в качестве ксенотрансплантатов, что предполагает, что условия культивирования органоидов по сравнению со средой ксенотрансплантата были ответственны за эту фенотипическую пластичность. Очевидно, что лучшее понимание факторов, которые модулируют фенотипы, приведет к улучшению моделей органоидов. Уже сейчас модификация факторов роста привела к улучшению спецификации секреторной линии в кишечных органоидах и спецификация гепатоцитов в органоидах печени. Культивирование в гипоксических или независимых от прикрепления условиях также может обеспечить преимущество отбора опухолевых органоидов по сравнению с нормальными [20, 24, 46].

В настоящее время высокопроизводительные скрининги лекарств с использованием органоидов в основном включают препараты, которые оказывают прямое воздействие на опухолевые клетки. Если не использовать более сложные модели совместного культивирования, органоиды сами по себе не дадут полезных результатов при скрининге лекарств, которые блокируют взаимодействия опухоль-строма или опухоль-иммунитет. Наличие нишевых факторов может еще больше ограничить типы малых молекулярных ингибиторов, используемых в скринингах. Например, ингибиторы BMP и TGF-β требуются во время рутинного культивирования органоидов, что предотвращает использование связанных агонистов из списка лекарств. Скрининг

ингибиторов Wnt возможен только при наличии аутокринной продукции Wnt опухолевым органоидом, но он не сможет смоделировать блокировку источника Wnt из опухолевой стромы. Преобладание пролиферативных стволовых клеток в культурах органоидов может преувеличивать их реакцию на препараты, нацеленные на клеточный цикл. Наконец, было показано, что условия культивирования и размер органоида изменяют пластичность клеток, как показано в органоидах PDAC и CRC, что, в свою очередь, может влиять на реакцию на лекарства [83, 156]. По этой причине открытия, основанные на скрининге органоидных препаратов, потребуют обширной проверки посредством доклинических исследований и клинических испытаний.

Современные подходы культивирования органоидов включают некоторые компоненты микросреды, такие как стромальные клетки , сосудистую сеть и иммунные клетки, в органоиды, чтобы сделать их более физиологически значимыми. Органоиды опухоли поджелудочной железы, совместно культивируемые с ассоциированными с раком фибробластами, показали, что экзогенное поступление Wnt из стромы может увеличить опухолеобразующий потенциал Wnt-зависимых клеток PDAC. Кроме того, совместное культивирование опухолевых органоидов и аутологичных Т-клеток привело к увеличению количества Т-клеток, специфичных для опухоли, реактивных у пациента, что является потенциальной клинической стратегией для адаптивного переноса Т-клеток [157].

Другой подход включал модель на основе 3D-биопечати, которая состояла из воссоздания органоидов рака мочевого пузыря в 3D с ключевыми компонентами тканевой стромы, включая ассоциированные с раком фибробласты, эндотелиальные клетки и гладкомышечные клетки, создавая многослойный «ассемблеоид» [11]. Эндотелиальные клетки способны формировать функциональные сосудистые сети, которые могли поддерживать рост опухоли. Анализ ассемблеоида выявил паракринную петлю, посредством которой секретируемый фибробластами BMP индуцировал экспрессию *FOXA1* в опухоли, что, в свою очередь, приводило к перепрограммированию энхансера для придания пластичности подтипа опухоли. Ассемблеоиды также были менее чувствительны к химиотерапевтическим препаратам по сравнению с обычными органоидами опухоли мочевого пузыря. Кроме того, была описана модель «Organ-On-VascularNet», которая включала совместное культивирование человеческого CRC или нормальных кишечных органоидов с модифицированной формой эндотелиальных клеток, которые сверхэкспрессируют эмбрионально-ограниченный фактор транскрипции 2 (ETV2) E26, специфичный для трансформации (ETS), что приводило к образованию проницаемой сосудистой сети [158]. Эта модель совместного культивирования показала, что повышение регуляции генов связано с плохим прогнозом и метастазами в органоидах CRC. Метод ALI был успешно адаптирован для создания 100 опухолевых органоидов ALI из 28 различных типов рака [159]. Другой метод генерировал микроорганосферы из игольчатых биопсий опухолей пациентов. Опухоли были переварены в суспензионные клетки в матригеле, затем смешаны с маслом для создания капель на основе микрофлюидики для последующего культивирования и скрининга лекарств, что позволило считывать данные через 14 дней [160]. Эти модели открывают перспективы для иммуноонкологических исследований. Отдельной задачей остаётся моделирование предраковой микросреды. Взаимодействие между предраковыми клетками и стромальными компонентами играет важную роль в онкогенезе. Действительно, органоиды пищевода Барретта у мышей , совместно культивируемые с нейтрофилами от мышей L2-IL-1B, увеличивают пролиферацию и рост органоидов дозозависимым образом, что предполагает прямое стимулирующее действие нейтрофилов на эпителиальные клетки BE [161]. В дальнейшем перспективным направлением станет разработка методов включения предраковой микросреды в органоидные модели.

Реагенты и протоколы, используемые для органоидной культуры, будь то для пренеопластических исследований или в более общем плане, необходимо будет улучшить и стандартизировать, если органоиды будут использоваться в клинических приложениях. В настоящее время матригель является наиболее широко используемым каркасом в протоколах органоидной культуры. Однако он имеет ряд существенных ограничений, так как он получен от животных, обладает неопределенным составом, нестабилен и варьируется от партии к партии и несет риск переноса иммуногенных компанентов. Все эти факторы препятствуют его использованию в клинической практике. Потенциальным решением могут стать методы суспензионного культивирования в условиях низкого процентного содержания матрицы [147, 162, 164] или использование матриц нового поколения [165] что позволит расширить применимость

органоидов в клинических условиях. Важно отметить, что линии органоидов в настоящее время преимущественно генерируются вручную и каждая лаборатория использует собственные модифицированные протоколы. Для повышения воспроизводимости и масштабируемости необходимо разработать единые стандартизированые и автоматизированые протоколы получения и пролиферации органоидов.

Заключение

Учитывая огромное разнообразие здоровых и раковых органоидов, которые были успешно созданы на сегодняшний день, разработка микрофлюидных методов для скрининга лекарственных препаратов и тестирование их на органоидных моделях в качестве дополнения к рецептам на лекарства имеет положительные терапевтические перспективы для пациентов в ближайшем будущем. Более того, органоидные технологии и их синергия с животными моделями имеют огромный потенциал в диагностике ранних стадий развития раковых заболеваний, тем самым предоставляя возможности для раскрытия эффективных стратегий профилактики рака. Таким образом клеточные биотехнологии открывают путь для их использования в трансляционных исследованиях по профилактике и персонализированном лечении онкологических заболеваний.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Всемирная организация здравоохранения. Global cancer burden growing – amidst mounting need for services [Электронный ресурс]. – URL: https://www.who.int/ru/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services (дата обращения: 06.02.2026).
2. Wang C., Tang Z., Zhao Y., Yao R., Li L., Sun W. Three-dimensional in vitro cancer models: a short review // Biofabrication. – 2014. – V. 6, №2. – P. 022001.
3. Vargo-Gogola T., Rosen J.M. Modelling breast cancer: one size does not fit all // Nat Rev Cancer. – 2007. – V. 7, №9. – P. 659-672.
4. Breitenbach M., Hoffmann J. Cancer models // Front Oncol. – 2018. – V. 8. – P. 401.
5. Schachtschneider K.M., Schwind R.M., Newson J., et al. The oncopig cancer model: an innovative large animal translational oncology platform // Front Oncol. – 2017. – V. 7. – P. 190.
6. Sato T., Vries R.G., Snippert H.J., van de Wetering M., Barker N., Stange D.E., van Es J.H., Abo A., Kujala P., Peters P.J., et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche // Nature. – 2009. – V. 459. – P. 262-265. – DOI: 10.1038/nature07935.
7. Kim K.A., Kakitani M., Zhao J., Oshima T., Tang T., Binnerts M., Liu Y., et al. Mitogenic influence of human R-spondin1 on the intestinal epithelium // Science. – 2005. – V. 309. – P. 1256-1259. – DOI: 10.1126/science.1112521.
8. Korinek V., Barker N., Moerer P., van Donselaar E., Huls G., Peters P.J., Clevers H. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4 // Nat Genet. – 1998. – V. 19. – P. 379-383. – DOI: 10.1038/1270.
9. Sato T., van Es J.H., Snippert H.J., Stange D.E., Vries R.G., van den Born M., Barker N., Shroyer N.F., van de Wetering M., Clevers H. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts // Nature. – 2011. – V. 469. – P. 415-418. – DOI: 10.1038/nature09637.
10. Sasaki T., Giltay R., Talts U., Timpl R., Talts J.F. Expression and distribution of laminin alpha1 and alpha2 chains in embryonic and adult mouse tissues: an immunochemical approach // Exp Cell Res. – 2002. – V. 275. – P. 185-199. – DOI: 10.1006/excr.2002.5499.
11. Ootani A., Li X., Sangiorgi E., Ho Q.T., Ueno H., Toda S., Sugihara H., Fujimoto K., Weissman I.L., Capecchi M.R., et al. Sustained in vitro intestinal epithelial culture within a Wnt-dependent stem cell niche // Nat Med. – 2009. – V. 15. – P. 701-706. – DOI: 10.1038/nm.1951.
12. Kim E., Choi S., Kang B., Kong J., Kim Y., Yoon W.H., Lee H.R., Kim S., Kim H.M., Lee H., et al. Creation of bladder assembloids mimicking tissue regeneration and cancer // Nature. – 2020. – V. 588. – P. 664-669. – DOI: 10.1038/s41586-020-3034-x.
13. Lee S.H., Hu W., Matulay J.T., Silva M.V., Owczarek T.B., Kim K., Chua C.W., Barlow L.J., Kandoth C., Williams A.B., et al. Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer // Cell. – 2018. – V. 173. – P. 515-528.e17. – DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.017.
14. Mullenders J., de Jongh E., Brousali A., Roosen M., Blom J.P.A., Begthel H., Korving J., Jonges T., Kranenburg O.W., Meijer R., et al. Mouse and human urothelial cancer organoids: A tool for

bladder cancer research // Proc Natl Acad Sci USA. – 2019. – V. 116. – P. 4567-4574. – DOI: 10.1073/pnas.1803595116.

15. Abdullah K.G., Bird C.E., Buehler J.D., Gattie L.C., Savani M.R., Sternisha A.C., Xiao Y., Levitt M.M., Hicks W.H., Li W., et al. Establishment of patient-derived organoid models of lower-grade glioma // Neuro Oncol. – 2022. – V. 24. – P. 612-623. – DOI: 10.1093/neuonc/noab273.

16. Sachs N., de Ligt J., Kopper O., Gogola E., Bounova G., Weeber F., Balgobind A.V., Wind K., Gracanin A., Begthel H., et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity // Cell. – 2018. – V. 172. – P. 373-386. – DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.010.

17. Lõhmussaar K., Oka R., Espejo Valle-Inclan J., Smits M.H.H., Wardak H., Korving J., Begthel H., Proost N., van de Ven M., Kranenburg O.W., et al. Patient-derived organoids model cervical tissue dynamics and viral oncogenesis in cervical cancer // Cell Stem Cell. – 2021. – V. 28. – P. 1380-1396. – DOI: 10.1016/j.stem.2021.03.012.

18. Boretto M., Maenhoudt N., Luo X., Hennes A., Boeckx B., Bui B., Heremans R., Perneel L., Kobayashi H., Van Zundert I., et al. Patient-derived organoids from endometrial disease capture clinical heterogeneity and are amenable to drug screening // Nat Cell Biol. – 2019. – V. 21. – P. 1041-1051. – DOI: 10.1038/s41556-019-0360-z.

19. Li X., Francies H.E., Secrier M., Perner J., Miremadi A., Galeano-Dalmau N., Barendt W.J., Letchford L., Leyden G.M., Goffin E.K., et al. Organoid cultures recapitulate esophageal adenocarcinoma heterogeneity providing a model for clonality studies and precision therapeutics // Nat Commun. – 2018. – V. 9. – P. 2983. – DOI: 10.1038/s41467-018-05190-9.

20. Tanaka N., Osman A.A., Takahashi Y., Lindemann A., Patel A.A., Zhao M., Takahashi H., Myers J.N. Head and neck cancer organoids established by modification of the CTOS method can be used to predict in vivo drug sensitivity // Oral Oncol. – 2018. – V. 87. – P. 49-57. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2018.10.018.

21. Driehuis E., Kolders S., Spelier S., Lõhmussaar K., Willems S.M., Devriese L.A., de Bree R., de Ruiter E.J., Korving J., Begthel H., et al. Oral mucosal organoids as a potential platform for personalized cancer therapy // Cancer Discov. – 2019. – V. 9. – P. 852-871. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1522.

22. Van de Wetering M., Francies H.E., Francis J.M., Bounova G., Iorio F., Pronk A., van Houdt W., van Gorp J., Taylor-Weiner A., Kester L., et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients // Cell. – 2015. – V. 161. – P. 933-945. – DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.053.

23. Weeber F., van de Wetering M., Hoogstraat M., Dijkstra K.K., Krijgsman O., Kuilman T., Gadellaa-van Hooijdonk C.G., van der Velden D.L., Peeper D.S., Cuppen E.P., et al. Preserved genetic diversity in organoids cultured from biopsies of human colorectal cancer metastases // Proc Natl Acad Sci USA. – 2015. – V. 112. – P. 13308-13311. – DOI: 10.1073/pnas.1516689112.

24. Fujii M., Shimokawa M., Date S., Takano A., Matano M., Nanki K., Ohta Y., Toshimitsu K., Nakazato Y., Kawasaki K., et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis // Cell Stem Cell. – 2016. – V. 18. – P. 827-838. – DOI: 10.1016/j.stem.2016.04.003.

25. Schütte M., Risch T., Abdavi-Azar N., Boehnke K., Schumacher D., Keil M., Yildiriman R., Jandrasits C., Borodina T., Amstislavskiy V., et al. Molecular dissection of colorectal cancer in pre-clinical models identifies biomarkers predicting sensitivity to EGFR inhibitors // Nat Commun. – 2017. – V. 8. – P. 14262. – DOI: 10.1038/ncomms14262.

26. Ganesh K., Wu C., O'Rourke K.P., Szeglin B.C., Zheng Y., Sauvé C.G., Adileh M., Wasserman I., Marco M.R., Kim A.S., et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation // Nat Med. – 2019. – V. 25. – P. 1607-1614. – DOI: 10.1038/s41591-019-0584-2.

27. Yan H.H.N., Siu H.C., Ho S.L., Yue S.S.K., Gao Y., Tsui W.Y., Chan D., Chan A.S., Wong J.W.H., Man A.H.Y., et al. Organoid cultures of early-onset colorectal cancers reveal distinct and rare genetic profiles // Gut. – 2020. – V. 69. – P. 2165-2179. – DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320019.

28. Yao Y., Xu X., Yang L., Zhu J., Wan J., Shen L., Xia F., Fu G., Deng Y., Pan M., et al. Patient-derived organoids predict chemoradiation responses of locally advanced rectal cancer // Cell Stem Cell. – 2020. – V. 26. – P. 17-26.e6. – DOI: 10.1016/j.stem.2019.10.010.

29. Herpers B., Eppink B., James M.I., Cortina C., Cañellas-Socias A., Boj S.F., Hernando-Momblona X., Glodzik D., Roovers R.C., van de Wetering M., et al. Functional patient-derived organoid

screenings identify MCLA-158 as a therapeutic EGFR x LGR5 bispecific antibody with efficacy in epithelial tumors // Nat Cancer. – 2022. – V. 3. – P. 418-436. – DOI: 10.1038/s43018-022-00359-0.

30. Calandrini C., Schutgens F., Oka R., Margaritis T., Candelli T., Mathijsen L., Ammerlaan C., van Ineveld R.L., Derakhshan S., de Haan S., et al. An organoid biobank for childhood kidney cancers that captures disease and tissue heterogeneity // Nat Commun. – 2020. – V. 11. – P. 1310. – DOI: 10.1038/s41467-020-15155-6.

31. Broutier L., Mastrogiovanni G., Verstegen M.M., Francies H.E., Gavarró L.M., Bradshaw C.R., Allen G.E., Arnes-Benito R., Sidorova O., Gaspersz M.P., et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening // Nat Med. – 2017. – V. 23. – P. 1424-1435. – DOI: 10.1038/nm.4438.

32. Nuciforo S., Fofana I., Matter M.S., Blumer T., Calabrese D., Boldanova T., Piscuoglio S., Wieland S., Ringnalda F., Schwank G., et al. Organoid models of human liver cancers derived from tumor needle biopsies // Cell Rep. – 2018. – V. 24. – P. 1363-1376. – DOI: 10.1016/j.celrep.2018.07.001.

33. Van Tienderen G.S., Li L., Broutier L., Saito Y., Inacio P., Huch M., Selaru F.M., van der Laan L.J.W., Verstegen M.M.A. Hepatobiliary tumor organoids for personalized medicine: a multicenter view on establishment, limitations, and future directions // Cancer Cell. – 2022. – V. 40. – P. 226-230. – DOI: 10.1016/j.ccell.2022.02.001.

34. Sachs N., Papaspyropoulos A., Zomer-van Ommen D.D., Heo I., Böttinger L., Klay D., Weeber F., Huelsz-Prince G., Iakobachvili N., Amatngalim G.D., et al. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling // EMBO J. – 2019. – V. 38. – P. e100300. – DOI: 10.15252/embj.2018100300.

35. Ding R.B., Chen P., Rajendran B.K., Lyu X., Wang H., Bao J., Zeng J., Hao W., Sun H., Wong A.H., et al. Molecular landscape and subtype-specific therapeutic response of nasopharyngeal carcinoma revealed by integrative pharmacogenomics // Nat Commun. – 2021. – V. 12. – P. 3046. – DOI: 10.1038/s41467-021-23379-3.

36. Kawasaki K., Toshimitsu K., Matano M., Fujita M., Fujii M., Togasaki K., Ebisudani T., Shimokawa M., Takano A., Takahashi S., et al. An organoid biobank of neuroendocrine neoplasms enables genotype-phenotype mapping // Cell. – 2020. – V. 183. – P. 1420-1435.e21. – DOI: 10.1016/j.cell.2020.10.023.

37. Kopper O., de Witte C.J., Lõhmussaar K., Valle-Inclan J.E., Hami N., Kester L., Balgobind A.V., Korving J., Proost N., Begthel H., et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity // Nat Med. – 2019. – V. 25. – P. 838-849. – DOI: 10.1038/s41591-019-0422-6.

38. Tiriac H., Belleau P., Engle D.D., Plenker D., Deschênes A., Somerville T.D.D., Froeling F.E.M., Burkhart R.A., Denroche R.E., Jang G.H., et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer // Cancer Discov. – 2018. – V. 8. – P. 1112-1129. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0349.

39. Seino T., Kawasaki S., Shimokawa M., Tamagawa H., Toshimitsu K., Fujii M., Ohta Y., Matano M., Nanki K., Kawasaki K., et al. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression // Cell Stem Cell. – 2018. – V. 22. – P. 454-467. – DOI: 10.1016/j.stem.2017.12.009.

40. Boj S.F., Hwang C.I., Baker L.A., Chio I.I., Engle D.D., Corbo V., Jager M., Ponz-Sarvise M., Tiriac H., Spector M.S., et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer // Cell. – 2015. – V. 160. – P. 324-338. – DOI: 10.1016/j.cell.2014.12.021.

41. Driehuis E., van Hoeck A., Moore K., Kolders S., Francies H.E., Gulersonmez M.C., Stigter E.C.A., Burgering B., Geurts V., Gracanin A., et al. Pancreatic cancer organoids recapitulate disease and allow personalized drug screening // Proc Natl Acad Sci USA. – 2019. – V. 116. – P. 26580-26590. – DOI: 10.1073/pnas.1911273116.

42. Gao D., Vela I., Sboner A., Iaquinta P.J., Karthaus W.R., Gopalan A., Dowling C., Wanjala J.N., Undvall E.A., Arora V.K., et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer // Cell. – 2014. – V. 159. – P. 176-187. – DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.016.

43. Mout L., van Dessel L.F., Kraan J., de Jong A.C., Neves R.P.L., Erkens-Schulze S., Beaufort C.M., Sieuwerts A.M., van Riet J., Woo T.L.C., et al. Generating human prostate cancer organoids from leukapheresis enriched circulating tumour cells // Eur J Cancer. – 2021. – V. 150. – P. 179-189. – DOI: 10.1016/j.ejca.2021.03.023.

44. Wang B., Gan J., Liu Z., Hui Z., Wei J., Gu X., Mu Y., Zang G. An organoid library of salivary gland tumors reveals subtype-specific characteristics and biomarkers // J Exp Clin Cancer Res. – 2022. – V. 41. – P. 350. – DOI: 10.1186/s13046-022-02561-5.

45. Nanki K., Toshimitsu K., Takano A., Fujii M., Shimokawa M., Ohta Y., Matano M., Seino T., Nishikori S., Ishikawa K., et al. Divergent routes toward Wnt and R-spondin niche independency during human gastric carcinogenesis // Cell. – 2018. – V. 174. – P. 856-869. – DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.027.

46. Tong Y., Cheng P.S.W., Or C.S., Yue S.S.K., Siu H.C., Ho S.L., Law S.Y.K., Tsui W.Y., Chan D., Ma S., et al. Escape from cell-cell and cell-matrix adhesion dependence underscores disease progression in gastric cancer organoid models // Gut. – 2023. – V. 72. – P. 242-255. – DOI: 10.1136/gutjnl-2022-327121.

47. Yan H.H.N., Siu H.C., Law S., Ho S.L., Yue S.S.K., Tsui W.Y., Chan D., Chan A.S., Ma S., Lam K.O., et al. A comprehensive human gastric cancer organoid biobank captures tumor subtype heterogeneity and enables therapeutic screening // Cell Stem Cell. – 2018. – V. 23. – P. 882-897. – DOI: 10.1016/j.stem.2018.09.016.

48. Seidlitz T., Merker S.R., Rothe A., Zakrzewski F., von Neubeck C., Grützmann K., Sommer U., Schweitzer C., Schölch S., Uhlemann H., et al. Human gastric cancer modelling using organoids // Gut. – 2019. – V. 68. – P. 207-217. – DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314549.

49. Togasaki K., Sugimoto S., Ohta Y., Nanki K., Matano M., Takahashi S., Fujii M., Kanai T., Sato T. Wnt signaling shapes the histologic variation in diffuse gastric cancer // Gastroenterology. – 2021. – V. 160. – P. 823-830. – DOI: 10.1053/j.gastro.2020.10.047.

50. Bartfeld S., Bayram T., van de Wetering M., Huch M., Begthel H., Kujala P., Vries R., Peters P.J., Clevers H. In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection // Gastroenterology. – 2015. – V. 148. – P. 126-136. – DOI: 10.1053/j.gastro.2014.09.042.

51. Hill S.J., Decker B., Roberts E.A., Horowitz N.S., Muto M.G., Worley M.J. Jr., Feltmate C.M., Nucci M.R., Swisher E.M., Nguyen H., et al. Prediction of DNA repair inhibitor response in short-term patient-derived ovarian cancer organoids // Cancer Discov. – 2018. – V. 8. – P. 1404-1421. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0474.

52. Huang L., Holtzinger A., Jagan I., BeGora M., Lohse I., Ngai N., Nostro C., Wang R., Muthuswamy L.B., Crawford H.C., et al. Ductal pancreatic cancer modeling and drug screening using human pluripotent stem cell- and patient-derived tumor organoids // Nat Med. – 2015. – V. 21. – P. 1364-1371. – DOI: 10.1038/nm.3973.

53. Maier C.F., Zhu L., Nanduri L.K., Kühn D., Kochall S., Thepkaysone M.L., William D., Grützmann K., Klink B., Betge J., et al. Patient-derived organoids of cholangiocarcinoma // Int J Mol Sci. – 2021. – V. 22. – P. 8675. – DOI: 10.3390/ijms22168675.

54. Saito Y., Muramatsu T., Kanai Y., Ojima H., Sukeda A., Hiraoka N., Arai E., Sugiyama Y., Matsuzaki J., Uchida R., et al. Establishment of patient-derived organoids and drug screening for biliary tract carcinoma // Cell Rep. – 2019. – V. 27. – P. 1265-1276. – DOI: 10.1016/j.celrep.2019.03.088.

55. Sato T., Stange D.E., Ferrante M., Vries R.G., Van Es J.H., Van den Brink S., Van Houdt W.J., Pronk A., Van Gorp J., Siersema P.D., et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium // Gastroenterology. – 2011. – V. 141. – P. 1762-1772. – DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.050.

56. Yan H.H.N., Lai J.C.W., Ho S.L., Leung W.K., Law W.L., Lee J.F.Y., Chan A.K.W., Tsui W.Y., Chan A.S.Y., Lee B.C.H., et al. RNF43 germline and somatic mutation in serrated neoplasia pathway and its association with BRAF mutation // Gut. – 2017. – V. 66. – P. 1645-1656. – DOI: 10.1136/gutjnl-2016-311849.

57. Chumduri C., Gurumurthy R.K., Berger H., Dietrich O., Kumar N., Koster S., Brinkmann V., Hoffmann K., Drabkina M., Arampatzi P., et al. Opposing Wnt signals regulate cervical squamocolumnar homeostasis and emergence of metaplasia // Nat Cell Biol. – 2021. – V. 23. – P. 184-197. – DOI: 10.1038/s41556-020-00619-0.

58. Maru Y., Kawata A., Taguchi A., Ishii Y., Baba S., Mori M., Nagamatsu T., Oda K., Kukimoto I., Osuga Y., et al. Establishment and molecular phenotyping of organoids from the squamocolumnar junction region of the uterine cervix // Cancers (Basel). – 2020. – V. 12. – P. 694. – DOI: 10.3390/cancers12030694.

59. Min J., Zhang C., Bliton R.J., Caldwell B., Caplan L., Presentation K.S., Park D.J., Kong S.H., Lee H.S., Washington M.K., et al. Dysplastic stem cell plasticity functions as a driving force for neoplastic

transformation of precancerous gastric mucosa // Gastroenterology. – 2022. – V. 163. – P. 875-890. – DOI: 10.1053/j.gastro.2022.06.021.

60. Busslinger G.A., de Barbanson B., Oka R., Weusten B.L.A., de Maat M., van Hillegersberg R., Brosens L.A.A., van Boxtel R., van Oudenaarden A., Clevers H. Molecular characterization of Barrett's esophagus at single-cell resolution // Proc Natl Acad Sci USA. – 2021. – V. 118. – DOI: 10.1073/pnas.2113061118.

61. Nguyen L., Jager M., Lieshout R., de Ruiter P.E., Locati M.D., Besselink N., van der Roest B., Janssen R., Boymans S., de Jonge J., et al. Precancerous liver diseases do not cause increased mutagenesis in liver stem cells // Commun Biol. – 2021. – V. 4. – P. 1301. – DOI: 10.1038/s42003-021-02839-y.

62. Rosenbluth J.M., Schackmann R.C.J., Gray G.K., Selfors L.M., Li C.M., Boedicker M., Kuiken H.J., Richardson A., Brock J., Garber J., et al. Organoid cultures from normal and cancer-prone human breast tissues preserve complex epithelial lineages // Nat Commun. – 2020. – V. 11. – P. 1711. – DOI: 10.1038/s41467-020-15548-7.

63. B.C.H. Lee, P.S. Robinson, T.H.H. Coorens, H.H.N. Yan, S. Olafsson, H. Lee-Six, M.A. Sanders, H.C. Siu, J. Hewinson, S.S.K. Yue, et al. *Mutational landscape of normal epithelial cells in Lynch syndrome patients.* Nat. Commun., 13 (2022), p. 2710. 10.1038/s41467-022-29920-2

64. G. Vlachogiannis, S. Hedayat, A. Vatsiou, Y. Jamin, J. Fernández-Mateos, K. Khan, A. Lampis, K. Eason, I. Huntingford, R. Burke, et al. *Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers.* Science, 359 (2018), pp. 920-926. 10.1126/science.aao2774

65. M. Crespo, E. Vilar, S.Y. Tsai, K. Chang, S. Amin, T. Srinivasan, T. Zhang, N.H. Pipalia, H.J. Chen, M. Witherspoon, et al. *Colonic organoids derived from human induced pluripotent stem cells for modeling colorectal cancer and drug testing.* Nat. Med., 23 (2017), pp. 878-884. 10.1038/nm.4355

66. N. Yucer, R. Ahdoot, M.J. Workman, A.H. Laperle, M.S. Recouvreux, K. Kurowski, D.J. Naboulsi, V. Liang, Y. Qu, J.T. Plummer, et al. *Human iPSC-derived fallopian tube organoids with BRCA1 mutation recapitulate early-stage carcinogenesis.* Cell Rep., 37 (2021), p. 110146. 10.1016/j.celrep.2021.110146

67. M. Breunig, J. Merkle, M. Wagner, M.K. Melzer, T.F.E. Barth, T. Engleitner, J. Krumm, S. Wiedenmann, C.M. Cohrs, L. Perkhofer, et al. *Modeling plasticity and dysplasia of pancreatic ductal organoids derived from human pluripotent stem cells.* Cell Stem Cell, 28 (2021), pp. 1105-1124. 10.1016/j.stem.2021.03.005

68. E. Driehuis, K. Kretzschmar, H. Clevers. *Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications.* Nat. Protoc., 15 (2020), pp. 3380-3409. 10.1038/s41596-020-0379-4

69. M. Fujii, T. Sato. *Somatic cell-derived organoids as prototypes of human epithelial tissues and diseases.* Nat. Mater., 20 (2021), pp. 156-169. 10.1038/s41563-020-0754-0

70. P. Jung, T. Sato, A. Merlos-Suárez, F.M. Barriga, M. Iglesias, D. Rossell, H. Auer, M. Gallardo, M.A. Blasco, E. Sancho, et al. *Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells.* Nat. Med., 17 (2011), pp. 1225-1227. 10.1038/nm.2470

71. L. Broutier, A. Andersson-Rolf, C.J. Hindley, S.F. Boj, H. Clevers, B.K. Koo, M. Huch. *Culture and establishment of self-renewing human and mouse adult liver and pancreas 3D organoids and their genetic manipulation.* Nat. Protoc., 11 (2016), pp. 1724-1743. 10.1038/nprot.2016.097

72. J.F. Dekkers, E.J. van Vliet, N. Sachs, J.M. Rosenbluth, O. Kopper, H.G. Rebel, E.J. Wehrens, C. Piani, J.E. Visvader, C.S. Verissimo, et al. *Long-term culture, genetic manipulation and xenotransplantation of human normal and breast cancer organoids.* Nat. Protoc., 16 (2021), pp. 1936-1965. 10.1038/s41596-020-00474-1

73. M. Fujii, M. Matano, K. Toshimitsu, A. Takano, Y. Mikami, S. Nishikori, S. Sugimoto, T. Sato. *Human intestinal organoids maintain self-renewal capacity and cellular diversity in niche-inspired culture condition.* Cell Stem Cell, 23 (2018), pp. 787-793. 10.1016/j.stem.2018.11.016

74. H. Hu, H. Gehart, B. Artegiani, C. LÖpez-Iglesias, F. Dekkers, O. Basak, J. van Es, S.M. Chuva de Sousa Lopes, H. Begthel, J. Korving, et al. *Long-term expansion of functional mouse and human hepatocytes as 3D organoids.* Cell, 175 (2018), pp. 1591-1606. 10.1016/j.cell.2018.11.013

75. M. Jiang, H. Li, Y. Zhang, Y. Yang, R. Lu, K. Liu, S. Lin, X. Lan, H. Wang, H. Wu, et al. *Transitional basal cells at the squamous-columnar junction generate Barrett's oesophagus.* Nature, 550 (2017), pp. 529-533. 10.1038/nature24269

76. *Transitional basal cells at the squamous-columnar junction generate Barrett's oesophagus.* Nature, 550 (2017), pp. 529-533. 10.1038/nature24269

77. W.R. Karthaus, P.J. Iaquinta, J. Drost, A. Gracanin, R. van Boxtel, J. Wongvipat, C.M. Dowling, D. Gao, H. Begthel, N. Sachs, et al. *Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures.* Cell, 159 (2014), pp. 163-175. 10.1016/j.cell.2014.08.017

78. F. Schutgens, M.B. Rookmaaker, T. Margaritis, A. Rios, C. Ammerlaan, J. Jansen, L. Gijzen, M. Vormann, A. Vonk, M. Viveen, et al. *Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling.* Nat. Biotechnol., 37 (2019), pp. 303-313. 10.1038/s41587-019-0048-8

79. M. Huch, H. Gehart, R. van Boxtel, K. Hamer, F. Blokzijl, M.M. Verstegen, E. Ellis, M. van Wenum, S.A. Fuchs, J. de Ligt, et al. *Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver.* Cell, 160 (2015), pp. 299-312. 10.1016/j.cell.2014.11.050

80. O.A. Timofeeva, N. Palechor-Ceron, G. Li, H. Yuan, E. Krawczyk, X. Zhong, G. Liu, G. Upadhyay, A. Dakic, S. Yu, et al. *Conditionally reprogrammed normal and primary tumor prostate epithelial cells: a novel patient-derived cell model for studies of human prostate cancer.* Oncotarget, 8 (2017), pp. 22741-22758. 10.18632/oncotarget.13937

81. X. Liu, E. Krawczyk, F.A. Suprynowicz, N. Palechor-Ceron, H. Yuan, A. Dakic, V. Simic, Y.L. Zheng, P. Sripadhan, C. Chen, et al. *Conditional reprogramming and long-term expansion of normal and tumor cells from human biospecimens.* Nat. Protoc., 12 (2017), pp. 439-451. 10.1038/nprot.2016.174

82. B.R.S. Correa, J. Hu, L.O.F. Penalva, R. Schlegel, D.L. Rimm, P.A.F. Galante, S. Agarwal. *Patient-derived conditionally reprogrammed cells maintain intra-tumor genetic heterogeneity.* Sci. Rep., 8 (2018), p. 4097. 10.1038/s41598-018-22427-1

83. C. Chen, S. Choudhury, D. Wangsa, C.J. Lescott, D.J. Wilkins, P. Sripadhan, X. Liu, D. Wangsa, T. Ried, C. Moskaluk, et al. *A multiplex preclinical model for adenoid cystic carcinoma of the salivary gland identifies regorafenib as a potential therapeutic drug.* Sci. Rep., 7 (2017), p. 11410. 10.1038/s41598-017-11764-2

84. S. Raghavan, P.S. Winter, A.W. Navia, H.L. Williams, A. DenAdel, K.E. Lowder, J. Galvez-Reyes, R.L. Kalekar, N. Mulugeta, K.S. Kapner, et al. *Microenvironment drives cell state, plasticity, and drug response in pancreatic cancer.* Cell, 184 (2021), pp. 6119-6137. 10.1016/j.cell.2021.11.017

85. K. Miyabayashi, L.A. Baker, A. Deschênes, B. Traub, G. Caligiuri, D. Plenker, B. Alagesan, P. Belleau, S. Li, J. Kendall, et al. *Intraductal transplantation models of human pancreatic ductal adenocarcinoma reveal progressive transition of molecular subtypes.* Cancer Discov., 10 (2020), pp. 1566-1589. 10.1158/2159-8290.CD-20-0133

86. C. Cortina, G. Turon, D. Stork, X. Hernando-Momblona, M. Sevillano, M. Aguilera, S. Tosi, A. Merlos-Suárez, C. Stephan-Otto Attolini, E. Sancho, et al. *A genome editing approach to study cancer stem cells in human tumors.* EMBO Mol. Med., 9 (2017), pp. 869-879. 10.15252/emmm.201707550

87. de Sousa, F. Melo, A.V. Kurtova, J.M. Harnoss, N. Kljavin, J.D. Hoeck, J. Hung, J.E. Anderson, E.E. Storm, Z. Modrusan, et al. *A distinct role for Lgr5(+) stem cells in primary and metastatic colon cancer.* Nature, 543 (2017), pp. 676-680. 10.1038/nature21713

88. M. Shimokawa, Y. Ohta, S. Nishikori, M. Matano, A. Takano, M. Fujii, S. Date, S. Sugimoto, T. Kanai, T. Sato. *Visualization and targeting of LGR5(+) human colon cancer stem cells.* Nature, 545 (2017), pp. 187-192. 10.1038/nature22081

89. A. Fumagalli, K.C. Oost, L. Kester, J. Morgner, L. Bornes, L. Bruens, L. Spaargaren, M. Azkanaz, T. Schelfhorst, E. Beerling, et al. *Plasticity of Lgr5-negative cancer cells drives metastasis in colorectal cancer.* Cell Stem Cell, 26 (2020), pp. 569-578. 10.1016/j.stem.2020.02.008

90. Y. Ohta, M. Fujii, S. Takahashi, A. Takano, K. Nanki, M. Matano, H. Hanyu, M. Saito, M. Shimokawa, S. Nishikori, et al. *Cell-matrix interface regulates dormancy in human colon cancer stem cells.* Nature, 608 (2022), pp. 784-794. 10.1038/s41586-022-05043-y

91. A. Alvarez-Varela, L. Novellasdemunt, F.M. Barriga, X. Hernando-Momblona, A. Canellas-Socias, S. Cano-Crespo, M. Sevillano, C. Cortina, D. Stork, C. Morral, et al. *Mex3a marks drug-tolerant persister colorectal cancer cells that mediate relapse after chemotherapy.* Nat Cancer, 3 (2022), pp. 1052-1070. 10.1038/s43018-022-00402-0

92. A. Cañellas-Socias, C. Cortina, X. Hernando-Momblona, S. Palomo-Ponce, E.J. Mulholland, G. Turon, L. Mateo, S. Conti, O. Roman, M. Sevillano, et al. *Metastatic recurrence in colorectal cancer arises from residual EMP1(+) cells.* Nature, 611 (2022), pp. 603-613. 10.1038/s41586-022-05402-9

93. K. Nanki, M. Fujii, M. Shimokawa, M. Matano, S. Nishikori, S. Date, A. Takano, K. Toshimitsu, Y. Ohta, S. Takahashi, et al. *Somatic inflammatory gene mutations in human ulcerative colitis epithelium.* Nature, 577 (2020), pp. 254-259. 10.1038/s41586-019-1844-5

94. N. Kakiuchi, K. Yoshida, M. Uchino, T. Kihara, K. Akaki, Y. Inoue, K. Kawada, S. Nagayama, A. Yokoyama, S. Yamamoto, et al. Frequent mutations that converge on the NFKBIZ pathway in ulcerative colitis. *Nature*, 577 (2020), pp. 260-265. 10.1038/s41586-019-1856-1

95. S. Olafsson, R.E. McIntyre, T. Coorens, T. Butler, H. Jung, P.S. Robinson, H. Lee-Six, M.A. Sanders, K. Arestang, C. Dawson, et al. Somatic evolution in non-neoplastic IBD-affected colon. *Cell*, 182 (2020), pp. 672–684.e11. 10.1016/j.cell.2020.06.036

96. J. Drost, R. van Boxtel, F. Blokzijl, T. Mizutani, N. Sasaki, V. Sasselli, J. de Ligt, S. Behjati, J.E. Grolleman, T. van Wezel, et al. Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer. *Science*, 358 (2017), pp. 234-238. 10.1126/science.aao3130

97. H. Fang, H.H.N. Yan, R.A. Bilardi, C. Flensburg, H. Yang, J.A. Barbour, H.C. Siu, M. Turski, E. Chew, Z. Xu, et al. Ganciclovir-induced mutations are present in a diverse spectrum of post-transplant malignancies. *Genome Med.*, 14 (2022), p. 124. 10.1186/s13073-022-01131-w

98. C. Pleguezuelos-Manzano, J. Puschhof, A. Rosendahl Huber, A. van Hoeck, H.M. Wood, J. Nomburg, C. Gurjao, F. Manders, G. Dalmasso, P.B. Stege, et al. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks(+) *E. coli*. *Nature*, 580 (2020), pp. 269-273. 10.1038/s41586-020-2080-8

99. K.W. McCracken, E.M. Catá, C.M. Crawford, K.L. Sinagoga, M. Schumacher, B.E. Rockich, Y.H. Tsai, C.N. Mayhew, J.R. Spence, Y. Zavros, et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids. *Nature*, 516 (2014), pp. 400-404. 10.1038/nature13863

100. E. De Crignis, T. Hossain, S. Romal, F. Carofiglio, P. Moulos, M.M. Khalid, S. Rao, A. Bazrafshan, M.M. Verstegen, F. Pourfarzad, et al. Application of human liver organoids as a patient-derived primary model for HBV infection and related hepatocellular carcinoma. *eLife*, 10 (2021), 10.7554/eLife.60747. 10.7554/eLife.60747

101. Y.Z. Nie, Y.W. Zheng, K. Miyakawa, S. Murata, R.R. Zhang, K. Sekine, Y. Ueno, T. Takebe, T. Wakita, A. Ryo, et al. Recapitulation of hepatitis B virus-host interactions in liver organoids from human induced pluripotent stem cells. *EBiomedicine*, 35 (2018), pp. 114-123. 10.1016/j.ebiom.2018.08.014

102. A.A. Duarte, E. Gogola, N. Sachs, M. Barazas, S. Annunziato, J.R. de Ruiter, A. Velds, S. Blatter, J.M. Houthuijzen, M. van de Ven, et al. BRCA-deficient mouse mammary tumor organoids to study cancer-drug resistance. *Nat Methods*, 15 (2018), pp. 134-140. 10.1038/nmeth.4535

103. D.V.F. Tauriello, S. Palomo-Ponce, D. Stork, A. Berenguer-Llergo, J. Badia-Ramentol, M. Iglesias, M. Sevillano, S. Ibiza, A. Cañellas, X. Hernando-Momblona, et al. TGFβ drives immune evasion in genetically reconstituted colon cancer metastasis. *Nature*, 554 (2018), pp. 538-543. 10.1038/nature25492

104. D.J. Flanagan, N. Pentinmikko, K. Luopajärvi, N.J. Willis, K. Gilroy, A.P. Raven, L. McGarry, J.I. Englund, A.T. Webb, S. Scharaw, et al. NOTUM from Apc-mutant cells biases clonal competition to initiate cancer. *Nature*, 594 (2021), pp. 430-435. 10.1038/s41586-021-03525-z

105. S.M. van Neerven, N.E. de Groot, L.E. Nijman, B.P. Scicluna, M.S. van Driel, M.C. Lecca, D.O. Warmerdam, V. Kakkar, L.F. Moreno, F.A. Vieira Braga, et al. Apc-mutant cells act as supercompetitors in intestinal tumour initiation. *Nature*, 594 (2021), pp. 436-441. 10.1038/s41586-021-03558-4

106. K.P. O'Rourke, E. Loizou, G. Livshits, E.M. Schatoff, T. Baslan, E. Manchado, J. Simon, P.B. Romesser, B. Leach, T. Han, et al. Transplantation of engineered organoids enables rapid generation of metastatic mouse models of colorectal cancer. *Nat. Biotechnol.*, 35 (2017), pp. 577-582. 10.1038/nbt.3837

107. J. Roper, T. Tammela, N.M. Cetinbas, A. Akkad, A. Roghanian, S. Rickelt, M. Almeqdadi, K. Wu, M.A. Oberli, F.J. Sánchez-Rivera, et al. In vivo genome editing and organoid transplantation models of colorectal cancer and metastasis. *Nat. Biotechnol.*, 35 (2017), pp. 569-576. 10.1038/nbt.3836

108. S. Zhang, S. Iyer, H. Ran, I. Dolgalev, S. Gu, W. Wei, C.J.R. Foster, C.A. Loomis, N. Olvera, F. Dao, et al. Genetically defined, syngeneic organoid platform for developing combination therapies for ovarian cancer. *Cancer Discov.*, 11 (2021), pp. 362-383. 10.1158/2159-8290.CD-20-0455

109. S. Naranjo, C.M. Cabana, L.M. LaFave, R. Romero, S.L. Shanahan, A. Bhutkar, P.M.K. Westcott, J.M. Schenkel, A. Ghosh, L.Z. Liao, et al. Modeling diverse genetic subtypes of lung adenocarcinoma with a next-generation alveolar type 2 organoid platform. *Genes Dev.*, 36 (2022), pp. 936-949. 10.1101/gad.349659.122

110. Drost, R.H. van Jaarsveld, B. Ponsioen, C. Zimberlin, R. van Boxtel, A. Buijs, N. Sachs, R.M. Overmeer, G.J. Offerhaus, H. Begthel, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. *Nature*, 521 (2015), pp. 43-47. 10.1038/nature14415

111. M. Matano, S. Date, M. Shimokawa, A. Takano, M. Fujii, Y. Ohta, T. Watanabe, T. Kanai, T. Sato. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. *Nat. Med.*, 21 (2015), pp. 256-262. 10.1038/nm.3802

112. A. Fumagalli, J. Drost, S.J. Suijkerbuijk, R. van Boxtel, J. de Ligt, G.J. Offerhaus, H. Begthel, E. Beerling, E.H. Tan, O.J. Sansom, et al. Genetic dissection of colorectal cancer progression by orthotopic transplantation of engineered cancer organoids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114 (2017), pp. E2357-E2364. 10.1073/pnas.1701219114

113. Arianna Fumagalli, Jarno Drost, Saskia J. E. Suijkerbuijk, Ruben van Boxtel, Joep de Ligt, G. Johan Offerhaus, Harry Begthel, Evelyne Beerling, Ee Hong Tan, Owen J. Sansom, Edwin Cuppen Hans Clevers h.clevers@hubrecht.eu, and Jacco van Rheenen Genetic dissection of colorectal cancer progression by orthotopic transplantation of engineered cancer organoids. https://orcid.org/0000-0002-0400-9542

114. A.F.M. Dost, A.L. Moye, M. Vedaie, L.M. Tran, E. Fung, D. Heinze, C. Villacorta-Martin, J. Huang, R. Hekman, J.H. Kwan, et al. Organoids model transcriptional hallmarks of oncogenic KRAS activation in lung epithelial progenitor cells. *Cell Stem Cell*, 27 (2020), pp. 663-678. 10.1016/j.stem.2020.07.022

115. J.F. Dekkers, J.R. Whittle, F. Vaillant, H.R. Chen, C. Dawson, K. Liu, M.H. Geurts, M.J. Herold, H. Clevers, G.J. Lindeman, et al. Modeling breast cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human breast organoids. *J. Natl. Cancer Inst.*, 112 (2020), pp. 540-544. 10.1093/jnci/djz196

116. J. Ogawa, G.M. Pao, M.N. Shokhirev, I.M. Verma. Glioblastoma model using human cerebral organoids. *Cell Rep.*, 23 (2018), pp. 1220-1229. 10.1016/j.celrep.2018.03.105

117. S. Bian, M. Repic, Z. Guo, A. Kavirayani, T. Burkard, J.A. Bagley, C. Krauditsch, J.A. Knoblich. Genetically engineered cerebral organoids model brain tumor formation. *Nat. Methods*, 15 (2018), pp. 631-639. 10.1038/s41592-018-0070-7

118. B. Artegiani, L. van Voorthuijsen, R.G.H. Lindeboom, D. Seinstra, I. Heo, P. Tapia, C. López-Iglesias, D. Postrach, T. Dayton, R. Oka, et al. Probing the tumor suppressor function of BAP1 in CRISPR-engineered human liver organoids. *Cell Stem Cell*, 24 (2019), pp. 927-943. 10.1016/j.stem.2019.04.017

119. K. Kawasaki, M. Fujii, S. Sugimoto, K. Ishikawa, M. Matano, Y. Ohta, K. Toshimitsu, S. Takahashi, N. Hosoe, S. Sekine, et al. Chromosome engineering of human colon-derived organoids to develop a model of traditional serrated adenoma. *Gastroenterology*, 158 (2020), pp. 638-651. 10.1053/j.gastro.2019.10.009

120. Y.H. Lo, K.S. Kolahi, Y. Du, C.Y. Chang, A. Krokhotin, A. Nair, W.D. Sobba, K. Karlsson, S.J. Jones, T.A. Longacre, et al. A CRISPR/Cas9-engineered ARID1A-deficient human gastric cancer organoid model reveals essential and nonessential modes of oncogenic transformation. *Cancer Discov.*, 11 (2021), pp. 1562-1581. 10.1158/2159-8290.CD-20-1109

121. Z. Wu, J. Zhou, X. Zhang, Z. Zhang, Y. Xie, J.B. Liu, Z.V. Ho, A. Panda, X. Qiu, P. Cejas, et al. Reprogramming of the esophageal squamous carcinoma epigenome by SOX2 promotes ADAR1 dependence. *Nat. Genet.*, 53 (2021), pp. 881-894. 10.1038/s41588-021-00859-2

122. H. Liu, Y. Zhang, Y.Y. Zhang, Y.P. Li, Z.Q. Hua, C.J. Zhang, K.C. Wu, F. Yu, Y. Zhang, J. Su, et al. Human embryonic stem cell-derived organoid retinoblastoma reveals a cancerous origin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 117 (2020), pp. 33628-33638. 10.1073/pnas.2011780117

123. E. Fessler, J. Drost, S.R. van Hooff, J.F. Linnekamp, X. Wang, M. Jansen, F. De Sousa E Melo, P.R. Prasetyanti, J.E. IJspeert, M. Franitza, et al. TGFβ signaling directs serrated adenomas to the mesenchymal colorectal cancer subtype. *EMBO Mol. Med.*, 8 (2016), pp. 745-760. 10.15252/emmm.201606184

124. B.E. Michels, M.H. Mosa, B.I. Streibl, T. Zhan, C. Menche, K. Abou-El-Ardat, T. Darvishi, E. Członka, S. Wagner, J. Winter, et al. Pooled in vitro and in vivo CRISPR-Cas9 screening identifies tumor suppressors in human colon organoids. *Cell Stem Cell*, 26 (2020), pp. 782–792.e7. 10.1016/j.stem.2020.04.003

125. T. Ringel, N. Frey, F. Ringnalda, S. Janjuha, S. Cherkaoui, S. Butz, S. Srivatsa, M. Pirkl, G. Russo, L. Villiger, et al. Genome-scale CRISPR screening in human intestinal organoids identifies drivers.

126. K. Murakami, Y. Terakado, K. Saito, Y. Jomen, H. Takeda, M. Oshima, N. Barker. A genome-scale CRISPR screen reveals factors regulating Wnt-dependent renewal of mouse gastric epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 118 (2021), 10.1073/pnas.2016806118

127. H.A. McCauley, J.M. Wells. Pluripotent stem cell-derived organoids: using principles of developmental biology to grow human tissues in a dish. *Development*, 144 (2017), pp. 958-962. 10.1242/dev.140731

128. J.R. Spence, C.N. Mayhew, S.A. Rankin, M.F. Kuhar, J.E. Vallance, K. Tolle, E.E. Hoskins, V.V. Kalinichenko, S.I. Wells, A.M. Zorn, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. *Nature*, 470 (2011), pp. 105-109. 10.1038/nature09691

129. Y. Shi, H. Inoue, J.C. Wu, S. Yamanaka. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 16 (2017), pp. 115-130. 10.1038/nrd.2016.245

130. R.C. Smith, V. Tabar. Constructing and deconstructing cancers using human pluripotent stem cells and organoids. *Cell Stem Cell*, 24 (2019), pp. 2-24. 10.1016/j.stem.2018.11.012

131. M.A. Lancaster, M. Renner, C.A. Martin, D. Wenzel, L.S. Bicknell, M.E. Hurles, T. Homfray, J.M. Penninger, A.P. Jackson, J.A. Knoblich. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 501 (2013), pp. 373-379. 10.1038/nature12517

132. Y.W. Chen, S.X. Huang, A.L.R.T. de Carvalho, S.H. Ho, M.N. Islam, S. Volpi, L.D. Notarangelo, M. Ciancanelli, J.L. Casanova, J. Bhattacharya, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. *Nat. Cell Biol.*, 19 (2017), pp. 542-549. 10.1038/ncb3510

133. M. Hohwieler, A. Illing, P.C. Hermann, T. Mayer, M. Stockmann, L. Perkhofer, T. Eiseler, J.S. Antony, M. Müller, S. Renz, et al. Human pluripotent stem cell-derived acinar/ductal organoids generate human pancreas upon orthotopic transplantation and allow disease modelling. *Gut*, 66 (2017), pp. 473-486. 10.1136/gutjnl-2016-312423

134. S.L. Trisno, K.E.D. Philo, K.W. McCracken, E.M. Catá, S. Ruiz-Torres, S.A. Rankin, L. Han, T. Nasr, P. Chaturvedi, M.E. Rothenberg, et al. Esophageal organoids from human pluripotent stem cells delineate Sox2 functions during esophageal specification. *Cell Stem Cell*, 23 (2018), pp. 501–515.e7. 10.1016/j.stem.2018.08.008

135. J.H. Low, P. Li, E.G.Y. Chew, B. Zhou, K. Suzuki, T. Zhang, M.M. Lian, M. Liu, E. Aizawa, C. Rodriguez Esteban, et al. Generation of human PSC-derived kidney organoids with patterned nephron segments and a de novo vascular network. *Cell Stem Cell*, 25 (2019), pp. 373–387.e9. 10.1016/j.stem.2019.06.009

136. S.J. Mun, J.S. Ryu, M.O. Lee, Y.S. Son, S.J. Oh, H.S. Cho, M.Y. Son, D.S. Kim, S.J. Kim, H.J. Yoo, et al. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids. *J. Hepatol.*, 71 (2019), pp. 970-985. 10.1016/j.jhep.2019.06.030

137. M. Zhang, J.J. Vandana, L. Lacko, S. Chen. Modeling cancer progression using human pluripotent stem cell-derived cells and organoids. *Stem Cell Res.*, 49 (2020), p. 102063. 10.1016/j.scr.2020.102063

138. M.P. Chao, A.J. Gentles, S. Chatterjee, F. Lan, A. Reinisch, M.R. Corces, S. Xavy, J. Shen, D. Haag, S. Chanda, et al. Human AML-iPSCs reacquire leukemic properties after differentiation and model clonal variation of disease. *Cell Stem Cell*, 20 (2017), pp. 329–344.e7. 10.1016/j.stem.2016.11.018

139. K. Kumano, S. Arai, M. Hosoi, K. Taoka, N. Takayama, M. Otsu, G. Nagae, K. Ueda, K. Nakazaki, Y. Kamikubo, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples. *Blood*, 119 (2012), pp. 6234-6242. 10.1182/blood-2011-07-367441

140. K. Hu, J. Yu, K. Suknuntha, S. Tian, K. Montgomery, K.D. Choi, R. Stewart, J.A. Thomson, I.I. Slukvin. Efficient generation of transgene-free induced pluripotent stem cells from normal and neoplastic bone marrow and cord blood mononuclear cells. *Blood*, 117 (2011), pp. e109-e119. 10.1182/blood-2010-07-298331

141. S. Gandre-Babbe, P. Paluru, C. Aribeana, S.T. Chou, S. Bresolin, L. Lu, S.K. Sullivan, S.K. Tasian, J. Weng, H. Favre, et al. Patient-derived induced pluripotent stem cells recapitulate hematopoietic abnormalities of juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*, 121 (2013), pp. 4925-4929. 10.1182/blood-2013-01-478412

142. A. Linkous, D. Balamatsias, M. Snuderl, L. Edwards, K. Miyaguchi, T. Milner, B. Reich, L. Cohen-Gould, A. Storaska, Y. Nakayama, et al. Modeling patient-derived glioblastoma with cerebral organoids. *Cell Rep.*, 26 (2019), pp. 3203–3211.e5. 10.1016/j.celrep.2019.02.063

143. M.S. Choe, J.S. Kim, H.C. Yeo, C.M. Bae, H.J. Han, K. Baek, W. Chang, K.S. Lim, S.P. Yun, I.S. Shin, et al. A simple metastatic brain cancer model using human embryonic stem cell-derived cerebral organoids. *FASEB J.*, 34 (2020), pp. 16464-16475. 10.1096/fj.202000372R

144. J. Barretina, G. Caponigro, N. Stransky, K. Venkatesan, A.A. Margolin, S. Kim, C.J. Wilson, J. Lehár, G.V. Kryukov, D. Sonkin, et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*, 483 (2012), pp. 603-607. 10.1038/nature11003

145. M.J. Garnett, E.J. Edelman, S.J. Heidorn, C.D. Greenman, A. Dastur, K.W. Lau, P. Greninger, I.R. Thompson, X. Luo, J. Soares, et al. Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells. *Nature*, 483 (2012), pp. 570-575. 10.1038/nature11005

146. L. Li, H. Knutsdottir, K. Hui, M.J. Weiss, J. He, B. Philosophe, A.M. Cameron, C.L. Wolfgang, T.M. Pawlik, G. Ghiaur, et al. Human primary liver cancer organoids reveal intratumor and interpatient drug response heterogeneity. *JCI Insight*, 4 (2019), 10.1172/jci.insight.121490

147. C.J. de Witte, J. Espejo Valle-Inclan, N. Hami, K. Lõhmussaar, O. Kopper, C.P.H. Vreuls, G.N. Jonges, P. van Diest, L. Nguyen, H. Clevers, et al. Patient-derived ovarian cancer organoids mimic clinical response and exhibit heterogeneous inter- and intrapatient drug responses. *Cell Rep.*, 31 (2020), p. 107762. 10.1016/j.celrep.2020.107762

148. S. Karkampouna, F. La Manna, A. Benjak, M. Kiener, M. De Menna, E. Zoni, J. Grosjean, I. Klima, A. Garofoli, M. Bolis, et al. Patient-derived xenografts and organoids model therapy response in prostate cancer. *Nat. Commun.*, 12 (2021), p. 1117. 10.1038/s41467-021-21300-6

149. J. Betge, N. Rindtorff, J. Sauer, B. Rauscher, C. Dingert, H. Gaitantzi, F. Herweck, K. Srour-Mhanna, T. Miersch, E. Valentini, et al. The drug-induced phenotypic landscape of colorectal cancer organoids. *Nat. Commun.*, 13 (2022), p. 3135. 10.1038/s41467-022-30722-9

150. K. Toshimitsu, A. Takano, M. Fujii, K. Togasaki, M. Matano, S. Takahashi, T. Kanai, T. Sato. Organoid screening reveals epigenetic vulnerabilities in human colorectal cancer. *Nat. Chem. Biol.*, 18 (2022), pp. 605-614. 10.1038/s41589-022-00984-x

151. S.N. Ooft, F. Weeber, K.K. Dijkstra, C.M. McLean, S. Kaing, E. van Werkhoven, L. Schipper, L. Hoes, D.J. Vis, J. van de Haar, et al. Patient-derived organoids can predict response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. *Sci. Transl. Med.*, 11 (2019), 10.1126/scitranslmed.aay2574

152. C. Calandrini, S.R. van Hooff, I. Paassen, D. Ayyildiz, S. Derakhshan, M.E.M. Dolman, K.P.S. Langenberg, M. van de Ven, C. de Heus, N. Liv, et al. Organoid-based drug screening reveals Neddylation as therapeutic target for malignant rhabdoid tumors. *Cell Rep.*, 36 (2021), p. 109568. 10.1016/j.celrep.2021.109568

153. P. Tan, M. Wang, A. Zhong, Y. Wang, J. Du, J. Wang, L. Qi, Z. Bi, P. Zhang, T. Lin, et al. SRT1720 inhibits the growth of bladder cancer in organoids and murine models through the SIRT1-HIF axis. *Oncogene*, 40 (2021), pp. 6081-6092. 10.1038/s41388-021-01999-9

154. T. Seidlitz, Y.T. Chen, H. Uhlemann, S. Schölch, S. Kochall, S.R. Merker, A. Klimova, A. Hennig, C. Schweitzer, K. Pape, et al. Mouse models of human gastric cancer subtypes with stomach-specific CreERT2-mediated pathway alterations. *Gastroenterology*, 157 (2019), pp. 1599–1614.e2. 10.1053/j.gastro.2019.09.026

155. H. Zhang, A. Schaefer, Y. Wang, R.G. Hodge, D.R. Blake, J.N. Diehl, A.G. Papageorge, M.D. Stachler, J. Liao, J. Zhou, et al. Gain-of-function RHOA mutations promote focal adhesion kinase activation and dependency in diffuse gastric cancer. *Cancer Discov.*, 10 (2020), pp. 288-305. 10.1158/2159-8290.CD-19-0811

156. S. Sugimoto, Y. Ohta, M. Fujii, M. Matano, M. Shimokawa, K. Nanki, S. Date, S. Nishikori, Y. Nakazato, T. Nakamura, et al. Reconstruction of the human colon epithelium in vivo. *Cell Stem Cell*, 22 (2018), pp. 171–176.e5. 10.1016/j.stem.2017.11.012

157. K. Karlsson, M. Przybilla, H. Xu, E. Kotler, K. Karagyozova, A. Sockell, K. Liu, A. Mah, Y.H. Lo, B. Lu, et al. Experimental evolution in TP53 deficient human gastric organoids recapitulates tumorigenesis. Preprint at *bioRxiv* (2022), 10.1101/2022.04.09.487529

158. R. Coppo, J. Kondo, K. Iida, M. Okada, K. Onuma, Y. Tanaka, M. Kamada, M. Ohue, K. Kawada, K. Obama, et al. Distinct but interchangeable subpopulations of colorectal cancer cells with different growth fates and drug sensitivity. *iScience*, 26 (2023), p. 105962. 10.1016/j.isci.2023.105962

159. K.K. Dijkstra, C.M. Cattaneo, F. Weeber, M. Chalabi, J. van de Haar, L.F. Fanchi, M. Slagter, D.L. van der Velden, S. Kaing, S. Kelderman, et al. Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of

peripheral blood lymphocytes and tumor organoids. *Cell*, 174 (2018), pp. 1586–1598.e12. 10.1016/j.cell.2018.07.009

160. B. Palikuqi, D.T. Nguyen, G. Li, R. Schreiner, A.F. Pellegata, Y. Liu, D. Redmond, F. Geng, Y. Lin, J.M. Gómez-Salinero, et al. Adaptable haemodynamic endothelial cells for organogenesis and tumorigenesis. *Nature*, 585 (2020), pp. 426-432. 10.1038/s41586-020-2712-z

161. J.T. Neal, X. Li, J. Zhu, V. Giangarra, C.L. Grzeskowiak, J. Ju, I.H. Liu, S.H. Chiou, A.A. Salahudeen, A.R. Smith, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell*, 175 (2018), pp. 1972–1988.e16. 10.1016/j.cell.2018.11.021

162. S. Ding, C. Hsu, Z. Wang, N.R. Natesh, R. Millen, M. Negrete, N. Giroux, G.O. Rivera, A. Dohlman, S. Bose, et al. Patient-derived micro-organospheres enable clinical precision oncology. *Cell Stem Cell*, 29 (2022), pp. 905–917.e6. 10.1016/j.stem.2022.04.006

163. N.S. Münch, H.Y. Fang, J. Ingermann, H.C. Maurer, A. Anand, V. Kellner, V. Sahm, M. Wiethaler, T. Baumeister, F. Wein, et al. High-fat diet accelerates carcinogenesis in a mouse model of Barrett's esophagus via interleukin 8 and alterations to the gut microbiome. *Gastroenterology*, 157 (2019), pp. 492-506.e2. 10.1053/j.gastro.2019.04.013

164. S. Price, S. Bhosle, E. Gonçalves, X. Li, D.P. McClurg, S. Barthorpe, A. Beck, C. Hall, H. Lightfoot, L. Farrow, et al. A suspension technique for efficient large-scale cancer organoid culturing and perturbation screens. *Sci. Rep.*, 12 (2022), p. 5571. 10.1038/s41598-022-09508-y

165. N. Gjorevski, N. Sachs, A. Manfrin, S. Giger, M.E. Bragina, P. Ordóñez-Morán, H. Clevers, M.P. Lutolf. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature*, 539 (2016), pp. 560-564. 10.1038/nature20168

References

1. Всемирная организация здравоохранения. Global cancer burden growing – amidst mounting need for services [Электронный ресурс]. – URL: https://www.who.int/ru/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services (дата обращения: 06.02.2026).

2. Wang C., Tang Z., Zhao Y., Yao R., Li L., Sun W. Three-dimensional in vitro cancer models: a short review // Biofabrication. – 2014. – V. 6, №2. – P. 022001.

3. Vargo-Gogola T., Rosen J.M. Modelling breast cancer: one size does not fit all // Nat Rev Cancer. – 2007. – V. 7, №9. – P. 659-672.

4. Breitenbach M., Hoffmann J. Cancer models // Front Oncol. – 2018. – V. 8. – P. 401.

5. Schachtschneider K.M., Schwind R.M., Newson J., et al. The oncopig cancer model: an innovative large animal translational oncology platform // Front Oncol. – 2017. – V. 7. – P. 190.

6. Sato T., Vries R.G., Snippert H.J., van de Wetering M., Barker N., Stange D.E., van Es J.H., Abo A., Kujala P., Peters P.J., et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche // Nature. – 2009. – V. 459. – P. 262-265. – DOI: 10.1038/nature07935.

7. Kim K.A., Kakitani M., Zhao J., Oshima T., Tang T., Binnerts M., Liu Y., et al. Mitogenic influence of human R-spondin1 on the intestinal epithelium // Science. – 2005. – V. 309. – P. 1256-1259. – DOI: 10.1126/science.1112521.

8. Korinek V., Barker N., Moerer P., van Donselaar E., Huls G., Peters P.J., Clevers H. Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4 // Nat Genet. – 1998. – V. 19. – P. 379-383. – DOI: 10.1038/1270.

9. Sato T., van Es J.H., Snippert H.J., Stange D.E., Vries R.G., van den Born M., Barker N., Shroyer N.F., van de Wetering M., Clevers H. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts // Nature. – 2011. – V. 469. – P. 415-418. – DOI: 10.1038/nature09637.

10. Sasaki T., Giltay R., Talts U., Timpl R., Talts J.F. Expression and distribution of laminin alpha1 and alpha2 chains in embryonic and adult mouse tissues: an immunochemical approach // Exp Cell Res. – 2002. – V. 275. – P. 185-199. – DOI: 10.1006/excr.2002.5499.

11. Ootani A., Li X., Sangiorgi E., Ho Q.T., Ueno H., Toda S., Sugihara H., Fujimoto K., Weissman I.L., Capecchi M.R., et al. Sustained in vitro intestinal epithelial culture within a Wnt-dependent stem cell niche // Nat Med. – 2009. – V. 15. – P. 701-706. – DOI: 10.1038/nm.1951.

12. Kim E., Choi S., Kang B., Kong J., Kim Y., Yoon W.H., Lee H.R., Kim S., Kim H.M., Lee H., et al. Creation of bladder assembloids mimicking tissue regeneration and cancer // Nature. – 2020. – V. 588. – P. 664-669. – DOI: 10.1038/s41586-020-3034-x.

13. Lee S.H., Hu W., Matulay J.T., Silva M.V., Owczarek T.B., Kim K., Chua C.W., Barlow L.J., Kandoth C., Williams A.B., et al. Tumor evolution and drug response in patient-derived organoid models of bladder cancer // Cell. – 2018. – V. 173. – P. 515-528.e17. – DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.017.

14. Mullenders J., de Jongh E., Brousali A., Roosen M., Blom J.P.A., Begthel H., Korving J., Jonges T., Kranenburg O.W., Meijer R., et al. Mouse and human urothelial cancer organoids: A tool for bladder cancer research // Proc Natl Acad Sci USA. – 2019. – V. 116. – P. 4567-4574. – DOI: 10.1073/pnas.1803595116.

15. Abdullah K.G., Bird C.E., Buehler J.D., Gattie L.C., Savani M.R., Sternisha A.C., Xiao Y., Levitt M.M., Hicks W.H., Li W., et al. Establishment of patient-derived organoid models of lower-grade glioma // Neuro Oncol. – 2022. – V. 24. – P. 612-623. – DOI: 10.1093/neuonc/noab273.

16. Sachs N., de Ligt J., Kopper O., Gogola E., Bounova G., Weeber F., Balgobind A.V., Wind K., Gracanin A., Begthel H., et al. A living biobank of breast cancer organoids captures disease heterogeneity // Cell. – 2018. – V. 172. – P. 373-386. – DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.010.

17. Lõhmussaar K., Oka R., Espejo Valle-Inclan J., Smits M.H.H., Wardak H., Korving J., Begthel H., Proost N., van de Ven M., Kranenburg O.W., et al. Patient-derived organoids model cervical tissue dynamics and viral oncogenesis in cervical cancer // Cell Stem Cell. – 2021. – V. 28. – P. 1380-1396. – DOI: 10.1016/j.stem.2021.03.012.

18. Boretto M., Maenhoudt N., Luo X., Hennes A., Boeckx B., Bui B., Heremans R., Perneel L., Kobayashi H., Van Zundert I., et al. Patient-derived organoids from endometrial disease capture clinical heterogeneity and are amenable to drug screening // Nat Cell Biol. – 2019. – V. 21. – P. 1041-1051. – DOI: 10.1038/s41556-019-0360-z.

19. Li X., Francies H.E., Secrier M., Perner J., Miremadi A., Galeano-Dalmau N., Barendt W.J., Letchford L., Leyden G.M., Goffin E.K., et al. Organoid cultures recapitulate esophageal adenocarcinoma heterogeneity providing a model for clonality studies and precision therapeutics // Nat Commun. – 2018. – V. 9. – P. 2983. – DOI: 10.1038/s41467-018-05190-9.

20. Tanaka N., Osman A.A., Takahashi Y., Lindemann A., Patel A.A., Zhao M., Takahashi H., Myers J.N. Head and neck cancer organoids established by modification of the CTOS method can be used to predict in vivo drug sensitivity // Oral Oncol. – 2018. – V. 87. – P. 49-57. – DOI: 10.1016/j.oraloncology.2018.10.018.

21. Driehuis E., Kolders S., Spelier S., Lõhmussaar K., Willems S.M., Devriese L.A., de Bree R., de Ruiter E.J., Korving J., Begthel H., et al. Oral mucosal organoids as a potential platform for personalized cancer therapy // Cancer Discov. – 2019. – V. 9. – P. 852-871. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-1522.

22. Van de Wetering M., Francies H.E., Francis J.M., Bounova G., Iorio F., Pronk A., van Houdt W., van Gorp J., Taylor-Weiner A., Kester L., et al. Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients // Cell. – 2015. – V. 161. – P. 933-945. – DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.053.

23. Weeber F., van de Wetering M., Hoogstraat M., Dijkstra K.K., Krijgsman O., Kuilman T., Gadellaa-van Hooijdonk C.G., van der Velden D.L., Peeper D.S., Cuppen E.P., et al. Preserved genetic diversity in organoids cultured from biopsies of human colorectal cancer metastases // Proc Natl Acad Sci USA. – 2015. – V. 112. – P. 13308-13311. – DOI: 10.1073/pnas.1516689112.

24. Fujii M., Shimokawa M., Date S., Takano A., Matano M., Nanki K., Ohta Y., Toshimitsu K., Nakazato Y., Kawasaki K., et al. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements during tumorigenesis // Cell Stem Cell. – 2016. – V. 18. – P. 827-838. – DOI: 10.1016/j.stem.2016.04.003.

25. Schütte M., Risch T., Abdavi-Azar N., Boehnke K., Schumacher D., Keil M., Yildiriman R., Jandrasits C., Borodina T., Amstislavskiy V., et al. Molecular dissection of colorectal cancer in pre-clinical models identifies biomarkers predicting sensitivity to EGFR inhibitors // Nat Commun. – 2017. – V. 8. – P. 14262. – DOI: 10.1038/ncomms14262.

26. Ganesh K., Wu C., O'Rourke K.P., Szeglin B.C., Zheng Y., Sauvé C.G., Adileh M., Wasserman I., Marco M.R., Kim A.S., et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation // Nat Med. – 2019. – V. 25. – P. 1607-1614. – DOI: 10.1038/s41591-019-0584-2.

27. Yan H.H.N., Siu H.C., Ho S.L., Yue S.S.K., Gao Y., Tsui W.Y., Chan D., Chan A.S., Wong J.W.H., Man A.H.Y., et al. Organoid cultures of early-onset colorectal cancers reveal distinct and rare genetic profiles // Gut. – 2020. – V. 69. – P. 2165-2179. – DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320019.

28. Yao Y., Xu X., Yang L., Zhu J., Wan J., Shen L., Xia F., Fu G., Deng Y., Pan M., et al. Patient-derived organoids predict chemoradiation responses of locally advanced rectal cancer // Cell Stem Cell. – 2020. – V. 26. – P. 17-26.e6. – DOI: 10.1016/j.stem.2019.10.010.

29. Herpers B., Eppink B., James M.I., Cortina C., Cañellas-Socias A., Boj S.F., Hernando-Momblona X., Glodzik D., Roovers R.C., van de Wetering M., et al. Functional patient-derived organoid screenings identify MCLA-158 as a therapeutic EGFR x LGR5 bispecific antibody with efficacy in epithelial tumors // Nat Cancer. – 2022. – V. 3. – P. 418-436. – DOI: 10.1038/s43018-022-00359-0.

30. Calandrini C., Schutgens F., Oka R., Margaritis T., Candelli T., Mathijsen L., Ammerlaan C., van Ineveld R.L., Derakhshan S., de Haan S., et al. An organoid biobank for childhood kidney cancers that captures disease and tissue heterogeneity // Nat Commun. – 2020. – V. 11. – P. 1310. – DOI: 10.1038/s41467-020-15155-6.

31. Broutier L., Mastrogiovanni G., Verstegen M.M., Francies H.E., Gavarró L.M., Bradshaw C.R., Allen G.E., Arnes-Benito R., Sidorova O., Gaspersz M.P., et al. Human primary liver cancer-derived organoid cultures for disease modeling and drug screening // Nat Med. – 2017. – V. 23. – P. 1424-1435. – DOI: 10.1038/nm.4438.

32. Nuciforo S., Fofana I., Matter M.S., Blumer T., Calabrese D., Boldanova T., Piscuoglio S., Wieland S., Ringnalda F., Schwank G., et al. Organoid models of human liver cancers derived from tumor needle biopsies // Cell Rep. – 2018. – V. 24. – P. 1363-1376. – DOI: 10.1016/j.celrep.2018.07.001.

33. Van Tienderen G.S., Li L., Broutier L., Saito Y., Inacio P., Huch M., Selaru F.M., van der Laan L.J.W., Verstegen M.M.A. Hepatobiliary tumor organoids for personalized medicine: a multicenter view on establishment, limitations, and future directions // Cancer Cell. – 2022. – V. 40. – P. 226-230. – DOI: 10.1016/j.ccell.2022.02.001.

34. Sachs N., Papaspyropoulos A., Zomer-van Ommen D.D., Heo I., Böttinger L., Klay D., Weeber F., Huelsz-Prince G., Iakobachvili N., Amatngalim G.D., et al. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling // EMBO J. – 2019. – V. 38. – P. e100300. – DOI: 10.15252/embj.2018100300.

35. Ding R.B., Chen P., Rajendran B.K., Lyu X., Wang H., Bao J., Zeng J., Hao W., Sun H., Wong A.H., et al. Molecular landscape and subtype-specific therapeutic response of nasopharyngeal carcinoma revealed by integrative pharmacogenomics // Nat Commun. – 2021. – V. 12. – P. 3046. – DOI: 10.1038/s41467-021-23379-3.

36. Kawasaki K., Toshimitsu K., Matano M., Fujita M., Fujii M., Togasaki K., Ebisudani T., Shimokawa M., Takano A., Takahashi S., et al. An organoid biobank of neuroendocrine neoplasms enables genotype-phenotype mapping // Cell. – 2020. – V. 183. – P. 1420-1435.e21. – DOI: 10.1016/j.cell.2020.10.023.

37. Kopper O., de Witte C.J., Lõhmussaar K., Valle-Inclan J.E., Hami N., Kester L., Balgobind A.V., Korving J., Proost N., Begthel H., et al. An organoid platform for ovarian cancer captures intra- and interpatient heterogeneity // Nat Med. – 2019. – V. 25. – P. 838-849. – DOI: 10.1038/s41591-019-0422-6.

38. Tiriac H., Belleau P., Engle D.D., Plenker D., Deschênes A., Somerville T.D.D., Froeling F.E.M., Burkhart R.A., Denroche R.E., Jang G.H., et al. Organoid profiling identifies common responders to chemotherapy in pancreatic cancer // Cancer Discov. – 2018. – V. 8. – P. 1112-1129. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0349.

39. Seino T., Kawasaki S., Shimokawa M., Tamagawa H., Toshimitsu K., Fujii M., Ohta Y., Matano M., Nanki K., Kawasaki K., et al. Human pancreatic tumor organoids reveal loss of stem cell niche factor dependence during disease progression // Cell Stem Cell. – 2018. – V. 22. – P. 454-467. – DOI: 10.1016/j.stem.2017.12.009.

40. Boj S.F., Hwang C.I., Baker L.A., Chio I.I., Engle D.D., Corbo V., Jager M., Ponz-Sarvise M., Tiriac H., Spector M.S., et al. Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer // Cell. – 2015. – V. 160. – P. 324-338. – DOI: 10.1016/j.cell.2014.12.021.

41. Driehuis E., van Hoeck A., Moore K., Kolders S., Francies H.E., Gulersonmez M.C., Stigter E.C.A., Burgering B., Geurts V., Gracanin A., et al. Pancreatic cancer organoids recapitulate disease and allow personalized drug screening // Proc Natl Acad Sci USA. – 2019. – V. 116. – P. 26580-26590. – DOI: 10.1073/pnas.1911273116.

42. Gao D., Vela I., Sboner A., Iaquinta P.J., Karthaus W.R., Gopalan A., Dowling C., Wanjala J.N., Undvall E.A., Arora V.K., et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer // Cell. – 2014. – V. 159. – P. 176-187. – DOI: 10.1016/j.cell.2014.08.016.

43. Mout L., van Dessel L.F., Kraan J., de Jong A.C., Neves R.P.L., Erkens-Schulze S., Beaufort C.M., Sieuwerts A.M., van Riet J., Woo T.L.C., et al. Generating human prostate cancer organoids from leukapheresis enriched circulating tumour cells // Eur J Cancer. – 2021. – V. 150. – P. 179-189. – DOI: 10.1016/j.ejca.2021.03.023.

44. Wang B., Gan J., Liu Z., Hui Z., Wei J., Gu X., Mu Y., Zang G. An organoid library of salivary gland tumors reveals subtype-specific characteristics and biomarkers // J Exp Clin Cancer Res. – 2022. – V. 41. – P. 350. – DOI: 10.1186/s13046-022-02561-5.

45. Nanki K., Toshimitsu K., Takano A., Fujii M., Shimokawa M., Ohta Y., Matano M., Seino T., Nishikori S., Ishikawa K., et al. Divergent routes toward Wnt and R-spondin niche independency during human gastric carcinogenesis // Cell. – 2018. – V. 174. – P. 856-869. – DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.027.

46. Tong Y., Cheng P.S.W., Or C.S., Yue S.S.K., Siu H.C., Ho S.L., Law S.Y.K., Tsui W.Y., Chan D., Ma S., et al. Escape from cell-cell and cell-matrix adhesion dependence underscores disease progression in gastric cancer organoid models // Gut. – 2023. – V. 72. – P. 242-255. – DOI: 10.1136/gutjnl-2022-327121.

47. Yan H.H.N., Siu H.C., Law S., Ho S.L., Yue S.S.K., Tsui W.Y., Chan D., Chan A.S., Ma S., Lam K.O., et al. A comprehensive human gastric cancer organoid biobank captures tumor subtype heterogeneity and enables therapeutic screening // Cell Stem Cell. – 2018. – V. 23. – P. 882-897. – DOI: 10.1016/j.stem.2018.09.016.

48. Seidlitz T., Merker S.R., Rothe A., Zakrzewski F., von Neubeck C., Grützmann K., Sommer U., Schweitzer C., Schölch S., Uhlemann H., et al. Human gastric cancer modelling using organoids // Gut. – 2019. – V. 68. – P. 207-217. – DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314549.

49. Togasaki K., Sugimoto S., Ohta Y., Nanki K., Matano M., Takahashi S., Fujii M., Kanai T., Sato T. Wnt signaling shapes the histologic variation in diffuse gastric cancer // Gastroenterology. – 2021. – V. 160. – P. 823-830. – DOI: 10.1053/j.gastro.2020.10.047.

50. Bartfeld S., Bayram T., van de Wetering M., Huch M., Begthel H., Kujala P., Vries R., Peters P.J., Clevers H. In vitro expansion of human gastric epithelial stem cells and their responses to bacterial infection // Gastroenterology. – 2015. – V. 148. – P. 126-136. – DOI: 10.1053/j.gastro.2014.09.042.

51. Hill S.J., Decker B., Roberts E.A., Horowitz N.S., Muto M.G., Worley M.J. Jr., Feltmate C.M., Nucci M.R., Swisher E.M., Nguyen H., et al. Prediction of DNA repair inhibitor response in short-term patient-derived ovarian cancer organoids // Cancer Discov. – 2018. – V. 8. – P. 1404-1421. – DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0474.

52. Huang L., Holtzinger A., Jagan I., BeGora M., Lohse I., Ngai N., Nostro C., Wang R., Muthuswamy L.B., Crawford H.C., et al. Ductal pancreatic cancer modeling and drug screening using human pluripotent stem cell- and patient-derived tumor organoids // Nat Med. – 2015. – V. 21. – P. 1364-1371. – DOI: 10.1038/nm.3973.

53. Maier C.F., Zhu L., Nanduri L.K., Kühn D., Kochall S., Thepkaysone M.L., William D., Grützmann K., Klink B., Betge J., et al. Patient-derived organoids of cholangiocarcinoma // Int J Mol Sci. – 2021. – V. 22. – P. 8675. – DOI: 10.3390/ijms22168675.

54. Saito Y., Muramatsu T., Kanai Y., Ojima H., Sukeda A., Hiraoka N., Arai E., Sugiyama Y., Matsuzaki J., Uchida R., et al. Establishment of patient-derived organoids and drug screening for biliary tract carcinoma // Cell Rep. – 2019. – V. 27. – P. 1265-1276. – DOI: 10.1016/j.celrep.2019.03.088.

55. Sato T., Stange D.E., Ferrante M., Vries R.G., Van Es J.H., Van den Brink S., Van Houdt W.J., Pronk A., Van Gorp J., Siersema P.D., et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium // Gastroenterology. – 2011. – V. 141. – P. 1762-1772. – DOI: 10.1053/j.gastro.2011.07.050.

56. Yan H.H.N., Lai J.C.W., Ho S.L., Leung W.K., Law W.L., Lee J.F.Y., Chan A.K.W., Tsui W.Y., Chan A.S.Y., Lee B.C.H., et al. RNF43 germline and somatic mutation in serrated neoplasia pathway and its association with BRAF mutation // Gut. – 2017. – V. 66. – P. 1645-1656. – DOI: 10.1136/gutjnl-2016-311849.

57. Chumduri C., Gurumurthy R.K., Berger H., Dietrich O., Kumar N., Koster S., Brinkmann V., Hoffmann K., Drabkina M., Arampatzi P., et al. Opposing Wnt signals regulate cervical squamocolumnar homeostasis and emergence of metaplasia // Nat Cell Biol. – 2021. – V. 23. – P. 184-197. – DOI: 10.1038/s41556-020-00619-0.

58. Maru Y., Kawata A., Taguchi A., Ishii Y., Baba S., Mori M., Nagamatsu T., Oda K., Kukimoto I., Osuga Y., et al. Establishment and molecular phenotyping of organoids from the squamocolumnar junc-

tion region of the uterine cervix // Cancers (Basel). – 2020. – V. 12. – P. 694. – DOI: 10.3390/cancers12030694.

59. Min J., Zhang C., Bliton R.J., Caldwell B., Caplan L., Presentation K.S., Park D.J., Kong S.H., Lee H.S., Washington M.K., et al. Dysplastic stem cell plasticity functions as a driving force for neoplastic transformation of precancerous gastric mucosa // Gastroenterology. – 2022. – V. 163. – P. 875-890. – DOI: 10.1053/j.gastro.2022.06.021.

60. Busslinger G.A., de Barbanson B., Oka R., Weusten B.L.A., de Maat M., van Hillegersberg R., Brosens L.A.A., van Boxtel R., van Oudenaarden A., Clevers H. Molecular characterization of Barrett's esophagus at single-cell resolution // Proc Natl Acad Sci USA. – 2021. – V. 118. – DOI: 10.1073/pnas.2113061118.

61. Nguyen L., Jager M., Lieshout R., de Ruiter P.E., Locati M.D., Besselink N., van der Roest B., Janssen R., Boymans S., de Jonge J., et al. Precancerous liver diseases do not cause increased mutagenesis in liver stem cells // Commun Biol. – 2021. – V. 4. – P. 1301. – DOI: 10.1038/s42003-021-02839-y.

62. Rosenbluth J.M., Schackmann R.C.J., Gray G.K., Selfors L.M., Li C.M., Boedicker M., Kuiken H.J., Richardson A., Brock J., Garber J., et al. Organoid cultures from normal and cancer-prone human breast tissues preserve complex epithelial lineages // Nat Commun. – 2020. – V. 11. – P. 1711. – DOI: 10.1038/s41467-020-15548-7.

63. B.C.H. Lee, P.S. Robinson, T.H.H. Coorens, H.H.N. Yan, S. Olafsson, H. Lee-Six, M.A. Sanders, H.C. Siu, J. Hewinson, S.S.K. Yue, et al. *Mutational landscape of normal epithelial cells in Lynch syndrome patients.* Nat. Commun., 13 (2022), p. 2710. 10.1038/s41467-022-29920-2

64. G. Vlachogiannis, S. Hedayat, A. Vatsiou, Y. Jamin, J. Fernández-Mateos, K. Khan, A. Lampis, K. Eason, I. Huntingford, R. Burke, et al. *Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers.* Science, 359 (2018), pp. 920-926. 10.1126/science.aao2774

65. M. Crespo, E. Vilar, S.Y. Tsai, K. Chang, S. Amin, T. Srinivasan, T. Zhang, N.H. Pipalia, H.J. Chen, M. Witherspoon, et al. *Colonic organoids derived from human induced pluripotent stem cells for modeling colorectal cancer and drug testing.* Nat. Med., 23 (2017), pp. 878-884. 10.1038/nm.4355

66. N. Yucer, R. Ahdoot, M.J. Workman, A.H. Laperle, M.S. Recouvreux, K. Kurowski, D.J. Naboulsi, V. Liang, Y. Qu, J.T. Plummer, et al. *Human iPSC-derived fallopian tube organoids with BRCA1 mutation recapitulate early-stage carcinogenesis.* Cell Rep., 37 (2021), p. 110146. 10.1016/j.celrep.2021.110146

67. M. Breunig, J. Merkle, M. Wagner, M.K. Melzer, T.F.E. Barth, T. Engleitner, J. Krumm, S. Wiedenmann, C.M. Cohrs, L. Perkhofer, et al. *Modeling plasticity and dysplasia of pancreatic ductal organoids derived from human pluripotent stem cells.* Cell Stem Cell, 28 (2021), pp. 1105-1124. 10.1016/j.stem.2021.03.005

68. E. Driehuis, K. Kretzschmar, H. Clevers. *Establishment of patient-derived cancer organoids for drug-screening applications.* Nat. Protoc., 15 (2020), pp. 3380-3409. 10.1038/s41596-020-0379-4

69. M. Fujii, T. Sato. *Somatic cell-derived organoids as prototypes of human epithelial tissues and diseases.* Nat. Mater., 20 (2021), pp. 156-169. 10.1038/s41563-020-0754-0

70. P. Jung, T. Sato, A. Merlos-Suárez, F.M. Barriga, M. Iglesias, D. Rossell, H. Auer, M. Gallardo, M.A. Blasco, E. Sancho, et al. *Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells.* Nat. Med., 17 (2011), pp. 1225-1227. 10.1038/nm.2470

71. L. Broutier, A. Andersson-Rolf, C.J. Hindley, S.F. Boj, H. Clevers, B.K. Koo, M. Huch. *Culture and establishment of self-renewing human and mouse adult liver and pancreas 3D organoids and their genetic manipulation.* Nat. Protoc., 11 (2016), pp. 1724-1743. 10.1038/nprot.2016.097

72. J.F. Dekkers, E.J. van Vliet, N. Sachs, J.M. Rosenbluth, O. Kopper, H.G. Rebel, E.J. Wehrens, C. Piani, J.E. Visvader, C.S. Verissimo, et al. *Long-term culture, genetic manipulation and xenotransplantation of human normal and breast cancer organoids.* Nat. Protoc., 16 (2021), pp. 1936-1965. 10.1038/s41596-020-00474-1

73. M. Fujii, M. Matano, K. Toshimitsu, A. Takano, Y. Mikami, S. Nishikori, S. Sugimoto, T. Sato. *Human intestinal organoids maintain self-renewal capacity and cellular diversity in niche-inspired culture condition.* Cell Stem Cell, 23 (2018), pp. 787-793. 10.1016/j.stem.2018.11.016

74. H. Hu, H. Gehart, B. Artegiani, C. LÖpez-Iglesias, F. Dekkers, O. Basak, J. van Es, S.M. Chuva de Sousa Lopes, H. Begthel, J. Korving, et al. *Long-term expansion of functional mouse and human hepatocytes as 3D organoids.* Cell, 175 (2018), pp. 1591-1606. 10.1016/j.cell.2018.11.013

75. M. Jiang, H. Li, Y. Zhang, Y. Yang, R. Lu, K. Liu, S. Lin, X. Lan, H. Wang, H. Wu, et al. *Transitional basal cells at the squamous-columnar junction generate Barrett's oesophagus.* Nature, 550 (2017), pp. 529-533. 10.1038/nature24269

76. *Transitional basal cells at the squamous-columnar junction generate Barrett's oesophagus.* Nature, 550 (2017), pp. 529-533. 10.1038/nature24269

77. W.R. Karthaus, P.J. Iaquinta, J. Drost, A. Gracanin, R. van Boxtel, J. Wongvipat, C.M. Dowling, D. Gao, H. Begthel, N. Sachs, et al. *Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures.* Cell, 159 (2014), pp. 163-175. 10.1016/j.cell.2014.08.017

78. F. Schutgens, M.B. Rookmaaker, T. Margaritis, A. Rios, C. Ammerlaan, J. Jansen, L. Gijzen, M. Vormann, A. Vonk, M. Viveen, et al. *Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling.* Nat. Biotechnol., 37 (2019), pp. 303-313. 10.1038/s41587-019-0048-8

79. M. Huch, H. Gehart, R. van Boxtel, K. Hamer, F. Blokzijl, M.M. Verstegen, E. Ellis, M. van Wenum, S.A. Fuchs, J. de Ligt, et al. *Long-term culture of genome-stable bipotent stem cells from adult human liver.* Cell, 160 (2015), pp. 299-312. 10.1016/j.cell.2014.11.050

80. O.A. Timofeeva, N. Palechor-Ceron, G. Li, H. Yuan, E. Krawczyk, X. Zhong, G. Liu, G. Upadhyay, A. Dakic, S. Yu, et al. *Conditionally reprogrammed normal and primary tumor prostate epithelial cells: a novel patient-derived cell model for studies of human prostate cancer.* Oncotarget, 8 (2017), pp. 22741-22758. 10.18632/oncotarget.13937

81. X. Liu, E. Krawczyk, F.A. Suprynowicz, N. Palechor-Ceron, H. Yuan, A. Dakic, V. Simic, Y.L. Zheng, P. Sripadhan, C. Chen, et al. *Conditional reprogramming and long-term expansion of normal and tumor cells from human biospecimens.* Nat. Protoc., 12 (2017), pp. 439-451. 10.1038/nprot.2016.174

82. B.R.S. Correa, J. Hu, L.O.F. Penalva, R. Schlegel, D.L. Rimm, P.A.F. Galante, S. Agarwal. *Patient-derived conditionally reprogrammed cells maintain intra-tumor genetic heterogeneity.* Sci. Rep., 8 (2018), p. 4097. 10.1038/s41598-018-22427-1

83. C. Chen, S. Choudhury, D. Wangsa, C.J. Lescott, D.J. Wilkins, P. Sripadhan, X. Liu, D. Wangsa, T. Ried, C. Moskaluk, et al. *A multiplex preclinical model for adenoid cystic carcinoma of the salivary gland identifies regorafenib as a potential therapeutic drug.* Sci. Rep., 7 (2017), p. 11410. 10.1038/s41598-017-11764-2

84. S. Raghavan, P.S. Winter, A.W. Navia, H.L. Williams, A. DenAdel, K.E. Lowder, J. Galvez-Reyes, R.L. Kalekar, N. Mulugeta, K.S. Kapner, et al. *Microenvironment drives cell state, plasticity, and drug response in pancreatic cancer.* Cell, 184 (2021), pp. 6119-6137. 10.1016/j.cell.2021.11.017

85. K. Miyabayashi, L.A. Baker, A. Deschênes, B. Traub, G. Caligiuri, D. Plenker, B. Alagesan, P. Belleau, S. Li, J. Kendall, et al. *Intraductal transplantation models of human pancreatic ductal adenocarcinoma reveal progressive transition of molecular subtypes.* Cancer Discov., 10 (2020), pp. 1566-1589. 10.1158/2159-8290.CD-20-0133

86. C. Cortina, G. Turon, D. Stork, X. Hernando-Momblona, M. Sevillano, M. Aguilera, S. Tosi, A. Merlos-Suárez, C. Stephan-Otto Attolini, E. Sancho, et al. *A genome editing approach to study cancer stem cells in human tumors.* EMBO Mol. Med., 9 (2017), pp. 869-879. 10.15252/emmm.201707550

87. de Sousa, F. Melo, A.V. Kurtova, J.M. Harnoss, N. Kljavin, J.D. Hoeck, J. Hung, J.E. Anderson, E.E. Storm, Z. Modrusan, et al. *A distinct role for Lgr5(+) stem cells in primary and metastatic colon cancer.* Nature, 543 (2017), pp. 676-680. 10.1038/nature21713

88. M. Shimokawa, Y. Ohta, S. Nishikori, M. Matano, A. Takano, M. Fujii, S. Date, S. Sugimoto, T. Kanai, T. Sato. *Visualization and targeting of LGR5(+) human colon cancer stem cells.* Nature, 545 (2017), pp. 187-192. 10.1038/nature22081

89. A. Fumagalli, K.C. Oost, L. Kester, J. Morgner, L. Bornes, L. Bruens, L. Spaargaren, M. Azkanaz, T. Schelfhorst, E. Beerling, et al. *Plasticity of Lgr5-negative cancer cells drives metastasis in colorectal cancer.* Cell Stem Cell, 26 (2020), pp. 569-578. 10.1016/j.stem.2020.02.008

90. Y. Ohta, M. Fujii, S. Takahashi, A. Takano, K. Nanki, M. Matano, H. Hanyu, M. Saito, M. Shimokawa, S. Nishikori, et al. *Cell-matrix interface regulates dormancy in human colon cancer stem cells.* Nature, 608 (2022), pp. 784-794. 10.1038/s41586-022-05043-y

91. A. Alvarez-Varela, L. Novellasdemunt, F.M. Barriga, X. Hernando-Momblona, A. Canellas-Socias, S. Cano-Crespo, M. Sevillano, C. Cortina, D. Stork, C. Morral, et al. *Mex3a marks drug-tolerant persister colorectal cancer cells that mediate relapse after chemotherapy.* Nat Cancer, 3 (2022), pp. 1052-1070. 10.1038/s43018-022-00402-0

92. A. Cañellas-Socias, C. Cortina, X. Hernando-Momblona, S. Palomo-Ponce, E.J. Mulholland, G. Turon, L. Mateo, S. Conti, O. Roman, M. Sevillano, et al. *Metastatic recurrence in colorectal cancer arises from residual EMP1(+) cells.* Nature, 611 (2022), pp. 603-613. 10.1038/s41586-022-05402-9

93. K. Nanki, M. Fujii, M. Shimokawa, M. Matano, S. Nishikori, S. Date, A. Takano, K. Toshimitsu, Y. Ohta, S. Takahashi, et al. *Somatic inflammatory gene mutations in human ulcerative colitis epithelium.* Nature, 577 (2020), pp. 254-259. 10.1038/s41586-019-1844-5

94. N. Kakiuchi, K. Yoshida, M. Uchino, T. Kihara, K. Akaki, Y. Inoue, K. Kawada, S. Nagayama, A. Yokoyama, S. Yamamoto, et al. Frequent mutations that converge on the NFKBIZ pathway in ulcerative colitis. *Nature*, 577 (2020), pp. 260-265. 10.1038/s41586-019-1856-1

95. S. Olafsson, R.E. McIntyre, T. Coorens, T. Butler, H. Jung, P.S. Robinson, H. Lee-Six, M.A. Sanders, K. Arestang, C. Dawson, et al. Somatic evolution in non-neoplastic IBD-affected colon. *Cell*, 182 (2020), pp. 672–684.e11. 10.1016/j.cell.2020.06.036

96. J. Drost, R. van Boxtel, F. Blokzijl, T. Mizutani, N. Sasaki, V. Sasselli, J. de Ligt, S. Behjati, J.E. Grolleman, T. van Wezel, et al. Use of CRISPR-modified human stem cell organoids to study the origin of mutational signatures in cancer. *Science*, 358 (2017), pp. 234-238. 10.1126/science.aao3130

97. H. Fang, H.H.N. Yan, R.A. Bilardi, C. Flensburg, H. Yang, J.A. Barbour, H.C. Siu, M. Turski, E. Chew, Z. Xu, et al. Ganciclovir-induced mutations are present in a diverse spectrum of post-transplant malignancies. *Genome Med.*, 14 (2022), p. 124. 10.1186/s13073-022-01131-w

98. C. Pleguezuelos-Manzano, J. Puschhof, A. Rosendahl Huber, A. van Hoeck, H.M. Wood, J. Nomburg, C. Gurjao, F. Manders, G. Dalmasso, P.B. Stege, et al. Mutational signature in colorectal cancer caused by genotoxic pks(+) *E. coli*. *Nature*, 580 (2020), pp. 269-273. 10.1038/s41586-020-2080-8

99. K.W. McCracken, E.M. Catá, C.M. Crawford, K.L. Sinagoga, M. Schumacher, B.E. Rockich, Y.H. Tsai, C.N. Mayhew, J.R. Spence, Y. Zavros, et al. Modelling human development and disease in pluripotent stem-cell-derived gastric organoids. *Nature*, 516 (2014), pp. 400-404. 10.1038/nature13863

100.E. De Crignis, T. Hossain, S. Romal, F. Carofiglio, P. Moulos, M.M. Khalid, S. Rao, A. Bazrafshan, M.M. Verstegen, F. Pourfarzad, et al. Application of human liver organoids as a patient-derived primary model for HBV infection and related hepatocellular carcinoma. *eLife*, 10 (2021), 10.7554/eLife.60747. 10.7554/eLife.60747

101.Y.Z. Nie, Y.W. Zheng, K. Miyakawa, S. Murata, R.R. Zhang, K. Sekine, Y. Ueno, T. Takebe, T. Wakita, A. Ryo, et al. Recapitulation of hepatitis B virus-host interactions in liver organoids from human induced pluripotent stem cells. *EBiomedicine*, 35 (2018), pp. 114-123. 10.1016/j.ebiom.2018.08.014

102.A.A. Duarte, E. Gogola, N. Sachs, M. Barazas, S. Annunziato, J.R. de Ruiter, A. Velds, S. Blatter, J.M. Houthuijzen, M. van de Ven, et al. BRCA-deficient mouse mammary tumor organoids to study cancer-drug resistance. *Nat Methods*, 15 (2018), pp. 134-140. 10.1038/nmeth.4535

103.D.V.F. Tauriello, S. Palomo-Ponce, D. Stork, A. Berenguer-Llergo, J. Badia-Ramentol, M. Iglesias, M. Sevillano, S. Ibiza, A. Cañellas, X. Hernando-Momblona, et al. TGFβ drives immune evasion in genetically reconstituted colon cancer metastasis. *Nature*, 554 (2018), pp. 538-543. 10.1038/nature25492

104.D.J. Flanagan, N. Pentinmikko, K. Luopajärvi, N.J. Willis, K. Gilroy, A.P. Raven, L. McGarry, J.I. Englund, A.T. Webb, S. Scharaw, et al. NOTUM from Apc-mutant cells biases clonal competition to initiate cancer. *Nature*, 594 (2021), pp. 430-435. 10.1038/s41586-021-03525-z

105.S.M. van Neerven, N.E. de Groot, L.E. Nijman, B.P. Scicluna, M.S. van Driel, M.C. Lecca, D.O. Warmerdam, V. Kakkar, L.F. Moreno, F.A. Vieira Braga, et al. Apc-mutant cells act as supercompetitors in intestinal tumour initiation. *Nature*, 594 (2021), pp. 436-441. 10.1038/s41586-021-03558-4

106.K.P. O'Rourke, E. Loizou, G. Livshits, E.M. Schatoff, T. Baslan, E. Manchado, J. Simon, P.B. Romesser, B. Leach, T. Han, et al. Transplantation of engineered organoids enables rapid generation of metastatic mouse models of colorectal cancer. *Nat. Biotechnol.*, 35 (2017), pp. 577-582. 10.1038/nbt.3837

107.J. Roper, T. Tammela, N.M. Cetinbas, A. Akkad, A. Roghanian, S. Rickelt, M. Almeqdadi, K. Wu, M.A. Oberli, F.J. Sánchez-Rivera, et al. In vivo genome editing and organoid transplantation models of colorectal cancer and metastasis. *Nat. Biotechnol.*, 35 (2017), pp. 569-576. 10.1038/nbt.3836

108.S. Zhang, S. Iyer, H. Ran, I. Dolgalev, S. Gu, W. Wei, C.J.R. Foster, C.A. Loomis, N. Olvera, F. Dao, et al. Genetically defined, syngeneic organoid platform for developing combination therapies for ovarian cancer. *Cancer Discov.*, 11 (2021), pp. 362-383. 10.1158/2159-8290.CD-20-0455

109.S. Naranjo, C.M. Cabana, L.M. LaFave, R. Romero, S.L. Shanahan, A. Bhutkar, P.M.K. Westcott, J.M. Schenkel, A. Ghosh, L.Z. Liao, et al. Modeling diverse genetic subtypes of lung

adenocarcinoma with a next-generation alveolar type 2 organoid platform. *Genes Dev.*, 36 (2022), pp. 936-949. 10.1101/gad.349659.122

110.Drost, R.H. van Jaarsveld, B. Ponsioen, C. Zimberlin, R. van Boxtel, A. Buijs, N. Sachs, R.M. Overmeer, G.J. Offerhaus, H. Begthel, et al. Sequential cancer mutations in cultured human intestinal stem cells. *Nature*, 521 (2015), pp. 43-47. 10.1038/nature14415

111. M. Matano, S. Date, M. Shimokawa, A. Takano, M. Fujii, Y. Ohta, T. Watanabe, T. Kanai, T. Sato. Modeling colorectal cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human intestinal organoids. *Nat. Med.*, 21 (2015), pp. 256-262. 10.1038/nm.3802

112. A. Fumagalli, J. Drost, S.J. Suijkerbuijk, R. van Boxtel, J. de Ligt, G.J. Offerhaus, H. Begthel, E. Beerling, E.H. Tan, O.J. Sansom, et al. Genetic dissection of colorectal cancer progression by orthotopic transplantation of engineered cancer organoids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 114 (2017), pp. E2357-E2364. 10.1073/pnas.1701219114

113.Arianna Fumagalli, Jarno Drost, Saskia J. E. Suijkerbuijk, Ruben van Boxtel, Joep de Ligt, G. Johan Offerhaus, Harry Begthel, Evelyne Beerling, Ee Hong Tan, Owen J. Sansom, Edwin Cuppen Hans Clevers h.clevers@hubrecht.eu, and Jacco van Rheenen Genetic dissection of colorectal cancer progression by orthotopic transplantation of engineered cancer organoids. https://orcid.org/0000-0002-0400-9542

114. A.F.M. Dost, A.L. Moye, M. Vedaie, L.M. Tran, E. Fung, D. Heinze, C. Villacorta-Martin, J. Huang, R. Hekman, J.H. Kwan, et al. Organoids model transcriptional hallmarks of oncogenic KRAS activation in lung epithelial progenitor cells. *Cell Stem Cell*, 27 (2020), pp. 663-678. 10.1016/j.stem.2020.07.022

115. J.F. Dekkers, J.R. Whittle, F. Vaillant, H.R. Chen, C. Dawson, K. Liu, M.H. Geurts, M.J. Herold, H. Clevers, G.J. Lindeman, et al. Modeling breast cancer using CRISPR-Cas9-mediated engineering of human breast organoids. *J. Natl. Cancer Inst.*, 112 (2020), pp. 540-544. 10.1093/jnci/djz196

116. J. Ogawa, G.M. Pao, M.N. Shokhirev, I.M. Verma. Glioblastoma model using human cerebral organoids. *Cell Rep.*, 23 (2018), pp. 1220-1229. 10.1016/j.celrep.2018.03.105

117. S. Bian, M. Repic, Z. Guo, A. Kavirayani, T. Burkard, J.A. Bagley, C. Krauditsch, J.A. Knoblich. Genetically engineered cerebral organoids model brain tumor formation. *Nat. Methods*, 15 (2018), pp. 631-639. 10.1038/s41592-018-0070-7

118. B. Artegiani, L. van Voorthuijsen, R.G.H. Lindeboom, D. Seinstra, I. Heo, P. Tapia, C. López-Iglesias, D. Postrach, T. Dayton, R. Oka, et al. Probing the tumor suppressor function of BAP1 in CRISPR-engineered human liver organoids. *Cell Stem Cell*, 24 (2019), pp. 927-943. 10.1016/j.stem.2019.04.017

119.K. Kawasaki, M. Fujii, S. Sugimoto, K. Ishikawa, M. Matano, Y. Ohta, K. Toshimitsu, S. Takahashi, N. Hosoe, S. Sekine, et al. Chromosome engineering of human colon-derived organoids to develop a model of traditional serrated adenoma. *Gastroenterology*, 158 (2020), pp. 638-651. 10.1053/j.gastro.2019.10.009

120. Y.H. Lo, K.S. Kolahi, Y. Du, C.Y. Chang, A. Krokhotin, A. Nair, W.D. Sobba, K. Karlsson, S.J. Jones, T.A. Longacre, et al. A CRISPR/Cas9-engineered ARID1A-deficient human gastric cancer organoid model reveals essential and nonessential modes of oncogenic transformation. *Cancer Discov.*, 11 (2021), pp. 1562-1581. 10.1158/2159-8290.CD-20-1109

121. Z. Wu, J. Zhou, X. Zhang, Z. Zhang, Y. Xie, J.B. Liu, Z.V. Ho, A. Panda, X. Qiu, P. Cejas, et al. Reprogramming of the esophageal squamous carcinoma epigenome by SOX2 promotes ADAR1 dependence. *Nat. Genet.*, 53 (2021), pp. 881-894. 10.1038/s41588-021-00859-2

122. H. Liu, Y. Zhang, Y.Y. Zhang, Y.P. Li, Z.Q. Hua, C.J. Zhang, K.C. Wu, F. Yu, Y. Zhang, J. Su, et al. Human embryonic stem cell-derived organoid retinoblastoma reveals a cancerous origin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 117 (2020), pp. 33628-33638. 10.1073/pnas.2011780117

123. E. Fessler, J. Drost, S.R. van Hooff, J.F. Linnekamp, X. Wang, M. Jansen, F. De Sousa E Melo, P.R. Prasetyanti, J.E. IJspeert, M. Franitza, et al. TGFβ signaling directs serrated adenomas to the mesenchymal colorectal cancer subtype. *EMBO Mol. Med.*, 8 (2016), pp. 745-760. 10.15252/emmm.201606184

124. B.E. Michels, M.H. Mosa, B.I. Streibl, T. Zhan, C. Menche, K. Abou-El-Ardat, T. Darvishi, E. Członka, S. Wagner, J. Winter, et al. Pooled in vitro and in vivo CRISPR-Cas9 screening identifies tumor suppressors in human colon organoids. *Cell Stem Cell*, 26 (2020), pp. 782–792.e7. 10.1016/j.stem.2020.04.003

125. T. Ringel, N. Frey, F. Ringnalda, S. Janjuha, S. Cherkaoui, S. Butz, S. Srivatsa, M. Pirkl, G. Russo, L. Villiger, et al. Genome-scale CRISPR screening in human intestinal organoids identifies drivers.

126. K. Murakami, Y. Terakado, K. Saito, Y. Jomen, H. Takeda, M. Oshima, N. Barker. A genome-scale CRISPR screen reveals factors regulating Wnt-dependent renewal of mouse gastric epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 118 (2021), 10.1073/pnas.2016806118

127. H.A. McCauley, J.M. Wells. Pluripotent stem cell-derived organoids: using principles of developmental biology to grow human tissues in a dish. *Development*, 144 (2017), pp. 958-962. 10.1242/dev.140731

128. J.R. Spence, C.N. Mayhew, S.A. Rankin, M.F. Kuhar, J.E. Vallance, K. Tolle, E.E. Hoskins, V.V. Kalinichenko, S.I. Wells, A.M. Zorn, et al. Directed differentiation of human pluripotent stem cells into intestinal tissue in vitro. *Nature*, 470 (2011), pp. 105-109. 10.1038/nature09691

129.Y. Shi, H. Inoue, J.C. Wu, S. Yamanaka. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 16 (2017), pp. 115-130. 10.1038/nrd.2016.245

130.R.C. Smith, V. Tabar. Constructing and deconstructing cancers using human pluripotent stem cells and organoids. *Cell Stem Cell*, 24 (2019), pp. 2-24. 10.1016/j.stem.2018.11.012

131.M.A. Lancaster, M. Renner, C.A. Martin, D. Wenzel, L.S. Bicknell, M.E. Hurles, T. Homfray, J.M. Penninger, A.P. Jackson, J.A. Knoblich. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature*, 501 (2013), pp. 373-379. 10.1038/nature12517

132.Y.W. Chen, S.X. Huang, A.L.R.T. de Carvalho, S.H. Ho, M.N. Islam, S. Volpi, L.D. Notarangelo, M. Ciancanelli, J.L. Casanova, J. Bhattacharya, et al. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. *Nat. Cell Biol.*, 19 (2017), pp. 542-549. 10.1038/ncb3510

133. M. Hohwieler, A. Illing, P.C. Hermann, T. Mayer, M. Stockmann, L. Perkhofer, T. Eiseler, J.S. Antony, M. Müller, S. Renz, et al. Human pluripotent stem cell-derived acinar/ductal organoids generate human pancreas upon orthotopic transplantation and allow disease modelling. *Gut*, 66 (2017), pp. 473-486. 10.1136/gutjnl-2016-312423

134. S.L. Trisno, K.E.D. Philo, K.W. McCracken, E.M. Catá, S. Ruiz-Torres, S.A. Rankin, L. Han, T. Nasr, P. Chaturvedi, M.E. Rothenberg, et al. Esophageal organoids from human pluripotent stem cells delineate Sox2 functions during esophageal specification. *Cell Stem Cell*, 23 (2018), pp. 501–515.e7. 10.1016/j.stem.2018.08.008

135. J.H. Low, P. Li, E.G.Y. Chew, B. Zhou, K. Suzuki, T. Zhang, M.M. Lian, M. Liu, E. Aizawa, C. Rodriguez Esteban, et al. Generation of human PSC-derived kidney organoids with patterned nephron segments and a de novo vascular network. *Cell Stem Cell*, 25 (2019), pp. 373–387.e9. 10.1016/j.stem.2019.06.009

136. S.J. Mun, J.S. Ryu, M.O. Lee, Y.S. Son, S.J. Oh, H.S. Cho, M.Y. Son, D.S. Kim, S.J. Kim, H.J. Yoo, et al. Generation of expandable human pluripotent stem cell-derived hepatocyte-like liver organoids. *J. Hepatol.*, 71 (2019), pp. 970-985. 10.1016/j.jhep.2019.06.030

137. M. Zhang, J.J. Vandana, L. Lacko, S. Chen. Modeling cancer progression using human pluripotent stem cell-derived cells and organoids. *Stem Cell Res.*, 49 (2020), p. 102063. 10.1016/j.scr.2020.102063

138. M.P. Chao, A.J. Gentles, S. Chatterjee, F. Lan, A. Reinisch, M.R. Corces, S. Xavy, J. Shen, D. Haag, S. Chanda, et al. Human AML-iPSCs reacquire leukemic properties after differentiation and model clonal variation of disease. *Cell Stem Cell*, 20 (2017), pp. 329–344.e7. 10.1016/j.stem.2016.11.018

139. K. Kumano, S. Arai, M. Hosoi, K. Taoka, N. Takayama, M. Otsu, G. Nagae, K. Ueda, K. Nakazaki, Y. Kamikubo, et al. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples. *Blood*, 119 (2012), pp. 6234-6242. 10.1182/blood-2011-07-367441

140. K. Hu, J. Yu, K. Suknuntha, S. Tian, K. Montgomery, K.D. Choi, R. Stewart, J.A. Thomson, I.I. Slukvin. Efficient generation of transgene-free induced pluripotent stem cells from normal and neoplastic bone marrow and cord blood mononuclear cells. *Blood*, 117 (2011), pp. e109-e119. 10.1182/blood-2010-07-298331

141. S. Gandre-Babbe, P. Paluru, C. Aribeana, S.T. Chou, S. Bresolin, L. Lu, S.K. Sullivan, S.K. Tasian, J. Weng, H. Favre, et al. Patient-derived induced pluripotent stem cells recapitulate hematopoietic abnormalities of juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*, 121 (2013), pp. 4925-4929. 10.1182/blood-2013-01-478412

142.A. Linkous, D. Balamatsias, M. Snuderl, L. Edwards, K. Miyaguchi, T. Milner, B. Reich, L. Cohen-Gould, A. Storaska, Y. Nakayama, et al. Modeling patient-derived glioblastoma with cerebral organoids. *Cell Rep.*, 26 (2019), pp. 3203–3211.e5. 10.1016/j.celrep.2019.02.063

143. M.S. Choe, J.S. Kim, H.C. Yeo, C.M. Bae, H.J. Han, K. Baek, W. Chang, K.S. Lim, S.P. Yun, I.S. Shin, et al. A simple metastatic brain cancer model using human embryonic stem cell-derived cerebral organoids. *FASEB J.*, 34 (2020), pp. 16464-16475. 10.1096/fj.202000372R

144.J. Barretina, G. Caponigro, N. Stransky, K. Venkatesan, A.A. Margolin, S. Kim, C.J. Wilson, J. Lehár, G.V. Kryukov, D. Sonkin, et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature*, 483 (2012), pp. 603-607. 10.1038/nature11003

145. M.J. Garnett, E.J. Edelman, S.J. Heidorn, C.D. Greenman, A. Dastur, K.W. Lau, P. Greninger, I.R. Thompson, X. Luo, J. Soares, et al. Systematic identification of genomic markers of drug sensitivity in cancer cells. *Nature*, 483 (2012), pp. 570-575. 10.1038/nature11005

146.L. Li, H. Knutsdottir, K. Hui, M.J. Weiss, J. He, B. Philosophe, A.M. Cameron, C.L. Wolfgang, T.M. Pawlik, G. Ghiaur, et al. Human primary liver cancer organoids reveal intratumor and interpatient drug response heterogeneity. *JCI Insight*, 4 (2019), 10.1172/jci.insight.121490

147. C.J. de Witte, J. Espejo Valle-Inclan, N. Hami, K. Lõhmussaar, O. Kopper, C.P.H. Vreuls, G.N. Jonges, P. van Diest, L. Nguyen, H. Clevers, et al. Patient-derived ovarian cancer organoids mimic clinical response and exhibit heterogeneous inter- and intrapatient drug responses. *Cell Rep.*, 31 (2020), p. 107762. 10.1016/j.celrep.2020.107762

148.S. Karkampouna, F. La Manna, A. Benjak, M. Kiener, M. De Menna, E. Zoni, J. Grosjean, I. Klima, A. Garofoli, M. Bolis, et al. Patient-derived xenografts and organoids model therapy response in prostate cancer. *Nat. Commun.*, 12 (2021), p. 1117. 10.1038/s41467-021-21300-6

149.J. Betge, N. Rindtorff, J. Sauer, B. Rauscher, C. Dingert, H. Gaitantzi, F. Herweck, K. Srour-Mhanna, T. Miersch, E. Valentini, et al. The drug-induced phenotypic landscape of colorectal cancer organoids. *Nat. Commun.*, 13 (2022), p. 3135. 10.1038/s41467-022-30722-9

150.K. Toshimitsu, A. Takano, M. Fujii, K. Togasaki, M. Matano, S. Takahashi, T. Kanai, T. Sato. Organoid screening reveals epigenetic vulnerabilities in human colorectal cancer. *Nat. Chem. Biol.*, 18 (2022), pp. 605-614. 10.1038/s41589-022-00984-x

151.S.N. Ooft, F. Weeber, K.K. Dijkstra, C.M. McLean, S. Kaing, E. van Werkhoven, L. Schipper, L. Hoes, D.J. Vis, J. van de Haar, et al. Patient-derived organoids can predict response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients. *Sci. Transl. Med.*, 11 (2019), 10.1126/scitranslmed.aay2574

152.C. Calandrini, S.R. van Hooff, I. Paassen, D. Ayyildiz, S. Derakhshan, M.E.M. Dolman, K.P.S. Langenberg, M. van de Ven, C. de Heus, N. Liv, et al. Organoid-based drug screening reveals Neddylation as therapeutic target for malignant rhabdoid tumors. *Cell Rep.*, 36 (2021), p. 109568. 10.1016/j.celrep.2021.109568

153.P. Tan, M. Wang, A. Zhong, Y. Wang, J. Du, J. Wang, L. Qi, Z. Bi, P. Zhang, T. Lin, et al. SRT1720 inhibits the growth of bladder cancer in organoids and murine models through the SIRT1-HIF axis. *Oncogene*, 40 (2021), pp. 6081-6092. 10.1038/s41388-021-01999-9

154.T. Seidlitz, Y.T. Chen, H. Uhlemann, S. Schölch, S. Kochall, S.R. Merker, A. Klimova, A. Hennig, C. Schweitzer, K. Pape, et al. Mouse models of human gastric cancer subtypes with stomach-specific CreERT2-mediated pathway alterations. *Gastroenterology*, 157 (2019), pp. 1599–1614.e2. 10.1053/j.gastro.2019.09.026

155. H. Zhang, A. Schaefer, Y. Wang, R.G. Hodge, D.R. Blake, J.N. Diehl, A.G. Papageorge, M.D. Stachler, J. Liao, J. Zhou, et al. Gain-of-function RHOA mutations promote focal adhesion kinase activation and dependency in diffuse gastric cancer. *Cancer Discov.*, 10 (2020), pp. 288-305. 10.1158/2159-8290.CD-19-0811

156.S. Sugimoto, Y. Ohta, M. Fujii, M. Matano, M. Shimokawa, K. Nanki, S. Date, S. Nishikori, Y. Nakazato, T. Nakamura, et al. Reconstruction of the human colon epithelium in vivo. *Cell Stem Cell*, 22 (2018), pp. 171–176.e5. 10.1016/j.stem.2017.11.012

157.K. Karlsson, M. Przybilla, H. Xu, E. Kotler, K. Karagyozova, A. Sockell, K. Liu, A. Mah, Y.H. Lo, B. Lu, et al. Experimental evolution in TP53 deficient human gastric organoids recapitulates tumorigenesis. Preprint at *bioRxiv* (2022), 10.1101/2022.04.09.487529

158.R. Coppo, J. Kondo, K. Iida, M. Okada, K. Onuma, Y. Tanaka, M. Kamada, M. Ohue, K. Kawada, K. Obama, et al. Distinct but interchangeable subpopulations of colorectal cancer cells with different growth fates and drug sensitivity. *iScience*, 26 (2023), p. 105962. 10.1016/j.isci.2023.105962

159.K.K. Dijkstra, C.M. Cattaneo, F. Weeber, M. Chalabi, J. van de Haar, L.F. Fanchi, M. Slagter, D.L. van der Velden, S. Kaing, S. Kelderman, et al. Generation of tumor-reactive T cells by co-culture of

peripheral blood lymphocytes and tumor organoids. *Cell*, 174 (2018), pp. 1586–1598.e12. 10.1016/j.cell.2018.07.009

160.B. Palikuqi, D.T. Nguyen, G. Li, R. Schreiner, A.F. Pellegata, Y. Liu, D. Redmond, F. Geng, Y. Lin, J.M. Gómez-Salinero, et al. Adaptable haemodynamic endothelial cells for organogenesis and tumorigenesis. *Nature*, 585 (2020), pp. 426-432. 10.1038/s41586-020-2712-z

161.J.T. Neal, X. Li, J. Zhu, V. Giangarra, C.L. Grzeskowiak, J. Ju, I.H. Liu, S.H. Chiou, A.A. Salahudeen, A.R. Smith, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment. *Cell*, 175 (2018), pp. 1972–1988.e16. 10.1016/j.cell.2018.11.021

162.S. Ding, C. Hsu, Z. Wang, N.R. Natesh, R. Millen, M. Negrete, N. Giroux, G.O. Rivera, A. Dohlman, S. Bose, et al. Patient-derived micro-organospheres enable clinical precision oncology. *Cell Stem Cell*, 29 (2022), pp. 905–917.e6. 10.1016/j.stem.2022.04.006

163.N.S. Münch, H.Y. Fang, J. Ingermann, H.C. Maurer, A. Anand, V. Kellner, V. Sahm, M. Wiethaler, T. Baumeister, F. Wein, et al. High-fat diet accelerates carcinogenesis in a mouse model of Barrett's esophagus via interleukin 8 and alterations to the gut microbiome. *Gastroenterology*, 157 (2019), pp. 492-506.e2. 10.1053/j.gastro.2019.04.013

164.S. Price, S. Bhosle, E. Gonçalves, X. Li, D.P. McClurg, S. Barthorpe, A. Beck, C. Hall, H. Lightfoot, L. Farrow, et al. A suspension technique for efficient large-scale cancer organoid culturing and perturbation screens. *Sci. Rep.*, 12 (2022), p. 5571. 10.1038/s41598-022-09508-y

165.N. Gjorevski, N. Sachs, A. Manfrin, S. Giger, M.E. Bragina, P. Ordóñez-Morán, H. Clevers, M.P. Lutolf. Designer matrices for intestinal stem cell and organoid culture. *Nature*, 539 (2016), pp. 560-564. 10.1038/nature20168

КАНЦЕРОГЕНЕЗДІ МОДЕЛЬДЕУДЕГІ ЖӘНЕ ЖЕКЕ МЕДЕЦИНАДАҒЫ ЖАСУШАЛАР БИОТЕХНОЛОГИЯЛАРЫНЫҢ ПОТЕНЦИАЛЫ

А.К. Наханов, С.К. Коканов, А.А. Теребай*, Л.Г. Мараховская

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
«QazBioPharm» ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы
* s.kokanov@biosafety.kz

Аннотация. Онкологиялық аурулар адамзаттың ең өзекті мәселелерінің бірі болып табылады. Өкінішке орай, қатерлі ісіктің алдын алу мен емдеудің заманауи әдістері өлім-жітімнің жоғарылау тенденциясына және осы аурулардың жаңа жағдайларының пайда болуына сәйкес келмейді. Мұның бір себебі адам ісіктерін, олардың әртүрлі морфологиясын, молекулалық сипаттамаларын және микроортасын дәл бейнелейтін клиникаға дейінгі *in vitro* үлгілерінің болмауы. Ісіктерді зерттеу, олардың морфологиялық сипаттамалары, емдеу болжамы, емдеу тәсілдер әлі күнге дейін жасуша мен жануарлар өсінділерін 2-өлшемді үлгілерде жүргізілуде. Алайда, жасуша өсінділерінің 2-өлшемді үлгілерінде тінге тән архитектураның, биохимиялық сигналдардың және жасушалар мен қоршаған матрицаның өзара әрекеттесуінің болмауына байланысты шектеулер бар, сондықтан олар *in vivo* күрделі процестерді дәл көрсете және үлгі ретінде алмайды. Өз кезегінде, ісік ауруларын модельдеу және дәрі-дәрмектерді сынау үшін жануарларды пайдалану қымбат және уақытты қажет етеді, сонымен қатар бұл модельдер түрлердің айырмашылығына байланысты адамдардың биологиялық реакцияларына бейнелей алмайды. 3-өлшемді үлгілер морфология, пролиферация, дәрілік емдеуге жауап беру, сондай-ақ гендер мен ақуыздардың экспрессиясы тұрғысынан анағұрлым қолайлы, тіндердің in vivo өсуін дәлірек бейнелейді. Бұл шолуда канцерогенезді және олардың дәл медицинадағы әлеуетін зерттеу үшін жасушалық биотехнологияларды қолдану туралы заманауи ғылыми дәлелдер келтірілген.

Түйінді сөздер: жасуша өсіндісілері, органоидтар, онкология, in vitro - модельдер, канцерогенез, жеке медицина.

CELLULAR BIOTECHNOLOGIES IN THE MODELING OF CARCINOGENESIS AND THEIR POTENTIAL IN PRECISION MEDICINE

A.K. Nakhanov, S.K. Kokanov, A.A. Terebay*, L.G. Marakhovskaya

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm», Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan
* s.kokanov@biosafety.kz

Annotation. Oncological diseases are one of the most pressing problems of mankind. Unfortunately, modern methods of cancer prevention and treatment have not kept pace with the trend of increasing mortality and the emergence of new cases of these diseases. One of the reasons for this is the lack of preclinical in vitro models that would accurately simulate human tumors, their diverse morphology, molecular characteristics and microenvironment. Studies of tumors, their morphological characteristics, treatment prognosis, and therapeutic approaches are still carried out on two-dimensional models of cell and animal cultures. However, two-dimensional cell culture models have limitations due to the lack of tissue-specific architecture, biochemical signals, and interactions between cells and the surrounding matrix, so they cannot accurately display and simulate complex processes in vivo. In turn, using animals to model tumor diseases and test drugs for them is not only expensive and time-consuming, but also these models cannot simulate biological reactions of humans due to species differences. Three-dimensional tissue models are more suitable in terms of morphology, migration, proliferation, response to drug treatment, as well as gene and protein expression, and more accurately mimic tissue growth in vivo. This review presents current scientific data on the use of cellular biotechnologies to study carcinogenesis and their potential in precision medicine.

Key words: cell culture, organoids, oncology, in vitro models, carcinogenesis, precision medicine.

МРНТИ 34.25.01

DOI: 10.58318/2957-5702-2025-23-84-92

Оригинальная статья

ПОДБОР СТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВИРУСА РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ ЧЕЛОВЕКА

Тургын М.Б [1], Кендирбаева С.К [2], Кенжебаева М.К [1],Жугунисов К.Д [1], Мамбеталиев М[1], Азанбекова М.А[1], Килибаев С.С [1]

[1]ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан
[2]Кыргызский государственный университет им. И. Арабаева, г.Бишкек, Республика Кыргызстан, *sanat.kilibaev@mail.ru

Аннотация. В данной работе представлены результаты исследования по подбору стабилизирующей среды для вируса респираторно-синцитиальной инфекции человека. При этом проведены исследования с использованием разных стабилизирующих сред, применяемые в биотехнологии и изучены их влияния на сохраняемости изучаемого вируса при хранении в разных температурно-временных условиях с последующим определением остаточной биологической активности образцов вируса в перевиваемой клеточной культуре Vero.

По результатам исследования было установлено, что все образцы вируса, содержащие пептон, сахарозу, желатин и их смеси при низких температурах (минус 40 °С и плюс 4 °С) благоприятно влияют на сохраняемость вируса, тогда как высокая плюсовая температура (37 °С и 22 °С) способствует снижению биологической активности вируса респираторно-синцитиальной инфекции человека. Эти данные важны для хранения, транспортировки и применения вируса при разработке диагностических и вакцинных препаратов против данной инфекции.

Ключевые слова: респираторно-синцитиальная инфекция человека, вирус, сохраняемость, защитная среда, режим хранения, биологическая активность.