Секция «Биоинженерия»

Создание и характеристика генетически модифицированной линии мезенхимных стволовых клеток, сверхэксперссирующих интерлейкин 2

Научный руководитель – Соловьева Валерия Владимировна

Чулпанова Дарья Сергеевна
Студент (магистр)
Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия
E-mail: daryachulpanova@gmail.com

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) обладают иммунологической инертностью и естественным тропизмом к опухолевым нишам, что делает их перспективными векторами для целевой доставки противоопухолевых агентов. Одним из таких агентов является интерлейкин 2 (ИЛ-2), который регулирует активацию лимфоцитов человека, что позволяет использовать его в качестве иммуномодулятора для терапии злокачественных новообразований.

В настоящей работе была получена и охарактеризована линия МСК из жировой ткани (МСК-ЖТ) человека со сверхэкспрессией ИЛ-2.

Для продукции рекомбинантных лентивирусов был использован вектор pLX303, кодирующий кДНК гена ИЛ-2. Для контроля эффективности трансдукции также был получен лентивирус, кодирующий ген голубого флуоресцентного белка BFP.

МСК-ЖТ модифицировали концентрированными ультрацентрифугированием лентивирусами, кодирующими ИЛ-2 и BFP (МСК-ЖТ-ИЛ-2 и МСК-ЖТ-BFP) с множественностью инфекции (MOI) 10. После генетической модификации проводили селекцию трансдуцированных клеток путем культивирования с бластицидином S.

Уровень экспрессии ИЛ-2 в генетически модифицированных МСК-ЖТ определяли с помощью ПЦР в режиме реального времени. Пролиферативную активность нативных и генетически модифицированных МСК-ЖТ определяли с помощью MTS-теста в течение 24, 48 и 72 часов культивирования. Не было отмечено статистически значимых различий в пролиферативной активности нативных и МСК-ЖТ, генетически модифицированных ИЛ-2 и BFP. Жизнеспособность клеток анализировали тестом на апоптоз с использованием набора FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit with PI (Sony). Нами было показано незначительное повышение количества жизнеспособных клеток в течение 48 часов культивирования в образцах МСК-ЖТ-ИЛ-2 по отношению к МСК-ЖТ-BFP и нативным МСК-ЖТ (91,6%, 83,6% и 83%, соответственно).

Иммунофенотипический анализ нативных и генетически модифицированных МСК-ЖТ показал, что сверхэкспрессия ИЛ-2 не влияет на экспрессию поверхностных маркеров (CD-маркеров). Все образцы МСК-ЖТ были положительны по CD-маркерам мезенхимной стволовой клетки (CD44, CD90, CD29, CD105, CD166 и CD73) и отрицательны по CD-маркерам гемопоэтических клеток. Мультилинейность дифференцировки нативных и генетически модифицированных МСК-ЖТ в адипо-, хондро- и остеогенном направлениях была подтверждена путем культивирования клеток в специальных дифференцировочных средах.

В результате работы были получены и охарактеризованы стабильные культуры МСК-ЖТ-ИЛ-2 и МСК-ЖТ-BFP. Работа была поддержана грантом РФФИ №18-04-01133.