

Сравнительный анализ внеклеточных везикул и индуцированных цитохалазином В микровезикул мезенхимальных стволовых клеток

Научный руководитель – Гомзикова Марина Олеговна

Курбангалеева Сирина Василевна

Аспирант

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия

E-mail: kurbangaleeva_s@mail.ru

Введение: Внеклеточные везикулы (ВВ) участвуют в межклеточной коммуникации. Они доставляют в клетки-реципиенты различные биологически активные молекулы (белки, микроРНК, мяРНК) и органеллы. В нашей работе мы получили индуцированные цитохалазином В микровезикулы из мышинных жировых мезенхимальных стволовых клеток (иМВ-МСК). Обработка клеток цитохалазином В с последующим активным перемешиванием приводит к высокому выходу микровезикул. Целью нашей работы было сравнить размер и иммунный фенотип иМВ-МСК и ВВ, полученных из мышинных жировых МСК.

Материалы и методы: ВВ выделяли из кондиционированной среды серией центрифугирований: при $400 \times g$ в течение 5 мин, при $2000 \times g$ в течение 20 мин, при $10000 \times g$ в течение 45 мин и, наконец, при $100000 \times g$ в течение 90 мин при $4^\circ C$ на ультрацентрифуге BECKMAN L70 (Beckman Coulter, США). Характеристика иМВ-МСК и ВВ была проведена с использованием сканирующей электронной микроскопии (Carl Zeiss, Германия). Иммунный фенотип иМВ-МСК и ВВ, полученных из МСК, характеризовали иммуноокрашиванием моноклональными антителами, анализируемыми с помощью проточного цитофлюориметра-сортера BD FACS Aria III (BD Bioscience, США).

Результаты: Мы выяснили, что иМВ-МСК размером от 100 до 1300 нм могут быть получены с использованием первичных МСК жировой ткани мышей. ВВ, полученные из МСК мышинной жировой ткани, имеют размер от <50 до 200 нм. Также мы исследовали наличие трансмембранных белков тетраспанинов (CD9, CD63) на поверхности ВВ и иМВ-МСК с использованием моноклональных антител. Полученные результаты показали, что ВВ в 4,1 раза более CD63-позитивны и в 1,5 раза менее CD9-позитивны по сравнению с иМВ-МСК. Известно, что CD63 связан с мембранами внутриклеточных везикул, тогда как CD9 имеет внеклеточные домены и является одним из маркеров МСК.

Выводы: Это исследование показало, что микровезикулы, индуцированные цитохалазином В, больше, чем внеклеточные везикулы мышинных жировых МСК. Также наши результаты подтвердили эндосомальное происхождение ВВ, в то время как иМВ-МСК отпочковываются от клеточной поверхности и окружены цитоплазматической мембраной родительской клетки.