

Лазер-индуцированное высвобождение нейроактивных белков из микрокапсул для направленной дифференцировки нейтральных клеток

Научный руководитель – Сухоруков Глеб Борисович

Смирнов Иван Владимирович

Аспирант

Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

E-mail: ivan_smirnov_98@mail.ru

Нейрональные прогениторные клетки человека (НПК) активно используются в исследованиях по стволовой терапии повреждений мозга. Для долгосрочного наблюдения за вводимыми клетками в мультиклеточных комплексах предлагаются различные методы, в том числе метод маркировки и отслеживания клеток без генетической модификации с использованием фотоконвертируемых полиэлектролитных микрокапсул (1.7 мкм). Фотопереключение капсул внутри клеток возможно как при однофотонном (488, 561 нм), так и при двухфотонном (790, 1045 нм) возбуждении. Данная методика позволяет пометить клетку стабильным маркером для ее отличия от остальных немеченых клеток как в двумерных, так и трехмерных клеточных комплексах, к примеру, в нейросфероидах [1]. Для повышения выживаемости вводимых клеток, а также формирования направленности миграции и дифференциации НПК могут быть использованы нейроактивные белки. Данные белки могут быть загружены в полимерные капсулы и высвобождены из них при лазерном воздействии [2].

В ходе работы были оценены возможность и оптимальные параметры комбинации фотопереключения капсул с Родамин изоцианатом, конюгированным с полиаллиламином, и высвобождение белка на двух системах конфокальной микроскопии – однофотонной и мультифотонной. Полученные капсулы продемонстрировали низкую цитотоксичность, высокую способность к интернализации НПК и способность к стабильной загрузке модельным белком. Капсулы, загруженные белком, способны высвобождать вещество как под действием однофотонных, так и двухфотонных возбуждающих лазеров при параметрах, не влияющих на выживаемость клеток. Микрокапсулы в клетках сохраняли высокий уровень флуоресцентного сигнала и способность детекции в течение двух недель. Также было показано, что возможно использование данных капсул для активации дифференциации и формированию нейритов НПК при высвобождении нейроактивных белков (NeuroD1 и BDNF).

Таким образом, с помощью данного метода возможно придать каждой клетке индивидуальный стабильный «маркер» в виде определенного количества капсул разных цветов и проследить судьбу активированных высвобожденным белком клеток. Этот новый метод предлагает многообещающую альтернативу для изучения поведения и миграции НПК для долгосрочного отслеживания не только в монослойных культурах клеток, но и в тканях при регенеративной стволовой терапии.

Источники и литература

- 1) Smirnov IV. Long-term tracing of individual human neural cells using multiphoton microscopy and photoconvertible polymer capsules // J. R. Soc. Interface 2024 21: 20240497.
- 2) Brkovic N. Quantitative Assessment of Endosomal Escape of Various Endocytosed Polymer-Encapsulated Molecular Cargos upon Photothermal Heating // Small. 2020 Nov;16(46):e2003639.