

Матрикс-связанные везикулы, выделенные из внеклеточного матрикса, в регуляции дифференцировки мезенхимных стволовых клеток *in vitro*

Научный руководитель – Ефименко Анастасия Юрьевна

Селина Д.В.¹, Efimenko A.Y.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия, *E-mail: daria.selina13@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: efimenkoan@gmail.com*

Согласно современным представлениям о внеклеточном матриксе (ВКМ), в его состав включены не только структурные белки и компоненты клеточной адгезии, но и различные депонированные компоненты, в том числе ферменты, участвующие в ремоделировании ВКМ, факторы роста и матрикс-связанные везикулы (МСВ) [1]. Основными клетками-продуцентами ВКМ являются стромальные клетки, к которым относятся мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК). МСК вносят важный вклад в процессы обновления и восстановления тканей преимущественно благодаря специфической паракринной активности, обеспечивающей большинство регуляторных эффектов, в том числе гомеостаз тканеспецифичных ниш стволовых клеток. [2]. МСВ в составе ВКМ предположительно могут участвовать в формировании специфического микроокружения для стволовых клеток и регулировать их дифференцировку. Однако вклад МСВ в эти процессы остаётся малоизученным. В нашей работе мы оценивали влияние МСВ нативного ВКМ, продуцируемого МСК в составе клеточных пластов, на поведение дифференцированных и стволовых клеток.

ВКМ получали из клеточных пластов иммортализованных МСК путем децеллюляризации (дВКМ) с использованием CNAPS и обработки ДНКазой I типа, а везикулоподобные структуры в дВКМ наблюдали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) и подтверждали с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Мы сравнили 3 подхода выделения матрикс-связанных везикул (МСВ) путем обработки дВКМ 1) коллагеназой I типа, 2) коллагеназой I типа и гиалуронидазой I-S, 3) трипсином. Выделенные МСВ визуализировали с помощью ПЭМ и характеризовали на наличие ключевых маркеров экзосом с помощью иммуноблоттинга. Мы исследовали влияние МСВ на формирование капилляроподобных структур эндотелиальными клетками (модель ангиогенеза *in vitro*), а также на дифференцировку МСК жировой ткани в адипогенном, остеогенном, хондрогенном направлениях при добавлении выделенных МСВ или после их удаления из дВКМ обработкой фосфолипазой, изопропанолом или РНКазой.

Мы подтвердили, что МСВ, обладающие характеристиками внеклеточных везикул, присутствуют в составе ВКМ, синтезируемого МСК, и могут быть изолированы или удалены из дВКМ с помощью протестированных подходов. Выделенные из дВКМ МСВ не стимулировали формирование капилляроподобных структур эндотелиальными клетками в отличие от внеклеточных везикул, секретируемых МСК в среду культивирования. Обработка дВКМ РНКазой не оказывала значительного влияния на дифференцировку МСК, тогда как обработка изопропанолом приводила к небольшому подавлению индуцированной остеогенной и хондрогенной дифференцировки МСК, а изолированные МСВ стимулировали адипогенную дифференцировку МСК.

Таким образом, продуцируемый стромальными клетками дВКМ включает МСВ, которые могут представлять особый подкласс внеклеточных везикул, участвующих в форми-

ровании регуляторного микроокружения стволовых клеток. Изучение их функциональной роли требует дальнейших исследований.

Исследование поддержано грантом РФФ (№19-75-30007).

Источники и литература

- 1) Naba A. et al. The extracellular matrix: Tools and insights for the “omics” era //Matrix Biology. – 2016. – Т. 49. – С. 10-24.
- 2) Chaco'n-Martí'nez et al. Signaling in the stem cell niche: regulating cell fate, function and plasticity//Development. –2018.