

## Оценка эффективности переноса НОХ-кода для генов НОХА10 и НОХА11 при контактном сокультивировании

Научный руководитель – Кулебякина Мария Александровна

Смирнова А.С.<sup>1</sup>, Кулебякина М.А.<sup>2</sup>, Еремичев Р.Ю.<sup>3</sup>, Александрюшкина Н.А.<sup>4</sup>

1 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: anast\_smir@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: coolebyakina@gmail.com*; 3 - Российский университет дружбы народов, Медицинский факультет, Москва, Россия, *E-mail: romaneremichev@gmail.com*; 4 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия, *E-mail: n.alexandrushkina@gmail.com*

Мезенхимные мультипотентные стромальные клетки (МСК) играют важную роль в обновлении тканей и в их заживлении после повреждения. При этом многие эффекты МСК опосредуются за счет механизмов влияния на соседние клетки. Одним из таких механизмов является так называемый перенос НОХ-кода, при котором клетка, не экспрессирующая гены НОХ (далее НОХ-), перенимает паттерн экспрессии генов НОХ от НОХ-положительной клетки (НОХ+) при контактном взаимодействии. Современные исследования свидетельствуют в пользу того, что экспрессия тканеспецифичных генов НОХ, многократно увеличивающаяся после повреждения, требуется для эпиморфной регенерации ряда тканей, в частности, эндометрия. Однако на сегодняшний день неизвестно, обусловлено ли возрастание экспрессии тканеспецифичных для эндометрия генов НОХ (НОХА10 и НОХА11; далее НОХА10-11) процессом переноса НОХ-кода от НОХ+ к НОХ- клеткам.

Целью работы было, используя модель контактного сокультивирования клеток, оценить, происходит ли в исходно НОХ- клетках: а) индукция экспрессии генов НОХА10-11; б) увеличение содержания белков НОХА10-11 в ядре; в) изменение экспрессии транскрипционных мишеней факторов НОХА10-11.

В качестве НОХА10-11+ клеток в работе использовали первичную культуру МСК эндометрия человека, а в качестве НОХ- клеток - первичную культуру стромальных клеток пульпы зуба человека. Используемые культуры мы охарактеризовали, оценив в них уровни экспрессии генов НОХА10-11 и их известных транскрипционных основных мишеней (LIF, IGFBP1). Клетки пульпы зуба сокультивировали с МСК эндометрия в течение пяти дней, используя вставки Transwell с диаметром пор 1 мкм. После сокультивирования клетки пульпы зуба пересеивали и наращивали в течение недели, после чего из них выделяли либо белки ядерной фракции, либо тотальную РНК. Уровни экспрессии генов НОХА10-11, а также их мишеней оценивали методом RT-PCR. Содержание белков НОХА10-11 в ядерной фракции оценивали методом вестерн-блоттинга.

По результатам работы в клетках МСК эндометрия отмечена высокая экспрессия генов НОХА10-11 и IGFBP1, также в них наблюдалась экспрессия LIF. Интактные клетки пульпы зуба экспрессировали LIF, но не НОХА10-11 и IGFBP1. После контактного сокультивирования МСК эндометрия с клетками пульпы зуба в последних не изменялась экспрессия генов НОХА10-11, а также, согласно результатам вестерн-блоттинга, не наблюдалось появление белков НОХА10-11. Изменений экспрессии LIF и IGFBP1 в клетках пульпы зуба также не происходило.

Таким образом, мы сравнили экспрессию генов НОХА10-11 и их транскрипционных мишеней в МСК эндометрия и в стромальных клетках пульпы зуба. Согласно полученным результатам, устойчивая экспрессия генов НОХА10-11 в НОХ-отрицательных клетках

не индуцируется при простом контактном сокультивировании с НОХА10-11-положительными клетками. Детектируемого переноса белков НОХА10-11 внутрь клеток в данных условиях также не происходит. По полученным нами результатам можно заключить, что субпопуляция НОХА10-11-положительных МСК эндометрия человека, по всей видимости, реализует свое действие на окружающие клетки стромы способами, отличными от простого переноса НОХА10-11.