

Роль актиновых филаментов в реактивации сфероидов из эпителиальных и мезенхимных стромальных клеток человека

Научный руководитель – Кошелева Настасья Владимировна

Котенева Полина Игоревна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра эмбриологии, Москва, Россия

E-mail: koteneva.polina@yandex.ru

3D культура клеток одна из приближенных к условиям нативных тканей моделей. В сфероиде микроразмещение, взаимодействия клеток друг с другом и с внеклеточным матриксом близки к таковым *in vivo* [1]. Однако механизмы компактизации и реактивации сфероидов из эпителиальных и мезенхимных клеток в сравнительном аспекте мало изучены. Поэтому целью данной работы стало изучение роли актиновых филаментов в реактивации сфероидов из мезенхимных и эпителиальных клеток.

Были использованы первичная культура мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) из слизистой оболочки ротовой полости человека и линии клеток ретинального пигментного эпителия человека (ARPE-19). Сфероиды получали по отработанной технологии [2] на неадгезивных агарозных планшетах (Microtissue, США). Для реактивации сфероиды через 1, 3 и 7 суток культивирования в 3D условиях переводили в адгезивные условия, для блокирования полимеризации микрофиламентов актинового цитоскелета в ростовую среду добавляли 1 мкМ цитохалазина D (Sigma-Aldrich, США) и культивировали 7 суток с ежедневной фоторегистрацией.

В сформированных сфероиде присутствуют две зоны: плотная поверхностная с эпителиоподобными клетками и внутренняя с полигональными клетками и большим количеством внеклеточного матрикса в сфероиде МСК [3]. Мезенхимные клетки за сутки в 3D культуре формировали плотные компактные сфероиды, тогда как компактизация эпителиальных сфероидов происходила медленнее в течение 3 суток. Миграция клеток из сфероидов в адгезивных условиях при подавлении полимеризации актина была замедлена в 7 раз у однодневных и в 8 раз у семидневных сфероидов МСК, в 2 раза у однодневных и в 5 раз у семидневных сфероидов ARPE19. При реактивации МСК из сфероидов мигрировали одиночными клетками, на большее расстояние, чем распространяющиеся фронтом клетки ARPE19. В контрольной группе скорость миграции мезенхимных клеток в 6 раз превышала таковую для эпителиальных, в присутствии цитохалазина D - в 4 раза.

Таким образом, показано участие актиновых филаментов в реактивации сфероидов, в случае МСК она происходит за счет миграции единичных клеток, а для эпителиальных сфероидов коллективная миграция клеток по адгезивной подложке идет фронтом. Изучение механизмов реактивации сфероидов способствует анализу фундаментальных основ регенерации тканей и поиску путей ее стимуляции.

Выражаем благодарность научным руководителям П. С. Тимашеву, Н. В. Кошелевой и Ю. М. Ефремову. Исследование было поддержано Российским научным фондом, грант №20-515-56005.

Источники и литература

- 1) Cui X. et al. A mechanistic study on tumour spheroid formation in thermosensitive hydrogels: Experiments and mathematical modelling // RSC Adv. 2016. Т. 6. № 77. С. 73282–73291.

- 2) Kosheleva N. V. et al. Cell spheroid fusion: beyond liquid drops model // Sci. Rep. 2020. Т. 10. № 1. С. 1–15.
- 3) Zurina I. M. et al. 2D/3D buccal epithelial cell self-assembling as a tool for cell phenotype maintenance and fabrication of multilayered epithelial linings in vitro // Biomed. Mater. 2018. Т. 13. № 5.