

Активатор плазминогена урокиназного типа стимулирует скорость роста аксонов

Казарновский Максим Семенович

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Кафедра биологической и медицинской химии, Москва, Россия

E-mail: maxkaz14@gmail.com

Активатор плазминогена урокиназного типа (урокиназа, uPA) известен как один из компонентов системы фибринолиза. Урокиназа - это сериновая протеаза, физиологические эффекты которой обусловлены не только запуском каскада протеолиза. Было показано, что урокиназа стимулирует ангиогенез как в нормальной ткани, так и при росте и метастазировании различных опухолей. Относительно недавно появились результаты экспериментов, указывающие на значимую роль урокиназы в процессах развития и регенерации нервной ткани.

Мы предположили, что урокиназа стимулирует нейритогенез (формирование новых отростков), а также увеличивает скорость роста уже сформированных нейритов в нейронах. Для проверки этой гипотезы мы использовали линейные клетки мышинной нейробластомы Neuro2A. Дифференцировку клеток в нейроны осуществляли с помощью депривации (снижения концентрации сыворотки в среде культивирования с 10% до 1%). Экзогенную урокиназу получали путём наработки её в среде культивирования клеток НЕК293, трансфицированных кДНК, содержащей ген мышинной урокиназы. Полученную таким образом среду культивирования далее концентрировали для увеличения концентрации uPA. Концентрацию урокиназы измеряли методом количественного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерческого набора (Millipore).

Дифференцированные нейроны Neuro2A помещали в среду, содержащую урокиназу, или контрольную, а также в среду, содержащую ингибитор урокиназы. В качестве ингибитора эндогенно активной урокиназы использовали коммерческий реагент 1,5-Dansyl-Glu-Gly-Arg Chloromethyl Ketone, Dihydrochloride, в концентрации IC₅₀ 8,2 мкМ. Через 12 часов культивирования клетки вынимали из инкубатора и осуществляли серию снимков (не менее 5 полей зрения для каждой лунки). Длину и количество нейритов оценивали при помощи программы MetaMorph (MetaMorph Offline, Meta Imaging Series). Нами было обнаружено, что введение урокиназы в 1,5 раза увеличивает длину нейритов в нейронах ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. В среде, содержащей ингибитор, длина и количество нейритов были настолько малы, что не представлялось возможным обчислить их длину и включить в статистику. Эксперимент повторили трижды.

Таким образом, данные, полученные в работе свидетельствуют о важной роли урокиназы в стимулировании формирования нейритов и увеличении скорости их роста.

Слова благодарности

Работа выполнена за счёт гранта Российского научного фонда (проект №14-24-00086) с использованием оборудования, приобретённого за счёт средств Программы развития Московского университета.

Иллюстрации

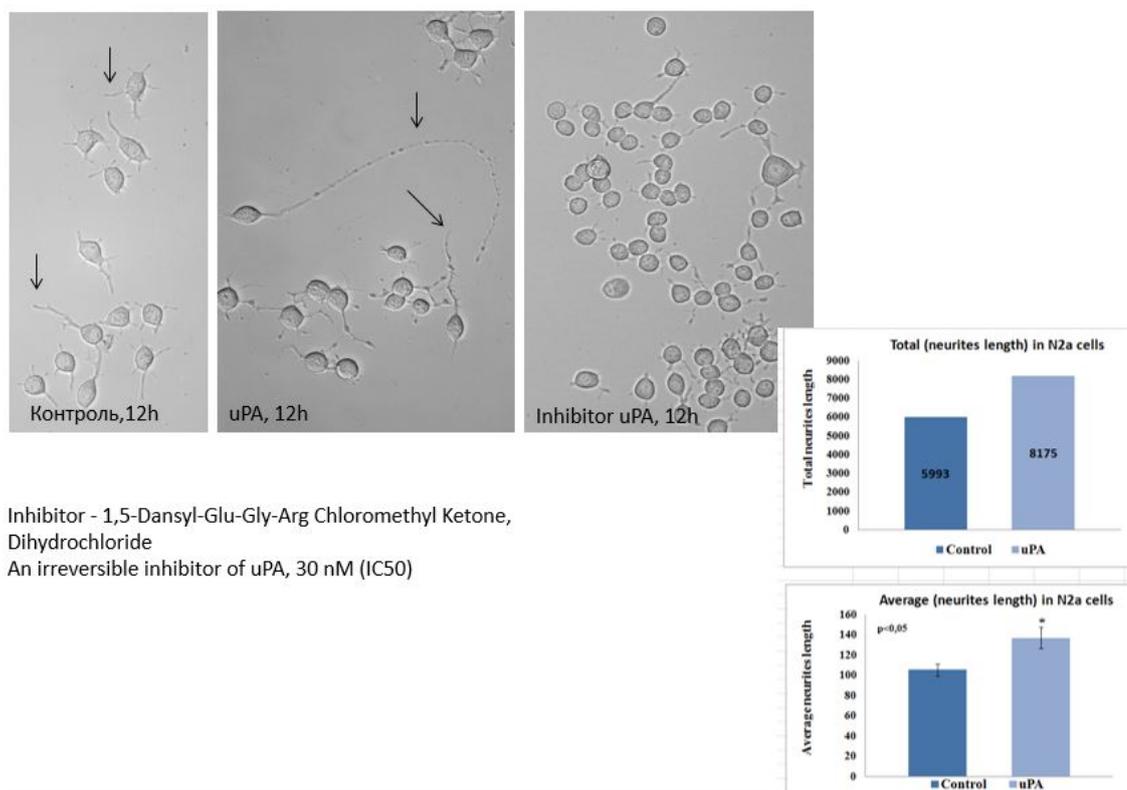


Рис. 1. Результаты эксперимента