

Роль молекул внеклеточного матрикса в поддержании стволового состояния и дифференцировке плюрипотентных стволовых клеток

Научный руководитель – Калабушева Екатерина Павловна

Огневцев Александр Александрович

Студент (бакалавр)

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

E-mail: alex-ogg@yandex.ru

Наибольшее влияние на состояние плюрипотентных стволовых клеток имеют растворимые регуляторные факторы, межклеточные взаимодействия и состав внеклеточного матрикса (ВКМ). Больше внимания исходно уделялось изучению свойств растворимых факторов, однако, многие исследования показали огромное влияние ВКМ на судьбу клеток, например, обеспечение их активной пролиферации с сохранением плюрипотентности или стимулирование их направленной дифференцировки.

Целью данной работы было исследование влияния компонентов ВКМ на поддержание плюрипотентного состояния и дифференцировку индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека (линия Kyoto).

В работе анализировали влияние следующих матриксов: коллаген I, коллаген III, коллаген IV, фибронектин, витронектин, ламинин. В качестве контроля использовали матригель.

Коллаген I и коллаген III не обеспечивали адгезии ИПСК при диапазоне концентраций от 4 до 23 мкг/см². Коллаген IV способствовал адгезии единичных колоний ИПСК и обеспечивал поддержание их роста до 9 суток при тех же концентрациях. При дальнейшем культивировании наблюдали спонтанную дифференцировку, иммуноцитохимически детектировали снижение экспрессии Sox2. Фибронектин был более эффективен как в адгезии, так и в поддержании роста колоний, причём результаты были лучше при повышении концентрации с 25 мкг/см² до 75 мкг/см². Однако к третьему пассажу скорость роста падала, снижалась экспрессия Sox2. Ламинин на первом пассаже демонстрировал результаты по адгезии и скорости роста колоний сходные с контролем, при концентрации выше 13 мкг/см². К третьему пассажу наблюдали незначительное снижение скорости роста, тем не менее, экспрессия Oct4 и Sox2 сохранялась на высоком уровне. Витронектин не сорбировался на культуральном пластике, тем не менее, при его применении в сочетании со стеклянными поверхностями, он показал сходные с контролем результаты по адгезии, скорости роста колоний и экспрессии маркеров плюрипотентности.

Исследовали влияние компонентов ВКМ на эпидермальную дифференцировку ИПСК, которую индуцировали BMP4 и ретиноевой кислотой. На всех исследуемых матриксах было отмечено сходное падение экспрессии маркера плюрипотентности Sox2 и повышение экспрессии маркеров эпидермальной дифференцировки: кератина 14, кератина 18 и p63. Основные отличия были выявлены в скорости роста дифференцирующихся клеток. На ламинине и фибронектине она не имела значительных отличий от контроля, однако на коллагенах IV и III снижалась примерно в 2 раза. Коллаген I не поддерживал рост полученных предшественников кератиноцитов.

На основании полученных данных можно предположить важную роль ламинина в поддержании плюрипотентности и на ранних стадиях эпидермальной дифференцировки. Ламинин и витронектин способствуют поддержанию стволового состояния и пролиферации

ИПСК. Ламинин, фибронектин, коллаген IV и III поддерживают ранний этап эпидермальной дифференцировки.