

**Липосомальная трансфекция мезенхимных стволовых клеток
сельскохозяйственных животных**

Научный руководитель – Косовский Глеб Юрьевич

Кашапова Ирина Сергеевна

Выпускник (специалист)

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Зоотехнии и биологии, Разведения и племенного дела, Москва, Россия

E-mail: i-kashapova@rambler.ru

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева», Москва, Россия

<mailto:i-kashapova@rambler.ru>

Оптимизация методов получения, культивирования и дифференцировки мезенхимных стволовых клеток (МСК) в культуре, позволит повысить успешность решения ряда задач, в том числе, создания клонированных и трансгенных сельскохозяйственных животных [1].

Представлены результаты исследований эффективности липосомальной трансфекции костного мозга (КМ) крупного рогатого скота (КРС) и кролика с использованием коммерческой плазмиды pEGFP-N1 (CloneTech, США; <https://www.addgene.org/vector-database/2491/>) и трансфицирующего агента липофектамина (Lipofectamine LTX with Plus Reagent, США). Трансфекцию проводили в соответствии с рекомендациями производителя. Выделение МСК КМ проводили по методу, разработанному д.б.н. Г.Ю. Косовским [2].

Эффективность трансфекции не превышала 20%. Низкая эффективность липосомальной трансфекции в популяциях МСК КМ КРС и кролика сопровождается аккумуляцией белка EGFP в основном в области расположения ядра. В большом количестве этот белок накапливался в цитоплазме по направлению расположения актиновых микрофиламентов, формирующих цитоскелет и отростки, с помощью которых стволовые клетки контактируют с поверхностью и взаимодействуют между собой. Адгезивные МСК веретенообразной формы без отростков при действии синего света обнаруживают более слабое равномерное свечение по всей цитоплазме. Присутствие GFP может влиять на свойства белков в клетках, особенно, если GFP присоединяется к C- или N-концу исследуемого белка [3]. Вероятной причиной низкой эффективности трансфекции МСК КМ КРС и кролика могут быть видовые особенности строения их плазматических мембран.

При непрерывном культивировании трансфицированных МСК КРС и кролика отмечено образование гигантских фибробластоподобных клеток с двумя и более ядрами, которые остаются жизнеспособными в течение 1,5 месяцев.

Ключевые слова: мезенхимные стволовые клетки (МСК), трансфекция, плазмидный вектор

Источники и литература

- 1) 1. Калиновский А.А. Актуальные проблемы применения мультипотентных мезенхимных стволовых клеток в современной ветеринарной медицине / А.А. Калиновский // Ветеринария Кубани. – 2011. - №3 – С. 28-31.

- 2) 2. Косовский Г.Ю. Методические рекомендации по выделению и культивированию мезенхимных стволовых клеток (МСК) из костного мозга животных. Российская академия сельскохозяйственных наук, отделение ветеринарной медицины, Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Москва, 2009, 20 С.
- 3) 3. Lim M.L., Lum M.G., Hansen T.M., Roucou X., Nagley P. On the release of cytochrome c from mitochondria during cell death signaling. J. Biomed. Sci. 2002. 9(6 Pt 1): 488–506.