

Визуализация экзосом методами просвечивающей электронной и атомно-силовой микроскопии

Научный руководитель – Багров Дмитрий Владимирович

Адлерберг В.В.¹, Никитин И.И.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия, *E-mail: adlerberg98@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия, *E-mail: igor-andigor@yandex.ru*

Экзосомы, секретируемые клетками человека, играют роль в развитии некоторых заболеваний, в том числе онкологических, а также в регуляции физиологических процессов. Изучение полиморфизма экзосом, их морфологии и размеров, лучше понять их функции и оценить потенциал их медицинских применений.

Просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) является наиболее популярным методом для исследования морфологии экзосом и проверки их чистоты (International Society for Extracellular Vesicles) [2]. При этом возможности атомно-силовой микроскопии (АСМ) как инструмента для визуализации экзосом, по-видимому, недооценены. Цель данной работы состояла в том, чтобы исследовать одни и те же образцы экзосом методами АСМ и ПЭМ и сопоставить результаты - информацию о размерах и форме экзосом. Для того, чтобы получить максимальный объем информации об отдельных частицах, сопоставление проводили на одном и том же образце с использованием корреляционной микроскопии.

В нашей работе исследованы препараты экзосом, выделенных из кондиционированной среды культивирования клеток аденокарциномы молочной железы MCF-7. Образцы для ПЭМ приготовлены путем адсорбции на медные сетки с углеродным покрытием, которые обрабатывали в тлеющем разряде для улучшения адсорбции. Оптимальная поверхностная плотность экзосом на подложке была выбрана путем разбавления раствора буфером перед нанесением на сетку. Изображения одного и того же участка поверхности получали методами ПЭМ и АСМ, для выбора поля зрения ориентировались на дефекты. По данным обоих использованных методов, экзосомы имели характерную форму “сдутых мячиков” (“deflated football-shaped”, “cup-shaped”) [1]. Средний диаметр экзосом составил 96 ± 30 нм.

Нам удалось получить изображения одного и того же участка поверхности с точностью ~ 50 нм. Комбинация АСМ и ПЭМ позволила охарактеризовать не только диаметры и морфологию, но и высоту экзосом над подложкой.

Источники и литература

- 1) J. Rezaie, S. Ajezi, Ç.B. Avcı, M. Karimipour, M.H. Geranmayeh, A. Nourazarian, E. Sokullu, A. Rezabakhsh, R. Rahbarghazi, Exosomes and their Application in Biomedical Field: Difficulties and Advantages, *Mol. Neurobiol.* 55 (2018) 3372–3393. doi:10.1007/s12035-017-0582-7.
- 2) C. Théry, K.W. Witwer, E. Aikawa, et al, Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines, *J. Extracell. Vesicles.* 7 (2018) 1535750. doi:10.1080/20013078.2018.1535750.