

Культивирование Сертоли-подобных клеток в присутствии комплекса низкомолекулярных ингибиторов YAC

Научный руководитель – Кулибин Андрей Юрьевич

Мун Валерий Владимирович

Студент (магистр)

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

E-mail: valeriy2125@gmail.com

Клетки Сертоли (КС) - соматические клетки, играющие важную роль в сперматогенезе млекопитающих. Они расположены в сперматогенном эпителии извитых канальцев яичка и выполняют такие функции, как: формирование гемато-тестикулярного барьера для защиты от аутоиммунных заболеваний, поддержание популяции сперматогонимальных стволовых клеток и обеспечение развития дифференцирующихся половых клеток путем гормональной регуляции и питания.

Долгое время КС были примером терминально дифференцированных клеток, однако в недавних исследованиях на мышах было показано, что клетки Сертоли могут делиться в культуре 1-2 раза, после чего прекращают свою пролиферативную активность. Дальнейшие исследования показали, что в культуре, полученной из цельного семенника, есть вторая популяция клеток, схожих с КС, но с более активной пролиферацией и меньшим уровнем экспрессии Dmrt1, транскрипционного фактора, важного для поддержания дифференцировки КС [2]. В последних исследованиях данные клетки получили название Сертоли-подобные клетки (СПК), также было установлено, что СПК локализируются в сети семенника [3]. Попытки активировать пролиферацию КС не привели к успеху, поэтому, видимо, СПК являются единственным источником высокопролиферативных КС [1].

Известно, что различные низкомолекулярные ингибиторы способствуют индукции и поддержанию плюрипотентности стволовых клеток, было показано, что комбинация некоторых из этих ингибиторов (Y-27632, A-83-01, CHIR99021) способствует культивированию клеток и, даже, их репрограммированию[5].

В 2018 году было установлено, что комплекс низкомолекулярных ингибиторов YAC положительно влияет и на культуру СПК, увеличивая уровень экспрессии Dmrt1 и повышая пролиферацию [1]. Исследование действия YAC на Dmrt1-положительные СПК и является основной целью данной работы.

Эксперименты основывались на сравнении клеток, растущих в среде, содержащей и не содержащей YAC. В конце экспериментов колонии фиксировали 4% параформальдегидом и окрашивали иммуно-гистохимическим методом с использованием антител к DMRT1 и WT1, маркеру СПК .

В ходе первого эксперимента мы изучали влияние YAC на посадку СПК на культуральный планшет и обнаружили, что YAC не способствует преимущественной посадке Dmrt1-положительных СПК, а увеличивает уровень Dmrt1 в культуре по другому механизму

Далее мы изучали изменение восприимчивости СПК к YAC с течением времени. Клетки засеивали в лунки с YAC- средой, с последующей сменой среды на YAC+ на 2, 3 и 4 сут, в результате чего было обнаружено, что СПК теряют чувствительность к комплексу YAC с увеличением срока культивирования на YAC- среде.

В третьем эксперименте мы изучали влияние YAC на пролиферацию Dmrt1-положительных СПК. Клетки засеивались в лунки с YAC+ и YAC- средами, далее в половину лунок мы добавили маркер пролиферирующих клеток, на 2 сут, в другую половину - на 7

сут. Анализ результатов показал, что добавление YAC увеличивало пролиферацию всех СПК в культуре, в то время как, уровень пролиферации Dmrt1-положительных и Dmrt1-клеток статистически значимо не различался, по крайней мере на 7 сут.

Источники и литература

- 1) 1) Кулибин А. Ю., Малолина Е.А. Комплекс низкомолекулярных ингибиторов YAC увеличивает уровень экспрессии DMRT1 в клетках сертоли транзиторной зоны семенника мыши в культуре // Гены & Клетки. 2018. Т. 8. №3. С. 75-81.
- 2) 2) Малолина Е.А., Кулибин А. Ю. Пролиферативная активность клеток Сертоли извитых семенных канальцев мыши в культуре // Цитология. 2018. Т. 60. №4. С. 308-315.
- 3) 2) Kulibin A. Y., Malolina E. A. Only a small population of adult Sertoli cells actively proliferates in culture // Reproduction. 2016. Т. 152. № 4. С. 271–281.
- 4) 3) Malolina E. A., Kulibin A. Y. The rete testis harbors Sertoli-like cells capable of expressing Dmrt1 // Reproduction. 2019. Т. 158. №5. С. 399-413.
- 5) 5) Katsuda et al. Conversion of Terminally Committed Hepatocytes to Culturable Bipotent Progenitor Cells with Regenerative Capacity // Cell Stem Cell. 2017. Т. 20. С. 1-15.