

Анализ влияния индуцированных цитохалазином В мембранных везикул на колоносферы in vitro

Научный руководитель – Соловьева Валерия Владимировна

Пономарев Алексей Сергеевич

Студент (магистр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия

E-mail: l.ponomarev2013@gmail.com

Внеклеточные везикулы представляют собой гетерогенную группу мембранных структур, синтезирующиеся и выделяющиеся клетками. Везикулы являются ключевыми посредниками между опухолевыми клетками и окружающей микросредой благодаря их способности транспортировать липиды, факторы транскрипции, мРНК, некодирующие регуляторные РНК и белки. Изучение влияния внеклеточных везикул МСК на опухолевые клетки может позволить найти новые методы борьбы с онкологическими заболеваниями. Поэтому, целью данной работы является охарактеризовать влияние индуцированных цитохалазином В мембранных везикул (иМВ) клеток глиобластомы и мезенхимных стромальных клеток человека на опухолевые сфероиды in vitro.

Для исследования опухолевых сфероидов был использован метод «висячая капля» (20 тыс. клеток колоректальной карциномы (НТС-15) на 30 мкл среды с добавлением факторов FGF, EGF, B27). Было сгенерировано 3 группы сфероидов: 1 - контроль, 2 - с добавлением 1 мкг везикул, 3 - с добавлением 2 мкг везикул. В качестве контроля использовалась 2D модель и сфероиды, которые культивировались без добавления мембранных везикул. Мембранные везикулы МСК жировой ткани человека и клеток глиобластомы (SNB-19) человека были получены с помощью 10 мкг/мл цитохалазина В и серии последовательных центрифугирований. Добавление мембранных везикул к сфероидам производилось в концентрациях 1 мкг и 2 мкг. Везикулы были добавлены после 12 часов культивирования клеток. Измерения производили на 3 сутки. Влияние везикул анализировали с помощью конфокальной и трансмиссионной микроскопии и проточной цитофлуориметрии.

Результаты конфокальной микроскопии подтвердили слияние везикул и клеток, образующих сфероид после 24-х часов культивирования. На 3 сутки культивирования трансмиссионная электронная микроскопия показала отсутствие отрицательного влияния везикул на опухолевые клетки, но при добавлении везикул было выявлено, что в цитоплазме клеток присутствуют структуры подобные мультивезикулярным тельцам, укомплектованные везикулами. Окрашивание аннексином V показало небольшое увеличение количества жизнеспособных клеток после добавления иМВ 1 как в опухолевых сфероидах, так и в монослойной клеточной культуре. После переноса опухолевых сфероидов на культуральный пластик, все группы сфероидов прикреплялись к пластику и начинали образовывать монослойную культуру клеток.

Таким образом, по результатам данного исследования, мы предполагаем влияние мембранных везикул МСК и глиобластомы человека на опухолевые сфероиды. Для обнаружения детальных механизмов данного влияния необходимы дальнейшие исследования. Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета и при поддержке Российского научного фонда (грант №18-74-10044).