

Среда для метаболического созревания способствует повышению структурной зрелости кардиомиоцитов, полученных из ИПСК

Научный руководитель – Голиусова Дарья Владимировна

Лаурентьева Кристина Александровна

Студент (магистр)

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

E-mail: chris.lavr@yandex.ru

Введение: Кардиомиоциты, дифференцированные из ИПСК человека (iKM), являются удобным инструментом для изучения патогенеза заболеваний миокарда. Однако, без дополнительного воздействия iKM демонстрируют свойства незрелых фетальных клеток. В данной работе мы оценили эффективность созревания iKM в двух ростовых средах с различными стимулирующими добавками по соотношению и локализации медленной скелетной (фетальной) и сердечной (взрослой) изоформ тропонина И (мсТнИ и сТнИ), которые стехиометрически (1:1) и необратимо сменяют друг друга в тропониновом комплексе кардиомиоцитов при рождении (мсТнИ → сТнИ) [1].

Методы: iKM получали с помощью набора STEMdiff™ Ventricular Cardiomyocyte Differentiation Kit, селектировали в безглюкозной среде с лактатом и культивировали в течение 3 недель в среде RPMI-1640 с гормоном ТЗ, дексаметазоном и ИФР-1 (TDI) или в среде для метаболического созревания на основе DMEM с 12 стимулирующими факторами (глюкоза, лактат, цианокобаламин, биотин, креатин и др.) (MM). В качестве контроля использовали среду STEMdiff™ Cardiomyocyte Maintenance Medium без добавок (M). Содержание и локализацию мсТнИ и сТнИ в iKM определяли методами “сэндвич”-ФИА и иммуноцитохимического окрашивания. Количественное содержание белка нормировали на млн. клеток в лизате.

Результаты: 1) Количественный анализ содержания мсТнИ и сТнИ выявил значительное преобладание мсТнИ во всех гомогенных спонтанно сокращающихся культурах iKM (TDI, MM, M). Соотношение сТнИ/мсТнИ было <1: 0,2 (TDI), 0,03 (MM) и 0,07 (M). 2) Мы наблюдали достоверное снижение содержания мсТнИ, и сТнИ под действием ТЗ, дексаметазона и ИФР-1 по сравнению с контролем. 3) Мы детектировали характерную поперечно-полосатую исчерченность iKM всех исследуемых культур при окрашивании на мсТнИ и обнаружили отдельные сТнИ+iKM с поперечно-полосатой исчерченностью саркомеров в образцах TDI и MM с тенденцией к увеличению числа сТнИ+iKM в ряду «TDI → MM».

Выводы: 1) Сочетание ТЗ, дексаметазона и ИФР-1 или многокомпонентная среда для метаболического созревания не стимулируют синхронное повышение структурной зрелости iKM на уровне всей культуры по соотношению сТнИ/мсТнИ. 2) Длительное воздействие ТЗ, дексаметазона и ИФР-1 негативно влияет на представленность мсТнИ и сТнИ в iKM. 3) Среда для метаболического созревания наиболее эффективно стимулирует повышение структурной зрелости отдельных iKM в культуре, не оказывая негативного влияния на представленность мсТнИ и сТнИ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-25-00456.

Источники и литература

- 1) Bedada, Fikru B., et al. “Acquisition of a Quantitative, Stoichiometrically Conserved Ratiometric Marker of Maturation Status in Stem Cell-Derived Cardiac Myocytes.” Stem Cell Reports, vol. 3, no. 4, 2014, pp. 594–605.