

Миогенная дифференцировка фибробластов с помощью модуляции экспрессии цитоплазматических актинов

Научный руководитель – Дугина Вера Борисовна

Левушкина Юлия Германовна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

E-mail: kracker2000@yandex.ru

У высших позвоночных различают шесть изоформ актина: четыре мышечные и две цитоплазматические. В отличие от мышечных изоформ, цитоплазматические β - и γ -актины присутствуют во всех клетках организма. β -актин образует стресс-фибриллы с вентральной стороны клетки, тогда как γ -актин формирует разветвлённую кортикальную сеть.

Изменение соотношения изоформ актина влияет на фенотипические особенности клеток. Гладкомышечные клетки (ГМК) в норме обладают определённой пластичностью и могут переходить от контрактильной активности к секреторной. Подобные переходы сопровождают и ряд патологических процессов, но до сих пор их изучение было затруднено сложностями, связанными с культивированием ГМК *in vitro*.

Целью нашего исследования было изучить возможность дифференцировки фибробластов в ГМК путём изменения соотношения цитоплазматических изоформ актина. Работу проводили на первичных культурах фибробластов человека. Снижение экспрессии β -актина осуществляли при помощи РНК-интерференции с применением лентивирусных конструкций.

В настоящей работе были подобраны клеточные культуры и экспериментальные условия для осуществления индуцированной гладкомышечной дифференцировки фибробластов. Изменение экспрессии маркёров дифференцировки на уровне мРНК оценивали с помощью ПЦР-анализа и транскриптомного NGS профилирования, на уровне белка – с помощью вестерн-блоттинга. Также была проанализирована морфометрия клеток до и после индуцированной дифференцировки.

Нами было установлено, что при подавлении экспрессии β -актина значительно увеличивается площадь клеток, их форма становится более округлой, происходит реорганизация фокальных контактов и сократительного аппарата. По результатам ПЦР-анализа и иммуноблоттинга наблюдается увеличение экспрессии маркёров, характерных для гладкомышечной дифференцировки. Индуцированная дифференцировка ГМК из фибробластов может стать инструментом для моделирования гладкомышечной дифференцировки клеток, а также исследования фундаментальных механизмов трансдифференцировки в организме.