

Децеллюляризованный внеклеточный матрикс мезенхимных стромальных клеток человека как новый биоматериал для регенеративной медицины

Кузнецова Екатерина Сергеевна

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: kuznecova2793@mail.ru

Кузнецова Е.С.¹, Нимирицкий П.П.¹, Григорьева О.А.², Сагарадзе Г.Д.¹, Макаревич П.И.³, Ефименко А.Ю.³

¹*Аспирант, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, Москва, Россия*

²*М.н.с., к.б.н., Институт регенеративной медицины, МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова*

³*Ст.н.с., к.м.н., Институт регенеративной медицины, МНОЦ МГУ им. М.В. Ломоносова*
E-mail: kuznecova2793@mail.ru

По современным представлениям мезенхимные стромальные клетки (МСК) играют ключевую роль в процессах репарации и регенерации тканей. Широко изучена их способность принимать участие в процессе восстановления поврежденных тканей за счет секреции растворимых биологически активных молекул, внеклеточных везикул и компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ). При заживлении белковый матрикс, синтезируемый МСК, создает определенную основу для восстановления структуры ткани, обеспечивая среду для внедрения функционально активных компонентов, кровеносных сосудов, нервов, и др., направляя миграцию клеток в зону повреждения, создавая условия для прикрепления клеток и предотвращения их гибели. Одним из перспективных подходов, позволяющих стимулировать клетки нарабатывать белки ВКМ, может быть 3D культивирование клеток, в том числе в составе клеточных пластов (cell sheets). Задачей настоящего исследования являлось получение децеллюляризованного биоматериала на основе стромальных белков, секретируемых МСК человека в составе клеточных пластов.

Нами была разработана технология получения и хранения клеточных и децеллюляризованных пластов на основе иммортализованных МСК жировой ткани человека. В качестве агентов для децеллюляризации были выбраны химические- (TritonX-100, Trypsin-EDTA, CHAPS, Sodium deoxycholate) и биологические агенты (ДНКаза I и индуктор апоптоза ротенон). Было проведено сравнение разных подходов к децеллюляризации клеточных пластов с точки зрения получаемой структуры и целостности материала, стабильности белков ВКМ, иммуногенности - наличия остаточной ДНК, а также биосовместимости получаемого биоматериала. Для этого были использованы сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), флуоресцентная микроскопия, мультифотонная флуоресцентная микроскопия, иммуногистохимия, прижизненное культивирование МСК на клеточных и децеллюляризованных пластах в автоматизированной системе IncuCyte.

В результате исследования были разработаны оптимальные протоколы децеллюляризации клеточных пластов из МСК. Было показано, что структура материала имеет сетчатую и разветвленную структуру. С помощью обработки ДНКазой I удалось минимизировать количество остаточной ДНК. Оптимизированные протоколы децеллюляризации позволяют сохранить ключевые белки внеклеточного матрикса (коллаген I типа, фибронектин, ламинин). Кроме того, полученный биоматериал обеспечивает адгезию и пролиферацию клеток. Полученные бесклеточные матриксные конструкции могут найти применение как подложки для различных типов клеток, в качестве компонента биомедицинских

изделий могут ускорять процессы репарации и регенерации в поврежденных тканях или использоваться для функционализации различных тканеинженерных конструкций.

Работа была выполнена с использованием биоматериала человека, собранного и сохраняемого в рамках гранта РФФИ №14-50-00029), и оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова, и поддержана грантом Президента РФ (МК-2422.2017.7).