

**Свойства везикулярных частиц клеток человека с индуцированной
плюрипотентностью**

Научный руководитель – Супруненко Елена Александровна

Коробко Екатерина Сергеевна

Студент (магистр)

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

E-mail: katekorobko@gmail.com

Одним из перспективных направлений биологии развития является изучение механизмов регуляций клеточных дифференцировок. В связи с этим большой практический интерес представляют везикулярные частицы, продуцируемые клетками. Везикулярные частицы - это бимембранные структуры, которые содержат в себе регуляторные белки, РНК и различные микроРНК. Функции везикул многообразны: они задействованы во многих сигнальных каскадах, осуществляют межклеточную коммуникацию, участвуют в иммунном ответе и т.д. Степень дифференцировки клеток определяет набор регуляторных факторов, входящих в состав везикул. В мире активно исследуются везикулярные частицы, полученные в ходе культивирования иПСК и их свойства.

В нашей работе мы изучали везикулы, продуцируемые иПСК человека линии KYOU-DXR0109B (ATCC® ACS-1023™) *in vitro*. Клетки культивировали в среде Essential 8 Medium (Gibco, A1517001) при стандартных условиях (5% CO₂, 37°C) при ежедневной смене ростовой среды. Через 2 суток после достижения клетками 30% конфлюэнтного слоя (до смыкания краев колоний) проводили забор среды для последующего выделения везикулярных частиц. Проведенный параллельно иммуно-цитохимический анализ показал сохранение основных маркеров плюрипотентности при данном режиме культивирования. Для выделения везикулярных частиц был использован стандартный метод многоступенчатого центрифугирования с последующим ультрацентрифугированием.

Для оценки количества и размерного соотношения везикулярных частиц использовали многофункциональный автоматизированный анализатор наночастиц Nanosight NS500. Показано, что преимущественно размер везикулярных частиц составляет 80-100 нм, что соответствует размеру, характерному для экзосом. Однако присутствовало небольшое количество и более крупных частиц размером до 470 нм, что говорит о наличии микровезикул в полученной фракции везикулярных частиц. Концентрация везикул, выделенных из 20 мл ростовой среды, составляет $1,7 \cdot 10^{11}$ частиц/мл. Использование *in vitro* мембранного липотрейсера CellMask Deep Red Plasma membrane Stain (ThermoFisher, C10046) позволило визуализировать частицы размером не менее 300 нм, что соответствует микровезикулам. Для анализа более мелких частиц был использован метод ТЭМ, который показал наличие в супернатантах иПСК сферических и чашеобразных пузырьков размером 70-250 нм с преобладанием экзосомальной фракции (70-100 нм).

Проведенное исследование показало, что полученная в ходе культивирования иПСК среда содержит различные фракции везикулярных частиц, для понимания роли которых в процессах регуляции дифференцировок необходимы дальнейшие исследования.