

**Подбор оптимальных условий культивирования ЭСК человека для получения везикулярных частиц.**

**Научный руководитель – Супруненко Елена Александровна**

*Сазонова Елизавета Алексеевна*

*Студент (бакалавр)*

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

*E-mail: elizabeth.sazonova@yandex.ru*

Изучение регуляторных возможностей плюрипотентных клеток - одно из перспективных направлений биологии развития. В последнее время особое внимание уделяют везикулярным частицам (ВЧ), которые выделяют клетки, с точки зрения обеспечения клеточной коммуникации и регуляционных процессов в ткани. ВЧ представляют собой мембранные замкнутые цитоплазматические фрагменты, которые служат для связи между ними. Состав ВЧ зависит от типа клеток, которые их вырабатывают. ВЧ способны передавать различные мембранные и цитоплазматические компоненты, полученные из клетки, в клетки-мишени в виде мРНК, микроРНК, липидов и белков, определяя поведение клеток. Особый практический интерес с точки зрения обеспечения поддержания и возможной регуляции клеточной дифференцировки представляют ВЧ, полученные в ходе культивирования клеток с различной плюрипотентностью, данных о которых мало.

Целью данной работы было подобрать оптимальные условия культивирования ЭСК для получения чистой фракции ВЧ.

В работе были использованы ЭСК человека линии hES-MK05, любезно предоставленные М.А.Лагарьковой (ФНКЦ ФХМ ФМБА). Клетки культивировали по стандартной методике, используя в качестве подложки матригель.

В настоящее время для культивирования плюрипотентных клеток используют несколько ростовых сред (Essential 8™ Medium (E8M) и mTeSR™1) (Bae, 2018). В предыдущих исследованиях мы показали, используя метод анализа траекторий наночастиц (АТН), что для культивирования плюрипотентных клеток (ИПСК) наиболее предпочтительной с точки зрения содержания примесных частиц является среда E8M (концентрация частиц в диапазоне от 20 до 250 нм  $CI_{95} = 0,4 \pm 0,2 \times 10^8$  част/мл против  $CI_{95} = 10,6 + 2,7 \times 10^8$  част/мл в mTeSR™1).

На первом этапе работы стояла задача выбрать оптимальную ростовую среду для культивирования ЭСК после разморозки. Нами было показано, что уже на этапе разморозки клеток на среде E8M гибель клеток составляла около 80%, а на среде mTeSR™1 менее 10%. Далее в условиях длительного культивирования ЭСК, необходимого для получения ВЧ при использовании E8M на 13 пассаже были отмечены морфологические изменения клеток, свидетельствующие о возникших спонтанных дифференцировках. При культивировании ЭСК на среде mTeSR™1 такого не происходило в течение более 18 пассажей.

В результате проведенной работы нами было показано, что в условиях длительного культивирования ЭСК, необходимого для получения ВЧ, наиболее предпочтительной является среда mTeSR™1.

### **Источники и литература**

- 1) Bae YU., Choi JH., Nagy A., Sung HK., Kim JR. Antisenescence effect of mouse embryonic stem cell conditioned medium through a PDGF/FGF pathway// FASEB J. 2016. 3. P. 1276-86.