

Особенности продукции внеклеточного матрикса мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток *in vitro* при различном содержании O₂

Научный руководитель – Андреева Елена Ромуальдовна

Матвеева Д.К.¹, Живодерников И.В.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия, *E-mail: dianis-genius@mail.ru*; 2 - Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия, *E-mail: kordait-2213@yandex.ru*

Внеклеточный матрикс (ВКМ) представляет динамичную сеть макромолекул с различными физическими и биохимическими свойствами, которые регулируют функции различных клеточных систем, в том числе ниш стволовых и прогениторных клеток. Известно, что мезенхимальные стромальные клетки (МСК) *in vitro* продуцируют хорошо развитый ВКМ. Этот факт является привлекательным для применения МСК в регенеративных целях как для клеточной терапии, так и для тканевой инженерии. Другим важным фактором тканевого микроокружения МСК является пониженная концентрация O₂ («физиологическая» гипоксия). Известно, что в зависимости от концентрации O₂ свойства формирующегося ВКМ могут изменяться, что может влиять на функции как самих МСК, так и других клеток в микроокружении.

Цель нашей работы - исследовать особенности продукции внеклеточного матрикса МСК, культивируемых при различных концентрациях O₂.

МСК из жировой ткани человека постоянно культивировали при 20% O₂ или при 5% O₂ («физиологическая» гипоксия) в течение 2 недель. Морфологическую структуру основных белков ВКМ исследовали методами иммуноцитохимии и сканирующей электронной микроскопии. Оценку дифференциальной экспрессии генов МСК, кодирующих молекулы ВКМ, проводили с помощью набора HumanRef-8. Для количественного определения экспрессии целевых генов ВКМ, определенных с помощью полногеномного анализа, проводили ПЦР в реальном времени.

С помощью сканирующей электронной микроскопии были выявлены морфологические различия в структуре матрикса, занимающего пространство под монослоем клеток и в промежутках между ними. ВКМ, продуцируемый МСК при 5 % O₂, формировал густую сеть из тонких пересекающихся волокон. Напротив, в нормоксии молекулы ВКМ образовывали плотную мембраноподобную структуру без четкого разделения на отдельные фибриллы. По данным полногеномного анализа в МСК, постоянно культивируемых при 5% по сравнению с 20% O₂, была изменена экспрессия около 100 генов, кодирующих структурные и регуляторные молекулы, ассоциированные с белками матрикса. Используя базу данных гипоксия-регулируемых белков HuxiaDB, мы определили, что среди генов с измененной транскрипцией, относящихся к «core» матрисому, более половины, а среди матрисом-ассоциированных - почти все, являются гипоксия-зависимыми. При этом транскрипция подавляющего большинства измененных генов была снижена. Количественный анализ экспрессии генов ВКМ в МСК, постоянно культивируемых при 5% по сравнению с 20% O₂, выявил, что тенденция в изменении большей части генов совпадала с результатами полногеномного скрининга.

Таким образом, дальнейшее исследование ремоделирования внеклеточного матрикса в условиях, близким к физиологическим (5% O₂), позволит продвинуться в понимании функционирования тканевых ниш МСК. Кроме того полученные *in vitro* данные о влиянии децеллюляризованного матрикса на активность МСК и другие типы клеток, яв-

ляется перспективным для регенеративной медицины. Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН № 43П.