

Свойства и функции микровезикул естественных киллеров

Научный руководитель – Соколов Дмитрий Игоревич

Маркова Ксения Львовна

Сотрудник

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия
E-mail: kseniyabelyakova129@gmail.com

Введение. Микровезикулы (МВ) - один из типов внеклеточных везикул размером от 100 до 1000 нм, они обнаружены во всех биологических жидкостях человека и их источниками являются различные клетки организма [3]. Предполагается, что МВ могут выступать маркерами различных патологий [1]. На сегодняшний день популяция МВ НК-клеток остается наименее изученной. В связи с тем, что НК-клетки выполняют различные функции в организме и участвуют в патогенезе многих заболеваний [2], изучение их МВ является актуальной задачей биологии и медицины.

Цель. Целью настоящего исследования явилось изучение морфологии и функциональных характеристик МВ НК-клеток.

Материалы и методы. Источником МВ служили активированные $IL-1\beta$ и интактные клетки линии НК-92. Клетками-мишенями для изучения свойств МВ явились эндотелиальные клетки (ЭК) линии EAhy926. МВ выделяли, используя метод дифференциального центрифугирования. При помощи культурального метода и спектрофотометрии оценивали влияние МВ на пролиферативную активность ЭК, используя культуральный тест «раневого поверхности» изучали влияние МВ на миграционную активность ЭК. При помощи проточного цитометра FACS Canto II (США) изучали влияние МВ на изменение поверхностных маркеров ЭК, а также передачу флуоресцентной метки от МВ к ЭК. Для стандартизации и количественной оценки МВ производили измерения содержания белка в них по методу Бредфорда. Размер выделяемых МВ оценивали при помощи электронного микроскопа Jeol JEM-1400 (Япония) и спектрометра Zetasizer NanoZS (Великобритания). Статистическую обработку проводили, используя непараметрический критерий Манна-Уитни.

Результаты. Размер получаемых МВ лежал в диапазоне от 120 до 800 нм. Влияние МВ на пролиферативную активность ЭК зависело от общего содержания белка: при низком содержании было отмечено повышение пролиферативной активности ЭК, а при высоких - снижение пролиферативной активности. В результате культивирования ЭК в присутствии МВ с высоким содержанием белка установлено снижение миграционной активности ЭК за счет уменьшения количества мигрировавших ЭК. Культивирование МВ с ЭК приводило к появлению на ЭК CD45, снижению экспрессии CD105 и повышению экспрессии CD34 и CD54 и передаче флуоресцентной метки.

Выводы. Контакт МВ с ЭК приводит к изменению функциональных и фенотипических свойств ЭК, за счет моделирования миграционной и пролиферативной активности ЭК, а также передачи белковых молекул им. Полученные данные позволяют высказать предположение о том, что регуляция поведения ЭК НК-клетками может реализовываться и за счет продуцируемых ими МВ. Работа поддержана НИР АААА-А19-119021290116-1, грантом РФФИ № 19-015-00218.

Источники и литература

- 1) Budaj M. Microparticles: a component of various diseases. Pol Arch Med Wewn, 2012, Vol.122 Suppl 1, pp. 24-29.
- 2) Miller J.S. The biology of natural killer cells in cancer, infection, and pregnancy. Exp Hematol, 2001, Vol.29, no 10, pp. 1157-1168.
- 3) Sedgwick A.E. The Biology of Extracellular Microvesicles. Traffic, 2018, Vol. 9(5), pp. 319-327