

Использование модифицированного матрикса на основе спидроина для создания клеточных тест систем

С.С. Гурьева^{1,2}, И.А. Корниенко^{1,2}, Е.В. Петерсен^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт (государственный университет)

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Институт Регенеративной Медицины

Первичные клеточные культуры, получаемые *in vitro* для биомедицинских целей и культивируемые на пластике, лишены сигналов от матрикса, что приводит к потере фенотипа клеточными культурами, например, эпителиальная культура трансформируется в мезенхимальную клеточную культуру [1]. Таким образом, существует проблема сохранения жизнеспособности и индивидуального фенотипа труднокультивируемых типов клеток, таких как эпителиальные, эндотелиальные, нейрональные, что существенно тормозит проведение *in vitro* экспериментов для целей молекулярной и клеточной биологии.

Целью данной работы была разработка системы проведения трансфекции первичных клеточных культур, включающей выделение, культивирование, проведение трансфекции, оценку результатов трансфекции, на примере эпителиальной культуры эндометрия человека.

Клеточная культура была ферментативно выделена из биоптата слизистой оболочки шейки матки и помещена на культуральный пластик с биополимерным покрытием - спидроином. Спидроины – это матриксы на основе белка паутины, состоящий из двух основных структурных белков – спидроина-1 и спидроина-2 [2]. Спидроины обладают уникальным сочетанием механических свойств, являются биосовместимым, биоинертным материалом, способным к биодеградации [3]. В работе использовался рекомбинантный аналог этих белков. Клетки культивировались с использованием Keratinocytes Serum Free Medium с добавлением бычьего экстракта гипофиза, L-глутамин, эпидермального фактора роста. Был проведен морфологический анализ выделенной клеточной культуры. Культура клеток была представлена эпителиоподобными клетками, формирующими колонии плотно соприкасающихся друг с другом клеток. Фибробластоподобных клеток визуально не было выявлено в культуре. Также, был проведен фенотипический анализ на следующие маркеры: цитокератин 18 (+), CD31 (+), CD44 (+), CD73 (+), эстрогены рецепторы α (+), CD34 (-), CD45 (-). Таким образом, с помощью морфометрического и фенотипического анализа было подтверждено, что выделенная культура являлась культурой эпителиальных клеток эндометрия.

На следующем этапе была проведена трансфекция клеточной культуры эпителия эндометрия с помощью плазмидных конструкций с использованием двух типов транспортных систем липосом Transfast и РАММ дендример. Клеточная культура культивировалась в течение четырех дней после проведения трансфекции. На протяжении всего времени культивирования признаков апоптоза или некроза не наблюдалось, клеточная культура сохраняла эпителиальную морфологию. Эффективность трансфекции оценивалась с помощью иммуоферментного анализа.

Настоящая работа показывает возможность разработки системы, позволяющей значительно интенсифицировать проведение экспериментов, а также, добиться более качественных результатов в области молекулярной и клеточной биологии.

Литература

1. Ravi M. [et al.] 3D Cell Culture Systems: Advantages and Applications // J. Cell. Physiol. 2015. V. 230, N 1. P. 16–26.
2. Dos Santos-Pinto J.R.A. [et al.] Structural Model for the Spider Silk Protein Spidroin-1 // J. Proteome Res. 2015. V. 14, N 9. P. 3859–3870.
3. Blasingame E. [et al.] Pyriform Spidroin 1, a Novel Member of the Silk Gene Family That Anchors Dragline Silk Fibers in Attachment Discs of the Black Widow Spider, *Latrodectus hesperus* // J. Biol. Chem. 2009. V. 284, N 42. P. 29097–29108.