продуцирующих панцитокератин и EpCam, МК клетки, продуцирующие виментин, в начале культивирования отсутствовали и появлялись на 2–3 неделе. На 2–3 неделе культивирования 50% клеток стромальной культуры не продуцировали мезенхимные маркеры CD44, CD73, CD105, которые маркировали всю популяцию клеток на 4 неделе. При клонировании клеток первичных эпителиальных кластеров формировались МК, продуцирующие виментин, но не EpCAM. Полученные данные дают основание предположить, что первичные культуры клеток ПЖ формируются эпителиальными клетками, которые трансформируются в мезенхимные с помощью эпителиально-мезенхимного перехода.

Работа поддержана грантом № 14-50-00068 РНФ и грантом № 14-50-00068 РФФИ.

Т.М. Гринчук*, М.А. Шилина, В.И. Земелько, Н.Н. Никольский

КАРИОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

T.M. Grinchuk*, M.A. Shilina, V.I. Zemelko, N.N. Nikolsky

KARYOTYPIC FEATURES OF ENDOMETRIAL MESENCHYMAL STEM CELL IN CULTURE

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia

*grintat@bk.ru

Эндометриальные мезенхимные стволовые клетки (эМСК) экспрессируют маркеры типичные для стволовых клеток человека, активно пролиферируют в условиях in vitro и подвергаются направленной дифференцировке в адипогенном, остеогенном и хондрогенном направлении. Биологической особенностью данных клеток является повышенная их адаптировность к жизни вне организма. Известно, что повышенная приспосабливаемость клеток к изменениям среды обитания сопряжена с изменениями в структуре генома, фиксируемыми на кариотипическом уровне в том числе связанными с разрывами цепи ДНК. Нерепарируемые двунитевые разрывы приводят хромосомным поломкам, что, в свою очередь, может приводить к возникновению транслокаций и инсерций. Целью настоящего исследования было изучить стабильность структуры кариотипа двух клеточных линий эМСК на разных этапах культивирования. Было установлено, что на ранних пассажах (пас. 3, 6) кариотип клеток обеих линий был существенно дестабилизирован, что связано с разнотипными поломками, Робертсоновскими транслокациями, изохромосомами и анеуплоидией. Выявленные изменения носили случайный характер т.к. от клетки к клетке не повторялись. На 5, 10 пассаже возникшая нестабильность сохранялась, но носила «сглаженный» характер. Анеуплоидизация популяции сохранялась, количество структурных хромосомных перестроек снизилось. На еще более продвинутом, 15-ом пас. в первой, исходно менее перестроенной линии, кариотип стабилизировался, хромосомные перестройки отсутствовали, анеуполоидия выявлялась в единичных клетках. Во второй линии, изначально более нестабильной, на 22 пас. 50% клеточной популяции имело нормальный, не перестроенный кариотип. Кариотип остальных клеток оставался нестабильным. Полученные данные позволили заключить, что перевод эМСК из системы in vivo в систему in vitro является сильным экзогенным стрессом, при котором возникают существенные изменения в структуре генома на уровне кариотипа. Возникшая генетическая нестабильность клеток в процессе культивирования может претерпеть полную или частичную реверсию в пользу клеток со стандартным кариотипом. Скорость и длительность этого процесса зависит от степени насыщенности эМСК генетическими дефектами на первых пассажах их существования в системе in vitro.

Работа выполнена в рамках и по тематике гранта РНФ № 19-14-00108.

А.А. Грюкова*, П.И. Дерябин, А.Н. Шатрова, Н.Н. Никольский, А.В. Бородкина

РОЛЬ PAI-1 В РАСПРОСТРАНЕНИИ СТАРЕНИЯ В ПОПУЛЯЦИИ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

A.A. Griukova*, P.I. Deryabin, A.N. Shatrova, N.N. Nikolsky, A.V. Borodkina

THE ROLE OF PAI-1 IN SENESCENCE PROPAGATION IN THE POPULATION OF ENDOMETRIAL STROMAL CELLS

Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia

*grukova77@mail.ru

Благодаря своей способности к пролиферации и тканеспецифичной децидуальной дифференцировке эндометриальные стромальные клетки (эСК) обеспечивают пластичность эндометрия и его рецептивность к имплантирующимся эмбрионам. Ранее мы показали, что эСК подвергаются преждевременному старению в ответ на различные виды стрессов. Существенное снижение пролиферативного и дифференцирочного потенциала стареющих эСК предполагает нарушение нормального функционирования эндометрия, что может приводить к негативным последствиям для женской репродуктивной функции. Цель этой работы заключалась в исследовании возможности распространения старения в популяции эСК и опосредующих его механизмов.

Для оценки влияния стареющих эСК на здоровое микроокружение, мы поставили ряд экспериментов по ко-культивированию старых и молодых эСК в 2D и 3D моделях. Мы установили, что совместное культивирование со старыми эСК вызывает преждевременное старение в молодых клетках. Далее мы проверили, могут ли факторы, секретируемые стареющими эСК, получившие название ассоциированного со старением секреторного фенотипа (SASP), оказывать такой же эффект. Культивирование в кондиционной среде от стареющих клеток приводило к индукции старения в молодых эСК. Разделив секретом старых эСК на растворимые факторы и эктраклеточные везикулы, мы выявили, что обе фракции принимают участие в распространении старения в популяции эСК. На следующем этапе мы провели протеомный анализ полного секреторного профиля старых эСК. С помощью данных масс-спектрометрии, а также иммуноферментного анализа и иммуноблотинга нам удалось идентифицировать и показать высокое содержание белка PAI-1 в составе секретома старых эСК. Применив технологию геномного редактирования CRISPR/Cas9, мы обнаружили, что PAI-1 является мастер-регулятором