

**Изучение влияния белков секретома МСК на сигнальные пути,
регулирующие дифференцировку фибробластов**

Научный руководитель – Кулебякина Мария Александровна

Бутузова Дарья Андреевна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
фундаментальной медицины, Москва, Россия

E-mail: butuzova_dasha@mail.ru

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) регулируют процессы заживления тканей после повреждения, секретировав большое количество биологически активных веществ, в том числе белковой природы. Изучение механизмов влияния веществ, секретироваемых МСК, на процессы заживления тканей, является немаловажной задачей как с точки зрения фундаментальной, так и прикладной науки. Ранее нами было показано, что разделение кондиционированной среды (КС) МСК на фракции внеклеточных везикул (ВВ) и растворимых факторов (РФ) существенно увеличивает антифибротический эффект получаемых компонентов секретома в модели TGF β -индуцированной дифференцировки фибробластов кожи человека в миофибробласты. [1] Предположительно, фракционирование приводит к обогащению ВВ и РФ антифибротическими и к обеднению профибротическими компонентами. С целью проверить данную гипотезу, а также предположить возможные механизмы действия белковых компонентов секретома МСК на дифференцировку фибробластов, мы провели сравнительный полуколичественный анализ белкового состава образцов секретома МСК.

Для этого мы использовали КС иммортализованных МСК жировой ткани человека (hTERT-ASC, ATCC). Выделение фракций ВВ и РФ секретома МСК, а также концентрирование нефракционированной КС, проводили методом ультрафильтрации. Из полученных препаратов готовили образцы триптических пептидов, которые затем подвергали хромато-масс-спектрометрическому анализу на приборе Q Exactive HF-X. Биоинформатическую обработку данных проводили с помощью ПО MaxQuant. Для оценки влияния фракций на сигнальные пути был проведён анализ методом ПЦР в реальном времени.

Всего было идентифицировано 548 белков, из них 432 аннотированы как локализуемые во внеклеточном пространстве, 285 различались по представленности между фракциями секретома МСК в два и более раза. Мы обнаружили, что фракции ВВ и РФ обогащены 16 белками, взаимодействующими с сигнальными путями TGF β , Notch, Wnt и IGF. Предположительно, за счет более выраженного воздействия на данные сигнальные пути может реализоваться антифибротический эффект фракций ВВ и РФ. Данную гипотезу нам ещё предстоит проверить.

Также мы обнаружили, что КС обогащена относительно ВВ и РФ 200 белками, 6 из которых (F10, CXCL12 и др) способны активировать провоспалительный транскрипционный фактор NF- κ B. Через этот механизм данные белки могут препятствовать антифибротическому эффекту других компонентов секретома МСК. Методом ПЦР в реальном времени мы подтвердили, что добавление КС одновременно с TGF β вызывает статистически значимое увеличение экспрессии генов-мишеней NF- κ B (CXCL1, IL1-b, IL6 и др) в фибробластах кожи человека, что не наблюдается при добавлении фракций ВВ и РФ.

Таким образом, фракционирование увеличивает антифибротические свойства секретома МСК, в частности, за счет снижения содержания белков, стимулирующих экспрессию провоспалительных факторов.

Источники и литература

- 1) Basalova N., Sagaradze G., Arbatskiy M., Evtushenko E., Kulebyakin K., Grigorieva O., Akopyan Z., Kalinina N., Efimenko A. Secretome of Mesenchymal Stromal Cells Prevents Myofibroblasts Differentiation by Transferring Fibrosis-Associated microRNAs within Extracellular Vesicles // Cells. 2020, 9(5), 1272