

Сравнение свойств малых внеклеточных везикул, выделенных из сыворотки и плазмы онкологических больных и здоровых доноров, при помощи метода атомно-силовой микроскопии

Научный руководитель – Ефремов Юрий Михайлович

Шишков Всеволод Владимирович

E-mail: vsevolod.v.shishkov@gmail.com

Малые внеклеточные везикулы (мВВ) — термин, объединяющий внеклеточные везикулы с диаметром 30 – 100 нанометров, включающий в себя экзосомы и микровезикулы. К сожалению, мало внимания уделяется биофизическим свойствам мВВ, однако такие исследования ведутся, в том числе при помощи атомно-силовой микроскопии (АСМ), являющейся мощным инструментом для оценки механических свойств, что может быть полезным при диагностике различных заболеваний [1].

В качестве объекта исследования были выбраны мВВ, выделенные из сыворотки и плазмы онкологических больных и здоровых доноров методом дифференциального центрифугирования. Перед сканированием на АСМ проводилась иммобилизация мВВ на поверхности слюды при помощи поли-L-лизина. Сканирование проводилось при помощи АСМ Bioscope Resolve (Bruker), установленного на инвертированном оптическом микроскопе Axio Observer. Использовались кантилеверы ScanAsyst-Fluid+ (Bruker) с номинальной константой жесткости 0,7 Н/м и номинальным радиусом зонда 2 нм. АСМ-изображения размером 10 × 10 мкм и 3 × 3 мкм были получены в режиме Peak-Force Tapping. Для изображений размером 3 × 3 мкм был использован режим Force Volume для получения силовых кривых и оценки механических свойств.

Для исследования были выбраны 3 онкологические группы (рак простаты (РП), колоректальный рак (КРР) и лимфома (Л)) и группа здоровых доноров (КГ). Первым этапом было определение компонента с большим выходом мВВ, в качестве такого компонента была выбрана сыворотка. Сравнение между группами проводилось по двум параметрам: высота и модуль Юнга мВВ. При статистическом анализе для средних значений между группами, было выявлено значимое различие высоты в паре КГ /РП и различие модулей Юнга в паре КРР/Л. При сравнении всех значений между группами, было выявлено значимое различие между всеми попарными сравнениями высоты и не было выявлено значимых различий между модулем Юнга в парах КГ/Л и КРР /РП. По результатам кластерного анализа методом k-средних кластер 1 во всех группах состоял из большего количества мВВ с меньшим размером, в то время как кластер 2 состоял из меньшего количества мВВ большего размера. Средний процент доли кластера 2 в трех группах (КРР, РП и КГ) составил 11-12%, средний процент доли кластера 2 в группе лимфомы составил 6%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что характеристики мВВ могут служить потенциальными диагностическими онкомаркерами и являются перспективным объектом для изучения.

Исследование в Сеченовском Университете было поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения №075-15-2021-596.

Источники и литература

- 1) Feng Y. et al. Nanomechanical Signatures of Extracellular Vesicles from Hematologic Cancer Patients Unraveled by Atomic Force Microscopy for Liquid Biopsy // Nano Lett. American Chemical Society, 2023.