

ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕРЕДАЧИ С ПОМОЩЬЮ ЭКЗОСОМ БЕЛКА p53, МЕЧЕННОГО GFP, ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ НЕК293 и GFP-НЕК293

© 2019 г. Р. А. Пантина¹, Е. Ю. Варфоломеева¹, В. С. Бурдаков^{1,2}, С. Б. Ланда¹, В. Ю. Байрамуков¹, Р. А. Ковалёв¹, М. В. Филатов^{1,3,*}

¹Отделение молекулярной и радиационной биофизики Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ “Курчатовский институт”, Гатчина, 188300 Россия

²Кафедра биофизики С.-Петербургского политехнического университета Петра Великого, Санкт-Петербург, 194064 Россия

³С.-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург, 191036 Россия
*E-mail: fil_53@mail.ru

Поступила в редакцию 23.04.2018 г.

После доработки 25.09.2018 г.

Принята к публикации 27.09.2018 г.

В работе представлена модельная система для визуализации переноса между клетками белка, меченного GFP, с помощью внеклеточных микровезикул (экзосом). Проанализированы временные параметры накопления меченного флуоресцентной меткой белка в клетках-реципиентах. В качестве донора экзосом использован клон трансфицированных плазмидой p53ΔY126-GFP клеток НЕК293 (GFP-клон). В качестве реципиента была взята исходная культура клеток НЕК293. Полученные результаты доказывают, что передача GFP-белка от клетки к клетке осуществляется именно через экзосомы. Показано, что при совместном культивировании клеточных линий для существенного накопления клетками-реципиентами передаваемого данным образом белка требуется достаточно продолжительное время. Временные характеристики этого процесса различны для клеток даже одной клеточной популяции.

Ключевые слова: белок p53-GFP, клеточная коммуникация, клеточная линия Нек293, экзосомы

DOI: 10.1134/S004137711901005X

Нормальные и опухолевые клетки различных типов способны активно обмениваться продуктами своей жизнедеятельности. В частности, они могут влиять на своих удаленных партнеров посредством продуцируемых ими экзосом, содержащих биологически активные белки, специфические мРНК и миРНК, ДНК, липиды и транскрипционные факторы (Simons, Raposo, 2009; Ogorevc et al., 2013; Chen et al., 2014; Jørgensen et al., 2015; Fujita et al., 2016; Бурдаков и др., 2017; Shtam et al., 2017;). Экзосомы – это секретлируемые клетками-продуцентами в межклеточное пространство мембранные везикулы нанометрового размера (Филатов и др., 2010; Штам и др., 2012). Внутреннее содержимое экзосом различно и зависит от продуцирующих их клеток (Théry et al., 2002; Samsonov et al., 2016; Yentrapalli et al., 2017). Наряду с конститутивной секрецией экзосом на их количественный уровень и состав влияют определенные изменения условий культивирования (Parolini et al., 2009; Jelonek et al., 2016). Многочисленные данные свидетельствуют о возможности увеличения количества конкретного белка в экзосомах путем изменения уровня его экспрессии в клетках (Graner et al., 2009; Meckes et al., 2010;

Adamczyk et al., 2011; Higginbotham et al., 2011; Бурдаков и др., 2017).

Кинетические характеристики продуцирования экзосом и их захвата клетками-реципиентами могут оказаться важным показателем, способствующим лучшему пониманию особенностей коммуникации между клетками. Однако временные параметры этих биологических процессов мало изучены и требуют более детального рассмотрения.

Целью настоящего исследования является оценка временных параметров накопления в клетках-реципиентах меченного флуоресцентной меткой белка при его транспортировке посредством экзосом от клеток-продуцентов.

В работе использован метод совместного культивирования клеточных линий НЕК293 и GFP-клона (клон трансфицированных плазмидой p53ΔY126-GFP клеток НЕК293, стабильно экспрессирующий белок p53 с делецией единичной аминокислоты и несущий на N-конце зеленый флуоресцентный белок), позволяющий следить в реальном времени за передачей между клетками меченного GFP мутантного белка