

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИЙ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ ОБЛАСТЕЙ ПЛАЦЕНТЫ ОДНОГО ДОНОРА

© 2020 г. А. М. Кольцова^{1, *}, В. В. Зенин¹, М. А. Петросян^{2, 3}, В. И. Турилова¹, Т. К. Яковлева¹, Г. Г. Полянская^{1, **}

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, 199034 Россия

³Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, 194156 Россия

*E-mail: koltsova.am@mail.ru

**E-mail: poljansk@incras.ru

Поступила в редакцию 18.05.2020 г.

После доработки 18.05.2020 г.

Принята к публикации 25.05.2020 г.

Получены и охарактеризованы две новые неиммортизированные клеточные линии, выделенные из разных мест плаценты одного донора: из области, расположенной рядом с пупочным канатиком, и из области, удаленной от него, названные MSC-PL-1 и MSC-PL-2 соответственно. Анализ разных характеристик проводили на раннем (6-ом) и поздних пассажах. В процессе длительного культивирования выявлены существенные межлинейные различия по характеру репликативного старения и по ростовым характеристикам, которые включают эффективность клонирования и пролиферативную активность. Кариотипический анализ показал, что на раннем пассаже обе линии имеют нормальный диплоидный кариотип с незначительным количеством неклональных хромосомных перестроек. На позднем 15-ом пассаже клетки линии MSC-PL-2 также сохраняют нормальный кариотип. При длительном культивировании линии MSC-PL-1 до пассажа 14 обнаружены, помимо неклональных, клональные перестройки, что свидетельствует об аномальном кариотипе этой линии на позднем пассаже. Повторный кариотипический анализ позволил сделать вывод, что одна клональная перестройка — X, add(X)(p22.3) — является характерной чертой линии MSC-PL-1 при репликативном старении, но ее частота может варьировать при культивировании разных клеточных популяций одной линии. Для обеих линий подтвержден статус МСК. На раннем и поздних пассажах показана высокая доля клеток, несущих поверхностные антигены, характерные для МСК человека: CD44, CD73, CD90, CD105, виментин и HLA-ABC. Выявлена крайне низкая частота клеток с антигенами CD34, CD45 и HLA-DR. Показано, что клетки полученных линий на раннем пассаже обладают способностью дифференцироваться в остеогенном, хондрогенном и адипогенном направлениях. В процессе репликативного старения дифференцировочный потенциал линий существенно снижается. В частности, в клетках линии MSC-PL-1 исчезает адипогенная дифференцировка, а в линии MSC-PL-2 — существенно снижается. Наблюдается корреляция между уровнем адипогенной дифференцировки и транскрипционной активности гена *glut4*, исследованной с помощью ОТ-ПЦР-анализа. ОТ-ПЦР-анализ экспрессии гена *pse* показал низкую потенцию клеток обеих линий к нейрональной дифференцировке. Эти данные являются косвенным подтверждением важности онтогенетического происхождения линий МСК. Полученные данные позволяют предполагать, что основная причина межлинейных различий состоит в физиологических особенностях той области органа, из которой были получены клетки.

Ключевые слова: мезенхимные стволовые клетки человека, репликативное старение, пролиферативная активность, поверхностные клеточные маркеры, кариотип, дифференцировка

DOI: 10.31857/S0041377120090035

Актуальной задачей клеточной биологии является выделение и сравнительная характеристика ме-

зехимных стволовых клеток (МСК) человека, выделенных из разных источников. Согласно требованиям Международного общества клеточной терапии, статус МСК разного происхождения определяется рядом общих характеристик. К таким характеристикам относятся: адгезивность к культуральному пластику,

Принятые сокращения: ИФА — иммунофлуоресцентный анализ; МСК — мезенхимные стволовые клетки; ОТ-ПЦР — полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией; ЭСК — эмбриональные стволовые клетки.