

УДК 577.112.3

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЛИКОПРОТЕИНОВ И ОЛИГОПЕПТИДОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК

Власова Г.А. (Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», НОЦ «Инфохимия»).

к.х.н., доцент Уласевич С.А. (Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО», НОЦ «Инфохимия»).

Аннотация.

Введение. Поиск препаратов и методов для ускорения заживления поверхностных ран, обновления верхних слоёв эпидермиса и особенно повышения скорости регенерации внутренних повреждений, например, при операциях на сосуды – важная проблема современной медицины и биотехнологии. Для решения данных задач применяются различные подходы от стандартного хирургического вмешательства до применения сложных наноструктурных материалов на основе синтетических и натуральных полимеров. В данном исследовании будет рассмотрено влияние муцина улиток на скорость пролиферации постнатальных фибробластов человека.

Основная часть. Муцины – органические соединения класса гликопротеинов, содержащих кислые полисахариды; основной компонент, входящий в состав секретов всех слизистых желёз. Муцины обладают противовоспалительным и ранозаживляющим действием, применяются в медицине и косметологии, являются маркерами онкозаболеваний. Постнатальные фибробласты человека (ПФЧ) – адгезионные эпителиальные клетки, способные к быстрому образованию монослоя и закреплению на поверхности. На основании литературных данных, известно, что при взаимодействии с коллагеном пролиферация и ранозаживляющая (происходит активное «стягивание» белковых молекул) способность ПФЧ увеличивается.

Для проверки жизнеспособности и скорости регенерации клеточного слоя было проведено два типа экспериментов. Первый тип был основан на изучении влияния различных концентраций муцина улиток на скорость и особенности пролиферации ПФЧ. Для оценки влияния концентрации муцина на рост клеток ПФЧ был проведён эксперимент в шестилуночных планшетах. Предварительно очищенный и высушенный муцин, полученный из улиток *Helix pomatia*, растворяли в стерильной деионизированной воде. В шестилуночный планшет вносили стерильный раствор муцина в концентрациях 0,001 мг/мл, 0,01 мг/мл и 0,1 мг/мл. Затем засевали клетки в концентрации $1 \cdot 10^6$ кл./мл и культивировали при 37°C в 5% среде CO₂-инкубаторе в течение 1-3 дней. В качестве контроля клетки ПФЧ (6-й пассаж) культивировали в ростовой среде без добавок. Ростовую среду готовили на основе питательной среды Игла MEM, содержащей 5% сыворотки эмбрионов коровы. Каждые 2-3 дня среду в культивируемых образцах обновляли. Подсчет клеток осуществляли с использованием программы ImageJ по фотографиям, полученным с использованием оптического микроскопа. Все биологические эксперименты проводили в трёхкратном количестве и троекратном повторе. Статистический анализ клеток проводили в статистическом пакете Excel с использованием ANOVA и F-теста Фишера.

Установлено, что высокие концентрации муцина оказывают ингибирующее воздействие на клеточный рост, в то время как плотность клеток в системах с содержанием 0,01 мг/мл и 0,1 мг/мл муцина наблюдалась повышенная по сравнению с контролем пролиферация клеток.

Второй тип экспериментов проводили по изучению скорости восстановления монослоя клеток после физического повреждения. Для этого часть образцов плотно закрывали парафиновой пленкой и выращивали ПФЧ до создания на поверхности образца монослоя клеток в концентрации приблизительно $2,5 \cdot 10^5$ кл./см². Затем парафиновую пленку удаляли, создавая дефект в клеточном монослое. Для ускорения пролиферации клеток вводили раствор муцина в количестве 0,1 мг/мл. Клетки визуализировали, как и в предыдущем случае.

Выявлено, что введение муцина способствует увеличению клеточной пролиферации. Через четыре дня клетки снимали раствором Версена и центрифугировали при 300 g в течение 5 мин. В частности, в образце с муцином массовая доля клеток составила 1,16% относительно массы раствора. В то время как в контроле массовая доля клеток составила 0,89 масс. %.

Выводы. Предварительные тесты показали, что введение в ростовую среду приготовленного муцина в концентрации 0,2 мг/мл способствует увеличению скорости пролиферации постнатальных фибробластов человека в 1,3 раза по сравнению с контролем. Таким образом, полученный муцин может использоваться в качестве активного компонента для производства различных наружных косметических средств.

Власова Г. А. (автор) _____

Уласевич С. А. (научный руководитель) _____