

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ДРУЖБЫ НАРОДОВ
(РУДН)

Институт Биохимической Технологии и Нанотехнологии



Изучение влияния
наночастиц халькогенов
на морфологию и выживаемость
мезенхимальных стромальных клеток

Аспирант

Кузьменко В.В.

Научный руководитель

д.х.н., профессор ИБХТН РУДН
Василенко И.А.

Селен в фармации

Антиоксидантная активность

Антиопухолевая активность

Антимикробная активность

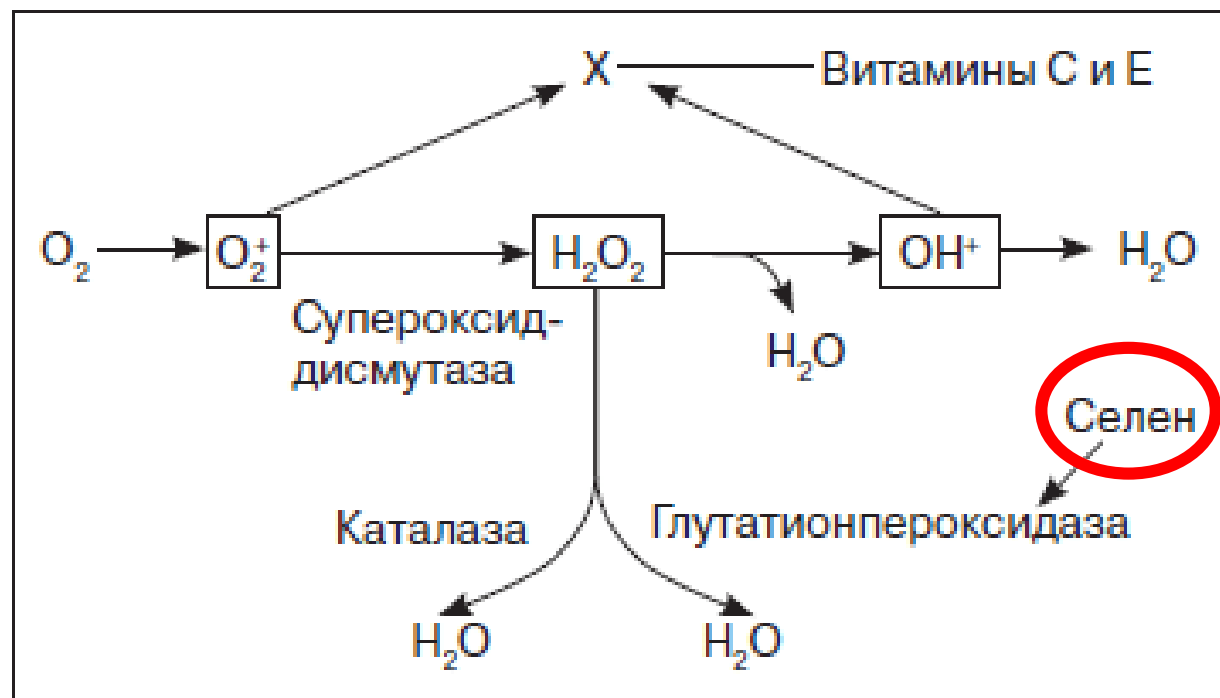
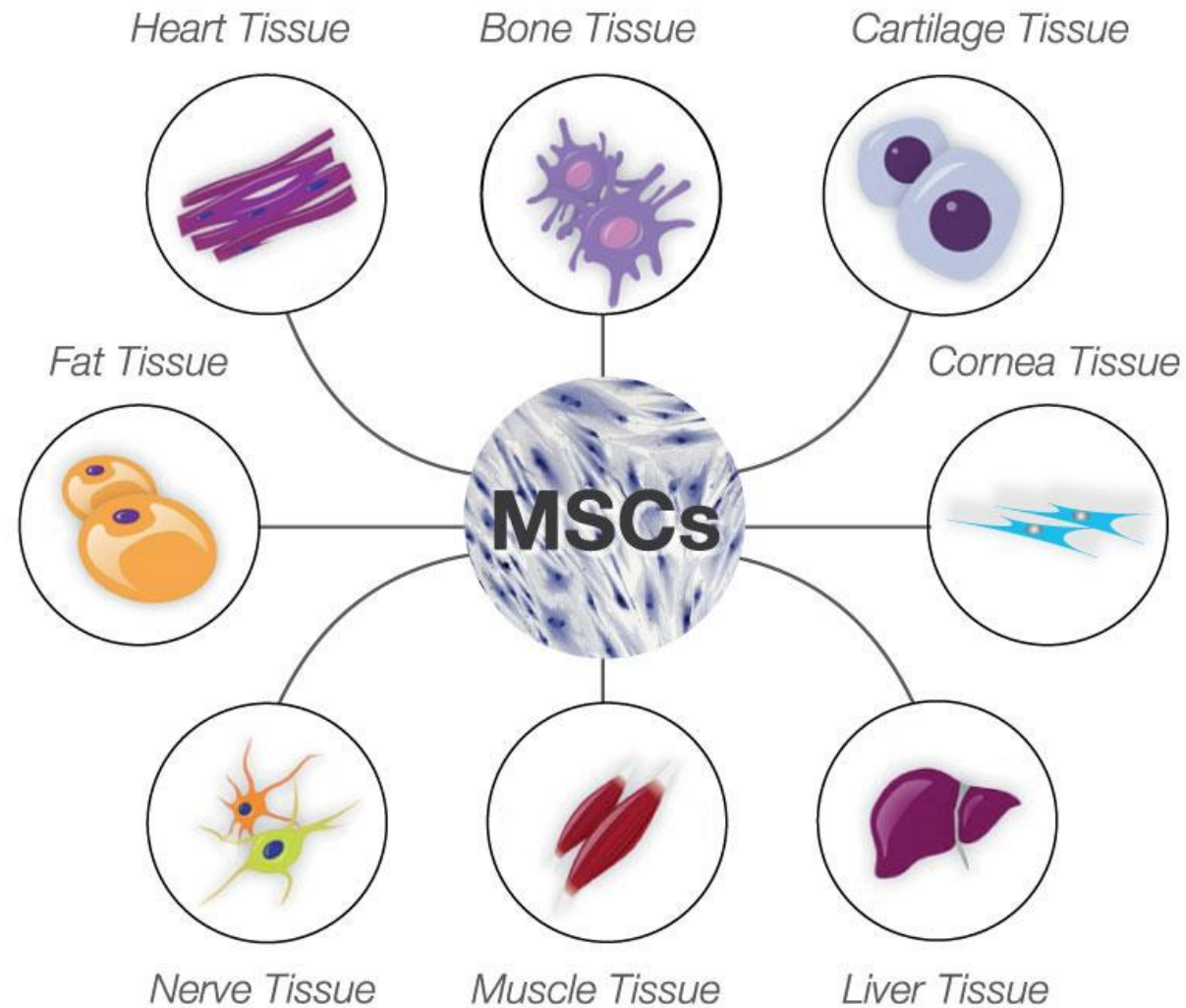


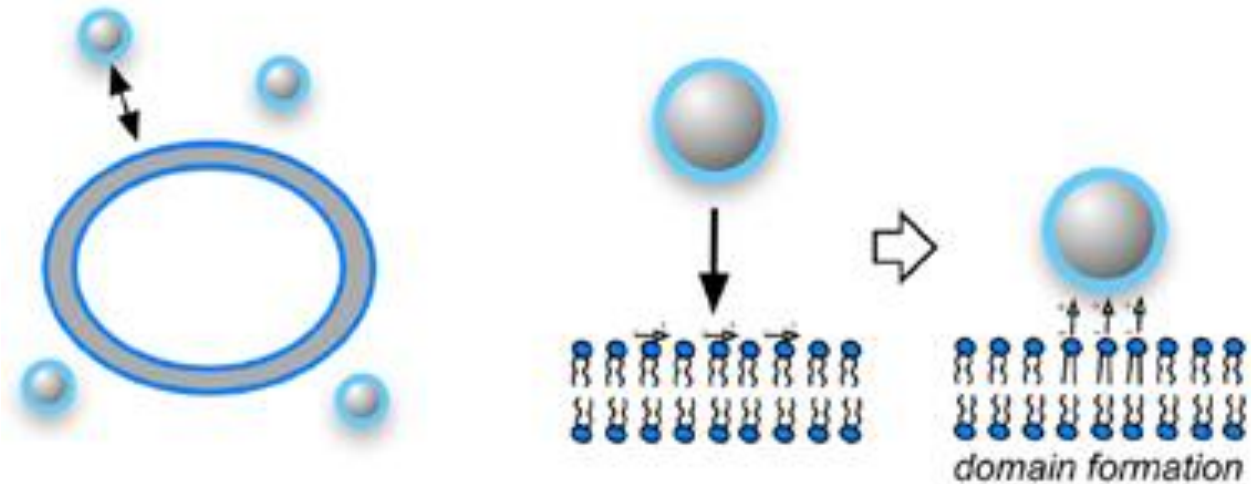
Рисунок 1. Повреждение клеточной мембраны

Мезенхимальные стромальные клетки (МСК)

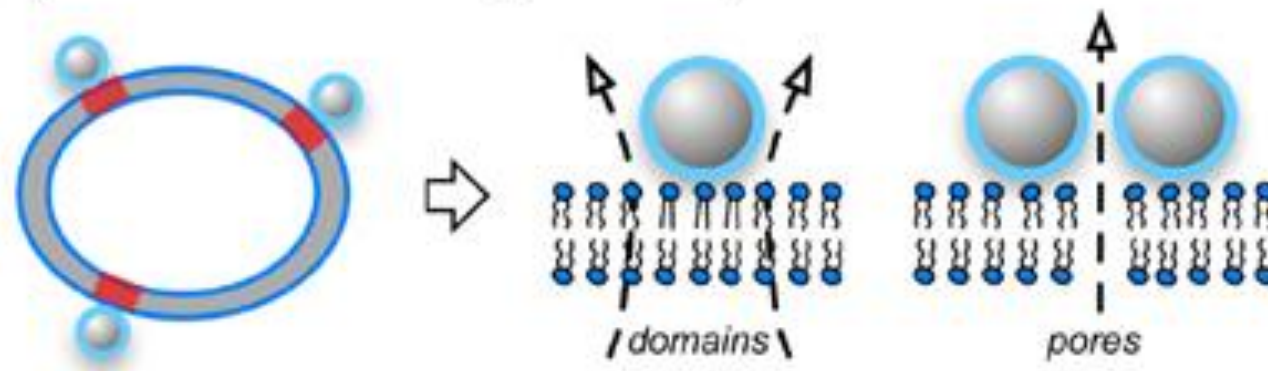


Влияние наночастиц снаружи клетки

(A) Nanoparticle adhesion (binding) at membrane/water interface



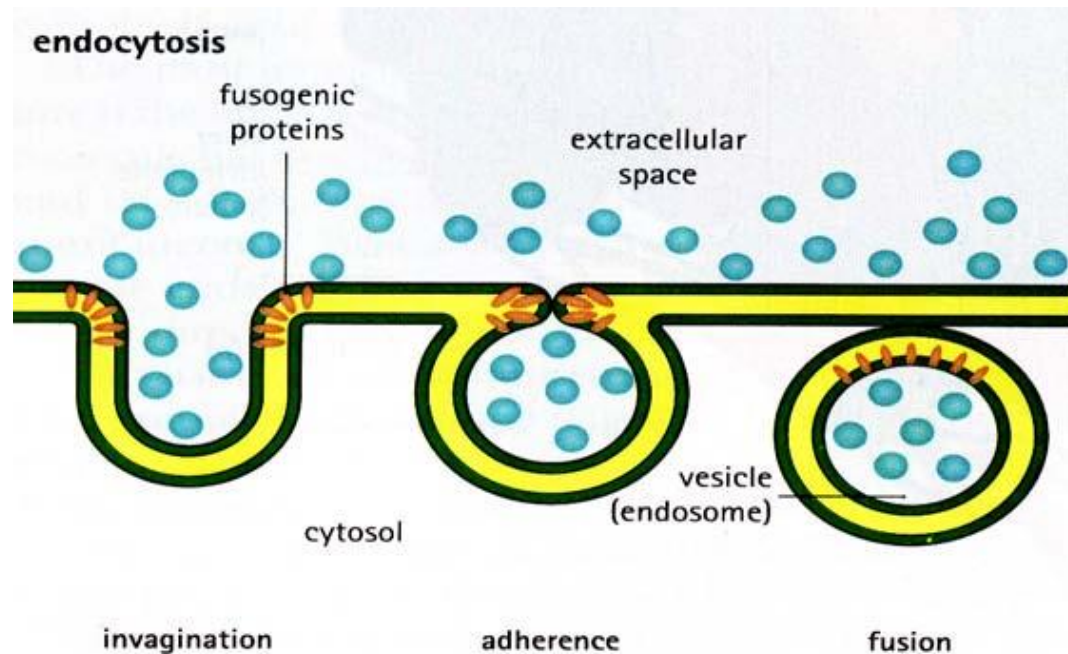
(B) Membrane restructuring and leakage



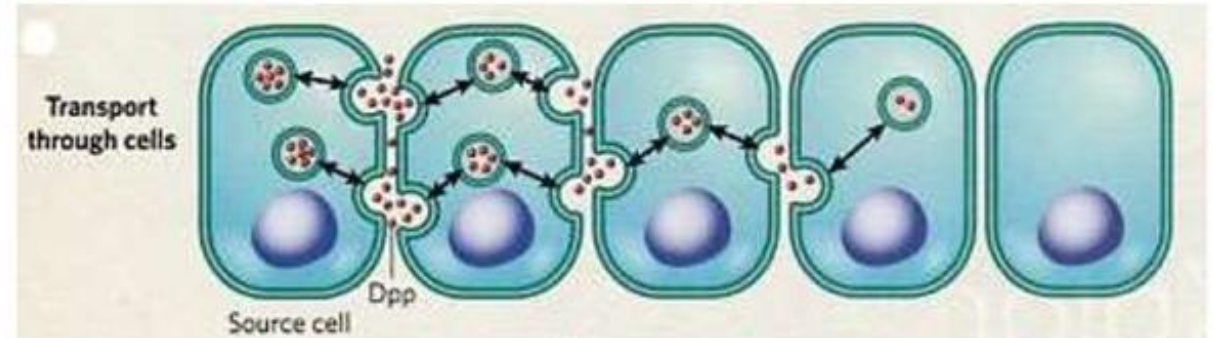
Проникновение в клетки

эндоцитоз (10-30 нм, до 100 нм)

транскитоз (М-клетки
более 500 нм)



ТРАНСЦИТОЗ Dpp (decapentaplegic, аналог TGF- β)



ЦЕЛЬ:

Изучить влияние наночастиц халькогенов на примере селена на морфологию и выживаемость культур мезенхимальных стромальных клеток.

ЗАДАЧИ:

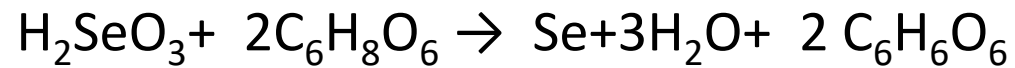
- Разработать способ получения наночастиц селена и изучить их параметры.
- Изучить влияние концентрации НЧ селена разных размеров на морфологию и выживаемость культуры клеток МСК.

Материалы и методы

- Химический синтез наночастиц селена: методом восстановления селенистой кислоты аскорбиновой кислотой
- Исследование синтезированных НЧ методом кросс-корреляции фотонов
- Изучение морфологии методом световой микроскопии
- Изучение выживаемости с помощью метода подсчета клеток в камере Горяева

Получение и исследование наночастиц селена

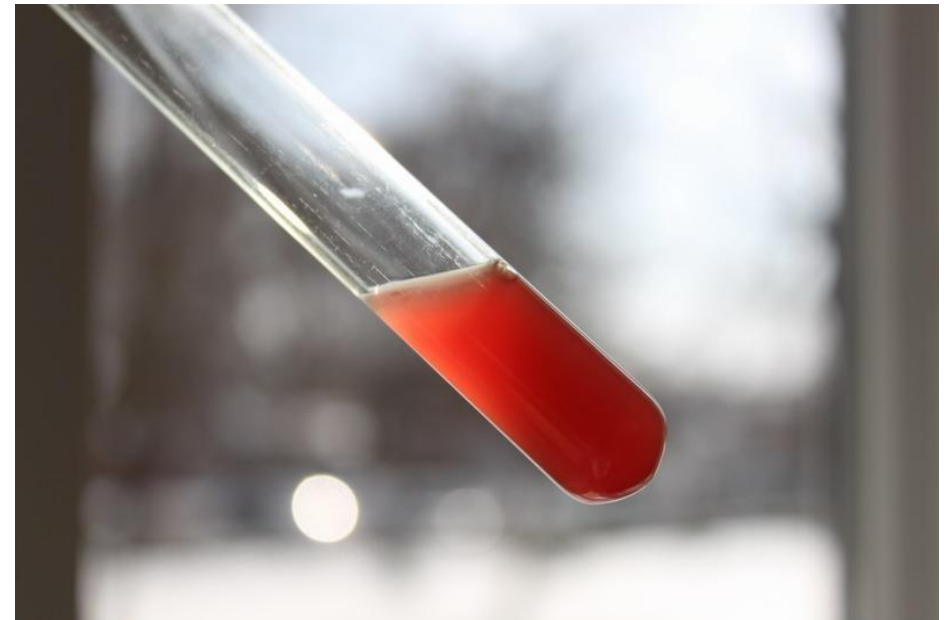
- Метод:



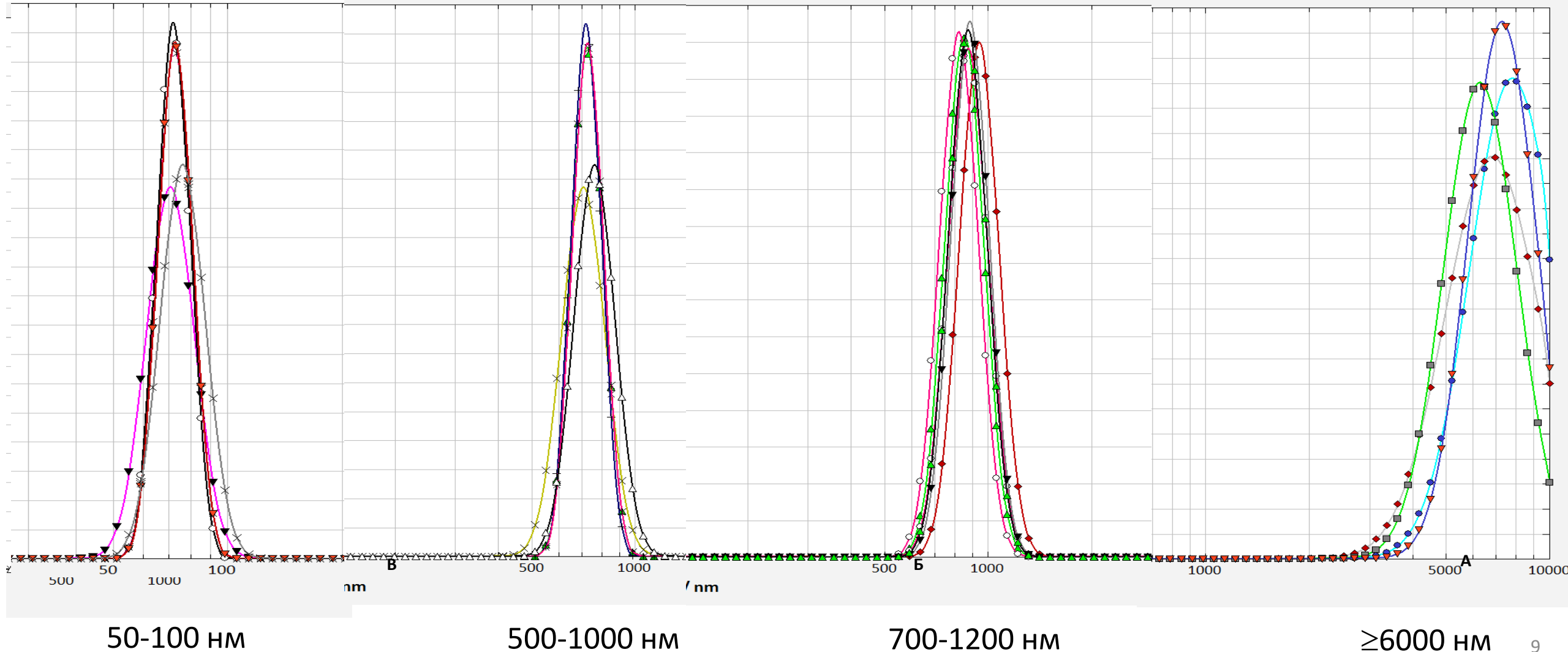
- Подбор концентраций реагентов

- Подбор режима центрифугирования

- Дополнение стадией фильтрования



Исследование НЧ селена методом кросс-корреляции фотонов



Получение культуры МСК

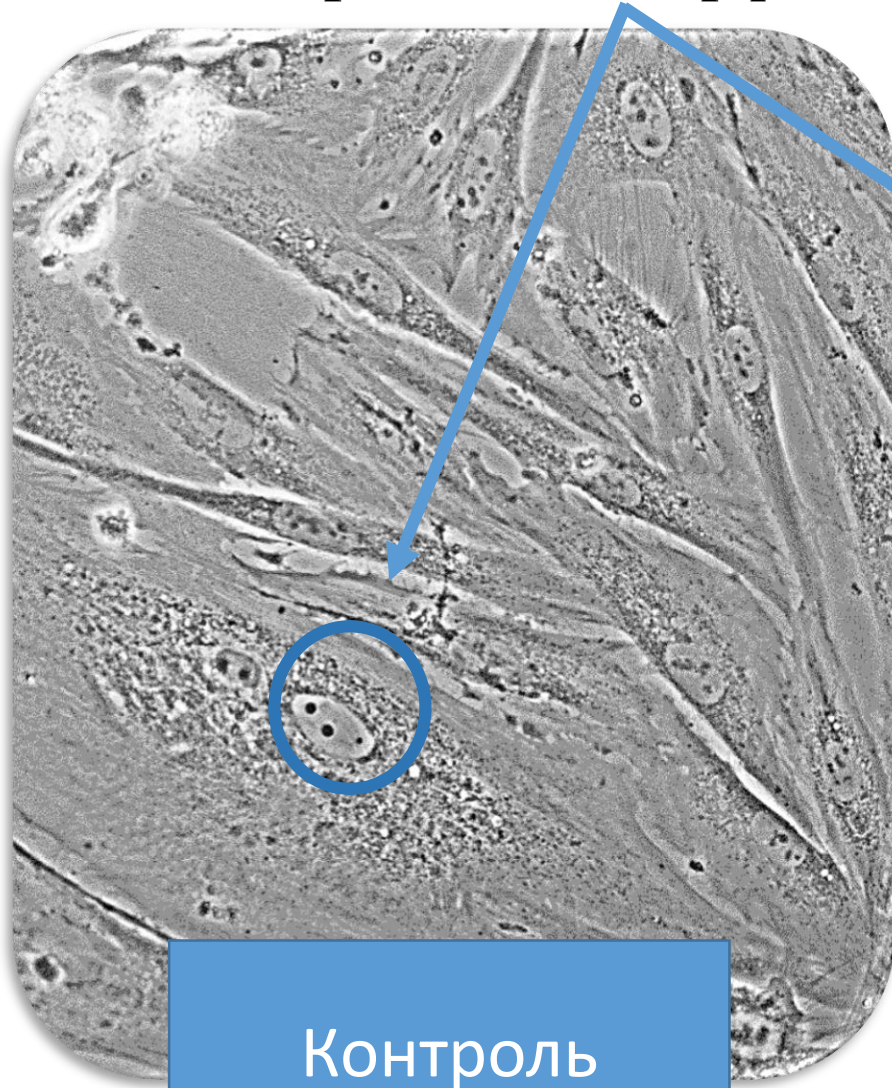
- В работе использовали МСК плаценты.
- Морфология: фибробластоподобные, веретеновидные клетки.
- Иммунофенотип: CD34-, CD45-, CD14-, CD20-, CD44+, CD73+, CD90+, CD105+.
- Контроль стерильности



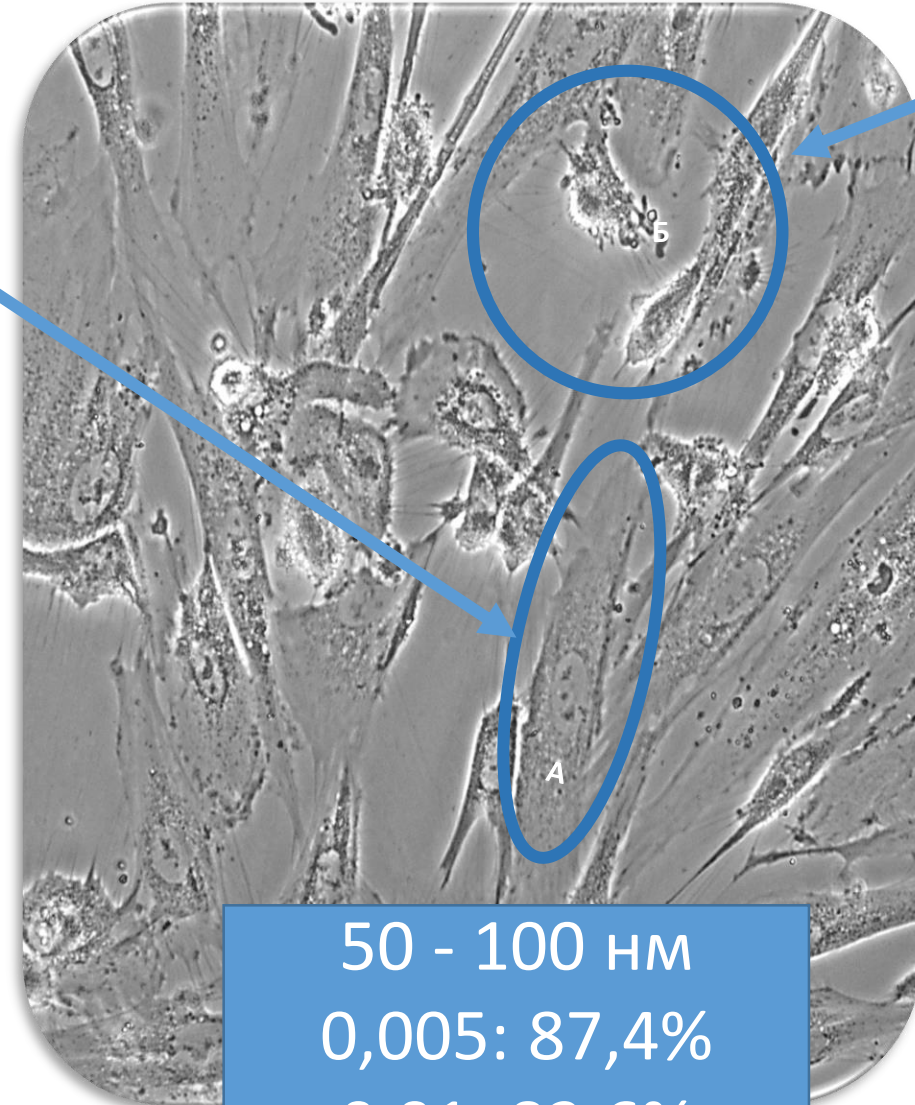
Исследование частиц селена на МСК

Клетка с нормальной морфологией

Апоптоз



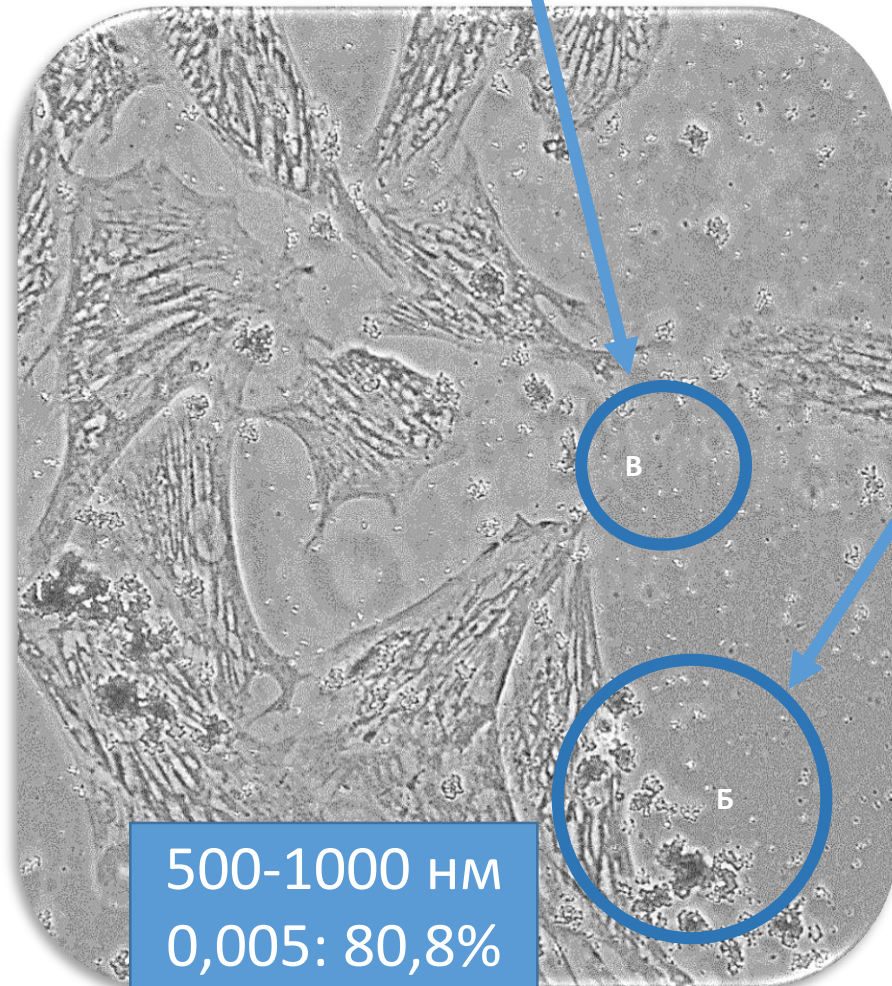
Контроль



50 - 100 нм
0,005: 87,4%
0,01: 82,6%

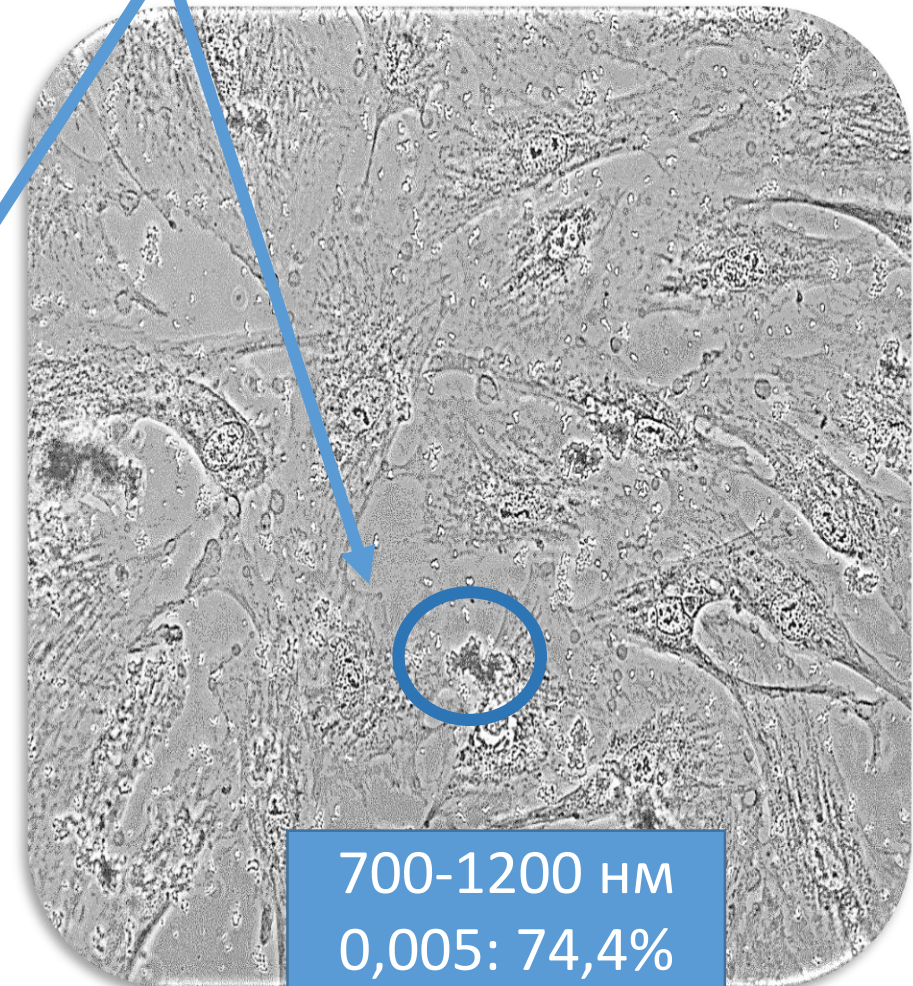
Исследование частиц селена на МСК

Конгломераты частиц



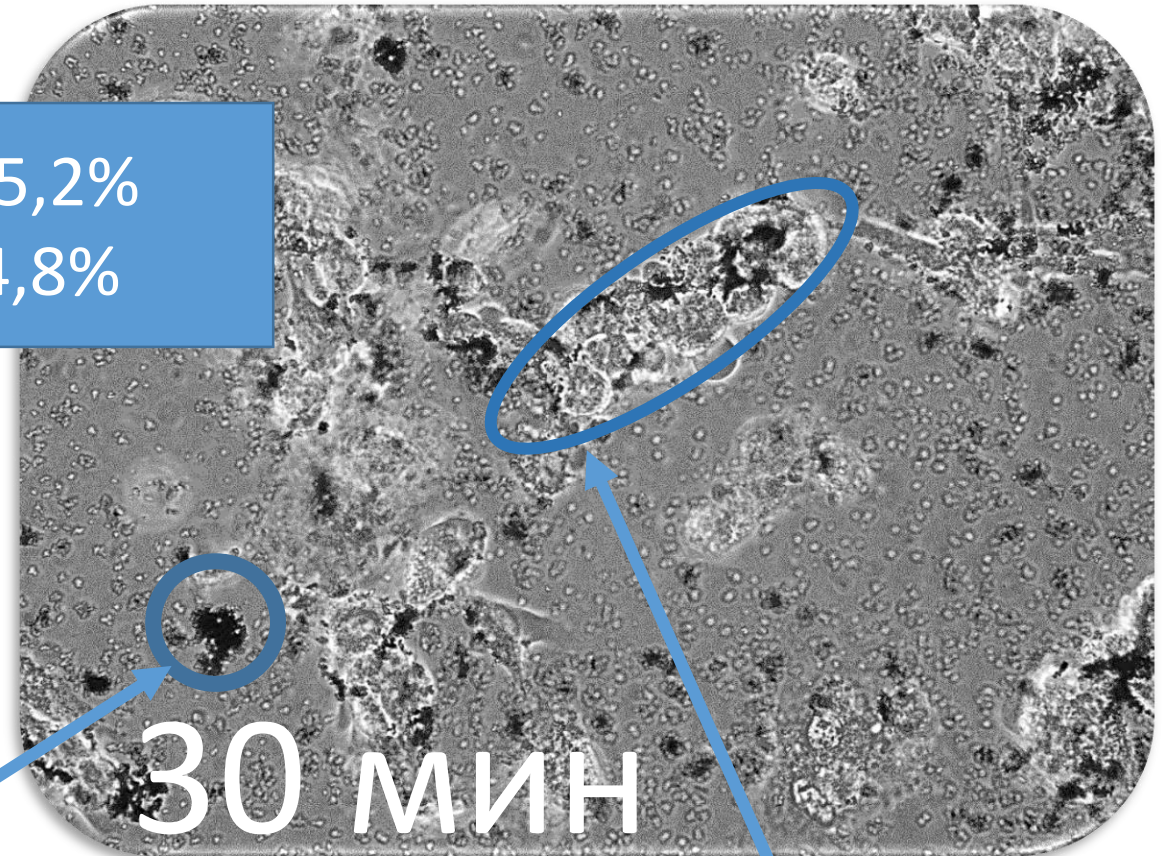
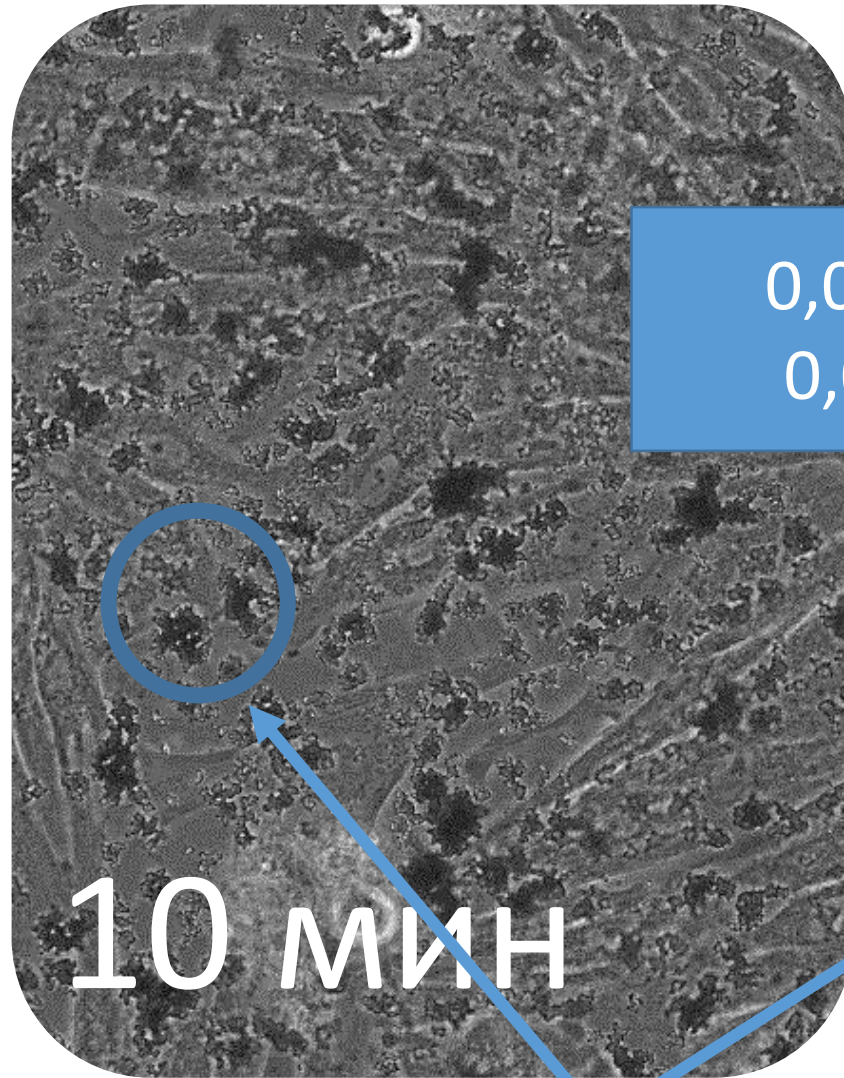
500-1000 нм
0,005: 80,8%
0,01: 71,2%

Конгломераты с частиц с дебрисоом



700-1200 нм
0,005: 74,4%
0,01: 65,8%

Частицы 6000 нм

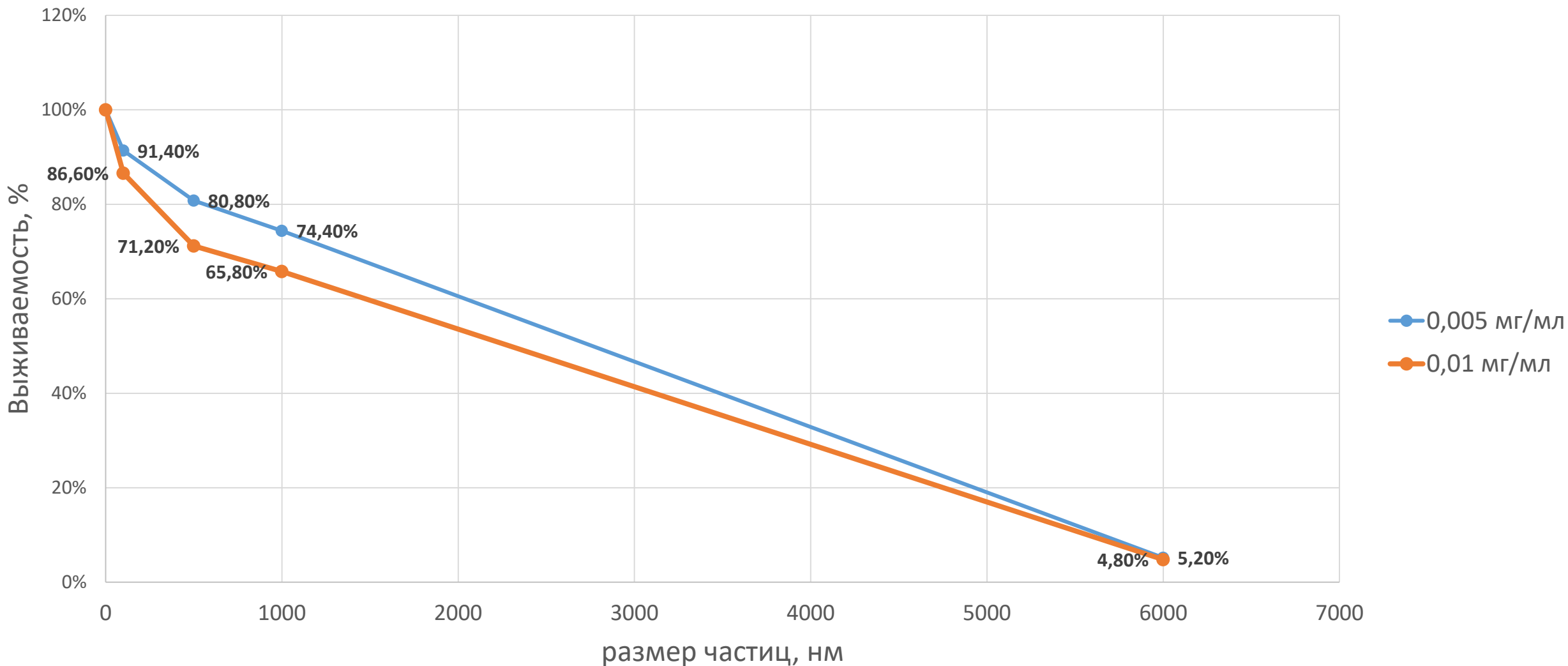


0,005: 5,2%
0,01: 4,8%

Конгломераты с частиц с белками, мембранами клеток

Апоптические тельца

График зависимости выживаемости от размера и концентрации частиц селена



Выводы

- Подобраны условия для синтеза частиц селена с минимальным размером от 50 нм.
- В ходе исследований установлено, что частицы селена с минимальным размером 50 нм и в минимальной дозе 0,005 мг/мл вызывают токсический эффект: снижение выживаемости, единичны изменения в морфологии.
- Доказано, что с увеличением размера частиц учащается встречаемость морфологических изменений: дифференцировка клеток, апоптоз клеток.
- Доказано, что с увеличением дозы частиц также усиливается токсический эффект.

Заключение

- Дальнейшая работа будет сосредоточена на синтезе более мелких НЧ размером 5-30 нм с последующим отслеживанием внутриклеточного транспорта.
- Для идентификации проникновения НЧ внутрь клетки планируется использовать методы электронной микроскопии.

Спасибо за внимание!



Институт Биохимической Технологии и Нанотехнологии
Российского университета дружбы народов

Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100»
The publication has been prepared with the support of the “RUDN University Program 5-100”.

Проникновение через клетки

- Парацеллюлярный путь: интерстициальное пространство между эпителиальными клетками.
- В закрытом состоянии 0,3 до 1 нм
- Открытый – менее 20 нм

