



Пятая международная конференция • Школа молодых учёных

**ФИЗИКА —
НАУКАМ О ЖИЗНИ**

Санкт-Петербург • 16–19 октября • 2023



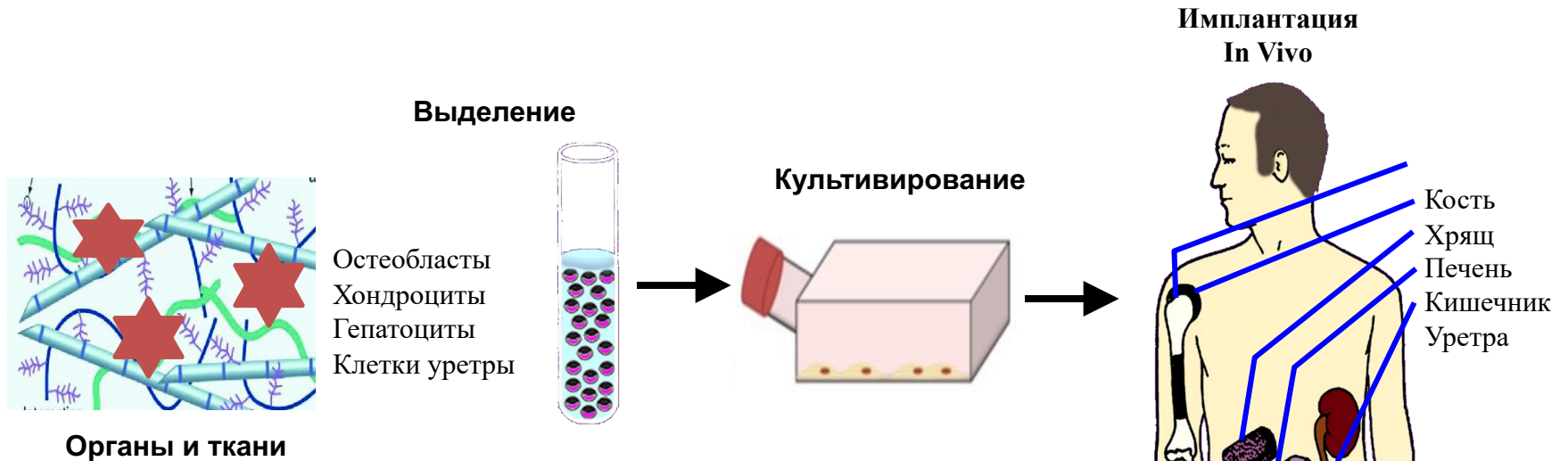
**ИНСТИТУТ
ЦИТОЛОГИИ**
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Влияние белков внеклеточного матрикса на фибриллообразование коллагена I типа *in vitro*

Ю.А. Нащекина, М.Ю. Сироткина, П.О. Никонов,
О.А. Болотова, А.В. Нащекин

Санкт-Петербург, 19 октября 2023

Клеточная терапия



- Высокая локальная концентрация клеток (10^8 клеток)
- Обработка протеолитическими ферментами, необходимая для отделения клеток от поверхности культурального сосуда
- Создание трёхмерного микроокружения



Культивирование клеток на трехмерном носителе и последующая трансплантация

Цель: Создание композитных скаффолдов на основе белков внеклеточного матрикса

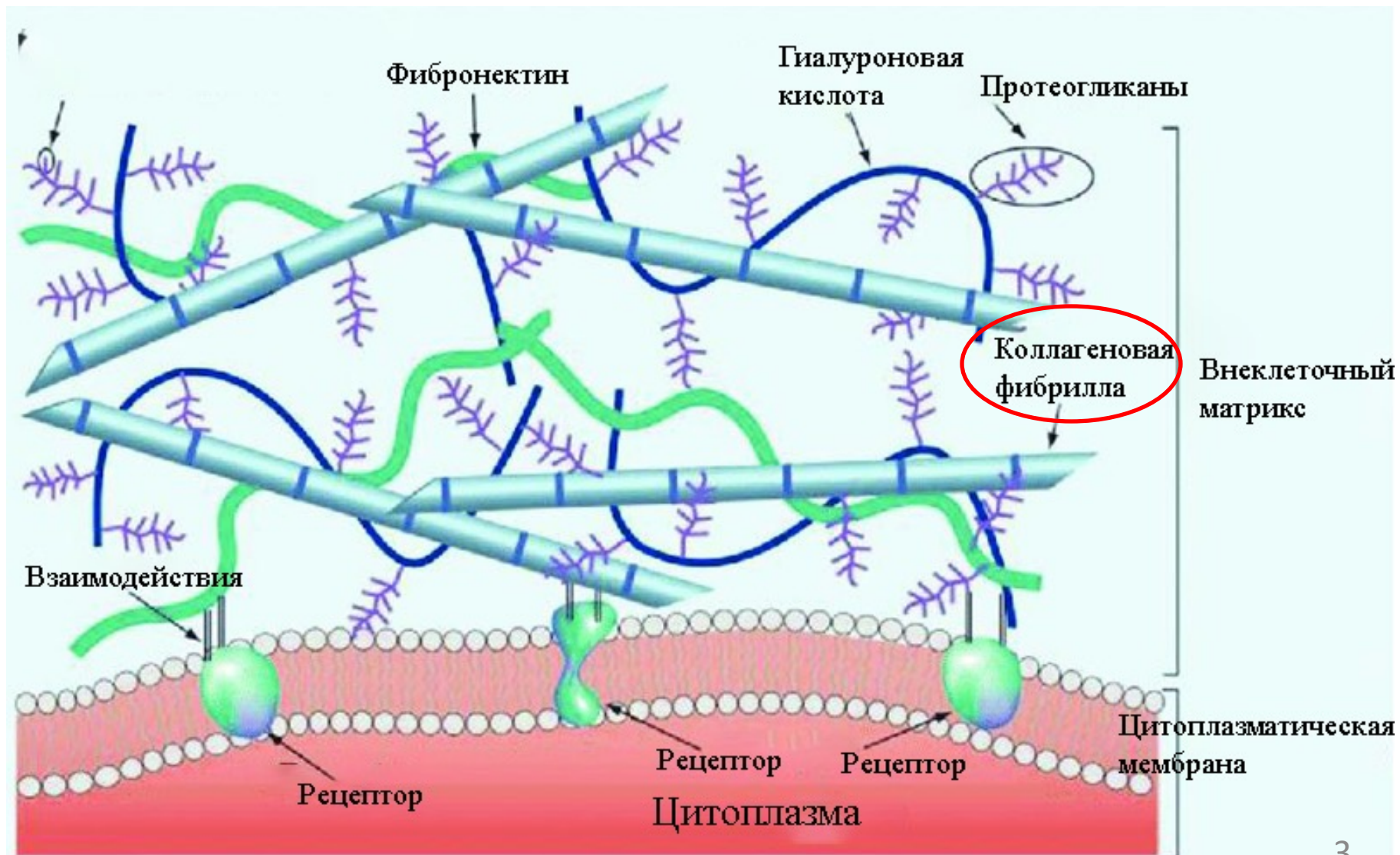
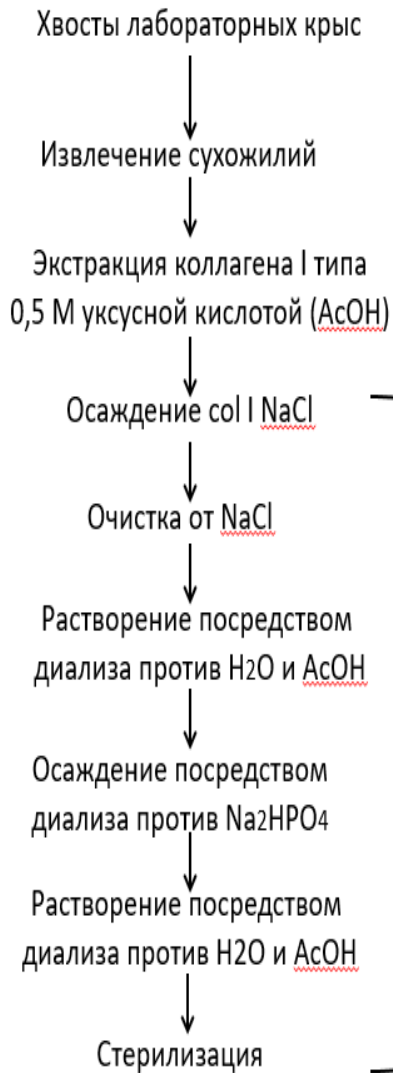


Схема кислой экстракции коллагена I типа



Этапы
очистки

Схема ферментативной экстракции коллагена IV типа

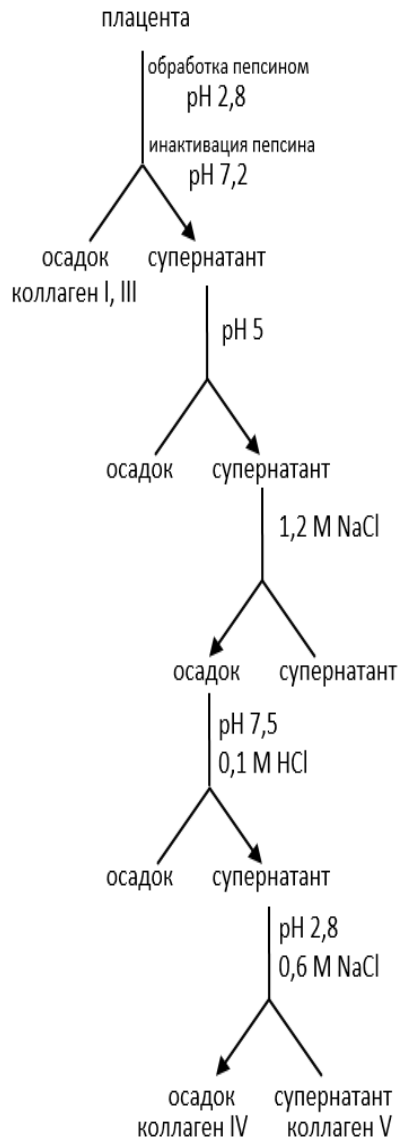
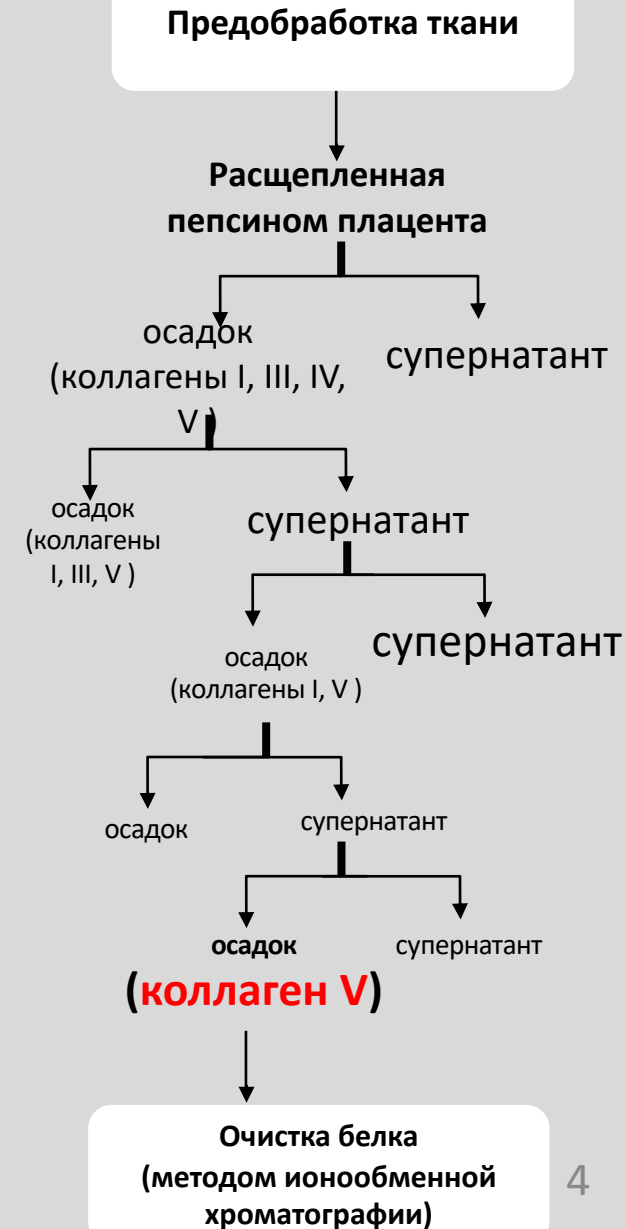
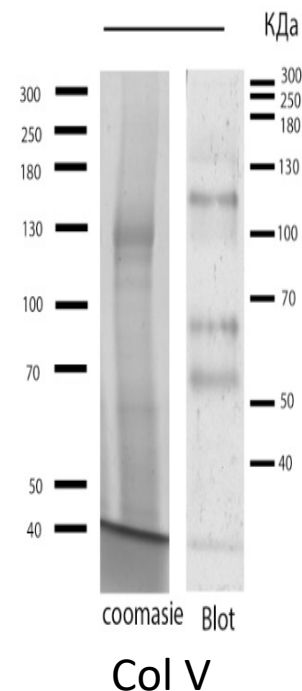
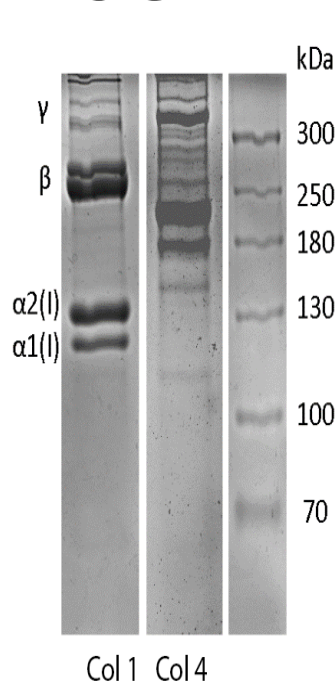
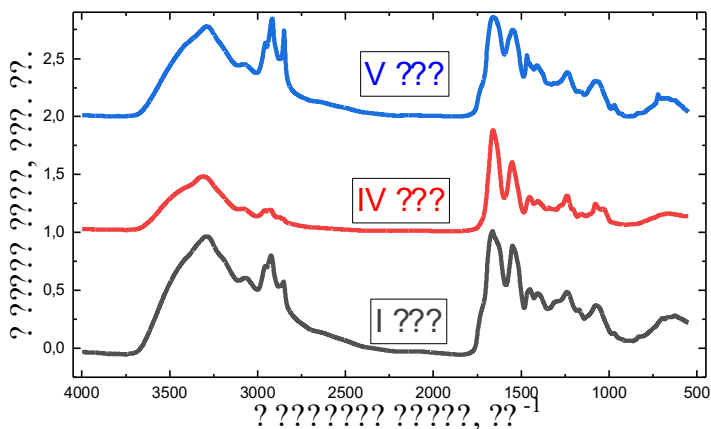
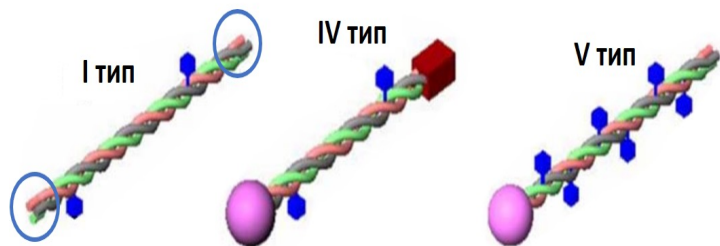


Схема ферментативной экстракции коллагена V типа



Характеристика коллагена I, IV и V типов



	Боковые цепи (1614 см ⁻¹), %	Тройная спираль (1638 см ⁻¹), %	α-спираль (1658 см ⁻¹), %	β-лист (1625, 1679, 1701 см ⁻¹), %	β-поворот (1668 и 1691 см ⁻¹), %
I тип	5.7±0.5	13.5±1.3	22.9±1.3	17.8±1.1	23.8±1.7
IV тип	2.1±0.3	21.0±1.6	15.6±2.7	22.1±1.1	30.4±0.4
V тип	3.2±0.4	15.9±2.3	16.2±2.1	19.6±1.4	35.2±3.0

Фибриллообразование коллагена

Коллаген

α -цепи

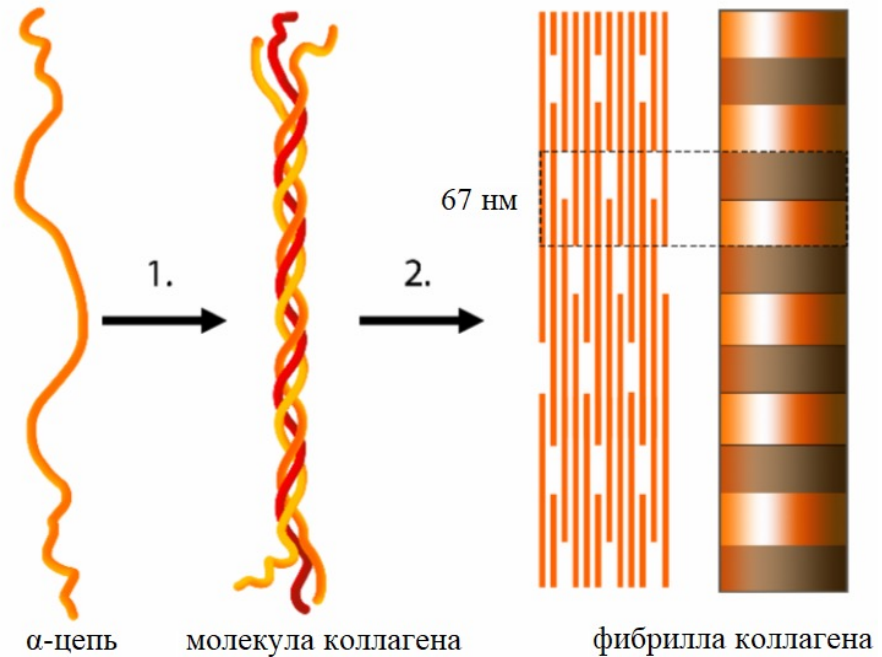


Аминокислотные соединения

Gly(Глицин)
Pro(Пролин)
Hud(Гидроксипролин)



Процесс образования коллагеновой фибриллы



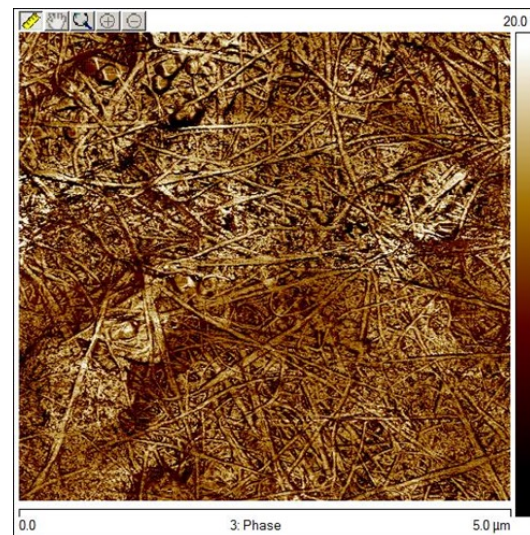
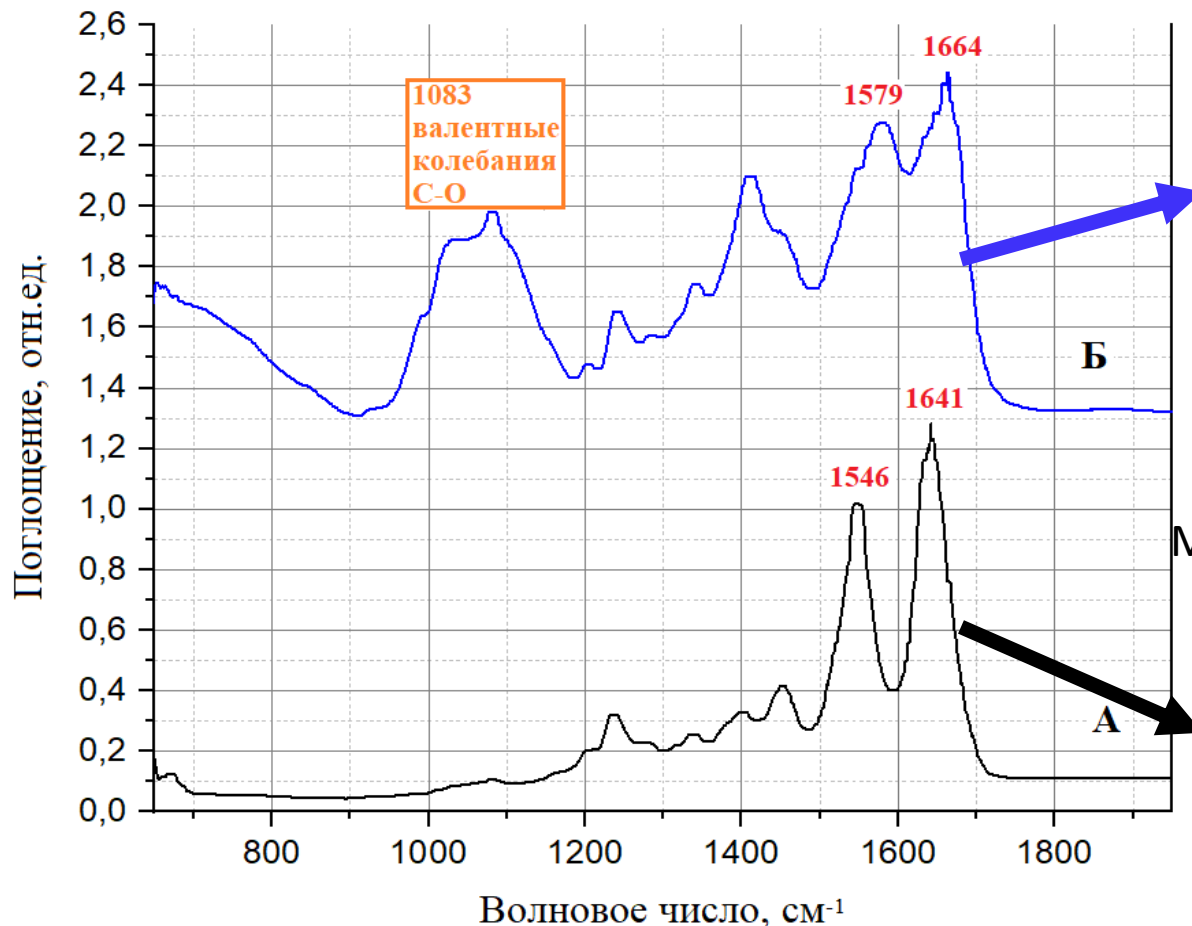
α -цепь

молекула коллагена

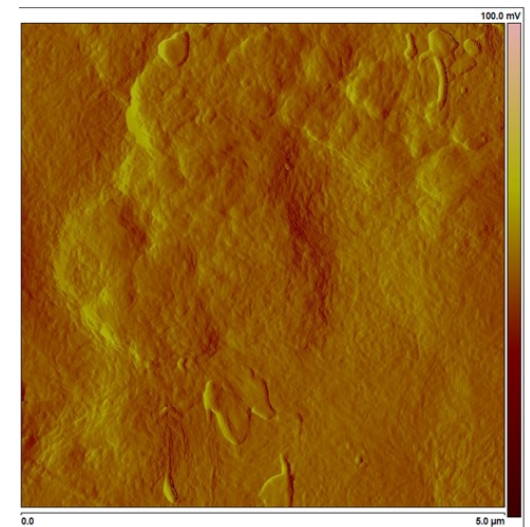
фибрилла коллагена

Структура фибриллярного и молекулярного коллагена

Фибриллярный коллаген (АСМ)



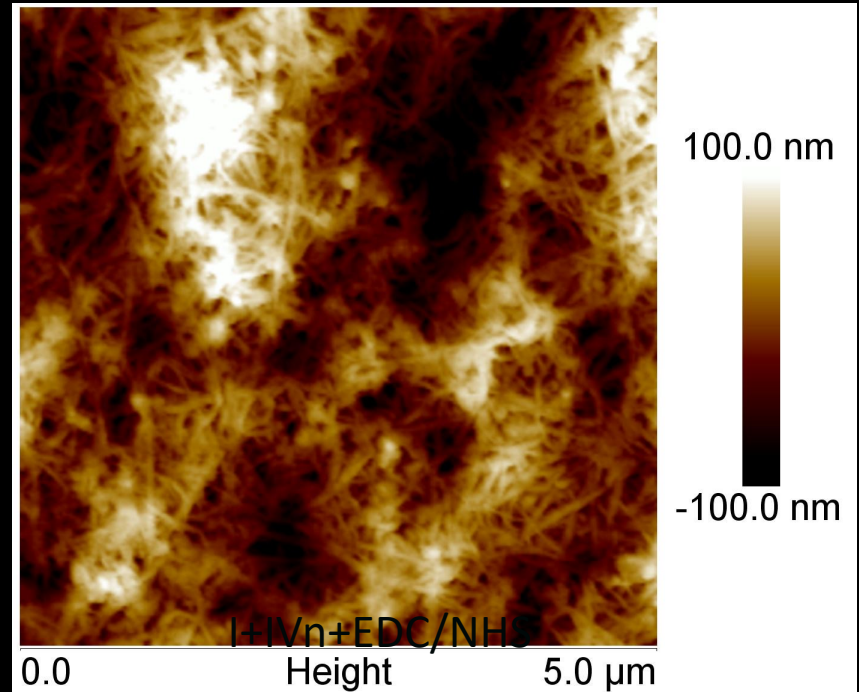
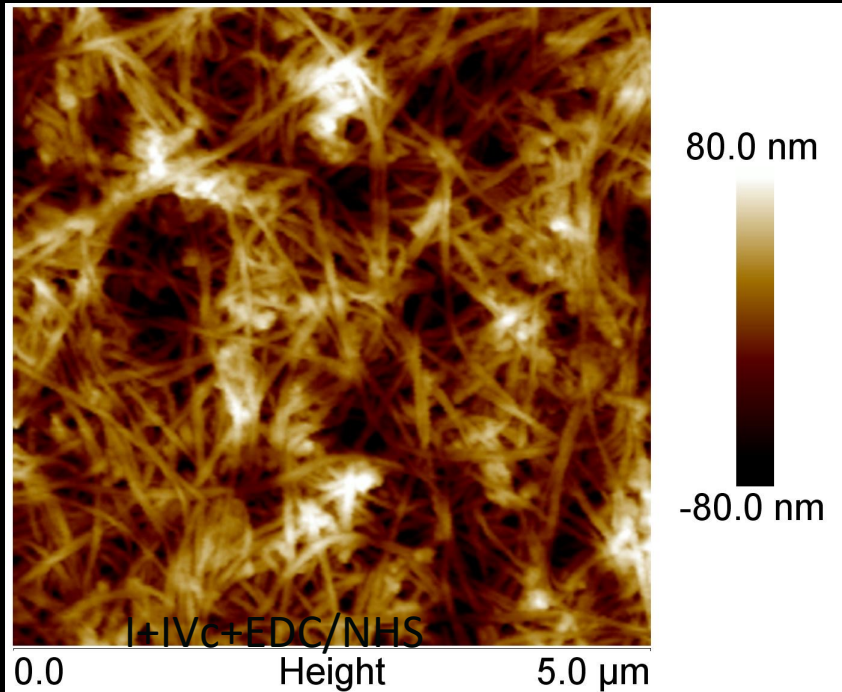
Молекулярный коллаген (АСМ)



ИК-спектры коллагена:

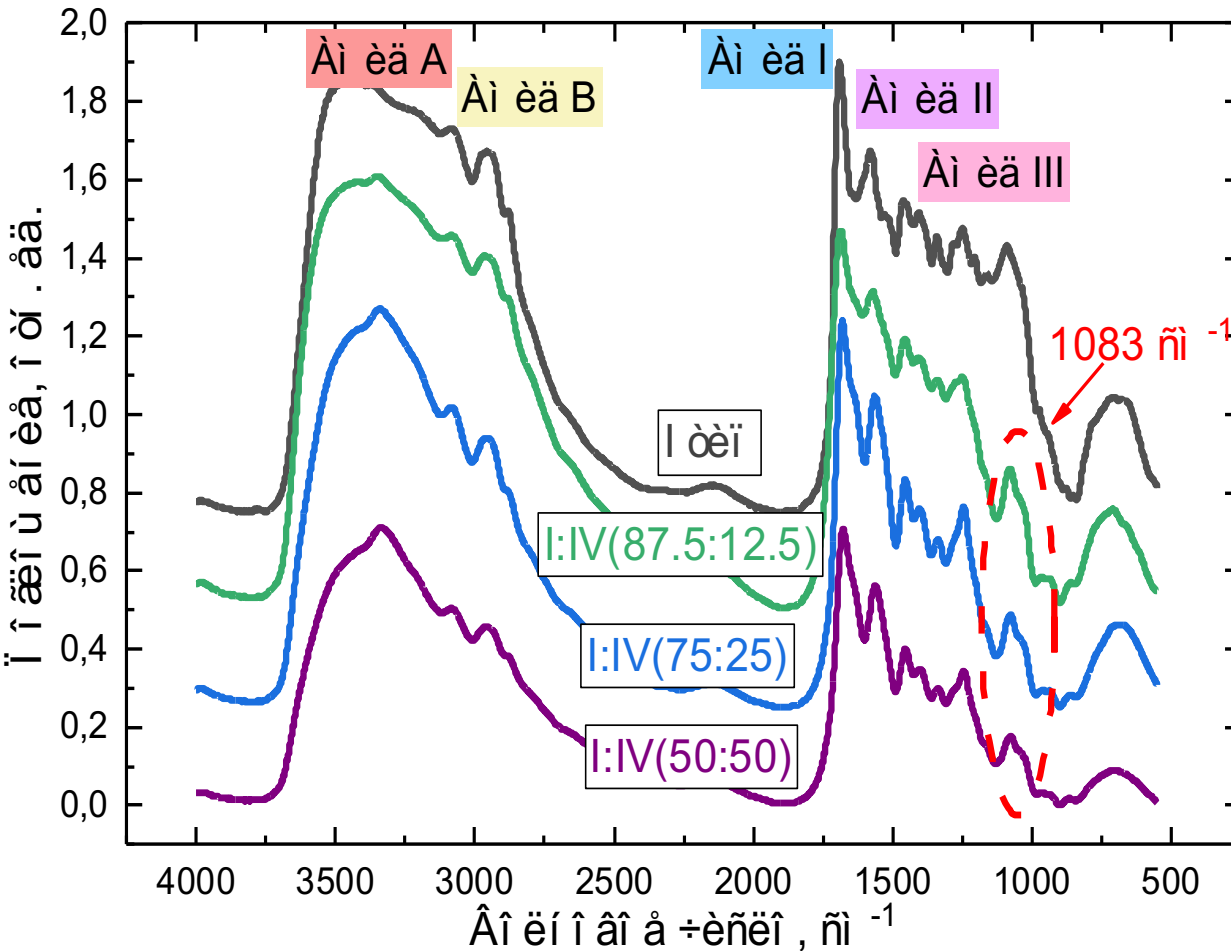
(А)-молекулярный, (Б)-фибриллярный

Атомно-силовая микроскопия КОМПОЗИТНЫХ матриц на основе коллагенов I и IV типов



ИК спектры смеси I и IV типов

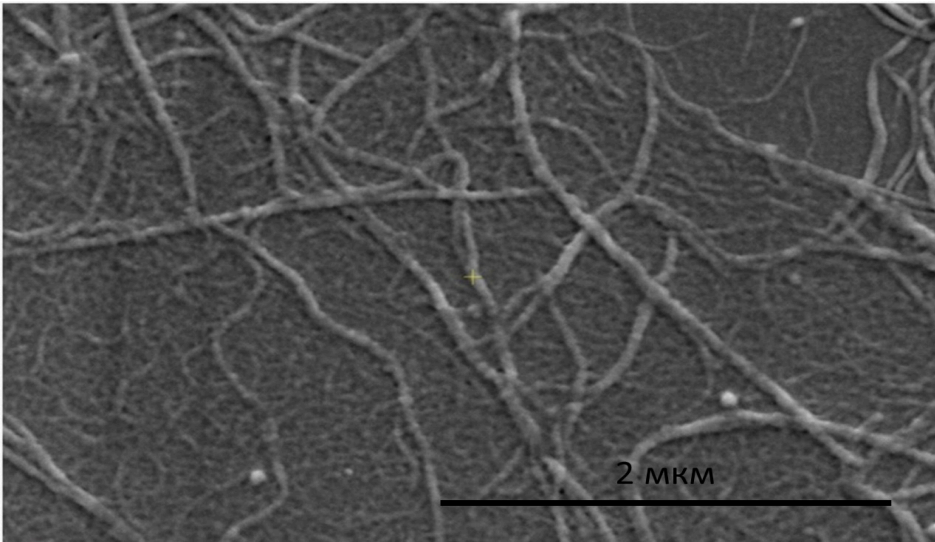
коллагена



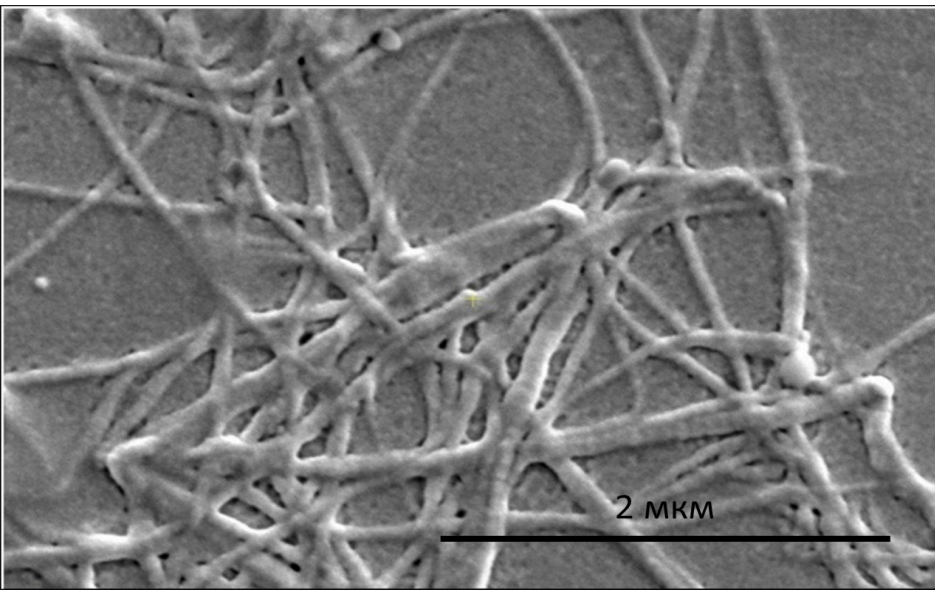
- I тип содержится в коже, сухожилиях, костях, артериях, плаценте и роговице глаза.
- IV тип является основой для базальных мембран.
- Совокупность I и IV типов – кожа.

Смеси коллагенов	I тип, %	IV тип, %
50:50	50	50
75:25	75	25
87.5:12.5	87.5	12.5

Сканирующая электронная микроскопия



Фибриллы коллагена I
типа и коллагена V типа

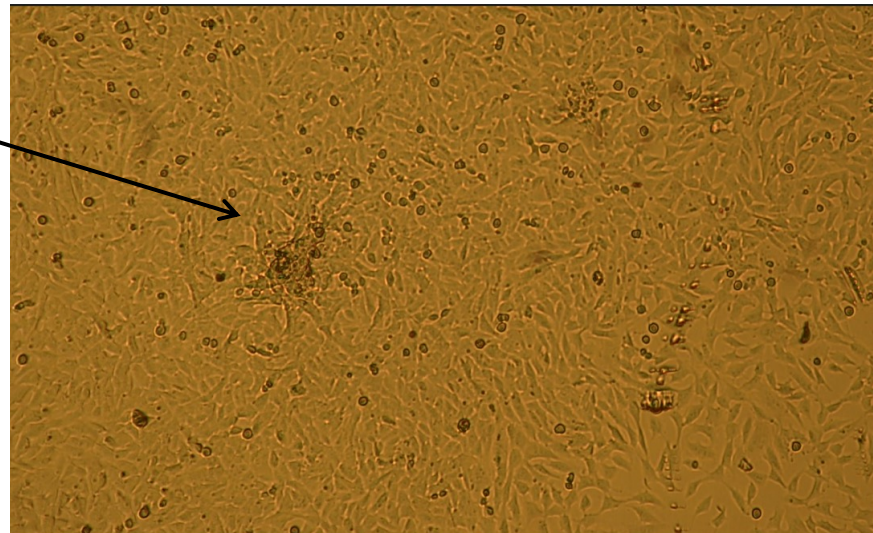


Фибриллы коллагена I типа

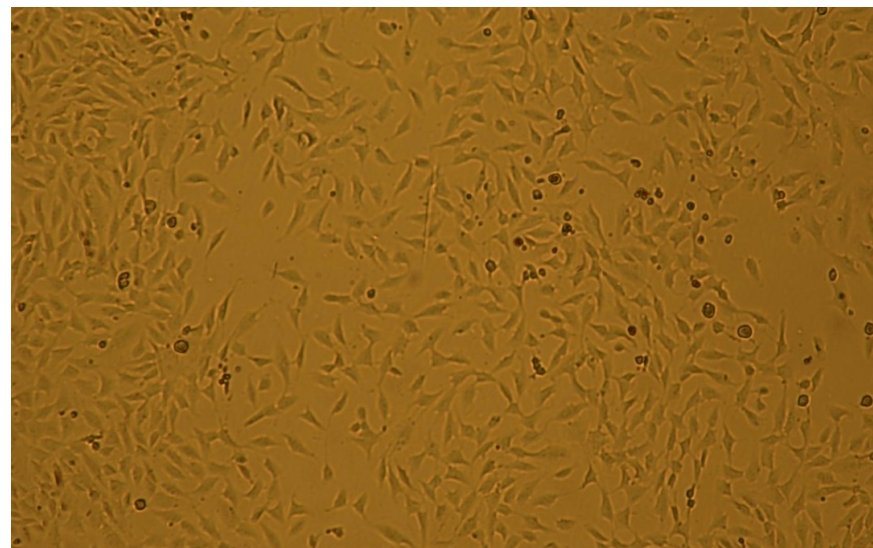
Анализ морфологии клеток линии SIRC при росте на композитных коллагеновых скаффолдах

Агрегаты
клеток

Клетки линии SIRC на матрице,
состоящей из коллагена I типа и
коллагена V в массовом соотношении
50% (увеличение 8х)

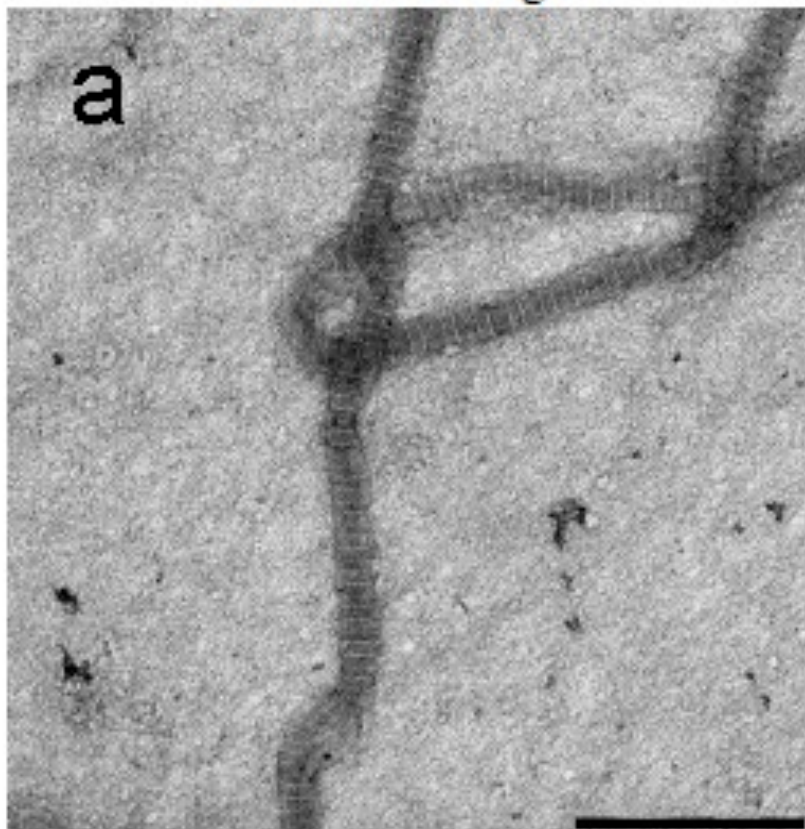


Клетки линии SIRC на матрице,
состоящей из коллагена I типа
(увеличение 8х)

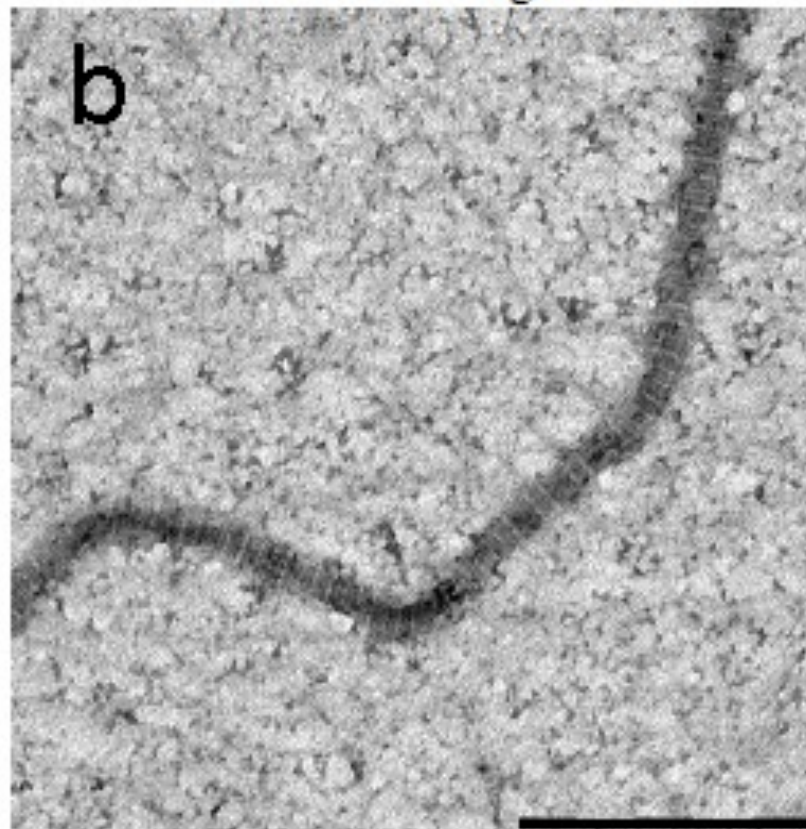


ТЭМ фибрилл на основе коллагена I и фибронектина

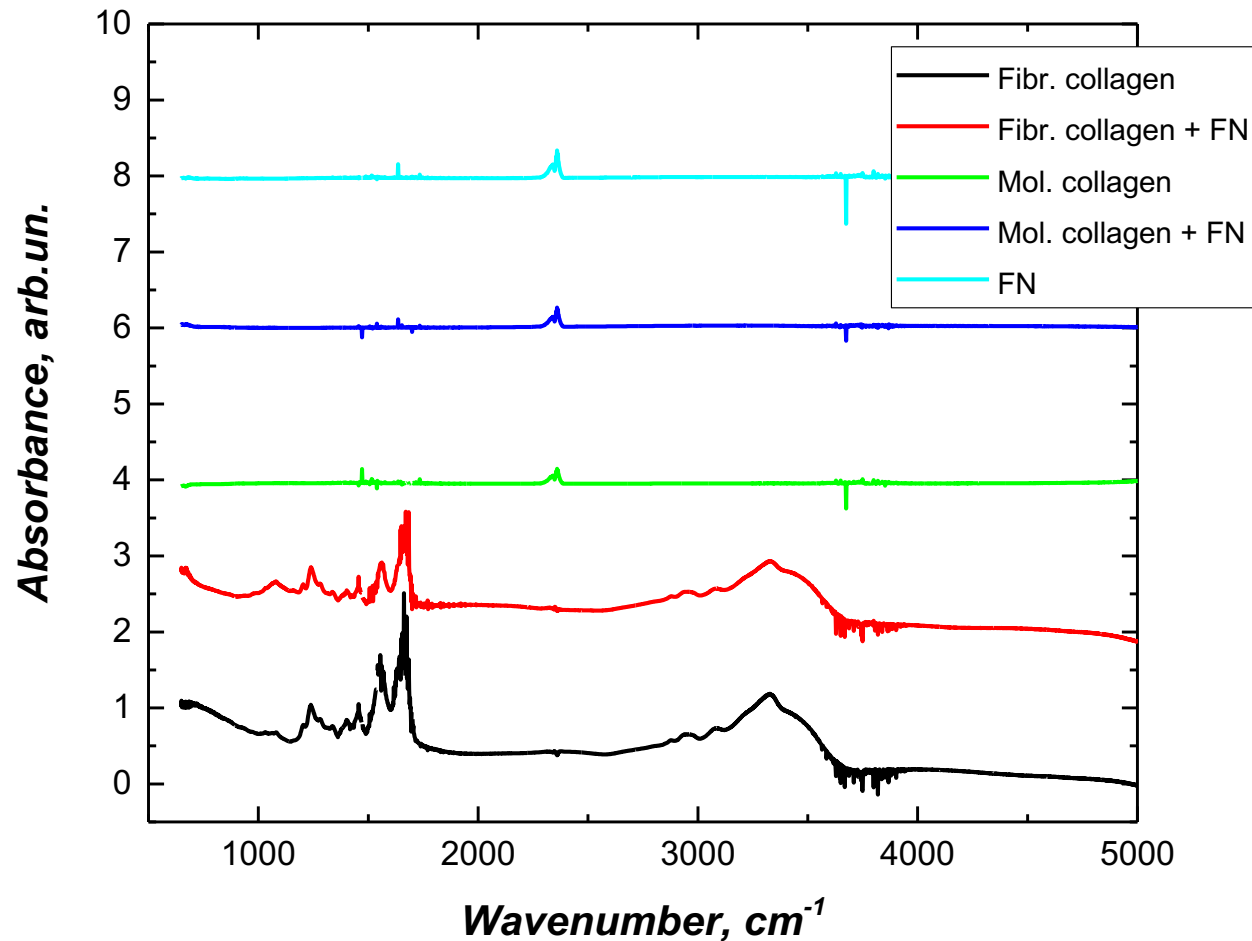
Fibrillar collagen



Fibrillar collagen / FN



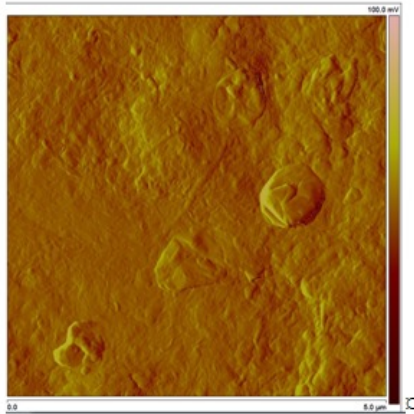
ИК спектры коллагена I и фибронектина



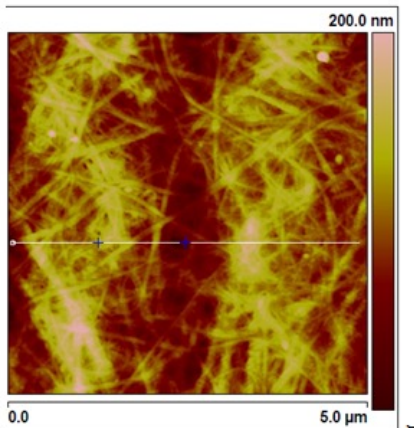
Поверхностный анализ композита на основе коллагена и фибронектина

АСМ

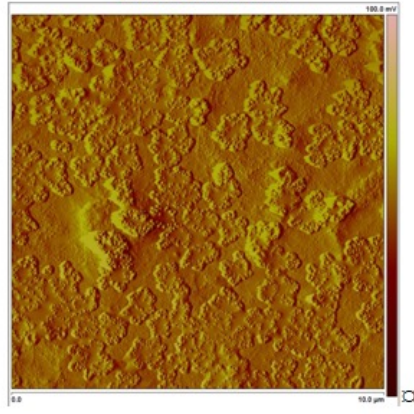
Молекулярный коллаген □



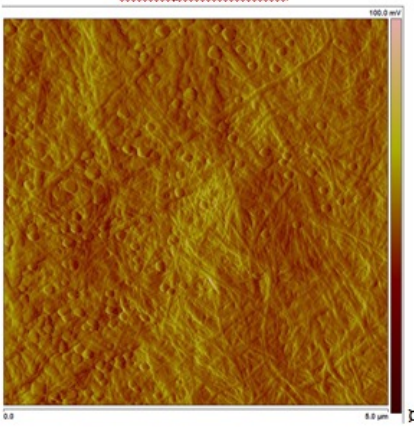
Фибриллярный коллаген □



Молекулярный коллаген +
Фибронектин □

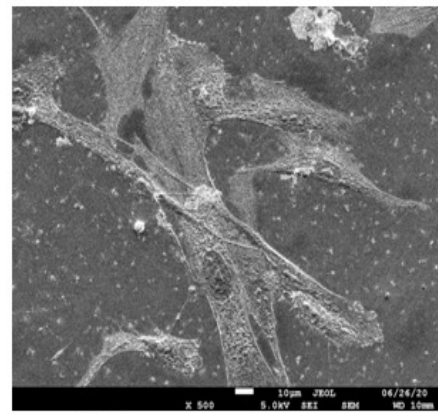


Фибриллярный коллаген +
Фибронектин □

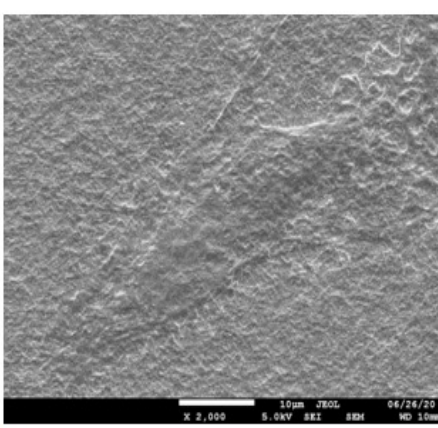


СЭМ

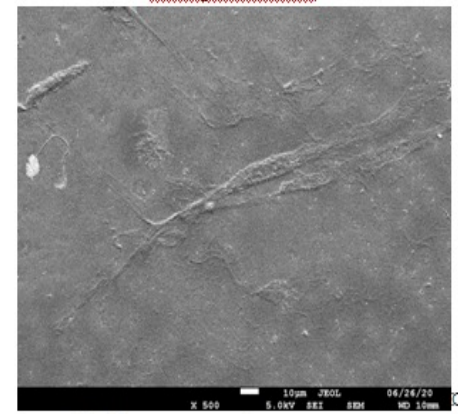
Молекулярный коллаген □



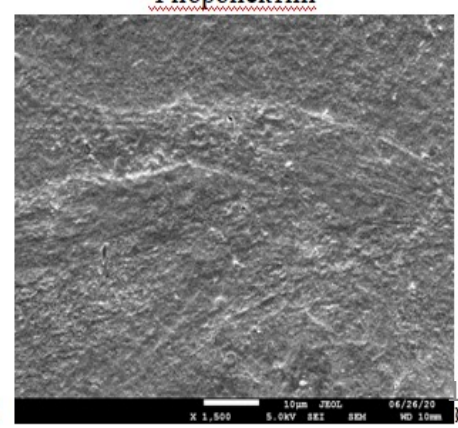
Фибриллярный коллаген □



Молекулярный коллаген +
Фибронектин □

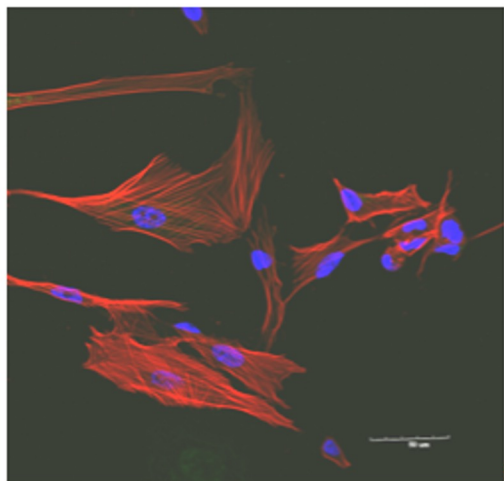


Фибриллярный коллаген +
Фибронектин □



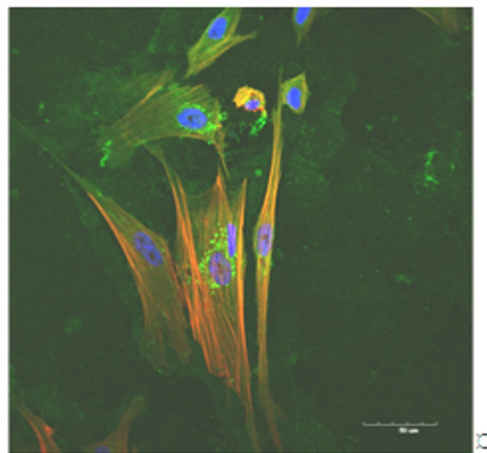
Конфокальная микроскопия клеток на коллагеновых субстратах

Контроль



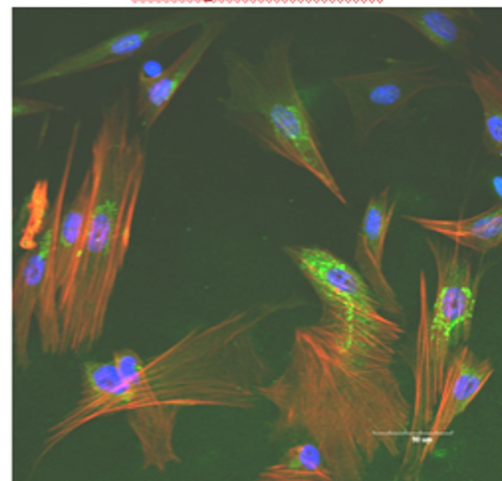
Фибронектин

Молекулярный коллаген

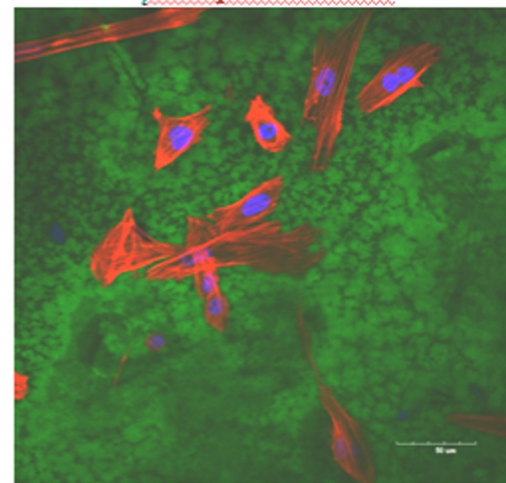
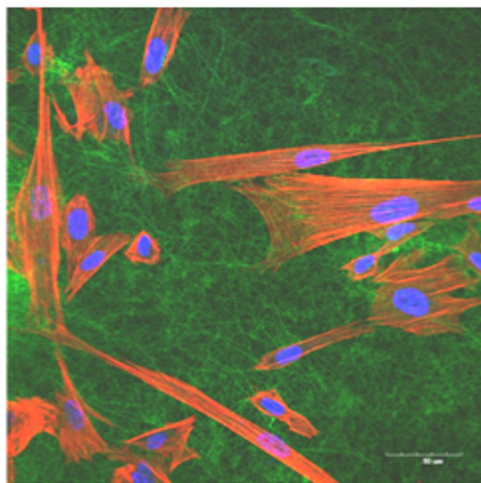
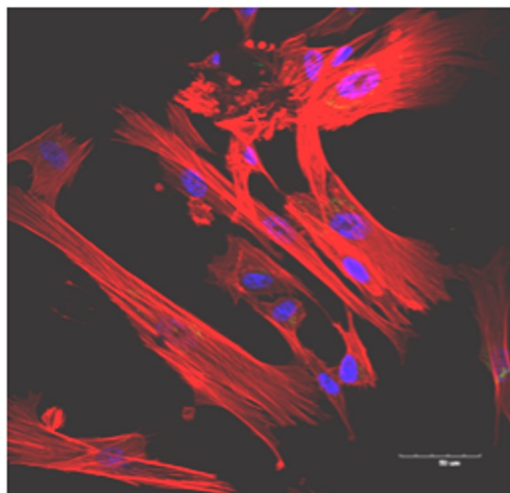


Фибриллярный коллаген

Молекулярный коллаген
Фибронектина



Фибриллярный коллаген
Фибронектина



ВЫВОДЫ

Коллаген IV типа не влияет на процесс фибриллообразования коллагеноа I типа;

Коллагена V типа в составе гибридных фибрилл с коллагеном I типа способствует уменьшению диаметра.

Фибронектин не влияет на диаметр коллагеновых фибрилл I типа.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (Грант № 21-74-20120)

Спасибо за внимание!