

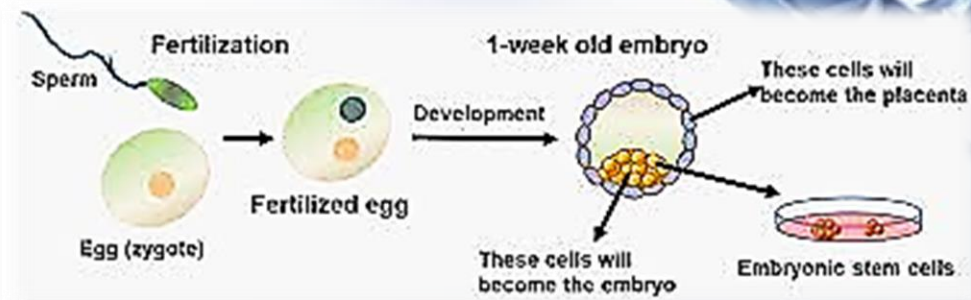


Кафедра гистологии, цитологии
и эмбриологии



Эмбриональные и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки

профессор
А.В.Павлов



❖ Иерархия системы стволовых клеток



- **Источник получения ЭСК:**
внутренняя клеточная масса
(эмбриобласт) бластулы эмбриона

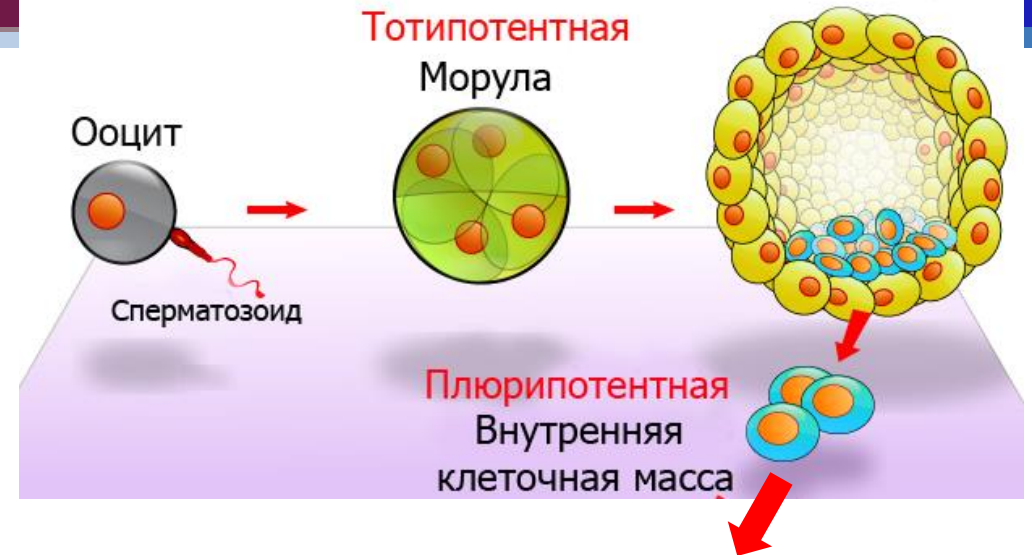
▪ Антигенная идентификация:

- минимальное количество экспрессируемых молекул на цитолемме
- наличие на поверхности маркеров **SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-81, TRA-1-60**

▪ Свойства ЭСК:

- **плюрипотентность** – способность дифференцироваться в любой вид клеток организма
- способность к **самоподдержанию**
- способность к **бесконечно большому количеству клеточных делений**
- **хоуминг** – способность при введении в организм находить зону повреждения и под влиянием факторов микроокружения вступать на путь дифференцировки

▪ Эмбриональные СК



Мультипотентные СК зародышевых листков

▪ СК взрослого организма (соматические СК)

- Гемопоэтические
- Стромальные СК костного мозга

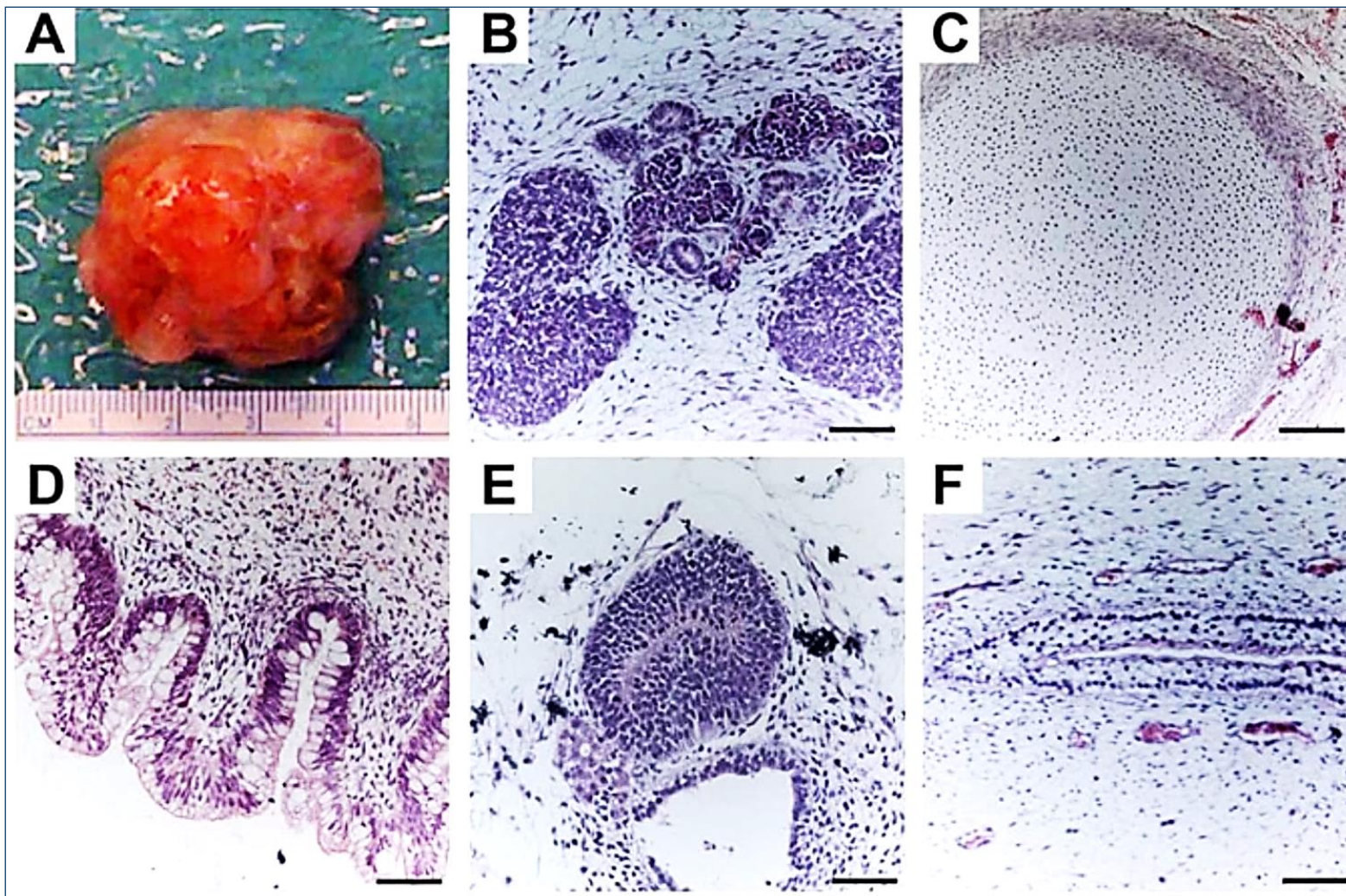
• Тканеспецифичные

- эпидермальные СК
- эпителиальные СК пищеварительного тракта
- нейрональные СК (НСК)
- СК скелетной мускулатуры

❖ Экспериментальное подтверждение плюрипотентности ЭСК

- **Индукция формирования тератомы** путем пересадки культивируемых ЭСК под капсулу почки иммунодефицитным мышам

- **А - тератома** - доброкачественная опухоль, состоящая из тканевых структур, сформировавшихся из всех 3 зародышевых листков
- **В** - почечные канальцы и клубочки
- **С** - хрящ, окруженный клетками мезенхимы
- **Д** - железистая кишечная структура
- **Е** - нервная трубка
- **Ф** - примитивный плоский эпителий



❖ Культивирование эмбриональных стволовых клеток

- Зародыш диспергируется на отдельные клетки



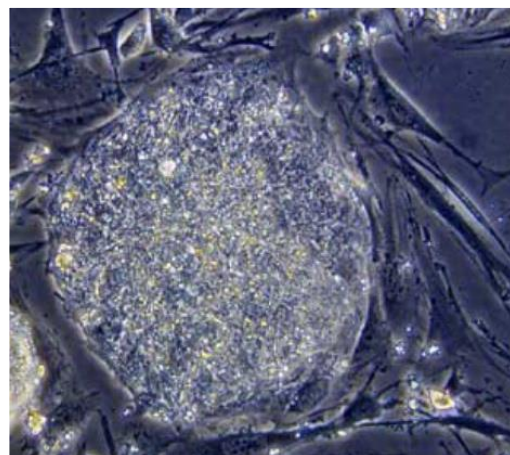
- Клетки эмбриобласта метятся моноклональными антителами с флуоресцентной меткой и изолируются



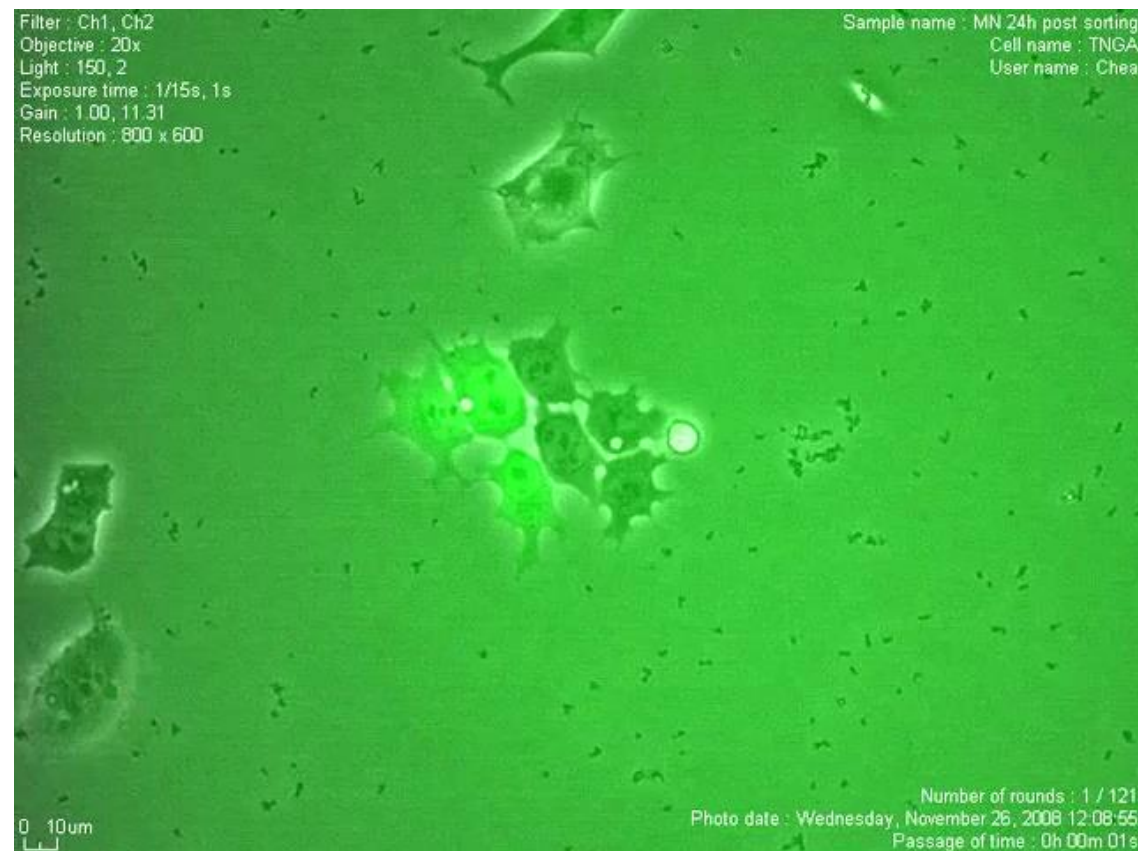
- Эмбриобласт диспергируется на отдельные клетки с помощью ферментов



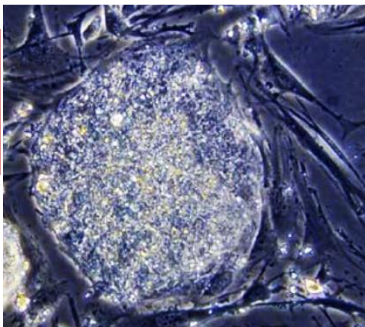
- **Культивирование в специальной среде над подложкой (фидером) - монослоем эмбриональных фибробластов** (фактор микроокружения, обеспечивающий сохранение плюрипотентности ЭСК)



- **Формирование компактных колоний**



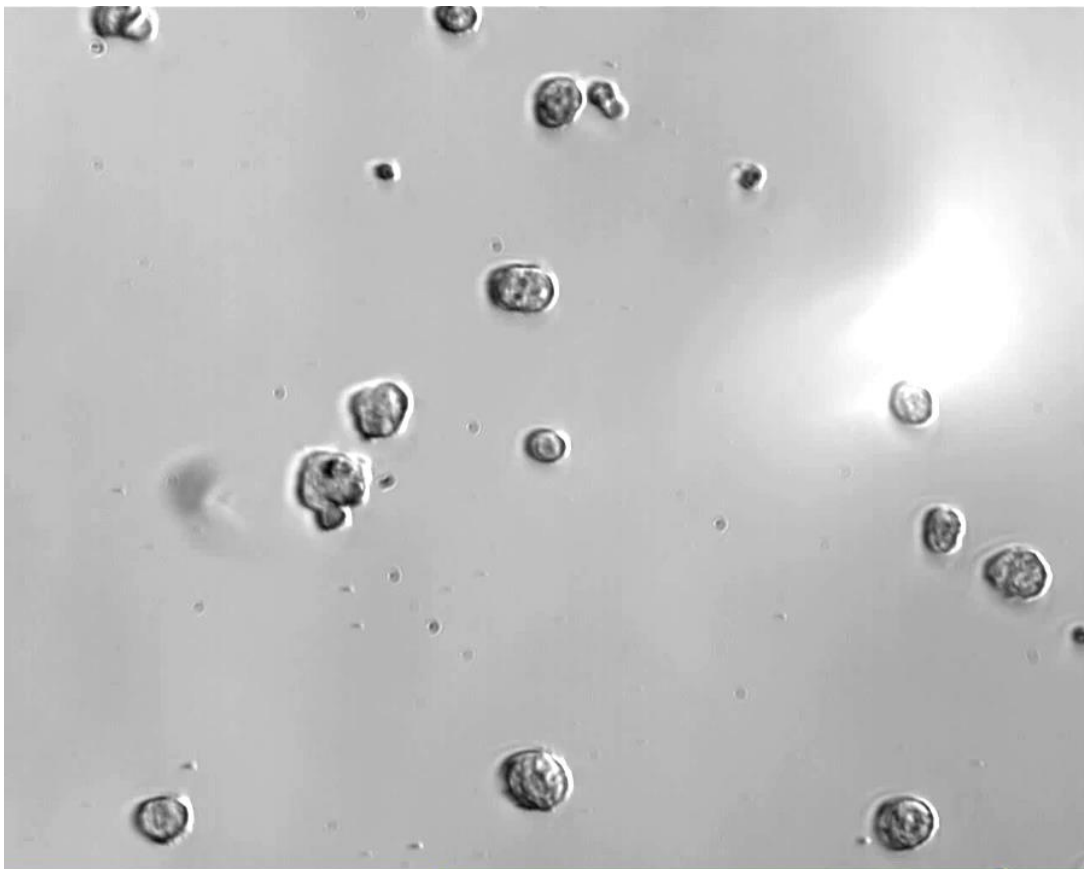
- **В присутствии регулирующих факторов – дифференцировка клеток, мигрирующих из колонии**



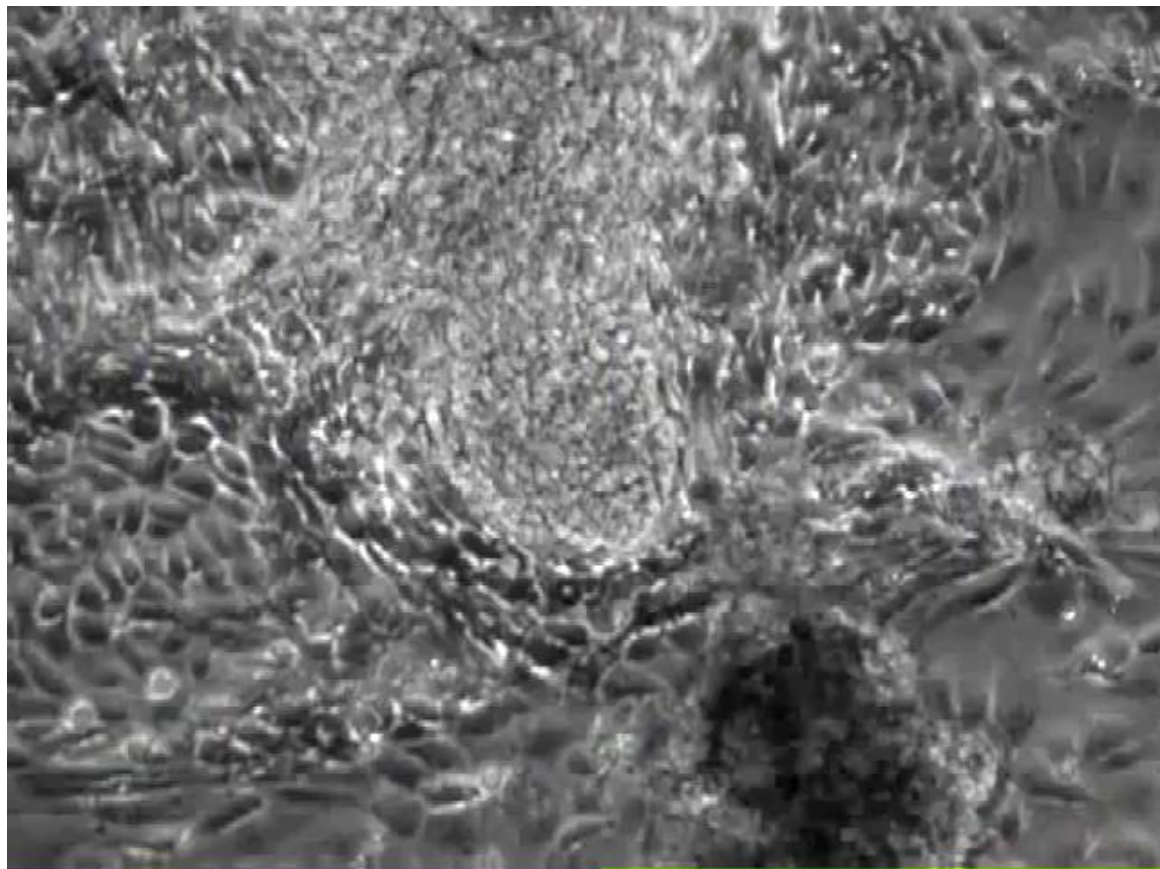
❖ Дифференцировка ЭКС в культуре

- В присутствии регулирующих факторов – дифференцировка клеток, мигрирующих из колонии

▪ Нейральная дифференцировка

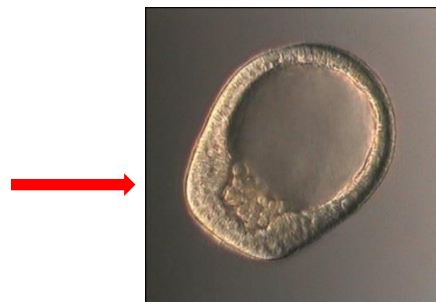


▪ Кардиомиоциты

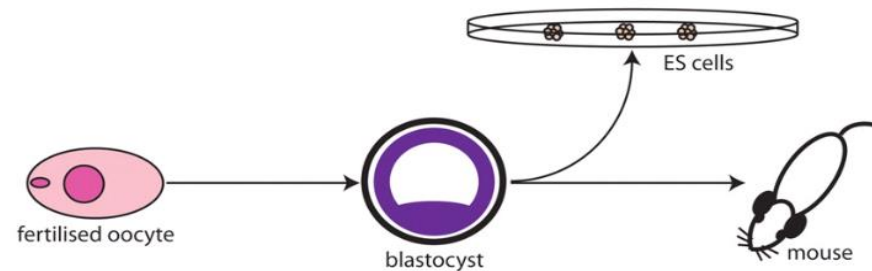


❖ Методы получения плюрипотентных СК

1. Культивирование клеток эмбриобласта в ходе нормального развития эмбриона

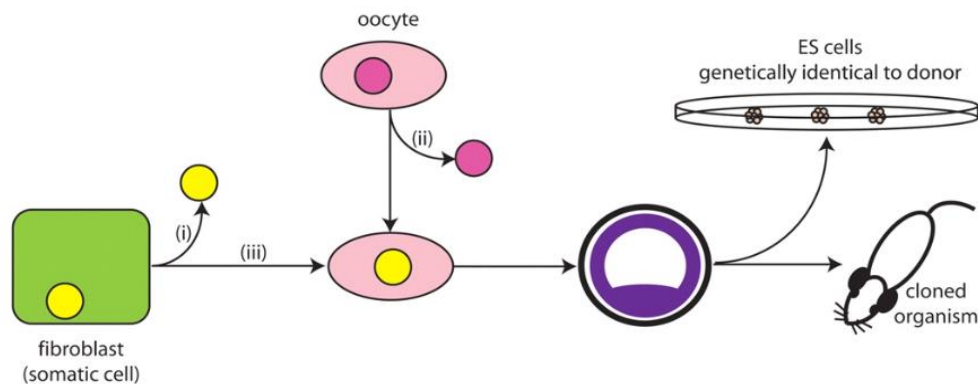


A: normal development and ES cell isolation



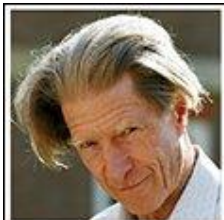
2. Культивирование клеток эмбриобласта после переноса ядер соматических клеток в энуклеированный овоцит

B: somatic cell nuclear transfer



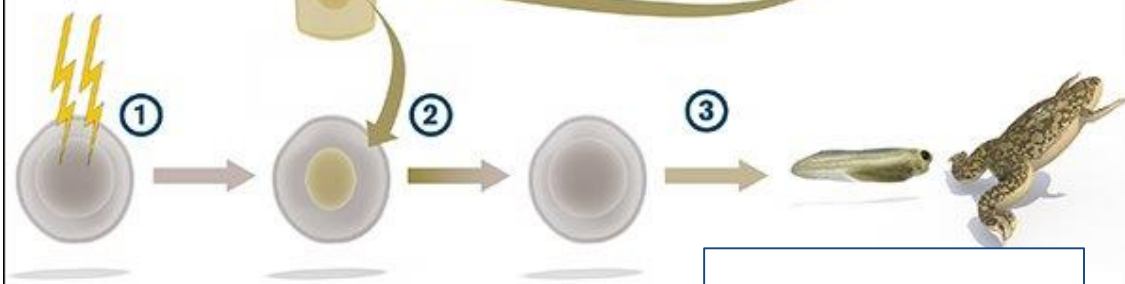
ЭСК
генетически
идентичны
клеткам донора

❖ Перенос ядер соматических клеток: путь к клонированию организмов



John B. Gurdon

- Развитие шпорцевых лягушек после пересадки в энуклеированный овоцит ядра кишечной клетки головастика –альбиносов (1962)



- Нобелевская премия по физиологии и медицине 2012 г



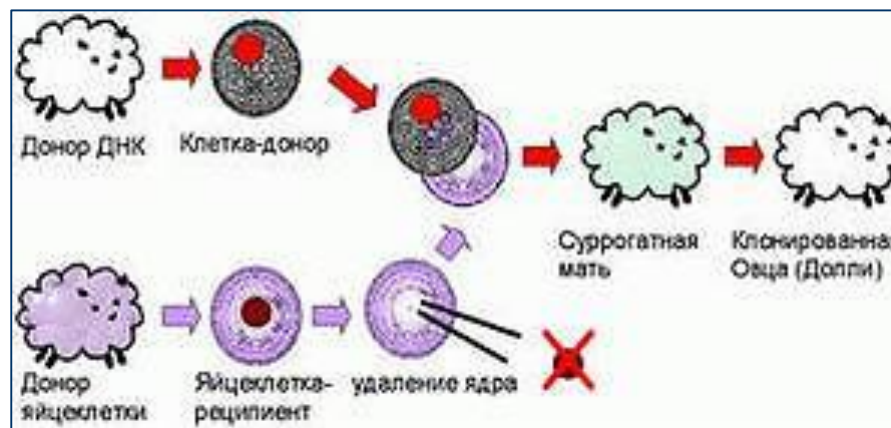
- **Овца Долли** – первое клонированное млекопитающее (1996)



Ian Wilmut

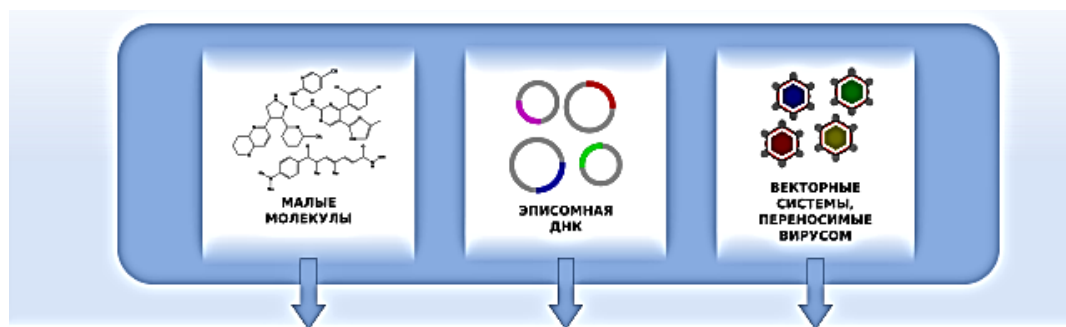


Dolly Parton

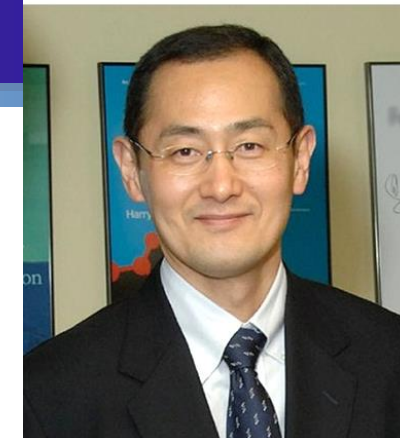


❖ Методы получения плюрипотентных СК

3. Перепрограммирование дифференцированных соматических клеток в индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (iPS)

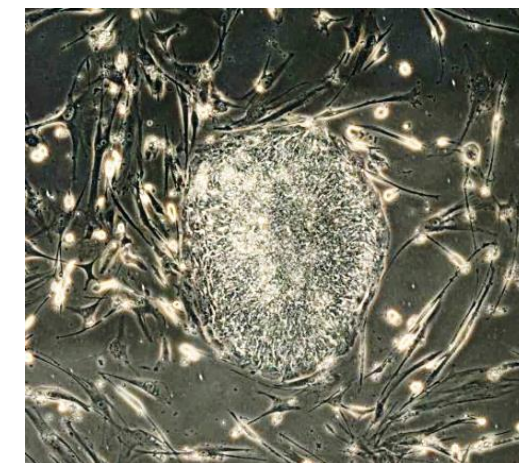
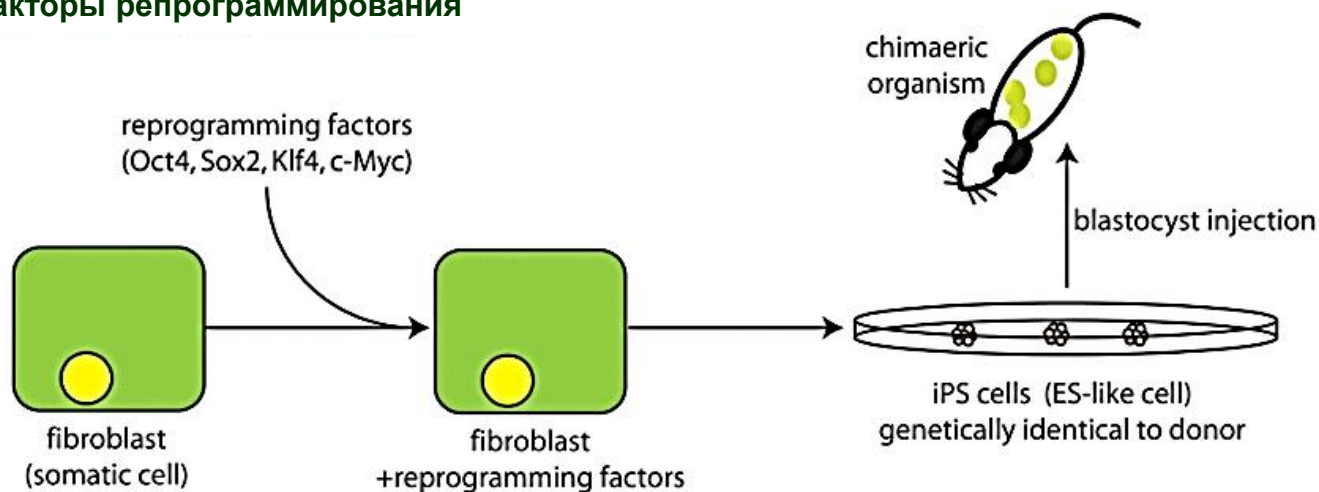


- Нобелевская премия по физиологии и медицине 2012 г



iPS cells

факторы репрограммирования



- Формирование компактных колоний, аналогичных колониям ЭСК

❖ Риски медицинского применения плюрипотентных стволовых клеток

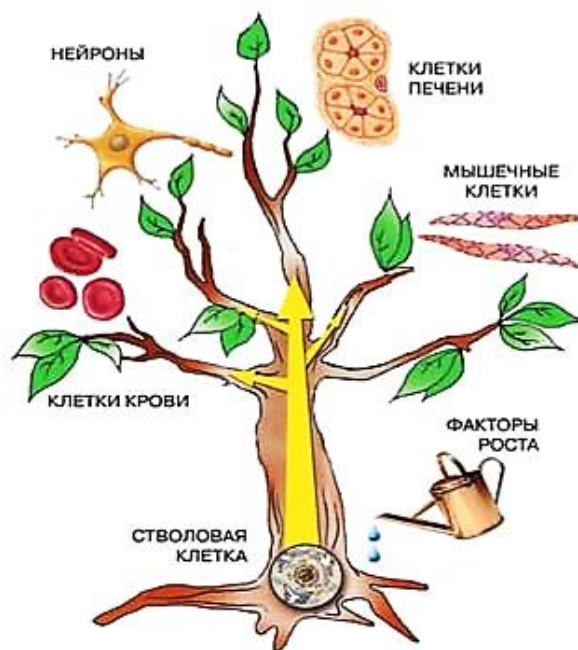




❖ Проблемы и перспективы применения плюрипотентных СК

▪ Неопределенность юридического и биоэтического статуса ранних зародышей:

- Позиции биоэтики и религии, утверждающих **статус новой жизни и личности с момента зачатия и появления зиготы** идут вразрез с законодательством, утверждающим **права новой жизни лишь с момента рождения**
- Границы допустимости экспериментов с эмбриональными клетками человека (например, создание химерных эмбрионов, содержащих человеческие и животные клетки)



▪ Биомедицинские исследования:

- Изучение механизмов контроля клеточной дифференцировки. Разработка методов обеспечения безопасной дифференцировки СК при их введении в организм
- Разработка клеточных систем для изучения действия лекарственных препаратов и токсических агентов
- Моделирование генетических заболеваний и разработка методов их коррекции

▪ Регенеративная медицина:

- Возможность получения неограниченного количества стволовых клеток
- Клеточный материал для биоинженерии и трансплантологии
- Перспективы клинического применения – клеточная терапия (дегенеративные поражения сетчатки, болезни поджелудочной железы, травмы спинного мозга, инфаркт миокарда)