

## ОЦЕНКА ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА В МИКРОГЛИАЛЬНОМ НАПРАВЛЕНИИ ПО ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ TMEM119 И P2RY12

Мантивода В.Э., Лукша В.И., Антонец Н.Г., Гончаров А.Е., Дубовская Т.Г., Малашевская А.О.

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

**Введение.** Для изучения функциональной активности микроглии при различных заболеваниях ЦНС актуальной задачей является создание клеточной *in vitro* модели индуцированных микроглиеподобных клеток (иМГ-клетки). К наиболее специфичным микроглиальным маркерам относятся пуриnergический рецептор P2RY12 и трансмембранный белок TMEM119, которые не экспрессируются моноцитами/макрофагами или иными иммунными клетками миелоидного происхождения, а также астроцитами и олигодендроцитами. Цель данной работы – оценка дифференцировочного потенциала моноцитов человека в микроглиальном направлении по экспрессии маркеров TMEM119 и P2RY12.

**Материалы и методы исследования.** Моноциты получали методом иммуномагнитной сепарации из фракции мононуклеаров, выделенных дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности  $\rho = 1077 \text{ г/см}^3$ . CD14<sup>+</sup> моноциты засевали на лунки 12-луночного планшета в концентрации 500 тыс./см<sup>2</sup> в среде RPMI-1640 с IL-34 (100 нг/мл), GM-CSF (10 нг/мл) для дифференцировки в иМГ-клетки или с IL-4 (50 нг/мл), GM-CSF (100 нг/мл) для дифференцировки в дендритные клетки (ДК) (группа сравнения). Оценку экспрессии белка P2RY12 осуществляли методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител. Оценку экспрессии мРНК TMEM119 и P2RY12 проводили согласно [1, 2]. Данные представлены как Me(25-75%).

**Результаты.** Методом проточной цитометрии установлено, что экспрессия белка P2RY12 в культурах иМГ-клеток варьировала и выявлялась у 10,88(8,63-53,96)% клеток всей популяции ( $n = 9$ ), в культурах ДК маркер не был выявлен. Молекулярно-генетическими методами установлена экспрессия мРНК TMEM119 и P2RY12 в культурах иМГ-клеток: детектировано образование фрагментов амплификации размером 116 п. н. для TMEM119 и 108 п. н. для P2RY12, в то же время в культурах ДК мРНК анализируемых маркеров не выявлены. Во всех случаях ПЦР-фрагменты контрольного гена «домашнего хозяйства» GAPDH [1] детектировались на одном уровне.

**Заключение.** Использование цитокинов IL-34 и GM-CSF в качестве индукторов дифференцировки позволяет получать культуры иМГ-клеток из моноцитов крови человека, что подтверждается экспрессией клетками специфичных микроглиальных маркеров TMEM119 и P2RY12.

### Библиографические ссылки

1. Jiang, Zhen-Huan. Upregulation and biological function of transmembrane protein 119 in osteosarcoma / Zhen-Huan Jiang [et al.] // Experimental & Molecular Medicine. –2017. –Vol. 49, №5. – P. 329.
2. Walker, D.G. Patterns of Expression of Purinergic Receptor P2RY12, a Putative Marker for Non-Activated Microglia, in Aged and Alzheimer’s Disease Brains / D.G. Walker [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol.21, iss.2. – P.678.