

## Analiza porównawcza zdolności do wydzielania egzosomów przez ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste/stromalne w zależności od typu komórek i czynników środowiskowych

Celem niniejszego projektu jest analiza porównawcza zdolności do wydzielania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (w przypadku przedstawionego projektu egzosomów) przez mezenchymalne komórki macierzyste/stromalne (MSCs) w zależności od ich źródła pochodzenia oraz warunków środowiska hodowlanego.

MSCs wykazują właściwości regeneracyjne i immunomodulacyjne dzięki sekrecji czynników o charakterze protekcyjnym i immunomodulacyjnym. Czynniki te są przekazywane do środowiska m.in. jako egzosomy, pęcherzyki otoczone błoną, wielkości nanometrów, pełniące funkcję mediatorów w komunikacji komórka-komórka, komórka-środowisko. Egzosomy są najmniejszą frakcją pęcherzyków zewnątrzkomórkowych (*extracellular vesicles – EVs*) wydzielanych przez komórki i zawierają cytokiny, czynniki wzrostu, lipidy sygnałowe, mRNA i regulatorowe miRNA, które odgrywają istotną rolę w komunikacji międzykomórkowej. Coraz więcej dowodów wskazuje na to, że egzosomy mogą stanowić podstawę dla nowych terapii bezkomórkowych posiadając takie zalety jak brak ryzyka tworzenia się guza (dzięki brakowi możliwości podziałów) i niższa immunogenność. Zachodzi jednak pytanie, czy ilość wydzielanych egzosomów zależy od źródła komórek oraz warunków środowiska. Biorąc pod uwagę, że MSCs pozyskane z różnych źródeł różnią się znacząco profilem wydzielniczym, potencjałem proliferacyjnym, szybkością starzenia czy właściwościami angiogennymi, przewidujemy, że te zdolności korelują z ich zdolnością do wydzielania egzosomów.

W niniejszym projekcie, MSCs będą pozyskiwane z galarety Whartona, tkanki podporowej ludzkiego sznura pępowinowego (WJ-MSCs - *Wharton's jelly-derived MSCs*) oraz ludzkiej tkanki tłuszczowej (ASCs - *adipose tissue-derived MSCs* and DFAT - *dedifferentiated fat cells*). Są to dwa najczęściej wykorzystane źródła MSCs, różniące się m.in. zdolnościami do neuroprotekcji i angiogenezy. Ponadto ASCs i DFAT, dwie subpopulacje wywodzące się z tej samej tkanki, posiadają inną ekspresję genów pluripotencjalnych i inny profil wydzielniczy.

Pomimo wielu opublikowanych badań dotyczących *EVs* pozyskiwanych z MSCs, analiza porównawcza dotycząca ilości egzosomów otrzymywanych z w/w trzech subpopulacji komórek nie jest dostępna. Oprócz analizy ilościowej planujemy również określić, czy obecność wybranych czynników (BDNF, IL-2, IL-1- $\beta$ ), może wpłynąć na zwiększenie wydzielania egzosomów, a więc czy tymi czynnikami możemy kontrolować ich wydzielanie.

W niniejszym projekcie planujemy również zbadać wpływ współhodowli MSCs z uszkodzoną tkanką nerwową na ilościowe wydzielanie egzosomów. Przewidujemy, że obecność uszkodzonej tkanki będzie stymulować komórki do zwiększonego wydzielania egzosomów. Planujemy również porównać, czy efekt neuroprotekcyjny współhodowli MSCs z uszkodzoną tkanką będzie porównywalny do protekcji wywołanej jedynie obecnością egzosomów.

Otrzymane wyniki pozwolą na uzyskanie podstawowej wiedzy na temat aktywności parakrynej różnych typów MSCs oraz czynników mogących na nią wpłynąć. Pozwolą również skorelować właściwości protekcyjne z obecnością egzosomów oraz ich liczbą.