

# Иммунитет. Как защититься от защиты?

Делаем жизнь человека безопасной



РУКОВОДИТЕЛЬ:  
Вдовенко Дарья Юрьевна  
Вдовин Александр Сергеевич

УЧАСТНИКИ:  
Драгоны Оливия  
Кашин Кирилл  
Невская Анастасия  
Тараторкин Федор  
Хованская Анна

## ПРОБЛЕМА

В настоящее время популярно мнение о том, что иммунитет человека нуждается в постоянной стимуляции. Однако, в результате этого множество людей начинают страдать от аутоиммунных заболеваний и системных воспалений.

## АКТУАЛЬНОСТЬ

Механизм влияния активированных клеток на здоровые ткани и работа иммунитета в целом очень мало изучены, однако их понимание является важным элементом обеспечения безопасного существования человека.

## СУЩЕСТВУЮЩИЕ РЕШЕНИЯ

Подавление иммунных реакций – иммунная супрессия.

## ВОЗМОЖНЫЕ РЕШЕНИЯ

Изучение влияния активированных иммунных клеток на другие клетки организма, не нуждающиеся в нем, и последующий поиск возможных блокаторов этих реакций.

## ЦЕЛЬ ПРОЕКТА

Изучение влияния активированных иммунных клеток на другие клетки организма на примере эндотелия и фибробластов

## ЗАДАЧИ ПРОЕКТА

- Выделение, активация иммунных клеток и оптимизация этих процессов [CD3 – Т-клетки].
- Изучение влияния активированных Т-клеток на клетки эндотелия сосудов [сердечные микроваскулярные клетки и клетки аорты].
- Изучение влияния активированных Т-клеток на фибробласты [кожные и лёгочные].

## МЕТОДЫ

- Проточная цитофлуориметрия [FACS]
- Иммуноферментный анализ [ELISA]
- Флуоресцентная микроскопия
- Искусственная активация клеток и ведение совместных культур

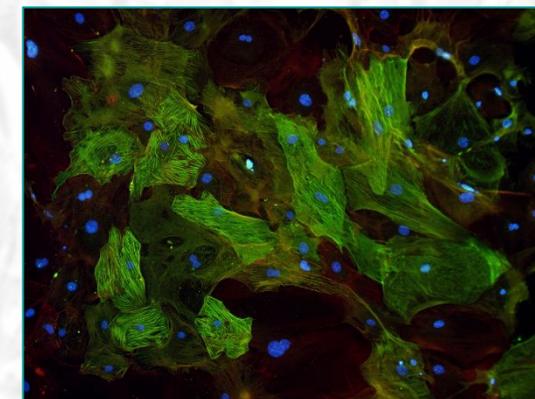
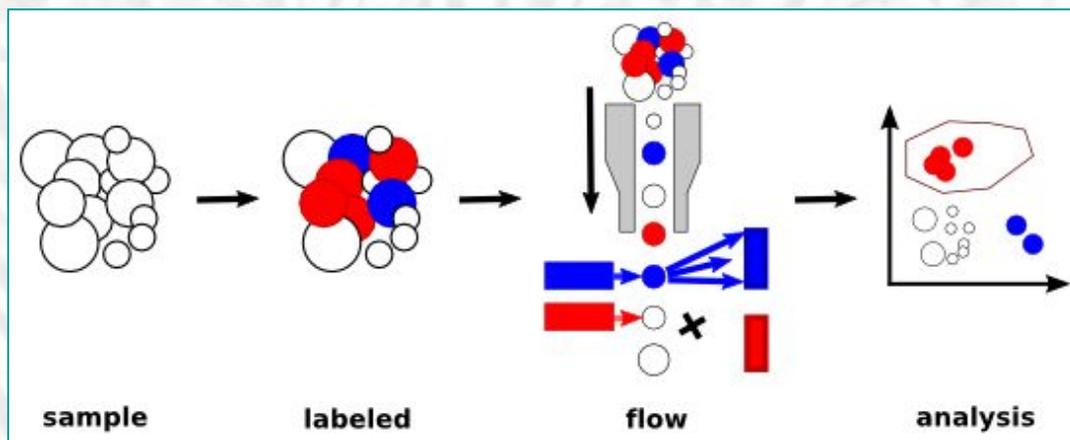


ELISA

## МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ



FACS



Флуорисцентная  
микроскопия

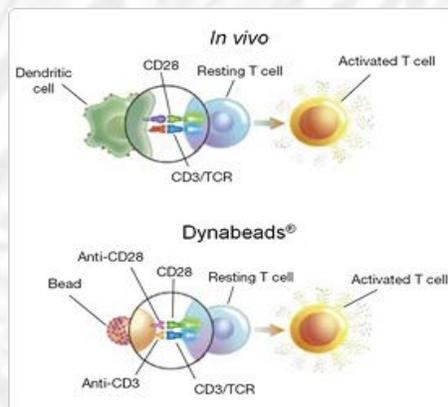


# ОСНОВНАЯ СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Т-клетки  
человека

MACS

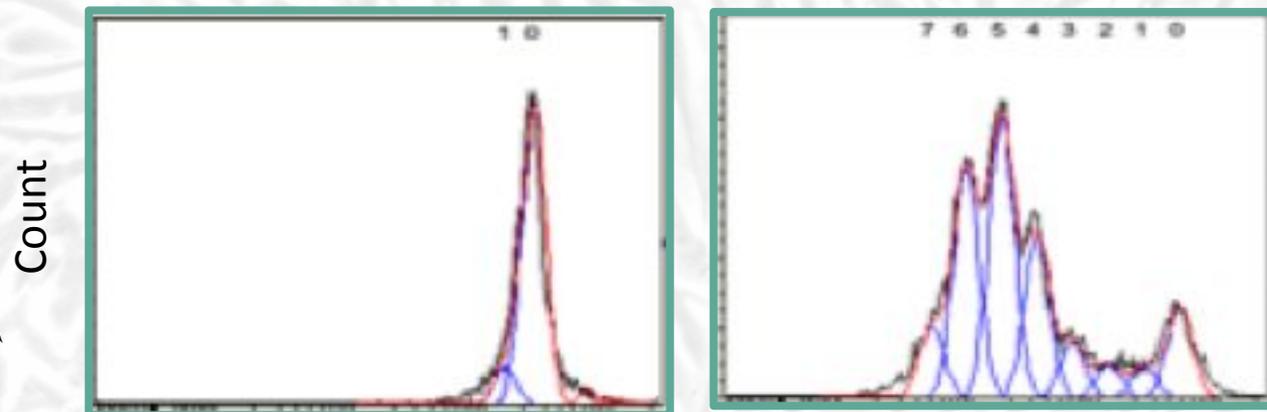
CD8<sup>+</sup> Т-клетки



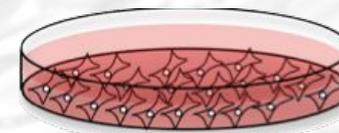
Активация Dynabeads

CD4<sup>+</sup> Т-клетки

Проверка пролиферации  
(CFSE)



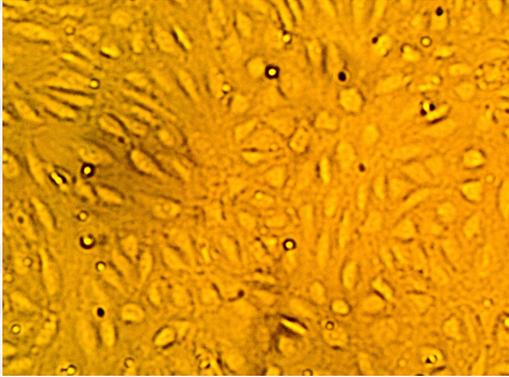
FITC (CFSE)



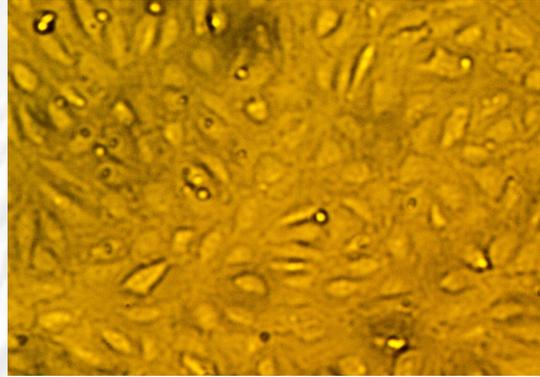
Культуры клеток  
человека

# СВЕТОВАЯ МИКРОСКОПИЯ

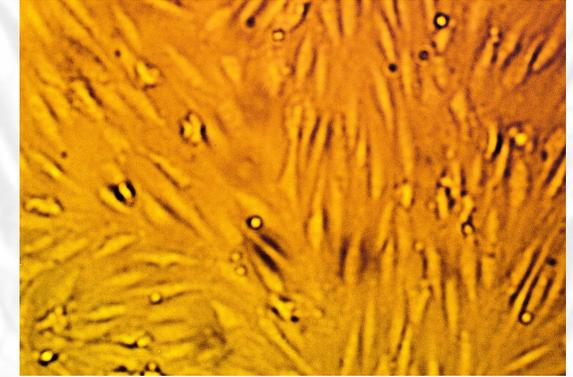
Анализ морфологии клеток через 24 часа



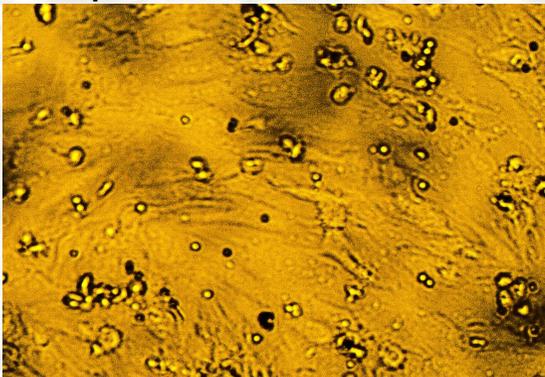
Отрицательный контроль



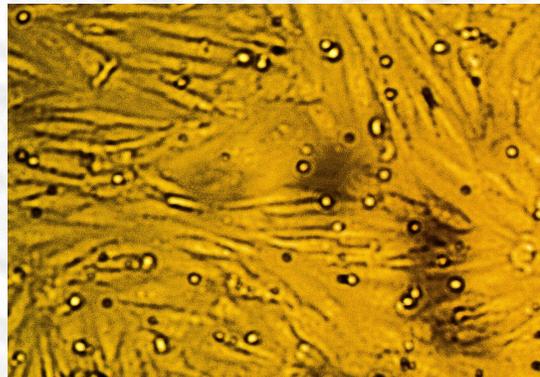
Контроль с бидсами



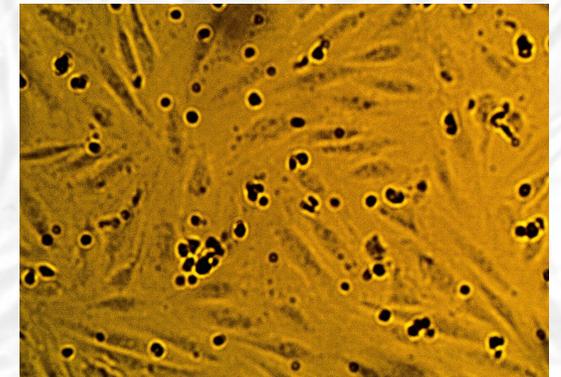
Положительный контроль с TNFα



Клетки с CD4



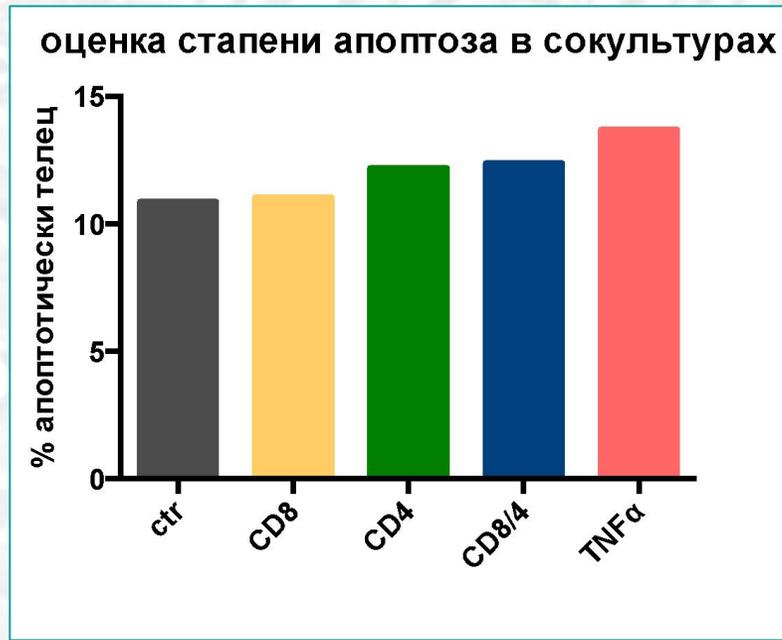
Клетки с CD8



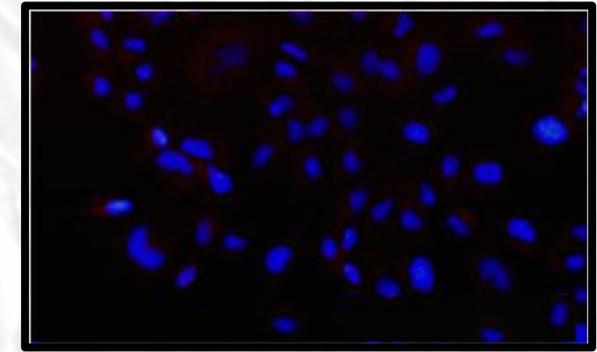
Клетки с CD4 и CD8

## MitoSOX - анализ стресса в клетках эндотелия

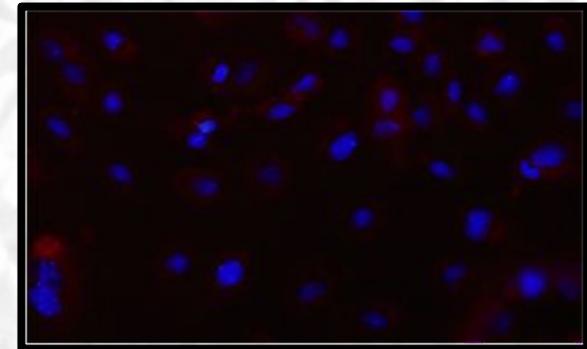
MitoSOX – вещество, которое при взаимодействии с супероксидом [перекись водорода] меняет свой цвет на красный. Клетки, которые стрессуются, выделяют именно такой вид оксида, поэтому с помощью MitoSOX-а можно регистрировать стресс клеток.



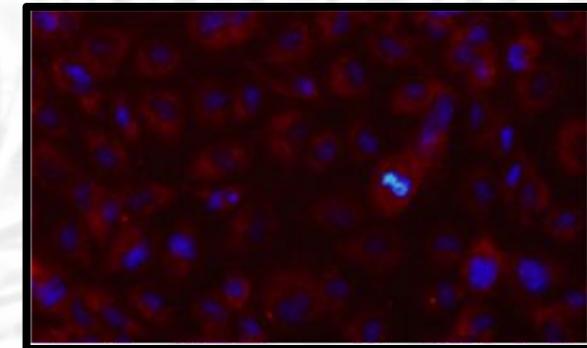
Окрашивание hEMVECs  
blue – DAPI  
red - MitoSOX



ctr

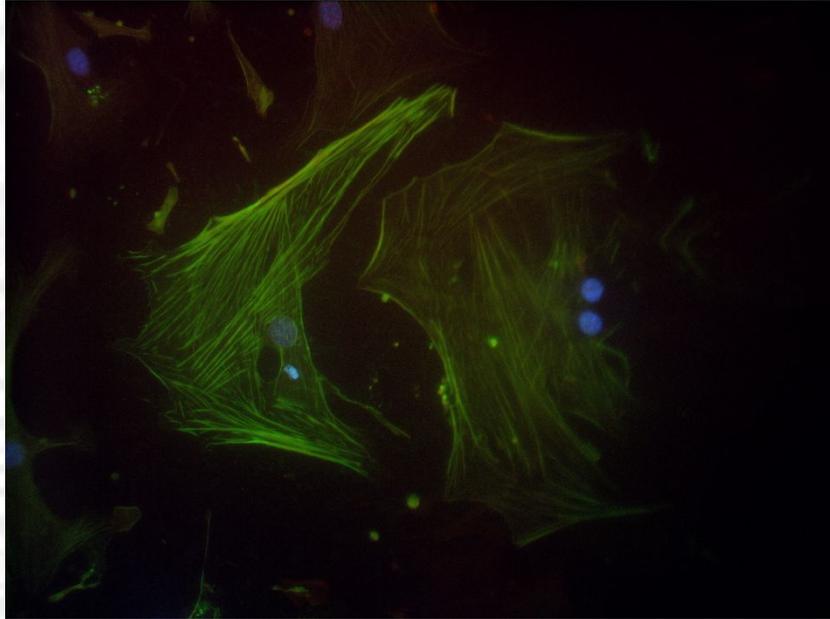


TNFα



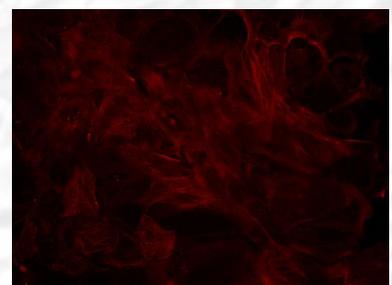
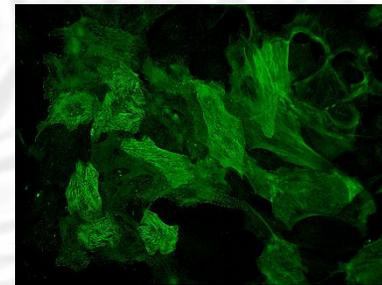
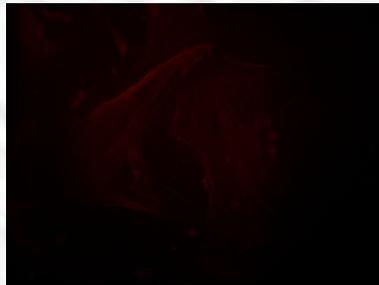
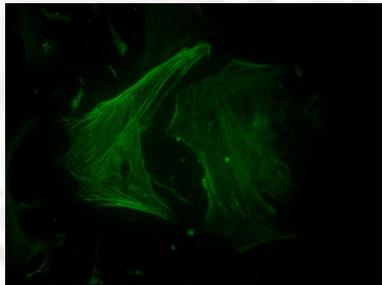
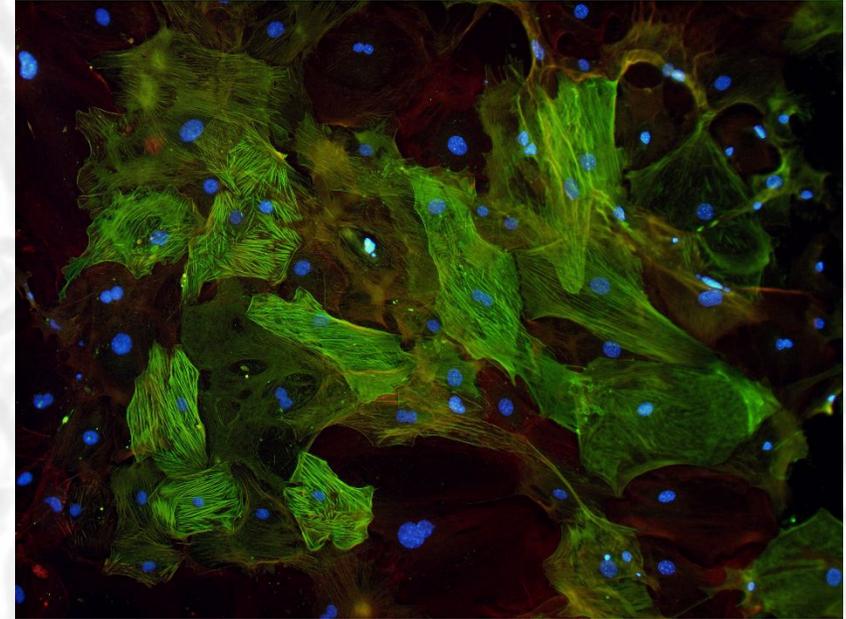
T cells

## Анализ стресса в фибробластах

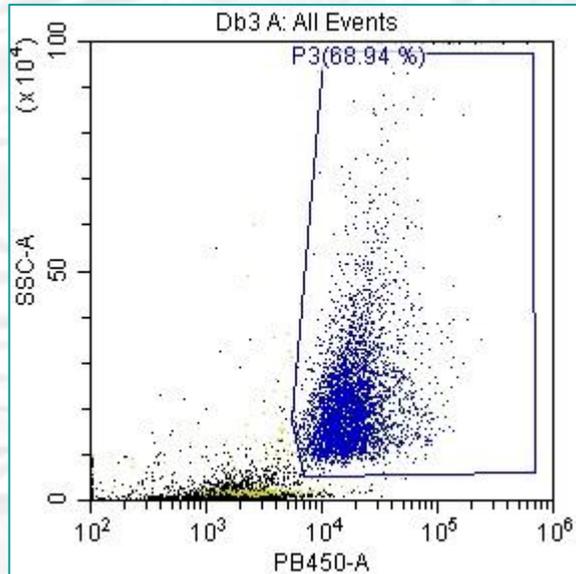


$\alpha$ SMA - green  
Phalloidin – red  
DAPI – blue

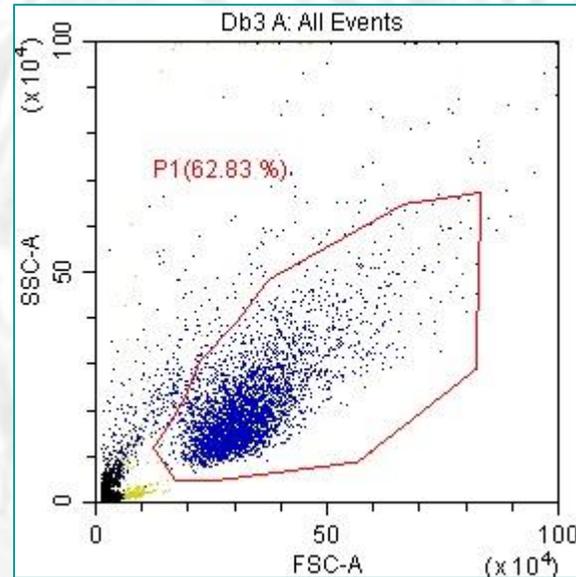
К фибробластам слева  
лимфоциты не  
добавлены, а справа-  
добавлены.



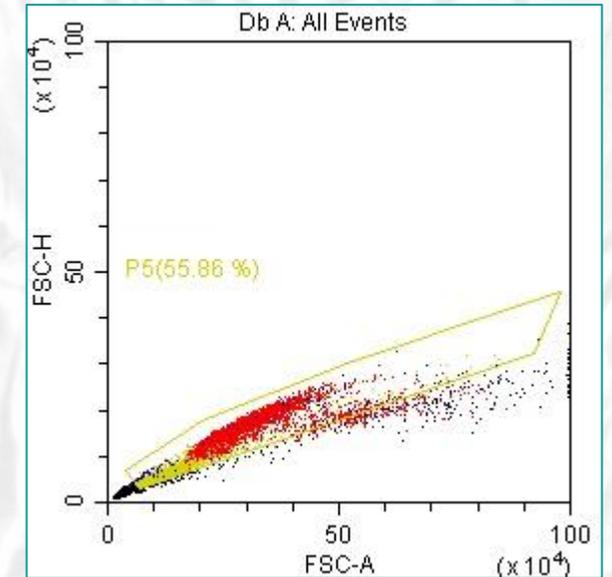
## Детекция молекул адгезии в эндотелиальных клетках



Окрашивание на CD31 –  
маркер эндотелиальных  
клеток

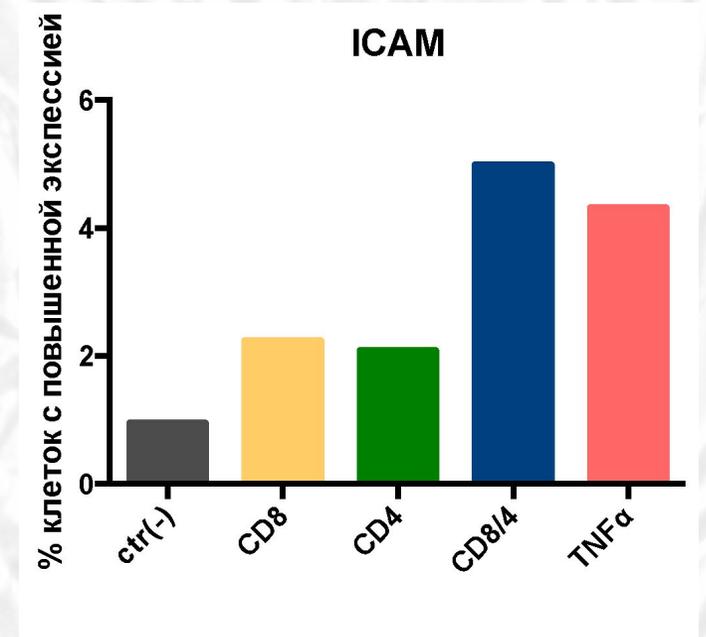
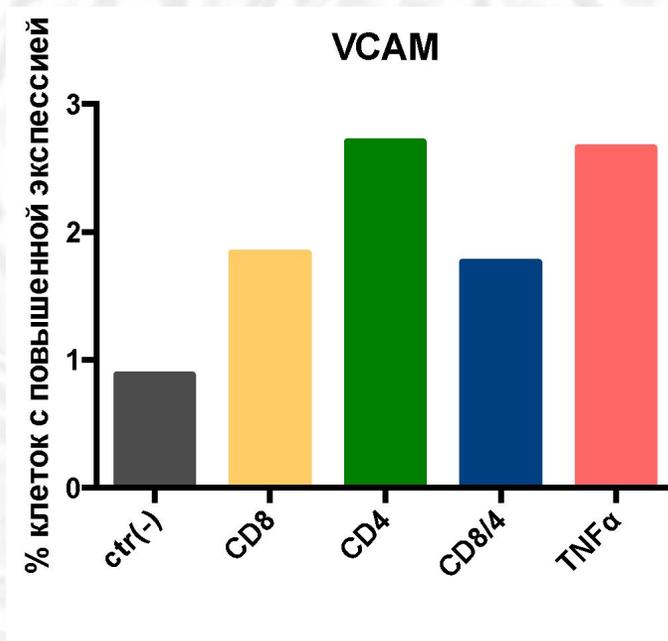
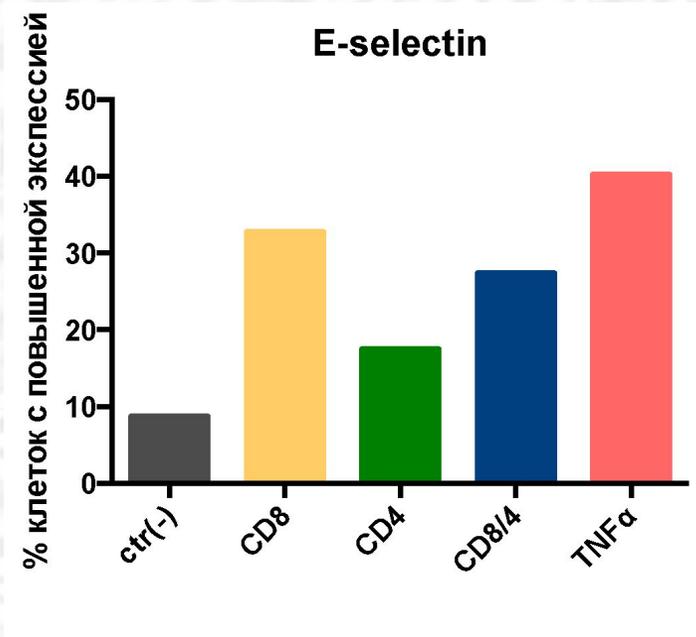


Определение  
субпопуляции нужных  
клеток по  
светорассеиванию

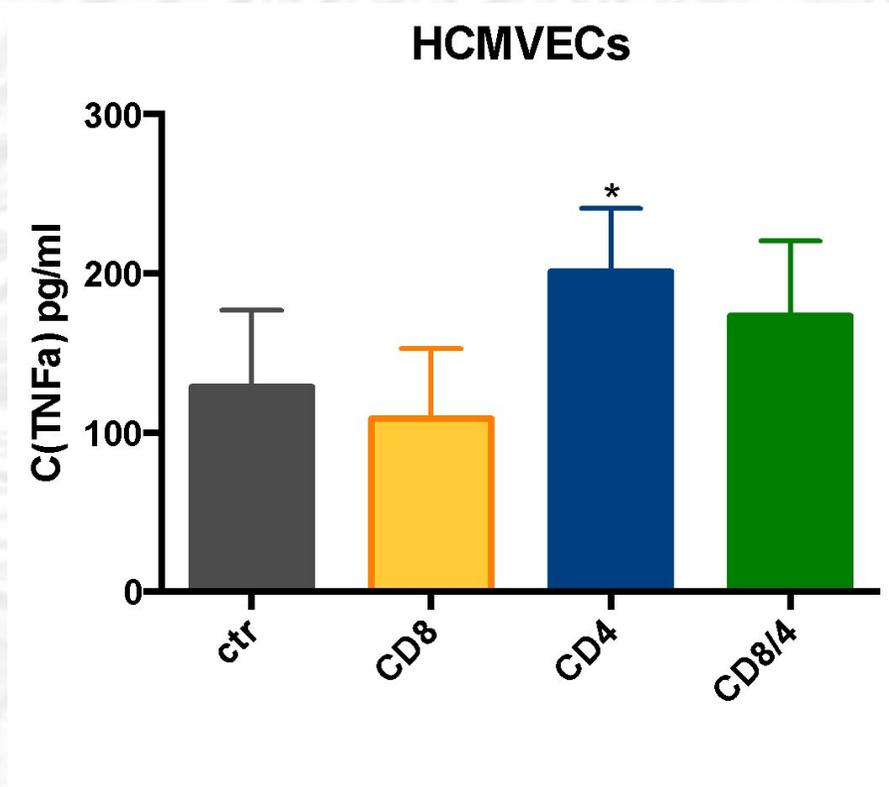


Выбор отдельных клеток  
(исключение дубликатов  
и кластеров)

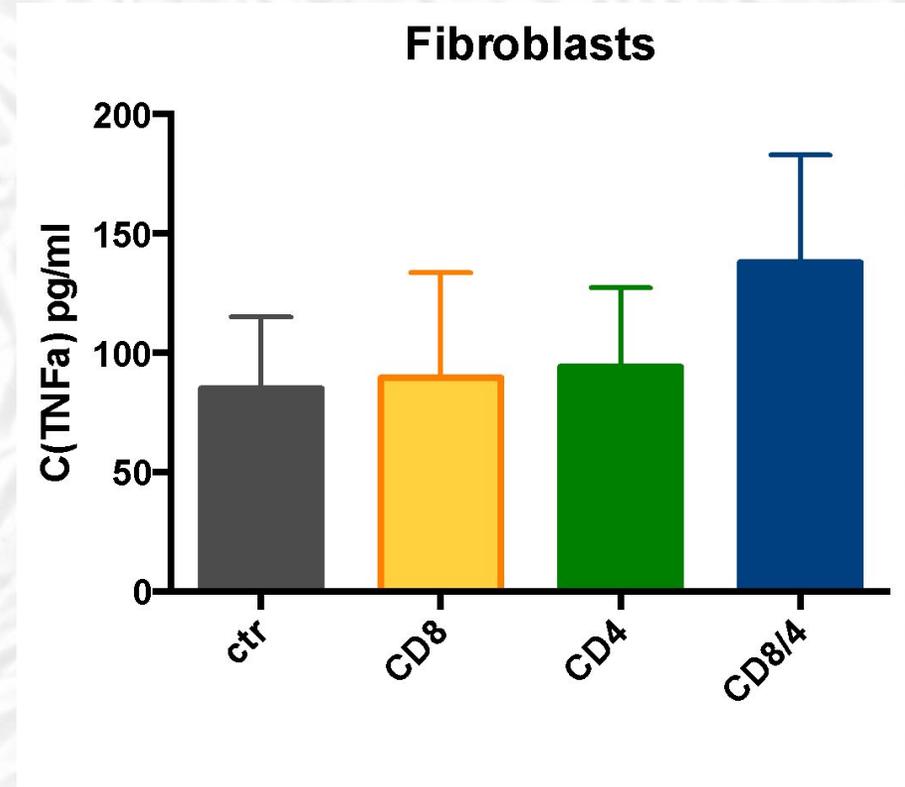
## Детекция молекул адгезии в эндотелиальных клетках



## ELISA по TNF- $\alpha$ (фактор некроза опухоли)



Эндотелий



Фибробласты

## ВЫВОДЫ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТА

1. Иммуные клетки [CD4 и CD8] были выделены и активированы самым эффективным способом [пролиферация до 3х циклов деления у 90% клеток] способом. Для этого использовалось магнитная MACS сепарация.
2. Было выявлено отрицательное влияние гиперактивированных Т-клеток на здоровые клетки эндотелия, наблюдаемое в результате изменения морфологии и интенсивного выделения веществ, характерных для клеток, находящихся в состоянии стресса.
3. Было выявлено отрицательное влияние активированных Т-клеток на здоровые фибробласты, наблюдаемое в результате изменения морфологии и интенсивного выделения веществ, характерных для клеток, находящихся в состоянии стресса.

**Активация иммунитета является необходимым фактором защиты организма, но несвоевременная искусственная гиперактивация может быть опасной для здоровых клеток организма и приводить к непредвиденным последствиям.**

## БЛАГОДАРНОСТИ

Благодарим своих руководителей

Александра Сергеевича Вдовина

Дарью Юрьевну Вдовенко

Куратора направления Юрия Олеговича Молодых

Руководителя лаборатории «Биохакинг» Александра  
Ефремова

лаборантов, своих коллег и весь центр «Сириус»!

## СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

**И, конечно же, древних миног и миксин, которые развили иммунитет и теперь мы можем его изучать!**

