

Стрептококковая аргининдеиминаза препятствует пролиферации популяций Т-клеток памяти.

Научный руководитель – Старикова Элеонора Александровна

Ожиганова Арина Игоревна

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

E-mail: arina_211199@mail.ru

Аргининдеиминаза (АДИ) - бактериальный фермент, который превращает аргинин в цитруллин и аммиак. Было показано, что деплеция аргинина нарушает прохождение клеточного цикла Т-клетками [1],[2]. В данной работе мы исследовали влияние стрептококковой АДИ на пролиферацию Т-клеток памяти, чтобы определить возможную роль АДИ в развитии патогенеза.

Работу проводили на мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMCs), отобранной у здоровых доноров в возрасте 18-50 лет. Для исследования эффектов АДИ PBMCs культивировали в полной культуральной среде с супернатантами разрушенных *S. pyogenes* штамма M49-16 и его изогенного мутанта M49-16delArcA с инактивированным геном АДИ. Пролиферацию PBMCs стимулировали с помощью антител к молекулам CD2, CD3, CD28. В часть проб добавляли аргинин. Популяции памяти Т-лимфоцитов определяли с помощью окрашивания клеток антителами, конюгированными с флуорохромами: CD4-APC, CD3-APC-Alexa 750, CD62L-ECD, CD45RA-PC7, выделяли следующие популяции памяти: наивые клетки, клетки центральной памяти (CM), клетки эффекторной памяти (EM), терминально-дифференцированные клетки эффекторной памяти (TEMRA). Индекс деления измеряли с помощью окрашивания клеток флуоресцентным красителем CFSE и последующем анализом проб на проточном цитометре.

В отсутствие стимуляции популяции памяти CD4⁺ Т-лимфоцитов проходили от 2 до 4 делений. СРС исходного и мутантного штамма, а также добавка аргинина не оказывали воздействия на нестимулированные клетки. При стимуляции клеток популяции CM, EM и TEMRA проходили достоверно большее количество делений в сравнении с нестимулированными клетками (8,10 и 6 делений соответственно). В присутствии СРС мутантного штамма также наблюдали достоверное повышение индекса пролиферации для этих популяций. В присутствии СРС исходного штамма пролиферативная активность клеток не отличалась от таковой в нестимулированных Т-клетках. Культивирование PBMCs с добавкой 2 мМ аргинина нивелировало эффект СРС исходного штамма.

В CD8⁺ Т-лимфоцитах среднее число делений составило 2-5 в нестимулированных клетках, при стимуляции достоверно увеличивалось до 7-13 во всех популяциях памяти. Уровень пролиферации субпопуляций CD8⁺ клеток при стимуляции в присутствии исходного штамма не отличалась от пролиферации не стимулированных клеток в тех же условиях. При этом добавка аргинина вызывала достоверное повышение пролиферации клеток популяций CM, EM и TEMRA.

Сравнение индекса деления в клетках, культивированных в присутствии СРС M49-16 и СРС M4916delArcA показало, что АДИ в составе СРС исходного штамма подавляет пролиферацию CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов, что может препятствовать формированию иммунологической памяти при стрептококковой инфекции.

Источники и литература

- 1) 1. Rodriguez, P.C., Quiceno, D.G., and Ochoa, A.C. (2007). L-arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression. *Blood* 109, 1568-1573.
- 2) 2. 28. García-Navas, R., Munder, M., and Mollinedo, F. (2012). Depletion of L-arginine induces autophagy as a cytoprotective response to endoplasmic reticulum stress in human T lymphocytes. *Autophagy* 8, 1557-1576.