

29 Een TWIST1 RNA-probe kan worden gebruikt om levende mesenchymale stamcellen met een hoge proliferatie te selecteren

C Voskamp¹, J van de Peppel², S Gasparini^{1,3}, P Giannoni³, PK Bos¹, JPTM van Leeuwen², GJVM van Osch^{1,4}, R Narcisi¹

1Afdeling Orthopedie, Erasmus MC, Rotterdam, NL

2Afdeling Interne Geneeskunde, Erasmus MC, Rotterdam, NL,

3 Afdeling Experimentele Geneeskunde, Universiteit van Genova, Genova, IT.

4Afdeling Keel- Neus en Oorheelkunde, Erasmus MC, Rotterdam, NL.

Afdeling orthopedie, Erasmus MC

p.k.bos@erasmusmc.nl

Inleiding

Het gebruik van mesenchymale stamcellen (MSCs) in celtherapieën voor kraakbeen- en botdefecten is veelbelovend. Een nadeel van de MSCs is dat de cellen heterogeen zijn en een beperkte proliferatie en differentiatie capaciteit hebben. MSC proliferatie en differentiatie capaciteit correleert met de expressie van het gen TWIST1. In deze studie hebben we getest of we met een TWIST1 RNA-probe in levende MSCs de TWIST1 genexpressie kunnen bepalen en cellen met hoge proliferatie kunnen selecteren .

Methode

MSCs werden behandeld met meerdere concentraties fluorescente TWIST1-probe (N=8). Als controle werden cellen behandeld met een probe met random sequentie of zonder probe. De optimale probe concentratie en incubatietijd werd bepaald met behulp van flowcytometrie . Vervolgens werden op basis van het fluorescentie signaal TWIST1hoge en TWIST1lage MSCs geselecteerd en daarna de TWIST1 gene expressie en proliferatie capaciteit van deze cellen bepaald.

Resultaten

TWIST1 mRNA kon specifiek gedetecteerd worden in MSCs wanneer we een concentratie van 50 pM probe en een incubatietijd van 6 uur gebruikten. TWIST1hoge MSCs hadden een 6x hogere TWIST1 expressie vergeleken met TWIST1lage cellen. Er was grote variatie in probe opname tussen de MSCs en wanneer we hiervoor corrigeerden vonden we een groter verschil in TWIST1 expressie (12,8-voud). Tenslotte hebben we bevestigd dat TWIST1hoge cellen een hogere proliferatie capaciteit hadden dan TWIST1lage cellen.

Conclusie

TWIST1 is een marker om een subpopulatie MSCs met een hoge proliferatie capaciteit te selecteren. Tevens zijn RNA-probes veelbelovend voor diverse toepassingen om levende cellen te selecteren en voor elke probe en celtype is specifieke validatie nodig.