

Морфологические характеристики первичных культур клеток спинномозговых узлов неонатальных кроликов

С.Г. Али^{1,2}, А.А. Лаврик², Г.А. Божок²

¹ПАО «Фармстандарт-Биолек», г. Харьков

²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Morphological Characteristics of Primary Cultures of Neonatal Rabbit Dorsal Root Ganglia Cells

S.G. Ali^{1,2}, A.A. Lavrik¹, G.A. Bozhok²

¹Public Joint-Stock Company Pharmstandard-Biolik, Kharkiv, Ukraine

²Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Прогениторные клетки – производные нервного гребня (ПНГ) – присутствуют в центральной нервной системе в постнатальном периоде и обеспечивают пластичность нервной ткани в физиологических и патологических условиях. Результаты исследований, проведенных на половозрелых животных, свидетельствуют о возможности получения ПНГ из спинномозговых узлов (СУ) *in vitro* при культивировании. Одним из свойств подобных культур является формирование цитосфер, клетки которых дифференцируются в нейрональном и глиальном направлениях. Нами была предпринята попытка получения культуры клеток из СУ неонатальных животных, содержащей ПНГ-образованные цитосферы.

Цель данной работы – сравнительное изучение морфологических особенностей культур клеток СУ неонатальных кроликов, полученных в обычных и низкоадгезивных условиях.

Клеточную суспензию получали из СУ ферментативным методом. Клетки высевали в концентрации 5×10^5 кл/мл и культивировали в чашках Петри при 37°C в атмосфере с 5% CO₂ в разных условиях: 1 – на адгезивной поверхности в бессывороточной среде, приготовленной на основе DMEM с добавлением 2% B27, 20 нг/мл EGF, 20 нг/мл bFGF; 2 – на адгезивной поверхности в среде DMEM с 10% фетальной телячьей сывороткой (ФТС); 3 – на низкоадгезивной поверхности в среде DMEM с 10% ФТС.

В первом случае формировались флотирующие цитосферы уже на 4-е сутки. В дальнейшем их размер незначительно увеличивался. При перенесении таких цитосфер в среду с 10% ФТС образовывался монослой из фибробластоподобных клеток, на котором появлялись нейробластоподобные клетки и прикрепленные колонии, состоящие из округлых клеток. Во втором случае на 3-и сутки образовывался монослой фибробластоподобных клеток, на котором различались скопления округлых клеток, формирующих длинные отростки. В третьем случае формировались как флотирующие, так и прикрепленные цитосферы. При переносе флотирующих цитосфер в среду с 10% ФТС они прикреплялись, формируя монослой из фибробластоподобных клеток, на котором различались два типа клеток: мелкие веретеновидные и эпителиоидные с хорошо различимым ядром с ядрышками. Из прикрепленных цитосфер выселялись нейробластоподобные клетки.

Установленные различия морфотипов клеток, образующихся в культуре клеток СУ, позволяют сделать вывод о том, что состав среды и степень адгезивности поверхности являются факторами, определяющими клеточный состав получаемых первичных культур.

Progenitor cells being the neural crest derivatives (NCD) are present in the central nervous system in the postnatal period and provide plasticity of neural tissue in physiological and pathological conditions.

The findings of the researches performed in adult animals, indicate the possibility of obtaining the NCD from spinal ganglion (SG) *in vitro* by their culturing. One of the properties of these cultures is the formation of cytospheres, the cells of those differentiate into neuronal and glial lineages. We attempted to obtain a cell culture containing APG-formed cytospheres from SG of neonatal animals.

The aim of the presented research was to compare the morphological features of neonatal rabbit SG cell cultures obtained under normal and low adhesive conditions.

The cell suspension was derived from SG by enzymatic method. Cells were seeded at a concentration of 5×10^5 cells/ml and cultured in Petri dishes at 37°C in an atmosphere with 5% CO₂ under different conditions: 1 – on an adhesive surface in serum-free DMEM supplemented with 2% B27, 20 ng/ml bFGF, 2 – on an adhesive surface in DMEM with 10% fetal bovine serum (FBS); 3 – on a low-adhesive surface in DMEM with 10% FCS.

In the first case the formation of floating cytospheres has been found already to day 4. Later their sizes were slightly increased. When transferring these cytospheres into the medium with 10% FBS a monolayer was formed of fibroblast-like cells, thereafter neuroblast-like cells and the adhered colonies consisting of roundish cells appeared on the monolayer. In the second case a monolayer of fibroblast-like cells was formed to day 3 with the aggregates of roundish cells forming the long processes. In the third case, both floating and adherent cytospheres were formed. Following the transfer of the floating cytospheres to the medium with 10% FBS they adhered and formed the monolayer of fibroblast-like cells with two types of cells on it: small spindle-like one and epithelioid cells with a well-defined nucleus and nucleoli. The neuroblast-like cells migrated from the adhered cytospheres.

The discovered differences of cell morphotypes formed in the culture of SG cells suggest that the medium composition and the surface adherability are the factors determining the cell populations in the resulting primary cultures.

