

ОЦЕНКА ПОКАЗАНИЙ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО СЧЕТЧИКА КЛЕТОК

© 2020 г. А. М. Соловьёва¹, С. А. Александрова², *¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, 195251 Россия²Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: alekssvet2205@gmail.com

Поступила в редакцию 27.02.2020 г.

После доработки 13.04.2020 г.

Принята к публикации 14.04.2020 г.

Традиционно подсчет числа клеток и определение доли жизнеспособных клеток в популяции осуществляют в камере Горяева. Автоматизированное оборудование (счетчики клеток различных фирм) не только позволяет проводить подсчет клеток в широком диапазоне концентраций, но и дает дополнительные возможности для измерения и других клеточных параметров. Однако в процессе определения числа и доли жизнеспособных мезенхимных стволовых клеток (МСК) костного мозга человека (линия FetMSC) в популяции было замечено, что показания автоматического счетчика (АС) клеток TC20™ (Bio-Rad, США) значительно отличаются от определяемых в камере Горяева: общее число клеток отличалось в большую сторону, а доля жизнеспособных клеток – в меньшую. Поэтому цель настоящей работы заключалась в выявлении причин, влияющих на точность измерения, и модификации методики (инструкции) проведения измерений. Нами выявлено, что на конечный результат оказывают влияние следующие факторы: присутствие в суспензии клеток белковых компонентов кондиционированной или ростовой сред, а также частиц трипанового синего. На основании полученных данных предлагается модификация существующей методики использования АС. Прилагающаяся к АС программа TC20 Data Analyzer позволила получить данные о распределении клеток по размерам (диаметру) в популяции, а также развернутую информацию о числе и доле жизнеспособных клеток.

Ключевые слова: мезенхимные стволовые клетки костного мозга человека, клеточная линия FetMSC, автоматический счетчик клеток, число клеток, жизнеспособность, диаметр клетки

DOI: 10.31857/S0041377120070056

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) показали свою перспективность для целей регенеративной медицины за счет наличия у них трофической, паракринной и иммуномодуляторной функций. Кроме того, их способность к дифференцировке в клетки стромы делает возможным их использование в составе тканеинженерных конструкций. Однако для терапевтического эффекта требуется использование большого количества клеток (Murphy et al., 2013; Ge et al., 2014; Caplan et al., 2018), которое обычно нарабатывается в процессе культивирования *in vitro*. Точная информация о числе клеток позволяет прогнозировать темпы роста культуры и рассчитывать начальное число клеток, которое необходимо взять, чтобы получить желаемое число клеток за определенный период времени. Вторым важным параметром, требующим отслеживания при культивировании клеток *in vitro*, является жизнеспособность клеток – способность поддерживать состояние, необходимое для выполнения ими специфических функций и ре-

ализации митотического потенциала (Герасимов, Попандопуло, 2007).

Традиционно подсчет клеток и определение доли жизнеспособных клеток осуществляют в камере Горяева (Полянская и др., 2019). Этот способ является достаточно субъективным и требует хороших знаний сотрудника о нормальной и патологической морфологии изучаемого типа клеток. Кроме того, при концентрациях клеток, лежащих за пределами интервала $(0.2-2) \times 10^6$ кл./мл, подсчет в камере Горяева не обеспечивает точного результата. Автоматизированное оборудование (счетчики клеток различных фирм) не только позволяет проводить подсчет клеток в более широком диапазоне концентраций, но и дает дополнительные возможности измерения различных характеристик и параметров клеток.

Автоматический счетчик (АС) клеток TC20™ (Bio-Rad, США) позволяет проводить подсчет числа и доли жизнеспособных клеток различных типов диаметром от 6 до 50 мкм в диапазоне концентраций от 50 тыс. до 10 млн. кл./мл. Помимо этих параметров счетчик выдает дополнительную информацию о долях в популяции клеток разного диаметра. Кле-

Принятые сокращения: АС – автоматический счетчик; МСК – мезенхимные стволовые клетки; ТС – трипановый синий; ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка.