

ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ НА СТАБИЛЬНОСТЬ КАРИОТИПА ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЛЕГКОГО КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА *IN VITRO*

© 2021 г. Т. М. Гринчук¹, *, М. А. Шилина¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: grintat@bk.ru

Поступила в редакцию 02.09.2020 г.

После доработки 02.10.2020 г.

Принята к публикации 02.10.2020 г.

Вопрос о влиянии криозаморозки на стабильность генома клеток разного генотипического статуса остается открытым. В настоящей работе представлены результаты изучения влияния криозаморозки разной длительности на стабильность кариотипа фибробластов китайского хомячка линии CHL V-79 RJК, характеризующихся повышенной кариотипической стабильностью в стандартных условиях культивирования. Установлено, что реакция генома клеток CHL V-79 RJК на криозаморозку в зависимости от ее продолжительности далеко не однозначна. После длительного (10 лет) пребывания в жидком азоте при температуре –196°С, в отличие от краткосрочной криозаморозки (3, 6 мес.) клетки демонстрируют тенденцию к разнотипной дестабилизации структуры кариотипа, а именно: к анеуплоидизации, увеличению пула хромосом, вовлекаемых в перестройки, к нарушению степени конденсации отдельных хромосом, к повышенному слипанию негомологичных хромосом (эктопическая конъюгация). Полученные данные говорят в пользу того, что многолетнее пребывание клеток в условиях глубокой заморозки может нарушить механизм клеточного деления и повлечь за собой дестабилизацию клеточного генома.

Ключевые слова: кариотип, хромосомы, криозаморозка, нестабильность генома

DOI: 10.31857/S0041377121010053

Разработка методов криоконсервации берет свое начало с первой половины XX в. Ее родоначальником считается английский ученый Эрнест Джон, который открыл криопротекторные свойства глицерина. Со временем метод криоконсервации был взят на вооружение и стал широко использоваться в разных областях биологии и медицины.

К настоящему времени накоплены данные о том, что скорость и температура криозаморозки, типы криопротекторов, используемые в процессе криоконсервации, реактивы, скорость и температура разморозки могут повлиять на физиологический и генетический статус клеток. Так, криоконсервация/декриоконсервация эмбриональных клеток человека вызывала их апоптоз и дифференцировку с последующей потерей их плюрипотентности и низкую выживаемость после разморозки (Pera et al., 2000; Reubinoff et al., 2000; Ji et al., 2004; Heng et al., 2005).

Подборке условий криохранения посвящено множество работ. На данный момент большинство протоколов криозаморозки клеток оптимизированы и большинство исследователей в своей работе используют стандартные протоколы. Однако проблеме влияния самой процедуры криоконсервации и дли-

тельного хранения на клеточный геном по сей день уделено мало внимания.

Современные методы криоконсервации делятся на две группы (He, 2011): медленное замораживание и сверхбыстрое замораживание (витрификация). Наиболее распространенная медленная криоконсервация позволяет замораживать клетки при низком содержании криопротекторов. Скорость медленного замораживания (при добавлении 1.5 М криопротекторов) для большинства клеток составляет 1°С/мин (Zhang et al., 2011), что обеспечивает большее выживание клеток. Повреждения клеток, вызываемые воздействием криопротекторов, вне- и внутриклеточным образованием льда, а также осмотической дегидратацией клеток под действием давления, неизбежны даже после оптимизации условий процессов замораживания–оттаивания. В этой связи возникновение разнотипных стрессовых ситуаций при криоконсервировании клеток *in vitro* вызывает беспокойство о физиологической и генетической их стабильности после криоконсервации. Использование в исследовательских, биоинженерных, медицинских и коммерческих целях различных по происхождению клеточных линий требует их генетической стабильности. В основе стабильности генома