

## **ЗДАТНОСТІ ДО ПРОЛІФЕРАЦІЇ І ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ АС 133<sup>+</sup>-КЛІТИН, ВИЛУЧЕНИХ ІЗ КОРДОВОЇ КРОВІ, У ДОВГОТРИВАЛІЙ КУЛЬТУРІ *IN VITRO***

**Д. І. Білько, С. В. Василовська, Н. М. Білько, І. З. Борбуляк**

Національний університет "Киево-Могилянська академія", Київ

Культуральні системи, що забезпечують довготривалу підтримку кровотворення, є адекватною моделлю для вивчення клітинних взаємодій. У цій системі стромальні клітини (фібробласти, адипоцити, ендотеліальні клітини), гемопоетичні клітини (макрофаги) і продукти їх життєдіяльності (адгезивні молекули, цитокіни, екстрацелюлярний матрикс) беруть участь в утворенні гемопоетичного мікрооточення, яке сприяє проліферації, диференціюванню і дозріванню гемопоетичних стовбурових клітин та їх нащадків.

У даному дослідженні було використано оригінальний спосіб культивування клітин у гелевій дифузійній камері. Виділені із кордової крові людини АС133<sup>+</sup>-клітини вводили у внутрішню порожнину дифузійних камер. Після цього їх занурювали у 6-лункові планшети із фідерним шаром та інкубували у живильному середовищі *DMEM* із 15 % фетальної телячої сироватки в умовах абсолютної вологості при 37 °С та 5 % CO<sub>2</sub> протягом 5 тижнів зі зміною середовища кожні 48 год. Фідерні шари готували шляхом культивування суспензії клітин з різних органів ембріона миші. Для визначення характеру взаємодії гемопоетичних клітин з стромальними клітинами, які формували фідерний шар, досліджували вплив на клітини у камері продуктів життєдіяльності клітин фідера та вивчали ефект спільного культивування гемопоетичних і фідерних клітин у камері, зануреній у живильне середовище. Оцінювали здатність культивованих клітин до проліферації, диференціювання і формування клонів.

Функціональну здатність культивованих АС133<sup>+</sup>-клітин оцінювали у субкультурі із напіврідким агаром. Клоногенну активність клітин визначали на 14 добу культивування шляхом прямого і непрямого аналізу та кількісного підрахунку колонієутворюючих одиниць. Визначали КУО-ГМ, БУО-Е та КУО-Е; їх аналіз здійснювали за допомогою морфологічних і цитохімічних методів дослідження. У процесі культивування АС133<sup>+</sup>-клітин, як у випадку впливу середовища, кондиціонованого продуктами життєдіяльності клітин, що формували фідерний шар, так і при прямому міжклітинному контакті, коли фідерні клітини культивувалися разом із гемопоетичними, була досягнута їх *ex vivo* експансія і диференціювання. Підтримка у культурі протягом тривалого часу примітивних гемопоетичних клітин (проліферуючих клітин, таких, як бластні клітини, промієлоцити, мієлоцити і метамієлоцити), їхня клоногенна здатність і функціональні характеристики свідчать про здатність фідерного шару формувати відповідне мікрооточення. Виявилось, що регуляція гемопоетичної активності зі сторони стромального матриксу в культурі *in vitro* носить дистантний характер і здійснюється гуморальними факторами, продукованими клітинами фідерного шару за відсутності безпосереднього контакту з кровотворними клітинами-попередниками. Отже, прямий клітинний контакт є необов'язковим для тривалої підтримки кровотворення *in vitro*.