

**Трансэндотелиальная миграция нейтрофильных гранулоцитов,
исследованная методом сканирующей ион-проводящей микроскопии**

Научный руководитель – Плескова Светлана Николаевна

Безруков Н.А.¹, Бобык С.З.²

1 - Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: nick_bezrukov@mail.ru*; 2 - Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, *E-mail: slbobyk@gmail.com*

Реализация механизмов неспецифической резистентности организма человека зависит в первую очередь от скорости реакции нейтрофильных гранулоцитов крови на действие патогена, прежде всего от процесса трансэндотелиальной миграции.

Целью данной работы была разработка новой системы для real-time визуализации трансэндотелиальной миграции нейтрофильных гранулоцитов с использованием метода сканирующей ион-проводящей микроскопии.

Для формирования монослоя 100 мкл суспензии эндотелиальных клеток EA.hy926 в концентрации 2×10^5 кл/мл высевались на перфорированную поликарбонатную мембрану с диаметром пор 5 мкм (Corning Inc., США), после чего клетки культивировались в CO₂-инкубаторе Portable Mini NB 203M (N-Biotek, Южная Корея, 37°C, 5% CO₂, 72 ч) в среде DMEM/F-12 (1:1) (ПанЭко, Россия). Нейтрофильные гранулоциты выделялись из крови здоровых доноров на двойном градиенте фикола-тразографа ($\rho=1.077$, $\rho=1.110$), трехкратно отмывались (0.9% NaCl, 400g) непосредственно перед экспериментом. Для фиксации мембраны была разработана и напечатана на 3D-принтере двухсекционная камера. В нижний отсек камеры помещался индуктор хемотаксического градиента: штамм *S. aureus* 2879 M. Между двумя секциями фиксировалась мембрана с эндотелиальными клетками, служившая единственным путем сообщения между отсеками. В качестве среды для исследования использовался раствор Хенкса, забуференный HEPES (pH 7.2-7.4). Средой заполнялись обе секции камеры, после чего в верхний отсек вносились нейтрофильные гранулоциты. Сканирование поверхности эндотелиального монослоя проводилось на сканирующем ион-проводящем микроскопе (ООО "НАНОПРОФАЙЛИНГ", Россия; ICARPIC Ltd, Великобритания).

Благодаря использованию разработанного метода была исследована трансэндотелиальная миграция нейтрофильных гранулоцитов в очаг инфекции, смоделированный *S. aureus* 2879 M.

Работа выполнена благодаря поддержке гранта РНФ № проекта 16-14-10179.