

Маркировка трехмерных культур хондроцитов магнитными наночастицами *in vitro*.

Научный руководитель – Медведева Екатерина Валерьевна

Гаврилов Н.С.¹, Игнатьева Н.В.²

1 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: gavrilovns2001@mail.ru*; 2 - Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, Москва, Россия, *E-mail: ignatyevanadezda@gmail.com*

Ткань гиалинового хряща сустава не регенерирует, ее повреждение зачастую необратимо, со временем прогрессирует и приводит к деформации сустава, что ведет к инвалидности и эндопротезированию [2]. Для разработки успешных стратегий восстановления ткани на основе клеточной трансплантации хондроциты, хрящевые клетки, выращиваются в трехмерных культурах - пеллетах (pellets) [3].

Целью представленной работы является разработка протокола маркировки хондроцитарных пеллет магнитными наночастицами (МНЧ) для их отслеживания *in vivo* с помощью системы МРТ после трансплантации в область суставного дефекта.

Для реализации цели работы требуется выполнение ряда задач:

- выделить хондроциты из тканей хряща коленного сустава крыс;
- культивировать выделенные хондроциты и провести инкубацию с МНЧ;
- собрать маркированные хондроциты в пеллеты и протестировать наличие в них МНЧ с помощью флуоресцентной микроскопии.

Используемые нами МНЧ размером не превышают 50нм и адсорбируются клетками без принуждения. МНЧ применяются для отслеживания маркированных клеток прижизненно [1]. В основе МНЧ - оксид железа (Fe_3O_4) с декстрановым покрытием и пришитыми к нему флуоресцентными метками (647нм). С помощью МНЧ мы маркировали первичную линию хондроцитов, которые были выделены нами из тканей артикулярного хряща коленного сустава двухмесячных крыс. Полученные хондроциты культивировались в течение трех недель для увеличения числа полученных клеток, чтобы сформировать трехмерные пеллеты. Далее культуры хондроцитов инкубировали с МНЧ сутки. Затем хондроциты с МНЧ в цитоплазме снимали с подложки, клеточную суспензию центрифугировали, получали клеточный осадок и формировали пеллеты. К клеточному плотному осадку добавляли культуральную среду с хондрогенным ростовым фактором TGF- $\beta 3$ для предотвращения дедифференцировки хондроцитов при формировании пеллет в течение последующих 20 дней. По завершении эксперимента пеллеты были зафиксированы формалином, и с помощью флуоресцентной микроскопии нами было подтверждено качественное и количественное наличие в клетках пеллет МНЧ.

Полученный протокол формирования пеллет из маркированных МНЧ хондроцитов применим для экспериментов *in vivo*. Присутствие в цитоплазме клеток пеллет МНЧ позволит определять расположение трансплантата прижизненно в течение длительного времени, не прибегая к диссекции животного.

Данная работа выполнена при поддержке Грант РФФ No 21-75-10082.

Источники и литература

- 1) Gleich B., Weizenecker J. Tomographic imaging using the nonlinear response of magnetic particles //Nature. – 2005. – Т. 435. – No. 7046. – С. 1214-1217.

- 2) Medvedeva E. V. et al. Repair of damaged articular cartilage: current approaches and future directions //International journal of molecular sciences. – 2018. – Т. 19. – No. 8. – С. 2366.
- 3) Schulze-Tanzil G. et al. Redifferentiation of dedifferentiated human chondrocytes in high-density cultures //Cell and tissue research. – 2002. – Т. 308. – С. 371-379.