

Инкапсуляция клеток в альгинатные микроносители

А.И. ПРАВДЮК

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г.Харьков

Cell Encapsulation in Alginate Macrocarriers

A.I. PRAVDYUK

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov

В последнее время активно ведутся исследования по применению микроинкапсуляции клеток в различные полимерные носители. Эта технология позволяет изолировать клетки от воздействия иммунной системы реципиента при трансплантации, длительное время поддерживать фенотипические свойства некоторых клеток, например хондроцитов, в системе *in vitro*.

Альгинат, гетерополимер естественного происхождения, является перспективным материалом для инкапсуляции клеток благодаря высокой биосовместимости и способности деградировать в организме без образования токсичных продуктов.

Цель работы – определить оптимальные условия инкапсуляции фибробластоподобных клеток человека и оценить жизнеспособность инкапсулированных клеток в культуре.

Фетальные фибробластоподобные клетки человека 4-8-го пассажа суспендировали в стерильном растворе альгината натрия. По капельно вносили суспензию клеток в раствор хлорида кальция на 10 мин для полимеризации геля. Полученные микроносители отмывали и переносили в культуральную среду, содержащую сыворотку. Микроносители культивировали в течение 4-х недель в 24-луночных планшетах, среду меняли через каждые 3 дня.

Жизнеспособность клеток в микроносителях определяли по восстановлению Alamar Blue (AB), которое отражает активность окислительно-восстановительных ферментов клетки.

Были подобраны оптимальные условия инкапсуляции, полимеризации, отмывки капсул. В результате инкапсуляция в установленных условиях приводила к образованию стабильных гомогенных капсул округлой или каплевидной формы 500-1000 мкм.

Клетки, инкапсулированные в альгинатные микроносители, в процессе культивирования были способны восстанавливать AB, уровень восстановления AB при этом не снижался.

Микроскопические исследования показали, что в ходе культивирования инкапсулированные клетки пролиферировали, и в отдаленные сроки (3 недели) культивирования в микроносителях формировались колонии.

Таким образом, фетальные фибробластоподобные клетки человека, инкапсулированные в альгинатные микроносители в установленных условиях, способны сохранять жизнеспособность и пролиферировать.

Research on applying cell microencapsulation into different polymer carriers has been recently performed. This technique enables to isolate cells against a recipient's immune system effect during transplantation, to maintain *in vitro* the phenotypic properties of certain cells, for example chondrocytes.

Alginate as heteropolymer of natural origin is a perspective material for cell encapsulation due to a high biocompatibility and the capability to degrade in organism with no toxic product formation.

Research aim was to determine the optimal conditions for human fibroblast-like cell encapsulation and to estimate the encapsulated cell viability in culture.

Human fetal fibroblast-like cells of 4-8 passages were suspended in a sterile sodium alginate solution. Cell suspension was dropwise introduced into calcium chloride solution within 10 min for gel polymerization. The obtained microcarriers were washed-out and transferred into a serum-contained culture medium. Microcarriers were cultured for 4 weeks in 24-well straws, medium was changed every 3 days.

Cell viability in microcarriers was determined by Alamar Blue (AB) recovery, reflecting the redox cell enzyme activity.

The optimal conditions of encapsulation, polymerization, capsule washing-out were selected. The encapsulation under established conditions resulted in formation of 590-1000 mm stable homogenous roundish and drop-shaped capsules.

Cells, encapsulated in alginate microcarriers during culturing were able to recover AB, the level of AB recovery was not thereby reduced.

Microscopic studies have demonstrated that during culturing the encapsulated cells proliferated and the colonies were formed in microcarriers in long terms (3 weeks) of culturing.

Thus, human fetal fibroblast-like cells, encapsulated into alginate microcarriers under established conditions are capable for viability preservation and proliferation.