

**Тезисы 36-й ежегодной конференции молодых ученых
 «Холод в биологии и медицине – 2012. Актуальные проблемы криобиологии,
 трансплантологии и биотехнологии», 22–24 мая 2012, г. Харьков**

<i>Кирилюк А.Л., Гурина Т.М.</i> Температурные интервалы фазовых превращений в криозащитных средах и их роль в криоконсервировании клеточных суспензий на этапе нагрева.....	189
<i>Пахомов А.В., Гурина Т.М., Божок Г.А.</i> Эффективность применения протоколов криоконсервирования с контролируемыми скоростями нагрева в температурных интервалах фазовых превращений для клеток интерстиция взрослых крыс.....	190
<i>Зайков В.С., Труфанова Н.А., Петренко Ю.А.</i> Поиск подходов криоконсервирования мезенхимальных стромальных клеток в составе альгинатных сферических носителей.....	191
<i>Порожан Е.А., Бабенко Н.Н., Останков М.В.</i> Криоконсервирование как фактор управления структурно-функциональным состоянием фетальных нервных клеток.....	192
<i>Венцовская Е.А.</i> Сон в структуре ответа организма на различные виды холодовых воздействий.....	193
<i>Димитров А.Ю., Челомбитко О.В., Борисов П.А., Останков М.В.</i> Анализ экспрессии гена <i>ido</i> в мезенхимальных стволовых клетках фетальной печени мышей после криоконсервирования.....	194
<i>Борисов П.А., Димитров А.Ю., Челомбитко О.В.</i> Влияние криоконсервирования на уровень экспрессии гена <i>napog</i> в мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клетках фетальной печени мышей ранних сроков гестации.....	195
<i>Буцкий К.И., Марченко В.С.</i> Изменение структурно-функционального состояния неокортекса хомяков при холодовой акклимации и зимней спячке.....	196
<i>Пуговкин А.Ю., Копейка Е.Ф.</i> Фотометрический метод оценки качества спермы карпа.....	197
<i>Красникова А.О., Зинченко А.В.</i> Физические состояния водных растворов диметилацетамида и оксиэтилированного глицерина со степенью полимеризации $n = 5$ при соотношении $R = 1:2$ ниже 0°C	198
<i>Челомбитко О.В., Сафранчук О.В., Бондарович Н.А., Останков М.В., Димитров А.Ю.</i> Модификация характеристик клеток аденокарциномы Эрлиха под влиянием факторов криоконсервирования.....	199
<i>Сидоренко О.С., Божок Г.А., Легач Е.И., Бондаренко Т.П.</i> Экспрессия β -III тубулина в культуре клеток надпочечников новорожденных поросят, полученной из криоконсервированных фрагментов ткани.....	200
<i>Тамарина И.В., Божок Г.А.</i> Влияние различных концентраций ДМСО и ЭТС в составе криозащитных сред на морфо-функциональные свойства клеток надпочечников новорожденных мышей.....	201
<i>Шевченко М.В.</i> Гипотермическое хранение изолированных нервных клеток новорожденных крыс в средах различного состава.....	202
<i>Мединец Е.А., Киришук В.В., Тищенко Ю.О., Бондаренко Т.П.</i> Сохранность неонатальной овариальной ткани при гипотермическом хранении в зависимости от композиционного состава среды инкубации.....	203
<i>Говорова Ю.С., Зинченко А.В.</i> Кинетический анализ плавления гемоглобина в присутствии оксиэтилированного производного глицерина.....	204
<i>Рогульская Е.Ю., Ревенко Е.Б., Петренко Ю.А.</i> Дифференцировка мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани человека в условиях подавления и стимуляции пролиферации.....	205
<i>Борисенко І.Г.</i> Вплив пептидного комплексу шкіри поросят на метаболічну активність фібробластів у культурі.....	206
<i>Горячая И.П.</i> Исследование реакции делящихся клеток на оксидативный стресс методом хемилюминесценции.....	207
<i>Говор И.В.</i> Исследование реакции гепатоцитов на оксидативный стресс с помощью метода хемилюминесценции.....	208
<i>Бабинец О.М., Высеканцев И.П., Марценюк В.Ф.</i> Технология получения криоконсервированных препаратов пробиотиков, иммобилизованных на энтеросорбентах.....	209
<i>Рогоза Л.А.</i> Склад екстрактів криоконсервованих фрагментів серця свиней та поросят і їх вплив на організм щурів.....	210
<i>Шканд Т.В., Чиж Н.А.</i> Применение альгинатных гидрогелей для замедленной эжекции пептидов сердца поросят в жидкую фазу.....	211
<i>Прокопюк В.Ю., Прокопюк О.С.</i> Механизмы влияния криоконсервированных препаратов плаценты на репродуктивную функцию в периоде позднего онтогенеза.....	212
<i>Бабаева А.Г., Чиж Н.А.</i> Влияние экстрактов селезенки и сердца на миокард.....	213
<i>Кравченко М.А., Сафранчук О.В., Челомбитко О.В.</i> Иммунокорригирующая активность криоэкстракта липидов плаценты в отношении пула $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ Т-клеток крыс при адьювантном артрите.....	214

Экспрессия β -III-тубулина в культуре клеток надпочечников новорожденных поросят, полученной из криоконсервированных фрагментов ткани

О.С. СИДОРЕНКО, Г.А. БОЖОК, Е.И. ЛЕГАЧ, Т.П. БОНДАРЕНКО
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Expression of β -III-Tubulin in Adrenal Cell Culture of Newborn Piglets Derived from Cryopreserved Tissue Fragments

O.S. SIDORENKO, G.A. BOZHOK, E.I. LEGACH, T.P. BONDARENKO
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

Известно, что хромаффинные клетки надпочечников и симпатические нейроны являются производными клеток нервного гребня и развиваются из общей клетки-предшественника. В культуре под действием фактора роста нервов NGF недифференцированные клетки мозгового вещества надпочечников приобретают морфологические и функциональные особенности нейрональных клеток, а зрелые хромаффинные клетки способны к трансдифференцировке в нейрональном направлении. Благодаря способности хромаффинных клеток трансформироваться в нейроны, они рассматриваются как источник аутогенного клеточного материала для трансплантации пациентам с болезнью Паркинсона.

Источником клеток нейрональной морфологии в культуре клеток надпочечников новорожденных поросят являются сферические клеточные структуры (сфероиды), формирующиеся к 5–7-м суткам культивирования. Поскольку криоконсервирование является наиболее удобным способом долгосрочного хранения фрагментов ткани, необходимо изучить его влияние на сохранность недифференцированных клеток надпочечников.

Целью работы было получить первичную культуру клеток надпочечников новорожденных поросят из криоконсервированных фрагментов ткани и исследовать возможность получения сфероидов и клеток нейрональной морфологии.

Фрагменты надпочечников криоконсервировали под защитой 10% ДМСО, охлаждая со скоростью 0,5 град/мин до -40°C с последующим погружением в жидкий азот. Клетки получали ферментативным методом после предварительного отогрева фрагментов и культивировали в среде DMEM/F12 с 10% фетальной телячьей сыворотки. Для пересева клетки снимали с помощью растворов трипсина и Версена. Для идентификации нейрональных клеток проводили иммуноцитохимическое окрашивание на β -III-тубулин.

Жизнеспособность клеток, полученных из криоконсервированных фрагментов ткани, составляла $93,3 \pm 5\%$. Через сутки культивирования наблюдалось прикрепление и распластывание большей части посаженных клеток, а к 5-м суткам – формирование монослоя и сфероидов. После пересева сфероиды прикреплялись к поверхности культивирования, а затем наблюдалось выселение из них нейроноподобных клеток с отростками. Иммуноцитохимическое окрашивание показало наличие β -III-тубулина в соме и отростках клеток, выселяющихся из сфероидов.

Таким образом, криоконсервирование фрагментов ткани надпочечников новорожденных поросят со скоростью охлаждения 0,5 град/мин позволяет сохранить популяцию клеток, формирующих сфероиды и их способность к дифференцировке в нейрональном направлении.

It has been known that adrenal chromaffin cells and sympathetic neurons are derivatives of neural crest cells and are developed from common precursor cell. Non-differentiated cells of adrenal medulla gain morphological and functional peculiarities of neuronal cells in culture under effect of neural growth factor, and mature chromaffin cells are capable of transdifferentiation towards neurons. Due to capability of chromaffin cells to transform into neurons they may be considered as a source of autologous cell material for transplantation to the patients with Parkinson's disease.

The source of cells with neuronal morphology in culture of newborn piglet adrenal cells are spherical cell structures (spheroids) formed to the 5–7th day of culture. Whereas cryopreservation is the most convenient method of tissue fragments long-term storage, it is necessary to study its effect on survival of non-differentiated adrenal cells.

The research aim was to obtain primary culture of newborn piglet adrenal cells using cryopreserved tissue fragments and to check the possibility to obtain spheroids and cells of neuronal morphology.

Adrenal fragments were cryopreserved under protection of 10% DMSO and cooling rate of 0.5 deg/min down to -40°C with further plunging into liquid nitrogen. The cells were obtained by enzymatic method after thawing the fragments and then cultured in DMEM/F12 with 10% fetal calf serum (FCS). Before passaging the cells were detached with trypsin and Versene solutions. Neuronal cells were identified by immunocytochemical staining for β -III tubulin.

Viability of cells derived from cryopreserved tissue fragments was $93.3 \pm 5\%$. After one day culture we observed adhesion and flattening of bulk of the seeded cells, and to the 5th day there was formation of monolayer and spheroids. After passaging the spheroids adhered to culture surface, and then we observed the migration of neuron-like cells with processes. Immunocytochemical staining showed the presence of β -III tubulin in soma and processes of cells, migrated from spheroids.

Thus, cryopreservation of fragments of adrenal tissue of newborn piglets using the cooling rate of 0.5 deg/min enabled to preserve the cell population, which formed spheroids, as well as the ability to differentiate towards neurons.