

ФОРМИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ ПАТТЕРНОВ МЕТОДОМ БИОПЕЧАТИ

Денисов А.А.^{1,2}, Досина М.О.², Токальчик Ю.П.², Пашкевич С.Г.², Черенкевич С.Н.¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Институт физиологии НАНБ, Минск, Беларусь

При проведении исследований механизмов работы мозга широко применяются модельные системы *in vitro*, позволяющие воссоздавать процессы функционирования нервных клеток и тканей в детально контролируемых условиях, что дает возможности для моделирования различных нейрофизиологических явлений и исследования биофизических механизмов работы биологических нейронных сетей. В настоящее время этот подход приобретает новые возможности благодаря интеграции методов клеточного культивирования и аддитивных технологий 3D-печати. Методы биопечати позволяют создавать упорядоченные клеточные паттерны не только на плоскости, но и в трехмерном пространстве, что важно для исследования функционирования биоинженерных нейронных сетей с топологией, соответствующей условиям *in vivo* [1].

Для внедрения таких методов в прикладные медицинские области необходим значительный объем исследовательской работы по отработке методов формирования гетерогенных клеточных конструкций, создания трехмерных скаффолдов, в том числе, имитирующих внеклеточные условия в мозге. С этой целью нами разработана экспериментальная установка для отработки методов биопечати на основе метода шприцевого дозирования загруженного клетками гидрогеля.

Разработанная установка основана на системе трехмерного позиционирования печатающего узла под управлением микрокомпьютера. Подача гидрогеля осуществляется при помощи шприцевого экструдера. Узел экструдера оснащен системой датчиков, позволяющих производить автоматическое позиционирование экструдера в требуемой области. Для печати гидрогель с клетками загружается в шприц, дозатор позиционируется у дна чашки Петри и происходит процесс формирования заданного паттерна в соответствии с программой. Разработаны алгоритмы дозирования, учитывающие инерционность подачи гидрогеля при малом диаметре дозатора с учетом особенностей формируемого паттерна и стадии печати.

Для отработки методики культивирования клеток в напечатанных конструкциях использовали культуру крысиной глиомы С6. В качестве основы для гидрогеля использовали желатин, который растворяли в среде DMEM для получения 3% раствора. Затем добавляли 0.5% альгината натрия. В образовавшийся гель добавляли клеточную суспензию и заполняли им дозатор. При помощи разработанной установки формировали гидрогелевые паттерны с клетками на дне чашки Петри, которые затем фиксировали 10% раствором хлорида кальция, заливали средой DMEM и помещали в CO₂-инкубатор. Получено, что клетки в желатиновом гидрогеле в процессе пролиферации образовывали трехмерные кластеры. Отростки, формируемые клетками, были более мелкими и тонкими, чем при росте на поверхности.

Разработанная методика может применяться для исследования патологических процессов в нервной ткани, при моделировании процессов пролиферации опухолевых клеток в трехмерном пространстве. В настоящее время данная методика дорабатывается для формирования трехмерных паттернов клеток первичной культуры коры головного мозга крысы на поверхности планарного микроэлектродного массива.

Библиографические ссылки

1. de la Vega L, Lee C, Sharma R, Willerth SM. 3D bioprinting models of neural tissues: the current state of the field and future directions // Brain Res Bull. 2019. Vol. 150. P. 240-249.