

УДК 57.085.2

3D БИОПЕЧАТЬ МАТРИЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МОДЕЛИ СОСУДОВ

Сотникова О.А. (Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург)

Научный руководитель – к.б.н. А.Ю. Прилепский

(Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, г. Санкт-Петербург)

В работе были созданы простые клеточные матрицы различного состава с использованием метода 3D биопечати. В зависимости от вязкости геля изучен процесс формирования клеточных сфероидов внутри каркаса, а также проведена оценка выживаемости с течением времени. Сконструирована проточная система с высоким проникновением носителей в клеточную матрицу.

Введение. С развитием нанотехнологий каждый день вводятся работы по созданию новых лекарственных препаратов. Оценка влияния носителей на клетки сосудов играет важную роль для доставки лекарств. Например, известно, что форма носителей, движущихся по кровеносным сосудам, имеет большое значение при приближении к стенкам сосудов: несферические частицы имеют более высокую эффективность нацеливания, чем их сферические аналоги. По сравнению с двухмерными моделями клеточных культур и животных, проектирование трехмерных проточных систем лучше подходит для работ по исследованию взаимодействия лекарственных препаратов с клетками сосудистой системы.

На практике данную идею достаточно сложно реализовать для ежедневных исследований в лаборатории. Необходимо создать биосовместимый и стабильный в физиологических условиях каркас. При последующем длительном выращивании клеточных культур необходимо избежать контаминации. Также требуется сконструировать стерильную проточную систему, а затем извлечь из неё клеточный материал для исследований. Таким образом, была поставлена задача придумать достаточно простую и недорогую модель, которую можно было бы легко использовать для различных тестовых целей.

Основные цели проекта – создание чернил для 3D биопечати, исследование влияния вязкости состава чернил на рост клеток в матрице, а также оценка выживаемости клеток в каркасе с течением времени. Большое внимание было уделено созданию проточной системы с клеточной матрицей.

Основная часть. В работе были использованы два вещества для создания каркаса: желатин и альгинат. Первый компонент был выбран благодаря своей биосовместимости, дешевизне и хорошей клеточной адгезии. Главный недостаток желатина – при температуре человеческого тела он находится в жидком состоянии. Для компенсации данной проблемы был использован альгинат, который образует гель в присутствии ионов кальция.

Среди инновационных производственных технологий 3D-биопечать позволяет точно контролировать пространственное распределение и архитектурную точность, а также демонстрирует хорошую клеточную выживаемость (~95%). По этим причинам нами был выбран данный метод формирования матриц.

В работе использованы эпителиальные клетки рака толстой кишки человека (HCT-116) в качестве модельных. Были рассмотрены четыре вида геля с различным составом альгината и желатина, а именно: 2% и 4%, 3% и 6%, 4% и 4%, 4% и 8%, соответственно. В данных условиях клетки с течением времени формируют сфероиды различных размеров. Процессы роста и выживаемости клеток были исследованы методом флуоресцентной микроскопии.

Использовались два красителя: акридиновый оранжевый и пропидий йодид. Значительные клеточные изменения наблюдались начиная с третьего дня для менее вязких составов и с четвертого дня для более вязких: произошло увеличение количества клеток, сформировались сфероиды небольших размеров (~400 мкм). На этапе девятого дня завершается процесс роста сфероидов и начинается миграция больших (~900 мкм) из геля в питательную среду. Во избежание ошибки при оценке в потоке, инкубация клеточных каркасов должна заканчиваться на этапе пятого или шестого дня: размер сфероидов относительно мал, достаточная выживаемость клеточного материала в каркасе, а также отсутствует миграция из геля.

Для оценки дальнейшего использования созданных каркасов в качестве тест-системы, была сконструирована проточная система с использованием шприцевого насоса. Было оценено проникновение вглубь матрицы геля красителей. Результаты продемонстрировали высокую проницаемость геля на молекулярном уровне, а также увеличение интенсивности флуоресценции клеток со временем.

Выводы. Предложенная клеточная модель является относительно простой и хорошо воспроизводимой. Вязкость гелей влияет на скорость роста и распространение клеток, а также на дальнейшие механические свойства каркасов после длительной инкубации. Выбранные составы демонстрируют быстрый клеточный рост – сфероиды формируются в течение недели и готовы к дальнейшим исследованиям. В проточной системе данные модели демонстрируют хорошее проникновение и доступность носителей к клеточному материалу.

Сотникова О.А. (автор)

Подпись

Прилепский А.Ю. (научный руководитель)

Подпись