

## Криоконсервирование клеток редких субтипов лейкоза у мышей инбредной линии AKR/JY

А.А. КОСТЯЕВ, Н.М. ПОЗДЕЕВ, Л.К. КОВАЛЕВА, С.В. УТЕМОВ, Н.Л. ЕЖОВА,  
Ю.В. ЗИНОВЬЕВ, Н.В. РЯБОВ, С.А. КОЗЛОВ  
Кировский НИИ гематологии и переливания крови Росмедтехнологий

### Cryopreservation of Cells of Rare Sub-Types of Leucosis in AKR/JY Inbred Mice

A.A. KOSTYAEV, N.M. POZDEEV, L.K. KOVALEVA, S.V. UTEMOV, N.L. EZHOVA,  
YU.V. ZINOVYEV, N.V. RYABOV, S.A. KOZLOV  
Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Russia

В результате экспериментальных исследований на мышцах инбредной линии AKR/JY были диагностированы: миелобластный (5%), пролимфоцитарный (0,8%), монобластный (2%) и мегакариоцитарный (менее 1%) варианты лейкоза. Редкое распространение выявленных вариантов лейкоза обусловило необходимость их сохранения в виде перевиваемых штаммов.

Цель – определить возможность использования метода криоконсервирования для долгосрочного хранения опухолевых клеток мышей инбредной линии AKR/JY.

Опыты проведены на 20 мышцах линии AKR/JY двух полов, поколений (F) 208 – 214, массой тела от 20 до 30 г.

При появлении признаков спонтанного лейкоза животных выводили из эксперимента путем декапитации. Из селезенки готовили 6%-ю клеточную суспензию. Подсчитывали количество ядродержащих клеток, оценивали их жизнеспособность по Шреку. После смешивания суспензии клеток с криопротектором (5%-й раствор диметилсульфоксида) криопробирки с биообъектом помещали в пары жидкого азота (–140°C) для последующего хранения. По истечении 10 дней образцы с клеточной суспензией отогревали на водяной бане, отмывали от криопротектора, центрифугировали и осевшие клетки ресуспендировали в 1 мл полиглюкина. В подготовленном образце подсчитывали количество ядродержащих клеток, определяли их жизнеспособность, затем клеточную взвесь вводили здоровым мышам линии AKR/JY. При появлении признаков перевивного лейкоза мышей выводили из эксперимента и проводили морфологическую оценку субтипа лейкозного процесса.

Заморожено 23 образца 6%-й суспензии клеток селезенки мышей инбредной линии AKR/JY, из них 5 – образцы пролимфоцитарного лейкоза, 5 – монобластного и 13 – миелобластного. Разморожено и перевито 7-и здоровым мышам линии AKR/JY 4 образца, из которых 3 – образцы монобластного лейкоза и 1 – миелобластного. После инокуляции размороженных опухолевых клеток у всех животных развился перевивной лейкоз. Исследование мазков-отпечатков свидетельствовало об идентичности морфологической картины органов у мышей-доноров опухолевых клеток морфологическим признакам лейкозного процесса у мышей-реципиентов.

Таким образом, использование метода криоконсервирования клеточного материала позволяет сохранить редкие субтипы лейкозов мышей инбредной линии AKR/JY в течение длительного времени.

As a result of experimental studied in AKR/JY inbred mice there were diagnosed: myeloblast (5%), prolymphocyte (0.8%), monoblast (2%) and megakaryocyte variants of leucosis (under 1%). Rare distribution of the revealed leucosis variants stipulated the necessity of their preservation as the passaged strains.

The aim was to determine the possible use of the cryopreservation method for long-term storage of tumour cells of AKR/JY inbred mice.

The experiments were carried out in 20 AKR/JY mice of both sexes, of generations (F) 208-214, with the body weight from 20 to 30g.

At the appearance of the signs of spontaneous leucosis the animals were decapitated. The suspension of 6% was prepared from the spleen. The number of nucleated cells was counted, their viability was assessed according to Schreck. After mixing the cell suspension with cryoprotectants (5% dimethyl sulfoxide solution), the cryovials with biological object were placed into the vapours of liquid nitrogen (–140°C) for following storage. Ten days later the samples with cell suspension were thawed on water bath, washed out from cryoprotectant, centrifuged and sedimented cells were resuspended in 1 ml of polyglucin. In the prepared sample the number of nucleated cells was counted, their viability was examined, afterwards cell suspension was introduced to healthy AKR/JY mice. At the appearance of the signs of passaged leucosis the mice were decapitated and sub-type of leucosis process was morphologically assessed.

There were frozen 23 assays of 6% spleen cell suspension of AKR/JY mice, 5 among them were the samples of prolymphocyte leucosis, 5 of monoblast one and 13 of myeloblast leucosis. There were thawed and passaged 4 samples to 7 healthy AKR/JY mice, 3 of them were the samples of monoblast leucosis and 1 of myeloblast. After inoculation of thawed tumour cells in all animals the inoculated leucosis developed. The investigation of the smear prints testified to identity of morphological pictures for the organs of mice, the donors of tumour cells to morphological principles of leucosis process in recipient's mice.

Thus the use of cryopreservation method of cell material enables to preserve rare subtypes of leucosis in AKR/JY mice for a long time.