

Новые подходы к криоконсервированию стволовых клеток

А.Ф. Гурчин¹, Н.А. Шубин²

¹Институт мозга человека РАН, г. Санкт-Петербург

²Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург

New Approaches to Cryopreservation of Stem Cells

A.F. GURCHIN¹, N.A. SHUBIN²

¹Institute of Human Brain of the Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia

²Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia

Поиск подходов к практическому применению стволовых клеток является в настоящее время крайне важным и перспективным направлением современной клеточной биологии и экспериментальной медицины. В связи с этим создание низкотемпературных банков – хранилищ данного криоконсервированного биоматериала – актуальнейшая задача прикладной криобиологии.

Известно, что обычно применяемые методики охлаждения стволовых клеток не могут удовлетворять нас в полной мере из-за сравнительно невысокого процента жизнеспособных клеток после деконсервирования.

Нами были проведены эксперименты по определению наиболее оптимальных условий для успешного криоконсервирования мезенхимальных стволовых клеток – клеток-предшественников, выделенных из костного мозга. Эти клетки обладают уникальной регенерационной способностью и крайне важным свойством – подавлять реакции иммунной системы на свое присутствие.

В результате испытаний различных режимов замораживания, что наиболее эффективно использование ультраредленных скоростей охлаждения – до 0,1 град/мин (до температуры кристаллизации клеточной суспензии). Следующим этапом в данных экспериментах стал поиск криопротектора. Известен токсический эффект на биообъекты ДМСО – наиболее универсального криозащитного вещества, применяемого в криобиологии. В качестве безопасного и эффективного криопротектора нами предложен димеколин – 1,6 диметилпипеколиновой кислоты дийодметилат. В медицине димеколин – активный ганглиоблокатор, применяется в виде водного раствора, в основном, при лечении язвенной болезни желудка, колитах.

Предложенный нами метод криоконсервирования мезенхимальных стволовых клеток (а также региональных и кроветворных стволовых клеток) обеспечивает высокий процент после замораживания-оттаивания и не требует отмывания клеточной суспензии от криопротектора после деконсервирования.

The search for approaches to practical application of stem cells is today extremely important and perspective trend of current cell biology and experimental medicine. In this connection the establishment of low temperature banks, the stores for this cryopreserved biological material is the most actual task of applied cryobiology.

It is known that traditionally applied methods of cooling of stem cells can not be completely satisfactory due to comparatively low percentage of viable cells after thawing.

We have carried-out the experiments on determining the most optimal conditions for successful cryopreservation of mesenchymal stem cells, progenitor cells isolated from bone marrow. These cells possess a unique regenerative ability and very important feature: to suppress immune system responses to their presence.

As a result of trials of different freezing protocols the use of ultraslow cooling rates up to 0.1 deg/min (to cell suspension crystallization temperature) has been demonstrated to be the most effective. The following stage in these experiments was the search of cryoprotectant. The effect of DMSO as the most general cryoprotective substance used in cryobiology on bioobjects is known to be toxic. As safe and effective cryoprotectant we proposed dimecolinum, 1,6-dymethyl pipecolinic acid diiodine methylate. In medicine dimecolinum is active ganglionic blocking agent is applied as aqueous solution mainly for treatment of ulcer gastric diseases, colites.

The proposed by us cryopreservation method of mesenchymal stem cells (as well as regional and hemopoietic stem cells) provides a high percent after freeze-thawing and does not require the washing of cell suspension from cryoprotectant after thawing.