

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-333

ОСОБЕННОСТИ РОСТА НЕЙРОНОВ НА ПОЛИДИМЕТИЛСИЛОКСАНОВОЙ ПОДЛОЖКЕ *

CHARACTERISTICS OF NEURONAL GROWTH ON PDMS SUBSTRATE

С. В. Кравченко, К. А. Арсентьев, С. П. Коновалова

Научно-технологический университет «Сириус», Сочи

S. V. Kravchenko, K.A. Arsentiev, S.P. Konovalova

Sirius University of Science and Technology, Sochi

✉ kravchenko.sv@talantiuspeh.ru

Аннотация

В данной работе проведен анализ особенностей роста первичной культуры нейронов мозжечка мыши на поверхности полидиметилсилоксановой (PDMS) подложки, покрытой поли-L-лизином. Результаты показали, что нейроны на PDMS формируют трехмерные сфероиды, тогда как на классическом полистироле создают монослой. Отличия в клеточном поведении связываются с меньшей адгезией поли-L-лизина к гидрофобному PDMS и его механическими свойствами.

Abstract

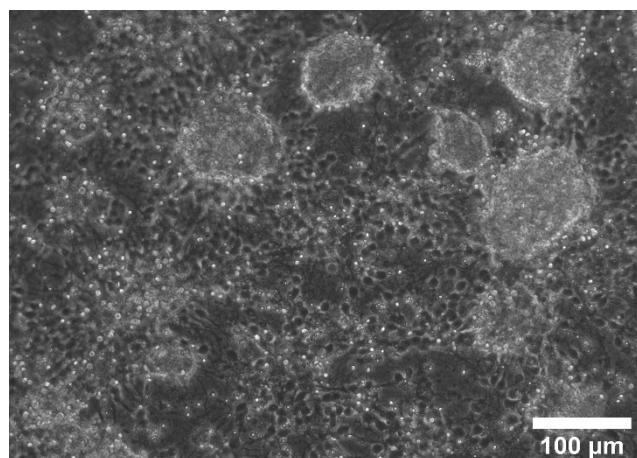
This study analyzes the growth characteristics of a primary culture of mouse cerebellar neurons on a polydimethylsiloxane (PDMS) substrate coated with poly-L-lysine. The results demonstrate that neurons on PDMS form three-dimensional spheroids, whereas on conventional polystyrene, they develop a monolayer. The differences in cellular behavior are attributed to the weaker adhesion of poly-L-lysine to hydrophobic PDMS and its mechanical properties.

Одним из ключевых факторов, влияющих на морфологию, выживаемость и функциональную активность нейронов в культуре, являются физико-химические свойства субстрата, на котором они растут. Традиционно в качестве основы для клеточных культур используется культуральный пластик полистирол, обладающий высокой жесткостью, что слабо имитирует механические свойства нервной ткани, для которой характерна величина модуля Юнга 100 Па — 10 кПа [1], в то время как у полистирола данное значение достигает 3 ГПа [2]. Полидиметилсилоксан (PDMS), активно применяемый в сфере микрофлюидики и систем «орган-на-чипе», а также при изготовлении гибких электродных матриц нейропротезов, отличается высокой эластичностью, хорошей проницаемостью для кислорода, биосовместимостью и низкой токсичностью. Его величина модуля Юнга составляет 0,5–2 МПа [3], что, хоть и все еще выше, чем у нервной ткани, существенно ниже, чем у полистирола.

Актуальность изучения культивирования нейронов на PDMS обусловлена необходимостью создания более физиологически релевантных *in vitro* моделей нейрональных сетей. Кроме того, анализ взаимодействия нервных клеток с PDMS может иметь важное значение для понимания процессов интеграции имплантируемых в структуры нервной системы устройств из данного материала.

Целью данной работы явился анализ характера роста первичной культуры клеток-зерен мозжечка мыши на полидиметилсилоксановой подложке.

Использовался коммерческий PDMS Редалид 184 — аналог Dow Corning Sylgard 184. Выполнялось смешивание основы с отвердителем в объемном соотношении 10 : 1, после чего смесь дегазировалась в вакуумном шкафу. По 0,2 мл жидкого PDMS наносилось на дно лунок двух 24-луночных культуральных планшетов. 8 лунок в каждом план-



Микрофотография клеток-зерен мозжечка мыши на 4-е сутки культивирования на поверхности PDMS

* Исследование выполнено при поддержке государственной программы «Научно-технологическое развитие федеральной территории „Сириус“» (соглашение № 18-03 от 10.09.2024, проект № NRB-BFT-2406).

шете не покрывались PDMS и использовались в качестве контроля. После отверждения PDMS в течение 48 ч проводилась 60-минутная стерилизация УФ-излучением и покрытие поли-L-лизином.

Диссоциированные клетки-зерна мозжечка 5-дневных мышей вносились дозатором в лунки контроля и в лунки, покрытые PDMS. Для культивирования использовалась Нейробазальная среда, с добавлением НейроMакс (B27), L-глутамина, добавки N2. На 4-й день проводилась микроскопия с использованием фазового контраста.

В контроле нейроны, росшие на обычном культуральном пластике, покрытом поли-L-лизином, образовывали монослои. Наблюдались тела и отростки нервных клеток. Нейроны, росшие на поверхности PDMS, образовывали сфероиды диаметром 70–100 мкм (см. рисунок).

При этом между сфероидами на поверхности PDMS также наблюдался монослой клеток, образованный телами нейронов и их отростками. Вероятной причиной наблюдаемых различий в росте нейронов на полистироле и PDMS может являться слабая адгезия поли-L-лизина к PDMS, что осложняет прикрепление клеток к субстрату, из-за чего происходит их агрегация.

Хотя PDMS в силу своей гидрофобности сложнее поддается покрытию поли-L-лизином, что может затруднить адгезию клеток, его механические свойства, в сравнении со стандартным культуральным пластиком, ближе к таковым у нервной ткани. Дальнейшие исследования могут быть направлены на модификацию поверхности PDMS для улучшения его адгезивных свойств и улучшения способности поддерживать жизнеспособность нейронов в культуре.

Литература

1. Woods G. A., Rommelfanger N. J., Hong G. Bioinspired materials for *in vivo* bioelectronic neural interfaces // Mater. 2020. Vol. 3, No. 4. P. 1087–1113.
2. Wyle Y., Lu N., Hepfer J. et al. The role of biophysical factors in organ development: insights from current organoid models // Bioengineering. 2024. Vol. 11, No. 6. P. 619.
3. Zhang Q. Y., Zhang Y. Y., Xie J. et al. Stiff substrates enhance cultured neuronal network activity // Scientific Reports. 2014. Vol. 4, No. 1. P. 6215.