

Ląstelių išsėdimas mikroskysčių gardelių eksperimentuose

Cell sedimentation in the experiments with microfluidics chips

Valdemaras Milkus¹, Emilė Pranauskaitė¹, Rapolas Žilionis, Linas Mažutis¹

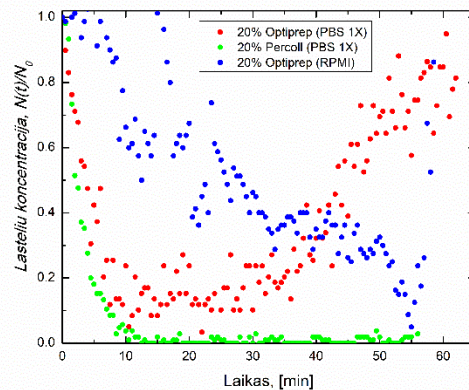
¹Vilniaus Universitetas, Gyvybės mokslų centras, Saulėtekio al.7, LT-10257 Vilnius

valdemaras.milkus@bti.vu.lt

Biomokslų pažanga remiasi specifinių biologiškai aktyvių ar informaciją ląstelėje koduojančių medžiagų (DNR, RNR, baltymų) tyrimais. Įprasti biocheminiai metodai remiasi ląstelių populiaciniais tyrimais, kai matuojama viena vidutinė vertė. Mikroskysčių (angl.-Microfluidics) gardelių pagalba kiekviena tirama ląstelė gali būti analizuojama individualiai. Ląstelės patalpinamos į pikolitru- nanolitru (10^{-12} - 10^{-9} l) tūrio vandens lašelius. Kiekvienas lašelis gali būti laikomas atskiru mėgintuvėliu, o tarpusavyje jie yra atskirti inertinės alyvos sluoksniu, kuris neleidžia susilieti ir susimaišyti. Lašelių formavimui reikalingi skysčiai yra injektuojami pasirinktais tėkmės srauto (angl.-flow rate) parametrais. Norint sumažinti nepageidaujamą dalelių ar ląstelių išsėdimą eksperimentų metu, įprastai į suspensiją įdedamas tankio gradiento tirpalas *Optiprep*, kuris padidina vandeninės terpės tankį. Tokiu būdu siekiama parinkti optimalų tankį ir pagaminti lašelius, kurie turėtų po vieną ląstelę.

Eksperimento, kurio trukmė >1 val., metu galima pastebėti, jog ląstelių skaičius per laiko vienetą patenkantis į gardelę, yra nepastovus. Šis nepastovumas reikalauja papildomo tėkmės srautų reguliavimo, tam, kad išlaikyti pastovią ląstelių koncentraciją lašeliuose per visą eksperimento eigą. Skirtingos *Optiprep* koncentracijos sukuria skirtingą suspensijos tirpalo tankį ir ląstelių srauto profilį, tačiau nesumažina koncentracijos kitimo intervalo (1 pav.) Remiantis prielaida, kad pradinė ląstelių koncentracija N_0 yra vienoda per visą tūrį, galima apskaičiuoti išsėdusių/iškeltų ląstelių skaičių [1]-[2] ir likusią suspenduotų ląstelių koncentraciją $N(t)$. Eksperimento metu skaičiuojama, kiek ląstelių per laiko vienetą patenka į gardelę skirtingais laiko momentais. Ląstelių santykinė koncentracija $N(t)/N_0$ buvo matuojama skirtingo tankio tirpaluose. Visais atvejais pritaikytos teorinės $N(t)/N_0$ funkcijos. Nustatyta, kad esant vandeningos terpės tankiui (1.053 g/ml), stebimas ląstelių skaičius didėja greičiau nei prognozuoja pradinis teorinis modelis ir pasiekia pradinės koncentracijos vertę, $N(t)/N_0=1$. Tai reiškia, kad

ląstelės tankis gali būti nepastovus ir artėjantis link tirpalo tankio. Palyginimui buvo atlikti analogiški matavimai su kita tankio gradiento terpe *Percoll*, kurios tankį keičianti dalis yra nanodalelės. Šiuose eksperimentuose nebuvo stebėtas ankstesnis $N(t)/N_0$ augimas. Daroma išvada, kad šios dalelės negali patekti į ląstelę ir keisti jos tankio. Ląstelėms esant augimo terpėje (*RPMI*), jos gali aktyviai išstumti *Optiprep* ir likti to paties tankio.



1 pav. Eksperimentiškai stebėtas ląstelių koncentracijos kitimas skirtingose terpėse.

Tyrimo rezultatai leidžia kelti hipotezę, kad *Optiprep* tirpalo aktyvioji medžiaga, kuri yra naudojama vandeninės terpės tankio padidinimui, gali būti įnešama į ląstelę. Difuzijai analogiško pernašos modelio pritaikymas $N(t)/N_0$ atitinka stebimą ląstelių skaičiaus kitimą.

Reikšminiai žodžiai: mikroskysčiai, ląstelė, išsėdimas, tankio gradientas, difuzija.

Literatūra

1. W. D. Hill, R.R. Rothfus and K. Li, *Int. J. Multiphase Flow*, Vol. 3, pp. 561-583, Pergamon/Elsevier, 1977.
2. E. Ponder, "On Sedimentation and Rouleaux Formation- I", *Quart. Journ. Exper. Physiol.*, 1925.