

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ИССЛЕДОВАНИИ БИОЛОГИИ КЛЕТОК
НА БАЗЕ ПОЛЯРИЗАЦИОННОЙ СКАНИРУЮЩЕЙ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ:
ДИНАМИКА ФУНКЦИЙ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ,
ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ КЛЕТОК В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ С РЕШЕНИЕМ
ОБРАТНОЙ ЗАДАЧИ СВЕТОРАССЕЯНИЯ ДЛЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЧАСТИЦ,
МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ И ВЛИЯНИЕ ОКРУЖЕНИЯ
В ПОПУЛЯЦИОННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ.
ПРОЕКТ № 115**

Координаторы: д-р физ.-мат. наук Мальцев В. П., д-р биол. наук Груздев А. Д.
Исполнители: ИХКГ, ИЦиГ, ИФП, ИБФ, ИАиЭ, ИМ, ИВМ СО РАН

Совместно с ЗАО «Эконова» создан прототип лабораторного поляризационного сканирующего проточного цитометра (ПСПЦ). Полностью автоматизированный ПСПЦ обеспечивает систематический и воспроизводимый анализ проб при исследовании биологии клеток (рис. 1). Одиночные клетки идентифицируются и характеризуются по двум индикатрисам светорассеяния и флуоресценции в двух спектральных диапазонах. На базе прототипа создан гематологический анализатор «Гематоскан» с расширенной функцией характеристики клеток крови по светорассеянию.

На основе исследований динамики функций распределения параметров нативных и сферизованных эритроцитов в процессе гемолиза (рис. 2) создана биохимическая модель процесса, адекватность которой подтверждена в ходе экспериментальной работы на ПСПЦ. На базе модели разработан метод определения биофизических параметров эритроцитов, который в настоящее время предоставляет наиболее полную характеристику популяции эритроцитов. Впервые измерены важные характеристические параметры эритроцитов: распределение по площади мембраны, распределение по проницаемости мембраны, устойчивость эритроцитов к внешним воздействиям.

Продемонстрирована возможность подсчета Т- и В-лимфоцитов крови человека без использования моноклональных антител и без измерения специфической флуоресценции. Популяции Т- и В-лимфоцитов разделены с

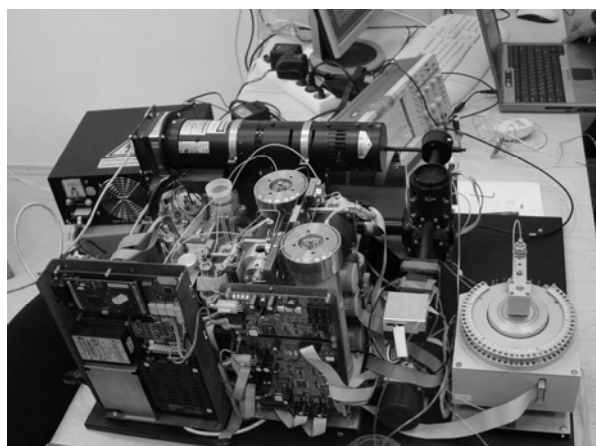


Рис. 1. Прототип лабораторного поляризационного сканирующего проточного цитометра.

Fig. 1. Prototype of the polarizing scanning flow cytometer.

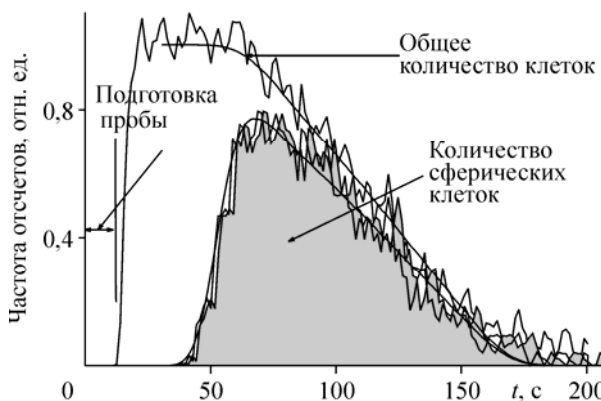


Рис. 2. Кинетика осмотического лизиса эритроцитов.

Fig. 2. Kinetics of osmotic lysis of red blood cells.

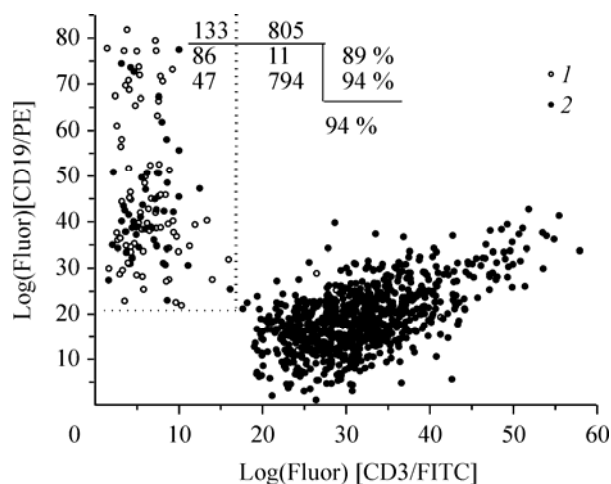


Рис. 3. Результат идентификации Т- (1) и В-лимфоцитов крови (2).

Fig. 3. Identification of T (1) and B lymphocytes (2).

чистотой 94 % по индикатрисам светорассеяния, измеренным на сканирующем проточном цитометре. Использовался оригинальный математический алгоритм идентификации. Данный подход существенно снижает стоимость и увеличивает скорость анализа субпопуляций лимфоцитов в цельной крови (рис. 3).

Основные публикации

1. Некрасов В. М., Чернышев А. В., Дегерменджи А. Г. Сохранение эффекта «квантования» коэффициентов чувствительности в микробных популяциях при наличии распределения клеток по скорости роста и возрасту// Докл. РАН. (Принята для публикации).
2. Yurkin M. A., Semyanov K. A., Tarasov P. A., Chernyshev A. V., Hoekstra A. G., Maltsev V. P. Experimental and theoretical study of light scattering by individual mature red blood cells with scanning flow cytometry and discrete dipole approximation// Applied Optics. 2005. V. 44. P. 5249—5256.
3. Wiklund M., Nord O., Gothäll R., Chernyshev A. V., Nygren P.-A., Hertz H. M. Fluorescence-microscopy-based image analysis for analyte-dependent particle doublet detection in a single-step immunoagglutination assay// Analytical Biochemistry. 2005. V. 338. P. 90—101.
4. Maltsev V. P., Semyanov K. A. Characterisation of Bio-Particles from Light Scattering// Inverse and Ill-Posed Problems Series. VSP. Utrecht, Boston, 2004. P. 132.
5. Maltsev V. P., Tarasov P. Erythrocyte osmotic lysis measured with scanning flow cytometer// Cytometry. 2004. V. 59A.
6. Semyanov K. A., Tarasov P. A., Zharinov A. E., Chernyshev A. V., Hoekstra A. G., Maltsev V. P. Single-particle sizing from light scattering by spectral decomposition// Applied Optics. 2004. V. 43. P. 5110—5115.