

Studies have shown that the addition to the diet of bull fattening balanced in nutrients and minerals and fat-soluble vitamins A, D, E complex of B vitamins (B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₀, B₁₂) in appropriate doses generally positive effect on chemical composition, calories and protein-qualitative indicator of the longest back muscle depends on the dose additionally entered the diet fattening bulls B vitamins.

The biggest change on chemical composition, protein-qualitative indicator and calories of the longest back muscle of calves for fattening derived from animals 3rd D (B₁ - 0,040; B₂ - 0,06; B₅ - 1,2; B₆ - 0 25, B₁₀ - 0,0030; B₁₂ - 0,0006 mg/kg body weight) and 4th D (B₁ - 0,070; B₂ - 0,10; B₅ - 2,0; B₆ - 0,40; B₁₀ - 0,0050; B₁₂ - 0,0010 mg/kg body weight) groups, and the smallest - in calves 1th D (B₁ - 0,015; B₂ - 0,03; B₅ - 0,5; B₆ - 0,10; B₁₀ - 0,0012; B₁₂ - 0,0002 mg/kg body weight) group.

Key words: bull, vitamins B (B₁, B₂, B₅, B₆, B₁₀, B₁₂), chemical composition muscle, protein-qualitative indicator, calories muscle.

УДК 612:602.9:611.018:636.7

ЦИТОПЛАЗМАТИЧНІ ТА МЕМБРАННІ БІЛКИ НЕЙРАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН КОТА ЗА РІЗНИХ ПАСАЖІВ КУЛЬТИВУВАННЯ IN VITRO

Кладницька Л.В.¹, к. вет. н., доцент,
Мазуркевич А.Й.¹, д. вет. н., професор
Безденсжих Н.О.², к. біол. н., ст. наук. співр.
Чехун В.Ф.², д. мед. н., академік НАНУ

Величко С.В.³, к. біол. н.,
Малюк М.О.¹, д. вет. н., доцент,
Козицька Т.В.⁴, к. біол. н.

Ковпак В.В.¹, Данілов В.Б.¹, Харкевич¹ Ю.О., к. вет. н., доценти,

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України,

²Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології, ім. Р.Є. Кавецького НАН України,

³Лікарня ветеринарної медицини,

⁴Київський Національний медичний університет ім.О.О.Богомольця, м. Київ

Анотація. Визначено експресію цитоплазматичних і мембранних білків нейральними стовбуровими клітинами kota за різних пасажів культивування. Нейральні стовбурові клітини отримували з нервової тканини головного мозку новонароджених котенят методом культивування у СО₂ інкубаторі за температури 37°C, 5 % вмісту СО₂ у середовищі DMEM (Sigma) з додаванням 5-10% ембріональної сироватки бичків, 1 % антибіотика-антимікотика (Sigma). Експресію цитоплазматичних білків нейральних стовбурових клітин з нервової тканини kota отриманих культур IV та X-го пасажів досліджували імуноцитохімічним методом за допомогою моноклональних антитіл.

Встановлено, що нервова тканина головного мозку новонароджених котенят містить нейральні стовбурові клітини, які характеризуються експресією цитоплазматичних та мембранних білків, характерних для проліферуючих клітин. Стовбурові клітини нервової тканини kota II-го пасажу характеризуються максимальними показниками рівня експресії віментину – 299±0,6. Середніх значень сягає показник експресії актину – 130,7±16,7, E-кадгерина – 122,3±10,1, N-кадгерина – 84,0±7,6, β-катеніна – 73±1,6, CD44 – 77±16, панцитокератина – 42±9 балів, що засвідчує відповідний рівень адгезивних властивостей, проліферації, клітинної сигналізації та рухливості клітин. Рівень експресії вказаних білків залишається високим та в межах середніх значень в культурі стовбурових клітин IV-го пасажу, хоча і є достовірно нижчим від таких II-го пасажу.

Ключові слова: нейральні стовбурові клітини, цитоплазматичні, мембранні білки, коти, культивування

Нейральні стовбурові клітини (НСК) – стовбурові клітини центральної нервової системи – клітини, що мають потенціал диференціюватися у нейрони, астроцити та олігодендроцити, а також самовідновлюватися для забезпечення потрібної кількості клітин у мозку. В даний час встановлено, що НСК знаходяться в головному мозку ссавців дорослого організму і сприяють пластичності мозку

протягом усього життя [1]. Було досліджено фенотип нейральних стовбурових клітин, отриманих з плюрипотентних ембріональних клітин людини шляхом культивування у середовищах. Зокрема методом проточної цитофлуориметрії було виявлено, що для диференційованих НСК було характерно CD184/CD44⁺/CD15^{low}/CD24⁺ [8]. Для імуноцитохімічної ідентифікації використовують антитіла до багатьох білків, зокрема, віментину, нестину, актину та інших. Але до сьогодні імуноцитохімічні маркери не володіють достатньо високою специфічністю, необхідною для роздільної ідентифікації нейральних, мезенхімальних чи клітин іншого походження. Вивчення диференціювання стовбурових клітин відомими маркерами дозволяє обґрунтувати застосування і підтвердити клінічну ефективність нових розробок в напрямі ветеринарної медицини. Характеристика культури клітин дає можливість оцінки її біологічних властивостей. Серед сучасних методів дослідження диференціювання стовбурових клітин широко застосовують методи імуноцитохімічного виявлення маркерних білків [4]. Кількість маркерних білків, що використовують при цьому, постійно зростає, причому до цих пір залишається не зрозумілою остаточно їх функціональна роль в клітині.

Мембранні та цитоплазматичні білки забезпечують процеси життєдіяльності, рухової активності, міжклітинної взаємодії і їх дослідження надасть можливість охарактеризувати культуру клітин на первному етапі культивування. Зокрема, N-кадгерин – мембранний білок, разом з E- і P-кадгеринами відноситься до 1-го типу кадгеринів, кальцій-залежним білкам клітинної адгезії. Вони залучені в гомофільні взаємодії, утворюючи міжклітинні контакти. N-кадгерин бере участь в механізмі нейронального розпізнавання. В нейронах гіпокампу він бере участь у регулюванні щільності дендритних виростів. N-кадгерин чинить вплив на адгезивні контакти, регулює проліферацію і диференціювання нервових клітин [2, 3]. Сигнальний шлях віментин/β-катенін забезпечує активацію самопідтримання клітин-попередників, та стовбурові властивості у клітинах різних тканин. У нестимульованих білками віментину клітинах, більша частина ендогенного β-катеніну знаходиться у міжклітинних контактних з'єднаннях, де він взаємодіє з E-кадгерином і β-катеніном, забезпечуючи взаємодію сусідніх клітин [6]. Віментин – білок проміжних філаментів сполучної тканини і нейральних стовбурових клітин. Проміжні філаменти разом з мікротрубочками і актином беруть участь в будові цитоскелету. Незважаючи на те, що більшість проміжних філаментів – це стійкі структури, віментин-філаменти є динамічною структурою. Віментин прикріплюється до ядра, ендоплазматичного ретикулуму і мітохондрій та відіграє значну роль в закріпленні органел і підтримці їх положення в цитоплазмі. Динамічна природа віментину важлива для зміни форми клітин. Саме віментин забезпечує міцність клітин і їх стійкість до механічного стресу і бере участь у взаємодіях різних систем цитоскелету. Віментин бере участь у регулюванні транспорту ліпопротеїнів низької щільності (LDL) і утвореного з них холестерину з лізосоми до ділянок клітини, де відбувається їх етеріфікація. При блокуванні транспорту отриманого з LDL холестерину клітини накопичували набагато нижчий відсоток LDL, ніж нормальні клітини з віментином. Виявлення цієї функції віментину – перший приклад взаємозв'язку між обміном речовин в клітині і роботою сітки проміжних філаментів. Висока експресія віментина корелює з прогресією раку [7, 9].

Завдання дослідження. Дослідити експресію мембранних і цитоплазматичних білків нейральних стовбурових клітин kota на різних пасажах культивування.

Матеріал і методи дослідження. Робота виконувалась на кафедрі фізіології, патофізіології та імунології Національного університету біоресурсів і природокористування України. Усі дослідження на тваринах були проведені з дотриманням закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» та принципів «Міжнародної Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються як експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986). Первинний матеріал отримували від новонароджених котенят з вадами розвитку (вовча паща). Нервову тканину головного мозку вилучали у стерильних умовах, обробляли і культивували у CO₂ інкубаторі за 5 % вмісту CO₂ та температури 37° С [10]. При формуванні 70-90% моношару культуру клітин знімали за допомогою трипсину з EDTA.

Клітини отриманої культури II- та IV-го пасажів висаджували на покривні скельця у чашках Петрі та культивували за стандартних умов у CO₂ інкубаторі. За 2-3 доби конфлюентність моношару клітин на покривних скельцях сягала близько 70 %. Клітини на скельцях фіксували розчином метанолу з ацетоном у співвідношенні 1:1 впродовж 2-ох годин за температури -20°C, промивали фосфатнобуферним розчином, після чого інкубували 20 хв. з 1% розчином бичачого сироваткового альбуміну (BCA). На зафіксовані клітини наносили моноклональні антитіла anti: E-cadherin – EP700Y (REF-R4-2100-SO), Vimentin SP 20 (REF-RM-9120-SO), Beta-Catenin (REF-RB-9035-PO), Keratin, Pan Ab-1 (Clone AE1/AE3, REF-MS-343-PO), Thermo-Scientific, USA, Mouse anti Actin Pan Anibody (REF-235-05), Diagnostic Biosystems, Purified anti-human CD 325 N-cadherin (clone 8C11) Biologend, USA, Mouse anti CD 44 (clone REF-Mob-256-05), Diagnostic Biosystems, та витримували 1

годину. Після цього застосовували систему візуалізації Ultra Vision LPValue Detection system, яка містить детекційні антитіла, кон'юговані з пероксидазою, активність якої виявляли за допомогою субстрату діамінобензидину (DAB, Thermo-Scientific). Після проведення імуноцитохімічної реакції препарати промивали проточною водою та дофарбовували розчином гематоксилін-еозину (1-2 хвилини), після чого препарати заключали в Faramount Aqueous Mounting Medium [4, 11]. Аналіз результатів проводили за підрахунком клітин з експресією (коричневе забарвлення клітин) за допомогою світлового мікроскопу та оцінювали за допомогою класичного метода H-Score: $S=1 \times A + 2 \times B + 3 \times C$, де S – показник «H-Score», значення якого знаходяться у межах від 0 (білок не експресується) до 300 (сильна експресія у 100% клітин); A- % слабо «зафарбованих» клітин, B - % помірно «зафарбованих» клітин, C - % сильно «зафарбованих» клітин [5].

Статистичну обробку отриманих експериментальних результатів проводили за Н.А.Плохінським та з використанням пакету аналізу даних Microsoft Excel. В усіх випадках різницю вважали достовірною при $p \leq 0,05$.

Результати дослідження. В процесі культивування отримали культуру нейральних клітин, які за морфологією мали невеликі округлі тіла і видовжені відростки, один з яких за довжиною переважав інші, а також були клітини біполярної форми (рис.1).

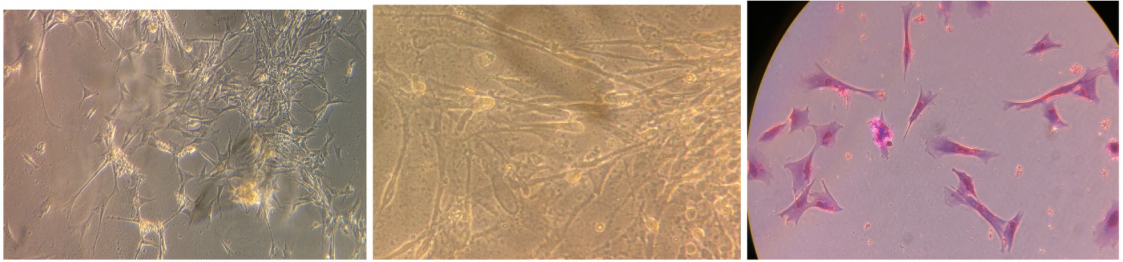


Рис. 1. Культура нейральних стовбурових клітин кота II- та IV-го пасажів, x 100, x 200, x 400

Для проведення імуноцитохімічного скринінгу було використано нейральні стовбурові клітини II та IV-го пасажів.

В ході імуноцитохімічних досліджень визначали рівень експресії цитоплазматичних та мембранних білків мультипотентних стовбурових клітин жирової тканини собаки. Результати досліджень засвідчують достовірні зміни рівня експресії білків при культивуванні стовбурових клітин за II та IV-го пасажів (табл.1).

Таблиця 1.

Експресія цитоплазматичних та мембранних білків нейральних стовбурових клітин з нервової тканини кота IV та X-го пасажів, ($M \pm m$, $n=3$), у балах H-Score (від 0 до 300)

Антиген	Рівень експресії білків	
	II пасаж	IV пасаж
Віментин	299±0,6	247,7±7,2*
Актин	130,7±16,7	91,0±8,7
Е-кадгерин	122,3±10,1	96±5,8*
N-кадгерин	84,0±7,6	79,3±9,4
CD44	77±16	28,3±2,5**
Панцитокератин	42±9	38,7±2,5
β-катенін	73±1,6	54,0±4,6

Примітка * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ (порівняно з рівнем експресії клітинами II-го пасажу)

Слід відмітити, що за II-го пасажу зафіксовано високий рівень експресії віментину – 299±0,6 балів (рис.2). З кількістю пасажів рівень експресії віментину достовірно знижувався, але залишався на досить високому рівні і становив 247,7±7,2* балів ($p < 0,05$). Така зміна експресії віментина засвідчує міцність цитоскелета клітин, їх цілісність та активну участь у обміні речовин.

На відміну від стовбурових клітин, отриманих з жирової тканини, дана культура клітин експресує мембранний білок N-кадгерин у кількості $84,0 \pm 7,6$ балів. Це засвідчує адгезивні контакти, регулювання проліферації і диференціювання нервових клітин. Зі збільшенням кількості пасажів рівень експресії N-кадгерина знижується у межах тенденції.

E-кадгерин, як і N-кадгерин відноситься до мембранних білків, залучений в механізми регулювання міжклітинної адгезії, клітинної рухливості і проліферації епітеліальних клітин, має потенційну суп ресорну роль в клітинній інвазивності і його рівень експресії становить $122,3 \pm 10,1$ бали. Пасажування достовірно знижує рівень експресії цього білка і становить $96 \pm 5,8^*$ балів ($p < 0,05$).

Актин – білок мікрофіламентів цитоскелету клітин і бере участь у скорочувальних процесах в клітині. Рівень експресії його в нейтральних стовбурових клітинах сягає $130,7 \pm 16,7$ балів, але з пасажуванням знижується до $91,0 \pm 8,7$ у межах тенденції.

Прикріплення цитоплазматичного домена E-кадгерина до актинового цитоскелету клітини здійснюється білком β -катеніном через білок A-катенін. β -катенін окрім адгезійної виконує в клітині ще і важливу сигнальну функцію, бере участь у процесах проліферації, диференціювання, міграції клітин. Рівень експресії β -катеніна становить $73 \pm 1,6$ бали і знижується у межах тенденції з кількістю пасажів.

Експресія CD44 у клітинах характеризується експресією у 77 ± 16 бали та достовірно знижується в процесі культивування, що відповідно характеризує процес клітинної міграції та взаємодії.

Цитокератин – білок, який входить до складу внутрішньоклітинних проміжних філаментів цитоскелету і реєструється у нейтральних клітинах у кількості 42 ± 9 балів з тенденцією до зниження при культивуванні культури.

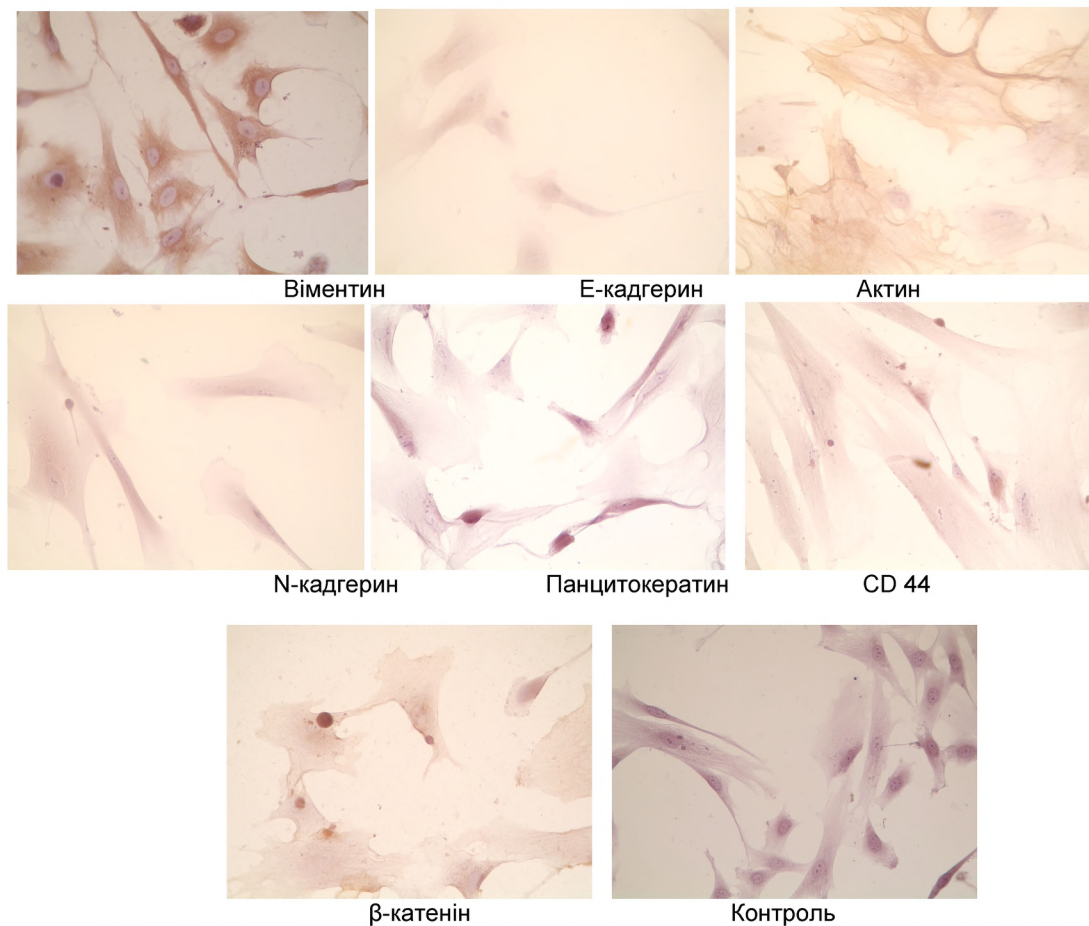


Рис. 2. Екпресія вементину, E-кадгерину, актину, N-кадгерину, панцитокератину, CD44, β -катеніну нейральними стовбуровими клітинами kota, x 400

Висновки

1. Встановлено, що нервова тканина головного мозку новонародженого kota містить стовбурові клітини, які характеризуються експресією цитоплазматичних і мембранних білків, характерних для проліферуючих клітин.

2. Ствобурові клітини нервової тканини kota II-го пасажу характеризуються максимальними показниками рівня експресії віментину – $299 \pm 0,6$ балів. Середніх значень сягав показник експресії актина – $130,7 \pm 16,7$, E-кадгерина – $122,3 \pm 10,1$, N-кадгерина – $84,0 \pm 7,6$, β -катеніна – $73 \pm 1,6$, CD44 – 77 ± 16 балів, що засвідчує відповідний рівень адгезивних властивостей, проліферації, клітинної сигналізації та рухливості, панцитокератина – 42 ± 9 .

3. Рівень експресії вказаних білків залишається високим та в межах середніх значень в культурі стовбурових клітин IV-го пасажу, хоча і є достовірно нижчим від таких II-го пасажу.

Література

1. Allison M. B. Neural Stem Cells and Neurogenesis: Five Decades Later/ M. B. Allison, M. Guo-li, S. Hongjun //Cell Stem Cell// – 2015. – P.385-395.
2. Chalasani K. N-cadherin-mediated cell adhesion restricts cell proliferation in the dorsal neural tube / K. Chalasani, R. Brewster //Mol Biol Cell.– 2011; № 22 – P. 1505–1515. doi: 10.1091/mbc.E10-08-0675.
3. Derycke L.D. N-cadherin in the spotlight of cell-cell adhesion, differentiation, embryogenesis, invasion and signalling/ L.D.Derycke, M.E. Bracke. // Int J Dev Biol. -2004. – № 48(5-6). – P. 463-476.
4. Detre S. A "quickscore" method for immunohistochemical semiquantitation: validation for oestrogen receptor in breast carcinomas / S.Detre, G. Jotti, M. Dowsett //Clin Pathol.-1995.- №48. – P. 876-878.
5. Leukemia diagnosis. Atlas and practical manual /D. F. Gluzman, I.V. Abramenko, L.M. Sklyarenko and all, – K.: Morion, 2000, – 224 p.
6. Morin, P.J. beta-catenin signaling and cancer. / P. J. Morin// Bioessays. - 1999. - Vol. 21(12). - P. 30-1021.
7. Satelli A, Universal marker and detection tool for human sarcoma circulating tumor cells/ A. Satelli, A. Mitra J.// Cancer Res.– 2014. – № 15;74(6) – P.1645-50. doi: 10.1158/0008-5472.
8. Sundberg M¹, CD marker expression profiles of human embryonic stem cells and their neural derivatives, determined using flow-cytometric analysis, reveal a novel CD marker for exclusion of pluripotent stem cells / M. Sundberg , L. Jansson , J. Ketolainen , H. Pihlajamäki // Stem Cell Res. – 2009. – Mar; 2(2):113-24. doi: 10.1016/j.scr.2008.08.001. Epub 2008 Sep 16.
9. Yu, Y. Surface vimentin is critical for the cell entry of SARS-CoV / Y. Yu, S. Chien, I. Chen, C. Lai, Y. Tsay // Journal of Biomedical Science. – 2016. DOI: 10.1186/s12929-016-0234-7. 5.
10. Патент України на корисну модель №112379. Спосіб отримання нейральних стовбурових клітин kota/ Л.В.Кладницька, А.Й. Мазуркевич, С.В.Величко. Заявник і власник Національний університет біоресурсів і природокористування України. № у 201607080; заявл. 30.06.2016; опубл. 12.12.2016, бюл.№23.
11. Франко Г.А. Иммуногистохимические методы: руководство / Г.А. Франко, П.Г. Мальков – М., 2011, – 224 с.

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ И МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ НЕЙРАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК KOTA НА РАЗНЫХ ПАССАЖАХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO

Л.В. Кладницька¹, А.Й.Мазуркевич¹, Н.А. Безденежных², В.Ф.Чехун², С.В. Величко³, М.А. Малюк¹, Т.В. Козицкая⁴, Ковпак В.В.¹, В.Б.Данилов¹, Ю.О. Харкевич¹

¹Національний університет біоресурсів і природопользования Украины, г. Киев,

²Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г.Киев,

³ Клиника ветеринарной медицины, г. Киев,

⁴Киевский Национальный медицинский университет им.О.О.Богомольца, г. Киев,

Аннотация. Определен уровень экспрессии цитоплазматических и мембранных белков нейральными стволовыми клетками kota на разных пассажах культивирования. Нейральные стволовые клетки получали из нервной ткани головного мозга новорожденных котят методом культивирования в CO₂ инкубаторе при температуре 37°C, 5%-ном содержании CO₂ в среде DMEM (Sigma) с добавлением 5-10% эмбриональной сыворотки бычков, 1% антибиотика-антимикотика (Sigma). Экспрессию цитоплазматических белков нейральных стволовых клеток из нервной ткани kota полученных культур II- и IV-го пассажей исследовали иммуноцитохимични методом с помощью моноклональных антител.

Установлено, что нервная ткань головного мозга новорожденных котят содержит нейральные стволовые клетки, которые характеризуются экспрессией цитоплазматических и мембранных белков, характерных для пролиферирующих клеток. Стволовые клетки нервной ткани кота II-го пассажа характеризуются максимальными показателями уровня экспрессии виментина – $299 \pm 0,6$ баллов. Средних значений достигал показатель экспрессии актина – $130,7 \pm 16,7$, E-кадгерина – $122,3 \pm 10,1$, N-кадгерина – $84,0 \pm 7,6$, β -катенина – $73 \pm 1,6$, CD44 – 77 ± 16 панцитокератина – 42 ± 9 баллов, свидетельствует соответствующий уровень адгезивных свойств, пролиферации, клеточной сигнализации и подвижности клеток. Уровень экспрессии указанных белков остается высоким и в пределах средних значений в культуре стволовых клеток IV-го пассажа, хотя и является достоверно ниже таких II-го пассажа.

Ключевые слова: нейральные стволовые клетки, цитоплазматические, мембранные белки, коты, культивирование.

THE CYTOPLASMIC PROTEINS AND MEMBRAN EXPRESSION IN CAT NEURAL STEM CELLS ON DIFERENT PASSAGE CULTIVATION IN VITRO

L.V. Kladnytska¹, A.I. Mazurkevich¹, N.O. Bezdyenyehnyh², V.F.Chehun², S.V. Velychko³, M.O. Maluk¹, T.V. Kozyztska⁴, Kovpak V.V.¹, V.B.Danilov¹, Y.O. Harkevich¹

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, str. Heroev Oborony, 15, Kiev, 03041, Ukraine

²R.E. Kavetsky Institute Experiential Pathology, Oncology and Radiobiology, National Academy of Sciences of Ukraine, str.Vasilkovskaya, 25, Kiev, 03022, Ukraine

³Hospital of Veterinary Medicine, Holosiivskiy Avenue, 105 b, Kyiv 03127, Ukraine

⁴Bogomolets National Medical University, boulevard T.Shevchenko, 13, c.Kiev, 01601 Ukraine

Summary. The level of expression of cytoplasmic and nuclear proteins in cat neural stem cells in various passages cultivation are shown in the article.

Neural stem cells obtained from cats nervous tissue by culturing. The Petri dishes (d = 35, 60 mm) with cats nervous tissue were cultured in CO₂ incubator (5% CO₂ and 37.0°C) by standard procedure. The culture media contained 80% of Dulbecco's modified Eagle's medium and 5-10% of foetal bovine serum with 10 μ l/ml of antibiotic-antimycotic solution. The culture medium was replaced every 72 h. When monolayer confluency reached about 80%–90%, the cells were transferred to a suspension using 0.05% trypsin-EDTA solution and reseeded in a ratio of 1 to 3. The cell suspension obtained was filtered through four layers of sterile gauze cloth, centrifuged, resuspended in culture media, and reseeded in Petri dishes in a ratio of 1 to 3. The microscopic examination of cell culture quality and proliferation was conducted every day with inverted microscope Axiovert 40 (Carl Zeiss, Germany).

For immunophenotypic analysis the cells of IInd and IVth passages were seeded on cover glasses and grew for 48–72 h. After the monolayer reached about 50%–70% confluency, the cells were fixed in fixing solution (methanol + acetone, 1:1) for 2 h at -20°C, washed several times with PBS, incubated with a 1% solution of bovine serum albumin (BSA) for 20 min, and treated with monoclonal antibodies for 30–60 min in accordance with the instructions for monoclonal antibody application. For visualisation of reactions the Ultra Vision LP Value Detection system (ThermoScientific), which contain detecting antibody, conjugated with peroxidase, was used. Enzyme activity was detected by using of diaminobenzidine (ThermoScientific) as a substrate. After conducting an immunocytochemical reaction, the preparations were washed with water and stained with Mayer haematoxylin (Sigma) for 1–2 min, and placed in Faramount Aqueous Mounting Medium. The results were analysed by counting the number of positively stained cells (brown staining) and evaluated by the classical H-Score method.

Established that cats nervous tissue contains neural stem cells that are characterized by the expression of cytoplasmic and membrane proteins specific to proliferating cells. cat neural stem cells of II-th passage characterized by a maximum performance level of expression of vimentin – $299 \pm 0,6$ scores. Average values reached in expression of actin – $130,7 \pm 16,7$, E-cadherin – $122,3 \pm 10,1$, N-cadherin – $84,0 \pm 7,6$, β -catenin – $73 \pm 1,6$, CD44 – 77 ± 16 , pantsytokeratyn – 42 ± 9 scores, which confirms the high level of adhesion properties, cell proliferation, cell signaling and motility.

The level of expression of these proteins remains high in the culture of stem cells IV-th passage, although it is significantly lower than the II-nd passage.

Key words: neural stem cells, cytoplasmic, membrane proteins, cats, cultivation