DOI: 10.17117/na.2015.07.878

Поступило в редакцию: 16.07.2015

<http://ucom.ru/doc/na.2015.07.878.pdf>

Маклакова И.Ю., Ястребов А.П., Осипенко А.В. Методика получения моноклеарной фракции клеток из плаценты лабораторных животных

Maklakova I.Y., Yastrebov A.P., Osipenko A.V.
**The prospect of using stem cell technologies to activate
regeneration of the intestinal epithelium of old
laboratory animals after radiation exposure**

Проведены исследования по постановке методики, позволяющей получать клетки с высокой жизнеспособностью. Данная методика рекомендуется для получения культуры ММСК из плаценты

Ключевые слова: плацента, мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, культивирование, выделение

Conducted research on the production technique, which allows to obtain cells with high viability. This technique is recommended for obtaining culture MMSC from the placenta

Key words: placenta-derived multipotent mesenchymal stromal cells, cultivation, separation

Маклакова Ирина Юрьевна

Кандидат медицинских наук, ассистент
Уральский государственный медицинский
университет
г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

Maklakova Irina Yurievna

Candidate of Medical Sciences, Assistant
Ural state medical university
Ekaterinburg, Repina st., 3

Ястребов Анатолий Петрович

Доктор медицинских наук, профессор
Уральский государственный медицинский
университет
г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

Yastrebov Anatoly Petrovich

Doctor of Medical Science, Professor
Ural state medical university
Ekaterinburg, Repina st., 3

Осипенко Артур Васильевич

Доктор медицинских наук, профессор
Уральский государственный медицинский
университет
г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

Osipenko Arthur Vasilievich

Doctor of Medical Science, Professor
Ural state medical university
Ekaterinburg, Repina st., 3

Перспективно использование ММСК в восстановлении регенерации мие-лоидной ткани после воздействия ионизирующего излучения. С целью полу-чения плацентарных ММСК были использованы лабораторные животные мы-ши – самки в сроке беременности 14 дней. Материнская часть плаценты (деци-дуальная оболочка) и амниотическая оболочка были удалены оперативным способом. С целью удаления крови плодная часть плаценты (хорион) была

промыта в Первичном растворе. Состав Первичного раствора: стерильный фосфатный буфер pH 7,2 – Dulbecco's phosphate buffered saline (DPBS; StemCell Technologies, Канада), содержащем раствор пенициллина 50 ед/мл, стрептомицина 50 мкг/мл (StemCell Technologies, Канада), 2 % FBS (Fetal Bovine Serum; StemCell Technologies, Канада). Хорион плаценты был помещен в чашку Петри диаметром 10 см с находящимся в ней раствором аккумулята (8,5 мл; Millipore, США) [2, 3]. Механическое измельчение ткани осуществлялось маленькими ножницами. Полученная суспензия была инкубирована на шейкере при медленном покачивании в течение 7 минут при температуре 37 °C. Раствор аккумулята обеспечивает разрушение межклеточных контактов, не повреждая при этом мембрану клеток. С целью удаления дебриса суспензия клеток была профильтрована через фильтры с размером пор 70 мкм (Millipore, США). Для отмывки клеток от раствора аккумулята было проведено центрифугирование при 300 g в течение 10 минут в стерильном фосфатном буфере pH 7,2 (DPBS; StemCell Technologies, Канада). После удаления супернатанта осадок был ресуспендирован в 6 мл DPBS. Суспензия клеток была нанесена на раствор лимфолайт-М (StemCell Technologies, Канада) в соотношении 1:1 и центрифугирована при 1000g в течение 20 минут. С целью отмывки клеток от лимфолайт-М было проведено центрифугирование при 300 g в течение 10 минут в двойном объеме стерильного фосфатного буфера pH 7,2 (StemCell Technologies, США). Клетки были ресуспендированы в специализированной среде для культивирования ММСК [1, 4]. Нулевой пассаж (первичная культура клеток) осуществляли в чашки Петри диаметром 10 см (площадью 78,5 см²) в концентрации 1 × 10⁶ клеток на 1 см². Жизнеспособность выделенных клеток составила 95 – 97 %. Таким образом, данная методика рекомендуется для получения культуры ММСК из плаценты.

Список литературы:

1. Гребнев Д.Ю. Влияние цитопротективной терапии тизолом на процессы регенерации миелоидной ткани и эпителия тощей кишки при воздействии ионизирующего излучения: дис. на соискание ученой степени кандидата медицинских наук: 14.00.16. Уральская государственная медицинская академия. Екатеринбург, 2006. 208 с.
2. Гребнев Д.Ю. Перспектива применения сочетанной трансплантации стволовых клеток для восстановления гемопоэза // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. № 3 (40). С. 67-68.
3. Крашенинников М.Е. Использование мезенхимальных стволовых и прогениторных клеток костного мозга для разработки новых биотехнологий в трансплантологии: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Москва 2006. 29 с.
4. Ястребов А.П., Гребнев Д.Ю., Маклакова И.Ю. Экспериментальное обоснование использования сочетанной трансплантации стволовых клеток для коррекции регенерации быстрообновляющихся тканей после лучевого повреждения // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2012. № 2(39). С. 141.