

Методы выделения и культивирования мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани для дифференцировки их в адипогенном и остеогенном направлении.



Петухова Мария

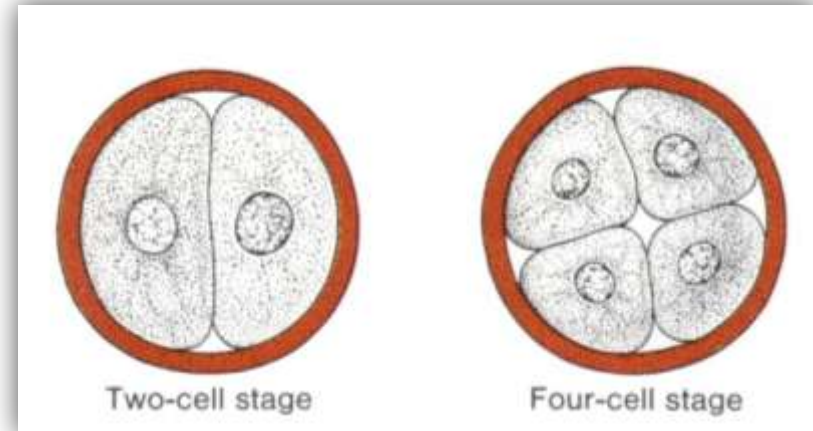
10 Л класс

Научные руководители:

врач акушер-гинеколог, к.м.н., Борисова А.В.;

с. н. с., к.б.н. Семина Е. В.

Что такое стволовые клетки?



Стволовые клетки – это недифференцированные клетки предшественники, способные самообновляться и дифференцироваться в зрелые специализированные клетки.

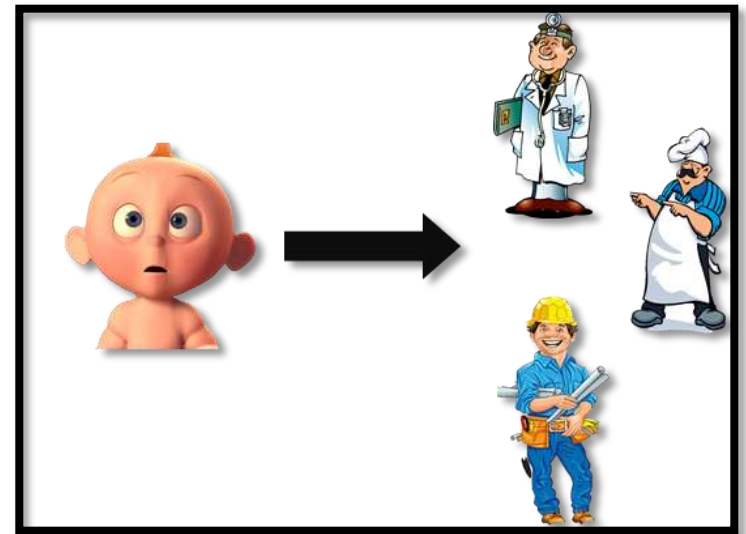
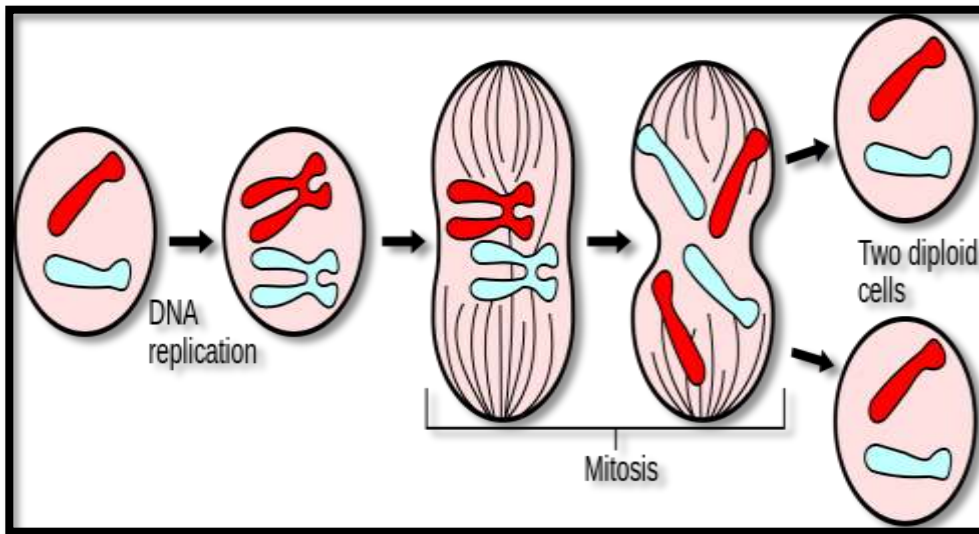
История открытия стволовых клеток



- Максимов А.А. (1874 – 1928) – выдающийся российский учёный, гистолог и эмбриолог, член-корреспондент РАН.
- Впервые предположил, что в костном мозге присутствуют клетки, способные поддерживать клеточный состав крови
- Впервые ввёл термин «стволовая клетка».

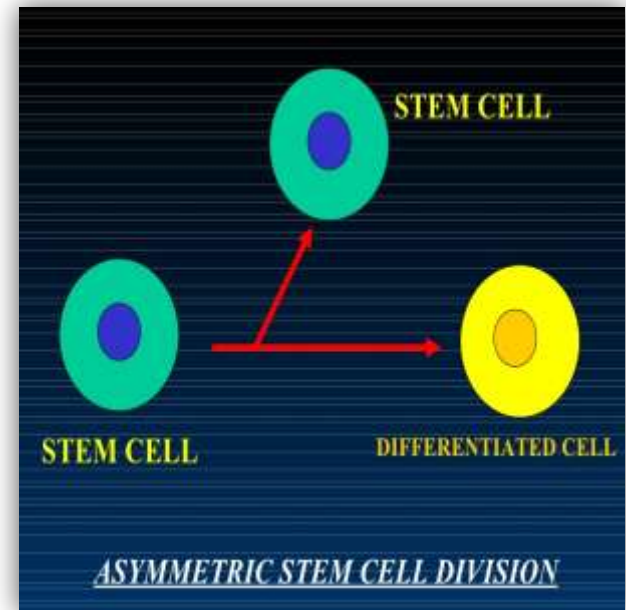
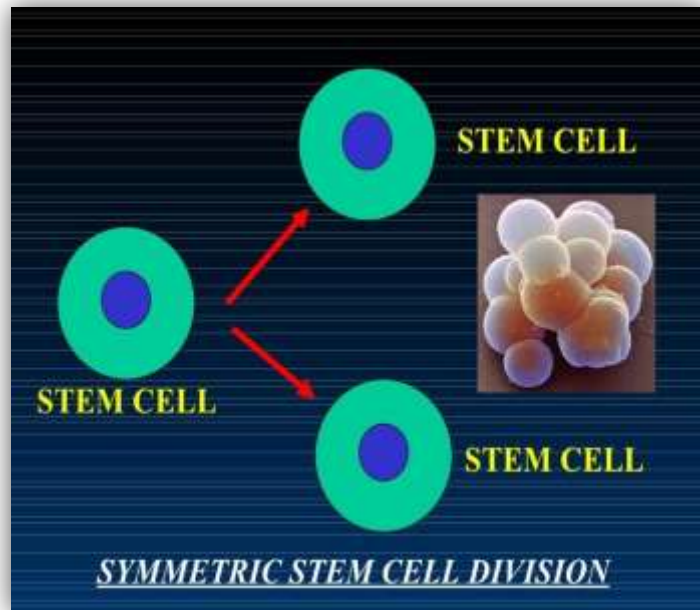
Уникальные свойства стволовых клеток

- СК – недифференцированные клетки;
- СК **делятся путем митоза**, воспроизводя себе подобные клетки
 - могут так делиться в течение длительного времени;
 - могут начать делиться после длительного периода покоя;
- СК под воздействием определённых факторов (травма, химическое поражение, тканезамещение в результате потери) могут дифференцироваться в любые клетки организма: миоциты, гепатоциты, нейроны, кардиомиоциты, фибробласты и т.д.



Деление стволовых клеток

- Симметричное – клетки делятся митозом и получается две одинаковые стволовые клетки;
- Асимметричное – одна клетка делится и получается одна новая СК и одна частично детерминированная/дифференцированная клетка.

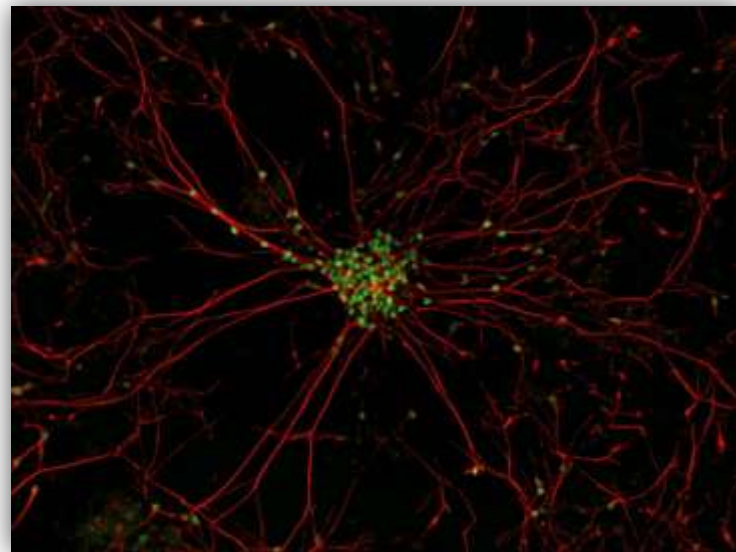


Классификация (типы) стволовых клеток

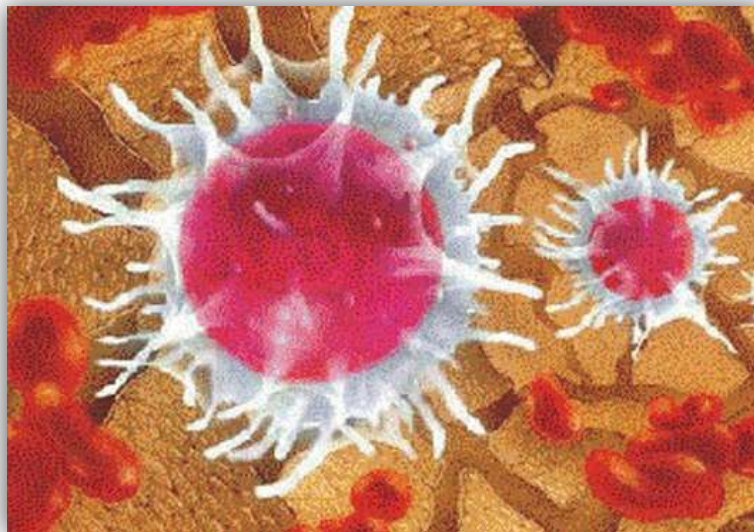
- Эмбриональные



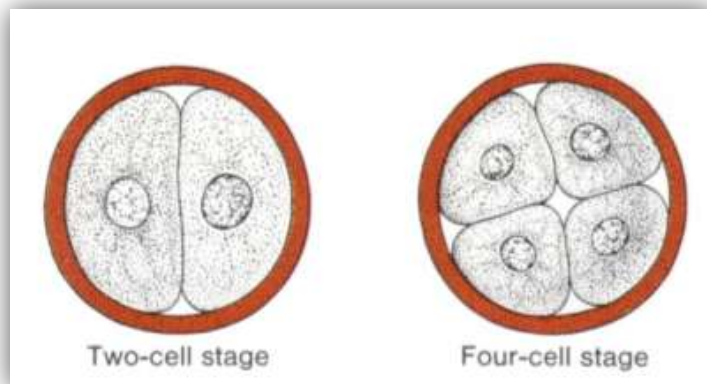
- Индуцированные



- Неэмбриональные

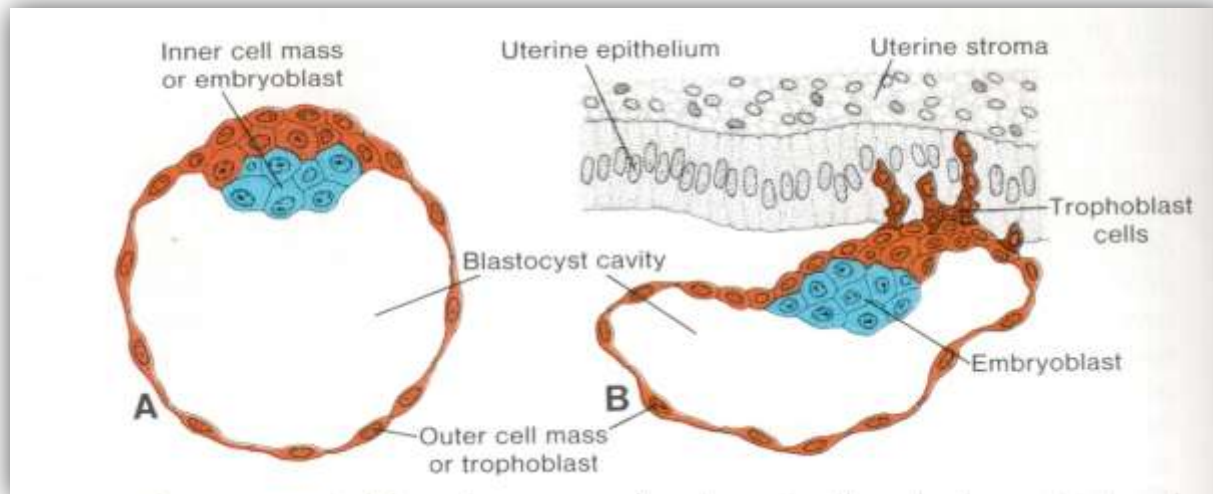


Что такое эмбриональные стволовые клетки? Откуда они берутся?



Это клетки, образующиеся:

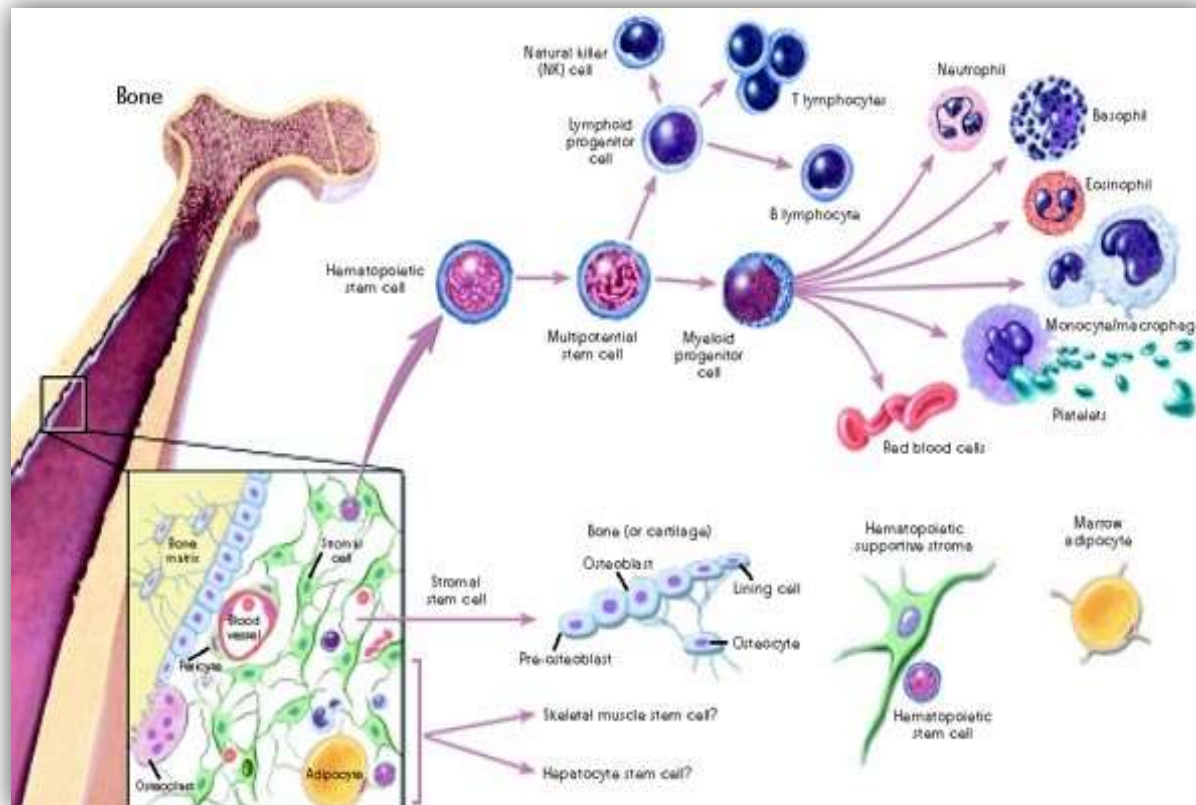
- в первые 2-3 недели после оплодотворения яйцеклетки
- из внутренней клеточной массы бластоцисты.



Что такое незэмбриональные (соматические, взрослые) стволовые клетки?

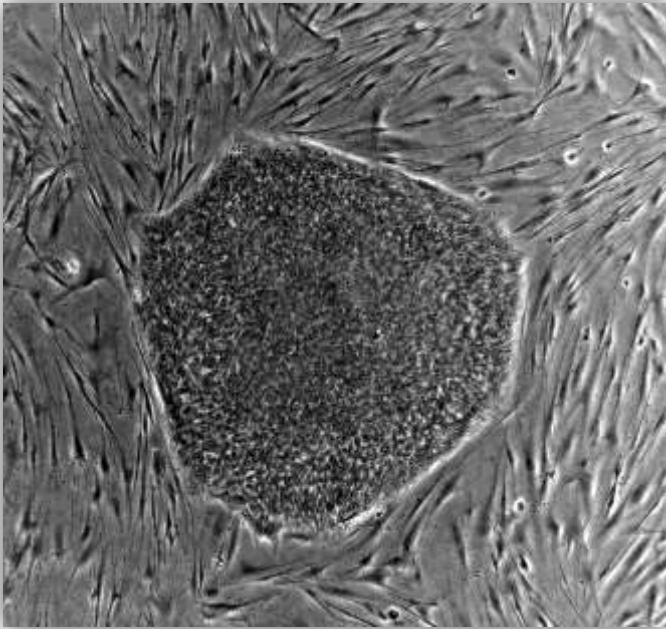
Это клетки, образующиеся

- в кроветворных органах и крови;
- в тканях кожи, сосудов, нервной ткани и т. д.



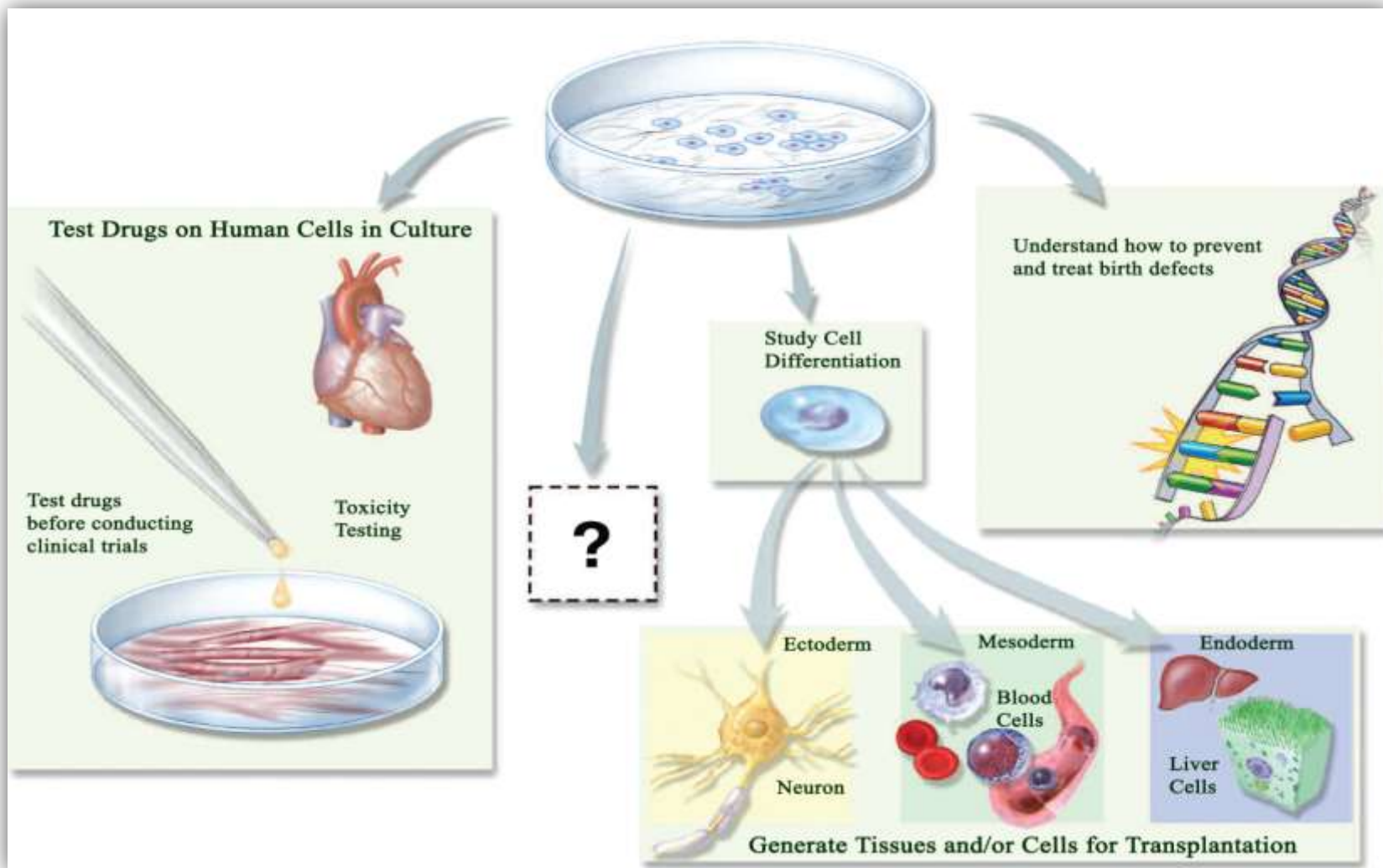
Что такое индуцированные стволовые клетки?

Это специализированные соматические клетки, перепрограммированные в стволовые.



Профессор Яманака Синъя. Нобелевская премия 2012 года по физиологии и медицине (биологическая «машина времени»!)

Использование Человеческих СК



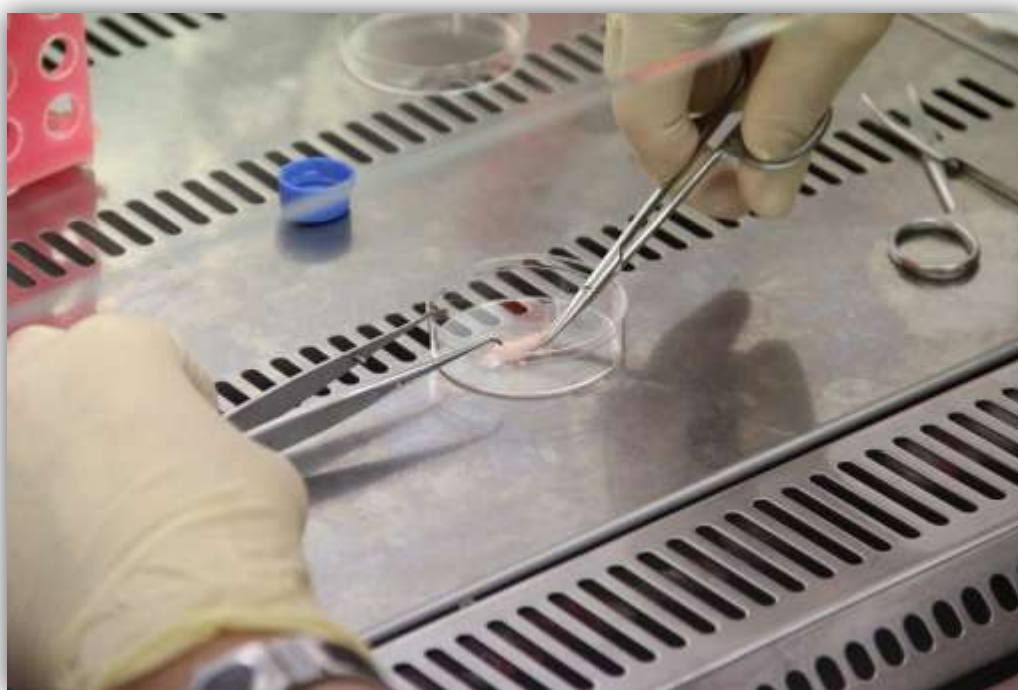
Цель:

Изучить способность стромальных клеток жировой ткани дифференцироваться в остеогенном и адипогенном направлении.

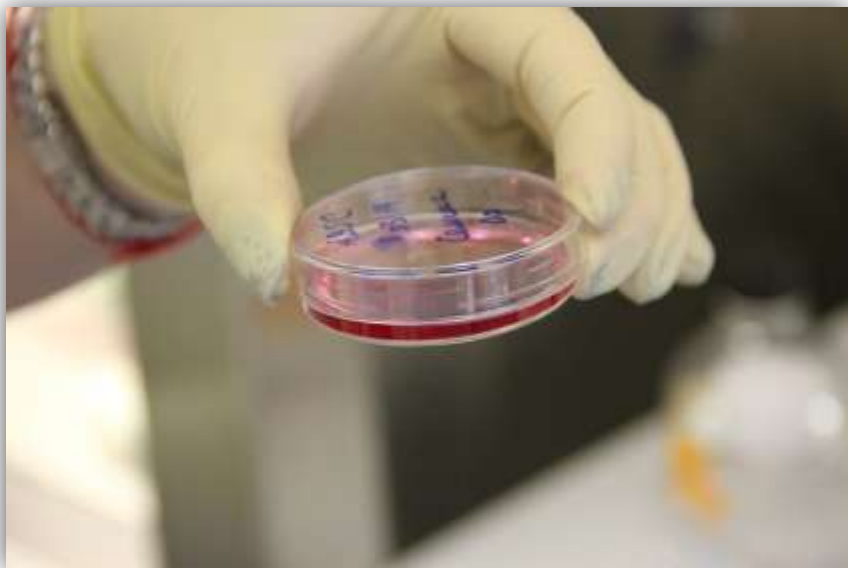
Задачи:

- ☐ Выделить мезенхимальные стромальные клетки жировой ткани мышцы (МСК-ЖТ мышцы).
- ☐ Культивировать МСК-ЖТ мышцы.
- ☐ Дифференцировать МСК-ЖТ мышцы с помощью коммерческих наборов
- ☐ Оценить дифференцировку МСК-ЖТ в адипогенном и остеогенном направлении с помощью окрашивания Oil Red O (липиды, жировые капли) и Alizarin S (отложение солей кальция).

Выделение мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани мышцы (МСК-ЖТ мышцы).



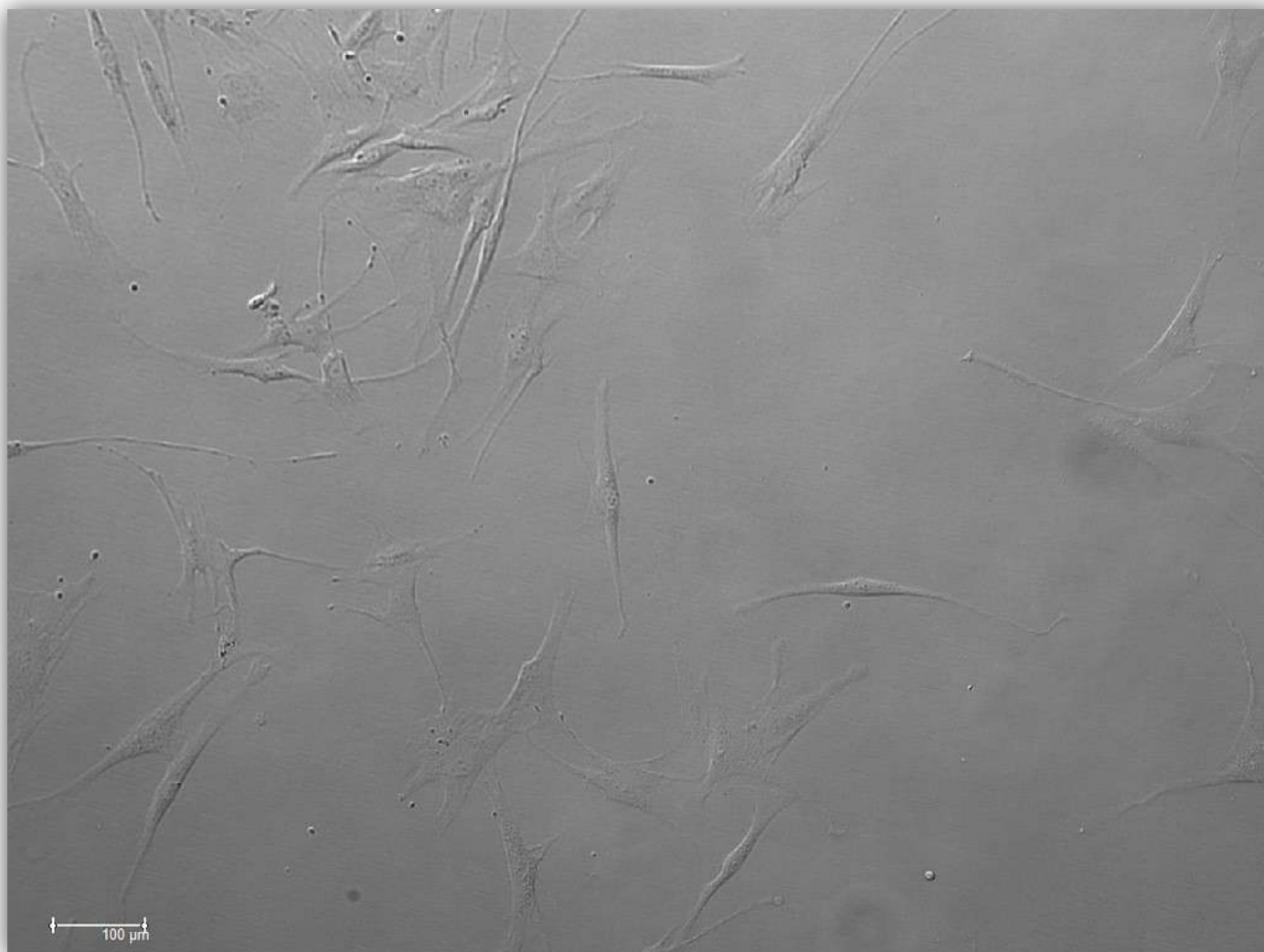




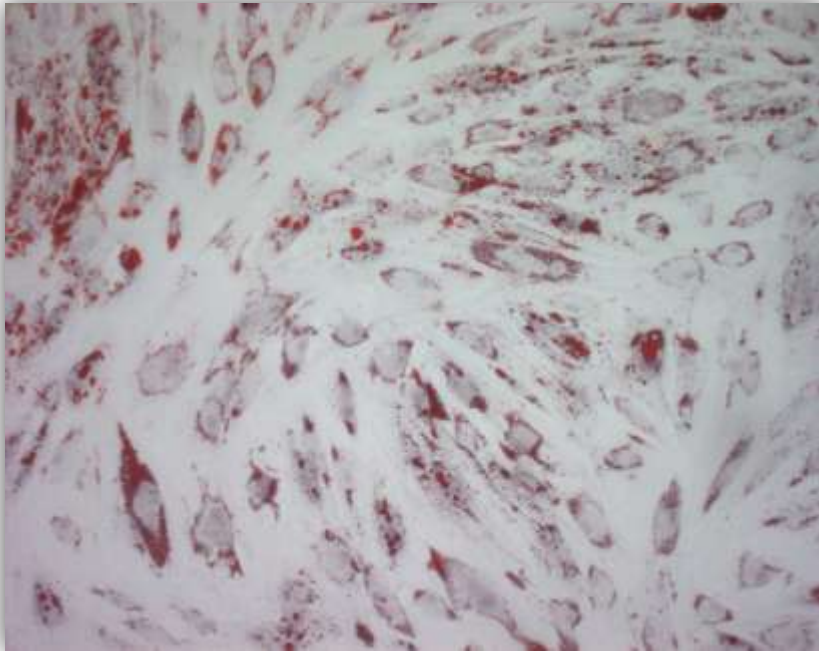
Культивирование мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани мыши.



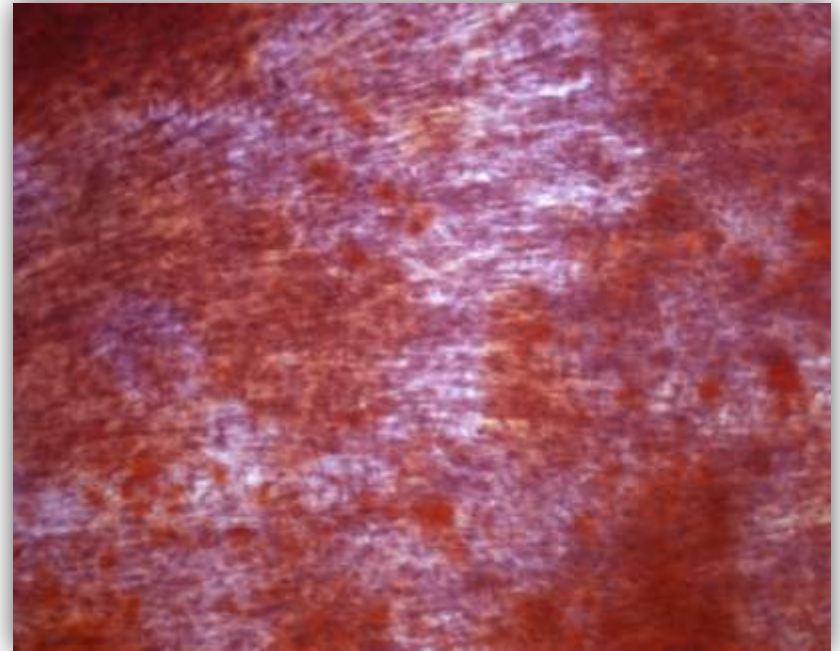
- Фотография МСК – ЖТ первого пассажа в редком монослое, сделанная с использованием светового микроскопа. Объектив x20.



Для дифференцировки клеток в адипоцитарном и остеогенном направлении использовали: Mesenchymal Stem Cell Protocol: Adipogenic Differentiation Thermo Scientific (USA) и Mesenchymal Stem Cell Protocol: Osteogenic Differentiation Thermo Scientific (USA).



- Окрашивание клеток МСК-ЖТ Oil Red О для подтверждения адипогенной дифференцировки.



- Окрашивание клеток МСК-ЖТ Alizarin Red S для подтверждения остеогенной дифференцировки.

ВЫВОДЫ

- Таким образом, стромальные клетки, выделенные из жировой ткани, являются клетками, способными дифференцироваться, как минимум, в двух направлениях – остеогенном и адипогенном.
- Жировая ткань, из которой выделены эти клетки, содержит пул стромальных клеток, способных, при определенных условиях, к дифференцировке в специализированные зрелые клетки.
- Использование таких клеток для замещения повреждённой ткани, а также для активации регенерации, является перспективным направлением в современной медицине.

Спасибо за внимание!