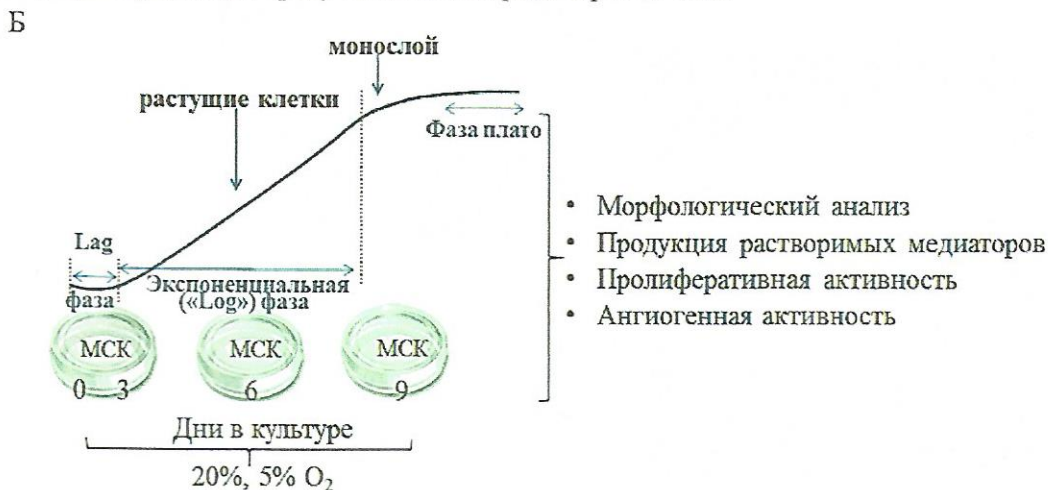
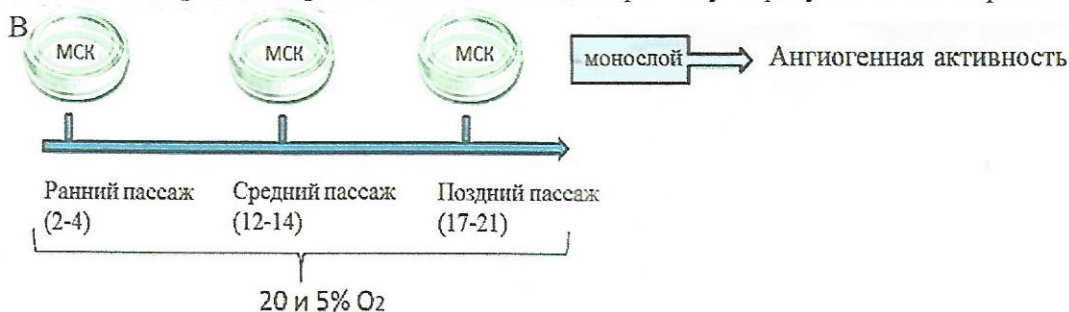


Сразу после пассирования клетки помещали в среду α -MEM с различной концентрацией ФТС. Кондиционированную среду от МСК собирали через 72 часа.



МСК культивировали в среде α -MEM. Кондиционированную среду от МСК собирали на 3, 6 и 9 сутки.



МСК культивировали в среде α -MEM и пассировали до 22-го пассажа. Кондиционированная среда была предоставлена сотрудниками лаборатории клеточной физиологии ГНЦ РФ-ИМБП РАН, для анализа ее собирали на 9 сутки на 2-4, 12-14 и 17-21 пассаже.

Рисунок 2.1. Схемы экспериментов по оценке влияния:

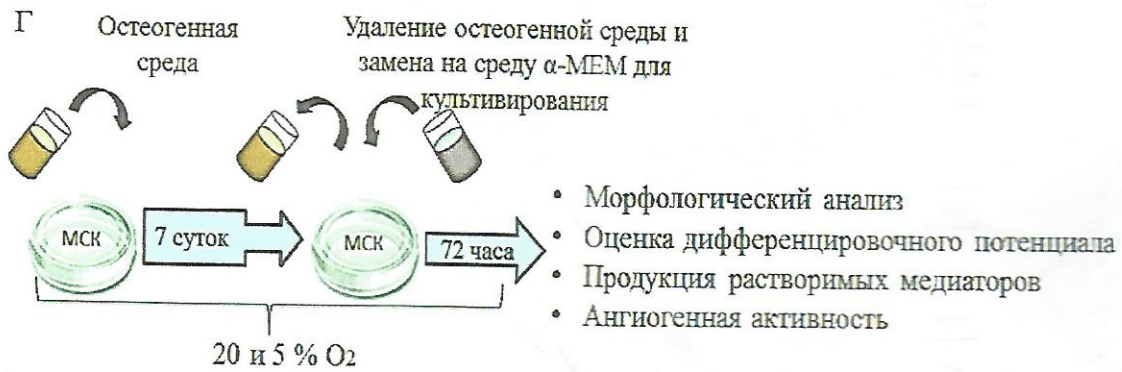
А - концентрации ростовых факторов fetal calf сывороки (ФТС) на ангиогенную активность мезенхимальных стромальных клеток (МСК)

Б - фазы роста мезенхимальных стромальных клеток (МСК) в культуре на их ангиогенную активность

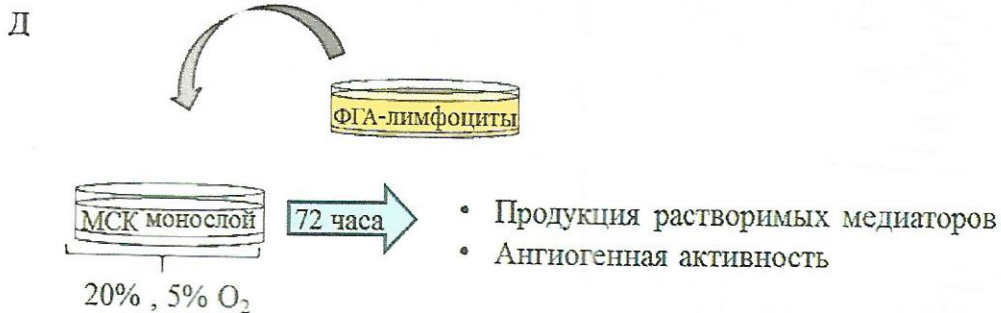
В - длительности культивирования мезенхимальных стромальных клеток (МСК) на их ангиогенную активность

Г - остео - дифференцировки на ангиогенные свойства мезенхимальных стромальных клеток (МСК)

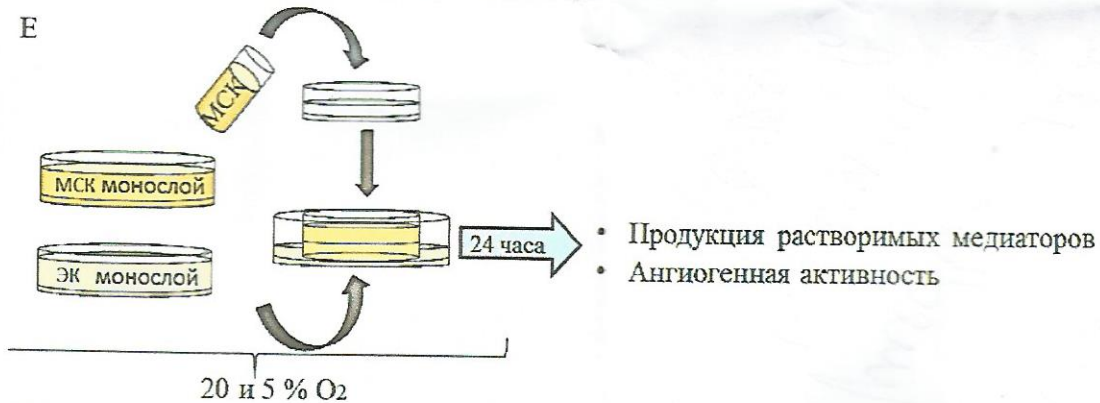
Д, Е - ангиогенной активности кондиционированной среды, после взаимодействия митоген-стимулированных лимфоцитов (ФГА-лимфоциты) и мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и после взаимодействия эндотелиальных и мезенхимальных стромальных клеток (ЭК и МСК).



МСК инкубировали в среде α-MEM с остеоиндукторами в течении 7 суток, затем на 72 часа заменяли на среду α-MEM для культивирования МСК.



МСК, достигшие 80% конfluентности и прошедшие фазу активного деления, сокультивировали в течении 72 часов с ФГА-лимфоцитами в среде RPMI-1640 (5 % ФТС). Контролем служили клетки в монокультуре (МСК, ФГА-лимфоциты). Кондиционированная среда была предоставлена сотрудниками лаборатории клеточной физиологии ГИЦ РФ-ИМБП РАН.



МСК сокультивировали с ЭК, достигшими 80% конfluентности и прошедшими фазу активного деления. Чтобы избежать прямого клеточного контакта, МСК и ЭК отделяли полупроницаемой мембраной-вставкой «трансвелл» (диаметр пор 0,4 мкм) (Costar, США). Контролем служили клетки в монокультуре (МСК, ЭК). Кондиционированную среду собирали через 24 часа.

Рисунок 2.1. Продолжение.

2. 6 Методы исследования

2.6.1. Иммуноцитохимическое окрашивание клеток

Для анализа экспрессии антигенов на проточном цитофлуориметре суспензию мезенхимальные стромальные и эндотелиальные клетки открепляли от пластика раствором