

Опыты с хондроитин сульфатом

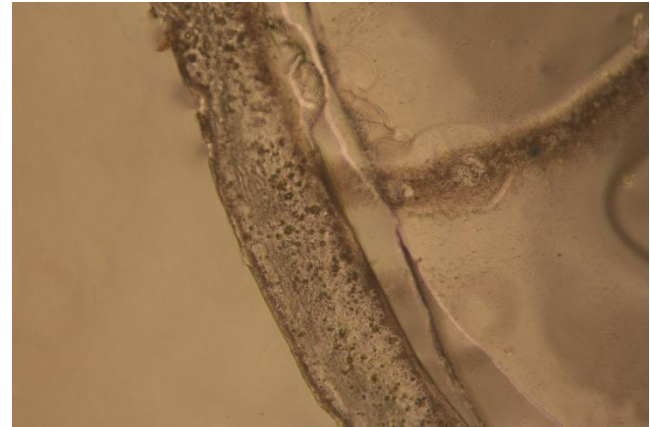
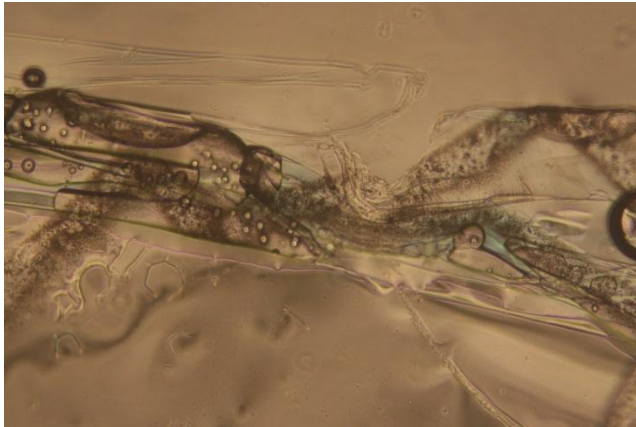
Цель: определить, влияет ли модификация полилактида хондроитин сульфатом на МСК.

Задачи:

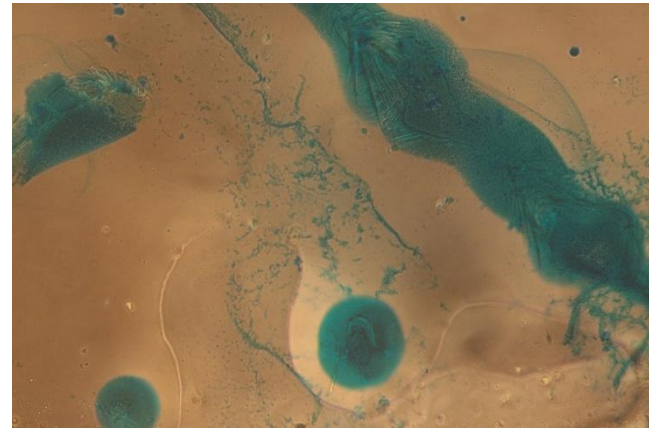
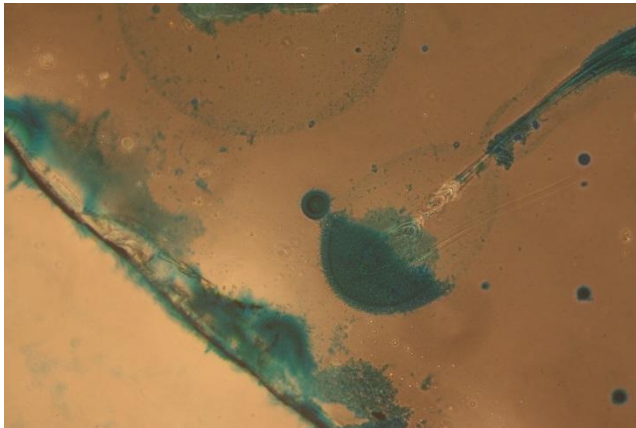
- 1) Проверить окрашивание ли хс альциановым синим или толуидиновым синим;
- 2) проверить влияние на адгезию МСК к Пл пленках с ХС;
- 3) Определить интенсивность окраски толуидиновым синим при однократном, двукратном, трехкратном нанесении хс;
- 4) проверить, влияет ли хс на выработку белков ВКМ при дифференцировке МСК и без нее.

1. Окраска хс

- 10 минут окраски, альциановый синий

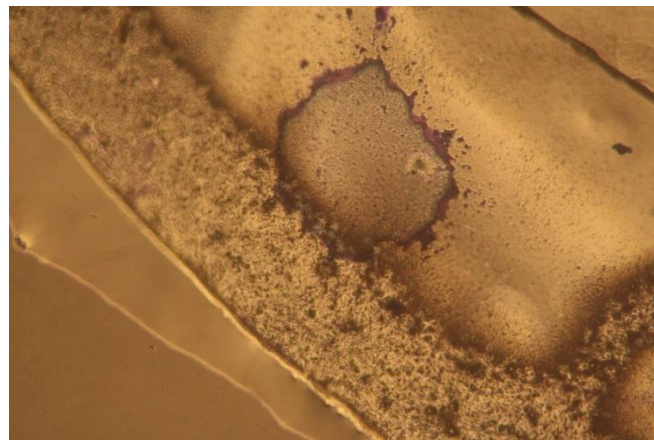


Контроль. Окраски нет, немного красителя можно увидеть в складках полилактида.

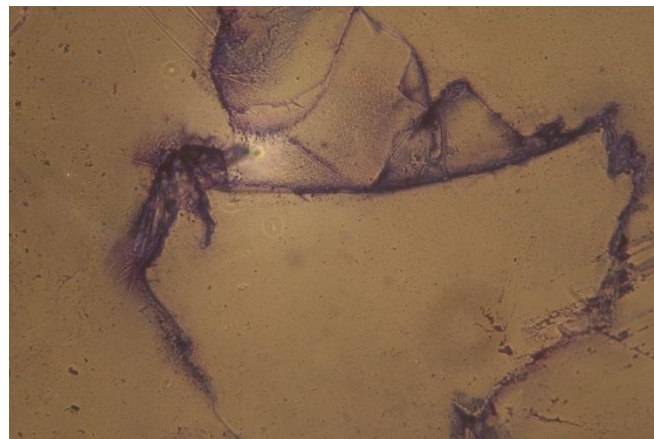
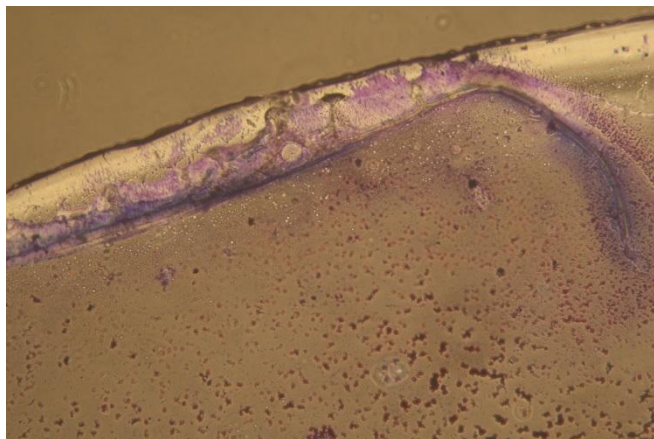


ПЛ с ХС. Есть окраска по краям, в складках, и локальными пятнами.

10 минут окраски, толуидиновый
синий

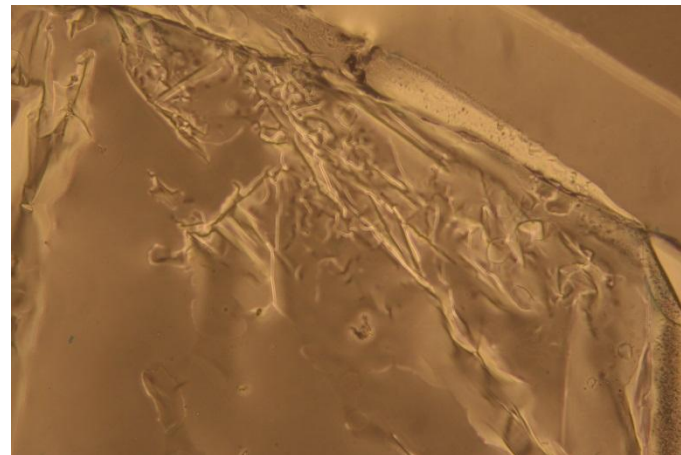
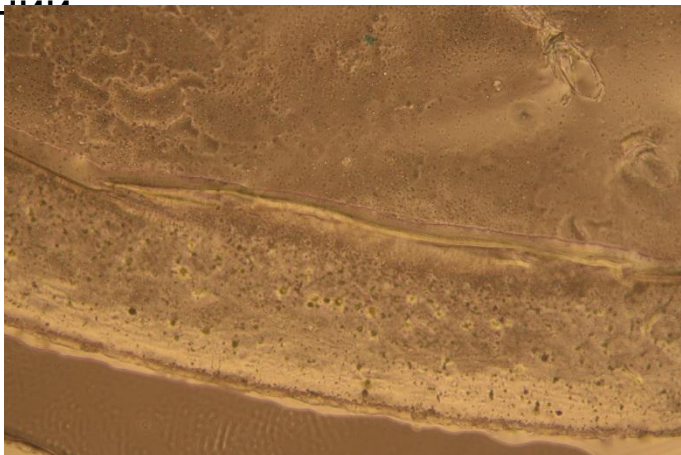


Контроль. Окраски нет, немного красителя в складках.

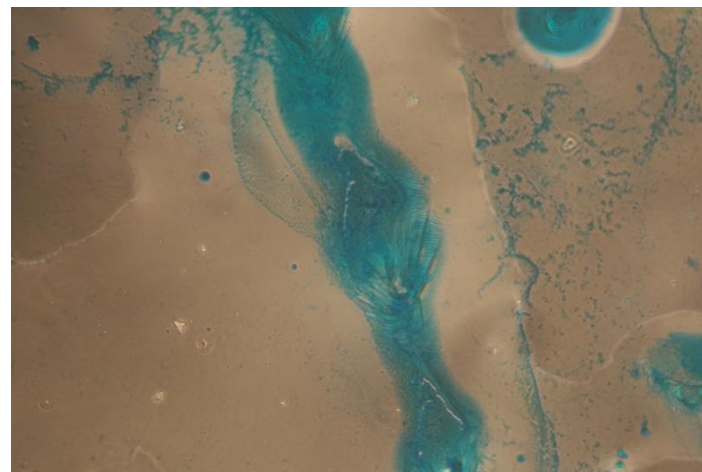
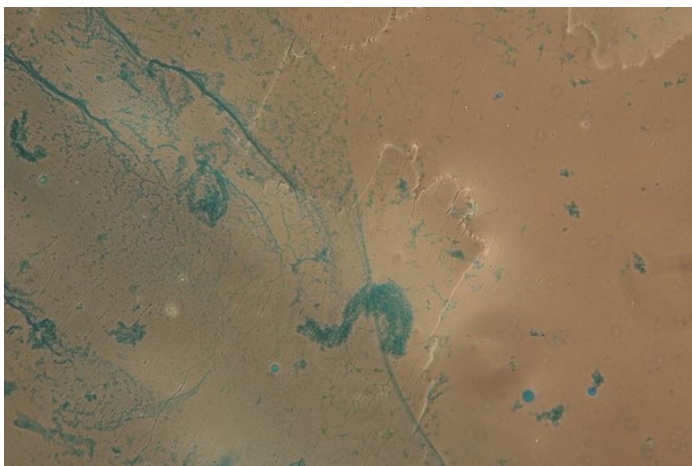


ПЛ с ХС. Есть окраска по краям, в складках, и локальными пятнами.

60 минут окраски, альциановый
синий



Контроль. Окраски нет.



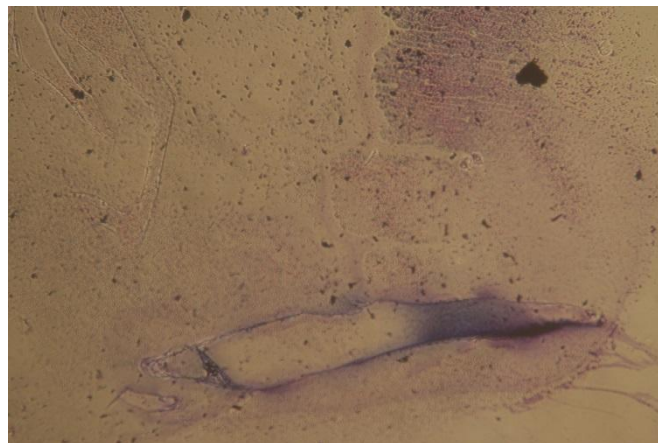
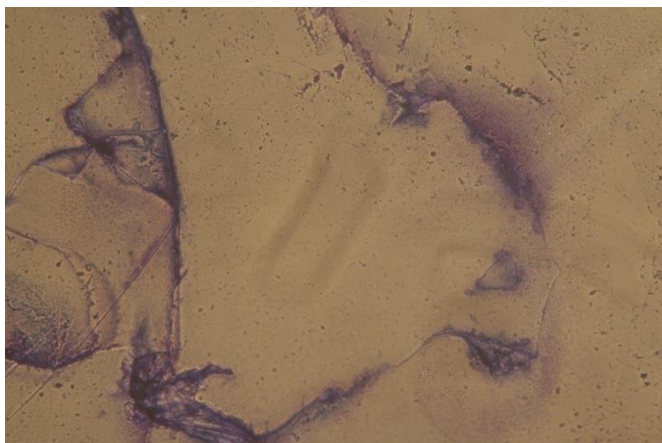
ПЛ с ХС. Есть окраска по краям, в складках, и локальными пятнами.

60 минут окраски, толуидиновый

с



Контроль. Окраска неспецифическая, застрявший в складках краситель.


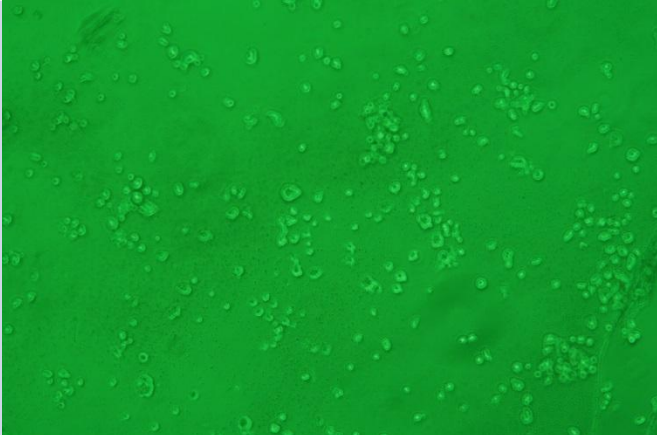

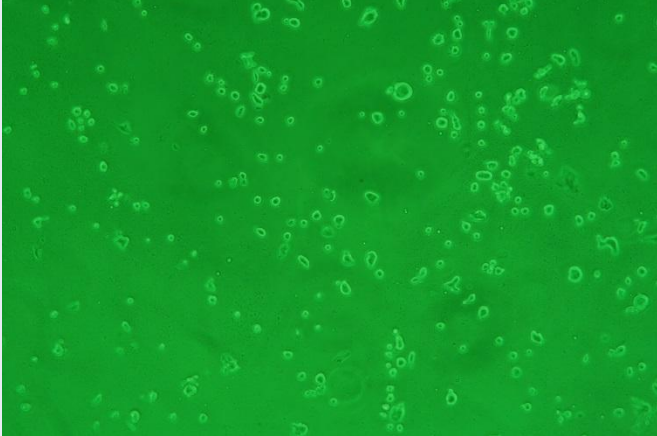


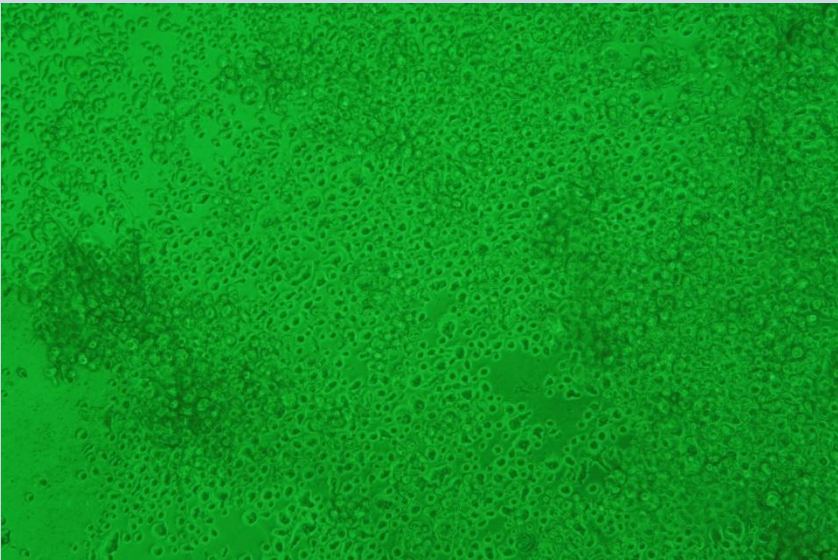
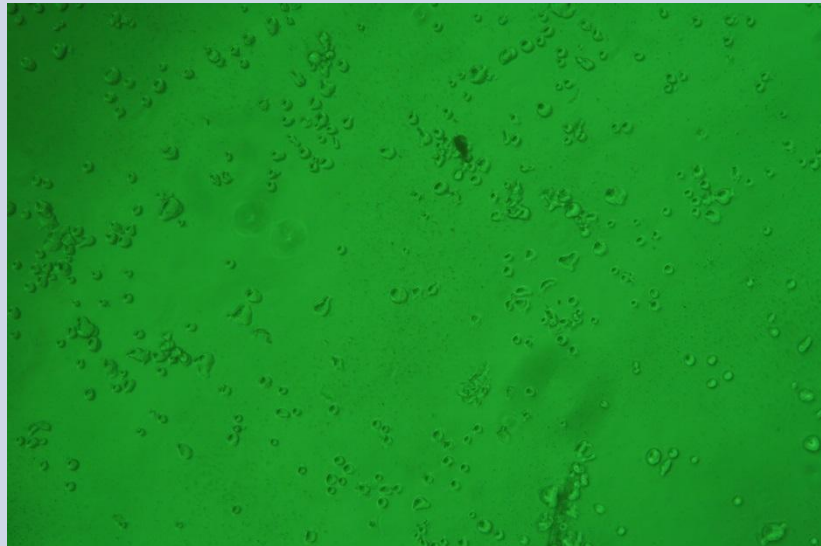


ПЛ с ХС. Есть окраска по краям, в складках, и локальными пятнами, точками.

- 1. Выводы:
- ХС выявляется красителями внеклеточного вещества хряща.
- 10 минут достаточно для окраски.
- ХС наносится неравномерно – сделать нанесение несколько раз (след. этап)

2. Влияние на адгезию.

- 4 варианта – ПЛ с каплей суспензии, ПЛ залит средой с клетками, ПЛХС с каплей суспензии, ПЛХС залит средой с клетками (проверка смываемости ХС средой во время

0 мин	Капля суспензии	Среда
ПЛ	 Micrograph showing a dense, uniform layer of green fluorescent cells on a flat surface (PL) with a drop of suspension.	 Micrograph showing a sparse, irregular distribution of green fluorescent cells on a flat surface (PL) in a medium.
ПЛХС	 Micrograph showing a dense, uniform layer of green fluorescent cells on a flat surface (PLHS) with a drop of suspension.	 Micrograph showing a sparse, irregular distribution of green fluorescent cells on a flat surface (PLHS) in a medium.

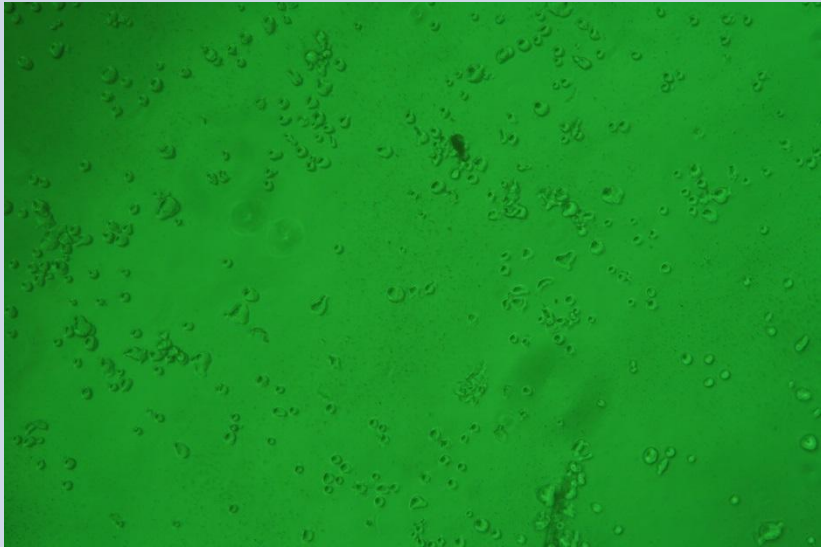
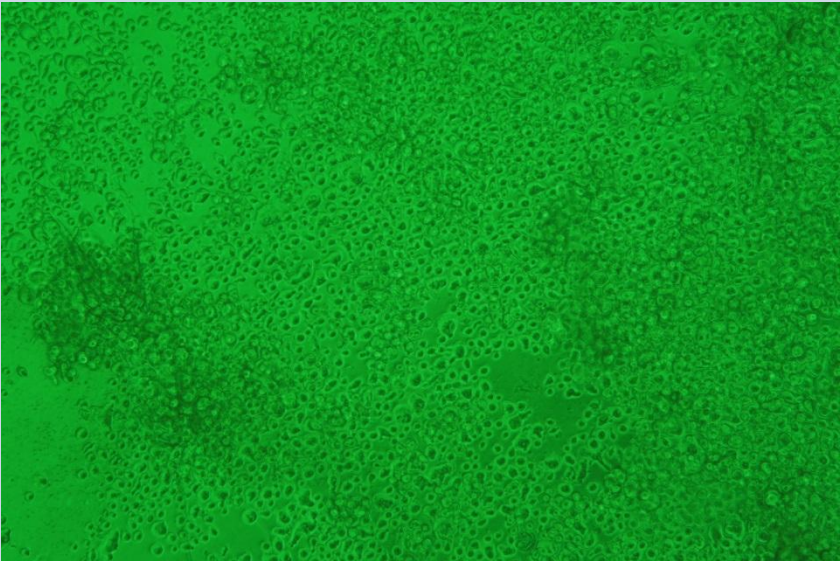
10 МИН	Капля суспензии	Среда
ПЛ		
ПЛХС		

10
МИН

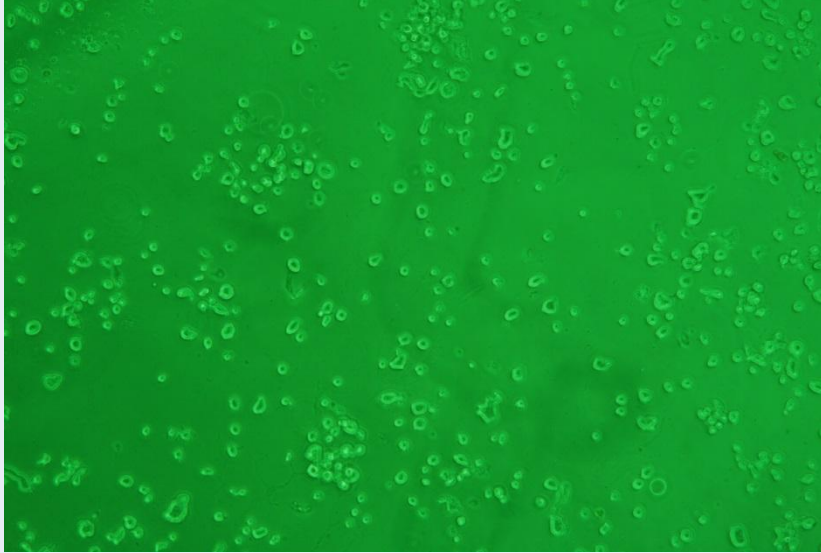
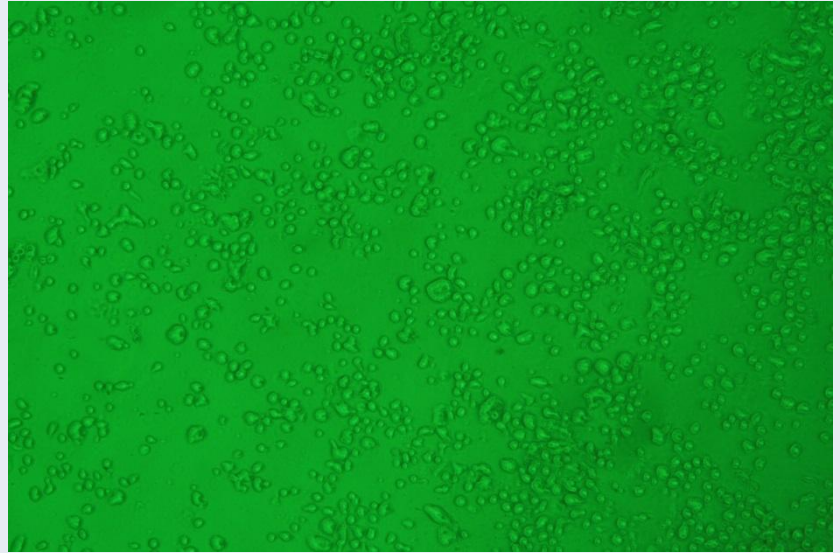
Капля суспензии

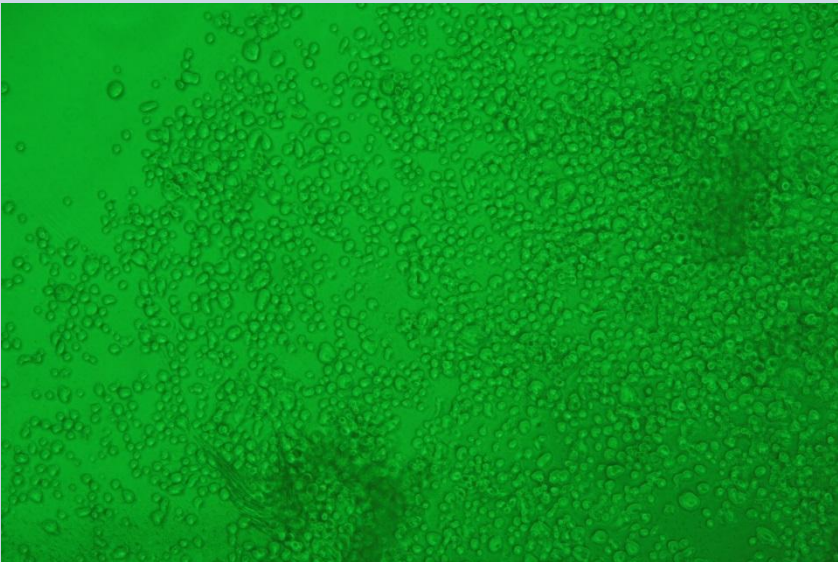

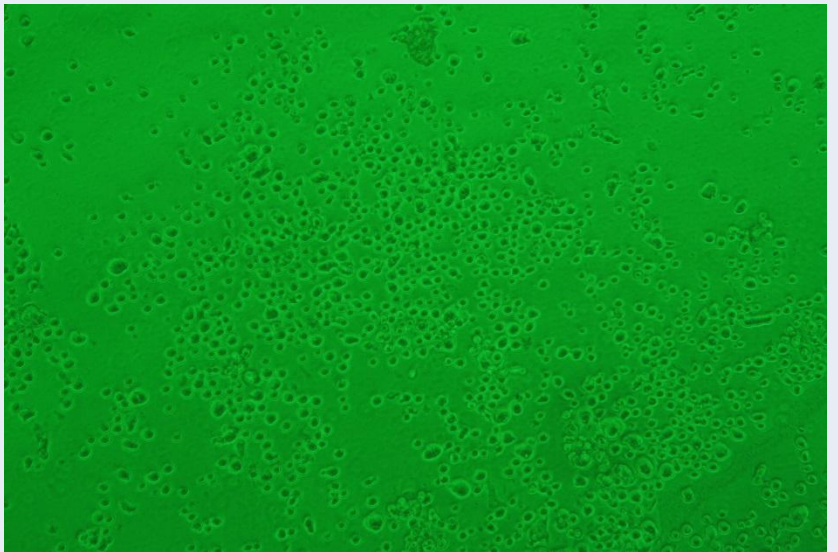
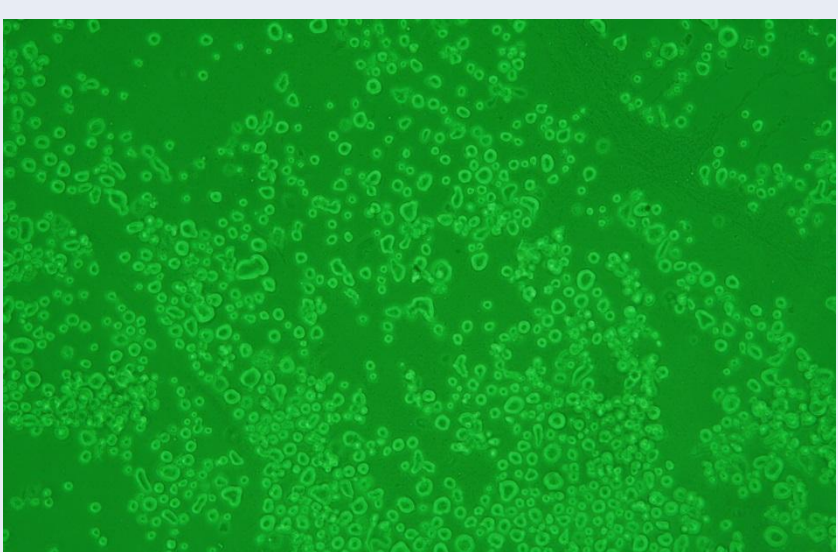
Среда


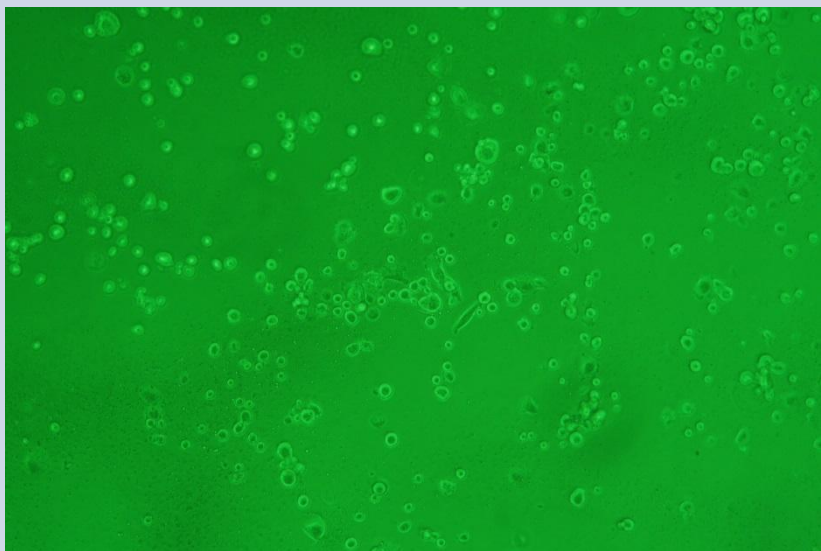
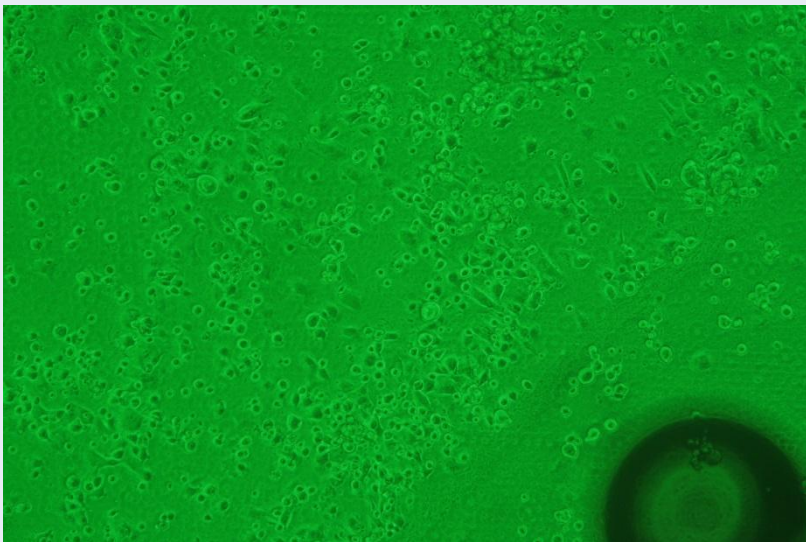
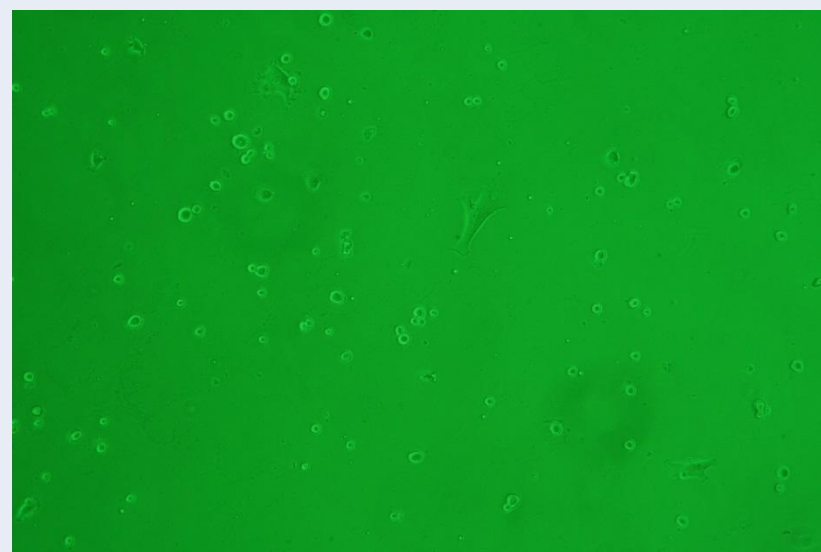
ПЛ



ПЛХС



40 МИН	Капля суспензии	Среда
ПЛ		
ПЛХС		

120 МИН	Капля суспензии	Среда
ПЛ		
ПЛХС		

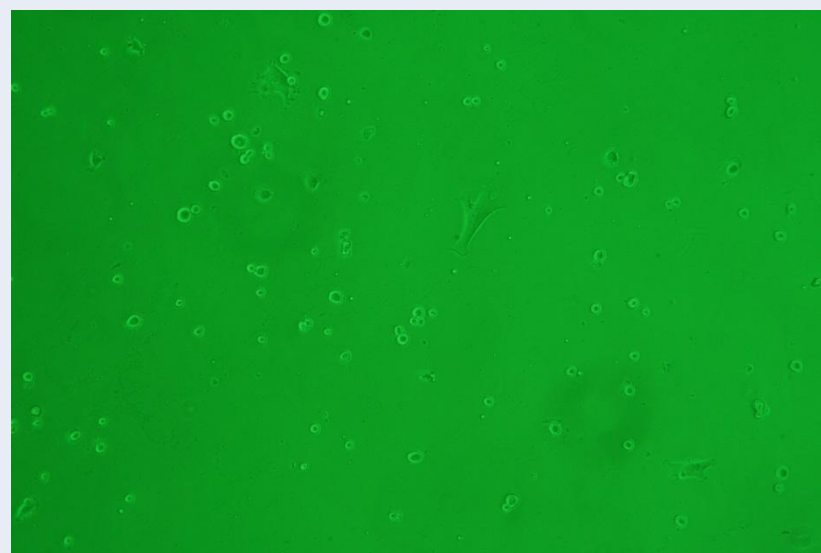
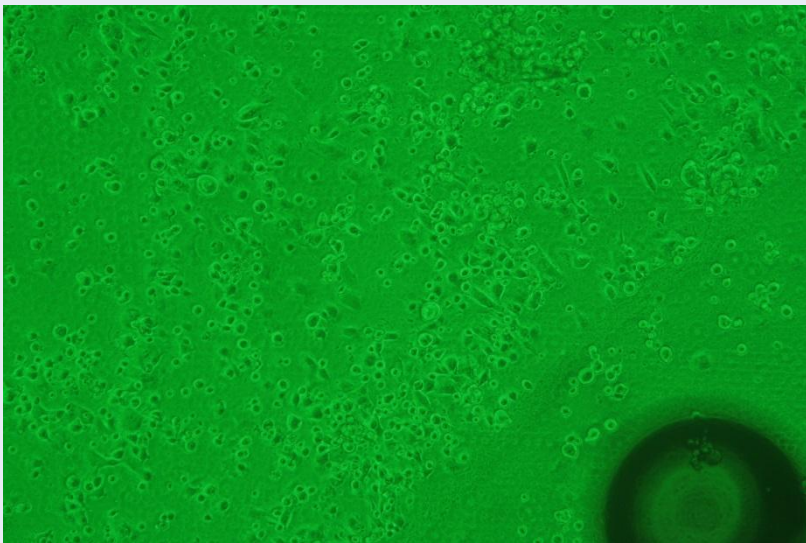
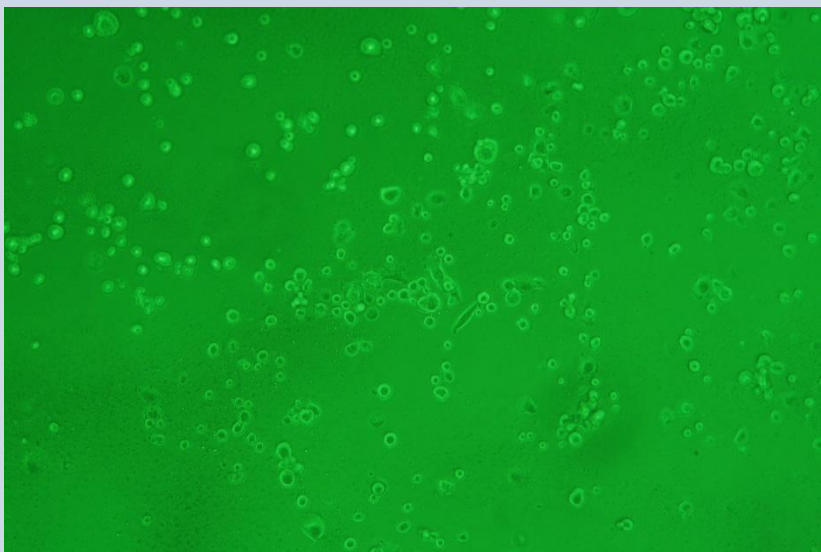
120
МИН

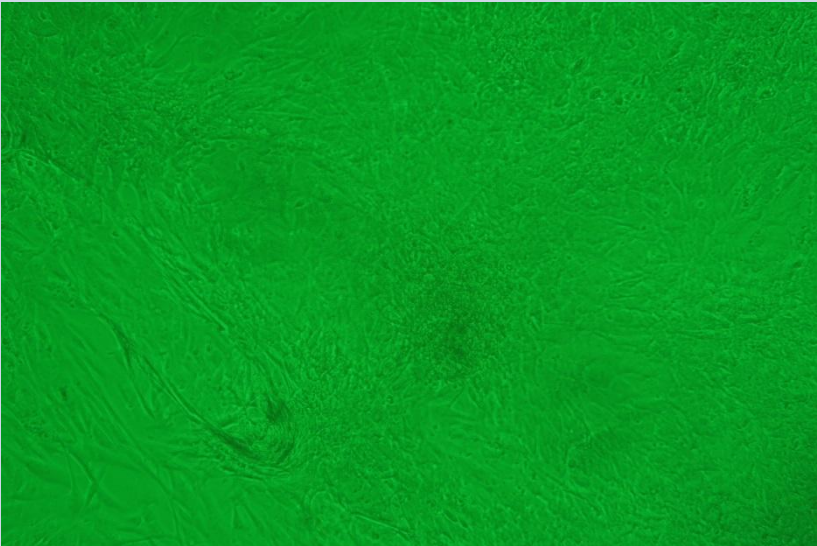
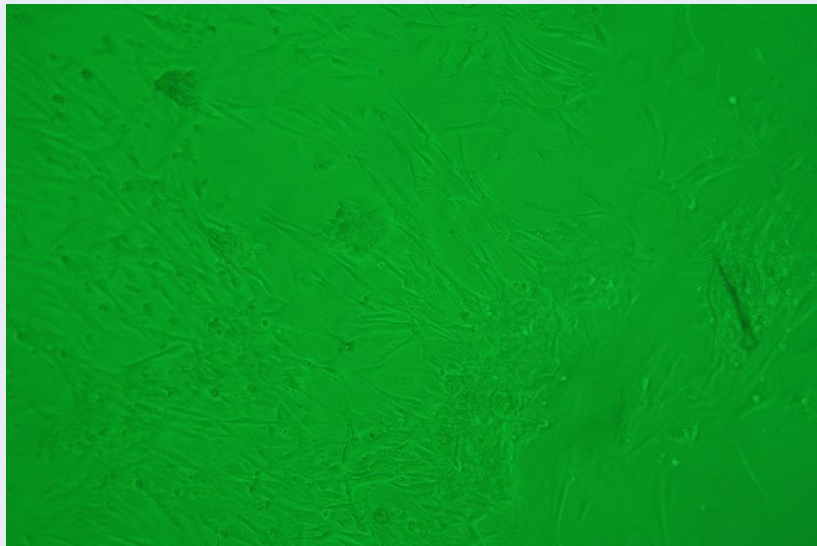
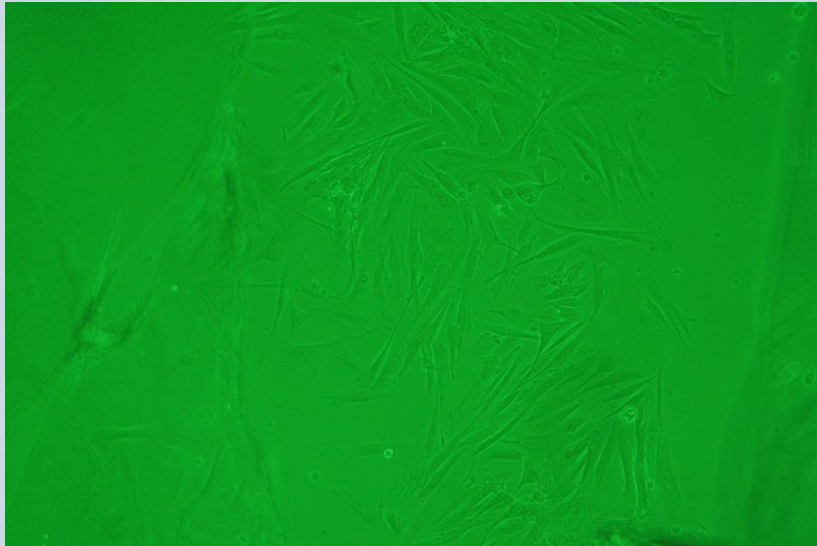
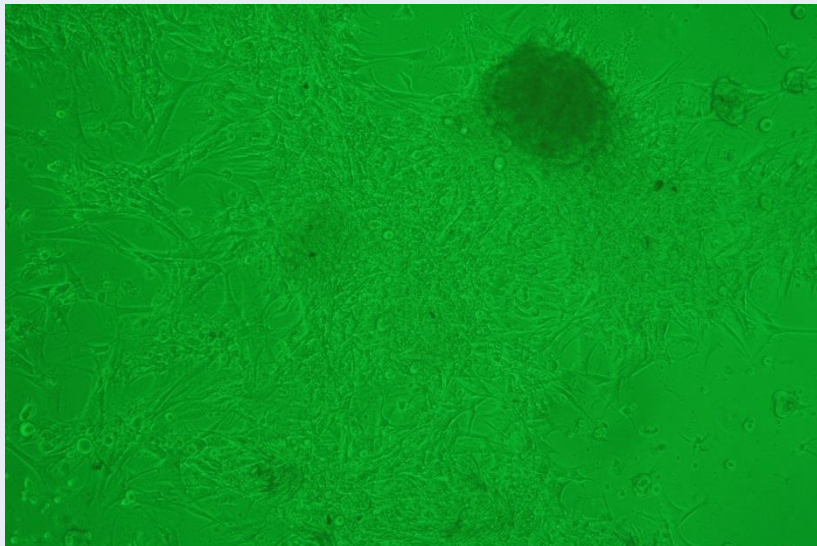
Капля суспензии

Среда

ПЛ

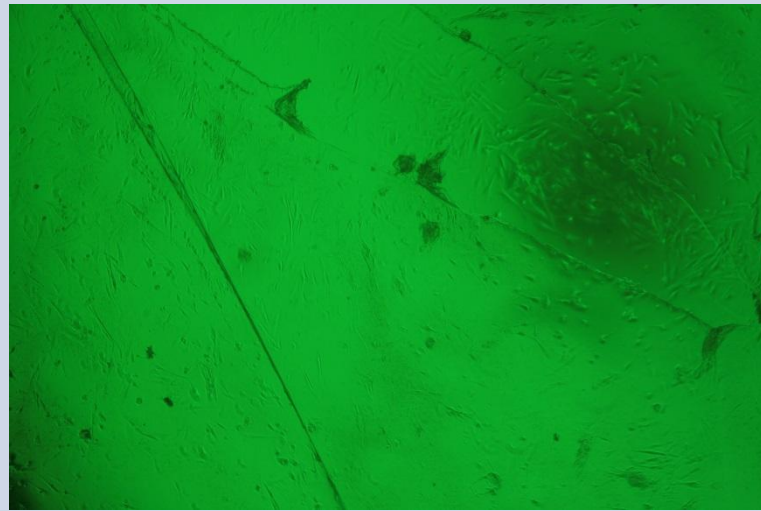
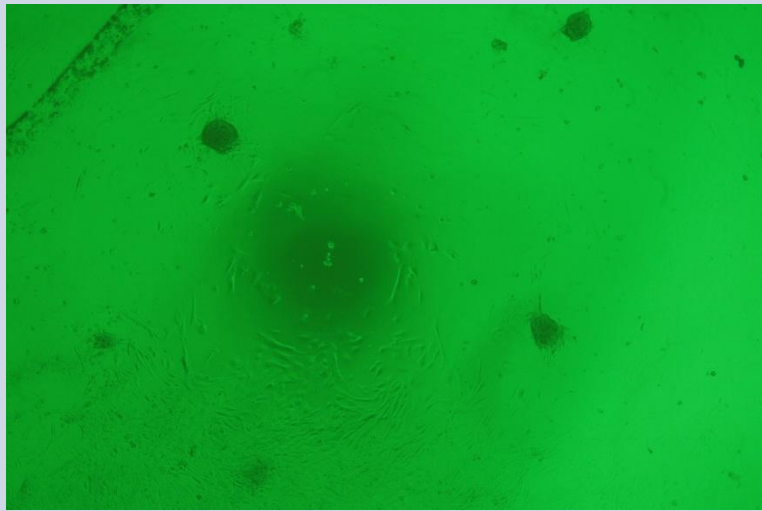
ПЛХС



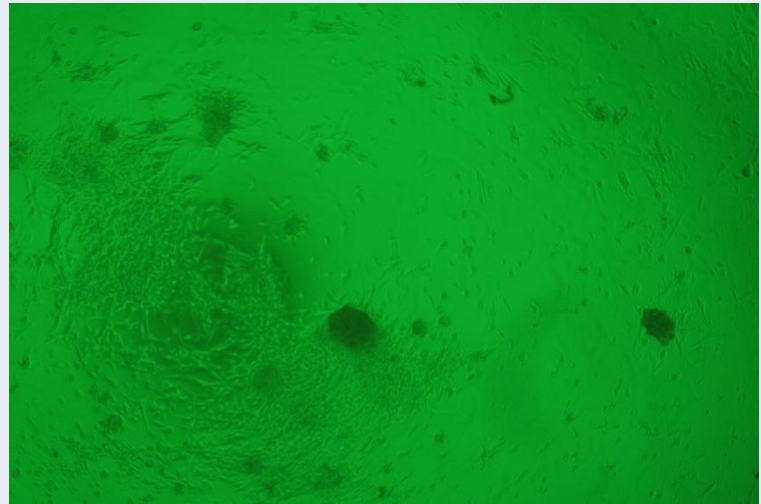
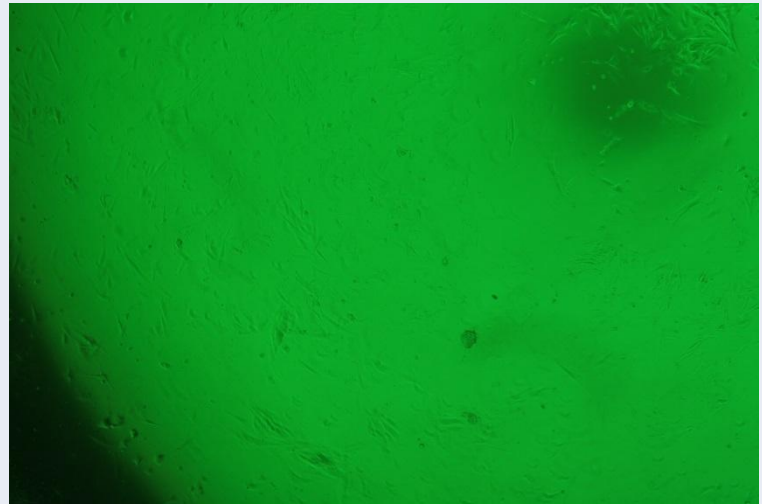
1 сут	Капля суспензии	Среда
ПЛ	 Micrograph showing PL cells in a suspension drop. The cells are elongated and spindle-shaped, densely packed in the center of the drop, with some darker spots.	
ПЛХС	 Micrograph showing PLXS cells in a suspension drop. The cells are elongated and spindle-shaped, densely packed in the center of the drop, with some darker spots.	
		 Micrograph showing PL cells in a medium. The cells are elongated and spindle-shaped, densely packed in the center of the drop, with some darker spots.
		 Micrograph showing PLXS cells in a medium. The cells are elongated and spindle-shaped, densely packed in the center of the drop, with some darker spots.

1 сут	Капля суспензии	Среда
-------	-----------------	-------

ПЛ



ПЛХС



- 2. Выводы:
- Заметных различий в скорости адгезии клеток с ПЛХС и ПЛ не обнаружено.
- И с ПЛХС и с ПЛ через сутки образуются сфероиды.

План

- 1. 1-,2-,3-кратное нанесение ХС (1 мг/мл) по 250 мкл, сушка 1 сут, УФ
- 4 стекла, окраско толуид синим (10 мин)
- Обработка и стерилизация стекол с ПЛ и ХС? (спирт, КФ, озон –есть ли влияние?)
 - 8 стекол (4 –хондр среда, 4 –ростовая), (2 ПЛ, 2 ПЛ-ХС), 14-21 сут, окр толуид син. (в течение 1 сут проследить адгезию клеток).