



ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ



Студенттер мен жас ғалымдардың
«ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ БІЛІМ - 2014» атты
IX халықаралық ғылыми конференциясы

IX Международная научная конференция
студентов и молодых ученых
«НАУКА И ОБРАЗОВАНИЕ - 2014»

The IX International Scientific Conference for
students and young scholars
«SCIENCE AND EDUCATION-2014»

2014 жыл 11 сәуір
11 апреля 2014 года
April 11, 2014



**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
Л.Н. ГУМИЛЕВ АТЫНДАҒЫ ЕУРАЗИЯ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ**

**Студенттер мен жас ғалымдардың
«Ғылым және білім - 2014»
атты IX Халықаралық ғылыми конференциясының
БАЯНДАМАЛАР ЖИНАҒЫ**

**СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ
IX Международной научной конференции
студентов и молодых ученых
«Наука и образование - 2014»**

**PROCEEDINGS
of the IX International Scientific Conference
for students and young scholars
«Science and education - 2014»**

2014 жыл 11 сәуір

Астана

УДК 001(063)
ББК 72
Ғ 96

Ғ 96

«Ғылым және білім – 2014» атты студенттер мен жас ғалымдардың IX Халықаралық ғылыми конференциясы = IX Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Наука и образование - 2014» = The IX International Scientific Conference for students and young scholars «Science and education - 2014». – Астана: <http://www.eni.kz/ru/nauka/nauka-i-obrazovanie/>, 2014. – 5831 стр. (қазақша, орысша, ағылшынша).

ISBN 978-9965-31-610-4

Жинаққа студенттердің, магистранттардың, докторанттардың және жас ғалымдардың жаратылыстану-техникалық және гуманитарлық ғылымдардың өзекті мәселелері бойынша баяндамалары енгізілген.

The proceedings are the papers of students, undergraduates, doctoral students and young researchers on topical issues of natural and technical sciences and humanities.

В сборник вошли доклады студентов, магистрантов, докторантов и молодых ученых по актуальным вопросам естественно-технических и гуманитарных наук.

УДК 001(063)
ББК 72

ISBN 978-9965-31-610-4

©Л.Н. Гумилев атындағы Еуразия ұлттық университеті, 2014

3. Қазақстан флорасы. – Т. – Т. I-IX, Алма-Ата, 1956-1966
4. Абдуллина С.А. Список сосудистых растений Казахстана. – Алматы, 1999, 187с.
5. Рабинович М.И. Лекарственные растения в ветеринарной практике: Справочник. М «Агропромиздат» 1987, 288с.
6. Мухитдинов Н.М. Мамурова А.Т. Дәрілік өсімдіктер. – Алматы, 2013, 86-87 б.
7. Задорожный А.М. Кошкин А.Г. Соколов С.Я. Шредер А.И. Лекарственные растения практика применения справочник. Изд: М., «ч. А.О и К», 1998, 30-32 с.

УДК 59 (075.8)

ВЫДЕЛЕНИЕ, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК СИНОВИАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ ЧЕЛОВЕКА

Сарсенова Мадина Арыстановна

sarsenova_madina93@mail.ru

Студентка 4-го курса бакалавриата по специальности биология

ЕНУ им. Л. Н. Гумилева, Астана, Казахстан

Научный руководитель – Т. Укбаева

В последнее время активно разрабатываются методы клеточной терапии, в особенности трансплантации стволовых клеток (СК) [1, 2], в том числе мезенхимальных стволовых клеток, выделенных из синовиальной оболочки человека, с целью замещения в организме поврежденных клеток и тканей, а также восстановления функций различных органов, в частности, дефектов коленных суставов и хрящей.

Мезенхимальные стволовые клетки, или МСК являются мультипотентными, т. е. обладают способностью дифференцироваться в различные типы клеток соответствующей ткани, именно: остеобласты (клетки костной ткани), хондроциты (хрящевые клетки), адипоциты (жировые клетки), фибробласты (клетки соединительной ткани), миоциты (мышечные клетки), кардиомиоциты и нейроны. Кроме того, МСК имеют большой потенциал к самообновлению и сохранению свойства мультипотентности. Мезенхимальные стволовые клетки синовиальной оболочки также характеризуются рядом свойств, такие как высокая способность к пролиферации и адгезии к пластику, фибробластоподобная морфология, образование колоний в культуре и легко индуцируемая дифференцировка. Эти клетки могут быть у пациента, страдающего тем или иным заболеванием и использованы для аутологичной трансплантации и заместительной терапии, позволяя тем самым избежать проблем с реакцией отторжения трансплантата [3]. Более того, было показано, что мезенхимальные стволовые клетки обладают низкой иммуносупрессивной активностью как в условиях *in vitro* и *in vivo*, что дает возможность использовать их не только для аутогенной, но и для аллогенной трансплантации [4].

Синовиальная оболочка – внутренний слой суставной сумки или костно-фиброзного канала, который выстилает всю поверхность суставной полости и связки, расположенные в суставе, за исключением хрящевых участков. Синовиальная оболочка и синовиальная жидкость являются хорошим источником МСК. Она является единственным источником ткани, которая продуцирует гиалиновый хрящ в такие заболевания, как синовиальный хондроматоз и костно-хрящевые шпоры при остеоартрите, которая предполагает, что синовиальная оболочка служит источником клеток для восстановления суставного хряща.

В синовиальной оболочке описаны такие маркерные молекулы как, CD9+, CD44+, Cd54+, CD90+ и CD166+, которые проявляют мультипотентность в хондрогенную, остеогенную и адипогенную линии [5]. Маркеры CD44+, Cd54+ и CD90+, в частности, участвуют в образовании межклеточных контактов, вовлечены в процессы адгезии к внеклеточному матриксу, экспрессируются эндотелиоцитами, макрофагами, лейкоцитами и

нейронами.

Другими преимуществами использования МСК синовиальной оболочки в терапии хрящевых дефектов являются: 1) возможность быстро и безболезненно получить биоматериал с помощью артроскопических процедур; 2) способность восстановиться после биопсии; 3) возможность выделить достаточно большое количество МСК, до 20000/мг; 4) они обладают высоким пролиферативным и хондрогенным потенциалом вне зависимости от возраста пациента.

Забор синовиальной оболочки человека производится асептическим путем из коленного сустава с помощью артроскопических процедур при наличии информированного согласия больного.

Для выделения клеток, синовиальная оболочка была обработана смесью антибиотиков-антимикотиков (100 Ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 0,25 мкг/мл амфотерицина В). Далее материал измельчали на мелкие кусочки, размером 1-2 мм, и обрабатывали раствором коллагеназы II типа в течение 12-16 часов при 37°C и 5% CO₂. Коллагеназа способна расщеплять пептидные связи в коллагеновых волокнах, высвобождая, таким образом, клетки, находящиеся в глубоких слоях синовиальной оболочки. По истечению 12-16 часов, полученную суспензию синовиальных клеток профильтровали через нейлоновый фильтр, с размером пор 70 мкм, для удаления оставшихся фрагментов ткани. После двукратной отмывки фосфатно-солевым буфером, клетки ресуспендировали в питательной среде DMEM и определяли их количество и жизнеспособность после окрашивания трипановым синим. Количество определяли с помощью камеры Горяева.

Для получения первичной культуры МСК, клетки культивировали в полной питательной среде DMEM, содержащей 10% эмбриональную телячью сыворотку (ЭТС), 100 Ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина, высевали в 25 см² флаконы и оставляли в CO₂-инкубатор. Через каждые три дня неприкрепленные к пластику, а также мертвые клетки удаляли, а фракцию адгезивных клеток культивировали до образования 80% конфлюэнтного монослоя. При достижении 80% конфлюэнтного монослоя удаляли питательную среду, 2 раза промывали фосфатно-солевым буфером и производили пассаж с интервалом 5-7 дней. Смена среды осуществлялась каждые 2-3 дня.

Дифференцировочный потенциал МСК определяли после 4 пассажа, рассеивая в шестилуночные планшеты, и культивировали в полной питательной среде.

Для направленной дифференциации МСК в остеобласты на четвертом пассаже после культивирования, клетки сняли с пластикового флакона с помощью 0,25% трипсина для удаления внеклеточного матрикса. После подсчета клеток произвели посев DMEM с 10% ЭТС, 10⁻⁷ М-дексаметазона, 10 мМ β-глицерол-фосфата и 50 мкМ аскорбат-2-фосфат доводя до 500 мкл. Смену среду проводили 2 раза в неделю и поддерживали культуру 2-4 недели.

Для направленной дифференциации мезенхимальных стволовых клеток в хондроциты, монослой клеток также на четвертом пассаже культивирования сняли с пластикового флакона с помощью 0,25% трипсином. После подсчета клеток произвели посев с добавлением среды DMEM с высоким содержанием глюкозы с добавлением 10⁻⁷ дексаметазона, 1% ITS, 50 мкМ аскорбиновой кислоты, 2 мМ пирувата натрия, 50 мкг/мл L-пролина и 20 нг/мл TGF-β1. Смену среды производили 2 раза в неделю и культивировали в течение 21 дня.

Для дифференцировки МСК в адипогенную линию, придерживаясь такой же схемы удаления из пластикового флакона, клетки культивировали на среде DMEM с 10% ЭТС, 10⁻⁶ дексаметазона, 0,5 мкМ IBMX, 10 нг/мл инсулина доводя до общего объема в 500 мкл. Культивировали в течение двух недель. Смену среду проводили 2 раза в неделю. Для определения жировых фрагментов окрашивали специфическим красителем масляно-красным, растворив 0,5 г масляно-красного в 100 мл изопропанола. Среду клеток слили и добавили 300 мкл масляно-красного красителя, оставив на 15 минут. Клетки трижды промывали дистиллированной водой в течение 3 минут. После окрашивания препараты наблюдали под световым микроскопом. Жировые фрагменты при культивировании адипогенной линии напоминали характерные скопления жировых капель, напоминающие

гроздь винограда.

При дифференцировке клетки всех тканей изменялись морфологически и фенотипически. Визуально проследить и оценить динамическую морфологию в культурах было проще при дифференцировке в адипогенную линию, так как клетки начинали накапливать жировые включения. Остеогенную дифференцировку проследить было сложнее. Было отмечено постепенное изменение морфологических особенностей клеток всех культур. Клетки в динамике приобретали более округлую форму, внутри клеток образовывались характерные специфические отложения.

Список использованных источников

1. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, Lanino E, Sundberg B, Bernardo ME, Remberger M et al: Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *The Lancet*, 371 (9624): 1579 - 1586.
2. Patel AN, Geffner L, Vina RF, Saslavsky J, Urschel Jr HC, Kormos R, Benetti F: Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: A prospective randomized study. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2005, 130 (6): 1631 – 1638.e 1632.
3. Aldahmash A, Zaher W, Al-Nbaheen M, Kassem M: Human stromal (mesenchymal) stem cells: basic biology and current clinical use for tissue regeneration. *Ann Saudi Med* 2012, 32 (1): 66 – 77.
4. BECKER AJ, McCULLOCH EA, TILL JE: Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature* 1963, 197:452 – 454.
5. Chateauvieux S, Ichante JL, Delorme B, Frouin V, Pietu G, Langonne A, Gallay N, Sensebe L, Martin MT, Moore KA et al: Molecular profile of mouse stromal mesenchymal stem cells. *Physiol Genomics* 2007, 29 (2): 128 – 138.
6. Шахов В. П., Попов С. В. Стволовые клетки и кардиомиогенез в норме и патологии. – Томск: STT, 2004.- 170 с.

УДК 579.61:616-078

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ БИОПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ *S. EPIDERMIDIS*

Ольга Игоревна Сидашенко¹, Ольга Сергеевна Воронкова², Елена Альбертовна Сирокваша³, Татьяна Николаевна Шевченко⁴, ⁵Альберт Иванович Винников
microb_sidashenko@mail.ru

¹Аспирант, ведущий инженер НИИ биологии Днепропетровского национального университета им. О. Гончара, ²к.б.н., доцент кафедры микробиологии, вирусологии и биотехнологии ДНУ им. О. Гончара, ³к.м.н., доцент кафедры клинической диагностики ДНУ им. О. Гончара, ⁴д.б.н., профессор кафедры клинической диагностики, Днепропетровск, Украина. ⁵

Научный руководитель – А. Винников.

На современном этапе в медицинской микробиологии происходят качественные изменения в интерпретации процессов, происходящих при хронических инфекциях. Исследования механизмов развития инфекционного процесса, включая образование персистирующих форм микроорганизмов, должны учитывать наличия особого биологического явления – формирования бактериальных биопленок [2].

Биопленки – это подвижные, непрерывно изменяющиеся ассоциации микроорганизмов, в составе которых бактерии локализованы на биогенной или абиогенной поверхности внутри сложноорганизованного внеклеточного матрикса, имеющего белковую либо полисахаридную природу. Экзополимерный матрикс выполняет роль пленочного барьера и защищает