**ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ ВО ФРАКЦИЯХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА, ИЗОЛИРОВАННЫХ С ПОМОЩЬЮ ПРОТИВОТОЧНОГО ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ В ЭЛЮТРИАТОРНОМ РОТОРЕ**

**Дударев А.Н., Непша Т.А., Городецкая А.Ю., Усынин И.Ф.\***

*Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Научно-исследовательский институт биохимии, г. Новосибирск, Россия*

**Резюме.** По своему клеточному составу красный костный мозг состоит из чрезвычайно гетерогенной популяции клеток, включающей стволовые клетки, клетки ретикулярной стромы и клетки пяти кроветворных ростков. Для клеточной терапии и экспериментальных исследований актуальной задачей является получение клеточных фракций костного мозга, обогащенных определенным типом клеток. В данной работе мы исследовали уровень экспрессии мРНК генов цитокинов во фракциях клеток костного мозга, изолированных с помощью противоточного центрифугирования в элютриаторном роторе. Фракционирование клеток выполняли при скорости вращения ротора 2500 об/мин. Отбирали шесть клеточных фракций (Ф): Ф-1 при скорости потока буфера 12 мл/мин, Ф-2 – 15 мл/мин, Ф-3 – 19 мл/мин, Ф-4 – 23 мл/мин, Ф-5 – 50 мл/мин, Ф-6 – собирали после остановки вращения ротора. Цитоморфологический анализ полученных фракций показал, что из общей популяции клеток в «легкой» фракции Ф-1 концентрируется 80% эритроцитов и 40% лимфоцитов, в Ф-2 – 44% лимфоцитов, 50% полихроматофильных и 51% оксифильных нормоцитов, в Ф-3 и Ф-4 – 70% нейтрофилов и 40% эозинофильных гранулоцитов, в Ф-6 – 64% макрофагов, 95% мегакариоцитов, 35% ретикулярных и 62% тучных клеток. Бластные клетки разных ростков кроветворения обнаружены преимущественно в Ф-5. С помощью RT-PCR максимальная экспрессия генов фактора стволовых клеток(*Scf*) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (*Gm-csf*) выявлена в «тяжелой» фракции Ф-6, фактора некроза опухолей (*Tnf-α)* и эритропоэтина (*Epo*) – в Ф-4, Ф-5 и Ф-6, макрофагального колониестимулирующего фактора (*M-csf*) *–* в Ф-3 и Ф-4. Таким образом, данный метод позволяет эффективно отделить «легкие» фракции лимфоцитов и эритроцитов от основной массы клеток костного мозга, что может быть использовано при аллогенной трансплантации клеток костного мозга для снижения риска развития острой реакции «трансплантат против хозяина». Другим важным преимуществом метода является возможность получить фракции «тяжелых» клеток, обладающих регенеративным потенциалом, с целью их использования в клеточной терапии для стимуляции восстановительных процессов в органах и тканях.

*Ключевые слова: костный мозг, противоточное центрифугирование, цитокины, экспрессия генов, мРНК, RT-PCR.*