

Новая модель хромосомных транслокаций: контакты хромосом в мейозе предваряют их слияния

Предложена новая модель, объясняющая формирование и наследование робертсоновских транслокаций. Данный тип хромосомных мутаций - самый распространенный как у человека, так и у других видов млекопитающих. Возникновение транслокаций в соматических клетках может быть причиной канцерогенеза; в эволюционной биологии фиксация таких мутаций рассматривается как один из механизмов видообразования. Механизмы возникновения транслокаций хромосом неизвестны, существующие современные модели построены на анализе особенностей поведения хромосом в интерфазном ядре соматических клеток. Основные различия моделей в том, что происходит вначале - контакт хромосом или разрывы ДНК, при этом учитывается взаимное расположение хромосом в ядре и взаимодействие теломерных участков. Во всех ранее предложенных моделях наследование перестроек в ряду поколений не имело объяснения, напротив, мейоз рассматривался как механизм, устраняющий возможные изменения хромосом, т.к. возникающие в ходе мейоза отличные от бивалентов фигуры всегда приводят к гибели части гамет.

Впервые на природном объекте (алайской слепушонке *Ellobius alaicus*), для которого нами ранее описана кариотипическая изменчивость, показаны множественные контакты и слияния негомологичных хромосом в мейозе (рис. 1). Иммуноцитохимическое окрашивание сперматоцитов предоставило возможность увидеть, что акроцентрические хромосомы могут собираться парами или группами вокруг облака гетерохроматина в ранней пахитене (рис. 1б, маркер гетерохроматина H3K9me3). В культуре соматических клеток также обнаружены единичные дицентрические хромосомы (рис. 1в). На основе полученных результатов предложена новая модель формирования робертсоновских транслокаций, в которой первым и решающим событием является контакт хромосом в мейозе: "contact first in meiosis".

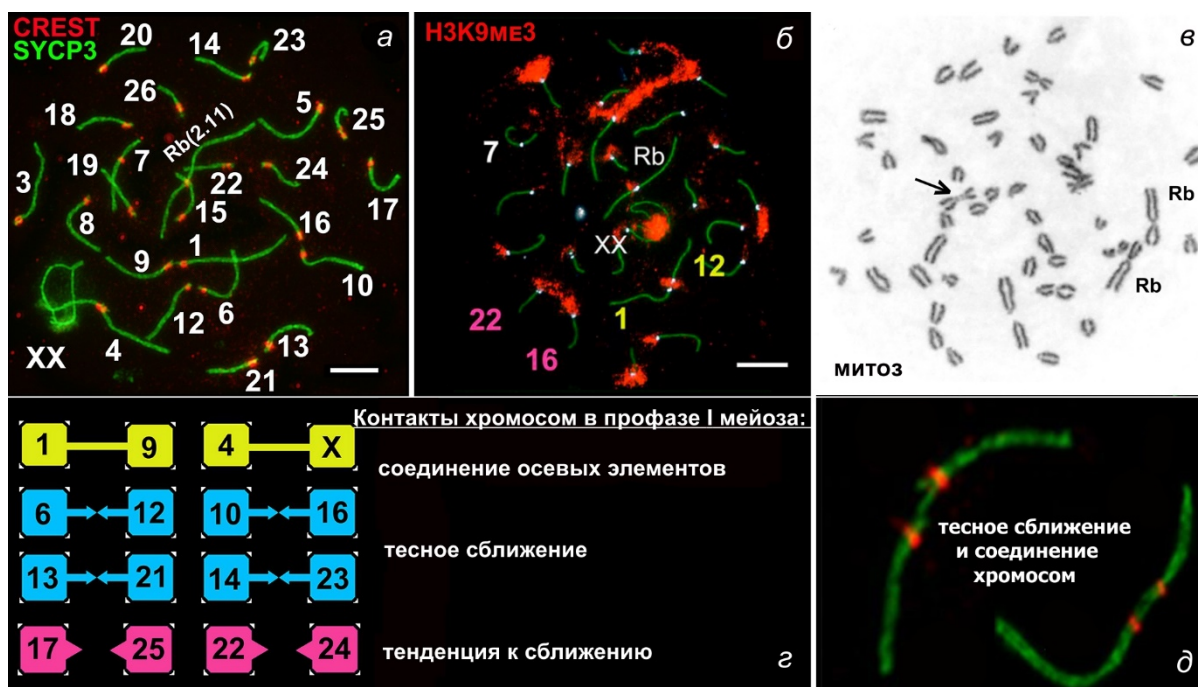


Рис. 1. Различные комбинации контактов хромосом у алайской слепушонки: а, б, д - сперматоциты, в - соматическая клетка, дицентрик отмечен стрелкой.

Работа выполнена в рамках Госзадания ИБР РАН № 0108-2019-0007 и проекта РФФИ 20-04-00618а.

Matveevsky S., Kolomiets O., **Bogdanov A., Alpeeva E., Bakloushinskaya I.** Meiotic chromosome contacts as a plausible prelude for Robertsonian translocations//Genes. – 2020. – Vol. 11. – Is. 4. – P. 386. <https://www.mdpi.com/2073-4425/11/4/386> DOI: 10.3390/genes11040386. Q2.

Автор: д.б.н. Краевский В.А.

Влияние «объемных» модификаций гистонов на базовую стабильность на. Взаимодействие модифицированных нуклеосом с переносчиком гистонов Nap1.

Функционирование генов «программируется» модификациями гистонов - белков упаковки ДНК в ядрах клеток. Общепринято, что модификации гистонов служат сигналами для регуляторных белков. Мы впервые показали, что ряд «объемных» (“bulky”) модификаций гистонов (напр. убиквитилирование) способны непосредственно изменять структуру и динамику хроматина, тем самым формируя/ программируя «структурный код» активности генов, в дополнение к «сигнальному» коду. Возможность учитывать «структурный код» ДНК позволит прогнозировать результаты применения геноинженерных технологий и биомедицинских технологий на принципиально новом уровне.

В присутствии акцептора гистонов (Nap1), дестабилизация нуклеосом за счет «H2BK34ub» – убиквитилирования гистонов H2B по лизину K34, приводит к диссоциации одного из димеров H2A-H2B с образованием стабильной «гексасомной» частицы. Насколько связан этот процесс с наличием акцептора гистонов и закономерны этапы конверсии нуклеосом в функционально-активные гексасомные частицы? Мы показали, что H2BK34ub повышает базовую динамику нуклеосом и их диссоциацию до гексасом, независимо от акцепторов гистонов (Рис. 1), способных независимо ускорять образование гексасом.

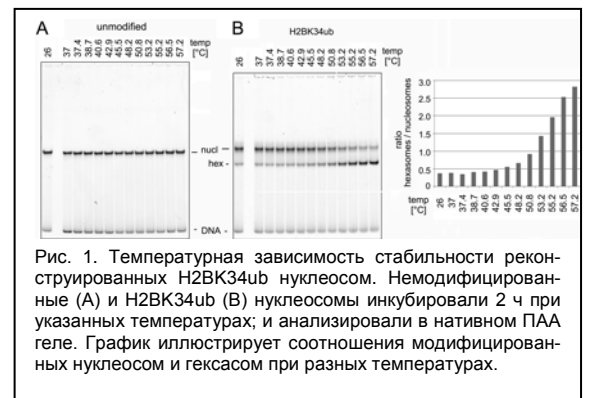


Рис. 1. Температурная зависимость стабильности реконструированных H2BK34ub нуклеосом. Немодифицированные (А) и H2BK34ub (В) нуклеосомы инкубировали 2 ч при указанных температурах; и анализировали в нативном ПАА геле. График иллюстрирует соотношения модифицированных нуклеосом и гексасом при разных температурах.

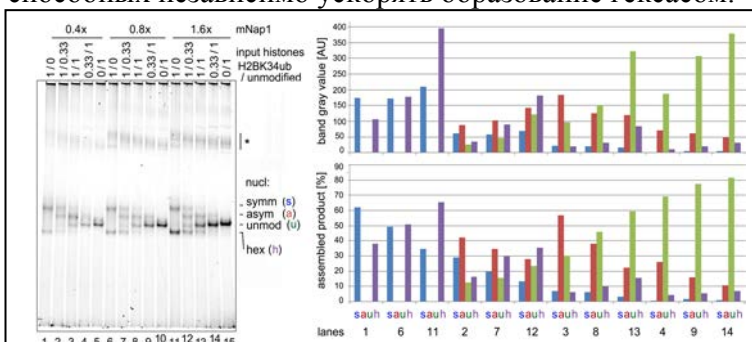


Рис. 2. Сборка симметрично и асимметрично убиквитилированных нуклеосом в присутствии Nap1. Нуклеосомы были реконструированы на 177 п.н. ДНК '601' с использованием модифицированных и немодифицированных гистонов и их смеси, как указано. Смесь гистонов и ДНК инкубировали в течение ночи при 25° С с указанным молярным избытком Nap1, и далее анализировали в нативном ПАА геле. Агрегаты ДНК и гистонов обозначены звездочкой. Диаграммы справа показывают относительную интенсивность полос нуклеосом и гексасом (верхняя панель), а также процентное содержание нуклеосом и гексасом (нижняя панель) в указанных полосах геля.

In vivo Nap1 участвует в процессах сборки нуклеосом, а также обмена димеров гистонов H2A-H2B в функционально-активных областях хроматина. Мы изучили, способен ли Nap1 также обеспечивать встраивание димеров H2A-H2BK34ub в нуклеосомы, а не только их диссоциацию. Это особенно актуально, учитывая что E3 убиквитин лигаза Msl1/Msl2 способна специфически модифицировать димеры H2A-H2B только в составе нуклеосом. Мы показали, что NAP1 поддерживает сборку асимметрично- и симметрично модифицированных нуклеосом при «физиологических» ионных условиях in vitro (Рис.2). Это предполагает, что димеры H2A-

H2BK34ub способны участвовать в обмене гистонов в активных областях хроматина (Рис. 3). Таким образом, модификации гистонов способны непосредственно изменять характеристики упаковки ДНК, приводя к образованию функционально- активных структур хроматина (Рис. 4).

Предложенная концепция эпигенетического «структурного кода» активности хроматина детально

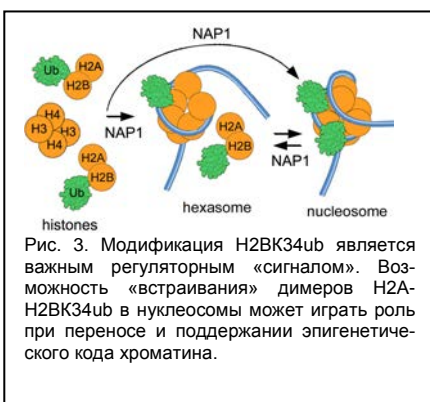


Рис. 3. Модификация H2BK34ub является важным регуляторным «сигналом». Возможность «встраивания» димеров H2A-H2BK34ub в нуклеосомы может играть роль при переносе и поддержании эпигенетического кода хроматина.

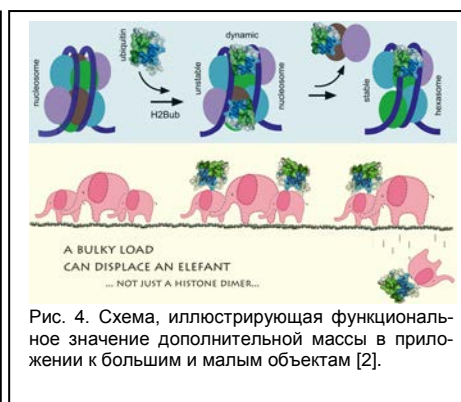


Рис. 4. Схема, иллюстрирующая функциональное значение дополнительной массы в приложении к большим и малым объектам [2].

рассмотрена в публикации [2].

[1] Krajewski W.A. (2020) The intrinsic stability of H2B-ubiquitylated nucleosomes and their in vitro assembly/ disassembly by histone chaperone NAP1. Biochim Biophys Acta - General Subjects 1864, 1-9. Q2

[2] Krajewski W.A. (2020) 'Direct' and 'indirect' effects of histone modifications: Modulation of sterical bulk as a novel source of functionality. BioEssays 42, 1900136 Q1

Индукция плюрипотентных стволовых клеток человека в первичные половые клетки *in vitro*

Путем дифференцировки индуцированных плюрипотентных клеток (ИПСК) человека после индукции ретиноевой кислотой (РК) получены женские примордиальные половые клетки (чППК), в которых определяется экспрессия белков VASA (маркера поздних ППК) и STRA8 (маркера начала мейоза) (Рис 1), что указывает на созревание чППК в подобранных условиях культивирования. Несмотря на точечную окраску белка SCP3 - маркера синаптонемного комплекса и гомологичной рекомбинации, ранних синаптонемных комплексов не обнаружено.

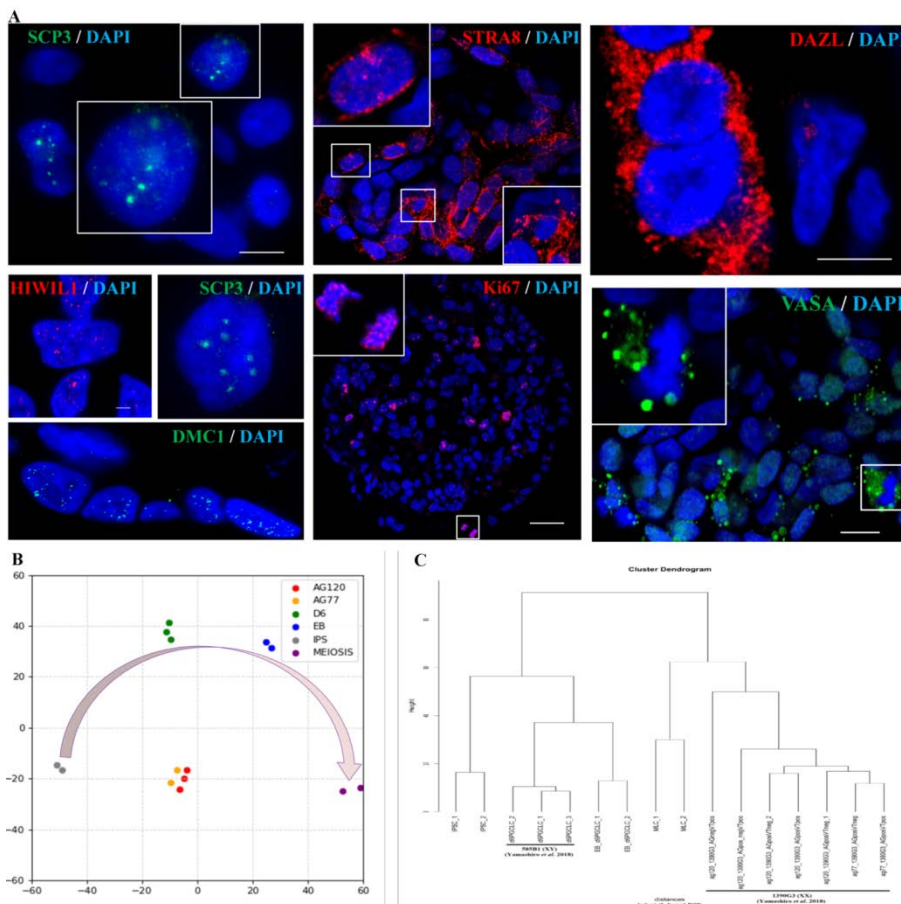


Рисунок 1. Индукция мейоза с помощью ретиноевой кислоты (РК) на клетках чППК, полученных *in vitro*. (А) Иммунофлуоресцентное окрашивание чППК на белки DAZL, VASA, SCP3, STRA8, HIWIL1, DMC1. Полноразмерный сфероид показан на рисунке с Ki67-мечеными пролиферирующими клетками. Шкала 10 мкм. (В) Анализ главных компонент (PCA) транскриптомов чИПСК, чППК, МПК и клеток Yamashiro et al. d6hPGCLC (чППК), ag77 (МПК) и ag120 (МПК), полученных из ксеногенных яичников. (С) Иерархическая кластеризация транскриптомов чИПСК, чППК, МПК и клеток Yamashiro et al. d6hPGCLC (чППК), ag77 (МПК) и ag120(МПК), полученных из ксеногенных яичников.

Транскриптомный анализ показал активацию генов-маркеров мейоза (*SCP2/3*, *REC8*,

MSX1/2, *MAEL*, *DUSP18*). Выявленные гены вовлечены в формирование яичников и семенников. Кластерный анализ полученных данных в сравнении с данными, представленными в открытом доступе группы ученых под руководством Yamashiro (Yamashiro et al., 2018), показал четко сформированные группы чППК и мейотических клеток. Почти 80% полученных клеток, подобных чППК, вступали в мейоз. Однако, данные клетки не могли завершить дифференцировку в трехмерных сфероидах, несмотря на наблюдаемые мейотические маркеры. Эти результаты указывают на невозможность чППК самостоятельно дифференцироваться в прогрессивные мейотические клетки без поддерживающих соматических клеток гонады. Работа демонстрирует необходимость дальнейших исследований в области формирования чППК. Это особенно важно для пациентов с полным отсутствием ооцитов или сперматозоидов (Nelson 2009; Castillo et al. 1947). Разработанная модель развития чППК *in vitro* обеспечивает альтернативное решение для работы с человеческими половыми клетками, не затрагивая этические аспекты использования эмбрионов человека в научных исследованиях. Принимая во внимание рост проблемы бесплодия среди молодых пар, дальнейшие исследования развития чППК могут способствовать разработке новых методов вспомогательных репродуктивных технологий.

Abdyev V.K.², Sant D.W., Kiseleva E.V.¹, Spangenberg V.E., Kolomiets O.L., Andrade N.S., Dashinimaev E.B.², Vorotelyak E.A.², Vasiliev A.V.² *In vitro* derived female hPGCLCs are unable to complete meiosis in embryoid bodies//Experimental Cell Research. – 2020. – Art. No 112358. DOI: 10.1016/j.yexcr.2020.112358. – Q2.

TBR-related factor 2 как триггер Робертсоновских транслокаций и видообразования.

Центрическое слияние хромосом (Робертсоновские транслокации) - это форма хромосомной перестройки, при которой две акроцентрических хромосомы сливаются в один метацентрик. Уменьшение числа хромосом приводит к генетически наследуемым патологиям, с другой стороны способствует видообразованию. Вопрос о генетических механизмах регуляции этого процесса остается открытым. Мы впервые оценили возможный вклад фактора базовой транскрипции *Trf2* в центрическое слияние хромосом. Было выявлено несколько центрических слияний в линиях дрозофилы с мутантными аллелями *Trf2* (рис. 1), а также показано, что *Trf2* активирует экспрессию *D1* - одного из основных генов, ответственных за упаковку прицентромерной сателлитной ДНК и целостность ядра (рис. 2).

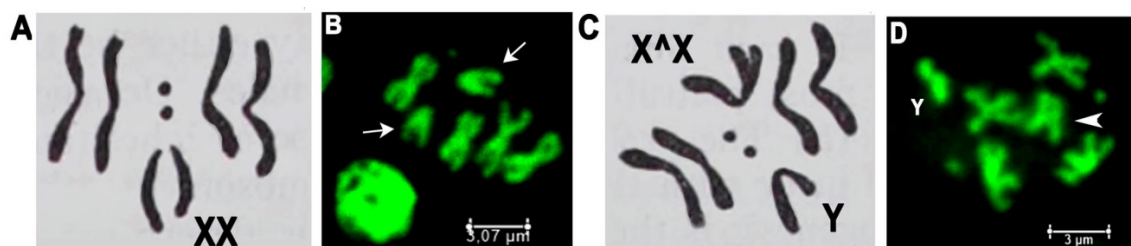


Рис. 1. Мутации *Trf2* приводят к слиянию X-хромосом у самок дрозофилы. **A, C** - схемы метафазных пластинок самки дикого типа с нормальными X-хромосомами (**A**) и со сцепленными X-хромосомами (**C**); **B, D** – метафазные пластинки самки дикого типа (**B**, X-хромосомы указаны стрелкой) и мутантной по гену *Trf2* самки (**D**, сцепленные X-хромосомы указаны стрелкой).

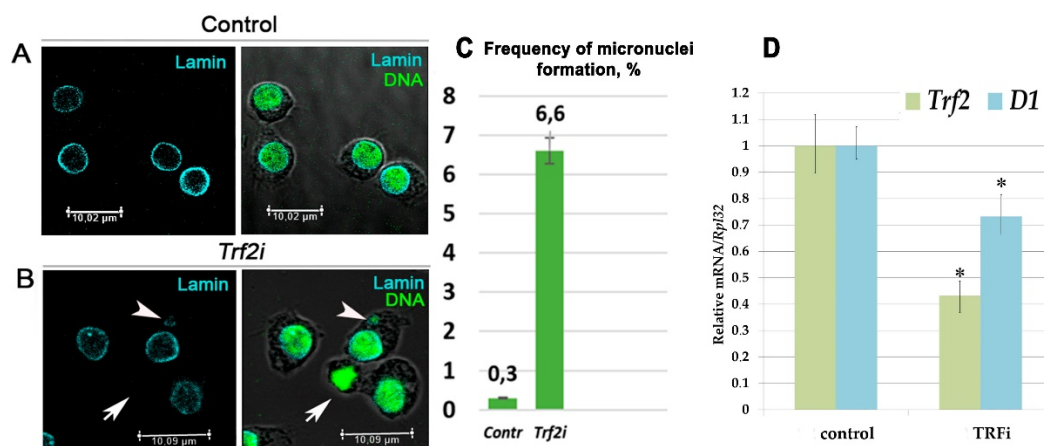


Рис. 2. Подавление экспрессии *Trf2* в культуре клеток (*Trf2i*) нарушает формирование ядерной оболочки (стрелка на **B**), приводит к формированию микроядер (треугольная стрелка на **B** и **C**) и вызывает снижение экспрессии гена *D1* (**D**).

Результаты работы имеют важное фундаментальное и прикладное значение. Робертсоновские транслокации могут быть вызваны не только внешними факторами, но и мутациями, дестабилизирующими компактную структуру хроматина в прицентромерных областях. На практике результаты предоставляют возможность изучения и оценки рисков рождения детей с генетически наследуемыми синдромами (Патау, Дауна) у родителей со слабыми аллелями *Trf2*.

Работа выполнена по теме Государственного задания ГЗ № 0108-2019-0001.

Видо-специфичные формы интенсивной локомоции оптимизируют последующее поведение в новой среде у далеких в эволюционном отношении видов

Оптимизация поведения в условиях неопределенности и низкой предсказуемости событий приобрела особую актуальность в последнее время. В соответствии с нашей гипотезой, одним из факторов, активирующих естественные механизмы адаптации к новой среде и неопределенности, является активное перемещение организма или интенсивная локомоция. Исследовано влияние видо-специфичной интенсивной локомоции на последующее поведение в новой среде у далеких в систематическом отношении животных. Показано облегчение принятия решения и достижения цели у моллюска *Lymnaea stagnalis* в новой среде спустя два часа после интенсивной локомоции. Найлены сопутствующие изменения в метаболизме серотонина, специфичные для разных отделов мозга моллюска. Показано, что серотонин вовлечен в общее ускорение поведения в новых условиях, что частично воспроизводит эффект моторной нагрузки. Также впервые на беспозвоночных продемонстрировано различие эффектов стресса и локомоторной нагрузки в условиях новизны. В исследованиях на насекомом, сверчке *Gryllus bimaculatus*, показано, что самки после интенсивной локомоции (полета) лучше справлялись с задачей нахождения источника призывной песни самца в новой среде, чем контрольные нелетавшие животные. Фундаментальная значимость исследования определяется обнаружением естественных механизмов, повышающих адаптивность поведения в новых условиях. Понимание моноаминергических механизмов естественной регуляции поведения в условиях неопределенности будет полезным для разработки и улучшения методов лечения психопатологических проявлений.

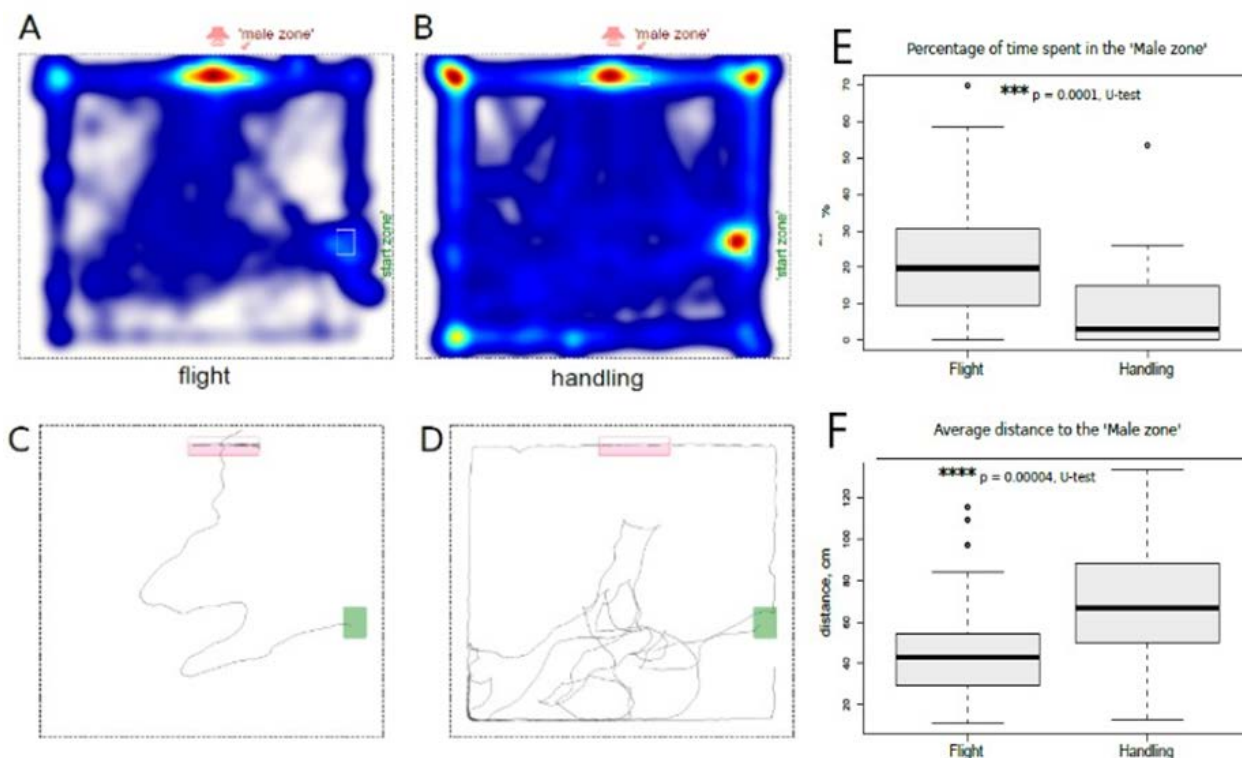


Рис. Стимулирующее влияние полета на поисковое и половое поведение у самок сверчка.

А,В Время, проведенное опытной и контрольной группами животных в пространстве арены. С,Д Пример индивидуальных треков опытного и контрольного животного. Е,Ф Время, проведенное около динамика, транслирующего призывную песню самца, и среднее расстояние до динамика. Flight – после полета. Handling – контроль. Зеленый прямоугольник – место размещения контейнера со сверчком на арене, розовый прямоугольник – зона около динамика.

Aonuma H., Mezheritskiy M., Boldyshev B., Totani Y., Vorontsov D., Zakharov I., Ito E., Dyakonova V. The Role of Serotonin in the Influence of Intense Locomotion on the Behavior Under Uncertainty in the Mollusk *Lymnaea stagnalis*//Frontiers in Physiology. – 2020. – Vol. 11. – N Art. 221. DOI: 10.3389/fphys.2020.00221. Q1

Mezheritskiy M, Vorontsov D, Lapshin D, Dyakonova V. Previous flight facilitates partner finding in female crickets. 2020. Sci Rep, in press, accepted. Q1

Сеть яичка (rete testis) представляет собой группу связанных друг с другом полостей и каналов, выстланных однослойным эпителием, по которым сперматозоиды, образующиеся в извитых семенных канальцах, транспортируются в придаток яичка. Согласно исследованиям, выполненным нами ранее, в составе эпителия сети яичка присутствует популяция клеток, обладающих рядом свойств клеток Сертоли, располагающихся в извитых семенных канальцах и поддерживающих развитие половых клеток.

Чтобы изучить механизмы появления популяции Сертоли-подобных клеток в сети яичка было подробно изучено эмбриональное развитие этого региона мужской гонады у мыши. Для этого были использованы методы иммунофлуоресцентного окрашивания на маркеры базальной мембраны, клеток Сертоли и клеток сети яичка, конфокальная микроскопия, а также 3D реконструкция. Анализ данных показал, что часть внутритестикулярной сети яичка возникает между 13.5 и 16.5 днями эмбрионального развития из клеток Сертоли половых тяжей. При этом клетки Сертоли начинают экспрессировать транскрипционный фактор *Pax8* и теряют экспрессию АМГ (Amh), антимюллера гормона, специфичного для клеток Сертоли.

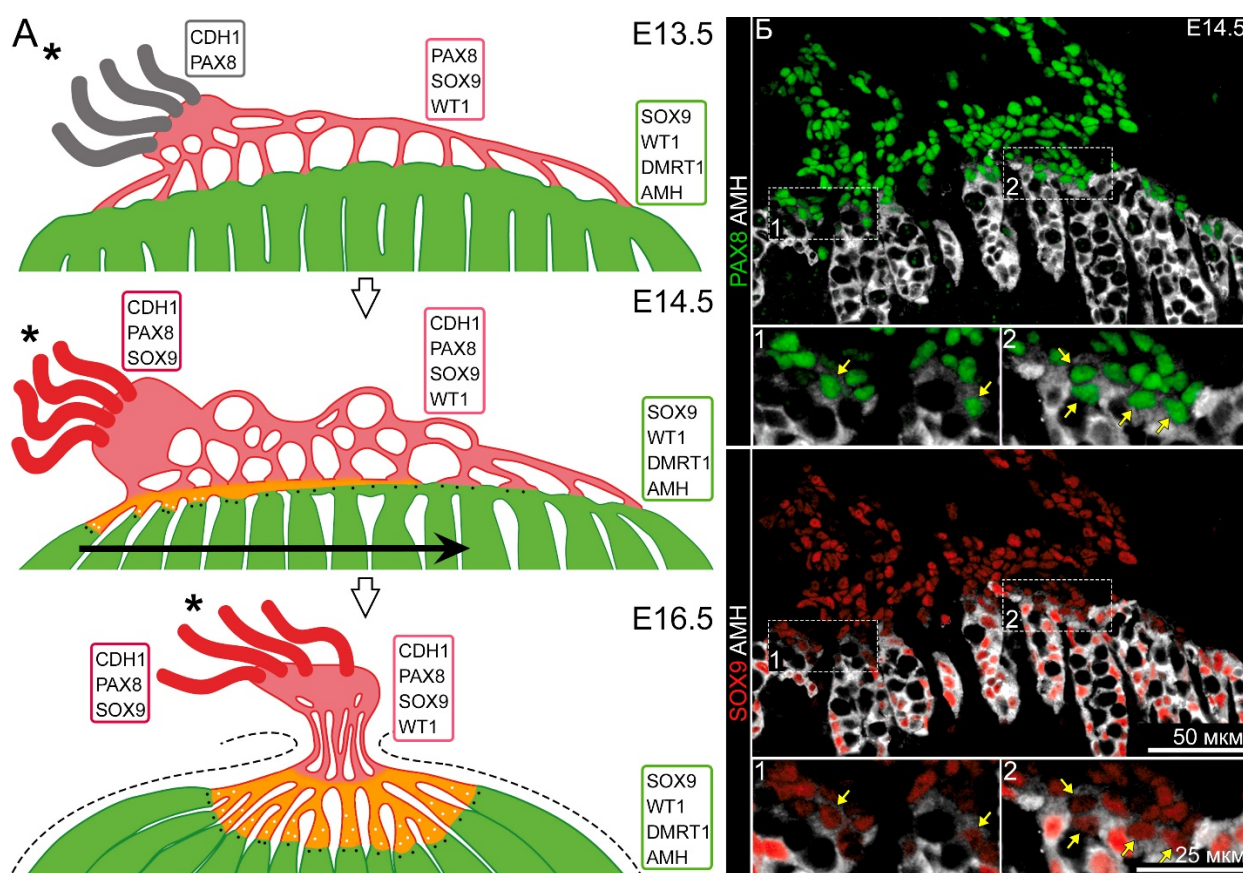


Рис. А – схема развития сети яичка мыши в эмбриональный период. Оранжевым обозначена часть сети, образуемая клетками Сертоли. * – передний конец гонады. В боксах представлены маркеры клеток канальцев мезонефроса, сети яичка и половых тяжей. Черные точки - *Amh*+/*Pax8*+ клетки в областях формирования сети яичка. Белые точки – клетки сети, экспрессирующие маркер клеток Сертоли *Dmrt1*. **Б** – репрезентативная фотография яичка мыши на E14.5 (сут эмбрионального развития), окрашенного на *Pax8* и *Amh*, на увеличенных вставках представлены *Amh*+/*Pax8*+ клетки с промежуточным фенотипом (стрелки).

Kulibin A.Yu.¹, Malolina E.A.¹ Formation of the rete testis during mouse embryonic development//Developmental Dynamics. – 2020. DOI: 10.1002/dvdy.242. – Q1.

Автор: д.б.н. Люпина Ю.В., к.б.н. Кравчук О.И., Финошин А.Д., Адамейко К.И., д.б.н. Михайлов В.С.

Метаболические пути железа обеспечивают пластичность губок

Способность реагировать на гипоксию развивалась у предковых форм беспозвоночных и связана с регуляцией гомеостаза железа. У млекопитающих устойчивость к гипоксии развивается при злокачественной трансформации клеток. Морские губки (тип Porifera) - наиболее древние из существующих Metazoa, развиваются только в присутствии ионов железа, устойчивы к гипоксии и являются уникальной природной моделью для исследования закономерностей метаболизма железа. Пластичность клеток губок обусловлена способностью их клеток к переходу между несколькими типами способом, аналогичным трансдифференцирующимся стволовым клеткам, и позволяет им восстанавливать функциональные структуры после диссоциации тела на отдельные клетки. Однако факторы, определяющие устойчивость к гипоксии и регулирующие реагрегацию клеток губок, оставались неизвестными. С помощью генетических и биохимических методов, транскриптомного и протеомного анализа впервые удалось выявить молекулярные механизмы устойчивости к гипоксии холодноводных морских губок *Halichondria panicea* и *Halisarca dujardini* акватории Белого моря и установить сходство и отличия факторов обмена железа с таковыми у других животных, в том числе млекопитающих. Результаты анализа экспрессии ключевых метаболических факторов, связанных с обменом железа, в ходе диссоциации/реагрегации клеток губок показаны на Рис. 1.

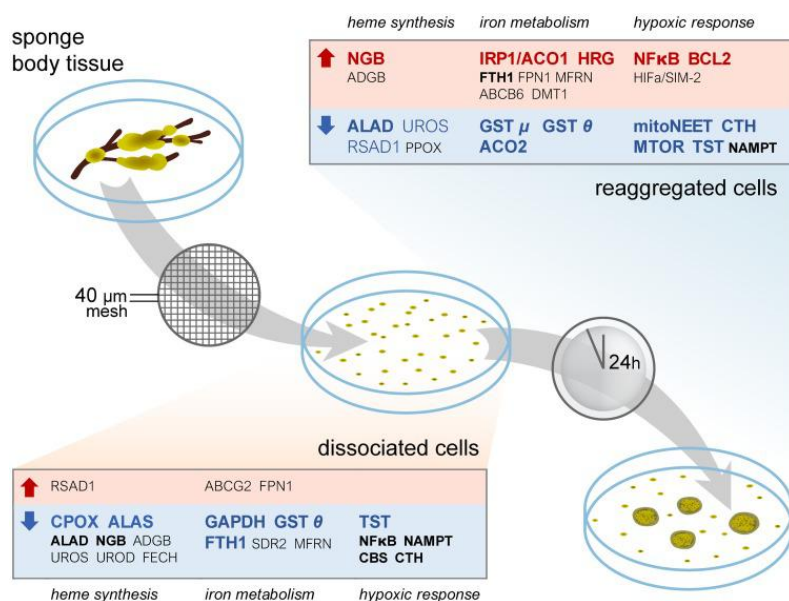


Рис 1. Схема опытов и дифференциальная экспрессия генов, изменяющихся при диссоциации и реагрегации (24 h) у губок.

У губок обнаружены гомологи всех белков, участвующих в синтезе и транспорте гема и «древний» гем-содержащий белок предковых форм Metazoa – нейроглобин. Полученные результаты не только прояснили эволюцию функции белков обмена железа у многоклеточных животных, но и наметили механизмы модуляции их свойств у млекопитающих при патологии.

Finoshin A.D., Adameyko K.I., Mikhailov K.V., Kravchuk O.I., Georgiev A.A., Gornostaev N.G., Kosevich I.A., Mikhailov V.S., Gazizova G.R., Shagimardanov E.I., Gusev O.A., Lyupina Y.V. Iron metabolic pathways in the processes of sponge plasticity//Plos One. – 2020. – Vol. 15. – Is. 2. P. e0228722. DOI: 10.1371/journal.pone.0228722. WoS, Scopus - Q1-Q2. IF = 3, 132.

Лаборатория проблем регенерации

50 Биология развития и эволюция живых систем

Авторы: к.б.н. Маркитантова Ю.В., к.б.н. Смирский В.Н., д.б.н. Григорян Э.Н.

Генетически обусловленная патология сетчатки и ретинального пигментного эпителия, клетки-источники, современные биомедицинские подходы для восстановления и поддержания их функций

Проведен анализ распределения экспрессии ключевых гомеобоксодержащих генов – регуляторов дифференцировки нейронов сетчатки (Рис.1), на основе данных о транскриптомах единичных клеток. Мутации и нарушения функций этих генов ассоциированы с рядом врожденных заболеваний глаза у человека, и затрагивают сетчатку и ретинальный пигментный эпителий (РПЭ). Современный уровень генетики, геной инженерии, технологий секвенирования отдельных клеток, позволили углубить знания о сигнальных путях и мишенях для диагностики наследственных нарушений сетчатки и РПЭ; разработки стратегий коррекции. В соответствии с накопленными данными об эпителио-мезенхимной трансформации РПЭ (как потенциального экзогенного источника регенерации сетчатки) у человека, наиболее многообещающими в экспериментальной и клинической работе являются стратегии нейропротекции, направленные на мобилизацию эндогенного клеточного резерва и поддержание функций сетчатки и РПЭ (1). Эндогенный клеточный ресурс для регенерации сетчатки у позвоночных (Рис.2) зависит от вида и возраста животных, и кроме клеток цилиарной области глаза, содержит популяции специализированных клеток, особенности которых заключаются в их «готовности» к репрограммированию в нейроны в силу особого паттерна экспрессии генов и эпигенетического ландшафта, напоминающих таковые в развитии. Эта «готовность», реализуется у низших позвоночных *in vivo*, а у высших – *in vitro* в перmissive условиях микроокружения. Современные исследования генэкспрессии и эпигенетики клеток-источников облегчают поиск биомедицинских подходов для замещения поврежденных клеток сетчатки у человека (2).

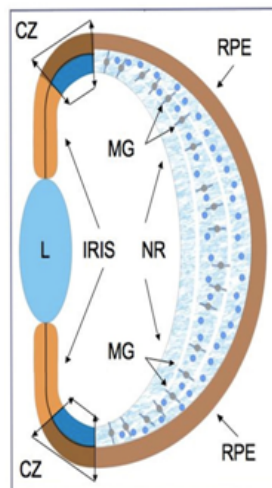
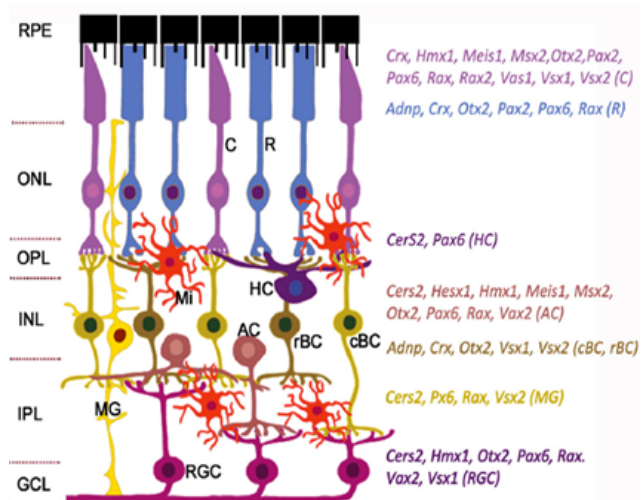


Рис.2. Локализация эндогенных клеточных источников регенерации сетчатки глаза позвоночных животных (суммированные данные)
NR – нейральная сетчатка
Латентные дифференцированные источники: RPE – ретинальный пигментный эпителий; MG – глия Мюллера, клетки радужки; CZ – цилиарная зона глаза: цилиарная маргинальная зона (CMZ) у низших позвоночных (стволовые; малодифференцированные клетки предшественники) и клетки цилиарного тела (CB) у млекопитающих (латентный дифференцированный источник)

Рис.1. Гомеобоксодержащие гены в нейронах сетчатки мыши (по данным анализа транскриптомов единичных клеток <https://eyeintegration.nei.nih.gov>), ассоциированные с мутациями и аномалиями развития и функционирования сетчатки и РПЭ глаза человека. RPE – ретинальный пигментный эпителий; ONL и INL – наружный и внутренний ядерные слои; OPL и IPL – наружный и внутренний сетчатые слои; GLC – слой ганглиозных клеток; фоторецепторы: С – колбочки; R – палочки; HC – горизонтальные и AC – амакриновые нейроны; BCr и BCs – биполяры; MG – глия Мюллера; Mi – микроглия

1. Markitantova Yu.V., Simirskii V.N. Inherited retinal diseases through the eyes of homeobox genes // Int. J. Mol. Sci. 2020.V. 21. No 5. P. 1602. Doi: 10.3390/ijms21051602; WoS, Scopus – Q1

2. Grigoryan E.N. Potential Endogenous Cell Sources for Retinal Regeneration in Vertebrates and Humans: Progenitor Traits and Specialization // Biomedicines. 2020.V. 8.No7. 208. Doi.org/10.3390/biomedicines8070208; WoS, Scopus – Q1

62. Биотехнология

Лаборатория клеточной биологии Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

Автор: чл.-корр. РАН, д.б.н. Воротеляк Е.А.

Получена панель клеточных культур кожи от пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом (ВБЭ) для разработки, в том числе, технологий геномного редактирования с целью коррекции патогенных мутаций, проведена их иммортализация. Панель содержит культуры клеток от 7 доноров с ВБЭ и 9 здоровых доноров в качестве контроля, в том числе 6 линий иммортализованных кератиноцитов и 10 линий иммортализованных дермальных фибробластов (рис. 1). Продемонстрированы существенные фенотипические и функциональные особенности клеток от пациентов с ВБЭ, в том числе по данным транскриптомов. С помощью трансдукции лентивирусным вектором, несущим кДНК каталитической субъединицы теломеразы получена новая линия иммортализованных кератиноцитов человека от здорового донора, которая может быть использована в исследованиях, связанных с изучением механизмов межклеточных взаимодействий, опухолеобразования и клеточной дифференцировки. Исследован её кариотип, морфологические особенности, поведение в культуре, экспрессия маркеров, опухолевые свойства и способность к стратификации в модели живого эквивалента кожи *in vitro*.

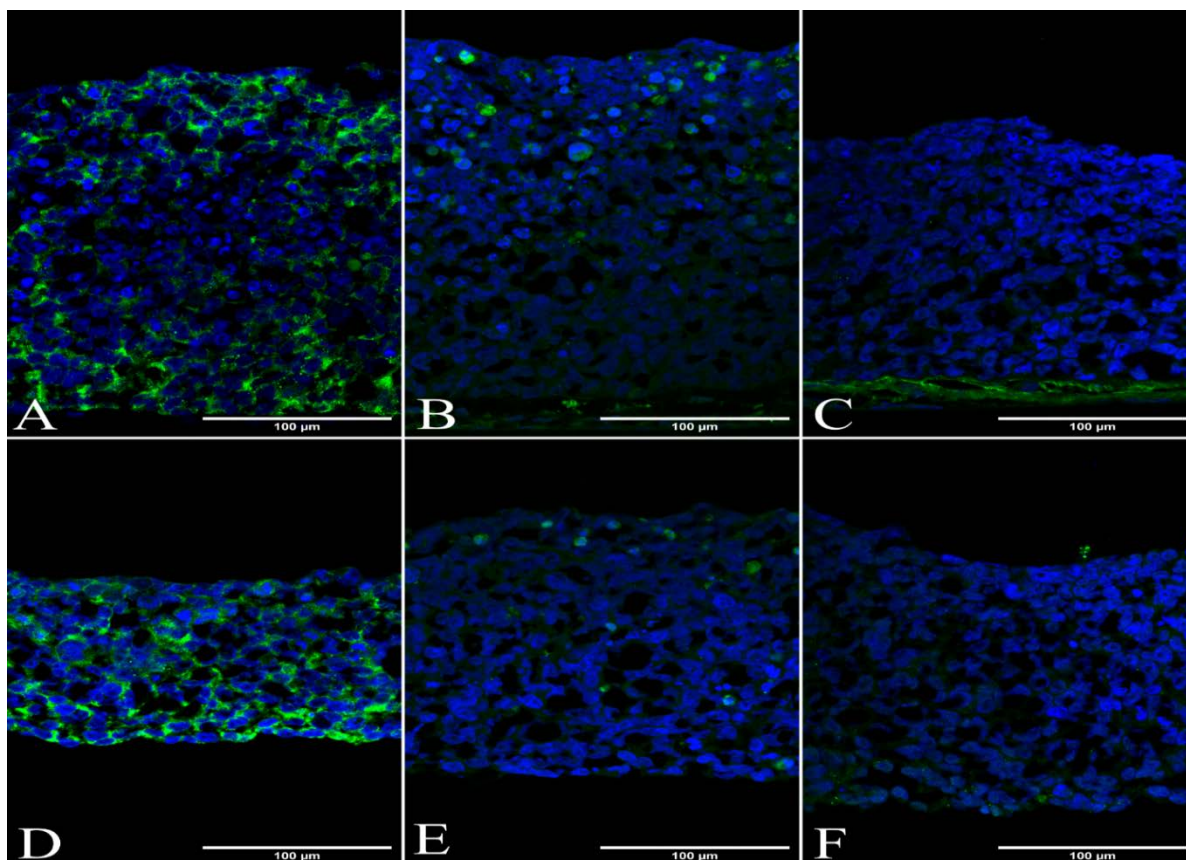


Рисунок 1. Криосрезы эквивалентов кожи, полученных из иммортализованных кератиноцитов и первичных дермальных фибробластов человека. Конфокальная микроскопия. а, б, в – среда DMEM/F12 для стратификации. г, д, е – среда CnT-Prime Airlift. Синий – ДНК (DAPI). Зеленый – кератин 14 (а, г), кератин 10 (б, д), коллаген 7 (в, е)

1. **Бейлин А.К., Гурская Н.Г., Евтушенко Н.А., Алпеева Е.В., Косых А.В., Терских В.В., Васильев А.В., Воротеляк Е.А.** Иммортализация кератиноцитов человека с помощью каталитической субъединицы теломеразы. Доклады российской академии наук. Науки о жизни. Том 496, С. 55-59, 2021. DOI:10.31857/S2686738921010042 Q4
2. **Beilin A.K., Evtushenko N.A., Lukyanov D.K., Murashkin N.N., Ambarchian E.T., Pushkov A.A., Savostyanov K.V., Fisenko A.P., Rogovaya O.S., Vasiliev A.V., Vorotelyak E.A., Gurskaya N.G.** Signatures of dermal fibroblasts from RDEB pediatric patients // Int. J. Mol. Sci. Q1-2 (on revision).

Работа финансируется Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 19-29-04044 и грант № 19-34-90066).

62. Биотехнология

Лаборатория клеточной биологии Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

Разработка, подготовка к государственной регистрации и промышленному выпуску биомедицинских клеточных продуктов для лечения дефектов кожи.

Авторы: – к.б.н. Алпеева Е.В., к.м.н. Суханов Ю.В., чл.-корр. РАН Васильев А.В., чл.-корр. РАН Воротеляк Е.А.

Разработаны биомедицинские клеточные продукты (БМКП) на основе выращенных клеток кожи человека и носителя. Биологический эквивалент кожи (БЭК) содержит клетки двух типов (мезенхимные стромальные клетки – МСК и эпидермальные кератиноциты), предназначен для лечения обширных и/или глубоких ожогов (рис. 1). Дермальный эквивалент кожи (ДЭК) содержит только МСК, предназначен для лечения длительно незаживающих ран. Проведены доклинические исследования БМКП в соответствии с современным законодательством РФ.

Продемонстрирована эффективность и безопасность разработанных БМКП. Так, показано, что БЭК при наложении на ожоговую рану оказывает противовоспалительный эффект, выражающийся в уменьшении воспалительной реакции тканей на ожог в первые сутки применения и репаративный эффект, проявляющийся в более быстром созревании вновь образованной соединительной ткани, более упорядоченной ориентации коллагеновых волокон, чем в группах сравнения, сохранении жизнеспособности пограничных ожоговому повреждению ткани волосяных фолликулов. ДЭК влияет на качество заживления полнослойной раны, что проявляется в полноценном плотном соединении эпидермиса и подлежащей соединительной ткани, без признаков отслаивания эпидермиса и подэпидермального отека.

В настоящее время поданы досье для государственной регистрации БЭК и ДЭК, производятся работы по созданию «чистых» помещений комплекса промышленного производства. Производственная площадка для промышленного выпуска БМКП впервые спроектирована и создается в соответствии с новым нормативным регулированием. Создаваемый комплекс опытно-промышленного производства БМКП будет являться базовой производственной площадкой для выпуска разрабатываемых перспективных клеточных продуктов (рис. 1). ПНИЭР по разработке БЭК и ДЭК в 2017-2020 гг. проводилась с использованием средств субсидии в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы (Соглашение с Минобрнауки № 14.610.21.0012). Создание комплекса опытно-промышленного производства проводится за счет привлеченных инвестиционных средств Индустриального партнера (ООО «Акрусбиомед»).

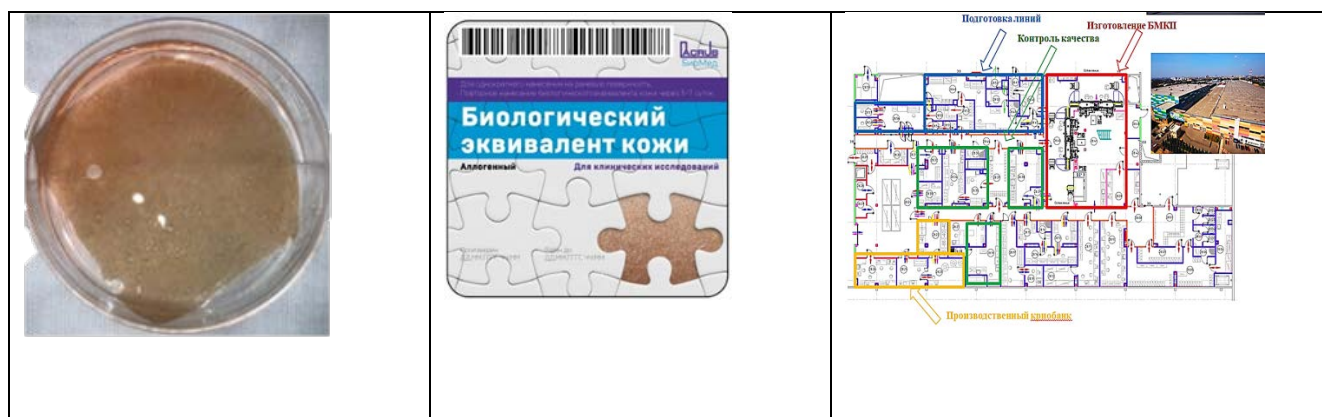


Рисунок 1. А. Внешний вид БЭК. Б. Проект упаковки. В. Схема производства БМКП

Alpeeva E., Sukhanov Y., Vorotelyak E. Almost 40 Years of Tissue Engineering in Russia: Where Are We Now? //Biomedicines. – 2020. – Vol. 8(2). – Art. no. 25. DOI: 10.3390/biomedicines8020025.