

при сравнительном анализе серии образцов, статистически обрабатываются ПО и сохраняются в формате boxplot-диаграмм и табличных файлов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Разработанный метод был успешно протестирован на различных образцах тканей, включая сердце, легкие и другие ткани низших приматов и крыс. Были проведены эксперименты по анализу образцов высокодифференцированного эндометриального рака яичника. Разработанное ПО позволяет анализировать тысячи образцов в короткие сроки при условии корректного отбора срезов для последующей обработки. Алгоритм и документация были опубликованы под свободной лицензией GPLv.3.0 в открытом доступе (<https://github.com/meklon/morphostain>) и могут быть использованы другими исследователями.

Финансирование исследования: *ФГБОУ ВО Куб-ГМУ Минздрава России.*

**Гумерова Д.Р., Салахиева Д.В.,
Камалов М.И., Абдуллин Т.И.**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет
dilka-gume@mail.ru*

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ КАТИОННЫХ ПОЛИАСПАРТАМИДОВ В КАЧЕСТВЕ ПЕРЕНОСЧИКОВ ПЛАЗМИДНОЙ ДНК

Полимеры аспарагиновой кислоты являются перспективной основой для создания систем доставки лекарств и биоматериалов благодаря их биосовместимости и варьировемому физико-химическим и биологическим свойствам. Ранее нами установлены зависимости структуры и характеристик катионных полиаспартамидов с различными аминокислотными и (гидрокси)алкильными боковыми группами, как переносчиков плазмидной ДНК [Salakhieva et al., 2017]. Образцы полиаспарагиновой кислоты и катионных полиаспартамидов (КАП) получали из полисукцинимидного предшественника, синтезированного в реакции термической поликонденсации L-аспарагиновой кислоты. Молекулярную массу (ММ) полимеров исследовали методами статического рассеяния света, вискозиметрии и электрофореза. ММ исследованных полимеров варьировала от 3.0 до 8.4 кДа. Разработан новый катионный амфифильный полиаспартамид путем одностадийной реакции полисукцинимиды с диамином. Установлено, что ДНК-связывающая активность КАП возрастает с повышением ММ полимеров. Получены полиплексы полиаспартамидов с модельной плазмидной ДНК pEGFP-N2. Стехиометрия полимер/ДНК для КАП (8.4 кДа) составила 1:1 по массе (N/P = 25). По данным динамического рассеяния света полиплексы представляют собой однородные катионные наночастицы (гидродинамический диаметр 77 нм, дзета-потенциал +45 мВ), устойчивые к спонтанной агрегации. Образцы катионных полиаспартамидов, как и эквивалентные образцы полиаспарагиновой кислоты, не обладают цитотоксичностью для клеток линии НЕК-293 ($IC50 \ll 1$ мг/мл). На примере КАП (8.4 кДа) показано, что катионные полиаспартамиды не проявляют гемолитического действия, по меньшей мере, в концентрации 1 мг/мл, что указывает на их низкую мембраноповреждающую способность. По данным флуоресцентной микроскопии КАП (8.4 кДа) обладает высокой трансфекционной активностью в отношении клеток НЕК-293, соизмеримой с активностью коммерческого реагента TurboFect. При этом

разработанный полиаспартамид вследствие низкой цитотоксичности не требует промывки клеток после трансфекции. Установленные свойства катионных полиаспартамидов свидетельствуют о перспективе их применения для внутриклеточной и внутритканевой доставки терапевтических плазмид, стимулирующих регенерацию тканей. Salakhieva, D. et al. IntJPharm, 2017, V.517, P.234-246. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.12.007>

Финансирование исследования: *Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.*

**Гурьянов И.Д., Науменко Е.А., Львов Ю.М.,
Фахруллин Р.Ф.**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет
igurjano.27@mail.ru*

НАНОМОДИФИЦИРОВАННЫЕ БИОПОЛИМЕРНЫЕ МАТРИКСЫ ДЛЯ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

В современном мире спрос на замену утраченных или поврежденных тканей и органов большой и не может быть полностью удовлетворен трансплантацией донорского материала. В частности, трансплантации препятствует отсутствие полностью иммунологически совместимых тканей. Кроме того, существует проблема длительного ожидания донорских органов. В связи с этим, изготовление прототипов тканей, имеющих функциональные свойства, близкие к естественным, имеет решающее значение для эффективной трансплантации. Тканеинженерные конструкции обычно используются в качестве носителей, которые позволяют клеткам образовывать тканеподобные структуры, необходимы для правильного функционирования клеток в условиях, близких к трехмерным тканям. Недавно сформулированная новая парадигма названная «наноархитектоника», предлагает новый дизайн и изготовление тканеинженерных материалов с использованием динамической гармонизации на атомном/молекулярном уровне, химическую нанобработку, самосборку и позволяет создавать высокофункциональные материалы. Несмотря на то, что были предложены подходы, использующие различные полимеры для имитации природных условий для развития и роста клеток и тканей, универсальное решение для изготовления биосовместимых тканевых матриц все еще не отсутствует. В нашей работе показано формирование биополимерного пористого носителя на основе хитозана и агарозы и желатина, допированного нанотрубками минерала галлуазита. Добавление 3–6% нанотрубок позволило нам увеличить механическую прочность пористых матриц, что было определено с использованием динамического механического анализа и измерения прочности на растяжение. Кроме того, нами было выявлено, что добавление галлуазита увеличивает влажёмкость материала. Для оценки биосовместимости матриц *in vitro* мы использовали два типа раковых клеток человека (A549 и Hep3B). Клетки высевали на пористые подложки, обеспечивая подходящую поддержку роста и пролиферации клеток. Комбинация красителей флуоресцеиндиацетат и DAPI были ис-

пользованы для демонстрации распределения клеток на матриксах. Сканирующая электронная микроскопия и 3D конфокальная визуализация позволили выявить, что клетки эффективно прикрепляются к исследуемым матриксам, обрастая стенки пор, с сохранением характерной клеточной морфологии. Биологическую совместимость бионаноконструкций *in vivo* изучали на лабораторных крысах. Матрицы имплантировали подкожно; через 3 нед. с помощью лазерной доплеровской флоуметрии было выявлено, что происходило восстановление кровотока в области имплантации, что также было подтверждено гистологически. Анализ гистологических срезов через 6 нед. выявил полную резорбцию материала матрикса. Кроме того, нами было изучено распределение нанотрубок, входящих в состав матрикса, в области имплантации и в основных органах методом усиленной темнопольной микроскопии. По предварительным данным нанотрубки не распределялись по организму, а задерживались в области имплантации, однако данный вопрос требует более детального изучения.

Финансирование исследования: *Эта работа была частично поддержана грантом РФФИ № 17-04-02182 и выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.*

Давлетшина Г.И.^{1,2,3}, Шерстюк В.В.^{1,2,3,4}, Закиян С.М.^{1,2,3,4}

¹ Новосибирский государственный университет

² ФГБНУ ФИЦ «Институт цитологии и генетики» СО РАН

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им.

акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России Минздрава России

⁴ ФГБНУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН davlet15628@gmail.com

НАПРАВЛЕННОЕ ВНЕСЕНИЕ ДЕЛЕЦИЙ В ГЕНОМ ФИБРОБЛАСТОВ КРЫСЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИЙ МИКРОРНК В ПРОЦЕССЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЯ К ПЛЮРИПОТЕНТНОМУ СОСТОЯНИЮ

МикроРНК (миРНК) — это малые некодирующие РНК, которые участвуют в регуляции экспрессии генов во всех типах клеток. Основная функция миРНК — посттранскрипционная регуляция экспрессии генов. Неоднократные исследования доказывают, что некоторые миРНК участвуют в поддержании плюрипотентности и в перепрограммировании клеток к плюрипотентному состоянию. Поиск новых факторов, участвующих в перепрограммировании клеток к плюрипотентному состоянию, является неотъемлемой частью фундаментальных исследований. В настоящее время эффективность получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) составляет не более 1% от исходной популяции соматических клеток. Открытие и применение новых факторов позволит более тонко регулировать процесс перепрограммирования клеток к плюрипотентному состоянию и эффективнее получать индуцированные плюрипотентные стволовые клетки.

Лабораторная крыса одна из самых используемых животных моделей в экспериментальной медицине. Получение плюрипотентных клеток крысы дает новые возможности выведения трансгенных линий крыс и использование их в медицинских, токсикологических и фармакологических исследованиях. К тому же, в связи с развитием трансляционной медицины, потребность в изучении ИПСК данного модельного животного возрастает. Изучение ИПСК крысы позволит более эффективно проводить исследования, связанные с применением ИПСК в лечении некоторых заболеваний. Данная работа посвящена получению делеций локусов, содержащих сгруппированные гены миРНК, расположенные на X-хромосоме лабораторной крысы. Ранее нами было установлено, что миРНК: miR-743a, miR-743b, miR-742, miR-883, miR-471, miR-3551, miR-741, miR-463, miR-880, miR-878, miR-881, miR-871, miR-3580, miR-465 — активно транскрибируются в плюрипотентных клетках, но их экспрессия в фибробластах отсутствует. Для выяснения роли данных миРНК в процессе перепрограммирования к плюрипотентному состоянию мы провели нокаут этих миРНК в фибробластах крысы. Для получения нокаута мы использовали систему CRISPR/Cas9, состоящую из двух направляющих РНК и позволяющую вносить протяженные делеции в геном. В настоящем исследовании мы получили линии клеток с делециями пяти участков, длиной от 3 т.п.н. до 45 т.п.н., в которых закодированы сгруппированные гены исследуемых миРНК. В дальнейшем планируется провести перепрограммирование полученных линий клеток для изучения влияния исследуемых миРНК на процесс перепрограммирования. Полученные результаты позволят расширить знания в области плюрипотентных стволовых клеток и участия миРНК в регуляции данного явления.

Финансирование исследования: *Работа поддержана грантом РФ № 16-14-10084.*

Давыдов Д.Г.

НКО «Ассоциация ветеринарной регенеративной и инновационной медицины»
vetrynary@mail.ru

РЕКОНСТРУКЦИИ РУБЦОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АЛЛОГЕННЫХ МУЛЬТИПОТЕНТНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ

ВВЕДЕНИЕ. Широкое использование мультипотентных стромальных клеток (МСК) в регенеративной медицине обусловлено доступностью материала для выделения и культивирования этих клеток. МСК обладают рядом уникальных свойств, таких как: высокая пролиферативная способность в культуре, достаточно высокий дифференцировочный потенциал, хоуминг, а также иммуносупрессия, которая позволяет использовать аллогенные МСК в трансплантологии.

ЦЕЛЬЮ данной работы являлось исследование возможности применения аллогенных МСК, выделенных из жировой ткани (ЖТ) для реконструкции рубцов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. МСК были выделены из ЖТ лошадей. Культивированные адгезивные клетки были охарактеризованы по цитофенотипическим признакам. На модели лошадей был проведен эксперимент. В область каждого рубца со сроком давности один год была введена суспензия МСК в среде DPBS, содержащая 1 млн клеток. Локализация рубцов: шея. За динамикой изменений следили