

Наименование института: **Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии Российской академии наук
(ИНЦ РАН)**

**Отчет по основной референтной группе 10 Физико-химическая, молекулярная и
клеточная биология, биотехнологии**

Дата формирования отчета: **23.05.2017**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАУЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Инфраструктура научной организации

1. Профиль деятельности согласно перечню, утвержденному протоколом заседания Межведомственной комиссии по оценке результативности деятельности науч- ных организаций, выполняющих научно-исследовательские, опытно-конструк- торские и технологические работы гражданского назначения от 19 января 2016 г. № ДЛ-2/14пр

«Генерация знаний». Организация преимущественно ориентирована на получение новых знаний. Характеризуется высоким уровнем публикационной активности, в т.ч. в ведущих мировых журналах. Исследования и разработки, связанные с получением прикладных результатов и их практическим применением, занимают незначительную часть, что отражается в относительно невысоких показателях по созданию РИД и небольших объемах доходов от оказания научно-технических услуг. (1)

2. Информация о структурных подразделениях научной организации

Научные подразделения:

Лаборатория морфологии клетки: Изучение молекулярного состава, строения и динамики хромосом и экстрахромосомных доменов нуклеоплазмы в разных типах клеток у филогенетически отдаленных организмов, функции больших tandemных повторов ДНК.

Лаборатория молекулярной биологии стволовых клеток: Исследование молекулярных механизмов регуляции клеточной плюрипотентности. Разработка новых подходов для обеспечения безопасности и эффективности применения плюрипотентных клеток в клинической практике.

Лаборатория физиологии клетки: Расчет баланса ионных потоков через плазматическую мембрану животных клеток. Выяснение роли главных систем переноса моновалентных ионов через клеточную мембрану в характерных для апоптоза перестройках ионного баланса животных клеток. Исследование нелокально-электростатических эффектов при сольватации ионов в процессе их движения через каналы и транспортеры.

Лаборатория ионных каналов клеточных мембран: Исследование молекулярных механизмов депо-управляемого входа кальция в норме и при патологии. Изучение молекуляр-



056962

ных механизмов формирования и функционирования ионных каналов, образованных экзогенными соединениями (токсины, антибиотики), в липидных бислоях.

Лаборатория клеточной патологии: Клеточные механизмы регенерации нормальных и патологически измененных органов и роль стволовых клеток в этих процессах. Анализ структуры гликогена в гепатоцитах в норме и при патологии.

Лаборатория структурной динамики, стабильности и фолдинга белков: Исследование структуры, стабильности и динамики глобулярных и внутренне-неупорядоченных белков и их комплексов. Изучение процессов фолдинга и нарушения фолдинга белков, процессов возникновения аморфных агрегатов и амилоидных фибрилл, влияния условий макромолекулярного краудинга на эти процессы. Изучение роли макромолекулярного краудинга в образовании немембранных органелл и каналов транспорта биологически важных веществ в клетке.

Лаборатория цитологии одноклеточных организмов: Исследование молекулярной организации, функционального разнообразия, клеточного метаболизма и адаптивного потенциала свободноживущих и патогенных социально значимых эукариотных микроорганизмов.

Лаборатория радиационной цитологии: Исследование процессов старения на клеточном уровне, динамика изменений длин теломер и маркеров старения в различных условиях, разработка клеточных методов диагностики прогероидных синдромов, изучение мозаичных форм атаксии-телеангиэктазии; механизмы иммуномодулирующего и ранозаживляющего действия полихроматического видимого и инфракрасного излучения.

Лаборатория стабильности хромосом и клеточной инженерии: Изучение механизмов поддержания стабильности хромосом в клетках высших эукариот, репарации и репликации ДНК, генетической рекомбинации, клеточного контроля мобильных генов и их роли в регуляции генной экспрессии.

Лаборатория структурной организации генома: Изучение белков и их генов, составляющих мультишаперонную сеть у микоплазмы, рассматриваемой в качестве естественной модели минимальной клетки, важно для понимания фундаментальных основ и защиты клетки от стрессорных факторов.

Лаборатория молекулярных основ дифференцировки клеток: Изучение взаимодействия сигнальных путей, регулирующих аутофагию и апоптоз как основа для разработки эффективных подходов противоопухолевой терапии в отношении злокачественных клеток, устойчивых к апоптозу. Изучение механизмов модуляции p53 для поддержания плюрипотентного состояния эмбриональных стволовых клеток и его роль в индукции дифференцировки.

Лаборатория цитологии опухолевого роста: Исследование клеточных и молекулярных механизмов опухолевой прогрессии: изучение свойств опухолевых стволовых и прогени-



торных клеток на моделях культивируемых клеточных линий гепатоцеллюлярного происхождения.

Лаборатория регуляции экспрессии генов: Изучение механизмов контроля и координации различных этапов экспрессии генов человека и животных и участия в этих процессах протеасом и малых некодирующих РНК.

Лаборатория молекулярных основ клеточной подвижности: Изучение молекулярных механизмов работы акто-миозинового мотора в норме и при миопатии.

Отдел внутриклеточной сигнализации и транспорта

Лаборатория динамики внутриклеточных мембран: Исследование роли везикулярного транспорта и его регуляции в проведении внутриклеточных сигналов; роль цитоскелета, проточная цитометрия.

Лаборатория внутриклеточной сигнализации: Изучение биологии стволовых клеток в культуре, молекулярные механизмы реакции стволовых клеток на стресс и индукции клеточного старения.

Лаборатория ионных механизмов клеточной сигнализации: Изучение катионных каналов в плазматической мембране клеток млекопитающих, выявление физиологически значимых путей активации различных типов каналов, активность которых вносит вклад в обеспечение ионного гомеостаза и передачу сигналов; функциональные свойства и механизмы регуляции ионных каналов во взаимосвязи с динамикой цитоплазматических и мембранных структур.

Отдел клеточных культур.

Лаборатория биологии клетки в культуре: Разработка клеточных технологий с использованием культивируемых клеток человека для восстановления нарушенной структурной целостности и функциональной активности поврежденных тканей и органов. Изучение состава внеклеточного матрикса, его пространственной организации и механизмов ремоделирования, оказывающих влияние на пролиферацию и дифференцировку клеток в культуре, а также изучение состава и активности матриксных металлопротеаз в процессе заживления ран и регенерации тканей. Изучение роли актинового цитоскелета и актин-связывающих белков в проведении внеклеточных сигналов в ядро и исследование функций белков цитоскелета в ядре. Изучение структурно-функциональных связей в актине и роли актин-специфических протеаз в инвазии бактерий в клетки эукариот.

Лаборатория защитных механизмов клетки: Исследование роли белков-шаперонов при наследственных нейродегенеративных заболеваниях и при канцерогенезе с разработкой методов их использования в противоопухолевой терапии.

Центр коллективного пользования "Коллекция культур клеток позвоночных": Сохранение и развитие коллекции культур клеток позвоночных, включая человека, для проведения фундаментальных и прикладных исследований в области клеточной биологии и регенеративной медицины. Паспортизация и контроль качества коллекционных линий. Проведение фундаментальных и прикладных исследований: изучение адаптации и пове-



дения клеток при переходе в культуру, изучение закономерностей становления клеточных линий и реакции клеточных популяций на различные изменения условий культивирования.

Межлабораторные группы.

Группа биоинформатики и функциональной геномики: Исследование генных и геномных дупликаций, а также связи между этими параметрами и особенностями генной экспрессии и другими фенотипическими признаками. Исследования транскриптомов, генных (белковых) модулей и сетей, их эволюции и тканеспецифичности.

Группа по конфокальной микроскопии и анализу изображений в клеточной биологии: Разработка научно-методических проблем конфокальной и люминесцентной микроскопии, а также анализа изображений. Методическая и техническая помощь сотрудникам ИНЦ РАН при проведении исследований с использованием приборов группы. Группа располагает лазерным сканирующим конфокальным микроскопом LEICA TCS SP5, люминесцентными микроскопами AXIOVERT 200M, AXIOPHOT и AXIOSKOP с цифровыми видеосистемами и другим оборудованием.

3. Научно-исследовательская инфраструктура

1. Центр клеточных технологий ИНЦ РАН.

В 2014 г. в рамках комплексной программы развития научной организации, поддержанной грантом РНФ, запущена организация Центра клеточных технологий ИНЦ РАН. Инфраструктура центра состоит из комплекса уникального оборудования, предназначенного как для биомедицинских исследований, так и для нужд опытного производства клеточных продуктов, установленного в условиях чистых помещений (класс D, согласно международной классификации). В 2015 г. проведены работы по реконструкции помещений и строительству Центра. Работы по реконструкции и оснащению проведены в соответствии с международным стандартом GMP, что позволяет использовать инфраструктуру Центра в качестве опытного производства биомедицинских клеточных продуктов.

В 2015 году в Центре установлено оборудование класса mega-science- автоматизированная система культивирования клеток CompactSelectTAP, позволяющая культивировать живые клетки в полностью контролируемых условиях по заданным протоколам без участия человека. Система CompaсT, установленная в условиях чистых помещений, уникальна как для России, так и для Севера Европы. Система позволяет получать клеточный материал в полностью стандартизированных условиях, осуществлять его подготовку, как для масштабных научных исследований, так и для создания клеточных продуктов и их применения в клинике.

Центр клеточных технологий ИНЦ РАН - это первый в структуре ФАНО России центр, чьи технические возможности позволят работать с клеточными культурами в рамках нового закона РФ о биомедицинских клеточных продуктах (180-ФЗ).

2. ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» ИНЦ РАН является Центральным банком культивируемых клеток человека и животных, официальным органом по депони-



рованию новых клеточных линий и гибридом, научно-методическим центром Российской коллекции клеточных культур.

Общее число единиц хранения в криобанке ЦКП – более 30 000 образцов (криопробирок), ядро клеточной коллекции содержит 150 клеточных линий человека и животных. Эталонным клеточным материалом обеспечиваются научные подразделения ИНЦ РАН и научные организации России для проведения фундаментальных и прикладных исследований.

ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» состоит из 3-х подразделений – Банк клеточных культур, Криокомплекс и Группа стерилизации. Каждое из подразделений оснащено специализированным оборудованием.

- Криогенное хранилище для биопродуктов (Taylor)
- Программный замораживатель Minicool LG 40 (CFPO)

3. Инфраструктурное подразделение вивария ИНЦ РАН для содержания и разведения в стерильных условиях иммунодефицитных мышей $\square$ (тип SPF). Оборудовано системой подачи стерильного воздуха в клетки лабораторных животных и автоматизированной станцией смены подстилок, объем рассчитан на 48 клеток.

Проведены трансплантации плюрипотентных клеток, их дифференцированных производных, а также раковых клеток человека и мыши иммунодефицитным мышам линии NUDE, модельным животным линии F8, DYSF и других.

4. Дорогостоящее высокотехнологичное оборудование.

В отчетных годах произошло существенное обновление парка оборудования ИНЦ РАН за счет приобретения современных и перспективных моделей оборудования. Общая стоимость приобретенного оборудования более 170 млн руб.

- Проточный цитофлуориметр Beckman Cytotflex,
- Сортиер клеток BioRadS3,
- Автоматическая 24-канальная система заполнения криопробирок Fill-It,
- Нуклеофектор Lonza 4D,
- Автоматическая система визуализации Evos Auto,
- Спектрометр FluoTime 300 (PicoQuant).
- калориметр DSC 7
- спектрофлуориметр Agilent R3896 PMT CaryEclipse,
- система гель-документирования ChemiDoc Touch,
- прибор для трансфекции 4D-Nucleofector

В Институте также успешно функционирует парк современного высокотехнологичного оборудования:

- Конфокальный микроскоп LeicaTCP-5,
- MALDI-TOF масс-спектрометр Bruker,
- Электронный микроскоп Carl Zeiss,



- Люминесцентные микроскопы AXIOVERT 200M, AXIOPHOT и AXIOSKOP с цифровыми видеосистемами,

- Флуоресцентный микроскоп с возможностями цейтраферной съемки AxioObserverZ1 ApoTom, Carl Zeiss Microimaging

- Аналитическая система измерения внутриклеточной концентрации кальция "In Cyt Standart Im Fluorescence Imaging System", оснащенная CCD камерой высокого разрешения

- Фемтосекундная флуоресцентная система FOG 100

4. Общая площадь опытных полей, закрепленных за учреждением. Заполняется организациями, выбравшими референтную группу № 29 «Технологии растениеводства»

Информация не предоставлена

5. Количество длительных стационарных опытов, проведенных организацией за период с 2013 по 2015 год. Заполняется организациями, выбравшими референтную группу № 29 «Технологии растениеводства»

Информация не предоставлена

6. Показатели деятельности организаций по хранению и приумножению предметной базы научных исследований

Коллекция культур клеток позвоночных.

Коллекция культур клеток позвоночных Института цитологии РАН основана в 1978 г. постановлениями Совета Министров СССР и Президиума Академии наук СССР. 13 февраля 1981 года приказом за № 24/25/13 Государственный Комитет СССР по науке и технике, Госплан СССР и Президиум Академии наук СССР утвердили решение о создании Всесоюзной коллекции клеточных культур, головной организацией был утвержден Институт цитологии АН СССР. Российская коллекция клеточных культур состояла из 9 специализированных коллекций, расположенных в научно-исследовательских институтах РАН, РАМН, РАСХН и МЗ РФ. В разные годы Коллекция являлась членом Европейского Общества Тканевых Культур (ETCS), Всемирной Федерации Коллекций Культур и Европейской Организации Коллекций Культур (ECCO). Коллекция является членом межрегиональной общественной научной организации "Ассоциация специалистов по клеточным культурам". На основании решения Ученого совета 45/797 от 14.01.2004 г. и приказа директора ИНЦ РАН №6 от 06.02.2004 г. получила статус Центра коллективного пользования.

Эталонный фонд коллекции составляет 150 клеточных линий человека и животных, депонировано 774 авторские клеточные линии. В криокомплексе Банка клеточных культур заложено 29208 ед. хранения (на конец 2015 г.).

Коллекционные клеточные линии, в первую очередь, востребованы для проведения широкого спектра фундаментальных исследований в области клеточной биологии, в частности, для изучения процессов пролиферации, дифференцировки, канцерогенеза,



клеточной подвижности и др., а также для проведения прикладных исследований в области регенеративной медицины и фармакологии. Ежегодно выдается более 180 образцов клеточных линий для различных исследований в учреждения РФ разной ведомственной принадлежности.

За период 2013 – 2015 гг. в Коллекции был обновлен пул 97 клеточных линий человека и разных видов животных; получено 2 новых линии мезенхимных стволовых клеток человека.

7. Значение деятельности организации для социально-экономического развития соответствующего региона

Институт осуществляет деятельность, приносящую социально-значимую пользу региону:

1. Поставляет разработанный в Институте и клинически апробированный в 2006-2011 гг. (разрешение Минздрава РФ) клеточный продукт "Эквивалент дермальный ЭД" в клиники в качестве жизнесберегающего препарата для пациентов с обширными ожогами и незаживающими трофическими язвами и диабетической стопой при угрозе ампутации конечности. За период 2013-2015 гг. в клиники Санкт-Петербурга было передано 11 582 кв. см готового клеточного продукта, в частности, в следующие учреждения: Институт скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, Клиническую больницу им. Святого Георгия, Клинику Института детской гематологии, 14-ю городскую больницу, 2-ю городскую больницу, Военно-медицинскую академию МО РФ, МАПО, Госпиталь ветеранов войн, Институт фтизиопульмонологии, 9-ю городскую больницу, больницу Академии наук .

2. Подготовка кадров высшей квалификации:

ИНЦ РАН имеет долгосрочные партнерские отношения с рядом ведущих образовательных организаций. Сотрудничество направлено на совместную работу по подготовке кадров высшей квалификации, в том числе для пополнения кадрового состава ИНЦ РАН и других научных учреждений. В рамках этого сотрудничества в 2013-2015 годах на базе ИНЦ РАН работали две базовые кафедры Санкт-Петербургского гос.политехнического Университета. На базе института выполнялись также бакалаврские и магистерские диссертации студентов Санкт-Петербургского государственного Университета, Санкт-Петербургского государственного технологического института. Эта деятельность направлена, в том числе, на реализацию одной из стратегических задач развития ИНЦ РАН – привлечение одаренных выпускников ВУЗов к научной работе в структуре организации.

8. Стратегическое развитие научной организации

В 2014 году на поддержку Комплексной программы научного развития Института получен грант РНФ № 14-50-00068 по приоритетному направлению деятельности РНФ «Реализация комплексных научных программ организаций» по теме «Молекулярно-клеточные технологии для лечения социально значимых заболеваний» (2014-2018 гг.).



В 2015 году ИНЦ РАН разрабатывал Стратегическую Программу развития Института и, в качестве головной организации, формировал Актуальное направление для научно-технологического развития Российской Федерации.

В марте 2016 г. Актуальное направление Института цитологии РАН «Фундаментальные основы клеточных технологий для восстановления органов и тканей» было обсуждено и поддержано на секции «Науки о жизни» Научно-координационного совета ФАНО России и одобрено Бюро НКС №9 от 23.03.2016.

Интеграция в мировое научное сообщество

9. Участие в крупных международных консорциумах (например - CERN, ОИЯИ, FAIR, DESY, МКС и другие) в период с 2013 по 2015 год

В 2015 г. ИНЦ РАН приглашен к участию во всемирный GAIT альянс (Global Alliance for iPSC Therapies).

Инициатор организации всемирного альянса I-STEM (The New York Stem Cell Foundation Research Institute, New York, USA), в состав альянса, на момент подписания Соглашения в 2015 г., входило 16 участников из 8 стран (США, Англия, Шотландия, Япония, Корея, Гонконг, Россия, Бразилия).

Статус ИНЦ РАН – головная научная организация, представляющая Российскую Федерацию.

Участие ИНЦ РАН в рабочих встречах - NewYork, USA в марте 2015 г., Stockholm, Sweden - в июне 2015 г.

10. Включение полевых опытов организации в российские и международные исследовательские сети. Заполняется организациями, выбравшими референтную группу № 29 «Технологии растениеводства»

Информация не предоставлена

11. Наличие зарубежных грантов, международных исследовательских программ или проектов за период с 2013 по 2015 год

Количество зарубежных грантов -2 по программе 7th Research Framework Programme –ERA.Net. 2012-2014:

1. Трёхстороннее соглашение о кооперации между ИНЦ РАН, Институтом биомедицинских исследований г. Беллинтона (Швейцария) и Вальтер Штрауб Институтом фармакологии и токсикологии при Университете Людвига Максимилиана г. Мюнхена (ФРГ) по теме: «TRPM7 in Regulation of T cell subsets and Purinergic Signaling» в рамках объединенного конкурса проектов ERA.Net-RUS. Соглашение#ERA.Net-RUS-184.

2. Трёхстороннее соглашение о кооперации между ИНЦ РАН, Национальным институтом молекулярной и клеточной биологии (Польша) и Медицинским центром Университета Дюссельдорфа (ФРГ) по теме: «Pathways of Store-Operated Calcium Entry (SOCE) as a novel



therapeutic target in neurodegenerative diseases» в рамках объединенного конкурса проектов ERA.Net RUS. Соглашение#ERA.Net-RUS-123.

Договор о научном сотрудничестве ИНЦ РАН с Институтом микробиологии и биотехнологии Латвийского университета (г. Рига, Латвия) по изучению общих механизмов реакции эукариотической клетки на экстремальные воздействия. 2012-2015.

Договор о научном сотрудничестве ИНЦ РАН с Лаб. молекулярной биосенсористики, Института биохимии белка СИН, (Неаполь, Италия), 2011-2013.

В рамках договора проводилась разработка элементов биосенсорной системы социальной значимости (глюкометра) на основе глюкоза-связывающих и флуоресцентных белков.

Договор о сотрудничестве ИНЦ РАН с Белорусским государственным университетом (Минск, Республика Беларусь), с кафедрой лазерной физики и спектроскопии БГУ по программе совместных исследований «Разработка препаратов и методик для биомедицинских применений, включая вопросы развития нанобиотехнологий, изучения фолдинга и нарушения фолдинга белков, изучения флуоресцентных красителей, как инструмента для фундаментальных исследований и практической диагностики», 2012-2017.

В ходе выполнения работы даны объяснения спектральных свойств красителя тиофлавина Т. Разработан метод для определения числа мод связывания тиофлавина Т с амилоидными фибриллами. Впервые определены спектры поглощения связанного красителя тиофлавина Т и его квантовый выход флуоресценции. Показано, что спектральные свойства аналогов тиофлавина Т существенно зависят от присутствия метильной группы у атома азота бензтиазольного кольца. Создан краситель, имеющий существенно более длинноволновый спектр по сравнению с тиофлавином Т, что весьма существенно при окрашивании фибрилл в клетке.

Двустороннее соглашения о кооперации между Университетом г. Росток (ФРГ) и ИНЦ РАН по теме: «Биоразнообразие, цитозкология и физиологические адаптации водных организмов в Балтийском море», 2011-2014.

В рамках соглашения, на базе совместной российско-германской Лаборатории экспериментальной водной экологии им. Ульриха Шивера (“Ulrich Schiewer Experimental Laboratory for Aquatic Ecology”, USELAB) при Университете г. Росток проводится широкий спектр цитозкологических исследований одноклеточных эукариот (инфузорий, жгутиконосцев-динофлагеллят).

НАУЧНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ОРГАНИЗАЦИИ

Наиболее значимые результаты фундаментальных исследований

12. Научные направления исследований, проводимых организацией, и их наиболее значимые результаты, полученные в период с 2013 по 2015 год



Направление 57. Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов, протеомика, биокатализ.

1. Выполнены две значимые методические разработки. 1) Метод корректировки и нормировки регистрируемой экспериментально интенсивности флуоресценции на эффект первичного внутреннего фильтра, позволяющий выделить ее информативную составляющую – произведение оптической плотности и квантового выхода флуоресценции молекул исследуемого объекта. Предложенный подход позволяет работать с растворами высокой оптической плотности, что существенно для изучения фотофизических свойств флуоресцентных биомаркеров и функционально значимых взаимодействий биологических макромолекул, а также для определения стехиометрии связывания тиофлавина Т с амилоидными фибриллами. 2) Для изучения свойств амилоидных фибрилл предложен новый метод пробоподготовки, основанный на использовании равновесного микродиализа.

С использованием этих разработок исследованы процессы образования, структура и свойства амилоидных фибрилл на основе различных белков и пептидов: альфа-синуклеина, Абета-пептида (1-42), лизоцима, бета-2-микроглобулина (и его укороченных форм) и прионного белка Sup35 (и его мутантных форм), накопление которых сопутствует тяжелым заболеваниям, таким как болезнь Паркинсона, Альцгеймера, прионные болезни, системный лизоцимовый и гемодиализный амилоидозы, а также процессы образования и свойства предшественников амилоидных фибрилл – растворимых амилоидных олигомеров, которые, согласно современным представлениям, могут быть токсичны для клетки. Полученные результаты открывают новые возможности использования тиофлавина Т для исследования структуры амилоидных фибрилл и могут иметь существенное значение при использовании нейтральных аналогов тиофлавина Т, способных преодолевать гемато-энцефалический барьер, в диагностических и терапевтических целях при нейродегенеративных заболеваниях. Показано, что красный пигмент дрожжей оказывает антиамилоидное действие на трансгенно экспрессированный Абета пептид. У дрожжей при этом подавляются признаки нейродегенерации.

2. Получены новые данные о физико-химических свойства биомаркеров на основе GFP-подобных белков и бактериальных фитохромах. Показано, что процессы разворачивания–сворачивания зеленого флуоресцентного белка суперфолдера sfGFP осложнены существованием двух форм хромофора – протонированной и анионной и изменением ионного статуса хромофора под воздействием денатурирующего агента. Показана существенная роль хромофора в стабилизации структуры белка и возникновении гистерезиса денатурационных кривых сворачивания–разворачивания. Изучены физико-химические свойства флуоресцентного белка iRFP713 – ближне-инфракрасного биомаркера нового поколения, созданного на основе фитохрома RpVph2 из фотосинтетических бактерий *Rhodospseudomonas palustris*. Показано, что необратимость денатурации белка в холоформе связана не с наличием в структуре узла типа «восьмерка», а с тем, что правильному фолдингу белка препятствует наличие хромофора, ковалентно связанного с белковой цепью.



Изучены спектральные свойства димерных флуоресцентных маркеров iRFP713, iRFP682 и iRFP670 и их мутантных форм. Показано, что спектральные свойства димерных NIR FP в значительной мере определяются межмономерным и междоменным аллостерическим влиянием цистеиновых остатков, которое препятствует или способствует ковалентному связыванию биливердина во втором мономере димерных NIR FPs. Создана мутантная форма iRFP713/V256C, имеющая самый высокий из всех созданных на сегодняшний день NIR FPs квантовый выход и яркость флуоресценции *in vivo* и *in vitro*. Получен мономерный однодоменный флуоресцентный и биолюминесцентный биомаркеры на основе бактериальных фитохромов с максимумами эмиссии в ближне-инфракрасной области спектра, обладающие яркой флуоресценцией и биолюминесценцией, которые могут быть использованы для имиджинга биологических процессов, происходящих глубоко в тканях животных.

3. Изучение влияния условий макромолекулярного краудинга на структуру, стабильность, процессы сворачивания – разворачивания, нарушение фолдинга и агрегацию белков, проведенное в рамках Проекта РНФ № 14-24-00131 2014-2016 гг. позволило сделать заключение о том, что экспериментальные данные нельзя объяснить исключительно в рамках концепции исключенного объема, согласно которой условия краудинга стимулируют структурные изменения и взаимодействия целевых белков, приводящие к уменьшению свободного объема. При интерпретации результатов необходимо учитывать влияние краудинг агентов на структуру растворителя, а также слабые взаимодействия между целевой молекулой белка и макромолекулами – краудинг агентами.

На примере глобулярного актина выдвинута гипотеза, согласно которой белки в нативном состоянии могут иметь термодинамически нестабильную структуру. Существование термодинамически нестабильных глобулярных белков говорит о том, что роль клеточной машинерии фолдинга (шапероны, шаперонины и т.п.) не сводится только к предотвращению самоагрегации сходящей с рибосомы полипептидной цепи, ее защите от расщепления протеазами и взаимодействия с другими нежелательными партнерами, как долгое время считалось на основании данных Анфинсена.

Анализ собственных и литературных данных показал, что за последние годы произошла существенная трансформация представлений о структуре белков и об организации внутриклеточного пространства. Стало очевидным, что наряду с глобулярными белками существует большое число внутренне неупорядоченных белков, а наряду с органеллами со строго детерминированной структурой, ограниченной фосфолипидной мембраной, существует большое число немембранных высоко динамичных органелл. Мы находимся в самом начале взрывного развития этого направления науки, о чем свидетельствует исключительно высокая цитируемость ряда наших работ, опубликованных в 2014-2015 гг. (первые три работы, опубликованные по этой теме в 2014-2015 гг., процитированы уже более 100 раз).

1. Stepanenko Olesya V., Stepanenko Olga V., Subach O.M., Kuznetsova I.M., Turoverov K.K., Verkhusha V.V. 2013. Beta-barrel scaffold of fluorescent proteins: folding, stability and



role in chromophore formation. *International Review of Cell & Molecular Biology*. 302: 221-279. doi: 10.1016/B978-0-12-407699-0.00004-2 IF= 3,419 (2013), (актуальный 4,973) WoS, Scopus

2. Stepanenko Olesya V., Bublikov G.S., Stepanenko Olga V., Shcherbakova D.M., Verkhusha V.V., Turoverov K.K., Kuznetsova I.M. 2014. A knot in the protein structure - probing the near-infrared fluorescent protein iRFP designed from a bacterial phytochrome. *FEBS J*. 281(9):2284-98. doi: 10.1111/febs.12781 IF 4.25 WoS, Scopus

3. Kuznetsova I.M., Turoverov K.K., Uversky V.N. 2014. What macromolecular crowding can do to a protein? *International Journal of Molecular Sciences*. 15: 23090-23140; doi:10.3390/ijms151223090 IF 3.257 Cited by 61 articles. WoS, Scopus

4. Uversky V.N., Kuznetsova I.M., Turoverov K.K., Zaslavsky B. 2015. Intrinsically disordered proteins as crucial constituents of cellular aqueous two phase systems and coacervates. *FEBS Letters*. 589: 15–22. doi:10.1016/j.febslet.2014.11.028 IF 3.519. Cited by 32 articles. WoS, Scopus

5. Rumyantsev K.A., Shcherbakova D.M., Zakharova N.I., Emelyanov A.V., Turoverov K.K., and Verkhusha V.V. 2015. Minimal domain of bacterial phytochrome required for chromophore binding and fluorescence. *Scientific Reports* 18; 5:18348. doi: 10.1038/srep18348 IF 5.228 WoS, Scopus

Направление 59. Молекулярные механизмы клеточной дифференцировки, иммунитета и онкогенеза

1. Репликативное старение является обратимым процессом: подавление активности киназы mTORC1 рапамицином отменяет процесс репликативного старения и запускает экспрессию генов плюрипотентности в фибробластах крысы. Первичные клетки грызунов и человека претерпевают репликативное старение после культивирования в течение определенного числа пассажей. Стареющие (senescent) клетки не делятся и не реплицируют ДНК, но благодаря высокой активности киназы mTORC1 (mammalian Target Of Rapamycin Complex I) они продолжают синтез белков, ростовых факторов и цитокинов, что приводит к гипертрофии клеток и возникновению специфического фенотипа senescent клеток. Первичные фибробласты крысы претерпевают репликативное старение после 7-10 пассажей. Выявлено, что, если стареющие клетки обработать в течение 3-х пассажей рапамицином, высокоспецифичным ингибитором активности mTORC1, то гипертрофные клетки уменьшаются в размерах, теряют морфологические признаки репликативного старения и приобретают способность делиться. Исследование рапамицин-селектированных клеток на разных сроках культивирования (до 30 пассажей) показало, что рапамицин, ингибируя активность mTORC1, отменяет клеточное старение и способствует активации транскрипции плюрипотентных генов *oct-4*, *sox-2* и *nanog* и усиливает транскрипцию гена теломеразы (*tert*). Таким образом, рапамицин, подавляя активность mTOR1, активирует аутофагию, которая вовлечена в репрограммирование стареющих клеток благодаря активации транскрипции генов, определяющих плюрипотентность.



2. Онкосупрессор p53, действуя в качестве транскрипционного фактора, является важнейшим регулятором клеточного цикла и апоптоза в раковых клетках. Помимо кодирующих генов, p53 также регулирует экспрессию некодирующих микро-РНК. Нами впервые показано, что p53 регулирует экспрессию микроРНК miR-16 и miR-26a и что мишенями этих микро-РНК являются две киназы, Chk1 и Wee1, которые контролируют пролиферацию клеток и их продвижение по клеточному циклу. С помощью биоинформатического анализа экспрессионных профилей пациентов с раком молочной железы и предстательной железы выявлена положительная корреляция между выживаемостью пациентов и коэкспрессией этих микро-РНК, за счет сенсibilизации опухолевых клеток к генотоксической терапии. Известно, что p53 в основном регулируется на уровне пост-трансляционных модификаций. Ранее нами впервые было показано, что сам белок p53 подвергается метилированию за счет метилтрансферазы Set7/9 (Chuikov et al., 2004, Nature). Обнаружено, что помимо p53, Set7/9 регулирует другой важный транскрипционный фактор, E2F1. Показано, что за счет модуляции гистоновых модификаций Set7/9 регулирует транскрипцию как онкосупрессоров (TP73), так и онкогенов (циклин E1). Обнаружено, что Set7/9 также отвечает за клеточный ответ на генотоксическую терапию. Показано, что за счет физического взаимодействия с мишенью p53, убиквитинлигазой Mdm2, Set7/9 способствует эффективной репарации ДНК в раковых клетках, что поставило вопрос о двоякой роли Set7/9 в процессе онкогенеза. Чтобы предсказать положительную или отрицательную роль Set7/9 в определенных типах рака, разработан новый биоинформатический алгоритм, который определяет клиническую значимость гена и его влияние на выживаемость пациентов с определенным типом рака, по экспрессии его генов-партнеров. Таким образом, установлено, что Set7/9 играет положительную роль при раке молочной железы и легкого, но является онкогеном при раке крови (лейкемия, лимфомы).

3. Показана возможность противоопухолевого действия белка теплового шока Hsp70. Разработана технология противоопухолевого действия рекомбинантного Hsp70, которая в 2013-2014 гг. прошла доклинические испытания в НИИ ОЧБ ФМДА, и в настоящее время ведется подготовка отдельных частей технологии к клиническим испытаниям. Проведен анализ молекулярного механизма противоопухолевого действия Hsp70. Установлено, что используемый в качестве противоопухолевого агента экзогенный рекомбинантный Hsp70 проникает путем клатрин-зависимого эндоцитоза в опухолевые клетки и индуцирует секрецию эндогенного собственного Hsp70 во внеклеточное пространство вместе с клеточными пептидами, в том числе и специфичными для данного конкретного типа опухоли. Это приводит к активации как врожденного, так и специфического противоопухолевого иммунитета. Идентифицирован молекулярный домен шаперона, ответственный за его проникновение в клетку. Обнаружено, что в процессах, регулирующих высвобождение шаперона из опухолевых клеток, участвует белок из семейства DNAJ, Hdj2.



1. Pospelova T.V., Bykova T.V., Zubova D.G., Katolikova N.V., Yartzeva N.M., Pospelov V.A. 2013. Rapamycin induces pluripotent genes associated with avoidance of replicative senescence. *Cell Cycle*. 12(24): 3841-3851. doi: 10.4161/cc.27396 IF 5.243 WoS, Scopus
2. Lezina L., Purmessur N., Antonov A.V., Ivanova T., Karpova E., Krishan K., Ivan M., Aksenova V., Tentler D., Garabadgiu A.V., Melino G., Barlev N.A. 2013. miR-16 and miR-26a target checkpoint kinases Wee1 and Chk1 in response to p53 activation by genotoxic stress. *Cell Death and Disease*. 4: e953 doi:10.1038/cddis.2013.483 IF 5,014 (актуальный IF 5,378) WoS, Scopus
3. Shevtsov M.A., Yakovleva L.Y., Nikolaev B.P., Marchenko Y.Y., Dobrodumov A.V., Onokhin K.V., Onokhina Y.S., Selkov S.A., Mikhрина A.L., Guzhova I.V., Martynova M.G., Bystrova O.A., Ischenko A.M., Margulis B.A. 2014. Tumor targeting using magnetic nanoparticle Hsp70 conjugate in the model of the C6 glioma. *Neuro-Oncology*. 16: 38–49. DOI: 10.1093/neuonc/not141 IF 5,974 (актуальный IF 7,371) WoS, Scopus
4. Shevtsov MA, Pozdnyakov AV, Mikhрина AL, Yakovleva LY, Nikolaev BP, DobrodumovAV, Komarova EY, Meshalkina DA, Ischenko AM, Pitkin E, Guzhova IV, Margulis BA. 2014. Effective immunotherapy of rat glioblastoma with prolonged intratumoral delivery of exogenous heat shock protein Hsp70. 135(9):2118-2128. *International Journal of Cancer*. 135(9): 2118-2128. doi: 10.1002/ijc.28858 IF 5,531 WoS
5. Gordeev S.A., Bykova T.V., Zubova S.G., Bystrova O.A., Martynova M.G., Pospelov V.A., Pospelova T.V. 2015. mTOR kinase inhibitor pp242 induces mitophagy terminated by apoptotic cell death of E1A-Ras transformed cells. *Oncotarget*. 6(42): 44905-44926. doi:10.18632/oncotarget.6457 IF 5,228 WoS, Scopus

Направление 60. Клеточная биология, теоретические основы клеточных технологий

1. Технология искусственной хромосомы для генотерапии и обеспечения безопасности тканезаместительной терапии. Показана возможность доставки искусственных хромосом (ИХ) нового поколения, синтезированных *in vitro*, в эмбриональные стволовые (ЭС) клетки мыши. Показана стабильная экспрессия ИХ в ходе дифференцировки этих клеток в культуре и в составе тератом. Получены химерные мыши путем инъекции ИХ-несущих донорских ЭС клеток в бластоцисты мышей-реципиентов. Показано стабильное поддержание ИХ во всех тканях таких химерных мышей. Помимо фундаментальной значимости модификации генома на основе полностью синтетической хромосомы, исследование открывает широкие перспективы для генотерапии и регенеративной медицины на основе ИХ, поскольку, в отличие от вирусных векторов, последние обладают практически неограниченной емкостью, митотической стабильностью, и не несут риск инсерционного мутагенеза.

2. Получены, охарактеризованы и введены в экспериментальную практику новые линии мезенхимных стволовых клеток эндометрия человека (эмСК). Исследована реакция эмСК на различные стрессовые воздействия: тепловой шок, окислительный стресс и ионизирующее излучение. Показано, что в отличие от эмбриональных стволовых и опухолевых



клеток, отвечающих на стресс апоптозом, физиологическим ответом ЭМСК на стресс является индуцированное преждевременное старение. При этом потомки ЭМСК, пережившие сублетальный уровень стрессового воздействия, сохраняют свойства стволовых клеток. Установлено, что молекулярный механизм программы преждевременного старения мезенхимных стволовых клеток эндометрия человека, индуцированного окислительным стрессом, включает активацию специфического ответа на повреждение ДНК, при этом сигнал на реализацию этой программы передаётся через ATM/p53(Chk2)/p21/Rb и p16/Rb пути, ведущие к необратимому аресту клеточного цикла. На животной модели, имитирующей синдром Ашермана (дефект эндометрия, вызывающий бесплодие), показана корректирующая терапевтическая роль трансплантации как ЭМСК человека, так и костного мозга крысы.

3. Традиционно интенсивное развитие получили исследования ионного баланса клеток, начиная от простейших до высокоспециализированных клеток человека. Впервые зарегистрированы ионные каналы представителей динофлагеллят. Методами анализа транскриптомных баз данных показано, что динофлагелляты обладают высоким разнообразием ионных каналов суперсемейства потенциал-управляемых катионных каналов, сопоставимым с разнообразием этих каналов у многоклеточных животных. Выявлено функционирование кальций-зависимых калиевых каналов высокой проводимости в стволовых мезенхимных клетках человека, доказано участие актинового цитоскелета в регуляции эпителиальных натриевых каналов, показано, что в роли негативного модулятора активности ENaC может выступать актин-связывающий белок MIM (Missing-In-Metastasis). На разработанной нами модели болезни Хантингтона в клетках нейробластомы человека SK-N-SH установлено, что экспрессия как полноразмерного мутантного белка хантингтин, так и первого экзона белка (Htt138Q-1exon) вызывает значительное увеличение депо-управляемого кальциевого входа в клетках, причем для этого необходим белок STIM1, являющийся сенсором кальция в просвете эндоплазматического ретикулума. Показано, что депо-управляемый вход кальция в клетках, экспрессирующих Htt138Q-1exon, опосредуется, по меньшей мере, двумя типами каналов с различными потенциалами реверсии. Полученные результаты позволяют рассматривать белки, отвечающие за активацию и поддержание депо-управляемого входа кальция, в качестве новых перспективных мишеней в терапии нейродегенеративных заболеваний.

1. Lyublinskaya OG, Zenin VV, Shatrova AN, Aksenov ND, Zemelko VI, Domnina AP, Litanyuk AP, Burova EB, Gubarev SS, Negulyaev YA, Nikolsky NN. 2014. Intracellular oxidation of hydroethidine: Compartmentalization and cytotoxicity of oxidation products. *Free Radical Biology and Medicine*. 75:60-68. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.008. IF 5,271 (актуальный IF 5,89). WoS, Scopus

2. Borodkina Aleksandra, Alla Shatrova, Polina Abushik, Nikolay Nikolsky, and Elena Burova. 2014. Interaction between ROS dependent DNA damage, mitochondria and p38 MAPK



underlies senescence of human adult stem cells. *Aging-US*. 6 (6) : 481-495. DOI:10.18632/aging.100673 IF 4,886 WoS, Scopus

3. Liskovykh M, Ponomartsev S, Popova E, Bader M, Kouprina N, Larionov V, Alenina N, Tomilin A. 2015. Stable maintenance of de novo assembled human artificial chromosomes in embryonic stem cells and their differentiated progeny in mice. *Cell Cycle*4(8):1268-73. doi: 10.1080/15384101.2015.1014151 IF 4.565. WoS, Scopus

4. Lyublinskaya O.G., Borisov Y.G., Pugovkina N.A., Smirnova I.S., Obidina J.V., Ivanova J.S., Zenin V.V., Shatrova A.N., Borodkina A.V., Aksenov N.D., Zemelko V.I., Burova E.B., Puzanov M.V., Nikolsky N.N. 2015. Reactive Oxygen Species Are Required for Human Mesenchymal Stem Cells to Initiate Proliferation after the Quiescence Exit. *Oxid Med Cell Longev*. Article ID 502105, 8 pages. doi: 10.1155/2015/502105. IF 4,492 WoS, Scopus

5. Shalygin A., Skopin A., Kalinina V., Zimina O., Glushankova L., Mozhayeva G.N., Kaznacheyeva E. 2015. STIM1 and STIM2 proteins differently regulate endogenous store-operated channels in HEK293 cells. *J.Biol. Chem.* 290(8):4717-4727. doi: 10.1074/jbc.M114.601856 IF 4,258 WoS, Scopus

13. Защищенные диссертационные работы, подготовленные период с 2013 по 2015 год на основе полевой опытной работы учреждения. Заполняется организациями, выбравшими референтную группу № 29 «Технологии растениеводства».

Информация не предоставлена

14. Перечень наиболее значимых публикаций и монографий, подготовленных сотрудниками научной организации за период с 2013 по 2015 год

1. Wu G., Han D., Gong Y., Sebastiano V., Gentile L., Singhal N., Adachi K., Fishedick G., Ortmeier C., Sinn M., Radstaak M., Tomilin A., Schöler H.R. 2013. Establishment of totipotency does not depend on Oct4. *Nature Cell Biology*. 15(9): 1089-1097. DOI: 10.1038/ncb2816 IF 19,679 WoS, Scopus

2. Dufresnes C., Borzée A., Horn A., Stöck M., Ostini M., Sermier R., Wassef J., Litvinchuk S. N., Kosch T. A., Bruce W., Jang Y., Brelsford A., Perrin N. 2015. Sex-chromosome homomorphy in Palearctic tree frogs results from both turnovers and X-Y recombination. *Molecular Biology and Evolution*. 32(9): 2328-2337. doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msv113> IF 13,649 WoS

3. Nikiforov A., Kulikova V., Ziegler M. 2015. The human NAD metabolome: functions, metabolism and compartmentalization. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 50 (4): 284-297. doi: 10.3109/10409238.2015.1028612 IF 8,867 WoS, Scopus 4 4.upon genotoxic stress. 2014. *Cell Death and Differentiation*. 21(12): 1889-1899. doi:10.1038/cdd.2014.108 IF 8,371 WoS, Scopus

4. Lezina L., Aksenova V., Ivanova T., Purmessur N., Antonov A.V., Tentler D., Fedorova O., Garabadgiu A.V., Talianidis I., Melino G., Barlev N.A. KMTase Set7/9 is a critical regulator



of E2F1 activity upon genotoxic stress. 2014. *Cell Death and Differentiation*. 21(12): 1889-1899. doi:10.1038/cdd.2014.108 IF 8,371 WoS, Scopus

5. DeVeale B., Brokhman I., Mohseni P., Babak T., Yoon C., Lin A., Onishi K., Tomilin A., Pevny L., Zandstra P.W., Nagy A., van der Kooy D. 2013. Oct4 is required for e7.5 for proliferation in the primitive streak. *PLoS Genet.* 9(11):e1003957. doi: 10.1371/journal.pgen.1003957 IF 8,167 WoS, Scopus

6. Antonov A.V., Krestyaninova M., Knight R.A., Rodchenkov I., Melino G., Barlev N.A. 2014. PPISURV: a novel bioinformatics tool for uncovering the hidden role of specific genes in cancer survival outcome. *Oncogene*. 33(13):1621-1628. doi:10.1038/onc.2013.119. IF = 7.357 (актуальный IF 7,932) WoS, Scopus

7. Ilatovskaya D.V., Palygin O., Chubinskiy-Nadezhdin V., Negulyaev Y.A., Ma R., Birnbaumer L., Staruschenko A. 2014. Angiotensin II has acute effects on TRPC6 channels in podocytes of freshly isolated glomeruli. *Kidney International*. 86(3): 506-514. doi: 10.1038/ki.2014.71 IF 7,916 WoS, Scopus

8. Shevtsov M.A., Nikolaev B.P., Ryzhov V.A., Yakovleva L.Y., Marchneko Y.Y., Parr M.A., Rolich V.I., Mikhrina A.L., Dobrodumov A.V., Pitkin E., Multhoff G. 2015. Ionizing radiation improves glioma-specific targeting of superparamagnetic iron oxiden nanoparticles conjugated with cmHsp70.1 monoclonal antibodies (SPION-cmHsp70.1). *Nanoscale*. 7(48):20652-20664. DOI: 10.1039/c5nr06521f IF 7,76 WoS, Scopus

9. Shevtsov M.A., Nikolaev B.P., Yakovleva L.Y., Parr M.A., Marchenko Y.Y., Eliseev I., Dobrodumov A.V., Zlobina O., Ischenko A.M., Pitkin E., Multhoff G. 2015. 70-kDa heat shock protein coated magnetic nanoparticles as a nanovaccine for induction of anti-tumor immune response in experimental glioma. *Journal of Controlled Release*. 220(Part A):329–340. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.10.051 IF 7,441 WoS, Scopus

10. Pospelova T.V. and Pospelov V.A. 2014. Latest progress in tyrosine kinase inhibitors. *Oncotarget* 5(5): 1157-1161. doi: 10.18632/oncotarget.1836 IF 6,636

Сборник:

«Роль цитоскелета в жизнедеятельности культивируемых клеток» под ред. проф. Г.П. Пинаева, М.С. Богдановой, А.М. Кольцовой. Санкт-Петербург: Изд-во Политехнического университета, 2013. 189 с. ISBN 978-5-7422-4093-8 (тираж 300 экз.)

Монографии:

Попов Б.В. Регенеративный потенциал мезенхимных стволовых клеток. Санкт-Петербург: Медкнига «Элби», 2015. 288 с. ISBN 978-5-91322-099-8. (тираж 300 экз.)

Учебное пособие:

Telesh I., Skarlato S., Kube S., Rohde H., Schubert H. *Zooplankton of the Baltic Sea: Introduction to the distant learning module*. Rostock, St. Petersburg: Universität Rostock. 2015 г. 124 p. ISBN 978-3-860009-441-9. (тираж 250 экз.)



15. Гранты на проведение фундаментальных исследований, реализованные при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Российского гуманитарного научного фонда, Российского научного фонда и другие

ИНЦ РАН в 2013-2015 гг. выполнял 8 грантов РНФ и 110 грантов РФФИ, из которых 3 гранта по конкурсу ориентированных фундаментальных научных исследований по актуальным междисциплинарным темам (офи_м), 3 гранта для научных проектов, выполняемых ведущими молодежными коллективами (мол_а_вед) и 3 гранта по международным конкурсам РФФИ – 2 российско-белорусских проекта (Бел_а) и российско-китайский проект (ГФЕН_а).

1. Грант РНФ по приоритетному направлению деятельности РНФ «Реализация комплексных научных программ организаций»:

Грант РНФ № 14-50-00068 Тема: «Молекулярно-клеточные технологии для лечения социально значимых заболеваний» 2014-2018 гг.

Общий объем финансирования – 614 375 тыс. руб.

2. Грант РНФ «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований коллективами существующих научных лабораторий»:

Грант РНФ № 14-24-00131 Тема: «Внутренне неупорядоченные белки в условиях молекулярного краудинга, имитирующего клеточное окружение» 2014-2016 гг.

Общий объем финансирования – 50 000 тыс. руб.

6 грантов РНФ по приоритетному направлению деятельности РНФ «Проведение фундаментальных научных исследований и поисковых научных исследований отдельными научными группами»:

3. Грант РНФ № 14-14-00565 Тема: «Дипольные модификаторы мембран как инструменты для изучения молекулярных механизмов формирования и функционирования ионных каналов, образуемых соединениями с фармакологической активностью» 2014-2016 гг.

Общий объем финансирования – 13 000 тыс. руб.

4. Грант РНФ № 14-14-00718 Тема: «Стресс-индуцированная плюрипотентность в соматических клетках человека» 2014-2016 гг.

Общий объем финансирования – 15 000 тыс. руб.

5. Грант РНФ № 14-14-00720 Тема: «Депо-управляемые кальциевые каналы в норме и патологии» 2014-2016 гг.

Общий объем финансирования – 15 000 тыс. руб.

6. Грант РНФ № 14-15-00636 Тема: «Роль Wip1-сигнального пути в опухолевой трансформации стволовых клеток кожи» 2014-2016 гг.

Общий объем финансирования – 15 000 тыс. руб.

7. Грант РНФ № 14-15-00816 Тема: «Роль онкогена Mdm2 и его сплайс-изоформ в регуляции метастазирования и инвазивности раковых опухолей человека» 2014-2016 гг.



Общий объем финансирования – 14 990 тыс. руб.

8. Грант РФФИ № 14-15-00943 Тема: «Поиск подходов к преодолению нормального и ускоренного клеточного старения: возможная коррекция на уровне эпигенетических изменений и укорочения теломер» 2014-2016 гг.

Общий объем финансирования – 14 500 тыс. руб.

9. Грант РФФИ № 13-04-12027 офи_м "Исследование формирования тканеподобных структур invitro для регенеративной терапии и реконструктивной хирургии" 2013-2015 гг. Общий объем финансирования: 3 000 тыс. руб

10. Грант РФФИ № 15-34-20464 мол_а_вед "Актин-управляемые каналы в электроневозбудимых клетках" 2015-2016 гг. Общий объем финансирования: 3 075 тыс.руб.

16. Гранты, реализованные на основе полевой опытной работы организации при поддержке российских и международных научных фондов. Заполняется организациями, выбравшими референтную группу № 29 «Технологии растениеводства».

Информация не предоставлена

ИННОВАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ НАУЧНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Наиболее значимые результаты поисковых и прикладных исследований

17. Поисковые и прикладные проекты, реализованные в рамках федеральных целевых программ, а также при поддержке фондов развития в период с 2013 по 2015 год

Общее количество - 9 проектов.

Межгосударственная целевая программа ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» на 2011-2015 гг. Министерства образования и науки РФ (российско-белорусский проект):

1. Государственный контракт № 16.М04.11.0002 Минобрнауки РФ, «Развитие национальных коллекций культур клеток млекопитающих для диагностики и репаративной медицины», 2011-2013, 3 000 тыс. руб.

Федеральная целевая программа Министерства образования и науки РФ «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы:

2. Соглашение № 8119 Минобрнауки РФ, «Роль заряд-дипольных и диполь-дипольных взаимодействий в формировании и функционировании ион-проводящих нанопор, образованных токсическими и антимикробными агентами», 2012-2013, 1 859 тыс.руб.

3. Соглашение № 8850 Минобрнауки РФ, «Дифференцировка индуцированных плюрипотентных и соматических клеток в серотонергические нейроны и идентификация генетических факторов критических для этого процесса», 2012-2013, 2 730 тыс.руб.



4. Соглашение № 8280 Минобрнауки РФ, «Механизмы регуляции р53-зависимых микро-РНК при воздействии генотоксического препарата доксорубицина на опухолевые клетки», 2012-2013, 2 489 тыс.руб.

5. Соглашение № 8480 Минобрнауки РФ, «Фотофизические и биохимические свойства ближне-инфракрасных флуоресцентных белков нового поколения созданных на основе бактериальных фитохромов», 2012-2013, 3 319 тыс.руб.

6. Соглашение № 8306 Минобрнауки РФ, «Исследование роли геномных дупликаций и ремоделирования хроматина в возникновении и предотвращении онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний», 2012-2013, 2 587 тыс.руб.

7. Соглашение № 8787 Минобрнауки РФ, «Исследование роли и механизма секреции протеасом и ассоциированных с ними регуляторных белков и РНК при клеточном ответе на стресс», 2012-2013, 1 878 тыс.руб.

8. Соглашение № 8830 Минобрнауки РФ, «Флуоресцентные красители – инструмент для фундаментальных исследований и практической диагностики», 2012-2013, 1 951 тыс.руб.

9. Соглашению о научном сотрудничестве в форме Межинститутской лаборатории по изучению стволовых клеток и Договор от 19.07.2013 г. 8418/42/2013 между: Институт цитологии РАН, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Институт цитологии и генетики СО РАН, Центр «Биоинженерия» РАН – проект по созданию Центра исследований стволовых клеток «Сколковского института науки и технологий» (СколТех), 2013-2014, 9 000 тыс. руб.

Внедренческий потенциал научной организации

18. Наличие технологической инфраструктуры для прикладных исследований

В структуре Отдела клеточных культур ИНЦ РАН на протяжении многих лет функционирует подразделение, разрабатывающее клеточные технологии, направленные на лечение ожогов, трофических язв и ран различной этиологии. Ведущим направлением работы группы является создание и разработка технологий клеточной терапии повреждений кожных покровов на основе культивируемых клеток: кератиноцитов и фибробластов кожи человека. Разработан ряд клеточных продуктов с этими клетками:

1. Дермальный эквивалент на основе коллагена I типа (дермальные фибробласты, заключенные в коллагеновый гель);

2. Дермальный эквивалент на основе фибрина плазмы крови или фибриногена (стандартный коммерческий препарат из плазмы крови человека);

3. Многослойный пласт кератиноцитов;

4. Эквивалент полной кожи - комплексная культура, представляющая собой пласт кератиноцитов, культивируемый на дермальном эквиваленте.



В предшествующие годы было получено разрешение Министерства здравоохранения РФ на серийное производство и клиническое применение дермального эквивалента на основе коллагена и многослойного пласта кератиноцитов. Эти клеточные продукты апробированы в ряде клиник Санкт-Петербурга для заживления различных ран: ожогов, трофических язв (в результате хронической венозной недостаточности, лучевого облучения, "диабетическая стопа"), свищей (при болезни Крона, огнестрельных ранах), пролежней, для укрепления мягких тканей десны при пародонтозе. Дермальные фибробласты, культивируемые на пористой политетрафторэтиленовой мембране, с положительным результатом были использованы в офтальмологии для склеропластики.

В период подготовки Федерального закона N 180-ФЗ "Об обращении биомедицинских клеточных продуктов" Институт обеспечивал запросы медицинских учреждений г. Санкт-Петербурга на применение дермального эквивалента исключительно в связи с решением врачей о жизнесберегающей терапии пациента.

В период 2013-2015 гг. получены два экспериментальных тканеинженерных клеточных продукта, предназначенных для лечения поврежденных тканей: пористая политетрафторэтиленовая мембрана с дермальными фибробластами для трансплантации на поврежденную роговицу глаза и тканеинженерная конструкция на основе полилактида и фиброина шелка, заселенная аллогенными мезенхимными стволовыми клетками костного мозга для восстановления поврежденной ткани мочевого пузыря. Проведены экспериментальные доклинические исследования на лабораторных животных (кроликах). Эффективность использования тканеинженерных конструкций подтверждена восстановлением роговицы и поврежденной ткани мочевого пузыря.

С целью восполнения дефицита донорских ресурсов для восстановления кожного покрова у пациентов с обширными ожогами и запаса материала для выделения клеток кожи и использования их при приготовлении клеточных продуктов, применяемых в клинической практике для заживления любых ран, разработан протокол криоконсервации жизнеспособных кожных трансплантатов. При таком методе консервации срок хранения фрагментов кожи составляет более 1 года, метод может быть внедрён в практику криобанкирования.

19. Перечень наиболее значимых разработок организации, которые были внедрены за период с 2013 по 2015 год

Соглашение о передаче прав на разработку ИНЦ РАН «Эквивалент дермальный ЭД» от 26.09.2014 г.

ООО "Венчурная компания "Центр инновационных технологий ЕврАзЭС" (Москва) и "Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси" о передаче прав на разработку (ноу-хау) ИНЦ РАН – изделия медицинского назначения «Эквивалент дермальный ЭД», технологии его клинического использования и документации в Министерство здравоохранения Республики Беларусь для регистрации.



Рабочее заседание ИНЦ РАН в Президиуме НАН Беларуси с представителями Минздрава РБ и Республиканского унитарного предприятия Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении РБ (Протокол от 31.10.2014 г. «О формате регистрации российских биомедицинских продуктов для НМЦ «Клеточные технологии»). Приняты решения:

1. Принять к сведению информацию ФГБУН «Институт цитологии РАН»
 - о готовности передать ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» технологии производства и применения в медицине препарата «Эквивалент дермальный, ЭД» в рамках лицензионного договора;
 - о готовности поставлять компонент «Коллаген I типа желирующий» для производства препарата «Эквивалент дермальный, ЭД»;
 - о готовности передать врачам научно-медицинского центра «Клеточные технологии» практический опыт российских клиницистов по применению «Эквивалента дермального, ЭД».

2. ФГБУН «Институт цитологии РАН» и ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» заключить лицензионный договор в срок до 20.11.2014 г.

3. Провести с соблюдением условий конфиденциальности государственную регистрацию «Эквивалента дермального, ЭД» как биомедицинского клеточного продукта производства ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» без требований к обязательной государственной регистрации его компонентов (культуры клеток фибробластов кожи человека, коллагена I типа желирующего) в срок до 15.03.2015 г.

4. ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» провести разработку и согласование технических условий производства «Эквивалента дермального, ЭД» в научно-производственном республиканском унитарном предприятии «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации (БелГИСС)» на соответствие обязательным требованиям технических нормативных правовых актов и законодательству Республики Беларусь в срок до 27.12.2014.

5. ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» и УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Минска разработать инструкции по применению российских методов лечения с использованием биомедицинского клеточного продукта «Эквивалент дермальный, ЭД», предусмотрев клинические испытания в рамках инновационного проекта ГКНТ «Разработать технологию, освоить производство культуры фибробластов кожи человека для регенеративной медицины» и представить на утверждение в Минздрав с соблюдением условий конфиденциальности в срок до 25.05.2015 г.

ИНЦ РАН проведена оценка рыночной стоимости секрета производства (ноу-хау) «Приготовление клеточного продукта «Эквивалент дермальный ЭД» на 15 декабря 2014 г., получены Отчет об оценке от 22.12.2014 г. № 5-О/2014 и Экспертное заключение оценщика бизнеса Национальной коллегии специалистов-оценщиков от 23.12.2014 г.



24.02.2015 г. ИНЦ РАН подготовлены и отправлен на согласование с ФАНО России пакет документов о предоставлении права использования секрета производства (ноу-хау) ИНЦ РАН другой стороне по Лицензионному Договору. Договор дорабатывался Комиссией ФАНО России вплоть до 2016 г.

ЭКСПЕРТНАЯ И ДОГОВОРНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ОРГАНИЗАЦИИ

Экспертная деятельность научных организаций

20. Подготовка нормативно-технических документов международного, межгосударственного и национального значения, в том числе стандартов, норм, правил, технических регламентов и иных регулирующих документов, утвержденных федеральными органами исполнительной власти, международными и межгосударственными органами

ИНЦ РАН принимал участие в редакции проекта Федерального закона 180-ФЗ "Об обращении биомедицинских клеточных продуктов" для Министерства здравоохранения РФ.

Выполнение научно-исследовательских работ и услуг в интересах других организаций

21. Перечень наиболее значимых научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ и услуг, выполненных по договорам за период с 2013 по 2015 год

1. Договор о Сотрудничестве между Белорусским государственным университетом (Минск, Беларусь) и ФГБУН Институт цитологии РАН (Санкт-Петербург, Россия) 2012 – 2017 гг. – совместное исследование по разработке препаратов и методик для биомедицинских применений, включая вопросы развития нанобиотехнологий, изучения фолдинга и нарушения фолдинга белков, изучения флуоресцентных красителей, как инструмента для фундаментальных исследований и практической диагностики.

2. Соглашение о научно-техническом сотрудничестве от 14.01.2014 г. ИНЦ РАН и "Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси" о реализации продукции на территории Республики Беларусь, разработанной ИНЦ РАН. О передаче прав по вопросам регистрации изделия медицинского назначения «Эквивалент дермальный ЭД» в связи проведением клинических испытаний на территории Беларуси.

3. Соглашение о передаче прав на разработку ИНЦ РАН от 26.09.2014 г. ООО "Венчурная компания "Центр инновационных технологий ЕврАзЭС" (Москва), ИНЦ РАН и "Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларуси" о передаче изделия медицинского назначения «Эквивалент дермальный ЭД», технологии его



клинического использования и документации в Министерство здравоохранения Республики Беларусь для регистрации.

4. Договор о сотрудничестве от 14.01.2014 ИНЦ РАН и "Первым Санкт-Петербургским государственным медицинским университетом им. акад. И.П. Павлова" МЗ РФ о развитии новых медицинских технологий, ускорении возможностей их практического применения в сфере здравоохранения РФ.

5. Договор об основных направлениях взаимодействия и координации научно-исследовательской и учебно-методической деятельности от 17.03.2014 № 96 ИНЦ РАН и "Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова" (г. Ульяновск) о создании инфраструктуры научно-технологической и учебно-методической платформы с целью производства и молекулярно-клеточных продуктов для заместительной регенеративной медицины и подготовки высококвалифицированных кадров в области клеточной и тканеинженерной индустрии.

6. Договор о создании сети академической мобильности от 20.08.2015 № 13-15/5-550 «Развитие научных исследований в области экспериментальной медицины – РНИЭМ» Крымского Федерального университета им. В.И. Вернадского (г. Симферополь) с ИНЦ РАН и 7 других организаций РФ. Цель – формирование нового типа научного пространства в области экспериментальной медицины посредством взаимодействия организаций МЗ РФ, Минобрнауки РФ, и РАН (ИНЦ РАН выполнено несколько договоров на оказание услуг).

7. Соглашение о сотрудничестве от 11.12.2015 г. между ИНЦ РАН и Институтом органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН (г. Екатеринбург) о проведении НИР в области синтеза и биологических испытаний новых, потенциально физиологически активных, соединений на клеточных культурах.

8. Контракт на выполнение НИР с ФГБУ «Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова Министерства здравоохранения РФ № 8-Н от 06 мая 2013 г. по теме «Разработка в условиях *in vitro* модификации аналога кожи человека с использованием стволовых кератиноцитов, дермальных фибробластов и эндотелиоцитов».

**Другие показатели, свидетельствующие о лидирующем положении
организации в соответствующем научном направлении
(представляются по желанию организации в свободной форме)**

**22. Другие показатели, свидетельствующие о лидирующем положении организации
в соответствующем научном направлении, а также информация, которую ор-
ганизация хочет сообщить о себе дополнительно**

За отчетный период были получены гранты Президента Российской Федерации:

– 2 гранта для государственной поддержки ведущих научных школ: 1) акад. Н.Н. Никольский, НШ-4957.2012.4 "Сигнальные и транспортные пути в стволовых и дифферен-



цированных клетках" 2012-2013 гг.; и 2) чл.-корр. РАН Г.Н. Можаяева, НШ-1721.2014.4 «Молекулярные механизмы кальциевой сигнализации».

– для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук: к.б.н. О.С. Остроумова, МК-1813.2012.4 "Варьирование дипольного потенциала как способ регуляции мембранной активности токсинов и антимикробных агентов" 2012-2013 гг.

Молодые ученые ИНЦ РАН получают стипендии Президента Российской Федерации (16 стипендиатов за отчетный период)

Сотрудники Института были награждены премиями:

- д.б.н., проф. Г.П. Пинаев – премия Правительства Санкт-Петербурга и Санкт-Петербургского научного центра РАН за выдающиеся научные результаты в области науки и техники в номинации «Биологические науки» – медаль и премия имени Н.И. Вавилова (2013 г.)

- к.б.н. О.С. Остроумова - Лауреат конкурса Европейской Академии для молодых ученых (2013г.)

- 2 стипендиата Л'Ореаль, Международной программы для женщин в науке, проводимой Л'Ореаль Россия при поддержке Комиссии Российской Федерации по делам Юнеско и Российской академии наук (2013 г. и 2014 г.)

Кроме грантов и гос. контрактов, указанных в п.п. 11 и 12, ИНЦ РАН выполнял проекты в рамках 7 программ Президиума РАН – 16 работ.

18 мая 2017 года в ИНЦ РАН открыт и введен в действие Центр клеточных технологий по стандарту GMP, который был организован в рамках реализации Комплексной программы Института по гранту РНФ 14-50-00068 (2014-2018).

ФИО руководителя

Михайлова Н.А.

Подпись

[Подпись]

Дата

05.2017

