

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ НА КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ В УЧРЕЖДЕНИЯХ РОССИИ

РОЛЬ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ БЕЛКОВ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА В КАРИОТИПИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ «БЕЗМАРКЕРНЫХ» КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

Г.Г. Полянская

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; poljansk@mail.cytspb.rssi.ru

Показано существенное влияние иммобилизованных белков внеклеточного матрикса (ВКМ) - ламинина и фибронетина, на характер кариотипической изменчивости в «безмаркерных» клеточных линиях разного происхождения (эпителиоподобные и фибробластоподобные). Установлено, что характер количественной кариотипической изменчивости не зависит, а характер структурной изменчивости зависит от происхождения линии. Показано также, что конкретная структура кариотипа вносит определенные коррективы в характер кариотипической изменчивости, обеспечивая способ адаптации клеточной культуры к определенному субстрату. Полученные результаты существенно расширили представления о важности иммобилизованных белков ВКМ для жизнедеятельности клеток, ибо изменения кариотипической структуры неразрывно связаны с нарушением функционирования генов, что может привести к изменению разных клеточных свойств.

Ключевые слова: кариотипическая изменчивость, клеточная линия, белки внеклеточного матрикса, ламинин, фибронектин, структурный вариант кариотипа, хромосомные aberrации.

При переводе клеток в состояние *in vitro* основными типами клеточного взаимодействия становятся физический контакт между клетками и контакт клеток с субстратом, а также связь через метаболиты в ростовой среде. Эти взаимодействия объединяют клетки, составляющие клеточную популяцию, в единую автономную систему. Межклеточные контакты осуществляют как структурные, так и функциональные связи между клетками. Важным типом межклеточных соединений являются щелевые контакты, которые в активном состоянии обеспечивают

интенсивную диффузию между клетками функционально активных веществ и составляют основу «метаболической кооперации». Диффузионная связь позволяет клеткам обмениваться растворимыми в воде веществами широкого диапазона (1, 2). Щелевой контакт сформирован семейством интегральных мембранных белков – коннексинов. Локальные межклеточные взаимодействия посредством щелевых контактов вовлечены в различные клеточные процессы, включая гомеостаз, контроль пролиферации, малигнизацию, апоптоз, а также важны для организма, активно участвуя в процессах онтогенеза. Клетки *in vitro* растут на субстрате, покрытом внеклеточным матриксом, который состоит из разнообразных белков (протеогликанов, коллагенов, эластина, фибронектина, ламинина и др.), секретируемых самими клетками. Большинство клеток контактируют друг с другом и с внеклеточным матриксом в специализированных местах.

В клеточных популяциях *in vitro* одной из основных функций становится неограниченная пролиферация. В связи с этим происходит адаптация структуры кариотипа клеточной популяции, которая состоит в усилении экспрессии тех генов, которые ответственны за поддержание нормальной жизнедеятельности клеток. В процессе стабилизации постоянной клеточной линии *in vitro* в результате адаптации к измененным клеточным функциям и условиям существования устанавливается сбалансированная кариотипическая структура, обеспечивающая оптимальный генный баланс в клеточной популяции как целостной системе. Процесс адаптации выражается, в частности, в определенных количественных и структурных изменениях кариотипа.

Сбалансированная кариотипическая структура постоянной клеточной линии характеризуется: определенным набором маркерных хромосом («маркерные» линии) или соответствием кариотипу донора («безмаркерные» линии), выраженной в большей или меньшей степени частотой клеток с модальным числом хромосом, частотами клеток с другими числами хромосом, определенными пределами изменчивости по числу хромосом (3, 4). Клетки с выраженным числом хромосом имеют преобладающий структурный вариант кариотипа (СВК – число гомологичных хромосом каждого морфологического типа) и имеют дополнительные СВК. Установлено, что для выживания клеточной популяции *in vitro* необходимо существование в ней в определенном соотношении клеток с разными СВК, которое обусловлено конкретными закономерностями. Эти закономерности свидетельствуют о том, что отбор в клеточных популяциях идет не по отдельным хромосомам, а по сбалансированному кариотипу (5, 6).

Клеточные популяции *in vitro* являются динамичными системами и, лишившись многоступенчатого организменного контроля, в значительной степени подвержены влиянию внешних факторов, которые могут усиливать полиморфизм по ряду признаков и, в частности, по кариотипическим характеристикам. Первопричиной всех наблюдаемых кариотипических изменений, безусловно, являются различные изменения в клеточном метаболизме, обусловленные нарушениями в проведении сигналов с поверхности клеток в ядро. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о вполне вероятном существовании функциональной связи между взаимодействием белков внеклеточного матрикса с рецепторами клеток и кариотипической изменчивостью. Так, показано влияние смены способа культивирования клеток (статического, роллерного, суспензионного, монослойного) на структурные и количественные изменения кариотипа клеточной популяции. (7–11). Синтезируемые самими клетками белки ВКМ, взаимодействуя с локализованными на поверхности клеточной мембраны рецепторами, оказывают существенное влияние на важнейшие функции клеток – миграцию, форму, полярность, пролиферацию, дифференцировку, злокачественную трансформацию (12–22). Ряд генетических синдромов, связанных с анеупloidией по некоторым хромосомам, способствуют нарушению синтеза белков ВКМ, часто приводя к спонтанным абортам (23–26). Известно, что белки внеклеточного матрикса различаются по своим свойствам и по тому влиянию, которое они оказывают на клетки. Взаимодействие ламинина и фибронектина с клеткой происходит через поверхностные рецепторы, среди которых, кроме общих, имеются и свои специфические. Так, ламинин связывается с рецепторами $\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 4$, а фибронектин – с рецепторами $\alpha 4\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$. Показано, что организация цитоскелета клеток, распластанных на разных субстратах, различна; характер дифференцировки эмбриональных стволовых клеток также различен при культивировании на ламинине и фибронектине (13,14,27). Различный характер взаимодействия между клеточной поверхностью и внеклеточным матриксом связан не только с разными белками внеклеточного матрикса, но и с разным происхождением клеток. Так известно, что эпителиоподобные и фибробластоподобные клетки могут секретировать белки внеклеточного матрикса в разном количественном соотношении (28).

Перспективным подходом к выяснению возможных связей между рецепторами клеточной поверхности и кариотипическими изменениями является исследование влияния разных субстратов, на которых культивируются клетки, на кариотипическую изменчивость клеточных

линий. Мы провели ряд исследований, в которых использовали как разные белки ВКМ в качестве субстрата для культивирования клеток, так и разные по происхождению клетки. Материалы, представляемые в данной статье являются обобщением результатов цикла работ по исследованию влияния иммобилизованных белков ВКМ на кариотипическую изменчивость (29–34).

Материал и методы

Материалом для исследований были постоянные «безмаркерные» фибробластоподобные клеточные линии фибробластов кожи индийского мунджака (М, МТ, кариотипический вариант МТ^д) и эпителиоподобные клеточные линии почки кенгуровой крысы (NBL-3-11 и NBL-3-17), полученные из Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). Линия М – модальное число хромосом равно 7; кариотип линии идентичен донору. Линия МТ – модальное число хромосом равно 9; кариотип отличается от кариотипа донора числом гомологичных хромосом. Кариотипический вариант МТ^д спонтанно получен из МТ; характеризуется высокой частотой встречаемости дицентриков (теломерных ассоциаций). Линия NBL-3-11 – модальное число хромосом равно 11; кариотип идентичен кариотипу донора за исключением моносомии по аутосоме 5 (гиподиплоид). Линия NBL-3-17 – модальное число хромосом равно 17; кариотип отличается от кариотипа донора числом гомологичных хромосом (гипотриплоид с дисомией по аутосоме 5). Анализ влияния иммобилизованных ламинина 2/4 (Лам) и фибронектина (ФН) на кариотипическую изменчивость указанных клеточных линий проводили в течение 1 – 14 сут. В табл. 1 приводится основная схема экспериментов. Контрольные варианты – К_{общ}, К₂, К_{общ1}, К₁.

Таблица 1. Основные варианты культивирования клеток.

Вариант опыта	Условия культивирования
Лам или ФН	Клетки, постоянно культивировавшиеся на гидрофобной поверхности, покрытой ламинином или фибронектином при предварительной инкубации на этой поверхности в бессывороточной среде 2.5 ч
К _{общ}	Клетки, постоянно культивировавшиеся на гидрофильной поверхности
К ₂	Клетки, постоянно культивировавшиеся в среде с сывороткой на гидрофильной поверхности (используемой для рутинного культивирования клеток), при предварительной инкубации на этой поверхности в бессывороточной среде 2.5 ч

$K_{\text{общ1}}$	Клетки, не прикрепившиеся к белковому субстрату в течение 2.5 ч в бессывороточной среде, далее культивировавшиеся в среде с сывороткой на гидрофильной поверхности
K_1	Клетки, постоянно культивировавшиеся на гидрофобной поверхности (отличающейся от гидрофильной отсутствием заряда), при предварительной инкубации на этой поверхности в бессывороточной среде 2.5 ч

Подробное описание методов, используемых в работе, представлено ранее (29–34). Анализировали распределение клеток по числу хромосом и СВК (35). Хромосомные aberrации учитывали метафазным методом. Регистрировали количество и типы хромосомных aberrаций.

Результаты обрабатывали статистически с использованием t – критерия Стьюдента и критерия χ^2 . Различия считали достоверными при вероятности нулевой гипотезы $P < 0.01$.

Результаты и обсуждение

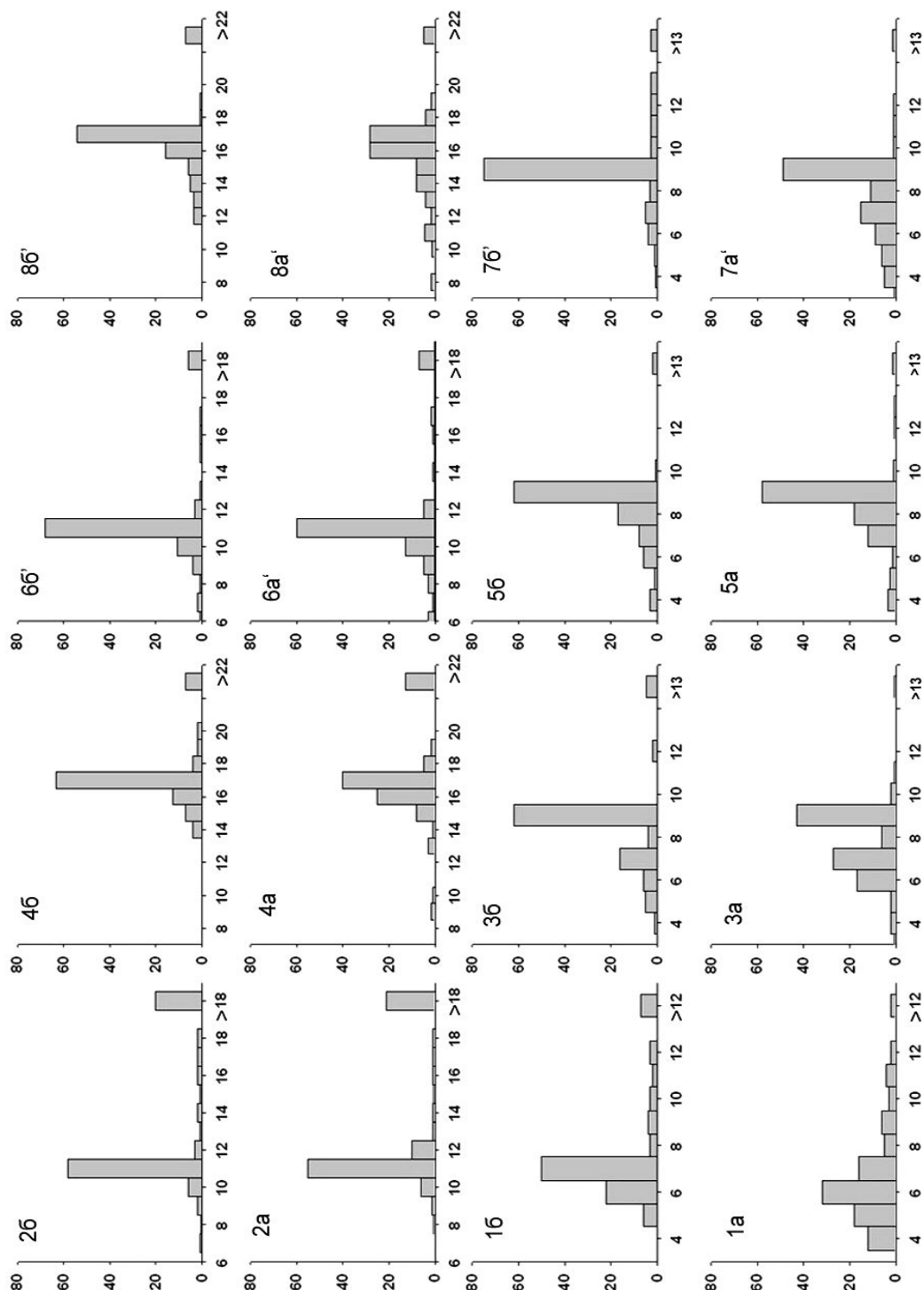
В связи с тем, что как между опытными, так и между контрольными вариантами достоверных различий не обнаружено, на рисунке приведены обобщенные данные по всем вариантам, полученным при анализе количественной кариотипической изменчивости.

Исследование количественной кариотипической изменчивости в фибробластоподобных клеточных линиях М и МТ и в эпителиоподобной линии NBL-3-17 при культивировании на ламинине 2/4 в течение 2 – 14 сут показало, что имеют место достоверные изменения в распределении клеток по числу хромосом по сравнению с контрольными вариантами. Оценка по критерию χ^2 показала, что вероятность нулевой гипотезы $P < 0.01$.

Изменение характера распределения клеток по числу хромосом происходит за счет значительного снижения количества клеток с модальным числом хромосом и увеличения с меньшими числами хромосом. При этом в линии М происходит уменьшение на единицу модального числа хромосом с 7 в контроле до 6 в опыте. Тогда как в линии МТ и NBL-3-17 снижается только количество клеток с модальным числом, равным 9 и 17, соответственно. Наблюдается увеличение гетерогенности клеточных популяций за счет увеличения количества новых типов дополнительных СВК, в основном, за счет появления клеток с малыми числами хромосом. Культивирование клеток линий МТ и NBL-3-17 на фибронектине в

тех же условиях приводит к аналогичным изменениям в характере количественной кариотипической изменчивости. Таким образом, из этих результатов можно сделать вывод, что происхождение клеток (эпителиоподобное или фибробластоподобное) не имеет значения для данной формы кариотипической изменчивости. По-видимому, полученные результаты свидетельствуют в пользу предположения о запуске метаболических процессов, нарушающих сегрегацию хромосом и способствующих образованию новой адаптивной сбалансированной кариотипической структуры. Ряд данных по исследованию функционального состояния микротрубочек косвенно свидетельствует о возможной связи между взаимодействием белков внеклеточного матрикса с рецепторами и стабильностью кариотипической структуры (36–39). Известно несколько способов адаптации клеточных линий к условиям *in vitro* и к условиям, изменяющимся в процессе культивирования. Для «безмаркерных» клеточных линий способы состоят в следующем: - стабилизация определенной цитогенетической структуры в популяции (СВК) и образование дицентриков (теломерных ассоциаций). Перечисленные способы могут быть как взаимодополняющими, так и взаимозаменяемыми на разных стадиях существования клеточной популяции.

В результате, за счет генетических и эпигенетических изменений, образуется сбалансированная кариотипическая структура (4, 6). Подтверждением вывода об отсутствии зависимости между характером количественной кариотипической изменчивости и происхождением клеток являются полученные исключения. Именно, анализ распределения клеток по числу хромосом и СВК показал, что культивирование клеток линий разного происхождения: NBL-3-11 на ламинине и фибронектине и кариотипического варианта МТ^д на ламинине в тех же условиях не приводит к изменению количественных характеристик по сравнению с контролем. Известно, что кариотипическая структура разных клеточных линий различается по своей устойчивости к одним и тем же воздействиям (40). В данном случае в линии NBL-3-11 устойчивость количественных характеристик, по-видимому, обусловлена крайне редким явлением – моносомией по аутосоме. В варианте МТ^д кариотипическая структура отличается от других анализируемых линий фибробластов кожи индийского мунджака большим количеством дицентриков (теломерных ассоциаций), превышающих в 7 раз контрольный уровень. Такие дицентрики являются для «безмаркерных» линий способом адаптации к измененным условиям культивирования и в данном случае заменяют другой способ адаптации – анеуплоидию.



Распределение по числу хромосом клеток разных линий при культивировании на ламинине и фибронектине. По горизонтали – число хромосом в клетке, по вертикали – частота встречаемости клеток, %. 1 – линия М; 2 – линия NBL-3-11; 3 – линия МТ; 4 – линия NBL-3-17; 5 – кариотипический вариант МТд; 6 – линия NBL-3-11; 7 – линия МТ; 8 – линия NBL-3-17. а – клетки культивировали на ламинине; а' – клетки культивировали на фибронектине; б и б' – контроли, соответствующие вариантам а и а'.

Количественная и структурная кариотипическая изменчивость взаимосвязаны между собой, являясь составляющими одного процесса – адаптации клеточных популяций к условиям *in vitro*. Основываясь на целостности процесса адаптации клеточных культур *in vitro*, параллельно с исследованием количественной изменчивости, был проведен анализ структурной изменчивости. Обобщенные данные представлены в табл.2.

При культивировании фибробластоподобных линий М и МТ на ламинине частота хромосомных aberrаций не изменяется по сравнению с контролем. Тогда как культивирование клеток линии МТ в течение 3 и 4 сут на фибронектине приводит к достоверному ($P < 0.01$) увеличению частоты хромосомных aberrаций только за счет значительного увеличения частоты дицентриков. Через 8 сут уровень дицентриков приближается к контролю. Противоположный результат имеет место при культивировании эпителиоподобных линий NBL-3-11 и NBL-3-17 на ламинине. Именно, наблюдается достоверное увеличение частоты хромосомных aberrаций, включая дицентрики ($P < 0.01$). Напротив, при культивировании на фибронектине линии NBL-3-17 частота хромосомных aberrаций не изменяется по сравнению с контролем.

Таблица 2. Влияние белков ВКМ на частоту хромосомных aberrаций в «безмаркерных» клеточных линиях

Вариант опыта	Клеточная культура	Число проанализированных клеток	Частота хромосомных aberrаций всех типов $\bar{x} \pm s_x$, %	Частота дицентриков без двойных фрагментов, $\bar{x} \pm s_x$, %
Лам	М	150	12.0 $\pm$ 2.6	6.7 $\pm$ 2.0
К		425	8.2 $\pm$ 1.3	4.4 $\pm$ 1.0
Лам	МТ	455	3.9 $\pm$ 0.9	1.8 $\pm$ 0.6
К		1050	3.0 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 0.4
Лам	МТ ^а	200	23.8 $\pm$ 3.0	15.4 $\pm$ 2.6
К		280	19.1 $\pm$ 2.3	14.1 $\pm$ 2.1
Лам ¹		160	34.4 $\pm$ 3.8 ^а	29.4 $\pm$ 3.6 ^а
К ¹		190	21.6 $\pm$ 3.0	15.3 $\pm$ 2.6
Лам	NBL-3-11	465	51.3 $\pm$ 2.3 ^а	5.8 $\pm$ 1.1 ^а
К		670	29.6 $\pm$ 1.8	1.8 $\pm$ 0.5
Лам	NBL-3-17	733	60.0 $\pm$ 1.7 ^а	17.2 $\pm$ 1.4 ^а
К		831	38.5 $\pm$ 1.7	10.0 $\pm$ 1.0
ФН	МТ	480	12.9 $\pm$ 1.5 ^а	5.9 $\pm$ 1.1 ^а
К		425	3.3 $\pm$ 0.9	1.1 $\pm$ 0.5
ФН ²		275	9.1 $\pm$ 1.7	3.6 $\pm$ 1.1
К ²		410	4.9 $\pm$ 1.1	1.6 $\pm$ 0.6
ФН	NBL-3-11	575	46.8 $\pm$ 2.0 ^а	5.0 $\pm$ 0.9 ^а
К		1020	31.2 $\pm$ 1.4	1.8 $\pm$ 0.4
ФН	NBL-3-17	760	26.8 $\pm$ 1.6	7.5 $\pm$ 0.9
К		1100	20.6 $\pm$ 1.2	4.8 $\pm$ 0.6

Примечание: ^а Достоверно отличается от значений в контролях ($P < 0,01$); К – объединенные контрольные варианты; ¹ культивирование на ламинине 3 сут; ² культивирование на фибронектине 8 сут.

Таким образом, характер структурной кариотипической изменчивости зависит от происхождения клеточной линии. Объяснить это можно следующим образом. Эпителиоподобные клетки преимущественно секретируют ламинин, фибробластоподобные – фибронектин. В связи с этим при посеве клеток на искусственный ламинин или фибронектин специфические клеточные рецепторы связываются с соответствующим белком, а секретируемый самими клетками тот же белок не имеет возможности связаться со своими рецепторами, и, таким образом, могут возникнуть изменения в клеточном метаболизме, индуцирующие в конечном счете структурную нестабильность хромосом. Тем не менее, конкретная структура кариотипа вносит свои коррективы в характер кариотипической изменчивости, и от нее зависит способ адаптации клеточной культуры к определенному субстрату (40). В частности, при культивировании клеток гиподиплоидной линии NBL-3-11 как на ламинине, так и на фибронектине, в отличие от гипотриплоидной линии NBL-3-17, отсутствует способ адаптации, выражающийся в анеуплоидии, но появляется другой способ, выражающийся в достоверном увеличении структурных хромосомных изменений, в частности, дицентриков ($P < 0.01$). В кариотипическом варианте MT^d , в отличие от линий М и МТ, через 3 сут культивирования на ламинине наблюдается достоверное увеличение частоты дицентриков по сравнению с контролем ($P < 0.01$) при отсутствии изменений в количественной кариотипической изменчивости.

Представленные обобщенные результаты по исследованию влияния иммобилизованных белков ВКМ на характер кариотипической изменчивости в «безмаркерных» клеточных линиях подтвердили наличие характерных черт дицентриков (теломерных ассоциаций), подробно рассмотренных в предыдущих работах, а также наличие 2-х способов адаптации – анеуплоидии и образования дицентриков, которые могут быть как взаимодополняющими, так и взаимозаменяемыми. В результате адаптации к измененным условиям существования устанавливается сбалансированная кариотипическая структура, обеспечивающая оптимальный генный баланс в клеточной популяции, как целостной системе (4,6,40). В заключение следует отметить, что проведенный впервые анализ влияния иммобилизованных белков ВКМ на характер кариотипической изменчивости в «безмаркерных» клеточных линиях существенно расширил представления о важности этих белков для жизнедеятельности клеток и клеточной популяции в целом. Ибо изменения кариотипической структуры неразрывно связаны с нарушением функционирования генов, что ведет к изменению других клеточных свойств.

Список литературы

1. Hooper M.L., Subak-Sharpe J.H. Metabolic cooperation between cells. *Int. Rev. Cytol.*, 1981, 69: 45 – 104.
2. Шаровская Ю.Ю., Лагарькова М.А., Киселев С.Л., Чайлахян Л.М. Исследование диффузионной связи через щелевые контакты в эмбриональных стволовых клетках человека в процессе спонтанной дифференцировки. *ДАН*, 2009, 427: 407 – 410.
3. Мамаева С.Е. Закономерности кариотипической эволюции клеток в культуре. *Цитология*, 1996, 38: 787 – 814.
4. Полянская Г.Г., Вахтин Ю.Б. The karyotypic structure of cell populations in vitro as integral system. 2003, *Цитология*, 2003, 45: 115 – 131.
5. Полянская Г.Г., Абрамян Д.С., Глебов О.К. Кариотипическая структура клоновых популяций клеток китайского хомячка при длительном культивировании. *Цитология*, 1981, 23, 7: 818 – 830.
6. Полянская Г.Г. Закономерности кариотипической изменчивости в клеточных культурах при длительном культивировании в разных условиях. *Успехи совр. биол.* 2000, 120: 529 – 539.
7. Nielsen K. The chromosomes of an in vitro derivative of an Ehrlich ascites tumor of the mouse during its adaptation from monolayer to suspension culture. *Hereditas*, 1972, 70: 217 – 224.
8. Семенова Е. Г., Хоменко А. В., Мамаева С. Е. Изменение продолжительности клеточного цикла и кариотипа клеток L мыши при смене способа культивирования. *Цитология*, 1984, 26: 1156 – 1160.
9. Литвинчук Л. Ф., Мамаева С. Е., Ковтунович И. Г., Пинаев Г. П. Кариотип постоянных клеточных линий. Изменчивость кариотипа М HeLa при статическом и роллерном способах культивирования. *Цитология*, 1986, 28: 56 – 61.
10. Царева А.А., Исаенко А.А., Урманова М.А., Юрченко М.Д., Балзовская Е.Г., Родионова М.О. Исследование кариотипа клеток линии Vero, длительно культивируемых в монослое статическим и роллерным способами. *Цитология*, 1990, 32: 741 – 747.
11. Amadori M., Berneri C. Genotypic and phenotypic changes of BHK-21 cells grown in suspension cultures. *Cytotechnology*, 1993, 11, 1: 106 – 108.
12. Basson M.D., Turowski G., Emenaker N.J. Regulation of human (Caco-2) intestinal epithelial cell differentiation by extracellular matrix proteins. *Exp. Cell Res.* 1996, 225: 301 – 305.
13. Are A., Pinaev G., Burova E., Lindberg U. Attachment of A431 cells on immobilized antibodies to the EGF receptor promotes cell spreading and reorganization of the microfilament system. *Cell Motility and Cytoskeleton*. 2001, 48: 24 – 36.
14. Xu C., Inokuma M.S., Denham J., Golds K., Kundu P., Gold J.D., Carpenter M.K. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nature Biotechnology*. 2001, 19: 971 – 974.
15. Mostafavi-Pour Z., Askari J A., Parkinson S.J., Parker P.J., Ng T.T.C. Integrin-specific signaling pathways controlling focal adhesion formation and cell migration. *J. Cell Biol.* 2003, 161: 155 – 167.
16. Ahmed N., Riley C., Rice G., Quinn M. Role of integrin receptors for fibronectin, collagen and laminin in the regulation of ovarian carcinoma functions in response to a matrix microenvironment. *Clin. Exp. Metastasis*. 2005, 22: 391 – 402.
17. Klimanskaya I., Chung Y., Meisner L., Johnson J., West M.D., Lanza R. Human embryonic stem cells derived without feeder cells. *Lancet*. 2005, 365: 1636 – 1641.
18. Maniotis A.J., Valyi-Nagy K., Karavitis J., Moses J., Boddipali V., Wang Y., Nunez R., Setty S., Arbieva Z., Bissell M., Forberg R. Chromatin organization measured by AluI restriction

enzyme changes with malignancy and is regulated by the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Am.J. Pathol.* 2005, 166: 1187 – 1203.

19. **Kato K., Shiga K., Yamaguchi K., Hata K., Kobayashi T., Miyazaki K., Saijo S., Miyagi T.** Plasma-membrane-associated sialidase (NEU3) differentially regulates integrin mediated cell proliferation through laminin- and fibronectin-derived signaling. 2006, *Biochem. J.* 2006, 394 (Pt 3): 647 – 656.

20. **Koenig A., Mueller C., Hasel C., Adler G., Menke A.** Collagen Type 1 induces disruption of E-Cadherin-mediated cell-cell contacts and promotes proliferation of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Res.* 2006, 66: 4662 – 4671.

21. **Ma H.J., Zhu W., Wang D.G., Yue X.Z., Li C.R.** Endothelin-1 combined with extracellular matrix proteins promotes the adhesion and chemotaxis of amelanotic melanocytes from human hair follicles in vitro. 2006, 30: 999 – 1006.

22. **Wang J., Milner R.** Fibronectin promotes brain capillary endothelial cell survival and proliferation through $\alpha 5 \beta 1$ and $\alpha v \beta 3$ integrins via MAP kinase signaling. *J. Neurochem.* 2006, 96: 148 – 159.

23. **Belkin V.M., Kukhareno V.I., Volodarskaia S.M., Grinberg K.N., Mazurov V.I.** Changes in fibronectin biosynthesis in human embryonal fibroblasts with trisomy for chromosomes 7 and 9. *Vopr. Med. Khim.* 1985, 31: 125 – 130.

24. **Risteli L., van Koskull H., Autio-Harmainen H., Risteli J.** Amniotic fluid laminin and type IV collagen in normal and pathological pregnancies. *Clin.Chim. Acta.* 1985, 147: 283 – 290.

25. **Delvig A.A., Kukhareno V.I., Belkin V.M., Mazurov V.I., Grinberg K.N., Debov S.S.** Collagen and fibronectin synthesis by trisomic fibroblasts from human spontaneous abortuses. *Mol. Gen. Genet.* 1987, 209: 592 – 595.

26. **Brand-Saberi B., Epperlein H.H., Ramonos G.E., Christ B.** Distribution of extracellular matrix components in nuchal skin from fetuses carrying trisomy 18 and trisomy 21. *Cell Tissue Res.* 1994, 277: 465 – 475.

27. **Петухова О.А., Туроверова Л.В., Кропачева И.В., Пинаев Г.П.** Анализ морфологических особенностей популяции клеток эпидермоидной карциномы A431, распластаных на иммобилизованных лигандах. *Цитология.* 2004, 46: 5 – 15.

28. **Домнина Л.В., Любимов А.В.** Выделение и характеристика внеклеточного матрикса культивируемых клеток. *Цитология.* 1988, 30: 299 – 303.

29. **Полянская Г.Г., Горячая Т.С., Пинаев Г.П.** Влияние ламинина на кариотипическую изменчивость в клеточной линии фибробластов кожи индийского мунджака. *Цитология,* 2002, 44: 491 – 498.

30. **Полянская Г.Г., Горячая Т.С., Пинаев Г.П.** Влияние ламинина на структурную кариотипическую изменчивость в клеточных линиях почки кенгуровой крысы. *Цитология,* 2003 а, 45: 1048 – 1053.

31. **Полянская Г.Г., Горячая Т.С., Пинаев Г.П.** Влияние ламинина на количественную кариотипическую изменчивость в клеточных линиях почки кенгуровой крысы. *Цитология,* 2003 б, 45 10: 1038 – 1047.

32. **Полянская Г.Г., Горячая Т.С., Пинаев Г.П.** Влияние иммортализованного фибронектина на кариотипическую изменчивость в клеточной сублинии фибробластов кожи индийского мунджака. *Цитология,* 2005, 47: 925 – 932.

33. **Полянская Г.Г., Горячая Т.С., Пинаев Г.П.** Влияние иммортализованного фибронектина на кариотипическую изменчивость в клеточных линиях почки кенгуровой крысы. *Цитология,* 2007, 49: 219 – 228.

34. **Полянская Г.Г., Горячая Т.С., Пинаев Г.П.** Влияние иммортализованного ламинина на кариотипическую изменчивость в двух кариотипически различных вариантах клеточной линии фибробластов кожи индийского мунтжака. Цитология. 2008, 50: 988 – 998.
35. **Полянская Г.Г.** Кариотипическая характеристика клеточных сублиний почки кенгуровой крысы и фибробластов кожи индийского мунтжака. Цитология. 1988, 30 (6): 732 - 738.
36. **Домнина Л.В., Иванова О.Ю., Васильев Ю.М.** Влияние микротрубочек на морфологию монослоя фибробластов и его внеклеточный матрикс. Цитология. 1996, 38, 3: 300 – 304.
37. **Zhou B., Rabinovitch M.** Microtubule involvement in translational regulation of fibronectin expression by light chain 3 of microtubule-associated protein 1 in vascular smooth muscle cells. Circ.Res. 1998, 83: 481 – 489.
38. **Putnam A.J., Schultz K., Mooney D.J.** Control of microtubule assembly by extracellular matrix and externally applied strain. Am. J. Physiol. 2001, 280, 3: 556 – 564.
39. **Peng H., Shah W., Holland P, Carbonetto S.** Integrins and dystroglycan regulate astrocyte wound healing: the integrin beta1 subunit is necessary for process extension and orienting the microtubular network. Dev.Neurobiol. 2008, 68: 559 – 574.
40. **Полянская Г.Г.** Кариотипическая изменчивость в клеточных линиях и структура кариотипа. Клеточные культуры (информ. бюллетень), СПб, Изд-во Политехн. ун-та, вып. 24, 2009: 15 – 24.