

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРОФОРМОВАННЫХ СКАФФОЛДОВ, ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ МАГНИТНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ, НА ФЕНОТИП ФИБРОБЛАСТОВ И МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

М. Ю. Ведяшкина, Е. В. Сухина

Научный руководитель – к.биол.н., заведующий центром биологических исследований и биоинженерии центральной научно-исследовательской лаборатории А. Г. Першина

*Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, проспект Ленина 30*

*Центральная научно-исследовательская лаборатория
Сибирский государственный медицинский университет
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт 2 стр. 18*

Электроформованные скаффолды (матриксы), функционализированные магнитными наночастицами (ММЧ) представляют большой интерес для решения актуальных задач регенеративной медицины. Это связано со способностью ММЧ генерировать сигнал при наложении внешнего магнитного поля, который в свою очередь может оказывать влияние на рост, пролиферацию и дифференцировку клеток, растущих на их поверхности.

В работе исследовали образцы ММЧ, полученные на основе полилактида (PLLA_M14) и на основе сополимера винилиденфторида и трифторэтилена (PVDF_M14), в качестве образцов сравнения использовали скаффолды без добавления наночастиц. В работе использовали нормальные фибробласты человека линии ФЭЧ-16 (Вектор, Новосибирск) и мезенхимальные стволовые клетки (МСК), полученные из образцов костного мозга человека.

Исследование способности клеток к адгезии на ММЧ проводили методом флуоресцентной микроскопии (Leica DMI8, Германия), клетки окрашивали с использованием Phalloidin-Atto 488 и DAPI. Жизнеспособность клеток на ММЧ оценивали методом Alamar Blue. Для исследования влияния магнитного поля, на клетки ФЭЧ-16 и МСК, после их адгезии на ММЧ, воздействовали переменным (150 мТ, 10 Гц) или постоянным магнитным полем (300 мТ). Выделение РНК проводили с использованием Trizol. Библиотеки для массового параллельного секвенирования готовили при помощи набора QIAseq® Stranded RNA Library Kit (Qiagen, Германия) и набора уникальных двусторонних индексов (QIAseq UDI Y-Adapter Plate) по стандартному протоколу. NGS секвенирование выполняли на платформе Genolab M (Genomind Biosciences, Китай).

Результаты анализа полнотранскриптомного профиля образцов показали, что воздействие постоянного магнитного поля на МСК, после их адгезии на PLLA_M14, приводило к изменению экспрессии 915 генов. Анализ обогащения по функциональной принадлежности и метаболическим путям (GSEA) показал активацию путей трансмембранного транспорта, аэробного дыхания, окислительного фосфорилирования, транспорта электронов в дыхательной цепи и подавление экспрессии генов, участвующих в сборке центриолей в клетке. Данный паттерн изменений метаболизма характерен для дифференцировки клетки [1].

Под воздействием постоянного магнитного поля на МСК человека на PVDF_M14, по сравнению с клетками, культивируемыми на PVDF_M14 без наложения поля, значительно изменялась экспрессия 2664 генов. Наблюдали активацию путей регуляции внутриклеточного транспорта и внутриклеточной сигнализации, регуляции процессов липидного метаболизма и регуляции полимеризации актиновых филаментов; тогда как экспрессия генов, связанных с детектированием клеткой химических стимулов, была понижена. Активация полимеризации активных филаментов характерна для остеогенной дифференцировки клеток [2].

Установлено, что ММЧ не оказывали негативных эффектов на жизнеспособность нормальных фибробластов человека и мезенхимальных стволовых клеток человека.

Таким образом, культивирование клеток на ММЧ позволяет влиять на фенотип клеток и их метаболизм при наложении внешнего магнитного поля, в частности способствовать их дифференцировке. Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию схемы воздействия

магнитным полем (продолжительность, периодичность) для управления пролиферацией кле-

ток и процессом их дифференцировки с целью оптимизации процесса регенерации.

Список литературы

1. Tyurin-Kuzmin P. A., Molchanov A. Yu., Chechekhin V. I., Ivanova A. M., Kulebyakin K. Yu. // *Biochemistry (Moscow)*, 2020. – V. 85. – P. 264–278.
2. Khan A. U., Qu R., Fan T., Ouyang J., Dai J. // *Stem Cell Res Ther*, 2020. – V. 11. – P. 283.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ПОЛИСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСА *Saussurea salicifolia* L.

Е. И. Гулина¹, А. В. Зыкова¹, В. Э. Мамедова^{1,2}

Научный руководитель – д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтического анализа М. В. Белоусов

¹Сибирский государственный медицинский университет
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт 2 стр. 7

²Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30

Введение. Молекулы полисахаридов являются сложными гетерогенными соединениями, для характеристики структуры которых применяется комплекс различных физико-химических методов. Строение полисахаридов, в свою очередь, может влиять на проявляемую ими биологическую активность. По данным литературы именно третичная структура вносит главный вклад в формирование биологического эффекта полисахаридов (противоопухолевого иммуностропного, антиоксидантного) [1]. Установлено, что полисахаридные комплексы (ПСК) *Saussurea salicifolia* L., выделенные при pH = 2 и температуре 60 °С обладают эндотоксин-независимой иммуностропной активностью [2].

Цель исследования. Изучение пространственной структуры полисахаридного комплекса *Saussurea salicifolia* L. с помощью метода спектрофотометрии по реакции с конго красным и сканирующей электронной микроскопии.

Материалы и методы. Объект исследования – полисахаридные комплексы выделяли из надземной части *Saussurea salicifolia* L. экстракцией при нагревании до 60 °С, экстрагент – вода очищенная, подкисленная хлористоводородной кислотой до pH = 2, соотношение сырья:экстрагента – 1:50 в течение 3 часов. Полученные экстракты концентрировали под вакуумом, ПСК осаждали спиртом этиловым 96 % (1:4), диализировали и лиофильно высушивали.

Конго красный метод. 1 мл полисахаридного комплекса (1 мг/мл) смешивали с 1 мл конго красного (КК) (80 мкмоль/л) и прибавляли NaOH (2 моль/л) до достижения концентрации от 0,05 до 0,45 моль/л. Записывали спектры поглощения полученных растворов в диапазоне длин волн от 200 до 700 нм (СФ-2000, Россия), раствор сравнения – вода очищенная. Строили графическую зависимость максимума поглощения ПСК+КК от концентрации NaOH.

Сканирующая электронная микроскопия. Ультроструктуру образцов выполняли на сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-3400N («Hitachi», Япония) в режиме высокого вакуума при ускоряющем напряжении 5 кВ. Образец ПСК наносили на углеродную ленту и напыляли проводящее покрытие (Au–Pt).

Результаты. Сдвиг максимума поглощения в длинноволновую область при прибавлении раствора NaOH не наблюдается, что может свидетельствовать об отсутствии третичной структуры [1].

Поверхность ПСК представляет собой агрегаты и хлопья с неровной шероховатой поверхностью, при максимальном увеличении видны агломераты, состоящие из нескольких субъединиц.

Выводы. Исследуемый образец ПСК *Saussurea salicifolia* L. не обладает третичной структурой по результатам спектрофотометрического метода с конго красным, однако струк-