

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ И СООБЩЕНИЙ,
ПРЕДСТАВЛЕННЫЕ НА ШКОЛУ-КОНФЕРЕНЦИЮ ДЛЯ МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ
«МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК»**

(Санкт-Петербург, 6—10 октября 2008 г.)

ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА И ФИТОСБОРОВ НА МАРКЕРЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ПОЧЕК МЫШИ. © А. А. Алиева,¹ В. П. Пащенко,¹ Т. Л. Киселева,² Н. А. Назаренко.¹ ¹ Северный государственный медицинский университет МЗ РФ, Архангельск, и ² Институт гомеопатии и натуротерапии Федерального клинично-экспериментального центра традиционных методов диагностики и лечения МЗ РФ, Москва.

Одним из экстремальных факторов внешней среды, ухудшающим качество жизни человека, является холод. В районах Крайнего Севера ежегодно регистрируется более 11 тыс. случаев оказания медицинской помощи пострадавшим от переохлаждения. Поэтому поиск лекарственных препаратов с фригопротекторным действием является одним из актуальных научных направлений. Ранее проведенные эксперименты на лабораторных животных на модели острой холодовой травмы показали положительную динамику нормализации некоторых показателей гомеостаза при назначении фитосборов (Алиева и др., 2006). Однако все еще остается недостаточно изученным возможный механизм их фригопротекторного действия. Поэтому целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение влияния дексаметазона и фитосборов на маркеры пролиферативной активности в системе *in vitro*. В опытах была использована культура почек мышцы, обладающая высокими пролиферативными потенциальными. Водное извлечение сборов (10%-ный настой) готовили по методике издания Государственной фармакопеи XI. В состав «ядра» сбора № 1 входили листья березы бородавчатой и трава душицы обыкновенной, а сбора № 2 — трава зверобоя продырявленного и трава тысячелистника обыкновенного. Флаконы с культурой были разделены на четыре группы: к первым двум добавляли настои, к третьей дексаметазон, четвертая служила контролем. В опытных сериях готовили 7 рабочих разведений настоев с конечными концентрациями в культуре 1.5, 1.0, 0.75, 0.5, 0.37, 0.25 и 0.125 %. Дексаметазон вносили в культуру с конечными разведениями раствора 0.04, 0.02, 0.01 и 0.005 %. После инкубации в течение 2 сут в термостате при 37 °С клеточный монослой фиксировали в жидкости Буэна, окрашивали гематоксилином по Караччи и эозином. Было изготовлено 80 микропрепаратов. В фиксированной культуре определяли удельную плотность клеток (число клеток на единицу площади) и долю митозов (митотический индекс). Статистическую обработку проводили с помощью пакетов Statistica 6.0, SPSS 11.5 и Sigma Plot 8.0. Опыты показа-

ли, что сбор № 1 в отличие от сбора № 2 увеличивал численность клеточной популяции по отношению к посевной доле при разведениях от 1.5 до 0.125 %. Настой сбора № 2 ингибировал данный показатель при разведениях 1.0, 0.37, 0.25 и 0.125 %. Несмотря на различие параметров численности популяции в опытах по изучению доли митозов, были получены сходные характеристики изменения митотического индекса. В обеих опытных сериях с фитосборами численность клеток с митотическими фигурами изменялась волнообразно. При внесении в культуру дексаметазона регистрировалось дозозависимое ингибирование клеточного монослоя. Максимальное снижение численности популяции (на 55 %) регистрировалось в пробе с концентрацией 0.04 %. В этой же пробе определялся минимальный показатель доли митозов. Таким образом, получены следующие результаты. 1. Настой сбора № 2 в отличие от настоя сбора № 1 в равных дозировках ингибировал численность клеточного монослоя *in vitro*. 2. В опытах с обоими настоями митотический индекс клеточной культуры изменялся волнообразно. 3. Дексаметазон в дозированной форме снижал численность и митотический индекс клеточной популяции.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНДУКЦИИ ПЫЛЬЦЕВОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА У ГИБРИДОВ СОРТОВ И ДИГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ПЕРВОГО И ВТОРОГО ПОКОЛЕНИЙ. © Е. В. Антоненко. Институт генетики и цитологии НАН Республики Беларусь, Минск, E.Antonenko@igc.bas-net.by.

Метод культуры пыльников получил широкое развитие и непосредственное использование в селекционных программах разных разных сельскохозяйственных культур. Однако массовому внедрению метода в селекционную практику препятствует ряд обстоятельств: низкая эффективность индукции пыльцевого эмбриогенеза у многих генотипов, сравнительно низкий выход растений-регенерантов и появление растений-альбиносов. Очень перспективным для повышения эффективности индукции пыльцевого эмбриогенеза, на наш взгляд, является использование гибридных генотипов, так как скрещивание сортов пшеницы, характеризующихся высокой и низкой андрогенетической способностью в культуре пыльников, в ряде случаев приводит к передаче признака от лучшего родителя гибридам F₁, что свидетельствует о доминантном характере наследования. Це-

ленных условиях способны к дифференцировке в костном, хрящевом и жировом направлениях. Важным свойством МСК является их чувствительность к различным воздействиям, а также наряду с остеобластами способность к выработке широкого спектра биологически активных веществ, которые потенциально могут выступать в качестве регуляторов костного гомеостаза. Наиболее вероятными кандидатами на роль гравитационно-чувствительных структур клетки выступают рецепторные белки семейства интегринов. Интегрины опосредуют взаимодействие клеток друг с другом и внеклеточным микроокружением, а также осуществляют взаимосвязь матрикса с цитоскелетом клетки. Примечательно, что на мембране МСК экспрессируется огромное количество молекул адгезии и интегринов, регулирующих различные аспекты функционирования этих клеток, в том числе и их дифференцировочные потенции. В связи с вышесказанным данный тип клеток представляется уникальной моделью для изучения влияния различных физических и химических факторов *in vitro*. Наши исследования были посвящены изучению влияния моделирования эффектов микрогравитации (3D-клиностамирование) на актиновый цитоскелет и экспрессию связанных с ним отдельных типов интегринов у культивируемых мезенхимных стромальных клеток-предшественников костного мозга человека. Также мы изучали дифференцировочный потенциал МСК при моделировании эффектов микрогравитации *in vitro*. Оказалось, что актиновый цитоскелет МСК в короткие сроки (начиная от нескольких минут) реагирует на измененное гравитационное воздействие, что выражается в реорганизации структуры актиновых фибрилл и увеличении количества винкулиновых сайтов фокальной адгезии. В процессе 120-часового клиностамирования усиливается экспрессия клетками связанного с актином и винкулином интегрин $\beta 2 \nu 1$, что регистрируется по увеличению иммунофлуоресценции с помощью проточной цитофлуориметрии. Длительное клиностамирование приводит к модификации остеогенного потенциала дифференцировки МСК, не вызывая выраженных изменений в способности клеток дифференцироваться в адипогенном направлении. Культуры МСК-производных характеризуются редуцированной активностью щелочной фосфатазы (раннего маркера дифференцировки остеобластов), а также в существенно меньшей степени минерализуют внеклеточный матрикс. Особенно важно отметить, что под действием клиностамирования в культурах МСК, индуцированных в остеогенном направлении, активируются процессы, приводящие к увеличению числа клеток, которые приобретают адипоцитоподобный фенотип. Таким образом, полученные нами результаты согласуются с концепцией о потенциальном участии низкодифференцированных клеток-предшественников в реализации восприятия тканью различного рода механических стимулов.

ИЗУЧЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ И ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЦЕОЛИТОВ КУЛИКОВСКОГО И ЛЮЛЬИНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЙ НА КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК НТ-29 И JB6 C141. © К. С. Голохваст,¹ С. П. Ермакова,² А. М. Паничев,³ М. И. Кусайкин.² ¹ Институт нефти и газа ДВГТУ, ² Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН и ³ Тихоокеанский институт географии ДВО РАН, Владивосток.

В зарубежной литературе появилось несколько сообщений о том, что природные минералы — цеолиты — в концентрации 50 мг/мл проявляют антиканцерогенные свойства *in vitro* (Pavelic K. et al., 2000, 2001, 2002). Целью настоящего исследования является изучение цитотоксического и возможного противоопухолевого действия цеолитов Куликовского и Люльинского месторождений *in vitro* в концентрациях 0.01, 0.1 и 1 мг/мл. Для оценки цитотоксичности веществ, роста клеток и антиопухолевого действия были использованы опухолевые клетки НТ-29 (рак кишечника) и клетки линии JB6 C141 с применением MTS-метода и метода мягкого агара. MTS-метод основан на свойстве живых клеток трансформировать MTS-реагент в формазан. Количество образовавшегося формазана пропорционально количеству оставшихся в живых клеток после воздействия вещества и определяется спектрофотометрически при 492 нм. Клетки JB6 C141 (10^4 клеток в 1 мл) рассевали в 96-луночные планшеты и культивировали в 200 мкл 5%-ной MEM в инкубаторе при 37 °C в течение 24 ч. Затем клетки обрабатывали цеолитами различной концентрации и инкубировали в течение 24 ч. После инкубирования добавляли по 15 мкл 3-(4,5-диметилсазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолин бромид и помещали в инкубатор (37 °C) на 4 ч. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре фирмы Bio-Tek Instruments (США) при длине волны 570 нм (A_{570}). Метод мягкого агара (Colburn et al., 1981) основан на том, что раковые клетки, находящиеся в неприкрепленном состоянии, в толще мягкого агара дают рост клеточных колоний, тогда как вещества, обладающие антиопухолевым действием, ингибируют рост клеточных колоний. Число клеточных колоний подсчитывали в контрольной и экспериментальной группах. Клетки рака кишечника человека НТ-29 культивировали в MEM, 10 % FBS. В работе были использованы коммерческие препараты фирмы «Биолот»: питательные среды MEM, BME, EGF, фосфатный буфер, пенициллин, стрептомицин, L-глутамин, трипсин, ЭДТА, эмбриональный бычий альбумин и NaHCO_3 . Клеточные линии JB6 C141 и НТ-29 были получены из Hormel Institute University of Minnesota (Austin, MN, США). В концентрациях 0.01, 0.1 и 1 мг/мл цеолиты Куликовского и Люльинского месторождений не были токсичными для клеток JB6 C141 и не ингибировали рост колоний клеток НТ-29 в мягком агаре.

РАЗОБЩЕНИЕ НОРМАЛЬНОГО ПРОТЕКАНИЯ МИТОЗА ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ СТРЕССЕ. © С. А. Голышев,¹ Е. А. Арифалин,¹ И. М. Бужурина,¹ Е. М. Лазарева,² В. Ю. Поляков.¹ ¹ Научно-исследовательский институт физико-химической биологии Московского государственного университета, sergei.golyshev@genebee.msu.ru, и ² Биологический факультет Московского государственного университета.

В работе изучена реакция митотических клеток на термический стресс. В качестве модельной системы использованы культивируемые клетки СПЭВ. Клетки инкубировали при 44 °C в течение 60 мин, после чего фиксировали спустя различные промежутки времени после переноса в нормальные условия культивирования. Показано, что термический стресс не приводит к заметным повреждениям интерфазных клеток. Все наблюдаемые изменения обратимы. Клетки сохраняют жизнеспособ-