

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ
ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ
(г. Уфа, 18 мая 2026 г.)

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Уфимский университет науки и технологий»
Министерство просвещения Республики Башкортостан
Институт развития образования
Республики Башкортостан
Институт природы и человека
Уфимского университета науки и технологий
Институт биохимии и генетики
Уфимского федерального исследовательского центра РАН

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ

*Тезисы докладов
Всероссийской научно-практической конференции
(г. Уфа, 18 мая 2026 г.)*

Научное электронное издание сетевого доступа

Уфа
Уфимский университет
2026

УДК 576.3
ББК 28.050
К48

*Публикуется по решению кафедры биохимии,
биотехнологии и физиологии УУНУТ.
Протокол № 25 от 20.04.2026 г.*

Редколлегия

канд. биол. наук, доцент **У. Ш. Кузьмина** (отв. редактор);
д-р биол. наук, профессор **Л. А. Шарафутдинова**;
канд. биол. наук, доцент **В. О. Цветков**;
канд. биол. наук, доцент **А. М. Федорова**;
канд. биол. наук, доцент **И. А. Шпирная**

Клеточные технологии как инструмент для изучения живых систем:
К48 тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции
(г. Уфа, 18 мая 2026 г.) / отв. ред. У. Ш. Кузьмина [Электронный ресурс] /
Уфимск. ун-т науки и технологий. – Уфа: Уфимский университет, 2026. –
46 с. – URL: <https://uust.ru/media/documents/digital-publications/2026/115.pdf> –
Загл. с титула экрана.
ISBN 978-5-7477-6397-5

В сборнике представлены статьи, отражающие современное состояние исследований в области клеточных технологий, устанавливая ориентиры для дальнейшего развития биомедицины и решая важные прикладные задачи. Темы, затронутые в материалах, охватывают ключевые области современной биологии: от теоретических основ культивирования клеток в двух- и трехмерном форматах, микрофлюидных устройств и этических вопросов до клеточной иммунотерапии (CAR-T), редактирования генома с использованием системы CRISPR/Cas9 и вспомогательных репродуктивных технологий. Особое внимание уделяется альтернативным модельным объектам – насекомым, микроорганизмам и культурам растений, включая каллусные и корневые системы.

Предназначено для преподавателей биологии и химии, инструкторов высших и средних профессиональных училищ, исследователей, аспирантов, магистрантов и студентов старших курсов соответствующих специальностей.

УДК 576.3
ББК 28.050

ISBN 978-5-7477-6397-5

© Уфимский университет, 2026

Содержание

Баймиев Ан.Х., Владимирова А.А., Акимова Е.С., Баймиев Ал.Х. Современные технологии определения бактерий: от клеточного культивирования до геномного анализа.....	4
Бухмастова А. А., Шпирная И.А. Сравнительная характеристика сред для восстановления криоконсервированных фибробластов куриного эмбриона.....	5
Вебер А.В., Кузьмина У.Ш., Шарафутдинова Л.А. 2D И 3D культивирование: от плоской чашки к органоидам.....	7
Величинский Р.А., Стрельцова М.А., Паламарчук А.И., Вавилова Ю.Д., Коваленко Е.И. Создание и характеристика PSCA-CAR-NK-клеток.....	10
Ишметова Д.В., Шаяхметов Р.И., Ле Т.Ч., Ибатуллин А.А. Сравнительный анализ методов выделения клеток из липоаспирата и нанофэта.....	14
Кириенко М.В. Методология решения заданий ЕГЭ различных линий на примере задач по культивированию клеток и клеточным технологиям.....	17
Кулуев Б.Р., Асянова Э.А., Якупова А.Б. Микроклональное размножение и соматический эмбриогенез растений.....	18
Махмутов А.Р. Потенциал использования водорослей в фармакологической промышленности.....	21
Минин А.С., Белоусова А.В. Mslaspheroidstamp и 3D-печать в клеточной лаборатории: когда DIY это хорошо.....	23
Михайлова Е.В., Поздеев Д.Н., Прокофьева Д.С., Хузина А.Х., Аминова Э.Т. Оптимизация условий трансфекции культуры клеток куриных фибробластов.....	25
Парфенова Л.В., Парфенов Е.В. Молекулярная биология в оценке биосовместимости материалов.....	26
Равенская В.Д., Михайлова Д.С., Муллазянова А.Э., Гарипова М.И. Пробиотики в контексте клеточных технологий.....	28
Равенская В.Д., Михайлова Д. С., Гарипова М.И. Курс приема пробиотиков позволяет повысить концентрацию триптофана в слюне человека.....	31
Садртдинова И.И., Хузина А.Х. Одна клетка – новая жизнь: как клеточные технологии меняют репродукцию.....	34
Саматов Т.Р. Человек на чипе.....	36
Шарафутдинова Л.А. Методы выделения нейтрофилов человека для морфомеханического анализа (АСМ) и токсикологических тестов.....	38
Шпирная И.А. Биологические особенности клеточных линий насекомых.....	41
Якупова А.Б., Глушихина Е.И., Кулуев Б.Р., Габидуллина Г.Ф. Сравнительная оценка накопления биологически активных веществ в трансформированных корнях и корневищах подсолнечника однолетнего и девясила высокого.....	43

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ: ОТ КЛЕТОЧНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДО ГЕНОМНОГО АНАЛИЗА

Баймиев Ан.Х.*, Владимирова А.А., Акимова Е.С., Баймиев Ал.Х.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия.
e-mail: *baymiev@anrb.ru

Методы определения таксономического положения бактерий до сих пор имеют нерешенные проблемы, заставляющие искать все новые подходы систематики микроорганизмов. Эта проблема связана со все еще неполным пониманием, что есть бактерия. Желание к упорядочению все нарастающей информации, связанной с описаниями микроорганизмов, которые стали возможны благодаря изобретению прибора микроскопа привело к возникновению систематики бактерий. Первые попытки систематизации микроорганизмов было сугубо визуальным, но с появлением знаний о жизнедеятельности микроорганизмов, о их биохимии, физиологии, морфологии добавили огромное количество признаков, которые необходимо было учитывать. Это привело к появлению нумерической систематики бактерий, которая учитывала все имеющиеся признаки, просуществовала почти до конца прошлого века. Следующая эра в упорядочивании многообразия микроорганизмов связано с развитием науки генетики и с появлением возможности расшифровывать генетический материал бактерий. Стало понятно, что накопление мутаций в консервативных генах можно использовать для расчета точки расхождения таксонов. Золотым стандартом было принято считать последовательность гена 16S рибосомальной РНК, которая за счет своей структуры, удобной для амплификации методом ПЦР с дальнейшим секвенированием стала набирать популярность в качестве маркера родства. База данных быстро наполнялась новыми последовательностями, что в свою очередь давало с большей точностью проводить сравнительный анализ новых образцов. Но со временем стало понятно, что филогенетическая систематика, основанная на сравнении консервативных генов, подходит для определения бактерий до уровня рода, и не всегда позволяет определить вид бактерии. На сегодняшний день методические инструменты исследователей позволяют сравнивать между собой не только отдельные гены, а сразу их геномы. Поэтому на смену филогенетической систематике пришла геномная систематика - Average Nucleotide Identity (ANI) — это мера геномного сходства на уровне нуклеотидов между двумя геномами. Достаточно ли будет этой меры, покажет время.

Ключевые слова: бактерия, систематика, филогения, геном бактерии.

MODERN TECHNOLOGIES FOR DETERMINING BACTERIA: FROM CELL CULTIVATION TO GENOMIC ANALYSIS

Baymiev A.Kh., Vladimirova A.A., Akimova E.S., Baymiev Al.K.

Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences,

Key words: bacterium, taxonomy, phylogeny, bacterial genome.

© Баймиев Ан.Х., Владимирова А.А.,
Акимова Е.С., Баймиев Ал.Х., 2026

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СРЕД ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ КУРИНОГО ЭМБРИОНА

Бухмастова А. А., Шпирная И.А.*

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: * i-shia@yandex.ru

Первичные культуры фибробластов куриного эмбриона (КЭФ) востребованы в вирусологии, токсикологии и клеточной биологии. Высокая пролиферативная активность, доступность эмбрионального материала и этическая приемлемость делают их незаменимым инструментом для скрининга цитотоксичности, изучения вирусной репликации и тканевой инженерии. Первые изолированные культуры куриных зародышевых клеток получил А. Фишер в 1921 г., и с тех пор базовые принципы выделения остаются актуальными, требуя тщательной оптимизации на каждом этапе.

Цель работы — подбор условий для оптимизации восстановления криоконсервированных фибробластов куриного эмбриона.

В качестве источника клеток использовали 9–12-суточные эмбрионы кур кросса «Голден Комет» (Golden Comet). Выбор данного возрастного интервала обусловлен завершением основных этапов органогенеза и пиком пролиферативной активности фибробластов при минимальной степени кератинизации и кальцификации тканей.

Оборудование и инструменты: использовали стандартное оснащение лаборатории клеточных культур, хирургические инструменты и культуральную посуду. Все манипуляции проводили в стерильных условиях ламинарного бокса II класса биологической безопасности. Контроль контаминации осуществляли ежедневной световой микроскопией.

Протокол выделения первичной культуры КЭФ включал следующие этапы (табл.).

Таблица

Этапы выделения первичной культуры фибробластов куриного эмбриона

Этап	Операция	Условия и режимы
1. Подготовка	Скрининг и асептика	Отбирали образцы с чётко визуализируемой густой сетью кровеносных сосудов и отсутствием дефектов скорлупы, 70 % этанол, р-р йода, обжиг.
2. Извлечение	Извлечение эмбриона	Вскрытие воздушной камеры, аккуратное извлечение, перенос в PBS
3. Препарирование	Очистка и измельчение	Удаление органов/головы, кожно-мышечный мешок двукратно промывали PBS и измельчали до 1 мм ³
4. Диссоциация	Ферментативная обработка	0,25 % трипсин, 37 °С, 15-25 мин, магнитная мешалка.
5. Сепарация	Фильтрация	Стерильная марля (2-3 слоя), помещение на лёд.
6. Концентрирование	Центрифугирование	400-1000 об/мин, 5-10 мин, удаление супернатанта.

Подсчёт и посев клеток: клеточный осадок ресуспендировали в полной питательной среде (DMEM + 10 % FBS или ABS); подсчёт живых клеток вели с использованием 0.4 % раствора трипанового синего в соотношении 1:1; жизнеспособность на старте превышала 90 %; посевная концентрация составляла 600–800 тыс. клеток/мл. В зависимости от задачи клетки высевали либо во флаконы Т-25 (общий объём среды 5 мл), либо планшеты. Культивирование проводили в CO₂-инкубаторе при 37°C, 5 % CO₂ и влажности 95 %;

Через 12–18 часов инкубации наблюдается прикрепление клеток к субстрату, через 24–48 часов формируется плотный монослой с типичной морфологией фибробластов. Формирование монослоя на 48-й час (плотность 90–100 %) (рис.1.).

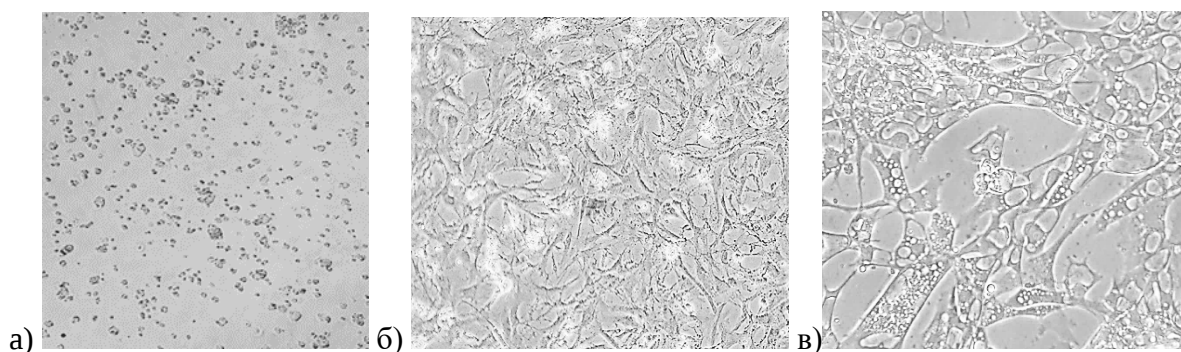


Рис. 1. Морфология свежевыделенных КЭФ непосредственно после посева а) Фаза «круглых» клеток., ув. $\times 200$ б) Монослой КЭФ через 48 часов культивирования., ув. $\times 200$ в) Морфологические изменения КЭФ на 9 пассаже., ув. $\times 500$.

Начиная с 8–9 пассажа, отмечалось замедление пролиферации, появление гигантских многоядерных клеток и гранулярности цитоплазмы — классические признаки репликативного старения.

По достижении конfluenceности 80–100 % клетки снимали раствором трипсина-Версена (1:3), центрифугировали и ресуспендировали в среде для замораживания, содержащей 10 % ДМСО. Замораживание проводили методом программного охлаждения: 24 ч при -80°C , затем переносили на временное хранение при -86°C .

Первичные культуры КЭФ обладают рядом преимуществ: они легко получаются из доступного материала, быстро размножаются и хорошо переносят пассирование до 9-го пассажа без значительной потери жизнеспособности. Вместе с тем необходимо учитывать и ограничения КЭФ — длительное восстановление после криоконсервации зачастую сопровождается снижением жизнеспособности (доля живых клеток может не превышать 50 %), что требует закладки на хранение не менее 3–4 криовиал на каждую экспериментальную серию.

Размораживание и сравнительный анализ протоколов восстановления. Клетки размораживали быстрым погружением в водяную баню (37°C , 1–2 мин), переносили в пробирку с 3 мл тёплой полной среды и центрифугировали для удаления ДМСО.

При оценке восстановления криоконсервированных фибробластов куриного эмбриона на протяжении 9 суток культивирования были испытаны четыре комбинации сред и условий отмывки. Наилучшие результаты — устойчивая пролиферация, здоровая морфология и отсутствие клеточных агрегатов были достигнуты при использовании среды 199 с 20 % FBS в сочетании с промывкой формирующегося монослоя PBS при замене среды культивирования. Среда 199 с 10 % FBS (без промывки) также поддерживала жизнеспособность фибробластов, однако характеризовалась неравномерным распределением клеток, включая неадгезированные клетки. Напротив, культивирование в среде DMEM с 10 % ABS (независимо от наличия отмывки) приводило к прогрессирующей деградации культуры. В группе с переводом клеток со среды DMEM на среду 199 сохранение агрегатов отмечалось, хотя визуальное состояние клеток несколько улучшалось.

Интересно отметить, что при культивировании наблюдались тканеподобные клеточные агрегаты, служившие центрами радиальной миграции фибробластоподобных клеток, которые сохранялись после размораживания в течение всего периода культивирования. Наиболее выраженное агрегатообразование наблюдалось при использовании сыворотки ABS. Из агрегатов отмечалась радиальная миграция фибробластоподобных клеток с последующим формированием монослоя (рис. 2). Сыворотка

ABS содержит иной (в отличие от FBS) профиль белков и может хуже поддерживать диспергированную адгезию.

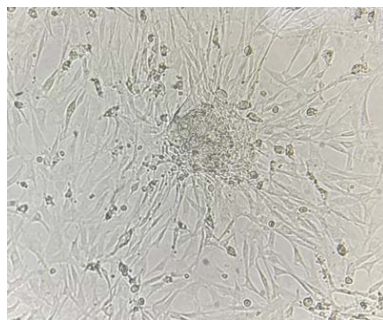


Рис. 2. Монослой КЭФ через 72 часа культивирования с центром радиальной миграции, ув. $\times 200$

В результате проведенной работы разработан стабильный протокол выделения и культивирования первичных фибробластов куриного эмбриона (КЭФ), обеспечивающий получение жизнеспособного клеточного монослоя. В отличие от стандартных протоколов, показана эффективность среды 199 с повышенной концентрацией FBS на этапе восстановления после криоконсервации, также показана эффективность промывки монослоя при смене среды. Данный протокол обеспечивает улучшение адгезии, активную пролиферацию и сохранение типичной фибробластической морфологии размороженных клеток при культивировании.

Ключевые слова: *первичная культура клеток; фибробласты куриного эмбриона; криоконсервация, центр радиальной миграции.*

COMPARATIVE EVALUATION OF CULTURE MEDIA FOR THE RECOVERY OF CRYOPRESERVED CHICKEN EMBRYO FIBROBLASTS

Bukhmastova A.A., Shpirnaya I.A.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: *primary cell culture; chicken embryo fibroblasts; in vitro modeling; cryopreservation; radial migration center.*

© Бухмастова А. А., Шпирная И.А., 2026

2D И 3D КУЛЬТИВИРОВАНИЕ: ОТ ПЛОСКОЙ ЧАШКИ К ОРГАНОИДАМ

Вебер А.В. *, Кузьмина У.Ш., Шарафутдинова Л.А.

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: *angelinaveber@list.ru

Традиционное двумерное (2D) культивирование клеток является базовым инструментом клеточной биологии, но не воспроизводит условий микроокружения *in vivo*. Это приводит к искажению морфологии, полярности и метаболизма клеток, а также к получению ложноположительных результатов при фармакологическом скрининге. В работе систематизированы сведения об ограничениях 2D-культур, о роли внеклеточного матрикса (ВКМ) как ключевого регулятора клеточного гомеостаза, а также о методах получения и визуализации трехмерных (3D) клеточных моделей — сфероидов. Рассмотрены способы формирования сфероидов («висячая капля», применение низкоадгезивных полимеров,

штампов и микролунок), их структурная организация и перспективные области применения — от тестирования противоопухолевых препаратов до тканевой инженерии и персонализированной медицины.

Введение. Культивирование клеток *in vitro* является фундаментальной технологией современной биологии и медицины. Классический подход базируется на использовании монослойных, или адгезивных, культур, формирующих на пластиковой поверхности слой толщиной в одну клетку [1]. Метод отличают простота, высокая воспроизводимость и низкая стоимость, что обеспечило ему широкое распространение. Вместе с тем, двумерное (2D) микроокружение не соответствует условиям нативной ткани, вызывая существенные изменения клеточной пролиферации, дифференцировки, апоптоза и профиля экспрессии генов [1].

Цель данной работы — анализ ограничений 2D-культивирования, роли внеклеточного матрикса в поддержании клеточного гомеостаза, а также методов и перспектив трехмерного (3D) культивирования как физиологически более релевантной альтернативы.

Обзор литературы. Все клеточные культуры по отношению к субстрату подразделяют на монослойные и суспензионные. Монослойные (адгезивные) клетки (фибробласты, эпителиальные и эндотелиальные клетки, остеобласты, гепатоциты, мезенхимные стволовые клетки (далее - МСК)) нуждаются в твердой поверхности для прикрепления; при её отсутствии запускается апоптоз — апоптоз, обусловленный потерей адгезии [1]. В лабораторной практике клетки культивируют на пластике, к которому они прикрепляются посредством интегринов и фибронектина, распластываются и образуют монослой. Суспензионные культуры (лимфоциты, моноциты, гемопоэтические стволовые клетки) не требуют субстрата и свободно распределяются в объеме питательной среды.

Несмотря на удобство, 2D-культуры обладают принципиальными ограничениями. Клетка на пластике подвергается адаптации к неестественным условиям: в организме она окружена другими клетками и внеклеточным матриксом, обладает пространственной организацией и полярностью (разграничением апикальной и базальной мембран), тогда как на плоскости эти свойства утрачиваются [1]. Как следствие, изменяются клеточный цикл, ответ на внешние стимулы и, что критически важно для фармакологии, чувствительность к лекарственным препаратам: клетки в 2D нередко демонстрируют повышенную восприимчивость к цитостатикам, обуславливая ложноположительные результаты скрининга. Важно помнить, что ткань не является механическим скоплением клеток. Значительную долю её объема составляет внеклеточный матрикс (ВКМ; синоним — основное аморфное вещество) — трехмерная сеть макромолекул, секретируемых клетками в межклеточное пространство [1, 2]. ВКМ выполняет не только опорную, но и регуляторную функцию, непрерывно транслируя клеткам механические и биохимические сигналы. В его составе выделяют три основных компонента: (1) коллаген — фибриллярный белок, формирующий устойчивые к разрыву волокна; (2) эластин — белок, способный к обратимой деформации; (3) гликозаминогликаны (ГАГ) и протеогликаны — углевод-белковые комплексы с высоким отрицательным зарядом, осмотически притягивающие воду и образующие гидратированный гель, который обеспечивает тургор тканей и транспорт метаболитов [2].

Ключевое свойство ВКМ заключается в сочетании упругости с дискретностью (наличием пор). Механические параметры матрикса, в первую очередь жесткость, воспринимаются клетками через трансмембранные рецепторы — интегрины, преобразующие механический стимул в биохимический ответ (механотрансдукция) [1]. Изменение жесткости ВКМ, например, при фиброзе, способно переключать дифференцировочную программу клеток и модулировать экспрессию генов.

В стандартной 2D-системе основное аморфное вещество отсутствует, лишая клетки информации о микроокружении, нарушая полярность и целостность тканевой архитектуры, характерной для условий *in vivo* [1]. В условиях стандартного 2D-культивирования на

пластиковых поверхностях основной аморфный компонент межклеточного пространства — ВКМ — отсутствует полностью. Это лишает клетки информации о жесткости микроокружения, нарушает формирование клеточной полярности и целостность тканевой архитектуры, характерной для условий *in vivo* [1]. Нарушение механотрансдукции в 2D-среде наглядно проявляется на примере мезенхимальных стволовых клеток (МСК), способных к остеогенной, хондрогенной и адипогенной дифференцировке. На пластике даже в присутствии индукторов остеогенез протекает неэффективно вследствие отсутствия сигнала жесткости. И напротив, в 3D-гелях с модулем упругости, сопоставимым с костной тканью, МСК самопроизвольно запускают остеогенную программу; в мягких гелях наблюдается адипогенез [1]. Параллельно поляризованные эпителиальные клетки в 2D теряют апикально-базальную полярность, необходимую для векторного транспорта веществ.

3D-культивирование объединяет методы, обеспечивающие рост клеток в объеме с формированием пространственных структур. Переход к 3D-моделям мотивирован их физиологической достоверностью, более высокой прогностической ценностью при тестировании лекарств, возможностью изучения инвазии, миграции и морфогенеза, а также этическим императивом сокращения числа лабораторных животных. Принципиальное наблюдение состоит в том, что лишение адгезивных клеток субстрата запускает межклеточную адгезию, инициируя самоорганизацию.

Сфероид представляет собой плотный клеточный агрегат, самопроизвольно формирующийся в бессубстратных условиях. Клетки в суспензии сталкиваются, связываются посредством Е-кадгеринов, уплотняются (компактизация) и секретируют собственный ВКМ (коллаген, ламинин, фибронектин), завершая образование сфероидов в течение 24–48 ч [1]. Морфогенез сфероидов напоминает компактизацию бластомеров на стадии морулы в эмбриогенезе и формирование микрометастазов в онкогенезе. В растущем сфероиде возникает зональность: внешний слой активно пролиферирует, средний переходит в состояние покоя, а в центре (при диаметре свыше 400–500 мкм) развиваются гипоксия и некроз. Поступление питательных веществ и газообмен осуществляются исключительно диффузионным путем. Аналогичная архитектура свойственна аваскулярным тканям, в частности суставному хрящу, что делает сфероид универсальной моделью [1].

Среди методов получения сфероидов выделяют: (1) метод «висячей капли» — нанесение капель клеточной суспензии на перевернутую крышку чашки Петри, где под действием силы тяжести клетки концентрируются у мениска и агрегируют (метод прост, но трудоемок для массового получения); (2) метод штампов и микролунок — вдавливание силиконового штампа в незастывший агарозный гель с последующим формированием стандартизованных углублений, в которых клетки образуют идентичные по размеру сфероиды (метод обеспечивает высокую воспроизводимость, однако требует специальной оснастки) [1]. 3D-культивирование обладает рядом преимуществ: сохранение морфологии, полярности и функций, свойственных нативной ткани; формирование градиентов кислорода, pH и питательных веществ; реалистичная оценка пенетрации фармакологических агентов; возможность создания ко-культур. Ограничения включают трудоемкость, более высокую стоимость, трудности визуализации внутренней структуры с помощью стандартной микроскопии, сложность количественной оценки клеток, появление некротического ядра в крупных сфероидов и проблему стандартизации размеров [1, 3].

Сфероиды находят применение в качестве универсальной тест-платформы для скрининга противоопухолевых препаратов (с учетом диффузионного барьера), изучения пенетрации лекарственных средств, оценки адаптации к гипоксии, моделирования инвазии и метастазирования, анализа межклеточных взаимодействий в ко-культурах, тестирования радио- и фотодинамической терапии, тканевой инженерии, токсикологических исследований и персонализированного подбора терапии [1].

Методы визуализации. Существует множество способов визуализации 3D клеточных структур. Фазово-контрастная микроскопия обеспечивает экспресс-оценку морфологии и размеров сфероидов. Флуоресцентная микроскопия позволяет

дифференцировать живые и некротизированные клетки, а также идентифицировать отдельные популяции в ко-культурах. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия дает возможность получать серии оптических срезов с последующей 3D-реконструкцией без физического повреждения образца. Сканирующая электронная микроскопия детализирует архитектуру поверхности. Гистологические и иммуногистохимические методы применяют для анализа тонких срезов и картирования белков. Оптическое просветление тканей позволяет сделать сфероид прозрачным для сканирования по всему объему [1-3].

Заключение. Переход от 2D к 3D-культивированию — не усложнение, а необходимость, продиктованная стремлением к достоверности. Плотность ВКМ, полярность, межклеточные контакты и градиенты кислорода формируют поведение клетки. Сфероиды и более сложные 3D-модели возвращают клеткам их естественную среду, повышают прогностическую ценность доклинических тестов и сокращают потребность в животных. Дальнейшее развитие методов визуализации и стандартизации сделает 3D-культуры рутинным инструментом биомедицинских исследований.

Список литературы:

1. Гилязиева З.Е., Пономарев А.С., Китаева К.В., Ризванов А.А., Соловьева В.В. Практикум по культивированию трехмерных культур опухолевых клеток: учебно-методическое пособие. — Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2022. — 35 с.
2. Gilazieva Z., Ponomarev A., Rutland C., Rizvanov A., Solovyeva V. Promising applications of tumor spheroids and organoids for personalized medicine // *Cancers*. — 2020. — Vol. 12 (10). — P. 2727.
3. Mehta G., Hsiao A.Y., Ingram M., Luker G.D., Takayama S. Opportunities and challenges for use of tumor spheroids as models to test drug delivery and efficacy // *J. Control. Release*. — 2012. — Vol. 164 (2). — P. 192–204.

Ключевые слова: 3D-культивирование, сфероиды, 2D-культуры, механотрансдукция, скрининг лекарств.

2D AND 3D CULTIVATION: FROM FLAT DISHES TO ORGANOIDS

Weber A.V., Kuzmina U.Sh., Sharafutdinova L.A.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Man, Ufa, Russia.

Key words: 3D culturing, spheroids, 2D cultures, mechanotransduction, drug screening.

© Вебер А.В., Кузьмина У.Ш., Шарафутдинова Л.А., 2026

СОЗДАНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА PSCA-CAR-NK-КЛЕТОК

Величинский Р.А.*, Стрельцова М.А., Паламарчук А.И., Вавилова Ю.Д., Коваленко Е.И.

ФГБУН ГНЦ Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия.
e-mail: *rodicvelic@gmail.com

В данной статье описан оптимизированный подход к проведению генетической модификации NK-клеток периферической крови человека, с помощью ретровирусной трансдукции, а также описаны характеристики модифицированных NK-клеток. В частности, представлен опыт создания генноинженерных NK-клеток, экспрессирующих химерный

антигенный рецептор (CAR) против антигена стволовых клеток предстательной железы (PSCA) с последующей характеристикой полученных PSCA-CAR-NK-клеток. Результаты ключевых функциональных тестов PSCA-CAR-NK-клеток подтвердили достижение специфической цитотоксической активности против PSCA-экспрессирующих клеток-мишеней. Дополнительно показано, что PSCA-CAR-модифицированные NK-клетки обладают повышенной экспрессией CCR7 и CXCR3, что может быть потенциально полезным свойством готового CAR-продукта в терапии солидных опухолей.

Введение. В настоящее время противоопухолевая терапия с использованием CAR-NK-клеток приобретает значительную популярность и актуальность, растет число как доклинических, так и клинических исследований. Эта тенденция во многом обусловлена меньшим количеством побочных эффектов: снижением риска реакции «трансплантат против хозяина» и развития цитокинового синдрома по сравнению с CAR-T-клеточной терапией [1].

Оптимизация этапов процедуры трансдукции, таких как: подготовка запаса вирусных частиц, добавление различных агентов, способствующих эффективной трансдукции, имеет важное значение для стабильного получения продукта. Кроме того, восприимчивость различных субпопуляций NK-клеток к вирусной трансдукции может варьировать и зависеть от множества факторов [2].

Одним из ключевых факторов, ограничивающих эффективную противоопухолевую активность NK-клеток в отношении солидных новообразований, является влияние микроокружения опухоли [3]. Эффективность миграции NK-клеток в тканях, а также их инфильтрации в опухолевые очаги в значительной степени зависит от стабильной экспрессии определенных рецепторов хемокинов на NK-клетках, в том числе CCR7, CXCR1, CXCR3 и CXCR4 [4].

Цель данной работы - оптимизировать протокол получения и применения ретровирусных частиц, несущих ген PSCA-CAR, для достижения высокой эффективности трансдукции, а также охарактеризовать специфическую функциональную активность и профиль хемокиновых рецепторов полученных PSCA-CAR-NK-клеток.

Материалы и методы исследования. Клеточную линию K562-mbIL21 после γ -облучения (100 Гр) использовали для стимуляции NK-клеток периферической крови. Клеточную линию Phoenix Amphi с конститутивной экспрессией вирусных генов Gag-Pol/Tat/Env/Rev применяли для упаковки ретровирусов. В качестве клеток-мишеней для проверки функциональной активности PSCA-CAR-NK-клеток в работе использовали клеточную линию эритробластной лейкемии K562, а также созданные нами ранее флуоресцентномеченые клетки PSCA-HEK293T-tdTomato и PSCA-A549-tdTomato на основе линий эмбриональных клеток почки HEK293-T и аденокарциномы легкого A549, экспрессирующие на своей поверхности PSCA.

Выделение NK-клеток. Мононуклеары периферической крови выделяли методом градиентной центрифугирования на фиколле с плотностью 1,077 г/мл (ПанЭко). NK-клетки выделяли из фракции мононуклеаров методом отрицательной магнитной сепарации (Miltenyi Biotec). Для активации NK-клетки помещали в 24 или 96-луночные планшеты и культивировали в среде NK MACS (Miltenyi Biotec), дополненной 10 % FCS, 100 Ед./мл ИЛ-2 (Hoffmann La-Roche) и фидерными клетками K562-mbIL21 в соотношении 1:1 в течение 4-5 дней.

Ретровирусная трансдукция. Для получения PSCA-CAR-NK-клеток использовали ретровирусный вектор на основе MESV (GFP-PSCA-CAR) [5]. Протокол трансдукции был предварительно отлажен с использованием вектора ψ MSCV-F-delCasp9.IRES.GFP (Addgene#15567), псевдотипированного плазмидой, несущей ген оболочки RD-114. Трансфекцию проводили в чашках Петри, предварительно обработанных поли-L-лизин (0,5 мг/мл), с использованием кальций-фосфатного набора (ThermoFisher Scientific). Для трансдукции 96-луночные планшеты покрывали ретронектином (Clontech/Takara) на 2–16 ч. В ряде экспериментов использовали спинокуляцию. Эффективность трансдукции оценивали

путем измерения GFP-флуоресценции и экспрессии с-Мус для PSCA-CAR-NK-клеток с помощью проточной цитометрии через 3–5 дней после процедуры трансдукции.

Оценка цитотоксической активности PSCA-CAR-NK-клеток. Для проведения функциональных тестов трансдуцированные NK-клетки предварительно сортировали с помощью FACSVantage DiVa (Becton Dickinson) на фракции GFP[−] и GFP⁺. Цитотоксичность оценивали путём анализа дегрануляции, основанного на измерении экспрессии поверхностного маркера CD107a (LAMP-1) в NK-клетках после контакта с мишенями K562, PSCA-HEK293T-tdTomato и PSCA-A549-tdTomato в соотношении 1:1. Жизнеспособность клеток-мишеней PSCA-HEK293T-tdTomato и PSCA-A549-tdTomato дополнительно оценивали по уровню выхода из атакованных клеток-мишеней кальцеина (Biozol) после инкубации с трансдуцированными NK-клетками.

Результаты исследований и их обсуждение. *Оптимизация ретровирусной трансдукции.* Оптимальные условия для проведения ретровирусной трансдукции подбирались на примере вектора *срMSCV-F-delCasp9.IRES.GFP*. Использование вирусных супернатантов, собранных в разные дни, существенно влияло на долю GFP⁺ NK-клеток, но не влияло на показатель плотности распределения маркера на клетку. Применение вирусных супернатантов, собранных через 96 ч после трансфекции, приводило к наименьшей эффективности трансдукции по сравнению с 24, 48 и 72 ч. Наиболее высокий уровень GFP⁺ NK-клеток был получен при трансдукции вирусными частицами, собранными спустя 48 и 72 ч [6].

На этапе постановки трансдукции было проведено сравнение эффективности метода спинокуляции и метода культивирования клеток в чашках, покрытых раствором ретронектина. Было показано, что в чашках с ретронектином доля GFP⁺ NK-клеток выше, чем при применении метода спинокуляции. Кроме того, мы выяснили, что добавление сульфата протамина при трансдукции NK-клеток с использованием ретронектина увеличивало ее эффективность, в то время как при проведении спинокуляции различий обнаружено не было [6].

При изучении характеристик, влияющих на генную модификацию, была выявлена положительная корреляция между уровнем экспрессии на активированных NK-клетках ASCT2 - лиганда белка вирусной оболочки RD114 и эффективностью трансдукции, при этом отмечено, что процентная доля ASCT2⁺ NK-клеток выше в субпопуляциях CD57⁺ и KIR2DL2/3⁺ как только активированных, так и GFP⁺-модифицированных NK-клетках [6]. Это соотносится с нашими ранее полученными результатами, показавшими, что для субпопуляции CD57[−]KIR2DL2/3⁺ NK-клеток характерна повышенная эффективность трансдукции [7].

Таким образом, на примере вектора *срMSCV-F-delCasp9.IRES.GFP* мы подобрали оптимальные условия для проведения ретровирусной трансдукции и изучили фенотипические характеристики наиболее успешно трансдуцированных NK-клеток. В дальнейшем, базируясь на полученных знаниях, мы успешно получили PSCA-CAR-NK-клетки для изучения их специфической функциональной активности.

Характеристика цитотоксической активности PSCA-CAR-NK-клеток. На первом этапе была проведена сравнительная оценка уровня дегрануляции отсортированных фракций GFP⁺, содержащих PSCA-CAR и GFP[−] NK-клеток. В качестве мишеней для определения неспецифической цитотоксичности была выбрана клеточная линия K562, тогда как PSCA-HEK293T-tdTomato и PSCA-A549-tdTomato использовали для оценки антиген-специфической цитотоксической активности. Было показано, что GFP⁺ NK-клетки обладают повышенным уровнем дегрануляции по сравнению с GFP[−] NK-клетками в ответ на PSCA-HEK293T-tdTomato и PSCA-A549-tdTomato, в то время как против K562 эти группы эффекторов проявляли сходную активность. Таким образом полученные нами PSCA-CAR-NK-клетки проявляли специфическую по отношению к PSCA дегрануляцию. На втором этапе мы определяли цитолитическую активность PSCA-CAR-NK-клеток, измеряя жизнеспособность PSCA-HEK293T-tdTomato и PSCA-A549-tdTomato. Было подтверждено,

что GFP⁺ NK-клетки обладают повышенной функциональной активностью в отношении PSCA⁺ клеток-мишеней. Таким образом, трансдукция NK-клеток с использованием генной конструкции PSCA-CAR приводила к образованию цитотоксически активных PSCA-CAR-NK-клеток, способных специфически распознавать PSCA [8].

Профиль хемокиновых рецепторов PSCA-CAR-NK-клеток. На 5-7 день от постановки трансдукции мы сравнивали уровни экспрессии CCR7, CXCR1, CXCR3 и CXCR4 на поверхности PSCA-CAR-NK-клеток и немодифицированных GFP⁻ NK-клеток. Было выявлено, что GFP⁺ NK-клетки имели значительно более высокий уровень экспрессии CCR7 в субпопуляции CD57⁺ независимо от экспрессии KIR2DL2/3 по сравнению с GFP⁻ NK-клетками. Наряду с этим, было отмечено увеличение экспрессии CXCR3 во фракции GFP⁺CD57⁺ трансдуцированных NK-клеток по сравнению с GFP⁻ клетками. Значимых различий в уровнях экспрессии CXCR1 и CXCR4 между фракциями GFP^{-/+} NK-клеток выявлено не было [8].

Заключение. Успех CAR-NK-клеток в борьбе с опухолями, экспрессирующими целевой антиген, напрямую зависит от их функциональной эффективности. Оптимизация культивирования, включая стимуляцию фидерными клетками и цитокинами, а также отлаживание процедуры ретровирусной трансдукции позволяет получить CAR-NK-клетки с высокой цитотоксической активностью против клеток-мишеней экспрессирующих PSCA. Наблюдаемые различия уровня экспрессии хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR3 могут послужить важной характеристикой как посттрансдукционных изменений в NK-клетках, так и открыть возможность направленного поиска и создания будущих готовых CAR-NK-продуктов с заданными свойствами.

Список литературы:

1. Mansoori, S.; Noei, A.; Maali, A.; Seyed-Motahari, S.S.; Sharifzadeh, Z. Recent Updates on Allogeneic CAR-T Cells in Hematological Malignancies. *Cancer Cell International* 2024, 24, 1–22, doi:10.1186/S12935-024-03479-Y/FIGURES/1.
2. Palamarchuk, A.I.; Alekseeva, N.A.; Streltsova, M.A.; Ustiuzhanina, M.O.; Kobyzeva, P.A.; Kust, S.A.; Grechikhina, M. V.; Boyko, A.A.; Shustova, O.A.; Sapozhnikov, A.M.; et al. Increased Susceptibility of the CD57⁻ NK Cells Expressing KIR2DL2/3 and NKG2C to ICasp9 Gene Retroviral Transduction and the Relationships with Proliferative Potential, Activation Degree, and Death Induction Response. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 13326 2021, 22, 13326, doi:10.3390/IJMS222413326.
3. Velichinskii, R.A.; Streltsova, M.A.; Kust, S.A.; Sapozhnikov, A.M.; Kovalenko, E.I. The Biological Role and Therapeutic Potential of NK Cells in Hematological and Solid Tumors. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, doi:10.3390/IJMS222111385.
4. Ran, G. he; Lin, Y. qing; Tian, L.; Zhang, T.; Yan, D. mei; Yu, J. hua; Deng, Y. cai Natural Killer Cell Homing and Trafficking in Tissues and Tumors: From Biology to Application. *Signal Transduct. Target. Ther.* 2022, 7, doi:10.1038/S41392-022-01058-Z.
5. Kulemzin, S. V.; Chikaev, N.A.; Volkova, O.Y.; Kuznetsova, V. V.; Taranin, A. V.; Gorchakov, A.A. Modular Lentiviral Vector System for Chimeric Antigen Receptor Design Optimization. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2017, 43, 107–114, doi:10.1134/S1068162017020091/METRICS.
6. Streltsova, M.A.; Palamarchuk, A.I.; Vavilova, J.D.; Ustiuzhanina, M.O.; Boyko, A.A.; Velichinskii, R.A.; Alekseeva, N.A.; Grechikhina, M. V.; Shustova, O.A.; Sapozhnikov, A.M.; et al. Methodological Approaches for Increasing the Retroviral Transduction Efficiency of Primary NK Cells. *Curr. Pharm. Des.* 2024, 30, 2947–2958, doi:10.2174/0113816128314633240724060916.
7. Streltsova, M.A.; Boyko, A.A.; Ustiuzhanina, M.O.; Palamarchuk, A.I.; Alekseeva, N.A.; Velichinskii, R.A.; Vavilova, J.D.; Grechikhina, M. V.; Sapozhnikov, A.M.; Deev, S.M.; et al. Subpopulation Heterogeneity of NK Cells during the Genetic Modification for Subsequent Use

in Targeted Therapy. *Dokl. Biochem. Biophys.* 2022, 507, 380–382, doi:10.1134/S1607672922340142/METRICS.

8. Velichinskii, R.A.; Streltsova, M.A.; Vavilova, J.D.; Boyko, A.A.; Belovezhets, T.N.; Grechikhina, M. V.; Kovalenko, E.I. PSCA-CAR-NK Cells Exert Cytotoxic Activity against PSCA-Expressing Tumor Cells and Are Characterized by a Specific Chemokine Profile. *Cytotherapy* 2025, doi:10.1016/j.jcyt.2025.08.001.

Ключевые слова: PSCA-CAR-NK, ретровирусная трансдукция, рецепторы хемокинов.

GENERATION AND CHARACTERIZATION OF PSCA-CAR-NK CELLS

Velichinskii R.A., Streltsova M.A., Palamarchuk A.I., Vavilova J.D., Kovalenko E.I.
Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia.

Key words: PSCA-CAR-NK cells, retroviral transduction, chemokine receptors

© Величинский Р.А., Стрельцова М.А., Паламарчук А.И.,
Вавилова Ю.Д., Коваленко Е.И., 2026

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ КЛЕТОК ИЗ ЛИПОАСПИРАТА И НАНОФЭТА

Ишметова Д.В.*, Шаяхметов Р.И., Ле Т.Ч., Ибатуллин А.А.
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Институт урологии и клинической онкологии, Уфа,
Россия.
e-mail: * Diishmetova@yandex.ru

Актуальность. На долю жировой ткани приходится около 20% массы тела человека, и в настоящее время она рассматривается не только как источник энергии, но и как важный резервуар клеточных популяций с регенеративным потенциалом [1]. Кроме того, жировая ткань отличается своим обилием, простотой доступа и более высоким выходом регенерирующих клеток по сравнению с костным мозгом, что открывает перспективные возможности для регенеративных применений, таких как восстановление тканей и иммуномодуляция [2, 3, 4].

Стволовые клетки жировой ткани (СКЖТ) представляют собой мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки (МСК), которые обладают способностью к самообновлению и дифференцировке в другие клеточные линии. Их используют как новый перспективный подход в регенеративной медицине также за счет способности высвобождать широкий спектр активных биологических молекул [5].

Чистота, плюрипотентность, способность к дифференцировке и экспрессия маркеров стволовости СКЖТ может сильно различаться в зависимости от методов получения и выделения этих клеток. Липоаспират получают из нижней части живота или внутренней поверхности бедра при липосакции [6]. Путем эмульгирования и фильтрации липоаспираата получается нанофэт, который представляет собой жидкий аутологичный препарат однородной консистенции [7]. В литературе описаны два способа получения и выделения стволовых клеток из жировой ткани. Наиболее распространенным лабораторным экспериментальным методом выделения МСК из липоаспираата является использование коллагеназы для разрушения коллагеновых связей в жировой части липоаспираата. Альтернативным методом служит неферментативное механическое разрушение тканей [8].

Цель исследования. Провести сравнительную оценку жизнеспособности и

количества выделенных клеток, полученных из липоасpirата и нанофэта механическим и ферментативным методами выделения.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили образцы липоасpirата из подкожно-жировой клетчатки задней поверхности нижней трети бедра. Перед проведением инвазивных процедур было получено информированное согласие доноров на забор биологического материала, выделение клеток и их использование в экспериментах.

Для выделения клеток из образцов использовали механический и ферментативный способы [9, 10].

Механический способ выделения: образцы липоасpirата и свф центрифугировали в растворе 1×PBS (ПанЭко, Россия) при $2500 \times g$ в течение 4 минут и удаляли масляную плёнку. Полученную массу фильтровали через сито с размером пор 40 мкм. Затем добавляли раствор 1×PBS в соотношении 1:1 и центрифугировали при $2500 \times g$ в течение 4 минут, а надосадочную жидкость сливали. При необходимости процедуру повторяли два раза. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл культуральной среды. Подсчитывали количество клеток.

Ферментативный способ выделения: образцы липоасpirата и свф центрифугировали в растворе 1×PBS при $2500 \times g$ в течение 4 минут и удаляли масляную плёнку. Полученную массу переносили в новые пробирки и обрабатывали раствором коллагеназы I (270 ЕД/мл, ПанЭко, Россия) при перемешивании в шейкере-инкубаторе в течение 1 часа при температуре 37°C. Затем образцы центрифугировали при $2500 \times g$ в течение 4 минут. Удаляли все фазы кроме осадка. Затем добавляли раствор 1×PBS в соотношении 1:1 и центрифугировали при $2500 \times g$ в течение 4 минут, а надосадочную жидкость сливали. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл культуральной среды. Подсчитывали количество клеток. Подсчет клеток проводили по стандартной методике окраской трипановым синим (0,4%, ПанЭко, Россия) на автоматическом счетчике клеток Automated Cell Counter TC20 (BioRad, США).

Результаты. Данные по количеству выделенных клеток из образцов липоасpirата и свф представлены в таблице.

Таблица

Материал	Ферментативный способ			Механический способ		
	Кол-во клеток	Кол-во живых клеток	% живых клеток	Кол-во клеток	Кол-во живых клеток	% живых клеток
липоасpirат	3,72±3,07	0,99±0,87	26,0±6,4	2,06±1,07	0,51±0,17	26,5±3,5
нанофэт	1,34±0,35	0,36±0,35	23,0±3,8	1,33±0,86	0,31±0,11	23,0±4,1

Согласно полученным нами данным ферментативным методом из липоасpirата было выделено $3,72 \pm 3,07 \cdot 10^6$ клеток, из которых доля жизнеспособных составила $26,0 \pm 6,4\%$, тогда как механическим методом количество выделенных клеток составило $2,06 \pm 1,07 \cdot 10^6$ из которых $26,5 \pm 3,5\%$ живых клеток. Для нанофэта применение коллагеназы позволило выделить $1,34 \pm 0,35 \cdot 10^6$ клеток, из которых $23,0 \pm 3,8\%$ жизнеспособных, в то время как механический способ обеспечил получение $1,33 \pm 0,86 \cdot 10^6$ клеток, доля живых клеток составила $23,0 \pm 4,1\%$.

Заключение. Ферментативный метод выделения клеток из жировой ткани демонстрирует статистически значимое преимущество перед механическим по количеству выделенных клеток как для липоасpirата, так и для нанофэта. Также количество и жизнеспособность клеток, выделенных из липоасpirата в 1,5 и 2,7 раз превышает аналогичные параметры у нанофэта при ферментативном и механическом способах выделения клеток соответственно.

Работа выполнена при поддержке Программы стратегического академического лидерства БГМУ «ПРИОРИТЕТ-2030».

Список литературы:

1. Ferroni L, De Francesco F, Pinton P, Gardin C, Zavan B. (2022). Methods to isolate adipose tissue-derived stem cells. *Methods Cell Biol.*, 171:215-28 10.1016/bs.mcb.2022.04.011.
2. Bertheuil N, Chaput B, Ménard C, Varin A, Laloze J, Watier E, Tarte, K. (2019). *Adipose mesenchymal stromal cells: definition, immunomodulatory properties, mechanical isolation and interest for plastic surgery.* *Ann Chir Plast Esthet.*, 64(1):1-10. 10.1016/j.anplas.2018.07.005.
3. Gui, C., Parson, J., Meyer, G. A. (2021). Harnessing adipose stem cell diversity in regenerative medicine. *APL bioengineering*, 5(2). <https://doi.org/10.1063/5.0038101>.
4. Qin, Y., Ge, G., Yang, P., Wang, L., Qiao, Y., Pan, G., et al. (2023). An update on adipose-derived stem cells for regenerative medicine: where challenge meets opportunity. *Advanced Science*, 10(20), 2207334.
5. Papadopoulos, K. S., Piperi, C., Korkolopoulou, P. (2024). Clinical applications of adipose-derived stem cell (ADSC) exosomes in tissue regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5916.
6. Surowiecka, A., Strużyna, J. (2022). Adipose-derived stem cells for facial rejuvenation. *Journal of Personalized Medicine*, 12(1), 117.
7. Jeyaraman, M., Muthu, S., Sharma, S., Ganta, C., Ranjan, R., Jha, S. K. (2021). Nanofat: a therapeutic paradigm in regenerative medicine. *World Journal of Stem Cells*, 13(11), 1733.
8. Yaylacı, S., Kaçaroğlu, D., Hürkal, Ö., Ulaşlı, A. M. (2023). An enzyme-free technique enables the isolation of a large number of adipose-derived stem cells at the bedside. *Scientific Reports*, 13(1), 8005.
9. Долганова, О. М. (2021). Получение мезенхимальных стволовых клеток из жировой ткани. *Инновационная наука*, (11-1), 138-140.
10. Мовчан, К. Н., & Романенков, Н. С. (2016). Методики выделения мезенхимальных стволовых клеток из аутологичной жировой ткани. *Современные проблемы науки и образования*, (2), 157-157.

Ключевые слова: *мезенхимальные стволые клетки; стволовые клетки жировой ткани; липоаспират, нанофэт.*

**COMPARATIVE ANALYSIS OF CELL ISOLATION METHODS
FROM LIPOASPIRATE AND NANOFEET**

Ishmetova D.V.*, Shayakhmetov R.I., Le T.C., Ibatullin A.A.

Bashkir State Medical University, Ministry of Health of Russia, Institute of Urology and Clinical Oncology, Ufa, Russia.

Key words: *mesenchymal stem cells; adipose-derived stem cells; lipoaspirate, nanofet.*

© Ишметова Д.В., Шаяхметов Р.И.,
Ле Т.Ч., Ибатуллин А.А., 2026

МЕТОДОЛОГИЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАНИЙ ЕГЭ РАЗЛИЧНЫХ ЛИНИЙ НА ПРИМЕРЕ ЗАДАЧ ПО КУЛЬТИВИРОВАНИЮ КЛЕТОК И КЛЕТОЧНЫМ ТЕХНОЛОГИЯМ

Кириенко М.В.

Муниципальное автономное образовательное учреждение

"Гимназия № 39 "им. А. Ш. Файзуллина, Уфа, Россия.

e-mail: kirienko_mv52@mail.ru

Задания по культивированию клеток, биотехнологии и клеточным технологиям всё чаще встречаются в ЕГЭ по биологии, особенно в линиях с анализом эксперимента, расчётами, графиками и практико-ориентированными ситуациями. Задания проверяют не только знание терминов, но и умение анализировать биологические процессы, сопоставлять методы и делать выводы по экспериментальным данным.

Темы, связанные с культивированием тканей и методам биотехнологии представлены в заданиях различных линий ЕГЭ по биологии. Линия 7 -задания на выбор нескольких вариантов ответов. Проверяемые элементы заданий этой линии: клетка как биологическая система. Селекция. Биотехнология. Множественный выбор (с рисунком и без рисунка). В этой линии чаще всего представлены задания по методам биотехнологии, клеточной и генной инженерии, культивированию клеток и тканей, клонированию. Задания линии 8 на установление последовательности. Проверяемые требования: умение владеть системой биологических знаний об общих закономерностях, законах и теориях. В заданиях этой линии обычно проверяют умения различать методы биотехнологии, понимать их применение. Основным методологическим аспектом подготовки и решения заданий данных линий является опора на базовые биологические понятия. При решении заданий необходимо уверенно различать клеточную инженерию, генную инженерию, микробиологический синтез, клонирование культуру тканей и органов. Особое внимание уделяется пониманию, что является объектом воздействия: для клеточной инженерии - это клетка, для генной инженерии- это ДНК и гены.

Задания линий 22 - 23 относятся к заданиям повышенного и высокого уровня сложности. Их главное отличие -проверка не только фактов и понимания технологического процесса,а также причинно-следственных связей. Линия 22- это задания, где проверяются умения применять биологические знания в практических ситуациях, анализировать экспериментальные данные (методология эксперимента). Эта линия проверяет понимания этапов клеточных технологий, умения объяснять биологические процессы и устанавливает роль биотехнологических процессов. Линия 23 проверяет: анализ биотехнологической схемы, объяснение последовательность этапов, прогноз результатов изменения условий и применение знаний в новой ситуации. Например, в заданиях по методам культивирования ключевым понятием является выращивание клеток вне организма на искусственной питательной среде при соблюдении определенных условий. Основными условиями культивированияклеток и тканей является: стерильность; оптимальная температура; питательная сред; определенный pH.Объектом культивирования являются тотипотентные клетки. У животных такими клетками является зигота и бластомеры, у растительного организма тотипотентность выражена сильнее,так как многие соматические клетки сохраняют эту способность. Методические подходы к решению этих заданий определяются в умение правильно определить объект исследования, понять цель эксперимента, выявить метод, проанализировать результаты и сделать выводы. Очень часто в заданиях ЕГЭ по данной теме звучат такие формулировки вопроса: «Почему клетки выращивают в стерильных условиях?», «Почему для культивирования используют

питательные среды?», «Как получают безвирусные растения? ». Эксперты ЕГЭ оценивают полноту биологического обоснования, поэтому ответы должны глубокими с использованием биологических терминов и понятий. Алгоритм подготовки к заданиям по данной тематике подразумевает внимательное прочтение условий задания, правильное определение биологических объектов, нахождение ключевых терминов, определение методов и формулирование выводов. Большинство заданий по культивированию клеток и клеточным технологиям решаются по единым принципам. Главная цель подготовки: научиться классифицировать задачу; быстро выделять ключевые параметры; выбирать правильную модель решения; интерпретировать биологический смысл результата.

Ключевые слова: культивирование клеток, клеточные технологии, подготовка к ЕГЭ

A METHODOLOGY FOR SOLVING VARIOUS GRADE USE PROBLEMS USING PROBLEMS ON CELL CULTIVATION AND CELL TECHNOLOGIES

Kiriyenko M.V.

Municipal Autonomous Educational Institution "Gymnasium No. 39" named after A.Sh. Fayzullin, Ufa, Russia.

Key words: cell cultivation, cell technologies, and preparation for the Unified State Exam

© Кириенко М.В., 2026

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ И СОМАТИЧЕСКИЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ РАСТЕНИЙ

Кулуев Б.Р.^{1,2*}, Асянова Э.А.^{1,2}, Якупова А.Б.²

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Уфа, Россия;

² Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.
e-mail: *kuluev@bk.ru

Микроклональное размножение — современный метод вегетативного размножения растений *in vitro*, позволяющий получать генетически идентичные исходному экземпляру растения. В основе метода лежит тотипотентность растительной клетки — способность реализовывать свой потенциал развития с образованием целого организма (Демидчик и др., 2019). Термин «клон» был предложен в 1903 году Уэбстером (от греческого *klon* — черенок или побег, пригодный для размножения растений). Пионером микроклонального размножения считается французский учёный Жан Морель: в 1950-х годах он получил первые регенеранты орхидей с помощью культивирования апикальных меристем *in vitro*. В России работы в этой области велись под руководством Р. Г. Бутенко, были разработаны технологии для картофеля, сахарной свёклы, гвоздики и других культур (Бутенко, 1969). Микроклональное размножение имеет ряд преимуществ перед традиционными способами: получение генетически однородного посадочного материала; освобождение растений от вирусов за счёт использования меристемной культуры; высокий коэффициент размножения; сокращение продолжительности селекционного процесса; возможность размножения растений, трудно поддающихся традиционным методам; проведение работ в течение всего года; автоматизация процесса выращивания (Кулуев и др., 2017). Процесс микроклонального размножения состоит из четырёх последовательных этапов:

1. Выбор растения-донора и получение стерильной культуры. Изолирование эксплантов (частей растения) и создание стерильных условий для их роста. При необходимости в питательную среду добавляют антибиотики (тетрациклин, цефотаксим) для подавления микроорганизмов и антиоксиданты (аскорбиновую кислоту, глутатион) для борьбы с окислением и покоричневением тканей (Баймухаметова, Кулуев, 2020).

2. Микроразмножение. Достижение максимального количества меристематических клонов. Для стимуляции роста используют регуляторы роста — цитокинины (например, 6-бензиламинопурин, кинетин и др.) и ауксины (индолилуксусная, нафтилуксусная кислота и др.)

3. Укоренение и адаптация. Укоренение размноженных побегов и их адаптация к почвенным условиям. Возможно депонирование растений-регенерантов при пониженной температуре (+2 °С...+10 °С).

4. Выращивание в теплице. Подготовка растений к реализации или посадке в поле.

В качестве питательной среды при микроклональном размножении часто используют состав Мурасиге–Скуга, содержащий минеральные соли, витамины и стимуляторы роста. При подборе сочетания регуляторов роста стараются не допускать излишнего каллусообразования, так как при этом увеличивается вероятность соматической изменчивости. Поэтому эталоном микроклонального размножения считается прямая регенерация побегов из эксплантов растений. В качестве эксплантов наиболее часто используются семядольные и настоящие листья, гипокотили, эпикотили, корни, зрелые и незрелые зародыши. Метод широко применяется в сельском хозяйстве и биотехнологии, к примеру, в производстве оздоровлённого посадочного материала, размножении декоративных культур, сохранении редких и исчезающих видов, промышленном выращивании древесных растений.

Соматический эмбриогенез — это процесс формирования эмбриона из соматической клетки растения, то есть клетки, которая в естественных условиях не участвует в размножении. Этот процесс основан на тотипотентности — способности растительной клетки реализовывать свою генетическую информацию и давать начало целому организму (Митрофанова, 2009). Впервые соматические эмбрионы были получены и описаны в 1958 году Ф. Стюардом в суспензионной культуре моркови. Соматический эмбриогенез протекает *in vitro*, обычно на твёрдых или жидких питательных средах. Ключевые этапы:

1. Образование каллуса — недифференцированной массы клеток, полученной из компетентной исходной ткани.

2. Индукция эмбриогенеза — под воздействием регуляторов роста растений (фитогормонов) клетки каллуса начинают формировать эмбрионы.

3. Развитие эмбриона — проходит через морфологические стадии, сходные с зиготическим эмбриогенезом. Выделяют глобулярную стадию, стадии «сердца», «торпеды» и развития семядолей.

4. Прорастание — соматический эмбрион прорастает в полноценное растение на среде с пониженным содержанием гормонов, солей, сахара и витаминов.

Ключевую роль в индукции и развитии соматических эмбрионов играют фитогормоны или синтетические регуляторы роста, в первую очередь, ауксины (например, 2,4-Д), которые в основном стимулируют образование каллуса и инициацию эмбриогенеза, а также цитокинины (например, зеатин), преимущественно способствующие дифференцировке тканей эмбриона. Соотношение и концентрация этих веществ варьируются в зависимости от вида растения и стадии процесса. Соматические эмбрионы имеют ряд особенностей по сравнению с зиготическими (полученными из оплодотворённой яйцеклетки). Они не окружены эндоспермом и семенной оболочкой, часто крупнее и содержат больше клеток, имеют менее гладкую поверхность, содержат меньше запасющих белков. Для индукции соматических эмбрионов могут использоваться различные типы тканей, например, мегагаметофиты, зрелые и незрелые зародыши, семядоли и гипокотили, молодая хвоя, сегменты вегетативных побегов.

Соматический эмбриогенез широко используется в биотехнологии и растениеводстве, а именно при массовом клонировании ценных генотипов, получении искусственных семян – соматических эмбрионов, инкапсулированных в защитный гель, генетической трансформации - введении чужеродных генов в клетки с последующей регенерацией целых растений, сохранении редких и исчезающих видов в условиях *in vitro*, фундаментальных исследованиях механизмов морфогенеза и регуляции развития растений.

Таким образом, микроклональное размножение растений — эффективный и перспективный метод, позволяющий решать важные задачи сельского хозяйства и сохранения биоразнообразия. Благодаря высокой продуктивности и возможности получения безвирусного материала он активно внедряется в промышленное производство во многих странах, включая Россию. Соматический эмбриогенез также является важным инструментом современной биотехнологии растений. Он позволяет эффективно размножать ценные формы, создавать трансгенные и редактированные растения и изучать фундаментальные процессы развития. Несмотря на достигнутые успехи, оптимизация условий культивирования, микроклонального размножения и индукции соматического эмбриогенеза для разных видов растений остаётся актуальной задачей научных исследований.

Список литературы

1. Баймухаметова Э.А., Кулуев Б.Р. Потемнение растительных тканей при культивировании *in vitro* и способы его предотвращения. Биотехнология. 2020. Т. 36. №2. С. 26–42.
2. Бутенко Раиса Георгиевна // Большая советская энциклопедия: [в 30 т.] / гл. ред. А. М. Прохоров. – 3-е изд. – М.: Советская энциклопедия, 1969.
3. Демидчик В.В., Черныш М.А., Дитченко Т.И., Спиридович Е.В., Пржевальская Д.А., Падутов В.Е. Микроклональное размножение растений. Наука и инновации. 2019. № 6 (196). С. 4–11.
4. Кулуев Б.Р., Круглова Н.Н., Зарипова А.А., Фархутдинов Р.Г. Основы биотехнологии растений: учебное пособие / Б.Р. Кулуев [и др.], по ред. Р.Г. Фархутдинова. Уфа: РИЦ БашГУ. 2017. 244 с.
5. Митрофанова И.В. Соматический эмбриогенез как система *in vitro* размножения культурных растений. Физиология и биохимия культурных растений. 2009. Т. 41. № 6. С. 496–508.

Ключевые слова: культура *in vitro*; каллусогенез; органогенез; фитогормоны

MICROPROPAGATION AND SOMATIC EMBRYOGENESIS OF PLANTS

Kuluev B.R.^{1,2}, Asyanova E.A.^{1,2}, Yakupova A.B.²

¹ Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Center of the RAS, Ufa, Russia;

² Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Ключевые слова: *in vitro* culture; callusogenesis; organogenesis; phytohormones

© Кулуев Б.Р., Асянова Э.А., Якупова А.Б., 2026

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДОРОСЛЕЙ В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Махмутов А.Р.

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: almaz_makhmutov@list.ru

Водоросли — это, как правило, водные хлорофиллсодержащие организмы, состоящие из одноклеточных микроскопических форм, а также крупных макроскопических образований, таких как морские водоросли. Биомасса, получаемая из водорослей, является потенциальным источником биологически активных соединений, биотоплива и пищевых продуктов. Большинство биологически активных продуктов, получаемых из водорослей, используются в фармацевтической, пищевой, сельскохозяйственной и энергетической промышленности. Из некоторых видов макро- и микроводорослей были идентифицированы и выделены несколько природных продуктов, таких как полифенолы, стеролы, полиненасыщенные жирные кислоты, белки, сульфатированные полисахариды, алкалоиды, альгиновая кислота и каротиноиды, которые нашли широкое применение в биотехнологии, медицине, питании человека и животных. Несмотря на многочисленные сообщения о биологической активности природных продуктов из водорослей и их применении в качестве функциональных продуктов питания, а также в возобновляемой энергетике, многие виды макро- и микроводорослей еще предстоит изучить. Дальнейшие исследования могут быть сосредоточены на идентификации новых видов и их новых биоактивных продуктов и их применении в пищевой, фармацевтической, сельскохозяйственной и энергетической отраслях.

Водоросли являются одним из самых богатых и перспективных резервуаров природных продуктов. Многие исследования показали, что около 9% биологически активных соединений морских организмов присутствуют в водорослях [2]. Многие виды водорослей процветают в экстремальных условиях окружающей среды и выработали механизмы выживания, которые приводят к выделению уникальных первичных и вторичных метаболитов, отсутствующих в наземных растениях [3]. Кроме того, до 50% лекарственных препаратов, одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) в США, состоят из вторичных метаболитов, полученных из морских организмов, и их синтетических аналогов [4], и около 30% этих метаболитов получают из водорослей. Пропиленгликоль альгинат натрия сульфат — это антиангиокардиальный препарат, производимый из морских водорослей, который клинически используется для лечения заболеваний сердца и головного мозга [4]. Помимо фармацевтического применения водорослей, они обладают большим потенциалом применения в пищевой и косметической промышленности.

Водоросли употребляются в качестве функциональных продуктов питания благодаря их питательной ценности и оздоровительному эффекту, который обусловлен наличием витаминов, минералов, а также биологически активных веществ, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, стеролы, полисахариды, полифенолы и белки.

Исследования потенциального использования водорослей для лечения и/или профилактики дегенеративных заболеваний вызывают большой интерес на протяжении многих лет. Макроводоросли используются в традиционной медицине для лечения ран, кашля, астмы, зоба, геморроя, лихорадки, боли в животе, головной боли и инфекций [6,7]. Кроме того, сообщается, что экстракты и их фракции, полученные из водорослей, обладают рядом биологических активностей, включая противодиабетическую, антигипертензивную, противовоспалительную, трипаноцидную, лейшманиоцидную, антиоксидантную и нейропротекторную активность. Эти свойства объясняются наличием некоторых химических соединений в водорослях. Они обладают противораковой активности различных растворителей. Экстракты зеленых водорослей (*Ulva Lactuca*), красных водорослей (*Digela*

simplex, *Hypnea musciformis* и *Gracilaria caudata*) и бурые водоросли (*Sargassum vulgare*, *Padina Gymnospora* и *Dictyota dichotoma*). Флоротаннины полифенолы, которые обычно встречаются в водорослях, в основном в бурых, состоят из флороглюцинольных единиц. Они используются в качестве активных ингредиентов в нутрицевтиках. Некоторые флоротаннины, такие как диэкол, 7-флороекол, экол и флороглюцинол, проявляют антидиабетическую активность за счет ингибирования α -глюкозидазы и протеинтирозинфосфатазы-1B. Кроме того, флоротаннин, известный как диоксинодегидроэкол, был выделен из *Ecklonia bicyclis*. Это соединение проявляет нейропротекторную активность за счет снижения активности β -секретазы — основного биомаркера, который был связан с болезнью Альцгеймера. Фукоидан, сульфатированный полисахарид. Выделенные из бурых водорослей вещества ингибировали нейротоксичность, вызванную β -амилоидом, в нейрональных клетках и снижали активность каспазы у крыс. Аналогично, окисленная олигосахаридная сахарная цепь (АОС) ингибировала образование фибрилл, индуцированных β -амилоидом, и повышала жизнеспособность первичных кортикальных нейронов. Стероиды [(23E)-3 β -гидроксистигмаста-5,23-диен-28-он и (22E)-3 β -гидроксихолеста-5,22-диен-24-он], бисиндольные алкалоиды (*Racemosa A* и *Racemosa B*) и терпеноиды (α -токоспирон) повышали жизнеспособность клеток SH-SY5Y.

Несколько видов макро- и микроводорослей употребляются в пищу и используются в качестве пищевых ингредиентов и добавок. Микроводоросли продаются в виде капсул, таблеток и жидких продуктов и могут добавляться в макаронные изделия, напитки, закуски и жевательные резинки. Кроме того, микроводоросли были определены как богатые источники витаминов, включая витамины С, Е и А, а также витамины группы В. Каротиноиды, такие как β -каротин, лютеин, астаксантин и фукоксантин, полученные из *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis* и *Sarcina maxima*, способны проявлять антиоксидантную, нейропротекторную, противовоспалительную и противодиабетическую активность [9,14]. Полисахариды, такие как фуканы и фуконоиды, выделенные из бурых водорослей, используются в качестве пищевых добавок благодаря их полезным для здоровья свойствам, таким как антипролиферативное, противовоспалительное, антикоагулянтное и противовирусное действие [9]. Каррагинаны, полученные из *B. gelatinum*, *E. denticulatum* и *K. alvarezii*, используются для образования гелей, в качестве покрытий и стабилизаторов в мясной и молочной промышленности. Пищевое применение к- и ι-каррагинанов можно увидеть в молочных продуктах, джемах и гелях. Известно, что каррагинан обладает антикоагулянтной, иммуномодулирующей, противоопухолевой и анти-ВИЧ активностью. Также было выявлено, что агар, полученный из *Gracilaria crassissima*, *Gracilaria blodgettii* и *Gracilaria cervicornis*, может быть использован в качестве источника агара коммерческого качества.

Таким образом, водоросли являются резервуарами природных продуктов, которые образуются благодаря их адаптивному механизму к суровой среде обитания. Некоторые из этих природных продуктов включают флоротаннины, алкалоиды, стероиды, полиненасыщенные жирные кислоты, каротиноиды, биоактивные пептиды и сульфатированные полисахариды. Эти соединения проявляют ряд биологических активностей, включая противовоспалительную, противодиабетическую, антиоксидантную, противоопухолевую, антигипертензивную и нейропротекторную активность. Мощная биологическая активность этих вторичных метаболитов расширила сферу их исследования.

Список литературы:

1. Tierney MS, Croft AK, Hayes M. A review of antihypertensive and antioxidant activities in macroalgae. *Botanica Marina* 2010; 53:387–408.
2. Rahelivao MP, Gruner M, Andriamanantoanina H, Andriamihaja B, Bauer I, Knölker H. Red Algae (Rhodophyta) from the Coast of Madagascar: Preliminary Bioactivity Studies and Isolation of Natural Products. *Mar Drugs* 2015; 13:4197-4216.

3. Alghazwi M, Kan YQ, Zhang W, Gai WP, Garson MJ, Smid S. Neuroprotective activities of natural products from marine macroalgae during 1999–2015. *J Appl Phycol.* 2016; 28:3599–3616.
4. Rengasamy KR, Kulkarni MG, Stirk WA, Staden JV. Advances in algal drug research with emphasis on enzyme inhibitors. *Biotechnol Adv.* 2014; 32:1364–1381.
5. Holdt SL, Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J Appl Phycol.* 2011; 23:543–597.
6. Hong DD, Hien HT. Nutritional analysis of Vietnamese seaweeds for food and medicine. *Biofactors* 2004; 22:323–325.
7. Torres FA, Passalacqua TG, Velásquez AM, Souza RA, Colepicolo P, Graminha MA. New drugs with antiprotozoal activity from marine algae: a review. *Rev Bras Farmacogn.* 2014; 24:265–276.
8. Guedes EA, da Silva TG, Aguiar JS, de Barros LD, Pinotti LM, Sant’Ana AG. Cytotoxic activity of marine algae against cancerous cells. *Braz J Pharmacognosy* 2013; 23(4):668–673.
9. Suleria HA, Osborne S, Masci P, Gobe G. Marine-Based Nutraceuticals: An Innovative Trend in the Food and Supplement Industries. *Mar Drugs* 2015; 13:6336–6351.
10. Lee S, Jeon Y. Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms. *Fitoterapia* 2013; 86:129–136.
11. Gao Y, Li C, Yin J, Shen J, Wang H, Wu Y, Jin H. Fucooidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, improves cognitive impairment induced by infusion of A β peptide in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2012; 33(2):304–311.
12. Hu J, Geng M, Li J, Xin X, Wang J, Tang M, Zhang J, Zhang X, Ding J. Acidic oligosaccharide sugar chain, a marine-derived acidic oligosaccharide, inhibits the cytotoxicity and aggregation of amyloid beta protein. *J Pharmacol Sci.* 2004; 95:248–255.
13. Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. Commercial Applications of Microalgae. *J Biosci. Bioeng.* 2006; 101:87–96.
14. Olasehinde TA, Olaniran AO, Okoh AI. Therapeutic Potentials of Microalgae in the Treatment of Alzheimer’s Disease. *Molecules* 2017; 22(3):480.

Ключевые слова: *Микроводоросли; макроводоросли; биотехнология; здоровье; натуральные продукты*

POTENTIAL USES OF ALGAE IN THE PHARMACOLOGICAL INDUSTRY

Makhmutov A.R.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: *microalgae; macroalgae; biotechnology; health; natural products*

© Махмутов А.Р., 2026

MSLASPHEROIDSTAMP И 3D ПЕЧАТЬ В КЛЕТОЧНОЙ ЛАБОРАТОРИИ: КОГДА DIY ЭТО ХОРОШО

Минин А.С.^{1,*}, Белоусова А.В.²

¹ Институт Физики Металлов им. Михеева УрО РАН, Екатеринбург, Россия;

² Институт Иммунологии и Физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия.

e-mail: *calamatica@gmail.com

В 21 веке, в биологии и близких к ней науках мы привыкли к тому, что все исследования строятся на коммерческих расходниках и оборудовании: китах, стандартах и оборудовании. Мы прошли долгий путь, от уникальной посуды и реактивов, сваренных в конкретной лаборатории до стандартизированных и воспроизводимых подходов, более-

менее универсальных для всего мира. Мы выбрали стабильность и воспроизводимость потеряв уникальность и кастомизируемость подхода, под конкретную задачу, не говоря уж по финансовым затратах. Но можно ли сохранить то и другое?

Да, и это не так уж сложно. Термин DIY (Do It Yourself) появился, разумеется, существовал всегда, но в академическую науку, особенно в биологию, он вернулся относительно недавно. В статьях эта идея фигурирует последние лет 10–15: сущность заключается в том, что кустарщина перестаёт быть кустарщиной и становится воспроизводимой технологией, когда ты её исчерпывающе документируешь. Ты создаешь уникальную конструкцию штатива или держателя для своего эксперимента, после чего не просто публикуешь статью, но и делаешь доступными чертежи, 3d модели, инструкции по сборке и множество фотографий процесса в различные репозитории (Zenodo, GitHub) и социальные сети. Пусть эту конструкцию не продаёт ни одна коммерческая фирма вроде BioRad или Thermo, однако любой человек с 3d принтером и соответствующими навыками может её изготовить.

Сейчас существует немало таких проектов, от штативов разного размера и формы, доступных на Printables и Thingiverse, до целых экосистем кастомных микроскопов и оптических приборов таких как OpenFlexture или ESpresoscope. Один из таких проектов, нацеленный на клеточных биологов, это набор штампов и молдов для изготовления клеточных сфероидов, названный MSLASpheroidStamp.

Клеточные сфероиды — это трехмерные культуры клеток, которые несколько ближе к естественному биологическому поведению живых объектов, чем классические монослойные культуры. Существует немало способов их изготовления, но один из самых доступных — это метод гелевых микрочеек. В каком-либо геле (часто агарозном) делается множество углублений, в которые помещаются клетки, которые дальше формируют сфероиды. Довольно удобно делать это используя штампы, в данном случае напечатанные на MSLA 3d принтере. Модели, инструкции и протоколы, при этом, доступны на гитхаб страничке проекта (<https://github.com/arteys/MSLASpheroidStamp>), в том числе в STEP формате, позволяющем модифицировать объекты под свои уникальные задачи. Полученные сфероиды далее можно использовать для оценки цито и фототоксичности различных веществ, для экспериментов по изучению морфологии или динамике опухолевого роста.

Со времен выхода оригинальной статьи, посвященной изготовлению таких штампов, множество людей в разных странах так или иначе опробовали их и внедрили в свои собственные лабораторные протоколы, используя как штампы, изготовленные автором проекта, так и изготовленные другими людьми, в том числе и с разными модификациями. Соответственно DIY подход сработал, и методика оказалась достаточно воспроизводимой, чтобы использоваться в биологических исследованиях.

Ключевые слова: *DIY, культуры клеток, сфероиды*

MSLASPHEROIDSTAMP AND 3D PRINTING IN THE CELL LAB: WHEN DIY IS A GOOD THING

Minin A.S.¹, Belousova A.V.²

¹ Mikheev Institute of Metal Physics, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia;

² Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia.

Keywords: *DIY, cell cultures, spheroids*

© Минин А.С., Белоусова А.В., 2026

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ТРАНСФЕКЦИИ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК КУРИНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

Михайлова Е.В.^{1*}, Поздеев Д.Н.¹, Прокофьева Д.С.², Хузина А.Х.², Аминова Э.Т.²

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия;

² Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: * mikhele@list.ru

В современном птицеводстве приоритетными направлениями являются повышение продуктивности и стрессоустойчивости кур. Реализация многих полезных признаков контролируется сложными регуляторными сетями, что создает необходимость в функциональной валидации кандидатных генов и регуляторных элементов. Для изучения активности промоторов и регуляторных последовательностей используется люциферазный репортерный анализ. Оптимальные условия трансфекции люциферазными векторами необходимо подбирать в зависимости от используемых реагентов и клеточных культур.

Последовательность исследуемого промотора была проклонирована в вектор pNL1.1 перед геном люциферазы Nanoluc. Для котрансфекции культуры клеток куриных фибробластов DF-1 использовался полученный вектор, а также вектор pGL4.54, содержащий ген люциферазы светлячка под контролем промотора ТК, в качестве внутреннего контроля. Для оптимизации методики использовали реагенты Gen39, GenU и Gen40 из серии GenJect (Molecta, Россия) в количестве 1, 2 и 3 мкл на 50 мкл буфера. Культивирование клеток проводили в средах DMEM и OptiMEM. Оценку жизнеспособности клеток и люциферазный анализ проводили через 24 часа после трансфекции.

Наилучшие результаты по люциферазной активности и выживаемости клеток были получены с 2 мкл реагента Gen40 в среде DMEM. Клетки сохраняли характерную для фибробластов вытянутую веретеновидную и звездчатую форму с длинными цитоплазматическими отростками, однако часть клеток имела округлую форму, наблюдались отдельные клеточные фрагменты и детрит, что может быть связано с воздействием реагента. Степень конфлюэнтности составляла 50–60 % по сравнению с 60–70 % у контроля, не подвергавшегося трансфекции. Наименее подходящим был реагент Gen39. В среде OptiMEM клетки характеризовались неправильной морфологией, а люциферазная активность отсутствовала. Полученные результаты создают основу для дальнейших исследований в области функциональной геномики и селекции кур.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Минобрнауки Российской Федерации), Соглашение № 075-15-2025-484 от 29 мая 2025 г.

Ключевые слова: *Gallus gallus*; трансфекция; люцифераза; промотор

OPTIMIZATION OF TRANSFECTION CONDITIONS FOR CHICKEN FIBROBLAST CELL CULTURE

Mikhaylova E.V.¹, Pozdeev D.N.¹, Prokofyeva D.S.², Khuzina A.Kh.², Aminova E.T.²

¹ Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Ufa, Russia;

² Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: *Gallus gallus*; transfection; luciferase; promoter

© Михайлова Е.В., Поздеев Д.Н., Прокофьева Д.С.,
Хузина А.Х., Аминова Э.Т., 2026

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ В ОЦЕНКЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МАТЕРИАЛОВ

Парфенова Л.В.^{1*}, Парфенов Е.В.²

¹ Институт нефтехимии и катализа УФИЦ РАН, Уфа, Россия;

² Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия.

e-mail: * luda_parfenova@mail.ru

В современной травматологии и ортопедии металлы и их сплавы остаются наиболее востребованными конструкционными материалами. Однако центральной клинической проблемой является необходимость ревизионных операций, связанных с отторжением или несостоятельностью долгосрочных имплантатов в течение первого года после установки. Причиной данного осложнения как правило является реакция организма на инородное тело (foreign body response). В этой связи актуальной остается разработка инновационных биосовместимых материалов и функциональных покрытий для долгосрочных имплантатов, среди свойств которых ключевое значение имеет биосовместимость.

Остеоинтеграция представляет собой многостадийный динамический процесс, опосредованный каскадом молекулярно-клеточных событий, включающих сложный молекулярный диалог между поверхностью имплантата и тканями организма. Международная практика обеспечения биосовместимости и антимикробных свойств имплантатов базируется на стратегиях модификации архитектуры и химического состава поверхностного слоя для достижения биомиметического соответствия минеральной фазе костной ткани и структуре клеточных мембран. К физико-химическим методам формирования неорганических биосовместимых покрытий относятся: химическая обработка, электрофоретическое осаждение, плазменное напыление, химическое осаждение из паровой фазы (CVD), обработка кислородной плазмой, анодное окисление, ионная имплантация, литография, плазменное электролитическое окисление (ПЭО) и т.д. Указанные методы позволяют модифицировать топографию поверхности, химический состав и функциональность посредством формирования оксидных и гидроксидных слоев, введения фосфатов кальция, углерода, металлических и керамических наночастиц. Среди различных технологий модификации поверхности плазменное электролитическое окисление (ПЭО, также известное как микродуговое окисление - МДО) представляется наиболее перспективным благодаря возможности формирования пористых, коррозионностойких и биоактивных покрытий с регулируемой пористостью (0,1-10 мкм) и толщиной (5-100 мкм), содержащих кристаллические фазы гидроксиапатита и трикальцийфосфата. Развитая пористая сеть с фрактальной структурой обеспечивает градиентный переход модуля упругости от металлического имплантата к окружающей костной ткани, повышая биомеханическую совместимость. Альтернативным подходом является применение органической матрицы, содержащей функциональные фрагменты для регулирования биологических свойств поверхности, включая необрастающие покрытия на основе полисахаридов, самоорганизующихся монослоев, полиэтиленгликолей и полиакрилатов для предотвращения неспецифической адсорбции белков, а также биологически активные молекулы (белки, пептиды, факторы роста) для специфического взаимодействия с рецепторами клеточной поверхности.

Разработка гибридных органо-неорганических покрытий на основе ПЭО в комбинации с биосовместимыми полимерами и биоактивными молекулами представляет перспективную стратегию повышения биосовместимости долгосрочных металлических имплантатов. Развитая пористая морфология ПЭО-покрытия обеспечивает оптимальную среду для клеточной адгезии; при этом критическим аспектом нанесения органического слоя является сохранение топографии поверхности. Органический полимерный компонент позволяет не только улучшить коррозионную стойкость, но и реализовывать функцию контролируемой доставки фармакологических агентов, что определяет перспективность

стратегии ПЭО-полимерных композитов. Результаты биологического тестирования демонстрируют, что рационально спроектированные покрытия обеспечивают высокую жизнеспособность клеток, стимулируют остеогенную дифференциацию, проявляют антибактериальные свойства и способствуют формированию новой костной ткани как *in vitro*, так и *in vivo*.

Оценка биосовместимости имплантационных материалов регламентируется международными стандартами и основывается на комплексном применении методов *in vitro* и *in vivo*. Цитотоксичность оценивается согласно ISO 10993-5 с использованием экстракционных тестов, методов прямого и непрямого контакта на культурах остеобластоподобных клеток (MC3T3-E1, G292), фибробластов (L929), премиобластов (C2C12-GFP) и мезенхимальных стволовых клеток; количественная оценка жизнеспособности проводится МТТ-анализом с определением относительного коэффициента роста (RGR). Адгезия и пролиферация клеток оцениваются морфологическим анализом формирования филоподий, ламеллоподий и конфлюэнтного клеточного монослоя на модифицированных поверхностях. Остеогенная дифференциация характеризуется определением активности щелочной фосфатазы (ALP) как маркера остеобластической дифференциации и экспрессии остеогенных генов (Runx2, остеокальцин, остеопонтин). Гемосовместимость верифицируется тестом гемолиза согласно ISO 10993-4, где коэффициент гемолиза менее 5% классифицируется как безопасный уровень. Антибактериальная активность тестируется *in vitro* против штаммов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* и т.д.

Критические проблемы валидации биосовместимости долгосрочных имплантатов включают: (1) противоречие между обеспечением адгезии клеток и сохранением антибактериальных свойств; (2) проблему адгезии и стабильности покрытий на границе раздела покрытие/металлический субстрат при длительной эксплуатации в физиологических условиях; (3) ограниченную корреляцию между результатами *in vitro* тестов и клиническими исходами *in vivo*, обусловленную упрощенными моделями, не учитывающими комплексность физиологической среды, остеоиммунологические взаимодействия и биомеханические факторы; (4) необходимость долгосрочной оценки цитосовместимости и иммунного ответа, поскольку процесс остеоинтеграции продолжается минимум год. Дальнейшее развитие методологии оценки биосовместимости требует создания более адекватных экспериментальных моделей, интегрирующих молекулярно-биологические, остеоиммунологические и биомеханические аспекты процесса остеоинтеграции долгосрочных имплантатов.

Ключевые слова: имплантаты, плазменное электролитическое окисление, органическое покрытие, биосовместимость, антимикробная активность

MOLECULAR BIOLOGY IN THE ASSESSMENT OF BIOCOMPATIBILITY OF MATERIALS

Parfenova L.V.¹, Parfenov E.V.²

¹ Institute of Petrochemistry and Catalysis, Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia;

² Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia.

Key words: implants, plasma electrolytic oxidation, organic coating, biocompatibility, antimicrobial activity.

© Парфенова Л.В., Парфенов Е.В., 2026

ПРОБИОТИКИ В КОНТЕКСТЕ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Равенская В.Д.^{1*}, Михайлова Д.С.¹, Муллазянова А.Э.¹, Гарипова М.И.^{1,2}

¹ Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия;

² ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа, Россия.

e-mail: * from.nb.vik.story@mail.ru

На сегодняшний день «клеточные технологии» представляют собой существенно более сложную науку нежели, чем изучение морфологических, биохимических и функциональных особенностей отдельных клеток. Теперь данное направление исследует клетки в системе и ищет возможности их обоснованного применения в медицинских и производственных целях [1]. Интерес здесь вызывает биотехнологический подход, обращающий внимание на один из самых интересных объектов для изучения – клетки микроорганизмов.

Один из подходов основан на применении пробиотиков – живых непатогенных клеток микроорганизмов, изучении их влияния на организм хозяина, подбор оптимального состава, не угнетающего жизнедеятельность местной микробиоты и других видов, содержащихся в пробиотическом препарате. Кроме того, в рамках данного направления, рассматривается каким образом полезные свойства определённых микробных штаммов могут регулироваться другими компонентами пробиотика или микроокружением через ряд каскадных реакций [11]. Принципиальная особенность данного подхода заключается в том, что клетки изучаются внутри живой системы, с которой они активно и непрерывно взаимодействуют.

Затрагивая тему пробиотиков, следует начать с рассмотрения эффектов, которые они оказывают на организм. Логично предположить, что один из них связан непосредственно с влиянием на желудочно-кишечный тракт. Ряд исследований подтверждает уменьшение длительности и степени выраженности заболеваний ЖКТ, включая острую и хроническую диарею, язвенный колит и синдром раздражённого кишечника [7, 11]. Положительный эффект обуславливается рядом факторов, включая регуляторное воздействие на кислотно-щелочной баланс, усиление барьерной функции кишечника, угнетение патогенной микрофлоры путём конкурентной адгезии или выделения бактериостатических веществ, стимуляцией пролиферацией энтероцитов, воздействием на энтеральную нервную систему, изменением иммунного ответа организма, а также непосредственно микробными метаболитами [6, 7].

Кроме того, доказано, что пробиотики оказывают значительное воздействие и на другие системы организма, например, усиливают фагоцитоз и повышают выработку антител и противовоспалительных цитокинов в организме при иммунном стрессе, а также усиливать ответную реакцию организма на вакцины [6]. Одно из исследований на эту тему посвящено влиянию микробиома на формирование адекватного иммунного ответа при борьбе с инфекцией SARS-CoV-2. Так, было показано, что применение пробиотиков может частично обратить вспять дисбактериоз и повысить эффективность лечения, обусловленную увеличением вирус-специфических антител и снижением инфильтрации в лёгких [10].

Ряд других эффектов обусловлен воздействием метаболитов, вырабатываемых пробиотическими штаммами микроорганизмов, на нервную систему, а именно на так называемую ось «кишечник-мозг». Основными регуляторными компонентами выступают короткоцепочечные жирные кислоты, которые опосредуют высвобождение ряда сигнальных молекул ЦНС. Эти открытия находят отклик и в клинической практике, так, например, было показано, что применение пробиотиков снижало степень выраженности симптомов депрессивного состояния, кроме того, похожий эффект наблюдался и при рационе питания, обогащённом молочными продуктами – у испытуемых повышалось разнообразие кишечного микробиома и наблюдалась нормализация и улучшение психологического состояния [12].

Производство любого пробиотика невозможно без изучения микробных клеток, входящих в состав препарата, так называемых методов «клеточных технологий».

В основе первого этапа разработки любого пробиотического препарата лежит скрининг штаммов микроорганизмов, обладающих необходимой метаболической активностью. На данный момент существуют база данных, содержащая сведения о видах бактерий, способных подавлять рост патогенных микроорганизмов в культуре. Одним из наиболее простых и наглядных способов обнаружения антагонистической активности против патогенов является чашечный метод, заключающийся в фиксации способности пробиотических штаммов подавлять рост нежелательной микрофлоры на агаровой среде [3].

Кроме того, необходимо оценить жизнеспособность и культивируемость отобранных штаммов, наличие данных свойств является ключевым условием использования микробных агентов в глобальном промышленном производстве. Для этих целей могут быть использованы такие методы, как окрашивание и определение целостности мембран, определение активности ферментов, постановка ПЦР [2]. Другими критериями соответствия являются безопасность, устойчивость и способность прикрепляться к слизистым оболочкам. Адгезивные способности пробиотических штаммов позволяют избежать заселения потенциального патогена на эпителиальные клетки кишечника и способствуют колонизации благоприятными микробными агентами при кратковременном приёме пробиотиков [6].

Ещё одним основополагающим фактором является безопасность используемых в составе препарата микроорганизмов, точность идентификация должна достигать уровня вида и штамма, наиболее точный результат достигается довольно стандартным методом – секвенированием клеточного генома [4].

Тестовые модели для оценки безопасности, функциональности и применимости микробных агентов, входящих в состав пробиотика могут быть разнообразны и включают подходы *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*. В качестве методов *in vitro* могут применяться такие приёмы, как добавление в культуру микроорганизмов солей желчных кислот, желудочных секретов, изучение микробных метаболитов, выделяемых в культуральную жидкость с последующей оценкой их бактерицидного воздействия или терапевтической эффективности, а также исследование штаммов в культуре тканей для оценки их адгезивной способности и времени выведения из организма хозяина [2]. В подходах *in vivo* в первую очередь проверка осуществляется с использованием лабораторных животных, затем с привлечением испытуемых-добровольцев для оценки состояния испытуемых и анализа различия между здоровыми и больными людьми для выявления маркёров, способных оказать влияния на терапевтическую эффективность и физиологическую активность бактериальных клеток.

Интерес вызывают и подходы *ex vivo*, данные методы позволяют тестировать пробиотики на моделях органокультур, поскольку исследования на однослойной клеточной культуре не могут дать полной характеристике об их системном поведении в организме [9].

Кроме того, на данный момент существует ряд прогностических биоинформатических моделей, а также моделей на основе искусственного интеллекта.

Стоит заметить, что последние достижения в области биотехнологии и генетической инженерии открыли ряд новых возможностей для разработки новых терапевтических решений и новых подходов в клинической практике. Методы генетической инженерии позволяют «реконструировать» бактериальный геном таким образом, чтобы клетки вырабатывали особые метаболиты, обладающие терапевтическими свойствами непосредственно в слизистые оболочки [7].

Преимуществом модифицированных пробиотиков является интеллектуальный контроль биосинтеза метаболитов в ответ на химические сигналы, поступающие в организм из вне, а также от внутреннего микроокружения. Это позволяет использовать пробиотики в качестве основы для создания биоматериалов нового поколения, разрабатывать таргетные терапевтические средства. Новые стратегии позволяют «перепрограммировать» пробиотики и «научить» микроорганизмы распознавать заданные биохимические сигналы – биомаркеры заболеваний, кроме того, выработка микробных метаболитов в заданном отделе организма и в регулируемых количествах позволяет избежать потерь нецелевого синтеза и свести к минимуму эффекты избыточной выработки микробных метаболитов [5, 8].

Одна из перспективных областей исследования – создание модифицированных штаммов, способных к целенаправленному воздействию на опухолевые клетки, что позволяет точно доставлять терапевтические белки, экспрессируемые на постоянной основе, а также избегать системной токсичности их воздействия на организм [5].

В заключение следует упомянуть о персонализированном подходе к проблематике пробиотических препаратов. Он связан с учётом ряда заболеваний, климата, территории проживания и рациона питания при назначении и выборе определённого пробиотика. Существует и другой возможный вариант: он заключается в первоначальном изучении микробного разнообразия и потенциала микробиома индивидуального человека, а затем создании консорциума микроорганизмов, позволяющих восстановить дисбаланс или обеспечить действие микробных штаммов, экзогенно поступающих в организм, в конкретных условиях, с учётом всех индивидуальных особенностей человека [8].

Список литературы:

1. Манюкова Ю.В., и др. Клеточные технологии – главный тренд современной биологии. // Юный ученый. – 2026. – Т. 99. № 3. – С. 97-102.
2. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. // The American Journal of Clinical Nutrition. – 2001. – Vol. 73. № 2. – P. 399-405.
3. Reid G., et al. Selecting, testing and understanding probiotic microorganisms. // FEMS Immunology & Medical Microbiology. – 2006. – Vol. 46. № 2. – P. 149-157.
4. Rodriguez J.M. Probióticos: del laboratorio al consumidor. // Nutricion hospitalaria. – 2015. – № 31. – P. 33-47.
5. Rottinghaus A.G., et al. Biosensing in smart engineered probiotics. // Biotechnology Journal. – 2020. – Vol. 15. № 10. – 23 p.
6. Sanders M.E., et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. // Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. – 2019. – Vol. 16. № 10. – P. 605-616.
7. Simon E., et al. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: implications and beneficial effects against irritable bowel syndrome. // Nutrients. – 2021. – Vol. 13. № 6. – 27 p.
8. Singh T.P., et al. Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine. // Critical reviews in microbiology. – 2021. – Vol. 47. № 4. – P. 479-498.
9. Tsilingiri K., et al. Should probiotics be tested on ex vivo organ culture models? // Gut microbes. – 2012. – Vol. 3. № 5. – P. 442-448.
10. Wang M., et al. The relationship between gut microbiota and COVID-19 progression: new insights into immunopathogenesis and treatment. // Frontiers in immunology. – 2023. – № 14. – 19 p.
11. Williams N.T. Probiotics. // American Journal of Health-System Pharmacy. – 2010. – Vol. 67. № 6. – P. 449-458.
12. Zagorska A., et al. From probiotics to psychobiotics – the gut-brain axis in psychiatric disorders. // Beneficial Microbes. – 2020. – Vol. 11. № 8. – P. 717-732.

Ключевые слова: пробиотики; микробиом; микрофлора кишечника; клеточные технологии; биотехнология

PROBIOTICS IN THE CONTEXT OF CELL TECHNOLOGY

Ravenskaya V.D.¹, Mikhailova D.S.¹, Mullazyanova A.E.¹, Garipova M.I.^{1,2}

¹ Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia;

² Bashkir State Medical University, Ufa, Russia.

Key words: probiotics; microbiome; intestinal microflora; cellular technologies; biotechnology.

© Равенская В.Д., Михайлова Д.С., Муллазянова А.Э., Гарипова М.И., 2026

КУРС ПРИЕМА ПРОБИОТИКОВ ПОЗВОЛЯЕТ ПОВЫСИТЬ КОНЦЕНТРАЦИЮ ТРИПТОФАНА В СЛЮНЕ ЧЕЛОВЕКА

Равенская В.Д., Михайлова Д. С., Гарипова М.И.*

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: * margaritag@list.ru

Биологическое значение триптофана колоссально. Триптофан и его производные принимают участие в регуляции многих физиологически важных процессов, в том числе процессов регуляции сна, суточных ритмов и настроения, адаптации к формирующимся в окружающей среде изменениям [1,2]. Дефицит триптофана приводит к множеству метаболических нарушений [3,4,5]. В связи с этим, актуален поиск методов нормализации уровня триптофана в организме человека. Известно, что значительное количество триптофана в организме человека синтезируется микробиомом [6,7]. В связи с этим, правомерно предположение о том, что применение пробиотиков может быть использовано для устранения дефицита триптофана. Цель данного исследования - экспериментально проверить предположение о возможности увеличения уровня триптофана в организме человека в результате приема пробиотиков и разработать методику определения изменения концентрации триптофана в пробах слюны, пригодную для проведения массовых обследований.

Для оценки интенсивности синтеза триптофана микроорганизмами, входящими в состав популярных пробиотиков, проведено сравнение концентрации этой аминокислоты в культуральной жидкости микроорганизмов, присутствующих в однократной дозе каждого из четырех популярных пробиотиков: Бак-Сет Форте, Аципол, Энтерол и Бифидумбактерин. Культивирование проводили в 5% глюкозе в течение 2 суток при 37⁰ С. Результат сравнения концентраций триптофана в культуральной жидкости исследуемых микробных культур представлен в таблице 1. Как следует из данных, приведенных в таблице, максимальная концентрация триптофана достигается при культивировании *Bifidobacterium bifidum*, являющихся основой препарата Бифидумбактерин и *Saccharomyces boulardii*, входящих в состав Энтерола. В связи с полученными данными, для исследования возможности увеличения резерва триптофана в организме человека, были использованы пробиотики Бифидумбактерин и Энтерол.

Таблица 1.

Средние концентрации триптофана в культуральной жидкости
пробиотиков при плотности культур 10⁹ клеток/ мл

Пробиотик	Концентрация триптофана в мкМ/л
Бифидумбактерин	20,8±0,76
Бак-Сет Форте	13,92±0,57
Аципол	11,31±0,46
Энтерол	18,74±0,74

В ходе эксперимента две группы по 30 добровольцев 20-25 лет в течение месяца принимали Бифидумбактерин Энтерол в соответствии с инструкциями к препаратам (два раза в день), третья группа добровольцев принимала плацебо по той же схеме. За сутки до начала эксперимента и после завершения месячного курса пробиотиков у добровольцев утром натощак были взяты пробы слюны и заморожены при -70°C для последующего определения в них концентрации триптофана.

Уровень триптофана в пробах слюны оценивали по интенсивности спонтанной люминесценции в условных единицах. Применение в качестве объекта исследования слюны имеет ряд преимуществ, прежде всего, связанных с неинвазивностью взятия проб [8]. В сочетании с простотой измерения спонтанной люминесценции, не требующей дополнительных реактивов, использование слюны в качестве пробы делает предложенный метод пригодным для проведения массовых скрининговых исследований уровня триптофана в организме человека. Предложенный метод использован для проверки предположения о возможности коррекции дефицита триптофана в результате приема пробиотиков.

Как следует из данных таблицы 2, в результате курса приема пробиотиков Бифидумбактерин и Энтерол, в группе добровольцев, принимавших Бифидумбактерин, уровень спонтанной люминесценции возрос с $1,491 \pm 0,057$ до $1,783 \pm 0,081$ условных единиц ($t=4,83^*$; $p=0,002$), в группе, принимавшей Энтерол, – с $1,537 \pm 0,057$ до $1,816 \pm 0,081$ условных единиц ($t=3,69^*$; $p=0,02$). В контрольной группе добровольцев, принимавших плацебо, значимого изменения величины показателя спонтанной люминесценции не выявлено.

Таблица 2.

Средние уровни спонтанной люминесценции в группах добровольцев до и после курсов пробиотиков в сравнении с контрольной группой

Средняя интенсивность люминесценции					
группа 1		группа 2		группа 3	
до	после	до	после	до	после
$1,491 \pm 0,057$	$1,783 \pm 0,081$	$1,537 \pm 0,057$	$1,816 \pm 0,081$	$1,575 \pm 0,049$	$1,516 \pm 0,071$
$t=4,83^*$; $p=0,002$		$t=3,69^*$; $p=0,026$		$t=1,45^*$; $p=0,746$	

Группа 1- группа добровольцев, принимавших Бифидумбактерин; Группа 2- группа добровольцев, принимавших Энтерол; Группа 3 - группа добровольцев, принимавших плацебо; * – результат сравнения интенсивности люминесценции до и после эксперимента с применением критерия Стьюдента.

Таким образом, для достижения цели исследования- экспериментальной проверки возможности увеличения резерва триптофана в организме человека в результате приема пробиотиков, проведен эксперимент с участием 90 добровольцев 20-25 лет с равным соотношением юношей и девушек. Две группы, состоящие из 30 добровольцев, в течение месяца принимали пробиотики с доказанным экспериментально высоким уровнем синтеза триптофана: в культуральной жидкости двухсуточных культур *Bifidobacterium bifidum*, активного компонента Бифидумбактерина, и *Saccharomyces boulardii* – действующего начала Энтерола, определено, соответственно $20,8 \pm 0,76$ мкМ/л и $18,74 \pm 0,74$ мкМ/л триптофана. Третья группа, состоящая также из 30 добровольцев, принимала плацебо. При использовании метода измерения спонтанной люминесценции проб слюны обследуемых, показано, что этот показатель достоверно увеличился в экспериментальных группах через месяц приема

пробиотика. В группе добровольцев, принимавших Бифидумбактерин, показатель возрос с $1,491 \pm 0,057$ до $1,783 \pm 0,081$ условных единиц ($t=4,83^*$; $p=0,002$), в группе, принимавшей Энтерол, – с $1,537 \pm 0,057$ до $1,816 \pm 0,081$ условных единиц ($t=3,69^*$; $p=0,02$). В контрольной группе добровольцев, принимавших плацебо, значимого изменения величины показателя спонтанной люминесценции не выявлено. Полученные данные позволяют заключить, что уровень триптофана в организме человека может быть повышен в результате приема пробиотика, активно синтезирующего эту аминокислоту, что свидетельствует о перспективности применения пробиотиков для увеличения резерва триптофана в организме человека.

Список литературы:

1. Cervenka I, Agudelo LZ, Ruas JL. Kynurenines: Tryptophan s metabolites in exercise, inflammation, and mental health. //Science. 2017 Jul 2 Vol 357, Issue 6349; p:eaf9794. DOI: 10.1126/science.aaf9794.
2. Гецина М.Л., Черневская Е.А., Белобородова Н.В. Роль общих для человека и микробиоты метаболитов триптофана при тяжелых заболеваниях и критических состояниях. // *Клиническая практика*. 2020;11(1):92–102. doi: <https://doi.org/10.17816/clinpract19068>.
3. Davidson M, Rashidi N, Nurgali K, Apostolopoulos V. The Role of Tryptophan Metabolites in Neuropsychiatric Disorders // Int J Mol Sci. 2022 Sep 1;23(17):9968. doi: .3390/ijms23179968.
4. Michaudel C. et al. Rewiring the altered tryptophan metabolism as a novel therapeutic strategy in inflammatory bowel diseases // Gut. 2022. Vol. 72. No. 7. p. gutjnl-2022-327337.
5. Xue C., Li G., Zheng Q., et al. Tryptophan metabolism in health and disease // Cell Metabolism. 2023. Vol. 35(8). P. 1304–1326. doi:10.1016/j.cmet.2023.06.004.
6. Agus A., Planchais J., Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease // Cell Host Microbe. 2018. V. 23. P. 716–724. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.003>.
7. Du J, Zayed AA, Kigerl KA, Zane K, Sullivan MB, Popovich PG. Spinal Cord Injury Changes the Structure and Functional Potential of Gut Bacterial and Viral Communities. mSystems. 2021 May 11;6(3):e01356-20. doi: 10.1128/mSystems.01356-20. PMID: 33975974; PMCID: PMC8125080.
8. Bazarnyi VV, Sosnin DYu. Oral fluid as an object of noninvasive laboratory diagnostics. Laboratory and Clinical Medicine. Pharmacy. 2023; 3(3):39-46. (In Russ). DOI: 10.14489/lcmp.2023.03.pp.004-011.

Ключевые слова: дефицит триптофана; пробиотики; саливодиagnostика; спонтанная люминесценция

COURSE OF PROBIOTICS ALLOWS TO INCREASE TRYPTOPHAN CONCENTRATION IN HUMAN SALIVA

Ravenskaya V.D., Mikhailova D.S., Garipova M.I.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: tryptophan deficiency; probiotics; salivodiagnostics; spontaneous luminescence.

© Равенская В.Д., Михайлова Д.С., Гарипова М.И., 2026

ОДНА КЛЕТКА – НОВАЯ ЖИЗНЬ: КАК КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МЕНЯЮТ РЕПРОДУКЦИЮ

Садртдинова И.И.*, Хузина А.Х.

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: *indira.ildarovna@mail.ru

Введение

В современной репродуктивной медицине происходит смена парадигмы — от макроскопического управления процессами зачатия к микроскопическому манипулированию самой основой жизни: отдельной клеткой. Бесплодие затрагивает миллионы пар по всему миру (Zhang N et al., 2025), и на протяжении десятилетий основным методом борьбы с ним оставалось экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО). Однако сегодня на сцену выходят технологии, позволяющие работать не просто с эмбрионами, но с отдельными гаметам, стволовыми клетками и даже отдельными митохондриями (Hyslop LA et al., 2025; Kankanam Gamage SU et al., 2025). Данная работа представляет краткий обзор того, как клеточные технологии радикально меняют ландшафт репродукции, открывая путь к персонализированной и прецизионной репродуктивной медицине.

От ЭКО к прецизионной инъекции: эволюция ИКСИ

Классический метод ЭКО, при котором сперматозоиды и яйцеклетки соединяются в чашке Петри, остается «золотым стандартом» для многих случаев. Однако появление интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ) стало настоящей революцией, позволив преодолеть даже самые тяжелые формы мужского фактора бесплодия. Современные исследования направлены на дальнейшее совершенствование этого метода.

Особый интерес вызывают модификации ИКСИ, направленные на улучшенный отбор сперматозоидов. Одной из наиболее инновационных техник является пьезо-ИКСИ (PIEZO-ICSI). Пьезо-ИКСИ — это усовершенствованная технология интрацитоплазматической инъекции сперматозоида, в которой для точного и атравматичного введения сперматозоида в яйцеклетку используется пьезоэлектрический импульс, минимизирующий механическое повреждение ооцита. В рандомизированном исследовании было показано, что частота оплодотворения при использовании PIEZO-ICSI значительно выше, чем при традиционном ИКСИ. Кроме того, в группе PIEZO-ICSI снизилась частота дегенерации ооцитов и повысилось качество бластоцист, хотя показатели клинической беременности и живорождения не различались (Zander-Fox D, 2024). Эти данные подтверждают, что даже на уровне введения одной клетки в другую есть пространство для значимых технологических улучшений.

Генетическая верификация эмбриона: преимплантационное тестирование

Возможность протестировать эмбрион еще до его переноса в матку — еще один пример того, как работа на клеточном уровне меняет репродуктивную практику. Преимплантационное генетическое тестирование (ПГТ) позволяет выявить хромосомные аномалии (ПГТ-А), моногенные заболевания (ПГТ-М) и структурные перестройки (ПГТ-СП). Тест проводится на 5-й день развития эмбриона, когда из его оболочки берут 5–8 клеток трофобласта, которая впоследствии станет плацентой, так что сам эмбрион не повреждается.

ПГТ не только повышает эффективность программ ВРТ, но и переосмысливает возрастные репродуктивные риски, позволяя увеличить вероятность рождения здорового ребенка. Крупное ретроспективное исследование (n=30446 циклов ВРТ) не выявило статистически значимых различий между методами ЭКО и ИКСИ при проведении ПГТ-А по ключевому исходу — доле эмбрионов, пригодных для переноса (41,6% при ЭКО против 42,5% при ИКСИ) или в частоте живорождений, что подтверждает безопасность и валидность ПГТ как инструмента селекции здоровых эмбрионов независимо от метода оплодотворения (Poli M, 2025).

Криоконсервация: остановка времени для репродуктивных клеток

Технологии криоконсервации, основанные на витрификации, позволяют сохранять ооциты, сперматозоиды, эмбрионы и фрагменты тканей яичников в стекловидном состоянии без образования кристаллов льда. Это открывает возможности для отсроченного материнства, сохранения фертильности у онкологических пациентов и создания банков репродуктивного биоматериала. Активно ведутся исследования новых криопротекторных сред, в том числе с использованием кремнийсодержащих гидрогелей, для повышения криорезистентности ооцитов (Varlas VN, 2021).

Митохондриальная замена: «ребенок от трех родителей»

Одним из самых обсуждаемых направлений является митохондриальная замена (mitochondrial replacement therapy — MRT), разработанная для предотвращения передачи митохондриальных заболеваний от матери к потомству. Суть метода заключается в переносе ядерного генетического материала матери в донорскую яйцеклетку со здоровыми митохондриями, после чего проводится оплодотворение сперматозоидом отца. В результате ребенок получает ядерную ДНК от отца и матери и митохондриальную ДНК от женщины-донора.

В 2023 году в Великобритании родились первые дети, зачатые с помощью этой процедуры, что стало кульминацией многолетних исследований и даже изменения законодательства. Ранее сама идея митохондриального замещения вызывала резкое неприятие в научном сообществе, однако сегодня разработки в этой области идут полным ходом. Тем не менее процедура остается этически чувствительной и разрешена далеко не во всех странах (McFarland R, 2025).

Гаметогенез in vitro: создание половых клеток из соматических

Наиболее футуристическим направлением является искусственное получение половых клеток из соматических — гаметогенез in vitro (IVG). В сентябре 2025 года американским и корейским ученым удалось получить функционирующие человеческие яйцеклетки путем переноса ядра соматической клетки кожи в донорскую яйцеклетку без ядра. Оплодотворение таких яйцеклеток сперматозоидами привело к образованию эмбрионов, развитие которых прервали на стадии бластоцисты.

IVG открывает перспективы для людей, у которых по какой-либо причине не вырабатываются здоровые половые клетки (например, при необструктивной азооспермии, после гонадотоксической терапии), заводить генетически родных детей. Однако на пути к клиническому применению стоит множество фундаментальных задач, включая необходимость правильного прохождения мейоза, эпигенетического перепрограммирования и обеспечения тотипотентности. Обзор 2025 года, опубликованный в International Journal of Molecular Sciences, подчеркивает, что хотя получение функционально зрелых сперматозоидов in vitro пока не достигнуто, прогресс в моделях животных приближает клиническую реализацию (Kaltsas A., 2025).

Регенеративная медицина: восстановление репродуктивных тканей

Стволовые клетки активно применяются для восстановления функции яичников и эндометрия. Мезенхимальные стромальные клетки костного мозга и жировой ткани демонстрируют потенциал для лечения синдрома Ашермана, тонкого эндометрия, а также для улучшения овариального резерва. Проходят клинические испытания методов введения МСК через маточную артерию для лечения тяжелых внутриматочных синехий.

Современная стратегия регенеративной медицины также включает использование аутологичных экзосом, которые в рандомизированных исследованиях 2025 года продемонстрировали способность снижать фиброз стромы яичника и увеличивать число метафаза-II ооцитов (Navarro et al., 2025).

В России в 2025 году началось создание персонализированных биомедицинских клеточных продуктов на основе клеток самого пациента. Развитие тканевой инженерии и биореакторов открывает перспективы для выращивания искусственных тканей и органов (Басипова А.А., 2025).

Заключение. Клеточные технологии радикально трансформируют репродуктивную медицину, смещая акцент со вспомогательного зачатия на прецизионное манипулирование клеточными и субклеточными структурами. Технологии репродуктивной медицины эволюционировали от совершенствования ИКСИ и ПГТ до получения гамет из соматических клеток и регенерации репродуктивных тканей с использованием стволовых клеток. Каждая из этих технологий, оперируя на уровне отдельной клетки, создаёт возможность для возникновения новой жизни в ситуациях, ранее считавшихся бесперспективными. Достижения, полученные к 2025–2026 годам, свидетельствуют, что репродуктивная медицина находится на пороге новой эры — эры прецизионной репродуктивной медицины, в которой «одна клетка» действительно способна стать «новой жизнью».

Ключевые слова: клеточные технологии; вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ); экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО)

ONE CELL, A NEW LIFE: HOW CELL TECHNOLOGIES ARE CHANGING REPRODUCTION

Sadrtidinova I.I., Khuzina A.Kh.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: cell technologies; assisted reproductive technologies (ART); in vitro fertilization (IVF).

© Садртдинова И.И., Хузина А.Х., 2026

ЧЕЛОВЕК НА ЧИПЕ

Саматов Т.Р.

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.
e-mail: samatovtr@uust.ru

Данная статья посвящена технологии Человек на чипе как платформе для моделирования функций органов и тестирования лекарств. Рассмотрены текущий статус подхода Орган на чипе, типы моделей, их применение в доклинических исследованиях и персонализированной медицине, а также правовой статус технологии и российские центры, развивающие это направление.

Введение. Технология Человек на чипе представляет собой одно из наиболее перспективных направлений современной биомедицинской инженерии. Она основана на использовании микрофлюидных устройств и трехмерных клеточных культур для моделирования функций отдельных органов и межорганных взаимодействий *in vitro*. Такие системы позволяют воспроизводить микроокружение тканей, оценивать токсичность и эффективность лекарственных веществ, а также проводить более точный доклинический скрининг по сравнению с традиционными двумерными культурами. Данная технология - это логическое развитие подхода Орган на чипе в сторону более сложной интегрированной платформы, ориентированной на персонализированную медицину и фармакологические исследования [1].

От Органа на чипе к Человеку на Чипе. Исторически подход Орган на чипе стал возможен благодаря сочетанию микрофлюидики, инженерии тканей и клеточной биологии. Его ключевая идея заключается в создании миниатюрной системы, где клетки находятся в контролируемой среде с заданным потоком жидкости, механическими воздействиями и химическими градиентами. Это позволяет моделировать работу таких органов, как легкие,

кишечник, печень, почки и сердце, в условиях, приближенных к физиологическим [2]. Технология особенно важна для оценки фармакокинетики и фармакодинамики, поскольку действие препарата в организме часто определяется не только его прямым влиянием на клетки, но и межорганным метаболизмом.

Сегодня развитие технология Человек на чипе идет через сеть научных центров, которые создают модели отдельных органов и постепенно формируют основу для будущих мультиорганных платформ. Главными задачами остаются стандартизация методов, расширение спектра моделей, интеграция с регуляторной средой и перевод результатов в практику доклинической фармакологии [3,4].

Человек на чипе в России. В России данное направление получило важное признание в 2025 году. Постановлением Правительства РФ от 5 сентября 2025 года № 1377 в Федеральную научно-техническую программу развития генетических технологий на 2019–2030 годы была включена задача создания системы высокопроизводительного скрининга лекарственных препаратов с использованием модели Человек на чипе [5]. Это означает, что технология получила официальный статус приоритетного направления исследований. При этом речь идет не о завершенном регуляторном режиме, а о государственном признании и поддержке развития этого направления.

На практике российские разработки пока представлены отдельными моделями Орган на чипе, которые в дальнейшем могут быть объединены в мультиорганные системы. Среди наиболее часто упоминаемых направлений – модели почки, роговицы, кожи, кишечника, печени, мозга, а также злокачественной опухоли. Эти системы служат для разных задач: оценки токсичности, тестирования противоопухолевых препаратов, изучения барьерных свойств тканей, анализа воспалительных и иммунных реакций, а также моделирования микросреды опухоли.

Одним из ключевых российских центров в этой области является Институт биоорганической химии РАН, имеющий широкий спектр моделей органов и впечатляющий список опубликованных работ. Помимо ИБХ РАН, в российском научном пространстве можно выделить Сеченовский университет и МГТУ им. Баумана в Москве, БГМУ в Уфе, СибГМУ в Томске.

Заключение. Значение технологии Человек на чипе выходит за рамки методического совершенствования доклинических экспериментов. Ее ключевое преимущество состоит в возможности перейти к более индивидуализированной оценке действия препаратов. Использование клеток конкретного пациента позволяет прогнозировать чувствительность ткани к терапии, токсичность и возможные побочные эффекты еще до начала лечения. Это направление является основой будущей биомедицины, в которой микрофлюидика, клеточные системы и цифровой анализ будут объединены в единую исследовательскую экосистему.

Список литературы:

1. Bhatia SN, Ingber DE. Microfluidic organs-on-chips. Nat Biotechnol. 2014;32(8):760–772.
2. Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips. Trends Cell Biol. 2011;21(12):745–754.
3. Samatov TR, Shkurnikov MU, Tonevitskaya SA, Tonevitsky AG. Modelling the metastatic cascade by in vitro microfluidic platforms. Prog Histochem Cytochem. 2015 Jan;49(4):21-9.
4. Samatov TR, Galatenko VV, Block A, Shkurnikov MY, Tonevitsky AG, Schumacher U. Novel biomarkers in cancer: The whole is greater than the sum of its parts. Semin Cancer Biol. 2017 Aug;45:50-57.
5. Постановление Правительства РФ от 5 сентября 2025 года № 1377.

Ключевые слова: Человек на чипе; Орган на чипе; микрофлюидика; доклинические исследования; персонализированная медицина

HUMAN ON CHIP

Samatov T.R.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: Human on chip; Organ on chip; microfluidics; preclinical studies; personalized medicine.

© Саматов Т.Р., 2026

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕЙТРОФИЛОВ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ МОРФОМЕХАНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА (АСМ) И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ТЕСТОВ

Шарафутдинова Л.А.

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: sharafla@yandex.ru

В статье представлен опыт выделения нейтрофилов периферической крови человека для последующего анализа методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) в экспериментальной модели инкубации с наночастицами диоксида титана (НЧ TiO_2) *in vitro*. Описан оптимизированный протокол градиентного центрифугирования, обеспечивающий высокую чистоту и сохранность клеток. Продемонстрированы ключевые АСМ-данные, подтверждающие активацию нейтрофилов при воздействии НЧ TiO_2 : уменьшение размеров клетки, увеличение жесткости мембраны (модуля Юнга) и шероховатости поверхности.

Введение. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) в настоящее время занимает особое место среди методов клеточной биологии, поскольку позволяет одновременно оценивать морфометрические параметры клеток (высоту, диаметр, площадь ядра, гранулярность цитоплазмы) и их наномеханические свойства (модуль Юнга, силу адгезии) с нанометровым разрешением [1, 2]. Этот метод дает возможность изучать живые клетки в физиологических условиях, что особенно ценно для исследования нейтрофилов — клеток, чрезвычайно чувствительных к внешним воздействиям и склонных к спонтанной активации. Однако информативность любого АСМ-исследования напрямую зависит от качества выделения нейтрофилов. Метод пробоподготовки должен обеспечивать высокую чистоту популяции (>95%) и, что критически важно, минимальную активацию клеток в процессе выделения. В противном случае изменения морфологии и биомеханических свойств, которые исследователь связывает с действием наночастиц, могут оказаться артефактом, обусловленным самой процедурой выделения. Цель данной работы — представить протокол выделения нейтрофилов, адаптированный для последующего АСМ-анализа и токсикологических тестов, а также обобщить ключевые результаты, полученные с помощью этого протокола при оценке воздействия наночастиц TiO_2 .

Материал и методы исследования. Принципы выделения нейтрофилов. Нейтрофилы являются короткоживущими клетками: период их полураспада в циркуляции составляет приблизительно 6–8 часов. Они чрезвычайно чувствительны к механическим и осмотическим воздействиям, а также к изменению температуры и pH. Любая манипуляция, выходящая за пределы физиологических условий, может привести к спонтанной активации, которая проявляется в изменении формы клетки, экспрессии адгезивных молекул, дегрануляции и, как следствие, искажении результатов последующего анализа. В работе использовали метод центрифугирования на двойном градиенте фиколл-урографина. Этот подход обеспечивает оптимальный баланс между чистотой, выходом и сохранением функционального покоя клеток при относительной простоте выполнения и доступности

реагентов. Выделение клеток проводили из гепаринизированной (20 ЕД/мл) венозной крови здоровых доноров. Нейтрофилы выделяли из венозной крови здоровых доноров по методу И.С. Подосинникова и соавт. [4]. Кровь стабилизировали гепарином из расчета 20 ЕД на 1 мл крови. Выделение проводили в градиенте плотности фиколл-урографина по стандартной методике. После центрифугирования кольцо нейтрофилов, расположенное на границе раздела фаз, аккуратно собирали с помощью пипетки Пастера. Собранные клетки разбавляли равным объемом забуференного раствора NaCl (0,45%). Для поддержания нормальной осмолярности клетки дважды суспендировали в фосфатно-солевом буфере (PBS), центрифугировали в течение 10 минут и повторно суспендировали в солевом растворе Хенкса (HBSS). В наших условиях чистота нейтрофилов после выделения составляла 92–96% (по данным окраски мазков по Романовскому-Гимза), жизнеспособность — 97–99% (по тесту с трипановым синим).

Подготовка образцов для АСМ. АСМ-исследования проводили на атомно-силовом микроскопе «Agilent 5500» (Agilent Technologies, США). Для **морфометрического анализа** нейтрофилы фиксировали 1.5% раствором глутарового альдегида на PBS в течение 15 минут. Сканирование проводили в полуконтактном режиме на воздухе с использованием кремниевых зондов PPP-CONTPt (Nanosensors, Германия) с жесткостью 43 Н/м и резонансной частотой 185 кГц. Для **оценки биомеханических свойств** использовали нативные (живые) нейтрофилы в жидкостной ячейке, заполненной раствором Хенкса для поддержания физиологических условий. Измерения проводили при 37°C с использованием термостатированной стадии. В режиме силовой спектроскопии рассчитывали модуль Юнга по теории Герца [3]. Для минимизации повреждения мембраны использовали коллоидные V-образные зонды CP-PNPL-SiO-C с круглым наконечником (диаметр 6,62 мкм). Программное обеспечение: PicoView 1.10 и PicoImage Basic 5.1.

Нейтрофилы, выделенные по описанному выше протоколу из крови здоровых доноров, инкубировали с наночастицами диоксида титана (НЧ TiO₂, средний размер 25–30 нм) в концентрации 100 мкг/мл в течение 1,5 часов при 37°C. Выбор данной концентрации и времени экспозиции был основан на литературных данных о субцитотоксических дозах НЧ TiO₂, вызывающих функциональные изменения без массивной гибели клеток. Контрольные образцы инкубировали в растворе Хенкса без добавления наночастиц.

Результаты исследований и их обсуждение. *Морфологические изменения нейтрофилов.* Контрольные нейтрофилы имели характерную округлую форму с ровными контурами, сегментированное ядро и поверхность с незначительными инвагинациями (рис. 1А). После инкубации с НЧ TiO₂ клетки приобретали принципиально иной вид: контуры становились неровными, на поверхности появлялись множественные псевдоподии, а топография характеризовалась «пенистым» видом, что свидетельствует об активном эндоцитозе наночастиц (рис. 1Б). Количественный анализ морфометрических параметров показал, что средняя высота клетки относительно подложки увеличилась с $0,57 \pm 0,06$ мкм в контроле до $0,89 \pm 0,05$ мкм ($p < 0,05$). Максимальная высота клетки и максимальный перепад высот (показатель шероховатости поверхности) также статистически значимо возрастали. Диаметр клеток на фоне воздействия НЧ TiO₂ имел тенденцию к уменьшению.

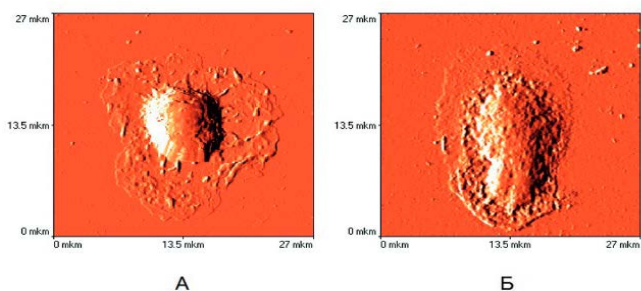


Рис.1 Нейтрофилы до (А) и после инкубации с НЧ диоксида титана (Б).

Изменение биомеханических свойств нейтрофилов. Модуль Юнга (жесткость мембраны) нейтрофилов в контрольной группе составил $5,44 \pm 1,78$ кПа. При воздействии НЧ TiO₂ жесткость мембраны увеличилась до $12,03 \pm 2,37$ кПа, то есть на 121% ($p < 0,05$). Силовые

кривые подвода зонда в опытной группе имели более крутой наклон, чем в контроле, что подтверждает повышение ригидности мембраны. Обнаруженные изменения можно интерпретировать следующим образом. Увеличение высоты и шероховатости поверхности нейтрофилов связано с активацией фагоцитоза наночастиц и формированием внутриклеточных эндосом, что меняет топографию клеточной мембраны.

Повышение модуля Юнга, вероятно, обусловлено двумя механизмами:

1. Перестройкой цитоскелета — полимеризацией актина в ответ на контакт с чужеродными частицами, что необходимо для захвата и внутреннего транспорта наночастиц.
2. Развитием окислительного стресса — наночастицы TiO_2 индуцируют генерацию активных форм кислорода, которые приводят к окислительной модификации мембранных белков и липидов, снижая их пластичность и увеличивая жесткость.

В токсикологии повышение жесткости нейтрофилов может рассматриваться как ранний биомеханический маркер цитотоксического действия наночастиц, выявляемый задолго до появления видимых признаков гибели клеток в стандартных тестах (например, окрашивание трипановым синим или МТТ-тест). АСМ-анализ позволяет количественно оценить степень активации клеток и их функциональный ответ на воздействие наноматериалов.

Заключение. Протокол выделения нейтрофилов по методу И.С. Подосинникова и соавт. (1981) с использованием градиента плотности фиколл-урографина обеспечивает высокую жизнеспособность клеток (95–100%), необходимую для корректного АСМ-анализа и токсикологических тестов. При инкубации нейтрофилов с НЧ TiO_2 выявлены следующие изменения: уменьшение диаметра клетки; увеличение фазовой высоты и шероховатости поверхности; повышение жесткости мембраны (модуль Юнга) на 121%. Эти изменения могут быть использованы в качестве количественных индикаторов активации нейтрофилов при токсическом воздействии наночастиц. АСМ представляет собой высокочувствительный метод для ранней диагностики цитотоксических эффектов наноматериалов.

Список литературы:

1. Шарафутдинова Л.А., Замула Ю.С., Хисматуллина З.Р., Даминов М.Р., Валиуллин В.В. Структурные и биомеханические характеристики нейтрофилов крови на фоне воздействия наночастиц диоксида титана (исследование с помощью атомно-силовой микроскопии). *Морфология*. 2018; 154(4): 40–45.
2. Шарафутдинова Л.А., Горшкова Е.Н., Хисматуллина З.Р., Стулин Д.С. Влияние фуллерена C60 на морфометрические показатели нейтрофилов. *Морфология*. 2014; 145(3): 219.
3. Bukharaev A.A., Mozhanova A.A., Nurgazizov N.I., Ovchinnikov D.V. Measuring local elastic properties of cell surfaces and soft materials in liquid by AFM. *Physics of Low-Dimension Structures*. 2003; 31–38.
4. Подосинников И.С., Нилова Л.Г., Бабичев И.В. Метод определения хемотаксической активности лейкоцитов. *Лабораторное дело*. 1981; (8): 68–70.

Ключевые слова: нейтрофилы, атомно-силовая микроскопия, наночастицы диоксида титана, модуль Юнга.

METHODS FOR ISOLATION OF HUMAN NEUTROPHILS FOR MORPHO-MECHANICAL ANALYSIS (AM) AND TOXICOLOGICAL TESTS

Sharafutdinova L.A.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia.

Key words: neutrophils, atomic force microscopy, titanium dioxide nanoparticles, Young's modulus.

© Шарафутдинова Л.А., 2026

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ НАСЕКОМЫХ

Шпирная И.А.

Уфимский университет науки и технологий, Институт природы и человека, Уфа, Россия.

e-mail: i-shia@yandex.ru

Клеточные линии насекомых — одна из важных модельных систем в клеточной биологии и биотехнологии [1]. Чаще всего их получают из тканей яичников, эмбрионов или гемоцитов чешуекрылых (Lepidoptera) и двукрылых (Diptera). Первая непрерывная линия была получена в 1962 году из яичников *Antheraea eucalypti*. В настоящее время наиболее широко используются линии Sf9 и Sf21 (*Spodoptera frugiperda*), High Five (*Trichoplusia ni*), а также модельные линии *Drosophila melanogaster* (S2, Kc167). Данные клеточные системы применяются как в фундаментальных исследованиях (клеточный цикл, иммунный ответ, апоптоз), так и для экспрессии белков с использованием бакуловирусных векторных систем (BEVS) [2; 3].

Большинство линий представляют собой эпителиоподобные или фибробластоподобные клетки, способные к адгезивному и суспензионному росту. Оптимальная температура культивирования — 27–28 °С, допустимый диапазон — 20–32 °С. Клетки насекомых не требуют подачи CO₂, так как среды буферированы и поддерживают pH 6,0–6,8.

Клеточные линии насекомых демонстрируют выраженную кариотипическую вариабельность и анеуплоидию, возникающие при длительном культивировании [4; 5; 6]. Например, у линии Sf9 описана спонтанная фрагментация хромосом и изменение плоидности [5], а у линии High Five выявлена высокая хромосомная нестабильность на геномном уровне [6]. Несмотря на это, они сохраняют функциональную стабильность благодаря эволюционно закреплённым компенсаторным механизмам [1; 2]. Голоцентрические хромосомы чешуекрылых позволяют стабилизировать фрагменты ДНК при разрывах [1]. У дрозофилы анеуплоидия в нервных стволовых клетках не запускает немедленный апоптоз, возникает отсроченный стрессовый ответ [7]. Общие буферные системы (генетические механизмы, компенсирующие дозовый дисбаланс генов) смягчают последствия изменения числа хромосом на уровне целого генома [8].

Клетки насекомых обладают высокой скоростью деления (16–36 часов). Менее чувствительны к повреждениям ДНК, чем клетки млекопитающих; например, клетки линии Sf9 демонстрируют значительную радиоустойчивость по сравнению с клетками человека [9]. Для ряда линий характерна эндоредупликация, увеличивающая число копий генов и повышающая синтез белка. Контактное торможение выражено слабо, максимальная плотность достигает 6–10×10⁶ клеток/мл.

Метаболически клетки насекомых утилизируют глюкозу, фруктозу и трегалозу; например, трегалоза может служить ключевым углеводом в метаболизме клеток насекомых, а в гемолимфе насекомых её содержание может значительно превышать содержание глюкозы [10]. Образование лактата снижено, что стабилизирует pH среды. Посттрансляционные модификации включают дисульфидные связи, фосфорилирование и ацетилирование; N-гликозилирование даёт преимущественно высокоманнозные структуры, а терминальное сиалирование ограничено из-за дефицита сиалилтрансфераз. Гликоинженерные линии (SfSWT-1, Mimic™ Sf9) частично решают эту проблему [1].

В клетках насекомых функционируют сигнальные пути Toll и IMD, содержащие консервативные компоненты, эволюционно и функционально связанные с NF-κB-зависимыми путями врождённого иммунитета млекопитающих. Эти пути сохраняют свою активность даже на фоне кариотипической нестабильности, поскольку их ключевые компоненты (например, транскрипционные факторы NF-κB) достаточно жёстко регулируются на посттрансляционном уровне и не зависят от точного числа копий генов

[11]. Клетки сохраняют чувствительность к эcdистероидам, хотя при длительном культивировании многие линии её утрачивают.

В промышленном культивировании клетки насекомых технологически гибки. Используются сывороточные (5–10% FBS) и бессывороточные среды (Sf-900™, EX-CELL®, Grace's). Клетки растут в монослое и суспензии. Несмотря на выносливость, они чувствительны к сдвиговым нагрузкам, что требует контроля перемешивания и аэрации. Однако потребление кислорода и накопление лактата и аммиака ниже, чем у клеток млекопитающих [1; 2].

Линии чешуекрылых специфичны к бакуловирусам (благодаря рецепторам и факторам трансляции), линии комаров — к арбовирусам. Это определяет их применение в вирусологии.

Ограничения: геномная нестабильность при длительном культивировании, вариабельность посттрансляционных модификаций, ограниченное N-гликозилирование, чувствительность к механическим нагрузкам, низкая секреция некоторых белков. Для преодоления ограничений используют CRISPR/Cas (например, для направленной модификации генов, влияющих на стабильность генома), метаболическую и гликоинженерию, а также методы системной биологии [1].

Таким образом, клеточные линии насекомых — универсальная система, сочетающая устойчивость к условиям культивирования, эукариотическую регуляцию и возможности для генетической модификации, что определяет их ценность для фундаментальных исследований и биотехнологии [1; 5].

Список литературы:

1. Arya S. K., Goodman C. L., Palli S. R. The expanding toolkit of insect cell culture: a new era in biotechnology // *Current Opinion in Insect Science*. 2025. Vol. 74. P. 101465. DOI: 10.1016/j.cois.2025.101465.
2. Huang N., Wei Y., Li J. Insect cell expression system: advances in applications, engineering strategies, and bioprocess development // *Journal of Biological Engineering*. 2025. Vol. 19, № 1. P. 88.
3. Sulek M., Szuster-Ciesielska A. The bioengineering of insect cell lines for biotherapeutics and vaccine production: an updated review // *Vaccines*. 2025. Vol. 13, № 6. P. 556.
4. Пантелеев Д. И., Какпаков В. Т., Горелова Т. В., Андрианов Б. В. Изменчивость пересееваемых клеточных линий насекомых и их идентификация // *Цитология*. 2006. Т. 48, № 8. С. 653–660.
5. Petry H., Jarman-Smith R. F., Armstrong S. J., Mannix C. J., Al-Rubeai M. Chromosome instability in *Spodoptera frugiperda* Sf-9 cell line // *Biotechnology Progress*. 2002. Vol. 18, № 3. P. 623–628.
6. Chen Y., Song X., Zhao P., Zhang Y., Li F., Wang Y., Li H., Zhang Z., Liu Y., Chen C., Guo Z., Li H., Zhang X., Han L., Peng Y., Guo W. A high-quality chromosome-level genome assembly of a generalist herbivore, *Trichoplusia ni* // *Molecular Ecology Resources*. 2019. Vol. 19, No. 2. P. 485–496.
7. Mirkovic M., Guilgur L.G., Tavares A., Passagem-Santos D., Oliveira R.A. Induced aneuploidy in neural stem cells triggers a delayed stress response and impairs adult life span in flies // *PLOS Biology*. 2019. Vol. 17, No. 2. P. e3000016.
8. Stenberg P., Larsson J. Buffering and the evolution of chromosome-wide gene regulation // *Chromosoma*. 2011. Vol. 120. P. 213–225.
9. Chandna S., Dwarakanath B.S., Seth R.K., Khaitan D., Adhikari J.S., Jain V. Radiation responses of Sf9, a highly radioresistant lepidopteran insect cell line. *Int J Radiat Biol*. 2004 Apr; 80(4):301-15.
10. Strang R.H.C., Clement E.M., Rae R.C. Some aspects of the carbohydrate metabolism of the thoracic ganglia of the locust, *Schistocerca gregaria* // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 1979. Vol. 62, Iss. 3. P. 217–224.

11. Valanne S., Myllymäki H., Kallio J. et al. The Drosophila Toll Pathway in Innate Immunity: from the Core Pathway toward Effector Functions // The Journal of Immunology. 2022. Vol. 209, No. 10. P. 1817–1825.

Ключевые слова: клеточные линии насекомых; кариотипическая вариабельность; компенсаторные механизмы; особенности культивирования; биотехнология.

BIOLOGICAL FEATURES OF INSECT CELL LINES

Shpirnaya I.A.

Ufa University of Science and Technology, Institute of Nature and Human, Ufa, Russia

Key words: insect cell lines; karyotypic variability; compensatory mechanisms; cultivation features; biotechnology

© Шпирная И.А., 2026

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НАКОПЛЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КОРНЯХ И КОРНЕВИЩАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА ОДНОЛЕТНЕГО И ДЕВЯСИЛА ВЫСОКОГО

Якупова А.Б.^{1*}, Глушихина Е.И.², Кулуев Б.Р.³, Габидуллина Г.Ф.¹

¹ Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия;

² Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия;

³ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия.

e-mail: * alfirm@yandex.ru

В медицинской практике сегодня широко используются различные виды лекарственных растений, содержащих биологически активные вещества с ценными фармакологическими свойствами [1, 2, 3]. Исследования показали, что растения способны синтезировать огромное количество различных соединений, которые можно разделить на первичные и вторичные метаболиты [4, 5]. Особую роль вторичные метаболиты играют в медицине и фармацевтической промышленности в качестве лекарственных препаратов, антимикробных агентов и средств устойчивого контроля болезней растений [6, 7, 8].

Семейство *Asteraceae* является самым богатым по числу видов среди растений в мире и встречается на всех континентах. Растения данного семейства распространены практически во всех климатических зонах и занимают первое место по числу видов среди флоры умеренной зоны [9, 10]. Фитохимические исследования последних лет показывают, что представители *Asteraceae* обладают широким спектром биологически активных веществ: фенольные соединения, терпеновые метаболиты, эфирные масла, полисахариды и др., обладающие антиоксидантными, противовоспалительными, иммуномодулирующими и ангиопротекторными качествами [11, 12].

В настоящее время создание культур волосовидных корней (от англ. hairy roots) является одним из перспективных направлений в биотехнологии растений, так как их можно использовать в качестве продуцентов различных вторичных метаболитов. В работе были использованы подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.) и девясил высокий (*Inula helenium* L.). Все растения были собраны на территории Республики Башкортостан в природных условиях и высушены на бумаге при комнатной температуре в течение двух недель для получения растительных порошков. Для изучения химического состава и определения биологически активных веществ были использованы стандартные методы спектрофотометрии для определения флавоноидов и водорастворимых сахаров (ВРС) [13, 14,

15]. На первом этапе исследования проводили стерилизацию семян для введения в культуру *in vitro* с целью получения стерильных семядольных эксплантов. Через 6 дней после посева семян проводили агробактериальную трансформацию полученных эксплантов. Для трансформации использовали штаммы *Agrobacterium rhizogenes* A4 и 15834. Каждый из семядольных эксплантов несколько раз укалывали иглой инсулинового шприца, обмакиваемой в агробактериальную суспензию. Далее экспланты сокультивировали с агробактериями. После чего экспланты пересаживали на среду МС, содержащую 200 мг/л цефотаксима и переносили полученные трансформированные корни на безгормональную среду МС без добавления антибиотика.

Содержание водорастворимых сахаров в корнях подсолнечника, полученных при помощи штамма 15834, составило 123,4 мкг/сухой массы, что в 2,7 превысило содержание сахаров в линиях штамма А4, которое составило 45,7 мкг/мл. Содержание сахаров в корнях, выращенных в естественных условиях составило 24,9 мкг/мл. Содержание ВРС в корневых культурах, полученных с помощью агробактериальных штаммов, значительно превысило таковое в интактных корнях подсолнечника. В результате спектрофотометрического определения суммарного содержания флавоноидов в пересчете на кверцетин установлено, что в линиях 15834 содержание суммы флавоноидов составило 96,2 мкг/мг сухой массы, что значительно превысило таковое в корнях, выращенных в поле - 25,9 мкг/мг сухой массы.

Волосовидные корни девясила, трансформированные штаммом 15834, характеризовались наиболее высоким содержанием водорастворимых сахаров. Так, содержание ВРС в линиях штамма 15834 в среднем составило 91,77 мкг/мг сух. массы, что значительно превысило таковое в иных, выращенных нами корневых культурах. Среднее содержание флавоноидов в культурах волосовидных корней девясила, полученных при помощи штамма *A. rhizogenes* А4, составило $40,05 \pm 1,9$ мг/100г сухой массы, что незначительно превысило данный показатель в культурах волосовидных корней, полученных при помощи штамма 15834, который составил 39,1 мг /100 г сухой массы. Сумма флавоноидов в корнях нативного девясила составила $36,8 \pm 1,4$ мг /100 г, что незначительно ниже суммы флавоноидов в культурах волосовидных корней девясила. Предполагается, что при успешном проведении лабораторных исследований подобный эффект усиления биосинтеза веществ вторичного метаболизма культурами бородатых корней может быть обусловлен экспрессией *rol*-генов *A.rhizogenes*.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что корневые культуры полученные при помощи почвенной бактерии *Agrobacterium rhizogenes* являются генетически и биохимически стабильными системами, позволяющими продуцировать биомассу корней с высоким уровнем биосинтеза вторичных метаболитов, часто превышающим их уровень в интактных растениях или других системах *in vitro*.

Список литературы:

1. Аникиенко Т. И. Химический и микроэлементный состав клубней и зеленой массы топинамбура // Вестник КрасГАУ. 2008–№2 – С. 76–80. (хим состав клубней).
2. Бакуменко О. Е., Рубан Н. В., Алексеенко Е. В. Научные и практические аспекты разработки снековых батончиков для здорового питания: монография. – Москва: РОСБИОТЕХ, 2023. – 190 с.
3. Джабоева А. С., Шаова Л. Г. Биохимический состав топинамбура // Научные труды КубГТУ. – 2016. – № 14 – С. 648–653.
4. Мирович В. М. Фитохимическая характеристика топинамбура, культивируемого в Прибайкалье // Инновационные технологии в фармации. Иркутск, 2021 – №8. – С. 196–198.
5. Barbara Sawicka, Dorota Kalembasa Assesment of the chemical composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) as energy feedstock // Ecological Chemistry and Engineering S. – 2013. – № 20(6). – P. 611-620.

6. Pradhan J., Pramanik K., Jaiswal A., et al. Biosynthesis of secondary metabolites in aromatic and medicinal plants in response to abiotic stresses: A review. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 2024, 12(3): 318–334. DOI: 10.18006/2024.12(3).318.
7. Wang X. Utilizing Secondary Metabolites for Eco-Friendly Disease Control in Plants. *Journal of Plant Protection and Microbiology*, 2024.
8. Pu X., Kitaoka N., Rodríguez-López C.E., Chen S. Editorial: Plant secondary metabolite biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 2024, 15:1477551. DOI: 10.3389/fpls.2024.1477551.
9. Moreira-Muñoz A., Monge M., Grossi M.A., A'vila F.A., Morales-Fierro V., Heiden G., Britto B., Beck St., Nakajima J.N., Salgado V. G., Rodríguez-Craverro J.F., Gutiérrez D.G. South America holds the greatest diversity of native daisies (Asteraceae) in the world: an updated catalogue supporting continental-scale conservation. *Front. Plant Sci.*, 30 May 2024 V.15. 2024.
10. Брусенцева Л.Ю., Кузовенко О.А. Лекарственные и пищевые растения семейства Астровые (Asteraceae). Учебный справочник.: Изд-во «РЕАВИЗ». 75 с.
11. Lee J.-E., Jayakody J.T.M., Kim J.-I. и др. The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. *Foods*, 2024.
12. Шалдаева Т. М., Кукушкина Т. А., Пшеничкина Ю. А. Биологически активные вещества некоторых растений семейства Asteraceae. *Химия растительного сырья*, 2022 (аналогичные виды, фенольные соединения, пектины, каротиноиды).
13. Миназова Г.И. Тонкослойная хроматография в анализе природного сырья. *Башкирский химический журнал*. 2010. Том 17. № 5. С. 105-107.
14. Патил А., Коли С., Патил Д., Пхатак А. Оценка методов экстракции с использованием различных растворителей для определения эффективности экстракции отдельных лекарственных растений. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2012;3:2607–2612
15. Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J., Robers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugar sand related substances. *Anal. Chem.* –1956. – № 28. – P. 350–356.

Ключевые слова: культуры волосовидных корней; семейство Asteraceae, штаммы *Agrobacterium rhizogenes*, флавоноиды

COMPARATIVE ASSESSMENT OF THE ACCUMULATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN TRANSFORMED ROOTS AND RHIZOMES OF ANNUAL SUNFLOWER AND HIGH ELECAMPANE

Yakupova A.B.^{1*}, Glushikhina E.I.², Kuluyev B.R.³, Gabidullina G.F.¹

¹ Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russia

² Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

³ Institute of Biochemistry and Genetics, UFIC RAS, Ufa, Russia

Key words: hairy root cultures; Asteraceae family, *Agrobacterium rhizogenes* strains, flavonoids.

© Якупова А.Б., Глушихина Е.И., Кулуев Б.Р.,
Габидуллина Г.Ф., 2026

При подготовке электронного издания использовались следующие программные средства:

- Adobe Acrobat – текстовый редактор;
- Microsoft Word – текстовый редактор.

Все права защищены. Книга или любая ее часть не может быть скопирована, воспроизведена в электронной или механической форме, в виде фотокопии, записи в память ЭВМ, репродукции или каким-либо иным способом, а также использована в любой информационной системе без получения разрешения от издателя. Копирование, воспроизведение и иное использование книги или ее части без согласия издателя является незаконным и влечет уголовную, административную и гражданскую ответственность.

Научное издание

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ

***Тезисы докладов
Всероссийской научно-практической конференции
(г. Уфа, 18 мая 2026 г.)***

Электронное издание сетевого доступа

*За достоверность информации, изложенной в статьях,
ответственность несут авторы.*

Статьи публикуются в авторской редакции

Подписано к использованию 29.06.2026 г.
Гарнитура «Times New Roman». Объем 2,21 Мб.
Заказ 115.

*ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»
450008, Башкортостан, г. Уфа, ул. Карла Маркса, 12.*

Тел.: +7-908-35-05-007
e-mail: ric-bdu@yandex.ru