



Центр коллективного пользования
ИБГ РАН

**Центр коллективного пользования
«Биология живой клетки и биомедицинские нанотранспортеры
лекарств»
Институт биологии гена РАН**

119334, Москва, ул. Вавилова, д. 34/5,
<http://genebiology.ru/ccu/services.shtml>

Численность сотрудников ЦКП — 9 человек



Основные направления исследований ЦКП:

Регуляция работы гена и структура хроматина, функциональная геномика и биоинформатика.

Молекулярная медицина, генотерапия, стволовые клетки, клеточная терапия, биотерапия опухолей.

Структура и функционирование клетки, межклеточные взаимодействия, молекулярные основы клеточной дифференцировки, иммунитета и онкогенеза.

Генная и белковая инженерия, трансгеноз

Проведение комплекса нанобиомедицинских исследований

Приборная база и перечень услуг, оказываемых ЦКП ИБГ РАН



Прибор для исследований методом поверхностно-плазмонного резонанса **Biacore X**

- * Расчет кинетических констант взаимодействий молекул.
- * Определение концентрации веществ в сильно разбавленных растворах
- * «Вылавливание» («fishing») веществ для дальнейшего анализа.

Спектрофотометр NanoDrop ND-8000.

Спектрофотометр позволяет проводить измерение до 8 образцов одновременно.

- * Определение концентрации и чистоты нуклеиновых кислот.
- * Количественный анализ протеинов, конъюгатов, металло-протеинов.
- * Анализ белков методами Бредфорд, Лоури.
- * Измерение плотности клеток в суспензии.
- * Определение интенсивности флюоресценции при связывании метки с нуклеиновыми кислотами в биочипах.





Атомно-силовой микроскоп с контроллером Nanoscope III A

- * Определение топографии поверхности образца с атомным разрешением $\sim 1 \text{ \AA}$ по оси z и $\sim 1 \text{ нм}$ в плоскости xy (зависит от используемого зонда). Максимальная область сканирования $150 \times 150 \text{ мкм}$ в плоскости xy и 6 мкм по оси z . Изучаемая поверхность может контактировать как с воздухом, так и с жидкой фазой.
- * Определение силы взаимодействия между зондом и образцом. При этом, возможна модификация зонда специфическими биомолекулами (например, антителами). Минимальная достоверно измеряемая сила взаимодействия 30 пН .

Центр коллективного пользования ИБГ РАН



Оборудование для трансфекции Nucleofector.

Осуществление высокоэффективной доставки генетического материала в большое число различных по происхождению клеток:

- * Получение стабильных клеточных линий-продуцентов целевых белков на основе линий клеток CHO-K1, SF+, *Pichia methanolica*.
- * Изучение активностей регуляторных элементов генома в клеточных линиях человека, мыши, курицы, дрозофилы.
- * Выключение экспрессии целевого гена при помощи siRNA.
- * Модифицирование первичных культур клеток человека, мыши для направленного изменения свойств клеток.



Центр коллективного пользования ИБГ РАН

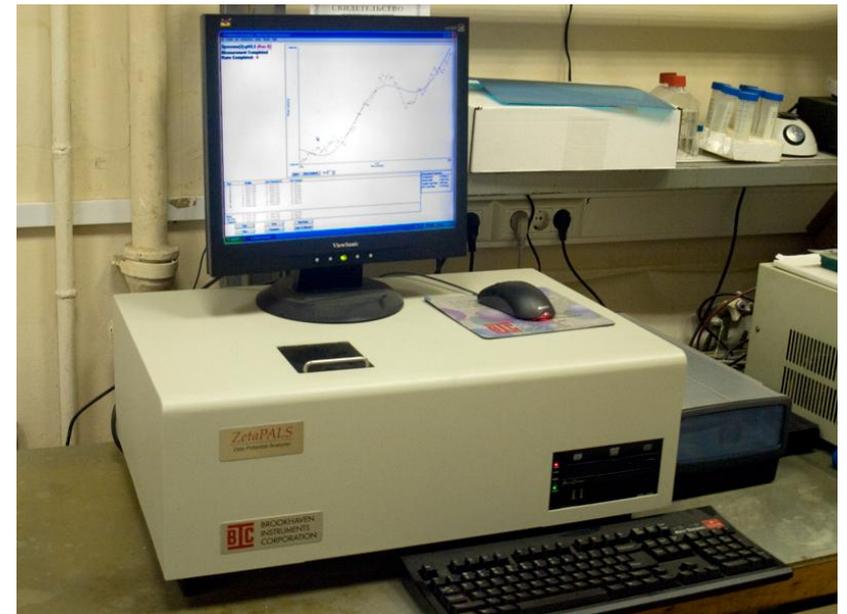


Проточный цитометр — сортер Epics Altra

- * Определение жизнеспособности клеток, содержания ДНК в клетке, определение фагоцитарной активности, определение внутриклеточных цитокинов.
- * Анализ уровня экспрессии репортерных генов в клетках.
- * Сортировка клеток по любым определяемым параметрам.

ZetaPALS

- * Определение с помощью метода динамического светорассеяния гидродинамического радиуса наночастиц в пределах от 0,6 нм до 6 мкм;
- * Определение дзета-потенциала наночастиц в пределах 6 мкВ до 100 мВ при pH от 1 до 13, при температуре от 6 °С до 100 °С и при электропроводности от 0 до 20 Си/м. Типичная длительность измерения – 30 с.



Центр коллективного пользования ИБГ РАН



Приборы ПЦР в реальном времени CFX-96 (BioRad) и StepOne Plus (Applied Biosystems)

- * Генотипирование организмов, идентификации аллелей (вариантов) генов.
- * Геномная дактилоскопия (идентификация индивидуальных организмов, в частности для целей судмедэкспертизы).
- * Обратная транскрипция (конвертация РНК в ДНК).
- * Идентификация ДНК возбудителей заболеваний бактериальной и вирусной, паразитарной природы в пробе.
- * Генотипирование вариантов генов (в частности анализ антибиотикоустойчивости микроорганизмов, анализ предрасположенности к заболеваниям).
- * Анализ хромосомных нарушений (в частности при онкогенезе, в пренатальной диагностике, и др.).
- * Анализ экспрессии генов.
- * Установление титра возбудителей в пробе (количественная диагностика вирусов и др. инфекционных агентов в пробе).
- * Определение генно-модифицированных организмов и содержания ГМО в пробах.
- * Оптимизация условий проведения ПЦР для праймеров клиента.
- * Анализ и обнаружение наличия мутаций (в т.ч. SNP).





Мультифотонный микроскоп LSM 510 META NLO

* Анализ распределения и интенсивности флуоресценции в фокальной плоскости и по объему в биологических образцах (клетках и тканях) в диапазонах длин волн:
в конфокальном режиме – от 458 нм до 633 нм;
в мультифотонном режиме – в соответствии с диапазоном ИК-лазера (710 – 990 нм);

- * Определение характеристических времен затухания флуоресценции в изучаемом образце;
- * Анализ изображений в режиме FLIM (fluorescence lifetime image microscopy - флуоресцентная микроскопия в реальном времени, дающая возможность определять характеристики затухания флуоресценции);
- * Анализ методом FRAP;
- * Определение колокализации флуоресцентных молекул как по наложению «красок», так и по данным FRET (флуоресцентного резонансного переноса энергии).

Фосфоимиджер Cyclone Storage Phosphor Screen

Определение распределения радиоактивного зонда в образцах, пришитых к найлоновым и нитроцеллюлозным мембранам:

1. Анализ полиморфных локусов в геноме
2. Количественное определение повторяющихся участков генома
3. Анализ уровня экспрессии генов
4. Характеристика длины и структуры транскриптов
5. Определение участков связывания для ДНК- и РНК-связывающих белков.

Конфокальный микроскоп Leica TCS SP2

* Измерение распределения интенсивности флуоресценции в фокальной плоскости и по объему исследуемых образцов при разных длинах волн в диапазоне длин волн возбуждения флуоресценции 450 – 663 нм (до семи независимых каналов регистрации одновременно).

* Получение трехмерных изображений флуоресцентно меченных препаратов с измерением геометрических параметров.

* Математическая обработка изображений.

* Анализ процессов методами FRET и FRAP

* Определение колокализации флуорофоров в образце.



Универсальный микропланшетный ридер Synergy 4.



Модульная изменяемая архитектура ридера позволяет определять:

- * интенсивность флюоресценции;
- * флюоресценцию с временным разрешением;
- * поляризацию флюоресценции;
- * быстро (flash-) и медленно (glow-) протекающую люминесценцию;
- * поглощение в УФ и видимой области спектра;
- * FRET (исследование резонансного переноса энергии флюоресценции);
- * TR-FRET (исследование резонансного переноса энергии флюоресценции с временным разрешением);
- * BRET (исследование резонансного переноса энергии биолюминесценции);
- * спектральное сканирование.

Прибор рассчитан на использование различных микропланшетов (6- 12- 24- 48- 60- 72- 96- 384- 1536- луночные планшеты различных производителей). Прибор оборудован двумя поршневыми диспенсерами для внесения реагентов (объем впрыска 5-1000 мкл), системами для термостатирования ($4^{\circ}\text{C} - 50^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) и встряхивания микропланшета.

**Наиболее значимые результаты,
полученные с использованием научного оборудования ЦКП:**

Спроектированы и синтезированы 6 простых модулей искусственных регуляторных элементов (СИ-элементы) и тест-системы для их тестирования; проведено генно-инженерное клонирование разработанных конструкций в культурах клеток млекопитающих; испытана эффективность использования СИ-элементов в трансгенных мышах; проведена поисковая работа по выяснению механизмов функционирования инсуляторов, защищающих трансген от действия окружающих негативных и позитивных регуляторных элементов.

Создан новый модульный рекомбинантный транспортер DTox-NMP-СЯЛ-ЭФР для доставки лекарственных агентов в опухолевые клетки с повышенной экспрессией рецепторов erbB1, что к настоящему времени выявлено в опухолях человека, имеющих различное происхождения (карциномы различной локализации, глиомы и многие другие).

В исследованиях по разработке генодиагностики и генотерапии рака определена экспрессия 15 антигенов, принадлежащих к различным семействам и 3 - дифференцировочных антигенов меланомы, проанализирован белок HLA-E, выделенный из лизатов клеток меланомы: показана экспрессия мРНК и локализация данного белка; в процессе исследований разработана методика выделения клеток меланомы кожи из тканевых образцов, проведена первичная характеристика опухолевых клеток и анализ антигенной специфичности выделенных опухолевых клеток.

**Наиболее значимые результаты,
полученные с использованием научного оборудования ЦКП:**

Приведено научное обоснование создания средств блокирования биологической функций ФРЭС (фактор роста эндотелия сосудов) с целью контроля за патологическим неоангиогенезом при нарушениях зрения, аутоиммунных заболеваниях и злокачественных опухолях; показано, что стратегия блокирования функций ФРЭС с помощью антител является наиболее перспективной; получены наноантитела к ФРЭС; изучена специфическая активность субстанции наноантител к ФРЭС на модельных животных *in vivo*.

Разработаны модельные тест-системы *in vitro* для определения влияния компонентов сырья растительного на пролиферацию опухолевых клеток в культуре.

Разработаны модельные тест-системы *in vitro* для определения влияния компонентов жирных кислот гидробионтов (ЖКГ) на пролиферацию опухолевых клеток в культуре.

Показана возможность использования семейства генов *tag7-tagL* в целях разработки новых подходов к терапии рака.

**Наиболее значимые результаты,
полученные с использованием научного оборудования ЦКП:**

Создана линия клеток, содержащая сайт для интеграции экспериментальных генетических конструкций в геном, обладающая свойством регулируемой экспрессии репортерного гена в строго воспроизводимом участке генома.

Составлена лабораторная пропись тест-системы для определения степени предрасположенности индивидуума к формированию злокачественных опухолей; составлена лабораторная пропись тест-системы для определения чувствительности злокачественных опухолей к химиотерапевтическим агентам, включая препараты Эрбитукс, Иресса, Тарцева; составлена лабораторная пропись тест-системы для определения степени клональности лимфом; составлена лабораторная пропись тест-системы для определения стратегии лечения генно-клеточными вакцинами.

Созданы два стимулирующих изолятора, которые позволяют увеличить наработку целевых белков в культуре клеток млекопитающих для достижения высокого и стабильного уровня наработки целевых белков в культурах клеток и тканях млекопитающих

Все научные результаты являются уникальными и востребованными.