

Андрей Гончаров,
директор Института биофизики
и клеточной инженерии НАН
Беларуси, кандидат медицинских
наук, доцент

Ирина Бушмакина,
заведующий научно-
производственным сектором
Института биофизики и
клеточной инженерии
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук

Елена Дуж,
заведующий лабораторией
иммунологии и вирусологии
Института биофизики и
клеточной инженерии
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук

Наталья Антоневиц,
ведущий научный сотрудник
Института биофизики и
клеточной инженерии
НАН Беларуси, кандидат
биологических наук, доцент

Светлана Суховеева,
заведующий лабораторией
молекулярной биологии и
биотехнологии клеток Института
биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси,
кандидат биологических наук

Людмила Кабашникова,
заведующий лабораторией
прикладной биофизики и
биохимии Института биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси, член-
корреспондент

Елена Кабачевская,
заведующий лабораторией
биофизики и биохимии
растительной клетки Института
биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси,
кандидат биологических наук,
доцент

Биотехнологическая коллекция культур клеток человека, животных, высших растений, водорослей и цианобактерий

Развитие важнейших и приоритетных направлений современных биологии, медицины, ветеринарии и земледелия, а также биотехнологических производств невозможно без широкого использования культур клеток человека, животных и растений. Существует более 1500 линий клеточных культур разнообразного происхождения, применяемых в различных областях медицины, биологии и биотехнологии [1, 2].

Для унификации диагностических методов и технологических приемов необходимо задействовать сертифицированные стандартизированные клеточные культуры. Решение данной проблемы в ведущих странах мира достигнуто путем формирования национальных коллекций клеточных культур, главная задача которых – выведение, сбор, характеристика и сохранение эталонных клеточных линий человека, животных и растений, а также обеспечение фундаментальных и прикладных исследований и биотехнологических производств надежным материалом. Наиболее крупными в мире являются Американская коллекция типовых культур (ATCC, American Type Culture Collection) и Европей-

ская коллекция клеточных культур (ECACC, European Collection of Authenticated Cell Cultures). Бурное развитие биоиндустрии и стремительно возрастающая ценность клеточных линий с сопутствующим уменьшением ограничений международного распространения клеток, имеющих практическое применение, стимулировали создание в течение последних десятилетий ряда новых национальных коллекций клеточных культур в странах Европы (Германии, Англии, Франции, России и др.) и Азии (Японии, Китае).

В Институте биофизики и клеточной инженерии в ходе реализации программ различного типа (ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологии», «Биотехнологии», «Биотехнологии-2»,

ГНТП «Агрокомплекс», ГП «Инновационные биотехнологии», ГП «Наукоёмкие технологии и техника», отдельные проекты НАН Беларуси, задания БРФФИ и др.) силами нескольких лабораторий – иммунологии и вирусологии, биофизики и биохимии растительной клетки, молекулярной биологии и биотехнологии клеток, прикладной биофизики и биохимии – были сформированы коллекции перевиваемых клеточных линий человека и животных, биомедицинских клеточных продуктов, образцов тканей растений и суспензионных клеточных культур, водорослей и цианобактерий, объединенные при выполнении отдельного проекта научных исследований НАН Беларуси в 2019 г. в общую биотехнологическую коллекцию культур клеток человека, животных, высших растений, водорослей и цианобактерий.

Коллекция перевиваемых клеточных культур человека и животных

На базе лаборатории иммунологии и вирусологии создана коллекция перевиваемых клеточных культур человека и животных, насчитывающая 37 линий. Организован криобанк, разработаны и утверждены два лабораторных регламента на производство монослойных и суспензионных перевиваемых линий клеток. Их консервация в состоянии глубокого замораживания (минус 196 °С) гарантирует сохранение жизнеспособности в течение длительного времени (десятки лет), исключает реинфицирование, генетические изменения, потерю морфогенного потенциала в культуре. Именно

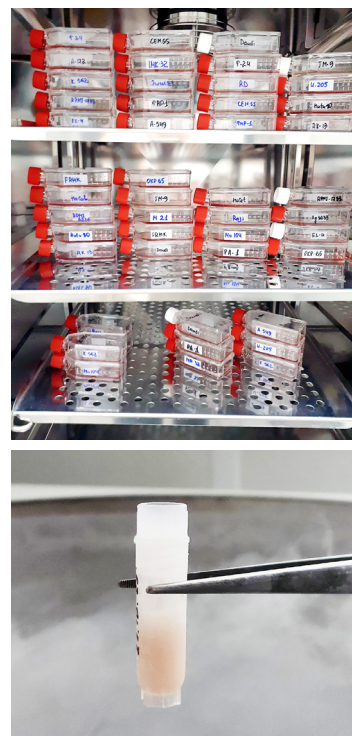
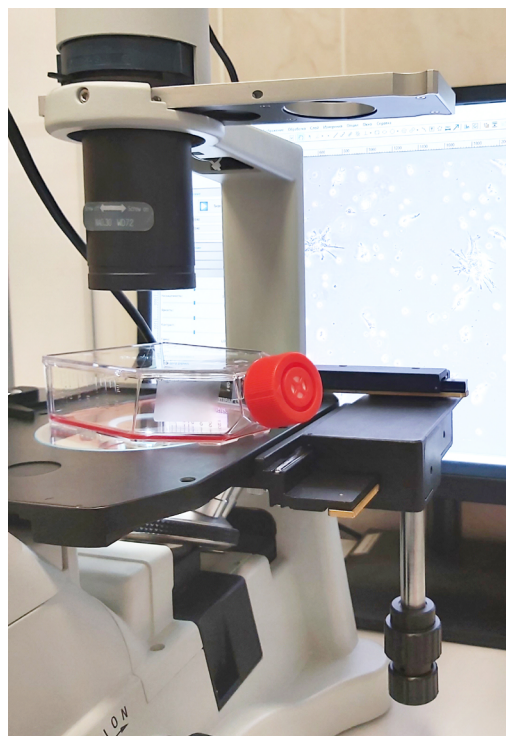


Рис. 1. Общий вид коллекции перевиваемых клеточных культур человека и животных

криотемпературы обуславливают торможение физико-химических реакций в клетках вплоть до их прекращения, остановку метаболических и генетических процессов, сохранение генетического аппарата в исходном состоянии (рис. 1).

Перевиваемая клеточная линия обладает рядом преимуществ над первичной культурой, которая имеет ограниченную продолжительность жизни после определенного числа делений и труднее культивируется и поддерживается. Основная функция коллекции криобанка – постоянное обеспечение научно-практических учреждений качественным охарактеризованным и стерильным биологическим материалом, разработка и внедрение новых технологий культивирования клеток, криоконсервации, восстановления из низкотемпературных условий их хранения, а также пополнение фонда. Созда-

ние криобанка, а также интерес к *in vitro*-методам актуальны и с этической точки зрения, так как такие подходы позволяют исключить эксперименты с участием животных, значительно снизить расходы на предварительные исследования и сократить сроки проведения доклинических испытаний.

Данные культуры клеток используются в вирусологии для диагностики инфекций, в иммунологии, иммунофармакологии, а также для фундаментальных и прикладных научных исследований в медицине и биологии. Коллекция постоянно пополняется и весьма востребована. Так, в рамках меморандумов о научном сотрудничестве лаборатории иммунологии и вирусологии взаимодействует с Витебским государственным ордена Дружбы народов медицинским университетом, ОАО «БелВитунифарм», ООО «ПРОМ-ТЕСТ»

(Ереван), Научно-практическим центром гигиены (Минск), БГУ, НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам, Федеральным исследовательским центром вирусологии и микробиологии (Россия), РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, ООО «PharmInterBio» (Узбекистан) в области клеточной биотехнологии и вирусологии.

Криобанк биомедицинских клеточных продуктов

В лаборатории молекулярной биологии и биотехнологии клеток и лаборатории иммунологии и вирусологии созданы коллекции биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), состоящие из мезенхимальных стволовых клеток (МСК), полученных от различных тканевых источников (жировая ткань, обонятельная выстилка, костный мозг, плацента), аутологичных фибробластов дермы, лимбальных стволовых клеток и др. (рис. 2).

В лабораториях имеются изолированные помещения, оборудование для длительного хранения БМКП при сверхнизких температурах без потери функциональных свойств клеток, установки для их программируемого замораживания.

Усилиями Института зарегистрированы 7 наименований БМКП:

- клетки стволовые мезенхимальные, ТУ ВУ 100217351.004-2014 изм. №1;
- клетки мезенхимальные стволовые пулированные, ТУ ВУ 100217351.017-2022;
- клетки мезенхимальные стволовые, индуцированные к дифференцировке в

остеогенном направлении, ТУ ВУ 100217351.014-2022;

- клетки дендритные моноцитарные, ТУ ВУ 100217351.016-2022;
- фибробласты дермы человека, ТУ ВУ 100217351.008-2019 изм. №1;
- клетки эпителиальные стволовые лимба роговицы человека, ТУ ВУ 100217351.012-2020;
- эквивалент тканевой кожи человека, ТУ ВУ 100217351.011-2020.

В 2023–2024 гг. при выполнении мероприятий ГП «Инновационные биотехнологии» лабораториями были разработаны 11 инновационных для Беларуси БМКП:

- клетки мезенхимальные стволовые с улучшенными иммуносупрессивными и противовоспалительными свойствами;
- клетки стволовые мезенхимальные, способные к дифференцировке в эндометриально-децидуальном направлении;
- клетки стволовые мезенхимальные, обогащенные внеклеточными везикулами;
- Т-лимфоциты регуляторные;
- клетки дендритные толерогенные;

- клетки киллерные цитокин-индуцированные;
- аллогенные естественные киллерные клетки;
- клетки паращитовидной железы человека;
- клетки волосяного фолликула;
- клетки ретинального пигментного эпителия;
- аллогенные фибробласты кожи.

В сотрудничестве с научными медицинскими организациями, подчиненными Министерству здравоохранения Республики Беларусь, созданы методы лечения заболеваний с помощью данных клеточных продуктов.

По результатам проведенных работ выпущено иллюстрированное справочное пособие «Атлас биомедицинских клеточных продуктов и перевиваемых культур клеток» с их описанием, предназначенное для сотрудников научных организаций, учреждений здравоохранения, занимающихся клеточными био- и медицинскими технологиями, а также для студентов [3].

Многие из полученных БМКП используются в Отделении клеточной терапии, функционирующем в Институте биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, для лечения пациентов с различными заболеваниями.

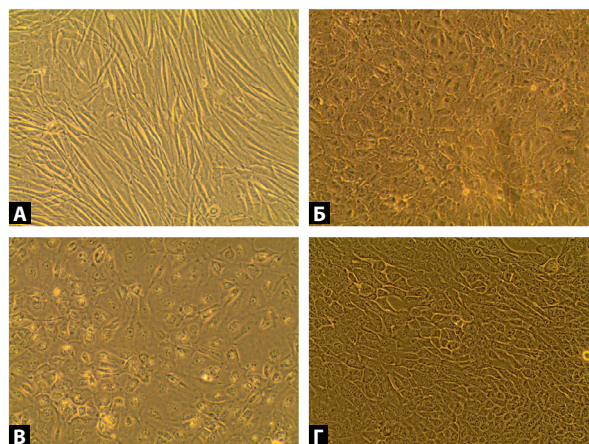


Рис. 2. Микрофотографии культур клеток человека: фибробластов кожи (А), ретинального пигментного эпителия сетчатки глаза (Б), паращитовидной железы (В), эпителиальных стволовых и прогениторных клеток лимба роговицы (Г). Фазово-контрастная микроскопия, 10 сут. культивирования, 3–5 пассаж, ув. × 100

Коллекция высших растений

Культуры клеток и тканей служат ценным источником биологически активных веществ (БАВ), что связано с их способностью продуцировать важные для медицины, парфюмерии и косметики соединения вторичного синтеза: алкалоиды, стероиды, гликозиды, гормоны, эфирные масла и др. Продуктивность культивируемых клеток в результате селекции может значительно превышать таковую у целых растений. Помимо биосинтеза важных соединений такие клетки способны к биотрансформации – превращению дешевых предшественников в ценный конечный продукт. Одними из самых распространенных вторичных метаболитов с антиоксидантными свойствами в тканях высших растений являются полифенолы. Полифенольные соединения можно получить в больших количествах при культивировании культур клеток и тканей, подвергая их воздействию различных химических и физических стимулов [4].

В современной научной практике наряду с традиционными широко внедряются методы исследований *in vitro*, основанные на концепции

трех R (reduction, refinement, replacement – снижение, уточнение, замена). Такие подходы позволяют значительно сократить расходы на создание современных биотехнологий, включающих производство биологически активных веществ и предварительные исследования новых перспективных химических препаратов, сократить сроки регистрационных испытаний [5].

Набор объектов растительного происхождения, которые можно перевести в культуру *in vitro*, достаточно широк. Как правило, большинство работ проводится с эксплантами разных органов, тканей и клеток семенных растений. Однако выращиваемые поверхностным способом на агаризованной питательной среде каллусные ткани и в жидкой питательной среде – суспензионные клеточные культуры требуют разных условий для роста в случае различных таксонов [6] (рис. 3).

На базе лаборатории прикладной биофизики и биохимии была сформирована коллекция культур клеток высших растений, включающая 40 образцов, из которых 35 – асептические каллусные ткани на твердых питательных средах, 5 – асептические суспензионные культуры клеток на жидких.

На все растительные объекты оформлены паспорта, разработаны лабораторные регламенты, а также создан атлас.

Коллекция водорослей и цианобактерий

Клетки цианобактерий и одноклеточных водорослей способны к синтезу самых разнообразных по своей природе веществ, многие из которых обладают доказанной фармакологической активностью, такой как противораковая, антиоксидантная и противовоспалительная [7]. Одни из самых ценных биологически активных соединений, производимых микроводорослями, – каротиноиды с высокой антиоксидантной активностью, в том числе фикоцианин, астаксантин, бета-каротин. Определенный интерес микроводоросли представляют также как источник омега-3 жирных кислот и полисахаридов. Некоторые роды, такие как *Nannochloropsis*, *Scenedesmus*, показали свою важность благодаря способности к биосинтезу длинноцепочечных жирных кислот (докозагексаеновой и эйкозапентаеновой) с противовоспалительными и иными ценными для человека свойствами [8].

Появляются данные, указывающие на потенциальную роль экстрактов спирулины и ряда других микроводорослей в снижении уровня холестерина, противовоспалительном и иммуномодулирующем действии [9]. Наиболее популярный в медицине способ применения спирулины – создание БАДов на основе экстрактов ее клеток и таблетированных форм сухой биомассы. Такие добавки могут способствовать восстановлению витаминной и минеральной недостаточности, выведению тяжелых металлов и радионуклидов, нормали-



Рис. 3. Фотография каллусной культуры клеток кориандра овощного (*Coriandrum sativum* L.) (А) и микрофотография суспензионной культуры клеток фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) сорта Анфиса (ув. $\times 10$) (Б)



Рис. 4. Общий вид коллекции микроводорослей на жидких и твердых средах

зации обмена веществ. Вытяжка хлорофилла спирулины используется как источник фотосенсибилизатора хлорина еб – активного вещества лекарственных препаратов (в том числе отечественного – «Фотолон® порошок» (Белмедпрепараты)) для фотодинамической терапии в онкологии и офтальмологии. В нашем институте с этой целью была разработана технология производства биомассы спирулины.

Коллекция водорослей Института биофизики и клеточной инженерии – единственная в стране, включающая живые альгологически чистые штаммы на жидких и плотных питательных средах – уникальный материал, не имеющий аналогов (рис. 4). Проводятся плановые пересевы культур, выращиваются маточные культуры.

Коллекция живых водорослей и цианобактерий, поддерживаемая

на базе лаборатории биофизики и биохимии растительной клетки, состоит из 40 штаммов, относящихся к 6 отделам (*Chlorophyta*, *Cyanophyta* (Cyanobacteria), *Euglenophyta*, *Chrysophyta*, *Rhodophyta*, *Xanthophyta*). Кроме того, она включает 2 вида водорослей, внесенных в Красную книгу флоры Республики Беларусь: *Cladophora aegagropila*, *Porphyridium purpureum*.

В настоящее время институт может производить в небольших объемах (до нескольких литров) маточные культуры (клеточные культуры высокой плотности и альгологической чистоты) спирулины, хлореллы и других микроводорослей. Они не предназначены для непосредственного использования в пищу или в медицине, но могут применяться потребителями для разведения культур микроводорослей в более крупных масштабах на больших

площадях в естественных водоемах или биореакторах.

Вышеизложенное дает основание считать, что Биотехнологическая коллекция культур клеток человека, животных, высших растений, водорослей и цианобактерий (с их перечнем можно ознакомиться на интернет-ресурсе <https://ibce.by/8182-2>) на базе Института биофизики и клеточной инженерии является уникальным научным объектом и может быть востребована как в исследовательской деятельности, так и в различных областях народного хозяйства, медицине и фармацевтике. ■

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Parodi B. Interlab cell line collection: bioresource of established human and animal cell lines / B. Parodi [et al.] // <http://doi.org/10.5334/ojb.ah>.
2. Корень С.В. Коллекция культур клеток человека и животных РНПЦ эпидемиологии и микробиологии: нынешнее состояние и перспективы развития / С.В. Корень [и др.] // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. ст. – Минск, 2015. Вып. 8. С. 162–168.
3. Атлас биомедицинских клеточных продуктов и перевиваемых культур клеток: спр. пособие / А.Е. Гончаров [и др.]. – Минск, 2020.
4. Индукция синтеза полифенольных соединений в культуре тканей бобовых растений / Л.Ф. Кабашникова [и др.] // Материалы V Междунар. науч.-методол. конф. «Роль физиологии и биохимии в интродукции и селекции сельскохозяйственных растений», 15–19 апр. 2019 г. – М., 2019. С. 320–323.
5. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М., 2002.
6. Егорова Т.А. Основы биотехнологии: учеб. пособие / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М., 2003.
7. Zhou T. A review on microalgae-mediated biotechnology for removing pharmaceutical contaminants in aqueous environments: Occurrence, fate, and removal mechanism / T. Zhou [et al.] // Journal of Hazardous Materials Advances. 2023. №443 (Pt A):130213. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.130213.
8. Khozin-Goldberg I. LC-PUFA from photosynthetic microalgae: occurrence, biosynthesis, and prospects in biotechnology / I. Khozin-Goldberg, U. Iskandarov, Z. Cohen // Applied Microbiology and Biotechnology. 91 (4), 905–915. 10.1007/s00253-011-3441-x.
9. Vieira M.V. Microalgae Encapsulation Systems for Food / M.V. Vieira, L.M. Pastrana, P. Fuciños // Pharmaceutical and Cosmetics Applications. Marine Drugs. 2020. №18(12):644. <https://doi.org/10.3390/md18120644>.