

Приложение 2

к приказу № 46 от 25.04.2024

**УТВЕРЖДАЮ**

Зам. директора ИИЦ РАН

*Осип*

С.С. Остроумова



### Перечень применяемых методик измерений Объектом инфраструктуры Центр клеточных технологий ИИЦ РАН

1. Выделение клеток из различных органов и тканей человека и животных (кожа, пупочный канатик, жировая ткань, слизистая оболочка ротовой полости, кровь, ткани глаза, костный мозг, мочевого пузыря, сердце, сосуды).
2. Характеристика и контроль качества клеток (морфология, экспрессия тканеспецифических маркеров, потенциал дифференцировки, молекулярная идентификация), определение жизнеспособности, индекса пролиферации, проверка на контаминацию.
3. Иммунофенотипирование. Окрашивание производится по стандартным методикам, рекомендованным производителями антител, на проточном цитофлуориметре (максимальное количество каналов флуоресценции - 10).
4. Получение первичных культур. Характеристика культуры клеток - определение специфичности, соответствие критериям дифференцировки в определенный тип клеток (окраска гистохимическими красителями - выявление щелочной фосфатазы, солей кальция, гликозаминогликанов, антителами, поверхностный фенотип), тесты на колониеобразование, формирование сфероидов.
5. Сортировка клеток зависит от культуры клеток и необходимого количества отсортированных клеток.
6. Криоконсервация клеточных образцов.
7. Создание банков клеточных линий разного происхождения.
8. Дифференцировка мезенхимных стволовых клеток, оценка дифференцировочного потенциала (окраска клеток специфическими красителями и антителами).
9. Посев и прижизненные наблюдения за культурой клеток на поверхности скаффолдов (инвертированная световая и сканирующая электронная микроскопия).
10. Подготовка образцов для сканирующей электронной микроскопии.
11. Биохимические методы исследования: метод белкового электрофореза; метод иммуноблоттинга; зимография;
12. Введение прижизненной метки (РКН-26, суперпарамагнитные наночастицы оксида железа) в различные клеточные линии с целью их последующей прижизненной визуализации в условиях *in vivo* с помощью метода МРТ, а также выявления меченных клеток в полученных биоптатах.  
Оценка эффективности и характера включения метки в клетки выполняется с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции.
13. Выделение коллагенов I, V типов из различных источников и получение растворов и гелей различной концентрации.
14. Создание носителей на основе синтетических и природных полимеров методом полива из раствора, выщелачивания и лиофильной сушки.
15. Исследование взаимодействия клеток с коллагеновым субстратом.
16. Разработка способа модификации полилактидных скаффолдов с целью создания тканеинженерных конструкций для восстановления поврежденных тканей.
17. Создание биосовместимых скаффолдов на основе природных полимеров (фиброин шелка, альгинаты), с заданными характеристиками прочности, скорости биodeградации и др). Приготовление композитных коллагеновых образцов.
18. Конфокальная микроскопия (прижизненная и фиксированных препаратов), в том числе приготовление препаратов для конфокальной микроскопии.
19. Тестирование лекарственных средств, изделий медицинского назначения, природных и синтетических материалов на клетках различного тканевого происхождения (адгезия, пролиферация, цитотоксичность, биосовместимость, др.).
20. Иммунофлуоресцентное исследование распределения меченных белков *in vitro*, в том числе изучение структуры цитоскелета.
21. Исследование кардиотоксичности лекарственных средств *in vitro*.

22. Методика оценки эндотелиопротекторных свойств лекарственных средств *in vitro*.
23. Методика оценки влияния лекарственного препарата на активность транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B и p53 (на основе RealTime PCR).
24. Методика оценки влияния веществ (лекарственных средств, косметических, бытовой химии, др.) на модели кожи *in vitro*.
25. Методика определения генотоксичности лекарственного средства, изделия медицинского назначения или материалов.
26. Методика характеристики клеточных линий терапевтического качества для создания биомедицинских клеточных продуктов (в рамках системы производства GMP).
27. Масс-спектрометрические методы исследования (МАЛДИ масс-спектрометрия в линейном режиме измерения масс, режиме рефлектрона и тандемном (MS/MS)). В том числе приготовление препаратов для конфокальной микроскопии и получение клеточных лизатов.
28. Хроматографические методы исследования (ВЭЖХ, ионообменная, аффинная хроматография, гель-фильтрация)
29. Кариотипирование клеток человека и животных.
30. Конфокальная микроскопия клеток в культуре, в том числе прижизненная, в том числе автоматизированная
31. Культивирование морфологически различных клеточных линий.
32. Электрофизиологический метод оценки влияния синтезированных полиеновых антибиотиков на ионную проницаемость плоских липидных бислоев, сформированных по методу Монтала и Мюллера. Изучение способности агентов проявлять мембранную активность. Измерение токов проводимости при фиксации трансмембранного напряжения в режиме одиночноканальных и мультиканальных измерений.
33. Флуориметрия утечки маркеров из липидных везикул.
34. Проточная цитофлуориметрия с определением концентрации клеток, митохондриального мембранного потенциала, уровня активных форм кислорода, уровня внутриклеточного Ca<sup>+</sup>, экспрессии флуоресцентных белков, экспрессии маркеров апоптоза, клеточного цикла, жизнеспособности, анализ кинетик окисления и восстановления генетически-кодируемого сенсора перекиси водорода.
35. Клеточный сортинг.
36. Иммуногистохимические исследования тканей животных.
37. Введение аденовирусного вектора в определенную область головного мозга крысы.