

УДК 57.085.23, 612.172.31, 577.352.54

К. И. Агладзе^{1,2}, В. В. Лебедев^{1,3}, М. Р. Трунин^{1,4}

¹Московский физико-технический институт (государственный университет),
Научно-образовательный центр «Бионанофизика»

²Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University, Киото, Япония

³Институт теоретической физики РАН им. Л. Д. Ландау

⁴Институт физики твердого тела РАН

О лаборатории биофизики возбудимых систем в МФТИ

Обсуждается стратегия развития экспериментальной лаборатории биофизики возбудимых систем научно-образовательного центра «Бионанофизика», организованной в МФТИ после первого конкурса мегагрантов. Приведены результаты двухлетних работ лаборатории, демонстрирующие достижение главной цели мегагранта — создание в МФТИ современной биофизической лаборатории, экипированной по последнему слову техники. Дано краткое введение к циклу статей лаборатории, опубликованных в данном номере журнала «Труды МФТИ».

Ключевые слова: сердце, стволовые клетки, тканевая инженерия, аритмия, фотоконтроль.

В специальном выпуске журнала «Труды МФТИ», посвященном юбилею Физтеха (2011, том 3, № 4), мы рассказывали о развитии научных исследований в НОЦ «Бионанофизика» МФТИ и, в частности, о становлении лаборатории «Наноконструирование мембранно-белковых комплексов для контроля физиологии клетки», в которой изучаются процессы, происходящие в сердечных клетках, разрабатываются методы фотоконтроля активности сердечной мышцы и технологии создания искусственных высокоструктурированных многослойных фрагментов сердечной ткани [1]. Официальным началом этой экспериментальной лаборатории считается ноябрь 2010 года, когда заявка от НОЦ под руководством К.И. Агладзе, выпускника факультета общей и прикладной физики и профессора Киотского университета, выиграла в конкурсе мегагрантов Правительства России. И сейчас в связи с окончанием проекта пришло время подвести его главные итоги.

Сразу заметим, что почва для создания лаборатории готовилась заранее с организации биофизических лекционных курсов, семинаров и практикумов для студентов 2–6 курсов факультетской кафедры ФОПФ, ремонтов помещений (примерно 200 кв. м в лабораторном корпусе МФТИ) и закупок первого оборудования из средств НОЦ «Бионанофизика» и Программы НИУ-МФТИ. На протяжении всего периода работы лаборатория получала и отбирала хорошо подготовленных и талантливых студентов Физтеха, которые вместе со своими научными руководителями сейчас составляют кадровый костяк лаборатории. Кроме этого, продуктивность исследовательской лаборатории во многом определяется ее «сервисом»: наличием грамотного вспомогательного персонала, организацией рабочих мест, своевременными закупками и поставками оборудования и расходных материалов (на это истрачено больше половины средств мегагранта), бухгалтерией, отчетностью, удобствами проживания сотрудников и т.д. Эту рутинную, но необходимую составляющую работы лаборатории обеспечивало руководство факультета.

Основные достижения лаборатории за двухлетний период работы:

1. Создана базовая платформа для тканевой инженерии в МФТИ

1.1. Налажена методика получения и культивирования первичной культуры неонатальных кардиомиоцитов.

1.2. Получены, ведутся и адаптированы к исследовательским задачам иммортализованные линии кардиомиоцитов HL-1, в том числе с трансфицированным геном канального родопсина 2.

1.3. Собрана и отлажена установка для получения полимерных волокон методом электроспиннинга. Получены нановолокна из полиметилглутаримида (PMGI), поликапролактона (PCL), полигидроксibuтирата (PHB), а также композитные волокна, импрегнированные углеродными нанотрубками.

1.4. Выращены лоскуты сердечной ткани на полимерных нановолокнах. Ведутся опыты на животных на базе ФГБУ «НИИ КПССЗ» СО РАМН.

2. Разработаны методы фотоконтроля возбудимых клеток с помощью азобензентриметиламмониумбромида (АзоТАБ)

2.1. Создана установка компьютерного фотоуправления сердечной культурой. Установка позволяет проецировать сгенерированные компьютером образы на слой культуры ткани и с помощью АзоТАБа задавать необходимую картину возбуждения.

2.2. На примере планарий с помощью АзоТАБа доказана возможность управлять светом поведением целого организма.

2.3. Произведен синтез новых фотосенсибилизаторов, производных азобензола и стильбена, позволяющих вывести метод фотоконтроля возбудимости кардиомиоцитов на новый уровень.

2.4. Показана возможность постоянного локального отключения возбудимости облучаемой ультрафиолетом сердечной ткани при очувствлении ее с-табом, сохраняющееся после полной его отмывки. Предварительные данные показывают, что этот метод фотосенсибилизации обладает меньшими повреждающими свойствами по сравнению с АзоТАБом. С-таб-очувствление будет использовано для контроля архитектуры культивируемой сердечной ткани и исследована возможность использования его в катетерной фотоабляции.

3. Разработана методика совместного выращивания сердечных клеток первичной культуры и иммортализованных для исследований интеграции клеток в единую проводящую сеть

Данная методика будет использована для исследования моделей регенерации клеток с помощью кардиомиоцитов, полученных из стволовых и плюрипотентных клеток.

Ниже, в этом номере журнала, публикуются несколько статей, выполненных сотрудниками лаборатории биофизики возбудимых систем в МФТИ. О чем же эти статьи? Читатель увидит, что спектр исследований достаточно широк: от современных наноматериалов до нелинейных волн, от культуры тканей — до малоуглового рассеяния. . . Что это — эклектика, отсутствие ясной цели? Конечно, нет. С самого начала в проект лаборатории была заложена концепция адаптивности и даже некоей универсальности. В современном быстро меняющемся научном мире невозможно годами «долбить свою узкую нишу», огромные средства и усилия легко могут пойти прахом из-за радикальных изменений научной картины мира. Приведем лишь один пример. В регенеративной медицине всегда остро стоял вопрос об иммунной совместимости имплантируемых тканей с реципиентом. Естественно, эта проблема встала и при использовании донорских стволовых клеток [2]. Много усилий различными исследовательскими группами было потрачено на такую модификацию имплантируемых клеток, которая позволяла бы преодолеть иммунную несовместимость. Однако мы живем в очень интересное время — как раз этой осенью Нобелевская премия по биологии была присуждена профессору университета Киото Шинья Яманака, открывшему в 2007 году способ перепрограммирования «терминально» дифференцированных клеток организма. И теперь вся схема процесса регенерации выглядит совершенно по-другому: берутся клетки кожи или соединительной ткани самого пациента, переводятся в так называемое *плюрипотентное состояние*, наращиваются в необходимых объемах, а затем переводятся в клетки органа, нуждающегося в восстановлении. Понятно, что все усилия по иммунной модификации тканей оказываются совершенно ненужными.

Кроме того, стратегия построения биофизической лаборатории в МФТИ определялась ее высокой долей автономности. В рамках, скажем, биомедицинского института или исследовательского центра вполне могут и успешно существуют узкоспециализированные

лаборатории: помогает кооперация и интеграция с коллегами. В МФТИ же собственная биологическая исследовательская база фактически отсутствовала. Например, один только вопрос работы с лабораторными животными повергал службы Физтеха в состояние, близкое к шоковому. Тем не менее при поддержке ректората и руководства факультета общей и прикладной физики удалось найти решение вроде бы «нерешаемой» проблемы и получить то, что мы сейчас имеем. **На Физтехе создана современная биофизическая лаборатория, экипированная по последнему слову техники.** И одним из свидетельств ее успешно начатой работы служат статьи, опубликованные в этом журнале.

Какие же методы представлены в лаборатории? В первую очередь это современная микроскопия: конфокальная, атомно-силовая, электронная. Параметры приборов выбирались так, чтобы можно было работать на объектах, представляющих как отдельную клетку, так и многоклеточный ансамбль — биологическую ткань. Оптические методы лаборатории представлены также уникальными установками, позволяющими вести оптическое картирование биологических тканей [3], т.е. исследовать пространственно-временную активность ткани с помощью флюоресцентных зондов. Электрофизиологические методы представлены современной установкой так называемого пЭтЧ-клампа [4]. Поскольку же объектом исследований служат культуры ткани как первичной, выделяемой из лабораторных животных, так и клеточные линии, в лаборатории представлен весь цикл оборудования, позволяющий вести работы с этими культурами. Наконец, для целей тканевой инженерии в лаборатории работают установки, позволяющие получать полимерные волокна с необходимыми физико-химическими параметрами.

Направление исследований было выбрано в области системной биологии. Наибольший интерес здесь представляла биофизика возбудимых систем, в частности сердечной ткани. Таким образом, в фокусе наших исследований оказалась сердечная ткань. В представленных ниже работах вы увидите первые результаты, полученные в МФТИ на культуре сердечной ткани, в том числе и на фотоуправляемой сердечной ткани. Неинвазивный фотоконтроль активности сердца представляет собой очень перспективное, с точки зрения приложений, направление исследований. В этой области в нашей лаборатории в МФТИ получили дальнейшее развитие технологии, первоначально созданные в лаборатории К.И. Агладзе в Киото [5]. Например, был проведен цикл работ, показавший, что с помощью света и специального вещества — АзоТАБа — можно управлять и поведением целого организма, такого, как планария. В настоящее время совместно с ИИХР (ЦВТ «ХимРар») ведутся работы по синтезу новых веществ, пригодных для фотоуправления возбудимыми тканями. Получили дальнейшее развитие и методы тканевой инженерии, базирующиеся на применении полимерных нановолокон [6]. Создаются первые искусственные лоскуты сердечной ткани, пригодные для модельной трансплантации лабораторному животному. Достигнута договоренность о совместных экспериментах в этом направлении с сотрудниками Кемеровского кардиоцентра.

Литература

1. а) *Трунин М.Р., Лебедев В.В.* Развитие научных исследований на факультете общей и прикладной физики МФТИ в Долгопрудном // Труды МФТИ. — 2011. — Т. 3, № 4. — С. 74–80; б) *Агладзе К.И.* Биофизика в МФТИ: опыт реализации 220-й Программы // Труды МФТИ. — 2011. — Т. 3, № 4. — С. 47–52.
2. а) *Karabekian Z., Posnack N.G., Gillum N., Sarvazyan N.* Immunological Barriers to Stem-Cell Based Cardiac Repair // *Stem cell rev. and reports.* — 2011. — V. 7. — P. 315–325; б) *Karabekian Z., Idrees S., Jamshidi A., Sarvazyan N.* Decreasing immunogenicity of ESC derived cardiomyocytes // *J. Immunology.* — 2012. — V. 188.
3. а) *Davidenko J.M., Pertsov A.V., Salomonsz R., Baxter W., Jalife J.* Stationary and drifting spiral waves of excitation in isolated cardiac muscle // *Nature.* — 1992. — V. 355. — P. 349–51; б) *Agladze K., Kay M. W., Krinsky Y., Sarvazyan N.* Interaction between spiral and

- paced waves in cardiac tissue // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2007. — V. 293. — P. 53–55 .
4. *Hamill O.P., Marty A., Neher E. et al.* Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches // *Pflugers Archiv-European J. Physiol.* — 1981. — V. 391. — P. 85–100.
 5. *Magome N., Kanaporis G., Moisan N., Tanaka K., Agladze K.* Photo-Control of Excitation Waves in Cardiomyocyte Tissue Culture // *Tissue Eng. Part A.* — 2011. — V. 17. — P. 2703–2711.
 6. *Orlova Y., Magome N., Liu L., Chen Y., Agladze K.* Electrospun nanofibers as a tool for architecture control in engineered cardiac tissue // *Biomaterials.* — 2011. — V. 32. — P. 5615–5624.

Поступила в редакцию 01.11.2012