МНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК» (ИЦиГ СО РАН)

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИЦиГ СО РАН
на корр. Кочетов А.В.
2018 г.

ОТЧЕТ О ВЫПОЛНЕННЫХ РАБОТАХ (ОКАЗАННЫХ УСЛУГАХ)

«ПОДДЕРЖКА И РАЗВИТИЕ ЦЕНТРА КОЛЛЕКТИВНОГО ПОЛЬЗОВАНИЯ НАУЧНЫМ ОБОРУДОВАНИЕМ «ЦЕНТР ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ» ПУТЕМ ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ БИОИМИДЖИНГОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ РЕАЛИЗАЦИИ ПРИОРИТЕТОВ НАУЧНОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ»

2017-14-595-0001

Соглашение о предоставлении субсидии от «28» августа 2017 г. № 14.621.21.0015 в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса на 2014-2020 годы»

(заключительный)

Этап № 2: «Укрепление технологической платформы, развитие приборной базы и освоение новых методов и методик. Апробация нового оборудования при выполнении собственных исследований и заявок сторонних организаций»

Руководитель работ

подпись, дата Мошкин М.П.

Новосибирск 2018

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель проекта, д-р биол. наук, проф.	28. 12. 20/8 подпись, дата М.П. Мошкин	
Исполнители:	LL.	
старший научный сотрудник, канд. биол. наук		
старший научный сотрудник, канд. биол. наук		- CO
аспирант	Астербо 22.13.2018 К.М. Ачасова подпись, дата	L
научный сотрудник, канд. биол. наук	18. (2 10 с8 Е.Ю. Брусени подпись, дата	
ведущий научный сотрудник, д-р биол. наук		кая
научный сотрудник, канд. биол. наук		
зав. ЦКП, канд. биол. наук	28.12.18 Е.Л. Завьялов подпись, дата	000
аспирант		
научный сотрудник, канд. биол. наук	—————————————————————————————————————	юва
младший научный сотрудник,		
аспирант	Сем 28.12. 2019 В.В. Кожевнин подпись, дата	кова
ведущий инженер, канд. биол. наук	— 28.12.2018 И.Е. Колосова подпись, дата	ı
научный сотрудник, канд. биол. наук	<i>Поту Де II. Догя</i> Г.В. Концевая подпись, дата	
главный научный сотрудник, ц-р биол. наук	<u>28.12.201</u> % А.В. Куликов подпись, дата	

старший научный сотрудник, канд. биол. наук		Е.А. Литвинова
Зам. Зав. ЦКП, канд. биол. наук	Подпись, дата	В.В. Мак
старший научный сотрудник, д-р биол. наук		М.Ю. Пахарукова
старший научный сотрудник, канд. биол. наук		Д.В. Петровск <mark>и</mark> й
старший научный сотрудник, д-р биол. наук	<u>Д. Г. Г. Г.</u> подпись, дата	И.А. Разумов
научный сотрудник, канд. биол. наук	Тому 28.12.18 подпись, дата	А.В. Ромащенко
научный сотрудник, канд. биол. наук	Согу 28.12. 2018 подпись, дата	Н.А. Синякова
инженер	Сотвые 28.12.20) подпись, дата	/ О.И. Соловьева
научный сотрудник, канд. биол. наук	Подпись, дата	Н.А. Феофанова
научный сотрудник, канд. биол. наук	2 8 17 18 подпись, дата	Н.В. Хоцкин
ведущий инженер		А.С. Хоцкина
научный сотрудник, канд. биол. наук	<u>Ужићи</u> 28.12./8 подпись, дата	А.С. Цыбко
студент		К.А. Шабалова
аспирант	жиу - 28.12.2018 подпись, дата	М.Б. Шарапова
инженер	Дил 28.12.2018 подпись, дата	О.Б. Шевелев
старший научный сотрудник, канд. биол. наук	11. 10 рин 28. 12. 2018. подпись, дата	Н.С. Юдин

РЕФЕРАТ

Отчет 96 с., 1 ч., 62 рис., 18 прил.

ЦЕНТР ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ, ВЫСОКОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ФЕНОТИПИРОВАНИЕ, МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫЙ ТОМОГРАФ, SPF-CTATYC, ЖИВОТНЫЕ-МОДЕЛИ ПАТОЛОГИЙ ЧЕЛОВЕКА

Цель проекта: Путем дополнительной комплектации Центра генетических ресурсов лабораторных животных инструментами биологического имиджа с рекордной разрешающей способностью сформировать научно-технологический комплекс прижизненной визуализации морфофункциональных и метаболических процессов, как основы для достижения нового уровня высокотехнологического фенотипирования при изучении на животных с целевыми мутациям механизмов формирования генетически детерминированных заболеваний, а также при выполнении работ в области трансляционных исследований, фармакологии, токсикологии и нанобиобезопасности. Повысить за счет установки дополнительных автоклавов надежность и производительность работы блока разведения животных, свободных от видоспецифических патогенов (specific pathogen free – SPF), и блока этолого-физиологических и фармакологических исследований — технологических компонентов ЦКП, которые обеспечивают все виды высокотехнологического фенотипирования экспериментальными объектами, соответствующими высшим мировым стандартам качества.

Выполнены работы за счет средств субсидии. Проведены мероприятия по утверждению окончательной комплектации, сроков и условий поставки дорогостоящего научного и технологического оборудования стоимостью свыше 1 млн. руб.: Микрофлюидная система для клеточной сортировки, Флюоресцентный микроскоп, Система записи состояния культуры клеток в реальном времени, Паровой стерилизатор, 2 шт. Процедуры на приобретение оборудования внесены в план-график Плана закупок ИЦиГ СО РАН. Аукцион на поставку оборудования на общую сумму 65 500 000 рублей размещен в ЕНС (http://www.sberbank-ast.ru/) 25-27.12.2018 г. Дата проведения аукционов 21.01.2019 г. Разработано 10 новых методик для прижизненного биологического имиджинга методами МРТ. Подготовлены к внедрению 3 новых услуги.

Объем привлеченных внебюджетных средств – 9 315 642,27 руб. Закуплены реактивы для исследований, специализированная одежда, корма для лабораторных животных; проведены мероприятия по: модернизации, содержанию и ремонту оборудования; метрологическому обеспечению деятельности ЦКП и повышению его открытости, доступности и востребованности; подготовке кадров; разработаны 2 стандартные операционные процедуры (СОПы) для упорядочивания работы на вновь закупленном оборудовании. Достигнуты все запланированные значения показателей результативности предоставления субсидии. Информация о ЦГР размещена на сайте http://temp.glplab.ru/.

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕРМИНЫ, ОПРЕДЕЛЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
1 Работы, выполняемые за счет финансирования из средств субсидии	8
1.1 Утверждение окончательной комплектации закупаемого современного	
дорогостоящего оборудования	8
1.2 Разработка и освоение 10ти новых методик исследований	10
1.3 Мероприятия по внедрению новых услуг	25
1.4 Закупка современного дорогостоящего научного и технологического оборудован	ия36
1.5 Монтаж и наладка закупленного оборудования	38
2 Работы, выполняемые за счет внебюджетных средств	40
2.6 Закупка расходных материалов	40
2.7 Метрологическое обеспечение деятельности ЦКП	45
2.8 Мероприятия, направленные на повышение открытости, доступности и	
востребованности ЦКП для третьих лиц	55
2.9 Мероприятия по подготовке кадров для ЦКП	72
2.10 Мероприятия по внедрению новых услуг	86
2.11 Мероприятия по модернизации, содержанию и ремонту научного и технологиче	еского
оборудования	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
Приложения	96

ТЕРМИНЫ, ОПРЕДЕЛЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

- CSI Chemical Shift Imaging (многовоксельная пространственно-локализованная магнитнорезонансная спектроскопия)
- DTI Diffusion tensor magnetic resonance (диффузионная тензорная магнитно-резонансная томография)
- FACS Fluorescence-Activated Cell Sorting (сортировка клеток с активированной флуоресценцией)
- FELASA Federation of European Laboratory Animals Science (Федерация европейских научных ассоциаций по лабораторным животным)
- fMRI функциональная магнитно-резонансная томография высокого разрешения
- GLP Good Laboratory Practice (Принципы надлежащей лабораторной практики)
- ISO International Organization for Standardization (Международная организация по стандартизации)
- MEMRI усиленная марганцем магнитно-резонансная томография
- MPF Macromolecular Proton Fraction (макромолекулярная протонная фракция)
- MRI усиленная марганцем магнитно-резонансная томографии высокого разрешения
- PRESS Point Resolved Spectroscopy (точечная спектроскопия)
- rsfMRI функциональная магнито-резонансная томография высокого разрешения
- SPF specific pathogen free, свободные от видо-специфических патогенов
- ИСО Международная организация по стандартизации
- ИФА иммуноферментный анализ
- МРС магнитно-резонансная спектроскопия
- МРТ магнитно-резонансная томография
- МР-томограф магнитно-резонансный томограф
- МУ-МРТ марганец-усиленная магнито-контрастная томография
- НГПУ Новосибирский государственный педагогический университет
- НГУ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
 (Новосибирский государственный университет)
- НЛП надлежащая лабораторная практика
- ОЛ обонятельная луковица
- ООЛ основная обонятельная луковица
- ОЭ обонятельный эпителий
- ПНЗ Приоритетная научная задача
- ПЦР полимеразная цепная реакция

РЧ – радиочастотное излучение

СМК – система менеджмента качества

СОП – стандартные операционные процедуры

ТГУ – Национальный исследовательский Томский государственный университет

ФМ – флуоресцентная микроскопия

ЦГР – Центр генетических ресурсов лабораторных животных

ЦКП – Центр коллективного пользования

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЯМР – ядерный магнитный резонанс

1 Работы, выполняемые за счет финансирования из средств субсидии

1.1 Утверждение окончательной комплектации закупаемого современного дорогостоящего оборудования

На данном этапе была утверждена окончательная комплектация закупаемого современного дорогостоящего научного и технологического оборудования стоимостью свыше 1 млн. руб., сроки и условия его поставки; подготовка аукционной документации. В рамках 2-го этапа проекта запланированы закупки: Микрофлюидная система для клеточной сортировки, Флюоресцентный микроскоп, необходимый для проведения иммуногистохимического изучения образцов головного мозга модельных животных, Система записи состояния культуры клеток в реальном времени, Паровой стерилизатор, 2 шт. (Современные экономичные и надежные автоклавы для блока разведения).

Получены коммерческие предложения на поставку:

1. Микрофлюидная система для клеточной сортировки.

- Коммерческое предложение № 6/н от 09.10.208 (ПРОДАВЕЦ: ООО «Лабвижн», г. Санкт-Петербург) на поставку «Проточный цитометр-сортировщик клеток FACSArial II, производства компании Бекстон Дикинсон, США»; на общую сумму 24 638 000 руб.
- Коммерческое предложение № 618 от 20.06.208 (ПРОДАВЕЦ: ООО «АлаМед», г. Москва) на поставку Системы MA900xCs16 для клеточного анализа в микрофлюидном формате с модулем для кинетических экспериментов; Производитель Sony Biotechnology, Япония; на общую сумму 24 888 822,20 руб.

2. Система записи состояния культуры клеток в реальном времени.

- Коммерческое предложение № 6/н от 09.10.208 (ПРОДАВЕЦ: ООО «Лабвижн», г. Санкт-Петербург) на поставку «Автоматизированная система для клеточного имиджинга Cytation I с рабочей станцией», производства компании Бекстон Дикинсон, США; на общую сумму 4 520 000 руб.
- Коммерческое предложение № 4218077-1 от 15.06.208 (ПРОДАВЕЦ: ООО «БиоЛайн», г. С-Петербург) на поставку многорежимного имиджера Cytation1 в комплекте; Производство: ВіоТек Instruments Inc. (США); Модификация: CYT1V Автоматизированная система для клеточного имиджинга; на общую сумму 4 960 000 руб.
- 3. **Флюоресцентный микроскоп**, необходимый для проведения иммуногистохимического изучения образцов головного мозга модельных животных.
- Коммерческое предложение № 150 от 17.12.2018 (ПРОДАВЕЦ: ООО «ОПТЭК», г. Москва) на поставку исследовательского микроскопа прямой конструкции Axio Imager.M2 в комплекте; на общую сумму 5 417 215 руб.

- Коммерческое предложение № 117 от 17.12.2018 (ПРОДАВЕЦ: ООО «КС-нано», г. Новосибирск) на поставку микроскопа Axio Imager.M2 в комплекте (Carl Zeiss, Германия) с блоком фотодокументирования; на общую сумму 5 420 119 руб.
- Коммерческое предложение № 144 от 18.12.2018 (ПРОДАВЕЦ: ООО «Компания Хеликон», г. Москва) на поставку микроскопа Axio Imager.M2 в комплекте, производства Carl Zeiss, Германия; на общую сумму 5 457 185 руб.

4. Паровой стерилизатор.

- Коммерческое предложение № 332_3/18 БС от 04.12.2018 г. (ПРОДАВЕЦ: ООО «БТМ-МММ», г. Москва) на поставку парового стерилизатора SELECTOMAT PL 12615-2G (2 шт.); монтаж в подготовленном помещении, пуско-наладочные работы, инструктаж обслуживающего персонала, работы по проведению валидации; на общую сумму 30 207 230 руб.
- Коммерческое предложение № 1 от 04.12.2018 г. (ПРОДАВЕЦ: Универсальная медицинская компания «СитекСервис», г. Москва) на поставку парового стерилизатора SELECTOMAT PL 12615-2G (2 шт.); монтаж в подготовленном помещении, пуско-наладочные работы, инструктаж обслуживающего персонала, работы по проведению валидации; на общую сумму 30 244 553 руб.
- Коммерческое предложение № 268/18 от 04.12.2018 г. (ПРОДАВЕЦ: ООО «Олимп Медикал», г. Санкт-Петербург) на поставку парового стерилизатора SELECTOMAT PL 12615-2G (2 шт.); монтаж в подготовленном помещении, пуско-наладочные работы, инструктаж обслуживающего персонала, работы по проведению валидации; на общую сумму 30 447 600 руб.

В настоящее время проведены все мероприятия по утверждению окончательной комплектации закупаемого на 2м этапе современного дорогостоящего научного и технологического оборудования стоимостью свыше 1 млн. руб., сроков и условий его поставки. Проведены все необходимые мероприятия для проведения процедуры закупок: получены коммерческие предложения, закупаемое оборудование внесено в основной план-график закупок ИЦиГ СО РАН, подготовлена документация для проведения электронного аукциона, проведена работа с поставщиками для заключения договоров на поставку данного оборудования, документация выставлена на электронный аукцион.

1.2 Разработка и освоение 10ти новых методик исследований

Сотрудниками ЦГР разработаны 10 новых методик исследований для прижизненного биологического имиджинга методами магнитно-резонансной томографии (МРТ) в изучении наиболее популярных объектов трансляционных исследований – мышей и зебровых рыбок – в Центре генетических ресурсов лабораторных животных:

- 1. Трактографическое исследование высокого разрешения мозга мелких лабораторных животных методом диффузионной магнитно-резонансной томографии (DTI);
- 2. Методика макромолекулярной протонной фракции (MPF) для количественной оценки миелинизации структур мозга лабораторных животных с использованием криогенной катушки;
- 3. Методика функциональной магнитно-резонансной томографии высокого разрешения в состоянии покоя (rsfMRI);
- 4. Методика усиленной марганцем магнитно-резонансной томографии высокого разрешения (MRI) для изучения нейрональных реакций зебровых рыбок;
- 5. Методика магнитно-резонансной ангиографии высокого разрешения с использованием криогенной катушки для автоматизированного построения 3D модели сосудистого русла;
- 6. Методика магнитно-резонансной томография эмбрионов лабораторных животных с использованием криогенной катушки;
- 7. Методика оценки скорости роста клеток с использованием системы записи состояния культуры клеток в реальном времени JuLI Stage;
- 8. Метод одновоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии печени;
- 9. Метод многовоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии (CSI);
- 10. Метод нелокализованной магнитно-резонансной спектроскопии ex vivo.

1.2.1 Трактографическое исследование высокого разрешения мозга мелких лабораторных животных методом диффузионной магнитно-резонансной томографии (DTI)

Настоящая методика описывает процесс трактографического исследования мозга мышей методом диффузионной тензорной томографии с использованием криогенной катушки. Методика включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для проведения диффузионной тензорной визуализации. Метод получил широкое применение для построения трехмерных моделей головного мозга и мышечных тканей, направлен на решение некоторых вопросов этиологии и патогенеза неопухолевых нейродегенеративных заболеваний головного мозга, таких как рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, эпилепсия. Трактографическое исследование высокого разрешения мозга мелких лабораторных

животных методом диффузионной магнитно-резонансной томографии (DTI) выполняется на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия) с использованием криогенной катушки 1H MRI CryoProbeTM. Обработка результатов измерения проводится в два этапа. На первом этапе полученные в ходе измерения данные о диффузии молекул воды в структурах мозга обрабатываются в программе Para Vision 5.0 при помощи функции DTI visualization. Результат обработки представлен набором двумерных посрезовых изображений головного мозга мыши с цветовым обозначением направления движения молекул воды (рисунок 1).

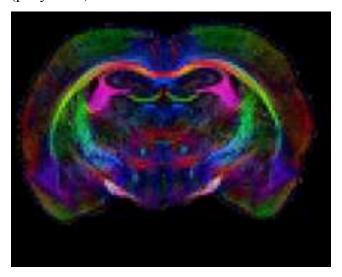


Рисунок 1 – Изображение DTI головного мозга мыши с использованием криогенной катушки

На втором этапе обработки полученных данных происходит 3D конструирование направлений движения молекул воды с использованием программы DTI Studio. В результате подобной обработки появляется возможность визуального отображения трактографической структуры головного мозга мыши (рисунок 2).

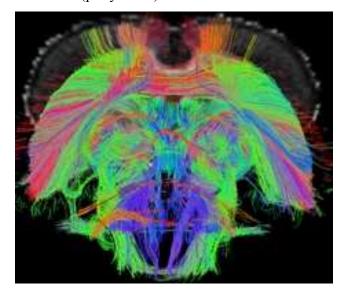


Рисунок 2 – 3D-реконструкция трактографических изображении DTI, полученных с помощью криогенной катушки

1.2.2 Методика макромолекулярной протонной фракции (MPF) для количественной оценки миелинезации структур мозга лабораторных животных с использованием криогенной катушки

Настоящая методика описывает процесс быстрого количественного высокоразрешающего трёхмерного картирования миелина мозга, основанного на MPF (Macromolecular Proton Fraction) и измерении протонной плотности с использованием криогенной катушки. Методика включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для количественного картирования миелина мозга с использованием криогенной катушки. Метод предназначен для количественной оценки миелинизации структур мозга лабораторных животных, что востребовано в области фундаментальных исследований и разработки высокотехнологичных инструментов здравоохранения. Исследование выполняется на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия) с использованием криогенной катушки 1H MRI CryoProbeTM. Разработано программное обеспечение для попиксельного расчёта карт MPF с коррекцией на содержание воды с использованием трех-компартментной модели. Результатом такого попиксельного расчёта являются карты MPF, Т1, протонной плотности и фракции необменивающейся воды (рисунок 3).

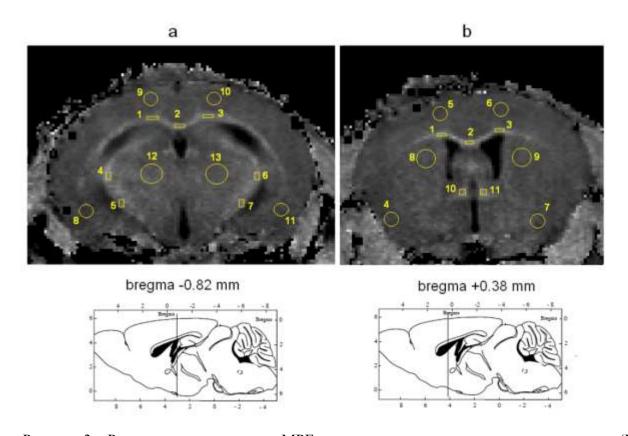


Рисунок 3 – Репрезентативные карты MPF с примером отмеченных регионов интереса (ROIs) для исследуемых структур мозга, в которых проводились измерения:

(a) – 0.82 mm от брегмы: 1, 2, 3 – corpus callosum; 4, 5, 6, 7 – capsula interna; 8, 9, 10, 11 - cortex cerebri; 12, 13 – thalamus. (b) +0.38 mm от брегмы; 1, 2, 3 – corpus callosum; 4, 5, 6, 7 – cortex cerebri; 8, 9 – caudoputamen; 10, 11 – anterior commissure

1.2.3 Методика функциональной магнитно-резонансной томографии высокого разрешения в состоянии покоя (rsfMRI)

Настоящая методика описывает процесс исследования локальной динамики концентрации дезоксигемоглобина, сопряженной с изменением активности нейронов мозга в состоянии покоя, методом функциональной магнито-резонансной томографии (rsfMRI) с помощью криогенной катушки; включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для проведения rsfMRI с использованием криогенной катушки. Метод предназначен для изучения активности нейронов мозга лабораторных животных в состоянии покоя, что востребовано при исследовании механизмов функционирования когнитивных систем. Исследование выполняется на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия) с использованием криогенной катушки 1H MRI CryoProbeTM. Обработка полученных изображений выполняется в свободно распространяемой программе SPM8, созданной на базе Matlab, Inc. Процессинг полученных имиджей проводят по стандартным протоколам (www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/). Для итогового представления результатов строятся пространственные карты распределения всех рассчитанных параметров по срезу, которые совмещаются в виде цветных пятен, полученных на основе псевдоокрашивания, с МРТ изображениями мозга животного (рисунок 4).

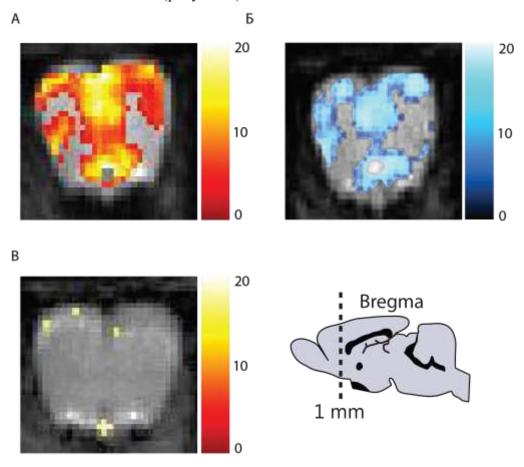


Рисунок 4 – Карты распределения значений функциональной связности (А), амплитуды низкочастотных колебаний (Б) и региональной однородности (В) вокселей на срезе

1.2.4 Методика усиленной марганцем магнитно-резонансной томографии высокого разрешения (MRI) для изучения нейрональных реакций зебровых рыбок

Настоящая методика описывает процесс исследования нейрональной активности за счет характеристики распределения марганца по структурам мозга зебровых рыбок методом марганец-усиленной магнито-контрастной томографии (МУ-МРТ) с использованием криогенной катушки; включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для проведения МУ-МРТ на зебровых рыбках. Метод предназначен для изучения нейрональных реакций зебровых рыбок в ответ на предоставление различных препаратов (в том числе антидепрессантов, ингибиторов захвата серотонина, флюокситина, ТС-2150 и др.), что востребовано при исследовании механизмов их действия на мозг позвоночных. Исследование выполняется на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия) с использованием криогенной катушки 1H MRI CryoProbeTM. Данная методика была отработана на примере исследования активации нейронов мозга зебровых рыбок в ответ на предоставление антидепрессантов, ингибиторов захвата серотонина, флюокситина и ТС-2150. Предварительную обработку МРТ сканов проводили в программе ImageJ, которая состояла из нескольких этапов: выравнивание изображений по горизонтали, выделение границ мозга рыбы, изменение размеров изображения. Накопление частиц марганца в клетках мозга рыбы выражали как отношение уровня МРТ сигнала в исследуемых структурах к уровню МРТ сигнала в референсном имидже, которым служила пробирка с 2 % агарозным гелем (10 мл). Обработку МРТ сканов проводили в программе ІтадеЈ (рисунок 5).

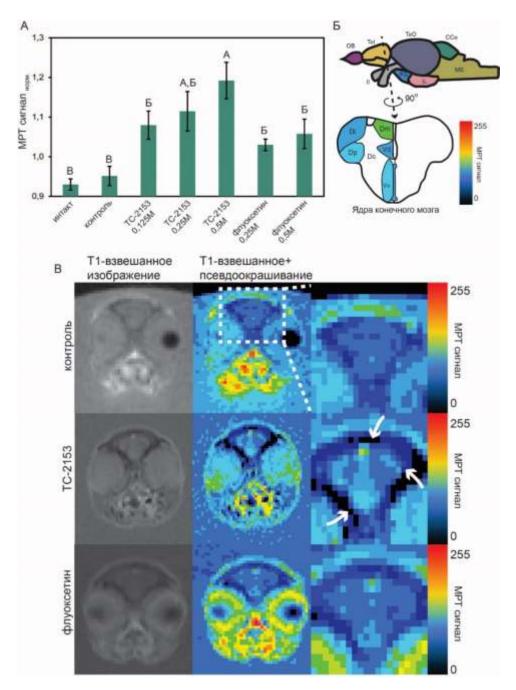


Рисунок 5 — Накопление ионов марганца в ядрах конечного мозга у рыб *Danio rerio* под воздействием TC-2153 и флуоксетина

А. Средние значения уровня МРТ сигнала в ядрах конечного мозга *Danio rerio* при предоставлении препаратов TC-2153 и флуоксетин в концентрациях 0.5-0.125 М. МРТ сигнал нормализован относительно референса (значения МРТ сигнала от 2% агарозы). A, Б, В – достоверные отличия по сравнению с контролем по LSD-тесту, p < 0.05.

Б. Схема организации ядер конечного мозга *Danio rerio*. Псевдоокрашивание отражает интенсивность MPT сигнала в данной области. Список сокращений: II – оптический нерв; ССе – мозжечок; D – дорсальная область конечного мозга; Dc – центральные ядра; Dl – латеральные ядра; Dm – медиальные ядра; Dp – задние ядра; IL – нижняя доля гипоталамуса; MS – спинной мозг; PG – прегломерулярные ядра; Tel – конечный мозг; TeO – верхнее двухолмие; Vd – дорсальные ядра вентральной области конечного мозга; Vv – вентральные ядра вентральной области конечного мозга.

В. Т1-взвешанные изображения накопления ионов марганца в ядрах конечного мозга рыб при предъявлении TC-2153 и флуоксетина в концентрации 0.5 М. Псевдоокрашивание отражает интенсивность MPT сигнала в данной области. Белыми стрелками обозначено накопление ионов марганца в ядрах конечного мозга *Danio rerio*

1.2.5 Методика магнитно-резонансной ангиографии высокого разрешения с использованием криогенной катушки для автоматизированного построения 3D модели сосудистого русла

Настоящая методика описывает процесс получения данных для автоматизированного построения 3D модели сосудистого русла с использованием магнитно-резонансной ангиографии высокого разрешения и криогенной катушки; включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для автоматизированного построения 3D модели сосудистого русла. Назначение и область применения метода — проведение фенотипирования сосудистого русла линий лабораторных животных для получения эмпирических данных, направленных на решение задач, связанных с пониманием этиологии и патогенеза заболеваний головного мозга, таких, как диабетическая энцефалопатия, болезни Альцгеймера, Паркинсона и др.

Результаты ангиографии для выполнения автоматизированного построения 3D модели сосудистого русла обрабатывают в два этапа:

- На первом этапе полученные в ходе измерения данные используют для восстановления геометрии кровеносных сосудов. На этом этапе используется программа ITK-SNAP.
- На втором этапе с помощью пакета ANSYS CFX численно решается начально-краевая задача гидродинамики в условиях сегментации сосудистого русла.

Результаты расчетов отображаются в виде трехмерных изображений полей вычисленных физических величин в специализированной программе ANSYS CFD-Post. Необходимые проекции сохраняются в отдельные графические файлы (рисунок 6).

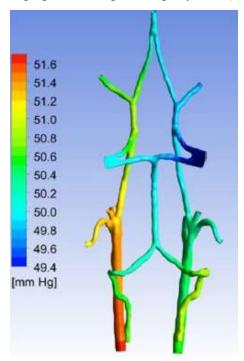


Рисунок 6 – Изображение карты распределения давления в сегментах сосудистого русла, полученного с использованием программы ANSYS CFX

1.2.6 Методика магнитно-резонансной томография эмбрионов лабораторных животных с использованием криогенной катушки

Настоящая методика описывает процесс магнитно-резонансной томографии эмбрионов лабораторных животных с использованием криогенной катушки; включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для магнитно-резонансной томографии эмбрионов лабораторных животных. Назначение И область применения метода: фенотипирование линий лабораторных животных – модельных объектов, предназначенных для решения вопросов репродукции (экстракорпорального оплодотворения), биологии индивидуального развития, а также в исследованиях нарушения эмбрионального развития под воздействием тератогенных факторов (в том числе лекарственных препаратов).

Методика выполняется на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия) с использованием криогенной катушки ¹H MRI CryoProbeTM. С использованием импульсных последовательностей получают Т1 и Т2 взвешенные изображения эмбрионов.

Результаты представлены в виде набора изображений -2D (рисунок 7) и 3D изображений (рисунок 8).

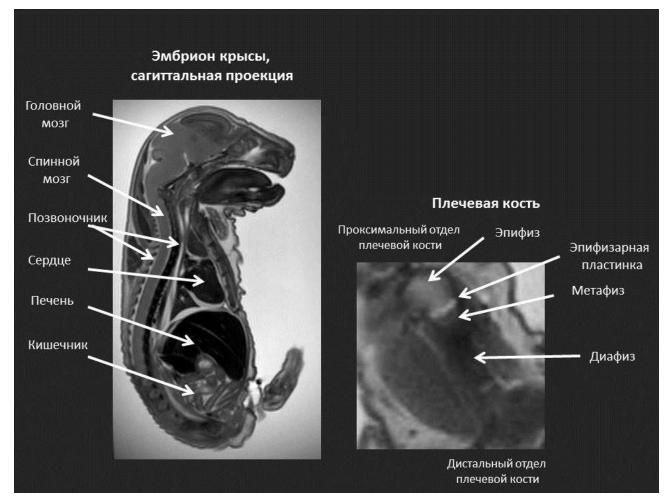


Рисунок 7 – Изображение эмбриона крысы и увеличенное изображение его плечевой кости, полученное с использованием метода магнитно-резонансной томографии



Рисунок 8 – 3D изображение эмбриона крысы, представленное в виде трех ортогональных плоскостей

1.2.7 Методика оценки скорости роста клеток с использованием системы записи состояния культуры клеток в реальном времени

Настоящая методика описывает процесс оценки скорости роста клеток с использованием системы записи состояния культуры клеток в реальном времени: включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для проведения оценки скорости роста клеток. Назначение и область применения метода – проведение продолжительной прижизненной съёмки и анализа динамических процессов, происходящих в культуральных объектах в ходе роста и развития: миграция, пролиферация, клеточный цикл, формирование колоний, анализ сфероидов, развитие ооцитов и эмбрионов, цитотоксичность, апоптоз, экспрессия генов, активность протеинкиназ, фагоцитоз. Область научно-практического применения включает в себя: изучение процессов пролиферации и апоптоза клеток; выявление, количественный анализ и распределение биомаркёров; разработку клеточно-опосредованных методов анализа при выявлении новых лекарственных препаратов; мониторинг лекарственной терапии;

доклинические испытания новых и воспроизведённых лекарственных препаратов *in vitro* в культуре клеток (цитотоксический тест, индукция апоптоза и некроза).

Метод с использованием системы записи состояния клеток и оценки скорости роста культуры клеток в реальном времени основан на автоматизированной фазово-контрастной и флуоресцентной микроскопии и съёмке объектов с последующей обработкой и анализом количественных данных по мере накопления снимков. Обработка получаемых фазово-контрастных и флуоресцентных снимков заключается в улучшении качества изображения (выравнивание фона, повышение контраста и яркости изображений), формировании видеофайлов (при необходимости), математическом анализе и наложении аналитической «маски» на изображение, выведении и экспорте результатов анализа в числовом виде и в виде графиков. Результаты съемки отображаются в виде набора двумерных снимков исследуемой культуры клеток (рисунок 9), либо в виде видеофайлов при необходимости отобразить изменения в динамике (рисунок 10).

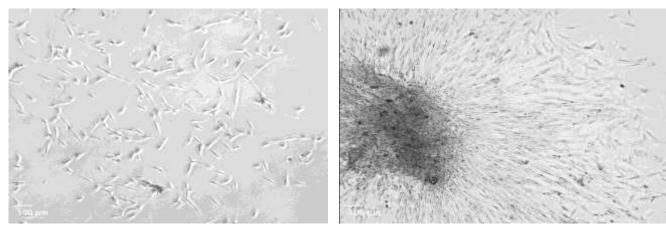
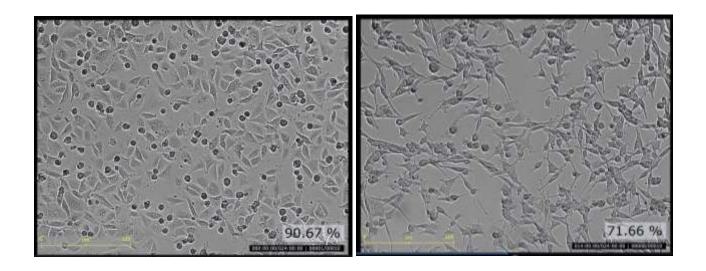


Рисунок 9 – Фотографии роста первичных клеток, полученных из эмбрионов, отражающие пролиферацию или размножение клеток в лунках 96-луночной платы в течение разных временных интервалов



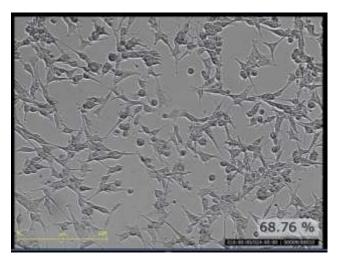


Рисунок 10 – Исследование динамики роста культуры клеток глиобластомы человека U-87MG с использованием системы записи состояния культуры клеток в реальном времени JuLI Stage

Возможно представление результатов в виде графиков (рисунок 11), отображающих динамику, таблиц данных с числовыми значениями выбранного параметра в каждой из временных точек (количество точек зависит от заданной периодичности и продолжительности съемки) либо гистограмм в зависимости от выбранного для анализа параметра.

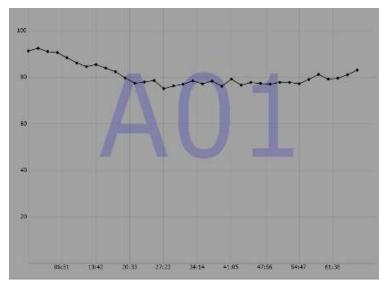


Рисунок 11 – График, отражающие пролиферацию или размножение роста первичных клеток, полученных из эмбрионов, в лунках 96-луночной платы в течение 60 часов

1.2.8 Метод одновоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии печени

Настоящая методика описывает процесс получения спектров ЯМР (ядерного магнитного резонанса) печени мелких лабораторных животных с помощью одновоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии; включает перечень необходимых операций и служит общим руководством для проведения одновоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии печени. Назначение и

область применения метода – решение некоторых вопросов этиологии и патогенеза заболеваний печени и желчных протоков, таких как описторхоз, алкогольный и медикаментозный цирроз печени и др. При выполнении измерений применяют сверхвысокопольный магнитнорезонансный томограф BioSpec 117/16 USR фирмы Bruker (Германия) с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла и криогенная радиочастотная катушка ¹H MRI CryoProbeTM. Калибровка томографа производится фирмой изготовителем (Bruker).

В первую очередь проводится получение Т2-взвешенных изображений печени мелких лабораторных животных. Для этого используется метод RARE (rapid acquisition with relaxation enhancement) с параметрами импульсной последовательности $TE_{eff} = 18$ мсек, TR = 900 мсек и синхронизацией с дыханием животного для минимизации шума от дыхательных движений животного. ¹H ЯМР спектры получают с помощью методики PRESS 1H (Point Resolved Spectroscopy) с параметрами импульсной последовательности – TE = 20 мсек, TR = 5000 мсек и количеством накоплений 250. Спектры отдельных метаболитов подвергались процедуре нормировки по амплитуде для сопоставления молярных концентраций.

Полученные результаты исследований представляют в виде спектра с характерными химическими сдвигами протонов водорода, входящих в состав разных метаболитов (рисунок 12).

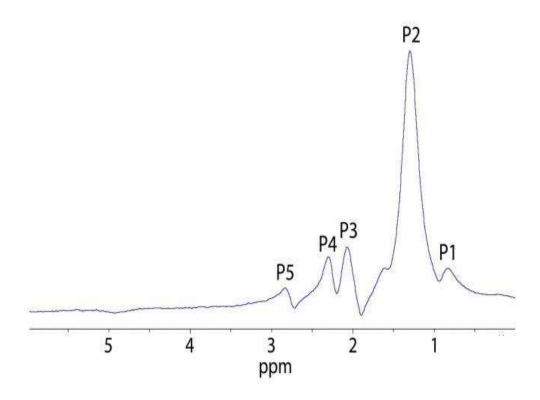


Рисунок 12 – 1 Н МР спектр метаболитов печени животного. Соединения, которым соответствуют пики спектра, обозначены следующими сокращениями: P1: метильный протон C**H**₃ (0.9 ppm); P2: метилен (–C**H**₂–)n (1.3 ppm); P3: -C**H**₂-CH = CH- (2.0 ppm); P4: -C**H**₂-COO- (2.2 ppm); P5: -CH = CH-C**H**₂-CH = CH- (2.8 ppm)

1.2.9 Метод нелокализованной магнитно-резонансной спектроскопии ex vivo

Методика описывает нелокализованную магнитно-резонансную спектроскопию ex vivo с использованием криогенной катушки (исследование содержания метаболитов в биологических образцах – тканях и органах животных). Назначение и область применения метода – получение метаболических профилей тканей и/или органов лабораторных животных разных генетических линий – модельных объектов широкого спектра патологий. Для этого используют сверхвысокопольный магнитно-резонансный томограф BioSpec 117/16 USR фирмы Bruker (Германия) с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла и криогенную радиочастотную катушку ¹H MRI CryoProbeTM. Калибровка томографа производится фирмой изготовителем (Bruker). В основе метода магнитно-резонансной спектроскопии (MPC) лежит эффект резонансного поглощения радиочастотного (РЧ) излучения системой атомных ядер, обладающих магнитным моментом и помещенных во внешнее магнитное поле. Несмотря на все преимущества метода МРС, он обладает таким существенным недостатком, как низкая чувствительность. Низкая интенсивность сигналов появляется как следствие малости магнитных моментов ядер и приводит к малому отношению сигнал/шум. Преимущество криокатушки CryoProbe перед обычным датчиком состоит в том, что катушки приема/передачи, а также соединительные цепи, работают при температуре жидкого гелия, тем самым снижая шум от хаотического движения электронов в проводниках. Использование датчиков типа CryoProbe ведет к уменьшению шума датчика и электроники и увеличивает отношение сигнал/шум от 3 до 5 раз. Результаты исследований представляют в виде 2D спектров метаболитов (рисунок 13).

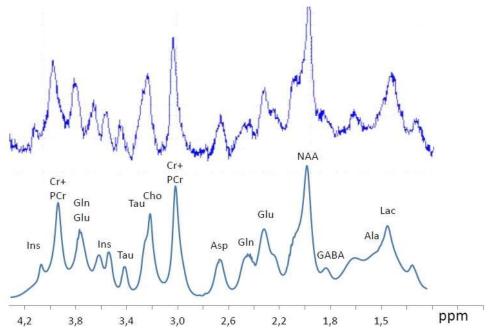


Рисунок 13 - Сравнение спектров метаболитов головного мозга мыши, полученных при помощи *in vitro* (верхний спектр) и *ex vivo* (нижний спектр)
Аббревиатуры: Ins – мио-инозитол; Cr – креатин; PCr – фосфокреатин; Glu – глютамат; Gln –

глютамин; Tau – таурин; Cho – холиновые соединения; Asp – аспартат; Ala – аланин;

1.2.10 Метод многовоксельной пространственно-локализованной магнитнорезонансной спектроскопии (CSI)

Методика описывает процесс получения спектров ЯМР (ядерного магнитного резонанса) с помощью многовоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии (CSI, Chemical Shift Imaging) головного мозга мелких лабораторных животных. Назначение и область применения метода — решение вопросов выявления нарушения метаболизма головного мозга, вызванного различными патологиями, а также выявление влияния различных препаратов на метаболизм при лечении этих патологий: изменение баланса нейромедиаторов (глутамин, глутамат/γ-аминомасляная кислота, глицин); изменение соотношения метаболитов, связанных с энергообеспечением головного мозга (таурин, лактат, креатин и фосфокреатин); изменение уровня метаболитов, характеризующих жизнеспособность нейронов и глиальных клеток (N-ацетиласпартат и мио-инозитол) и др.

Многовоксельная пространственно-локализованная магнитно-резонансная спектроскопия (CSI, Chemical Shift Imaging) — неинвазивный метод, применяемый в магнитно-резонансной томографии для количественного измерения некоторых метаболитов в тканях лабораторных животных *in vivo*. Изменение соотношения метаболитов может свидетельствовать о специфических повреждениях конкретных тканей организма. В отличие от метода одновоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии, метод многовоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии позволяет получить информацию о соотношении метаболитов не в одном конкретном участке, а сразу в нескольких участках головного мозга, а также выявлять пространственное распределение того или иного конкретного метаболита в разных отделах головного мозга.

Методика CSI выполняется на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия) с использованием криогенной катушки ¹Н MRI CryoProbeTM. В первую очередь проводится получение T2-взвешенных изображений головного мозга мелких лабораторных животных. Для этого используется метод RARE (rapid acquisition with relaxation enhancement). Сканы анализируются для выявления анатомических изменений или повреждений головного мозга. Срезы головного мозга с высоким разрешением также используются в качестве базиса для правильного позиционирования спектроскопических вокселей. С помощью методики CSI получают ¹Н ЯМР спектры. Перед каждым спектроскопическим измерением проводится настройка однородности магнитного поля в пределах выбранного вокселя с помощью методики FastMap. Подавление сигнала от воды в спектрах осуществляется с помощью импульса переменной мощности и оптимизированной задержки релаксационной последовательности (VAPOR).

Полученные результаты исследований представляются в виде спектров с характерными химическими сдвигами протонов водорода, входящих в состав разных метаболитов, распределенных по вокселям, на одном срезе (рисунки 14 и 15).

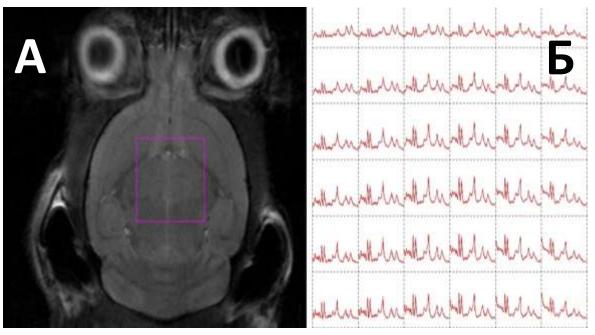


Рисунок 14 — Морфологический скан головного мозга лабораторной мыши, полученный методом многовоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии (CSI)

А – Область исследования (выделена квадратом) в мозге. Б – Протонные спектры (воксели), отображенные в специализированной программе ParaVision 5.0

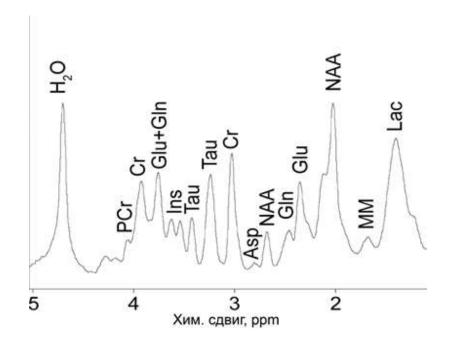


Рисунок 15 — ¹Н МР спектр метаболитов головного мозга животного (мышь), полученный методом многовоксельной пространственно-локализованной магнитно-резонансной спектроскопии (CSI) при последующей обработке в программе LCModel Соединения, которым соответствуют пики спектра, обозначены следующими сокращениями: Ins — мио-инозитол; Cr, PCr — креатинин ифосфокреатинин; Glu — глютамат; Gln — глютамин; Таи — турин; Asp — аспартат; NAA — N-ацетиласпартат; Lac — лактат; ММ — макромолекулы

Разработанные при выполнении проекта 10 новых оригинальных методик прижизненного биологического имиджинга методами магнитно-резонансной томографии (MPT) (http://temp.glplab.ru/o-kompanii/metodiki/) позволят впервые в России применять высокоэффективные томографические методы при исследовании объектов, моделирующих широкий спектр генетически детерминированных патологий, – лабораторных мышей и зебровых рыбок, являющихся наиболее популярными объектами трансляционных исследований.

1.3 Мероприятия по внедрению новых услуг

Использование закупленного по Соглашению уникального дорогостоящего оборудования позволяет предложить пользователям ЦГР новые услуги в области фенотипирования лабораторных животных — визуализация нейрональных процессов; выделение клеточной популяции, обладающей определенными свойствами, и сортировка клеток (стволовые клетки; дендритные клетки; тетрамеры; клетки, экспрессирующие флуоресцентные белки); исследование нейрональных клеток и клеток глиобластомы человека в реальном времени в ответ на различные воздействия. В дальнейшем данные высокотехнологичные услуги будут востребованы пользователями ЦГР из ИЦиГ СО РАН, других институтов, университетов и фармкомпаний не только Сибирского региона, но и из всей РФ.

1.3.1 Визуализация нейрональных процессов методами магнитно-резонансной томографии глубокого разрешения с оптическим контролем морфологических изменений структур мозга с использованием флуоресцентного микроскопа

Методика описывает процесс исследования нейрональной активности в головном мозге мелких лабораторных животных за счет характеристики распределения марганца по структурам марганец-усиленной магнито-контрастной томографии (МУ-МРТ) мозга методом использованием криогенной катушки и изучения, после иммуногистохимического окрашивания антителами на специфичные антигены, морфологического и нейрофизиологического состояния мозга с помощью флуоресцентной микроскопии (ФМ). Метод флуоресцентной микроскопии образцов тканей после иммуногистохимического окрашивания на специфичные антигены – это необходимый инструмент в биологии, позволяющий с помощью различных флуорохромов и антител идентифицировать морфологические структуры ткани, клетки и клеточные компоненты с высокой степенью специфичности. ФМ широко используется для выявления опухолей, и их нозологического варианта, позволяет диагностировать метастазы и первичные опухолевые очаги, обнаруживать злокачественную трансформацию клеток, делать прогноз относительно течения опухолевого заболевания и возможностей таргетной терапии, а также выявлять наличие резистентности клеток опухоли к лучевой терапии и химическим препаратам. При выполнении измерений применяют следующие основные средства измерений материалы: И

сверхвысокопольный магнитно-резонансный томограф BioSpec 117/16 USR фирмы Bruker (Германия) с напряженностью магнитного поля 11,7 Тесла (калибровка магнитно-резонансного томографа производится фирмой изготовителем, Bruker); криогенная радиочастотная катушка 1H MRI CryoProbeTM; флуоресцентный микроскоп Axio Imager M2 фирмы Zeiss; криомикротом Microm HM 550 фирмы Thermo scientific; антитела с флуоресцентной меткой.

Для оценки реакции клеток обонятельного эпителия (ОЭ) был использован метод марганец-усиленной МРТ с использованием криокатушки, основанный на магнито-контрастных свойствах ионов марганца и их способности накапливаться во внутриклеточном пространстве нейрона при деполяризации мембраны. ОЭ и основная обонятельная луковица (ООЛ) являются анатомически связанными областями, на основании этого возможно охарактеризовать паттерны реакции клеток ОЭ, исходя из сравнения паттернов накопления марганца в различных областях ООЛ при предъявлении запахового стимула и без него. Визуализация распределения полученных значений t-критерия по поверхности ООЛ представлена в виде «тепловых» карт (рисунок 16). Для численных оценок реакции мышей на запаховый стимул использовали общее число областей ОЛ, статистически достоверно отличавшихся по уровню МРТ сигнала, и, соответственно, по концентрации марганца, по сравнению с контролем.

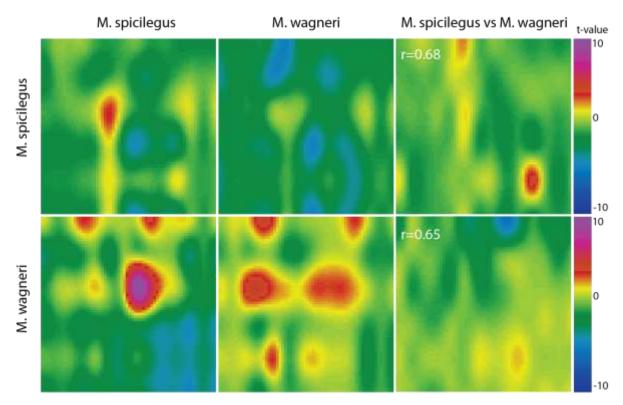


Рисунок 16 — Паттерны накопления ионов марганца в различных отделах основной обонятельной луковицы (ООЛ) самцов разных видов мышей — *M.m. spicilegus* и *M.m. wagneri* в ответ на предъявление запаха мочи кон- и гетероспецифичных самок

Псевдоокрашивание отражает достоверность увеличения (t > 0) или уменьшения (t < 0) интенсивности накопления контраста в различных отделах ООЛ в ответ на ольфакторный стимул по сравнению контрольной группой без запаха. Для каждого вида на рисунке приведены значения коэффициента корреляции паттернов реакции на запах M.m. spicilegus и M.m. wagneri

С помощью методов иммуногистохимии проводится окрашивание на клеточные маркёры с последующей визуализацией различных отделов мозга на клеточном и субклеточном уровне с использованием флуоресцентной микроскопии (рисунок 17).



Рисунок 17 — Схематическое изображение этапов методики визуализации морфологии мозга с помощью методов иммуногистохимии и флуоресцентной микроскопии

Основным результатом визуализации с помощью флуоресцентной микроскопии является микрофотография. При выборе различного увеличительного объектива можно получить микрофотографию, описывающую основную морфологию ткани, и при более высоком увеличении, на клеточном уровне посмотреть распределение в клетке маркёра. Результаты

измерений морфологических структур предоставляются в виде микрофотографий со шкалой измерений, при необходимости есть возможность оценить размер видимых структур (рисунок 18).

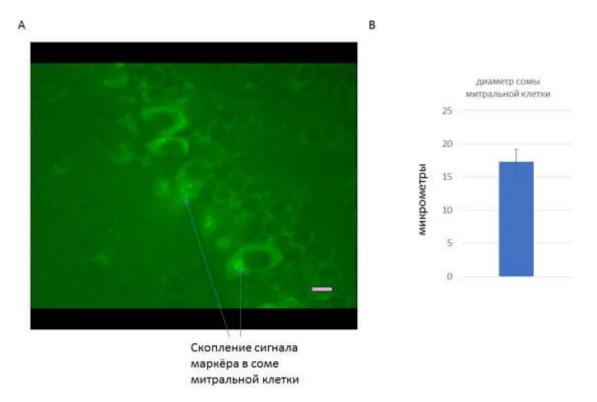


Рисунок 18 — Представление и обработка результатов флуоресцентной микроскопии А. Микрофотография митрального слоя клеток обонятельной луковицы мозга мыши. Шкала 10 мкм. Окрашивание антителами на маркёр фактора инициации трансляции eIF3n. Наблюдается скопление сигнала в соме митральной клетки, что свидетельствует о формировании стресс гранул. В. Гистограмма измерения размера сомы митральных клеток

1.3.2 Сортировка клеток, выделение клеточной популяции, обладающей определенными свойствами: анализ минорных клеточных популяций (стволовые клетки; дендритные клетки; тетрамеры; клетки, экспрессирующие флуоресцентные белки)

Методика описывает процесс анализа и выделения специфических клеточных популяций методом сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) за счет окрашивания поверхностных клеточных маркеров антителами, прижизненными красителями или экспрессии клетками флуоресцентных белков. Назначение и область применения метода – FACS широко используется для выделения популяций и отдельных клеток в зависимости от их размера, гранулярности и флуоресценции. Помимо фундаментальных исследований, технология FACS может применяться в ветеринарии (например, для сортировки сперматозоидов) и медицине (в диагностике онкогематологии (дендритные клетки); в иммунологии для анализа малых субпопуляций лимфоцитов, таких как Т-геg, Tx1/Tx2, α/γ -Т-лимфоциты; в исследовании процессов апоптоза, некроза, аутофагии (стволовые клетки; тетрамеры) и др.).

Для анализа и высокоскоростной сортировки клеток используется проточный цитофлуориметр – сортировщик BD FACSAria IIITM (Becton Dickinson, CША) 2B/3R/3V/5YG, не требующий пользовательской юстировки; Система автоматизированной подачи растворов для сортера BD FACSAria III – подкатная платформа для размещения емкостей для проточной жидкости, отработанного раствора, жидкостей для обслуживания (этиловый спирт, промывающий раствор, дистиллированная вода) и встроенный компрессор; Управляющая рабочая станция FACStation на основе компьютера HP; Универсальное программное обеспечение BD FACSDiVaTM для сбора и анализа данных.

Технология FACS (Fluorescence-Activated Cell Sorting – сортировка клеток с активированной флуоресценцией) представляет собой способ очистки и выделения популяций клеток требуемого фенотипа, поскольку экспериментальные и клинические исследования зачастую требуют выделения высокоочищенных популяций клеток. FACS имеет несколько преимуществ по сравнению с другими доступными методами. FACS является предпочтительным методом, когда требуется очень высокая чистота очистки целевой популяции клеток или когда целевая популяция клеток экспрессирует маркеры на низком уровне, а также когда разделение клеточных популяций основано на дифференциальной плотности маркера. Кроме того, FACS является единственным доступным методом очистки и выделения клеток на основе окрашивания внутриклеточных маркеров или экспрессии флуоресцентных белков. FACS позволяет очищать отдельные клетки в зависимости от размера, гранулярности и флуоресценции (рисунок 19).

Для технологии FACS требуется проточный цитометр с возможностью сортировки и соответствующим программным обеспечением. Для очистки клетки, представляющие интерес, сначала окрашиваются флуоресцентно мечеными антителами, которые распознают специфические поверхностные маркеры в требуемой популяции клеток, либо возможен отрицательный отбор неокрашенных ячеек. Суспензия клеток подается в измерительную кювету, где за счет гидрофокусировки формируется тонкий поток, содержащий данные клетки (рисунок 19). Проходя в составе потока через луч лазера, клетки вызывают рассеяние света, которое фиксируется детекторами прямого и бокового светорассеяния, а также генерируют специфический сигнал флюоресценции. На основе этих параметров система детектирует клетки, представляющие интерес. Далее поток, за счет пьезоэлемента, разбивается на отдельные капли, и капли, содержащие целевые клетки, получают электростатический заряд, за счет которого отклоняются от общего потока и попадают в нужную пробирку или лунку планшета. Параметры сортировки можно регулировать в зависимости от требований чистоты и скорости сбора целевой популяции клеток. Несмотря на то, что FACS требует специализированного оборудования и обучения оператора, этот метод является предпочтительным для изоляции высокоочищенных популяций клеток.

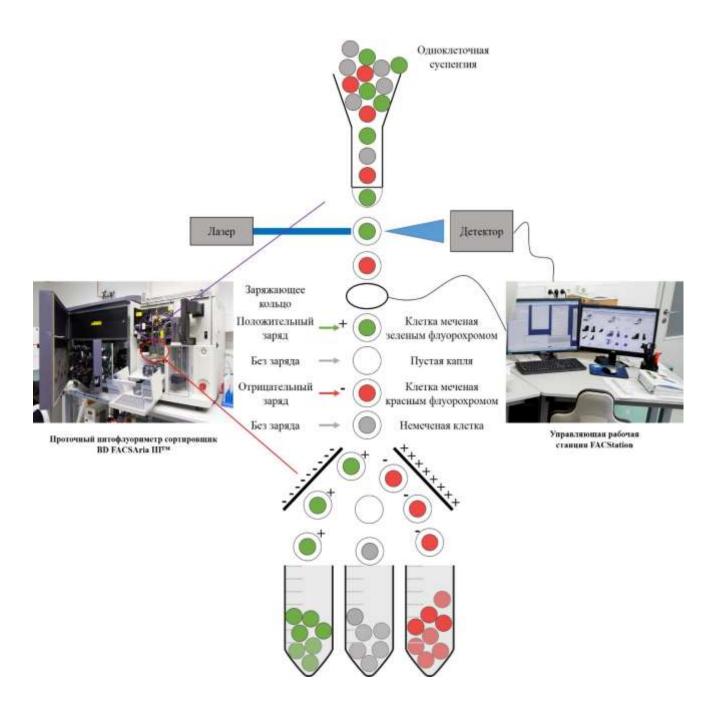
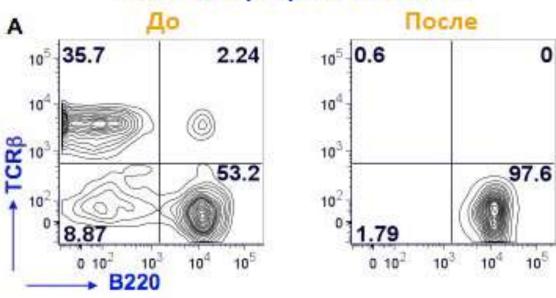


Рисунок 19 – Схематическое изображение процесса сортировки клеток

Универсальное программное обеспечение BD FACSDiVaTM позволяет собирать данные и проводить расширенный статистический анализ исследуемых объектов, на основании которого определяются границы (гейты) популяций и субпопуляций клеток. Для анализа необходимо наличие отрицательного контрольного образца, сигнал от которого принимается за базовый.

В качестве примера представлены результаты сортировки спленоцитов и CD4 Т-клеток мыши (рисунок 20).

Чистота сортировки В-клеток



Чистота сортировки CD4 Т-клеток

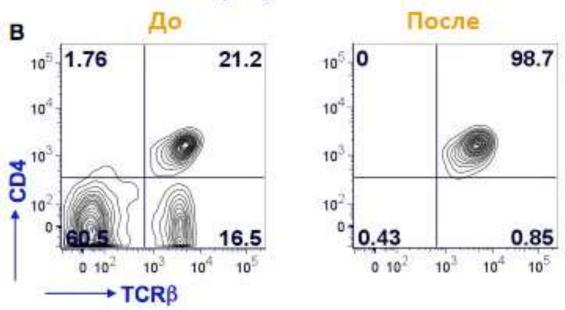


Рисунок 20 – Пример сортировки клеток Спленоциты мыши были окрашены антителами против B200, TCR-beta и CD4. Сортировка Вклеток проводилась на проточном сортирующем цитофлуориметре BD FACSAria IIITM А – сортировка популяции В-клеток B200⁺ TCR-beta⁻. Б – сортировка популяции CD4 Т-клеток TCR TCR-beta⁺ CD4⁺

Результаты проточной цитометрии и сортировки клеток представляются в виде гистограмм и/или псевдо-3D дот-плотов, а также таблиц, содержащих результаты статистического анализа полученных измерений (рисунок 21).

FACSDiva Version

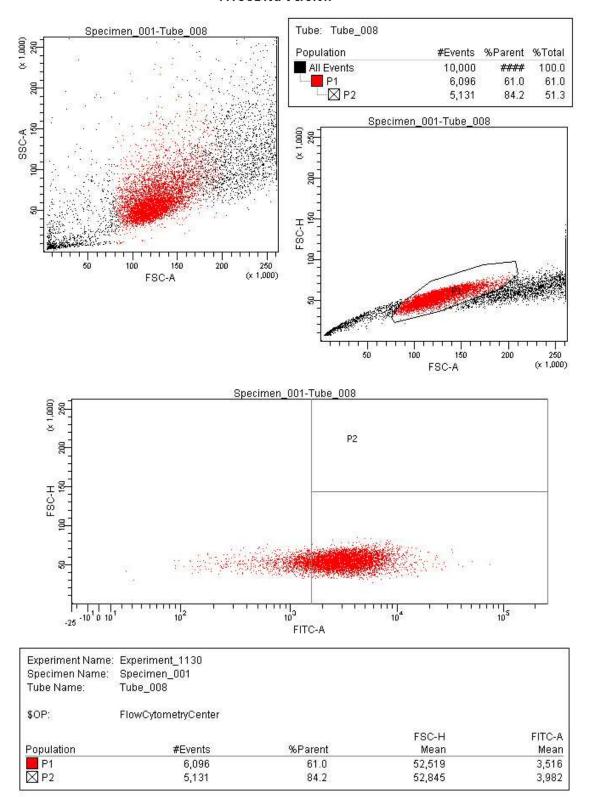


Рисунок 21– Обработка результатов проточной цитометрии Для анализа были использованы клетки эмбриональной почки человека (линия НЕК 293), транфицированные плазмидой, кодирующей зеленый флуоресцентный белок TurboGFP. Анализ клеток проводился через 48 часов после трансфекции.

На таблице в верхней части рисунка представлены данные об общем количестве событий, выделенных популяциях и их соотношении. В таблице в нижней части рисунка представлены данные (среднее значение и медиана) об интенсивности флуоресцентного сигнала для каждой из популяций клеток

Таким образом, на основании данной методики будет внедрена новая услуга для пользователей ЦГР – сортировка клеток и выделение клеточных популяций, обладающих определенными свойствами: анализ минорных клеточных популяций (стволовые клетки; дендритные клетки; тетрамеры; клетки, экспрессирующие флуоресцентные белки).

1.3.3 Оценка изменения состояния культуры нейрональных клеток и клеток глиобластомы человека в реальном времени в ответ на различные воздействия

Настоящая методика описывает процесс тестирования и анализа изменения состояния культуры нейрональных клеток и клеток глиобластомы человека в реальном времени в ответ на различные воздействия без окрашивания (label free) и за счет окрашивания поверхностных клеточных маркеров антителами, прижизненными красителями или экспрессии клетками флуоресцентных белков. Назначение и область применения метода — метод широко используется для научно-исследовательских и медицинских целей при определении как состояния клеток, так и числа жизнеспособных и мертвых клеток, в том числе:

- при оценке состояния культуры нейрональных клеток и клеток глиобластомы;
- в исследованиях токсичности препаратов и наночастиц;
- при совместном культивировании клеток;
- в тестировании нефротоксичности и гепатотоксичности *in vitro*;
- при определении скорости пролиферации клеток.

Для исследования функционального ответа клеток на воздействия:

- определение гипоксии клеток и окислительного стресса, в том числе с использованием индукторов и ингибиторов;
- тестирование трансдукции сигнала и активации транскрипции в системе STAT белков, в том числе с использованием ингибиторов;
- изучение процессов апоптоза, некроза, аутофагии клеток под воздействием различных факторов и соединений;
- анализ миграционной и инвазионной способности клеток;
- трекинг клеток, отслеживание зарастания поверхности (wound healing);
- определение мембранного потенциала митохондрий (анализ функции клеточного дыхания при воздействии препаратов);
- определение накопления липидов в клетках (фосфолипидоз, стеатоз);
- оценка генотоксичности, анализ повреждений ДНК.

Для анализа изменения состояния культуры клеток и клеток глиобластомы в реальном времени используется фотометр-имиджер Cytation. Многорежимный имиджер Cytation – это

многофункциональная система, которая сочетает автоматическую цифровую широкопольную микроскопию (флуоресцентную и высококонтрастную визуализацию в светлых полях) с традиционным многорежимным считыванием в микропланшетах для получения фенотипической информации о клетках и количественных данных в лунках планшетов. Программное обеспечение, гибкий протокол анализа и обработки данных, настраиваемый под любой тип клеток, позволяет производить подсчёт клеток, оценивать пролиферативную активность и время удвоения в монокультурах, а также учитывать эти показатели для каждой из клеточных линий при культивации в реальном времени.

Результаты съемки отображаются в виде набора двумерных снимков исследуемой культуры клеток (рисунки 22 и 23), либо в виде видеофайлов, чтобы при необходимости отобразить изменения в динамике.

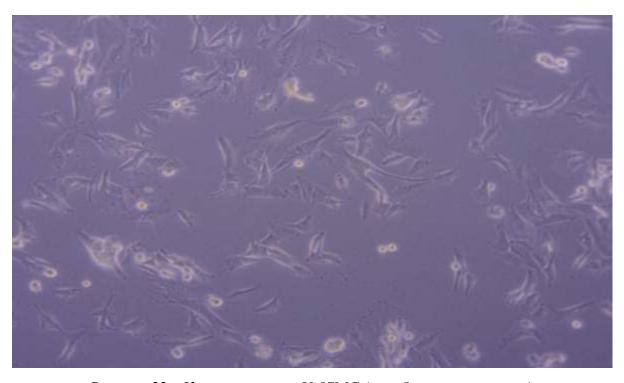


Рисунок 22 – Культура клеток U-87MG (глиобластома человека)

Результаты анализа отображаются также в виде графиков (рисунок 24), отображающих динамику, таблиц данных с числовыми значениями выбранного параметра в каждой из временных точек (количество точек зависит от заданной периодичности и продолжительности съемки) либо гистограмм в зависимости от выбранного для анализа параметра.

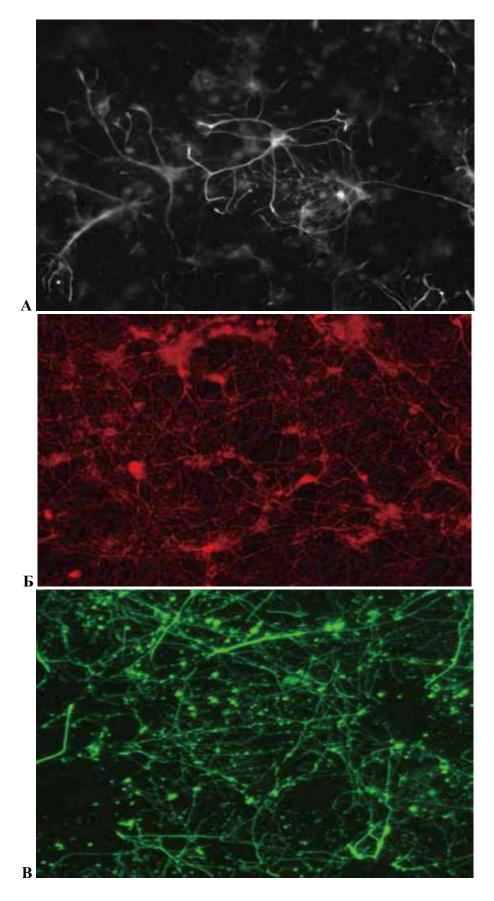


Рисунок 23 – Культура первичных кортикальных нейронов мыши: A – неокрашенных и Б, В – окрашенных препаратами с различными флуорохромами

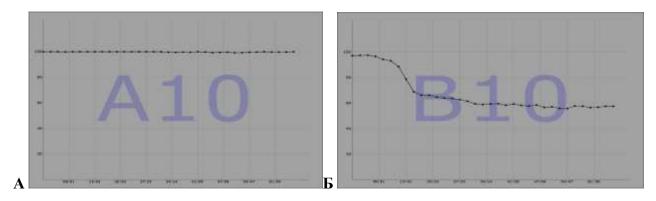


Рисунок 24 — Выявление цитопатического эффекта наночастиц оксида марганца на рост опухолевых клеток U-87MG

A – кривая роста контрольных клеток; \overline{b} – кривая роста клеток под воздействием наночастиц (цитопатический эффект). По оси ординат – % процент живых клеток, по оси абсцисс – период перевивания или инкубации клеток в часах

Таким образом, на основании данной методики будет внедрена новая услуга для пользователей ЦГР – оценка изменения состояния культуры нейрональных клеток и клеток глиобластомы человека в реальном времени в ответ на различные воздействия. Использование многорежимного фотометра-имиджера Cytation в ходе исследований с живыми клетками позволит не только визуализировать образцы, но и проводить их количественный анализ, а также обеспечит имиджинг и считывание широкого спектра флуорохромов и получение фенотипических количественных данных. В результате исследователь получает высокое качество количественных и качественных анализов живых клеток при различных воздействиях во всех режимах считывания и в реальном времени.

Описание разработанных услуг доступно на сайте ЦГР: (http://spf.bionet.nsc.ru/%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B5%D1%87%D0%B5%D0%BD%D1%8C-%D1%83%D1%81%D0%BB%D1%83%D0%B3-%D1%86%D0%BA%D0%BF/).

1.4 Закупка современного дорогостоящего научного и технологического оборудования

В 2018 г. выполнены все мероприятия по использованию остатка средств субсидии по Соглашению о предоставления субсидии от 28.08.2017 г. № 14.621.21.0015 г за 2017 г. в размере 72 462 818,03 руб. Данный остаток потрачен на цели, запланированные в Соглашении:

1. Приобретена Крио-катушка MRI CryoProbe в комплекте для MRT BioSpec117/16 USR – **70 392 199.94 руб.** Для обеспечения запланированной закупки были проведены все мероприятия, которые требуются для приобретения дорогостоящего научного оборудования стоимостью свыше 1 млн. руб. От ФАНО России получено Согласование совершения крупной сделки (№ 007-18.1.3.-10/AC-2759 от 27.11.2017), связанной с проведением аукциона в электронной форме на право заключения контракта на поставку научного оборудования:

криокатушки MRI CryoProbe в комплекте для MP-томографа BioSpec 117/16 USR с начальной (максимальной) ценой сделки 70 400 000 руб., в том числе НДС, сроком поставки, монтажа и пуско-наладки оборудования в течение 270 дней с даты заключения контракта и источником финансирования за счет средств выделенной из федерального бюджета субсидии для финансового обеспечения (возмещения) затрат, связанных с выполнением работ по Соглашению № 14.621.21.0015 от 28.08.2017. Документы на поставку криокатушки MRI CryoProbe TM для MPT Biospec 117/16 USR ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН были размещены на открытом электронном аукционе ЕНС (http://www.sberbank-ast.ru/) 02.03.2018 г. (Извещение о проведении электронного аукциона для закупки № 0351100003718000005 от 02.03.2018 г.).

Криокатушка поставлена в ЦГР (Счет на оплату № 298 от 28.11.2018, ООО «Спектранта», г. Москва; Счет-фактура № 284 от 28.11.2018; Акт приема-передачи товара № 1 от 28.11.2018 по Контракту № ОЭА01/2018 от 02.04.2018; платежное поручение № 481899 от 03.12.2018).

- 2. Приобретение биохимических реагентов (наборы ПЦР и ИФА) для выполнения диагностики бактериальных и вирусных инфекций у лабораторных животных (лабораторных мышей, крыс и хомяков) методами ПЦР в реальном времени и иммуноферментными методами **709 800.00 руб.** (Счет на оплату № 3 от 05.03.2018, ООО «Белки-Биотехнологии», г. Новосибирск; Товарная накладная № 3 от 05.03.2018; платежное поручение № 259665 от 08.05.2018).
- 3. Приобретение программного обеспечения **1 360 818.09 руб.** (Счет на оплату № 834-L от 12.01.2018, ООО Научно-производственная компания «Контакт», г. Новосибирск; Счетфактура № 11 от 12.01.2018; Акт приема-передачи прав на использовании программ № 11 от 12.01.2018 по Договору № ОЭА100/2017 от 10.01.2018; платежное поручение № 218668 от 07.05.2018).

В 2018 г. проведены все мероприятия по утверждению окончательной комплектации закупаемого на 2м этапе современного дорогостоящего научного и технологического оборудования стоимостью свыше 1 млн. руб.: Микрофлюидная система для клеточной сортировки, Флюоресцентный микроскоп, необходимый для проведения иммуногистохимического изучения образцов головного мозга модельных животных, Система записи состояния культуры клеток в реальном времени, Паровой стерилизатор, 2 шт. (Современные экономичные и надежные автоклавы для блока разведения).

Процедуры на приобретение дорогостоящего оборудования были внесены в план-график Плана закупок в ноябре 2018 г. В связи с подписанием Дополнительного Соглашения 15.11.2018 г. и поступлением в ИЦиГ СО РАН аккредитива 20.12.2018 г. в конце декабря 2018 г. объявлены конкурсы на проведение электронного аукциона на закупку научного и лабораторного оборудования на общую сумму 65 590 000 рублей [Начальная (максимальная) цена контрактов]:

- Поставка лабораторного оборудования (Проточный цитометр-сортировщик клеток) для нужд ИЦиГ СО РАН, начальная (максимальная) цена контракта 25 046 000 рублей. Извещение о проведении электронного аукциона № 0351100003718000357 от 25.12.2018. Дата проведения аукциона – 21.01.2019 г.
- Поставка лабораторного оборудования (Автоматизированная система клеточного имиджинга) для нужд ИЦиГ СО РАН, начальная (максимальная) цена контракта 4 826 666.67 рублей. Извещение о проведении электронного аукциона № 0351100003718000357 от 25.12.2018. Дата проведения аукциона 21.01.2019 г.
- 3. Поставка лабораторного оборудования (Микроскоп) для нужд ИЦиГ СО РАН, начальная (максимальная) цена контракта 5 417 506.33 рублей. Извещение о проведении электронного аукциона № 0351100003718000378 от 28.12.2018. Дата проведения аукциона 21.01.2019 г.
- 4. Поставка, монтаж и пуско-наладочные работы лабораторного оборудования (паровой стерилизатор 2 шт.) для нужд ИЦиГ СО РАН, начальная (максимальная) цена контракта 30 299 827.66 рублей. Извещение о проведении электронного аукциона № 0351100003718000358 от 25.12.2018. Дата проведения аукциона 21.01.2019 г.

1.5 Монтаж и наладка закупленного оборудования

На средства Соглашения приобретена и поставлена в ЦГР Крио-катушка MRI CryoProbe в комплекте (Bruker, Германия) для MRT BioSpec117/16 USR (Счет на оплату № 298 от 28.11.2018, ООО «Спектранта», г. Москва; Счет-фактура № 284 от 28.11.2018; Акт приемапередачи товара № 1 от 28.11.2018 по Контракту № ОЭА01/2018 от 02.04.2018; платежное поручение № 481899 от 03.12.2018).

Специалист компании «Bruker BioSpin MRI GmbH» инженер Hermann Benz 19-18 ноября 2018 г. провел в ЦГР работы по монтажу и наладке криокатушки, проверке ее совместной работы в комплексе с магнито-резонансным томографом BioSpec117/16 USR. Выявленные незначительные замечания (должен быть исправлен температурный дисплей криоплатформы) будут исправлены в ближайшее время представителями фирмы-поставщика и за ее счет.

Составлены Акты приемки работ (20181119_Unt_ATT93535 и 20181119_Unt_ATT93535 от $28.11.2018 \, \Gamma$.).

В настоящее время сотрудниками ЦГР ведутся в тестовом режиме работы по использованию данного оборудования (рисунок 25) для биоимиджинговых исследований методами магнитно-резонансной томографии с использованием криогенной катушки (рисунок 26).



Рисунок 25 — Крио-катушка MRI CryoProbe в комплекте (Bruker, Германия) для MRT BioSpec117/16 USR в ЦГР

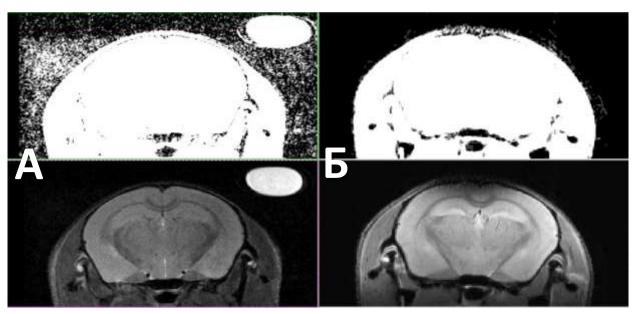


Рисунок 26 — Улучшение детализации морфологии мозга и снижение шумности изображения (Б) при использовании крио-катушки MRI CryoProbe в комплекте (Bruker, Германия) по сравнению с результатами обычной MPT на томографе BioSpec117/16 USR (A)

2 Работы, выполняемые за счет внебюджетных средств

Выполнены обязательства по софинансированию проекта. Объем привлеченных внебюджетных средств – **9 315 642.27** руб. (11.05 %).

2.6 Закупка расходных материалов

Закуплена специализированная одежда для сотрудников ЦГР (Перчатки INEKTA в комплекте – хирургические латексные, нитриловые смотровые – разных размеров; Перчатки Вепоvу в комплекте – нитриловые смотровые нестерильные, Перчатки латексные смотровые нестерильные; Перчатки нитриловые G10; Шапочки хирургические, нестерильные). Закуплены комплекты для оценки микробиологической чистоты (US 2020 Ultrasnap 31.12.18, US 2020 Ultrasnap 31.01.19), которые применяется для взятия смыва с любой твёрдой поверхности при оценке степени их загрязненности после проведённой санитарной обработки.

Закуплены корма для лабораторных животных (комбикорм полнорационный для содержания мелких лабораторных грызунов SPF-категории, апатогенный, автоклавируемый); специализированные добавки к корму: корм Акана (сухие корма для собак высокого качества из свежих ингредиентов, максимально удовлетворяющих пищевые потребности животных); сухой корм мини-стартер Royal Canin Size Health Nutrition MINI Starter (полноценное и сбалансированное питание для мелких животных в период с отъема от матери и до 2-месячного возраста, который также подходит для взрослых животных в период беременности и во время лактации); перловка, капуста; добавка минеральная к корму животных «Северянка».

Для обогащения среды обитания лабораторных животных закуплены стаканы белые бумажные 195 мл.

Закуплены реактивы в комплекте для проведения исследований на базе ЦКП в области биотехнологии и репродуктивной криобиологии животных: Эритропоэтин человеческий рекомбинантный Recombinant Human EPO (Tissue Culture Grade); Фактор стволовых клеток Recombinant Human SCF; Заменитель сыворотки (SR) KnockOut, который, в отличие от сыворотки, не содержит факторов, стимулирующих дифференцировку, имеет постоянный состав от партии к партии и не требует инактивации; Сыворотка эмбриональная бычья (FBS), одобренная ЕС в формате One Shol; Набор препаратов-антагонистов минералокортикоидов (эплеренон, спиронолактон, мифепристон R&D System); Флутиказона пропионат – препарат, оказывающий противовоспалительный эффект за счет взаимодействия с рецепторами глюкокортикостероидов; Дрожжевой экстракт; Агароза; Пенициллин и стрептомицин; Раствор заменимых аминокислот (NEAA) без L-глутамина.

Закуплены реактивы в комплекте для проведения исследований на базе ЦКП в области физиологии и фенотипирования лабораторных животных: Наборы реактивов для определения инсулина и свободных жирных кислот (Набор ИФА Merc Millipore для

количественного определения уровня инсулина у крыс и мышей; Набор NEFA Standart FS (стандарт свободных жирных кислот), DiaSys; Свободные жирные кислоты (NEFA, Non-esterified fally acid FS) DiaSys; Набор ИФА для определения эстрадиола Mouse Estradiol (E2) ELISA Kit; Набор для определения тестостерона «Стероид ИФА-тестостерон»; набор химических реагентов Mouse Hemoglobin A1c (HbA1c) Assay Kit, Mouse C-Peptide ELISA Kit, для определения у мышей гемоглобина HbA1c в малом объеме крови (5 мкл).

Закуплены различные культуральные среды для исследований в области репродуктивных технологий, редеривации и криоархивирования биологического материала — питательная среда в комплекте (Биолот, Россия); среда Игла МЕМ жидкая с L-глутамином (ПЭТ, 450 мл/фл), среда DMEM/F12 с L-глутамином (ПЭТ, 450 мл/фл, стерильная), среда DMEM/F12 с L-глутамином и Хепенс (ПЭТ, 500 мл/фл, стерильная); раствор Трипсина-Версена (Биолот, Россиия) — ПЭТ, 200 мл/фл, стерильный; раствор Версена (Биолот, Россия) — ПЭТ, 200 мл/фл, стерильный; среда Neurobasal-A, бессывороточная добавка В-27; набор сред TESR-E8 Kit for hESC//TeSR-E8 Kit for hESC/hiPSC Maintenance для поддержания человеческих ES и iPS-клеток; среда для культивирования Endothelial Cell Growth Medium 2 Kit.

Закуплены реактивы для проведения исследований на базе ЦКП в области молекулярной биологии и геномики: набор лабораторных реагентов для выделения общей РНК (включает колонки для удаления ДНК) QIAGEN, RNeasy Plus Micro Kit; набор для очистки РНК в комплекте (набор CleanRNA Standart для очистки РНК на колонках; Смесь dNTP, 10 ММ каждого, 10 × 200 мкл); стерильная деионизованная вода; набор PureLinkTM для быстрого выделения ДНК из агарозного геля; протеиназа (> 30 u/mg) BIORON GmbH; ферменты в виде готовой смеси для лигирования ДНК NEBuilder HiF; фермент полимераза Q5-HF, ДНК-полимераза (2000 е.а./мл, 5000 е.а.), New England Biolabs; эндонуклеаза рестрикции BsrGl (1000 е.а.), New England biolabs; ДНК модифицирующий фермент эндонуклеаза рестрикции Nhel-HFTM (20 000 е.а./ml, 1000 е.а.), New England biolabs; набор дезоксинуклеотидов (дАТФ, дЦТФ, дГТФ и дТТФ, 100 мМ, 25 мкмоль), New England biolabs; Трис-ацетатный электродный буфер (ТАЕ); лизирующая матрица D (керамические шарики d = 1.4 мм) для лизиса мягких тканей, таких как мозг, печень, почки, селезенка и др.; церий (III) хлорид, 7 водный.

Закуплены реактивы для проведения исследований на базе ЦКП методами ПЦР и секвенирования: готовая смесь для ПЦР qPCRmix-HS LowROX на 1000 реакций; олиго (dT)15 праймер (20 мкМ); обратная транскриптаза MMLV 50000 ед.; набор для выделения ДНК из фекалий QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit; набор PureLinkTM Hipure Midiprep для быстрого и эффективного выделения плазмидной ДНК из культуры бактериальных клеток; набор для выделения геномной ДНК из различных источников (селективное осаждение ЛДНК из лизата при помощи детергентов); набор реагентов для мультиплексного анализа 15-ти

микросателлитных маркеров крупного рогатого скота COrDIS Cattle, COrDISSPRINT ПЦРсовместимый реагент для быстрого лизиса образцов буккального эпителия (SP40); спектральный
калибратор CS5, размерный стандарт S 550; олигонуклеотиды с очисткой на PR-картриджах
(2964 звена, масштаб 1.0-3.0 О.Е.); набор олигонуклеотидов NEBNext Multiplex для платформы
Пlumina, с метилированными адапторами (реактивы для пробоподготовки по разработанному
протоколу при секвенировании нового поколения NGS, New England Biolabs); Набор реактивов
для проведения ПЦР-РВ с Тад ДНК-полимеразой и инигибирующими активность фермента
антителами в присутствии красителя EVA Green, смесь dNTP с концентрацией каждого
нуклеотида 25 мМ; Полимер 3500 POP-7 Polymer (960 образцов) Thermo Fisher Scientific для
секвенирования (РОР-7^{тм} универсальная денатурирующая разделительная матрица для
секвенирования коротких и длинных последовательностей, а так же фрагментного анализа);
Набор iScript RT Supermix для RT-q ПЦР в реальном времени. Специфическая смесь
полипропилена (О-type), разработанная и оптимизированная специально для количественного
ПЦР, обеспечивает антистатический эффект и низкую связываемость с молекулами ДНК, РНК,
белками, что особенно важно при детекции низкокопийных образцов.

Закуплено мелкое лабораторное оборудование: шприцы серии Neuros, Hamilton, разработанные специально для нейрофизиологии животных, обеспечивающие максимальный контроль при вводе инъекции в комплекте (10 мкл 1701RN, 25 мкл 1702RN; Replacement NDL, 33 gauge Small Hub RN NDL, 3.03 in, point style 3, 6/PK; Replacement NDL, 33 gauge Small Hub RN NDL, 3.03 in, point style 4, 6/PK); матрасы (флаконы) культуральные с фильтр-крышкой, обработанной поверхностью – 50 мл (Віобіl, Китай); флаконы культуральные с фильтр-крышкой, обработанной поверхностью в комплекте разных объемов – 250 мл, 690 мл (Огапде, Бельгия); Флаконы с крышками, пропилен, 50 мл, 29 × 104 мл; бутыли с широким горлом, пропилен в комплекте: 250 мл, 62 × 120 мл, 500 мл, 69 × 160 мл; Световод для микроскопа серии Ахіо.

Пипетки серологические на 10 мл, стерильные, градуированные; пипетки серологические, 2 мл, ПС, белый фильтр, США.

Наконечники универсальные для дозаторов объемом 0.5-0 мкл и 200 мл Ахудеп; Наконечники 2, 10, 100, 200 мкл; 5 мл — универсальные, с фильтром, с фаской; Наконечники Ахудеп для дозаторов ИЛС Gilson, MLA; наконечники универсальные Ахудеп в комплекте — 0.5-10 мкл, 0.5-10 мкл с фильтром, 50-200 мкл.

Штативы для пробирок Axygen; штатив двусторонний автоклавируемый с крышкой, 0.5 мл \times 96 лунок, Россия; Штативы для сменных кассет блоков RFL Axygen; Штативы с крышкой для пробирок 12×54 мл.

Микроцентрифужные пробирки градуированные объемом 1.5 мл. 2.0 мл Axygen; Пробирки эппендорф, 1.5 мл, градуированные; Пробирки, 0.2 мл, выпуклая крышка, оптически не прозрачные.

Закуплено мелкое лабораторное оборудование (одноразовые расходные материалы – пробирки и крышки для пробирок для ПЦР в режиме реального времени Real-time PCR) в комплекте: Пробирки, 0.1 мл в стрипах по 8 шт. (Ахудеп); Пробирки объемом 0.1 мм в стрипах с плоскими крышками низкопрофильные бесцветные; Пробирки объемом 0.2 мм в стрипах, по 8 шт. (низкий профиль, слегка матовые, белые), BIOplastics; крышки стрипованные EU Optical Wide area 5-Cap Strip. Стрипы прочные, надежные, не сгибаются и не скручиваются, что обеспечивает комфортную работу с ними и позволяет легко расставлять стрипы в блок термоциклера, открывать и закрывать без брызг. Пробирки для ПЦР тонкостенные с плоской крышкой объемом 0.5 мл (Ахудеп); Планшеты тонкостенные для ПЦР, 0.2 мл, 96ти луночные (Non-Scirted).

Закуплен комплект посуды из полимерных материалов для лабораторных исследований *in vitro*: штатив «рабочее место» для стрипованных микропробирок 0.2 мл; штатив для микропробирок 1.5-2.0 мл; штатив с крышкой для пробирок 1.5-2.0 мл; штатив для хранения и транспортировки пробирок, криопробирок объемом 0.2 мл.

Пробирки микроцентрифужные объемом 1.5 мл с крышками, нестерильные, градуированные; пробирки объемом 0.2 мл для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностика), в стрипах по 8 штук с крышками, нестерильные; пробирки объемом 0.2 мл для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР-диагностика) индивидуальные, с крышками, нестерильные, неградуированные.

Закуплены наборы реактивов для амплификации ДНК и редактирования генома: ДНК-полимераза AmpliTaq Gold с буфером Gold buffer и MgCl2; набор реагентов для судебномедицинской молекулярно-генетической экспертизы и медико-генетических исследований; набор ПЦР реагентов для амплификации 17-локусов Y-хромосомы ДНК человека «AmpFISTR Yfiler PCR Amplification Kit»; набор GeneScanTM 500 LIZTM Size Standart; реагент Alt-R S.p HiFi Cas9 D10A Nuclease 3NLS; реагент Alt-R S.p Cas D10A Nuclease 3NLS.

Закуплены наборы реактивов в комплекте для гибридизации и приготовления библиотек, библиотеки зондов: Наборы NEBNext для приготовления библиотек ДНК Ultra II для Illumina, New England Biolabs; наборы для гибридизации и промывания ДНК-чипов NimbleGen SeqCap EZ; ДНК-модифицирующий фермент Т4 РНК-лигаза 2, делеционный мутант New England Biolabs; набор A с блокирующими олигонуклеотидами для баркодированных адаптеров TrueSeq с 1 по 12, SeqCap EZ HE-Oligo Kit A; библиотека зондов для направленного отбора нуклеотидных последовательностей из геномов различных организмов, SeqCap EZ

Developer Library; набор для приготовления библиотек KAPA HyperPlus; набор KAPA Lib Amp Kit (1.25 ml); набор с частицами для очистки и захвата гибридных комплексов SeqCap EZ Capture Beads Kit; набор с мультиплексированными адаптерами А для лигирования SeqCap EZ Capture Adapter Kit A.

Закуплены поликлональные антитела как реагенты для иммуно-анализа в комплекте: поликлональные антитела кролика к FRK1/FRK2, фофорилированному по Thr202, Tyr204; поликлональные антитела кролика к LC3A+LC3B; поликлональные антитела кролика к p38 MAP-киназе (pT180/pY182); антитела мыши (клон ERK-7D8) к ERK1/ERK2; антитела мыши (клон p38-3F11) к p38 MARK а/pha; антитела (Abcam) в комплекте — антитела козьи поликлональные Goat Anti-Rabbit IgG H&L (HRP); антитела Sheep Anti-Mouse IgG H&G (HRP); антитела осла вторичные поликлональные Donkey Anti-Mouse IgG H&L (Alexa Fluor 568); антитела Donkey IgL H&L (Alexa Fluor 568); антитела Donkey Anti-Rabbit IgG H&L, коньюгированные с Alexa Fluor 568; Антитела в комплекте: Arginase 1/ARG1 Arginase Antibody, Donkey Anti-Rabbit IgG H&L (Alexa Fluor 647), pan-NOS antibody (NOS-3F7-B-11 B5), IgM, Mouse, monoclonal; Стандарт антител предокрашенный, 10-180 кДа, 2 × 250 мкл, Termo Fisher; маркеры белковые молекулярного веса, неокрашенные 3-100 кДа, PageRuler, 2 × 250 мкл Termo Fisher; антитела Anti-Rabbit IgG H&L (HRP козьи поликлональные, Abcam); Антитела Anti-BDNF antibody (EPR1292), кроличьи моноклональные RabMAb, Abcam; Антитела Anti-Iba1 antibody поликлональные кроличьи, Abcam.

Мембраны Immobilon P, 26.5×375 мм, d пор 0.45 мм, PVDF, Millipore; натрий дезоксихолат, BioChemica, > 98.0 %, Sigma. Haбор Mouse/Rat FGF-2 Quantikine ELISA Kit для измерения FGF (Фактор роста фибробластов) в клеточных культурах, тканевых лизатах, сыворотке и плазме мышей или крыс; Haбор Mouse Adiponectine/Acrp30 Quantikine ELISA Kit (для измерения адипонектина в клеточных культурах, тканевых лизатах, сыворотке и плазме мышей).

Для проведения иммуногистологических и иммуноцитохимических исследований закуплены наборы антител и сред для флуоресцентного окрашивания: Антитела Anti-NeuN antibody Neuronal Marker ab134014; Антитела Goat-Chicken IgY H&L (Alexa FluorTM 568) ab175477; среда Fluoromount TM Aqueous Mounting Medium SIF 4680; Антитела Goat Anti-Mouse (Alexa FluorTM 568) H&L; Антитела Goat Anti-Rabbit IgG (Alexa FluorTM 488) H&L; Антитела alfa-Synuclein Antibody; Антитела Anti-Tyrosine Antibody, clone LNC1; двойной люциферазный набор Dual-Glo(R), обеспечивающий быстрое и простое количественное определение стабильного люминесцентного сигнала от двух репортерных генов в одном образце; фаллоидин, меченый родамином, 300 ед. — флуоресцентный краситель для исследования клеток с помощью флуоресцентного микороскопа; Ингибитор Rho-ассоциированной протеинкиназы.

Для пользователей, проводящих исследования с использованием электрофореза, закуплены: Набор реактивов, красителей и аксессуаров для электрофореза в комплекте: Набор ТGX Fast Cast акриламид, 12 %; аммоний персульфат; стекло Mini-PROTEAN; заглушки для электрофореза, совместимые с камерой Mini-PROTEAN; натрий азид; люминол; кумаровая кислота; краситель Кумасси; диметилсульфоксид; глицерин 99-101 %; глицин чистый; Понсо С; готовые образцы гелей; гребенка Comb, 15-well; смесь протеазных ингибиторов; штатив ІsoFreeze для пробирок разного объема двусторонний на 20 мест.

Закуплены фильтры для тонкой очистки воды в комплекте (Картридж Simplipak 1, Millipore). Система очистки воды Simplicity производит сверхчистую воду (Тип I) с удельным сопротивлением до 18.2 Мом × см из предварительно очищенной воды (дистиллированной, деионизованной или обратноосмотической); Вентиляционный фильтр (0.45 мкм, Millex, Millipore).

2.7 Метрологическое обеспечение деятельности ЦКП

2.7.1 Мониторинг патогенов у модельных животных ЦКП в соответствии с международными стандартами оценки микробиологического статуса лабораторных животных FELASA

В Центре генетических ресурсов лабораторных животных содержатся и разводятся животные очень высокого качества – SPF-статуса. SPF (specified pathogen free) – это статус, который говорит об отсутствии видоспецифических патогенных факторов в организме животных. С целью подтверждения SPF-статуса лабораторных животных в ЦГР ведется большой объем разнообразных мероприятий, в числе которых проводится внутренний, силами сотрудников ЦГР, ежеквартальный и годовой мониторинг патогенов у модельных животных (лабораторные мыши, лабораторные крысы, сирийский хомяк) в соответствии международными стандартами оценки микробиологического статуса лабораторных животных FELASA (2014). Согласно нормам надлежащей лабораторной практики (GLP) и с целью поддержания высоких стандартов качества лабораторных животных, проверка SPF-статуса также выполняется ежегодно внешней сертифицированной организацией (внешний аудит), в нашем это международная независимая инновационная диагностическая микробиологическая лаборатория «QM Diagnostics» (Нидерланды).

Внутренний мониторинг патогенов для оценки SPF-статуса лабораторных животных был выполнен методами ИФА и ПЦР с помощью стандартных сертифицированных наборов реагентов. Животных проверили на наличие вирусов, бактерий, паразитов и патологию внутренних органов.

Лабораторных мышей проверили на наличие 36 патогенов, в том числе Minute virus of mice, Mouse parvovirus (rVP2), Mouse parvovirus (rNS-1), Mouse rotavirus TMEV (GD VII), Minute novo virus, Ectromelia virus, Mouse adenovirus K87, Pneumonia virus of mice, Pasteurella pneumotropica, Streptococci β-haemolytic, Streptococcus pneumonia, Helicobacter spp., Helicobacter bilis, Helicobacter hepaticus, Salmonella spp., M. pulmonis, Bordetella bronchiseptica, Proteus murina, Streptococcus spp., CAR bacillus, Encephalitozoon cuniculi, M. pulmonis и др.

Лабораторных крыс проверили на наличие 31 патогена, в том числе Rat parvovirus, Rat theilovirus (TMEV), Toolan s H-1 virus, Kilham rat virus, RCV/SDA, Rat minute virus, Pneumonia virus of mice, Adenovirus K87, Reovirus type 3, Hantaan virus, CARB, Pneumocystis carinii, Helicobacter spp., Helicobacter hepaticus, Helicobacter bilis, Pasteurella pneumotropica, Streptococcus pneumonia, Streptococcus b-hemaliticus, Bordetella bronchiseptica, Corynebacterium kutscheri, Clostridium piliforme, Encephalitozoon cuniculi Klebsiella, Encephalitozoon oxytoca Klebsiella, M. Pulmonis, Pseudomonas aeruginosa, Adenovirus FL, Salmonella spp., Streptobacillus moniliformis.

Хомяки были исследованы на наличие 9 патогенов (Corynebacterium kutscheri, Pasteurella pneumotropica, Clostridium piliforme, Staphylococcus aureus, Encephalitozoon cuniculi, Salmonella spp., Helicobacter spp., LCMV, Sendai virus).

Мониторинг патогенов, в соответствии со списком FELASA, проведен у

- 30 линий и стоков лабораторных мышей (C57BL\6 102, C57BL\6 103, SCID (SHO-PrkdcscidHrhr) code 474, NOD.SCID CB17Prkdcscid/NcrCrl code 394, 129S2/SvPasCrl code N/A, 652, 661 KO/KO, 660, CBA/CaOlaHsd, C3H/HeNHsd, BKS.Cg +Leprdb/+Lepr db/OlaHsd Diabetic, A/JOlaHsd, AKR/OlaHsd, DBA/2JRccHsd, CAST/EiJ stock 000928, SJL/J stock 000686, B6.Cg-Tg (Prnp-SNCA*A53T) 23Mkle/J stock 006823, BKS.Cg Dock7 <m>+/+Lepr <db>/J stock 000642, BALB/c J stock 000651, C57BL/6-Tg (UBC-GFP) 30Scha/J stock 004353, C57BL/6 J stock 000664, CBA/J stock 000656, C57BL/6-AY, CD-1, B61473C, B61473G, HT1AN, B6.129S6-Nlrp3tm1Bhk/J stock 021302, BTBR T+ tf/J stock 002282, NU/J stock 002019, B6.Cg-Tg x C57BL/6J AB (гемерозигома), B6.Cg-Tg x C57BL/6J AA (гемизигома), BKS.Cg);
- 8 линий крыс (Пасюк, SD, Hucar, Hucar колор, ГК, Wistar, Oxys, Wag);
- хомячков линии Hsd Hamster Aura.

На основании проведенных исследований было сделано заключение о соответствии животных, содержавшихся в Центре генетических ресурсов лабораторных животных, SPF-статусу. По окончании исследования оформлены Сертификаты здоровья на животных, содержащихся в блоке разведения SPF-вивария (рисунок 27).

Выписка из Сергификата здоровые имвотных № 22-1

SPF Карьер II этам

мыши Sentinel животные: BALB/c (Z 🖫 на одну комжиту) для всех методов анализа 16-20 недоль

22У- непредлыный FELASA 2014 + SOPF

Дата сбора материали: 28 моня 2018 года

Патоген		Метод	Частога чести	Лабороторня	Дата последнеск веста	NU/J NU/J
Mouse hepatitis virus	WRA	Rappr	LINT CSPF mentgader 26/act CO PVer	38.00.13	0/2 0/271	
	Moune pervisions (NP2)	TUP	Amopt	1397 -SPF messpells VILLET CO FAST	18.06.18	0/2 (0/22)
	Mouse pervoying (FNS-1)	PEP	Haspe	Light with company vittal CO PAH	28.06.18	6/200/228
	Mouse rotovirus EDM	MAN	Respe	LIGHT wSPV exerganity intact CO PAH	38.06.18	0/1/0/27
	TWEY (GD VII)	1000	Margr	LPRT -SPF mmupaS+ Httpdf CO (Nex	25.06.13	0/2 (5/25)
	Muline noro virus	160A	Heape:	LUCT ASPT consequence HILLIE CO FALL	28.06.13	0/2 (1/22)
	Senstal virus	MOA	Figure	THE PART SERVICE HELD CO KNOT	38.06.18	0V2 (0V71
	Ectromelia virus	nue	FRARM	URIT #SPF examples Must conver-	36.06.18	0/2 (0/2)
	LOMV	MOA	Toppe	UPOT «SPE prempada HUAT CO FWA	78.00.18	0/2 (0/3)
	Mouse adensyrus FL	nue	Toppe	LEATH KIPT MANAGERS HELD CO ANN	29,06.18	0/2 (0/7)
	Mouse adenovirus KET	199A	Годеля.	LIBIT COPF assupers Miller CO PART	29,06.18	0(210/7)
	Receive type 3	1996	Toyane	UNIT - SPF mempade HUAF COPAN	28.05.18	0/2 (\$/7)
-	Presuments virus of mice	inde	Годов	LEST +SPT monspell + HELKE CO PAN	28.06.18	0/2 (0/7)
Bieterla	The state of the s	TEP	Sauger	IBES CSFF merapain VEGAT COPAN	28.06.18	072 (0730)
	Straptococci (I-haartalytic	(10.00	Kalpri	LINE +SPE messpell+ intlat CO PAH	28.06.18	0/2 00/284
	Strephococus presencións	FIGP	Respir	UPST +SPF enwapsith VILLAC CO FWH	28.06.18	0/2/00/261
	Motionbacter app.	TILLE	Respr	13NT +5PF transports VILLAT CO PAGE	28.06.18	9/2 (9/28)
	Melabecter (dis	FILLE	Reign	UMD 45% management into a CO FAH	38.12.17	0/2 (0/22)
	Melicubacter freparicus	nue	Hospr	1907 cSP sessonio May CD FAH	20,0634	8/2 (8/29)
	Closhidium pidome	400	France	UST eSPE sempelo HQuE CO RAM	28.26.38	8/2 (4/56)
	Salmoneille soot	THE	Faabe	ILEN «SY seespade High CD PAN	28.96.18	0/2 (0/10
	Corprebuséerium Auduches	nur	Finance	HAD old sampals Hill ID AN	28.95.18	0/2 (0/10)
	Streptobacelus monettomas	nue	FOARR	LISTI «SPF sampež» Higel CO Wer	28.06.18	0/2 (0/2)
	M. palmonte	TRIP	Fragon.	URTI «SPE transpole» VILLAT CO PAGE	28.06.18	9/2 (0/16)
	Cilrobacter rodersture	np	Fishers:	1380 over messpeds Miled CD OAH	28.06.18	0/2 (0/14)
A CONTRACTOR OF THE PROPERTY O		1.000	Notage,	1297 1577 semanalis Must CO FAM	16.06.16	II/3 (0/200
lapas	Эктопаравины	Weep	Keept	Spill +SP common PLIP CO RAH	28.06.10	0/4 (0/50)
mer	Глисты	Mengr	FRANCE.	1991 + SPF mempada intel CO MAH	28.76.16	0/4 (0/55)
lange cies	виупанияе презни	Ayroncies	Respon	that saw enables safet count	28.66.18	0/4 83/564

ный список патогенов предоставляем по допол Ветярач ЦКП кSPF- виварий» ИЦиГ СО РЖН Respons O.H. (e-myd/petrum@blonet.nsc.ru)

Выписна на Сергификата здоровья изволных №21-2

Категоом SPE Барьер II этам

Дата сбора материали: 25 сентября 2018

мыши Sentinel животные: BALB/ ϵ (2 \P на «шку комвату) для всех методов знализа 20 недаль

225-нвартальный FELASA 2014 +SQPF

Дата составления отчета: 30 октября 2016 года Darromer Meroa Лаборачория BALB/c поснед Minute virus of mice IDMS cSPY- mesupeed's Higher CO MAH Vincen 25.09.18 UNT «SPE mempel» High CO PAH UNT «SPE-mempel» High CO PAH Mouse hepatitis virus ИФА Наарт. 0/2(0/28) Mouse parvovirus (rW2)
Mouse parvovirus (rW5-1)
Mouse cotovirus EDIM
TMEV (GD VIII)
Murine coro virus Heapy 75.09.18 FILLE HOW HOWA LIJOT «SPF- declapadi» PELJAT CO PANA LIJOT «SPF- declapadi» PELJAT CO PANA 25.00.18 0/2/0/25| (LAT) +5PF- compaño HUJef CO PAH UKT) +5PF- compaño HUJef CO PAH 25.09.18 MON 25.09.18 Sendai virus Ectromelia virus LCMV LINT CSP: Depayable Might CO FAM LINT CSP: Depayable Might CO FAM LINT CSP: BERNSHAR MIGHT CO FAM LINT CSP: BERNSHAR MIGHT CO FAM LINT CSP: BERNSHAR MIGHT CO FAM 28,05,28 Fo,qos. 0/2(0/9) BUP 28,06,18 28 00 12 Mouse adenovirus FL Mouse adenovirus K87 Recvirus type 3 0/2/0/9 Годов UNI +SPF- mesupake MUHE CO PAH UNI +SPF- mesupake MUHE CO PAH Годов JR 06 18 0/100/9 ИФИ 28.06.18 Pneumonia virus of mice Pastaurella pneumotropica Simptococci S-haemolytic LIKTI KSPF- mempedia VILIAT CO PARI LIKTI KSPF- mempedia VILIAT CO PARI 18.06.18 Годов, 0/2(0/9) 0/2(0/31 DUP DUP 25.09.18 LIAL SEAL DESERBANG MITN, CO MAN 25.09.18 Streptococcus pneamon/se 0/200/28 Helicobacter son Helicobacter bills Жеорт. UNIT 4394 - DEMARKS MUST CO PASS 25.09.18 UND OFF EXEQUATE VILLAT CO PAR 18 12 13 0/2(0/24) UNTI «SPF» sessipado HUJAT (O RAH UNTI «SPF» sessipado HUJAT (O RAH 25.09.18 18.06.18 Helicobacter hepaticus Circstridium piliforme Satmoneila spp. Corymetracterium kutscheri Годов UPON «SPE- manageria Higher CO PAH 78.06.18 0/210/11) nu UNT <SPE memped v Higher CO PARE 28.06.18 Streptobacillus moniiformis mus LINT +SPF- mempedie High CO PWH 28.06.18 Γομοέ (DIT +5PF-messpeik+2FLpd* CO PAH (DIT +5PF-messpeik+2FLpd* CO PAH 28.06.18 robacter rodentium 28.06.18 25.09.18 Мусорівата врр. Keapr LIAN +995- compaño VILLET CID PAG 25.09.18

URT KET BARROWS PERSON CO MAN

Вет при ЦКП «SPE- пипарий» ИЦИГ СОРИИ Tempyon O.H. (e-must: patrum@biomet.mar.nu)

Рисунок 27 – Выписка из Сертификатов здоровья животных (лабораторные мыши), содержащихся в барьерной зоне Центра генетических ресурсов лабораторных животных

2.7.2 Подтверждение полученных в ЦКП данных и корректности результатов мониторинга микробиологического статуса у модельных животных во внешней независимой лаборатории «QM Diagnostic» (Голландия)

Для подтверждения полученных в Центре данных об SPF-статусе и корректности результатов внутреннего мониторинга здоровья лабораторных животных, согласно нормам надлежащей лабораторной практики (GLP) и с целью поддержания высоких стандартов качества животных в ЦГР, проверка SPF-статуса ежегодно выполняется внешней сертифицированной организацией (внешний аудит). В нашем случае это международная независимая инновационная диагностическая микробиологическая лаборатория «QM Diagnostics» (Нидерланды). От каждого из 6ти племенных животных (4 мыши, содержащихся в разных комнатах; 1 крыса; 1 хомяк) были взяты образцы сыворотки крови, фекалий и мазки из ротовой полости. Данные образцы биологического материала от племенных животных отправлены в аккредитованную лабораторию «QM Diagnostics» (Универсальный передаточный документ, счет-фактура № 1952 от 13.12.2018 г., ЗАО «Группа Карго», г. Москва). После проведения исследования образцов (мониторинг патогенов) будет оценен микробиологический статус лабораторных животных ЦГР. Учитывая необходимость регулярного контроля SPF-статуса животных, оплата данной работы будет выполнена из внутренних резервов ЦГР.

2.7.3 Поверка люминометров SystemSURE

Важнейшим условием функционирования SPS-вивария является поддержание чистоты и стерильности его помещений и оборудования. Портативные люминометры SystemSURE Plus являются приборами, которые используются для проведения экспресс-тестов биологических загрязнений в различных средах с высокой точностью. Для получения верифицированных результатов анализа приборы должны проходить регулярную сертифицированную поверку. В 2018 г. проведена поверка 2х люминометров (Договор с ООО «ИнтерКлин», г. Москва, о поверке средств измерений № 4п от 05.03.2018 г.).

Получены Свидетельства о поверке:

- 1. Свидетельство о поверке № СП 1960567 от 21.03.2018. Средство измерений Люминометр System SURE Plus, Госреестр № 49261-12, заводской номер 075051 (рисунок 28).
- 2. Свидетельство о поверке № СП 2074238 от 21.06.2018. Средство измерений Люминометр System SURE Plus, Госреестр № 49261-12, заводской номер 075052 (рисунок 28).

### OF TEARIPHEAGONY PETS-INFORMATION IN METPOJOCHIS ###################################	BO TEXTHERE CARDAL PETER TO MATEUR AND A CONTRACT TO THE ACCUSATION AND A CONTRACT TO THE ACCUSATIO
ATTECTAT ARRESTSHTARINO NO BAJRUSHTAD	AFTECTAT ARROCARTAGURA AO RA RU, DI DAT
СВИДЕТЕЛЬСТВО О ПОВЕРКЕ	СВИДЕТЕЛЬСТВО О ПОВЕРКЕ
№ CH 1960567	No CII 2074238
Дейстипескию до «20» марта 2019 г.	Действительно до «20» моня 2019 г.
Средство измерений Дюминометр System SURE Plus, Госресстр №	Cpenersio wassepenniii // // // // // // // // // // // //
меняниямий от метранамий речинамий откус в Метринина виформационно в финкт из обстативам обисности	могоровных мар манафаксиих регоријационай откар и Мунаралиски португационного филок из обложную отключений устаралий
49261-12 Отом в камения претіл нем в контролей маніми настановичничници и покритийници богором богором об перечетня и домогний менерай	49261-12 /// не с на так добова о пореше познане почение инфонент в тарачение в порешение за перечение на перечение отперед.
отсутствуют	OTCYTCHISIOT.
лума в этому этом приботраций попути тоже приме о изму выполня в завиласной шомер (томера) 075051	завиденой имер (минера) 075052
поверено в соответствии с методикой поверки	поверени в соответствии с методикой поверки
наменования от интернационня, не сопрост помучен сурудници в сопросой дости просто наменования помучен.	Section and sectio
поверено в соответствия с МП 70.Д4-11	поверено в соответствии с МП 70 Д4-11
AND ADDRESS OF THE PARTY AND ADDRESS OF THE PA	All and a supplemental and a sup
с примежением эталонов Растаюр натрия даспитингрофосфата II №010635	с применением эталомия. Раствор катряя адмисинитрифосфата П №610635
becombigationing could (du minum) hallen over on exhausting manner discount not the sadial	become former work the second being was no reference were at the months and
при следующих значениях впинющих факторов <u>температура 20 °C</u>	при спедующих значениях клиновцих фактиров: температура 20 °С,
относительная влажность 60 %, агмосферное давление 98 stln	_относительное вламность 60 %, измосфенное давление 98 sfla
и на основании результатов первачной (перводической) поверки признано соответствующим установленным в описания типа метрологическим	и на основания результатов первичной (периодической) поверки приз
требованиям и пригодным в применению в сфере государственного	соответствующим устанивленным в плисания типа метрологическим требоканиям и притодным в призинению в офере государственного
регулирования обеспечения единства измерений.	регулировання обоспечения единства измерений
Знак поверки	Зная поверки
И.о. пичальных адабиратории № 448 Д. П. Дубанова Данных фице	Моличальника паборатории № 448 (Д. А.Г. Дубинчик Долгантуру брого баратория ма
Homepurent B.B. Mappexim Names Namesian, ginneren	Hosepricity B.B.Mapexini Property of Parameter Agencies Agencies
Дата поверки «21» марта 2018 г.	Дага повервы «21» июня 2018 г.

Рисунок 28 – Свидетельства о поверке люминометров SystemSURE

На основании результатов периодической поверки (поверено в соответствии с МП 70.Д4-11, с применением эталонов – Раствор натрия аденозинтрифосфата П № 010635 – при следующих значениях влияющих факторов: температура 20 °C, относительная влажность 60 %, атмосферное давление 98 кПа) оборудование признано соответствующим установленным в описании типа метрологическим требованиям и пригодным к применению в сфере государственного регулирования обеспечения единства измерений. Свидетельства выданы: Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии, Федеральное бюджетное учреждение «Государственный региональный центр стандартизации, метрологии и испытаний в г. Москва (ФБУ «Ростест-Москва»). Аттестат аккредитации № RA.RU.311341.

2.7.4 Получение сертификатов

Основополагающая роль в функционировании Центра генетических ресурсов лабораторных животных принадлежит качеству его животных (разведение, содержание и SPF-статус) и качеству предоставляемых услуг. Авторитетной международной организацией в сфере стандартизации бизнес- и технологических процессов является ИСО (Международная организация по стандартизации; International Organization for Standardization, ISO). Одними из наиболее известных и растиражированных практически всеми государствами мира являются

стандарты ИСО серии 9001 («Система менеджмента качества. Требования»), касающиеся построения системы менеджмента качества (СМК) компаний. Соответствие организаций данному стандарту является доказательством грамотного управления предприятием и является существенным преимуществом в конкурентной борьбе. Данные стандарты выдвигают единообразные требования к управлению организацией с точки зрения обеспечения качества ее деятельности. Первым принципом менеджмента качества здесь провозглашается ориентация на потребителя. Задача, стоящая перед СМК, — не контролировать каждую операцию или единицу продукции, а создать условия, сводящие к минимуму ошибки в работе. Выдача сертификата соответствия ISO 9001 является свидетельством того, что в организации проведена сертификация ISO 9001 и успешно функционирует система менеджмента качества в соответствии с положениями и требованиями международного стандарта.

Для подтверждения того, что деятельность ЦГР удовлетворяет международным стандартам ISO 9001, была проведена сертификация в добровольной системе сертификации СМК «ФедРегистр». Получены Сертификат соответствия, Разрешение на применение знака соответствия, Сертификат соответствия для 2х экспертов (рисунок 29).



Рисунок 29 — Сертификаты, согласно которым деятельность ЦГР удовлетворяет международным стандартам ISO 9001-2015

- 1 Сертификат соответствия системы добровольной сертификации «ФедРегистр» № СДС.ФР.СМ.00643.18.Р от 08.08.2018 г. выдан органом по сертификации ООО «Федеральный Регистр», г. Санкт-Петербург. Выдано ФГБУН «ФИЦ ИЦиГ СО РАН» (ИЦиГ СО РАН). Настоящий сертификат удостоверяет, что Система менеджмента качества применительно к производству и содержанию лабораторных животных, в том числе SPF категории, соответствует требованиям ГОСТ Р ИСО 9001-2015 (ISO 9001:2015).
- 2 Разрешение на применение знака соответствия системы добровольной сертификации «ФедРегистр» № СДС.ФР.СМ.00643.18 от 08.08.2018 г. выдан органом по сертификации ООО «Федеральный Регистр», г. Санкт-Петербург. Выдано ФГБУН «ФИЦ ИЦиГ СО РАН» (ИЦиГ СО РАН). На основании Сертификата допускается использовать знак соответствия в технической, сопроводительной, финансовой документации, рекламных продуктах, брошюрах, плакатах.
- 3 Сертификат соответствия эксперта добровольной сертификации «ФедРегистр» № СДС.ФР.СМ.00643.18.1.Э от 08.08.2018 г. выдан органом по сертификации ООО «Федеральный Регистр», г. Санкт-Петербург. Сертификат выдан на основании решения аттестационной комиссии № 05-СМК от 08.08.2018 г. Настоящий сертификат удостоверяет, что Завьялов Евгений Леонидович аттестован в качестве эксперта-аудитора внутренних проверок системы менеджмента качества на соответствие требованиям стандарта ГОСТ Р ИСО 9001-2015 (ISO 9001:2015).
- 4 Сертификат соответствия эксперта добровольной сертификации «ФедРегистр» № СДС.ФР.СМ.00643.18.2.Э от 08.08.2018 г. выдан органом по сертификации ООО «Федеральный Регистр», г. Санкт-Петербург. Сертификат выдан на основании решения аттестационной комиссии № 05-СМК от 08.08.2018 г. Настоящий сертификат удостоверяет, что Завьялов Евгений Леонидович аттестован в качестве эксперта-аудитора внутренних проверок системы менеджмента качества на соответствие требованиям стандарта ГОСТ Р ИСО 9001-2015 (ISO 9001:2015).

Для проведения доклинических исследований эффективности и безопасности лекарственных препаратов, исследования эмбриотоксического действия, мутагенности, острой и хронической токсичности препаратов сотрудники ЦГР прошли обучение по теме «Принципы надлежащей лабораторной практики GLP» (GLP – Good Laboratory Practice), ими получены Сертификаты (рисунок 30):

- 1. Анисимова Маргарита Владимировна, инженер.
- 2. Беляев Михаил Дмитриевич, инженер.
- 3. Гуляева Елена Петровна, специалист службы обеспечения качества, Центр неклинических испытаний на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных.

- 4. Добрыгина Анна Евгеньевна, инженер.
- 5. Жуков Роман Александрович, техник по автоматизации производственных процессов
- 6. Завьялов Евгений Леонидович, заведующий ЦКП, к.б.н.
- 7. Илларионова Нина Борисовна, научный сотрудник, к.б.н.
- 8. Концевая Галина Владимировна, научный сотрудник, к.б.н.
- 9. Мак Виктория Витальевна, заместитель заведующего ЦКП, к.б.н.
- 10. Масленникова Светлана Олеговна, инженер.
- 11. Панова Анастасия Сергеевна, старший лаборант.
- 12. Петровский Дмитрий Валерианович, старший научный сотрудник, к.б.н., ЦГР; главный эксперт Центра неклинических испытаний (ЦНИ) на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных.
- 13. Петрунь Олеся Николаевна, ветеринарный врач.
- 14. Пономарева Светлана Борисовна, старший лаборант.
- 15. Соловьева Ольга Игоревна, старший лаборант.
- 16. Хоруженко Евгения Анатольевна, инженер.
- 17. Хоцкина Анна Станиславовна, ведущий инженер.



Рисунок 30 — Сертификаты об обучении сотрудников ЦГР по теме «Принципы надлежащей лабораторной практики GLР»

В целях повышения производственной квалификации и повышения уровня знаний Гуляева Елена Петровна, руководитель Службы обеспечения качества ЦНИ на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН, прошла обучение по программе «Методологические основы организации доклинических исследований в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) ОЭСР» в ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» России (г. Санкт-Петербург). По завершению обучения Гуляевой Е.П. получено удостоверение № 781900256979 о повышении квалификации (рисунок 31).

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ			
Федеральное государственных быркотное учреждение внуки Настого соксикалагая Федерального.	УДОСТОВЕРЕНИЕ		
ACADES CONSTRUCTOR OF STORMS	о повышении каллинокации		
(ФГБУН ИТ ФМБА России)	761900256979		
	Настири уделиции осдал		
	Гуляева		
	Елена Петровна		
	и том, что что таков с " 12 " новоря :2018 с по " 23 " новоря :201		
	(a. aperbay(s) odystemu a (tra)		
	Федеральное госудирственном		
作。在1000年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年,1100年	болжизном упреждения выуки		
Успенияциями является доправления	Наститут покежности		
динилилинов образдя	Федерального медико биодогического избисти.		
	проградае "Методоли въескае селоны предвитовъе		
	насаленией добораторной пристика (GLP) СОСТ		
	CHRONOLOGICAL CONTROL OF THE CONTROL		
	TO MENT		
	Лиректор Де М.Б. Извиги		
	Meri Honeur Offic O. M.A. Jashuan		
Arrys measures 23, 11, 2018c.			
Долитина сомер 166	Topics Canal Complete rea. 2018.		

Рисунок 31 – Удостоверение Гуляевой Е.П. о повышении квалификации

Завьялов Е.Л., заведующий ЦКП «SPF-виварий», и Гуляева Е.П., руководитель Службы обеспечения качества ЦНИ на базе Центра генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН, приняли участие в Международном форуме по надлежащей лабораторной практике (в рамках проекта НЛП ОЭСР для сотрудников испытательных центров, г. Москва) (рисунок 32).



Рисунок 32 — Сертификаты участников Международного форума по надлежащей лабораторной практике

Форум проводился Федеральной службой по аккредитации (Росаккредитация) и Национальным институтом аккредитации в рамках приоритетного проекта по поддержке экспорта «Системные меры развития международной кооперации и экспорта» и во исполнение пункта 2 перечня совместных проектов Российской Федерации и Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) на 2016-2018 гг., утвержденного распоряжением Правительства Российской Федерации от 15.02.2016 г. № 227-р. Целью Форума является обеспечение пространства профессионального диалога для представителей российского экспорта, действующих лабораторий по НЛП и лабораторий, планирующих реализацию в деятельности принципов НЛП, федеральных органов исполнительной власти, других заинтересованных лиц. В качестве основных зарубежных спикеров на Форуме выступили признанные международные эксперты в области НЛП:

- руководитель программы ОЭСР по надлежащей лабораторной практике и пестицидам Ричард Сигман;
- эксперты проекта ОЭСР Диана Турхейм (Франция), Дэвид Лонг (Франция) и Тео Хелдер (Нидерланды).

В форуме приняли участие представители Евразийской экономической комиссии, федеральных органов исполнительной власти, экспортеров и испытательных центров. Форум является площадкой для налаживания профессионального диалога между представителями российского экспорта, действующими лабораториями по GLP, федеральными органами исполнительной власти и другими участниками рынка. В мероприятиях форума приняли участие более 300 человек.

По завершению Пленарной сессии в рамках программы Форума была проведена трехдневная обучающая сессия по внедрению принципов НЛП для сотрудников испытательных центров, в которой приняли участие сотрудники ЦГР.

2.7.5 Разработка стандартных операционных процедур (СОПов) для упорядочивания работы на вновь закупленном оборудовании

Все работы, которые проводят в Центре генетических ресурсов лабораторных животных, выполняются в соответствии с разработанными в ЦГР стандартными операционными процедурами (СОП), в которых прописаны цель, ответственность, предписания безопасности, общие положения, порядок работы, уход и техническое обслуживание. Строгое проведение работ в соответствии с СОПами обеспечивает стандартизацию работ, требования GLP (надлежащей лабораторной практики), а также безопасность работ и сохранность оборудования.

В связи с этим в отчетный период были разработаны следующие СОПы:

- 1. «Оценка состояния культур клеток в реальном времени с использованием системы Cytation». Стандартная операционная процедура описывает порядок эксплуатации системы Cytation для оценки состояния культур клеток в реальном времени; предназначена специалистам и исследователям. СОП детально описывает условия тестирования и анализа изменения состояния культур клеток в реальном времени в ответ на различные воздействия без окрашивания (label free) и за счет окрашивания поверхностных клеточных маркеров антителами, прижизненными красителями или экспрессии клетками флуоресцентных белков.
- «Порядок эксплуатации и обслуживания стерилизатора SELECTOMAT PL 12615-2G в соответствии с руководством пользователя». Стандартная операционная процедура описывает порядок эксплуатации и обслуживания стерилизатора SELECTOMAT PL 12615-2G; предназначена специалистам по автоклавированию, работающим в моечностерилизационном комплексе, руководителю отдела технического обеспечения. Автоклав проходного (тонельного) типа PL 12615-2G представляет собой стерилизатор высокого давления с использованием пара и вакуума в процессе стерилизации, предназначен для стерилизации различных материалов и оборудования с последующей их передачей в барьерную зону. Эксплуатация стерилизатора проводится в соответствии с его техническими характеристиками, прописанными в инструкции по применению. Порядок работы стерилизатора и режимы стерилизации изложены в данном СОПе и в подробной инструкции по эксплуатации, которая находится в к. 209. К работе со стерилизатором допускается персонал, прошедший обучение и имеющий аттестацию в Территориальной аттестационной комиссии МТУ Ростехнадзора по СФО, изучивший руководство по эксплуатации и настоящую СОП. Ежегодно проводится переаттестация специалистов по автоклавированию в аттестационной комиссии ИЦиГ СО РАН. Обучение правилам работы на стерилизаторе PL 12615-2G проводится однократно.

2.8 Мероприятия, направленные на повышение открытости, доступности и востребованности ЦКП для третьих лиц

2.8.1 Расширение информационного поля о деятельности ЦКП

В целях расширения информационного поля о деятельности ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН в Центре регулярно проводятся экскурсии, целью которых является знакомство как с работой Центра, так и с исследованиями, проводимыми на его базе. Сотрудники ЦГР участвуют в организации и проведении семинаров и конференций, выступают в средствах массовой информации.

Ознакомительная экскурсия была проведена для студентов 4го курса Московского физико-технического института (государственный университет), г. Москва (Цвелая В., Слотвицкий М., Низамиева А.) 05.03.2018 г. (Заявка № 66 от 05.03.2018) (рисунок 33) и студентки НГУ Чаловой П. (Заявка № 67 от 27.02.2018).



Рисунок 33 — Студенты Московского физико-технического института (государственный университет) знакомятся с работой ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» 05.03.2018 г

Визит профессора Hiosh Shiku, М.D. (Центр комплексной иммунотерапии рака, Отдел Иммуно-генной терапии, персонализированной иммунотерапии рака, аспирантура медицинского университета Міе, Япония) 15.10.2018 г. В ходе визита гостей ознакомили со структурой и оборудованием ЦГР, обсудили вопросы исследований по иммунотерапии онкологических заболеваний (рисунок 34).



Рисунок 34 — Визит профессора Hiosh Shiku, М.D., Центр комплексной иммунотерапии рака, Япония, в ЦГР 15.10.2018 г

В ИЦиГ СО РАН регулярно проводятся Дни науки, на которые пригашают студентов ВУЗов и школьников г. Новосибирска и Новосибирской области. Для популяризации исследований, проводимых в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных», в рамках данного мероприятия был представлен доклад Завьялова Е.Л., заведующего Центром коллективного пользования «SPF-виварий», «Доклинические исследования в создании новых лекарственных препаратов» (рисунок 35).





Доклинические исследования в создании новых лекарственных препаратов

Евгений Леонидович Завьялов

Заведующий ЦКП «SPF-еивадий»
Руководитель Центра неклинических испытаний
ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных энвотных»
Институт цитологии и генетики
Сибирское отделение Российской академии наук







Рисунок 35 — Доклад Завьялова Е.Л. «Доклинические исследования в создании новых лекарственных препаратов» на днях науки в ИЦиГ СО РАН

В докладе была представлена информация о видах доклинических исследований; о видовом разнообразии животных, используемых для них; о разнообразии линий лабораторных животных и о моделях патологий человека, используемые для поиска новых лекарств, в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных»; об уникальном оборудовании ЦКП для содержания и тестирования лабораторных животных. Также было рассказано о проведение неклинических испытаний в соответствии со стандартами GLP (Good Laboratory Practice).

Сотрудники ЦГР (Центр генетических ресурсов лабораторных животных) участвовали в организации и проведении ежегодного научно-практического семинара «Биологические тестсистемы в науке. Современные тенденции, технологии, законодательство, аккредитация и GLP. Значение и роль тест-системы в научных разработках и доклинических исследованиях», который состоялся в помещении Биотехнопарка п. Кольцово (Новосибирская область) 26-27 апреля 2018 г. На семинаре сотрудники ЦГР рассказали о роли генетического разнообразия лабораторных животных в поиске и испытаниях новых средств профилактики и лечения болезней; о проводимых в Центре работах по получению новых трансгенных линий мышей с использование современных методов вспомогательных репродуктивных технологий; о проведении в Центре имиджинговых исследований на лабораторных животных.

Были представлены следующие доклады сотрудников ЦГР:

- 1. Роль генетического разнообразия лабораторных животных в поиске и испытаниях новых средств профилактики и лечения болезней. Мошкин М.П., ИЦиГ СО РАН, профессор, д.б.н., научный руководитель Центра
- 2. Генетическое разнообразие лабораторных животных в трансляционных исследованиях. Завьялов Е.Л., ИЦиГ РАН, заведующий ЦКП «SPF-виварий», к.б.н.
- 3. Получение новых трансгенных линий мышей с использование современных методов вспомогательных репродуктивных технологий. Концевая Г.В., ИЦиГ СО РАН, н.с., к.б.н.
- 4. Проведение имиджинговых исследований на лабораторных грызунах с использованием системы оптической и компьютерной томографии FLEC/CT. Шевелев О.Б., ИЦиГ СО РАН, инженер.
- 5. Влияние острого и хронического введения нового психотропного препарата гидрохлорида 8-трифторметил-1,2,3,4,5-бензопентатиепина-6-амина на поведение и нервную систему *Danio rerio*. Куликов А.В., ИЦиГ СО РАН, г.н.с., д.б.н.

В подтверждение участия в Семинаре и прослушивания докладов были получены Сертификаты (рисунок 36).



Рисунок 36 — Программа ежегодного научно-практического семинара «Биологические тестсистемы в науке. Современные тенденции, технологии, законодательство, аккредитация и GLP. Значение и роль тест-системы в научных разработках и доклинических исследованиях» и сертификат Завьялова Е.Л. об участии в семинаре и прослушивании докладов

В докладе на Международном форуме технологического развития ТЕХНОПРОМ-2018, который был проведен в г. Новосибирск 29 августа 2018 г., Мошкин М.П. и Завьялов Е.Л. рассказали об исследованиях по экспериментальной онкотерапии в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ФИЦ ИЦиГ СО РАН. Основные направления исследований, которые ведутся в ЦГР в данной области: Моделирование на мышах онкопатологий; Борсодержащие наночастицы; Пути доставки наночастиц к опухолям головного мозга; Каталитически наночастицы; Мониторинг эффективности терапевтических активные воздействий; Создание восстановительной средств терапии методами геномного ЦГР доступные исследований эффективности редактирования. имеет модели ДЛЯ противоопухолевых препаратов (SK-MEL28 - модель меланомы человека; ASPC-1 - модель карциномы поджелудочной железы человека; А431 – модель эпителиальной карциномы человека; НЕК293Т – модель карциномы почки; U87 – модель глиобластомы человека; МDA-МВ231 - модель карциномы молочной железы человека), а также обладает методами и инструментами для данных исследований. Это позволило исследовать противоопухолевые эффекты препаратов, полученных на основе вирусов; противоопухолевые

Фукоксантина в модели ксенотрансплантации глиобластомы U87 мышам линии SCID; цитопатические кумулятивные эффекты наночастиц Mn₃O₄ при облучении культуры клеток глиобластом человека (рисунок 37).



Рисунок 37 — Мошкин М.П., Завьялов Е.Л. «Экспериментальная онкотерапия в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ФИЦ ИЦиГ СО РАН», Международный форум технологического развития ТЕХНОПРОМ-2018, Новосибирск, 29 августа 2018 г.

Сотрудники ЦГР представляют результаты своих исследований, выполненных с использованием животных и/или оборудования ЦГР, в докладах на различных конференциях.

На 11й международной конференции «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology, BGRS\SB-2018», которую провел ИЦиГ СО РАН 20-24 августа 2018 г. В г. Новосибирск, в рамках секций «Animal genetics» (Генетика животных) и «Translational Medicine» (Трансляционная медицина) были представлены следующие доклады сотрудников ЦГР:

- 1. **Feofanova N.A., Kontsevaya G.V., Anisimova M.V.,** Gon Y.L., Moshkin Y.M. Fluctuating Asymmetry of Gene Expression in Embryos Derived by In Vitro Fertilization. Постер
- 2. Gerlinskaya L., Litvinova E., Kontsevaya G., Feofanova N., Achasova K., Anisimova M., Maslennikova S., Zolotykh M., Moshkin M. Genotype of recipient mother modulate body composition and immunocompetence of transferred progenies
- 3. Illarionova N.B., Bazhenova E.Y., Fursenko D.V., Khotskin N.V., Sorokin I.E., Kulikov A.V. Biomedicine, Pharmacology and Clinical Medicine Characterization of Cell Division in Primary Hippocampal Cultures Derived from Kaiso Deficient Mice. постер
- 4. Illarionova N.B., Morozova K.N., Dorofeeva Y.B., Petrovski D.V., Romashenko A.V., Zavjalov E.L., Kiseleva E., Moshkin Y.M., Moshkin M.P.. Nanoparticles of manganese oxide induce stress granule formation in human glioblastoma cells.
- 5. Korbut A.I., Klimontov V.V., Taskaeva Yu.S., Bgatova N.P., **Zavyalov E.L.** Empagliflozin and linagliptin ameliorate podocyte injury and enhance autophagy in a model of Type 2 diabetic nephropathy
- 6. Kotenkova E., Maltsev A., Ambaryan A., **Romachenko A.** Effect of early experience on neuronal and behavioral re-sponses to con- and heterospecific odors in three closely related Mus taxa: Epigenetic contribution in formation of precopulatory isolation.
- 7. Michurina S.V., Ishchenko I.Yu., Cherepanova M.A., Arkhipov S.A., Klimontov V.V., **Zavyalov E.L.** Linagliptin efect on expression of apoptosis regulators Bcl-2 and Bad in db/db mice liver // Systems Biology and Biomedicine (SBioMed-2018): Symposium (21-22 Aug. 2018, Novosibirsk,Russia).- Novosibirsk: ICG SB RAS, 2018.- c.90.
- 8. Michurina S.V., Ishchenko I.Yu., Cherepanova M.A., Arkhipov S.A., Zavyalov E.L. A Apoptosis in the liver of db/db mice female in postnatal ontogenesis // Systems Biology and Biomedicine (SBioMed-2018): Symposium (21-22 Aug. 2018, Novosibirsk,Russia).-Novosibirsk: ICG SB RAS, 2018.- c.91.

Для участников конференции BGRS\SB-2018 была проведена ознакомительная экскурсия в ЦГР (рисунок 38).



Рисунок 38 – Ознакомительная экскурсия в ЦГР для участников конференции BGRS\SB-2018

Сотрудники ЦГР выступили с докладами о результатах исследований, проведенных с использованием животных и оборудования ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62117X0015), на различных международных и российских конференциях:

- 1. 11th International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure \
 Systems Biology», 20 25 August 2018, Novosibirsk, Russia.
- 2. 2018 XIII международной научно-практической конференции памяти академика Ю.И. Бородина «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям: материалы». 20-21 ноября 2018 г., г. Новосибирск
- 3. XXV Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов". 9-13 апреля 2018 г., МГУ им. М. В. Ломоносова, г. Москва.
- 4. Ежегодный научно-практического семинар «Биологические тест-системы в науке. Современные тенденции, технологии, законодательство, аккредитация и GLP. Значение и

- роль тест-системы в научных разработках и доклинических исследованиях, п. Кольцово (Новосибирская область), 26-27 апреля 2018 г.
- 5. Зимняя школа Томского государственного университета «Биосфера и техносфера. Вызовы времени», г. Томск, 14-18 февраля 2018.
- 6. Круглый стол, посвященный открытию нового Центра нейробиологии и нейрореабилитации (CNBR) на базе Сколтеха. Москва, 01 сентября 2018 г.
- 7. Международная научная конференция «BIOBANKING-2018», Москва, 16-17 октября 2018 г.
- 8. Международный форум технологического развития ТЕХНОПРОМ-2018, г. Новосибирск, 29 августа 2018 г.
- 9. Седьмая научно-практическая конференция специалистов по работе с лабораторными животными RusLASA, 27-29 сентября 2018 г., Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, г. Нижний Новгород.

Результаты исследований, выполняемых в ЦГР, сотрудники и пользователи ЦГР также представляют в выступлениях на телевидении и Интернете. На сайте «НОВОСИБИРСКИЕ HOBOCTИ» (http://nsknews.info/materials/vystrel-rentgenom-novyy-metod-lecheniya-raka-nashli-vnovosibirske/) и по местному телевидению (http://newsvideo.su/video/8179470) 18 января 2018 г. был показан сюжет «Выстрел рентгеном: новый метод лечения рака нашли в Новосибирске». Новой метод щадящего способа лечения раковых опухолей при помощи микропучковой рентгеновской терапии, который позволяет сберечь здоровые клетки, разрабатывают сотрудники Института ядерной физики СО РАН и Института цитологии и генетики СО РАН. Эффективность новой терапии исследуют на базе ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН» с использованием иммуно-дефицитных мышей линии SCID SPF-статуса и уникального научного оборудования Центра, прежде всего MP-томографа BioSpec 117/16 USR. «Мы периодически смотрим на магнитно-резонансном томографе, что же происходит с опухолью. Отслеживаем динамику изменения размеров опухоли. Таким образом мы можем говорить о том, насколько эффективная была та или иная терапия», – комментирует заведующий Центром коллективного пользования «SPF-виварий» Института цитологии и генетики СО РАН Евгений Завьялов (рисунок 39 A). «Эти эксперименты стали возможны, потому что мы находимся в Академгородке, где институты находятся в непосредственной близости. Здесь налажена такая мощная кооперация с биологами, которая позволила в кратчайшие сроки поставить такие эксперименты», – рассказывает старший научный сотрудник Института ядерной физики СО РАН Константин Купер (рисунок 39 Б).







Рисунок 39 — Репортаж «Выстрел рентгеном: новый метод лечения рака нашли в Новосибирске» о совместных исследованиях Института ядерной физики СО РАН и Института цитологии и генетики СО РАН. Эффективность новой терапии исследуют на базе ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН»

Согласно данным, опубликованным на сайте Института ядерной физики СО РАН имени Г.И. Будкера 30.10.2018 г. (http://www.inp.nsk.su/press/novosti/2075-nanochastitsy-oksida-margantsa-snizhayut-negativnye-effekty-radiatsionnogo-vozdejstviya-na-organizm-myshej),

наночастицы оксида марганца снижают негативные эффекты радиационного воздействия на организм мышей. Заведующий Центром коллективного пользования «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН, к.б.н. Евгений Завьялов: «С ИЯФ СО РАН мы занимаемся поиском и разработкой новых подходов лучевой терапии, повышением ее эффективности». Старший научный сотрудник ИЯФ СО РАН, к.ф.-м.н. Константин Купер: «На установке мы провели большой цикл работ, в ходе которых, в первую очередь, был разработан и создан стенд для облучения лабораторных животных, востребованный в ряде институтов СО РАН. Были отработаны оптимальные для лабораторных животных схемы облучения И разработана система оперативного дозиметрического контроля. Все вместе это позволило нам с коллегами из ИЦиГ СО РАН продвинуться в поиске новых подходов лучевой терапии глиобластом».

В процессе совместной работы по поиску оптимальных условий радиотерапии глиом ученые Института ядерной физики им. Г.И. Будкера СО РАН и Института цитологии и генетики СО РАН показали, что введенные в организм наночастицы оксида марганца на фоне микропучкового облучения позволяют нейтрализовать вредные факторы, связанные с облучением лабораторных животных. Этот результат в будущем может быть использован в разработке новых подходов радиационной защиты человека.

На сайте «НОВОСИБИРСКИЕ НОВОСТИ» и по местному телевидению (http://newsvideo.su/video/9562455) 24 октября 2018 г. был показан сюжет об исследованиях, проводимых на «друзьях науки» — животных-моделях различных патологий, и о планах по строительству нового ЦКП для генетических исследований, предусмотренного проектом «Академгородок — 2.0» (рисунок 40).





Рисунок 40 — Репортаж об исследованиях в ЦГР (НОВОСИБИРСКИЕ НОВОСТИ, 24 октября 2018 г.)

5 февраля 2018 г. в г. Новосибирске, в преддверии Дня российской науки, полномочный представитель Президента Российской Федерации в Сибирском федеральном округе Сергей Меняйло посетил ФИЦ ИЦиГ СО РАН, в котором действует Центр коллективного пользования «SPF-виварий» – сверхстерильный питомник для животных, на базе которого создан первый в стране Центр генетических ресурсов лабораторных животных (рисунок 41).



Рисунок 41 — Визит полпреда Президента РФ в Сибирском федеральном округе Сергея Меняйло в Центр генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН

С. Меняйло ознакомился с высокотехнологичной инфраструктурой ЦГР и его работой, также учёные рассказали полпреду о проекте, направленном на объединение исследовательского, технологического и кадрового потенциала Научного центра и вузов Сибири с целью ускоренного развития АПК округа, более активного внедрения цифровых технологий в эту сферу. «Нужно

максимально использовать уникальный потенциал сибирской науки для развития регионов округа. Для этого необходимо создать систему, которая позволит довести результаты работы сибирских учёных до наиболее широкого круга потребителей», — считает полномочный представитель Президента Российской Федерации в Сибирском федеральном округе С. Меняйло.

27 апреля 2018 года Министр промышленности и торговли Российской Федерации Д. Мантуров посетил с рабочей поездкой город Новосибирск, где осмотрел ряд предприятий и ознакомился с производственными процессами и проектами. В программу посещения Министра вошел и ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН. Глава федерального Минпромторга Денис Мантуров и Врио губернатора Новосибирской области Андрей Травников ознакомились с деятельностью ЦКП и дали ей высокую оценку. По итогам визита приято решение — Мипромторг РФ поддержит строительство нового корпуса вивария на базе Института цитологии и генетики (ИЦиГ) Сибирского отделения РАН для наращивания клинических исследований для фармацевтических компаний. «Это даст возможность наращивать клинические исследования для фармкомпаний, будет дополнительным и качественным толчком для фундаментальной и прикладной науки», — сказал Д. Мануров. Виварий и ЦКП должны стать «проводником» между фундаментальной наукой и бизнесом, которое позволит в ближайшие годы внедрять в практику инновационные лекарственные препараты (рисунок 42).





Рисунок 42 – Глава федерального Минпромторга Денис Мантуров и Врио губернатора Новосибирской области Андрей Травников обсуждают с научным руководителем ФИЦ ИЦиГ СО РАН Колчановым Н.А. и научным руководителем Соглашения с Минобрнауки РФ № 14.621.21.0015 Мошкиным М.П. развитие ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН. 27 апреля 2018 г

В рамках мероприятий по развитию новосибирского Академгородка, как территории с высокой концентрацией исследований и разработок, и по проекту комплексного развития Сибирского отделения Российской академии наук с учётом приоритетов и долгосрочных планов развития Сибирского федерального округа, в г. Новосибирск состоялось заседание Общественного совета федерального партийного проекта «Локомотивы роста» (проект партии «Единая Россия»). Цель проекта: создание условий для поступательного развития современной отечественной экономики России во взаимодействии с национальными компаниями — Локомотивами роста. Представители данного проекта посетили ЦГР, ознакомились с организацией работы Центра и исследованиями, проводимыми на его базе, с использованием лабораторных животных SPF-статуса и высокотехнологичного оборудования ЦГР (рисунок 43).





Рисунок 43 — Знакомство представителей Общественного совета федерального партийного проекта «Локомотивы роста» с работой ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН, 17 июля 2018 г

В рамках работ по развитию «Биоресурсных коллекций» в институтах Минобрнауки России, как важнейшей компоненты научной инфраструктуры, функционирующей в режиме центров коллективного пользования, 18.10.2018 г. ЦГР посетил Багиров Вугар Алиевич, директор Департамента координации деятельности организаций в сфере сельскохозяйственных наук Минобрнауки России. В ходе визита обсуждались работы по сохранению биологического разнообразия животных, а также работы в области биотехнологии, физиологии и репродуктивной криобиологии животных, которые ведутся с использованием животных и оборудования ЦГР (рисунок 44).



Рисунок 44 — Визит Багирова В.А. в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН и обсуждение работы ЦГР с дирекцией ИЦиГ СО РАН

2.8.2 Внедрение упрощенной модели доступа и использования оборудования ЦКП

В целях внедрения упрощенной модели доступа и использования оборудования ЦКП и расширения информационного поля о деятельности в ЦГР ведутся регулярные работы по модернизации сайта (http://temp.glplab.ru/) в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России от 18.07.2016 N 871 (рисунок 45).



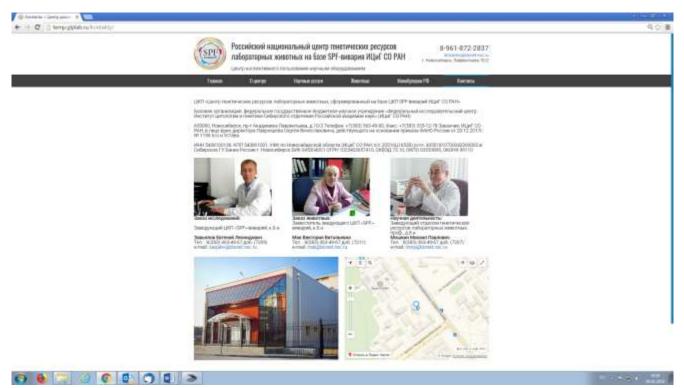


Рисунок 45 – Модернизации сайта ЦГР

На сайте (http://temp.glplab.ru/) представлена актуальная информация об основных направлениях исследований, проводимых в центре; его оборудовании; представлены полный реестр всех линий лабораторных животных и их описание; есть перечень применяемых в центре методик измерений; перечень выполняемых типовых работ и оказываемых услуг с указанием единицы измерения выполняемой работы и (или) оказываемой услуги и их стоимость или порядок определения их стоимости.

Сайт содержит интерактивную веб-форму, обеспечивающую возможность подачи заявок на проведение исследований на базе ЦГР (http://temp.glplab.ru/zakaz-issledovaniya/) или поставку животных для исследований (http://temp.glplab.ru/modeli/zayavka-na-zhivotnyh/). Мы также отправляем животных в другие города Сибири и всей России. Важной и удобной услугой для всех пользователей является возможность резервирования помещений, в которых запланировано проведение исследований, и необходимого для этого оборудования (http://temp.glplab.ru/zakaz-issledovaniya/rezervirovanie-pomeshhenij-i-oborudovaniya/).

2.9 Мероприятия по подготовке кадров для ЦКП

2.9.1 Целевая подготовка студентов и аспирантов, ориентированных на работу в ЦКП

В Центре ведется регулярная целевая подготовка студентов (бакалавры и магистранты) из различных ВУЗов Сибири и аспирантов ИЦиГ СО РАН, ориентированных на работе в ЦГР.

- «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирский государственный университет, НГУ):

Бакалавры:

1. Шабалова Карина Александровна, 4й курс НГУ. Выпускная квалификационная работа специалиста, дипломная работа «Влияние сперматозоидов и семенной жидкости иммунизированных самцов на беременность и эмбриональное развитие мышей линии CD1». Научный руководитель – н.с. ЦГР, к.б.н. Концевая Г.В. Дата защиты – 02.06.2018 г. (рисунок 46).





Рисунок 46 – Апробация дипломной работы студентки 4го курса НГУ Шабановой К.А. в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных»

- 2. Яковлева Софья Вадимовна, 4й курс НГУ. Выпускная квалификационная работа специалиста, дипломная работа «Влияние генотипа суррогатной матери на динамику массы тела и накопление жира у потомков мышей инбредной линии C57Bl/6J». Научный руководитель профессор, д.б.н. Мошкин М.П. Дата защиты 06.06.2018 г.
- 3. Комлева Полина Дмитриевна, 4й курс НГУ. Выпускная квалификационная работа специалиста, дипломная работа «Влияние длины светового дня на серотониновую систему мозга и поведение мышей с наследственными различиями в активности ключевого фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы 2». Руководитель к.б.н. ЦГР Баженова Е.Ю. Дата защиты 06.06.2018 г.

Магистранты:

- 1. Петрова Ольга Михайловна, 1й курс, магистратура НГУ. «Процессы нейрогенеза у крыс линии ОХҮЅ». Научный руководитель г.н.с., д.б.н. Амстиславский С.Я.
- 2. Глинских Анастасия Вячеславовна, 1й курс, магистратура НГУ. «Спектроскопия ЯМР сыворотки крови и ткани мозга мышей линии NOD SCID с сахарным диабетом 1-го типа». Научный руководитель с.н.с., к.б.н. Акулов А.Е.
- 3. Мокроусова Валентина Игоревна, 2й курс, магистратура НГУ. Выпускная квалификационная работа, магистерская диссертация «Сравнение эффективности разных способов криоконсервации эмбрионов и гамет домашней кошки (Felis silvestris atus)». Научный руководитель г.н.с., д.б.н. Амстиславский С.Я. Дата защиты 07.06.2018 г.

Аспиранты:

1. Гон Янь Ли. Эпигенетические эффекты условий фертилизации *in vitro* при экстракорпоральном оплодотворении у мышей. Научный руководитель – в.н.с., к.б.н. Юдин Н.С.

- Новосибирский государственный педагогический университет (НГПУ):

Бакалавры:

- 1. Болдырев Никита Дмитриевич, 4й курс НГПУ. «Изучение культуры клеток глиобластомы человека в условиях *in vitro*». Научный руководитель с.н.с., д.б.н. Разумов И.А., ИЦиГ СО РАН.
- 2. Бадмаева Дарина Андреевна, 4й курс НГПУ. «Влияние мелатонин-содержащего комплекса на морфофункциональное состояние печени db/db мышей с моделью ожирения и сахарного диабета 2 типа». Научный руководитель д.б.н., профессор Сахаров А.В., НГПУ. Консультант: к.б.н. Ищенко И. Ю., НГПУ.

- Национальный исследовательский Томский государственный университет (ТГУ):

Магистранты:

1. Кацур Александр Викторович, 1й курс, магистратура ТГУ. «Влияние температурных условий инкубации на развитие мышиных преимплантационных эмбрионов». Научный руководитель – в.н.с., д.б.н. Герлинская Л.А.

- ФИЦ ИЦиГ СО РАН:

Аспиранты:

- 1. Ачасова Ксения Михайловна. Вклад отдельных компонентов муцина-2 в регуляцию кишечного воспаления симбиотической микрофлорой. Научный руководитель с.н.с., к.б.н. Литвинова Е.А.;
- 2. Золотых Мария Александровна. Особенности поведения самцов мышей с нарушением муциновой выстилки кишки. Научный руководитель с.н.с., к.б.н. Кожевникова Е.Н.;
- 3. Тур Дарья Александровна. Исследование методом магнитного резонанса последствий влияния продолжительной гипергликемии на головной мозг лабораторных животных. Научный руководитель – с.н.с., к.б.н. Акулов А.Е.;
- 4. Шарапова Марина Борисовна. Нейробиологические эффекты длительного интраназального введения наночастиц на основе оксидов неорганических веществ. Научный руководитель г.н.с., д.б.н., профессор Мошкин М.П.;
- 5. Сорокин Иван Евгеньевич. Влияние нарушений фотопериода на серотониновую систему мозга и поведение мышей. Научный руководитель г.н.с., д.б.н., профессор Куликов А.В.
- 6. Плюснина Александра Викторовна. Влияние генетических и средовых факторов на поведение и нервную систему мышей линии B6.Bg-Tg(Prnp-SNCA*A53T)23Mkle/J генетически предрасположенных к паркинсонизму. Научный руководитель г.н.с., д.б.н., профессор Куликов А.В.;
- 7. Печурин Сергей Николаевич. Влияние условий экстракорпорального оплодотворения на последующее развитие потомства. Научный руководитель в.н.с., к.б.н. Юдин Н.С.

2.9.2 Проведение практики студентов университетов Сибири

На базе ЦГР проводят производственную практику студенты различных ВУЗов Сибири – НГУ, г. Новосибирск; НГПУ, г. Новосибирск; ТГУ, г. Томск.

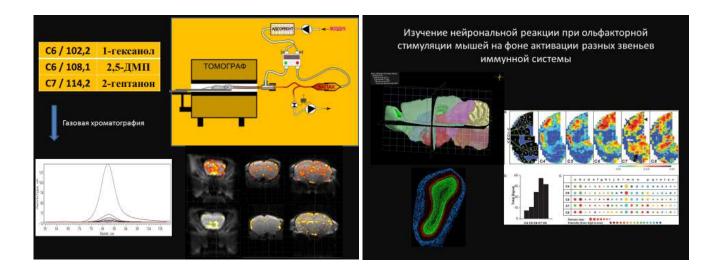
Практика студентов Новосибирского национального исследовательского государственного университета (НГУ) в 2018 г.

На базе ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН были проведены практические занятия для магистрантов 1го курса НГУ (факультет естественных

наук, ФЕН) в рамках курса «Функциональная анатомия центральной нервной системы» (Справка о проведенных занятиях заведующего кафедрой физиологии ФЕН НГУ чл.-корр. РАН Н.Н. Дыгало от 24.06.2018 г.). Курс ведет старший научный сотрудник ЦГР к.б.н. Акулов А.Е. (рисунок 47). Студенты были ознакомлены с исследованиями центральной нервной системы, прежде всего головного мозга, которые проводятся в ЦКП многочисленными методами магнитно-резонансной томографии (рисунок 48).



Рисунок 47 – Практические занятия для магистрантов 1го курса НГУ (факультет естественных наук, ФЕН) в рамках курса «Функциональная анатомия центральной нервной системы», который ведет старший научный сотрудник ЦКП к.б.н. Акулов А.Е.



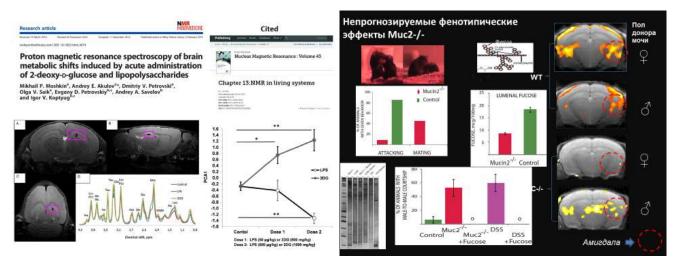


Рисунок 48 — Результаты исследования центральной нервной системы, выполняемых на базе ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» с использованием магнитнорезонансного томографа BioSpec 117/16 USR фирмы Bruker (Германия) с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла

Практика студентов Новосибирского государственного педагогического университета (НГПУ) в 2018 г

В соответствии с Договором № 5182 от 04.04.2018 г. о проведении практики обучающихся Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный педагогический университет» на базе ЦКП была проведена практика (с 15 по 28 июня 2018 г.) студентов Института естественных и социально-экономических наук НГПУ под руководством сотрудников Центра. Согласно рабочему графику и индивидуальному заданию на практику по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности (физиология человека), студенты были ознакомлены с организацией разведения и содержания животных в высоко-технологичном Центре генетических ресурсов лабораторных животных (рисунок 49).





Рисунок 49 — Знакомство студентов НГПУ с лабораторными и технологическими помещениями ЦГР

Также студенты были ознакомлены с различными манипуляциями, проводимыми с животными *in vivo*, способами эвтаназии и забора органов у животных (составление протокола, выполнение исследования согласно протоколу, фиксация данных).

Под руководством сотрудников ЦГР студенты провели самостоятельное исследование по теме «Морфофункциональные особенности мышей линий Scid и Nu/J (интактных и с подсаженной опухолью меланомы человека SK-MEL 28)». В рамках данной работы студенты ознакомились с организацией работы в микробиологическом боксе, работе с клеточными культурами *in vitro*. В ходе практики студенты освоили методы *in vitro*-фертилизации; гематологического анализа (составление протокола, выполнение исследования согласно протоколу, фиксация данных); провели фенотипирование лабораторных животных: измерение количества жира, свободной и связанной воды в организме с использованием сверхточной магнитно-резонансной томографии (составление протокола, выполнение исследования согласно протоколу, фиксация данных) (рисунок 50).





Рисунок 50 – Работа студентов НГПУ в исследовательской зоне ЦГР

По завершении практических занятий студентами были обработаны материалы исследований, проведено обобщение результатов анализа литературных данных по теме индивидуального задания и подготовлена рукопись статьи. Результаты практики были представлены на семинаре в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных» ИЦиГ СО РАН (рисунок 51).



Новосибирск 2018 г.

Рисунок 51 – Отчет студентов НГПУ о практике в Центре генетических ресурсов лабораторных животных ИЦиГ СО РАН

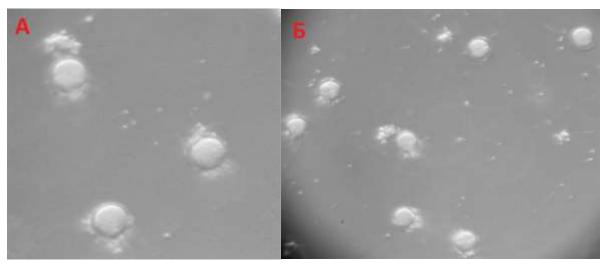
Практика магистранта Национального исследовательского Томского государственного университета (ТГУ), г. Томск, в 2018 г

Кацур Александр Викторович, 1й курс, с 11 июня по 21 июля 2018 г. провел исследование «Влияние температурных условий инкубации на развитие мышиных преимплантационных эмбрионов». Научный руководитель практики – в.н.с., д.б.н. Герлинская Л.А. (рисунок 52).



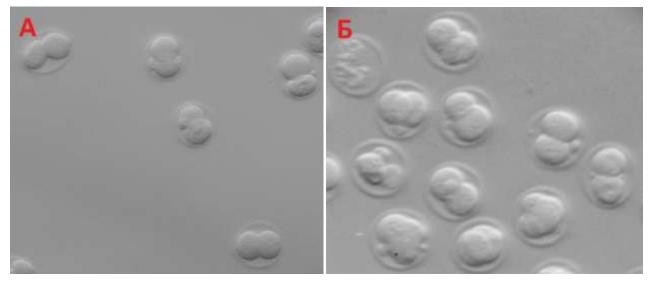
Рисунок 52 – Дневник прохождения практики магистранта 1го курса ТГУ Кацур А.В. в ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных»

Кацур А.В. обучился правилам работы в барьерных помещениях Центра генетических ресурсов лабораторных животных. Основная цель практика магистранта: отработать процедуру проведения ЭКО (экстракорпоральное оплодотворение) на лабораторных животных (мыши линии CD-1). В ходе практики Кацур А.В. освоил метод проведения внутрибрющинных инъекций; метод получения сперматозоидов и ооцитов для IVF (In Vitro Fertilization); метод получения зигот 2-х клеточных эмбрионов; методы культивирования и получения 4-х, 8-ми, 16-ти и 32-х клеточных эмбрионов (рисунок 53).



Зиготы (А)

6 ч после оплодотворения ооцитов (Б)



2-х клеточные эмбрионы (А)

24 ч после осеменения ооцитов (Б)

Рисунок 53 – Результаты ЭКО, мыши линии CD-1 (практика магистранта 1го курса ТГУ Кацур А.В. в ЦГР)

В результате ЭКО было получено 555 зигот, из которых 259 эмбрионов перешли на 2-х клеточную стадию. При их культивировании на 4-х клеточную стадию перешли 125 эмбрионов, из которых 106 сформировали морулы. Стадии бластоцисты достигли 65 эмбрионов (12 % от общего числа зигот). В целом, результативность проведенных процедур ЭКО приближается к величинам, характерным при их проведении другими исследователями. Проведенное исследование выявило критические факторы, способные негативно влиять на деление доимплантационных эмбрионов: время от момента цервикальной дислокации самки до извлечения ооцитов; время нахождения делящегося эмбриона вне СО2 инкубатора.

2.9.3 Проведение обучающих курсов для пользователей ЦКП

Перед началом работы в ЦГР все исследователи, как из ИЦиГ СО РАН, так и из других организаций, в обязательном порядке должны изучить: правила посещения ЦГР; прохода в лабораторные и барьерные помещения; правила работы в барьерных помещениях исследовательского блока и стандартные операционные процедуры (СОП), непосредственно касающиеся проводимой ими работы; а также получить инструктаж по электробезопасности.

В связи с этим для всех пользователей ЦКП проводится вводный обучающий курс «Центр коллективного пользования SPF-виварий — площадка для *in vivo* исследований моделей патологии человека» (разработан в 2017 г. заведующим ЦКП к.б.н. Е.Л. Завьяловым), в котором рассказывается о целях и задачах современных вивариев; о структуре и функциях ЦКП; о коллекции лабораторных животных (в том числе моделей патологий человека); о квалифицированной работе с животными; о контроле здоровья животных; о современном

высокотехнологическом оборудовании; о разнообразных исследованиях, проводимых на базе ПКП.

Все сотрудники (как из ИЦиГ СО РАН, так и из других институтов и университетов), проводящие исследования на базе ЦГР, в обязательном порядке знакомятся с «Правилами работы сотрудников вивария, исследователей, аспирантов, студентов вузов в барьерных помещениях Центра генетических ресурсов лабораторных животных» (рисунок 54).



Рисунок 54 — Правила работы сотрудников вивария, исследователей, аспирантов, студентов вузов в барьерных помещениях Центра генетических ресурсов лабораторных животных

Ответственный сотрудник ЦГР знакомит исследователей:

- с общими положениями работы в различных помещениях «SPF-виварий», в том числе в барьерных помещениях (исследовательская «чистая» зона, 3 этаж) и на территории томографического блока (1 этаж, к. 108);
- с условиями для проведения научной работы на базе «SPF-виварий» (комплект документов, который необходимо оформить для работы в ЦГР заявка и программа экспериментальной работы с животными в Межинститутскую комиссию по биоэтике; заявка на лабораторных животных; заявка на проведение исследований. Бланки всех документов можно найти на сайте ЦГР http://temp.glplab.ru/zakaz-issledovaniya/);
- с условиями предоставления ресурсов вивария для исследователя (Заявку на животных или проведение исследования необходимо отправить на официальный сайт ЦГР в раздел «Услуги»: http://spf.bionet.nsc.ru/animals/, h

В ходе курса особое внимание уделяется этапам входа в барьерные помещения исследовательского блока, поскольку это необходимое условие сохранения SPF-статуса животных и помещений, в которых они содержатся и в которых проводятся исследования, а также необходимое условие защиты людей от зооноз и аллергенов:

- І этап: вход в здание;

- II этап: гардероб;

- III этап: санпропускник;

- IV этап: воздушный шлюз;

- V этап: выход из барьерной зоны.

В связи с этим в разных зонах ЦГР предъявляются разные требования к форме одежды исследователей (рисунок 55). Наиболее жесткие требования к одежде в исследовательском блоке ЦГР: стерильный комплект из специального костюма, обуви, носков, перчаток, маски и шапочки.



- 1.4 Взять чистую обувь из контейнера «Мужская» или «Женская» обувь и поставить её на липкий антибактериальный коврик за красной линией (линия начерчена на полу).
- 1.5 Сесть на скамейку, не переступая красной линии. Правую ногу освободить от обуви и перенести за красную линию на липкий коврик, где надеть чистую обувь.
- 1.6 Аналогично, левую ногу освободить от обуви и перенести за красную линию на липкий коврик, где надеть чистую обувь



Требования к форме одежды для работы в лабораториях 1 этажа

Форма одежды исследователей для работы в лабораториях

1-го этажа представляет собой:

- Халат:
- Шапочка;
- Сменная обувь.

Халаты и шапочки находятся в гардеробной - к. 274.



Требования к форме одежды «грязного» коридора исследовательской зоны

«Грязный» коридор - это помещение, куда поступают все материалы из Исследовательской зоны 3-го этажа. Во избежани разноса аллергенов по зданию вивария, следует использовать специальную одежду для «грязного» коридора 3-го этажа.

Форма одежды «грязного» коридора представляет собой надетые поверх личной одежды или рабочей формы ЦКП:

- халат:
- маска: - перчатки.

Перечисленные материалы находятся в контейневах певел

При выходе из «грязного коридора» следует обрабатывать нижнюю







Требования к форме одежды Исследовательского блока

- Форма одежды для работы в исследовательском блоке включает в себя: специальный костюм, чистые носки, шапочку, маску, перчатки, чистую обувь.
- Вся одежда должна быть стерильной и обработанной этанолом согласно «Правилам прохода в барьерные помещения исследовательского блока».
- Рубашка костюма должна быть заправлена в брюки, а брюки в носки. Шапочка должна полностью закрывать волосы, а маска плотно прилегать к лицу.



Рисунок 55 – Требования к форме одежды исследователей в разных зонах ЦГР

Новые исследователи проходят первичный инструктаж, а постоянные исследователи дополнительно проходят регулярный повторный инструктаж. После знакомства с «Правилами работы сотрудников вивария, исследователей, аспирантов, студентов вузов в барьерных помещениях Центра генетических ресурсов лабораторных животных» исследователи проходят тестирование, затем они расписываются в журнале учета инструктажа и, при необходимости, проходят обучение по работе с заявленным оборудованием. Только после этого они получают пропуск в ЦГР и возможность проведения самостоятельных исследований на его базе (рисунок 56).

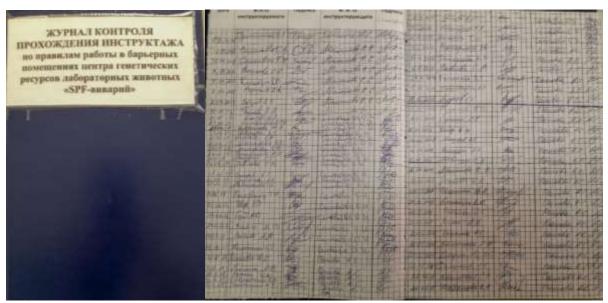


Рисунок 56 – Журнал учета инструктажа исследователей по работе в ЦГР

Ведется электронный реестр выдачи временных пропусков для всех сотрудников и посетителей, выполняющих исследования на базе ЦГР (рисунок 57).

N IS W		- 0 - 6 A	H	Description of the con-		Officers Officers Officers		F.		Brans Jacon Bu Balas	Overser-	Coproposal I	Q Tunna a militar
			-	. E	10 E	1 4	- 11		A	(C)	7. K	100	
-			Место проведения	Maria merakan	Serv.	Гунфии	Magnyanas	Operation		Communicación (Company)			
Zares:	BIRC AMMINI	Communication	ra0er	INCOMPANSATE.	Decreasion.	поосышния:	принции	STREET,	Morramous redictivation	IN THE PERSON	Donasie I	Руководитель	Charge
05M	Bautrenia M.E.	HONDWAY CO NAME	Fig.t. Swin	20109-2018	\$1,10,200A	or semme			PORNOU D. D.	Farmer	(TMRH)	metals D. A.	Persperse
180	Caretree M.	DODANI CO NAT	min. sera. v. 100	18-19-2018	27:13:301#	function .		+	89139127884	Tenne		Pyronist B.B.	Deprised
196	bissisting & H.	Made CO FAM:	man deser, a. LUT, Mar-9	\$1.10.2014	91.02.003	ne platfed			n mak measurage digress com-	Tarrete	eneger.	O.A. Supon	Prevend
me.i.	Financh B.	70	Steen Sects, p. 129, 326, 127	20109.2018	13.12.2018	****		17	MM-1779-CES	Territor	nemper TV	Klain H.C.	Perspense
M#3.	Revigen C. R.	HAME OF HAY	PRES. BRID. 125, 116, 127	20.09.2014	91.13.2048	ENEQUEERO.			great probability and they	Fernan	Investment HJul 53 MH	Khanni H. C.	Pergresses
179.1	Fire Please	HEART CO FAIR	PROCESSOR, 8, 125, 105, 127	20,09,2018	37.15.5048	\$152/8100			and the belief of the little	Farces	schepen High 10 Hart	Major H.E.	Prigrete
EV2.4	Altresosper F.L.	HAME CO FAMI	WHAT SHOW, IN LIST, SHEEL LIST,	20-20-2018	31332818	WYSQUIDENCE.		+	extractive extracts.	Faccion .		KOgen H.E.	Cruatere
1.000	Courses H.A.	20.	History	21 (5 (0))	93-11-201A	ne pratter;			PRINTED THE BUILDING TO BE A ST. N.	Fector	(ACTIVALANT	C.S. Herrecon	Paperson
1.046	Distalkit M.A.	HV	stace dece	84.16.3018	94.12.2044	ed praised."			KNST718853 harming@mail.nj	Panish	periodyser:	E.E. Hyrecox	Paperoud
1.000	Disease H.A.	10:	+.109	0.117000	80 12 2018	24 2181801	1.0	1 7 7	BILITY BOTH SHEWELD BY WALL AS	Terrete	0.004.007	C.L. riversom	('mptervadi
1,000	Dresses M.A.	147	+ 100	10.12.3000	MILT 2018	of present			ARLETTERIN CONCUMPTED AS	Carres	HEROSE .	E.A. Persons	Personal
	ROMPRED D. A.	HAD DO THE	Peta Dese	93.10 (018	90.33.3018	or person			Ringson in A	Famous		A.B. National M.	Penantee
mLJ.	Bonness 0.10	HARRED PAY	HELL BOX. HELT	40.10.3018	90.12.2018	STADESTS.		1.4.	Social and State Service	Favore		Tayannen é.B.	Transpoid.
11.100	Martinesco J. A.	3494/E-03 (No.	HILL DRING	91.10.7016	90 12 2016	EVERHOUS.			Somese (I. K)	Favore		Taxoneri A.B.	Startman.
701.7	Speaker A. Fr.	HARRIS CO FINE.	WALK BRIDE	21.10.2518	30.17.7018	ensanesmo:			Opmisse C. (C)	Tances		Tepresent A.B.	Finestered.
01.4	Rystadum E. B.	1000 00700	VOLUME .	41.10.1018	80 10, 2018	KYRAFERIO		- +	Signature (2.6).	Ference		Tackers A.S.	Pastigried.
101.1	Securement T. H.	SAMO DE PRO	Prin Rose	21.10.1014	80.12.2014	endpress:			Nummer 0.40:	Tarves		Taparen A.B.	Discopradi
ned	(testerous A.A.	147	STALL FORM	96.16.3018	31.51.3516	TARGETTON:			BREADALTELS Service@Vestility	Farmed	Here's are	Annual total E.A.	Proservania
081	Episones M.E.	HORBERT CO NAVATINEY	Pkin.eme	22.10.2048	81.13.3618	NE PLEASES.			#14/01/Thee	Detrooms	PARTY	Yukkin D. N.	Papernal
(54.	Designing A.E.	HAME DO YAM	First Jones, o. 127	05 (1.2018)	TI IT MIA	Little & HARRY	-	-	TORINGA WALLET	Farmer	THE .	Berryon F. F.	Depressió
061	Summaries D.C.	Indipend CO PART	PECCHINA	-93.10.2018	33.13.3018	THE SHALLOW	12.00	1.0	01154770990	forces		French D. A.	Prigities
94.4	governa ER	PRAILE CO PART	n. tit	88 12 3018	81.52.2018	67 resistes	.+.		88137971364	Freiose		Non-ma C.C.	Department
164.3	freigyastes 0.5	EHLLIF CO PART	4.108	98 13 2018	11.13.3018	3-2 versions	7	7.	80157971864	Especia	1 1 1	Borw-sea C.E.	Phatmosil.
let .	Crysies H.A.	HAR DO NAH	s 117, wor, town (8.8-6)	28.13.2018	81 13 2618	Transfered.	+		Principle Control Control	Farite	Jan .	Sertishin it. F.	Tepromé
CRR	Firegrana (S.O.	PRAIN DO NAME.	a Hill mid films	48.13.2018	EX.137.0019	1-81/2004	1		CONTRIBUTION CONTRIBUTION	Facces	pri saltupani	Service of P.	Pesterna
166	Bullet H.C.	149	+ 100	00.03.0014	33.13.2018	né prátitos			801094292	Tausa		FRISTING A. FL.	11.
175	Harpet LE	HARTIS NAH	n 11% 310	10.10.2008	81,52,2518	ne practice.			Pietonias E.A.	Fannis		Famous A.B.	
671	Gebenges P. B.	140	n 10% 115 110	99 (3.30) 8	61.13.3016	00 3181801	1.00	1,81	9117101001	Former		Concret 6.8	
(115)	Ortomore 6	HAME OF THE	= 20A	11.15.2008	90 ST 2018	THE PROPERTY		1	Books was in a	Farmer		Balance Hills	
M11.	Armina f.	HAD DO NAM	1.000	21.13.2018	30.33.3018	1,000 6 953476			Benganisa H. A.	Famous		Basser H.M.	
	Transfer of the second	Ten 246 61	200	1 2 0 2 10	2012-2012	1			Strate and the				

Рисунок 57 – Электронный реестр выдачи временных пропусков

В 2018 г. было проведено 73 курса для исследователей (первичный — 30, повторный — 43), в том числе 45 для сотрудников ИЦиГ (первичный — 8, повторный — 36) и 29 для сотрудников из других организаций (первичный — 22, повторный — 7).

Все исследователи, работающие в барьерных помещениях Исследовательского блока ЦГР, при входе и выходе из него обязательно расписываются в «Листе учета прохода специалистов» (рисунок 58).



17-23.09.2018 г.

17-23.12.2018 г.

Рисунок 58 – Листы учета прохода специалистов в барьерные помещения Исследовательского блока ЦГР

ЦГР предоставляет курс «Обучение правилам работы с лабораторными животными SPFстатуса» всем заинтересованным исследователям из внешних организаций.

25.04.2018 г. на базе ЦГР прошли обучение сотрудники университета и института из г. Санкт-Петербург (рисунок 59):

1. ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), Иоффе Вероника Станиславовна, заведующая виварием Института трансляционной биомедицины СПбГУ, г. Санкт-Петербург (Заявка № 115 от 23.04.2018 г.).

2. ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова Минздрава России, Васютина Марина Львовна, главный ветеринарный врач Питомника лабораторных животных с вивариями ЦДТИ ИЭМ, г. Санкт-Петербург (Заявка № 116 от 23.04.2018 г.).



Рисунок 59 — Обучение правилам работы с лабораторными животными SPF-статуса коллег из г. Санкт-Петербурга

2.10 Мероприятия по внедрению новых услуг

2.10.1 Приобретение новых линий лабораторных животных — моделей патологий человека и животных

Среди многообразия лабораторных животных, используемых современной биологией, бесспорным лидером являются лабораторные мыши, на которых выполняется более 70 % исследований в области биомедицины, фармакологии, токсикологии, нанобиобезопасности. Их значимость, как основных объектов трансляционных исследований, регулярно обсуждается на страницах ведущих зарубежных и российский научных журналов. Все это создает гигантское разнообразие экспериментальных объектов и высокую степень их стандартизации, как важнейшего условия для получения надежных воспроизводимых результатов в фундаментальных исследованиях и в социально-значимых доклинических испытаниях новых средств диагностики, профилактики и лечения болезней.

В связи с этим в «Центре генетических ресурсов лабораторных животных» ФИЦ ИЦиГ СО РАН ведется планомерная работа по обновлению имеющегося в ЦГР поголовья лабораторных животных SPF-статуса и приобретению новых линий лабораторных животных — моделей патологий человека и животных, которые будут востребованы как внутренними, так и внешними пользователями ЦГР.

Крупнейшим Центром биологических ресурсов и поставщиком лабораторных мышей самого высокого качества является The Jackson Laboratory (Bar Harbor, US). Джексоновская лаборатория, созданная в 1929 г., ежегодно поставляет 3 млн лабораторных мышей 56 странам и регионам. Свыше 80 процентов научных результатов мирового уровня в области медицины и здравоохранения были достигнуты с использованием "белых мышей" этой лаборатории, включая 26 достижений, получивших Нобелевскую премию по медицине.

В течение 2018 г. была проведена трудная и сложная работа по поставке из этого крупнейшего в мире научно-исследовательского центра генной инженерии в ЦГР мышей различных линий (как в живом поголовье, так и в виде криопродуктов). Достигнута договоренность о поставке мышей линии С57ВL/6Ј (самцы и самки); гомо- и гетерозигот NOD.CB17-Prkdc<scid>/J HOM Homozygous for Prkdc<scid>; NOD.Cg-Prkdc<scid> Il2rg<tm1Wjl>/SzJ M01 Homozygous for Prkdc<scid>, Homozygous for Il2rg<tm1Wjl>; NOD.Cg-Prkdc<scid> Il2rg<tm1Wjl>/SzJ M03 Homozygous for Prkdc<scid>, Hemizygous for Il2rg<tm1Wjl>; B6(Cg)-Igh<tm3.1(VRC01)Nemz>/J UNSP Unspecified. Животные будут поставлены в февралемарте 2019 г. на общую сумму 7 455.50 USD (счета № Q076762-3 и Q076762-3 от 21.12.2018 г. от The Jackson Laboratory, 610 Main Street, Bar Harbor, ME 04609 US, оплата за счет собственных средств ЦГР).

2.10.2 Получение новых моделей патологий человека

Поиск оптимальных стратегий персонализированной терапии невозможен без создания животных генетических моделей патологий человека. Это особенно актуально в свете этнического многообразия России. В рамках работ по ПНЗ (Приоритетная научная задача) № 5 «Исследование структуры и функций биологических систем с целью изучения природы социально-значимых заболеваний и разработки новых лекарственных препаратов» и ПНЗ № 6 «Формирование сети национальных центров генетических коллекций лабораторных животных для моделирования патологий человека и испытаний новых лекарственных препаратов» в ЦГР поддерживается 4 уникальные экспериментальные модели (линии) лабораторных животных (мыши) с генетическими нокаутами цитокинов. Исследования на этих животных позволят продвинуться в понимании роли цитокинов при формировании защитных функций организма и развитии иммунной системы (рисунок 60).



Рисунок 60 – Все четыре экспериментальные модели получены на генетической основе линии мышей C57Bl/6

Линии лабораторных мыши с генетическими нокаутами цитокинов:

- 1. IL-6^{del/del} (Мыши с полным нокаутом по IL-6);
- 2. IL-6^{fl/fl} CD11cCre (Мыши с инактивацией IL-6 в миелоидных клетках, экспрессирующих CD11c);
- 3. IL-6^{fl/fl} CX3CR1CreERT2 (Мыши с индуцируемой тамоксифеном Cre-зависимой делецией IL-6 в миелоидных клетках, экспрессирующих CX3CR1);
- 4. TLR4^{fl/fl} CD4Cre (Мыши с инактивацией TLR4 в Т-клетках).

Первоначально из Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (Лаборатория молекулярных механизмов иммунитета, руководитель академик РАН С.А. Недоспасов) было получено по 3 самца каждой из 4х линий. Затем в ЦГР была проведена большая предварительная работа по воссозданию этих линий в количестве, необходимом для использования мышей данных линий в экспериментах, проводимых как сотрудниками ИЦиГ СО РАН, так и внешними пользователями. Полученные самцы были скрещены с самками линии С57В1/6 для получения гибридов, которые в дальнейшем были скрещены между собой с последующим генотипированием и отбором животных нужного генотипа. В настоящее время все 4 линии находятся в живом разведении и используются для экспериментальных работ.

Проведено фенотипирование линии с полным нокаутом по IL-6. Интерлейкин-6 – один из главных провоспалительных цитокинов с широким спектром иммунорегуляторных свойств и его про- или противовоспалительное действие определяется иммунологическим контекстом. IL-6 продуцируется многими типами клеток, однако в каждом конкретном случае только некоторые типы клеток продуцируют IL-6, оказывающий патогенный эффект при данном заболевании. Негативные эффекты IL-6 выявлены при развитии аутоиммунного энцефаломиелита, астме, артрите и некоторых злокачественных опухолях. Эти экспериментальные мышиные модели заболеваний человека зависят от IL-6, где выявлена патогенная роль IL-6, продуцируемого

миелоидными клетками, для которых анти-IL-6 терапия может быть актуальной. В связи с этим системная терапевтическая блокировка IL-6 или его рецепторов используется для лечения нескольких аутоиммунных заболеваний (например, ревматоидного артрита или воспалительных болезней кишечника), а также некоторых видов неоплазий. Экспериментальные мышиные модели аллергических заболеваний легких имеют много общих черт с астмой у человека и могут быть использованы для исследования патофизиологических механизмов и разработки новых методов исследования.

Таким образом, мыши с нокаутом по IL-6 могут быть использованы для исследования патофизиологических механизмов аутоиммунных заболеваний и разработки новых методов их терапии. При этом анти-цитокиновая терапия успешно применяется в лечении многих хронических воспалительных заболеваний. В частности, было показано, что экспрессия IL-6 повышается в ходе воспаления в легких при астме. На основании этого мыши с генетическим нокаутом IL-6 могут послужить релевантной моделью для терапии астмы. Согласно проведенным в ЦГР исследованиям, мыши с полным нокаутом по IL-6 характеризуются боле высоким содержание жира в организме по сравнению с диким типом. Полученные данные могут быть использованы в дальнейшем для более детального исследования роли IL-6 в развитии таких социально значимых заболеваний, как алиментарное ожирение и диабет, а также в разработке новых подходов для их терапии.

Для изучения ключевых реакций иммунной защиты: развитие воспалительных процессов и реакций врожденного иммунного ответа были созданы линии IL-6^{fl/fl} CX3CR1CreERT2 и TLR4^{fl/fl} CD4Cre. Линия IL-6^{fl/fl} CX3CR1CreERT2 характеризуется индуцируемой тамоксифеном Cre-зависимой делецией IL-6 в миелоидных клетках, экспрессирующих рецептор R1 хемокина CX3C. Линия характеризуется TLR4^{fl/fl} CD4Cre инактивацией гена, кодирующего толл-подобный рецептор 4 (TLR4) в T-клетках, ответственный за формирование врожденного иммунного ответа.

Ведутся работы по поиску новых подходов терапии такого социально значимого заболевания как глиобластома – злокачественная опухоль головного мозга.

Использование имеющихся в коллекции ЦКП иммунодефицитных мышей линии SCID, уникальных для $P\Phi$, позволило создать *in vivo* модель ксенотрансплантации клеток глиобластомы человека U87 MG (рисунок 61).





Рисунок 61 — *in vivo* модель ксенотрансплантации клеток глиобластомы человека U87 MG (мыши линии SCID с имплантированной в головной мозг злокачественной опухолью головного мозга человека)

Исследование онколитических свойств вируса Зика в отношении клеток глиобластомы в этой модели показало, что при интратуморальном введении 5×10^5 ТЦД $_{50}$ вируса Зика в течение 4 дней наблюдалось прекращение роста опухоли. Причем рецидивов (метастазов) повторного роста опухоли не было зарегистрировано в течение 64 суток наблюдения. Результаты проведенных в ЦГР исследований демонстрируют перспективность исследований вируса Зика как потенциального онколитического агента в борьбе со злокачественной опухолью головного мозга человека. Данная модель также используется в ЦГР (совместно с исследователями из ИЯФ СО РАН) для поиска новых подходов лучевой терапии глиобластом.

С целью расширения коллекции ЦГР также была отработана технология поставки лабораторных грызунов из зарубежных организаций. Для исследования развития аутоиммунных заболеваний из Вестфальского университета им Вильгельма, г. Мюнстер (Германия) были ввезены 2 линии мышей – генетические модели аутоиммунного энцефаломиелита. С ведущими мировыми дипозитариями лабораторных мышей заключены договора на поставку мышей разных генотипов.

2.11 Мероприятия по модернизации, содержанию и ремонту научного и технологического оборудования

В целях мероприятий по модернизации, содержанию и ремонту научного и технологического оборудования, которое широко используется при проведении исследований в ЦГР, были закуплены: редуктор газа двухступенчатый для CO_2/N_2 БГД-25S (CO_2/N_2), от 0 до 1 Мпа (1 атм), Россия, предназначенный специально для использования с азотными и углекислыми баллонами для CO_2 -инкубатора; воздушный насос (50 рsi) и головка перистальтического насоса (PUMP HEAD W/TUBING, PERISTALTIC) для системы Сортер

клеток S3e от Bio-Rad; бидистиллятор электрический БЭ-4 (для производства дистиллированной и бидистиллированной воды из исходной путем её нагрева до кипения с дальнейшей конденсацией образующегося водяного пара).

Для хранения образцов биологического материала и реактивов закуплен Морозильник вертикальный на -86°С, 728 л, Dual Cooling, VIP+, MDF-DU702VH Panasonic в комплекте, который отличается экологической безопасностью (благодаря натуральным хладагентам – природным углеводородам), низким энергопотреблением, обеспечивает надежное хранение научных и клинических образцов при низких температурах (до -86°С).

Для измельчения и диспергирования широкого спектра образцов биологического материала закуплен Гомогенизатор Ultra Turrax Т 18 digital в комплекте для объёмов от 1 до 1500 мл (H₂O) с цифровой индикацией частоты вращения. Отличается широким диапазоном частот вращения, от 500 до 25 000 об/мин, что позволяет получать высокие окружные скорости даже при небольшом диаметре ротора. Большой выбор диспергирующих элементов обеспечивает широкую область применения.

Закуплены центрифуга настольная Allegra X-30R с угловым ротором F0850 (F0850 ROTOR PKG), Весктап, и Стереомикроскоп Альтами СМ0655 (СМ0655-Т), имеющий модульную конструкцию, предназначенный для получения объемного изображения предметов в отраженном или проходящем свете.

Для пользователей, проводящих исследования с использованием электрофореза, закуплены камеры в комплекте (Камера для горизонтального электрофореза Sub-Cell GT, 15 × 15 см, с заливочным столиком; Камера для электрофореза MINI-Protean TETRA) и гребенка для электрофорезных камер Sub-Cell и Wide Mini Sub Cell, на 20 лунок, толщина 1.5 мм.

Достигнуты все запланированные значения показателей результативности предоставления субсидии (рисунок 62).

III. ОТЧЕТ О ДОСТИЖЕНИИ ЗНАЧЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ СУБСИДИИ

(за 12 месяцев 2018 года)

Na n/	Наименование	Единица измерен	Значения за текущий год		
п		ня	Заплани ровано на текущий 2018 год	Достиги уто за отчетны й период	
Инд	икаторы				
1	Объем привлеченных внебюджетных средств	млн.руб	9,3	9,315642 27	
2	Количество результатов интеллектуальной деятельности, полученных с использованием оборудования центра, в отношении которых подана заявка на получение правовой охраны в Российской Федерации и (или) за рубежом, не менее	единиц	0	0	
Пов	азатели				
1	Число организаций - пользователей оборудованием ЦКП негосударственного сектора, в том числе участников Национальной технологической инициативы, не менее	единиц	10	10	
2	Отношение фактического времени работы оборудования ЦКП в интересах третьих лиц к фактическому времени работы оборудования ЦКП за год, не менее	проценто в	50	51	
3	Отношение фактического времени работы оборудования ЦКП к максимально возможному времени работы оборудования ЦКП за год, не менее	проценто в	85	85,3	
4	Объем привлеченных средств из внебюджетных источников (от общего объема финансирования работ в каждом году), не менее	проценто в	10	11,05	
5	Доля исследователей в возрасте до 39 лет в общей численности исследователей, выполняющих работы с использованием оборудования ЦКП, не менее	проценто в	55	60	
6	Количество разработанных (освоенных) новых методик измерений, не менее	единиц	10	10	
7	Удельный вес лабораторного и аналитического оборудования в возрасте до 5 лет в общей стоимости лабораторного и аналитического оборудования ЦКП, не менее		70	92,1	
8	Число организаций - пользователей оборудованием ЦКП, не менее	единиц	26	26	
9	Количество публикаций в российских и иностранных научных журналах, индексируемых в базе данных Web of Science или Scopus, в которых имеется ссылка на выполнение работы с использованием оборудования ЦКП, не менее	единиц	20	25	

3

Рисунок 62 — Значения показателей результативности предоставления субсидии и их выполнение сотрудниками ЦГР в $2018~\Gamma$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значимым научно-технологическим результатом отчетного периода является обновление и повышение пропускной способности стерилизационного оборудования в блоке племенного разведения животных, свободных от видоспецифических патогенов (SPF). Своевременность этой работы определяется значительным пополнением коллекционного фонда Центра генетических ресурсов лабораторных животных (ЦГР). В 4м квартале начались работы по постановке в коллекцию 19 новых линий животных, полученных в ФИЦ ИЦиГ СО РАН методами геномного редактирования (CRISPR/Cas9). При исследовании новых генотипов с использованием полученного в рамках проекта оборудования выявлена линия мышей с дефицитом тучных клеток. Кроме того, высокотехнологическое фенотипирование новых линий мышей с целевыми мутациями показало возможность получения моделей коморбидных патологий, основанных на экспрессионном дефиците отдельных генов иммунной защиты, энергообмена и формирования нейрональных контактов. Развитие работ по моделированию опухолей мозга обеспечило и будет обеспечивать междисциплинарные и межинститутские исследования в области поиска средств антиканцерной терапии, в том числе на основе таких инновационных подходов, как микропучковое облучение и бор-нейтрон захватная терапия (ИЯФ СО РАН), а также применение канцеролизирующих вирусов (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», ИХБФМ СО РАН). Сформированный в ходе реализации проекта биоимиджинговый комплекс, включающий МРТ, КТ и оптический томограф, послужил основой для объективного анализа пространственного распределения терапевтических наночастиц, содержащих флуоресцентную метку. Высокий уровень вспомогательных репродуктивных технологий ЦГР был использован для совершенствования методов оплодотворения in vitro, в которых одинаково заинтересованы и клиники репродуктологии, лаборатории ускоренного тиражирования высокопродуктивных И сельскохозяйственных животных.

В целом результаты проекта ориентированы на использование учреждениями Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Министерства здравоохранения, Министерства сельского хозяйства, фармацевтическими компаниями, производителями нового медицинского оборудования и инновационных материалов, включая наноматериалы.

Эффекты от внедрения результатов проекта. Одной из целей инструментального развития ЦГР является создание эталонной научно-технологической платформы, обеспечивающей современный уровень трансляционных исследований широкого спектра биомедицинских, фармакологических и токсикологических задач. Социально-экономические эффекты прикладного использования ЦГР заключаются:

- в формировании коллекции модельных организмов, полностью покрывающих список социально-значимых заболеваний человека;
- в обеспечении модельными организмами поисковых работ, направленных на поиск и испытание новых средств диагностики, профилактики и лечения болезней;
- в предоставлении условий для проведения биомедицинских исследований в соответствии с международными стандартами, которые предполагают выполнение исследований на животных, сохраняющих в течение всего эксперимента статус организмов, свободных от видоспецифических патогенов (SPF-статус);
- в инструментальном, в том числе биоимиджинговом, сопровождении поисковых терапевтических и фармакологических исследований;
- в проведении различных форм тренинга и консультаций, обеспечивающих внедрение современных методов исследования в трансляционные и фармакологические работы, проводимые в университетах, научных организациях, фармакологических компаниях, современных животноводческих комплексах.

В связи со сказанным можно заключить что развитие ЦГР, как ЦКП федерального значения, является важнейшей инфраструктурной задачей для успешного создания инновационных технологий и методического обеспечения биомедицинских исследований в РФ.

Формы и объемы коммерциализации результатов проекта. Создание коллекции лабораторных животных - моделей патологий человека - является необходимым элементом в реализации амбициозных научно-технологических программ, ориентированных на развитие национальной фармакологии, которая в развитых странах обеспечивает основной спрос на модельные организмы. Анализ динамики договоров на услуги ЦГР показывает прогрессивный спрос со стороны отечественных фармакологических компаний. Есть все основание прогнозировать, что национальная фармакология будет переходить от воспроизводства дженериков, для испытания которых требуется 3-4 стандартных генетических линии мышей и крыс, к поиску оригинальных средств лечения, которое в современных реалиях осуществляется с использованием тысяч генетических линий животных, моделирующих конкретные болезни и их генетически детерминированные варианты. Масштабы рынка можно оценить, опираясь на мировой опыт: европейский филиал компании «Charles River Laboratories» производит ежегодно около 40 млн. мышей, свободных от патогенов и условно-патогенной микрофлоры. Их стоимость составляет 60-80 млрд. руб. И это только ~50 % от общеевропейской потребности. Достижение российской фармакологией хотя бы 10 % европейских объемов создаст запрос на 8-10 млн. лабораторных мышей, свободных от видоспецифических патогенов, на приобретение которых будет потрачено 10-12 млрд. руб. Помимо прямого потребления модельных организмов развитие фундаментальных и прикладных исследований нуждается в инфраструктурном обеспечении,

элементом которого является ЦГР с растущим разнообразием модельных организмов; развивающимся набором методов высокотехнологического фенотипирования; обеспечивающим полный цикл исследований с гарантированной защитой от случайных инфекций.

Достигнуты все запланированные значения показателей результативности предоставления субсидии.

Информация о ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных», его оборудовании, животных и услугах размещена на сайте http://spf.bionet.nsc.ru/ и http://spf.bionet.nsc.ru/ и http://spf.bionet.nsc.ru/ и

Приложения

- 1. 1 Услуги Визуализация нейрональных процессов
- 2. 2 Услуги Сортировка клеток
- 3. З Услуги Оценка изменения состояния культуры нейрональных клеток
- 4. Акты приемки работ Монтаж Криокатушки
- 5. Сертификаты здоровья животных 2018
- 6. Отправка образцов в QM Diagnostics 2018
- 7. Поверка люминометров
- 8. Сертификаты ISO 9001 2018
- 9. Сертификаты об обучении_GLP
- 10. Повышение квалификации Гуляева
- 11. COΠ Cytation
- 12. COII SELECTOMAT
- 13. Доклад Завьялова Е.Л. на Днях науки
- 14. Репортаж Выстрел рентгеном 18.01.2018
- 15. Практика студентов НГУ
- 16. Практика студентов НГПУ
- 17. Правила работы сотрудников вивария
- 18. Поставка мышей Jackson Laboratory