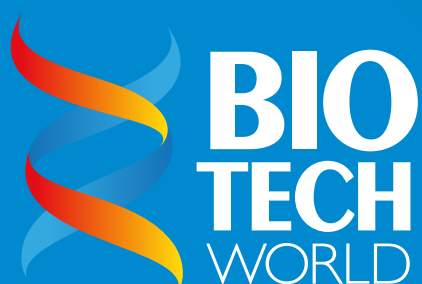


МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА
CONGRESS PROCEEDINGS



МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

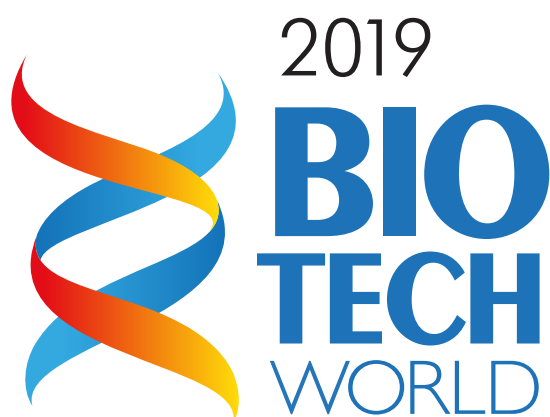
**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

INTERNATIONAL CONGRESS

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

25 - 27 ФЕВРАЛЯ 2019
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4

25 - 27 FEBRUARY 2019
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW



WWW.BIOMOS.RU

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

**БИОТЕХНОЛОГИЯ:
СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ
РАЗВИТИЯ**

ВЫПУСК 17

25 - 27 ФЕВРАЛЯ 2019
МОСКВА, ГОСТИНЫЙ ДВОР,
ИЛЬИНКА, 4

INTERNATIONAL CONGRESS

**BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART
AND PERSPECTIVES**

ISSUE 17

25 - 27 FEBRUARY, 2019
ILYNKA 4, GOSTINY DVOR,
MOSCOW

**МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС
«БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ
И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»**

Материалы международного конгресса
«Биотехнология: состояние и перспективы
развития»
25 - 27 ФЕВРАЛЯ 2019 Г.

Настоящие материалы конгресса созданы
на основании информации, предоставленной
участниками форума и одобренные
руководителями секций.

Материалы тезисов публикуются в авторской
версии. Организаторы не несут ответственности
за неточности и упущения в названиях и адресах,
представленных в данном сборнике.
Любое копирование и использование
материалов без письменного разрешения
Программного комитета не разрешено.

УДК 575.1/2::612.017.1 ББК 28.072
ISBN 978-5-9909118-0-2
ISSN: 2312-640X

© ООО "РЭД ГРУПП"
119049, г. Москва, ул. Донская, д. 2, стр. 1
info@biomos.ru www.biomos.ru

Все права на издание принадлежат ООО "РЭД
ГРУПП"- организатор международного конгресса
«Биотехнология: состояние и перспективы
развития»

**INTERNATIONAL CONGRESS «BIOTECHNOLOGY:
STATE OF THE ART AND PERSPECTIVES»**

The proceedings of International congress
«Biotechnology: state of the art and perspectives»
FEBRUARY 25 - 27, 2019.

DISCLAIMER

This book contains abstracts and complete papers
approved by the Congress Review Committee.
Authors are responsible for the content and accuracy.

Opinions expressed may not necessarily reflect the
position of the Scientific Council of congress.

Information in the Biotechnology: state of the art and
perspectives» 2019 Congress Proceedings is subject
to change without notice. No part of this book may
be reproduced or transmitted in any form or by any
means, electronic or mechanical, for any purpose,
without the express written permission of the
International Scientific Council of congress.

ISBN 978-5-9909118-0-2
ISSN: 2312-640X

Copyright © LLC "RED GROUP"
Moscow, Donskaya str., 2, b.1
info@biomos.ru www.biomos.ru

All Rights Reserved by LLC "RED GROUP - organizer
of the International congress «Biotechnology: state of
the art and perspectives».

To summarize, we have shown that exosomes play an active role in the processes of cell differentiation and fibrosis and that their application may contribute to activation of regenerative processes *in vitro*. Exosomes derived from healthy muscle MSC proved to be the most effective. Our next step is to investigate the influence of exosomes on skeletal muscle regeneration *in vivo* on the model of rat *musculus soleus* laceration.

References:

1. Furuta T. et al. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Promote Fracture Healing in a Mouse Model. // *Stem Cells Transl. Med. Wiley-Blackwell*, 2016. Vol. 5, № 12. P. 1620–1630.

УДК: 602.9:616-003.93, ББК: 28.05

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ И РАСТВОРИМЫЕ ФАКТОРЫ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ СЕКРЕТОМА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ИНГИБИРУЮТ ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ФИБРОБЛАСТОВ В МИОФИБРОБЛАСТЫ И СПОСОБСТВУЮТ РЕВЕРСИИ ЭТОГО ПРОЦЕССА

Н.А.Басалова¹, Г.Д.Сагарадзе¹, О.А.Григорьева¹, К.Ю.Кулебякин², Е.С.Новоселецкая³, Р.Ю.Еремичев³, М.С.Арбатский⁴, Н.И.Калинина⁴, А.Ю.Ефименко⁵

¹Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119192, Москва, Ломоносовский пр-т, 27/10

²Факультет фундаментальной медицины, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 27/1

³Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ломоносовский пр-т, 27/10

⁴Факультет фундаментальной медицины, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 27/1

⁵Институт регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный центр, МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 119992, Москва, Ломоносовский пр-т, 27/10

e-mail: info@irm.msu.ru

Показана способность внеклеточных везикул и растворимых факторов, выделенных из секретомы МСК человека, ингибировать дифференцировку фибробластов в миофибробласты и способствовать реверсии этого процесса.

Ключевые слова: секретомы МСК, внеклеточные везикулы, фиброз

Регенерация ткани – комплексный процесс, представляющий скоординированные взаимодействия различных типов клеток и их микроокружения. Целью процесса репаративной регенерации является восстановление утраченной функции ткани или органа. Однако, после обширных повреждений или хронического воздействия повреждающих агентов результатом репарации часто является патологическое увеличение доли стромального компонента, или фиброз. Фиброз – это избыточное отложение белков внеклеточного матрикса (ВКМ) и формирование рубцовой ткани, обусловленное чрезмерной синтетической активностью и гиперпролиферацией миофибробластов и их основных предшественников, фибробластов, нарушающее нормальную функцию органов. Таким образом, для предотвращения потери функциональности ткани или восстановления ее нормальной архитектуры после фиброобразования, необходимо исследовать эффективные инструменты для подавления или реверсии фиброза.

Одним из способов ограничения фиброза может являться ремоделирование непосредственно ВКМ, а также подавление ключевых путей передачи сигнала, ассоциированных с профибротическими эффектами. Поэтому большой интерес представляют мезенхимные стромальные клетки (МСК), способные разрушать ВКМ посредством секреции множества матриксных металлопротеиназ, а также подавлять фиброгенез за счет действия паракринных факторов и внеклеточных везикул (ВВ), переносящих различные регуляторные микро-РНК (миРНК). Более того, некоторые миРНК, такие как miR-21, miR-29, являются мажорными в составе ВВ МСК и могут быть вовлечены в регуляцию фиброгенных процессов. Для выявления ключевых антифибротических механизмов МСК, были проанализированы свойства различных компонентов секретомы МСК.

Для этого фракции, обогащенные растворимыми факторами (РФ) или ВВ выделяли из 2-дневной кондиционированной среды (КС-МСК) иммортализованной линии МСК человека (hTERT MSC) с помощью

ультрафильтрации. Подавление и гиперэкспрессию исследуемых миРНК получали с помощью трансфекции внеклеточных везикул коммерческим набором Exo-Fect™ Exosome Transfection и синтезированными нуклеиновыми кислотами (Qiagen). Способность выделенных РФ и ВВ влиять на фиброгенные процессы оценивали на *in vitro* модели TGFβ-индуцированной дифференцировки фибробластов кожи человека в миофибробласты. Компоненты КС-МСК добавляли одновременно с индукцией дифференцировки либо через 4 суток, когда фибробласты уже приобретали фенотип, присущий миофибробластам. Антифибротические свойства фракций КС-МСК исследовали с помощью иммуноцитохимического анализа (α-гладкомышечный актин, винкулин), метода ПЦР в реальном времени (коллаген I типа, фибронектин, α-гладкомышечный актин) и теста на контракцию коллагенового геля.

Нами было показано, что КС-МСК, обогащенная ВВ, ингибировала дифференцировку фибробластов в миофибробласты, как на морфологическом, так и на функциональном уровне. Стоит отметить, что добавление ВВ к уже дифференцированным миофибробластам приводило к их дедифференцировке. Для того, чтобы уточнить роль мажорных миРНК, регулирующих фиброз, проведено подавление экспрессии миРНК-21 и миРНК-29, а также смоделирована их гиперэкспрессия в составе ВВ. Так, подавление экспрессии миРНК-21 в составе ВВ приводило к уменьшению доли клеток с фенотипом миофибробластов в культуре, в то время как подавление экспрессии миРНК-29 увеличивало это число. В то же время, гиперэкспрессия исследуемых миРНК не вносила значимого вклада в способность ВВ ингибировать дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Также нами было обнаружено, что фракция, обогащенная РФ, имела сходный эффект, подавляя как дифференцировку фибробластов, так и стимулируя дедифференцировку миофибробластов, однако отличающийся меньшей стабильностью при воспроизведении экспериментов.

Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод, что компоненты КС-МСК, как ВВ, так и РФ подавляют дифференцировку фибробластов в миофибробласты и способствуют реверсии этого процесса. По-видимому, влияние компонентов МСК на фиброз в значительной степени может быть опосредовано балансом между профиброгенными и антифиброгенными миРНК в составе секретируемых клетками ВВ.

Исследование проводилось с использованием биоматериалов из Национального банка-депозитария живых систем и при поддержке РФФИ (#18-015-00525).

Литература:

1. El Agha E. et al. Mesenchymal stem cells in fibrotic disease // *Cell Stem Cell*. – 2017. – Т. 21. – №. 2. – С. 166-177.
2. Ferguson S. W. et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view // *Scientific reports*. – 2018. – Т. 8. – №. 1. – С. 1430.
3. Hinz B. et al. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling // *The American journal of pathology*. – 2012. – Т. 180. – №. 4. – С. 1340-1355.
4. Wynn T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis // *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. – 2008. – Т. 214. – №. 2. – С. 199-210.

UDC: 602.9:616-003.93

EXTRACELLULAR VESICLES AND SOLUBLE FACTORS ISOLATED FROM THE SECRETOME OF HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELLS INHIBIT FIBROBLAST TO MYOFIBROBLAST DIFFERENTIATION AND PROMOTE ITS REVERSAL

N.Basalova¹, G.Sagaradze¹, O.Grigorieva¹, K. Kulebyakin², E.Novoseletskaia³, R. Eremichev³, M. Arbatsky⁴, N.Kalinina⁴, A.Efimenko⁵

¹Institute for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Centre, Lomonosov Moscow State University, Russia, 119192, Moscow, Lomonosov Ave., 27/10

²Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Russia, 119991, Moscow, Lomonosov Ave., 27/1

³Institute for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Centre, Lomonosov Moscow State University, Russia, 119992, Moscow, Lomonosov Ave., 27/10

⁴Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Russia, 119991, Moscow, Lomonosov Ave., 27/1

⁵Institute for Regenerative Medicine, Medical Research and Educational Centre, Lomonosov Moscow State University, Russia, 119992, Moscow, Lomonosov Ave., 27/10

e-mail: info@irm.msu.ru

The ability of extracellular vesicles and soluble factors isolated from human MSC secretome to inhibit fibroblast to myofibroblast differentiation and promote reversal of this process has been shown.

Key words: MSC secretome, extracellular vesicles, fibrosis

Tissue regeneration is a complex process representing coordinated interactions of various cell types and their microenvironment. The purpose of the reparative regeneration process is restoration of the normal function of a tissue or organ. However, after extensive damage or chronic exposure to damaging agents, the common result of repair is a pathological increase in the proportion of the stromal component, or fibrosis. Fibrosis is the excessive deposition of extracellular matrix proteins (ECM) and the formation of scar tissue, due to excessive synthetic activity and hyperproliferation of myofibroblasts and their main precursors, fibroblasts, disrupting the normal function of organs. Thus, in order to prevent the loss of tissue functionality or the restoration of its normal architecture after fibrosis, it is necessary to explore effective tools for suppressing or reversing fibrosis.

One of the ways to limit fibrosis may be direct remodeling of ECM, as well as the suppression of key signal of transduction pathways associated with profibrotic effects. Therefore, mesenchymal stromal cells (MSCs), which are capable of degrading ECM by secreting many matrix metalloproteinases, as well as inhibiting fibrogenesis due to the action of paracrine factors and extracellular vesicles (EV), carrying various regulatory micro-RNA (miRNA), are of great interest. Moreover, some miRNAs, such as miR-21, miR-29, are major within the EV-MSC and may be involved in the regulation of fibrogenic processes. To identify the key antifibrotic mechanisms of MSCs, the properties of various components of the MSC secretome were analyzed.

So the fractions enriched with soluble factors (SF) or EV were isolated from a 2-day conditioned medium (CM-MSC) of an immortalized human MSC line (hTERT MSC) using ultrafiltration. Suppression and overexpression of the studied miRNAs was obtained by transfecting EV with the commercial Exo-Fect™ Exosome Transfection kit and synthesized nucleic acids (Qiagen). The ability of isolated SF and EV to influence fibrogenic processes was evaluated on in vitro model of TGFβ-induced fibroblast to myofibroblast differentiation. The components of the CM-MSC were added simultaneously with the induction of differentiation or after 4 days, when the fibroblasts had already acquired the myofibroblasts' phenotype. The antifibrotic properties of the CM-MSC fractions were investigated using immunocytochemical analysis (α-smooth muscle actin, vinculin), real-time PCR (type I collagen, fibronectin, α-smooth muscle actin) and a collagen gel contraction test.

We have shown that CM-MSC enriched with EV inhibited fibroblast to myofibroblast differentiation, both at the morphological and functional levels. It should be noted that the addition of EV to differentiated myofibroblasts led to their dedifferentiation. In order to specify the role of major miRNAs that regulate fibrosis, miRNA-21 and miRNA-29 expression were suppressed, and their overexpression was modeled within EV. Thus, the suppression of the miRNA-21 expression in the EV led to a decrease in the proportion of cells with the myofibroblast phenotype in culture, while the suppression of the miRNA-29 expression increased this number. At the same time, overexpression of the studied miRNAs did not significantly influence the ability of the EV to inhibit fibroblast to myofibroblast differentiation. We also found that the fraction enriched with SF had a similar effect, suppressing both the fibroblast differentiation and stimulating the dedifferentiation of myofibroblasts, but being less stable when reproducing experiments.

Based on these data, we can conclude that the components of the CM-MSC, both EV and SF, suppress fibroblast to myofibroblast differentiation and promote the reversion of this process. Apparently, the effect of MSC components on fibrosis can be largely mediated by the balance between profibrogenic and antifibrogenic miRNAs in the composition of secreted EV.

The study was funded by RFBR grant #18-015-00525 and conducted using biomaterial collected within National depositary bank of living systems

References:

1. El Agha E. et al. Mesenchymal stem cells in fibrotic disease // *Cell Stem Cell*. – 2017. – T. 21. – №. 2. – C. 166-177.
2. Ferguson S. W. et al. The microRNA regulatory landscape of MSC-derived exosomes: a systems view // *Scientific reports*. – 2018. – T. 8. – №. 1. – C. 1430.
3. Hinz B. et al. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling // *The American journal of pathology*. – 2012. – T. 180. – №. 4. – C. 1340-1355.
4. Wynn T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis // *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. – 2008. – T. 214. – №. 2. – C. 199-210.