

## ХАРАКТЕРИСТИКА КУЛЬТУР КЛЕТОК, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЛИМБА ЧЕЛОВЕКА

Мария Александровна СУРОВЦЕВА<sup>1</sup>, Игорь Алексеевич ИСКАКОВ<sup>2</sup>,  
Ольга Владимировна ПОВЕЩЕНКО<sup>1</sup>, Александр Петрович ЛЫКОВ<sup>1</sup>,  
Ирина Иннокентьевна КИМ<sup>1</sup>, Евгения Викторовна ЯНКАЙТЕ<sup>1</sup>,  
Владимир Иосифович КОНЕНКОВ<sup>1</sup>, Валерий Вячеславович ЧЕРНЫХ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –  
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН  
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>2</sup> МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России,  
Новосибирский филиал  
630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

В лимбе локализованы лимбальные эпителиальные стволовые клетки, которые обеспечивают регенерацию эпителия роговицы, как физиологическую, так и репаративную. Целью данной работы являлась характеристика клеточных культур, полученных из лимбального графта человека различными методами. **Материал и методы.** Лимбальные стволовые клетки получали из области лимба энуклеированных глаз человека ферментативным методом и методом экспланта. Культивирование клеток осуществляли на амниотической мембране и без нее, в ростовых средах DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient F12 Ham) и СЕСВМ (Corneal Epithelial Cell Basal Medium). Проведена морфологическая оценка и иммунофенотипирование клеточных культур. **Результаты и их обсуждение.** При ферментативном методе выделения полученная культура клеток отличалась гетерогенностью, в суспензии неадгезированных клеток выявлено присутствие фибробластоподобных клеток, которые по внешнему виду и характеру роста напоминали стромальные. При иммунофенотипировании выявлено, что большинство клеток несут маркеры мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (CD90<sup>+</sup>/CD73<sup>+</sup>/CD105<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>/CD45<sup>-</sup>) и меньшее количество – маркеры эпителиальных клеток (p63α<sup>+</sup>, ABCG2<sup>+</sup>, СК19<sup>+</sup>). Культура, полученная методом экспланта, была более однородной. Клетки имели округлую эпителиоцитоподобную форму, хорошо адгезировались к поверхности амниотической мембраны и росли на ней. Результаты фенотипирования свидетельствуют, что они представлены главным образом эпителиальными клетками (p63α<sup>+</sup>, ABCG2<sup>+</sup>, СК19<sup>+</sup>). **Заключение.** При ферментативном методе выделения клеток из лимбального графта и культивировании их без фидера в ростовой среде DMEM/F12 культура представлена главным образом мультипотентными мезенхимальными стволовыми клетками. Выделение клеток лимба методом экспланта и культивирование их в селективной среде СЕСВМ позволяют получить преимущественно культуру эпителиальных стволовых клеток.

**Ключевые слова:** лимб, эксплант, амниотическая мембрана, лимбальные стволовые клетки, мультипотентные мезенхимальные стволовые клетки.

*Суровцева М.А.* – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий,  
e-mail: mfelde@ngs.ru

*Искаков И.А.* – д.м.н., зав. операционным блоком, e-mail: iskakov@mntk.nsk.ru

*Повещенко О.В.* – д.м.н., зав. лабораторией клеточных технологий, e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru

*Лыков А.П.* – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий,  
e-mail: aplykov2@mail.ru

*Ким И.И.* – к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, e-mail: kii5@yandex.ru

*Янкайте Е.В.* – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, e-mail: mursik@ngs.ru

*Коненков В.И.* – д.м.н., проф., академик РАН, научный руководитель, e-mail: vikonenkov@gmail.com

*Черных В.В.* – д.м.н., проф., директор, e-mail: rimta@mntk.nsk.ru

Лимб – это разделительный ободок между роговицей и склерой шириной 1,0–1,5 мм. В криптах Вогта зоны лимба локализованы лимбальные эпителиальные стволовые клетки (limbal epithelial stem cells, LESC) [9], обеспечивающие регенерацию эпителия роговицы, как физиологическую, так и репаративную. Сохранность специфического многослойного неороговевающего эпителия на поверхности роговицы является одним из факторов ее прозрачности [5].

Дефицит лимбальных стволовых клеток (limbal stem cell deficiency, LSCD), вызванный врожденными или приобретенными факторами, приводит к нарушению регенерации эпителиальных клеток роговицы, ее конъюнктивализации и возможной частичной или полной слепоте в зависимости от степени повреждения области лимба. Врожденные факторы, приводящие к LSCD, представляют собой патологические состояния, обусловленные генетическими и аутоиммунными нарушениями. Приобретенными факторами дефицита LESC являются воздействия тепловых и химических факторов, ультрафиолетовых лучей, контактных линз.

При лечении LSCD применяют клетки различного происхождения. Наиболее часто для восстановления поврежденной поверхности роговицы используются клетки лимба, конъюнктивы и ткани слизистой рта [9]. Широко признанным методом лечения одностороннего дефицита лимбальных клеток является аутологичная трансплантация LESC, за которой следуют эпителиальные клетки конъюнктивы; тогда как при двухсторонних поражениях для лечения в основном используются культивируемые клетки слизистой оболочки полости рта [8, 10, 14]. Трансплантация двух последних видов культивируемых клеток показала многообещающие результаты с переменным уровнем успеха [14]. Трансплантация аутологичных LESC является предпочтительной методикой лечения для реконструкции поверхности роговицы у пациентов с LSCD. При пересадке происходит восстановление популяции утраченных LESC, регенерация эпителия роговицы, увеличение прозрачности роговицы и улучшение остроты зрения поврежденного глаза [8, 10].

В экспериментальных работах [8, 14] показано, что для культивирования LESC необходимо наличие фидерного слоя, который обеспечивает экспансию клеток, их фиксацию на роговице, способствует миграции и встраиванию клеток в область повреждения. В качестве фидера предложены клеточная линия мышечных эмбриональных фибробластов (Т3Т), амниотическая мембрана (АМ), контактные линзы и другие матрицы. Ис-

следования ученых последних лет направлены на поиск новых оптимальных условий выделения и культивирования LESC, создание новых матриц для их трансплантации.

Целью данной работы являлась характеристика клеточных культур, полученных из лимбального графта человека различными методами.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Лимбальные стволовые клетки получали из области лимба энуклеированных по плановым медицинским показаниям глаз ( $n = 4$ ). Энуклеация проводилась по поводу заболеваний, не затрагивающих передний отрезок глаза (злокачественные новообразования заднего отдела глаза). У всех пациентов получено информированное согласие на проведение операции, забор тканей глаза и использование их в научных исследованиях.

Лимбальный графт отмывали 2 раза забуференным физиологическим раствором (ЗФР), измельчали ножницами на фрагменты по 2–3 мм. Материал от двух пациентов подвергали ферментативной обработке, а от двух других пациентов использовали для выделения клеток методом экпланта.

При ферментативном методе выделения клеток лимб обрабатывали 0,05%-м раствором коллагеназы (*Clostridium histolyticum*, тип I, «Sigma-Aldrich», США) с добавлением 2 % фетальной бычьей сыворотки (FBS, HyClone, «Thermo Fisher Scientific», США) при 37 °С в течение 18–20 ч. Затем клетки отмывали два раза раствором ЗФР (1500 об/мин, 10 мин), осаждали, подсчитывали и высаживали в количестве  $(250–300) \times 10^3$  клеток на лунку 24-луночного планшета в культуральную среду DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient F12 Ham, Gibco, «Thermo Fisher Scientific», США) с добавлением 10 % FBS (HyClone),  $10^{-8}$  М дексаметазона, 2 мМ L-глутамина («Биолот», Санкт-Петербург), 40 мкг/мл гентамицина («Дальхимфарм», Хабаровск). Клетки культивировали при 37 °С и 5 %  $\text{CO}_2$ . Прилипшую фракцию культивировали до получения конфлюэнтного слоя в полной ростовой среде, которую обновляли каждые 3–4 дня. При пересеве клетки снимали с использованием смеси 0,25%-го раствора трипсина и 0,02%-го раствора ЭДТА (ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово).

При выделении клеток лимба методом экпланта в качестве фидера использовали силиковысушенную АМ («флексамер», «Арго-мед», Нижний Новгород). АМ нарезали размером 10 × 10 мм и укладывали на дно 24-луночного планшета. На поверхность АМ помещали фраг-

менты лимба размером  $1 \times 2 \times 0,25$  мм и культивировали в минимальном количестве полной среды СЕСВМ (Corneal Epithelial Cell Basal Medium, «Cell Applications», США), не допускающая флотирования эксплантов. В культуральную среду добавляли 10 % FBS («HyClone»), 2 мМ L-глутамин («Биолот», Санкт-Петербург), 40 мкг/мл гентамицин («Дальхимфарм», Хабаровск). Планшеты культивировали при  $37^\circ\text{C}$  и 5 %  $\text{CO}_2$ . Смену культуральной среды проводили через 3–4 дня. После разрастания клеток и закрытия большей части поверхности АМ (3–4 недели) адгезированные клетки снимали раствором трипсина (0,25 %) и ЭДТА (0,02 %) и определяли фенотип на проточном цитофлуориметре FACSCantoII («BD», США) с использованием моноклональных антител к  $\text{p63}\alpha$ , ABCG<sub>2</sub>, CK19, CD90, CD105, CD73, CD34 и CD45, меченных PE, APC, Alexa Fluor 488, FITC («Cell Signaling Technology», Нидерланды; «BioLegend», США; «Thermo Fisher Scientific»; «BD»). Морфологию выделенных из лимба клеток оценивали с помощью микроскопа Axio Observer («Zeiss», Германия).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

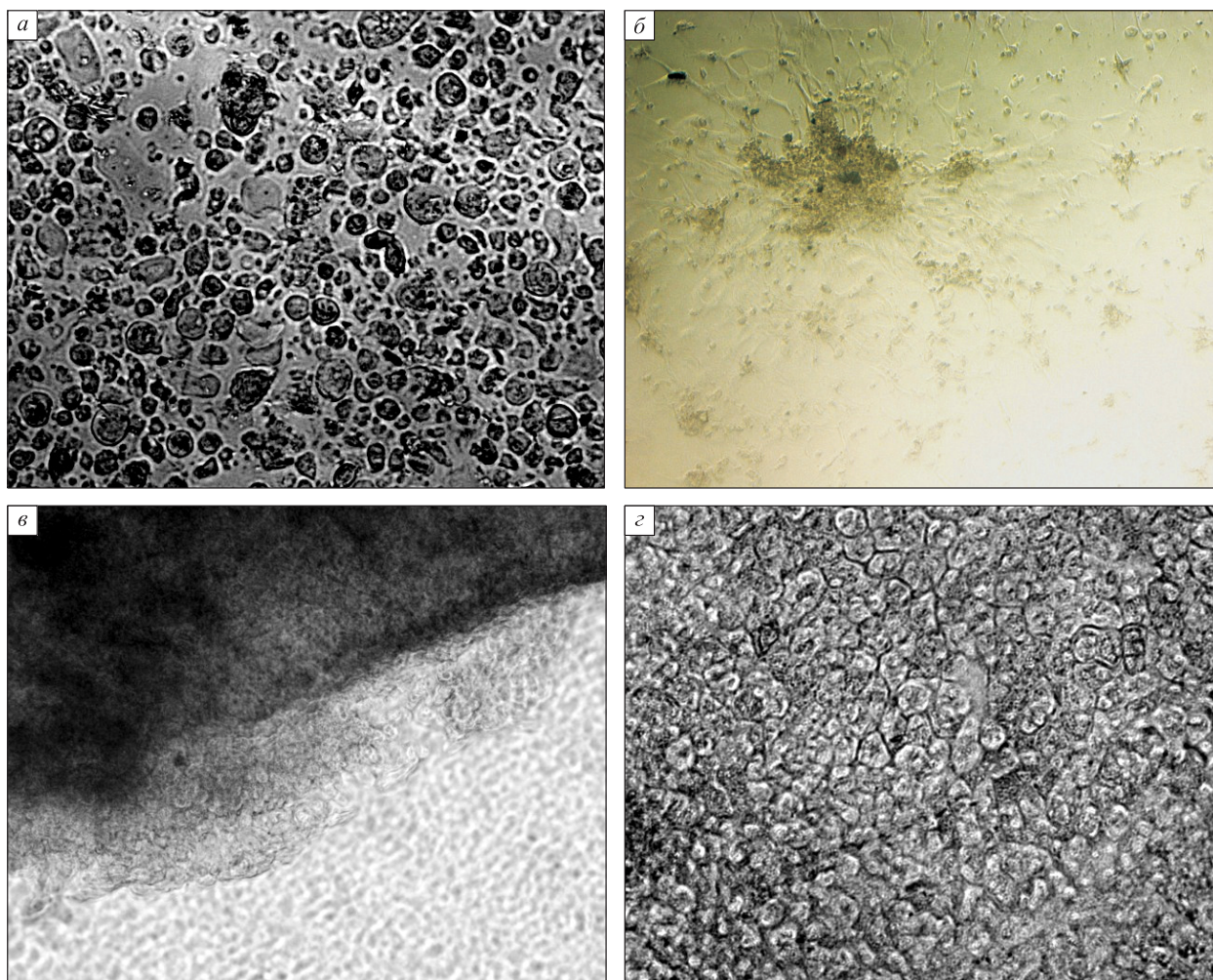
Лимб является нишей стволовых клеток роговицы и содержит как эпителиальные, так и стромальные стволовые клетки. Последние расположены под базальной мембраной лимба и обладают характеристиками стволовых клеток, в культуре демонстрируют фенотип, типичный для мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК). Их роль заключается в обеспечении жизнеспособности LSCs [1, 5, 6, 10]. Тем не менее термин лимбальные стволовые клетки (LSCs) применяется исключительно к эпителиальным предшественникам роговицы. В литературе описаны два основных метода выделения клеток лимба: ферментативный с использованием коллагеназы I типа и диспазы и метод экспланта [3]. На первом этапе работы мы использовали ферментативный метод. Полученная культура отличалась гетерогенностью клеток. Первые двое суток она представляла собой суспензию неадгезированных клеток округлой формы и разного размера (рисунок, а). Через трое суток в культуре выявлено присутствие единичных фибробластоподобных клеток – вытянутых, веретеновидных, адгезированных к поверхности культурального пластика. Они пролиферировали, образуя колонии. На рисунке, б хорошо видны клетки, преимущественно фибробластоподобной формы, которые по внешнему виду и характеру роста напоминали стромальные: по мере увели-

чения конфлюентности принимали веретеновидную форму и формировали рисунок в виде сети, волн. Круглые эпителиоподобные клетки тоже встречались, но их количество было значительно меньше и, по мере роста и деления клеток к 2–3 пассажу, заметно снижалось. Вероятно, это связано с недостатком ростовых факторов в культуральной среде (использовали неселективную среду для эпителиальных клеток) и их вытеснением стромальными клетками, которые получали селективное преимущество в культуре.

Прилипающие фибробластоподобные клетки культивировали до получения конфлюэнтного слоя в полной ростовой среде и пассировали. Проведенное после третьего пассажа иммунофенотипирование показало, что они экспрессируют маркеры ММСК, установленные международным комитетом по идентификации ММСК (ISCT-критерии) [4]. Из данных, приведенных в таблице, видно, что большинство клеток несут маркеры ММСК ( $\text{CD90}^+$ ,  $\text{CD73}^+$ ,  $\text{CD105}^+$ ,  $\text{CD34}^+$ ,  $\text{CD45}^+$ ) и меньшее количество – маркеры эпителиальных клеток ( $\text{p63}\alpha^+$ ,  $\text{ABCG}_2^+$ ,  $\text{CK19}^+$ ). Низкая экспрессия  $\text{CD105}^+$  на стромальных клетках лимба согласуется с данными авторов [13].

Наши результаты свидетельствуют о том, что клетки лимба, выделенные ферментативным методом и культивируемые в ростовой среде DMEM/F12, согласно результатам морфологического исследования и иммунофенотипирования являются ММСК, что подтверждают данные литературы о необходимости использования данного метода для получения первичной культуры мезенхимальных стволовых клеток лимба [11, 15]. Показано, что культивирование клеток лимба в средах, предназначенных для стромальных клеток [10], без фидера [7, 12] обеспечивает экспансию преимущественно стромальных клеток с профилем поверхностных маркеров, характерных для ММСК.

При выделении клеток из лимбального графта методом экспланта на 3-и–5-е сутки были отмечены очаги миграции клеток (рисунок, в). Клетки первичной культуры имели округлую эпителиоподобную форму, хорошо адгезировались к поверхности АМ и росли на ней (рисунок, г). Результаты фенотипирования свидетельствуют, что они представлены главным образом эпителиальными клетками: около 93 % клеток имели маркеры CK19, 81 % –  $\text{p63}\alpha$ , 75 % – ABCG<sub>2</sub> (см. таблицу), которые, как показано ранее, используются для идентификации LSCs [2, 9, 14]. Ядерный транскрипционный фактор  $\text{p63}\alpha$  экспрессируется на лимбальных базальных клетках и является показателем их высокого пролиферативного потенциала. Мембранный белок ABCG<sub>2</sub>



**Рис.** Клетки лимба: а – через 1 сут после выделения ферментативным путем и культивирования на пластике (ув.  $\times 400$ ), б – через 4 сут после выделения ферментативным путем и культивирования на пластике (ув.  $\times 100$ ), в – выход клеток из эксплантата на АМ через 3 сут культивирования (ув.  $\times 200$ ), г – клетки лимба на АМ через 3 недели культивирования (ув.  $\times 400$ )

**Таблица**

Уровень экспрессии поверхностных маркеров клеток лимба, %

Маркер	Фибробластоподобные клетки лимба (ММСК)	Эпителиальные клетки лимба
СК19	48,4 $\pm$ 2,7	92,5 $\pm$ 2,1
p63 $\alpha$	32,5 $\pm$ 3,9	81,1 $\pm$ 3,2
ABCG2	2,3 $\pm$ 0,9	75,1 $\pm$ 2,6
CD90	98,4 $\pm$ 4,1	
CD73	60,9 $\pm$ 3,6	
CD105	8,1 $\pm$ 1,2	
CD34	0,41 $\pm$ 0,08	
CD45	0	

*Примечание.* Данные представлены в виде  $M \pm t$ , где  $M$  – среднее арифметическое значение,  $t$  – ошибка среднего.

(ATP-binding cassette sub-family G member 2, АТФ-связывающий кассетный транспортер) обнаруживается в клеточной мембране и цитоплазме базальных эпителиальных клеток. Цитокератин 19 (СК19) экспрессируется в большом количестве в цитоплазме базальных эпителиальных клеток. Таким образом, на основании морфологии клеток и результатов иммунофенотипирования можно сделать заключение, что выделенные методом эксплантации клетки лимба являются эпителиальными.

Следует отметить, что при выделении клеток лимба методом экспланта культура была более однородной и в основном представлена округлыми клетками эпителиоподобной формы. При длительном культивировании в течение 4–6 недель первичной культуры LESC на АМ мы не выявили рост фибробластоподобных клеток. Таким образом, используя разные мето-

ды выделения клеток из лимбального графта и разные культуральные среды, в зависимости от поставленных задач в эксперименте можно получить либо культуру ММСК, либо культуру лимбальных стволовых клеток.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При ферментативном методе выделения клеток из лимбального графта и культивировании их без фидера в ростовой среде DMEM/F12 культура представлена главным образом ММСК. Выделение клеток лимба методом экспланта и культивирование их в селективной среде СЕСВМ позволяют получить преимущественно культуру эпителиальных стволовых клеток. Поиск новых оптимальных условий выделения и культивирования стволовых клеток лимба является перспективным направлением регенеративной медицины, базой для создания новых клеточных продуктов, используемых в лечении LSCD.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи декларируют, что не имеют конфликта интересов, связанных с материалами данной статьи.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Branch M.J., Hashmani K., Dhillon P., Jones D.R., Dua H.S., Hopkinson A. Mesenchymal stem cells in the human corneal limbal stroma // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. 53. 5109–5116.
2. Chen Z., de Paiva C.S., Luo L., Kretzer F.L., Pflugfelder S.C., Li D.-Q. Characterization of putative stem cell phenotype in human limbal epithelia // *Stem Cells.* 2004. 22. (3). 355–366.
3. Dhamodaran K., Subramani M., Jeyabalan N., Ponnalagu M., Chevour P., Shetty R., Matalia H., Shetty R., Prince S.E., Das D. Characterization of *ex vivo* cultured limbal, conjunctival, and oral mucosal cells: A comparative study with implications in transplantation medicine // *Mol. Vis.* 2015. 21. 828–845.
4. Dominici M., Blanc K.L., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F.C., Krause D.S., Deans R.J., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E.M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy.* 2006. 8. (4). 315–317.
5. Dua H.S., Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the corneal epithelium // *Surv. Ophthalmol.* 2000. 44. 415–425.
6. Funderburgh J.L., Funderburgh M.L., Yiqin Du Y. Stem cells in the limbal stroma // *Ocul. Surf.* 2016. 14. (2). 113–120.
7. Ghoubay-Benallaoua D., de Sousa C., Martos R., Latour G., Schanne-Klein C., Dupin E., Borderie V. Easy xeno-free and feeder free method for isolation and growing limbal stromal and epithelial stem cells of the human cornea // *PLoS One.* 2017. 17. 1–18.
8. Gonzalez G., Sasamoto Y., Ksander B.R., Frank M.H., Frank N.Y. Limbal stem cells: identity, developmental origin, and therapeutic potential // *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 2017. 7. (2). e303.
9. Haagdorens M., van Acker S.I., van Gerwen V., Ni Dhubghaill S., Koppen C., Tassignon M.-J., Zakaria N. Limbal stem cell deficiency: Current treatment options and emerging therapies // *Stem Cells Int.* 2016. 2016. ID 9798374.
10. Hashmani K., Branch M.J., Sidney L.E., Dhillon P.S., Verma M., McIntoch O.D., Horkinson A., Dua H.S. Characterization of corneal stromal stem cells with the potential for epithelial transdifferentiation // *Stem Cell Res. Ther.* 2013. 4. (75). 1–13.
11. Li G.-G., Zhu Y.-T., Xie H.-T., Chen S.-Y., Tseng S.C.G. Mesenchymal stem cells derived from human limbal niche cells // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. 53. 5686–5697.
12. Luznik Z., Hawlina M., Malicev E., Bertolin M., Kopitar A.N., Ihan A., Ferrari S., Schollmayer P. Effect of cryopreserved amniotic membrane orientation on the expression of limbal mesenchymal and epithelial stem cell markers in prolonged limbal explant cultures // *PLoS One.* 2016. 11. (10). 1–17.
13. Polisetty N., Fatima A., Madhira S.L., Sangwan V.S., Vemuganti G.K. Mesenchymal cells from limbal stroma of human eye // *Mol. Vis.* 2008. 14. 431–442.
14. Sacchetti M., Rama P., Bruscolini A., Lambiase A. Limbal stem cell transplantation: Clinical results, limits, and perspectives // *Stem Cells Int.* 2018. 2018. ID 8086269.
15. Xie H.-T., Chen S.-Y., Li G.-G., Tseng S.C.G. Isolation and expansion of human limbal stromal niche cells // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2012. 53. 279–286.

## CHARACTERISTICS OF CULTURES OF CELLS OBTAINED FROM HUMAN LIMB

Mariya Alexandrovna SUROVTSEVA<sup>1</sup>, Igor Alekseevich ISKAKOV<sup>2</sup>,  
Olga Vladimirovna POVESHCHENKO<sup>1</sup>, Alexandr Petrovich LYKOV<sup>1</sup>,  
Irina Innokentievna KIM<sup>1</sup>, Evgeniya Viktorovna YANKAYTE<sup>1</sup>,  
Vladimir Iosifovich KONENKOV<sup>1</sup>, Valeriy Vyacheslavovich CHERNYKH<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Institute for Clinical and Experimental Lymphology –  
a Branch of Federal Research Center of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

<sup>2</sup> S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution of Minzdrav of Russia, Novosibirsk Branch  
630071, Novosibirsk, Kolkhidskaya str., 10

---

Limbal epithelial stem cells are localized in the limb, which determine the regeneration of the corneal epithelium, both physiological and reparative. The aim of the study is to characterize the culture of cells isolated by different methods. **Materials and methods.** Limbal stem cells were isolated from the limbus region of enucleated human eyes. Cell isolation was produced by the enzymatic and explantation methods. Cell cultivation was performed on the amniotic membrane and without it, in DMEM/F12 growth media (Dulbecco's Modified Eagle Medium/Nutrient F12 Ham) and CECBM (Corneal Epithelial Cell Basal Medium). The morphological assessment and immunophenotyping of cell cultures were performed. **Results and its discussion.** The obtained culture was distinguished by cell heterogeneity at the enzymatic method of isolating cells from the limbus. The presence of fibroblast-like cells was revealed in the suspension of non-adherent cells, which resembled stromal cells in appearance and growth pattern. Immunophenotyping revealed that most cells carry markers of multipotent mesenchymal stromal cells (CD90<sup>+</sup>/CD73<sup>+</sup>/CD105<sup>+</sup>/CD34<sup>+</sup>/CD45<sup>-</sup>) and a small number – markers of epithelial cells (p63α<sup>+</sup>, ABCG2<sup>+</sup>, CK19<sup>+</sup>). Explant culture was more uniform. The cells had a rounded, epithelial-like shape, adhered well to the surface of the amniotic membrane and grew on it. The results of phenotyping indicated that cells are represented mainly by epithelial cells (p63α<sup>+</sup>, ABCG2<sup>+</sup>, CK19<sup>+</sup>). **Conclusion.** The culture is represented mainly by MMSC at the enzymatic method of isolating cells from the limbal graft and cultivating them without feeder in the growth medium DMEM/F12. Isolation of limb cells by the explantation method and their cultivation in the selective medium CECBM allow us to obtain mainly the culture of epithelial stem cells.

---

**Key words:** limb, explant, amniotic membrane, limbal stem cells, multipotent mesenchymal stem cells.

*Surovtseva M.A.* – candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory of cell technologies,  
e-mail: mfelde@ngs.ru

*Iskakov I.A.* – doctor of medical sciences, head of the operational unit, e-mail: iskakov@mntk.nsk.ru

*Poveshchenko O.V.* – doctor of medical sciences, head of laboratory of cell technologies,  
e-mail: poveshchenkoov@yandex.ru

*Lykov A.P.* – candidate of medical sciences, leading researcher of the laboratory of cell technologies,  
e-mail: aplykov2@mail.ru

*Kim I.I.* – candidate of medical sciences, researcher of laboratory of cell technologies,  
e-mail: kii5@yandex.ru

*Yankayte E.V.* – junior researcher of laboratory of cell technologies, e-mail: mursik@ngs.ru

*Konenkov V.I.* – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, research supervisor,  
e-mail: vikonenkov@gmail.com

*Chernykh V.V.* – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru