УДК 577.21

Агаева Марианна Викторовна
студентка 6 курса
лечебный факультет
Северо-Осетинская государственная медицинская академия,
Россия, Владикавказ

Хинчагова Оксана Андреевна
студентка 6 курса
лечебный факультет
Северо-Осетинская государственная медицинская академия,
Россия, Владикавказ
e-mail: hinch.o.a@yandex.ru

БЕЗВИРУСНЫЕ НЕ ДНК - И РНК-СОДЕРЖАЩИЕ МЕТОДЫ

Аннотация: *Поиски наиболее экономически выгодного и генетически безопасного способа получения человеческих индуцированных плюрипотентных клеток продолжались с помощью использования безвирусных не ДНК – и РНК-содержащих методов. Для этого использовали рекомбинированные белки, «малые молекулы» и их комбинации, а также такой метод как трансдифференцировка, за счет которой иПСК можно получить миную промежуточную стадию созревания клеток. Эффективность перепрограммирования во много раз выше и возможность использования этих клеток в клеточной терапии намного больше.*

Ключевые слова: ИПСК, клеточная инженерия, биотехнологии, новые методы.

Agayeva Marianna Viktorovna
6th year student
Faculty of Medicine
North Ossetian State Medical Academy,
Russia, Vladikavkaz

Khinchagova Oksana Andreevna
6th year student
Faculty of Medicine
North Ossetian State Medical Academy,
Russia, Vladikavkaz

VIRUS-FREE NON-DNA - AND RNA-CONTAINING METHODS

Abstract: *The search for the most cost-effective and genetically safe way to obtain human induced pluripotent cells continued through the use of virus-free non-DNA and RNA-containing methods. For this, recombinant proteins, "small molecules" and their combinations, as well as such a method as transdifferentiation, due to which iPSCs can be obtained bypassing the intermediate stage of cell maturation, were used. The efficiency of reprogramming is many times higher and the possibility of using these cells in cell therapy is much greater.*

Key words: iPSCs, cell engineering, biotechnologies, new methods.

К ним можно отнести рекомбинированные белки, несущие в себе факторы Яманаки в клетки вместо экспрессии генов, что позволяет значительно снизать риск генетических изменений в процессе получения иПСК. Однако метод не нашел своего широкого применения, вследствие относительно низкой эффективности. [1, с. 36; 2, с. 472-476]

На данный момент в ходе исследования было выяснено, что одним из наиболее перспективных способов преобразования являются «малые молекулы», которые оказались способны проникать через клеточные мембраны и осуществлять, таким образом, доставку трансгенной ДНК или напрямую вызывать индукцию иПСК [1, с. 36]. Если говорить о преимуществах данной стратегии, то, во-первых, текущая регуляторная среда остается более или менее согласованной с открытием и разработкой малых молекул в качестве терапевтических средств, во-вторых, они легко производятся, хранятся и управляются, в-третьих, и это, возможно, наиболее важно, с биохимической точки зрения, их эффекты специфичны, дозозависимы, быстры и обратимы. Эта совокупность дает возможность относительно точно контролировать время и функции *in vivo*. С помощью несложности химического синтеза малых молекул на базе биологически активных «каркасов» можно довольно таки быстро создать немалую «библиотеку» малых молекул, что придает этому способу получения иПСК более широкое поле для исследований, а также ряд других преимуществ [1, с. 2208-2221]. В общей сложности слабыми сторонами данной стратегии получения иПСК являются низкая эффективность и косвенный риск развития злокачественных новообразовании. Но сейчас малые молекулы стали применять

для обнаружения молекул с широким восстанавливающим действием на генные сети с помощью сетевого скрининга, дисрегулируемые при заболеваниях человека, которые можно проверить in vivo. К примеру, эффективность XCT790 в ограничении утолщения аортального клапана у взрослого человека.

В качестве нового способа использования малых молекул является их сочетание с определенными условиями культивирования, в результате которого возможно регулирование как репарации ДНК, так и фазы клеточного цикла, что непосредственно приводит к синергетическому увеличению частоты гомологически-направленной репарации (HDR). Синергетическое редактирование генов представляет собой эффективную стратегию создания точных генетических модификаций в iPS-клетках человека.

Также было опубликовано исследование, в котором показано, что путем конститутивной экспрессии таких факторов как *Klf4* или *c - Myc* , или малых молекул, которые могут заменить эти факторы, можно получить иПСК. Для улучшения метода были также использованы LIF в сочетании с небольшими молекулами PD0325901 и CHIR99021 (CHIR) для того чтобы получить эмбриональных стволовых клеток мышей NOD (нуклеотид-связывающий домен олигомеризации) путем ингибирования передачи сигналов путей GSK3 и ERK.

В процессе поиска решения недостатков метода был разработан комплекс соединений, то есть коктейль, который состоит из 9 малых молекул, с помощью которого стал возможным процесс трансдифференцировки астроцитов в функциональные нейроны с меньшим риском неблагоприятных последствий. Другая группа исследователей доказала, что функциональные кардиомиоциты могут быть получены из фибробластов кожи человека с помощью комбинации других малых молекул[3, с. 4274-4280].

Борьба с одним главных недостатков иПСК, которой является иммуногенность, по сей день продолжается и уже сейчас выдели такую группу плюрипотентных клеток, способную длительное время не вызывать иммунный ответ, таким образом, они надежно избегают иммунного отторжения у

полностью несовместимых с МНС аллогенных реципиентов и выживают долгое время без использования иммуносупрессии. ИПСК мыши и человека теряют свою иммуногенность, когда гены класса I и II главного комплекса гистосовместимости (МНС) инактивированы и CD47 сверхэкспрессируется. Эти гипоиммуногенные ИПСК сохраняют свой потенциал плюрипотентных стволовых клеток и способность к дифференцировке.

Использование иПСК для клеточной терапии связано с большим риском опухолей и рака, в связи, с чем есть необходимость и потребность в таком методе, где получения более безопасных клеточных линий, пригодных для применения в клинике стало бы возможным. На базе чего был создан метод для преодоления проблем в получения и дифференцировки иПСК в специфичные типы соматических клеток, который называется трансдифференцировкой. Это процесс прямой трансформации одного типа зрелой соматической клетки в другую без промежуточной стадии, такой как плюрипотентное состояние или формирование клетки-предшественника. Трансдифференцировка происходит по механизму подавления одной генетической программы с одновременным активирование и усилением другой. Таким образом, в 2020 году был представлен новый класс регуляторов РНК (днРНК) в виде длинной некодирующей РНК или как еще ее называют LncMyoD, имеющий способность посредством регуляции детерминации и развития клонов привести к модуляции хроматина. Механистические исследования функций днРНК показывают, что они регулируют транскрипцию посредством модуляции хроматина. lncRNAs появились, чтобы регулировать развитие и дифференцировку мышц. В процессе исследования функциональный анализ показал, что LncMyoD, а именно его потеря или недостаток ведут к нарушению репрограммирования фибробластов в миогенный клон и вызывает дефекты дифференцировки мышечных стволовых клеток. *LncMyoD* напрямую связывается с MyoD, способствуя транскрипции генов, чтобы обнажить компактный E-box-содержащий хроматин и способствует доступу MRFs к своим целевым регуляторным областям. Также раньше упоминалось про эффективное использование MyoD в сочетании с

чувствительным к температуре вектором вируса Сендай и возможности быстро, более надежно и продуктивно получать скелетные мышцы. Данный способ получил свое применение и в разработке лекарств для лечения, например, такого заболевания как мышечная дистрофия Дюшена, в основе чего лежит дифференцировка hiPSCs с помощью MYOD1 в функциональные скелетные мышечные трубки *in vitro* с коллагеновым гелем и стимуляцией электрического поля (EFS), таким образом, повторяя патогенетические процессы, что является отличной базой для исследования как самого заболевания, так и изучения различных способов лечения.

По сравнению с иПСК для получения, которых требуются не менее двух недель, образование индуцированных прогениторных (стволовые клетки, детерминированные на дифференцировку в определённый тип клеток) клеток происходит сравнительно быстро, иногда за несколько дней. Эффективность перепрограммирования также обычно во много раз выше. Для этого перепрограммирования не всегда требуется деление клетки. Но самым важным плюсом этого метода является то, что полученные в результате перепрограммирования мультипотентные соматические стволовые клетки более пригодны для клеточной терапии, так как они не образуют тератомы. Также с его помощью можно клетки печени человека преобразовать в b-клетки, клетки поджелудочной железы в гепатоциты или макрофаги, а также фибробласты в нейроны и кардиомиоциты.

Список литературы:

1. Джем А. Эфе и Шэн Дин. Развивающаяся биология малых молекул: управление судьбой и идентичностью клеток. США, 2011. 36 с.

2. Ким Д., Чун-Хен Ким и др Генерация индуцированных человеком плюорипотентных клеток путем прямой доставки перепрограммирующих белков. [Электронный ресурс] // Режим доступа: URL: https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.07f33185-630b03d9-08db53ee-

74722d776562/https/pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19481515/ (дата обращения: 28.08.2022 г.).

3. Ясуши Сода, Томотоси Марумото и др. Трансдифференцировка клеток глиобластомы в эндотелиальные клетки сосудов. Швейцария: Швейцарский федеральный технологический институт Лозанны, 2011. С. 4274-4280.