

УДК 57.085.23

**РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНОГО ПРОТОКОЛА НЕЙРОНАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА****Д.И. Салихова<sup>1</sup>, Г.Е. Леонов<sup>1</sup>, Т.Б. Бухарова<sup>1</sup>, А.С. Ефремова<sup>1</sup>, С.Л. Киселев<sup>1,2</sup>, Д.В. Гольдштейн<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр; <sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

Нейрональная дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (ИПСК) представляет особый интерес в связи с возможностью получать аутологичные/аллогенные нейрональные и глиальные клетки для трансплантации и разработки ноотропных препаратов для комплексной терапии нейродегенеративных заболеваний [1]. Ключевыми участниками нейрональной дифференцировки являются различные ингибиторы BMP - и TGF- $\beta$ - сигнальных путей, побуждающие развитие нейроэпителлия [2,3]. Выбор оптимальных компонентов дифференцировочных сред является важной задачей для получения нейральных стволовых клеток, используемых для разработки новых методов лечения патологий нервной системы.

**Целью работы** является оценка влияния ингибиторов BMP – и TGF- $\beta$ - сигнальных путей – малых молекул SB431542 и дорсоморфин и пептида Noggin на эффективность формирования нейроэпителлия при нейрональной дифференцировке ИПСК.

ИПСК, полученные путем репрограммирования фибробластов, культивировали в среде Essential 8 Medium на подложке из матригеля до 80% монослоя. Дифференцировку проводили в среде НД-I: DMEM/F12, N2- 1%, 10 мкМ SB431542 и 2 мкМ дорсоморфина и среде НД-II, содержащей помимо компонентов среды НД1 80 нг/мл Noggin. Количество клеток нейроэпителлия оценивали по формированию розеткоподобных структур и наличию PAX6-положительных клеток, выявляемых с помощью проточной цитометрии.

Дифференцировка ИПСК в среде НД-1 в течение 28 суток приводила к частичному образованию розеткоподобных структур, что требовало впоследствии механического выделения данных областей для получения гомогенных культур. Число PAX-положительных клеток составляло не более 30%. При добавлении в среду пептида Noggin (80 нг/мл) выход нейральных предшественников значительно увеличивался - до 97%.

Таким образом, добавление пептида Noggin в дифференцировочную среду, содержащую малые молекулы SB431542 и дорсоморфин, увеличивает содержание нейроэпителлия в культуре при нейрональной дифференцировке ИПСК. *Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 14.604.21.0184 RFMEFI60417X0184).*

**Ключевые слова:** нейрональная дифференцировка, ИПСК, Noggin, SB431542, дорсоморфин.

**Литература**

1. Lindvall O., Kokaia Z., Martinez-Serrano A. Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders—how to make it work //Nature medicine. – 2004. – V. 10. – №. 7. – P. 42.
2. Morizane A. et al. Small-molecule inhibitors of bone morphogenic protein and activin/nodal signals promote highly efficient neural induction from human pluripotent stem cells //Journal of neuroscience research. – 2011. – V. 89. – №. 2. – P. 117-126.
3. Madhu V. et al. Dual inhibition of activin/nodal/TGF- $\beta$  and BMP signaling pathways by SB431542 and dorsomorphin induces neuronal differentiation of human adipose derived stem cells //Stem cells international. – 2016. – V. 2016.