

## ПОДБОР УСЛОВИЙ ДЛЯ РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ ФИБРОБЛАСТОВ ЛИСИЦЫ. В ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ.

**Еврейская А.А.** (Новосибирский национальный исследовательский государственный университет)

**Научный руководитель – канд. биол. наук Мензоров А.Г.**

(Новосибирский национальный исследовательский государственный университет)

В работе изучено влияние ингибиторов сигнальных путей GSK3 и MEK/ERK (CHIR99021 и PD0325901, 2i) и вальпроевой кислоты (VPA) на рост фибробластов. Установлены концентрации ингибиторов и VPA, которые останавливают рост фибробластов и приводят к гибели клеток. Поставлен эксперимент по получению индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК).

Беляевым Д.К. был начат эксперимент, в результате которого удалось создать популяции одомашненных и агрессивных лисиц. Они представляют собой уникальную модель генетических событий раннего приручения.

Мы проводим эксперимент по получению ИПСК одомашненных и агрессивных лисиц для создания *in vitro* модели изучения экспрессии генов-кандидатов, предположительно влияющих на поведение лисиц. В рамках этой работы проведено исследование влияния ингибиторов сигнальных путей GSK3 и MEK/ERK на рост фибробластов лисицы. За счет ингибирования сигнальных путей 2i повышают эффективность репрограммирования клеток в ИПСК, но есть данные, что «стандартная» концентрация для клеток некоторых видов токсична. Также мы проверили токсичность VPA. VPA повышает эффективность репрограммирования соматических клеток за счет ингибирования деацетилаз гистонов.

Культивирование фибробластов лисицы проводили в течение 15 дней в шести средах, «стандартную» по литературным источникам концентрацию 2i приняли за единицу: 1) Ростовая среда (РС) без ингибиторов; 2) РС со «стандартной» концентрацией 2i (1X 2i); 3) РС с 0,33X 2i; 4) РС с 0,1X 2i; 5) РС с VPA; и 6) РС с ДМСО (растворитель для 2i).

Количество фибробластов, культивируемых в среде 0,33X 2i, не менялось, а при культивировании с 1X 2i уменьшалось в два раза. Во всех остальных условиях культивирования количество клеток увеличивалось. Следовательно, концентрации 2i 0,33X и более токсичны и не рекомендуется для получения ИПСК лисиц. VPA и концентрацию 0,1X 2i можно использовать для получения ИПСК. В дальнейшем мы планируем изучить, достаточна ли концентрация 2i 0,1X для ингибирования сигнальных путей.

Для получения ИПСК используют сверхэкспрессию различных транскрипционных факторов, например OCT4, KLF4, SOX2 и C-MYC. Для получения ИПСК кошачьих, как и лисица представителей отряда Хищные, оказался важен транскрипционный фактор NANOG. Мы проводим эксперимент по получению ИПСК лисицы с помощью лентивирусных векторов, несущих OCT4, KLF4, SOX2, C-MYC и NANOG.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-04-00369 на базе ЦКП «Коллекция плюрипотентных культур клеток человека и млекопитающих общепедагогического и биомедицинского направления» ФИЦ ИЦиГ СО РАН (<http://ckp.icgen.ru/cells/>).