

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-245

**ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ  
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ИПСК-КАРДИОМИОЦИТОВ****APPROACHING MOLECULAR MECHANISMS INVOLVED  
IN DIFFERENTIATION OF IPSCS TO CARDIOMYOCYTES**Д. В. Кононова<sup>1</sup>, С. Д. Робустова<sup>1</sup>, А. А. Аитова<sup>1</sup>, С. А. Щербина<sup>1</sup>, М. М. Слотвицкий<sup>1</sup>,  
В. А. Цвеляя<sup>1</sup>, А. И. Гусев<sup>2</sup>, Е. И. Шагимарданова<sup>2</sup>, К. И. Агладзе<sup>1</sup><sup>1</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный<sup>2</sup>Казанский федеральный университетD. V. Kononova<sup>1</sup>, S. D. Robustova<sup>1</sup>, A. A. Aitova<sup>1</sup>, S. A. Shcherbina<sup>1</sup>, M. M. Slotvitsky<sup>1</sup>,  
V. A. Tsvelaya<sup>1</sup>, A. I. Gusev<sup>2</sup>, E. I. Shagimardanova<sup>2</sup>, K. I. Agladze<sup>1</sup><sup>1</sup>Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny<sup>2</sup>Kazan Federal University

✉ kononova.dv@phystech.edu

**Аннотация**

Данная работа является продолжением предыдущего исследования [1], в ходе которого было показано, что ИПСК-кардиомиоциты, рассажённые до 20-го дня дифференцировки, могут эффективно формировать функциональный синцитий, а клетки, рассажённые после 20-го дня, — нет. Чтобы выяснить, что вызывает изменение электрофизиологических показателей после 20-го дня, был проведён анализ на уровне транскриптома.

**Abstract**

In the previous study [1] was revealed that iPSC-derived cardiomyocytes seeded before day 20 of differentiation can effectively form a functional syncytium, while cells seeded after day 20 cannot. To find out what causes changes in electrophysiological parameters after day 20, we performed transcriptomic analysis.

По данным Всемирной организации здравоохранения, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности во все мире [2]. Только в 2021 г. сердечно-сосудистые заболевания стали причиной смерти 20,5 млн человек, и эта цифра составила около трети всех смертей в мире. Для понимания патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, а также для разработки новых методов лечения необходимо создание реалистичных моделей заболеваний [3]. Большими перспективами в области как фундаментальной, так и трансляционной медицины обладает применение технологии использования индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Развивающаяся технология использования ИПСК-кардиомиоцитов может значительно облегчить изучение наследственных и приобретённых сердечно-сосудистых заболеваний, инфекционных заболеваний, исследование развития сердечно-сосудистой системы, разработку лекарств, токсикологический скрининг и персонализированную клеточную терапию [3]. Но существует проблема клеточного фенотипирования и созревания кардиомиоцитов в процессе дифференцировки из ИПСК, поэтому необходимо изучать сам процесс дифференцировки для получения взрослого пациент-специфичного фенотипа *in vitro*.

Нашей группой было проведено исследование формирования проводящего слоя клеток, полученных из ИПСК дифференцировкой в кардиомиоциты по Gi-Wi-протоколу [1]. В ходе работы было выявлено, что клетки, рассажённые до 20-го дня дифференцировки, могут эффективно формировать функциональный синцитий. Клетки, рассажённые после 20-го дня, не формируют функциональный слой. В связи с этим явлением была выдвинута гипотеза, предполагающая, что нарушается формирование щелевых контактов. Однако, так как флуоресцентное окрашивание на белок Sx43 не выявило изменений до и после 20-го дня, данное предположение было отвергнуто. Для того чтобы выяснить, что вызывает изменение электрофизиологических показателей после 20-го дня, решено было провести анализ на уровне транскриптома.

Образцы трех разных дней дифференцировки (0, 17 и 25) были заморожены и отправлены для анализа транскриптома. Там была выделена тотальная РНК, проведено обогащение библиотек по мРНК и секвенирование

(Illumina NovaSeq). Мы получили парноконцевые чтения для каждого образца и для них провели анализ дифференциальной экспрессии (salmon, DESeq) для пар 0–17, 0–25 и 17–25. Сравнениями 0–17 и 0–25 подтвердили, что образцы 17-го и 25-го дня являются кардиомиоцитами, и получили списки дифференциально экспрессируемых генов. Из списков видно, что повышается экспрессия (от 17-го к 25-му дню) ряда белков сократительного аппарата (MYH7, TNNC1) и белков EMC (SPOCK2, MGP, ITLN1).

### **Литература**

1. Slotvitsky M. M. et al. Formation of an electrical coupling between differentiating cardiomyocytes // *Scientific Reports* 2020. Vol. 10, No. 1. P. 7774.
2. Murray C. J. L. The Global Burden of Disease Study at 30 years // *Nature Medicine* 2022. Vol. 28, No. 10. P. 2019–2026.
3. Morita Y. et al. Scalable manufacturing of clinical-grade differentiated cardiomyocytes derived from human-induced pluripotent stem cells for regenerative therapy // *Cell Proliferation*. 2022. Vol. 55, No. 8. P. e13248.