

**Получение и характеристика клеточной линии иммортализованных мезенхимных стволовых клеток человека с генетически кодируемыми магнитной и флуоресцентной метками для мультимодальной визуализации и отслеживания клеток**

**Научный руководитель – Габашвили Анна Николаевна**

***Сапожникова Екатерина Николаевна***

*Студент (бакалавр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: k.sapozhnikova@hotmail.com*

Благодаря своей уникальной способности к самообновлению и дифференцировке, а также низкой иммуногенности мезенхимальные стволовые/стромальные клетки (МСК) различного происхождения используются в терапии множества заболеваний. Выбор пути введения клеток и таргетность доставки играют важную роль в терапевтической эффективности. Для предотвращения побочных эффектов, включая возможную злокачественную трансформацию МСК, необходим контроль после введения. Поэтому, разработка новых инструментов, позволяющих производить длительный и неинвазивный мониторинг МСК после имплантации, является весьма актуальной задачей.

Цель исследования – создание клеточной линии для мультимодальной визуализации МСК. Полученные клетки (иммортализованные МСК человека-ASC52telo) - стабильно экспрессируют две генетически кодируемые метки: нанокompартменты Q. thermotolerans, способные секвестрировать железо с образованием магнитных наночастиц (МНЧ) при добавлении к клеткам препарата двухвалентного железа [1] – для МРТ визуализации клеток, и красный флуоресцентный белок (RFP) – для оптической визуализации.

Гены меток были введены методом лентивирусной трансдукции. Наличие последовательностей интереса проверили посредством ПЦР с обратной транскрипцией. Белки интереса в МСК идентифицировали электрофорезом по Лэммли и вестерн-блот анализом. Накопление МНЧ в клетках изучили методом окраски Прусским синим и ICP MS. Магнитный сигнал оценили методом нелинейного перемагничивания на комбинаторных частотах. Время релаксации T2 и МР-визуализацию клеток с нанокompартментами провели с помощью МРТ. Наличие RFP в клетках подтвердили лазерной сканирующей конфокальной микроскопией.

Использование иммортализованной линии позволило преодолеть ограничения, связанные с получением донорского материала и лимитом делений, характерном для первичных культур МСК. По данным ICP MS клетки накапливают на порядок больше железа, чем контрольные. Модифицированные МСК окрашиваются в синий цвет Прусским синим, что (наряду с RFP) позволяет идентифицировать их на гистологических срезах при исследованиях *in vivo*. Полученные клетки обладают выраженным МР-контрастом, что позволяет производить их МР-мониторинг. Наличие новых последовательностей в геноме МСК не влияет на жизнеспособность, пролиферацию и дифференцировку. Такие клетки могут применяться в регенеративной медицине, биологии развития, в мультимодальных исследованиях механизмов миграции и хоминга МСК как в интактных органах, так и после моделирования заболеваний, например, фокальной ишемии у крыс.

#### **Источники и литература**

- 1) Gabashvili A.N. et al. Encapsulins-Bacterial Protein Nanocompartments: Structure, Properties, and Application // *Biomolecules*. 2020. No. 10. P. 25-37