

**Характеристика и изучение иммуногенности линий индуцированных
плюрипотентных стволовых клеток с инактивацией гена бета-2-
микроглобулина**

Научный руководитель – Лагарькова Мария Андреевна

Секретова Е.К.¹, Богомякова М.Е.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия, *E-mail: sekretova.1999@mail.ru*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: margbog5@gmail.com*

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) обладают способностями к неограниченной пролиферации и дифференцировке во все типы взрослых соматических клеток. Благодаря этим свойствам ИПСК рассматриваются как потенциальный ресурс для клеточной терапии. Трансплантация аутологичных дифференцированных производных ИПСК практически не приводит к иммунному отторжению, однако длительные и дорогостоящие технологии получения и клинической сертификации аутологичных ИПСК затрудняют их клиническое использование. Дифференцированные производные клеточных линий ИПСК с пониженной иммуногенностью теоретически будут подходить для трансплантации любому реципиенту, не вызывая иммунного отторжения. Один из возможных подходов к созданию таких «универсальных» линий ИПСК - это делеция гена *бета-2-микроглобулина (b2m)*, продукт которого представляет собой константную легкую цепь молекулы HLA I класса. Отсутствие молекул HLA-I должно снижать иммуногенность клеток, поскольку они не смогут распознаваться CD8⁺ Т-лимфоцитами. Однако, стоит заметить, что собственные молекулы HLA I класса являются лигандами к ингибирующим рецепторам NK-клеток, в связи с чем нокаут гена *b2m*, может стать причиной NK-клеточного лизиса. В нашей лаборатории ранее были получены и охарактеризованы линии ИПСК с биаллельной инактивацией гена *b2m*: Huv0SΔb2mcl6 и IPSRG4SΔb2mcl55/1. В ходе работы мы показали, что фибробластоподобные производные (ФП), дифференцированные из ИПСК с нокаутом гена *b2m*, вызывают значимо более низкую активацию аллогенных CD8⁺ Т-клеток по сравнению с изогенными ФП ИПСК дикого типа. Также мы показали, что ФП Huv0SΔb2mcl6 вызывают повышенную NK-клеточную дегрануляцию, по сравнению с изогенным контролем ФП ИПСК дикого типа. Основной целью нашей работы стало получение новых линий ИПСК с биаллельным нокаутом гена *b2m*: IPSFF1S, IPSFD4S, а также получение новых клонов с нокаутом гена *b2m* линии Huv0S3 методом геномного редактирования CRISPR/Cas9. Получение новых нокаутных линий, генетически отличающихся от имеющихся в нашей лаборатории линий ИПСК с делецией гена *b2m*, позволит увеличить выборку для дальнейшего исследования иммуногенности ИПСК и их производных. В результате первичного скрининга нам удалось отобрать 13 клонов ИПСК линии IPSFF1S, 9 клонов линии Huv0S3, 11 клонов линии IPSFD4S, не экспрессирующих *b2m* по результатам проточной цитометрии. Мутация в гене *b2m* в данных клонах была подтверждена путем секвенирования по Сэнгеру. Для дальнейшей характеристики были выбраны 2 клон Huv0S3Δb2m, 3 клон IPSFF1SΔb2m и 1 клон IPSFD4SΔb2m с гомозиготной мутацией в гене *b2m*. Таким образом, нам удалось получить безинтеграционные линии ИПСК с нокаутом гена *b2m*, не экспрессирующие молекулы HLA-I на своей поверхности. После проведения характеристики, согласно стандартным критериям плюрипотентности, данные линии будут использованы для дальнейшего изучения механизмов иммуногенности и индукции иммунотолерантности ИПСК. Работа поддержана грантами РФФИ #19-29-04113-мк и #20-315-90041.