

## Направленная модификация внеклеточных везикул МСК для управления дифференцировкой стромальных клеток

Н.А. Басалова\*, М.Н. Карагяур, А.Е. Толстолужинская, М.А. Виговский, Н.И. Калинина, А.Ю. Ефименко

Медицинский научно-образовательный институт, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* [basalovana@my.msu.ru](mailto:basalovana@my.msu.ru)

**Ключевые слова:** внеклеточные везикулы; микроРНК; редактирование генома; CRISPR/Cas9

## Targeted modification of MSC extracellular vesicles to direct stromal cell differentiation

N.A. Basalova\*, M.N. Karagyaur, A.E. Tolstoluzhinskaya, M.A. Vigovskiy, N.I. Kalinina, A.Yu. Efimenko

Medical Research and Educational Institute, Lomonosov MSU, Moscow, Russia

\* [basalovana@my.msu.ru](mailto:basalovana@my.msu.ru)

**Key words:** extracellular vesicles; microRNA; genome editing; CRISPR/Cas9

Возможность направленно изменять дифференцировку отдельных типов клеток позволяет управлять процессами регенерации. Одним из многообещающих инструментов для этого являются микроРНК (миР), способные напрямую перепрограммировать клетки. *In vivo* основным переносчиком миР служат внеклеточные везикулы (ВВ). Поэтому изменение состава миР во ВВ представляется перспективным подходом к управлению дифференцировкой клеток. Мезенхимные стромальные клетки (МСК), как и секретируемые ими ВВ, являются ключевыми участниками регуляции процессов дифференцировки при регенерации и фиброзе. Из секретомы МСК (АТСС) были выделены ВВ и трансфицированы синтетическими олигонуклеотидами, подавляющими или имитирующими целевые миР. Содержание исследуемых миР изменяли также непосредственно в клетках с использованием химической трансфекции или электропорации, вставки плазмиды, кодирующей миР, и получения линий с подавлением экспрессии миР с помощью CRISPR/Cas9. Эффективность загрузки миР во ВВ и доставка в целевые клетки была оценена на модели TGF $\beta$ -индуцированной дифференцировки фибробластов.

Мы показали, что каждым из исследуемых методов можно добиться эффективного (не менее чем в два раза) изменения содержания целевой миР в составе ВВ. Однако трансфекция непосредственно ВВ позволяет увеличить количество миР более чем в 100 раз. Редактирование МСК с помощью CRISPR/Cas9 позволяет получить ВВ, целевая миР в которых не детектируется. Наиболее выраженный эффект на дифференцировку фибробластов оказывают ВВ, полученные от клеток после генетической модификации.

Таким образом, возможно управление изменением содержания миР в составе ВВ-МСК с помощью как химических или физических методов, так и генетического редактирования, что позволяет влиять на дифференцировку клеток *in vitro*. Дальнейшие исследования, в том числе *in vivo*, необходимы для определения наиболее успешных подходов к управлению регенерацией тканей.

**Финансирование:** Исследование выполнено при поддержке гранта № 075-15-2025-487 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.