

<https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-3-19-39>



Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки: история открытия, современное состояние и направления дальнейшего развития

М.А. Лагарькова^{1,3}, А.Н. Томилин²

¹ ФГБУ «Федеральный научный клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА России, Москва, 119435, ул. Малая Пироговская, д. 1а

² ФГБУН «Институт цитологии РАН», Россия, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4

³ Центр «Генетическое репрограммирование и генная терапия», ФБГУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА России, Москва, 119435, ул. Малая Пироговская, д. 1а

*Адреса для корреспонденции: lagar@rcpcm.org (М.А.Л.), a.tomilin@incras.ru (А.Н.Т.)

Аннотация

В октябре 2026 года биомедицинское сообщество отмечает знаменательное событие — выход статьи Takahashi and Yamanaka (2006), впервые описавшей возможность индукции плюрипотентного клеточного состояния [1].

Чуть более чем два десятилетия, прошедшие с момента появления первых колоний индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), превратили репрограммирование соматических клеток в мощный инструмент для биологии и медицины. Сегодня на основе ИПСК создаются модели не только моногенных болезней, но и полигенных мультифакторных заболеваний. Технологии редактирования генома, секвенирования генома отдельных клеток, получение органоидов для моделирования сложных процессов органогенеза обогатили возможности использования ИПСК в научных исследованиях. В последние годы на основе клеток, дифференцированных из ИПСК, создаются и испытываются биомедицинские клеточные продукты. Однако первостепенное историческое значение имеет именно тот базовый эксперимент, в котором из 24 кандидатных генов, пяти шестишестидневных планшетов и 22 выживших колоний родилась новая парадигма клеточной пластичности, удостоенная Нобелевской премии 2012 года и положившая начало целой технологии регенеративной медицины, которая сегодня входит в свою зрелую, клинически-ориентированную фазу. В этом обзоре освещены экспериментальные предпосылки индуцированной плюрипотентности, подведены промежуточные итоги развития этой технологии, обозначены перспективы дальнейшего развития.

Ключевые слова: плюрипотентные стволовые клетки, клеточное репрограммирование и пластичность, индуцированная плюрипотентность

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. М.А. Лагарькова и А.Н. Томилин являются членами редакционной коллегии журнала «Регенерация органов и тканей» с 2024 года, но не имеют отношения к решению о публикации данной статьи. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляют.

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2030 годы, соглашение № 075-15-2025-518)

Для цитирования: Лагарькова М.А., Томилин А.Н. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: история открытия, современное состояние и направления дальнейшего развития. *Регенерация органов и тканей*. 2026;4(3): 19–39. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-3-19-39>

Поступила 17.07.2026
Обработана 14.08.2026
Принята 18.08.2026

Induced pluripotent stem cells: from discovery to current advances and future directions

M.A. Lagarkova¹, A.N. Tomilin²

- ¹ Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Russia, Moscow, 119435, Malaya Pirogovskaya str., 1A
- ² Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, Russia, 194064, St-Petersburg, Tikhoretsky av., 4
- ³ Center for Genetic Reprogramming and Gene Therapy, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency, Russia, Moscow, 119435, Malaya Pirogovskaya str., 1A

*Correspondence addresses: lagar@rcpcm.org (M.A.L.), a.tomilin@incras.ru (A.N.T.)

Abstract

In October 2026, the biomedical community marks twenty years since the publication of the landmark paper by Takahashi and Yamanaka (2006), which first demonstrated that a differentiated cell could be induced to acquire a pluripotent state [1].

In the two decades since the first induced pluripotent stem cell (iPSC) colonies were obtained, somatic cell reprogramming has developed into an important experimental platform in both basic biology and medicine. iPSC-based systems are now used to model not only monogenic disorders but also complex multifactorial diseases. Their experimental potential has been further expanded by genome editing, single-cell sequencing technologies and the development of organoid models that reproduce selected aspects of organogenesis. More recently, differentiated derivatives of iPSCs have begun to enter the field of cell-based therapies and are being evaluated as biomedical cell products. Yet the historical importance of the original experiment remains difficult to overstate. Starting with 24 candidate genes, five six-well plates and only 22 surviving colonies, it led to a fundamentally new view of cellular plasticity. The work ultimately contributed to the 2012 Nobel Prize and laid the foundation for an entire area of regenerative medicine that is now moving into a more mature, clinically oriented phase. This review discusses the experimental developments that preceded the discovery of induced pluripotency, summarizes the major advances achieved over the following two decades, and considers the directions in which the field is likely to develop further.

Keywords: pluripotent stem cells, cell reprogramming and plasticity, pluripotent stem cells, in inuced pluripotency

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. M.A. Lagarkova and A.N. Tomilin have been members of the Editorial Board of “Tissue and Organ Regeneration” since 2024; however, they were not involved in the decision regarding publication of this article. The manuscript underwent the journal’s standard peer-review procedure. The authors declare no other conflicts of interest.

Funding: This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (the Federal Scientific-technical program for genetic technologies development for 2019–2030, agreement № 075-15-2025-518)

For citation: Lagarkova M.A., Tomilin A.N. Induced pluripotent stem cells: from discovery to current advances and future directions. *Tissue and organ regeneration*. 2026;4(3): 19–39. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2026-3-19-39>

Received 17.07.2026

Revised 14.08.2026

Accepted 18.08.2026

Список сокращений / List of abbreviations

ИПСК — индуцированные плюрипотентные стволовые клетки

ПСК — плюрипотентные стволовые клетки

ЭК — эмбриональные зародышевые клетки

ЭК — эмбриональная карцинома

ЭСК — эмбриональные стволовые клетки

BMP — bone morphogenetic protein / костный морфогенетический белок

CD47 — cluster of differentiation 47 / кластер дифференцировки 47

CRISPR/Cas9 — clustered regularly interspaced short palindromic repeats / CRISPR-associated protein 9 / кластеризованные регулярно расположенные короткие палиндромные повторы / CRISPR-ассоциированный белок 9

EBNA1 — Epstein–Barr nuclear antigen 1 / ядерный антиген 1 вируса Эпштейна – Барр

GWAS — genome-wide association studies / полногеномные ассоциативные исследования

HLA — human leukocyte antigen / человеческий лейкоцитарный антиген

HLA-G — human leukocyte antigen G / человеческий лейкоцитарный антиген G

HLA-I — human leukocyte antigen class I / человеческий лейкоцитарный антиген класса I

iCaspase9 — inducible caspase 9 / индуцируемая каспаза 9

iPSCs — induced pluripotent stem cells

LIF — leukemia inhibitory factor / фактор ингибирования лейкемии

MEF — mouse embryonic fibroblasts / эмбриональные фибробласты мыши

NK — natural killer cells / естественные киллеры

OriP — origin of plasmid replication / ориджин репликации плазмиды

OSKM — OCT4, SOX2, KLF4 and c-MYC

PD-L1 — programmed death-ligand 1 / лиганд 1 программированной клеточной смерти 1

POU — Pit-1, Oct-1/Oct-2 and Unc-86

STAT3 — signal transducer and activator of transcription 3 / передатчик сигнала и активатор транскрипции

Введение

Представления о клеточном репрограммировании начали складываться задолго до появления самого этого понятия. Один из вопросов, занимавших экспериментальную эмбриологию, касался природы клеточной дифференцировки. Было непонятно, что происходит с наследственным материалом по мере специализации клетки: сохраняется ли он полностью или часть заключенных в нем возможностей необратимо утрачивается. Представление об ограничении наследственного потенциала имело давнюю историю. В частности, оно присутствовало

в ранних вариантах теории зародышевой плазмы Августа Вейсмана. Вейсман разделял непрерывную зародышевую линию и соматическую и предполагал последовательное ограничение наследственных детерминант в ходе развития.

Возможность проверить сохранность потенциала ядра экспериментально обсуждал Ханс Шпеманн. Предложенный им опыт состоял в переносе ядра дифференцированной клетки в яйцеклетку, из которой предварительно удалено собственное ядро. В то время выполнить такой эксперимент было технически невозможно.

Ситуация изменилась с развитием методов микрохирургии на яйцеклетках амфибий. Перенос ядра давал довольно прямой способ проверить, что сохраняется в нем после дифференцировки. Способность донорского ядра вновь поддерживать эмбриональное развитие означала бы, что специализация клетки не сопровождается утратой необходимой для развития генетической информации. Одновременно такой опыт проверял свойства самой яйцеклетки. Дифференцированное ядро попадало в совершенно новое цитоплазматическое окружение, и результат зависел уже не только от его исходного состояния.

Первые эксперименты были выполнены с ядрами эмбриональных клеток амфибий. Затем стали использовать ядра клеток более поздних стадий развития, в том числе дифференцированных. Оказалось, что и такое ядро в определенных условиях может вновь обеспечивать эмбриональное развитие. Тем самым различие между генетическим потенциалом клетки и его реализацией получило экспериментальное подтверждение. Вместе с тем эффективность переноса заметно снижалась по мере дифференцировки клеток-доноров.

Перенести этот подход на млекопитающих оказалось значительно труднее. Однако в конечном счете жизнеспособные животные были получены и из ядер взрослых соматических клеток. Сам этот результат был важнее низкой эффективности процедуры: геном дифференцированной клетки сохранял информацию, необходимую для построения целого организма. Низкая эффективность переноса при этом никуда не исчезла. Большинство реконструированных эмбрионов прекращало развитие, и получение нормального животного оставалось редким событием. Очевидно, сохранность генома сама по себе еще не означала, что его легко вернуть к эмбриональному состоянию.

В опытах по слиянию клеток вопрос ставился уже иначе. Соматическую клетку объединяли с плюрипотентной и затем анализировали, что происходит с ее ядром. В гибридах начинали работать гены, которые до слияния в соматической клетке не экспрессировались; одновременно менялась экспрессия генов, характерных для исходного дифференцированного состояния. Позднее удалось проследить и изменения отдельных эпигенетических характеристик со-

матического генома. Для этого не требовалось помещать ядро в яйцеклетку — достаточно было его присутствия в общей клетке с компонентами плюрипотентной клетки.

Независимо от этих экспериментов развивались исследования эмбриональных стволовых клеток (ЭСК). После получения стабильных линий стало возможным поддерживать плюрипотентные клетки в культуре и непосредственно изучать гены, от которых зависит их состояние. Среди таких генов оказались *Oct4*, *Sox2* и *Nanog*. Нарушение их функции приводило к утрате плюрипотентности, а анализ регуляторных областей показал, что кодируемые ими транскрипционные факторы контролируют многие общие гены и связаны между собой регуляторными взаимодействиями.

К началу работ по индуцированной плюрипотентности, таким образом, уже существовали два важных массива экспериментальных данных. Опыты по переносу ядер и клеточному слиянию свидетельствовали о возможности изменения состояния соматического генома. Исследования ЭСК, в свою очередь, позволяли назвать конкретные молекулы, связанные с поддержанием плюрипотентного состояния. Оставалось проверить, можно ли с помощью таких молекул непосредственно изменить судьбу соматической клетки.

В 2006 г. Такахаши и Яманака проверили способность 24 генов-кандидатов, отобранных на основании данных об ЭСК, индуцировать плюрипотентное состояние в фибробластах мыши [1]. Сначала в клетки вводили все 24 гена. Затем, последовательно исключая отдельные кандидаты, авторы сократили исходный набор до четырех факторов — *Oct4*, *Sox2*, *Klf4* и *c-Myc*. Их совместной экспрессии оказалось достаточно для появления колоний, по морфологии и ряду молекулярных признаков напоминавших ЭСК. Полученные клетки были названы ИПСК. Первые ИПСК все же не были полноценным эквивалентом ЭСК. Отбор проводился по реактивации *Fbx15*, а полученные клетки отличались от ЭСК по экспрессии ряда генов и эпигенетическим характеристикам и не давали взрослых химер. Уже в следующих работах, при использовании более строгих критериев отбора, удалось получить ИПСК, значительно более близкие к ЭСК и способные участвовать в формировании жизнеспособных химер. Неожиданным в работе

Такахаши и Яманака было прежде всего то, насколько небольшого числа факторов оказалось достаточно для столь глубокого изменения состояния клетки. Опыты по переносу ядер и клеточному слиянию уже показали, что соматический геном можно репрограммировать, но в обоих случаях на него действовало сложное клеточное окружение — цитоплазма ооцита или содержащее плюрипотентной клетки. Теперь сходного результата удалось добиться введением четырех известных транскрипционных факторов. Это означало, что для запуска репрограммирования не обязательно переносить в соматическую клетку весь набор компонентов, присутствующих в ооците или ЭСК. Дальнейшие исследования показали, что за этим внешне простым воздействием стоит сложный и сравнительно длительный процесс. При репрограммировании постепенно подавляется соматическая программа, меняется состояние хроматина и активируются эндогенные гены плюрипотентности. Лишь небольшая доля исходных клеток проходит этот путь до конца, а состав исходного набора факторов оказался не единственно возможным. Тем не менее эксперимент 2006 г. впервые показал, что судьбу дифференцированной клетки можно изменить с помощью определенной комбинации транскрипционных регуляторов.

За прошедшие два десятилетия область ИПСК заметно вышла за рамки исследований самого репрограммирования. Сейчас эти клетки используют для моделирования заболеваний, получения специализированных клеточных типов, изучения действия генетических вариантов и построения органоидных моделей. Отдельное направление связано с клеточной терапией: производные ИПСК уже применяются в ряде клинических исследований, хотя такие подходы пока остаются на стадии разработки и оценки безопасности.

Перенос ядра и сохранение генетического потенциала дифференцированных клеток

Первые прямые данные о сохранении наследственного потенциала клетки в ходе дифференцировки были получены Робертом Бриггсом и Томасом Кингом. В 1952 г. они перенесли ядра клеток бластулы *Rana pipiens* в яйцеклетки, предварительно лишённые собственного ядра [2]. Некоторые из реконструированных яйцеклеток развились в нормальные эмбрионы и затем в головастиков. Уже этот результат по-

казывал, что ядро клетки бластулы после переноса способно вновь участвовать в эмбриональном развитии.

Иная картина наблюдалась при использовании ядер клеток более поздних стадий. Чем старше был эмбрион-донор, тем реже после переноса происходило нормальное развитие; особенно низкой была эффективность для дифференцированных клеток. Объяснить это однозначно тогда не удавалось. Изменения могли происходить в самом ядре по мере дифференцировки, но столь же реальными оставались технические причины — повреждение ядра во время манипуляций или его неспособность нормально взаимодействовать с цитоплазмой яйцеклетки.

Джон Гёрдон продолжил эти эксперименты на шпорцевой лягушке *Xenopus laevis*. Крупные яйцеклетки этого вида хорошо подходили для микрохирургических манипуляций, а генетические и морфологические различия позволяли контролировать происхождение перенесенного ядра. Сначала Гёрдон работал с ядрами клеток головастиков. После переноса в энуклеированные яйцеклетки часть зародышей развивалась нормально, причем некоторые животные достигали половой зрелости [3]. Позднее в качестве доноров были использованы клетки кишечного эпителия головастиков с выраженным дифференцированным фенотипом. Их ядра также могли обеспечивать развитие, хотя обычно лишь до стадии плавающего головастика. При серийном переносе результат иногда улучшался: ядра клеток, возникших после первой пересадки, при повторном переносе поддерживали развитие до более поздних стадий [4]. Эти и другие наблюдения Гёрдон обобщил в работе 1962 г. [5], сделавшей сохранение генетического потенциала соматического ядра одним из центральных экспериментальных фактов в последующей истории репрограммирования.

У этих опытов были ограничения. Кишечный эпителий состоит не из совершенно одинаковых клеток, и нельзя было исключить различия в степени их дифференцировки. Кроме того, взрослое животное не во всех случаях получало непосредственно после первого переноса. Но основной результат от этого не менялся: дифференцированное ядро могло вновь участвовать в эмбриональном развитии после помещения в цитоплазму яйцеклетки. Позднее для переноса использовали ядра других

дифференцированных клеток, в том числе ороговевших клеток кожи взрослых лягушек [6]. Отдельный интерес представляли опыты с лимфоцитами. Здесь происхождение донорского ядра можно было установить гораздо строже. В геноме лимфоцита уже произошли характерные перестройки генов иммуноглобулинов, и обнаружение этих перестроек в полученных после переноса клетках исключало предположение о том, что донором случайно послужила недифференцированная клетка [7].

Серийный перенос ядер дал еще одно наблюдение. Ядро соматической клетки после первой пересадки нередко обеспечивало лишь несколько начальных этапов развития. Если же ядро клетки такого зародыша переносили в новую яйцеклетку, развитие иногда продолжалось значительно дальше. По-видимому, изменения донорского ядра не обязательно завершались за время его первого пребывания в цитоплазме яйцеклетки. Различалась и реакция отдельных ядер, взятых из одной ткани. Поэтому появление морфологически нормального зародыша нельзя было считать свидетельством того, что исходное состояние соматического ядра полностью стерто.

Не менее показательными были многочисленные неудачные переносы. Чем дальше клетки-доноры продвигались по пути дифференцировки, тем меньше реконструированных зародышей развивалось нормально. Многие погибали или имели выраженные нарушения развития. Получалась на первый взгляд парадоксальная картина: необходимая генетическая информация в соматическом ядре сохранялась, но воспользоваться ею после переноса удавалось далеко не всегда. Именно это различие оказалось существенным для дальнейшего понимания дифференцировки. Соматическая клетка отличается от эмбриональной не отсутствием большей части генов, а прежде всего тем, какие из них активны и в каком состоянии находится хроматин. После переноса ядра эти характеристики могли изменяться под действием цитоплазмы яйцеклетки. Для таких изменений и закрепилось понятие репрограммирования ядра. Что именно в цитоплазме яйцеклетки их вызывает, долгое время оставалось неизвестным. Не было понятно и другое: обязательно ли для этого нужна яйцеклетка или сходного результата можно добиться в обычной клеточной культуре.

Клонирование млекопитающих и эпигенетические барьеры репрограммирования

Перенос ядер у млекопитающих оказался гораздо более трудной задачей, чем у амфибий. Для нормального развития реконструированного эмбриона имело значение состояние клеточного цикла донорского ядра и ооцита, последующая активация эмбрионального генома, сохранение импринтинга и нормальное развитие внезародышевых тканей. Первые успешные опыты проводили главным образом с ядрами эмбриональных бластомеров. Получение животных в этих экспериментах доказывало принципиальную возможность ядерного переноса у млекопитающих, но ничего еще не говорило о ядрах взрослых дифференцированных клеток.

В 1996 г. Кит Кэмпбелл, Ян Вилмут и их коллеги опубликовали результаты опытов с клетками, полученными из внутренней клеточной массы бластоцисты овцы [8]. До переноса эти клетки длительно культивировали *in vitro*, а затем переводили в состояние покоя (фазу клеточного цикла G0) путем снижения концентрации сыворотки в среде. Это позволяло согласовать клеточный цикл донора с состоянием ооцита, находившегося в метафазе II. Донорскую клетку сливали с энуклеированным ооцитом электрическим импульсом. После активации реконструированные эмбрионы переносили реципиентам. В результате родились живые ягнята. Следовательно, длительное культивирование и многократные деления донорских клеток не лишали их ядра способности поддерживать развитие после переноса в ооцит. Через год та же группа сообщила о рождении Долли [9]. На этот раз донорские клетки были получены из молочной железы взрослой овцы. Эксперимент оказался крайне неэффективным: из 277 реконструированных ооцитов родился один жизнеспособный ягненок. Но именно происхождение донорских клеток придавало этому результату особое значение. Генетический анализ подтвердил, что ядерный геном Долли происходил от культуры клеток молочной железы, а не от ооцита или суррогатной матери. Значит, ядро клетки взрослого животного могло после переноса вновь обеспечить полный цикл эмбрионального развития.

Вскоре клонированные животные были получены и у мыши. В опытах Вакаямы и соавторов донорами служили клетки кумулюса [10]. Мышь давала очевидные преимущества для дальнейших

экспериментов, а сам результат показывал, что успешный перенос ядра соматической клетки не был особенностью овцы. Затем сходные опыты были выполнены и на других видах млекопитающих.

В случае Долли, впрочем, оставалась одна оговорка. Культура клеток молочной железы могла быть неоднородной, и определить свойства той единственной клетки, ядро которой в итоге дало начало животному, было невозможно. Было известно лишь ее происхождение из ткани взрослой овцы и то, что клетки до переноса находились в культуре. Позднее этот вопрос удалось исследовать на клетках с более однозначными признаками дифференцировки. Особенно удобными для этого оказались лимфоциты. Перестройки генов иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора возникают в ходе их дифференцировки и остаются в геноме своеобразной меткой происхождения клетки. Обнаружение таких перестроек у животного, полученного ядерным переносом, позволяло установить, что донором действительно был дифференцированный лимфоцит. Даже необратимая перестройка отдельных участков ДНК, таким образом, не исключала возможности возвращения остальной части генома к состоянию, совместимому с эмбриональным развитием. Успешные опыты составляли лишь небольшую долю всех попыток. Большинство реконструированных эмбрионов прекращало развитие еще до имплантации либо погибало позднее. У части эмбрионов и плодов обнаруживали нарушения роста, аномалии плаценты и другие дефекты. Исследование клонированных эмбрионов выявило нарушения экспрессии импринтированных генов и метилирования ДНК. Стало ясно, что помещение соматического ядра в ооцит само по себе еще не обеспечивает правильного восстановления эмбрионального состояния.

К этому времени различие между сохранностью генетической информации и состоянием, в котором она находится, приобрело вполне конкретное молекулярное содержание. В соматической клетке доступность генов определяется метилированием ДНК, модификациями гистонов, организацией нуклеосом и более высокими уровнями упаковки хроматина. После переноса многие из этих характеристик меняются, но изменения могут быть неполными или происходить неправильно. Отсюда становилась понятнее и низкая эффективность клонирования. Ооцит способен

глубоко перестроить состояние соматического ядра, но исходная клеточная программа обладает значительной устойчивостью.

Ядерный перенос дал и необычно строгий способ оценивать потенциал отдельного ядра. В опытах *in vitro* обычно исследовали способность клеток образовывать определенные производные или экспрессировать соответствующие маркеры. Здесь критерий был иным: одно донорское ядро должно было последовательно обеспечить раннее развитие, образование зародышевых и внезародышевых тканей, органо-генез и рождение жизнеспособного животного. Поэтому даже единичный успешный случай имел самостоятельное значение, независимо от общей эффективности процедуры.

Для исследования механизма, однако, этот подход был не слишком удобен. Между переносом ядра и конечным результатом происходило множество событий, а наблюдать их непосредственно было трудно. Кроме того, эксперимент зависел от ооцитов и сложных микрохирургических процедур. Возникал вполне практический интерес к системам, в которых изменение состояния соматического ядра можно было бы проследить непосредственно в культуре.

Такая возможность появилась благодаря развитию исследований плюрипотентных клеток. В 1981 г. две группы независимо получили ЭСК мыши из внутренней клеточной массы бластоцисты [11, 12]. Клетки длительно поддерживались в культуре, сохраняли нормальный кариотип и после введения в эмбрион участвовали в образовании различных тканей, в том числе зародышевой линии. Плюрипотентное состояние тем самым впервые стало доступно для постоянной работы *in vitro*, а не только для наблюдений в раннем эмбрионе. Позднее линии ЭСК были получены и из бластоцист, созданных путем переноса соматического ядра. Это был важный дополнительный результат: после репрограммирования соматический геном мог существовать не только в развивающемся клонированном эмбрионе, но и в стабильно поддерживаемой линии плюрипотентных клеток. Такие клетки уже можно было размножать и исследовать в культуре.

Но ооцит из этой экспериментальной схемы по-прежнему не исчезал. Иной вариант давало слияние соматической клетки с плюрипотентной.

Здесь не требовалось извлекать ядро и переносить его в яйцеклетку. После слияния соматический геном оказывался в одной клетке с компонентами ЭСК, и за изменением его состояния можно было следить непосредственно *in vitro*. Именно эти эксперименты дали следующий набор аргументов в пользу того, что дифференцированное состояние ядра может быть изменено клеточными факторами.

Клеточное слияние как модель доминирования программы плюрипотентности

Возможность изменения состояния дифференцированного ядра под действием другой клетки начали исследовать задолго до появления ИПСК. Для этого использовали соматическую гибридизацию. После слияния двух клеток ядра могли некоторое время оставаться раздельными в общей цитоплазме с образованием гетерокариона или объединяться, формируя гибридную клетку с полиплоидным геномом. В обоих случаях появлялась возможность наблюдать, как компоненты одной клетки влияют на активность генома другой, причем без переноса ядра в ооцит. В 1970-е годы подобные опыты проводили с клетками эмбриональной карциномы (ЭК). После их слияния с дифференцированными клетками в гибридах исчезала часть признаков исходной соматической клетки и появлялись свойства, характерные для плюрипотентного состояния [13]. У этой модели, однако, был существенный недостаток. Клетки ЭК имеют опухолевое происхождение и, как правило, аномальный кариотип. Поэтому было трудно сказать, в какой мере наблюдавшиеся изменения отражают нормальные свойства плюрипотентной клетки.

Ситуация изменилась после получения стабильных линий ЭСК и эмбриональных зародышевых клеток (ЭЗК). Последние получают из первичных половых клеток, и по многим свойствам они близки к ЭСК. В 1997 г. Масаки Тада, Азим Сурани и их коллеги слили ЭЗК с тимоцитами взрослой мыши [14]. Полученные гибриды имели морфологию плюрипотентных клеток, экспрессировали соответствующие маркеры и могли участвовать в формировании химер. Изменения при этом не ограничивались транскрипцией нескольких генов. Менялось метилирование импринтированных локусов, происходила реактивация неактивной X-хромосомы. Иными словами, после слияния затрагивались достаточно устойчивые характеристики соматического генома.

Важный вклад в развитие этого направления внесли Н.М. Матвеева, О.Л. Серов и их коллеги, исследовавшие внутривидовые гибриды мышинных ЭСК и соматических клеток [15]. Гибридные клетки длительно размножались в культуре и сохраняли способность к дифференцировке *in vitro* и *in vivo*. Возможности их участия в нормальном развитии, однако, ограничивал тетраплоидный кариотип. Для изучения репрограммирования принципиальным было другое: соматический геном, оказавшись после слияния в одной клетке с геномом ЭСК, мог функционировать в условиях плюрипотентного состояния. Ооцит для этого уже не требовался.

Что именно происходит с соматическим геномом в таком гибриде, более подробно исследовали Тада и соавторы в 2001 г. [16]. В качестве соматического партнера вновь использовали тимоциты, на этот раз сливая их с мышинными ЭСК. После слияния в соматическом геноме реактивировался *Oct4* (*Pou5f1*), а его регуляторная область деметилировалась. Реактивировалась также неактивная X-хромосома. При этом гибридные клетки обладали широким дифференцировочным потенциалом. Существенно, что состояние двух родительских геномов можно было различить с помощью аллельных маркеров. Поэтому появление экспрессии *Oct4* нельзя было просто объяснить присутствием генома ЭСК: авторы могли непосредственно проследить реактивацию соматического аллеля.

Еще один поворот произошел в 2002 г. на фоне активного обсуждения пластичности взрослых стволовых клеток. В то время появлялось немало сообщений о том, что клетки одного тканевого происхождения способны давать производные совершенно другого типа. Работа Терады и соавторов показала одну из возможных причин таких наблюдений: клетки костного мозга при совместном культивировании могли спонтанно сливаться с другими клетками [17]. Полученный гибрид приобретал признаки обоих партнеров, что внешне можно было принять за трансдифференцировку.

В том же году группа Остина Смита исследовала совместное культивирование клеток нервной ткани с ЭСК [18]. В культуре возникали гибриды, и геном нервной клетки в них приобретал признаки плюрипотентного состояния. Для проблемы репрограммирования этот результат был интересен сам по себе: слияние происходило

спонтанно, без специальной процедуры переноса ядра. Для дискуссии о пластичности взрослых стволовых клеток вывод был несколько иным. Само появление у клетки нового фенотипа уже нельзя было считать достаточным доказательством ее непосредственного превращения в другой клеточный тип — сначала следовало исключить слияние.

Вскоре аналогичные эксперименты были проведены с ЭСК человека. Кован и соавторы сливали их с фибробластами и получили устойчивые тетраплоидные гибриды [19]. В соматическом геноме снижалась активность генов, характерных для фибробластов, и активировались *Oct4*, *Nanog* и другие гены плюрипотентных клеток. Менялось также метилирование их регуляторных областей. Сами гибриды могли давать производные трех зародышевых листков. Сходную картину наблюдали после слияния ЭСК человека с миелоидными предшественниками, предварительно полученными из этих же ЭСК [20]. Наблюдение за такими гибридами позволило увидеть еще одну особенность репрограммирования: разные изменения происходили с разной скоростью. Некоторые гены реагировали вскоре после слияния, другие — только после последующих клеточных делений. То же относилось к эпигенетическим изменениям. Реактивация X-хромосомы, перестройка метилирования ДНК и изменения хроматина имели собственную динамику. Поэтому включение *Oct4* или *Nanog* было важным признаком начавшегося процесса, но само по себе еще не означало, что соматический геном полностью перешел в состояние, характерное для плюрипотентной клетки.

У клеточного слияния имелось очевидное ограничение. Вместо исходной диплоидной соматической клетки получался гибрид, содержащий генетический материал обоих партнеров. Обычно он был тетраплоидным. Кроме того, ЭСК передавала соматической клетке сразу огромное количество белков, РНК и других компонентов, и установить, какие именно из них необходимы для наблюдаемого эффекта, по таким опытам было невозможно. Но к этому времени сами ЭСК изучались уже достаточно интенсивно. Были известны гены, необходимые для их самообновления, исследовались сигнальные пути, поддерживающие недифференцированное состояние, и постепенно определялся круг транскрипционных факторов, непосредственно связанных

с плюрипотентностью. Поэтому после опытов со слиянием возникал уже более конкретный экспериментальный вопрос: нужна ли для репрограммирования целая плюрипотентная клетка или ее действие можно воспроизвести с помощью ограниченного набора молекулярных факторов?

Идентификация центральных регуляторов плюрипотентности

Получение ЭСК мыши и разработка условий их длительного культивирования [11, 12], а позднее и получение ЭСК человека [21] позволили изучать плюрипотентность уже не только на уровне эмбриона. ЭСК можно было длительно поддерживать *in vitro*, экспериментально изменять экспрессию отдельных генов и наблюдать, как это сказывается на самообновлении и дифференцировке. Постепенно был выявлен ряд генов, без которых недифференцированное состояние нарушалось. При этом довольно быстро выяснилось, что какого-либо одного регулятора, определяющего плюрипотентность, по-видимому, не существует.

Одним из первых факторов, для которых удалось непосредственно показать такую функцию, был *Oct4*, кодируемый геном *Pou5f1*; более подробные сведения об этом гене приведены в недавних обзорах [22, 23]. *Oct4* относится к семейству POU-доменных транскрипционных факторов и экспрессируется в ооцитах, раннем эмбрионе, эпибласте и клетках зародышевой линии. В конце 1980-х — начале 1990-х годов была описана его характерная экспрессия в недифференцированных эмбриональных клетках и способность связывать октамерный мотив ДНК [24–26]. Значение *Oct4* стало гораздо понятнее после получения мышей с нокаутом *Pou5f1*. Мутантные эмбрионы доходили до стадии бластоцисты, но клетки, которые в норме должны были дать начало плюрипотентному эпибласту, приобретали признаки трофэктодермы [27].

Неожиданным оказался результат изменения количества *Oct4* в самих ЭСК. Хитоши Нива и соавторы показали, что при снижении его уровня более чем в два раза клетки преимущественно дифференцировались в трофэктодермальном направлении, а при повышении более чем в два раза — в примитивную энтодерму и мезодерму [28]. Следовательно, для сохранения ЭСК имело значение не только присутствие *Oct4*, но и его количество.

Другим важным белком оказался Sox2, представитель семейства SoxB1. Он экспрессируется в раннем эмбрионе и ЭСК и вместе с Oct4 связывается с составными регуляторными элементами ряда генов, в частности *Fgf4* [29]. При инактивации Sox2 нарушались развитие эпибласта и поддержание плюрипотентных клеток раннего эмбриона [30]. Для некоторых генов сайты Oct4 и Sox2 расположены рядом и оба белка участвуют в регуляции их транскрипции. Среди таких мишеней оказались и гены самих факторов. Функции Oct4 и Sox2, однако, не совпадают полностью, и каждый из них взаимодействует также с другими регуляторами.

В 2003 г. две группы независимо описали Nanog [31, 32]. В лаборатории Остина Смита его обнаружили при функциональном поиске генов, сверхэкспрессия которых позволяла мышинным ЭСК сохранять недифференцированное состояние без LIF. Группа Шинии Яманаки использовала другой подход — поиск генов, преимущественно экспрессирующихся в плюрипотентных клетках. Оба исследования привели к одному гену. Сверхэкспрессия Nanog поддерживала самообновление ЭСК в условиях, в которых они обычно начинали дифференцироваться. При нарушении его функции страдало формирование плюрипотентного эпибласта, а клетки приобретали преимущественно признаки примитивной эндодермы [31, 32].

В дальнейшем оказалось, что экспрессия Nanog в культуре ЭСК довольно изменчива. Низкое содержание этого белка не обязательно означает необратимую потерю плюрипотентности: такие клетки при определенных условиях вновь переходят к состоянию с высокой экспрессией Nanog. Поэтому простая схема, в которой наличие каждого из факторов непосредственно соответствует плюрипотентному состоянию, уже не вполне описывала наблюдаемые свойства ЭСК.

Эти результаты представляли интерес и в связи с опытами по клеточному слиянию. Одним из признаков репрограммирования в гибридах служила реактивация соматического аллеля *Oct4*. В дифференцированных клетках этот ген обычно не экспрессируется, а его регуляторные области метилированы. После слияния с плюрипотентной клеткой соматический аллель начинал экспрессироваться; одновременно активировались *Nanog* и другие характерные для ЭСК гены. Установить, какой именно

компонент ЭСК ответствен за эти изменения, по таким опытам было невозможно.

Следующий шаг был сделан при картировании участков генома, с которыми связываются Oct4, Sox2 и Nanog. В ЭСК человека обнаружилось большое число регуляторных областей, занятых одновременно двумя или тремя этими белками [33]. Среди соответствующих генов были как гены, экспрессирующиеся в ЭСК, так и регуляторы развития. Последние в недифференцированных клетках в основном оставались неактивными. Кроме того, в число мишеней Oct4, Sox2 и Nanog входили их собственные гены.

При исследовании ЭСК мыши была получена сходная картина [34]. Наборы мишеней Oct4, Sox2 и Nanog в значительной степени перекрывались. С ними пересекались и сигнальные системы, давно использовавшиеся для поддержания мышинных ЭСК в культуре, прежде всего LIF/STAT3 и BMP. Поэтому речь шла уже не о трех отдельных регуляторах, а о множестве связанных между собой транскрипционных взаимодействий.

Хорошо изученным примером такого взаимодействия стали составные элементы, содержащие соседние сайты Oct4 и Sox2. Оба белка могут связываться с ними кооперативно. Подобные элементы были найдены в регуляторных областях нескольких генов, имеющих важное значение для ЭСК. Nanog имел с Oct4 и Sox2 множество общих мишеней, хотя характер его участия в регуляции отдельных генов мог различаться.

Круг изучавшихся факторов к этому времени был уже значительно шире. С самообновлением ЭСК связывали *Esrrb*, *Tbx3*, *Tcl1*, *Dppa4*, белки семейства *Klf*, *Sall4*, *Rex1*/*Zfp42* и др. [33, 35]. Одни из этих факторов были необходимы для сохранения определенных свойств ЭСК, действие других частично перекрывалось с функциями родственных белков. Отдельно исследовались регуляторы хроматина и сигнальные пути. Таким образом, к моменту работы Яманаки имелся уже довольно большой список возможных кандидатов, но сам по себе такой список мало говорил о способности каждого из них репрограммировать соматическую клетку.

Это различие было принципиальным. Нокаут гена или изменение его экспрессии в ЭСК позволяло установить его роль в уже существующей плюрипотентной клетке. Совсем другой эксперимент

требовался, чтобы выяснить, может ли тот же ген способствовать возникновению плюрипотентного состояния там, где его первоначально нет. Ни результаты ядерного переноса, ни клеточное слияние ответа на этот вопрос дать не могли: в первом случае на ядро действовали многочисленные компоненты ооцита, во втором — компоненты целой плюрипотентной клетки.

Именно на этом этапе появилась возможность поставить значительно более прямой опыт. Такахаши и Яманака отобрали 24 гена-кандидата, связанных по имеющимся данным с ЭСК и плюрипотентностью [1]. Вместо переноса ядра или слияния клеток эти гены вводили в соматические клетки и проверяли, может ли их экспрессия изменить клеточный фенотип. Далее набор последовательно сокращали, исключая отдельные компоненты и наблюдая, сохраняется ли эффект. Такой эксперимент позволил перейти от репрограммирующего действия целой клетки к поиску конкретных факторов, достаточных для его запуска.

Открытие индуцированной плюрипотентности

Спустя двадцать лет после публикации работы Такахаши и Яманака [1] хорошо видно, насколько необычным для своего времени был замысел этого эксперимента. До этого дифференцированное состояние удавалось менять либо переносом соматического ядра в ооцит, как в классических опытах Гёрдона [3–5], либо принудительной экспрессией отдельных тканеспецифичных регуляторов, наиболее известным примером которой стал MYOD [36]. Яманака пошел по другому пути. К тому времени уже было известно, что плюрипотентное состояние ЭСК поддерживается действием нескольких транскрипционных факторов, включая Oct4 и Sox2, и что многие другие гены преимущественно экспрессируются в ЭСК. Возник вопрос, можно ли использовать часть этих факторов не для поддержания уже существующей плюрипотентности, а для ее появления в дифференцированной соматической клетке.

Для проверки этой гипотезы Такахаши и Яманака использовали систему селекции, которая позволила идентифицировать клетки, приобретшие плюрипотентность. В качестве репортерной конструкции они использовали мышиные эмбриональные фибробласты, трансгенные по каскаде устойчивости к неомицину под контролем промотора гена Fbx15. Этот ген, кодирующий



Рис. 1. Портрет первооткрывателя ИПСК Шинья Яманака и четыре фактора репрограммирующего «коктейля Яманака» (рисунок сгенерирован с помощью ChatGPT).

Fig. 1. Portrait of Shinya Yamanaka, the discoverer of induced pluripotent stem cells (iPSCs), and the four reprogramming factors comprising the “Yamanaka cocktail” (image generated using ChatGPT).

убиквитинлигазу, высоко экспрессируется в недифференцированных плюрипотентных клетках и неактивен при дифференцировке. То есть выживание клеток в присутствии G418 служило фенотипическим маркером успешного репрограммирования. Первоначальный пул кандидатных генов составили 24 гена (большинство — транскрипционные факторы), отобранные на основании их обогащения в ЭСК по данным биоинформатического анализа *in silico*, среди них были *Ecat1*, *Dpp5*, *Nanog*, *ERas*, *Dnmt3l*, *Gdf3*, *Sox15*, *Dppa4*, *Sall4*, *Oct4*, *Sox2*, *Rex1*, *Utf1*, *Tcl1*, *Klf4*, β -катенин, *c-Myc*, *Stat3*, *Grb2* и другие. Каждый из этих генов был клонирован в ретровирусный вектор, и собраны вирусные частицы. Трансдукцию осуществляли комбинаторно: на начальном этапе все 24 гена вводили одновременно. Последующее последовательное исключение позволило выявить минимальный набор, необходимый и достаточный для индукции. Теперь набор этих генов (*Oct4/Pou5F1*, *Sox2*, *Klf4* и *c-Myc*) мы называем «коктейлем Яманаки».

В лунках с фибробластами, получившими все 24 гена, после селекции G418 появились 22 устойчивые колонии. По внешнему виду они были похожи на колонии ЭСК: клетки росли плотно, образовывали компактные колонии с четкими границами и имели высокое ядерно-цитоплазматическое отношение. Яманака позднее вспоминал, что, когда в 2005 г. Такахаши впервые показал ему эти колонии, он заподозрил контаминацию культуры ЭСК или какой-то экспериментальный артефакт [37]. Полученный результат действительно трудно было ожидать. От обычных фибробластов после введения набора генов возникали стабильно растущие клетки, у которых вновь работал *Fbx15* и экспрессировался ряд генов, характерных для ЭСК. Авторы назвали их iPS (induced pluripotent stem) cells. При анализе этих клеток была обнаружена экспрессия эндогенных Oct3/4 и Nanog, а исследование их регуляторных областей выявило изменения метилирования. Вместе с тем по этим показателям первые iPS-клетки еще не были полностью идентичны ЭСК.

Далее нужно было выяснить, насколько далеко зашло изменение свойств исходных фибробластов. Полученные линии, обозначенные как *iPS-MEF-Fbx15*, культивировали в условиях дифференцировки и использовали для образования эмбрионидных телец. В них появлялись производные всех трех зародышевых листков. После введения клеток иммунодефицитным мышам образовывались тератомы, также содержавшие ткани эктодермального, мезодермального и эндодермального происхождения. Однако при введении этих ИПСК в бластоцисты получить взрослых химер не удалось. Таким образом, клетки обладали широким потенциалом дифференцировки, но все же отличались от обычных ЭСК. Это ограничение первого эксперимента стало особенно очевидным уже в последующих работах, когда использование более строгих критериев отбора позволило получить более полно репрограммированные ИПСК.

Развитие технологии генетического репрограммирования

Уже в 2007 г. стало ясно, что открытый на мышиных клетках способ репрограммирования применим и к клеткам человека. Такахаши и соавторы получили ИПСК из фибробластов человека, используя OCT4, SOX2, KLF4 и c-MYC [38]. Практически одновременно аналогичный результат был опубликован группой Джеймса

Томсона, но набор факторов у них отличался: OCT4 и SOX2 сочетались с NANOG и LIN28 [39]. В обоих случаях для доставки генов использовали интегрирующие вирусные векторы. Клетки человека репрограммировались медленнее мышиных, а частота появления колоний была невысокой. Полученные линии экспрессировали характерные для ЭСК человека маркеры, дифференцировались *in vitro* в производные трех зародышевых листков и образовывали тератомы, содержащие ткани различного происхождения. Тест на образование химер, используемый для мышиных клеток, к ИПСК человека, разумеется, неприменим. С появлением ИПСК человека область довольно быстро вышла за рамки исследования самого феномена репрограммирования. Клетки конкретного человека теперь можно было перевести в плюрипотентное состояние, размножить и вновь получить из них специализированные производные. Это сразу сделало ИПСК интересными для моделирования наследственных и приобретенных заболеваний, а позднее — и для разработки клеточной терапии.

Первоначальная технология при этом имела очевидный недостаток. Ретровирусные векторы интегрировались в геном, причем положение интеграционных сайтов заранее не контролировалось. Кроме того, в набор OSKM входил c-MYC. Для экспериментального получения ИПСК это не было препятствием, но для клеток, предполагаемых к медицинскому использованию, постоянное присутствие интегрированных трансгенов было нежелательно. Поэтому следующим техническим вопросом стало получение ИПСК без стабильного изменения генома. Для этого стали использовать несколько разных подходов. Вирус Сендай оказался удобен тем, что его РНК реплицируется в цитоплазме и не встраивается в клеточную ДНК [40]. Эписомальные конструкции EBNA1/OriP также остаются вне хромосом и постепенно теряются при делении клеток [41]. Последний способ обычно менее эффективен, зато после исчезновения эписом в клетке не остается интегрированного репрограммирующего вектора.

Уоррен и соавторы пошли дальше и вообще отказались от ДНК-векторов [42]. Клетки многократно трансфицировали модифицированными синтетическими мРНК, кодирующими факторы репрограммирования. Такой способ давал ИПСК с эффективностью порядка 1%,

а введенная РНК через некоторое время разрушалась. Параллельно исследовали возможность заменить отдельные транскрипционные факторы малыми молекулами, влияющими на сигнальные пути и хроматин. На мышинных клетках позднее удалось получить ИПСК и без введения экзогенных транскрипционных факторов, используя только комбинацию химических соединений [43]. Эти эксперименты показали, что первоначальная комбинация OSKM была не единственным способом индуцировать плюрипотентность: сходное конечное состояние можно получить при различных исходных воздействиях на регуляторные системы клеток.

Механизмы индукции плюрипотентности и феномен эпигенетической памяти

Низкая эффективность репрограммирования поначалу допускала два довольно разных объяснения [44]. Одно из них получило название «элитарной» модели. Предполагалось, что в культуре имеется небольшая популяция клеток, изначально более восприимчивых к действию OSKM. Ими могли быть, например, сохранившиеся среди дифференцированных клеток предшественники или клетки с более «стволовыми» свойствами. Более доступный хроматин, высокая пролиферативная активность или другие особенности таких клеток могли давать им преимущество при репрограммировании. Если это так, редкое появление ИПСК отражало бы прежде всего неоднородность исходной культуры.

Была, однако, и другая возможность. Репрограммироваться в принципе могла не какая-то особая субпопуляция, а практически любая клетка, но происходило это с очень небольшой вероятностью. Эта модель получила название стохастической. В ее рамках прохождение пути от соматической клетки к ИПСК зависело от последовательности событий, каждое из которых само по себе могло происходить лишь в части клеток. Поэтому при одинаковом воздействии OSKM одни клетки сравнительно быстро давали колонии ИПСК, другие задерживались на промежуточных стадиях, а большинство вообще не завершало репрограммирование [44].

Дальнейшие эксперименты показали, что жестко противопоставлять эти две модели, по-видимому, не следует [45]. Исходное состояние клетки действительно имеет значение: некоторые типы клеток репрограммируются легче других, а клетки с эпителиальным фенотипом не долж-

ны предварительно проходить мезенхимально-эпителиальный переход, характерный, например, для фибробластов. Но и среди клеток одного типа результат действия OSKM далеко не предопределен. В ходе репрограммирования клетки проходят через ряд промежуточных состояний, причем их дальнейшая судьба может различаться. Сначала ослабевает исходная соматическая программа и начинают включаться отдельные гены, связанные с плюрипотентностью. До устойчивой активации эндогенной сети плюрипотентности доходит лишь часть клеток. Остальные либо прекращают существование, либо надолго задерживаются в частично репрограммированном состоянии, либо возвращаются к соматическому профилю экспрессии.

Еще одним предметом многочисленных исследований и жарких дискуссий стал вопрос о существовании так называемой «эпигенетической памяти». Говоря простыми словами, два основных вопроса можно сформулировать так: есть ли в ИПСК эпигенетические метки, которые позволили бы сказать об их происхождении из соматических клеток, и если да, то влияет ли тип соматических клеток на последующие свойства ИПСК? Например, будут ли ИПСК, полученные из лимфоцитов, дифференцироваться в лимфоциты лучше, чем полученные из кератиноцитов?

Многие исследователи идентифицировали эпигенетические и транскрипционные сигнатуры, характерные для ИПСК, а также «горячие точки» аберрантного метилирования и участки сохранения соматической памяти в ИПСК мыши и человека [46–48]. Эти исследования тогда выявили значительные различия между ИПСК и ЭСК, хотя анализировалось лишь ограниченное число клеточных линий разного происхождения. Позднее была проведена комплексная характеристика десятков линий плюрипотентных стволовых клеток ПСК человека, которая показала, что по мере увеличения числа анализируемых линий наблюдаемые различия становятся менее выраженными, и многие клоны ИПСК от ЭСК отличить не удалось [49, 50].

Например, с использованием изогенной системы ЭСК-ИПСК было проведено полногеномное сравнение транскриптомов и метиломов изогенных ЭСК человека, трех типов соматических клеток, полученных из ЭСК (фибробластов, клеток пигментного эпителия сетчатки и нейронов), а также трех пар линий ИПСК, полученных

из этих соматических клеток [51]. Анализ выявил значительный вклад стохастических факторов в молекулярный профиль ИПСК: в нем не сохранилось специфических следов ни исходного типа соматических клеток, ни процесса репрограммирования.

Моделирование заболеваний с помощью ИПСК

ИПСК довольно быстро стали использовать для моделирования наследственных заболеваний. Если клетки получают от пациента, после репрограммирования в них сохраняется его генетический фон вместе с вариантом, связанным с заболеванием. Затем такие ИПСК можно направленно дифференцировать в интересующий тип клеток (например, в нейроны, кардиомиоциты или гепатоциты) и уже в культуре исследовать проявления патологического фенотипа. Одними из первых таким способом начали изучать спинальную мышечную атрофию, боковой амиотрофический склероз, болезнь Паркинсона, муковисцидоз и синдром удлиненного интервала QT [52, 53]. Позднее в эти эксперименты вошло редактирование генома с помощью CRISPR/Cas9 [54]. Оно дало возможность работать не только с пациентскими и контрольными линиями от разных людей, но и с клетками, различающимися практически одной интересующей мутацией. В простейшем варианте мутацию исправляют в ИПСК пациента, после чего исходный и отредактированный клоны исследуют параллельно. Можно сделать и обратное — внести тот же вариант в контрольные клетки. В этом случае влияние генетического фона сводится к минимуму, поскольку сравниваемые линии происходят из одних и тех же клеток. Подобный эксперимент был проведен, в частности, для мутаций KCNH2. Кардиомиоциты, дифференцированные из пациентских ИПСК, имели характерные нарушения потенциала действия. После коррекции мутации эти изменения уже не обнаруживались. Такая пара линий дает возможность связать наблюдаемый клеточный фенотип именно с исследуемым генетическим вариантом. На тех же клетках затем можно разбирать механизм заболевания или проверять действие потенциальных лекарственных соединений.

Следующим шагом стал переход от отдельных типов клеток к более сложным трехмерным моделям. При определенных условиях клетки, полученные из ИПСК, способны самоорганизовываться, образуя структуры, в которых одновременно присутствуют несколько клеточ-

ных типов и воспроизводятся некоторые черты строения развивающегося органа. Такие структуры получили название органоидов. Сейчас из ИПСК получают органоиды головного мозга, кишечника, почки, сетчатки, печени и ряда других органов; обычно для этого последовательно меняют условия культивирования и активность сигнальных путей, направляя развитие клеток по нужному пути [55]. Конечно, органоид не является уменьшенной копией настоящего органа, однако в нем возникают пространственно организованные клеточные популяции, которые трудно получить в обычной двумерной культуре. Особенно широкое применение получили церебральные органоиды. В них формируются участки, напоминающие отдельные структуры развивающегося мозга, а клетки способны проявлять электрическую активность. Такие модели использовали, в частности, при изучении микроцефалии, аутизма и шизофрении. Позднее несколько органоидов или регион-специфических структур стали объединять между собой. Эти системы, получившие название ассамблоидов, дают возможность наблюдать процессы, которые невозможно изучить в изолированном органоиде, например перемещение клеток из одной области в другую и образование связей между ними [56]. Еще одно направление — микрофлюидные системы, в которых несколько типов тканей или органоидов соединяются общим потоком среды. Их используют, в частности, чтобы проследить метаболизм лекарственного вещества в одной ткани и его последующее действие на другую [57].

С развитием методов секвенирования на уровне отдельных клеток и мультиомики ИПСК начинают применяться для изучения заболеваний со сложной генетикой, таких как сахарный диабет 2-го типа, болезнь Альцгеймера, атеросклероз и психиатрические расстройства. Используя CRISPR-скрининг, в ИПСК можно вносить комбинации аллелей риска, выявленных в полногеномных ассоциативных исследованиях (GWAS), и анализировать их влияние на клетки или органоиды, дифференцированные из ИПСК [58].

Разумеется, как у любой модели, у ИПСК есть свои ограничения. Так, например, при дифференцировке клетки часто не имеют зрелого фенотипа, а скорее представляют собой фетальные клетки. Добиться правильного и физиологически релевантного созревания клеток — сложно решаемая экспериментальная задача. Но, с другой

стороны, именно такая «юность» дифференцированных производных ИПСК позволила создать новую концепцию нейродегенеративных заболеваний (например, хорей Гентингтона) как болезней развития, протекающих бессимптомно до определенного момента, но имеющих молекулярные и физиологические проявления, с которыми до определенного возраста справляются компенсаторные силы организма [59].

ИПСК как источник клеток для регенеративной медицины

Клинические исследования, начатые в Японии с 2014 года (первая трансплантация пигментного эпителия сетчатки) [60], а к 2026 году расширившиеся до терапии дофаминергических нейронов при болезни Паркинсона, клеток эндотелия роговицы, кардиомиоцитов, хондроцитов, бета-клеток поджелудочной железы и других производных ИПСК, подтвердили принципиальную возможность использования ИПСК в клинической практике. За последние 5 лет количество клинических исследований производных ИПСК выросло с 22 в 2020 [61] до 64 в 2025 году [62].

Во всех случаях ключевыми требованиями являются стандартизация дифференцировки, очистка целевой популяции (например, с помощью сортировки по маркерам) и исключение остаточных недифференцированных клеток. Мониторинг пациентов предусматривает длительное наблюдение для выявления отсроченных нежелательных явлений.

Использование аутологичных клеток, при котором ИПСК получают из клеток самого пациента, исключает риск иммунного отторжения, однако сопряжена с высокой стоимостью, длительностью производства (более 6 месяцев) и необходимостью индивидуального контроля качества каждого клона, включая полноэкзомное секвенирование и кариотипирование. Эти ограничения делают аутологичную терапию малоприменимой для массового здравоохранения и особенно для urgentных состояний. В качестве альтернативы создаются банки аллогенных линий от доноров, гомозиготных по основным HLA-локусам. Такие линии могут покрывать значительную часть популяции при минимальном числе гаплотипов. В Японии 50 линий, отобранных из 24 000 типированных доноров, обеспечивают совместимость для 90% населения [63]. Для европеоидной популяции, более генетически гетерогенной, требуется порядка 100–150 линий

для достижения 80% покрытия [64]. Банки таких линий ИПСК создаются во многих странах, в том числе и в России. Для снижения иммуногенности аллогенных производных ИПСК разрабатываются также линии ИПСК с генетическими модификациями [65]. Эти подходы могут позволить создавать универсальные линии, не требующие подбора по HLA.

Наиболее распространенная стратегия включает нокаут гена $\beta 2$ -микроглобулина, что устраняет экспрессию HLA-I класса и предотвращает распознавание цитотоксическими Т-лимфоцитами. Однако при этом повышается уязвимость к атаке NK-клеток, поэтому дополнительно вводят трансгены CD47 (ингибитор фагоцитоза), HLA-G и PD-L1 (супрессоры NK и Т-клеточных реакций) [65]. Такие линии показали длительную выживаемость в аллогенных моделях на животных. Однако снижение иммунного контроля создает риски реактивации эндогенных ретровирусов и злокачественной трансформации. В связи с этим разрабатываются системы индуцируемой клеточной смерти, например на основе тимидинкиназы герпеса или iCaspase9, активируемые специфическими индукторами. Эти системы уже проходят доклиническую валидацию и рассматриваются как желательный компонент для универсальных линий.

Заключение

Два десятилетия, прошедшие с момента публикации статьи о получении ИПСК, превратили генетическое репрограммирование соматических клеток в мощный инструмент биомедицины.

Сейчас технология находится на этапе клинической апробации и масштабирования. Первые успешные трансплантации и создание HLA-банков демонстрируют реальный переход технологий генетического репрограммирования от лабораторного инструмента к медицинской практике. Дальнейшее практическое развитие этой области, вероятно, будет связано с комбинированием ИПСК с достижениями генной инженерии, биоинформатики и материаловедения, что позволит перейти к персонализированному и одновременно масштабируемому методам клеточной терапии.

Вместе с тем сохраняются нерешенные задачи не только в сугубо практических областях (протоколы и методы лечения, иммунологическая совместимость, контроль за злокачественной

трансформацией, этическое и правовое регулирование), но и в области изучения плюрипотентности как таковой: механизмов тканеспецифической дифференцировки, дозовой компенсации, эпигенетической и транскрипционной регуляции этих процессов.

В Российской Федерации исследования ИПСК были начаты вскоре после открытия этих клеток, в том числе благодаря предшествовавшему опыту работы с ЭСК и изучения факторов контроля клеточной плюрипотентности. Так, первые отечественные ИПСК человека были получены в 2008 г. в лаборатории С.Л. Киселева, ИОГен РАН [66, 67], затем — в лаборатории С.М. Закияна, ИЦИГ СО РАН [68, 69]. В 2010 г. в лаборатории А.Н. Томилина (ИНЦ РАН) были получены ИПСК мыши [70], а в 2011 — впервые в мире были получены и генетически модифицированы ИПСК крысы [71] — животной модели, крайне ценной для изучения гипертензии, диабета, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и других патологий человека. Сейчас больше десятка отечественных лабораторий используют технологию ИПСК для моделирования заболеваний человека и создания про-

тотипов лекарственных средств [72–77], и этот список неуклонно расширяется. В фокусе исследований лаборатории А.Н. Томилина (ИНЦ РАН) остается изучение молекулярных механизмов индукции, поддержания и переходов между промежуточными состояниями клеточной плюрипотентности, а также выхода из него посредством дифференцировки в процессе развития [78–83]. Исследования лабораторий С.М. Закияна (ИЦИГ СО РАН) и А.Н. Богомазовой (ФНКЦ ФХМ им. Лопухина ФМБА России) сфокусированы на создании основанных на ИПСК моделей заболеваний человека [84–88]. Последней лаборатории принадлежит первая в России инициатива по реализации колоссального потенциала ИПСК в регенеративной медицине, а именно создание биомедицинских клеточных продуктов для тканезаместительной терапии человека и разработке подходов к модуляции их иммуногенности [89].

Для решения всех этих грандиозных задач Такахаши и Яманака подарили 20 лет назад всему миру не только удивительный и очень интересный объект исследований, но и мощный биомедицинский инструмент — ИПСК!

Литература

1. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006;126(4):663–676.
2. Briggs R, King TJ. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1952;38(5):455–463. DOI: 10.1073/pnas.38.5.455
3. Gurdon JB, Elsdale TR, Fischberg M. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplantation of single somatic nuclei. *Nature*. 1958;182:64–65. DOI: 10.1038/182064a0
4. Gurdon JB. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J Embryol Exp Morphol*. 1962;10:622–640. DOI: 10.1242/dev.10.4.622
5. Gurdon JB. Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells. *Dev Biol*. 1962;4:256–273. DOI: 10.1016/0012-1606(62)90043-X
6. Gurdon JB, Laskey RA, Reeves OR. The developmental capacity of nuclei transplanted from keratinized skin cells of adult frogs. *J Embryol Exp Morphol*. 1975;34(1):93–112. DOI: 10.1242/dev.34.1.93
7. Wabl MR, Brun RB, Du Pasquier L. Lymphocytes of the toad *Xenopus laevis* have the gene set for promoting tadpole development. *Science*. 1975;190(4221):1310–1312. DOI: 10.1126/science.1198118
8. Campbell KHS, McWhir J, Ritchie WA, Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*. 1996;380:64–66. DOI: 10.1038/380064a0
9. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*. 1997;385:810–813. DOI: 10.1038/385810a0
10. Wakayama T, Perry ACF, Zuccotti M, Johnson KR, Yanagimachi R. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*. 1998;394:369–374. DOI: 10.1038/28615

11. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature*. 1981;292:154–156. DOI: 10.1038/292154a0
12. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78(12):7634–7638. DOI: 10.1073/pnas.78.12.7634
13. Miller RA, Ruddle FH. Pluripotent teratocarcinoma-thymus somatic cell hybrids. *Cell*. 1976;9(1):45–55. DOI: 10.1016/0092-8674(76)90051-9
14. Tada M, Tada T, Lefebvre L, Barton SC, Surani MA. Embryonic germ cells induce epigenetic reprogramming of somatic nucleus in hybrid cells. *EMBO J*. 1997;16(21):6510–6520. DOI: 10.1093/emboj/16.21.6510
15. Matveeva NM, Shilov AG, Kaftanovskaya EM, Maximovsky LP, Zhelezova AI, Golubitsa AN, et al. *In vitro* and *in vivo* study of pluripotency in intraspecific hybrid cells. *Mol Reprod Dev*. 1998;50(2):128–138. DOI: 10.1002/(SICI)1098-2795(199806)50:2<128
16. Tada M, Takahama Y, Abe K, Nakatsuji N, Tada T. Nuclear reprogramming of somatic cells by *in vitro* hybridization with ES cells. *Curr Biol*. 2001;11(19):1553–1558. DOI: 10.1016/S0960-9822(01)00459-6
17. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*. 2002;416:542–545. DOI: 10.1038/nature730
18. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature*. 2002;416:545–548. DOI: 10.1038/nature729
19. Cowan CA, Atienza J, Melton DA, Eggan K. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science*. 2005;309(5739):1369–1373. DOI: 10.1126/science.1116447
20. Yu J, Vodyanik MA, He P, Slukvin II, Thomson JA. Human embryonic stem cells reprogram myeloid precursors following cell-cell fusion. *Stem Cells*. 2006;24(1):168–176. DOI: 10.1634/stemcells.2005-0292
21. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;282(5391):1145–1147. DOI: 10.1126/science.282.5391.1145
22. Bakhmet EI, Tomilin AN. Key features of the POU transcription factor Oct4 from an evolutionary perspective. *Cell Mol Life Sci*. 2021;78(23):7339–7353. DOI: 10.1007/s00018-021-03975-8
23. Bakhmet EI, Tomilin AN. The functional diversity of the POUV-class proteins across vertebrates. *Open Biol*. 2022;12(6):220065. DOI: 10.1098/rsob.220065
24. Schöler HR, Hatzopoulos AK, Balling R, Suzuki N, Gruss P. A family of octamer-specific proteins present during mouse embryogenesis: evidence for germline-specific expression of an Oct factor. *EMBO J*. 1989;8(9):2543–2550. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1989.tb08392.x
25. Rosner MH, Vigano MA, Ozato K, Timmons PM, Poirier F, Rigby PWJ, et al. A POU-domain transcription factor in early stem cells and germ cells of the mammalian embryo. *Nature*. 1990;345:686–692. DOI: 10.1038/345686a0
26. Okamoto K, Okazawa H, Okuda A, Sakai M, Muramatsu M, Hamada H. A novel octamer binding transcription factor is differentially expressed in mouse embryonic cells. *Cell*. 1990;60(3):461–472. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90597-8
27. Nichols J, Zevnik B, Anastasiadis K, Niwa H, Klewe-Nebenius D, Chambers I, et al. Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*. 1998;95(3):379–391. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81769-9
28. Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat Genet*. 2000;24(4):372–376. DOI: 10.1038/74199
29. Yuan H, Corbi N, Basilico C, Dailey L. Developmental-specific activity of the FGF-4 enhancer requires the synergistic action of Sox2 and Oct-3. *Genes Dev*. 1995;9(21):2635–2645. DOI: 10.1101/gad.9.21.2635
30. Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, Perez L, Vivian N, Lovell-Badge R. Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes Dev*. 2003;17(1):126–140. DOI: 10.1101/gad.224503

31. Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*. 2003;113(5):643–655. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00392-1
32. Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, Segawa K, Murakami M, Takahashi K, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*. 2003;113(5):631–642. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00393-3
33. Boyer LA, Lee TI, Cole MF, Johnstone SE, Levine SS, Zucker JP, et al. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell*. 2005;122(6):947–956. DOI: 10.1016/j.cell.2005.08.020
34. Loh YH, Wu Q, Chew JL, Vega VB, Zhang W, Chen X, et al. The Oct4 and Nanog transcription network regulates pluripotency in mouse embryonic stem cells. *Nat Genet*. 2006;38(4):431–440. DOI: 10.1038/ng1760
35. Ivanova N, Dobrin R, Lu R, Kotenko I, Levorse J, DeCoste C, et al. Dissecting self-renewal in stem cells with RNA interference. *Nature*. 2006;442:533–538. DOI: 10.1038/nature04915
36. Davis RL, Weintraub H, Lassar AB. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell*. 1987;51(6):987–1000. DOI: 10.1016/0092-8674(87)90585-x
37. Scudellari M. How iPS cells changed the world. *Nature*. 2016;534:310–312. DOI: 10.1038/534310a
38. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 2007;131(5):861–872.
39. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science*. 2007;318(5858):1917–1920.
40. Fusaki N, Ban H, Nishiyama A, Saeki K, Hasegawa M. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2009;85(8):348–362. DOI: 10.2183/pjab.85.348
41. Drozd AM, Walczak MP, Piaskowski S, Stoczynska-Fidelus E, Rieske P, Grzela DP. Generation of human iPSCs from cells of fibroblastic and epithelial origin by means of the oriP/EBNA-1 episomal reprogramming system. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6(1):122. DOI: 10.1186/s13287-015-0112-3
42. Warren L, Manos PD, Ahfeldt T, Loh YH, Li H, Lau F, et al. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA. *Cell Stem Cell*. 2010;7(5):618–630. DOI: 10.1016/j.stem.2010.08.012
43. Hou P, Li Y, Zhang X, Liu C, Guan J, Li H, et al. Pluripotent stem cells induced from mouse somatic cells by small-molecule compounds. *Science*. 2013;341(6146):651–654. DOI: 10.1126/science.1239278
44. Yamanaka S. Elite and stochastic models for induced pluripotent stem cell generation. *Nature*. 2009;460(7251):49–52. DOI: 10.1038/nature08180
45. Yamanaka S. Two decades of induced pluripotent stem cell research: From discovery to diverse applications. *Cell Stem Cell*. 2026;33(3):372–381. DOI: 10.1016/j.stem.2026.02.003
46. Polo JM, Liu S, Figueroa ME, Kulalert W, Eminli S, Tan KY, et al. Cell type of origin influences the molecular and functional properties of mouse induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol*. 2010;28:848–855. DOI: 10.1038/nbt.1667
47. Lister R, Pelizzola M, Kida YS, Hawkins RD, Nery JR, Hon G, et al. Hotspots of aberrant epigenomic reprogramming in human induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2011;470:68–73. DOI: 10.1038/nature09798
48. Kim K, Doi A, Wen B, Ng K, Zhao R, Cahan P, et al. Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells. *Nature*. 2010;467(7313):285–290. DOI: 10.1038/nature09342
49. Nazor KL, Altun G, Lynch C, Tran H, Harness JV, Slavin I, Garitaonandia I, Müller F-J, Wang Y-C, Boscolo FS, et al. Recurrent variations in DNA methylation in human pluripotent stem cells and their differentiated derivatives. *Cell Stem Cell*. 2012. ;10(5):620–634. DOI: 10.1016/j.stem.2012.02.013
50. Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cell Stem Cell*. 2012;10(6):678–684. DOI: 10.1016/j.stem.2012.05.005
51. Shutova MV, Surdina AV, Ischenko DS, Naumov VA, Bogomazova AN, Vassina EM, et al. An integrative analysis of reprogramming in human isogenic system identified a clone selection criterion. *Cell Cycle*. 2016;15(7):986–997. DOI: 10.1080/15384101.2016.1152425

52. Dimos JT, Rodolfa KT, Niakan KK, Weisenthal LM, Mitumoto H, Chung W, et al. Induced pluripotent stem cells generated from patients with ALS can be differentiated into motor neurons. *Science*. 2008;321(5893):1218–1221. DOI: 10.1126/science.1158799
53. Ebert AD, Yu J, Rose FF Jr, Mattis VB, Lorson CL, Thomson JA, et al. Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature*. 2009;457(7227):277–280. DOI: 10.1038/nature07677
54. McTague A, Rossignoli G, Ferrini A, Barral S, Kurian MA. Genome Editing in iPSC-Based Neural Systems: From Disease Models to Future Therapeutic Strategies. *Front Genome Ed*. 2021;3:630600. DOI: 10.3389/fgeed.2021.630600
55. Eremeev AV, Lebedeva OS, Bogomiakova ME, Lagarkova MA, Bogomazova AN. Cerebral Organoids-Challenges to Establish a Brain Prototype. *Cells*. 2021;10(7):1790. DOI: 10.3390/cells10071790
56. Izhiman Y, Anamala C, Nauman EA, Liaudanskaya V. Recreating the human brain: Are assembloids merely descriptive models? *Front Cell Neurosci*. 2026;20:1787173. DOI: 10.3389/fncel.2026.1787173
57. Quintard C, Tubbs E, Jonsson G, Jiao J, Wang J, Wersch N, et al. A microfluidic platform integrating functional vascularized organoids-on-chip. *Nat Commun*. 2024;15(1):1452. DOI: 10.1038/s41467-024-45710-4
58. Kondo T, Hara N, Koyama S, et al. Dissection of the polygenic architecture of neuronal A β production using a large sample of individual iPSC lines derived from Alzheimer’s disease patients. *Nat Aging*. 2022;2:125–139. DOI: 10.1038/s43587-021-00158-9
59. Conforti P, Besusso D, Bocchi VD, Faedo A, Cesana E, Rossetti G, et al. Faulty neuronal determination and cell polarization are reverted by modulating HD early phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(4):E762–E771. DOI: 10.1073/pnas.1715865115
60. Mandai M, Watanabe A, Kurimoto Y, Hirami Y, Morinaga C, Daimon T, et al. Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N Engl J Med*. 2017;376(11):1038–1046. DOI: 10.1056/NEJMoa1608368
61. Deinsberger J, Reisinger D, Weber B. Global trends in clinical trials involving pluripotent stem cells: a systematic multi-database analysis. *Regenerative Medicine*. 2020;5:15.
62. Kirkeby A, Main H, Carpenter M. Pluripotent stem-cell-derived therapies in clinical trial: A 2025 update. *Cell Stem Cell*. 2025;32(1):10–37.
63. Yoshida S, Kato TM, Sato Y, Umekage M, Ichisaka T, Tsukahara M, et al. A clinical-grade HLA haplobank of human induced pluripotent stem cells matching approximately 40% of the Japanese population. *Med*. 2023;4(1):51–66.e10. DOI: 10.1016/j.medj.2022.10.003
64. Gourraud PA, Gilson L, Girard M, Peschanski M. The role of human leukocyte antigen matching in the development of multiethnic “haplobank” of induced pluripotent stem cell lines. *Stem Cells*. 2012;30(2):180–186. DOI: 10.1002/stem.772
65. Bogomiakova ME, Eremeev AV, Lagarkova MA. At Home among Strangers: Is It Possible to Create Hypoimmunogenic Pluripotent Stem Cell Lines? *Mol Biol (Mosk)*. 2019;53(5):725–740. DOI: 10.1134/S0026898419050045
66. Shutova MV, Bogomazova AN, Lagarkova MA, Kiselev SL. Generation and characterization of human induced pluripotent stem cells. *Acta Naturae*. 2009;1(2):91–92.
67. Lagarkova MA, Shutova MV, Bogomazova AN, Vassina EM, Glazov EA, Zhang P, et al. Induction of pluripotency in human endothelial cells resets epigenetic profile on genome scale. *Cell Cycle*. 2010;9(5):937–946. DOI: 10.4161/cc.9.5.10869
68. Medvedev SP, Malakhova AA, Grigor’eva EV, Shevchenko AI, Dementyeva EV, Sobolev IA, et al. Derivation of induced pluripotent stem cells from fetal human skin fibroblasts. *Acta Naturae*. 2010;2(2):102–106.
69. Medvedev SP, Grigor’eva EV, Shevchenko AI, Malakhova AA, Dementyeva EV, Shilov AA, et al. Human induced pluripotent stem cells derived from fetal neural stem cells successfully undergo directed differentiation into cartilage. *Stem Cells Dev*. 2011;20(6):1099–1112. DOI: 10.1089/scd.2010.0249
70. Минина ЮМ, Жданова НС, Шилов АГ, Толкунова ЕН, Лисковых МА, Томили АН. Нестабильность хромосомного состава культивируемых *in vitro* плюрипотентных клеток мыши. *Цитология*. 2010;52(5):420–425.

71. Minina YuM, Zhdanova NS, Shilov AG, Tolkunova EN, Liskovyykh MA, Tomilin AN. Instability of the chromosomal composition of in vitro cultured pluripotent mouse cells. *Cytology*. 2010;52(5):420–425. (In Russ.)
72. Liskovyykh M, Chuykin I, Ranjan A, Safina D, Popova E, Tolkunova E, et al. Derivation, characterization, and stable transfection of induced pluripotent stem cells from Fischer344 rats. *PLoS One*. 2011;6(11):e27345. DOI: 10.1371/journal.pone.0027345
73. Muchkaeva IA, Dashinimaev EB, Artyuhov AS, Myagkova EP, Vorotelyak EA, Yegorov YY, et al. Generation of iPS Cells from Human Hair Follicle Dermal Papilla Cells. *Acta Naturae*. 2014;6(1):45–53.
74. Nenasheva VV, Novosadova EV, Makarova IV, Lebedeva OS, Grefenshtein MA, Arsenyeva EL, et al. The Transcriptional Changes of trim Genes Associated with Parkinson's Disease on a Model of Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Mol Neurobiol*. 2017;54(9):7204–7211. DOI: 10.1007/s12035-016-0230-7
75. Gridina MM, Matveeva NM, Fishman VS, Menzorov AG, Kizilova HA, Beregovoy NA, et al. Allele-Specific Biased Expression of the CNTN6 Gene in iPS Cell-Derived Neurons from a Patient with Intellectual Disability and 3p26.3 Microduplication Involving the CNTN6 Gene. *Mol Neurobiol*. 2018;55(8):6533–6546. DOI: 10.1007/s12035-017-0851-5
76. Gusev K, Khudiakov A, Zaytseva A, Perepelina K, Makeenok S, Kaznacheyeva E, et al. Impact of the DSP-H1684R Genetic Variant on Ion Channels Activity in iPSC-Derived Cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem*. 2020;54(4):696–706. DOI: 10.33594/0000000249
77. Kondratyeva E, Adilgereeva E, Amelina E, Tabakov V, Demchenko A, Ustinov K, et al. Generation of induced pluripotent stem cell line (RCMGi001-A) from human skin fibroblasts of a cystic fibrosis patient with p.F508del mutation. *Stem Cell Res*. 2020;48:101933. DOI: 10.1016/j.scr.2020.101933
78. Podgurskaya AD, Slotvitsky MM, Tsvelaya VA, Frolova SR, Romanova SG, Balashov VA, et al. Cyclophosphamide arrhythmogenicity testing using human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes. *Sci Rep*. 2021;11(1):2336. DOI: 10.1038/s41598-020-79085-5
79. Bakhmet EI, Nazarov IB, Gazizova AR, Vorobyeva NE, Kuzmin AA, Gordeev MN, et al. hnRNP-K Targets Open Chromatin in Mouse Embryonic Stem Cells in Concert With Multiple Regulators. *Stem Cells*. 2019;37:1018–1029. DOI: 10.1002/stem.3025
80. Skvortsova EV, Nazarov IB, Tomilin AN, Sinenko SA. Dual Mode of Mitochondrial ROS Action during Reprogramming to Pluripotency. *Int J Mol Sci*. 2022;23(18):10924. DOI: 10.3390/ijms231810924
81. Sinenko SA, Kuzmin AA, Skvortsova EV, Ponomartsev SV, Efimova EV, Bader M, et al. Tryptophan Hydroxylase-2-Mediated Serotonin Biosynthesis Suppresses Cell Reprogramming into Pluripotent State. *Int J Mol Sci*. 2023;24(5):4862. DOI: 10.3390/ijms24054862
82. Kriger D, Podenkova UI, Bakhmet EI, Potapenko E, Ivanova E, Tomilin AN, et al. Evidence of Immunoproteasome Expression Onset in the Formative State of Pluripotency in Mouse Cells. *Cells*. 2024;13(16):1362. DOI: 10.3390/cells13161362
83. Starkova TYu, Ponomartsev SV, Fishman VS, Battulin NR, Aksenov ND, Bakhmet EI, et al. HMGB1 regulates mitochondrial structure and reactive oxygen species balance during the transition from naïve to primed pluripotency. *Front Cell Dev Biol*. 2026;14:1807454.
84. Bakhmet EI, Potapenko EV, Shuvalov OY, Lobov AA, Repkin EA, Kriger DV, et al. PCBP1 orchestrates amino acid metabolism burst during the naïve-to-primed pluripotency transition. *Stem Cell Reports*. 2026;17:102950. DOI: 10.1016/j.stemcr.2026.102950
85. Yarkova ES, Grigor'eva EV, Medvedev SP, Tarasevich DA, Pavlova SV, Valetdinova KR, Minina JM, Zakian SM, Malakhova AA. Detection of ER Stress in iPSC-Derived Neurons Carrying the p.N370S Mutation in the GBA1 Gene. *Biomedicines*. 2024 Mar 27;12(4):744. DOI: 10.3390/biomedicines12040744. PMID: 38672099; PMCID: PMC11047942.
86. Zakharova IS, Shevchenko AI, Arssan MA, Sleptcov AA, Nazarenko MS, Zarubin AA, Zhelytsheva NV, et al. iPSC-Derived Endothelial Cells Reveal LDLR Dysfunction and Dysregulated Gene Expression Profiles in Familial Hypercholesterolemia. *Int J Mol Sci*. 2024 Jan 5;25(2):689. DOI: 10.3390/ijms25020689. PMID: 38255763; PMCID: PMC10815294.
87. Kopylova IV, Ivanov AB, Eidelman LR, Zaitseva EN, Kulikova ED, Grehnyov DA, Bogomazova AN, Vigont VA, Kaznacheyeva EV, Lagarkova MA, Lebedeva OS, Olekhovich EI. Convergent transcriptomic signature in iPSC-dopaminergic neurons of hereditary Parkin-

- son's disease. *Life Sci Alliance*. 2026 Apr 24;9(7):e202503551. DOI: 10.26508/lsa.202503551. PMID: 42031673; PMCID: PMC13109591.
88. Volovikov EA, Davidenko AV, Emets EV, Smirnova AS, Bogomazova AN, Lagarkova MA. The GNAO1-B Splice Variant Is the Predominant Isoform in Human Astrocytes and Localizes to Retraction Fibers and Migrasomes. *Cells*. 2025 Nov 10;14(22):1755. DOI: 10.3390/cells14221755. PMID: 41294808; PMCID: PMC12651897.
 89. Vigont VA, Grekhnev DA, Lebedeva OS, Gusev KO, Volovikov EA, Skopin AY, Bogomazova AN, Shuvalova LD, et al. STIM2 Mediates Excessive Store-Operated Calcium Entry in Patient-Specific iPSC-Derived Neurons Modeling a Juvenile Form of Huntington's Disease. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Feb 2;9:625231. DOI: 10.3389/fcell.2021.625231. PMID: 33604336; PMCID: PMC7884642.
 90. Bogomiakova ME, Sekretova EK, Anufrieva KS, Khabarova PO, Kazakova AN, Bobrovsky PA, et al. iPSC-derived cells lack immune tolerance to autologous NK-cells due to imbalance in ligands for activating and inhibitory NK-cell receptors. *Stem Cell Res Ther*. 2023;14(1):77. DOI: 10.1186/s13287-023-03308-5.

Об авторах

Мария Андреевна Лагарькова — д.б.н., член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «Федеральный научный клинический центр физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина» ФМБА России.

Алексей Николаевич Томилин — д.б.н., член-корреспондент РАН, исполняющий обязанности директора и заведующий лабораторией молекулярной биологии стволовых клеток Института цитологии РАН.

Authors

Maria A. Lagarkova — Dr. Sci. (Biology), Corresponding Member of RAS, CEO, Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency.

Alexey N. Tomilin — Dr. Sci. (Biology), Corresponding Member of RAS, Acting Director and Head of Molecular Biology of Stem Cells Laboratory, Institute of Cytology RAS.

Вклад авторов

М.А. Лагарькова — концепция, подготовка и редактирование статьи.

А.Н. Томилин — концепция, подготовка и редактирование статьи.

Author contribution statement

Maria A. Lagarkova — the concept, preparation and editing of the article.

Alexey N. Tomilin — the concept, preparation and editing of the article.