

ХРОМОСОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И КОРРЕКЦИЯ КАРИОТИПА В ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

© 2019 г. Т. В. Никитина¹, *, А. А. Кашеварова¹, И. Н. Лебедев¹

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

*e-mail: t.nikitina@medgenetics.ru

Поступила в редакцию 15.04.2019 г.

После доработки 17.05.2019 г.

Принята к публикации 30.05.2019 г.

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) человека являются многообещающим источником клеток для регенеративной медицины, изучения процессов патогенеза различных заболеваний, скрининга фармакологических препаратов и других клинических и фундаментальных исследований. Однако для применения ИПСК необходимо сохранение генетической стабильности клеток при репрограммировании, длительном культивировании и направленной дифференцировке. Крупные хромосомные aberrации наиболее негативно влияют на качество ИПСК, поэтому обзор в основном сосредоточен на анализе хромосомных аномалий, в том числе так называемых рекуррентных (повторяющихся) анеуплоидий, анализируются источники их возникновения, влияние процессов репрограммирования и длительного культивирования на накопление хромосомных aberrаций. Рассмотрены случаи самопроизвольной коррекции кариотипа в ИПСК и возможность исправления крупных хромосомных аномалий с помощью удаления или функционального выключения лишнего гомолога.

Ключевые слова: индуцированные плюрипотентные стволовые клетки человека, хромосомная нестабильность, коррекция кариотипа.

DOI: 10.1134/S0016675819100096

Ожидаемое значение репрограммирования для медицины и биологии трудно переоценить. Технология получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) способна дать неограниченный источник клеточного материала, который можно использовать для: а) создания *in vitro* моделей наследственных заболеваний человека; б) исследования процессов эмбрионального развития и дифференцировки тканей; в) получения клеток для тестирования фармакологических препаратов и ксенобиотиков; г) для клеточной терапии, в том числе с применением специфичных для пациента клеток. Однако потенциальное использование ИПСК зависит от способности поддерживать стабильность генома при репрограммировании, длительном культивировании и дифференцировке.

Генетические aberrации, которые могут возникать при культивировании ИПСК, способны оказать влияние на их свойства и внести погрешность в результаты экспериментальных исследований клеточных моделей. Еще более негативное воздействие может иметь нарушение генетиче-

ской стабильности в линиях, предназначенных для клинического применения. Поэтому оценка хромосомной стабильности является обязательным требованием при получении новых линий ИПСК, и большое внимание уделяется установлению связи репрограммирования и условий культивирования с типом и частотой возникающих aberrаций. Понимание причин генетической изменчивости ИПСК и разработка способов ее снижения являются одним из важнейших этапов на пути к практическому применению технологии стволовых клеток.

ЧАСТОТА ХРОМОСОМНЫХ МУТАЦИЙ В ИПСК

Основной вопрос — является ли свойственная для ИПСК частота мутаций результатом внутренней генетической нестабильности репрограммированных клеток? После того, как Яманака с коллегами открыли способ репрограммирования терминально дифференцированных клеток человека в плюрипотентные стволовые клетки, стали накапливаться данные о генетических aberrациях в

ИПСК [1–3]. Для оценки степени хромосомной изменчивости были предприняты широкомасштабные международные исследования по созданию каталога мутаций, обнаруживаемых в ИПСК. Международная инициатива по стволовым клеткам (International Stem Cell Initiative, ISCI) осуществила скрининг кариотипов 120 линий эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и 11 линий ИПСК из 38 лабораторий на ранних и поздних пассажах [4], а Тааркен с соавторами провели цитогенетический анализ 40 линий ЭСК и 219 линий ИПСК из 29 лабораторий [5]. Один из первых выводов, полученных в этих масштабных работах, заключается в том, что ИПСК человека обычно эуплоидны вскоре после получения и могут сохранять нормальный кариотип в течение нескольких десятков и даже сотен пассажей. С другой стороны, заметная часть обследованных клеточных линий продемонстрировала аномалии хромосомного набора – 42/125 (34%) линий ЭСК и 3/11 (27%) линий ИПСК в исследовании ISCI и 150/1163 (12.9%) клонов в исследовании Тааркен с соавторами [5]. Метаанализ восьми исследований глобальной генной экспрессии суммарно 66 линий ИПСК человека выявил 13 аномальных линий (20%), 6 (9%) из которых несли по меньшей мере одну полную трисомию [6]. Менее масштабные исследования также обнаруживали аномалии кариотипа [7, 8], и в среднем по оценкам тех лет 10–25% линий ИПСК содержат крупные хромосомные aberrации.

Однако в недавних крупномасштабных проектах по созданию стандартизованных полученных и охарактеризованных панелей линий ИПСК частота аномалий заметно ниже. Так, в панели из 222 линий ИПСК ресурса iPSCORE (iPSC Collection for Omic Research) аномалии цитогенетического уровня обнаружены в двух линиях (<1%), а в 90% линий CNV либо не выявлены (101/222 линий), либо имеют размер менее 2 Mb (102/222 линий) [9]. Из 711 линий ИПСК, полученных Human Induced Pluripotent Stem Cells Initiative (HipSci), трисомии обнаружены в 4% линий и 41% линий содержали один или несколько CNV со средней длиной 7.15 Mb [10]. Таким образом, частота возникновения хромосомных аномалий (числовых и структурных) может быть снижена при использовании стандартизованных подходов.

РЕКУРРЕНТНЫЕ ХРОМОСОМНЫЕ АБЕРРАЦИИ

Быстрая пролиферация ИПСК и возникающий репликационный стресс, а также ослабление контрольных точек клеточного цикла и другие особенности ИПСК, рассмотренные в [11], создают благоприятные условия для появления анеуплоидий. Хромосомные aberrации в ИПСК возникают, по-видимому, случайным образом, что при-

водит к появлению кариотипически гетерогенных культур. Так, специальный анализ обнаружил хромосомный мозаицизм в 18–35% клеток линий ПСКч с нормальным кариотипом [12]. Наличие фенотипически различающихся клеток создает основу для клеточной селекции *in vitro*, в результате чего клетки с большей скоростью роста начинают преобладать над нормальными, т.е. происходит так называемая “культурная адаптация” [13].

Результаты большинства работ, в том числе широкомасштабных исследований, обнаруживающих существование неслучайных изменений кариотипа ИПСК: около 60% аномалий повторяются в различных по происхождению линиях (рекуррентные аномалии). Преобладающими по частоте аномалиями в ИПСК человека являются трисомии хромосомы 20 (или изохромосомы 20q) с амплификацией региона 20q11.21, трисомия хромосомы 12 или частичная трисомия ее длинного плеча (вследствие дупликации 12p или формирования изохромосомы 12p). Часто отмечают случаи трисомии по хромосоме 1 или частичные дупликации длинного плеча этой хромосомы, причем частота выявления таких aberrаций возрастает в последние годы. Далее по частоте встречаемости следуют трисомия хромосомы 8, делеция участка 18q, дополнительная X-хромосома и трисомия 17. В целом, при адаптации ИПСК человека в культуре, амплификация хромосомного материала происходит заметно чаще, чем потеря, хотя субхромосомные делеции регионов хромосом 10, 18 и 22 отмечались неоднократно [4–6, 8, 10, 14, 15].

Интересно, что в большом массиве данных о кариотипах ИПСК практически не выявляются рекуррентные хромосомные транслокации в отличие от картины, наблюдаемой во многих опухолях, хотя встречаются единичные сообщения о пролиферативном преимуществе клеток с перестройками [16].

Аномалии хромосомного уровня изменяют дозу сотен и тысяч генов, что затрудняет установление драйверных генов, лежащих в основе преимущественного роста клеток с aberrациями. Регион 20q11.21, чаще всего дублирующийся в ПСКч, содержит по меньшей мере 25 генов, кодирующих белки и микроРНК [17], четыре из которых (*ID1*, *HM13*, *TPX2* и особенно *BCL2L*) повышают жизнеспособность ЭСКч и их онкогенный потенциал [18, 19]. Кроме этого, в данном регионе находится miR-1825, которая имеет около 400 предсказанных мишеней (TargetScan) и может действовать как супрессор генов – ингибиторов роста. Частая трисомия хромосомы 12 обусловлена, вероятно, локализацией на ней гена плюрипотентности *NANOG* (регион 12p13), который усиливает способность к самообновлению и предотвращает дифференцировку. В этом же регионе находятся

другие кандидатные гены, ассоциированные с плюрипотентным статусом — *DPPA3* и *GDF3*, и регулятор клеточного цикла *CCND2*. Второй кандидатный регион этой хромосомы (12p11.2-p12) содержит онкоген *KRAS*, а также ген *SOX5*, вовлеченный в детерминирование судьбы клеток [13]. Трисомия хромосомы 17, скорее всего, связана с наличием в регионе 17q25 гена *BIRC5* (*Survivin*) — антиапоптотического гена, важного для выживания и способности ПСКч к образованию тератом. Было показано, что ЭСК с трисомией 17 генерируют более агрессивные тератомы, чем диплоидные клоны [20], а ортологичный ген *Birc5* у мыши находится в синтенной области 11qE2, часто участвующей в рекуррентных трисомиях мышечных плюрипотентных стволовых клетках (ПСК), и экспрессия *Birc5* значительно повышена в aberrантных клетках [21]. Другие кандидатные гены на хромосоме 17 — *E1F4A3*, *NOL11*, *UTP6* и *SUZ12* в регионе 17q [10]. Мутации в гене *p53*, обнаруженные при экзомном секвенировании 117 линий ИПСК [22], также, по-видимому, обеспечивают защиту от апоптоза, давая селективное преимущество клеткам *in vitro* [23].

Вызывает настороженность тот факт, что большинство рекуррентных хромосомных aberrаций, выявляемых в ПСКч, обнаруживаются также в эмбриональных карциномах. Эти злокачественные клетки демонстрируют избыток материала тех же хромосом 1, 12, 17 и X, которые накапливаются при культивировании ПСКч [24]. Другая частая аномалия — амплификация 20q11.2 — обнаруживается в карциномах желточного мешка и герминальных опухолях [25].

Тенденция к приобретению рекуррентных хромосомных aberrаций, по-видимому, общая и не зависит от методов репрограммирования или клеточного происхождения линий ИПСК [5, 6, 8, 21]. Кроме того, частоты выявления таких aberrаций сходны для ЭСК и ИПСК, что указывает на общность механизмов преимущественного роста в различных типах плюрипотентных стволовых клеток и подтверждает их функциональное сходство [26].

В отличие от эффекта анеуплоидий в соматических клетках, которые часто приводят к метаболическим отклонениям и нарушению пролиферации клеток, ИПСК с рекуррентными анеуплоидиями быстрее растут [13, 27, 28] и проводят относительно больше времени в S-фазе клеточного цикла [29], чем их эуплоидные аналоги. Характерной чертой ПСКч является влияние анеуплоидии на конденсацию хромосом, опосредованное репликационным стрессом [28], а неполная конденсация, в свою очередь, приводит к таким ошибкам сегрегации, как анафазные мосты и хромосомные отставания [30, 31]. Показано, что эти типы нарушения расхождения хромосом значительно чаще

встречались в анеуплоидных линиях ПСКч, чем в эуплоидных. Вследствие этого можно ожидать, что клетки с аномалиями кариотипа будут более склонны к появлению новых анеуплоидий. Действительно, кариотипирование шести эуплоидных линий ПСКч выявило хромосомные aberrации в 2.9% метафаз, тогда как в трех анеуплоидных по хромосомам 12 и 17 линиях дополнительные aberrации присутствовали в 34% метафаз [28]. В других исследованиях также отмечалось, что ПСКч с трисомиями хромосом 12 и 17 часто несут дополнительные aberrации и становятся более анеуплоидными с течением времени [4, 13].

Хромосомные aberrации оказывают влияние также на способность ПСК к дифференцировке [32]. Так, ЭСК с амплификацией материала хромосомы 17 демонстрируют измененный, по сравнению с кариотипически нормальными аналогами, спектр спонтанной дифференцировки *in vitro*, отличаясь снижением экспрессии альфафетопротеина и пониженной способностью к формированию внезародышевой энтодермы [33]. Избыток хромосомы 12 приводит к общему уменьшению способности к дифференцировке [29] и повышенной способности к образованию опухолей [27]. В то же время встречается и обратная ситуация, когда хромосомные аномалии появляются в процессе дифференцировки. Описан интересный случай возникновения мозаичной тетраплоидии 92,XXYY/46,XY в 24–43% клеток из различных клонов в нейрональных предшественниках, дифференцированных из цитогенетически нормальных ИПСК пациента с болезнью Паркинсона после проведения CRISPR/Cas9-коррекции мутации в гене *LRRK2* [34].

ПРОИСХОЖДЕНИЕ АБЕРРАЦИЙ В ИПСК

В зависимости от времени возникновения aberrации, обнаруживаемые в ИПСК, можно условно разделить на три категории:

1) аномалии соматического происхождения. Так как дифференцированные клетки — родоначальники линий ИПСК имеют собственную историю и прошли через значительное количество клеточных циклов, то их геном уже накопил некоторое число aberrаций;

2) аномалии, возникающие при репрограммировании вследствие репликационного и метаболического стресса или вследствие интеграции репрессирующих вирусных трансгенов. Информацию о частоте этого типа aberrаций может дать сравнение различных методов получения ИПСК, а также сравнение ИПСК и ЭСК, которые не проходят этап репрограммирования, или линий, полученных методом переноса ядра соматической клетки (SCNT);

3) аномалии, приобретаемые в процессе длительного культивирования, при котором в клеточных популяциях могут происходить процессы клональной селекции, культурной адаптации и т.д.

Хромосомные мутации соматического происхождения

Обычно предполагается, что все здоровые клетки, полученные из одной зиготы, имеют идентичное геномное содержание, с известными исключениями в клетках иммунной системы, половой линии, печени и т.п. Однако растет число доказательств существования соматической геномной вариативности между дифференцированными тканями и клетками в составе одной ткани. Примерно 30% фибробластов имеют соматические CNV в своих геномах, что говорит о высокой распространенности явления соматического мозаицизма [35]. Mkrtchyan с соавторами предположили, что митотические изменения в регионах CNV могут происходить во время раннего эмбрионального развития, после чего поддерживается относительно стабильное соотношение мозаичных клонов [36].

Специальный анализ показал, что хотя кариотипирование, FISH, q-ПЦР и даже цифровая ПЦР эффективны как методы мониторинга генетических aberrаций, ни один из этих методов не может достоверно определить варианты, если они присутствуют менее чем в 5–10% клеток в культуре [37]. Таким образом, если варианты редки в исходной популяции клеток, они могут не выявляться при использовании обычных методов и будут зарегистрированы в ИПСК как мутации *de novo*. Так, с помощью цифровой ПЦР было показано, что 50% предположительно *de novo* CNV присутствовали с низкой частотой в родительских фибробластах и проявились в ИПСК вследствие их клонального происхождения [35]. Глубокое секвенирование позволило установить, что 90% вариантов, обнаруженных в клонах ИПСК как мутации *de novo*, присутствовали в родительской клеточной популяции с очень низкой частотой [38].

Редкие и/или локализованные варианты, присутствовавшие в геноме донорского эмбриона (для ЭСК) или клетках-родоначальниках ИПСК, обнаруживаются и в других исследованиях. По меньшей мере половина точковых мутаций, обнаруженных при полноэкзомном секвенировании 22 линий ИПСК человека, с низкой частотой существовала в фибробластах [39], а анализ CNV в 470 линиях ИПСК показал, что большинство вариантов уже существовало в фибробластах доноров [40]. Таким образом, постзиготический полиморфизм низкого уровня, существовавший в клетках — родоначальниках ИПСК, может стать источником выявления генетических вариантов в

плюрипотентных стволовых клетках [41]. Вряд ли обнаруживаемые варианты обеспечивают селективное преимущество клеткам до репрограммирования (иначе они встречались бы с большей частотой) или существенны для процесса репрограммирования, скорее всего они являются следствием клональной селекции. Но если они дают пролиферативные и анти-апоптотические преимущества несущим их клеткам, то они могут быть отобраны в процессе репрограммирования.

Хромосомные мутации, возникшие в процессе репрограммирования

Репрограммирование соматических клеток в плюрипотентное состояние — это процесс, при котором клетки претерпевают многочисленные ускоренные клеточные деления в стрессорных условиях, подвергаясь массовым изменениям профилей генной экспрессии и структуры хроматина. Ключевым является вопрос, насколько процесс репрограммирования дестабилизирует геном клеток и способствует появлению мутаций? Разработано и применяется множество методов получения ИПСК человека с различными параметрами, включающими тип исходных клеток, тип вектора (или способ трансфекции) и набор репрограммирующих факторов. Векторы можно разделить на интегрирующиеся (ретровирусы, лентивирусы, транспозоны, бактериофаги, нуклеазы цинковых пальцев) и неинтегрирующиеся (мРНК, эписомы, протеины, аденовирусы, вирус Сендай, кольцевые мини-ДНК). Кроме четырех стандартных транскрипционных факторов — так называемого “коктейля Яманаки” (генов *OCT4*, *SOX2*, *KLF4*, *c-MYC*) и альтернативной комбинации, содержащей *SOX2*, *OCT4*, *LIN28* и *NANOG*, используются и другие транскрипционные факторы, малые молекулы, микроРНК и другие компоненты, улучшающие эффективность репрограммирования и качество ИПСК [42, 43].

Сравнение частоты и характера мутаций в ИПСК и ЭСК представляет собой удобную систему для вычленения влияния процесса репрограммирования на стабильность генома. Цитогенетический анализ не выявляет значимых различий между ними по частоте хромосомных aberrаций: 27% в ИПСК и 34% в ЭСК [4]; 12.5% в ИПСК и 12.9% в ЭСК [5]. Это позволило предположить, что собственно процесс репрограммирования не вносит существенного вклада в возникновение хромосомных aberrаций, тем более что не было выявлено зависимости частоты и типов аномалий кариотипа от метода репрограммирования ИПСК [5]. Сравнение частоты вариантов в генетически родственных линиях ИПСК, SCNT-СК и ЭСК с помощью полногеномного анализа обнаружило 1.8, 0.8 и 0.5 CNV на клеточную линию соответственно, при этом отличия были статистически

незначимы. Тот факт, что SCNT-СК и ИПСК, полученные из одних и тех же соматических клеток, содержали сравнимые количества CNV, означает, что мутационное и селективное давление значительно не отличается при этих двух способах репрограммирования [44].

В другой работе при сравнении частоты вариантов в субклонированных фибробластах и кло-нах ИПСК, полученных из одного источника, оказалось, что ИПСК содержат не больше аберраций, чем субклоны фибробластов, т.е. сам по себе процесс репрограммирования не вызывает мутагенного воздействия [38]. В двух работах на ИПСК мыши и одной на ИПСК человека, полученных с помощью эписомного вектора, было показано отсутствие повышенной частоты CNV в ИПСК, однако обнаружена увеличенная частота однонуклеотидных вариантов, причем эти варианты были случайно рассеяны по геному [45–47]. Есть и другие свидетельства мутагенного эффекта процесса репрограммирования: груз CNV на ранних пассажах ИПСК человека оказался повышен по сравнению с ЭСК, причем возникновение микроструктурных перестроек явилось следствием репликационного стресса [48].

Таким образом, процесс репрограммирования не оказывает радикального влияния на частоту возникновения хромосомных аномалий, а данные об эффекте на уровне микроструктурных перестроек и однонуклеотидных замен противоречивы. Возможно, воздействие репрограммирования на генетическую целостность по-разному проявляется на разных уровнях организации генома. Кроме того, на результаты таких исследований влияет чувствительность методов анализа генома ИПСК и исходных клеток. Так, в большинстве исследований с использованием MPS не обнаруживается повышенной частоты субхромосомных и однонуклеотидных мутаций, индуцированных репрограммированием.

В ряде исследований было показано увеличение частоты генетических аберраций при репрограммировании вследствие интеграции вирусных трансгенов. На ранних пассажах в линиях ИПСК человека, репрограммированных лентивирусом, хромосомные перестройки обнаружены в 44% (7/16) линий, а в линиях, репрограммированных вирусом Сендай – только в 6% (1/16) [49]. В сравнительном исследовании геномных аберраций шести “интегративных” и шести “неинтегративных” линий ИПСК, шести линий ЭСК и двух родительских линий оказалось, что максимальные размеры CNV в геномах “интегративных” ИПСК были в 20 раз больше, чем в геномах “неинтегративных” ИПСК. Более того, медиана числа CNV в “интегративных” ИПСК (33.8) была намного больше, чем в “неинтегративных” линиях ИПСК (5.7), линиях ЭСК (3.2) или соматических клет-

ках (6.0). По сравнению с генотипами родительских клеточных линий “интегративные” ИПСК несли больше однонуклеотидных замен, и частота мозаичных вариантов в них была выше, чем в “неинтегративных” [50]. Однако систематическая оценка широко применяемых способов трансфекции, проведенная на 470 кло-нах, полученных разными методами из 12 различных образцов донорских фибробластов, не продемонстрировала такой зависимости. Хотя наименее стабильными были кариотипы при ретровирусной трансфекции (13.5%), а наиболее стабильными – при использовании мРНК (2.3%), низкие частоты анеуплоидии отмечены также при лентивирусном репрограммировании (4.5%) и использовании вируса Сендай (4.6%), тогда как эписомный метод дал 11.5% анеуплоидных кло-нов [40]. В другой работе анализ 66 кло-нов ИПСК не выявил повышенной частоты анеуплоидии в “интегративных” линиях по сравнению с “неинтегративными”, тем более что многие мутации были представлены анеуплоидиями по целым хромосомам, что мало вероятно при мутационных процессах, опосредованных вирусной интеграцией [6].

Интересно, что на стабильность генома ИПСК оказывает влияние тканевая принадлежность исходных клеток. Частота CNV, обнаруживаемых на первом пассаже в линиях ИПСК, полученных из разных тканей одного организма, варьировала в зависимости от типа клеток: 4.3% в нейтральных ИПСК, 29% в В-клеточных ИПСК, 10% в ИПСК из фибробластов и в 1.3% нейросфер, т.е. генетически идентичные клетки разных тканей демонстрировали разную степень геномной нестабильности в ходе репрограммирования [51]. Вероятно, определенные типы клеток более восприимчивы к повреждению ДНК в процессе репрограммирования, возможно, в результате исходных различий в уровне экспрессии молекул, участвующих в поддержании целостности генома.

Важным фактором, модифицирующим стабильность генома ИПСК, является возраст донора клеток, и это необходимо иметь в виду, так как аутологичная трансплантация особенно перспективна для пожилых пациентов [52]. Например, все четыре линии ИПСК, полученные из фибробластов с нормальным кариотипом от 84-летнего донора, несли различные хромосомные аномалии [53]. Повышенная геномная нестабильность ИПСК от пожилых доноров была обнаружена в работе Skamagki с соавторами, и причиной ее оказалась избыточная активность опосредованного глутатионом поглощения активных форм кислорода, которая блокирует ответ на повреждение ДНК и апоптоз и позволяет выживать клеткам с геномной нестабильностью. Обнаружено, что добавление ZSCAN10 к стандартным репрограммирующим факторам восстанавливает окислительный гомеостаз и ответ на повреждение ДНК и повышает генетическую стабильность

получаемых линий [54]. Более “старые” клетки и клетки, подвергающиеся воздействию факторов окружающей среды, таких как УФ излучение, еще до репрограммирования несут больше аберраций, чем, например, клетки пуповинной крови, и выбор типа исходных соматических клеток влияет на мутационный груз ИПСК [55].

Кроме того, существует межиндивидуальная вариабельность по степени генетической нестабильности получаемых ИПСК: некоторые доноры давали линии ИПСК с более высокой частотой *de novo* CNV, чем другие [56].

В процессе репрограммирования только незначительная часть клеток превращается в стволовые, а остальные прекращают делиться. Уи с соавторами сравнили хромосомные микроделеции и микродупликации в остановившихся и успешно репрограммированных клетках от трех доноров. Оказалось, что ранее существующая мутация увеличивает риск геномной нестабильности и снижает возможность перехода к плюрипотентному состоянию [57]. В то же время ИПСК были успешно получены из соматических клеток с моносомией X, трисомиями хромосом 8, 13, 18, 21 и частичной трисомией 11:22 (синдром Эмануэль). Оказалось, что наличие хромосомной аномалии, хотя и оказывает значительное влияние на весь транскриптом [58], но собственно анеуплоидия не обязательно служит барьером для репрограммирования, и в большинстве случаев полученные линии кариотипически стабильны [59–62].

Хромосомные аномалии, приобретаемые при культивировании ИПСК

Наблюдаемые в культурах ИПСК аберрации могут быть как следствием временной геномной нестабильности в процессе репрограммирования, так и накапливаться при дальнейшем культивировании.

Зависимость от пассажа. Отмечается, что с увеличением пассажа возрастает частота анеуплоидии, однако эта зависимость не является жесткой и однозначной. Так, хромосомные аномалии в ИПСК выявлялись с 4-го по 128-й пассаж, а нормальные кариотипы – с 3-го по 118-й пассаж, в ЭСК аномалии регистрировали уже на 3-м пассаже после получения, а нормальные кариотипы – на 151-, 168-, 228- и 240-м пассажах культивирования [5]. Тем не менее линии ИПСК вдвое чаще несли аномалии кариотипа на поздних пассажах, чем на ранних: 33% против 14% в работе [4] и 13.3% против 8.7% в работе [8]. Все семь ИПСК линий от жировых клеток 50-летней пациентки имели нормальный кариотип до 13-го пассажа, однако за 24 пассажа в четырех из семи линий появились мозаичные хромосомные аномалии, и только три линии сохранили нормальный

кариотип [63]. С помощью FISH было показано, что на поздних пассажах происходит повышение частоты мозаичных аномалий кариотипа, которое коррелирует с номером пассажа [64].

В другой работе все 11 обнаруженных микроделетий были зарегистрированы уже на самых ранних пассажах, т.е. скорее всего возникли в процессе репрограммирования, а пять из шести выявленных дупликаций появились при длительном культивировании [15]. Интересно, что при долговременном культивировании некоторые делеции исчезли из клеточной популяции, что свидетельствует об их отрицательной селекции при последующем пассировании [8, 15]. Однако в другой работе описано стабильное сохранение возникших CNV при дальнейшем культивировании [56] и обнаружена положительная корреляция количества CNV с номером пассажа [65]. По данным, полученным на мышах, основным фактором геномной нестабильности оказалось число пассажей, а не процесс репрограммирования сам по себе [51].

Таким образом, в процессе культивирования ИПСК в них происходит накопление генетических аберраций, но скорость этого процесса может значительно варьировать между различными линиями и культурами. Следует отметить, что не существует “безопасного”, т.е. гарантированно генетически стабильного номера пассажа, что осложняет практическое использование ИПСК.

Влияние условий культивирования. Основными факторами, влияющими на поддержание целостности генома ИПСК при культивировании, являются методы пассирования клеток (механическое или ферментативное), источник сыворотки – животный или искусственный, и использование подложки (фидера) либо бесфидерное культивирование.

Так как для клинического применения ИПСК необходима полная стандартизация условий культивирования, а фидерные клетки (например, инактивированные митомицином эмбриональные фибробласты мыши) содержат ксенобиотики, предпочтительно использовать бесфидерные условия. Анализ взаимодействия между ЭСК и субстратом культивирования и его влияния на число centrosом показал, что улучшение прикрепления клеток снижает долю мультицентромерных митозов [66]. Обнаружено, однако, что при бесфидерном культивировании ЭСК мыши происходит укорочение теломера, слияние хромосом и рост анеуплоидии с числом пассажей по сравнению с аналогами, растущими на фидере [67].

По данным ряда работ на ИПСК человека также показано, что бесфидерное культивирование и ферментативное пассирование (ФП) ассоциированы с повышенной генетической нестабильностью. Так, вдвое больше линий, имевших нормальный кариотип на ранних пассажах и аномальный – на

поздних, пересевалось с применением ФП [4]. В сравнительном исследовании на протяжении более 100 пассажей ФП и бесфидерное культивирование были ассоциированы с генетической нестабильностью, а использование фидера в сочетании с механическим пассированием (МП) оказалось наиболее благоприятно для генетической и эпигенетической стабильности [65]. Мониторинг хромосомных аномалий на протяжении 45 пассажей в линиях ЭСК человека, культивируемых параллельно с использованием ФП и МП, показал, что ФП негативно влияет на целостность генома (трисомия 12 за 30 пассажей, мозаичная трисомия 20 после 10 пассажей, изохромосома 7 i(7)(q10) в 38% клеток всего за пять пассажей). При МП линии ЭСК сохраняли стабильность кариотипа. Помимо хромосомных аномалий, ФП приводило также к быстрому накоплению субхромосомных изменений: 2,4 новых CNV за один пассаж, причем увеличение количества CNV и их длины коррелировало с номером пассажа, тогда как при МП такой зависимости обнаружено не было [68].

Однако в других работах на линиях ЭСК не было обнаружено влияния методов пассирования на хромосомную стабильность [69] или на число, размер или генный состав вариаций ДНК [70].

Один из центральных вопросов, касающихся генетических аномалий при ФП, — существовали ли они ранее и метод пассирования просто благоприятствовал их селекции, или ФП способствовало их возникновению. Вai с соавторами создали математическую модель, позволяющую установить время появления мутантного клона. Оказалось, что все выявленные хромосомные аномалии не существовали ранее, а появились после начала ферментативного одноклеточного пассирования и были индуцированы им [68].

Другой важный фактор — концентрация клеток при ФП, так как низкая плотность клеток (использование ~200000 клеток/35 мм³ лунку) связана с их высокой смертностью и 100%-ной клональностью. В то же время высокая клеточная концентрация (>1000000 клеток/35 мм³ лунку) может уменьшить стресс в диссоциированных ПСКч, что, вероятно, объясняет отсутствие генетических аномалий в некоторых исследованиях ЭСК человека с применением ФП [71]. Кроме того, большая генетическая стабильность при МП может быть следствием большего размера клеточной популяции, а не внутренне присущим свойством, снижающим частоту мутаций [72]. Показано даже, что МП может благоприятствовать появлению определенных цитогенетических аномалий, например, амплификации сегмента 20q11.21. Скорее всего, применение МП вызывает селективный уклон, основанный на субъективной оценке и выборе колоний по их морфологии, если определенные варианты приводят к акцентуации черт, связанных с плю-

рипотентностью, таких как снижение спонтанной дифференцировки и более активной экспансии колоний [73].

Так как в условиях высокой плотности культуры дефицит нутриентов и/или вредные концентрации продуктов обмена особенно значимы, субоптимальные условия культивирования увеличивают повреждение ДНК. Например, использование среды с недостатком bFGF негативно влияет на генетическую стабильность ПСКч [28, 74]. В другой работе показано что ИПСК, выращиваемые на культуральной среде для опухолевых клеток, формируют онкогенные колонии и генерируют опухоли у иммунодефицитных мышей [75].

Все это подчеркивает важность использования оптимальных условий культивирования ИПСК для сохранения их генетической целостности, особенно поддержание определенного и неизменного состава культуральной среды. Необходима тщательная оценка влияния новых типов сред, субстратов и методов пассирования на генетическую стабильность клеточных культур [76]. Исходя из результатов исследований генетической стабильности ПСКч и предполагаемых механизмов, задействованных в ее поддержании, предложены возможные способы снижения геномной изменчивости ИПСК: использование культур ИПСК на ранних пассажах; применение “мягких” способов пассирования; использование полноценных, богатых сред и частая смена среды, чтобы предотвратить нехватку нутриентов и избыток продуктов обмена; снижение концентрации кислорода для уменьшения окислительного стресса; добавление нуклеозидов в процессе репрограммирования для снижения репликационного стресса [77, 78].

КОРРЕКЦИЯ КРУПНОМАСШТАБНЫХ ХРОМОСОМНЫХ ДЕФЕКТОВ В ИПСК

Прогресс, достигнутый в последние годы в технологиях редактирования генома, в сочетании с использованием ИПСК позволяет успешно развивать новые подходы к генной терапии наследственных заболеваний. Однако существующие в настоящее время способы редактирования генома неприменимы для крупных хромосомных аномалий, таких как трисомии или протяженные делеции/дупликации, которые изменяют дозу и экспрессию десятков, сотен и даже тысяч генов. Поэтому такой пристальный интерес вызывает возможность применения технологии репрограммирования соматических клеток в плюрипотентные для коррекции крупномасштабных хромосомных дефектов.

Культуры ИПСК от пациентов с хромосомными аномалиями были получены из лимфоцитов, амниотических или эпителиальных клеток с анеуплоидиями по половым хромосомам, трисомиями

хромосом 8, 13, 18, 21, и в большинстве случаев они кариотипически стабильны [59–62, 79]. Однако в некоторых исследованиях было зарегистрировано явление нормализации кариотипа ИПСК в части клонов. Так, спонтанная потеря сверхчисленной хромосомы произошла в одном из четырех клонов ИПСК с трисомией хромосомы 21 [80] и во всех трех клонах с трисомией хромосомы 18 [81]. Коррекция кариотипа наблюдалась и в обратной ситуации, когда исходная клеточная линия была моносомной по половым хромосомам: при получении ИПСК от четырех линий фибробластов из ворсин хориона с кариотипом 45,X было обнаружено, что одна линия восстановила нормальный кариотип 46,XX путем возникновения однородительской дисомии (ОРД) по целой хромосоме X. Клетки с двумя X-хромосомами подвергались корректной X-инактивации, т.е. репрограммирование в ИПСК позволило скорректировать кариотип как на геномном, так и на эпигеномном уровне. Морфология колоний дисомных клеток была лучше, а скорость пролиферации выше, чем в ИПСК без коррекции кариотипа. Интересно, что коррекция кариотипа воспроизводилась в данной клеточной линии как при ретровирусном, так и при эписомном репрограммировании, т.е. не зависела от интеграции вектора [82]. Репрограммирование фибробластов со сверхчисленной маркерной хромосомой привело, наряду с получением линий с мозаичными кариотипами, к появлению изогенных линий ИПСК без маркера [83].

Самопроизвольная коррекция кариотипа зафиксирована в ИПСК, полученных от пациентов с кольцевыми хромосомами 17 и 13. Bershteyn с соавторами [84] репрограммировали в ИПСК фибробласты от пациента с синдромом Миллера–Дикера, вызванного кольцевой хромосомой 17, и обнаружили, что четыре из шести ИПСК-клонов имели численно и структурно нормальный кариотип и продемонстрировали активную пролиферацию, в то время как остальные клоны с кольцевой хромосомой 17 прекратили рост. SNP-анализ показал, что кольцевая хромосома была потеряна и заменена дополнительной копией ее нормального гомолога, что привело к однородительской дисомии (ОРД17). Примечательно, что г(17) не было найдено ни в одной из 120 проанализированных метафазных пластинок в ИПСК. Авторы предположили, что в плюрипотентном статусе такие клетки могут быть терминальными и неделиющимися, а репрограммирование в ИПСК может служить эффективной системой избавления от кольцевой хромосомы [84]. В ИПСК от двух других пациентов с кольцевыми хромосомами 13 также произошла коррекция кариотипа суммарно в семи из девяти клонов [84]. Нормализация кариотипа через репрограммирование в ИПСК была предложена в качестве инструмента для “хромосомной терапии” в клет-

ках с крупномасштабными абберациями [85]. Однако экспериментальных результатов с использованием этого механизма до сих пор не опубликовано.

К настоящему времени другой исследовательской группе, используя систему CRISPR/Cas9, удалось получить экстрахромосомные кольцевые молекулы ДНК и кольцевые хромосомы в фибробластах человека и клетках эмбриональной почки 293Т. С помощью этого подхода оказалось возможно замкнуть в кольцо ДНК длиной от нескольких сот пар оснований до 47.4-мегабазной хромосомы 18 [86]. Кроме того, что эти эксперименты осуществлены на ином, нежели ИПСК, типе клеток, открытым остается вопрос о частоте события нормализации кариотипа, несущего кольцевую хромосому, так как для этого клетка должна: а) потерять кольцо и б) редуцировать линейный гомолог.

В нашей лаборатории были получены стабильные линии ИПСК из фибробластов пациентов с г(13) и г(22) (четыре и две линии соответственно) [87, 88]. Интересно, что кольцевая хромосома 22 стабильно с высокой частотой сохранялась в плюрипотентных клетках, тогда как кольцевая хромосома 13 оказалась менее стабильна при репрограммировании и/или на ранних пассажах в ИПСК. Вследствие явления “динамического мозаицизма”, присущего клеточным популяциям с кольцевыми хромосомами, в разных клонах с различной частотой происходила как потеря кольцевой хромосомы, так и ее фрагментация, однако спонтанной коррекции кариотипов к нормальному не зарегистрировано ни в одной из полученных линий ИПСК.

Другим примером сохранения кольцевой хромосомы является сублиния ЭСК hESM01g18 с кариотипом 46,XX,r(18)::p11.31→q21.2::q21.2→p11.31::). Вследствие присущей кольцевым структурам митотической нестабильности до 15% клеток сублинии в каждом пассаже имели кариотип, отличный от модального, однако клетки с кариотипом 46,XX,r(18) сохранялись в сублинии hESM01g18 в качестве модального класса в течение многих пассажей, что говорит о том, что данная перестройка имеет некоторое селективное преимущество [89]. Таким образом, самопроизвольная коррекция кариотипов с кольцевыми хромосомами в ИПСК не является универсальным феноменом. Возможно, причина этого в том, что разные кольцевые хромосомы имеют разную степень стабильности в зависимости от размера и генного состава [90]. То, что в работе Берштейн с соавт. [84] не было найдено г(17) в ИПСК, может быть связано с локализацией в регионе 17q25 антиапоптотического гена *BIRC5*, обеспечивающего пролиферативное преимущество, в результате чего г(17) может сильнее компрометировать способность

плюрипотентных стволовых клеток к делению, чем кольцевая 13, 18 или 22.

Возникает вопрос, почему самопроизвольная коррекция кариотипа при репрограммировании происходит не во всех клеточных линиях с одинаковыми аномалиями? Так, коррекция наблюдалась в 1/4 линий с трисомиями 21 [80], 1/4 линий с моносомиями X [82], 4/6 клонов с $r(17)$ и 6/9 клонов с $r(13)$ [84]. Одно из возможных объяснений – существование в исходной клеточной популяции мозаицизма низкого уровня, который невозможно обнаружить обычными методами. В рассматриваемых исследованиях использование чистых линий было подтверждено стандартным цитогенетическим анализом и FISH, что не позволяет исключить низкоуровневый (<1%) мозаицизм по ОРД в “родительских” линиях. В таком случае репрограммирование к плюрипотентности оказывает селективное давление, в результате которого существовавшие в исходной линии клетки с ОРД получают преимущество в росте.

Второе возможное объяснение – репрограммирование стимулирует нарушения сегрегации хромосом с последующим возникновением ОРД благодаря присущим конкретным клеточным линиям особенностям функционирования аппарата клеточного цикла. Люо с соавт. [82] исследовали профиль глобальной генной экспрессии и провели сравнительный анализ транскриптомов между линиями фибробластов с нормальным кариотипом, с корректуемым в направлении 45,X→46,XX кариотипом и с некорректным кариотипом 45,X. Было обнаружено 312 дифференциально экспрессирующихся генов, относящихся к процессам митотического клеточного цикла, сегрегации хромосом, репликации и компактизации ДНК. Экспрессия этих генов была в 2–8 раз выше в линиях с некорректным кариотипом, чем в фибробластах корректуемой линии и контрольной группы. Подобные отличия уровней экспрессии генов клеточного цикла также обнаруживались и в соответствующих линиях ИПСК. Список дифференциально экспрессирующихся генов включал гены контрольной точки прикрепления к веретену деления и контрольной точки разъединения хромосом, что указывает на фундаментальные отличия в контрольных точках клеточного цикла между линиями клеток с коррекцией и без коррекции кариотипа [82].

Зарегистрирован случай возникновения сегментной изодисомии в протяженном регионе длинного плеча хромосомы 1 при репрограммировании фибробластов с нормальным кариотипом с помощью модифицированной мРНК, т.е. возникновение ОРД может происходить и в некомпенсаторном контексте [91]. Если самопроизвольная коррекция кариотипа происходит с формированием ОРД, следует иметь в виду и вероятные негативные по-

следствия ОРД, так как она сама может быть причиной патологии либо при гомозиготизации рецессивных мутаций, либо через аномальную экспрессию импринтированных генов [92]. Дополнительную проблему может представлять категория моноаллельно экспрессирующихся генов, доля которых в геноме человека, согласно последним оценкам, может варьировать в диапазоне от 10 до 25% [93].

Разрабатываются также специальные методы функциональной коррекции трисомного кариотипа в ИПСК. Такой подход был предложен для коррективки трисомии 21 Jiang с соавт. [94] и был назван “хромосомным сайленсингом”. В ИПСК от пациента с синдромом Дауна в одну из трех копий хромосомы 21 вводилась последовательность гена *XIST*, формирующего центр X-инактивации и обеспечивающего “выключение” несущей его хромосомы. В ИПСК с инактивированной сверхчисленной хромосомой произошло быстрое улучшение пролиферативной активности и способности к нейрональной дифференцировке [94]. Недостаток этого подхода, во-первых, в том, что некоторая часть генов может избегать инактивации, а во-вторых, пространственные и конформационные проблемы, вызванные избытком генетического материала в ядре, не могут быть решены при помощи функционального “выключения” хромосомы.

Способ физической коррекции трисомии 21 в ИПСК от пациентов с синдромом Дауна был предложен Li с соавт. [81]: введение плазмиды, несущей ген тимидинкиназы (трансген ТК-NEO), в одну из копий хромосомы 21 с последующим отбором путем обработки культур ганцикловиром. Потеря лишней хромосомы происходила с частотой 10^{-4} , а полученные дисомные клетки имели более высокую скорость пролиферации и улучшенный потенциал к дифференцировке в эндотелиальные клетки по сравнению с трисомными аналогами [95].

Другая исследовательская группа для целевой элиминации хромосомы использовала метод внесения множества разрывов при помощи системы CRISPR/Cas9. В ИПСК от пациента с синдромом Дауна разрывы индуцировали двумя гайд-РНК, имеющими множество сайтов-мишеней на хромосоме 21, после чего в 15% клеток произошла потеря сверхчисленной копии хромосомы 21. С помощью этого подхода оказалось также возможно селективно удалить половые хромосомы из культивируемых клеток и эмбрионов мыши. Недостаток этого метода – возможность генерации частичных делеций в целевой хромосоме и оффтаргетные эффекты [96]. Это первые примеры “хромосомной терапии” с применением ИПСК, которые дают потенциальные механизмы потери или выключения целой хромосомы в случае числовых аберраций.

Hirota с соавт. [97] показали, что при репрограммировании в ИПСК фибробластов от стерильных мышей с набором половых хромосом XXУ и ХУУ с высокой частотой происходит потеря лишней половой хромосомы (явление, названное авторами “обусловленная трисомией потеря хромосомы” (trisomy-biased chromosome loss (TCL)). Полученные зуплоидные ХУ-ИПСК были успешно дифференцированы в клетки мужской половой линии и функциональную сперму и дали при оплодотворении фертильное потомство. Этот механизм работал также, хотя и с меньшей частотой, на клетках человека при получении ИПСК из фибробластов пациентов с синдромом Клайнфельтера (получены как 46,ХУ-, так и 46,ХХ-ИПСК) и синдромом Дауна. Точные механизмы, вызывающие TCL, пока неизвестны, но потеря сверхчисленного гомолога происходила именно во время репрограммирования, а не при дальнейшем культивировании [97].

Предложен еще один возможный способ коррекции протяженных аномалий – хромосомная трансплантация, при которой осуществляется точное замещение эндогенной хромосомы экзогенным гомологом, но пока этот способ апробирован только на модельных объектах. Первый случай успешной хромосомной трансплантации путем замещения эндогенной Х-хромосомы, несущей мутацию гена *Hprt*, нормальным гомологом в ЭСК мыши опубликован в 2015 г. [98]. С помощью микроклеточного метода переноса хромосом (microcell mediated chromosome transfer, ММСТ) удалось осуществить перенос нормальной Х-хромосомы в реципиентную клетку с последующей элиминацией мутантного гомолога.

Этот же метод микроклеточного переноса хромосом был использован в обратной ситуации – для получения из кариотипически нормальных ЭСК человека клеточных линий с трисомиями. Панель трисомных клеточных линий с таким же генетическим фоном, как исходная линия, может оказаться полезной для изучения молекулярных и эпигенетических механизмов хромосомного дисбаланса. Получены ЭСК с трисомиями по хромосомам 8, 13, 18 и 21, в которых гены сверхчисленного хромосом демонстрировали глобальную сверхэкспрессию, однако все эти линии сохранили способность к дифференцировке в три зародышевых листка [99].

Исследуются способы коррекции генома, основанные на использовании специфичного для млекопитающих гена *Zscan4* (zinc finger and SCAN domain containing 4). Экспрессия этого гена обнаруживается на 2-клеточной стадии преимплантационных эмбрионов мыши. Его продукт необходим для поддержания стабильности генома и сохранения нормального кариотипа в ЭСК мыши [100]. *Zscan4* повышает не только эффек-

тивность репрограммирования, но и геномную стабильность ИПСК мыши [101]. Показано, что обработка культур первичных неиммортизированных фибробластов человека синтетической мРНК ортологичного гена *ZSCAN4* повышает частоту клеток с нормальным кариотипом в культурах с трисомиями хромосом 21 и 18 [102]. Однако генетический механизм индуцированного исправления трисомии с помощью *ZSCAN4* пока неясен, кроме того, нет данных об использовании этого подхода для стволовых клеток, без которых невозможна наработка терапевтически значимого количества клеток. Тем не менее данный подход выглядит многообещающим, так как не требует встройки в геном клеток-мишеней дополнительных конструкций.

Хотя исследования ИПСК направлены на получение и поддержание стволовых клеток с нормальным кариотипом, в некоторых случаях представляют интерес именно анеуплоидные линии. Обычно несбалансированный кариотип ассоциирован с патологией, однако некоторые типы соматических клеток, например гепатоциты, могут быть анеуплоидны и в норме. Возможно, изменения в хромосомном составе важны для поддержания генетического разнообразия в популяции гепатоцитов, что облегчает адаптивный ответ печени на различные повреждения. Noto с соавт. [103] использовали линию ИПСК человека с выраженной анеуплоидностью: большинство клеток имело околотетраплоидный статус (79 ~ 87 хромосом), при этом линия включала потери и добавления отдельных хромосом и хромосомные перестройки (кариотип, полученный при анализе 19 клеток, был представлен следующей формулой: ХХУУ,-3[19],-6[18],-7[5],-8[18],-11[16],+12[19],-13[3],-14[4],-15[19],-16[12],-17[5] dup(17)(q11.2q25)ins(17)(q25;q25q11.2) [19],-1[12],-19[19],-22[11]). Несмотря на кариотип, клетки формировали колонии с характерной морфологией и иммуногистохимическими показателями плюрипотентных стволовых клеток человека, а сама линия продемонстрировала способность к дифференцировке в гепатоцитоподобные клетки [103]. Эти данные подтверждают, что существует значительная гибкость в хромосомном содержании, совместимая с дифференцировкой в клетки печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Длительное культивирование ИПСК в некоторых случаях индуцирует возникновение мутаций, которые могут компрометировать как надежность фундаментальных исследований с использованием ИПСК, так и быть небезопасны для клинического применения. Особенно негативно на качество ИПСК влияют рекуррентные хромосомные aberrации, обеспечивающие пролиферативное преимущество клеток и вызывающие насто-

роженность в связи с возможностью злокачественной трансформации. Полностью предотвратить изменения в геноме ИПСК практически невозможно, однако их частота может быть снижена при использовании стандартизованных подходов.

Однако, хотя в целом хромосомная нестабильность негативно влияет на возможность использования ИПСК, появилась новая многообещающая область применения ИПСК для коррекции крупных хромосомных аномалий. Пока неясно, способствует ли репрограммирование и плюрипотентный статус клеток нерасхождению хромосом с последующим отбором кариотипически нормальных и функционально более полноценных вариантов, либо выявляет существовавший в исходной клеточной линии низкоуровневый мозаицизм. Работы в данном направлении начаты совсем недавно, однако они вызывают большой интерес как с точки зрения практического использования, так и в качестве экспериментальных моделей для исследования механизмов контроля числа хромосом в клетках человека.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 16-15-10231.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Aasen T., Raya A., Barrero M.J. et al.* Efficient and rapid generation of induced pluripotent stem cells from human keratinocytes // *Nat. Biotechnol.* 2008. V. 26. № 11. P. 1276–1284. <https://doi.org/10.1038/nbt.1503>
2. *Ramos-Mejia V., Munoz-Lopez M., Garcia-Perez J.L., Menendez P.* iPSC lines that do not silence the expression of the ectopic reprogramming factors may display enhanced propensity to genomic instability // *Cell Res.* 2010. № 20. P. 1092–1095. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.125>
3. *Boulting G.L., Kiskinis E., Croft G.F. et al.* A functionally characterized test set of human induced pluripotent stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2011. V. 29. № 3. P. 279–286. <https://doi.org/10.1038/nbt.1783>
4. *Amps K., Andrews P.W., Anyfantis G. et al.* Screening ethnically diverse human embryonic stem cells identifies a chromosome 20 minimal amplicon conferring growth advantage // *Nat. Biotechnol.* 2011. V. 29. № 12. P. 1132–1144. <https://doi.org/10.1038/nbt.2051>
5. *Taapken S.M., Nisler B.S., Newton M.A. et al.* Karyotypic abnormalities in human induced pluripotent stem cell and embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2011. V. 29. P. 312–313. <https://doi.org/10.1038/nbt.1835>
6. *Mayshar Y., Ben-David U., Lavon N. et al.* Identification and classification of chromosomal aberrations in human induced pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell.* 2010. V. 7. P. 521–531. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.07.017>
7. *Pasi C.E., Dereli-Oz A., Negrini S. et al.* Genomic instability in induced stem cells // *Cell Death and Differentiation.* 2011. V. 18. P. 745–753. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.9>
8. *Martins-Taylor K., Nisler B.S., Taapken S.M. et al.* Recurrent copy number variations in human induced pluripotent stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2011. V. 29. P. 488–491. <https://doi.org/10.1038/nbt.1890>
9. *Panopoulos A.D., D'Antonio M., Benaglio P. et al.* iPSCORE: A resource of 222 iPSC lines enabling functional characterization of genetic variation across a variety of cell types // *Stem Cell Reports.* 2017. V. 8. № 4. P. 1086–1100. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.03.012>
10. *Kilpinen H., Goncalves A., Leha A. et al.* Common genetic variation drives molecular heterogeneity in human iPSCs // *Nature.* 2017. V. 546. № 7658. P. 370–375. <https://doi.org/10.1038/nature22403>
11. *Никитина Т.В., Лебедев И.Н.* Регуляция стабильности кариотипа в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках человека // *Цитология.* 2018. Т. 60. № 6. С. 403–416. <https://doi.org/10.31116/tsitol.2018.06.01>
12. *Peterson S.E., Westra J.W., Rehen S.K. et al.* Normal human pluripotent stem cell lines exhibit pervasive mosaic aneuploidy // *PLoS One.* 2011. V. 6. № 8. e23018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023018>
13. *Baker D.E.C., Harrison N.J., Maltby E. et al.* Adaptation to culture of human embryonic stem cells and oncogenesis *in vivo* // *Nat. Biotechnol.* 2007. V. 25. P. 207–215.
14. *Draper J.S., Smith K., Gokhale P. et al.* Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells // *Nat. Biotechnol.* 2004. V. 22. № 1. P. 53–54. <https://doi.org/10.1038/nbt922>
15. *Laurent L.C., Ulitsky I., Slavin I. et al.* Dynamic changes in the copy number of pluripotency and cell proliferation genes in human ESCs and iPSCs during reprogramming and time in culture // *Cell Stem Cell.* 2011. V. 8. № 1. P. 106–118.
16. *Богомазова А.Н., Васина Е.М., Киселев С.Л. и др.* Генетическое репрограммирование клеток: новая технология для фундаментальных исследований и практического использования // *Генетика.* 2015. Т. 51. № 4. С. 466–478.
17. *Peterson S.E., Loring J.F.* Genomic instability in pluripotent stem cells: implications for clinical applications // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. № 8. P. 4578–4584. <https://doi.org/10.1074/jbc.R113.516419>

18. *Nguyen H.T., Geens M., Mertzaniidou A. et al.* Gain of 20q11.21 in human embryonic stem cells improves cell survival by increased expression of Bcl-xL // *Mol. Hum. Reprod.* 2014. V. 20. № 2. P. 168–177. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat077>
19. *Maffei M., Mongera S., Terpstra L. et al.* Chromosome 20 aberrations at the diploid-aneuploid transition in sporadic colorectal cancer // *Cytogenet. Genome Res.* 2014. V. 144. № 1. P. 9–14. <https://doi.org/10.1159/000367909>
20. *Blum B., Benvenisty N.* The tumorigenicity of diploid and aneuploid human pluripotent stem cells // *Cell Cycle.* 2009. V. 8. P. 3822–3830.
21. *Ben-David U., Benvenisty N.* High prevalence of evolutionarily conserved and species-specific genomic aberrations in mouse pluripotent stem cells // *Stem Cells.* 2012. V. 30. № 4. P. 612–22. <https://doi.org/10.1002/stem.1057>
22. *Merkle F.T., Ghosh S., Kamitaki N. et al.* Human pluripotent stem cells recurrently acquire and expand dominant negative P53 mutations // *Nature.* 2017. V. 545. № 7653. P. 229–233. <https://doi.org/10.1038/nature22312>
23. *Amir H., Touboul T., Sabatini K. et al.* Spontaneous single-copy loss of TP53 in human embryonic stem cells markedly increases cell proliferation and survival // *Stem Cells.* 2017. V. 35. P. 872–885. <https://doi.org/10.1002/stem.2550>
24. *Skotheim R.I., Monni O., Mousses S. et al.* New insights into testicular germ cell tumorigenesis from gene expression profiling // *Cancer Res.* 2002. V. 62. P. 2359–2364.
25. *Looijenga L.H., Rosenberg C., van Gurp R.J. et al.* Comparative genomic hybridization of microdissected samples from different stages in the development of a seminoma and a non-seminoma // *J. Pathol.* 2000. V. 191. P. 187–192.
26. *Choi J., Lee S., Mallard W. et al.* A comparison of genetically matched cell lines reveals the equivalence of human iPSCs and ESCs // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. № 11. P. 1173–1181. <https://doi.org/10.1038/nbt.3388>
27. *Werbowski-Ogilvie T.E., Bossé M., Stewart M. et al.* Characterization of human embryonic stem cells with features of neoplastic progression // *Nat. Biotechnol.* 2009. V. 27. P. 91–97. <https://doi.org/10.1038/nbt.1516>
28. *Lamm N., Ben-David U., Golan-Lev T. et al.* Genomic instability in human pluripotent stem cells arises from replicative stress and chromosome condensation defects // *Cell Stem Cell.* 2016. V. 18. № 2. P. 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.11.003>
29. *Ben-David U.* Genomic instability, driver genes and cell selection: Projections from cancer to stem cells // *Biochim. Biophys. Acta.* 2014. V. 1849. № 4. P. 427–435. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.08.005>
30. *Downes C.S., Clarke D.J., Mullinger A.M. et al.* A topoisomerase II-dependent G2 cycle checkpoint in mammalian cells // *Nature.* 1994. V. 372. P. 467–470.
31. *Burrell R.A., McClelland S.E., Endesfelder D. et al.* Replication stress links structural and numerical cancer chromosomal instability // *Nature.* 2013. V. 494. P. 492–496.
32. *Keller A., Dziedzicka D., Zambelli F. et al.* Genetic and epigenetic factors which modulate differentiation propensity in human pluripotent stem cells // *Human Reprod. Update.* 2018. P. 1–14. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx042>
33. *Fazeli A., Liew C.G., Matin M.M. et al.* Altered patterns of differentiation in karyotypically abnormal human embryonic stem cells // *Int. J. Dev. Biol.* 2011. V. 55. P. 175–180.
34. *Ветчинова А.С., Симонова В.В., Новосадова Е.В. и др.* Цитогенетический анализ результатов геномного редактирования на клеточной модели болезни Паркинсона // *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2018. Т. 3. С. 355–359.
35. *Abyzov A., Mariani J., Palejev D. et al.* Somatic copy number mosaicism in human skin revealed by induced pluripotent stem cells // *Nature.* 2012. V. 492. № 7429. P. 438–442. <https://doi.org/10.1038/nature11629>
36. *Mkrtchyan H., Gross M., Hinreiner S. et al.* Early embryonic chromosome instability results in stable mosaic pattern in human tissues // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 3. e9591.
37. *Baker D., Hirst A.J., Gokhale P.J. et al.* Detecting genetic mosaicism in cultures of human pluripotent stem cells // *Stem Cell Reports.* 2016. V. 7. № 5. P. 998–1012. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.10.003>
38. *Kwon E.M., Connelly J.P., Hansen N.F. et al.* iPSCs and fibroblast subclones from the same fibroblast population contain comparable levels of sequence variations // *Proc. Natl Acad. USA.* 2017. V. 114. № 8. P. 1964–1969. <https://doi.org/10.1073/pnas.1616035114>
39. *Gore A., Li Z., Fung H.L. et al.* Somatic coding mutations in human induced pluripotent stem cells // *Nature.* 2011. V. 471. P. 63–67.
40. *Schlaeger T.M., Daheron L., Brickler T.R. et al.* A comparison of non-integrating reprogramming methods // *Nat. Biotechnol.* 2015. V. 33. № 1. P. 58–63. <https://doi.org/10.1038/nbt.3070>
41. *Rouhani F.J., Nik-Zainal S., Wuster A., Li Y. et al.* Mutational history of a human cell lineage from somatic to induced pluripotent stem cells // *PLoS Genet.* 2016. V. 12. № 4. e1005932. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005932>
42. *Новосадова Г.В., Гривенников И.А.* Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки: от получения до применения в биохимических и биомедицинских исследованиях // *Усп. биол.* 2014. Т. 54. С. 3–38.
43. *Brouwer M., Zhou H., Nadif Kasri N.* Choices for induction of pluripotency: recent developments in human induced pluripotent stem cell reprogramming strategies // *Stem Cell Rev.* 2016. V. 12. № 1. P. 54–72. <https://doi.org/10.1007/s12015-015-9622-8>
44. *Ma H., Morey R., O'Neil R.C. et al.* Abnormalities in human pluripotent cells due to reprogramming mechanisms // *Nature.* 2014. V. 511. P. 177–183. <https://doi.org/10.1038/nature13551>

45. *Quinlan A.R., Boland M.J., Leibowitz M.L. et al.* Genome sequencing of mouse induced pluripotent stem cells reveals retroelement stability and infrequent DNA rearrangement during reprogramming // *Cell Stem Cell*. 2011. V. 9. P. 366–373.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.07.018>
46. *Young M.A., Larson D.E., Sun C.W. et al.* Background mutations in parental cells account for most of the genetic heterogeneity of induced pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell*. 2012. V. 10. № 5. P. 570–582.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.03.002>
47. *Cheng L., Hansen N.F., Zhao L. et al.* Low incidence of DNA sequence variation in human induced pluripotent stem cells generated by nonintegrating plasmid expression // *Cell Stem Cell*. 2012. V. 10. P. 337–344.
48. *Hussein S.M., Batada N.N., Vuoristo S. et al.* Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency // *Nature*. 2011. V. 471. P. 58–62.
49. *Sobol M., Raykova D., Cavelier L. et al.* Methods of reprogramming to induced pluripotent stem cell associated with chromosomal integrity and delineation of a chromosome 5q candidate region for growth advantage // *Stem Cells Dev*. 2015. V. 24. №. 17. P. 2032–2040.
<https://doi.org/10.1089/scd.2015.0061>
50. *Kang X., Yu Q., Huang Y. et al.* Effects of integrating and non-integrating reprogramming methods on copy number variation and genomic stability of human induced pluripotent stem cells // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 7. e0131128.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131128>
51. *Liu P., Kaplan A., Yuan B. et al.* Passage number is a major contributor to genomic structural variations in mouse iPSCs // *Stem Cells*. 2014. V. 32. P. 2657–2667.
<https://doi.org/10.1002/stem.1779>
52. *Strassler E.T., Aalto-Setälä K., Kiamehr M. et al.* Age is relative—impact of donor age on induced pluripotent stem cell-derived cell functionality // *Front. Cardiovasc. Med*. 2018;4.
<https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00004>
53. *Prigione A., Hossini A.M., Lichtner B. et al.* Mitochondrial-associated cell death mechanisms are reset to an embryonic-like state in aged donor-derived ips cells harboring chromosomal aberrations // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 8. e27352.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027352>
54. *Skamagki M., Correia C., Yeung P. et al.* ZSCAN10 expression corrects the genomic instability of iPSCs from aged donors // *Nature Cell Biol*. 2017. V. 19. № 9. P. 1037–1048
<https://doi.org/10.1038/ncb3598>
55. *Lo Sardo V., Ferguson W., Erikson G.A. et al.* Influence of donor age on induced pluripotent stem cells // *Nat. Biotechnol*. 2016. V. 35. № 1. P. 69–74.
<https://doi.org/10.1038/nbt.3749>
56. *Salomonis N., Dexheimer P.J., Omberg L. et al.* Integrated genomic analysis of diverse induced pluripotent stem cells from the progenitor cell biology consortium // *Stem Cell Reports*. 2016. V. 7. № 1. P. 110–125.
<https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.05.006>
57. *Yu Y., Chang L., Zhao H. et al.* Chromosome microduplication in somatic cells decreases the genetic stability of human reprogrammed somatic cells and results in pluripotent stem cells // *Sci. Rep*. 2015. V. 5. P. 10114.
<https://doi.org/10.1038/srep10114>
58. *Zhang R., Hao L., Wang L. et al.* Gene expression analysis of induced pluripotent stem cells from aneuploid chromosomal syndromes // *BMC Genomics*. 2013. V. 14 (Suppl. 5). S8.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-S5-S8>
59. *Park I.H., Arora N., Huo H. et al.* Disease-specific induced pluripotent stem cells // *Cell*. 2008. V. 134. P. 877–886.
60. *Ma Y., Li C., Gu J. et al.* Aberrant gene expression profiles in pluripotent stem cells induced from fibroblasts of a Klinefelter syndrome patient // *J. Biol. Chem*. 2012. V. 287. № 46. P. 38970–38979.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M112.380204>
61. *Lee M.Y., Zampieri B.L., Scott-McKean J.J. et al.* Generation of integration-free induced pluripotent stem cells from urine-derived cells isolated from individuals with Down syndrome // *Stem Cells Transl. Med*. 2017. V. 6. № 6. P.1465–1476.
<https://doi.org/10.1002/sctm.16-0128>
62. *Xing K., Cui Y., Luan J. et al.* Establishment of a human trisomy 18 induced pluripotent stem cell line from amniotic fluid cells // *Intractable Rare Dis. Res*. 2018. V. 7. № 2. P. 94–99.
<https://doi.org/10.5582/irdr.218.01038>
63. *Heng B.C., Heinemann K., Miny P. et al.* mRNA transfection-based, feeder-free, induced pluripotent stem cells derived from adipose tissue of a 50-year-old patient // *Metab. Eng*. 2013. V. 18. P. 9–24.
<https://doi.org/10.1016/j.ymben.2013.02.004>
64. *Dekel-Naftali M., Aviram-Goldring A., Litmanovitch T. et al.* Screening of human pluripotent stem cells using CGH and FISH reveals low-grade mosaic aneuploidy and a recurrent amplification of chromosome 1q // *Eur. J. Hum. Genet*. 2012. V. 20. P. 1248–1255.
65. *Garitaonandia I., Amir H., Boscolo F.S. et al.* Increased risk of genetic and epigenetic instability in human embryonic stem cells associated with specific culture conditions // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 2. e0118307.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118307>
66. *Holubcová Z., Matula P., Sedláčková M. et al.* Human embryonic stem cells suffer from centrosomal amplification // *Stem Cells*. 2011. V. 29. P. 46–56.
<https://doi.org/10.1002/stem.549>
67. *Guo R., Ye X., Yang J. et al.* Feeders facilitate telomere maintenance and chromosomal stability of embryonic stem cells // *Nat. Commun*. 2018. V. 9. P. 2620.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-05038-2>
68. *Bai Q., Ramirez J.M., Becker F. et al.* Temporal analysis of genome alterations induced by single-cell passaging in human embryonic stem cells // *Stem Cells Dev*. 2015. V. 24. № 5. P. 653–662.
<https://doi.org/10.1089/scd.2014.0292>
69. *Полянская Г.Г.* Проблема нестабильности генома культивируемых стволовых клеток человека // *Цитология*. 2014. Т. 56. № 10. С. 697–707.
70. *Tosca L., Feraud O., Magniez A. et al.* Genomic instability of human embryonic stem cell lines using differ-

- ent passaging culture methods // *Mol. Cytogenet.* 2015. V. 8:30.
<https://doi.org/10.1186/s13039-015-0133-8>
71. *Barbaric I., Biga V., Gokhale P.J. et al.* Time-lapse analysis of human embryonic stem cells reveals multiple bottlenecks restricting colony formation and their relief upon culture adaptation // *Stem Cell Reports.* 2014. V. 3. P. 142–155.
<https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2014.05.006>
 72. *Olariu V., Harrison N.J., Coca D. et al.* Modeling the evolution of culture-adapted human embryonic stem cells // *Stem Cell Res.* 2010. V. 4. P. 50–56.
<https://doi.org/10.1016/j.scr.2009.09.001>
 73. *Lefort N., Feyeux M., Bas C. et al.* Human embryonic stem cells reveal recurrent genomic instability at 20q11.21 // *Nat. Biotechnol.* 2008. V. 26. P. 1364–1366.
 74. *Bangalore P.M., Adhikarla S., Mukherjee O., Panicker M.M.* Genotoxic effects of culture media on human pluripotent stem cells // *Sci. Rep.* 2017. V. 8. № 7. P. 42222.
<https://doi.org/10.1038/srep42222>
 75. *Liang Y., Zhang H., Feng Q.S. et al.* The propensity for tumorigenesis in human induced pluripotent stem cells is related with genomic instability // *Chin. J. Cancer.* 2013. V. 32. P. 205–212.
<https://doi.org/10.5732/cjc.012.10065>
 76. *Wang J., Hao J., Bai D. et al.* Generation of clinical-grade human induced pluripotent stem cells in Xeno-free conditions // *Stem Cell Res. Ther.* 2015. V. 6. № 223.
<https://doi.org/10.1186/s13287-015-0206-y>
 77. *Weissbein U., Benvenisty N., Ben-David U.* Quality control: Genome maintenance in pluripotent stem cells // *J. Cell Biol.* 2014. V. 204. P. 153–163.
<https://doi.org/10.1083/jcb.201310135>
 78. *Ruiz S., Lopez-Contreras A.J., Gabut M. et al.* Limiting replication stress during somatic cell reprogramming reduces genomic instability in induced pluripotent stem cells // *Nat. Commun.* 2015. V. 6. P. 8036.
<https://doi.org/10.1038/ncomms9036>
 79. *Biancotti J.-C., Narwani K., Buehler N. et al.* Human embryonic stem cells as models for aneuploid chromosomal syndromes // *Stem Cells.* 2010. V. 28. P. 1530–1540.
<https://doi.org/10.1002/stem.483>
 80. *Maclean G.A., Menne T.F., Guo G. et al.* Altered hematopoiesis in trisomy 21 as revealed through in vitro differentiation of isogenic human pluripotent cells // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. P. 17567–17572.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1215468109>
 81. *Li T., Zhao H., Han X. et al.* The spontaneous differentiation and chromosome loss in iPSCs of human trisomy 18 syndrome // *Cell Death and Disease.* 2017. 8. e3149.
<https://doi.org/10.1038/cddis.2017.565>
 82. *Luo Y., Zhu D., Du R. et al.* Uniparental disomy of the entire X chromosome in Turner syndrome patient-specific induced pluripotent stem cells // *Cell Discov.* 2015. V. 1. P. 15022.
<https://doi.org/10.1038/celldisc.2015.22>
 83. *Tew J., Carvalho C.M.B., Yuan B. et al.* Divergent levels of marker chromosomes in an hiPSC-based model of psychosis // *Stem Cell Reports.* 2017. V. 8. № 3. P. 519–528.
<https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.01.010>
 84. *Bershteyn M., Hayashi Y., Desachy G. et al.* Cell-autonomous correction of ring chromosomes in human-induced pluripotent stem cells // *Nature.* 2014. V. 507. P. 99–103.
<https://doi.org/10.1038/nature12923>
 85. *Kim T., Bershteyn M., Wynshaw-Boris A.* Chromosome therapy // *Nucleus.* 2014. V. 5. № 5. P. 391–395.
 86. *Møller H.D., Lin L., Xiang X. et al.* Circularization of genes and chromosome by CRISPR in human cells // *Nucl. Acid. Res.* 2018 46(22):e131.
<https://doi.org/10.1093/nar/gky767>
 87. *Nikitina T.V., Menzorov A.G., Kashevarova A.A. et al.* Generation of two iPSC lines (IMGTi001-A and IMGTi001-B) from human skin fibroblasts with ring chromosome 22 // *Stem Cell Res.* 2018. V. 31. P. 244–248.
<https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.08.012>
 88. *Nikitina T.V., Menzorov A.G., Kashevarova A.A. et al.* Induced pluripotent stem cell line, IMGTi003-A, derived from skin fibroblasts of an intellectually disabled patient with ring chromosome 13 // *Stem Cell Res.* 2018. V. 33. P. 260–264.
<https://doi.org/10.1016/j.scr.2018.11.009>
 89. *Karamysheva T.V., Prokhorovich M.A., Lagarkova M.A. et al.* Chromosome rearrangements in sublines of human embryonic stem cell lines hESM01 and hESM03 // *Bio Discovery.* 2013. № 7. P. 1.
<https://doi.org/10.7750/BioDiscovery.2013.7.1>
 90. *Sodré C.P., Guilherme R.S., Meloni V.F.A. et al.* Ring chromosome instability evaluation in six patients with autosomal rings // *Genet. Mol. Res.* 2010. V. 9. № 1. P. 134–143.
<https://doi.org/10.4238/vol9-1gmr707>
 91. *Steichen C., Maluenda J., Tosca L. et al.* An atypical human induced pluripotent stem cell line with a complex, stable, and balanced genomic rearrangement including a large de novo 1q uniparental disomy // *Stem Cells Transl Med.* 2015. V. 4. № 3. P. 224–229.
<https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0186>
 92. *Kotzot D.* Complex and segmental uniparental disomy updated // *J. Med. Genet.* 2008. V. 45. № 9. P. 545–556.
 93. *Savova V., Chun S., Sohail M. et al.* Genes with monoallelic expression contribute disproportionately to genetic diversity in humans // *Nat. Genet.* 2016. V. 48. № 3. P. 231–237.
<https://doi.org/10.1038/ng.3493>
 94. *Jiang J., Jing Y., Cost G.J. et al.* Translating dosage compensation to trisomy 21 // *Nature.* 2013. V. 500. № 7462. P. 296–300.
<https://doi.org/10.1038/nature12394>
 95. *Li L.B., Chang K.H., Wang P.R. et al.* Trisomy correction in Down syndrome induced pluripotent stem cells // *Cell Stem Cell.* 2012. V. 11. P. 615–619.
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.08.004>
 96. *Zuo E., Huo X., Yao X. et al.* CRISPR/Cas9-mediated targeted chromosome elimination // *Genome Biol.*

2017. V. 18. 1.224.
<https://doi.org/10.1186/s13059-017-1354-4>
97. *Hirota T., Ohta H., Powell B.E. et al.* Fertile offspring from sterile sex chromosome trisomic mice // *Science*. 2017. V. 357. № 6354. P. 932–935.
<https://doi.org/10.1126/science.aam9046>
98. *Paulis M., Castelli A., Susani L. et al.* Chromosome transplantation as a novel approach for correcting complex genomic disorders // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 34. P. 35218–35230.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.6143>
99. *Hiramatsu K., Abe S., Kazuki K. et al.* Generation of a novel isogenic trisomy panel in human embryonic stem cells via microcell-mediated chromosome transfer // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019. V. 508. № 2. P. 603–607.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.11.138>
100. *Zalzman M., Falco G., Sharova L.V. et al.* Zscan4 regulates telomere elongation and genomic stability in ES cells // *Nature*. 2010. V. 464. P. 858–863.
<https://doi.org/10.1038/nature08882>
101. *Jiang J., Lv W., Ye X. et al.* Zscan4 promotes genomic stability during reprogramming and dramatically improves the quality of iPSC cells as demonstrated by tetraploid complementation // *Cell Res*. 2013. V. 23. № 1. P. 92–106.
<https://doi.org/10.1038/cr.2012.157>
102. *Amano T., Jeffries E., Amano M. et al.* Correction of Down syndrome and Edwards syndrome aneuploidies in human cell cultures // *DNA Res*. 2015. V. 22. № 5. P. 331–342.
<https://doi.org/10.1093/dnares/dsv016>
103. *Noto F.K., Determan M.R., Cai J. et al.* Aneuploidy is permissive for hepatocyte-like cell differentiation from human induced pluripotent stem cells // *BMC Res. Notes*. 2014. V. 7. № 437.
<https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-437>

Chromosomal Instability and Karyotype Correction in Human Induced Pluripotent Stem Cells

T. V. Nikitina^{a,*}, A. A. Kashevarova^a, and I. N. Lebedev^a

^a*Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, 634050 Russia*

^{*}*e-mail: t.nikitina@medgenetics.ru*

Human induced pluripotent stem cells (iPSCs) are a promising source of cells for regenerative medicine, study of the pathogenesis of various diseases, screening of pharmacological drugs and other clinical and basic research. However, the maintenance of the genetic stability of the cells during reprogramming, long-term culture and directed differentiation is necessary for the use of iPSCs. Large chromosomal aberrations affect the quality of iPSCs most adversely, so the review focuses on the analysis of chromosomal abnormalities, including the recurrent aneuploidy, and surveys of the sources of their occurrence, the effect of reprogramming and long-term culture on the accumulation of chromosome aberrations. Cases of spontaneous karyotype correction of the iPSCs and the possibility of reparation of the large chromosomal abnormalities by removing or silencing the extra homolog are considered.

Keywords: human induced pluripotent stem cells, chromosomal instability, karyotype correction.