



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН



# Сборник тезисов

Всероссийской научной конференции  
с международным участием, посвященной  
Юбилею академика Б.Л. Астаурова  
«Генетика и индивидуальное развитие»  
29–31 октября 2024

и

Школы-конференции  
«Генетические модификации  
и анализ генома клеток»  
31 октября – 1 ноября 2024



Проведение Школы-конференции  
«Генетические модификации и анализ генома клеток»  
поддержано Министерством науки и высшего образования РФ,  
соглашение № 075-15-2021-1075 от 28.09.2021

УДК 575  
ББК 28.04я43  
С23

**С23 Сборник тезисов Всероссийской научной конференции с международным участием, посвященной юбилею академика Б.Л. Астаурова «Генетика и индивидуальное развитие» 29–31 октября 2024 г. и Школы-конференции «Генетические модификации и анализ генома клеток» 31 октября – 1 ноября 2024 г. Москва, ИБР РАН. – М.: Издательство «Перо», 2024. – Мб. [Электронное издание].**

ISBN 978-5-00244-964-4

В сборнике представлены материалы Всероссийской научной конференции с международным участием «Генетика и индивидуальное развитие», которая состоялась 29-31 октября 2024 года в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва). Конференция приурочена к 120-летию со дня рождения выдающегося российского ученого, основателя ИБР РАН, академика Бориса Львовича Астаурова. Основные тематики, рассмотренные в рамках конференции: генетические основы процессов развития на всех уровнях организации, от молекулярного до популяционно-видового; генетика детерминации пола; генетические основы дифференцировки тканей и регенерации; организация и эволюция геномов. В сборнике также представлены тезисы Школы-конференции «Генетические модификации и анализ генома клеток», которая состоялась 31 октября – 1 ноября 2024 года в рамках Юбилейной конференции. Проведение Школы-конференции «Генетические модификации и анализ генома клеток» поддержано Министерством науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2021-1075 от 28.09.2021.

Материалы конференции опубликованы на сайте ИБР РАН [www.idbras.ru](http://www.idbras.ru).

УДК 575  
ББК 28.04я43

ISBN 978-5-00244-964-4

© Коллектив авторов, 2024  
© ИБР РАН, 2024



## Оглавление

Программа .....	10
Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием «Генетика и индивидуальное развитие».....	18
Организационный комитет.....	19
Исследование гетерогенности дермальных фибробластов, изолированных из кожи человека	
Д.С. Аболин, Е.П. Калабушева, О.С. Роговая.....	20
Реконструкция филогении и эволюционной истории полевоцых: от отдельных генов к геномным исследованиям	
Н.И. Абрамсон, Е.К. Скалон, Т.В. Петрова, И.А. Двояшев, С.Ю. Бодров, В.А. Паницина.....	21
Регуляция экспрессии генов белков теплового шока в процессе реагрегации клеток губки <i>Halisarca dujardini</i>	
К.И. Адамейко, О.И. Кравчук, Ю.В. Люпина.....	22
Анализ экспрессии генов системы toll-подобных рецепторов при воздействии этанола в эксперименте на разных стадиях онтогенеза	
М.И. Айрапетов, С.О. Ереско.....	23
Влияние антидепрессантов группы СИОЗС на функциональный статус яичника мыши	
Н.М. Алёшина, М.В. Бекетова, Д.А. Никишин.....	24
Экспрессия нейрогенных маркеров в развитии стоматогастрической системы моллюсков: неожиданные параллели с позвоночными	
М.С. Апарина, А.И. Богомолов, М.В. Мамаева, Е.Е. Воронежская, Е.Г. Ивашкин.....	25
Поиск генетических основ появления и развития парных конечностей у челюстноротых путем исследования современных представителей эволюционно древних групп	
А.В. Байрамов, Г.В. Ермакова, В.А. Любецкий, А.Г. Зарайский.....	26
Половая дифференциация, партеногенез и андрогенез: гипотезы Б.Л. Астаурова и современные представления о разнообразии генетических механизмов детерминации пола у животных	
И.Ю. Баклушинская.....	27
Экспрессия дуплицированных гомологов генов <i>Rax6</i> у олигохет	
А.М. Бёттхер, Е.А. Чеченева, Р.П. Костюченко.....	28
Генетические программы перехода от митоза к мейозу в жизненных циклах диплоидных организмов	
Ю.Ф. Богданов, Т.М. Гришаева.....	29

<b>Пространственная визуализация экспрессии генов (<i>in situ</i> HCR) для оценки модуляции сигнальных путей в процессе раннего развития <i>Spiralia</i></b>	
А.И. Богомолов, Ю.А. Краус, Е.Е. Воронежская.....	30
<b>Характеристика двух типов генов, функционирующих в интерфазном геноме дрозофилы, на примере политенных хромосом</b>	
Т.Ю. Ватолина, Н.Е. Воробьева, А.В. Цуканов, В.Г. Левицкий, И.Ф. Жимулев.....	31
<b>Изменение разметки тела колониального гидроида <i>Dynamena pumila</i> в ходе метаморфоза</b>	
А.А. Ветрова, С.В. Кремнёв.....	32
<b>Развитие геккона <i>Correlophus ciliatus</i> от откладки яйца до вылупления</b>	
Д.П. Вингерт, Е.Л. Гонобоблева.....	33
<b>Влияние пренатального стресса, индуцированного бактериальным липополисахаридом (ЛПС), на развитие иммунной системы у мышей</b>	
А.В. Воротников, М.С. Извольская.....	34
<b>РНК-связывающий белок семейства NXF (nuclear export factor) необходим для установления границ оптических долей у <i>Drosophila melanogaster</i></b>	
Е.В. Голубкова, А.О. Якимова, К.В. Ахромов, Л.В. Барабанова, Л.А. Мамон.....	35
<b>Изучение процессов развития и старения на модельных объектах стрекающих</b>	
А.П. Григоренко, Ф.Е. Гусев, Т.В. Ерофеева, И.А. Косевич, Е.И. Рогаев.....	36
<b>Свидетельства ранней активации зиготического генома в развитии аннелиды <i>Ophelia limacina</i></b>	
М.Г. Гринберг, И.Е. Борисенко, В.В. Козин.....	37
<b>Молекулярные и биологические последствия теплового шока у животных</b>	
М.Б. Евгеньев, Д.Г. Гарбуз, О.Г. Зацепина.....	38
<b>Изучение активности генов нейровоспаления в головном мозге рыб <i>Danio rerio</i> при моделировании подросткового алкоголизма</b>	
С.О. Ереско, Л.И. Орлов, С.А. Шамаева, М.И. Айрапетов.....	39
<b>Морфокинетические параметры культивирования донорских эмбрионов человека</b>	
В.Ю. Жилаева, Е.М. Комарова, М.А. Ищук, Я.М. Сагурова, Е.А.Лесик.....	40
<b>На пути к решению проблемы эмбрионального скейлинга: гипотеза генов-скейлеров и ее подтверждение на эмбрионах лягушки и морского ежа</b>	
А.Г. Зарайский.....	41
<b>Особенности локализации нейронального белка GAP-43 в ооцитах и ранних эмбрионах мыши</b>	
Ф.М. Захарова, В.В. Захаров.....	42

<b>Экспрессия генов транскрипционных факторов в мозге медоносной пчелы при обучении</b>	
Т.Г. Зачепило, А.К. Прибышина.....	<b>43</b>
<b>Примеры онтогенетических отклонений у командорского кальмара <i>Berryteuthis magister</i> (S. S. Berry, 1913)</b>	
В.Р. Зимины.....	<b>44</b>
<b>Нуклеотипический эффект и время митотических циклов у растений</b>	
Иванов В.Б., Жуковская Н.В.....	<b>45</b>
<b>Особенности молекулярной организации нейрогенеза у животных с нелинейным строением центральной нервной системы</b>	
Е.Г. Ивашкин, Е.Е. Воронежская, М.С. Апарина, М.В. Мамаева.....	<b>46</b>
<b>Значение научных открытий Бориса Львовича Астаурова для пчеловодства</b>	
Р.А. Ильясов, Е.Д. Давыдова, А.Ю. Ильясова, Д.В. Богуславский, В.Н. Саттаров.....	<b>47</b>
<b>Как с помощью клеток изучать старение человека?</b>	
А.И. Калмыкова, В.К. Абдыев.....	<b>48</b>
<b>Анализ дифференциальной экспрессии генов в полипидах пресноводной мшанки <i>Cristatella mucedo</i> в процессе бластогенеза и дегенерации</b>	
А.Ю. Квач, В.А. Кутюмов, В.В. Старунов, А.Н. Островский.....	<b>49</b>
<b>Влияние FGF блокатора PD173074 на развитие и осевую разметку планул <i>Gonothyraea loveni</i></b>	
Д.И. Комарова, М.А. Кузьминых, А.А. Ветрова, М.Л. Семенова, В.В. Кондукторова, Д.А. Никишин.....	<b>50</b>
<b>Молекулярные аспекты нейрогенеза у аннелид</b>	
Р.П. Костюченко.....	<b>51</b>
<b>рiРНК путь: баланс между поддержанием стабильности и эволюцией генома</b>	
А.А. Котов, Л.В. Оленина.....	<b>52</b>
<b>Гомеобоксные гены из класса ANTP в эволюции и развитии</b>	
М.А. Кулакова.....	<b>53</b>
<b>Гены видообразования – история и настоящее. Краткий обзор проблемы</b>	
А.М. Куликов.....	<b>54</b>
<b>СНЯТО С ПУБЛИКАЦИИ - Изучение структуры порфиринового кольца в составе цитохрома С с кардиолипином активированной кумарином С-314 хемилюминесценции под действием гетерогенного катализатора</b>	
И.Н. Левченко, В.С. Панкратов, Г.К. Владимиров, А.А. Левченко, И.В. Володяев.....	<b>55</b>

<b>Эффекты витаминно-минерального премикса П90-2 на реализацию генетического потенциала высокопродуктивного кросса кроликов «Родник»</b>	
А.В. Леонов, Г.Ю. Косовский.....	56
<b>Различные функции интрон-содержащих и безинтронных генов актина у губок</b>	
Ю.В. Люпина, О.И. Кравчук, В.М. Зубарев, К.И. Адамейко, А.Д. Фиошин, К.В. Михайлов.....	57
<b>Влияние ингибитора PARP1 на экспрессию генов, ассоциированных с болезнью Хантингтона, в дифференцированных производных ИПСК</b>	
В.С. Макеева.....	58
<b>Генетическая структура популяций серых крыс (<i>Rattus norvegicus</i>) городов России</b>	
А.Н. Мальцев, М.П. Кораблев, Ю.А. Баженов, В.Ю. Комаров.....	59
<b>Влияние различных реагентов на размножение сортов олива (<i>Olea l.</i>) с генами устойчивости на Абшероне</b>	
Д.Ш. Мамедов, А.М. Джавадова .....	60
<b>Реагрегация обыкновенной губки <i>Halisarca dujardini</i>: морфогенезы и молекулярные механизмы процесса</b>	
Н.П. Мельников, К.В. Скоренцева, И.Е. Борисенко, А.В. Ересковский, А.И. Лавров.....	61
<b>Особенности транскриптомной активности PR-генов и регуляторов клеточного цикла у проростков <i>Pinus sylvestris</i> в условиях инфицирования <i>Fusarium sp.</i> по данным RNA-seq</b>	
Л.В. Можаровская.....	62
<b>Происхождение клеток Сети семенника мыши</b>	
В.В. Мун, А.Ю. Кулибин, Е.А. Малолина.....	63
<b>Геномные исследования аквакультурных рыб</b>	
Н.С. Мюге.....	64
<b>Амилоидные сети: роль в патогенезе и биологические функции</b>	
А.А. Нижников.....	66
<b>Исследование роли минорных субпопуляций мезенхимы в морфогенезе легких мыши</b>	
Ю.А. Новикова, И.А. Говорова, С.Ю. Никиточкина, О.И. Сутягина, Е.А. Воротеляк.....	67
<b>Использование микросателлитных маркеров для генетической идентификации видов на примере ранее не изученной популяции кавказских скальных ящериц рода <i>Darevskia</i></b>	
Д.О. Одегов, В.А. Паршукова, М.С. Аракелян, А.М. Ирена.....	68

<b>Митохондриальный геном боялычной сони <i>Selevinia betpakdalaensis</i> и филогенетическая реконструкция семейства Gliridae</b>	
Т.В. Петрова, В.А. Паницина, С.Ю. Бодров, Н.И. Абрамсон.....	69
<b>Экспрессия компонентов внеклеточного матрикса и белков десмосомы в ИПСК и на ранних стадиях дифференцировки дофаминергических нейронов с заменой G2019S в LRRK2</b>	
Е.А. Попик, А.В. Спасельникова, Е.И. Шарова, Л.О. Скородумова, В.А. Канаева, Е.И. Олехнович, М.А. Лагарькова, А.Н. Богомазова, О.С. Лебедева.....	70
<b>Спонтанные флуктуации изменчивости морфологии иглокожих, их связь с симметрией и эволюционное значение</b>	
С.В. Рожнов.....	71
<b>Геномные и клеточные основы поведения у безнервных животных Placozoa</b>	
Д.Ю. Романова, М.А. Никитин, А.А. Садова, Л.Л. Мороз.....	72
<b>Экспрессия генов <i>sfrp</i> при регенерации у голотурии <i>Eupentacta fraudatrix</i></b>	
К.А. Садриев, А.С. Гирич.....	73
<b>Участие повторяющегося элемента генома (GGAAA)<sub>n</sub> в дифференцировке пола у курицы</b>	
А.Ф. Сайфитдинова.....	74
<b>Исследование экспрессионной активности высококонсервативного гена <i>Ras85D</i></b>	
Е.А. Сивопляс, А.М. Куликов.....	75
<b>Исследование группы видов <i>Nothobranchius ugandensis</i> в контексте эволюции хромосом в роде <i>Nothobranchius</i> (доклад на русском языке)</b>	
<b>A case study of the <i>Nothobranchius ugandensis</i> species group in the context of <i>Nothobranchius</i> chromosome evolution</b>	
С.А. Симановский, Е.Ю. Крысанов, В. Nagy, B.R. Watters, A. Sember.....	76
<b>Особенности метаморфоза форониды <i>Phoronopsis harmeri</i></b>	
О.И. Тайманова, Е.Г. Ивашкин, М.С. Апарина, Е.Н. Темерева, .....	77
<b>Влияние флуоксетина на процессы созревания ооцитов мыши: молекулярные аспекты</b>	
М.Д. Ткаченко, Д.А. Никишин.....	78
<b>Морфогенетические факторы как регуляторы реализации генетической программы</b>	
М.В. Угрюмов.....	79
<b>Tetraptera Б.Л. Астаурова и генетика симметричных признаков</b>	
Н.Б. Федорова, Б.Ф. Чадов.....	80

<b>Влияние внутриклеточного серотонина на доимплантационное развитие мыши</b>	
В.С. Фролова, Ю.О. Никишина, Д.А. Никишин.....	<b>81</b>
<b>Эволюционная изменчивость консервативного гена <i>ras85D</i></b>	
А.И. Чекунова, С.Ю. Сорокина, Г.Н. Бахтояров, А.М. Куликов.....	<b>82</b>
<b>Транскриптомные изменения клеток миндалевидного тела мышей линий C57Bl/6 и BTBR в модели обучения страхом</b>	
Е.А. Чикина, В.И. Мельникова, Е.И. Шагимарданова, А.С. Цыбко.....	<b>83</b>
<b>Поиск стволовых клеток в яичниках постнатальных стадий онтогенеза зебровой амадины <i>Taeniopygia guttata</i> (Aves, Passeriformes)</b>	
Ю.А. Шалутина, Е.А. Кондакова, М.М. Кулак, С.А. Галкина.....	<b>84</b>
<b>Вклад эпигенетических и посттранскрипционных механизмов в формирование долговременной памяти у дрозофилы</b>	
В.К. Чмыхало, А.Т. Токарев, Е.Н. Козлов, Л.А. Лебедева, Ю.В. Шидловский.....	<b>85</b>
<b>Все транскриптеры в одной яйцеклетке: транскриптомный анализ эмбриональных транскриптерных систем</b>	
Шмуклер Ю.Б., Фролова В.С., Никишин Д.А.....	<b>86</b>
<b>Тезисы докладов Школы- конференции «Генетическая модификация и анализ генома клеток».....</b>	<b>87</b>
<b>Организационный и программный комитеты.....</b>	<b>88</b>
<b>Культивирование срезов ткани легких мыши</b>	
А.А. Воложинская, И.А. Говорова, Ю.А. Новикова, С.Ю. Никиточкина, Е.А. Воротеляк.....	<b>89</b>
<b>Флуоресцентная визуализация экспрессии генов методом гибридной цепной реакции: как начать и что можно получить</b>	
Е.Е. Воронежская.....	<b>90</b>
<b>Перспективы использования генетически охарактеризованного биоматериала человека в репродукции</b>	
А.С. Глотов, Ю.А. Насыхова.....	<b>91</b>
<b>Биоинформатический анализ белков ядра и хроматина клеток человека: локализации, функции, свойства</b>	
А.К. Грибкова, А.К. Шайтан.....	<b>92</b>
<b>Специализированная роль белка Dm pxf1 в индивидуальном развитии <i>Drosophila melanogaster</i></b>	
Д.М. Грудкова, Е.В. Голубкова, М.А. Кулакова.....	<b>93</b>



<b>Современные методы пространственной транскриптомики в биологии развития</b>	
Е.Г. Ивашкин.....	94
<b>Модуляция сигнального каскада YAP/TAZ путем генетической модификации и применения ингибиторов-малых молекул</b>	
Е.П. Калабушева, О.Л. Черкашина, Е.А. Бутова, Д.С. Аболин, О.С. Роговая, Е.А. Воротеляк.....	95
<b>Характеризация клеточной линии CHO 4BGD с гомозиготными нокаутами генов <i>BAK1</i>, <i>BAX</i>, <i>DHFR</i>, <i>GLUL</i> при помощи полногеномного секвенирования</b>	
Д.Э. Колесов, Н.А. Орлова, М.В. Синегубова, И.И. Воробьев.....	96
<b>Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки от пациента с остеопорозом с однонуклеотидным полиморфизмом Arg16 в гене бета-2-адренергического рецептора</b>	
О.А. Краснова, А.А. Ковалева, Ю.В. Сопова, П.И. Семенова, И.Э. Неганова.....	97
<b>Подходы к созданию высокоиммуногенных персонализированных онковакцин</b>	
М.А. Лагарькова.....	98
<b><i>In vitro</i> модели дифференцировки макрофагов человека с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток</b>	
И.В. Лядова, О.Н. Шевелева, Е.А. Протасова, Е.В. Григорьева, С.П. Медведев.....	98
<b>Материнские транскрипты генов ANTP в ооцитах <i>Platynereis dumerilii</i></b>	
Р.И. Муллахметов, М.А. Кулакова, Г.П. Маслаков.....	100
<b>Генная терапия эпилепсии с использованием кальций-активируемых калиевых каналов</b>	
Е.С. Никитин.....	101
<b>Сигнальный путь YAP/TAZ при моделировании развития кожи человека с использованием ИПСК</b>	
М.Д. Панкратова, А.А. Рябинин, Е.П. Калабушева, З.Р. Стариннов, Е.А. Воротеляк.....	102
<b>Перспективы генетического репрограммирования ретинального пигментного эпителия у млекопитающих и человека для науки и медицины</b>	
Л.А. Ржанова, М.А. Александрова.....	103
<b>Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток макака-резуса (<i>Macaca mulatta</i>) путем репрограммирования мультипотентных стволовых клеток жировой ткани</b>	
А.С. Рябченко, В.К. Абдыев, Е.А. Воротеляк.....	104
<b>Влияние серотонина на активность транскрибируемых регуляторных элементов в процессе эмбрионального развития гипоталамуса</b>	

М.С. Сабиров, А.Н. Гайнуллина, Е.А. Чикина, В.И. Мельникова, Е.И. Шагимарданова, О.А. Гусев, Е.Е. Воронежская, Р.А. Романов.....	<b>105</b>
<b>Развитие технологий исследования ДНК клеток доимплантационных эмбрионов</b>	
А.Ф. Сайфитдинова.....	<b>106</b>
<b>Редактирование сложной гетерозиготной мутации методом CRISPR/Cas9 в гене кальцечувствительного рецептора в культуре индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека</b>	
П.И. Семенова, А.В. Панова, Ю.В. Сопова, О.А. Краснова, А.А. Ковалева, И.Э. Неганова.....	<b>107</b>
<b>Неожиданный урок ошибки скрещивания: эмбрионально летальные в гомозиготе мутации гена <i>Flnс</i> успешно компенсируют друг друга</b>	
Ю.Ю. Силаева.....	<b>108</b>
<b>Эффективность клеточного репрограммирования зависит от активности иммунопротеасом</b>	
А.С. Цимоха, А.В. Кузнецов, И.В. Зубарев, А.Р. Газизова, А.В. Селенина, С.В. Пономарцев, А.Н. Томилин.....	<b>108</b>
<b>Определение <i>in situ</i> общегеномного содержания H3K27me2 - эпигенетического маркера транскрипционно-неактивного хроматина в предимплантационных зародышах мыши, культивируемых <i>in vitro</i> в присутствии бисфенола а и лактоферрина</b>	
Л.А. Чельшева, Е.М. Нониашвили, Е.Л. Паткин.....	<b>110</b>
<b>Связь активности YAP с паттерном пролиферации кератиноцитов в коже человека</b>	
О.Л. Черкашина, А.А. Цитрина, Д.С. Аболин, А.В. Косых, Е.А. Воротеляк, Е.П. Калабушева.....	<b>111</b>
<b>От понимания структуры и динамики хроматина к разработке методов эпигенетической инженерии на основе dCas-белков</b>	
А.К. Шайтан.....	<b>112</b>
<b>Генетические подходы к моделированию оверэкспрессии различных генов в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках и получение генномодифицированных макрофагов человека</b>	
О.Н. Шевелева, Н.Н. Буторина, В.И. Кузьяева, С.П. Медведев, Е.А. Протасова, И.В. Лядова.....	<b>113</b>
<b>Изучение неспецифического взаимодействия SpCas9 с ДНК при помощи методов молекулярной динамики</b>	
В.А. Яковлев, Н.В. Кристовский, Г.А. Армеев, А.К. Шайтан.....	<b>114</b>

**Юбилейная конференция «Генетика и индивидуальное развитие»  
и Школа-конференция «Генетическая модификация и анализ генома клеток»  
29 октября – 1 ноября, ИБР РАН**

Всероссийская научная конференция с международным участием, посвященная Юбилею  
академика Б.Л. Астаурова

**«Генетика и индивидуальное развитие»**

**29 октября**

9:00-10:00	Регистрация участников
	ПРЕДСЕДАТЕЛИ А.В. Васильев / И.С. Захаров
	Открытие конференции «Генетика и индивидуальное развитие»
10:00-10:10	<b>А.В. Васильев, ИБР РАН</b> Приветственное слово
10:10-10:20	<b>В.Я. Бродский, ИБР РАН</b> Воспоминания о Б.Л. Астаурове
10:20-10:30	<b>Г.П. Георгиев, ИБГ РАН</b> Приветственное слово
10:30-10:40	<b>Е.Б. Астаурова, ИБР РАН</b> Презентация книги "Б.Л. Астауров (Очерки, воспоминания, письма, материалы)" и других публикаций к юбилею Б.Л. Астаурова
10:40-11:05	<b>Е.В. Пчелов, ИИЕИ РАН</b> Роль Б.Л. Астаурова в восстановлении исторической правды о генетике в советский период
11:05-11:15	<b>Н.С. Мюге, ВНИРО, ИБР РАН</b> На стороне света и добра: статья В.П. Эфроимсона "Родословная альтруизма" и предисловие к ней Б.Л. Астаурова
11:15-11:30	Киноматериалы о Б.Л. Астаурове
11:30-11:50	Кофе-брейк
11:50-12:15	<b>И.Ю. Баклушинская, ИБР РАН</b> Половая дифференциация, партеногенез и андрогенез: гипотезы Б.Л. Астаурова и современные представления о разнообразии генетических механизмов детерминации пола у животных
12:15-12:40	<b>А.М. Куликов, ИБР РАН</b> Гены видообразования – история и настоящее. Краткий обзор проблемы
12:40-13:05	<b>М.В. Угрюмов, ИБР РАН</b> Морфогенетические факторы как регуляторы реализации генетической программы развивающегося организма
13:05-13:30	<b>М.Б. Евгеньев, ИМБ РАН</b> Молекулярные и биологические последствия теплового шока у животных
13:30-13:50	<b>Р.А. Ильясов, ИБР РАН</b> Значение научных открытий Бориса Львовича Астаурова для пчеловодства
13:50-14:35	Обед
	ПРЕДСЕДАТЕЛИ И.Ю. Баклушинская / Е.Е. Воронежская
14:35-14:45	<b>А.Ю. Бейзер, Аламед</b> ПЦР: принцип, особенности и приложения
14:45-15:10	<b>Н.И. Абрамсон, ЗИН РАН</b> Реконструкция филогении и эволюционной истории полевоцых: от отдельных генов к геномным исследованиям
15:10-15:30	<b>А.А. Котов, ИБР РАН</b> рiРНК путь: баланс между поддержанием стабильности и эволюцией генома
15:30-15:50	<b>Н.С. Мюге, ВНИРО, ИБР РАН</b> Геномные исследования аквакультурных рыб
15:50-16:10	<b>С.А. Симановский, ИПЭЭ</b> Исследование группы видов <i>Nothobranchius ugandensis</i> в контексте эволюции хромосом в роде <i>Nothobranchius</i>
16:10-16:30	Кофе-Брейк
16:30-16:55	<b>Д.Ю. Романова, ИВНД РАН</b> Геномные и клеточные основы поведения у безнервных животных Placozoa
16:55-17:15	<b>Е.Г. Ивашкин, Е.Е. Воронежская, ИБР РАН</b> Особенности молекулярной организации нейрогенеза у животных с нелинейным строением центральной нервной системы
17:15-17:35	<b>Н.И. Енукашвили, ИНЦ РАН</b> Анализ экспрессии генов-маркеров в клетках кумулуса как способ прогнозирования компетенции ооцита
17:35-18:00	<b>И.Ф. Жимулев, ИМКБ СО РАН</b> Характеристика двух типов генов, функционирующих в интерфазном геноме дрозофилы, на примере политенных хромосом (видеозапись)
18:00-19:30	<b>Фуршет, воспоминания о Б.Л. Астаурове</b>

Всероссийская научная конференция с международным участием, посвященная Юбилею  
академика Б.Л. Астаурова  
**«Генетика и индивидуальное развитие»**

**30 октября**

ПРЕДСЕДАТЕЛИ Р.П. Костюченко / Ю.А. Краус

10:00-10:25	<b>Ю.Ф. Богданов, ИОГЕН РАН</b> Генетические программы перехода от митоза к мейозу в жизненных циклах диплоидных организмов
10:25-10:45	<b>А.А. Нижников, СПбГУ</b> Амилоидные сети: роль в патогенезе и биологические функции
10:45-11:10	<b>Ю.В. Шидловский, ИБГ РАН</b> Вклад эпигенетических и посттранскрипционных механизмов в формирование долговременной памяти у дрозофилы
11:10-11:35	<b>А.Г. Зарайский, ИБХ РАН</b> На пути к решению проблемы эмбрионального скейлинга: гипотеза генов-скейлеров и ее подтверждение на эмбрионах лягушки и морского ежа
11:35-12:00	<b>С.В. Рожнов, ПИН РАН</b> Спонтанные флуктуации изменчивости морфологии иглокожих, их связь с симметрией и эволюционное значение
12:00-12:20	<b>Кофе-брейк</b>
12:20-12:45	<b>Р.П. Костюченко, СПбГУ</b> Молекулярные аспекты нейрогенеза у аннелид
12:45-13:05	<b>А.И. Богомолов, ИБР РАН</b> Пространственная визуализация экспрессии генов ( <i>in situ</i> HCR) для оценки модуляции сигнальных путей в процессе раннего развития <i>Spiralia</i>
13:05-13:25	<b>Н.П. Мельников, МГУ</b> Реагрегация обыкновенной губки <i>Halisarca dujardini</i> : морфогенезы и молекулярные механизмы процесса
13:25-13:50	<b>Ю.В. Люпина, ИБР РАН</b> Различные функции интрон-содержащих и безинтронных генов актина у губок
13:50-14:10	<b>В.В. Мун, ИБР РАН</b> Происхождение клеток Сети семенника мыши
14:10-15:10	<b>Обед</b>
ПРЕДСЕДАТЕЛИ А.И. Калмыкова / Н.И. Енукашвили	
15:10-15:20	<b>Е.О. Кожин, БиоЛайн</b> Современные решения для молекулярной биологии: продукция для молекулярных методов анализа
15:20-15:35	<b>А.А. Ветрова, ИБР РАН, СПбГУ</b> Изменение разметки тела колониального гидроида <i>Dyapometa pumila</i> в ходе метаморфоза
15:35-16:00	<b>А.И. Калмыкова, ИБР РАН</b> Как с помощью клеток изучать старение человека?
16:00-16:25	<b>А.Ф. Сайфитдинова, РГПУ</b> Участие повторяющегося элемента генома (GGAAA) <sub>n</sub> в дифференцировке пола у курицы
16:25-16:50	<b>М.А. Кулакова, СПбГУ</b> Гомеобоксные гены из класса ANTP в эволюции и развитии
16:50-17:10	<b>Кофе-брейк</b>
17:10-17:35	<b>А.В. Байрамов, ИБХ РАН</b> Поиск генетических основ появления и развития парных конечностей у челюстноротых путем исследования современных представителей эволюционно древних групп
17:35-17:55	<b>А.П. Григоренко, ИОГЕН РАН</b> Изучение процессов развития и старения на модельных объектах стрекающих
17:55-18:15	<b>М.Г. Гринберг, СПбГУ</b> Свидетельства ранней активации зиготического генома в развитии аннелиды <i>Ophelia limacina</i>
18:15-18:35	<b>К.И. Адамейко, ИБР РАН</b> Регуляция экспрессии генов белков теплового шока в процессе агрегации клеток губки <i>Halisarca dujardini</i>
18:35-19:00	<b>Чашепитие</b>

**Школа-конференция «Генетическая модификация и анализ генома клеток»**

**31 октября**

9:00-10:00	Регистрация участников <b>ПРЕДСЕДАТЕЛИ</b> Е.А. Воротеляк / Г.В. Павлова
	Открытие конференции «Генетика и индивидуальное развитие»
10:00-10:30	<b>М.А. Лагарькова, ФНКЦ ФХМ, МГУ</b> Подходы к созданию высокоиммуногенных персонализированных онковакцин
10:30-11:00	<b>А.К. Шайтан, МГУ</b> От понимания структуры и динамики хроматина к разработке методов эпигенетической инженерии на основе dCas-белков
11:00-11:30	<b>Y. Vassetzky, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France</b> Targeted modification of 3D genome organization
11:30-12:00	<b>A. Schwager (Karpukhina), Institut Curie, Paris, France</b> From 3D organization to therapy of mantle cell lymphoma
12:00-12:15	<b>Кофе-брейк / Постерная сессия</b>
12:15-12:40	<b>Г.В. Павлова, ИВНД и НФ РАН</b> Молекулярно-генетические аспекты дифференцировочной терапии глиомы человека
12:40-13:05	<b>Е.С. Никитин, ИВНД и НФ РАН</b> Генная терапия эпилепсии с использованием кальций-активируемых калиевых каналов
13:05-13:35	<b>И.В. Лядова, ИБР РАН</b> In vitro модели дифференцировки макрофагов человека с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток
13:25-13:40	<b>Е.Е. Воронежская, ИБР РАН</b> Флуоресцентная визуализация экспрессии генов методом гибридационной цепной реакции: как начать и что можно получить
13:40-14:10	<b>Обед</b> <b>ПРЕДСЕДАТЕЛИ</b> И.В. Лядова / А.С. Цимоха
14:10-14:40	<b>Р.А. Романов, ИБР РАН</b> Может ли материнский стресс изменить молекулярно-клеточную организацию мозга потомства
14:40-14:55	<b>Ю.А. Насыхова, НИИ АГиР им. Д.О.Отта</b> Перспективы использования генетически охарактеризованного биоматериала человека в репродукции
14:55-15:10	<b>А.Ф. Сайфитдинова, РГПУ, СПбГУ</b> Развитие технологий исследования ДНК клеток доимплантационных эмбрионов
15:10-15:25	<b>Е.П. Калабушева, ИБР РАН</b> Модуляция сигнального каскада YAP/TAZ путем генетической модификации и применения ингибиторов – малых молекул
15:25-15:40	<b>М.С. Сабиров, ИБР РАН</b> Влияние серотонина на активность транскрибируемых регуляторных элементов в процессе эмбрионального развития гипоталамуса
15:40-15:50	<b>А.О. Травина, ИНЦ РАН</b> Транскрипция тандемных повторов в гаметогенезе земноводных
15:50-16:00	<b>Кофе-брейк</b>
16:00-16:25	<b>А.С. Цимоха, ИНЦ РАН</b> Эффективность клеточного репрограммирования зависит от активности иммунопротеасом
16:25-16:50	<b>П.И. Семенова, ИНЦ РАН</b> Редактирование сложной гетерозиготной мутации методом CRISPR/Cas9 в гене кальцечувствительного рецептора в культуре индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека
16:50-17:15	<b>Е.Г. Ивашкин, ИПЭЭ</b> Современные методы пространственной транскриптомики в биологии развития
17:15-17:40	<b>Ю.Ю. Силаева, ИБГ РАН</b> Неожиданный урок ошибки скрещивания: эмбрионально летальные в гомозиготе мутации гена <i>Flnс</i> успешно компенсируют друг друга"
17:40-18:10	<b>Подведение итогов молодежного конкурса (стендовых докладов) и награждение победителей</b>

Школа-конференция «Генетическая модификация и анализ генома клеток»

1 ноября

ПРОВЕДЕНИЕ МАСТЕР-КЛАССОВ

10:00-13:00	<b>М.С. Сабилов, ИБР РАН</b> Введение в анализ данных секвенирования РНК индивидуальных клеток
ИЛИ	
11:00-11:30	<b>Кофе-брейк</b>
11:30-13:00	<b>В. Гасанов, ИБР РАН</b> Модификация клеток прокариот, получение штаммов-продуцентов, оценка уровня экспрессии рекомбинантного белка
13:00-14:00	<b>Обед</b>
14:00-16:00	<b>Е.Е. Воронежская, Е.Г. Ивашкин, ИБР РАН</b> Выявление результатов в реакции НСР в тканях с помощью конфокального микроскопа
ИЛИ	
14:00-16:00	<b>О.Л. Черкашина, ИБР РАН</b> Генетическая модификация клеток эукариот: липофекция, сборка вирусных частиц, трансдукция
16:00-16:10	<b>Кофе-брейк</b>
16:10-17:30	<b>А.А. Рябинин, В.К. Абдыев, ИБР РАН</b> Индукция плюрипотентных стволовых клеток человека: методы культивирования, состояние плюрипотентности, фундаментальное и прикладное значение
17:30	<b>Завершение конференции</b>

**СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ**

**31 октября**

- Аболин Д.С.** (ИБР РАН)  
1. Исследование гетерогенности дермальных фибробластов, изолированных из кожи человека  
[Аболин Д.С., Калабушева Е.П., Роговая О.С.]
- Айрапетов М.И.** (ИЭМ, ВМА им. С.М. Кирова)  
2. Анализ экспрессии генов системы toll-подобных рецепторов при воздействии этанола в эксперименте на разных стадиях онтогенеза  
[Айрапетов М.И., Ереско С.О.]
- Алёшина Н.М.** (ИБР РАН)  
3. Влияние антидепрессантов группы СИОЗС на функциональный статус яичника мыши  
[Алёшина Н.М., Бекетова М.В., Никишин Д.А.]
- Апарина М.С.** (ИПЭЭ РАН, ИБР РАН)  
4. Экспрессия нейрогенных маркеров в развитии стоматогастрической системы моллюсков: неожиданные параллели с позвоночными  
[Апарина М.С., Богомолов А.И., Мамаева М.В., Воронежская Е.Е., Ивашкин Е.Г.]
- Бёттхер А.М.** (СПбГУ)  
5. Экспрессия дуплицированных гомологов генов *Raxb* у олигохет  
[Бёттхер А.М., Чеченева Е.А., Костюченко Р.П.]
- Вингерт Д.П.** (СПбГУ)  
6. Развитие геккона *Correlophus ciliatus* от откладки яйца до вылупления  
[Вингерт Д.П., Гонобоблева Е.Л.]
- Воложинская А.А.** (МГУ им. М.В. Ломоносова, ИБР РАН)  
7. Культивирование срезов ткани легких мыши  
[Воложинская А.А., Говорова И.А., Новикова Ю.А., Никиточкина С.Ю., Воротеляк Е.А.]
- Воротников А.В.** (МГУ им. М.В. Ломоносова, ИБР РАН)  
8. Влияние пренатального стресса, индуцированного бактериальным липополисахаридом (ЛПС), на развитие иммунной системы у мышей  
[Воротников А.В., Извольская М.С.]
- Голубкова Е.В.** (СПбГУ)  
9. РНК-связывающий белок семейства NXF (nuclear export factor) необходим для установления границ оптических долей у *Drosophila melanogaster*  
[Голубкова Е.В., Якимова А.О., Ахромов К.В., Барабанова Л.В., Мамон Л.А.]
- Грибкова А.К.** (МГУ имени М.В. Ломоносова)  
10. Биоинформатический анализ белков ядра и хроматина клеток человека: локализации, функции, свойства  
[Грибкова А.К., Шайтан А.К.]
- Грудкова Д.М.** (СПбГУ)  
11. Специализированная роль белка Dm nxf1 в индивидуальном развитии *Drosophila melanogaster*  
[Грудкова Д.М., Голубкова Е.В., Кулакова М.А.]
- Ереско С.О.** (ИЭМ, СЗГМУ им. И.И. Мечникова)  
12. Изучение активности генов нейровоспаления в головном мозге рыб *Danio rerio* при моделировании подросткового алкоголизма  
[Ереско С.О., Орлов Л.И., Айрапетов М.И.]
- Жиляева В.Ю.** (СПбГУ)  
13. Морфокинетические параметры культивирования донорских эмбрионов человека  
[Жиляева В.Ю., Лесик Е.А., Ищук М.А., Сагурова Я.М., Комарова Е.М.]
- Захарова Ф.М.** (ИЭМ, СПбГУ)  
14. Особенности локализации нейронального белка GAP-43 в ооцитах и ранних эмбрионах мыши  
[Захарова Ф.М., Захаров В.В.]
- Зачепило Т.Г.** (ИФ им. И. П. Павлова, РГПУ им А.И. Герцена)  
15. Экспрессия генов транскрипционных факторов в мозге медоносной пчелы при обучении  
[Зачепило Т.Г., Прибышина А.К.]

- 
16. **Зими́на В.Р.** (МГУ им. М. В. Ломоносова, ВНИРО)  
Примеры онтогенетических отклонений у командорского кальмара *Beryteuthis magister*  
[Зачепило Т.Г., Прибышина А.К.]
- 
17. **Иванов В.Б.** (ИФР РАН)  
Зависимость нуклеотипического эффекта на продолжительность митотических циклов от таксона, плоидности и числа хромосом у диплоидов  
[Иванов В.Б., Жуковская Н.В.]
- 
18. **Квач А.Ю.** (СПбГУ)  
Анализ дифференциальной экспрессии генов в полипидах пресноводной мшанки *Cristatella mucedo* в процессе бластогенеза и дегенерации  
[Квач А.Ю., Кутюмов В.А., Старунов В.В., Островский А.Н.]
- 
19. **Колесов Д.Э.** (ФИЦ Биотехнологии РАН)  
Характеризация клеточной линии СНО 4BGD с гомозиготными нокаутами генов *BAK1*, *BAX*, *DHFR*, *GLUL* при помощи полногеномного секвенирования  
[Колесов Д.Э., Орлова Н.А., Синегубова М.В., Воробьев И.И.]
- 
20. **Комарова Д.И.** (МГУ им. М. В. Ломоносова)  
Влияние FGF блокатора PD173074 на развитие и осевую разметку планул *Gonothyraea loveni*  
[Комарова Д.И., Кузьминых М.А., Ветрова А.А., Семенова М.Л., Кондукторова В.В., Никишин Д.А.]
- 
21. **Краснова О.А.** (ИНЦ РАН)  
Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки от пациента с остеопорозом с однонуклеотидным полиморфизмом Arg16 в гене бета-2-адренергического рецептора  
[Краснова О.А., Ковалева А.А., Сопова Ю.В., Семенова П.И., Неганова И.Э.]
- 
22. **Левченко И.Н.** (РНИМУ им.Н.И. Пирогова, МГУ им.М.В. Ломоносова)  
Изучение структуры порфиринового кольца в составе цитохрома С с кардиолипином активированной кумарином С-314 хемилюминесценции под действием гетерогенного катализатора в гене бета-2-адренергического рецептора – **сняты с публикации**  
[Левченко И.Н., Панкратов В.С., Владимиров Г.К., Левченко А.А., Володяев И.В.]
- 
23. **Леонов А.В.** (НИИПЗК)  
Эффекты витаминно-минерального премикса П90-2 на реализацию генетического потенциала высокопродуктивного кросса кроликов «Родник»  
[Леонов А.В., Косовский Г.Ю.]
- 
24. **Макеева В.С.** (ИЦиГ СО РАН)  
Влияние ингибитора PARP1 на экспрессию генов, ассоциированных с болезнью Хантингтона, в дифференцированных производных ИПСК  
[Макеева В.С., Дырхеева Н.С., Закиян С.М., Малахова А.А.]
- 
25. **Мальцев А.Н.** (ИПЭЭ им.А.Н.Северцова РАН, НИИД ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана)  
Генетическая структура популяций серых крыс (*Rattus norvegicus*) городов России  
[Мальцев А.Н., Кораблев М.П., Комаров В.Ю., Баженов Ю.А.]
- 
26. **Мамедов Д.Ш.** (Абшеронская Опытная Станция, Азербайджан)  
Влияние различных реагентов на размножение сортов олива (*Olea l.*) с генами устойчивости на Абшероне  
[Мамедов Д.Ш., Джавадова А.М.]
- 
27. **Можаровская Л.В.** (Институт леса НАН Беларуси)  
Особенности транскриптомной активности PR-генов и регуляторов клеточного цикла у проростков *Pinus sylvestris* в условиях инфицирования *Fusarium sp.* по данным RNA-seq  
[Можаровская Л.В.]
- 
28. **Муллахметов Р.И.** (СПбГУ)  
Материнские транскрипты генов ANTP в ооцитах *Platynereis dumerilii*  
[Муллахметов Р.И., Маслаков Г.П., Кулакова М.А.]
- 
29. **Новикова Ю.А.** (ИБР РАН)  
Исследование роли минорных субпопуляций мезенхимы в морфогенезе легких мыши  
[Новикова Ю.А., Говорова И.А., Никиточкина С.Ю., Сулягина О.И., Воротеляк Е.А.]
-



- 
30. **Одегов Д.О.** (ИБГ РАН)  
Использование микросателлитных маркеров для генетической идентификации видов на примере ранее не изученной популяции кавказских скальных ящериц рода *Darevskia*  
[Одегов Д.О., Паршукова В.А., Аракелян М.С., Мартиросян И.А.]
- 
31. **Панкратова М.Д.** (ИБР РАН)  
Сигнальный путь YAP/TAZ при моделировании развития кожи человека с использованием ИПСК  
[Панкратова М.Д., Рябинин А.А., Калабушева Е.П., Стариннов З.Р., Воротеляк Е.А.]
- 
32. **Петрова Т.В.** (ЗИН РАН)  
Митохондриальный геном боялычной сони *Selevinia betpakdalaensis* и филогенетическая реконструкция семейства Gliridae  
[Петрова Т.В., Паницина В.А., Бодров С.Ю., Абрамсон Н.И.]
- 
33. **Попик Е.А.** (ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России)  
Экспрессия компонентов внеклеточного матрикса и белков десмосомы в ИПСК и на ранних стадиях дифференцировки дофаминергических нейронов с заменой G2019S в LRRK2  
[Попик Е.А., Спасельникова А.В., Шарова Е.И., Скородумова Л.О., Канаева В.А., Олехнович Е.И., Лагарькова М.А., Богомазова А.Н., Лебедева О.С.]
- 
34. **Ржанова Л.А.** (ИБР РАН)  
Перспективы генетического репрограммирования ретинального пигментного эпителия у млекопитающих и человека для науки и медицины  
[Ржанова Л.А., Александрова М.А.]
- 
35. **Рябченко А.С.** (ИБР РАН)  
Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток макак-резуса (*Macaca mulatta*) путем репрограммирования мультипотентных стволовых клеток жировой ткани  
[Рябченко А.С., Абдыев В.К., Воротеляк Е.А.]
- 
36. **Садриев К.А.** (ННЦМБ ДВО РАН)  
Экспрессия генов *sfrp* при регенерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix*  
[Садриев К.А., Гирич А.С.]
- 
37. **Сивопляс Е.А.** (МПГУ)  
Исследование экспрессионной активности высококонсервативного гена *Ras85D*  
[Сивопляс Е.А., Куликов А.М.]
- 
38. **Тайманова О.И.** (МГУ им. М. В. Ломоносова)  
Особенности метаморфоза форониды *Phoronopsis harmeri*  
[Тайманова О.И., Ивашкин Е.Г., Апарина М.С., Темерева Е.Н.]
- 
39. **Ткаченко М.Д.** (ИБР РАН)  
Влияние флуоксетина на процессы созревания ооцитов мыши: молекулярные аспекты  
[Ткаченко М.Д., Никишин Д.А.]
- 
40. **Федорова Н.Б.** (ИЦиГ СО РАН)  
Tetraptera Б.Л. Астаурова и генетика симметричных признаков  
[Федорова Н.Б., Чадов Б.Ф.]
- 
41. **Фролова В.С.** (МГУ им. М.В. Ломоносова)  
Влияние внутриклеточного серотонина на доимплантационное развитие мыши  
[Фролова В.С., Никишина Ю.О., Никишин Д.А.]
- 
42. **Чекунова А.И.** (ИБР РАН)  
Эволюционная изменчивость консервативного гена *ras85D*  
[Чекунова А.И., Сорокина С. Ю., Бахтояров Г. Н., Куликов А. М.]
- 
43. **Чельшева Л.А.** (ИЭМ)  
Определение *in situ* общегеномного содержания H3K27me2 - эпигенетического маркера транскрипционно-неактивного хроматина в предимплантационных зародышах мыши, культивируемых *in vitro* в присутствии бисфенола а и лактоферрина  
[Чельшева Л.А., Нониашвили Е.М., Паткин Е.Л.]
- 
44. **Черкашина О.Л.** (ИБР РАН)  
Связь активности YAP с паттерном пролиферации кератиноцитов в коже человека  
[Черкашина О.Л., Цитрина А.А., Аболин Д.С., Косых А.В., Воротеляк Е.А., Калабушева Е.П.]
-

- 
45. **Чикина Е.А.** (ИБР РАН)  
Транскриптомные изменения клеток миндалевидного тела мышей линий C57Bl/6 и BTBR  
в модели обучения страхом  
[Чикина Е.А., Мельникова В.И., Шагимарданова Е.И., Цыбко А.С.]
- 
46. **Шалутина Ю.А.** (СПбГУ)  
Поиск стволовых клеток в яичниках постнатальных стадий онтогенеза зебровой амадины  
*Taeniopygia guttata* (Aves, Passeriformes)  
[Шалутина Ю.А., Кондакова Е.А., Кулак М.М., Галкина С.А.]
- 
47. **Шевелева О.Н.** (ИБР РАН)  
Генетические подходы к моделированию оверэкспрессии различных генов в индуцированных  
плюрипотентных стволовых клетках и получение генномодифицированных макрофагов человека  
[Шевелева О.Н., Буторина Н.Н., Кузьяева В.И., Медведев С.П., Протасова Е.А., Ненашева Т.А., Лядова И.В.]
- 
48. **Шмуклер Ю.Б.** (ИБР РАН)  
Все транскриптеры в одной яйцеклетке: транскриптомный анализ эмбриональных  
транскриптерных систем  
[Шмуклер Ю.Б., Фролова В.С., Никишин Д.А.]
- 
49. **Яковлев Н.В.** (МГУ им. М. В. Ломоносова)  
Изучение неспецифического взаимодействия SpCas9 с ДНК при помощи методов  
молекулярной динамики  
[Яковлев В.А., Кристовский Н.В., Армеев Г.А., Шайтан А.К.]
-



**ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ  
им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН**



**Тезисы Всероссийской научной  
конференции  
с международным участием,  
посвященной Юбилею  
академика Б.Л. Астаурова  
«Генетика  
и индивидуальное развитие»  
29–30 октября 2024 г.**



группа компаний



## Организационный комитет Юбилейной конференции

**Васильев А.В.,**

**Председатель Оргкомитета**

чл.-корр. РАН, д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,  
Кафедра эмбриологии Биологического факультета  
Московского государственного университета  
им. М.В. Ломоносова

**Захаров И.С.,**

**Заместитель председателя Оргкомитета**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Воротеляк Е.А.,**

**Организатор школы-конференции**

**“Генетическая модификация  
и анализ генома клеток”**

член-корр. РАН, д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Алёшина Н.М.,**

**Ответственный секретарь Оргкомитета**

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Астаурова Е.Б.**

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Васецкий Е.С.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,  
Институт Гюстава Русси,  
Национальный центр научных исследований,  
Вильжюиф, Франция

**Волина Е.В.**

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Георгиев П.Г.**

академик РАН, д.б.н.

Институт биологии гена РАН

**Евгеньев М.Б.**

д.б.н.

Институт молекулярной биологии  
им. В.А. Энгельгардта РАН

**Зарайский А.Г.**

д.б.н., профессор

Институт биоорганической химии  
им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

**Костюченко Р.П.**

к.б.н., доцент

Кафедра эмбриологии Биологического факультета  
Санкт-Петербургского государственного  
университета

**Краус Ю.А.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Куликов А.М.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Нижников А.А.**

д.б.н., профессор РАН

Кафедра генетики и биотехнологии Биологического  
факультета Санкт-Петербургского государственного  
университета

**Никишин Д.А.**

к.б.н.

Кафедра эмбриологии Биологического факультета  
Московского государственного университета  
им. М.В. Ломоносова,  
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Озернюк Н.Д.**

д.б.н., профессор

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Павлов Д.С.**

академик РАН, д.б.н.

Институт проблем экологии и эволюции  
им. А.Н. Северцова РАН

**Серов О.Л.**

д.б.н.

Институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск

**Хабарова М.Ю.**

к.б.н., доцент

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Шарова Н.П.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Исследование гетерогенности дермальных фибробластов,  
изолированных из кожи человека**

Д.С. Аболин\*<sup>1</sup>, Е.П. Калабушева<sup>1</sup>, О.С. Роговая<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [danilabolin@mail.ru](mailto:danilabolin@mail.ru)

Гетерогенность фибробластов (ФБ) кожи может проявляться как за счет принадлежности к разным слоям дермы (папиллярному и ретикулярному), так и при ранозаживлении, когда часть клеток формирует грануляционную ткань. Гетерогенность ФБ у мышей подробно описана, данных по коже человека значительно меньше. Выявление гетерогенности дермальных ФБ человека позволит лучше понимать механизмы поддержания гомеостаза кожи и ранозаживления.

Эксперименты проводили *in vitro* на тотальной фракции ФБ кожи человека. В трехмерной модели кожи, сфероидах, при добавлении кератиноцитов, получилось выделить CD26+ и CD26- популяции ФБ. Этот маркер в коже мыши типичен как для ретикулярной дермы, так и для миофибробластов, участвующих в регенерации. При помощи иммунофлюоресцентного окрашивания и конфокальной микроскопии выявили, что CD26 в сфероидах колокализован с маркерами FAP, YAP1 и En1, следовательно, выявленная популяция клеток имеет провоспалительный характер. Так как в коже мыши подобный фенотип возникает вследствие активации сигнального каскада YAP1, обрабатывали культуру ФБ человека ингибитором вертепорфином (ВП). Верифицировали действие ВП на модели шинированной раны мыши: ВП снижал проявление фибротических изменений в регенерирующей коже. Между тем, ингибирование YAP1 каскада не повлияло на экспрессию CD26 и локализацию CD26+ клеток в сфероидах. Поскольку сигнальный путь YAP1 является механочувствительным, предположили, что клетки приобретают экспрессию CD26/En1 при контакте с жестким культуральным пластиком, поэтому провели эксперименты, в которых ФБ помещали в менее жесткий коллагеновый гель. ВП ингибировал приобретение сократительного фенотипа у ФБ, что характеризовалось снижением скорости контракции геля и отсутствием экспрессии гладкомышечного белка SM22 $\alpha$ , однако не оказывал влияния на экспрессию CD26. Активацию YAP1 и появление CD26 у ФБ кожи получилось предотвратить путем культивирования свежеизолированных ФБ на поверхности коллагенового геля.

Таким образом, дермальные ФБ человека при воспалительных процессах могут приобретать CD26/En1 фенотип, характеризующий фибротическое поведение субпопуляции. Ингибирование сигнального пути YAP1 препятствует экспрессии этих маркеров, следовательно, ингибиторы этого каскада являются перспективным средством терапии фибротических заболеваний кожи человека.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ (проект 21-74-30015). Донорский материал получен из ФГБУ Госпиталь им. Вишневского с добровольного информированного согласия. Клеточные линии предоставлены УНУ Коллекция клеточных культур ИБР РАН.*

Устный доклад

**Реконструкция филогении и эволюционной истории полевочьих:  
от отдельных генов к геномным исследованиям**

Н.И. Абрамсон\*<sup>1</sup>, Е.К. Скалон<sup>1</sup>, Т.В. Петрова<sup>1</sup>, И.А. Двояшев<sup>1,2</sup>, С.Ю. Бодров<sup>1</sup>,  
В.А. Паницина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

\* *natalia\_abr@mail.ru*

Полевки и лемминги (подсемейство Arvicolinae) в течение многих лет оставались одной из самых сложных групп в плане анализа эволюционной истории и филогенетических связей. Это связано с двумя основными причинами: а) группа испытала очень быструю, взрывную адаптивную радиацию, в течение последних 7 млн лет, б) представители подсемейства распространены во всех природных зонах и ландшафтах северного полушария и освоили все возможные экологические ниши, включая подземные, высокогорные и арктические тундры, поэтому одной из сложнейших задач для любого исследователя, нацеленного на решение этих проблем – получить всеобъемлющую выборку для анализа. Предыдущие многочисленные попытки выявить родственные связи надвидовых таксонов подсемейства с использованием отдельных локусов и неполной выборки не дали надежных результатов. В нашем предыдущем исследовании (Abramson et al., 2021) на основе анализа митохондриальных геномов нам удалось преодолеть одно из препятствий и собрать всеобъемлющую выборку, включающую почти все рода и подрода подсемейства за счет включения музейных образцов.

Анализ конкатенированного выравнивания 11 391 п.н. белок-кодирующих митохондриальных генов позволил получить дерево с высокими поддержками основных узлов, но не смог разрешить порядок расхождения и взаимосвязи таксонов на уровне триб в пределах первой и последней, самой большой волны радиации. К тому же, несмотря на то, что полные митогеномы широко использовались в последние десятилетия для реконструкции филогенетических отношений внутри многих групп и демонстрировали надежные филогении с сильной поддержкой ветвей, к филогенетическим выводам, сделанным только на основе митогеномов, следует относиться с большой осторожностью, прежде всего из-за возможных событий интрогрессии генов, насыщения и сильного давления отбора.

В настоящей работе мы мы продолжаем тестировать филогенетические связи надвидовых таксонов в пределах подсемейства Arvicolinae, используя два набора данных ядерного генома: 1) RNA-seq (транскриптомы 29 видов Arvicolinae и 1069 генов общей длиной 786 579 п.н. и 2) данные quaddRADseq (15 899 SNP для 52 видов). Таким образом, в ходе исследования мы тестировали: 1) насколько согласуются топологии и времена дивергенции основных линий по данным ядерного и митохондриального геномов; 2) относительную роль в распутывании быстрых радиаций количества используемых признаков и количество таксонов; 3) и возможно ли справиться с задачей распутывания «жестких» политомий, образуемых короткими ветвями у основания дерева.

*Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 19-74-20110-П.*

**Регуляция экспрессии генов белков теплового шока в процессе реагрегации  
клеток губки *Halisarca dujardini***

К.И. Адамейко\*<sup>1</sup>, О.И. Кравчук<sup>1</sup>, Ю.В. Люпина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *kim.adameyko@gmail.com*

Фактор транскрипции теплового шока 1 (HSF1) играет важнейшую роль в клеточном ответе на тепловой шок, а также на иные метаболические, химические и генетические стрессы. Цель нашей работы — анализ роли HSF1 в регуляции экспрессии генов у базальных многоклеточных животных. В связи с глобальным изменением климата особую актуальность эта тема имеет для морских беспозвоночных. Среди них губки представляют особый интерес благодаря их уникальной способности к регенерации полного тела – реагрегации клеток после диссоциации. Объектом нашего исследования является губка *Halisarca dujardini*, обитающая в том числе в прибрежной зоне Белого моря, для которой характерны выраженные сезонные перепады гидрологических параметров среды.

Мы провели обширное геномное и транскриптомное секвенирование этой губки, в том числе нами были получены транскриптомы образцов, собранных во все периоды годового жизненного цикла, на трёх стадиях эксперимента по реагрегации клеток: интактный организм, клеточная суспензия сразу после механической диссоциации, клеточные агрегаты спустя 24 часа.

В геноме *Halisarca dujardini* идентифицирован один ген HSF1 с несколькими потенциальными изоформами, подтвержденными в транскриптомах, а также шесть структурно сходных генов белка теплового шока 70 (HSP70), только один из которых находится под контролем HSF1. Консервативный ДНК-связывающий домен HSF1 был проанализирован и сравнен с его человеческим аналогом с использованием 3D-моделирования.

Экспрессия HSF1 снижалась в клеточных агрегатах во все периоды, кроме летнего пострепродуктивного, тогда как изоформы HSP70 демонстрировали обратный паттерн, при этом в осенне-зимний период роста и начала гаметогенеза их экспрессия в агрегатах увеличивалась до 10 раз по сравнению с базальным уровнем в интактном организме. Реагрегация нарушалась в присутствии ингибиторов HSF1, однако уровень экспрессии белка HSP70 не менялся. Также мы исследовали участие HSF1 в регуляции генов, связанных с метаболизмом железа и функцией митохондрий.

Наше исследование подчеркивает многогранную роль HSF1 в регуляции экспрессии *Halisarca dujardini*, выходящую за рамки его традиционной связи с реакцией на тепловой шок. Неэффективность ингибирования HSF1 в модуляции уровней HSP70 указывает на наличие дополнительных регуляторных механизмов у этих базальных организмов. Это исследование расширяет наше понимание функции HSF1 в морфогенетических процессах ранних многоклеточных видов, находящихся на предтканевом уровне развития.

Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2024 г. (№ 0088-2024-0009).

**Анализ экспрессии генов системы toll-подобных рецепторов при воздействии этанола в эксперименте на разных стадиях онтогенеза**

М.И. Айрапетов<sup>\*1,2</sup>, С.О. Ереско<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

\* *interleukin1b@gmail.com*

Существует представление о том, что система toll-подобных рецепторов может представлять собой одно из таких звеньев в патогенезе алкогольного нейровоспаления. В связи с этим существует интерес в изучении данной системы на различных моделях длительной алкоголизации в различных отделах головного мозга. Кроме того, существует необходимость в фармакологической коррекции наблюдаемых изменений в данной системе потенциальными фармакологическими агентами.

Цель работы заключалась в исследовании состояния экспрессии генов системы toll-подобных рецепторов (TLR) в структурах головного мозга при моделировании взрослой алкоголизации, пренатального воздействия этанола на крысах Вистар и подросткового воздействия этанола на *Danio rerio*. Также в задачи входило выполнение фармакологической коррекции молекулярных механизмов системы TLR потенциальными фармакологическими агентами, такими как налоксон (NA), рифампицин (RIF), азитромицин (AZM) и гинзенозиды (GINZ).

По результатам исследований на используемых моделях воздействия этанола на разных стадиях онтогенеза организма нами были получены сведения о состоянии экспрессии генов системы TLR в различных структурах головного мозга взрослых крыс, в мозге крысят с пренатальным воздействием алкоголя, а также в головном мозге рыб *Danio rerio* в отсроченном периоде развития после подросткового воздействия этанола. Был выполнен анализ экспрессии генов системы TLR (*Tlr3, Tlr4, Tlr7, Hmgb1, Myd88, Ticam, Md2, Nfkb1, Irfs, Il1β, Ccl2, Il4, Il6, Tnfα, Ifny, Il10, Il11, Il13*). Были получены о наличии изменений в экспрессии ряда генов при разных моделях алкоголизации. Исследования на возможность фармакологическую коррекцию молекулярных механизмов системы TLR такими соединениями как NA, RIF, AZM и GINZ показали, что они обладают возможностью вносить изменения в патогенетические механизмы, наблюдаемые в системе TLR на уровне мРНК. Полученные нами сведения об изменении активности генов нейровоспаления при моделировании во воздействия этанола на разных стадиях онтогенеза являются оригинальными и указывают на участие исследуемой системы в патогенетических механизмах, развивающихся после длительного поступления этанола в организм.

*Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (2022-2025 гг.) «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддитивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС», шифр FGWG-2022-0004.*



## Влияние антидепрессантов группы СИОЗС на функциональный статус яичника мыши

Н.М. Алёшина\*<sup>1</sup>, М.В. Бекетова<sup>2</sup>, Д.А. Никишин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* *ninalyoshina@gmail.com*

Женская репродуктивная система крайне уязвима к внешним воздействиям, так как их влияние сказывается не только на работе организма женщины, но и может иметь долгосрочные последствия на жизнь ее будущих потомков. По данным ВОЗ, женщины в два раза чаще мужчин страдают от депрессии, причем большинство случаев приходится на детородный возраст. Наиболее распространенные препараты при лечении депрессии, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), способны влиять на женскую репродуктивную функцию, при этом оценка негативных последствий такой терапии до сих пор остается предметом споров среди ученых.

В наших недавних исследованиях продемонстрирован активный транспорт серотонина в овариальных фолликулах, особенно в ооцитах, что подтверждает важность роли этого нейромедатора в физиологии яичников. Некоторые исследования показали негативное влияние СИОЗС на выработку эстрадиола фолликулярными клетками. Целью нашего исследования было изучить молекулярные механизмы, опосредующие влияние флуоксетина, классического СИОЗС, на функцию яичников.

В рамках работы мы использовали две модели (с участием половозрелых и препубертатных мышей) краткосрочного системного воздействия СИОЗС, отражающие дозы, применяемые терапии депрессии человека (флуоксетин, 20 мг/кг, 7 дней). После воздействия уровень серотонина в сыворотке крови подопытных мышей снизился до ~6% от нормы в обеих моделях. Флуоксетин не оказывал существенного влияния на уровень эстрадиола, фолликулостимулирующего гормона, лютеинизирующего гормона и эстральный цикл мышей. Активность транспорта серотонина снижалась в ооцитах растущих фолликулов. Анализ профилей экспрессии генов методом ПЦР в реальном времени выявил статистически значимое снижение ( $p < 0,05$ ) для ключевых маркеров, связанных с созреванием ооцитов (*Gdf9*, *Bmp15*, *Bmp6*), маркеров функционального состояния гранулезных клеток (*Lhr*, *Fshr*, *Ptgs2*) и стероидогенных ферментов (*Cyp19a1*, *Cyp17a1*, *Cyp11a1*) в яичниках препубертатных мышей. Хотя аналогичные тенденции наблюдались и у взрослых мышей, количество эффектов с статистически значимыми различиями было сравнительно ниже, что указывает на то, что влияние флуоксетина более выражено в ходе роста фолликула. У взрослых самок воздействие флуоксетина вызывало снижение качества незрелых яйцеклеток и количества овулировавших ооцитов. Полученные данные в совокупности свидетельствуют о негативном влиянии флуоксетина и сниженного серотонина на функциональную динамику фолликулогенеза и работу яичников.

*Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН, в рамках Государственного задания № 0088-2021-0009 при поддержке гранта РФФИ №22-74-10009.*

Стендовый доклад

**Экспрессия нейрогенных маркеров в развитии стоматогастрической системы моллюсков: неожиданные параллели с позвоночными**

М.С. Апарина\*<sup>1,2</sup>, А.И. Богомолов<sup>2</sup>, М.В. Мамаева<sup>2</sup>, Е.Е. Воронежская<sup>2</sup>, Е.Г. Ивашкин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [aparina.margarita@gmail.com](mailto:aparina.margarita@gmail.com)

Развитие нервных систем Bilateria демонстрирует ряд консервативных черт, особенно хорошо изученных в нервных системах головы и тела. Последние исследования показывают, что стоматогастрическая нервная система также обладает многими консервативными чертами, несмотря на то что она детально изучена только у ограниченного числа групп животных. В нашей работе мы используем модель большого прудовика (*Lymnaea stagnalis*) для описания развития стоматогастрической нервной системы.

Стоматогастрическая нервная система *Lymnaea stagnalis* включает пару буккальных ганглиев и сеть нейронов в кишечнике. Для изучения её развития мы применяем комбинацию классических морфологических методов, исследование пространственной экспрессии генов с помощью метода HCR *in situ* и сканирующую конфокальную микроскопию.

Закладка буккальных ганглиев происходит в карманообразных структурах в глубине глотки на стадии поздней трохофоры – раннего велигера. Нейрогенный эпителий буккальных ганглиев характеризуется экспрессией генов *Otx* в anteriорной части и *Nk2.2* в posteriорной. В отличие от других ганглиев, клетки, формирующие буккальные ганглии, не совершают значительных миграций, создавая многослойную структуру, прилегающую к нейрогенному эпителию.

Клетки, экспрессирующие гены дифференцировочной последовательности нейронов (*SoxB1*, *Ngn*, *Ascl*, *NeuroD*, *Elav*), распределены между разными слоями клеток без четкой стратификации. Мы также обнаружили, что буккальные ганглии являются зоной экспрессии генов *Dachshund* и *Dbx*, а также *Wnt4*, известных своей ролью в формировании стоматогастрической нервной системы у других беспозвоночных и в дифференцировке нейронов заднего мозга у позвоночных.

В целом, наши исследования выявили ряд характеристик, свидетельствующих об эпителиальном характере нейрогенеза буккальных ганглиев. Это подтверждает гипотезу о происхождении нервной трубки позвоночных за счет морфогенезов, происходивших в стенке ротовой полости общего предка первичноротых и вторичноротых животных.

Автор выражает благодарность лаборатории сравнительной физиологии развития при ИБР им. Н.К. Кольцова РАН и лаборатории систематики и эволюции паразитов при ИПЭЭ им. А. Н. Северцова РАН, грант № 22-14-00375 РАН (<https://rscf.ru/project/22-14-00375/?ysclid=lxzsmzsqde955334999>)

Устный доклад

**Поиск генетических основ появления и развития парных конечностей  
у челюстноротых путем исследования современных представителей  
эволюционно древних групп**

А.В. Байрамов\*<sup>1</sup>, Г.В. Ермакова<sup>1</sup>, В.А. Любецкий<sup>2</sup>, А.Г. Зарайский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

\* *andrbayr@gmail.com*

Проблема преобразования плана строения организмов в ходе эволюции – одна из важнейших в биологии. Основой таких преобразований, наряду с изменениями регуляторных элементов генома, могут являться и изменения генотипа, в том числе появление и утрата генов, регулирующих развитие фенотипических признаков. В последние годы были получены геномные сиквенсы целого ряда представителей базальных групп позвоночных – бесчелюстных (миног и миксин) и челюстноротых (хрящевых и осетрообразных рыб). Эти новые данные позволяют изучать особенности формирования плана строения и отдельных структур у представителей филогенетически древних групп совмещая биоинформатический анализ геномов и транскриптомов с функциональными лабораторными исследованиями. Такой комплексный подход к изучению генетических основ морфогенеза отдельных структур может позволить выявить базовые механизмы, обеспечившие их появление в эволюции.

В своей работе мы разрабатываем метод массового поиска генов, появившихся или исчезнувших на определенном филогенетическом уровне и в настоящее время используем его для поиска генов, появление которых могло быть связано с возникновением парных конечностей у челюстноротых. У современных представителей другой эволюционной линии позвоночных - бесчелюстных (миног и миксин) - парные конечности отсутствуют, а гомология парных конечностей вымерших бесчелюстных с конечностями челюстноротых остается дискуссионным вопросом. Это позволяет рассматривать парные конечности в качестве уникального признака челюстноротых. Для выявления генетического фундамента, обеспечившего появление парных конечностей, мы проводим поиск и функциональное исследование генов, впервые появившихся у челюстноротых и участвующих в индукции и развитии зачатков парных плавников у представителей эволюционно древних линий позвоночных - хрящевых и осетрообразных рыб. Плавники представителей этих групп, содержащие полный набор эндоскелетных элементов, рассматриваются в качестве базовой модели парных конечностей. В эволюции они послужили основой для формирования высоко специализированных плавников костистых рыб и пятипалой конечности наземных животных. Проводимые нами работы включают анализ геномной ортологии у представителей основных групп позвоночных на основе доступных геномных сиквенсов, а также получение новых транскриптомных данных (RNAseq) по плавникам хрящевых и осетрообразных рыб. Результаты биоинформатических исследований служат основой для функционального изучения найденных генов лабораторными методами.

*Исследование проводится при финансовой поддержке РФФ, грант № 23-74-30005 (ЗАГ) и № 24-44-00099 (международный конкурс, ЛВА).*

Устный доклад

**Половая дифференциация, партеногенез и андрогенез:  
гипотезы Б.Л. Астаурова и современные представления о разнообразии  
генетических механизмов детерминации пола у животных**

И.Ю. Баклушинская\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *i.bakloushinskaya@idbras.ru*

В XXI в. появились первые исследования, на основе которых была выдвинута гипотеза о том, что эволюция механизмов детерминации пола – это в первую очередь эволюция регуляции транскрипции. Вместе с тем, существенно более ранние работы, в том числе не только теоретические, но и имевшие практический выход, блистательно подтверждают такой путь эволюции. Примером тому могут служить эксперименты Б.Л. Астаурова на тутовом шелкопряде, в результате которых были разработаны методы, позволившие внедрить в практику модифицированные (из-за воздействия высоких температур или радиации на неоплодотворенные яйца) линии тутового шелкопряда. В этих линиях на протяжении многих поколений поддерживался партеногенез или, при других условиях, – андрогенез. Стабильность такого рода в очередной раз привлекает внимание к вопросу об эволюционном значении полового размножения. Необычайно интересное видение этой проблемы представляет гипотеза Б.Л. Астаурова о "преодоления запрета" на удвоение генома у животных, имеющих половые гетерохромосомы, а именно возможность видообразования путем непрямого (через партеногенез и гибридизацию) происхождения естественной полиплоидии.

В современной парадигме эволюции детерминации пола разные группы позвоночных, претерпевшие несколько раундов дубликации генома, могут иметь генетический или т.н. "средовой" тип детерминации пола (Environmental Sex Determination, ESD) при наличии или отсутствии гетероморфных половых хромосом. Эпигенетические регуляторные механизмы в частном случае ESD, температурозависимой детерминации пола (TSD), являются связующим звеном между внешними (вне организменными) факторами и геномом. Переключателем развития гонад мужского или женского типа и половой дифференциации может быть определенное пороговое значение температуры. Такой механизм, очевидно, должен иметь негативные последствия в случае резкого изменения климата для пойкилотермных животных с TSD. В случае генетического типа детерминации пола в разных группах животных описаны различные варианты половых хромосом, вплоть до множественных или, напротив, единичных, например, X0. Вопрос о наличии триггера/переключателя в данном типе детерминации пола в разных группах решается множеством способов. Это может быть четко определенный триггер, например, ген *Sry* (хотя есть исключения) как у плацентарных млекопитающих, но в большинстве случаев есть предположения о взаимодействии некоторой группы генов, регуляция которых приводит к формированию полоспецифичных характеристик организма.

*Исследование проводится в рамках Госзадания ИБР РАН №0088-2024-0011.*

### Экспрессия дублицированных гомологов генов *Raxb* у олигохет

А.М. Бёттхер \*<sup>1</sup>, Е.А. Чеченева<sup>1</sup>, Р.П. Костюченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* [anboet@mail.ru](mailto:anboet@mail.ru)

Гены семейства *Rax* кодируют транскрипционные факторы, важные для формирования различных органов (почки, мышцы, нервная система и органы чувств) во время эмбрионального развития. Особый интерес представляет подсемейство генов *Raxb*, в которое входят ключевые эволюционно консервативные регуляторы программы развития компонентов зрительных анализаторов и структур нервной системы у животных. Консервативность генов *Raxb*, выраженная не только в особенностях их организации, но и в контролируемых ими программах морфогенеза у эволюционно далёких организмов, была неоднократно показана в различных экспериментах. При этом дубликации гена *Raxb* являются довольно редким событием среди всех групп животных. Используя транскриптомный анализ для нескольких видов аннелид (полихет и олигохет), мы показали наличие паралогов этого гена у олигохет из числа энхитреид и наидид.

Полученные нами с помощью РНК-гибридизации *in situ* данные на олигохетах *Enchytraeus coronatus* и *Nais communis*, указывают на экспрессию дублицированных гомологов *Raxb* как в ходе эмбрионального, так и постэмбрионального развития. Кроме того, при регенерации изученных олигохет, как и при паратомии у *N. communis*, гены *Raxb* демонстрируют экспрессию *de novo* в регенерате или зоне деления. При этом паралоги характеризуются различными паттернами экспрессии. Выявленные различия во временном и пространственном характере экспрессии паралогов *Raxb* могут указывать на потенциальное разделение функций у дублицированных гомологов.

Проект выполняется при поддержке гранта РФФ 24-24-00149 с использованием оборудования РЦ РМиКТ СПбГУ.

**Генетические программы перехода от митоза к мейозу в жизненных циклах  
диплоидных организмов**

Ю.Ф. Богданов\*<sup>1</sup>, Т.М. Гришаева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

\* *grishaeva@vigg.ru*

У животных и растений мейоз завершает жизненный цикл половозрелых организмов. У грибов мейоз даёт начало новому жизненному циклу гаплоидных организмов. Моделями для изучения механизмов мейоза служат дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, нематода *Caenorhabditis elegans*, насекомое *Drosophila melanogaster*, рыба *Danio rerio*, мышшь *Mus musculus*, растения *Arabidopsis thaliana* и *Zea mays* и в меньшей степени другие организмы. Удобными экспериментальными моделями для изучения перехода от митоза к мейозу являются микроспороциты растений в культуре *in vitro*, а также дрожжи. На этих моделях установлено, что мейоз начинается в результате активации в интерфазе генетических программ репарации-рекомбинации и ремоделирования хромосом. У мышей триггерами активации служат белки STRA8 и MEIOSIN. В результате реализации первой программы образуются хиазмы, попарно соединяющие гомологичные хромосомы. В результате второй программы появляется петельно-осевая организация хромосом. Хромосомные оси соединяются попарно. Формируется синаптонемный комплекс, который помогает рекомбинации. Кроме того, появляется запрет на разъединение в метафазе I мейоза центромерных районов сестринских хроматид.

У *S. cerevisiae* описано более 300 генов мейоза. У других объектов таких генов выявлено значительно меньше. Механизм мейоза консервативен, и предполагается, что количество мейотических генов у других организмов должно быть близким к 300. Недостающие гены и их белковые продукты понемногу выявляются, в том числе, методами биоинформатики. Однако, существуют негомологичные белки, выполняющие сходные функции. Так, белки, формирующие синаптонемные комплексы, оказались разными в разных линиях развития эукариот.

Изучая мейоз-специфичные белки модельных организмов с помощью методов биоинформатики, мы установили, что среди белков рекомбинации наиболее консервативны белки RAD51 и DMC1. Они отвечают за точный обмен одноцепочечными ДНК после двойных разрывов. Показано также, что мейоз-специфичный когезин REC8 является эволюционно более молодым, чем его соматический ортолог RAD21. Выявлено, что С-концевой участок мейотического белка-шугошина (протектора когезии сестринских центромер) консервативен и содержит «аргининовую гребёнку», которая обеспечивает связь с центромерной ДНК и, возможно, помогает сохранять когезию.

Устный доклад

## Пространственная визуализация экспрессии генов (*in situ* HCR) для оценки модуляции сигнальных путей в процессе раннего развития *Spiralia*

А.И. Богомолов\*<sup>1</sup>, Ю.А. Краус<sup>1,2</sup>, Е.Е. Воронежская<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* [bogomolov.anton2000@gmail.com](mailto:bogomolov.anton2000@gmail.com)

Самым чувствительным и важным этапом раннего развития является гастрюляция – стадия, на которой закладывается план строения эмбриона, связанный с активацией определенных генетических сетей, определяющих путь дифференцировки клеток (закладка зародышевых листков). От успешности прохождения данного этапа зависит дальнейшая судьба развивающегося организма. Гастрюляционные морфогенезы и дифференцировка клеток находятся под строгой регуляцией молекулярных каскадов (например, *cWnt* и MAPK), а также малых сигнальных молекул (в частности, серотонина). Нарушение этих регуляций приводит к дефектам развития и патологической морфологии эмбриона. Мы использовали раннее развитие модельного представителя *Spiralia* – пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis* – для картирования экспрессии ряда ключевых транскрипционных факторов в нормальном развитии и при модуляции активности сигнальных путей.

Мы использовали фармакологическое повышение уровня внутриклеточного серотонина с помощью инкубации в его биохимическом предшественнике (5-НТР), гиперактивацию *cWnt* каскада азакенпауллоном (AZ) и ингибирование MAPK сигнального пути U0126. Морфология эмбрионов определялась с использованием сканирующей электронной и конфокальной микроскопии. Анализ экспрессии генов *brachyury*, *foxA*, *nk6*, *otx* и *soxB1* осуществлялся с помощью метода HCR *in situ* и сканирующей конфокальной микроскопии. Гастрюляция большого прудовика включает три фазы: дифференцировку клеток презумптивной мезодермы; инвагинацию клеток первичной энтодермы; замыкание бластопора. На последовательных стадиях эмбрионального развития были охарактеризованы паттерны экспрессии транскрипционных факторов, ассоциированных с областью бластопора и эктодермальной разметкой тела. Так, *brachyury* локализуется на вегетативном полюсе эмбриона, а затем проявляется справа и слева от бластопора. Зоны экспрессии *foxA* ассоциированы с вегетативной пластинкой и клетками архентерона. *SoxB1* представлен в большей части эпителиальных клеток (кроме раковинной железы), тогда как *otx* локализован в эктодерме эписферы (кроме церебральных пластинок), а *nk6* в презумптивной мезодерме и эктодерме формирующейся ноги. Гиперактивация *cWnt* каскада и ингибирование MAPK сигнального пути приводят к нарушениям гастрюляционных морфогенезов и формированию экзогаструл, с соответствующими изменениями в паттернах экспрессии генов. Повышение уровня внутриклеточного серотонина не нарушает гастрюляцию, а приводит к мальформациям на постгастрюляционных стадиях развития, однако при этом паттерн экспрессии исследуемых генов не нарушается. Примененный метод *in situ* HCR является перспективным для оценки последствий нарушения активности сигнальных путей и действия малых молекул на экспрессию генов в процессе раннего развития *Spiralia*.

Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам ЦКП ИБР им Н. К. Кольцова РАН и межкафедральной лаборатории электронной микроскопии >>

биологического факультета МГУ за предоставление оборудования для проведения работы. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-14-00375.

Устный доклад

**Характеристика двух типов генов, функционирующих в интерфазном геноме дрозофилы, на примере политенных хромосом**

Т.Ю. Ватолина\*<sup>1</sup>, Н.Е. Воробьева<sup>2</sup>, А.В. Цуканов<sup>3</sup>, В.Г. Левицкий<sup>3</sup>, И.Ф. Жимулев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

\* [vatolina@mcb.nsc.ru](mailto:vatolina@mcb.nsc.ru)

Всё чаще в геноме эукариот выделяют два типа генов: активных только на определенных этапах развития или в отдельных тканях (гены развития) и гены с постоянной экспрессией (гены домашнего хозяйства). Тип действия генов и их структура может зависеть от выполняемой функции. Предложены довольно четкие критерии определения генов домашнего хозяйства: стабильность экспрессии, необходимость продукта гена для поддержания жизнедеятельности, участие в поддержании общего функционирования и клеток и эволюционная консервативность генов. Известно несколько подходов для определения отношения генов к одной из этих категорий. Полагают, что гены домашнего хозяйства должны функционировать постоянно и хроматин в местах их локализации должен быть всегда деконденсированным, что можно наблюдать политенных хромосомах дрозофилы и созданной модели 4НММ. Другим подходом для определения открытого состояния хроматина является метод FAIRE-seq (Formaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements sequencing). Третьим подходом для определения генов домашнего хозяйства является сравнение активности наборов генов в разных культурах клеток. Постоянно активные в различных культурах гены и будут генами домашнего хозяйства. При использовании комбинированных подходов нами было выявлено 6562 гена домашнего хозяйства и 3162 гена развития. Мы сравнили организацию и функционирование генов в объеме полного генома дрозофилы и обнаружили, что эти гены имеют различия по многим характеристикам: критические различия в организации промоторов, длине интронов, экзонов, генов, межгенных спейсеров, числе транскриптов, компактизации хроматина в интерфазном ядре, процессу репликации, локализации специфических белков в кластерах двух типов генов.

Работа поддержана грантом РФФИ 24-14-00133.



**Изменение разметки тела колониального гидроида *Dunatena pumila*  
в ходе метаморфоза**

А.А. Ветрова\*<sup>1,2</sup>, С.В. Кремнёв<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* [lalavetrova@gmail.com](mailto:lalavetrova@gmail.com)

В ходе метаморфоза личинки гидроидов проходят через глубокие структурные преобразования. Например, в случае колониального гидроида *D. pumila* личинка, обладающая единственной орально-аборальной осью тела, после метаморфоза формирует вертикальный первичный побег с разделённой на три зачатка верхушкой и распространяющийся горизонтально столон. Таким образом, у колониальных гидроидов в результате метаморфоза происходит перестройка системы, организованной вокруг единственной оси, в трёхмерную многоосевую систему. Практически отсутствуют данные о том, как при этом меняется разметка тела гидроидов.

Ранее было показано, что молекулярная разметка орально-аборальной оси тела личинки, а также разметка верхушки роста побега колонии *D. pumila* опосредована активностью канонического сигнального пути Wnt. Методом гибридизации *in situ* мы изучили, как меняются паттерны экспрессии генов-лигандов Wnt в ходе метаморфоза личинки *D. pumila*.

Экспрессия гена *DpWnt2*, у личинки выявленная в оральном домене, в ходе метаморфоза визуализируется кольцом вокруг бугорка первичного побега. Сходный паттерн экспрессии можно наблюдать при формировании нового побега на столоне. По всей видимости, *DpWnt2* определяет границу между дифференцированными органами и остальным ценосарком во всех частях колонии *D. pumila*. Так, экспрессия *DpWnt2* визуализируется на границе между верхушкой роста побега и остальным ценосарком колонии на ранних этапах её формирования, а также на границах между зачатками гидрантов и остальной верхушкой роста. В столоне полосы сигнала *DpWnt2* находятся в регионе, где у гидроидов расположена ростовая зона верхушки роста столона, проксимальнее клеток, синтезирующих перисарк.

Экспрессия гена *DpWnt11b* в ходе метаморфоза визуализируется в бугорке первичного побега. Также, экспрессия этого гена выявляется на ранних стадиях морфогенеза верхушки роста побега. Однако, в личинке, столонах и гидрантах экспрессия этого гена не выявляется, что позволяет сделать предположение о том, что ген *DpWnt11b* ассоциирован исключительно с процессом формирования новых побегов колонии *D. pumila*.

Таким образом, показано, что в ходе метаморфоза значительно меняется паттерн экспрессии генов-лигандов Wnt. Усложнение картины экспрессии отражает и опосредует усложнение строения тела гидроидной колонии.

Работа поддержана грантом РФФ 23-74-10046.

### Развитие геккона *Correlophus ciliatus* от откладки яйца до вылупления

Д.П. Вингерт \*<sup>1</sup>, Е.Л. Гонобоблева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* [vingert.31@mail.ru](mailto:vingert.31@mail.ru)

Гекконы - одна из самых представительных и древних линий чешуйчатых рептилий (Squamata), наряду со сцинками (Scincoidea) и ужеобразными (Colubridea). Подавляющее большинство гекконов являются яйцекладущими. Гекконы, как и большинство рептилий, откладывают яйца на относительно поздних стадиях развития, когда происходят процессы органогенеза и роста. К настоящему времени опубликованы описания развития после откладки яйца 6 видов гекконов, данные об особенностях органогенеза представлены единичными работами.

Целью настоящего исследования является описание ряда последовательных стадий развития геккона Реснитчатого бананоеда - *Correlophus ciliatus* (Reptilia, Squamata, Gekkota, Diplodactylidae) в отложенном яйце. Несколько особей Реснитчатого бананоеда содержатся в террариуме при комнатной температуре, самки откладывают яйца от 5 до 9 раз в год. В кладке 1-2 продолговатых яйца, средний размер которых составляет 22x10 мм. Инкубационный период длится от 50 до 65 дней при температуре от 24°C до 27°C. Мы вскрывали яйца и изучали зародышей на 0, 1, 2, 3, 11, 14, 19, 42 и 55 дни инкубации. Зародыши фотографировали *in vivo*, фиксировали в растворе Буэна, изучали и фотографировали при помощи бинокля Leica M205C.

В только что отложенном яйце *C. ciliatus* (стадия 29 ST, по Dufaure and Hubert, 1961) зародыш полностью заключён в амнион, лежит на правом боку на поверхности желточного шара, длина зародыша составляет 3,9 мм. Выявляются непигментированные глаза, слуховые и обонятельные плакоды. Зародыш имеет полный набор туловищных сомитов, хвостовая почка изогнута вентрально. Присутствуют небольшие почки передних и задних конечностей.

В конце 1 дня инкубации мы наблюдали зародышей, длина которых составляла примерно 7,7 мм. Характерными признаками являются выраженные почки передних и задних конечностей, пигментированная сетчатка глаз, изогнутый на вентральную сторону хвост, состоящий более чем из полутора десятка сомитов. По совокупности внешних признаков эти зародыши находились на стадии развития 30 ST. На 19 дне инкубации (стадия 35 ST) зародыш увеличивается до 12 мм, у него сформированы структуры черепа, конечности состоят из трёх отделов, присутствуют перепонки между пальцами, на спине появляются зачатки чешуй. Отчётливо видны наружные половые органы.

К 42 дню зародыш достигает 55 мм (стадия 41 ST). У него различаются яйцевые зубы, видна пигментация сформированных покровов, развитие конечностей достигает почти дефинитивного состояния.

Сравнивая собственные результаты с данным по развитию других гекконов, можно заключить, что у *C. ciliatus* имеются хронологические и структурные особенности развития, особенно проявляющиеся на поздних стадиях развития. Изучение феноменологии развития *C. ciliatus* может послужить основой для будущих исследований в области биологии развития гекконов.

**Влияние пренатального стресса, индуцированного бактериальным  
липолисахаридом (ЛПС), на развитие иммунной системы у мышей**

А.В. Воротников<sup>\*1,2</sup>, М.С. Извольская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *v.alex.2001@yandex.ru*

Согласно современным исследованиям, неблагоприятные воздействия окружающей среды в критические периоды развития физиологических систем плода могут негативно влиять на их становление и функционирование. В раннем онтогенезе реализуются эпигенетические механизмы, обеспечивающие адаптационную пластичность систем. Воздействия стрессогенных стимулов в этот период нарушают программирование регуляторных механизмов развития, что увеличивает риск возникновения различных патологий у потомства. В экспериментах на грызунах показано, что бактериальный ЛПС способен вызывать развитие воспалительных процессов, которые нарушают органогенез у плода, включая развитие различных структур мозга. Однако сведения о его влиянии на развитие иммунной системы плода и отдаленных последствиях этого воздействия единичны. Цель работы – исследовать влияние пренатального системного воспаления, вызванного ЛПС (*E. coli*), на содержание субпопуляций Т-лимфоцитов в тимусе и селезенке и антителообразование к тимус-зависимому антигену в селезенке у половозрелых мышей. Самкам мышей линии Balb/c на 11,5 день беременности внутрибрюшинно вводили ЛПС (100 мкг/кг) в 0,5 мл 0,9% раствора NaCl или 0,9% раствор NaCl (контроль). Рожденному потомству на 30-ый день вводили 10% суспензию эритроцитов барана. На 5-ый день после инъекции в селезенке оценивали количество антителообразующих клеток (АОК) к эритроцитам барана методом Каннингхама. Количественную оценку субпопуляций Т-лимфоцитов в тимусе и селезенке проводили у 35-дневных мышей с помощью двойного мечения моноклональными антителами к поверхностным маркерам CD3, CD4, CD8 и CD25, конъюгированными с фикоэритрином или флуоресцеин-изотиоционатом с последующим анализом на проточном цитофлуориметре. Пренатальное воздействие ЛПС вызывало двукратное снижение количества АОК в селезенке у половозрелого потомства по сравнению с контролем. Анализ клеточного состава субпопуляций Т-лимфоцитов выявил изменения их содержания как в тимусе, так и селезенке. В тимусе наблюдалось снижение доли CD4-хелперов и незначительное увеличение CD8-киллеров и CD25-регуляторных Т-лимфоцитов, тогда как в селезенке доли Т-киллеров и регуляторных Т-супрессоров увеличивались в 2,2-3,2 раза по сравнению с контролем. Общее количество CD3Т-лимфоцитов в тимусе не изменялось. Таким образом, воспаление, индуцированное ЛПС на ранних стадиях развития тимуса, приводит к долгосрочным нарушениям в Т-системе иммунитета и подавлению антителогенеза к тимус-зависимому антигену.

*Автор выражает благодарность Л.А.Захаровой (ИБР РАН). Исследование выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН, № ГЗ 2021 No 0088-2024-0009 (тема 2).*

Стендовый доклад

**РНК-связывающий белок семейства NXF (nuclear export factor) необходим для установления границ оптических долей у *Drosophila melanogaster***

Е.В. Голубкова\*<sup>1</sup>, А.О. Якимова<sup>2</sup>, К.В. Ахромов<sup>1</sup>, Л.В. Барабанова<sup>1</sup>, Л.А. Мамон<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Национальный медицинский исследовательский центр радиологии Минздрава  
России, Москва, Россия

\* [e.golubkova@spbu.ru](mailto:e.golubkova@spbu.ru)

У *Drosophila melanogaster*, как и у всех Opisthokonta, за ядерный экспорт различных мРНК из ядра в цитоплазму отвечает эволюционно консервативный белок Dm NXF1. В соответствии с описанной функцией белок Dm NXF1 выявляется в ядре и ядерной оболочке. Мы впервые описали присутствие белка Dm NXF1 в цитоплазме различных клеток, в том числе нервных. При этом в нервном ганглии в целом существует зональное распределение этого белка, т.е. имеются области, обогащенные белком Dm NXF1. Цитоплазматическая локализация белка Dm NXF1 указывает на то, что функция ядерного экспорта — не единственная функция этого белка у дрозофилы.

Нейрогенез у дрозофилы — высокоорганизованный процесс, требующий строгой регуляции индивидуализации компартментов и установления правильных связей между нейронами. Межклеточные коммуникации являются важным медиатором направления роста аксонов, правильного отслеживания пучков аксонов и выживания нейронов. Локализованные РНК в комплексе с РНК-связывающими белками создают систему быстрой и длительной продукции сигнальных или рецепторных молекул вблизи клеточных мембран глиальных клеток, нейронов и их нейритов. Это определяет межклеточные коммуникации и позволяет установить соответствующие границы между отделами мозга. Мы считаем, что белок Dm NXF1 необходим для формирования внутренней структуры и установления границ в нервной системе дрозофилы.

Определение состава цитоплазматических гранул, содержащих Dm NXF1 и обогащающих специализированные клетки, несомненно, будет способствовать пониманию функций белка NXF1 в развитии и функционировании нервной системы.

*Работа поддержана Санкт-Петербургским государственным университетом НИР 124032000041-1. Авторы приносят благодарность сотрудникам ЦКП “Хромас” СПбГУ и сотрудникам Ресурсного центра развития молекулярных и клеточных технологий СПбГУ.*

Устный доклад

**Изучение процессов развития и старения на модельных объектах стрекающих**

А.П. Григоренко\*<sup>1,2</sup>, Ф.Е. Гусев<sup>1,3</sup>, Т.В. Ерофеева<sup>1</sup>, И.А. Косевич<sup>4</sup>, Е.И. Рогаев<sup>2,4,3</sup>

<sup>1</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Медицинская школа имени Чана при Массачусетском университете, Вустер, США;

<sup>3</sup> Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия;

<sup>4</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* [anast1998@mail.ru](mailto:anast1998@mail.ru)

Стрекающие (Cnidaria) представляют собой разнообразную группу просто организованных беспозвоночных, обладающих высокой пластичностью процессов жизненного цикла, развития и старения. Современные методы молекулярной генетики с использованием широкомасштабного секвенирования позволяют детально изучить особенности геномов стрекающих, эволюции генных семейств, регуляции активности генов, как на уровне целого организма, так и в отдельных клетках.

В то время, как наиболее популярной моделью изучения бессмертия является гидра, другие представители класса гидроидных и некоторые сцифоидные медузы обладают уникальной способностью к обратному развитию с переходом из взрослого состояния на более раннюю стадию развития. В наших исследованиях были разработаны лабораторные модели обратного развития стрекающих, выявлены гены и сигнальные пути, изменяющиеся в ходе обратного развития. Изучение клеточных преобразований в онтогенезе книдарий позволило более детально проследить процесс обратного развития и выявить отдельные его компоненты, которые предполагается в дальнейшем рассмотреть в комплексных системах клеток млекопитающих.

*Авторы выражают глубокую благодарность коллегам лабораторий UMass Chan Medical School, ИОГен РАН, НТУ «Сириус», а также S. Piraino (Università del Salento, Italy); A. Leone (Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Italy); L Sun (New England Biolabs, Inc., USA) за активную поддержку проекта.*

**Свидетельства ранней активации зиготического генома в развитии аннелиды  
*Ophelia limacina***

М.Г. Гринберг\*<sup>1</sup>, И.Е. Борисенко<sup>1</sup>, В.В. Козин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* *greenerkk@gmail.com*

Для многих представителей группы Spiralia характерно стереотипное эмбриональное развитие, характеризующееся ранним определением клеточных судеб, что традиционно связывают с процессами неравномерного распределения материнских детерминант. При этом участие собственного генома зародыша в ходе эмбриогенеза Spiralia остается малоизученными. Для аннелиды *Platynereis dumerilii* с гетероквадрантным спиральным дроблением было показано, что основной переход к зиготической экспрессии генов приходится на период завершения программы спирального дробления. На настоящий момент неизвестно, является ли это консервативной чертой развития аннелид.

В нашей работе мы рассмотрели динамику экспрессии генов в ходе раннего развития аннелиды *Ophelia limacina* с гомоквадрантным спиральным дроблением. Нами были проанализированы данные RNA-seq, полученные путем секвенирования РНК на 5 стадиях развития *O. limacina*: неоплодотворенная яйцеклетка (0 часов после оплодотворения, ч.п.о.), бластула 16-32 клетки (10 ч.п.о.), гастрюла (24 ч.п.о.), трохофора (96 ч.п.о.), взрослый самец (3 года).

Анализ дифференциальной экспрессии генов выявил более 5 тысяч иррегулируемых транскриптов на стадии бластулы по сравнению с яйцом. Данная фракция транскриптов обогащена GO-терминами в категории биологических процессов, связанными с регуляцией транскрипции РНК-полимеразы II, дифференцировкой клеток и развитием нервной системы. Парное сравнение всех стадий позволило оценить общую динамику экспрессии генов, связанных с эмбриогенезом. Некоторые передние нейрональные маркеры (*FoxQ*, *Otx*, *Sox2*) наиболее активно экспрессируются на стадии бластулы, тогда как максимум экспрессии энтодермальных (*Gata4*, *Gata6*, *FoxA*) и мезодермальных маркеров (*FoxC*, *Twist*) приходится на стадии гастрюлы и трохофоры. Кроме того, было обнаружено, что пик экспрессии многих компонентов сигнальных путей TGF-beta и Wnt также приходится на стадию бластулы. Кластеризация генов со схожими временными паттернами экспрессии показала, что кластеры транскриптов с максимумами экспрессии на стадии бластулы обогащены GO-терминами в категории молекулярных функций, связанными с передачей сигналов в клетке и модификациями хроматина. В совокупности полученные данные указывают на начало зиготической экспрессии в развитии *O. limacina* не позже стадии 16-32 клеток, что сопровождается ранней активацией генетических систем паттернирования и дифференцировки.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 23-74-10046.

**Молекулярные и биологические последствия теплового шока у животных**

М.Б. Евгеньев\*<sup>1</sup>, Д.Г. Гарбуз<sup>1</sup>, О.Г. Зацепина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

\* *misha672011@yahoo.com*

После описания пуфов, возникающих в хромосомах дрозофилы после теплового воздействия, а немного позднее генов, отвечающих за синтез белков теплового шока (БТШ) началось интенсивное исследование их роли в функционировании клетки и целого организма. На первом этапе своих исследований мы проследили кинетику синтеза БТШ у различных организмов, населяющих области с различными температурными условиями. Целью этих работ было выяснение роли БТШ и в особенности «главного» белка теплового шока – БТШ70 в адаптации к гипертермии. Проведенные исследования позволили выявить адаптивную роль БТШ70 при экстремальных условиях и описать особенности функционирования системы БТШ у близких форм животных, отличающихся по температуре среды обитания. В наших исследованиях были использованы различные культуры клеток в том числе фибробласты верблюда, а также широкий спектр организмов таких как виды мух-дрозофил и других представителей Diptera, креветки, виды ящериц и пр. Проведенный анализ позволил впервые описать основные молекулярные механизмы, которые выработали различные организмы при адаптации к экстремальным условиям среды обитания. Были также проведены исследования свойств БТШ70, выделяемого из разных организмов и разработаны методы получения этот важнейшего шаперона в препаративных количествах. В серии работ с использованием рекомбинантного БТШ70 человека была продемонстрирована его протективная роль при некоторых нейропатологиях, включая модели старения и различные модели Болезни Альцгеймера. Применение рекомбинантного БТШ70 оказалось также эффективным средством при ЛПС-индуцированном сепсисе, а также на моделях инсульта и при регенерации повреждённого нерва.

**Изучение активности генов нейровоспаления в головном мозге рыб  
*Danio rerio* при моделировании подросткового алкоголизма**

С.О. Ереско<sup>\*1,2</sup>, Л.И. Орлов<sup>1</sup>, С.А. Шамаева<sup>1</sup>, М.И. Айрапетов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,  
Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

\* [erescko.sergei@yandex.ru](mailto:erescko.sergei@yandex.ru)

Подростковый алкоголизм (ПА) является одной из быстрорастущих проблем, перед которой столкнулось общество в настоящее время. Научный интерес представляют изменения в поведенческих и молекулярных механизмах функционирования ЦНС, так как имеется достаточное количество данных, которые свидетельствуют о характерных изменениях ЦНС при поступлении этанол содержащей продукции в организм. В своём исследовании мы сосредоточили внимание на исследовании экспрессии генов нейровоспаления при моделировании ПА на модельном объекте *Danio rerio*.

Моделирование ПА осуществлялось путем помещения рыб *Danio rerio* (n=40) в 1%-ый р-р этанола с 21 по 27 d.p.f., что соответствует подростковому периоду онтогенеза рыб. Концентрация этанола в воде отслеживалась ежедневно. Контрольная группа рыб (n=20) содержалась в воде. Образцы среднего мозга рыб извлекались на холоде, мгновенно замораживались. Реал-тайм ПЦР использовался для оценки уровня экспрессии целевых генов.

Экспрессия гена *Tlr4ba* была оценена в среднем мозге рыб *Danio rerio* в двух точках – в позднем подростковом возрасте  $\approx$  2 мес. (70 d.p.f.), во взрослом возрасте  $\approx$  5 мес. Анализ полученных данных позволил отметить ряд статистически значимых изменений. В среднем мозге уровень экспрессии гена *Tlr4ba* был ниже в 4,75 раз ( $p \leq 0.05$ ) в сравнении с группой контроля в позднем подростковом возрасте после моделирования ПА; в 1,46 раз ( $p \leq 0.05$ ) ниже у взрослых рыб (5 мес.) после моделирования ПА. Сходные данные получены и отношении генов *Il1 $\beta$* , *Hmgb1*, *Il6*. Таким образом, полученные нами данные могут указывать на наличие стойких изменений в системе молекулярных механизмов врожденного иммунитета в среднем мозге *Danio rerio* вследствие ПА. В дальнейшем представляется интересным анализ экспрессии других генов системы врожденного иммунитета, а также анализ продуктов трансляции этих генов белковыми методами.

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России (2022-2025 гг.) «Поиск молекулярных мишеней для фармакологического воздействия при аддиктивных и нейроэндокринных нарушениях и создание новых фармакологически активных веществ, действующих на рецепторы ЦНС», шифр FGWG-2022-0004.



### Морфокинетические параметры культивирования донорских эмбрионов человека

В.Ю. Жилыева\*<sup>1</sup>, Е.М. Комарова<sup>2</sup>, М.А. Ишук<sup>2</sup>, Я.М. Сагурова<sup>2</sup>, Е.А. Лесик<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии  
им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

\* *lera.zhilyaeva.03@mail.ru*

Введение: внедрение в практику вспомогательных репродуктивных технологий инкубаторов, оснащенных системой непрерывной покадровой съемки, или TIME-LAPSE, позволило детально описать предимплантационный период развития эмбриона человека. Данные о морфокинетических особенностях развивающихся доимплантационных эмбрионов, полученные с помощью технологии TIME-LAPSE, могут являться в том числе предиктором имплантационного потенциала эмбриона. В литературе описаны временные интервалы ключевых морфокинетических событий предимплантационного развития эмбрионов пациентов с бесплодием различной этиологии, в то время как аналогичные данные для донорских эмбрионов немногочисленны, что делает исследования в данной области крайне актуальными.

Цель работы: определить временные интервалы ключевых событий предимплантационного этапа развития донорских эмбрионов.

Материал и методы: материалом для исследования послужили 10 донорских эмбрионов, полученных после оплодотворения донорского ооцита донорской спермой. Культивирование эмбрионов проводили в течение 140 часов в инкубаторе отечественного производства, оснащённом системой непрерывной покадровой съемки.

Результаты: в результате анализа видеоизображений развития донорских эмбрионов было показано, что исчезновение обоих пронуклеусов происходило синхронно и в среднем в  $23,45 \pm 2,80$  чпо (часов после оплодотворения) [ME]. Время образования 2-клеточного эмбриона в  $25,4 \pm 2,74$  чпо; 3-клеточного эмбриона в  $36,15 \pm 3,03$  чпо; 4-клеточного эмбриона в  $36,6 \pm 3,02$  чпо; а 8-клеточного эмбриона в  $53,75 \pm 5,34$  чпо. Время начала бластуляции в  $91,05 \pm 8,02$  чпо; а время формирования экспандированной бластоцисты в  $118,15 \pm 4,20$  чпо. При этом явления, имеющего негативное прогностическое значение, а именно «обратного дробления», не наблюдалось ни у одного из анализируемых донорских эмбрионов.

Выводы: последовательный анализ видеоизображений, полученных после культивирования донорских эмбрионов в инкубаторе отечественного производства, оснащённом системой непрерывной покадровой съемки, и сравнение полученных данных с данными литературы показали, что временные интервалы основных событий раннего эмбриогенеза, а именно исчезновения пронуклеусов, образования двух, трех, 4-х и 8-ми клеточного эмбриона, а также время начала бластуляции и формирования экспандированной бластоцисты у донорских эмбрионов и эмбрионов пациентов не отличались между собой.

Устный доклад

## На пути к решению проблемы эмбрионального скейлинга: гипотеза генов-скейлеров и ее подтверждение на эмбрионах лягушки и морского ежа

А.Г. Зарайский\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
РАН, Москва, Россия

\* [azaraisky@yahoo.com](mailto:azaraisky@yahoo.com)

Объяснение феномена эмбрионального скейлинга - способности эмбрионов регулировать свою структуру пропорционально размеру - захватывающая, но до конца не решенная проблема биологии развития. Впервые описанный на эмбрионах морских ежей Гансом Дришем, этот феномен теперь признан ярким примером того, как живые организмы используют неравновесную самоорганизацию, основанную на системах реакции-диффузии (РД), для генерации определяющих эмбриональный паттерн и способных к масштабированию градиентов белков-морфогенов. Хотя в некоторых случаях были описаны конкретные молекулярные механизмы масштабирования градиентов морфогенов, общий подход к целенаправленной идентификации таких механизмов не был разработан до недавнего времени. В поисках решения мы выдвинули гипотезу об обязательном участии в механизмах масштабирования специальных генов, которые мы назвали «скейлерами». Мы предположили, что эти гены обладают двумя важными особенностями: их экспрессия чувствительна к размеру эмбриона, а концентрации их белков детерминируют масштаб градиентов морфогенов. В результате систематического анализа всех известных типов моделей эмбрионального скейлинга, основанных на РД системах, мы показали, что *скейлеры*, действительно, присутствуют явно или неявно во всех этих типах моделей. Чтобы подтвердить гипотезу *скейлеров* мы, во-первых, идентифицировали их у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*, найдя гены, дифференциально экспрессирующиеся в эмбрионах стадии гастрюлы дикого и половинного размера. Мы также описали механизм, с помощью которого один из найденных генов-*скейлеров*, кодирующий металлопротеиназу 3 (Mmp3) и резко снижающий свою экспрессию в эмбрионах половинного размера, регулирует масштабирование градиентов морфогенного белка Vmp и его антагонистов Chordin и Noggin1/2. Во-вторых, чтобы проверить универсальность гипотезы *скейлеров*, мы применили наш метод для выявления скейлеров, которые подстраивают градиенты Vmp/Chordin под размер эмбриона у морского ежа *Strongylocentrotus droebachiensis*. В результате мы установили, что по крайней мере два члена кластера генов, кодирующих астациновые металлопротеиназы семейства Span, а именно *bp10* и *span*, проявляют два свойства, характерные для скейлеров. А именно, их уровни экспрессии значительно увеличиваются в половинных эмбрионах морского ежа, а их белковые продукты специфически разрушают Chordin. Кроме того, в подтверждении влияния *bp10* и *span* на градиент морфогена Vmp мы обнаружили, что потеря функции этих генов приводит к сокращению дорсального домена ядерного эффектора сигнального пути Vmp - pSmad1/5. Результаты наших экспериментов на моделях эмбрионов лягушки и морского ежа не только подтверждают гипотезу скейлеров, но и раскрывают новые механизмы, с помощью которых осуществляется скейлинг градиентов морфогенов, регулирующих дорсо-вентральный паттернинг у эмбрионов этих организмов. Таким образом, гипотеза *скейлеров* и разработанный на ее основе подход к прицельному поиску этих генов открывают многообещающие направления для будущих исследований механизмов скейлинга в различных биологических системах.

### Особенности локализации нейронального белка GAP-43 в ооцитах и ранних эмбрионах мыши

Ф.М. Захарова\*<sup>1,2</sup>, В.В. Захаров<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия

\* [fzakharova@mail.ru](mailto:fzakharova@mail.ru)

GAP-43 – нейрональный белок позвоночных животных, локализованный преимущественно на плазматической мембране аксонных окончаний. GAP-43 играет важную роль в ориентации конусов роста аксонов, регенеративных процессах в нервной системе и синаптической пластичности. Ранее нами было показано, что GAP-43 присутствует в ооцитах мыши на стадии метафазы II, где он локализован преимущественно на веретене деления и центрах организации микротрубочек (ЦОМТ) в цитоплазме. В данной работе с помощью набора первичных антител к белку GAP-43 была исследована его локализация в ооцитах и ранних эмбрионов мыши от стадии зиготы до стадии бластоцисты. Было показано, что в клетках ранних эмбрионов GAP-43 также не связан с плазматической мембраной. На основании полученных данных, в ооцитах и ранних эмбрионах можно выделить три внутриклеточных пула GAP-43: 1) цитоплазматический, 2) ядерный, 3) связанный с тубулиновыми структурами (веретеном деления и ЦОМТ). При этом различные пулы белка GAP-43 избирательно окрашиваются с помощью разных антител. Так, моноклональные антитела 7B10 избирательно окрашивают клеточное ядро и конденсированный хроматин на веретене деления. Моноклональные антитела 1E3 окрашивают тубулиновые структуры и цитоплазму, но не клеточное ядро. Поликлональные антитела AB5220 и AB5312 окрашивают все три пула. Антитела к фосфорилированной по остатку Ser41 форме GAP-43 также окрашивают все три пула, но не окрашивают конденсированный хроматин на веретене деления. Это позволяет предположить, что GAP-43 фосфорилируется в ооцитах и ранних эмбрионах протеинкиназой C, но само по себе фосфорилирование не влияет на его внутриклеточное распределение. Предположительно, другие посттрансляционные модификации (в частности, сумоилирование) определяют внутриклеточную локализацию GAP-43. Мы предполагаем, что специфическая немембранная форма данного белка, наблюдаемая в ооцитах и ранних эмбрионах, идентична минорной цитоплазматической форме белка GAP-43 в нейронах. Эта форма лишена четырех N-концевых аминокислот, критически важных для транспортировки белка к мембране. Предположительно, образование данной укороченной формы белка связано с особенностями транскрипции и трансляции гена GAP-43. Действительно, сверхэкспрессия флуоресцентно-меченого белка GAP-43 в клетках ранних эмбрионов с помощью плазмиды приводит к продукции мембранной формы белка. Результаты позволяют сделать заключение об особой роли GAP-43 и специфических особенностях регуляции его экспрессии в клетках ранних эмбрионов.

**Экспрессия генов транскрипционных факторов в мозге медоносной пчелы  
при обучении**

Т.Г. Зачепило\*<sup>1,2</sup>, А.К. Прибышина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,  
Санкт-Петербург, Россия

\* *polosataya2@mail.ru*

Медоносная пчела – удобная модель для изучения механизмов обучения и памяти. Известно, что для формирования долговременной памяти необходимо протекание двух волн транскрипции генов. В первой волне преимущественно экспрессируются гены транскрипционных факторов, тогда как во вторую – гены разнообразных ферментов, сигнальных и структурных белков. Гены первой волны – это гены раннего ответа, или немедленно ранние гены. Наиболее известными работающими в ЦНС у млекопитающих являются эволюционно консервативные транскрипционные факторы CREB-1 и AP-1. Целью исследования было изучить экспрессию генов этих транскрипционных факторов мозге медоносной пчелы при разных схемах обучения.

У 10-20-суточных пчел вырабатывали условный обонятельный рефлекс вытягивания хоботка. Сочетали условный стимул – запах гвоздики с пищевым подкреплением – 50% раствором сахарозы. При однократной схеме обучения сочетание стимулов предъявляли единожды. При трехкратной – трижды с интервалом 6 минут между предъявлениями. Контролем служили пчелы, которым предъявляли стимулы отдельно, с интервалом 3 минуты. Предварительно пчел тестировали на пищевую и сенсорную возбудимость. Проверяли сохранность рефлекса в памяти через 60 и 180 минут. Далее извлекали мозг, выделяли РНК, проводили ОТ-ПЦР.

Экспрессия генов изучаемых транскрипционных факторов повышалась при обеих схемах обучения, при этом экспрессия была выше при трехкратном обучении, чем при однократном. Полученные результаты согласуются с нашими ранее полученными данными об эпигенетическом статусе хроматина в нейронах мозга пчелы при сравнении одно- и трехкратной схем обучения.

**Примеры онтогенетических отклонений у командорского кальмара  
*Berryteuthis magister* (S. S. Berry, 1913)**

В.Р. Зими́на\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства  
и океанографии, Москва, Россия

\* [victorimid@gmail.com](mailto:victorimid@gmail.com)

Статолиты – парные арагонитовые структуры, находящиеся в органах равновесия, статоцистах, защищенных у головоногих моллюсков хрящевой капсулой. Статоцисты кальмаров представляют собой две разделенные полости с двумя камерами и хрящевыми выступами в них. Изучение принципа работы вестибулярного аппарата нескольких видов кальмаров показало, что морфология статолита связана с организацией потока эндолимфы внутри камер статоцистов. В ходе оценки размерно-возрастной структуры популяции командорского кальмара *Berryteuthis magister* (S. S. Berry, 1913) из Северо-Курильской зоны Тихого океана (49°35.3'N 156°19.4'E–49°21.5'N 155°48.8'E; глубина 410 м) нами была обнаружена самка, у которой один из статолитов был очень неправильной формы. Второй статолит из пары был нормальной веслообразной формы, характерной для кальмаров из рода *Berryteuthis*. Длина мантии этой самки составила 218 мм, она находилась на стадии зрелости 2–1. Ассиметричная пара статолитов ранее отмечалась у самки другого вида этого рода *Berryteuthis septemdentatus* Sasaki, 1915, обитающего в Японском море. На шлифе этого неправильного статолита наблюдалось три точки кристаллизации вместо одной нормальной. Подобные аномалии могут быть связаны с нарушением развития вестибулярного аппарата еще на онтогенетической стадии личинки и такими внешними факторами, как ионный состав воды, включая ацидификацию океана. Интерес вызывает способность таких особей выживать и питаться, что может свидетельствовать о наличии неизвестного механизма компенсации подобной асимметрии, не нарушающей функционирования вестибулярного аппарата при том, что один из статолитов сформирован неправильно и, по принятым представлениям, не отвечает нормальной работе органов равновесия. Также в данном траловом улове нами был отмечен самец с уродством в виде недоразвитой руки на дорсальной стороне мантии. Длина мантии этого самца, находившегося на стадии зрелости 3, составила 169 мм. Ширина основания такой руки составила 3, 8 мм при длине 19 мм. На аномальной недоразвитой руке представлены присоски и крючья, что характерно для нормальных рук кальмаров данного вида. Подобная ошибочная экспрессия генов развития руки может быть связана и с нарушениями личиночного развития, и, возможно, неправильной регенерацией вследствие травмы. Возможно и то, что лишняя рука развивалась одновременно с другими нормальными и была равной им по размеру, а затем ее рост прекратился.

## Нуклеотипический эффект и время митотических циклов у растений

Иванов В.Б. \*<sup>1</sup>, Жуковская Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

\* *ivanov\_vb@mail.ru*

Выяснение регуляции продолжительности клеточного цикла (ПЦ) – ключевая задача в понимании механизмов поддержания скорости роста и дифференцировки. В 1963 г. Вант-Гофф и Спероу, изучив 6 видов растений, нашли линейную зависимость между содержанием ядерной ДНК (С) и ПЦ. В 2008 г., рассмотрев 77 видов растений, Францис и другие подтвердили эту зависимость. Однако, у разных видов растений С варьирует более чем на 3 порядка. Незученной остаётся зависимость ПЦ от С в разных таксонах, у видов с разной ploidy и у диплоидов с разным числом хромосом. На широком круге растений нами рассмотрены зависимости ПЦ от С. Мы рассмотрели опубликованные и собственные данные для 205 видов растений из 22 семейств.

В клетках апикальных меристем корней проростков тимидиновым и расчётными методами определялись величины ПЦ. Значения С и ПЦ у видов порядков Asparagales и Liliales (АЛ) оказались значительно выше, чем у остальных видов (ОВ). Эти различия столь велики, что данные для всех видов нельзя рассматривать как единую выборку, что делалось до сих пор. Мы отдельно проанализировали данные для АЛ и ОГ. И в АЛ, и в ОГ величины ПЦ наиболее резко возрастали с увеличением С. Это наблюдалось с увеличением С у диплоидов (ДП) с числом хромосом (ЧХР) < 17. У ДП с ЧХР > 17 и полиплоидов при увеличении С величины ПЦ возрастали слабее у АЛ и почти не изменялись у ОВ. Резкость возрастания ПЦ с увеличением С коррелировала со средним содержанием ДНК в хромосоме. У ДП при полиплоидизации и возрастании ЧХР оно достигает величин > 17-18. Таким образом, возрастание ПЦ с увеличением С присуще лишь некоторым видам. У них среднее содержание ДНК в хромосомах выше определённого предела. Поэтому оно наблюдается у видов АЛ с ЧХР > 17. Если среднее содержание ДНК в хромосомах ниже, как у ОГ, явление не наблюдается.

Увеличение ПЦ с возрастанием С есть одно из проявлений нуклеотипического эффекта, т.е. зависимости многих проявлений фенотипа от С. От нуклеотипического эффекта зависит минимальная продолжительность жизни, размеры клеток, размеры семян и др. показатели. Раскрытие механизма этих эффектов на молекулярном уровне – одна из задач биологии развития.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122042700044-6).*

Устный доклад

**Особенности молекулярной организации нейрогенеза у животных с  
нелинейным строением центральной нервной системы**

Е.Г. Ивашкин\*<sup>1</sup>, Е.Е. Воронежская<sup>2</sup>, М.С. Апарина<sup>1,2</sup>, М.В. Мамаева<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *evgeny.g.ivashkin@sev-in.ru*

Нервная система является одной из наиболее консервативных систем у многоклеточных организмов. Основные черты ее развития сохраняются даже у животных, относящихся к далеко отстоящим друг от друга филогенетическим группам, например у полихет и позвоночных. Однако существуют исключения из этого правила, когда нервная система взрослого организма имеет уникальные черты, отличается по строению даже от близкородственных групп и поражает своим разнообразием. Как такое разнообразие возникло в эволюции и формируется в процессе индивидуального развития, для большинства таких животных остается неизвестным. Наше исследование направлено на изучение общих закономерностей и особенностей ранних нейрогенных событий у животных с выраженной нелинейной структурой нервной системы: брюхоногого моллюска большого прудовика и моногононтной коловратки. С использованием современных методов мультиплексного пространственного анализа экспрессии генов и флуоресцентной микроскопии мы исследовали более 50 генов на последовательных стадиях развития у каждого объекта.

Наше исследование выявило, что медиолатеральный и апикальный паттернинги эктодермы обладают консервативными чертами как у брюхоногого моллюска, так и у коловратки. Однако лишь небольшое количество клеток эктодермы, экспрессирующих пронеурогенные и паттернинговые гены, инициируют нейрогенез. У обоих организмов нейробласты, дающие начало клеткам центральной нервной системы, перемещаются по сложным маршрутам в процессе миграции, смешиваясь как в антеропостериорном, так и в медиолатеральном направлениях перед тем, как занять свое финальное место в ганглии и дифференцироваться в нейроны. Другим интересным результатом оказалось то, что и у моллюска, и у коловратки, гены, чья экспрессия характерна для более поздних стадий дифференцировки у других животных, экспрессируются уже на самой начальной стадии выселения нейробластов из эпителия.

Наши наблюдения подчеркивают важность исследования не только консервативных аспектов нейрогенеза, но и неожиданных конвергентных черт, сформировавшихся в процессе эволюции. В докладе будут обсуждены возможные причины и значимость выявленных особенностей молекулярной организации нейрогенеза у представителей Bilateria.

*Работа выполнена в рамках гранта РФФИ №22-14-00375.*

Устный доклад

### Значение научных открытий Бориса Львовича Астаурова для пчеловодства

Р.А. Ильясов\*<sup>1</sup>, Е.Д. Давыдова<sup>1</sup>, А.Ю. Ильясова<sup>1</sup>, Д.В. Богуславский<sup>1</sup>, В.Н. Саттаров<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы,  
Уфа, Россия

\* *apismell@hotmail.com*

Ян Держон в 1845 впервые описал естественный мужской партеногенез (аррентокию) у пчел вида *Apis mellifera*, что стало одним из первых примеров партеногенеза у насекомых (Dzierzon, 1845). В 1902 году Александр Андреевич Тихомиров описал партеногенез у шелкопряда, а Борис Львович Астауров подтвердил это в 1940 году (Tichomirov, 1902; Астауров, 1940). Эти открытия стали основой для изучения партеногенеза, как естественного, так и индуцированного у насекомых. За последние 100 лет тутовый шелкопряд (*Bombyx mori*) и медоносная пчела (*Apis mellifera*) стали основными модельными видами насекомых по исследованиям индуцированного партеногенеза и полиплоидии (Астауров, 1940; Тряско, 1975; Oldroyd et al., 2018). Борис Львович Астауров показал, что кратковременная инкубация яиц шелкопряда при 46°C вызывает развитие неоплодотворенных яиц в фертильных особей (аррентокиа и телетокия) (Астауров, 1940). Эти эксперименты привели к созданию триплоидных и тетраплоидных форм шелкопряда, способных к размножению, с улучшенными морфологическими и физиологическими характеристиками, такими как повышенная жизнеспособность и продуктивность.

В 1975 году Виктория Владимировна Тряско повторила эксперименты Бориса Львовича Астаурова по температурной индукции партеногенеза у пчел. Чередование температур от 40°C до -11°C стимулировало мейотический женский партеногенез (телетокию) у пчел с эффективностью до 89% (Тряско, 1975). В результате были получены триплоидные и тетраплоидные линии пчел, способные к размножению (Тряско, 1975; 1980).

В 2018 году Бенджамин Олдройд с коллегами провел исследования на капских пчелах *Apis mellifera capensis* и показал, что углекислый газ (CO<sub>2</sub>) может вызвать как аррентокию, так и телетокию (Oldroyd et al., 2018). Межлинейные скрещивания партеногенетических клонов позволили Бенджамину Олдройду вывести триплоидных и тетраплоидных линий пчел, способных к размножению.

Работа выполнена в ИБР РАН при поддержке гранта РФФИ 24-16-00179.



Устный доклад

## Как с помощью клеток изучать старение человека?

А.И. Калмыкова\*<sup>1</sup>, В.К. Абдыев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [allakalm@idbras.ru](mailto:allakalm@idbras.ru)

Если вопрос о причине старения является темой научных дискуссий, то признаки старения – генетические, метаболические, клеточные и многие другие – активно изучаются. Основной стратегией исследования процесса старения является использование организменных моделей с короткой продолжительностью жизни, что позволяет исследовать полный жизненный цикл. Наиболее востребованным направлением в настоящее время является изучение старения человека, что ставит вопрос о моделировании старения с использованием клеточных линий. Технология получения индуцированных плюрипотентных клеток (иПСК) человека позволяет обновить эпигенетический статус клеток любого возраста и вернуть их к нулевой точке отсчета. Последующая дифференцировка таких клеток запускает процесс развития и старения на клеточном уровне. Лучшей моделью старения человека признаны клетки, полученные от пациентов с синдромами преждевременного старения, что позволяет в условиях лабораторного эксперимента проследить начало, развитие и ускорение процесса старения. Такая модель активно используется научными лабораториями и фармакологическими корпорациями, однако отсутствует у нас в стране. Необходимость ее создания подтверждается возросшим интересом к биологии старения в России и во всем мире. Наш коллектив создает и исследует клеточные модели, полученные на основе клеток пациентов с прогероидными синдромами, и соответствующие по возрасту контроли. Впервые получены иПСК от пациента с синдромом Видемана-Раутенштрауха - редкого заболевания с наиболее ранним проявлением признаков старения, вызванного мутацией гена *POLR3A*, кодирующего субъединицу РНК полимеразы III. Детальное исследование развития прогероидного фенотипа клеток, в том числе на стволовых клетках, важно для выявления молекулярных мишеней воздействия при разработке терапевтических подходов для замедления старения.

*Работа проводится при поддержке Министерства высшего образования и науки РФ (Соглашение № 075-15-2024-539 от 24 апреля 2024 г.).*

Стендовый доклад

**Анализ дифференциальной экспрессии генов в полипидах пресноводной мшанки *Cristatella mucedo* в процессе бластогенеза и дегенерации**

А.Ю. Квач\*<sup>1</sup>, В.А. Кутюмов<sup>1</sup>, В.В. Старунов<sup>1,2</sup>, А.Н. Островский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

\* [ay.kvach@yandex.ru](mailto:ay.kvach@yandex.ru)

Мшанки (Bryozoa) – это группа колониальных водных беспозвоночных, обладающих такими универсальными свойствами модульных организмов, как неограниченный рост благодаря почкованию и запрограммированная дегенерация модулей на протяжении жизни колониального организма. Механизмы, обеспечивающие эти процессы, изучены только на морфологическом уровне, а большинство исследований сосредоточено только на формировании почек полипидов, в то время как процесс дегенерации часто остаётся без внимания. Тем не менее, дегенерация полипидов играет крайне важную роль в поддержании колонии, а также в приобретении зооидами или участками колоний вторичных функций (экзаптаций). Целью настоящего исследования стало изучение последовательных стадий развития, функционирования и дегенерации полипида пресноводной мшанки *C. mucedo*.

Мы секвенировали транскриптомы шести последовательных стадий бластогенеза полипида (от почки до дегенерирующего полипида) на платформе Illumina HiSeq2500. На основе полученных данных был собран и проаннотирован *de novo* транскриптом. Далее для полипидов разных возрастов мы выявили дифференциально и согласованно экспрессируемые гены и охарактеризовали их с помощью анализов обогащения GO и KO групп. Также мы изучили паттерны экспрессии генов, связанных с процессами развития, клеточной смерти и их регуляцией.

Элементы канонического сигнального пути Wnt и многие транскрипционные факторы (в том числе NOX и ParaNOX), связанные с развитием, повышают свою экспрессию в почках полипидов. Этому паттерну следует подавляющее большинство консервативных маркеров стволовых клеток, однако некоторые из них (Tdrdb, vasa и Mbnl) также повышают свою экспрессию в дегенерирующих полипидах. Дегенерация полипидов – сложный регулируемый процесс, сопровождающийся повышением экспрессии элементов неканонического Wnt, MAPK, TNF, NF- $\kappa$ B сигнальных путей, а также маркеров аутофагии, апоптоза и миграции клеток. Предположительно этому процессу могут сопутствовать локальная транс- или дедифференцировка клеток. Паттерны экспрессии элементов сигнального пути mTOR позволяют выдвинуть гипотезу о его роли в переключении между фазами “развития”, “функционирования” и “дегенерации” полипида, и, как следствие, в регуляции продолжительности жизни полипидов у *C. mucedo*.

Исследование поддержано грантом РФФ №23-14-00351 и выполнено с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

**Влияние FGF блокатора PD173074 на развитие и осевую разметку  
планул *Gonothyraea loveni***

Д.И. Комарова\*<sup>1</sup>, М.А. Кузьминых<sup>1</sup>, А.А. Ветрова<sup>1</sup>, М.Л. Семенова<sup>1</sup>, В.В. Кондукторова<sup>1</sup>,  
Д.А. Никишин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *komarovad03@mail.ru*

Регуляторный каскад с участием сигнальных молекул группы фактора роста фибробластов (Fibroblast growth factors, FGF) является важным механизмом определения передне-задней оси в эмбриональном развитии у различных организмов, в том числе и у Cnidaria. В исследовании на планулах *Nematostella vectensis* было показано, что FGF-сигналинг влияет на формирование клеток апикального органа, отвечающего за оседание на субстрат и дальнейший метаморфоз - при блокировании FGF каскада, у планул не происходит нормального развития апикального органа и дальнейший метаморфоз.

Роль FGF-сигналинга в эмбриональном развитии Hydrozoa не исследована. Объектом работы стали эмбрионы и планулы *Gonothyraea loveni*. Был проведен сравнительный морфологический анализ планул, развивавшихся при воздействии ингибитора PD173074 (20  $\mu$ M) и в условиях нормы, анализ их способности к оседанию и метаморфозу. Проведено иммуоцитохимическое окрашивание планул антителами к серотонину, анализ содержания pMAPK Вестерн-блоттингом и количественная оценка экспрессии мРНК антериорных (Fzl-3, Six3/6) и постериорных маркеров (Bra, Wnt3, Axin) методом ПЦР в реальном времени.

Планулы опытной группы морфологически отличались от контрольных укороченной формой. В результате анализа выявлено, что соотношение длины к ширине у планул в опытной группе составляет  $1,98 \pm 1,27$ , в то время как в контроле  $4,03 \pm 3,25$  ( $p < 0,0001$  по U-критерию Манна-Уитни). Окраска планул антителами к серотонину и анализ изображений, полученных методом конфокальной микроскопии, показали, что при ингибировании FGF на переднем конце планул отсутствуют нейросекреторные клетки. Это свидетельствует о неправильном формировании у планул в опыте органа, отвечающего за оседание и метаморфоз. Индукция оседания с помощью CsCl привела к оседанию всех планул опытной и контрольной группы, но дальнейший метаморфоз опытной группы был нарушен: к метаморфозу приступили 4,05% от выборки, а в контроле - 88,16%. Молекулярно-генетический анализ выявил в опытной группе уменьшение отношения антериорных маркеров к постериорным, что говорит о нарушении механизмов передне-задней разметки. Также, несмотря на блокирование FGF пути, количество pMAPK в опыте увеличивается относительно контроля.

Таким образом при блокировании каскада FGF с помощью PD173074 у планул *G. loveni* нарушаются механизмы формирования передне-задней оси, что проявляется в изменении формы личинки, нарушении передне-задней молекулярной разметки тела, отсутствии нейросекреторного органа и нарушении метаморфоза.

**Молекулярные аспекты нейрогенеза у аннелид**

Р.П. Костюченко\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* *kostyuch@mail.ru*

Правильное развитие и функционирование нервной системы – одни из ключевых факторов, обеспечивающих выживание и успех конкретного вида животных, а понимание процессов нейрогенеза, в том числе при преобразовании нервной системы в ходе постэмбрионального развития, необходимо для раскрытия механизмов индивидуального развития и основ морфологического разнообразия. При этом трактовка эволюции этих механизмов осложнена вариабельностью и пластичностью морфогенезов, а консервативность морфологических проявлений может, в действительности, отражать и конвергенцию в ходе эволюции. Вместе с тем определение нейральных предшественников, поддержание активной пролиферации нейроэктодермальных клеток, их дальнейшая спецификация и дифференцировка, по-видимому, обеспечиваются высококонсервативным набором генетических факторов. Однако, вероятные функции генов-участников нейрогенеза, их диверсификация у дублированных гомологов, участие в преобразовании нервной системы во время постэмбрионального развития беспозвоночных животных и особенности регуляции остаются недостаточно изученными. В настоящей работе представлены данные об идентификации целого набора генов – предполагаемых участников нейрогенеза и анализе их экспрессии у нескольких видов аннелид, способных либо к половому размножению и регенерации, либо исключительно к постэмбриональному развитию, в том числе путем бесполого размножения. Полученные нами результаты важны для понимания не только специфики экспрессии конкретных генов, но и степени консервативности механизмов формирования недостающих структур центральной нервной системы при разных траекториях развития.

*Проект выполняется при поддержке гранта РНФ 24-24-00149 с использованием оборудования РЦ РМиКТ СПбГУ.*

## рiРНК путь: баланс между поддержанием стабильности и эволюцией генома

А.А. Котов\*<sup>1</sup>, Л.В. Оленина<sup>1</sup>

\* *kotov\_alexei@mail.ru*

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Россия, Москва

Поддержание стабильности генома — одно из ключевых свойств живых организмов, которое необходимо для правильной передачи наследственной информации потомству и сохранения вида. Неконтролируемая активность транспозонов является одной из причин нарушения стабильности генома. В настоящий момент известно несколько возможных механизмов регуляции активности транспозонов у эукариотических организмов с помощью малых некодирующих РНК и белковых комплексов, осуществляющих либо непосредственную деградацию РНК мишеней, либо привлекающих факторы метилирования ДНК и модификации хроматина.

рiРНК путь является основной системой защиты от активности мобильных элементов в герминальных тканях, необходимой для гаметогенеза и передачи наследственной информации последующим поколениям. Биогенез коротких рiРНК происходит из определенных участков генома, называемых рiРНК кластерами. Предшественники рiРНК транспортируются в цитоплазму, где происходит дальнейший процессинг в зрелые рiРНК. Они загружаются в белки семейства ARGONAUTE и формируют функциональные рiRISC комплексы, которые осуществляют как непосредственное разрезание РНК мишеней, так и их ко-транскрипционный сайленсинг.

Взаимодействие транспозонов и рiРНК пути происходит согласно модели «гонки вооружений», что приводит к быстрой эволюции рiРНК пути. Это делает возможным быстрый адаптационный рiРНК ответ на внедрение новых транспозонов и использование существующих вставок транспозонов в качестве ресурса для эволюции генома. Кроме того, рiРНК путь участвует в регуляции экспрессии белок-кодирующих генов. У *Drosophila melanogaster* известно нескольких видоспецифичных кластеров рiРНК на половых хромосомах, которые производят рiРНК к белок-кодирующим генам. Мишени рiРНК как и сами рiРНК экспрессируются видоспецифично или в составе филогенетической клады, что говорит о функциональной роли рiРНК в регуляции эволюционно-молодых белок-кодирующих генов. Согласно нашим данным, *ATchX* кластеры и *Ste-Su(Ste)* система экспрессируются видоспецифично только у *Drosophila melanogaster* и могут непосредственно играть роль в формировании гибридной стерильности, что потенциально указывает на роль рiРНК пути в репродуктивной изоляции.

Таким образом, взаимная эволюция рiРНК системы и ее мишеней создает баланс между подавлением вредоносных последовательностей и возможностью одомашнивания последовательностей транспозонов. При этом рiРНК система может быть вовлечена в регуляцию эволюционно-молодых белок-кодирующих генов и видообразование.

Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2024 года № 0088-2024-0017.

## Гомеобоксные гены из класса ANTP в эволюции и развитии

М.А. Кулакова\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* *m.kulakowa@spbu.ru*

Гены из класса ANTP - самые изученные и самые многочисленные гомеобоксные гены животных. Эти гены кодируют гомеодоменные транскрипционные факторы и обладают набором уникальных особенностей, таких, как: кластерность, координатность, эволюционная консервативность и последовательная вовлечённость в самые разные дифференцировки на протяжении всего онтогенеза многоклеточных животных. Парадоксально, но современные данные о них скорее преумножают вопросы, чем дают ответы.

Известно, что эти гены возникли у первых Metazoa путём тандемных дупликаций предковой последовательности. В течение сотен миллионов лет они сохраняют физическую сцепленность на уровне трёх больших синтений – Нох-кластера и ассоциированных с ним генов (Нох-linked), ParaНох-кластера и НК-кластера. Силы, удерживающие гены в кластерах, имеют разную природу (глобальные регуляторные элементы, обобществлённые энхансеры, некодирующие РНК и пр.), не всегда консервативны и ограничено изучены даже на классических моделях. Неизвестно, какой механизм изначально удерживал ANTP-гены вместе. Перестройки внутри синтений – частое явление, однако между локусами трёх основных кластеров они происходят редко и в тех геномах, которые претерпевают быструю структурную эволюцию. Кластеры уже существовали в своём современном виде у последнего общего предка Nephrozoa (все билатеральные животные, кроме Xenacoelomorpha), поскольку синтении ANTP-генов очень похожи между ланцетником и платинереисом. Существовал ли гипотетический «мегакластер ANTP», выросший путём cis-дупликаций родственных генов? И если да – мог ли его распад спровоцировать усложнение многоклеточных животных и их быструю радиацию?

Второй комплекс вопросов связан с поэтапной структурной экспансией ANTP-генов, которая совпадает с появлением крупных таксонов. Так, у гребневиков и губок найдены только НК-гены. Кластеры Нох- и ParaНох-генов возникли позже и присутствуют у всех животных, объединяемых в кладу «ParaНохозоа» (Placozoa, Cnidaria, Bilateria). Они доминируют по числу видов и разнообразию планов организации. Как структурная и функциональная эволюция кластеров соотносится с эволюцией животных? Какие функции появились у новых генов, а какие были унаследованы от НК-предка? Можно ли в принципе ответить на эти вопросы, изучая современных многоклеточных? Удешевление технологий секвенирования даёт некоторую надежду на ответы, потому что вводит в круг моделей множество новых видов. Чем шире этот круг, тем проще вычленишь универсальные и частные характеристики древних регуляторных генов. Сейчас стало понятно, что у всех генов ANTP есть общая функция – спецификация нейронов. Однако гомеодоменные факторы в целом имеют тенденцию запускать и поддерживать нейрогенные дифференцировки. Была ли у гомеобоксных генов из ANTP-класса другая универсальная роль в развитии, которая привела к появлению сложных Nephrozoa? В конечном счёте, успех в разрешении больших эволюционных загадок зависит от правильно поставленных вопросов и такие вопросы прозвучат в докладе. >>

Работа поддержана Российским Научным Фондом (РНФ № 23-24-00426).  
Авторы выражают благодарность РЦ РМКТ, РЦ Культивирования Микроорганизмов  
(КМ) и ЦКП “Хромас” за помощь.

---

Устный доклад

## Гены видообразования – история и настоящее. Краткий обзор проблемы

А.М. Куликов\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [amkulikov@gmail.com](mailto:amkulikov@gmail.com)

История поиска компромисса и согласия теории эволюции и генетики начинается с 20-х гг. XX века, со статьи С.С. Четверикова в Журнале экспериментальной биологии «О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики» (Четвериков, 1926). Идеи С.С. Четверикова во многом определили взгляды и направление работ Джона Б.С. Холдейна, и активно пропагандировались среди коллег уехавшими на стажировку за рубеж и, впоследствии, оставшимися на постоянную работу Н.В. Тимофеевым-Ресовским и Ф.Г. Добржанским. После ареста, травли и ссылки С.С. Четверикова в 1929 г. Н.К. Кольцов сохранил научные направления, заданные Четвериковым и посвященные вопросам популяционной и эволюционной генетики. Два из них были связаны с анализом изменений кариотипа и фенотипа, сопровождающих отдаленную гибридизацию. Работы, выполняемые на тутовом шелкопряде, проводил Б.Л. Астауров, а на родственных видах дрозофил группы *virilis* - Н.Н. Соколов. Травля генетики в годы «Большого террора», Великая Отечественная Война и последовавшая за ней сессия ВАСХНИЛ 1938 г. на 30 лет остановили развитие генетики в СССР. Лаборатории Института экспериментальной биологии (или Института цитологии, гистологии и эмбриологии с 1938 г.), занимающиеся развитием различных направлений генетики, были восстановлены только в 1967 г., вместе с возрождением Института, уже как Института биологии развития под руководством академика Б.Л. Астаурова.

К 60-м гг. интерес к «генам видообразования» связывают почти исключительно с генами гибридной несовместимости или с адаптивно-значимыми генами, приводящими к значительному падению приспособленности у гибридов в соответствии с Райтовской моделью «смещающемся равновесии» в ходе движения популяции по «адаптивному ландшафту». Исследования постзиготических механизмов изоляции обусловлены общепринятыми представлениями о важности территориальной (географической) изоляции и популярной точкой зрения Эрнста Майра о размывании потоком генов любых адаптаций в отсутствие географической изоляции. Ситуация меняется к 1966 г., с выдвиганием Дж. Мейнардом Смитом идеи дизруптивного отбора. В научном сообществе все чаще возникают дискуссии о роли морфологических признаков копулятивного аппарата самцов, как наиболее быстро эволюционирующих признаков у близкородственных видов. Все большее внимание уделяется возможности симпатрического видообразования. Критические вопросы этой дискуссии связаны с возможностью отбора по признакам полового аппарата, доказательством действия полового отбора и его участия в прерывании потока генов между дивергирующими популяциями. На эволюционную значимость этих признаков при формировании изолирующих барьеров обратили внимание в 80-е годы XX века Койн (Coyne, 1983), Эберхард (Eberhard, 1985, 1988) >>

и Робертсон (Robertson, 1988). Мы остановимся на работах, проведенных на близкородственных видах дрозофил. Работы Клариссы Хаус с соавт. привели строгое доказательство действия полового отбора на морфологические признаки копулятивного аппарата самцов (House et al., 2013, 2021). Исследования генетических основ эволюционных изменений лопастей эпандрия дрозофил клады *D. simulans* были инициированы более четверти века назад в лаборатории Кэтрин Лурье (Liu et al., 1995, 1996; True et al., 1997; Zeng et al., 2000; Tanaka et al., 2018) и показали участие не менее 8 групп сцепления, расположенных на X-, 2-й и 3-й хромосомах. В настоящий момент показано участие более 30 генов 2-й хромосомы в формировании видоспецифических признаков копулятивного аппарата самцов. На базе ИБРА ведутся работы по оценке роли X-хромосомы в формировании презиготических барьеров.

---

*Стендовый доклад – снято с публикации*

**Изучение структуры порфиринового кольца в составе цитохрома С  
с кардиолипином активированной кумарином С-314 хемилюминесценции  
под действием гетерогенного катализатора.**

И.Н. Левченко\*<sup>1,5</sup>, В.С. Панкратов<sup>2</sup>, Г.К. Владимиров<sup>3</sup>, А.А. Левченко<sup>4</sup>, И.В. Володяев<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский Авиационный Институт, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Институт регенеративной медицины,  
Москва, Россия;

<sup>4</sup> Пермский национальный исследовательский политехнический университет,  
Пермь, Россия;

<sup>5</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

**ТЕЗИСЫ СНЯТЫ С ПУБЛИКАЦИИ В СВЯЗИ С ЗАЯВЛЕНИЕМ СОАВТОРОВ**



**Эффекты витаминно-минерального премикса П90-2 на реализацию генетического потенциала высокопродуктивного кросса кроликов «Родник»**

А.В. Леонов\*<sup>1</sup>, Г.Ю. Косовский<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева, Московская область, Россия

\* [thelastmanintheworld@gmail.com](mailto:thelastmanintheworld@gmail.com)

Оптимизация кормления имеет ключевое значение для кролиководства, так как оно составляет до 60% стоимости продукции и влияет на эффективность разведения. Витамины и минералы в корме кроликов играют важную роль в обмене веществ и поддержании физиологического равновесия в организме. Несмотря на это, исключение витаминно-минерального премикса П90-2 из рациона высокопродуктивного кросса кроликов "Родник" не снижало их мясной продуктивности.

Цель работы: оценить влияние кормовой добавки - премикса П90-2 у кроликов кросса «Родник» на стабильность генетического аппарата и экспрессию генов белков, регулирующих важные транспортные и анаболические пути.

Материалы и методы. Были сформированы две группы молодняка кроликов кросса «Родник» по 6 особей в каждой, получавшие одинаковый комбикорм. В одной из групп комбикорм содержал витаминно-минеральный премикс П90-2, а в другой — нет. Живая масса кроликов измерялась в контрольные возрастные периоды, а кровь для анализа экспрессии генов отбиралась каждые две недели, с последующим анализом методом ПЦР-РВ. Результаты анализа экспрессии генов представлялись относительно контрольного гена *RPLP0*.

Результаты. Исследовано влияние витаминно-минерального премикса П90-2 на живую массу кроликов, геномную нестабильность (микроядерный тест), экспрессию транспортера аминокислот (*SLC15A1*) и ключевого фермента пентозофосфатного шунта *G6PD* в период после завершения грудного вскармливания в возрасте 45, 60, 77 и 90 суток. По живой массе не выявлены отличия между группами кроликов, получавших/не получавших премикс. На заключительном этапе наблюдения частота эритроцитов с микроядрами имела тенденцию к повышению, а экспрессия генов *G6PD* и *SLC15A1* – к понижению у кроликов, получавших премикс. Отмечались повышенные значения коэффициентов вариации по исследованным характеристикам у кроликов, получавших премикс. Расчёт корреляции между экспрессией исследуемых генов и массой кроликов показал положительную, но статистически недостоверную связь между этими признаками.

Заключение. На основе ограниченной выборки было установлено, что влияние витаминно-минерального премикса П90-2 является незначительным, но имеет негативную тенденцию на стабильность генетического аппарата кроликов и экспрессию генов *SLC15A1* и *G6PD*. Исходя из этого, была поставлена под сомнение технологическая и экономическая целесообразность использования этого премикса в кормлении кроликов кросса «Родник».

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 23-16-00060 (<https://rscf.ru/project/23-16-00060/>).

Устный доклад

## Различные функции интрон-содержащих и безинтронных генов актина у губок

Ю.В. Люпина\*<sup>1</sup>, О.И. Кравчук<sup>1</sup>, В.М. Зубарев<sup>2</sup>, К.И. Адамейко<sup>1</sup>, А.Д. Фиошин<sup>1</sup>,  
К.В. Михайлов<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>4</sup> Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

\* [yulial@bk.ru](mailto:yulial@bk.ru)

Ключевым компонентом цитоскелета эукариот является актин, биополимер, который связан с множеством белков, обеспечивающих высокое разнообразие клеточных структур, внутриклеточный транспорт, фагоцитоз и движение клеток. Большинство генов, кодирующих актин, имеют интроны, но гены актина без интронов также представлены у эволюционно удаченных животных. В настоящем исследовании мы показываем, что интрон-содержащие и безинтронные гены актина присутствуют у базальных многоклеточных животных и выполняют в клетках разные функции. Мы проанализировали *de novo* транскриптомы и геномы губок *Halisarca dujardini* и *Halichondria panicea* и выявили семь генов актина для *H. dujardini* и четыре для *H. panicea*. Некоторые из выявленных генов актина лежали на одном скаффолде, что говорит о том, что они могут находиться на одной хромосоме. Три из семи генов актина *H. dujardini* (*HdAct1/2/3*) и три из четырех у *H. panicea* (*HpAct1/2/3*) отличались только несколькими нуклеотидными заменами, что не приводило к аминокислотному составу. Кодирующие последовательности генов актина *HdAct6* губки *H. dujardini* и *HpAct4* губки *H. panicea* имели существенные отличия. Шесть генов актина губки *H. dujardini* не имеют интронов, что, видимо, является особенностью этой губки, поскольку актины других губок имеют интроны. Мы определили сайт начала транскрипции для *HdAct1/2/3* губки *H. dujardini* с помощью RACE и провели поиск регуляторных мотивов в 5' области и определили место начала транскрипции других актинов губок *H. dujardini* и *H. panicea*. Промоторная область всех актинов отличалась, даже в случае, если их кодирующие последовательности были похожи. Очевидно, экспрессия генов актина может осуществляться независимо друг от друга, т.е. происходить в разных клетках и/или в разное время. Интрон-содержащий и безинтронные актины морской холодноводной губки *H. dujardini* различались профилем экспрессии, посттрансляционными модификациями, клеточной и субклеточной локализацией. Безинтронные актины *HdAct1/2/3* губки *H. dujardini* демонстрируют типичные черты быстрой эволюции, включая недавние дубликации, множественные копии и низкую дивергенцию между паралогами, и сходство с актинами одноклеточных и многоклеточных животных. Дивергентный интрон-содержащий ген актина *HdAct6* губки *H. dujardini* имеет один интрон и дифференциально экспрессируется в специфических клеточных типах губки, увеличивающихся в клеточных агрегатах, что указывает на его уникальные функции в морфогенетических процессах губки *H. dujardini*.

Авторы благодарны за помощь центру "Полярный круг", ЦКП ИБР РАН. Работа выполнена в рамках Госзадания ИБР РАН № 0088-2024-0009.

**Влияние ингибитора PARP1 на экспрессию генов, ассоциированных с болезнью Хантингтона, в дифференцированных производных ИПСК**

В.С. Макеева\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия

\* [vladamakkeeva@gmail.com](mailto:vladamakkeeva@gmail.com)

Болезнь Хантингтона (БХ)- аутосомно-доминантное нейродегенеративное заболевание, вызванное экспансией CAG кодонов в первом экзоне гена HTT и приводящее к поражению функций и гибели срединных шипиковых нейронов (СШН) полосатого тела мозга пациентов. Для поиска средства терапии широко применяются клеточные модели на основе клеток пациента, благодаря которым имеется возможность разработать пациент-специфичное лекарство, а также изучить особенности влияния генетического фона на патогенез. PARP-ингибиторы, изначально созданные для борьбы с онкозаболеваниями, связанными с мутациями в гене BRCA1/2, в последнее время тестируются для терапии нейродегенерации, в частности болезней Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона.

Вследствие развития патогенных процессов в срединных шипиковых нейронах под влиянием мутантной формы хантингтина и хронического нарушения целостности ДНК происходит гиперактивация PARP, детектирующего одноцепочечные разрывы ДНК и привлекающего участников машины репарации путем синтеза меток поли-(АДФ)-рибозы. Повышенная активность приводит к истощению пула НАД<sup>+</sup> в клетке, а следовательно, к нарушению энергетического метаболизма клетки и функционирования других НАД-зависимых ферментов. Применение ингибиторов должно снизить токсичные для нейронов последствия: так, показано на мышинных моделях болезни Хантингтона R6/2, PARP-ингибиторы способствуют снижению темпов развития симптомов болезни.

Мы создали клеточную модель на основе ИПСК пациента с 46 CAG повторами в гене HTT путем их дифференцировки в срединные шипиковые нейроны. Многие факты о механизмах болезни установлены с использованием постмортальных образцов мозга пациентов, мышинных моделей и относятся по большей части к постсимптоматической стадии патогенеза. Для изучения ранних стадий болезни клеточные модели являются более подходящим объектом. Однако необходимо учесть, что популяция получаемых нейронов гетерогенна, и включает кроме СШН и другие типы нейронов и глиальных клеток. И потому результатам экспериментов требуется верификация – поэтому для контроля мы выбрали гены с дифференциальной экспрессией как на ранних, так и на поздних этапах болезни Хантингтона и проанализировали отклонения их экспрессии на нашей модели. Для оценки влияния PARP-ингибиторов на развитие патогенеза мы встроили в геном трансгенную конструкцию, экспрессирующую сенсор XBP1-TagRFP, который при развитии стресса ЭПР светит в красном спектре. Кроме того, мы провели анализ изменения экспрессии генов-маркеров стресса ЭПР – XBP1, ATF4, GRP78, CHOP – и генов, изменение экспрессии которых показано как на клеточных и мышинных моделях болезни Хантингтона, так и на постмортальных образцах мозга пациентов.

## Генетическая структура популяций серых крыс (*Rattus norvegicus*) городов России

А.Н. Мальцев\*<sup>1,2</sup>, М.П. Кораблев<sup>1</sup>, Ю.А. Баженов<sup>3</sup>, В.Ю. Комаров<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора,  
Мытищи, Россия;

<sup>3</sup> Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН, Чита, Россия

\* *mus-musculus@yandex.ru*

Проведена оценка генетической структуры серых крыс города Москвы и Читы. Проанализирован поток генов между отдельными районами внутри одного города. Другой задачей стояла вывить взаимосвязь обнаруженных ранее мутаций серых крыс в г.Москве с их миграциями по городу. Возникли ли мутации независимо друг от друга в районах города или возникли за счет инвазий. В качестве аутомных маркеров генетического полиморфизма использовали 13 микросателлитных локусов, разработанных для *R. norvegicus*. Число аллелей на локус составило от 4 до 7 (среднее  $5.62 \pm 1.39$ ). Средняя ожидаемая гетерозиготность  $H_e$  составила  $0.61 \pm 0.06$ , средняя наблюдаемая гетерозиготность  $H_o$  –  $0.50 \pm 0.03$ . Обработка результатов кластерного анализа показала оптимальное подразделение популяции на три генетических кластера, о чем свидетельствуют модальное значение  $\Delta K$  полученное при  $K = 3$  и максимальные апостериорная вероятность и правдоподобие данных при  $K = 3$ . Три основных кластера составляют крысы из Зеленограда и северо-запада Москвы, из юго-западной части Москвы и из зоопарка. При этом генетический облик крыс на юге Москвы близок к животным из северо-западной части города.

Особь, несущие мутацию резистентности в гене *VKORC1*, не показывают никаких-либо генетических отличий по изученным микросателлитным локусам от конспецификов из тех группировок, откуда сами они происходят. По результатам кластерного анализа можно сделать вывод, что поток генов существует между северной и южной группировками серых крыс г.Москвы. Это значит, что ранее приобретенные мутации могли появиться на юге города также за счет инвазии из северной части города.

При анализе генетической структуры серых крыс из Читы показано следующее: число аллелей на локус составило от 3 до 12 (среднее  $7.54 \pm 2.30$ ); средняя ожидаемая гетерозиготность  $H_e$  составила  $0.73 \pm 0.05$ , средняя наблюдаемая гетерозиготность  $H_o$  –  $0.70 \pm 0.02$ . Обработка результатов кластерного анализа показала оптимальное подразделение популяции на четыре генетических кластера, о чем свидетельствует максимальная статистика  $\Delta K$  при  $K = 4$  и максимальные апостериорная вероятность и правдоподобие данных, так же полученные при  $K = 4$ . В соответствии с результатами кластеризации особей, две четких генетических группы образуют крысы из центра Читы и из остальной части города. Крысы из пригорода (Антипики) генетически обособлены от конспецификов из городской черты, но не формируют единого генетического кластера. Крысы из разных районов образуют неперекрывающиеся группы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00482.

**Влияние различных реагентов на размножение сортов олива (*Olea l.*)  
с генами устойчивости на Абшероне**

Мамедов Д.Ш.\*<sup>1</sup>, Джавадова А.М.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Абшеронская Опытная Станция, Баку, Азербайджан

\* [aftcavadova@gmail.com](mailto:aftcavadova@gmail.com)

Эта работа была проведена с целью исследования влияния применения индол бутановой кислоты на быстрое корнеобразование и развитие каллуса годичных и двухлетних древесных черенков, взятых из сортов (Акбаба, Азербайджан, Жигрина, Пиквалис) оливковых растений. Эти сорта являются местными сортами, доступными на территории Абшерона. Поскольку принятые сорта являются местными сортами, они генетически более устойчивы к болезням и вредителям. В селекционных исследованиях в качестве родительского взят сорт азербайджанских оливок из-за его многочисленных генетических преимуществ.

Олива - наиболее распространенное плодовое растение в субтропиках. Оливки – это растение, которое можно размножить, оставшимися в земле многими органами, за исключением корней и листьев. Оливки легко размножаются стеблями, подвоями, одревесневшими стеблями и семенами. Помимо этих методов, оливковое растение дает хорошие результаты при черенковании. Но самый удобный и эффективный способ размножения — это перьевой (окулированной) метод.

При выращивании перьевым методом (окулировки) растение сохраняет все биологические и генетические характеристики родительского растения. При размножении семенами наблюдается расщепление признаков. Учитывая спрос на оливковые продукты, существует большая потребность в расширении оливковых рощ в стране и восстановлении существующих садов. Чтобы удовлетворить спрос на эту территорию за счет местных саженцев, необходимо создать новые интенсивные сады. Для этого очень важно изучить влияние биологически активных реагентов на урожайность и качество продукта в садах оливковых деревьев. Одним из важных факторов получения высококачественных продуктов из сортов оливок, имеющих экономическую ценность, является обеспечение макро и микронутриентами в течение вегетационного периода. Для этого программу удобрений следует проводить сбалансированно по результатам анализа почвы и растений. Потребность в удобрениях оливковому растению покрывает период от закаливания семян в плодах.

С первой декады марта было произведено 140 черенков длиной 15 см от каждого сорта. Листья нижней части черенков были разрезаны, и по 20 черенков каждого сорта были разделены на 2 группы. Хотя во время применения индол бутановой кислоты (ИБК) для оценки развития каллуса и укоренения каллуса, развитие каллуса наблюдалось у 70–18 черенков в год, укоренения не наблюдалось ни в одном из этих черенков. У двухгодичных черенков каллус наблюдали у 60 черенков двухлетнего возраста, а укоренение – у 10 из них. В контрольной норме развития каллуса и слабого укоренения наблюдалось примерно у 7,3%, в то время как укоренение не наблюдалось ни в одном из черенков. Во время применения индол бутановой кислоты при выращивании оливковых растений для быстрого развития корней двухлетних черенков, укоренение наблюдалось у 10 из 70 оливковых черенков, степень укоренения годичных черенков и контроля составляла 0%. >>

Исследование показало, что использование ИБК положительно влияет на быстрое развитие каллуса и корней двухлетних растений, в отличие от годичных растений оливы.

Устный доклад

**Реагрегация обыкновенной губки *Halisarca dujardini*: морфогенезы и молекулярные механизмы процесса**

Н.П. Мельников\*<sup>1</sup>, К.В. Скоренцева<sup>2</sup>, И.Е. Борисенко<sup>3</sup>, А.В. Ересковский<sup>2,4</sup>,  
А.И. Лавров<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>4</sup> Университет Экс-Марсель, Марсель, Франция

\* [npmelnikoff@gmail.com](mailto:npmelnikoff@gmail.com)

Представители типа Porifera занимают уникальное филогенетическое положение для исследования эволюции интеграции тканей многоклеточных животных. Губки широко известны своими способностями к регенерации. Особым случаем регенерации губок является агрегация - способность отдельных клеток в суспензии образовать клеточные агрегаты и восстанавливать характерную для взрослой губки организацию. Агрегация представляется перспективной моделью для изучения интеграции тканей губок в динамике, поскольку позволяет наблюдать реорганизацию системы межклеточных контактов, изменение полярности клеток, их активное репрограммирование и миграцию. При этом данный процесс остается слабо описанным на молекулярном уровне. Для губок показано наличие многих сигнальных каскадов, регулирующих морфогенетические процессы у высших животных: например, Wnt, TGF-beta и Hippo; однако, их функциональная роль слабо изучена. Анализ дифференциальной экспрессии генов в процессе агрегации позволяет сократить этот разрыв и предоставить обширные данные функциональной роли морфогенетических каскадов в регуляции строения, судьбы и поведения клеток губок.

Целью данного исследования стал анализ связи морфологических перестроек и дифференциальной экспрессии генов в процессе агрегации губки *Halisarca dujardini* (Demospongiae). В ходе исследования мы: 1) сделали общее описание морфологических изменений в ходе агрегации с помощью электронной и световой микроскопии; 2) провели функциональную аннотацию транскриптома; 3) проследили участие ключевых сигнальных каскадов в регуляции полярности, миграции, пролиферации клеток на данных секвенирования мРНК; 4) выявили кластеры коэкспрессии генов и описали их в рамках изменения профилей экспрессии и функциональной нагрузки; 5) описали характер экспрессии ряда генов-маркеров стволовых клеток, эпителиально-мезенхимального перехода, клеточной полярности.

На ранних стадиях агрегации происходит активное репрограммирование клеток, сопровождающееся активацией программ поддержания стволовых клеток, экспрессией компонентов Wnt-, MAPK- и Hippo-сигнальных каскадов, положительной регуляцией элементов актинового цитоскелета и клеточной полярности, а также программ миграции и подвижности клеток. При этом, связанные с клеточным циклом гены демонстрируют низкую экспрессию вплоть до полного восстановления губок. Заметное изменение в характере экспрессии >>

ряда генов сигнальных каскадов (в частности, Notch- и TGF-beta путей) наблюдается на стадии эпителизации агрегатов.

Работа поддержана грантом РФФ 23-74-10005.

---

Стендовый доклад

**Особенности транскриптомной активности PR-генов и регуляторов  
клеточного цикла у проростков *Pinus sylvestris* в условиях инфицирования  
*Fusarium sp.* по данным RNA-seq**

Л.В. Можаровская\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт леса НАН Беларуси, Гомель, Беларусь

\* [milamozh@yandex.ru](mailto:milamozh@yandex.ru)

Клеточный цикл растений, как и у всех эукариотических организмов, контролируется путем активации и взаимодействия мультисубъединичных комплексов, состоящих из каталитической циклинзависимой киназы (CDK) и регуляторной субъединицы циклина. В ряде исследований показано, что биотический и абиотический стресс отрицательно влияет на рост растений, нарушает развитие клеточного цикла, а также может привести к запрограммированной гибели клеток.

В настоящем исследовании проводился посев и выращивание растений *Pinus sylvestris* при искусственном инфицировании культурой *Fusarium sp.* Для проростков *P. sylvestris*, выращенных в условиях биотического стресса, а также контрольной группы растений, на основе RNA-seq данных проводилась аннотация, а также скрининг транскриптов генов CDK и циклина, защитных PR-генов, с их количественной оценкой. Обработку транскриптомных данных выполняли с помощью программных пакетов Ion Torrent Suite v. 5.0.4., UGENE v. 1.29.0 и др. Структурно-функциональная аннотация транскриптов проводилась согласно анализу структурного сходства последовательностей (ISS-подход) в базе данных нуклеотидных последовательностей и консервативных доменов NCBI CDD.

По результатам анализа для исследуемых транскриптомов идентифицированы транскрипты генов, содержащих структурно-функциональные домены: циклинзависимой киназы CDK (NCBI CDD ID: cd07835, cd07840), регуляторной субъединицы циклинзависимой киназы CKS (pfam01111, smart01084), циклина (smart00385). В условиях биотического стресса для проростков *P. sylvestris* установлено снижение транскрипционной активности генов CDK и циклинов, при повышенной экспрессии PR-генов. Таким образом, на основе высокопроизводительного секвенирования транскриптомов проростков *P. sylvestris* в моделируемых условиях идентифицированы транскрипты PR-генов и участвующих в регуляции клеточного цикла, проведена их количественная оценка. Полученные результаты расширяют наши знания о регуляции клеточного цикла и адапционного ответа ювенильных растений *P. sylvestris* в условиях инфицирования *Fusarium sp.*

### Происхождение клеток Сети семенника мыши

В.В. Мун\*<sup>1</sup>, А.Ю. Кулибин<sup>1</sup>, Е.А. Малолина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [valeriy2125@gmail.com](mailto:valeriy2125@gmail.com)

Сеть семенника - первый отдел выносящей системы яичка, представляет собой сеть соединенных с друг другом полостей и каналов, выстланных однослойным эпителием. Сеть семенника соединяет между собой все концы извитых семенных канальцев, в которых под контролем клеток Сертоли (КС) протекает сперматогенез. Из этой полости гаметы через выносящие канальцы и придаток семенника двигаются дальше по половым протокам. Помимо функции “переходника” сеть семенника играет важную роль в физиологии и морфогенезе яичка. Но, несмотря на все увеличивающийся интерес к изучению данной области, происхождение сети семенника до конца не ясно. Целью работы является изучение эмбрионального развития СС мыши.

Недавние работы демонстрируют, что клетки эпителия сети семенника и КС возникают из одного источника (Omotehara et al., 2020; Mayere et al., 2022). Эта возможность подтверждается данными о том, что клетки проксимального отдела сети семенника на E14.5 демонстрируют экспрессию как генов-маркеров сети семенника, так и КС (Kulibin, Malolina, 2020; Mayere et al., 2022). Для экспериментального подтверждения происхождения клеток СС из КС мы получали химерные органоиды гонад на E12.5 - стадии, когда СС активно формируется. Половина органоида состояла из семенника без клеток СС. Другая половина - из мезонефроса без КС. Клетки “мезонефрической” части экспрессировали репортерный ген GFP. Культивировали органоиды в течении 3-х суток на агаровом блоке. Для получения “семенной” части органоида из гонады, необходимо делать разрез, отступив 1/3 толщины семенника от границы гонада-мезонефрос, “мезонефрической” - по границе гонада-мезонефрос. 8/8 семенников не содержали Pax8+ клеток (маркер клеток СС), 6/6 мезонефросов - Amh+ клеток (маркер КС). После культивирования в 6/6 мезонефросов не формируются Amh+ клетки, а в 7/8 семенников - не формируются Pax8+ клетки.

При культивировании химерного органоида показано, что только в “семенной” части органоида, формируются Pax8+ клетки (5/6 образцов) и клетки с двойным фенотипом Amh+/Pax8+. Полученные результаты свидетельствуют в пользу частичного происхождения клеток СС из эмбриональных КС. Мы обнаружили, что формирование Amh+/Pax8+ клеток происходит только в тех органоидах семенника, где уже присутствовали клетки СС. Эти результаты, вкпе с проведенным нами анализом межклеточных взаимодействий CellChat по данным scRNA-seq эмбриональных семенников, показал возможность взаимодействия между КС и клетками СС на соответствующих эмбриональных стадиях.



## Геномные исследования аквакультурных рыб

Н.С. Мюге\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии; Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *mugue@mail.ru*

При одомашнивании диких видов кардинальным образом меняется биология организмов, адаптация к условиям искусственного содержания, и адаптивными становятся свойства организма, не характерные для природных популяций. Кроме естественного отбора, направленного на приспособленность к новым условиям обитания, для сельскохозяйственных животных имеется также интенсивная искусственная селекция, направленная на повышение продуктивности. Если для большинства видов животных, используемых в сельском хозяйстве, переход к разведению людьми насчитывает тысячи лет, то для большинства видов рыб, активно разводимых в аквакультуре, насчитывает часто несколько десятков лет от создания аквакультурных линий. Также, в связи с тем, что рыбы дают большое количество (тысячи икринок) потомства, искусственный отбор, направленный на формирование признаков, востребованных в аквакультуре, имеет гораздо большую эффективность. Если для КРС и свиней отбор пары лучших особей в селекционное стадо от пары производителей происходит из небольшого числа потомков, то для рыб - из нескольких тысяч, что приводит к отбору на локусы, отвечающие за отбираемый признак, с значительно большим коэффициентом селекции.

На примере массового полногеномного анализа трех, наиболее популярных в современной аквакультуре видов рыб – семги (лосося), радужной форели и карпа нами анализируются изменения в геноме, произошедшие в процессе domestikации и последующей селекции. Нами проведено полногеномное секвенирование выборок микижи (дикой предковой формы радужной форели), а также выборки из 15 современных высокопродуктивных товарных линий радужной форели как западной, так и отечественной селекции.

Ареал атлантического лосося в настоящее время представлен североатлантической популяцией, доходящей до бассейнов Белого и Карского морей, популяцией Балтийского моря, а также ряда изолированными (landlocked) популяциями, населяющих крупные пресноводные озера – Онежское, Ладожское и ряд других. На базе североатлантической популяции в 80-х гг прошлого века были созданы аквакультурные формы для садкового выращивания. В настоящее время мировая аквакультура лосося представлена двумя независимыми линиями селекции – норвежской (Aquagen) и шотландской (Mowi) – потомками domestikцированных особей североатлантической популяции. В работе проведено сравнение геномов четырех природных популяций и обеих линий товарной аквакультуры.

Карп является старейшим аквакультурным видом, история domestikации которого насчитывает века и начиналась в древнем Китае. Прудовая аквакультура карпа содержит гены предков двух природных популяций – амурского и европейского сазанов, представленных в разных породах в различном соотношении.

Сравнительный анализ геномов природных и аквакультурных линий для трех исследованных видов позволят исследовать направления эволюции геномов в процессе domestikации. Для каждого вида нами выделены однонуклеотидные >>

полиморфизмы (SNP), дифференцирующие природные популяции от аквакультурных, а также проведен анализ генетической дифференциации представленных в современной аквакультуре линий и пород. Участки генома, содержащие локусы, на которые действовал искусственный отбор, характеризуются повышенной плотностью дифференцирующих SNP (формирующих геномные островки дивергенции) а также часто перекрываются с областями пониженной гетерозиготности, что характерно для участков, на которых действовал выметающий отбор (selective sweeps).

Функциональная аннотация выявленных полиморфизмов указывает, что наиболее сильно domestикация затрагивает гены иммунного ответа, участвующие в воспалительном процессе, и ряд других, отвечающие за устойчивость рыб к заболеваниям, вызванным скученностью при выращивании рыб в садках и бассейнах. Также значительную долю занимают гены, участвующие в морфогенезе. Также среди несущих несинонимичные мутации, большой процент представлен генами, экспрессирующимися в мозге. Это позволяет сделать предположение, что наряду с отбором на болезнестойчивость и скорость роста, искусственный отбор также воздействовал на наследственные поведенческие признаки, позволяя рыбам приспособиться к высокой скученности, наблюдаемой в интенсивной товарной аквакультуре с высокой плотностью выращивания.

Полученные панели селективных SNP маркеров могут служить основой для улучшения рыбоводных и потребительских качеств аквакультурных форм лосося, форели и карпа, а также закладывают базу для внедрения принципов современной геномной селекции. Также панели маркеров позволяют проводить генетическую паспортизацию пород и линий с целью мониторинга чистоты селекционных стад и прослеживаемости товарной продукции. Кроме того, полученные геномные маркеры позволяют провести оценку влияния сбежавшего из садковой аквакультуры лосося на природные популяции семги в реках Баренцевоморского и Беломорского бассейнов и оценить поток генов между аквакультурой и природной популяцией. Работы выполнялись в рамках выполнения работ

*ФЦП «Развитие геномных технологий» по гранту МОН, Соглашение № 0 75-15-2021-1084.*

## Амилоидные сети: роль в патогенезе и биологические функции

А.А. Нижников\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Россия

\* [a.nizhnikov@arriam.ru](mailto:a.nizhnikov@arriam.ru), [a.nizhnikov@spbu.ru](mailto:a.nizhnikov@spbu.ru)

Амилоидами называют фибриллярные белковые агрегаты с особой пространственной структурой «кросс-β». Формирование патологических амилоидных агрегатов происходит в ходе развития десятков преимущественно неизлечимых заболеваний, называемых амилоидозами, включая болезнь Альцгеймера и диабет второго типа. С другой стороны, функциональные амилоиды контролируют разнообразные жизненно-важные процессы у представителей всех трех доменов живого мира, включая и человека. В последнее время получен целый ряд данных, свидетельствующих в пользу того, что амилоиды, благодаря сходству пространственной структуры, способны взаимодействовать друг с другом, и это взаимодействие может приводить как к индукции амилоидогенеза, так и к его подавлению. Более того, организм человека как холобионта содержит не только амилоиды, структурные белки которых закодированы в геноме хозяина, но и значительное число разнообразных амилоидов, продуцируемых микробиотой. Показано, что целый ряд бактериальных амилоидов способен индуцировать агрегацию белков человека, вовлеченных в развитие нейродегенеративных заболеваний. Третьей группой амилоидов, взаимодействующих с амилоидными белками организма-хозяина, являются амилоиды, попадающие в него из внешней среды, например с пищей. Так, нашим коллективом установлено, что семена растений содержат амилоиды запасных белков (Antonets et al., 2020), некоторые из которых способны подавлять патологический амилоидогенез белков человека, по крайней мере, в системах *in vitro* (Sulatsky et al., 2023). Таким образом, формирование амилоидов белками человека зависит не только от его собственного протеома и процессов, обеспечивающих протеостаз, но находится в трехкомпонентной сети взаимодействий амилоидов холобионта, включающей взаимодействия амилоидогенных белков организма-хозяина с амилоидными белками микробиоты и амилоидами, поступающими из внешних источников, такими как пищевые продукты.

*Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением № 075-15-2022-320 от 20 апреля 2022 года о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен на государственную поддержку создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».*

## Исследование роли минорных субпопуляций мезенхимы в морфогенезе легких мыши

Ю.А. Новикова\*<sup>1</sup>, И.А. Говорова<sup>1</sup>, С.Ю. Никиточкина<sup>1</sup>, О.И. Сутягина<sup>1</sup>, Е.А. Воротеляк<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [yula1308@mail.ru](mailto:yula1308@mail.ru)

Эпителиальный состав проксимальных и дистальных отделов легких млекопитающих достаточно подробно описан, однако, субпопуляции мезенхимных клеток легких остаются малоизученными. Мезенхимные клетки в паренхиме легких млекопитающих можно разделить на альвеолярные нишевые клетки, липо-, мио- и матриксные фибробласты, резидентные стволовые клетки, перициты, гладкомышечные и мезотелиальные клетки (Ricceti, 2020). С целью исследования вклада конкретных минорных субпопуляций в морфогенезе легочной ткани в представленной работе были изучены альвеолярные нишевые и гладкомышечные клетки, перициты и матриксные фибробласты.

В первую очередь, субпопуляции интереса были получены с помощью флуоресцентно-активируемого сортирования (ФАКС) из тотальной фракции клеток легких, выделенных из легких половозрелых мышей линии C57Bl/6 согласно стандартному протоколу (Sinha et al., 2016). Предварительно, из тотальной фракции клеток легких с помощью магнитного сортирования были удалены лейкоциты (CD45+), эндотелий (CD31+) и эпителий (EpCAM+). После ФАКС полученные субпопуляции мезенхимы были переданы на протеомный анализ. Кроме того, для изучения влияния конкретных типов мезенхимных клеток на эпителий, каждую субпопуляцию сочетали с бронхо-альвеолярным стволовым эпителием (БАСК) в составе органоидов. Органоиды культивировали во вставках Transwell, сочетая клеточную суспензию с матригелем 1:1 в течение 14-21 сут.

Результаты биоинформатического анализа показали, что альвеолярные нишевые фибробласты (CD140a+LGR5+) были обогащены белками, связанными с метаболизмом липидов, а также высокой степенью выраженности сигнальных путей Hippo и TGF $\beta$  и меньшей Wnt-сигналинга. В то же время перициты (CD140a-CD140b+CD146+) характеризовались высокой экспрессией паттерна, связанного с синтезом белков, морфогенезом кровеносных сосудов и обогащением Wnt сигнального пути. Со-культивирование субпопуляций мезенхимы с БАСК выявило, что органоиды, сформированные на основе LGR5+ мезенхимных клеток, способствовали формированию органоидов, сочетающих как альвеолярный, так и бронхоальвеолярный эпителий. При этом, сочетание перицитов и БАСК приводило к образованию преимущественно альвеолярного типа органоидов.

Таким образом, в представленной работе охарактеризован протеомный состав нескольких минорных субпопуляций мезенхимы и продемонстрировано влияние данных субпопуляций на дифференцировку прогениторных БАСК.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74- 30015).*

Стендовый доклад

**Использование микросателлитных маркеров для генетической  
идентификации видов на примере ранее не изученной популяции  
кавказских скальных ящериц рода *Darevskia***

Д.О. Одегов\*<sup>1</sup>, В.А. Паршукова<sup>2</sup>, М.С. Аракелян<sup>3</sup>, А.М. Ирена<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия;

<sup>3</sup> Елецкий государственный университет им. И.А. Бунина, Елец, Россия

\* [odegov.dima@list.ru](mailto:odegov.dima@list.ru)

Микросателлитные маркеры широко применяются в популяционно-генетических исследованиях. В настоящей работе, на основании полиморфизма ряда тетраплексов, была проведена видовая идентификация особей ранее не изученной популяции кавказских скальных ящериц рода *Darevskia*. Данные микросателлитные локусы ранее были использованы для изучения внутривидового разнообразия партеногенетических и родственных им двуполых видов ящериц рода *Darevskia*. Однополые виды данного рода имеют гибридное происхождение и размножаются путем облигатного мейотического партеногенеза. Для особей каждого партеновида характерен видоспецифический профиль амплификации, в отличие от индивидуум специфического профиля особей двуполого вида. Таким образом, проведя сравнительный анализ продуктов амплификации, можно исключить принадлежность особей к двуполому виду. Совокупность морфологических характеристик изучаемых особей и данных молекулярно-генетического анализа позволила определить видовой состав ранее не исследованной популяции: было показано, что в данной популяции представлены особи партеновидов *D. armeniaca*, *D. unisexualis* и *D. dahli*.

**Митохондриальный геном боялычной сони *Selevinia betpakdalaensis*  
и филогенетическая реконструкция семейства Gliridae**

Т.В. Петрова\*<sup>1</sup>, В.А. Паницина<sup>1</sup>, С.Ю. Бодров<sup>1</sup>, Н.И. Абрамсон<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия;

\* *p.tashka@inbox.ru*

Сони (Gliridae) – древнее семейство грызунов. Оно было доминирующим в олигоцене и раннем миоцене, однако современное разнообразие группы представлено лишь несколькими сохранившимися видами, принадлежащими к восьми родам. Боялычная соня *Selevinia betpakdalaensis* – эндемик Казахстана, это один из самых загадочных видов сонь. Отсутствие генетических данных не позволяло включить Селевинью в предыдущие молекулярно-филогенетические анализы семейства. В данной работе мы секвенировали и собрали полный митохондриальный геном для музейного экземпляра *S. betpakdalaensis*, а также митохондриальные геномы нескольких других видов семейства Gliridae (*Myomimus roachi* и *Glirulus japonicus*), также полученные из музейных образцов, и *Graphiurus murinus*, собранный на основе опубликованных сырых данных. Собранные митогеномы были выровнены с данными, имеющимися в генбанке, для реконструкции митохондриальной филогении семейства Gliridae. Принимая во внимание возможное искажение филогении в результате анализа насыщенной третьей позиции кодона, мы провели несколько вариантов анализа. Были проанализированы все три позиции кодона, а также последовательно исключены из анализа транзиции в третьей позиции и третья позиция целиком. Наглядно продемонстрировав влияние насыщения на результаты анализов методом Байеса и максимального правдоподобия, мы впервые получили четкую филогению семейства. Первым, по нашим оценкам примерно 34,6 млн лет назад, внутри Gliridae обособилось подсемейство Leithiinae, в то время как время расхождения подсемейств Graphiurinae и Glirinae оценивается как 32,67 млн лет назад. Филогенетический анализ подтвердил родство между *Selevinia* и мышевидными сонями рода *Myomimus*, показанное ранее на основании морфологии черепа и нижней челюсти. Время обособления боялычной сони оценивается примерно как 24 млн лет назад.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 075-15-2021-1069).*

Стендовый доклад

**Экспрессия компонентов внеклеточного матрикса и белков десмосомы в ИПСК  
и на ранних стадиях дифференцировки дофаминергических нейронов  
с заменой G2019S в LRRK2**

Е.А. Попик\*<sup>1</sup>, А.В. Спасельникова<sup>1</sup>, Е.И. Шарова<sup>1</sup>, Л.О. Скородумова<sup>1</sup>, В.А. Канаева<sup>1</sup>,  
Е.И. Олехнович<sup>1</sup>, М.А. Лагарькова<sup>1</sup>, А.Н. Богомазова<sup>1</sup>, О.С. Лебедева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины  
им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

\* *evaporik2@gmail.com*

Болезнь Паркинсона (БП) - наиболее распространенное нейродегенеративное моторное заболевание. Мутация 6055G>A в гене *LRRK2*, кодирующем киназу *LRRK2*, является наиболее частой аутосомно-доминантной мутацией, ассоциированной с БП. Хотя симптомы БП развиваются в пожилом возрасте, на клеточных моделях наблюдают патологические изменения на ранних стадиях дифференцировки в дофаминергические нейроны. Перспективной клеточной моделью для изучения роли *LRRK2* в патогенезе БП на разных стадиях формирования дофаминергических нейронов являются индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) пациентов. Такие модели подходят для изучения белков внеклеточного матрикса (ВКМ), которые важны для формирования нервной ткани, поддержания гомеостатических процессов мозга, регулирования активности нейронов и синаптической пластичности, и дефицит которых может ускорять нейродегенерацию, ингибируя аутофагию и вызывая апоптоз. Исследования в этом направлении могут расширить наше представление о патогенезе БП и возможном негативном влиянии БП-ассоциированных мутаций на эмбриональное развитие мозга.

Целью нашей работы является изучение экспрессии компонентов внеклеточного матрикса и белков десмосомы в культурах нейроэпителлия и нейрональных предшественников, дифференцированных из изогенных линий ИПСК с различными аллельными состояниями гена *LRRK2* по мутации 6055G>A. Уровень мРНК исследуемых генов оценивали с помощью количественной ПЦР. Экспрессию белков оценивали с помощью вестерн блоттинга и иммуноцитохимического окрашивания.

В результате работы было показано, что в ходе дифференцировки дофаминергических нейронов происходит ремоделирование внеклеточного матрикса. Кроме того, наблюдаются патологические изменения во ВКМ, опосредованные мутацией 6055G>A в *LRRK2*, что свидетельствует о необходимости более глубокого изучения патологических изменений при наследственных формах БП на стадии эмбриогенеза.

*Работа выполнена при поддержке гранта 075-15-2019-1669 Министерства науки и высшего образования.*

**Спонтанные флуктуации изменчивости морфологии иглокожих, их связь с симметрией и эволюционное значение**

С.В. Рожнов\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва, Россия

\* [rozhnov@paleo.ru](mailto:rozhnov@paleo.ru)

Борис Львович Астауров, изучая наследственные изменения гальтеров у *Drosophila* в начале своей научной деятельности, обратил внимание на спонтанную модификационную изменчивость, основанную на вмешательстве случайных событий в действие генов. Исследуя эту проблему, он показал не только случайность флуктуаций такого развития, но и независимость их проявления на правой и левой стороне тела у насекомых и позвоночных, а также в последовательных метамерах полихет и многоножек. Выявленная им спонтанная, флуктуирующая изменчивость теперь широко изучается как «шум в экспрессии генов», тогда как показанная им независимость проявления этого процесса справа и слева и в метамерах, приводящая к нарушению симметрии, еще не получила должного развития. Для заполнения этого пробела особое значение имеет изучение иглокожих с их уникальным сочетанием разных модусов симметрии, в том числе пентамерии, и особенностей ее преобразований в онтогенезе и филогенезе. Спонтанные флуктуации у морских лилий наблюдаются в изменчивости метамерии стебля и морфологии его члеников, ветвлении рук и особенностях венчиков чашечки. У ордовикской морской лилии *Streptoicrinus* каждый членик стебля разделен на пять антимеров. Боковая скульптура на его члениках стебля может отсутствовать или спонтанно появляться на одном из пяти антимеров, на трех или на всех пяти. В последнем случае она может быть одинаковой на всех антимерах или различаться между их диадой и триадой. Это является отражением становления в филогенезе пятилучевого амбулакального кольца из трехлучевого. Пятиугольные членики стебля мезозойских морских лилий пентакринид монолитны. Спонтанная изменчивость у них проявляется в редком нарушении пятилучевой симметрии – от четырехлучевой до семилучевой. У силурийской морской лилии *Pisocrinus* спонтанная изменчивость проявляется в расположении заострения одной из двух соседних базальных табличек чашечки, правой или левой относительно билатеральной личиночной плоскости, проявляющейся таким образом в строении взрослых форм. Очень редко обе таблички без заострения с маленькой заостренной шестой табличкой между ними. Иглокожие в норме левосторонние животные, но изредка встречается спонтанный полный энантиоморфизм взрослых особей у древнейших стилофор и эдриоастероидей. Полученные данные приводят к выводу о переходе случайных флуктуаций морфологии у иглокожих в постоянные адаптивные признаки с перемещением их формирования от экспрессий периферийных генов в более центральные части генных сетей.



Устный доклад

### Геномные и клеточные основы поведения у безнервных животных Placozoa

Д.Ю. Романова\*<sup>1</sup>, М.А. Никитин<sup>1,2</sup>, А.А. Садова<sup>1</sup>, Л.Л. Мороз<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Кафедры нейронауки и Институт мозга Макнайта, Университет Флориды, США;

<sup>4</sup> Лаборатория морских биологических наук Уитни, Университет Флориды,  
Сент-Огастин, Флорида, США

\* [darjaromanova@gmail.com](mailto:darjaromanova@gmail.com)

Происхождение сигнальных механизмов у животных и их нервных систем является одной из величайших неразрешенных загадок в биологии. Безнервные пластинчатые являются простейшими свободноживущими животными, по-видимому, сохранившими предковые способы химической сигнализации в форме объемной передачи информации через хемоконнектор. Несмотря на наличие всего ~10 морфологических типов клеток, животные демонстрируют сложные схемы питания и локомоции, включая поведение социального типа. Однако мало что известно об их сигнальных молекулах и клеточных основах поведения в целом. Используя геномный и scRNA-seq анализ, а также аналитические микрохимические подходы, мы идентифицировали более 180 кандидатов на роль сигнальных молекул и охарактеризовали их распределение и потенциальные функции. Большинство идентифицированных молекул представляют собой новые короткие пептиды, специфичные для конкретной линии, а также несколько низкомолекулярных транмиттеров (включая NO, АТФ, глутамат, глицин и ГАМК как самые древние межклеточные мессенджеры у многоклеточных животных). Паттерны экспрессии показали, что по крайней мере половина предсказанных прогормонов имела клеточно-специфическое распределение, при этом несколько пептидов локализовались в одних и тех же типах клеток (например, волокнистых клетках, липофильных, кристаллических клетках и различных секреторных эпителиальных клетках).

*Исследование было проведено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-14-00050.*

## Экспрессия генов *sfrp* при регенерации у голотурии *Eupentacta fraudatrix*

К.А. Садриев\*<sup>1</sup>, А.С. Гирич<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН,  
Владивосток, Россия

\* *sadriev.ka@dvfu.ru*

Голотурии – морские беспозвоночные, представители типа Echinodermata. Их характерной особенностью является способность к эвисцерации. В стрессовых условиях, животное выбрасывает во внешнюю среду свои внутренние органы. После чего начинается процесс регенерации, длящийся примерно месяц.

У голотурии *Eupentacta fraudatrix* после эвисцерации происходит регенерация всего кишечника, а также переднего комплекса органов, называемого у голотурий аквафарингеальным (АК). Среди генов, регулирующих регенераторные процессы, особый интерес представляют гены, вовлеченные в эволюционно-консервативные сигнальные пути, такие как Wnt и Hedgehog. К таким относятся члены семейства *sfrp*, известные в первую очередь в качестве модуляторов белков Wnt в межклеточном пространстве.

В нашей работе, мы с помощью гибридизации *in situ* исследовали пространственную локализацию транскриптов генов *sfrp* при регенерации после эвисцерации у голотурии *E. fraudatrix*. Было выявлено, что транскрипты гена *sfrp 3/4* на 5 сутки регенерации после эвисцерации (спэ) локализуются в клетках целомического эпителия зачатка кишки, а также в области формирования амбулакрального кольца. К 10 суткам после эвисцерации транскрипты локализуются в производных амбулакрального кольца – полиевых пузырях; клетках целомического эпителия, выстилающего зачаток АК и кишки, а также мезентерий. К 20 спэ экспрессия сохраняется в целомическом эпителии.

Транскрипты гена *sfrp 1/2/5* к 3 спэ локализуются в целомическом эпителии интеррадиусов зачатка АК, зачатка кишки и мезентерия. К 5 спэ экспрессия наблюдалась в месте формирования амбулакрального кольца, но по сравнению с *sfrp 3/4*, эта область была более широкой. К 10 спэ транскрипты вновь появляются в целомическом эпителии зачатка АК. К 20 спэ транскрипты локализуются в амбулакральном канале и полиевых пузырях, а также появляются в клетках щупальцевых каналов, сохраняются в целомическом эпителии мезентерия.

Полученные результаты свидетельствуют о вовлеченности генов *sfrp* в регенерацию амбулакральной системы голотурий. Кроме того, ген *sfrp 1/2/5*, принимает участие в регенерации щупалец. Их роль в функционировании целомического эпителия требует дальнейших исследований, но вероятен сценарий, при котором *sfrp* через сигнальный путь Wnt регулируют дифференцировку и миграцию клеток эпителия.

**Участие повторяющегося элемента генома (GGAAA)<sub>n</sub>  
в дифференцировке пола у курицы**

А.Ф. Сайфитдинова\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,  
Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Международный центр репродуктивной медицины, Санкт-Петербург, Россия

\* [saifitdinova@mail.ru](mailto:saifitdinova@mail.ru)

Для птиц характерно наличие генетического механизма определения пола с системой половых хромосом ZW, при которой самки гетерогаметны, а самцы гомогаметны. В ходе эволюции нерекombинирующие участки W-хромосомы птиц подверглась значительной деградации и накоплению повторяющихся элементов, однако, в отличие от млекопитающих, гетероморфная половая хромосома у птиц сохранила небольшое число генов, причем все они имеют биаллельную экспрессию в широком спектре взрослых и эмбриональных тканей и чувствительны к сокращению дозы гена. Переключение половой дифференцировки определяется числом хромосом Z, но в составе половых хромосом не найдено конкретных уникальных генов, отвечающих за реализацию строго определенной половой дифференцировки, подобно локусу SRY у млекопитающих.

Ранее нами описан повторяющийся элемент (GGAAA)<sub>n</sub>, который у курицы локализуется преимущественно в виде двух протяженных блоков на обоих плечах половой хромосомы W и составляет около 1% генома. Этот повтор транскрибируется в соматических клетках. В литературе описаны данные о том, что наличие коротких треков повтора (GGAAA)<sub>n</sub> в промоторных районах генов у птиц может регулировать их активность. Мы выдвинули предположение, что повторы (GGAAA)<sub>n</sub>, транскрибирующиеся с протяженных блоков на хромосоме W, могут участвовать в половой дифференцировке у курицы посредством взаимодействия с комплементарными короткими блоками тандемных повторов в составе регулярных областей генов или некодирующих районов транскриптов. В результате проведенного исследования, в геноме курицы, по данным сборки GRCgба (GCF\_000002315.6), тандемные блоки (GGAAA)<sub>n</sub> от 7 копий и более, помимо хромосомы W, были найдены в составе тринадцати аутосом (1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 15, 20, 22, 27, 28, 31) и половой хромосомы Z. Подавляющее большинство интерстициальных коротких треков этого повтора было выявлено в составе первого или второго интронов генов, кодирующих трансмембранные белки, участвующие в синаптической передаче и вовлечены в процессы обучения, пения и реализации агрессивного поведения; из них 55 локализируются на аутосомах и 12 на половой хромосоме Z. Функциональные особенности генов, несущих в составе интронов повтор (GGGAA)<sub>n</sub> и различное проявление этих функций у самцов и самок, свидетельствуют о том, что регуляторные последовательности РНК, транскрибируемые с последовательностей на половой хромосоме W, могут участвовать в регуляции активности генов, вовлеченных в дифференцировку пола и половое поведение у курицы.

**Исследование экспрессионной активности высококонсервативного  
гена *Ras85D***

Е.А. Сивопляс \*<sup>1</sup>, А.М. Куликов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *sivoplyas-ekater@mail.ru*

Высококонсервативный ген *Ras85D* у дрозофил различной степени родства характеризуется неожиданно высокой эволюционной изменчивостью области промотора, расположенной выше последовательности межгенного района и дистального по отношению к некодирующей 5' последовательности самого гена. Ключевая роль *Ras85D* в регуляции сигнальных каскадов, участвующих в регуляции клеточного цикла, активности пролиферации и дифференцировки клеток, предполагает консервативную регуляцию экспрессионной активности гена. Регуляторная область гена изменчива, ниже промотора располагаются несколько консервативных фрагментов, что предполагает сходство относительной экспрессионной активности гена у видов с различающимися последовательностями регуляторной области.

У всех видов показано наличие дополнительных точек старта транскрипции, которые располагаются как правило выше основной. Конститутивные регуляторные последовательности гена *Ras85D* представлены в выявленных эволюционно консервативных участках и обогащены сайтами связывания транскрипционных факторов, связанными с контролем различных этапов онтогенеза дрозофил.

Кроме этого, в области 3'-UTR гена *Ras85D* путем биоинформационного анализа выявлены консервативные последовательности, отвечающие за связывание микроРНК. Оценки экспрессии, полученные для образцов, выделенных из целого организма на разных стадиях развития, показывают существенные различия уровня экспрессии гена *Ras85D*. Максимальная экспрессия гена отмечена для первой половины эмбрионального развития (стадии эмбриогенеза 5-12), последней трети третьего личиночного возраста и половозрелых самок дрозофил.

*Исследование поддержано грантом РФФИ № 16-34-00840 мол\_а. Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2024 года (№ 0088-2024-0011).*

**Исследование группы видов *Nothobranchius ugandensis* в контексте эволюции  
хромосом в роде *Nothobranchius*  
(доклад на русском языке)**

**A case study of the *Nothobranchius ugandensis* species group in the context of  
*Nothobranchius* chromosome evolution**

С.А. Симановский\*<sup>1</sup>, Е.Ю. Крысанов<sup>1</sup>, В. Nagy<sup>1</sup>, В.Р. Watters<sup>1</sup>, А. Sember<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт физиологии и генетики животных Чешской академии наук,  
Либехов, Чехия

\* [sergeysimanovsky@gmail.com](mailto:sergeysimanovsky@gmail.com)

Changes in the architecture of eukaryotic genomes often have a major impact on processes underlying reproductive isolation, adaptation and diversification. *Nothobranchius* killifishes have a seasonal life-cycle, being adapted to an extreme environment of ephemeral wetland pools in African savannahs. They feature extensive karyotype evolution in small, isolated populations and thus are suitable models for studying the interplay between karyotype change and species evolution. In the present work we studied the karyotype differentiation of the twelve known members of the *Nothobranchius ugandensis* species group which inhabits east African inland plateau. We revealed a highly conserved diploid chromosome number ( $2n = 36$ ) but a variable number of chromosomal arms ( $NF = 46-64$ ) among the sampled species, implying a significant role of pericentric inversions and/or other types of centromeric shift in the karyotype evolution of the group. Cytogenetic characteristics did not show any correlation with the phylogenetic relationships within the lineage. While karyotypes of many other *Nothobranchius* spp. studied to date diversified mainly via chromosome fusions and fissions, as manifested by a wide range of  $2n$  (16–50 chromosomes), the *N. ugandensis* species group maintains stable  $2n$  and the karyotype differentiation seems to be constrained to intrachromosomal rearrangements. Future studies will assess the functional interplay between multiple intrachromosomal rearrangements, genome evolution and species diversification within the *N. ugandensis* species group.

*This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research Project no. 24-24-00541.*

### Особенности метаморфоза форониды *Phoronopsis harmeri*

О.И. Тайманова\*<sup>1</sup>, Е.Г. Ивашкин<sup>2</sup>, М.С. Апарина<sup>2,3</sup>, Е.Н. Темерева<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *olga.taym@mail.ru*

Форониды – группа морских животных с непрямим развитием. Взрослые особи обитают на дне, а их личинки, которые называются актинотрохами, плавают в планктоне и проходят метаморфоз, превращаясь в ювенильные стадии. Метаморфоз форонид сопровождается значительными изменениями плана строения тела и формирования дефинитивной нервной системы. Для изучения этого процесса мы использовали гены *Elav* и *Syt1*, важные для нейрогенеза у Eumetazoa. *Elav* экспрессируется в постмитотических нейробластах и нейронах, кодируя РНК-связывающий белок, необходимый для регуляции альтернативного сплайсинга. *Syt1* кодирует белок синаптотагмин-1, являющийся частью синаптического комплекса и экспрессируемый на финальной стадии дифференцировки нейронов. Оба гена являются паннейрональными маркерами, что позволяет визуализировать нейробласты и нейроны. Настоящее исследование направлено на изучение преобразований нервной системы в ходе метаморфоза форонид на примере *Phoronopsis harmeri*. Мы применили метод мультиплексной флуоресцентной РНК *in situ* гибридизации на основе гибридационной цепной реакции (ISH-HCR), чтобы исследовать экспрессию генов *Elav* и *Syt1*. Нами установлено, что гены *Elav* и *Syt1* активно экспрессируются в нейронах щупалец, особенно в телах нейронов, чьи отростки формируют латероабфронтальные нервы. На стадиях личинки экспрессия происходит в сенсорном поле и нейронах метасомального мешка. На стадиях ювенили ген *Elav* экспрессируется в щупальцевом нервном кольце, межщупальцевых перикариях и нейронах туловищного плексуса. На стадии позднего метаморфоза клетки, экспрессирующие *Elav*, образуют структуру, напоминающую нервный ствол. Нервного ствола у взрослых форонид нет, и предполагается, что эти клетки расходятся, давая начало нервному плексусу и, возможно, маркируя место расположения дефинитивного гигантского нервного волокна. Исследование раскрывает важную роль *Elav* и *Syt1* в развитии нервной системы и метаморфозе форонид, демонстрируя эволюционные процессы, приводящие к значительным морфологическим изменениям в ходе развития.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ (№ 23-14-00020).

**Влияние флуоксетина на процессы созревания ооцитов мыши:  
молекулярные аспекты**

М.Д. Ткаченко\*<sup>1</sup>, Д.А. Никишин<sup>2,1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* *tkmadm@yandex.ru*

Серотонин является регулятором созревания ооцитов среди широкого спектра видов животных. У млекопитающих показано, что серотонин накапливается в ооцитах посредством активности мембранного транспортера серотонина SERT, функцию которого можно подавить селективными ингибиторами обратного захвата серотонина (СИОЗС), такими как флуоксетин или сертралин. При использовании данных препаратов, серотонин перестает накапливаться в яйцеклетках, однако последствия применения СИОЗС на дальнейшую судьбу созревающей яйцеклетки недостаточно изучены.

В данной работе мы исследовали влияние флуоксетина на количество и качество зрелых постовуляторных МII-ооцитов. При их получении, мы наблюдаем тенденцию к снижению количества постовуляторных ооцитов, собранных с одного животного, в группе, принимавшей флуоксетин. Качество полученных ооцитов оценивалось по таким критериям, как: сферическая форма ооцита, отсутствие фрагментации цитоплазмы и форма первого полярного тельца. По данным признакам нами не было обнаружено разницы между контрольной и опытной группой. Таким образом, мы можем предположить, что при ингибировании SERT происходит нарушение процесса оогенеза, что приводит к снижению количественных и качественных показателей, которые тем не менее не отражаются на морфологическом уровне.

Как известно, активность теломеразы является одним из важнейших функциональных показателей качества ооцитов млекопитающих. В результате TRAP-ПЦР анализа, нами было выявлено снижение теломеразной активности на 40% в МII-ооцитах мыши при приеме флуоксетина. Исходя из литературных данных и полученного результата, можно предположить, что при воздействии флуоксетина TERT интенсивнее дефосфорилируется и выходит в ооплазму, где она не может эффективно достраивать теломеры.

В рамках данной работы, нами также был проведен протеомный анализ полученных постовуляторных ооцитов, с целью поиска механизмов, чувствительных к воздействию флуоксетина. В результате исследования было идентифицировано 2322 белка, для которых проведена оценка дифференциальной экспрессии. Она показала, что статистически значимо изменяется содержание белков, связанных с процессингом и сплайсингом мРНК, клеточным циклом, активностью митохондрий, а также компонентов сигнальных каскадов mTORC1 и Rho GTPаз, играющих важную роль в мейотическом созревании ооцитов.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение СИОЗС, оказывает негативное влияние на качество ооцитов и может иметь долгосрочные последствия в последующем развитии. >>

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН в рамках Государственного задания № 0088-2021-0009, при поддержке гранта РНФ (проект № 22-74-10009).

Устный доклад

## Морфогенетические факторы как регуляторы реализации генетической программы

М.В. Угрюмов\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики",  
Москва, Россия

\* [michael.ugrumov@mail.ru](mailto:michael.ugrumov@mail.ru)

В этих тезисах приводится анализ собственных и литературных данных о регуляции экспрессии генетической программы развития организма в онтогенезе. Известно, что реализация генетической программы развития клеток и органов-мишеней, а, следовательно, и целостного организма в онтогенезе контролируется так называемыми морфогенетическими факторами (МФ). Эти факторы присутствуют и во взрослом организме в виде классических нейротрансмиттеров, нейрогормонов, гормонов периферических эндокринных желез и многих других физиологически активных веществ. У взрослых животных эти вещества оказывают на клетки и органы-мишени кратковременное обратимое регуляторное влияние, тогда как в развивающемся организме они действуют на те же рецепторы, оказывая необратимое морфогенетическое влияние. МФ действуют либо опосредовано через рецепторы, запуская экспрессию специфических внутриклеточных транскрипционных факторов, либо сами интернализуются в развивающиеся клетки, выполняя роль транскрипционных факторов.

Контроль развития организма МФ у млекопитающих происходит в течение всего пренатального периода и в раннем постнатальном периоде - сначала путем аутокринной и паракринной регуляции, а после появления кровеносной системы еще и путем эндокринной регуляции. В течение этого периода развития существует несколько последовательно включающихся в работу источников МФ. Универсальным источником широкого спектра МФ в течение всего пренатального периода является плацента. Отдельные МФ, способные преодолеть плацентарный барьер (стероидные гормоны), поступают к эмбрионам из организма матери. По ходу пренатального развития у плодов формируются периферические эндокринные железы, которые также являются источником ряда МФ. И, наконец, у грызунов в середине пренатального периода, а у человека после 15-й недели беременности формируется мозг, который при отсутствии в это время гематоэнцефалического барьера, является таким же универсальным источником МФ, как и плацента. Ситуация кардинально меняется после рождения – единственным универсальным источником широкого спектра МФ до конца критического периода морфогенеза остается развивающийся мозг. Ограниченное количество МФ в это время поступает в развивающийся организм также из собственных периферических эндокринных желез и с молоком кормящей матери.

Таким образом, генетическая программа развития организма находится под контролем МФ, основными источниками которых являются плацента и развивающийся мозг.



**Tetraptera Б.Л. Астаурова и генетика симметричных признаков**

Н.Б. Федорова\*<sup>1</sup>, Б.Ф. Чадов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия

\* *bonife@mail.ru*

Генетическая мутация Tetraptera, обнаруженная Б.Л. Астауровым у дрозофилы, характеризуется появлением дополнительных крыльев вместо гальтер и нарушением их билатерального проявления (Астауров, 1927). Нарушение симметрии позволило автору сделать заключение о существовании новой («реализационной») формы изменчивости в дополнение к известным к тому времени генетической и средовым формам. Исследование Б.Л. Астаурова подняло проблему генетического обеспечения пространственного дизайна морфологических структур в процессе индивидуального развития, решения которой до сего времени не найдено.

Систематическое нарушение билатеральной симметрии обнаружили у мутантов по онтогенам у дрозофилы (Chadov, Fedorova, 2023). Мутанты характеризуются образованием морфозов у взрослых особей. Морфоз — это отсутствие конкретной морфологической структуры у особи (- ткань) или наличие её в резко измененной форме (+ ткань). В обоих случаях морфоз присутствует на одной из сторон особи: левой или правой. Феномен образования морфозов сходен с проявлением тетраптеры Б.Л. Астаурова, но имеет и другие свойства. Они позволяют заключить, что симметрией управляют онтогены. Онтогены являются основными элементами, составляющими генетическую программу индивидуального развития. Детерминация симметрии происходит в клетках зачаткового пути в процессе редактирования генетической программы индивидуального развития. Конкретным механизмом, приводящим к симметрии (или асимметрии) структур, является детерминация пространственного расположения плоскости деления стволовой клетки. Рассматриваются факты в пользу заявленного генетико-клеточного механизма формирования симметрии.

## Влияние внутриклеточного серотонина на доимплантационное развитие мыши

В.С. Фролова\*<sup>1</sup>, Ю.О. Никишина<sup>2</sup>, Д.А. Никишин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *frolova.veronika.2014@post.bio.msu.ru*

Функции классических нейротрансмиттеров, в т.ч. моноаминов, не ограничиваются передачей нервных импульсов, но реализуются также в эмбриональном развитии различных групп организмов. Наличие компонентов серотонинергической системы на ранних стадиях развития, а также способность разнообразных фармакологических агентов оказывать влияние на процесс индивидуального развития позволили прийти к заключению, что серотонин влияет на рост и созревание яйцеклеток, селекцию фолликулов яичника, деления дробления, межбластомерные взаимодействия и другие процессы раннего эмбриогенеза. В рамках данной работы с помощью трех фармакологических агентов – селективного ингибитора обратного захвата серотонина флуоксетина, блокатора везикулярного транспорта моноаминов резерпина и ингибитора моноаминоксидаз паргилина – мы рассмотрели, каким образом механизмы транспорта и деградации серотонина влияют на процесс доимплантационного развития мышей линии ICR.

При пероральном приеме флуоксетина в течение недели содержание серотонина в яичниках снижается до 20% от нормы. При длительном приеме флуоксетина в случае наступления беременности доимплантационное развитие продолжается по крайней мере до стадии бластоцисты. Анализ методом ПЦР в реальном времени показал, что уровень экспрессии маркеров плюрипотентности при этом остается на нормальном уровне.

При единовременной инкубации доимплантационных эмбрионов в серотонине и паргиллине до стадии бластоцисты происходит гипернакопление серотонина во всех типах клеток бластоцисты. Этот результат свидетельствует о том, что в клетках эмбрионов функционирует захват серотонина из внешней среды и его внутриклеточная деградация. Молекулярно-генетический анализ показал, что высокий уровень серотонина в клетках бластоцист также не оказывает влияние на экспрессию генов-маркеров плюрипотентности.

Везикулярный транспортер моноаминов VMAT2 экспрессируется на доимплантационных стадиях развития и может способствовать накоплению серотонина в везикулярном компартменте. Прием резерпина снижает количество овулирующих яйцеклеток. Иммунореактивность серотонина в GV-ооцитах, полученных из яичников, и в единичных МII-ооцитах, полученных из яйцеводов, остается на минимальном уровне по сравнению с контрольными образцами. Таким образом, на доимплантационных стадиях развития мыши функционально активны механизмы мембранного захвата, деградации и везикулярного транспорта серотонина.

*Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н. К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФ № 22-74-10009.*

### Эволюционная изменчивость консервативного гена *ras85D*

А.И. Чекунова\*<sup>1</sup>, С.Ю. Сорокина<sup>1</sup>, Г.Н. Бахтояров<sup>2</sup>, А.М. Куликов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

\* *annachek-n@mail.ru*

В рамках анализа эволюционной изменчивости области промотора и межгенного участка ультраконсервативного гена *ras85D* проведена реконструкция эволюционной истории этой области у близкородственных видов группы *virilis*. В ходе анализа фрагмента 2-й хромосомы 11 видов дрозофил данной группы были выявлены изменение состава генов, фланкирующих локус *ras85D*, значительное и даже многократное увеличение длины межгенной области по сравнению с видами дрозофил различной степени родства, необычайно высокая насыщенность данной области делециями различной длины, от нескольких нуклеотидов (нк) до 1000 нк, выявляемыми при выравнивании последовательности у родственных видов. Использование базы данных GIRI Repbase позволило обнаружить следы мобильных элементов у некоторых видов группы *virilis*, такие как *Helitron*, *hAT/DNA8*, *Gypsy* и не-LTR ретротранспозон, *R1/CR1*. Подробно реконструирована возможная цепь перестроек на хромосоме 2 и определено время формирования регуляторной области гена *ras85D* в эволюционной линии подрода *Drosophila*. Обнаружен предковый транспозон у группы *virilis*, названный нами как не охарактеризованный X ДНК TE с инвертированными концевыми повторами, который участвовал в инверсионной перестройке между генами *ras85D* и *caf1-55* у общего предка видов данной группы. Вид *D. virilis* отличается от других видов группы из-за еще одной инверсии (2A), описанной ранее (Reis et al., 2018), которая произошла при участии ДНК-транспозона DAIBAM (суперсемейство hAT) и затронула с одной стороны все тот же спейсер *Caf1-55 - Rlb1*, а с другой захватила ген *invadolisin*. Нами было проведено сравнение изменчивости структуры самой регуляторной области гена *ras85D* у 38 видов дрозофил разной степени родства с использованием общедоступных баз данных NCBI: SRA (для библиотек кДНК), EST, Gene, TSA. Анализ выявил многократные перестройки регуляторной области, сопровождающиеся сменой паттерна структурных элементов промотора. Сам промотор при этом во всех случаях относится к классу широких промоторов с пиком, что свидетельствует о возможном поддержании постоянной экспрессии гена на базовом уровне и значительное усиление экспрессии в определенных тканях и на определенных стадиях развития. Вместе с тем анализ выявил 10 консервативных участков последовательности ниже промотора, в составе 5'UTR и первого интрона. Эволюционные изменения регуляторной области гена *ras85D* должны были сопровождаться восстановлением функциональной активности новых аллелей, первоначально возникающих как летальные и полулетальные мутации.

**Транскриптомные изменения клеток миндалевидного тела мышей линий  
C57Bl/6 и BTBR в модели обучения страхом**

Е.А. Чикина\*<sup>1</sup>, В.И. Мельникова<sup>1</sup>, Е.И. Шагимарданова<sup>2</sup>, А.С. Цыбко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия

\* *chikina.evgeniia@gmail.com*

Миндалевидное тело является частью лимбической системы и играет важную роль в формировании эмоций, в том числе страха. Его расположение дает возможность быстрой связи как с подкорковыми структурами, так и с корой головного мозга, обеспечивая незамедлительную реакцию на потенциально опасные раздражители. Эти особенности функционирования миндалевидного тела объясняют его важное значение в формировании тревожных расстройств, посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), расстройствах аутистического спектра (РАС). Изучение изменений на уровне единичных клеток в ответ на индукцию страха у животных позволит определить значимые механизмы, свойственные для конкретных клеточных типов. Сравнение изменений, характерных для мышей дикого типа (C57Bl/6) и в модели аутизма с повышенной тревожностью (BTBR) позволит связать поведение, связанное со страхом, а также предрасположенность к нему, с транскриптомными изменениями.

Нами была использована модель обучения страхом, в которой мыши развивают ассоциативную связь между звуковым сигналом и подачей электрического тока. Исходя из данных секвенирования одиночных клеток миндалевидного тела, мы смогли выявить небольшие композиционные сдвиги в популяции нейронов и васкулярных клеток в экспериментальных образцах мышей дикой линии, в то время как для мышей линии BTBR достоверных отличий не было найдено. Анализ нейронов показал разницу в процентном содержании клеток, экспрессирующих маркеры раннего ответа, для мышей дикого типа: 9.2% в контрольных и 28.7% в экспериментальных образцах. Для мышей линии BTBR такой разницы выявить не удалось. Среди глутаматергических нейронов мы также определили кластер, характерный только для экспериментальных образцов, клетки которого экспрессируют гены, кодирующие различные гепарансульфат трансферазы (*Hs6st2*, *Hs3st4*, *Hs3st5* и т.д.). Ранее было показано, что нокаут гена *Hs6st2* ассоциирован со снижением памяти у мышей, что указывает на значимость появления данного кластера в экспериментальных образцах. Среди дифференциально экспрессируемых генов наибольшую значимость показали гены, ассоциированные с пре- и постсинаптической мембраной, синаптической пластичностью, процессами формирования памяти (*Syng1*, *Adcy1*, *Cdk5r1*).

Различия в изменении композиционных и экспрессионных паттернов двух линий подтверждаются и поведенческими тестами, показывающими низкую способность мышей линии BTBR к обучению страхом.

Грант: «Использование генетических технологий для поиска биомаркеров, моделирования и терапии заболеваний человека» (075-15-2021-1075).

**Поиск стволовых клеток в яичниках постнатальных стадий онтогенеза  
зебровой амадины *Taeniopygia guttata* (Aves, Passeriformes)**

Ю.А. Шалутина\*<sup>1</sup>, Е.А. Кондакова<sup>1</sup>, М.М. Кулак<sup>1</sup>, С.А. Галкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* *st089581@student.spbu.ru*

Стволовые половые клетки (СПК) — это клетки зародышевой линии, которые поддерживают оогенез в яичниках взрослых организмов. Именно они, делясь путем митоза, производят большое количество ооцитов в течение каждого цикла размножения у рыб, амфибий и рептилий. Наличие СПК подтвердили так же и у млекопитающих, однако количество этих клеток у половозрелых особей мало численно. В недавнем исследовании в яичниках взрослых кур были обнаружены СПК, что изменяет сложившееся представление о протекании оогенеза у птиц. На данный момент это исследование о присутствии СПК в яичнике взрослых птиц остается единственным. В нашем исследовании мы подтвердили существование плюрипотентных клеток в яичниках неполовозрелых и половозрелых самок зебровой амадины (*Taeniopygia guttata*), модельного вида певчих птиц из семейства вьюрковых ткачиков (Aves, Passeriformes, Estrildidae). Зебровая амадина отличается от курицы сроками эмбриогенеза, развитием ППК, стратегией онтогенеза. Наличие плюрипотентных клеток исследовали с помощью маркеров SSEA-1 и Sox2. Иммуногистохимический анализ показал наличие позитивных SSEA-1 клеток в коре и медулле яичников птенцов и взрослых особей. В яичниках 3- и 6-месячных особей мы описали структуры, похожие на “гнезда” - скопления стволовых клеток, которые есть у других позвоночных. Таким образом, в яичнике зебровой амадины на постнатальных стадиях развития присутствуют клетки, по-видимому, сохраняющие потенцию к развитию новых ооцитов. Чтобы подтвердить, что клетки положительные по маркеру SSEA-1 действительно относятся к СПК требуются дальнейшие исследования с привлечением дополнительных маркеров.

Авторы благодарят сотрудников РЦ «ЦКП Хромас» СПбГУ. Работа поддержана грантом РФФ 24-24-00518.

Устный доклад

**Вклад эпигенетических и посттранскрипционных механизмов в  
формирование долговременной памяти у дрозофилы**

В.К. Чмыхало<sup>1</sup>, А.Т. Токарев<sup>1</sup>, Е.Н. Козлов<sup>1</sup>, Л.А. Лебедева<sup>1</sup>,  
Ю.В. Шидловский\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

\* [yul@genebiology.ru](mailto:yul@genebiology.ru)

Нервная ткань отличается высоко упорядоченной организацией и обладает колоссальным потенциалом адаптивности и пластичности. Мы изучаем молекулярные основы пластичности нейронов, связанные с двумя механизмами, – регуляцией на уровне посттранскрипционных событий в синапсах и эпигенетического состояния клеток. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов включает в себя транспорт, локализацию, трансляцию и контроль стабильности молекул мРНК. Белки семейства CREB связываются со специфическими сайтами в 3'-нетранслируемой области мРНК и регулируют поли- и деаденилирование транскриптов, активируя или подавляя синтез соответствующих белков. Мы изучили функционирование фактора Orb2, одного из представителей данного семейства у дрозофилы. Специфическая локализация данного фактора в синапсах зависит от 3'НТО мРНК Orb2. Нарушения этой области мРНК приводит к нарушениям локализации и синтеза ряда белков и дефектам в формировании долговременной памяти.

Эпигеном в настоящее время рассматривается в качестве платформы для интеграции сигналов, с помощью которой нейроны могут запоминать новую информацию на молекулярном уровне для обеспечения стабильных изменений в функции клеток. Факторы ремоделирования хроматина семейства SWI/SNF необходимы как в нейрогенезе, так и для пластичности взрослого мозга. Мутации в субъединицах комплекса приводят к развитию различных нейропатологий. В нашей работе мы изучаем роль субъединиц SAYP, osa комплекса в различных молекулярных процессах в нейронах мозга дрозофилы. Мы получили новые аллели генов osa и SAYP, позволяющие специфично истощать их белковые продукты. Мы изучаем изменения профиля экспрессии генов, состояния хроматина, привлечения факторов транскрипции на хроматин, целостности ДНК при удалении указанных факторов из нейронов. Работа позволит глубже понять роль эпигенетического регулятора SWI/SNF в развитии патологий нервной системы, а также в целом - в развитии и функционировании нервной системы высших эукариот.

*Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант 23-14-00348).*

**Все трансмиттеры в одной яйцеклетке: транскриптомный анализ  
эмбриональных трансмиттерных систем**

Шмуклер Ю.Б.\*<sup>1</sup>, Фролова В.С.<sup>2</sup>, Никишин Д.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* [yurishmukler@yahoo.com](mailto:yurishmukler@yahoo.com)

Анализ выложенных в открытый доступ транскриптомов стадий раннего развития 4 видов морских ежей, а также шпорцевой лягушки и мыши показал, что мРНК многих компонентов трансмиттерных систем экспрессируются в ходе всего эмбрионального развития у всех исследованных видов, начиная со стадии зиготы. Это свидетельствует о единстве и непрерывности участия этих механизмов в ходе всего онтогенеза.

Транскриптомные методы показали наличие в эмбриональных клетках компонентов систем множества трансмиттеров. Помимо компонентов серотонергической, адренергической и холинергической систем, у зигот морских ежей и мышей на значительном уровне экспрессируются мРНК, в частности, метаботропных глутаматных и опиоидных рецепторов. У зигот мышей на высоком уровне одновременно экспрессируются метаботропные глутаматные рецепторы GRM1 и GRM2, а у морских ежей – GMR1 и GRM3. Кроме того, в зиготах морских ежей экспрессируются опиоидные δ-, μ-, σ- и κ-рецепторы, причем последний – на очень высоком уровне, даже по сравнению с генами домашнего хозяйства.

Сложность организации донервных трансмиттерных регуляций иллюстрирует серотонинергическая система. В зиготах морских ежей *Mesocentrotus franciscanus* и *Paracentrotus lividus* экспрессируются серотониновые рецепторы 5-HT1A и 5-HT6, у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* – 5-HT1E, 5-HT2C и 5-HT5A, а у зародышей мышей *Mus musculus* – 5-HT1D, 5-HT3A, 5-HT5A, 5-HT5B и 5-HT7. Экспрессия мРНК таких рецепторов мышинных зародышей, как 5-HT1D, 5-HT5A, 5-HT5B и 5-HT7, максимальна у зиготы, а затем снижается на порядок, что, возможно, свидетельствует о расходовании транскриптов в процессе синтеза рецепторных белков. Это подкрепляется иммуоцитохимическими данными об одновременной экспрессии белков 5-HT1D и 5-HT7 в ранних зародышах мыши, которые существенно различаются по клеточной локализации и предположительным функциям. Таким образом, транскриптомные данные подтверждают возможность одновременного функционирования в эмбриональных клетках двух или более типов рецепторов к одному и тому же трансмиттеру. Один и тот же трансмиттер может участвовать одновременно в ряде процессов в пределах одной клетки посредством разных рецепторов, наряду с одновременным функционированием механизмов с участием других трансмиттеров. Иными словами, в яйцеклетке может быть сконцентрировано все разнообразие трансмиттерных систем, которые впоследствии в ходе индивидуального развития распределяется по отдельным клеткам и органам взрослого организма.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН в рамках Государственного задания № 0088-2021-0009, при поддержке гранта РФФ (проект № 22-74-10009).



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН



**Тезисы  
Школы-конференции  
«Генетические модификации  
и анализ генома клеток»  
31 октября – 1 ноября 2024 г.**

Проведение Школы-конференции поддержано  
Министерством науки и высшего образования РФ,  
соглашение № 075-15-2021-1075 от 28.09.2021



## Программный комитет Школы-конференции

**Васильев А.В.,**

чл.-корр. РАН, д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,  
Кафедра эмбриологии Биологического факультета  
Московского государственного университета  
им. М.В. Ломоносова

**Воротеляк Е.А.,**

член-корр. РАН, д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Васецкий Е.С.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,  
Институт Гюстава Русси,  
Национальный центр научных исследований,  
Вильжюиф, Франция

**Калмыкова А.И.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Томилин А.Н.**

чл.-корр. РАН, д.б.н.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

**Захаров И.С.**

д.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

## Организационный комитет Школы-конференции

**Хабарова М.Ю.**

к.б.н., доцент

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Волина Е.В.**

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Черкашина О.Л.**

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Моргун Е.И.**

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Алёшина Н.М.,**

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

**Антипов М.А.**

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

### Культивирование срезов ткани легких мыши

А.А. Воложинская\*<sup>1</sup>, И.А. Говорова<sup>2</sup>, Ю.А. Новикова<sup>2</sup>, С.Ю. Никиточкина<sup>2</sup>,  
Е.А. Воротеляк<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *kashigina-sasha1@mail.ru*

Легкие млекопитающих представляют собой сложноорганизованную структуру, моделирование которой является непростой задачей. Одним из доступных методов для исследования структуры легких, морфогенеза и механизмов межклеточного взаимодействия в тканях легких является органотипическое культивирование срезов легких – precision-cut lung slices (PCLS) (Wu, X. et al., 2019). Данный метод представляет особый интерес в контексте исследования регенерации ткани, в частности для изучения механизмов дифференциации клеток-предшественников – альвеолоцитов 2го типа (AT2). На модели органоидов легких показано, что одним из ключевых факторов, влияющих на дифференцировку AT2 клеток, является Hippo сигнальный путь и его транскрипционный ко-фактор YAP (Goskey et al., 2021). Однако, органоидная модель, не смотря на высокую биологическую релевантность реальному органу, не отображает полностью структурные особенности легких. В связи с этим, актуальной задачей представляется исследование модуляции YAP сигналинга и его влияние на клетки-предшественники на модели PCLS.

Для достижения поставленной задачи был отработан протокол культивирования PCLS мыши в течение 48-72 ч. В работе были использованы половозрелые мыши C57Bl6. Животные были анестезированы авертином. Без предварительной перфузии, при постоянном подогреве животного (до +37°C), легкие интратрахеально были заполнены раствором низкоплавкой агарозы (1,5 мл). После извлечения, легкие, заполненные агарозой, были помещены в лед и хранились 20 мин при температуре +4°C. Далее, доли легкого были нарезаны толщиной 400 мкм на вибрирующем микротоме при +4°C. После чего срезы, промытые в растворе Хэнкс с антибиотиком и антимикотиком (4р x 30 мин), культивировались в бессывороточной среде в 12-луночном плато.

Для оценки жизнеспособности культивируемых PCLS срезов был выполнен колориметрический тест для оценки метаболической активности клеток (МТТ-тест). Было продемонстрировано, что PCLS, культивируемые в контрольной среде сохраняют структуру и жизнеспособность в течение минимум 48 ч. Показано, что применяемый протокол удовлетворяет требованиям эксперимента и будет использован в дальнейшем для исследования влияния YAP сигналинга на процессы дифференцировки клеток-предшественников на модели PCLS.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 21-74- 30015).*

Устный доклад

**Флуоресцентная визуализация экспрессии генов методом гибридной цепной реакции: как начать и что можно получить**

Е.Е. Воронежская\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *elena.voronezhskaya@idbras.ru*

Генетические технологии прочно вошли в нашу жизнь и применяются в различных областях науки и медицины. Непрерывно растущий массив данных генетического секвенирования позволяет детально исследовать процессы видообразования и филогенетических отношений, маркировать индивидуальные особенности ценных промысловых животных, выявлять предрасположенность к заболеваниям. Вместе с растущим массивом количественных данных по экспрессии определенных генов, разрабатываются также подходы к визуализации их продуктов (мРНК) в тканях. Одним из современных методов такой визуализации является флуоресцентная детекция мРНК на основе гибридной цепной реакции (HCR). В докладе будет дано базовое представление о методике HCR, представлены начальные этапы работы с использованием данного метода, на собственных препаратах показано отличие HCR от классической *in situ* гибридизации. На примере анализа экспрессии генов семейства *Sox* у пресноводного моллюска большого прудовика будут продемонстрированы неожиданные черты раннего нейрогенеза брюхоногих моллюсков.

*Автор благодарит всех коллег, вместе с которыми проводилась отработка методики и оригинальные исследования. Работа по анализу экспрессии генов семейства Sox выполнена в рамках реализации гранта РФФ № 22-14-00375.*

## Перспективы использования генетически охарактеризованного биоматериала человека в репродукции

А.С. Глотов\*<sup>1,2</sup>, Ю.А. Насыхова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* [anglotov@mail.ru](mailto:anglotov@mail.ru)

Значение генетических исследований в репродукции человека возрастает год от года. Во-первых, это связано с тем, что основные причины глобальных проблем воспроизводства человека в настоящем и будущем (отложенное деторождение, рост частоты соматических заболеваний будущих родителей, усиление негативного антропогенного влияния на окружающую среду) связаны с высокой частотой бесплодия или невынашивания беременности, увеличением числа вспомогательных репродуктивных процедур, увеличением числа тяжёлых осложнений беременности, материнской и младенческой смертностью. Во-вторых, ежемесячно растёт число наследственных заболеваний, которое уже приближается к 10 тыс. В-третьих, частой причиной прерывания беременности или развития врожденных пороков развития (ВПР) плода (которые сегодня занимают ведущее место среди генетической патологии - 36,5 на 1000 новорожденных) являются генетические заболевания. Для снижения риска репродуктивных потерь используют различные генетические технологии на всех этапах воспроизводства человека.

Биобанкирование в репродукции необходимо для решения задач в двух основных направлениях. С одной стороны, специалисты ведут сбор уникального биоматериала для биомедицинских задач, затрагивающих непосредственно этапы воспроизводства человека, с другой стороны - берут биообразцы для выполнения генетических исследований. В первом случае цели использования образцов могут быть разные, но они не обязательно будут связаны с генетическим компонентом. Во втором случае задачи применения биобанкирования фокусируются на использовании образцов для решения как индивидуальных задач конкретной семьи, так и общих вопросов в рамках генетических исследований. Например, при выполнении генетических методов обследования сохраняют следующий биоматериал донора: цельную кровь, плазму, лейкоцитарную пленку, ДНК, РНК. Данный материал может быть использован как для самого пациента в будущем при проведении уточняющих генетических исследований, так и для поиска новых биомаркеров того заболевания, которым обладает пациент. В ряде случаев редкие образцы пациентов служат в качестве материала для разработки новых диагностических тест-систем или поиска новых таргетных мишеней.

Для реализации указанных целей в 2021 г была организована БРК «Репродуктивное здоровье человека», которая включает уникальные биологические образцы от пациентов с многофакторными и моногенными наследственными заболеваниями, значимыми для репродукции, а также образцы контрольной выборки. Данная коллекция включает более 65 тыс. образцов и оформлена в качестве уникальной научной установки (USU\_3076082). Коллекционный фонд УНУ формируется организациями, входящими в состав Сетевого Центра - НИИ АГиР им. Д.О. Отта (г. Санкт-Петербург), МГНЦ (г. Москва) и Сургутский государственный университет (г. Сургут). >>

*Исследование проведено при поддержке Проекта № 15.BRK.21.008 «Многоцентровая исследовательская биоресурсная коллекция «Репродуктивное здоровье человека» (соглашение № 075-15-2021-1058 от 28. 09. 2021), финансируемого Министерством науки и высшего образования РФ.*

---

*Стендовый доклад*

**Биоинформатический анализ белков ядра и хроматина клеток человека:  
локализации, функции, свойства**

А.К. Грибкова\*<sup>1</sup>, А.К. Шайтан<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* *akgribkova@gmail.com*

Хроматин — это комплекс ДНК, РНК и белков в ядрах эукариотических клеток. Белки хроматина осуществляют важнейшие молекулярно-биологические процессы, такие как транскрипция, репарация ДНК, а также участвуют в организации трехмерной структуры генома, разделении жидкостных фаз и регуляции эпигенетических процессов. Несмотря на значительный прогресс в изучении отдельных белков хроматина, полное представление о качественном и количественном составе белков хроматина, то есть хроматома, не лишено пробелов.

В рамках данной работы были систематизированы источники информации о ядерных белках клеток человека. Была предложена упрощенная классификация белков хроматина на основе биологических функций, молекулярных процессов, геномной локализации и физико-химических свойств. Путем сравнительного анализа белков хроматина, ядра и цитоплазмы мы выявили особенности этих фракций по ряду параметров (длины белков, упорядоченные и неупорядоченные регионы, распределение зарядов, аминокислотный состав). Также в результате работы были найдены отличительные признаки функциональных групп белков хроматина с точки зрения их физико-химических свойств и с учетом представленности в клетках человека.

Полученные результаты способствуют углублению знаний об особенностях белкового состава ядра и хроматина клеток человека, а также о механизмах функционирования хроматина. Результаты могут стать основой для разработки новых подходов для изучения и регуляции молекулярных процессов, затрагивающих геном и эпигеном.

*Работа была поддержана грантом Российского научного фонда № 19-74-30003.*

**Специализированная роль белка Dm nxf1 в индивидуальном развитии  
*Drosophila melanogaster***

Д.М. Грудкова\*<sup>1</sup>, Е.В. Голубкова<sup>1</sup>, М.А. Кулакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* *dashka.gru@mail.ru*

Транспорт мРНК – важнейший этап в регуляции экспрессии генов, неразрывно связанный с локализованной транскрипцией, важнейшими механизмами дифференциации клеток, процессами нейрогенеза, формированием и развитием организма на ранних этапах эмбриогенеза. Так, ген *Dm nxf1 Drosophila melanogaster* отвечает за ядерно-цитоплазматический транспорт мРНК. Кроме того, белок NXF1, будучи связан с определенными мРНК, обеспечивает локальную трансляцию белка в клетках мозга, участвует в формировании внутренней структуры его отделов и построении их границ. Ко всему прочему, ген имеет органно-специфичный транскрипт с невырезанным интроном, содержащим преждевременный стоп-кодон и консервативные последовательности, которые позволяют избежать NMD (Nonsense Mediated mRNA Decay), а также с интрон-содержащего транскрипта транслируется укороченный белок. На этом основании мы делаем предположение о функциональной значимости транскрипта с невырезанным интроном.

Так как ген жизненно необходим и экспрессируется в нервных клетках и в ранних синцитиальных эмбрионах дрозофилы, мы предполагаем, что: 1) нарушение поведения мутантных по гену *Dm nxf1* мух связано со специализированной ролью белка в индивидуальном развитии дрозофилы; 2) доминантно-негативный эффект мутантных аллелей может быть обусловлен изменениями в транскриптах и их локализации и, как следствие, нарушением нормальной функции белка.

Для проверки гипотезы мы изучаем влияние мутации в конкретном гене у самок и самцов, содержащих ранее неизученные мутации *sbr5* и *sbr1* (*sbr* – small bristles – исторически сложившееся название гена *Dm nxf1*) на поведение мух, сопоставляя с функцией мутантного белка. Проводим анализ продолжительности жизни и тест на отрицательный геотаксис для выявления нарушений в локомоторной активности мух, чтобы доказать специализированную роль белка в нервной системе *Drosophila melanogaster*. Для установления локализации интрон-содержащего транскрипта в ранних эмбрионах дрозофилы используем метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH, fluorescence *in situ* hybridization).

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ (ID Pure 115624290).

## Современные методы пространственной транскриптомики в биологии развития

Е.Г. Ивашкин\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

\* [evgeny.g.ivashkin@sev-in.ru](mailto:evgeny.g.ivashkin@sev-in.ru)

Пространственная транскриптомика представляет собой комплекс подходов, позволяющий изучать экспрессию генов с учетом их точного пространственного расположения в клетках и тканях. Эти методы находят широкое применение в биологии развития, где особенно важно понимать, как гены регулируются и экспрессируются в различных частях организма в процессе его развития. Традиционная *in situ* гибридизация позволяет локализовать конкретные РНК-молекулы в клетках и тканях с высоким пространственным разрешением, что важно для изучения молекулярных механизмов дифференциации и морфогенеза.

Современные технологии, такие как гибридизация *in situ* с использованием каскадной амплификации сигнала (HCR, гибридизационная цепная реакция), значительно улучшают чувствительность и точность детекции РНК в сложных тканевых структурах. Эти методы позволяют исследователям не только обнаруживать, но и количественно оценивать экспрессию генов на уровне отдельных клеток.

Секвенирование РНК с пространственным разрешением, такое как Slide-seq и Spatial Transcriptomics, предоставляет возможность создания детализированных карт экспрессии генов на срезах тканей. Эти подходы основаны на использовании микрочастиц или других носителей, которые фиксируют и локализуют РНК перед ее последующим секвенированием.

Использование меток на основе нуклеиновых кислот, таких как Barcoded Oligonucleotide Probes, позволяет значительно увеличить многопробный анализ геной активности в сложных тканевых системах, что особенно важно для изучения динамики геной регуляции в процессе развития организмов.

Пространственная транскриптомика открывает новые перспективы для биологии развития, позволяя интегрировать данные о геной экспрессии с анатомической структурой тканей и морфологическим развитием организмов. Эти методы играют важную роль в понимании ключевых молекулярных процессов, лежащих в основе формирования и функционирования живых систем.

**Модуляция сигнального каскада YAP/TAZ путем генетической модификации и применения ингибиторов-малых молекул**

Е.П. Калабушева\*<sup>1</sup>, О.Л. Черкашина<sup>1</sup>, Е.А. Бутова<sup>1</sup>, Д.С. Аболин<sup>1</sup>, О.С. Роговая<sup>1</sup>,  
Е.А. Воротеляк<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *kalabusheva.e@gmail.com*

Каскад YAP/TAZ в коже человека вовлечен в сигнальную сеть, управляющую физиологической и репаративной регенерацией. В гомеостазе эпидермиса он контролирует интенсивность пролиферации и дифференцировки кератиноцитов, в ходе ранозаживления управляет процессом эпителио-мезенхимного перехода, миграцией клеток и формированием рубца. Ингибиторы и активаторы YAP/TAZ являются перспективными препаратами для коррекции нарушений механизмов ранозаживления.

В работе применяли ингибиторы сигнального каскада YAP/TAZ: вертепорфин (VP) и пептид 17 (P17). Оба ингибитора разрывают связь YAP и TAZ с ассоциированными транскрипционными факторами семейства TEAD. В качестве активатора использовали ингибитор киназы LATS (LATSi), участвующей в формировании комплекса деградации белка YAP. Анализ экспрессии YAP и TAZ в культуре первичных кератиноцитов человека после воздействия исследуемых веществ показал обратную зависимость: при добавлении VP и P17 мы наблюдали увеличение экспрессии этих белков, в то время как обработка LATSi приводила к снижению. Отмечали падение экспрессии маркеров дифференцировки – кератин 1 и 10 как при применении ингибиторов, так и активатора YAP/TAZ. Добавление LATSi повышало экспрессию кератина 5, типичного для низкодифференцированного состояния кератиноцитов.

Далее сигнальный каскад инактивировали за счет генетической модификации. В работе использовали линию с нокаутом TAZ, полученную с применением технологии CRISPR/Cas9, и нокаутном YAP, полученную с применением shRNA. Подавление экспрессии верифицировали методами количественного ПЦР-анализа и вестерн-блоттинга. Для линий ΔTAZ и shYAP было выявлено повышение экспрессии маркеров дифференцировки и снижение экспрессии маркеров базального слоя, однако для клеток ΔTAZshYAP эффект был менее выраженным и не имел статистической значимости. Таким образом, генетически-опосредованное ингибирование YAP или TAZ стимулирует дифференцировку эпидермальных кератиноцитов, однако подавление сразу двух белков вероятно приводит к активации компенсаторных механизмов. Аналогичные механизмы могут объяснять эффекты, оказываемые VP и P17. В то же время LATSi снижает интенсивность дифференцировки, активируя каскад YAP/TAZ, что логично дополняет результаты экспериментов с генетической модификацией.

Полученные данные указывают на взаимодополняющую роль паралога YAP и TAZ в контроле процессов эпидермальной дифференцировки и необходимость изучения компенсаторных механизмов, запускаемых при подавлении их экспрессии.

*Исследование поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации (Соглашение №075-15-2024-539 от 24 апреля 2024 года).*



**Характеризация клеточной линии CHO 4BGD с гомозиготными нокаутами генов *BAK1*, *VAX*, *DHFR*, *GLUL* при помощи полногеномного секвенирования**

Д.Э. Колесов\*<sup>1</sup>, Н.А. Орлова<sup>1</sup>, М.В. Синегубова<sup>1</sup>, И.И. Воробьев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" РАН, Москва, Россия

\* 52ru111@mail.ru

В случае редактирования генетически нестабильных иммортализованных клеточных линий, таких как клетки яичника китайского хомячка (CHO), особенно остро стоит проблема обнаружения событий нецелевой активности Cas9. В данной работе мы представляем результаты анализа данных полногеномного секвенирования отредактированной клеточной линии CHO 4BGD. Было показано, что даже относительно низкое покрытие (10x) позволяет исследовать инактивацию обоих аллелей в геноме, а также нецелевые эффекты.

Ранее в лаборатории, при помощи двух последовательных раундов редактирования клеток CHO S, была получена клеточная линия CHO 4BGD, не содержащая активных аллелей проапоптотических генов *Bak1* и *Vax*, а также генов метаболических селекционных маркеров: дигидрофолатредуктазы (DHFR) и глутаминсинтетазы (GS), и содержащая дополнительные копии генов антиапоптотического белка Bcl-2 и индуктора макроаутофагии Beclin-1. Для полученной клеточной линии было экспериментально показано статистически значимое увеличение времени культивирования в режиме fed-batch и накопления целевого продукта (мкАт IgG1) по сравнению с контрольной линией CHO S.

Для выравнивания парноконцевых прочтений при помощи алгоритма BWA mem была использована сборка CriGri-PICRH-1.0 (Genbank GCF\_000419365.1), куда в качестве дополнительных контигов были добавлены последовательности 4 плазмид, кодирующих белки Bcl-2, Beclin-1, Cas9 и гРНК, а также геном *E. coli* strain TOP10 (GCA\_019599065.1). События редактирования были подтверждены для каждой из 5 использованных направляющих РНК; при помощи перекрывающихся прочтений были охарактеризованы события замен, делеций и вставки чужеродной ДНК, которые относились либо к геному *E. Coli*-TOP10, либо к плазмиде, кодирующей Cas9. Кроме того, при помощи алгоритма на основе CRISPR RGEN и набора утилит Vedtools и Vcftools были рассмотрены все локусы в геноме, в которых гРНК имели гомологию не менее 16 нуклеотидов из 20, а следующие 3 нуклеотида соответствовали приемлемому PAM-сайту нуклеазы Cas9. Всего в геноме CHO обнаружено 468 локусов для пяти гРНК (из них 411 с покрытием более 5x) и 14 потенциальных сайтов нецелевого разрезания нуклеазы Cas9. Согласно аннотации к геному CriGri-PICRH-1.0 все предполагаемые нецелевые эффекты относятся к межгенным областям и ни один ген не содержал мутаций в ОРС в результате редактирования. Дополнительно были подтверждены события вставки в геном CHO и определена копияность двух плазмид, кодирующих белки Bcl-2 и Beclin-1.

**Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки от пациента с  
остеопорозом с однонуклеотидным полиморфизмом Arg16  
в гене бета-2-адренергического рецептора**

О.А. Краснова\*<sup>1</sup>, А.А. Ковалева<sup>1</sup>, Ю.В. Сопова<sup>1</sup>, П.И. Семенова<sup>1</sup>, И.Э. Неганова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

\* [o.krasnova@incras.ru](mailto:o.krasnova@incras.ru)

Костное ремоделирование представляет собой сложный процесс, включающий резорбцию и формирование костной ткани, осуществляемое остеокластами и остеобластами соответственно. Нарушение баланса между этими процессами может привести к различным костным заболеваниям, включая остеопороз, который имеет мультифакторную природу возникновения. Для понимания механизмов прогрессии остеопороза в различных случаях необходимо создание *in vitro* модели, использующей остеобласты и остеокласты от конкретного пациента. Применение пациент-специфичных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) позволит создать *in vitro* модель остеопороза и изучить влияние отдельных факторов на его патогенез.

Целью данного исследования являлось получение линии иПСК от пациента с остеопорозом с полиморфизмом 46A (Arg16) в гене бета-2-адренергического рецептора (*ADRB2*) и редактирование полиморфизма с помощью CRISPR/Cas9.

Первичную линию мезенхимных стволовых клеток трансдуцировали с помощью вируса Сендай для запуска эктопической экспрессии генов *OCT4*, *KLF4*, *SOX2*, *c-MYC*. Оценку экспрессии маркеров плюрипотентности у полученных иПСК осуществляли с помощью методов ПЦР, проточной цитометрии и иммунофлуоресцентного анализа. Генетическое редактирование осуществляли с помощью трансфекции иПСК смесью плазмиды pSpCas9(BB)-2A-GFP-ADRB2 и донорного нуклеотида. В результате исследования были получены иПСК от пациента с остеопорозом с 46A в гене *ADRB2*. ИПСК имеют нормальный кариотип, характеризуются экспрессией *OCT4*, *NANOG*, *SOX2*, *DPPA4* на уровне гена и белка и положительно окрашиваются на TRA-1-60. Более того, полученные иПСК способны формировать эмбриоидные тела и дифференцировать в направлении предшественников трех зародышевых листков, что подтверждается экспрессией маркеров экто-, эндо- и мезодермы на уровне генов и белков.

Далее, в результате генетического редактирования с использованием системы CRISPR/Cas9 были получены и охарактеризованы клоны иПСК с заменой 46G приводящей к замене Arg16Gly.

Таким образом, полученная пациент-специфическая линия иПСК может быть использована для создания клеточной модели для изучения влияния однонуклеотидного полиморфизма Arg16 в гене *ADRB2* в патогенезе остеопороза.

Данная работа поддержана грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2021-1075 от 28/09/2021).

Устный доклад

## Подходы к созданию высокоиммуногенных персонализированных онковакцин

М.А. Лагарькова\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины  
им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* *maryalag@yahoo.com*

Иммунологический контроль опухоли является перспективным подходом к терапии злокачественных заболеваний, устойчивых к обычной терапии. Опухолевые клетки за счет соматического мутационного процесса накапливают мутации. Некоторые из этих мутаций ведут к изменению в последовательности белков, синтезирующихся в опухоли. Фрагменты таких белков в составе молекул главного комплекса гистосовместимости ГКГ (неоантигены) делают опухоль узнаваемой для Т-лимфоцитов, которые могут уничтожить опухолевые клоны. Это свойство иммунной системы открывает перспективы использования различных вариантов иммунотерапии: введения пациенту химически синтезированных неоантигенных пептидов, ДНК или РНК, кодирующих опухолевые неоантигены; введения пациенту обогащенных неоантиген-специфичными клонами Т лимфоцитов. Доклад посвящен разработке технологий идентификации, валидации неоантигенов для нескольких типов рака и оптимизации средств их доставки

---

Устный доклад

## ***In vitro* модели дифференцировки макрофагов человека с использованием индуцированных плюрипотентных стволовых клеток**

И.В. Лядова\*<sup>1,2</sup>, О.Н. Шевелева<sup>1</sup>, Е.А. Протасова<sup>1</sup>, Е.В. Григорьева<sup>3</sup>, С.П. Медведев<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия

\* *ivlyadova@mail.ru*

Макрофаги представляют собой клетки врожденного иммунитета, локализованные в тканях и выполняющие функции поддержания гомеостаза организма. Тканерезидентные макрофаги образуются в эмбриогенезе на стадиях примитивного и раннего дефинитивного гемопоэза, отличающегося от постнатального костномозгового кроветворения, и в дальнейшем поддерживаются за счет самообновления. В постнатальном периоде в ряде тканей и в условиях воспаления пул тканерезидентных макрофагов дополняется макрофагами, образованными из моноцитов крови после миграции последних из крови в ткани. Моделирование процесса генерации макрофагов представляет интерес как с точки зрения изучения механизмов гемопоэтической дифференцировки на разных стадиях онтогенеза, так и с целью получения клеток для клеточной терапии ряда социально-значимых заболеваний. В настоящее время практически единственной моделью для получения тканерезидентных макрофагов человека является их дифференцировка из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК, иПСК-МФ). >>

В докладе рассматриваются методические особенности и преимущества данной модели, а также приводятся результаты собственных исследований с использованием модели iPSC-МФ. Исследованы траектории дифференцировки iPSC в iPSC-МФ с использованием различных протоколов, установлены маркеры-предикторы успешной дифференцировки iPSC в iPSC-МФ (CD43, CD309), описаны основные характеристики iPSC-МФ (высокая фагоцитарная активность, высокая антибактериальная активность и др.). Отработан подход к получению генетически-модифицированных макрофагов человека путем генетической модификации iPSC (CRISPR/Cas9) и последующей дифференцировки iPSC в iPSC-МФ. Получены iPSC с оверэкспрессией A20, гена, контролирующего синтез белка с противовоспалительной регуляторной активностью. Изучение дифференцировки iPSC-A20 в культуре *in vitro* выявило ранее не описанные особенности экспрессии A20: низкий уровень экспрессии в iPSC, существенное повышение экспрессии в ходе гемопоэтической дифференцировки, резкое снижение экспрессии на стадии образования iPSC-МФ и экспрессия в iPSC-МФ низкомолекулярной формы белка. Выявленные особенности подтверждены при анализе макрофагов моноцитарного происхождения и, по-видимому, отражают различную потребность в ауторегуляции воспалительного ответа в клетках, находящихся на разных стадиях гемопоэтической дифференцировки. Получены iPSC с оверэкспрессией интерферона I типа IFN- $\beta$ . Обнаружено, что в процессе спонтанной и направленной дифференцировки iPSC оверэкспрессия IFN- $\beta$  ведет к нарушению экспрессии генов, ассоциированных с нейроэктодермальной дифференцировкой.

В целом, получение генетически модифицированных iPSC и их дифференцировка в iPSC-МФ и другие гемопоэтические клетки является ценной моделью для изучения влияния различных генетических факторов на процесс клеточной дифференцировки и получения иммунных клеток со стойкой генетической модификацией.

*Работа поддержана Минобрнауки России (№ 075-15-2021-1075).*

## Материнские транскрипты генов ANTP в ооцитах *Platynereis dumerilii*

Р.И. Муллахметов\*<sup>1</sup>, М.А. Кулакова<sup>1</sup>, Г.П. Маслаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

\* *mullakhmetov.03@mail.ru*

Развитие многоклеточных животных зависит от координированной работы множества транскрипционных факторов, среди которых особая роль принадлежит гомеодоменным белкам из класса ANTP. Гены этих факторов образуют кластеры – группы сцепления, возникшие путём *cis*-дупликаций предкового гена. Известны три кластера – Нох-кластер, ParaНох-кластер и НК-кластер, последний из которых эволюционно наиболее древний. Все гены из класса ANTP многозадачны и обычно контролируют множество событий в развитии: от установления общего плана организации до терминальных тканеспецифичных дифференцировок. У большинства билатеральных животных эти гены работают коллинеарно. Это означает, что от позиции в кластере зависит место, время и/или интенсивность их экспрессии. Эволюционное становление такой сложной регуляции остаётся загадкой, и для её разрешения необходимо подробное изучение универсальных и частных функций генов ANTP в разных модельных системах.

*Platynereis dumerilii* - удобный модельный объект для изучения эволюционных вопросов, более того, для него уже существует база данных с интересующими нас генами из класса ANTP. Ранее мы обнаружили, что у аннелиды *P. dumerilii* почти все гены Нох-кластера имеют материнские транскрипты, причём некоторые из них сплайсируются каноническим образом (Maslakov et al., 2021). Мы решили проверить, справедливо ли это правило для других генов из класса ANTP. С помощью геноспецифичных праймеров мы убедились в наличии материнских транскриптов у 16 генов из кластеров Para-Нох и НК. Для дальнейшего анализа ситуации нам необходимо было клонировать фрагменты исследуемых генов. Мы использовали суммарную РНК из хвостов червя и «рандомные» гексамерные праймеры, чтобы получить комплементарные цепи ДНК методом обратной транскрипции. Используя геноспецифичные праймеры, мы синтезировали искомые фрагменты, затем лигировали их в транскрипционный вектор pAL2-T (Evrogen) и клонировали в штамме *E. coli* (JM109). Таким образом, нам удалось получить фрагменты 12 генов ANTP, из которых 9 имеют материнские транскрипты. Вектор со вставкой был использован для синтеза меченых РНК-зондов для последующей гибридизации *in situ* на ооцитах и ранних эмбрионах *P. dumerilii*. Предварительные данные о локализации материнских транскриптов могут служить отправной точкой для дальнейших исследований, направленных на выявление роли этих генов в процессах эволюции и развития в линии спиральных животных.

Исследование выполнено за счёт средств Российского научного фонда (проект № 23-24-00426). Авторы выражают благодарность РЦ Культивирования Микроорганизмов (КМ) и ЦКП “Хромас” за помощь в получении данных.

**Генная терапия эпилепсии с использованием кальций-активируемых калиевых каналов**

Е.С. Никитин\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва, Россия

\* [nikitin@ihna.ru](mailto:nikitin@ihna.ru)

Генная терапия является потенциальной альтернативой хирургическому лечению эпилепсии, от которой страдают миллионы людей, и которая в ~30% случаев является фармакорезистентной. Для снижения возбудимости основных глутаматэргических нейронов в качестве метода лечения предлагается инженерная экспрессия K<sup>+</sup>-каналов, выбранная благодаря выдающейся способности K<sup>+</sup>-каналов гиперполяризовать нейроны. Однако, влияние сверхэкспрессии K<sup>+</sup>-каналов на физиологию клеток еще не изучено. Для доставки канала мы использовали вектор на основе аденоассоциированного вируса (AAV), предназначенный для снижения эпилептиформной активности в возбуждающих пирамидных нейронах путем экспрессии человеческого гена Ca<sup>2+</sup>-активируемого K<sup>+</sup>-канала KCa3.1. Электрофизиологические и фармакологические эксперименты в острых срезах мозга показали, что в трансдуцированных KCNN4 нейронах наблюдается Ca<sup>2+</sup>-зависимая медленная следовая гиперполяризация, которая значительно снижает способность KCNN4-положительных нейронов генерировать высокочастотные спайки, не влияя на их способность к низкочастотному кодированию и форму их потенциалов действия. Тесты на противоэпилептическую активность показали мощное подавление фармакологически индуцированных припадков *in vitro* как на уровне отдельных клеток, так и на уровне локальных потенциалов поля с уменьшением количества спайков во время иктальных разрядов. В совокупности наши результаты убедительно свидетельствуют о том, что экспрессия канала KCNN4 в возбуждающих нейронах с помощью AAV является перспективным терапевтическим средством для использования в качестве генной терапии эпилепсии.

*Исследование поддержано грантом РФФ 20-15-00408.*

## Сигнальный путь YAP/TAZ при моделировании развития кожи человека с использованием ИПСК

М.Д. Панкратова\*<sup>1</sup>, А.А. Рябинин<sup>1</sup>, Е.П. Калабушева<sup>1</sup>, З.Р. Стариннов<sup>1</sup>, Е.А. Воротеляк<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* *masha.pankratova25@bk.ru*

Сигнальный каскад YAP/TAZ является одним из ключевых сигнальных путей, регулирующих морфогенез кожи, оказывая влияния на пролиферацию, миграцию и дифференцировку клеток, а также другие сигнальные пути. Однако, на сегодняшний день мало что известно о роли данного каскада в развитии кожи человека из-за биоэтических ограничений. Одним из перспективных подходов к моделированию и изучению развития кожи человека является направленная дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) с получением трехмерных органных структур, в которых создается оптимальное микроокружение для появления различных типов клеток и их самоорганизации. Данный подход позволяет воспроизводить и проанализировать морфогенез кожи человека и ряда ее дериватов *in vitro*.

Целью данной работы было изучение активности сигнального каскада YAP/TAZ при моделировании развития кожи человека и ее производных из ИПСК. На разных временных точках дифференцировки производился отбор материала для иммуногистохимического анализа и анализа экспрессии генов при помощи пространственной транскриптомики. В результате первого этапа анализа в составе кожных органоидов были выделены нейральные, мезенхимные и эпителиальные популяции. В выделенных клеточных популяциях была проанализирована экспрессия YAP и TAZ, транскрипционных факторов TEAD1-4, а также наиболее верифицированных мишеней данного каскада – CYR61 и CTGF. Кроме того, была изучена динамика активности YAP и TAZ в ходе дифференцировки органоидов, которую оценивали по ядерной локализации данных белков в выделенных популяциях клеток.

Полученные в результате индуцированной дифференцировки органоиды содержали основные клеточные популяции и структуры, характерные для развития кожи *in vivo*, включая эпидермис, дерму и волосяные фолликулы. В результате анализа экспрессии генов были выявлены закономерности в динамике экспрессии и паттерны коэкспрессии компонентов YAP/TAZ сигнального пути. В частности, YAP совместно с TEAD3 регулирует образование многослойного эпидермиса и волосяных фолликулов, в то время как TAZ преимущественно задействован в развитии мезенхимы. Сигнальный каскад YAP/TAZ вовлечен в эпителио-мезенхимные взаимодействия в развивающейся коже человека, поскольку активность этого каскада была выявлена как в эпидермисе, так и в дерме. Таким образом, в ходе данной работы впервые был охарактеризован паттерн экспрессии членов сигнального каскада YAP/TAZ при моделировании эмбриогенеза кожи человека.

Исследование было поддержано грантом РФ № 21-74-30015.

**Перспективы генетического репрограммирования ретинального пигментного эпителия у млекопитающих и человека для науки и медицины**

Л.А. Ржанова\*<sup>1</sup>, М.А. Александрова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* 9303923@gmail.com

Основной причиной дегенеративных заболеваний глаза человека, приводящих к потере зрения является дегенерация сетчатки в результате гибели фоторецепторов (ФР) и ретинального пигментного эпителия (РПЭ). В современной медицине разрабатываются подходы, направленные на сохранение исходных ФР и РПЭ, замену клеток путем активации эндогенной регенерации или за счет клеточной трансплантации. Лечение наследственных заболеваний глаз с использованием методов хирургии генома и генной терапии, показало высокий процент эффективности на ранних стадиях развития заболеваний, когда еще сохранились ФР и РПЭ. Первый успешный клинический пример генной терапии в офтальмологии был показан у пациентов с врожденным амаврозом Лейбера, вызванный мутациями в гене *RPE65*. Сейчас проходят клинические испытания у пациентов с болезнью Штаргардта, синдромом Ушера и пигментным ретинитом, а также клинические испытания CRISPR/Cas9 на людях с врожденный амаврозом Лебера 10 типа. Другой подход в лечении ряда дегенеративных заболеваний сетчатки, при которых происходит большая клеточная потеря – это заместительная клеточная терапия. Клетки РПЭ, полученные из ЭСК и ИПСК человека уже проходят клинические испытания и имеют большие перспективы в лечении возрастной макулярной дистрофии. Репрограммирование эндогенных клеток РПЭ в нейроны сетчатки также является перспективным методом для лечения таких заболеваний. Клетки РПЭ цыплят, мышей и человека способны к прямому репрограммированию в нейроны сетчатки под влиянием генов, участвующие в процессе дифференцировки сетчатки *in vitro* и *in vivo*. Были исследованы более 20 таких генов, кодирующие гомеобоксные и транскрипционные факторы семейства bHLH, которые при помощи вирусных векторов доставляли в клетки РПЭ позвоночных *in vitro* и *in vivo*. Несмотря на ярко выраженные успехи в репрограммировании клеток РПЭ цыплят и мышей, у человека оно зачастую проходит не полноценно и, хотя клетки приобретают многие характеристики нейральных клеток сетчатки, они оказываются малофункциональными *in vitro*. Предполагается, что эту эффективность можно повысить при помощи малых молекул, некодирующих РНК, факторов роста и других соединений, которые влияют на клеточное репрограммирование, генетическую трансфекцию, сигнальные пути, клеточный метаболизм, пролиферацию и гибель. Необходимо учитывать гетерогенность самой ткани РПЭ, клетки которой находятся на разных стадиях развития и могут по-разному отвечать на воздействия генной терапии и хирургии генома.

*Работа выполнена в рамках № ГЗ 0088-2024-0014.*



**Получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток макак-резуса (*Macaca mulatta*) путем репрограммирования мультипотентных стволовых клеток жировой ткани**

А.С. Рябченко\*<sup>1</sup>, В.К. Абдыев<sup>1</sup>, Е.А. Воротеляк<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

\* [anfisaifil@gmail.com](mailto:anfisaifil@gmail.com)

Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) - уникальный тип клеток, обладающий способностью к самообновлению и дифференцировке в различные клетки организма. Более того, применение иПСК является перспективным направлением в таких областях, как регенеративная и трансляционная медицина, тестирование лекарственных препаратов, моделирование заболеваний и эмбрионального развития человека. Однако работа с человеческим материалом имеет некоторые этические и юридические ограничения, что затрудняет работу с человеческими клетками. Нечеловекообразные приматы могут использоваться в качестве модельного объекта, так как филогенетически близки к человеку и не обременены этическими запретами. Макак-резус (*Macaca mulatta*) является одним из наиболее распространенных и доступных модельных объектов нечеловекообразных приматов. Тем не менее, получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток приматов является сложной задачей, так как эти клетки по сравнению с клетками человека менее эффективно поддаются репрограммированию, а из-за видовых различий с человеком имеют иные условия культивирования и поддержания состояния плюрипотентности.

Известно, что ингибиторы деацетилазы гистонов являются эпигенетическими модификаторами и могут способствовать эффективному регулируемому контролю экспрессии генов. В данной работе мы использовали их для повышения эффективности репрограммирования клеток макак-резуса. Для этого было проведено репрограммирование мультипотентных стволовых клеток жировой ткани макак-резуса эписомальными векторами при воздействии вальпроевой кислоты и бутирата натрия в качестве ингибиторов деацетилазы гистонов в течение 18 дней. Уже на 17 день репрограммирования были обнаружены колонии клеток с морфологией иПСК, а первые колонии отобраны на 21 день репрограммирования. Мы предполагаем, что применение ингибиторов деацетилазы гистонов увеличило эффективность репрограммирования. Одной из следующих задач является разработка определенных условий для поддержания плюрипотентности, а также характеристика новой клеточной линии иПСК макак-резуса.

*Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Соглашение № 075-15-2021- 1063 от 28.09.2021 г.*

**Влияние серотонина на активность транскрибируемых регуляторных элементов в процессе эмбрионального развития гипоталамуса**

М.С. Сабилов\*<sup>1</sup>, А.Н. Гайнуллина<sup>1</sup>, Е.А. Чикина<sup>1</sup>, В.И. Мельникова<sup>1</sup>,  
Е.И. Шагимарданова<sup>2,3</sup>, О.А. Гусев<sup>3,4,5</sup>, Е.Е. Воронежская<sup>1</sup>, Р.А. Романов<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Институт Биологии Развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

<sup>2</sup> Сколковский Институт Науки и Технологий, Москва, Россия

<sup>3</sup> Life Improvement by Future Technologies Center, Москва, Россия

<sup>4</sup> Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия

<sup>5</sup> Университет Дзюнтендо, Токио, Япония

<sup>6</sup> Венский Медицинский Университет, Вена, Австрия

\* *m.sabirov@idbras.ru*

Серотонин (5-гидрокситриптами́н, 5-НТ) является важным нейротрансмиттером, который играет ключевую роль в широком спектре процессов. Недавно было обнаружено, что 5-НТ функционирует как эпигенетический регулятор. Серотонин участвует в серотонилировании гистона H3, создавая метку H3K4me3Q5ser на промоторах генов, связанных с развитием, тем самым контролируя индуцибельную экспрессию генов. Учитывая вклад 5-НТ в эпигенетическую регуляцию, мы решили проанализировать активность транскрибируемых цис-регуляторных элементов (tCRE) в развивающемся гипоталамусе.

Экспериментальная процедура состояла в пероральном введении предшественника 5-НТ беременным крысам на стадии активного нейрогенеза (E11-14). Затем, на E20, фетальный гипоталамус был использован в качестве материала для 5'-sc-scRNA-seq, что позволяет одновременно исследовать транскрипционную активность генов и tCREs. Мы реконструировали генные регуляторные сети tCREs и сравнили их между контрольными и стимулированными образцами. Нам удалось идентифицировать энхансер-промоторные связи и найти типы клеток, которые значительно различаются по совместной активности регуляторных модулей. Наиболее существенные различия в активности tCREs между состояниями наблюдались в транзиторных типах клеток, которые образуют «мосты» от глиальных/прогениторных клеток к возбуждающим или тормозным нейронам. Кроме того, мы изучали структурную организацию tCREs. Мы провели анализ активности мотивов связывания факторов транскрипции и обнаружили высокое сходство в структурной организации tCREs, которые активны в различных транзиторных типах клеток. Наконец, мы идентифицировали два семейства белков, RFX и FOX, представители которых имеют повышенную активность мотивов связывания в образцах 5-НТ среди различных типов клеток.

*Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (грант No 075-15-2021-1344).*

**Развитие технологий исследования ДНК клеток  
доимплантационных эмбрионов**

А.Ф. Сайфитдинова\*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Международный центр репродуктивной медицины, Санкт-Петербург, Россия

\* [saitdinova@mail.ru](mailto:saitdinova@mail.ru)

Появление методов оплодотворения *in vitro* и развитие вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) позволили осуществлять исследование генома эмбриона еще до его переноса в полость матки для снижения рисков рождения детей с генетическими заболеваниями. С 1989 года в мире на свет появились тысячи детей после процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) с преимплантационным генетическим тестированием (ПГТ) на хромосомные и моногенные заболевания. За этот период был достигнут существенный прогресс в технологии исследования ДНК отдельных эмбриональных клеток – от амплификации отдельных маркеров методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и картирования небольших локусов методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) до использования полногеномного анализа с применением современных молекулярно-генетических методов. В настоящее время различают четыре основных группы исследований: ПГТ-А – все тесты, направленные на определение количественных хромосомных изменений (анеуплоидий); ПГТ-СП – все тесты, направленные на выявление структурных хромосомных перестроек; ПГТ-М – все тесты, направленные на диагностику моногенных заболеваний и выявления отдельных генных аллелей, а также ПГТ-П – все тесты, направленные на предсказание и определение рисков развития мультифакторных (полигенных) заболеваний. Последний вид исследования был введен в практику ПГТ совсем недавно и все еще вызывает множество дебатов, однако, нужно признать, что его появлению мы во многом обязаны бурным развитием технологий секвенирования с длинными прочтениями и внедрением анализа на основе искусственного интеллекта. Для процедуры ПГТ, в зависимости от выбранного метода и конкретного типа исследования, могут использоваться биопсированные полярные тела ооцита или клетки эмбриона: бластомеры, клетки трофэктодермы. В последнее время интенсивно развиваются методы неинвазивного ПГТ, однако они имеют ряд ограничений и пока не получили рекомендации для внедрения в широкую практику. Для подготовки материала отдельных клеток к исследованиям используют специально разработанные технологии полногеномной амплификации. Разработанные подходы могут найти применение в практике научных исследований для подтверждения внесенных в геном изменений в результате редактирования и индуцированного увеличения копийности отдельных хромосом или их сегментов.

Устный доклад

**Редактирование сложной гетерозиготной мутации методом CRISPR/Cas9 в гене кальцечувствительного рецептора в культуре индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека**

П.И. Семенова\*<sup>1</sup>, А.В. Панова<sup>2</sup>, Ю.В. Сопова<sup>1</sup>, О.А. Краснова<sup>1</sup>, А.А. Ковалева<sup>1</sup>,  
И.Э. Неганова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

\* *psemenova2000@gmail.com*

Дифференцировка пациент-специфических индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), и их дочерние линии с отредактированным вариантом мутации, позволяет не только изучать генетические аномалии *in vitro*, но и создавать клеточные модели для поиска молекулярных механизмов заболеваний и тестирования новых лекарственных препаратов.

Целью данного исследования являлось генетическое редактирование линии иПСК от пациента с неонатальным гиперпаратериозом, ассоциированным со сложной гетерозиготной мутацией в 6 [c.1656delA, p.I554SfsX73] и в 7 [c.2217T>A, p.C739X] экзонах гена *CaSR*.

Генетическое редактирование осуществляли трансфекцией иПСК, с помощью системы Cas9/sgRNA, направленную на последовательность 6 экзона c.1656delA. Последовательность спейсера направляющей РНК была выбрана специфично для разрезания только мутантной аллели. Спейсер был клонирован в плазмиду pSpCas9(BB)-2A-GFP-CASR. В качестве донора для рекомбинации использовали однокитевую ДНК, несущую синонимичную замену. Последовательность вставки была подтверждена с помощью секвенирования. Эффективность трансфекции определяли по интенсивности свечения GFP.

Линия иПСК HPCASRi002-Ae4 с исправленной последовательностью сохранила плюрипотентность, что было подтверждено методами полимеразной цепной реакцией в реальном времени и иммунофлуоресцентного анализа (экспрессия транскрипционных факторов NANOG, OCT4, SOX2, DPPA4), а также и проточной цитометрии (поверхностный антиген TRA-1-60). Способность дифференцироваться в дериваты трех зародышевых листков была подтверждена методом образования эмбрионидных тел с последующим иммунофлуоресцентным анализом и ПЦР в реальном времени на маркеры мезодермы (alpha-SMA, HAND1,T) энтодермы (AFP, FOXA2, SOX17) и эктодермы (TUBB3, PAX6, SOX1). G-бендинг линии показал нормальный кариотип 46, XY без хромосомных патологий.

Полученную отредактированную линию иПСК можно использовать для изучения роли исходной мутации в патогенезе развития неонатального гиперпаратериоза, а также её возможного влияния на ход дифференцировки в различные типы тканей.

Данная работа поддержана грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение No 075-15-2021-1075 от 28/09/2021).

Устный доклад

**Неожиданный урок ошибки скрещивания: эмбрионально летальные  
в гомозиготе мутации гена *Flnс* успешно компенсируют друг друга**

Ю.Ю. Силаева\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

\* [yulya.silaeva@gmail.com](mailto:yulya.silaeva@gmail.com)

Филамин С - структурный белок мышечного волокна, мутации в котором приводят к развитию миопатий и кардиомиопатий у человека. Мы создали две линии мышей, мутантных по филамину С: в одной из них делеция трех нуклеотидов в положении с.7415\_7417 приводит к аминокислотной замене E>>D в положении 2472 и делеции аспарагина в положении 2473, в другой делеция GA в положении с.7414\_7415 приводит к сдвигу рамки считывания и образованию стоп-кодона. Мы показали, что у гомозигот обеих линий наблюдается эмбриональная летальность на стадии E10.5-E11.5, однако при скрещивании гетерозиготных животных двух разных линий, рождаются животные, несущие разные мутации в обоих аллелях гена *Flnс*. Мы показали, что такие животные благополучно проходят эмбриональное развитие, достигают половозрелости и их сердечная мышца функционально и гистологически не отличается от животных дикого типа.

---

Устный доклад

**Эффективность клеточного репрограммирования зависит  
от активности иммунопротеасом**

А.С. Цимоха\*<sup>1</sup>, А.В. Кузнецов<sup>1</sup>, И.В. Зубарев<sup>1</sup>, А.Р. Газизова<sup>1</sup>, А.В. Селенина<sup>1</sup>,  
С.В. Пономарцев<sup>1</sup>, А.Н. Томилин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

\* [atsimokha@gmail.com](mailto:atsimokha@gmail.com)

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) вызывают значительный интерес как в области регенеративной медицины, так и в фундаментальных исследованиях в области биологии развития. Подобно эмбриональным стволовым клеткам (ЭСК), иПСК имеют способность к неограниченному самовоспроизведению и дифференцировке во все типы клеток взрослого организма. Тем не менее, несмотря на активные исследования в этой области и на определенные успехи, эффективность получения и качество иПСК остаются на неудовлетворительном уровне, в том числе из-за медленной кинетики процесса и многофакторных требований. Более того, все еще недостаточно изучены молекулярные механизмы, лежащие в основе индукции клеточной плюрипотентности.

Известно, что убиквитин-протеасомная система (УПС) играет ключевую роль в поддержании клеточной плюрипотентности и дифференцировке как ЭСК, так и иПСК, обеспечивая селективное разрушение внутриклеточных белков для поддержания протеостаза. Кроме того, клетка при изменении внешней среды (стресс, вирусные инфекции, воспаление, стимуляция цитокинами и т.д.) или в соответствии с внутренними перестройками (становление плюрипотентности и дифференцировка) требует от УПС определенной гибкости, что связано, >>

в том числе, с изменениями в составе протеасомных комплексов. При определенных условиях конститутивные каталитические субъединицы протеасомы могут замещаться индуцибельными субъединицами, такими как Lmp2, Lmp7 и Mec1-1, образуя иммунопротеасому. Хотя иммунопротеасома изначально была описана как компонент иммунной системы, в последнее время поступает всё больше данных о ее участии в клеточных процессах, не связанных с процессингом антигенов для представления на молекулах MHC-1. Например, была отмечена повышенная экспрессия иммуносубъединиц протеасом в ЭСК человека, при этом наблюдалось значительное снижение синтеза этих субъединиц в процессе дифференцировки, что предполагает роль иммунопротеасом в поддержании плюрипотентности.

В нашем исследовании мы показали важность активности иммунопротеасомы в генерации иПСК при репрограммировании эмбриональных фибробластов мыши (МЭФ) с использованием эктопической экспрессии четырех факторов Яманаки (Oct4, Sox2, Klf4 и c-Myc). Мы зафиксировали временную активацию экспрессии иммунопротеасом с 3-го по 7-й день репрограммирования МЭФ в иПСК. В течение всего процесса репрограммирования применение специфического ингибитора протеасомы MG132 или специфического ингибитора иммунопротеасомы PR-957 приводило к значительному снижению образования колоний иПСК, что подчеркивает роль как протеасом, так и иммунопротеасом в этом процессе. Кроме того, критически важной для эффективного получения иПСК мыши является активность иммунопротеасом на начальных этапах репрограммирования МЭФ. Негативное влияние нокаута гена Psmb8, кодирующего субъединицу иммунопротеасомы Lmp7, на эффективность репрограммирования МЭФ в иПСК подтвердило функциональную значимость иммунопротеасом в данном процессе.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2021-1075 от 28-09-2021).*

Стендовый доклад

**Определение *in situ* общегеномного содержания H3K27me2 - эпигенетического маркера транскрипционно-неактивного хроматина в предимплантационных зародышах мыши, культивируемых *in vitro* в присутствии бисфенола а и лактоферрина**

Л.А. Чельшева\*<sup>1</sup>, Е.М. Нониашвили<sup>1</sup>, Е.Л. Паткин<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

\* [ofeliyafutman@gmail.com](mailto:ofeliyafutman@gmail.com)

Репрессивная модификация гистонов H3K27me2 является маркером транскрипционно-неактивного хроматина. Ранее, нами было показано, что воздействие бисфенола А (БФА) в предимплантационном периоде приводит к полногеномному снижению количества модификаций гистонов H3K27me2 по сравнению с контролем. На сегодняшний день в медико-биологических базах данных нет информации о роли лактоферрина (ЛФ) как нормализатора эпигеномных нарушений под влиянием БФА.

Цель настоящего исследования – изучить влияние сочетанного действия БФА и апо-лактоферрина (апо-ЛФ) на модификацию гистонов H3K27me2, которая является маркером Polysomb-зависимого гетерохроматина. Сравнение эпигеномного статуса зародышей проводили через 24 часа культивирования в среде, содержащей 50 мкМ БФА и 50 мкМ БФА + 50 мкг/мл апо-ЛФ, путем измерения интенсивности флуоресценции антител к H3K27me2 в интерфазных ядрах бластомеров двухклеточных зародышей мыши.

Воздействие БФА на зародыши в предимплантационном периоде приводит к общегеномному снижению (в 1,3 раза) количества репрессивных модификаций гистонов H3K27me2 по сравнению с контролем ( $p < 0.05$ ). Добавление в среду с БФА апо-ЛФ человека уменьшало (в 1,2 раза) негативный эффект БФА, тем самым приблизив значения общегеномного содержания H3K27me2 к значениям интактного контроля. Это может быть связано со способностью ЛФ взаимодействовать с ферментами, участвующими в процессах метилирования. Таким образом, наши результаты *in situ* показали, что воздействие БФА на двухклеточные зародыши нарушает процесс гетерохроматинизации в ядрах бластомеров, а апо-ЛФ человека частично нивелирует эпитоксическое воздействие БФА и приводит к нормализации эпигенетического статуса зародышей.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ: НИР № FGWG-2022-0012 (рег. № НИОКТР 122020300196-4).

**Связь активности YAP с паттерном пролиферации кератиноцитов  
в коже человека**

О.Л. Черкашина\*<sup>1</sup>, А.А. Цитрина<sup>2</sup>, Д.С. Аболин<sup>1</sup>, А.В. Косых<sup>3</sup>, Е.А. Воротеляк<sup>1</sup>,  
Е.П. Калабушева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Институт нанонауки имени Ильзы Кац, Беэр-Шева, Израиль;

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет  
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

\* *olgalcher@gmail.com*

Путь YAP способен активировать пролиферацию в ходе регенерации кожи, однако чрезмерную активацию связывают с гиперпролиферацией и опухолевыми процессами. Интерес представляет связь распределения активного ядерного YAP с паттерном деления клеток. Исходная модель пролиферации описывает эпидермальную пролиферативную единицу, более поздние предполагают наличие одной или нескольких популяций стволовых клеток, делящихся с разной скоростью. Понимание связи YAP с паттерном пролиферации позволит точнее описать морфогенез кожи.

Для исследования регенерации использовали модель ксенотрансплантации кожи человека мышам с иммунодефицитом с введением метки BrdU за неделю до взятия биопсии. Биопсию брали на 40, 75, 110 сутки. В программе QuPath разработали протокол анализа изображений иммуногистохимического окрашивания антителами против BrdU, Ki67, YAP, полученные данные обрабатывали статистически. Пространственную экспрессию генов на срезах кожи человека изучали при помощи метода Visium (10X Genomics).

При регенерации кожи в ксенотрансплантате на 40 сутки эпидермис гипертрофирован, что сопровождается активацией YAP. К 110 суткам активный YAP выявляется только в базальном слое эпидермиса, толщина эпидермиса уменьшается. Однако активность YAP увеличена по сравнению с нормой, базальный слой эпидермиса гипертрофирован.

Поскольку активация YAP может стимулировать пролиферацию, был сопоставлен паттерн пролиферации и паттерн распределения клеток с активным YAP. Медленно делящиеся клетки, сохраняющие метку BrdU, расположены между эпидермальными гребнями. Клетки, активно размывающие метку, локализуются как в эпидермальных гребнях, так и между ними. YAP был распределен равномерно по базальному слою эпидермиса, при этом выявляется кластер клеток с повышенным содержанием ядерного YAP, локализующихся в эпидермальных гребнях. Паттерн распределения YAP в большей степени соотносится с распределением активно делящихся клеток, размывающих BrdU.

При изучении транскриптома кожи человека в пространстве методом Visium удается выявить участки в эпидермисе, характеризующиеся дифференциальной экспрессией маркеров эпидермальных гребней и межгребневой области, таких как KRT15/Col17a1. При этом наблюдается повышение экспрессии элементов сигнального пути YAP в эпидермальных гребнях. >>



Роль клеток, сохраняющих метку, требует более подробного изучения, в то время как активность YAP может быть связана с клетками, размывающими метку, расположенными как в эпидермальных гребнях, так и между ними.

*Работа поддержана грантом РФФИ №21-74-30015.*

---

*Устный доклад*

**От понимания структуры и динамики хроматина к разработке методов эпигенетической инженерии на основе dCas-белков**

А.К. Шайтан\*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* *alex@intbio.org*

Регуляция работы геномов эукариотических организмов на эпигенетическом уровне лежит в основе их функционирования, позволяет управлять развитием клеток и организмов, изменять экспрессию генов в ответ на изменение внешних факторов и сигналов. В основе эпигенетических механизмов лежит множество физических и биохимических взаимодействий между молекулами ДНК/РНК и белками хроматина. В отличие от «дискретной», «цифровой» природы хранения и обработки генетической информации в ходе базовых молекулярно-биологических процессов (репликации, транскрипции, трансляции), процессы эпигенетической регуляции осуществляются «аналоговым» образом через структурно-динамические изменения в хроматине опосредуемые химической модификацией ДНК и белков, работой ремоделлеров хроматина, изменением экспрессии различных белков хроматина и их вариантных форм. В последние годы в области изучения и направленного воздействия на эпигенетическую регуляцию появился мощный инструмент, основанный на применении каталитически неактивных Cas-белков (dCas), которые могут доставлять к заданным областям генома различные эффекторные белки хроматина, некодирующие РНК, изменять структуру петель в хроматине.

В данном докладе будет рассказано о современных представления о физико-химических основах функционирования хроматина, дан обзор современных методов воздействия на эпигеном с помощью конструкций на основе dCas-белков, будут обсуждаться вопросы эффективного дизайна конструкций на основе dCas-белков, гидовых РНК, функционализированных РНК и белковыми доменами для воздействия на структуру хроматина.

*Данная работа была поддержана Министерством Науки и Высшего Образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2024-539).*

**Генетические подходы к моделированию оверэкспрессии различных генов  
в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках и получение  
генномодифицированных макрофагов человека**

О.Н. Шевелева\*<sup>1</sup>, Н.Н. Буторина<sup>1</sup>, В.И. Кузьева<sup>1</sup>, С.П. Медведев<sup>2</sup>, Е.А. Протасова<sup>1</sup>,  
И.В. Лядова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН,  
Новосибирск, Россия

\* *on\_sheveleva@mail.ru*

Генетическая модификация индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) человека открыла новые возможности в моделировании заболеваний и коррекции генетических дефектов, приводящих к разным заболеваниям (Zhang et al., 2011; Freedman et al., 2015; Jehuda et al., 2018; Higo et al., 2021). Одной из самых распространенных и универсальных технологий генетической коррекции в настоящее время является применение системы CRISPR/Cas9. Чаще всего этот подход используется для редактирования гена, нарушения в котором являются причиной изучаемого заболевания (Torres-Ruiz et al., 2017; Karimian et al., 2019; Gupta et al., 2019). Работ посвященных созданию моделей с оверэкспрессией целевых белков в литературе немного. При этом такой подход мог бы помочь изучению внутриклеточных механизмов регуляции клеточной активности и в поиске методов лечения для целого ряда заболеваний (Kim et al., 2012, Liu et al., 2020).

В своих исследованиях мы сосредоточились на изучении макрофагов с оверэкспрессией генов, которые кодируют белки, участвующие в воспалении и иммунном ответе (кателицидин, A20 и интерферон  $\beta$ ). Поскольку получение генетически-модифицированных макрофагов непростая задача из-за их устойчивости к трансфекции и способности элиминировать чужеродную ДНК, мы получали макрофаги из генетически-модифицированных иПСК человека. На моделях с оверэкспрессией таргетных белков в иПСК и при их дифференцировке нам удалось обнаружить различную динамику экспрессии A20 в ходе гемопоэза (Sheveleva et al., 2023) и влияние интерферона  $\beta$  на спонтанную дифференцировку иПСК. В ходе исследований мы апробировали два разных подхода к редактированию – с использованием конститутивного (PGK) и контролируемого (TRE) промоторов. Оверэкспрессия таргетного гена под конститутивным промотором позволяла получить стабильную экспрессию, уровень которой практически не изменяется при дифференцировке иПСК, однако он был сильно ниже, чем с доксициклин-контролируемым промотором. В свою очередь, экспрессия под доксициклин-контролируемым промотором позволяла «включать» экспрессию таргетного гена в нужный момент, но была не такой стабильной и сильно снижалась при дифференцировке иПСК в макрофаги.

Рассмотренные подходы позволяют получать макрофаги с экспрессией определенного биологически активного фактора и в перспективе могут быть использованы для терапии инфекционных заболеваний и заболеваний, связанных с нарушением функции фагоцитов.

*Работа осуществлялась при поддержке Минобрнауки РФ, проект №075-15-2021-1075.*

## Изучение неспецифического взаимодействия SpCas9 с ДНК при помощи методов молекулярной динамики

В.А. Яковлев<sup>1</sup>, Н.В. Кристовский\*<sup>1</sup>, Г.А. Армеев<sup>1</sup>, А.К. Шайтан<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

\* *krist179@mail.ru*

Повторяющиеся последовательности CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), разделённые уникальными спейсерными последовательностями, играют важную роль в защитных механизмах прокариот от вирусов. Вблизи них находится регион ДНК, кодирующий Cas-белки (CRISPR-associated proteins). Эти белки привлекли внимание исследователей из-за своей способности специфически связываться с ДНК и осуществлять её разрезание благодаря эндонуклеазной активности.

За последние два десятилетия были получены структуры и изучены механизмы взаимодействия Cas-белков с ДНК. Также разработаны модифицированные dCas-белки (dead), у которых деактивированы эндонуклеазные домены путём введения точечных мутаций в структуру белка. Высокая специфичность связывания Cas-белков с ДНК обусловлена двухэтапным механизмом взаимодействия с целевой ДНК. Первым этапом является поиск и взаимодействие Cas-белка со специфической последовательностью на нецелевой цепи ДНК, известной как PAM (protospacer adjacent motif). На втором этапе взаимодействия белок претерпевает конформационные перестройки, и гидовая РНК (гРНК) комплементарно связывается с целевой цепью ДНК, в результате чего формируется тернарный комплекс Cas9/ДНК/гРНК. Однако, последние исследования подчёркивают важность взаимодействий с участком ДНК, расположенным после PAM-сайта в направлении 3'&apos; конца нецелевой цепи (пост-PAM), для распознавания Cas-белком PAM-сайта.

В нашей работе мы использовали метод молекулярной динамики для моделирования механизмов взаимодействия dSpCas9 (PDB ID: 5Y36) с ДНК. Также мы моделировали системы, состоящие из двух dSpCas9, расположенных на расстоянии 10 и 14 нуклеотидов в положении PAM-in. Расчеты траекторий молекулярной динамики проводились с использованием программного пакета GROMACS, с использованием силового поля AMBER ff14SB с parmbsc1 ДНК и с коррекциями параметров ионов CUFIX. Суммарно было промоделировано 2,5 мкс для 5-ти систем. В ходе анализа траекторий были продемонстрированы взаимодействия лизина 1153 из петли P1 домена с малой бороздкой ДНК. Для систем состоящих из двух структур dSpCas9 в положении PAM-in показано кратковременное взаимодействие петли P1 домена с гРНК соседней структуры dSpCas9, а также стабильное взаимодействие петли P1 домена с соседней структурой dSpCas9, затрудняющее пост-PAM взаимодействие. Полученные результаты подкрепляют литературные данные и дополняют их новыми типами взаимодействий.

*Данная работа была поддержана Министерством Науки и Высшего Образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2024-539).*

**Сборник тезисов Всероссийской научной конференции с международным  
участием, посвященной юбилею академика Б.Л. Астаурова «Генетика и  
индивидуальное развитие»  
29–31 октября 2024г. и Школы-конференции «Генетические модификации и  
анализ генома клеток»  
31 октября – 1 ноября 2024г. Москва, ИБР РАН**

Издательство «Перо»  
109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 27, ком. 105  
Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36  
Подписано к использованию 23.10.2024.  
Объем Мбайт. Электрон. текстовые данные. Заказ 1060.