



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



**Сборник тезисов
Международной конференции
для молодых ученых
«Генетические технологии
в биомедицине»**

**25 сентября 2025 г.,
Москва,
ИБР РАН.**

Проведение конференции поддержано
Министерством науки и высшего образования РФ,
соглашение № 075-15-2025-464 от 29.05.2025 г.

УДК 575
ББК 28.04я43
С23

С23 Сборник тезисов Международной конференции для молодых ученых «Генетические технологии в биомедицине». 25 сентября 2025 г., Москва, ИБР РАН. – М.: Издательство «Перо», 2024. – Мб. [Электронное издание].

ISBN 978-5-00270-159-9

В сборнике представлены материалы Международной конференции для молодых ученых «Генетические технологии в биомедицине», которая состоялась 25 сентября 2025 года в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва). Конференция посвящена различным аспектам генетических технологий в биомедицине: современным методам геномного анализа, роли эпигенетических механизмов в развитии заболеваний, клеточным моделям для изучения патологий, применению генетических технологий в диагностике и персонализированной терапии, а также биоинформатическим подходам в обработке биомедицинских данных. Проведение конференции поддержано Министерством науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2025-464 от 29.05.2025 г.

Материалы конференции опубликованы на сайте ИБР РАН www.idbras.ru.

УДК 575
ББК 28.04я43

ISBN 978-5-0027-159-9

© Коллектив авторов, 2025
© ИБР РАН, 2025



9

Оглавление

Организационный и программный комитеты.....	8
Программа	10
Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием «Генетика и индивидуальное развитие»	15
Изучение гибридизации молекул ДНК в растворе и на поверхности наночастиц с применением микрофлюидной системы	
М.И. Акимов, Б.П. Челобанов, А.А. Котов, Е.Н. Мочалова, М.П. Никитин.....	16
Роль промотора <i>Pou5f1</i> в регуляции транскрипции генов МНС-локуса мыши	
Е.В. Александрова, В.В. Ермакова, А.Н. Томилин, А.А. Кузьмин.....	17
Принципы поиска генов, появившихся или утраченных на заданном филогенетическом уровне	
А.В. Байрамов, Г.В. Ермакова, В.А. Любецкий, А.Г. Зарайский.....	18
m6A-опосредованная стабилизация мРНК про-онкогенных факторов усиливает опухолевые свойства клеток гепатомы человека при инфекции вирусами гепатита В и D	
Т.Г. Бебуришвили, Н.И. Пономарева, Е.О. Баюрова, А.П. Костюшева, С.А. Брезгин, В.В. Володин, И.В. Карандашов, И.В. Гордейчук, В.П. Чуланов.....	20
Модель на основе ИПСК, полученных от пациента с синдромом Синглтона—Мертена, для исследования патогенеза эктопической кальцификации	
А.А. Беляева, К.И. Перепелина, Е.А. Кузнецова, Д.В. Смирнова, Д.А. Сердюкова, А.А. Костарева, О.Л. Перегудина, Е.С. Васичкина, А.Б. Малашичева	21
Моделирование диффузно-альвеолярного поражения в микрофлюидном устройстве «легкое-на-чипе»	
А.А. Будилина, О.А. Жукова, В.В. Колесов, И.А. Горбачев, И.Е. Кузнецова, К.В. Сидорук, В.Г. Богущ, К.А. Зыков, В.П. Баклаушев.....	22
Влияние модуляции Hippo/YAP сигнального пути на PDGFRa+ клетки при органотипическом культивировании тонких срезов легких мыши	
А.А. Воложинская, И.А. Говорова, Ю.А. Новикова, С.Ю. Никиточкина, Е.А. Воротеляк	23
Перспективные методы диагностики и лечения первичных иммунодефицитов человека	
А.А. Воронцов.....	24
Роль YAP/TAZ в гормон-зависимых изменениях стромы эндометрия человека в условиях <i>in vitro</i>	
А.О. Гайдамака, Н.А. Капочкина, Е.Н. Князев, Е.А. Воротеляк.....	25

Дифференцировка ИПСК человека в нейроны при помощи генетических конструкций на основе аденоассоциированных вирусных векторов	
А.А. Галиакберова, М. Абдельнаби, Э.Б. Дашинимаев.....	26
Генетически кодируемые метки для мультимодального мониторинга клеток метастатической опухоли легкого	
И.Е. Егорова, А.О. Сосновцева, А.А. Дресвянникова, А.Н. Габашвили.....	27
Особенности регуляции активности гена <i>Pou5f1</i> при переходе от наивной к праймированной стадии плюрипотентности	
В.В. Ермакова, Е.В. Александрова, А.А. Кузьмин, А.Н. Томилин.....	28
Воздействие гидроксимочевина на популяцию эмбриональных стволовых клеток мыши с целью синхронизации клеточного цикла на G1-фазе	
Е.Д. Ерофеева, В.К. Абдыев.....	29
Регуляция функциональной активности белков и клеток переключающими сплайсинг олигонуклеотидами	
Д.Д. Жданов, В.Г. Блинова.....	30
Сравнение экспрессии провоспалительного цитокина TNF в астроцитах, полученных из ИПСК пациентов с полиглутаминовыми нейродегенеративными заболеваниями: спиноцеребеллярной атаксией 17 типа, 1 типа и болезнью Гентингтона	
А.Д. Жукова, А.В. Давиденко, А.Н. Богомазова.....	31
Роль гена <i>ZC3HC1</i> и полиморфизма rs11556924 в патогенезе малярии	
А.А. Зиминая, А.Б. Гринев.....	32
Определение параметров бифуркации траектории дифференцировки нейральных клеток человека в культуре <i>in vitro</i>	
А.Г. Золкин, А.А. Галиакберова, А.С. Артюхов, Э.Б. Дашинимаев.....	33
Генномодифицированные клеточные линии в современной биомедицине	
А.Е. Зубкова, Д.В. Юдкин.....	34
Динамика изменения С-реактивного белка сыворотки крыс на фоне гонартроза и избыточной массы тела и применения дексаметазона в эксперименте	
А.С. Иванов, И.А. Александров.....	35
Активация экспрессии генов с помощью модифицированных олигонуклеотидов, таргетирующих вторичные структуры в ДНК и РНК	
П.Н. Камзеева, Н.М. Шепелев, Д.А. Федоров, С.Д. Орешков, В.В. Северов, Е.А. Климанова, М.П. Рубцова, А.В. Аралов.....	36
Генетические особенности рака молочной железы: сравнительный анализ NGS	
О.Е. Кныш, Е.В. Кудрявцева.....	37
Влияние сверхэкспрессии <i>Wip1</i> на резистентность клеток колоректального рака к химиопрепаратам	

Е.Д. Колосова, Д.А. Лисица, О.Н. Демидов, Д.А. Богданова	38
Устойчивость серых крыс к родентицидам-антикоагулянтным и ее связь с мутациями в гене <i>Vkorc1</i>	
В.Ю. Комаров, Е.Э. Хиразова, Д.В. Транквилевский.....	39
Регуляторные В-клетки как часть опухолевого клона в хроническом лимфоцитарном лейкозе	
Н.Р. Конь, Э.А. Жеремян, Д.В. Купраш, К.В. Корнеев	40
Влияние экзогенного <i>kiss1</i> на синтез тестостерона и прогестерона в эмбриогенезе и раннем постэмбриогенезе	
М.И. Костина, А.А. Нужнова, С.А. Глебская, А.А. Блаженко, Е.А. Кондакова.....	41
Экспрессионный анализ <i>Apха2</i> и его генов-партнеров у мышей с токсической моделью болезни Паркинсона на основе введения МФТП	
И.Р. Кумаков, М.М. Руденок, Е.И. Семенова, С.А. Партевян, М.В. Шульская, М.В. Лукашевич, И.Н. Рыболовлев, М.Г. Ратушняк, Е.Ю. Москалева, А.Х. Алиева	42
Изменение количественных показателей лимфоцитов и Антигена-1 у мышей под действием диклофенака натрия	
В.В. Липунов.....	43
Исследование роли компонентов сложных биологических систем в реализации простейших логических функций на основе механизма молекулярной коммутации	
А.В. Литвиненко, П.К. Сазонов, А.П. Фитэль, М.А. Жилыева, М.П. Никитин.....	44
Генетические технологии в ксенотрансплантологии: подходы к получению генетически модифицированных свиней	
И.С. Литвинова, А.Е. Зубкова.....	45
Анализ экспрессии микроРНК в тканях мозга мышей с токсической моделью болезни Паркинсона после интраназальной терапии экзосомами разного происхождения	
М.В. Лукашевич, М.М. Руденок, И.Н. Рыболовлев, Е.И. Семенова, С.А. Партевян, М.Г. Ратушняк, Е.Ю. Москалева, А.Х. Алиева.....	46
Мониторинг концентрации циркулирующей опухолевой ДНК как инструмент персонализированного подхода к лечению тройного негативного рака молочной железы	
П.С. Мазина, Т.М. Заварыкина, И.В. Пронина, О.А. Розонова, А.А. Московцев, Д.М. Зайченко, Д.С. Ходырев, М.Б. Стенина, С.В. Хохлова.....	47
Анализ роли системы репарации в контексте сигнального пути <i>PARP1</i> в развитии фенотипа болезни Хантингтона в дифференцированных из ИПСК пациентов	
В.С. Макеева, А.А. Малахова.....	49
Разработка и апробация генетических конструкций для синтеза β-дефенина человека 1 в эукариотических клетках НЕК-293Т	

М.П. Маркина, О.О. Клычкова, А.А. Ли, Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.А. Гасанов.....	50
Использование машинного обучения для прогнозирования и редактирования физических свойств рекомбинантного паутиного шелка с помощью генной инженерии	
А.А. Мохамед, Н. Диб, А.П. Апрелкова.....	51
Эмбриогенез сети семенника мыши: вклад клеток Сертоли	
В.В. Мун, А.Ю. Кулибин, Е.А. Малолина	52
Генетическое моделирование соматического микроокружения для повышения эффективности созревания ооцитов человека <i>in vitro</i>	
Д.А. Никишин.....	53
Влияние вертепорфина <i>in vivo</i> на эпителиальный состав клеток легких мыши	
Ю.А. Новикова, И.А. Говорова, С.Ю. Никиточкина, А.О. Гайдамака, С.М. Румянцева, А.А. Воложинская, Е.А. Воротеляк.....	54
Гистатины как кандидаты для антимикробных препаратов: разработка кассетной системы экспрессии рекомбинантного гистатина 5 в <i>E. coli</i>	
В.С. Новикова, О.О. Клычкова, А.А. Ли, Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.А. Гасанов.....	55
Модель преждевременного старения на основе клеток пациента с синдромом Видемана-Раутенштрауха	
Е.А. Орлова, В.К. Абдыев, В.В. Моргунова, А.А. Щукина, А.И. Калмыкова.....	56
Скрининг мутаций в генах SDHx методом mPCR-TAS	
В.С. Павлов, М.С. Федорова, Т.С. Эльнукаев, А.В. Снежкина.....	57
Поиск новых генов, задействованных в регуляции митоза	
Е.М. Плешко, Д.Д. Бородко.....	58
Гендерные аспекты влияния длины CAG-повторов гена AR на физическую агрессию: роль X-хромосомного мозаицизма и инактивации	
П.А. Прошаков, О.Е. Лазебный, А.М. Куликов.....	59
Эпигенетическое репрограммирование генов рибосомных РНК со вставками мобильных генетических элементов на фоне стрессовых состояний	
Л.А. Ревякина, А.А. Акишина, А.С. Шацких.....	60
Транскрибируемые регуляторные элементы генома в разрешении отдельных клеток	
М.С. Сабиров.....	61
Особенности аккуратной нормализации данных ПЦР-РВ у представителей типа <i>Porifera</i>	
К.В. Скоренцева, Н.П. Мельников, А.А. Саидова, А.И. Лавров.....	62
Изучение ранозаживляющей активности полиакрилата кобальта	
М.С. Смирнова, А.В. Хрестина, Т.Х. Нгуен	63

Влияние дизайна shRNA на созревание miR-93-5p при сверхэкспрессии в составе экспрессионной кассеты с промотором РНК-полимеразы III	
Р.В. Суворов, Д.В. Мальцева, А.П. Жиянов.....	64
Изменение контента везикулярного паракринного компонента клеток с индуцированной плюрипотентностью в стабильной и дифференцирующейся популяциях	
Е.А. Супруненко, Е.А. Сазонова.....	65
Применение машинного обучения для оценки значимости геномных aberrаций, связанных с МОБ-положительной ремиссией при остром лимфобластном лейкозе	
В.А. Суримова, Н.В. Рисинская, Е.С. Котова, А.Ш. Абдулпатахов, Л.И. Воронова, С.Э. Старченко, С.М. Куликов, И.В. Гальцева, А.Б. Сударилов.....	66
Внесение генетических модификаций в культуру клеток свиньи домашней для получения животных для ксенотрансплантации органов	
А.Р. Тархова, А.А. Хабарова, Н.Р. Баттулин.....	67
Воспроизведение кишечной микробиоты животных в искусственных условиях	
Ю.А. Тихменева.....	68
Интегративный отбор высокоспецифичных мишеней CRISPR/Cas9 для задач генетического редактирования	
А.А. Узденов, А.К. Грибкова, А.К. Шайтан.....	69
Профилирование микробиома аденокарциномы поджелудочной железы	
М.С. Федорова, В.С. Павлов, А.А. Филатова, Д.В. Калинин.....	70
Металл-органические каркасы как универсальная платформа для доставки терапевтических агентов	
Д.Д. Фролова, Р.О. Меликов, А.И. Ларченко, М.П. Никитин.....	71
Клеточная модель болезни Гоше на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека	
О.А. Халабуда, О.Н. Шевелева, Н.Н. Буторина, М.В. Коняшин, О.В. Курбатова, С.В. Петричук, И.В. Лядова.....	72
Применение CRISPR/Cas9 для модификации экспрессии микроРНК в модели воспалительного ответа	
А.В. Цоллер.....	73
Исследование роли полиморфных вариантов в генах длинных некодирующих РНК LINC02952/ LINC02953, LINC02747/LINC02952, LINC02664 в патогенезе светлоклеточного почечно-клеточного рака	
А.К. Чумакова, И.Р. Гилязова, А.А. Измайлов, Е.А. Иванова, М.А. Бермишева, Г.Р. Абдеева, Э.К. Хуснутдинова, В.Н. Павлов.....	74
Новый метод мультиомного профилирования редких клеток	
А.А. Швагер.....	75

**Реализация макрофагальной цитоблокады *in vivo* и оценка её эффективности
для различных наноматериалов**

М.А. Юрченко, М.П. Козлова, М.В. Троилина, А.А. Сизиков, Е.Н. Мочалова.....76

Дифференцировка и генетическая модификация макрофагов человека

Е.А. Язикова, О.Н. Шевелева, И.В. Лядова.....77

Активация экспрессии TFEB через микроРНК

Л.М. Яныгина.....78

Программный комитет Конференции

Васильев А.В.,

д.б.н., чл.-корр. РАН

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН,

Кафедра эмбриологии Биологического факультета

Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова

Воротеляк Е.А.,

д.б.н., чл.-корр. РАН

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

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

Организационный комитет Конференции

Алёшина Н.М.,

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

Ковалева Н.А.,

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Горова И.А.,

к.б.н.

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Антипов М.А.,

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Международная конференция для молодых ученых «Генетические технологии в биомедицине»
25 сентября 2025г., ИБР РАН

Председатель секции д.б.н., чл.-корр. РАН Екатерина Андреевна Воротеляк

9:00-10:00 Регистрация участников

10:00-10:25 **М.А. Лагарькова, ФНКЦ ФХМ, МГУ**
Исследование молекулярных механизмов болезней развития мозга с помощью ИПСК

10:25-10:50 **М.С. Друцкая, ИМБ РАН**
IL-6 как медиатор острого воспаления и необратимых изменений в лёгких на основе dCas-белков

10:50-11:15 **П.В. Сергиев, НИИ ФХБ МГУ**
Редактирование генома и моделирование заболеваний

11:15-11:40 **Д.А. Никишин, МГУ, ИБР РАН**
Генетическое моделирование соматического микроокружения для повышения эффективности созревания ооцитов человека *in vitro*

11:40-11:55 **А.К. Грибкова, МГУ**
Комплексный биоинформатический анализ хроматома человека

12:00-12:15 Кофе-Брейк/Постерная сессия

12:15-12:40 **С.А. Смирнихина, ФГБНУ «МГНЦ»**
Технологии редактирования генома для лечения муковисцидоза

12:40-13:05 **В.К. Боженко, ФГБУ РНЦРР**
Оптимизация технологии CAR-T терапии

13:05-13:30 **Е.С. Васецкий, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France**
Суперэнхансеры - новые мишени для терапии лимфом

13:30-13:40 **Е.П. Калабушева, ИБР РАН**
УАР-сигналинг в гомеостазе и регенерации кожи человека

13:40-13:55 **Д.Д. Жданов, ИБМХ, РУДН**
Регуляция функциональной активности белков и клеток переключающими сплайсинг олигонуклеотидами

14:00-14:45 Обед

Председатель секции д.б.н., чл.-корр. РАН Константин Никитич Ярыгин

14:45-15:05 **М.П. Рубцова, МГУ**
Многообразие функций теломеразной РНК

15:05-15:25 **В.Ю. Макеев, ИОГЕН РАН**
Аллель-специфические события в медицинской генетике и биологии развития

15:25-15:40 **М.С. Сабилов, ИБР РАН**
Транскрибируемые регуляторные элементы генома в разрешении отдельных клеток

15:40-16:05 **А.В. Байрамов, ИБХ РАН, ИБР РАН**
Принципы поиска генов, появившихся или утраченных на заданном филогенетическом уровне

16:05-16:20 Кофе-Брейк/Постерная сессия

16:20-16:45 **К.Н. Ярыгин, ИБМХ**
БМКП на основе нативных и генетически модифицированных МСК: перспективы клинического применения

16:45-17:05 **В.К. Абдыев, ИБР РАН**
Прогероидные синдромы – объекты для исследования генетических, эпигенетических, молекулярных механизмов

17:05-17:25 **И.А. Говорова, ИБР РАН**
Исследование ингибирования LATS1/2 киназ в эпителиальных клетках легких на модели органоидов легких мыши

17:25-17:40 **Е.А. Супруненко, Е.А. Сазонова, МГУ**
Изменение контента везикулярного паракринного компонента клеток с индуцированной плюрипотентностью в стабильной и дифференцирующейся популяциях

17:40-18:00 Постерная сессия

18:00-18:30 Подведение итогов конкурса стендовых докладов и награждение победителей

СТЕНДОВЫЕ ДОКЛАДЫ

1.	М.И. Акимов (МФТИ) Изучение гибридизации молекул ДНК в растворе и на поверхности наночастиц с применением микрофлюидной системы [М.И. Акимов *, Б.П. Челобанов, А.А. Котов, Е.Н. Мочалова, М.П. Никитин]
2.	Е.В. Александрова (ИНЦ РАН) Роль промотора <i>Ѧou5f1</i> в регуляции транскрипции генов МНС-локуса мыши [Е.В. Александрова *, В.В. Ермакова, А.Н. Томилин, А.А. Кузьмин]
3.	Т.Г. Бебуришвили (МГМУ имени И.М. Сеченова) m6A-опосредованная стабилизация мРНК про-онкогенных факторов усиливает опухолевые свойства клеток гепатомы человека при инфекции вирусами гепатита В и D [Т.Г. Бебуришвили *, Н.И. Пономарева, Е.О. Баюрова, А.П. Костюшева, С.А. Брезгин, В.В. Володин, И.В. Карандашов, И.В. Гордейчук, В.П. Чуланов]
4.	А.А. Беляева (ИНЦ РАН) Модель на основе ИПСК, полученных от пациента с синдромом Синглтона—Мертена, для исследования патогенеза эктопической кальцификации [А.А. Беляева *, К.И. Перепелина, Е.А. Кузнецова, Д.В. Смирнова, Д.А. Сердюкова, А.А. Костарева, О.Л. Перегудина, Е.С. Васичкина, А.Б. Малашичева]
5.	А.А. Будилина ("НИИ пульмонологии" ФМБА России, ФНКЦ ФМБА России) Моделирование диффузно-альвеолярного поражения в микрофлюидном устройстве «легкое-на-чипе» [А.А. Будилина*, О.А. Жукова, В.В. Колесов, И.А. Горбачев, И.Е. Кузнецова, К.В. Сидорук, В.Г. Богущ, К.А. Зыков, В.П. Баклаушев]
6.	А.А. Воложинская (ИБР РАН) Влияние модуляции Hippo/YAP сигнального пути на PDGFRa+ клетки при органотипическом культивировании тонких срезов легких мыши [А.А. Воложинская *, И.А. Говорова, Ю.А. Новикова, С.Ю. Никиточкина, Е.А. Воротеляк]
7.	А.А. Воронцов (ИТМО) Перспективные методы диагностики и лечения первичных иммунодефицитов человека [А.А. Воронцов]
8.	А.О. Гайдамака (ИБР РАН) Роль YAP/TAZ в гормон-зависимых изменениях стромы эндометрия человека в условиях <i>in vitro</i> [А.О. Гайдамака*, Н.А. Капочкина, Е.Н. Князев, Е.А. Воротеляк]
9.	А.А. Галиакберова (РНИМУ, РУДН) Дифференцировка ИПСК человека в нейроны при помощи генетических конструкций на основе аденоассоциированных вирусных векторов [А.А. Галиакберова*, М. Абдельнаби, Э.Б. Дашинимаев]
10.	А.А. Дресвянникова (ИОФ РАН) Генетически кодируемые метки для мультимодального мониторинга клеток метастатической опухоли легкого [И.Е. Егорова *, А.О. Сосновцева, А.А. Дресвянникова, А.Н. Габашвили]
11.	В.В. Ермакова (ИНЦ РАН) Особенности регуляции активности гена <i>Ѧou5f1</i> при переходе от наивной к праймированной стадии плюрипотентности [В.В. Ермакова*, Е.В. Александрова, А.А. Кузьмин, А.Н. Томилин]
12.	Е.Д. Ерофеева (ИБР РАН) Воздействие гидроксимочевины на популяцию эмбриональных стволовых клеток мыши с целью синхронизации клеточного цикла на G1-фазе [Е.Д. Ерофеева*, В.К. Абдыев]
13.	А.Д. Жукова (МГУ имени М.В. Ломоносова, ФНКЦ ФХМ им. Ю. М. Лопухина) Сравнение экспрессии провоспалительного цитокина TNF в астроцитах, полученных из ИПСК пациентов с полиглутаминовыми нейродегенеративными заболеваниями: спиноцеребеллярной атаксией 17 типа, 1 типа и болезнью Гентингтона [А.Д. Жукова*, А.В. Давиденко, А.Н. Богомазова]

	А.А. Зимина (МГМУ имени И.М. Сеченова)
14.	Роль гена ZC3HC1 и полиморфизма rs11556924 в патогенезе малярии [А.А. Зимина*, А.Б. Гринев]
	А.Г. Золкин (МФТИ, Сколтех)
15.	Определение параметров бифуркации траектории дифференцировки нейральных клеток человека в культуре <i>in vitro</i> [А.Г. Золкин*, А.А. Галиакберова, А.С. Артюхов, Э.Б. Дашинимаев]
	А.Е. Зубкова (ООО «Трансген», НГУ)
16.	Генномодифицированные клеточные линии в современной биомедицине [А.Е. Зубкова*, Д.В. Юдкин]
	А.С. Иванов (НУЗ НДЦ "Поликлиника на Смоленской")
17.	Динамика изменения С-реактивного белка сыворотки крыс на фоне гонартроза и избыточной массы тела и применения дексаметазона в эксперименте [А.С. Иванов *, И.А. Александров]
	П.Н. Камзеева (ИБХ РАН)
18.	Активация экспрессии генов с помощью модифицированных олигонуклеотидов, таргетирующих вторичные структуры в ДНК и РНК [П.Н. Камзеева*, Н.М. Шепелев, Д.А. Федоров, С.Д. Орешков, В.В. Северов, Е.А. Климанова, М.П. Рубцова, А.В. Аралов]
	О.Е. Кныш (УГМУ)
19.	Генетические особенности рака молочной железы: сравнительный анализ NGS [О.Е. Кныш*, Е.В. Кудрявцева]
	Е.Д. Колосова (НТУ "Сириус", ИНЦ РАН)
20.	Влияние сверхэкспрессии Wip1 на резистентность клеток колоректального рака к химиопрепаратам [Е.Д. Колосова*, Д.А. Лисица, О.Н. Демидов, Д.А. Богданова]
	В.Ю. Комаров (ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана, ДПО РМАНПО)
21.	Устойчивость серых крыс к родентицидам-антикоагулянтным и ее связь с мутациями в гене <i>Vkorc1</i> [В.Ю. Комаров*, Е.Э. Хиразова, Д.В. Транквилевский]
	Н.Р. Конь (ИМБ РАН, МГУ имени М.В. Ломоносова)
22.	Регуляторные В-клетки как часть опухолевого клона в хроническом лимфоцитарном лейкозе [Н.Р. Конь*, Э.А. Жеремян, Д.В. Купраш, К.В. Корнеев]
	М.И. Костина (НИИ АГиР им. Д.О. Отта)
23.	Влияние экзогенного kiss1 на синтез тестостерона и прогестерона в эмбриогенезе и раннем постэмбриогенезе [М.И. Костина*, А.А. Нужнова, С.А. Глебская, А.А. Блаженко, Е.А. Кондакова]
	И.Р. Кумаков (НИЦ "Курчатовский институт")
24.	Экспрессионный анализ Anxa2 и его генов-партнеров у мышей с токсической моделью болезни Паркинсона на основе введения МФТП [И.Р. Кумаков*, М.М. Руденок, Е.И. Семенова, С.А. Партевян, М.В. Шульская, М.В. Лукашевич, И.Н. Рыболовлев, М.Г. Ратушняк, Е.Ю. Москалева, А.Х. Алиева]
	В.В. Липунов (НУЗ НДЦ "Поликлиника на Смоленской")
25.	Изменение количественных показателей лимфоцитов и Антигена-1 у мышей под действием диклофенака натрия [В.В. Липунов*]
	А.В. Литвиненко (МФТИ)
26.	Исследование роли компонентов сложных биологических систем в реализации простейших логических функций на основе механизма молекулярной коммутации [А.В. Литвиненко *, П.К. Сазонов, А.П. Фитэль, М.А. Жилева, М.П. Никитин]
	И.С. Литвинова (МГМУ имени И.М. Сеченова)
27.	Генетические технологии в ксенотрансплантологии: подходы к получению генетически модифицированных свиней [И.С. Литвинова *, А.Е. Зубкова]

28.	М.В. Лукашевич (НИЦ "Курчатовский институт") Анализ экспрессии микроРНК в тканях мозга мышей с токсической моделью болезни Паркинсона после интраназальной терапии экзосомами разного происхождения [М.В. Лукашевич*, М.М. Руденок, И.Н. Рыболовлев, Е.И. Семенова, С.А. Партевян, М.Г. Ратушняк, Е.Ю. Москалева, А.Х. Алиева]
29.	П.С. Мазина (ИБХФ РАН) Мониторинг концентрации циркулирующей опухолевой ДНК как инструмент персонализированного подхода к лечению тройного негативного рака молочной железы [П.С. Мазина*, Т.М. Заварыкина, И.В. Пронина, О.А. Розонова, А.А. Московцев, Д.М. Зайченко, Д.С. Ходырев, М.Б. Стенина, С.В. Хохлова]
30.	В.С. Макеева (ИЦИГ СО РАН) Анализ роли системы репарации в контексте сигнального пути PARP1 в развитии фенотипа болезни Хантингтона в дифференцированных из ИПСК пациентов [В.С. Макеева*, А.А. Малахова]
31.	М.П. Маркина (ИБР РАН) Разработка и апробация генетических конструкций для синтеза β-дефензина человека 1 в эукариотических клетках НЕК-293Т [М.П. Маркина*, О.О. Клычкова, А.А. Ли, Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.А. Гасанов]
32.	Д.Д. Фролова (МФТИ) Металл-органические каркасы как универсальная платформа для доставки терапевтических агентов [Д.Д. Фролова*, Р.О. Меликов, А.И. Ларченко, М.П. Никитин]
33.	А.А. Мохамед (ИТМО) Использование машинного обучения для прогнозирования и редактирования физических свойств рекомбинантного паутиного шелка с помощью генной инженерии [А.А. Мохамед*, Н. Диб, А.П. Апрелькова]
34.	В.В. Мун (ИБР РАН) Эмбриогенез сети семенника мыши: вклад клеток Сертоли [В.В. Мун*, А.Ю. Кулибин, Е.А. Малолина]
35.	М.С. Смирнова (ИОГен РАН) Изучение ранозаживляющей активности полиакрилата кобальта [М.С. Смирнова*, А.В. Хрестина, Т.Х. Нгуен]
36.	Ю.А. Новикова (ИБР РАН) Влияние вертепорфина <i>in vivo</i> на эпителиальный состав клеток легких мыши [Ю.А. Новикова*, И.А. Говорова, С.Ю. Никиточкина, А.О. Гайдамака, С.М. Румянцева, А.А. Воложинская, Е.А. Воротеляк]
37.	В.С. Новикова (РГАУ-МСХА) Гистатины как кандидаты для антимикробных препаратов: разработка кассетной системы экспрессии рекомбинантного гистатина 5 в <i>E. coli</i> [В.С. Новикова*, О.О. Клычкова, А.А. Ли, Д.А. Каширских, В.А. Хотина, В.А. Гасанов]
38.	Е.А. Орлова (ИБР РАН) Модель преждевременного старения на основе клеток пациента с синдромом Видемана-Раутенштрауха [Е.А. Орлова*, В.К. Абдыев, В.В. Моргунова, А.А. Щукина, А.И. Калмыкова]
39.	В.С. Павлов (ИМБ РАН) Скрининг мутаций в генах SDHx методом mPCR-TAS [В.С. Павлов*, М.С. Федорова, Т.С. Эльнукаев, А.В. Снежкина]
40.	Е.М. Плешко (МГУ имени М.В. Ломоносова, ООО «НИИ атеросклероза») Поиск новых генов, задействованных в регуляции митофагии [Е.М. Плешко*, Д.Д. Бородко]
41.	П.А. Прошаков (ИБР РАН) Гендерные аспекты влияния длины CAG-повторов гена AR на физическую агрессию: роль X-хромосомного мозаицизма и инактивации [П.А. Прошаков*, О.Е. Лазебный, А.М. Куликов]

42.	Л.А. Ревякина (ИБР РАН) Эпигенетическое репрограммирование генов рибосомных РНК со вставками мобильных генетических элементов на фоне стрессовых состояний [Л.А. Ревякина*, А.А. Акишина, А.С. Шацких]
43.	К.В. Скоренцева (ИБР РАН, МГУ имени М.В. Ломоносова) Особенности аккуратной нормализации данных ПЦР-РВ у представителей типа Porifera [К.В. Скоренцева*, Н.П. Мельников, А.А. Саидова, А.И. Лавров]
44.	Р.В. Суворов (НИУ ВШЭ) Влияние дизайна shRNA на созревание miR-93-5p при сверхэкспрессии в составе экспрессионной кассеты с промотором РНК-полимеразы III [Р.В. Суворов*, Д.В. Мальцева, А.П. Жиянов]
45.	В.А. Суримова (НМИЦ Гематологии) Применение машинного обучения для оценки значимости геномных aberrаций, связанных с МОБ-положительной ремиссией при остром лимфобластном лейкозе [В.А. Суримова*, Н.В. Рисинская, Е.С. Котова, А.Ш. Абдулпатахов, Л.И. Воронова, С.Э. Старченко, С.М. Куликов, И.В. Гальцева, А.Б. Судариков]
46.	А.Р. Тархова (НГУ, ИЦиГ СО РАН, Sciencely.Новосибирск) Внесение генетических модификаций в культуру клеток свиньи домашней для получения животных для ксенотрансплантации органов [А.Р. Тархова*, А.А. Хабарова, Н.Р. Баттулин]
47.	Ю.А. Тихменева (ДГТУ) Воспроизведение кишечной микробиоты животных в искусственных условиях [Ю.А. Тихменева*]
48.	А.А. Узденов (МГУ имени М.В. Ломоносова) Интегративный отбор высокоспецифичных мишеней CRISPR/Cas9 для задач генетического редактирования [А.А. Узденов*, А.К. Грибкова, А.К. Шайтан]
49.	М.С. Федорова (ИМБ РАН) Профилирование микробиома аденокарциномы поджелудочной железы [М.С. Федорова*, В.С. Павлов, А.А. Филатова, Д.В. Калинин]
50.	О.А. Халабуда (РНИМУ) Клеточная модель болезни Гоше на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека [О.А. Халабуда*, О.Н. Шевелева, Н.Н. Буторина, М.В. Коняшин, О.В. Курбатова, С.В. Петричук, И.В. Лядова]
51.	А.В. Цоллер (ИТМО) Применение CRISPR/Cas9 для модификации экспрессии микроРНК в модели воспалительного ответа [А.В. Цоллер*]
52.	А.К. Чумакова (УФИЦ РАН) Исследование роли полиморфных вариантов в генах длинных некодирующих РНК LINC02952/ LINC02953, LINC02747/LINC02952, LINC02664 в патогенезе светлоклеточного почечно-клеточного рака [А.К. Чумакова*, И.Р. Гилязова, А.А. Измайлов, Е.А. Иванова, М.А. Бермишева, Г.Р. Абдеева, Э.К. Хуснутдинова, В.Н. Павлов]
53.	А.А. Швагер (ИБР РАН, Институт Кюри) Новый метод мультиомного профилирования редких клеток [А.А. Швагер*]
54.	М.А. Юрченко (МФТИ) Реализация макрофагальной цитоблокады in vivo и оценка её эффективности для различных наноматериалов [М.А. Юрченко*, М.П. Козлова, М.В. Троилина, А.А. Сизиков, Е.Н. Мочалова]
55.	Е.А. Язикова (РНИМУ) Дифференцировка и генетическая модификация макрофагов человека [Е.А. Язикова*, О.Н. Шевелева, И.В. Лядова]
56.	Л.М. Яныгина (КФУ) Активация экспрессии TFEB через микроРНК [Л.М. Яныгина]

Раздел тезисов
Международной конференция
для молодых ученых
«Генетические технологии
в биомедицине»
25 сентября 2025 г.

Изучение гибридизации молекул ДНК в растворе и на поверхности наночастиц с применением микрофлюидной системы

М.И. Акимов ^{*1}, Б.П. Челобанов¹, А.А. Котов¹, Е.Н. Мочалова^{1,2}, М.П. Никитин^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия;

² Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия

* *akimov.mi@phystech.edu*

Взаимодействие различных молекул друг с другом и, в частности, их гибридизация лежат в основе множества важных биологических процессов. Хранение генетической информации, реализация биохимических путей в клетке, активация рецепторов и многие другие процессы не обходятся без объединения молекул в устойчивые комплексы (двойная спираль ДНК, белок-белковые комплексы и т.д.). Такие взаимодействия могут быть специфичны для каждой конкретной молекулы, что позволяет использовать их, например, при адресной доставке лекарств к опухолевым клеткам с помощью наночастиц (НЧ) и в других биомедицинских задачах.

Новые возможности для изучения гибридизации молекул представляют микрофлюидные системы, например, основанные на явлении электросмачивания на диэлектрике (EWOD). Принцип работы подобных систем заключается в изменении угла контакта твёрдого диэлектрика и жидкости из-за приложенной разности потенциалов между диэлектриком и раствором. Разность потенциалов, приложенная в определённом направлении, обеспечивает направленное движение, смешивание и разделение малых объёмов жидкости. Кроме того, при использовании дополнительных меток микрофлюидные системы позволяют осуществлять контролируемое смешивание растворов молекул с возможностью мгновенной регистрации их взаимодействий.

Иммобилизация молекул на поверхность НЧ (например, магнитных, люминесцентных, белковых, липидных) позволяет наделять их новыми свойствами, такими как управление движением с помощью магнитного поля или способность преодолевать клеточные мембраны и др. В данной работе мы изучили особенности гибридизации молекул ДНК как в растворе, так и на поверхности НЧ с использованием микрофлюидной системы. Свободные или иммобилизованные на поверхности молекулы ДНК, несущие флуоресцентную метку, взаимодействовали с олигонуклеотидами, модифицированными тушителями, после чего проводилась детекция флуоресцентного сигнала в режиме реального времени за счет применения системы оптической визуализации.

Использование микрофлюидной системы позволило проследить кинетику гибридизации ДНК в микролитровых объёмах. Кроме того, было изучено влияние различных НЧ на образование комплексов. Предложенная нами платформа даёт возможность дальнейшего исследования более сложных молекулярных процессов с участием множества различных биомолекул.

Роль промотора *Pou5f1* в регуляции транскрипции генов МНС-локуса мыши

Е.В. Александрова^{*1}, В.В. Ермакова¹, А.Н. Томилин¹, А.А. Кузьмин¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

^{*} e.aleksandrova@incras.ru

Транскрипционный фактор Oct4 является одним из важнейших факторов, необходимых для поддержания плюрипотентного состояния клеток эпибласта и их культивируемых аналогов – эмбриональных стволовых клеток. Данный белок кодируется геном *Pou5f1*, который как у человека, так и у мыши, располагается в кластере генов главного комплекса гистосовместимости (МНС). Активность гена *Pou5f1* вне общепринятой концепции плюрипотентности – тема, которая вызывает много споров. Многие исследователи утверждают, что эта активность ограничена лишь ранними стадиями эмбриогенеза. Однако другие приводят свидетельства её наличия в соматических тканях, а также связывают *Pou5f1* с рядом заболеваний, например, атеросклерозом. Причём причиной полученных результатов может быть как присутствие белкового продукта гена, так и цис-регуляторное действие его промотора. Установление данной причины важно для выбора молекулярной мишени терапии атеросклероза.

Для решения описанной выше проблемы нами была создана модель на основе эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), которая позволяет изучить влияние промотора *Pou5f1* на транскрипцию окружающих его генов. Модель состоит из двух линий ЭСК с нокаутом *Pou5f1* – линии с удалённым промотором *Pou5f1* и контрольной линии, содержащей короткую делецию только в первом экзоне. Для предотвращения спонтанной дифференцировки ЭСК, дополнительная, функциональная копия *Pou5f1* была внедрена в высокоактивный локус *Rosa26*. В дальнейшем нами были проведены эксперименты по дифференцировке клеток в трофобластном направлении для установления роли промоторной области *Pou5f1* в регуляции активности проксимальных генов.

Результаты количественной ПЦР показали, что делеция промотора *Pou5f1* не влияет на экспрессию ряда генов МНС-кластера. Исключением стал ген *Tcf19*, экспрессия которого в контрольных клетках достоверно снижалась, по сравнению с клетками с удалённым промотором *Pou5f1*. Данный эффект проявлялся как в линиях ЭСК, так и в их трофобластных производных. Учитывая данные об участии *Tcf19* в воспалительных процессах, его регуляция через промотор *Pou5f1* может иметь значение для патологии атеросклероза.

На данный момент ведётся аналогичная работа по выявлению цис-регуляторной активности промотора *Pou5f1* в эндотелиальных клетках мыши. В частности, проводится оценка влияния этой активности на экспрессию *Tcf19*. В итоге мы рассчитываем получить максимально обоснованный вывод об активности и функциях гена *Pou5f1* в соматических клетках.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 24-75-10131 (<https://rscf.ru/project/24-75-10131>).

Принципы поиска генов, появившихся или утраченных на заданном филогенетическом уровне

А.В. Байрамов^{*1,2}, Г.В. Ермакова¹, В.А. Любецкий^{1,3}, А.Г. Зарайский^{1,2}

¹ Государственный научный центр Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

³ 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. Позвоночные и, в частности, челюстноротые, характеризуются существенным усложнением плана строения по сравнению с предковыми формами, что может быть связано с двумя раундами полногеномных дупликаций, произошедших на ранних этапах эволюции группы.

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 и функциональных свойств может позволить выявить базовые механизмы, обеспечившие их появление в эволюции. В основе нашей работы в этом направлении лежит разработка принципов и методик массового поиска генов, появившихся или исчезнувших на определенном филогенетическом уровне и потенциально связанных с возникновением или эволюцией исследуемых фенотипических признаков. Разрабатываемые методы биоинформатического анализа геномных данных включают в себя алгоритмы установления ортологичности генов в разных, в том числе филогенетически удаленных, группах животных, а также алгоритмы установления паралогичности генов в геноме исследуемого вида.

В качестве модельного признака для разработки таких алгоритмов мы используем парные конечности, которые впервые в эволюции появляются у челюстноротых. При этом в работе используются виды из эволюционно древних групп 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. В качестве внешней группы мы используем современных представителей другой эволюционной линии позвоночных – бесчелюстных (миног), у которых парные конечности отсутствуют. Результаты биоинформатических исследований являются 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).

m6A-опосредованная стабилизация мРНК про-онкогенных факторов усиливает опухолевые свойства клеток гепатомы человека при инфекции вирусами гепатита В и D

Т.Г. Бебуришвили ^{*1}, Н.И. Пономарева¹, Е.О. Баюрова², А.П. Костюшева¹, С.А. Брезгин^{1,3}, В.В. Володин¹, И.В. Карандашов¹, И.В. Гордейчук², В.П. Чуланов¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия;

² Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия;

³ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

* *timur.beburishvili@gmail.com*

Вирусы гепатита В (ВГВ) и гепатита D (ВГD) являются крайне гепатотропными вирусами, которые при попадании в кровь человека могут вызывать острый и хронический гепатит. Хроническая коинфекция способствует стремительному развитию цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Одним из возможных механизмов прогрессии являются пост-транскрипционные изменения в заражённых клетках. Наиболее распространённой пост-транскрипционной модификацией РНК является N6-метиладенозин (m6A). Ранее было показано влияние меток m6A на внутриклеточный транспорт, трансляцию, сплайсинг и стабильность РНК. В данной работе впервые выявлено влияние m6A-модификаций РНК различных факторов, дифференциально представленных у пациентов с хроническим гепатитом В+D, на онкогенные свойства клеток гепатомы человека HepG2 и Huh7.

Цель работы: исследовать влияние m6A-модификаций РНК на онкогенные свойства клеток гепатомы человека *in vitro* при репликации вирусов ВГВ и ВГD.

Определение метилированных РНК в биоптатах печени пациентов, инфицированных ВГВ и ВГD, проводили методом MeRIP-Seq. Точечное внесение m6A-модификаций в РНК про-онкогенных факторов осуществляли на клеточных линиях HepG2 и Huh7 с использованием системы dCas13-METTL3-METTL14. Стабильность клеточных РНК изучали в тесте с актиномицином D в период с 0 до 22 часа после добавления соединения. Экспрессию РНК оценивали методом ПЦР-РВ. Изменение онкогенной активности клеток HepG2 при метилировании РНК изучали в тестах на пролиферацию, миграцию и образование колоний клеток.

В ходе анализа стабильности 95 РНК, выбранных по результатам дифференциального анализа образцов печени пациентов, выяснено, что направленное метилирование отдельных РНК про-онкогенных факторов увеличивает стабильность отдельных факторов в 2-4 раза. При изучении онкогенной активности зафиксировано значительное увеличение пролиферации и миграции клеток, увеличение числа колоний в видимом поле с 25-30 до 60-80 колоний ($p < 0,05$) для ряда РНК.

Таким образом, метилирование аденозина (m6A) в определенных клеточных транскриптах усиливает онкогенный потенциал клеток гепатомы человека.

Авторы благодарят программу Приоритет 2030 (Сеченовский Университет). Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-75-10032-П.

Модель на основе ИПСК, полученных от пациента с синдромом Синглтона—Мертена, для исследования патогенеза эктопической кальцификации

А.А. Беляева^{*1}, К.И. Перепелина¹, Е.А. Кузнецова¹, Д.В. Смирнова¹, Д.А. Сердюкова¹,
А.А. Костарева², О.Л. Перегудина², Е.С. Васичкина², А.Б. Малашичева²

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия;

² Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

* *anna.belyaeva97@mail.ru*

Синдром Синглтона—Мертена (ССМ) — редкое аутосомно-доминантное заболевание из группы интерферопатий, клинически проявляющееся зубной дисплазией, ранним остеопорозом, псориазом и кальцификацией клапанов сердца, сосудов и внутренних органов. Патология связана с мутациями в генах *DDX58* и *IFI1*, кодирующих внутриклеточные сенсоры вирусной РНК и запускающих врождённый иммунный ответ. Несмотря на известную генетическую основу, молекулярные механизмы кальцификации и вклад эндотелия остаются неясными.

Мы получили и охарактеризовали пациент-специфическую линию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) SMS-DDX58 и её эндотелиальные производные. Плюрипотентность подтверждена по наличию OCT4, NANOG, SSEA-4, TRA-1-60, на уровне мРНК по экспрессии *U5F1*, *S22*, *N2N2G*; показан трилинейный потенциал. В геноме сохранена пациент-специфичная замена *DDX58* с.902C>G, соответствие исходному образцу подтверждено STR-анализом. Далее мы проводили эндотелиальную дифференцировку для SMS-DDX58 и контрольных линий здоровых доноров (AD3, K6-4), верифицировав фенотип по CD31 (PECAM1) и vWF (VWF), после чего выполнили транскриптомный анализ.

В эндотелиальных производных SMS-DDX58 по сравнению с контролями выявлено согласованное снижение транскриптов внеклеточного матрикса (коллагены, ламинины, фибронектин, протеогликаны) и подавление путей его организации/ремоделирования и интегриново-матричных взаимодействий. Параллельно отмечена активация провоспалительных программ — интерфероновых и цитокиновых каскадов, сигнальных осей с участием NF-κB. Такая конфигурация транскриптома, сочетающая ослабление внеклеточного матрикса и усиление воспалительных путей, воспроизводится в обоих сравнениях (SMS-DDX58 vs AD3; SMS-DDX58 vs K6-4).

Мы предполагаем, что сочетание ослабленных матриксных программ и усиленного воспалительного ответа может формировать прокальцификационное эндотелиальное микроокружение при ССМ. Клеточная модель SMS-DDX58 создает основу для последующих функциональных исследований механизмов кальцификации и молекулярных аспектов ССМ.

Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2022-301 от 20.04.2022).

Моделирование диффузно-альвеолярного поражения в микрофлюидном устройстве «легкое-на-чипе»

А.А. Будилина^{*1,2}, О.А. Жукова¹, В.В. Колесов³, И.А. Горбачев³, И.Е. Кузнецова³, К.В. Сидорук⁴, В.Г. Богуш⁴, К.А. Зыков¹, В.П. Баклаушев^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва, Россия;

² Федеральный научно-клинический центр ФМБА России, Москва, Россия;

³ Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН, Москва, Россия;

⁴ Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва, Россия.

* *alina.iva2000@mail.ru*

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) — опасное для жизни иммунное поражение лёгких, характеризующееся высокой летальностью, достигающей 40%. Существующие в настоящее время животные модели для изучения ОРДС недостаточно объективны, так как не могут отражать весь перечень патологических процессов в альвеолах человека в ответ на повреждение. «Лёгкое-на-чипе» (LoC, от англ. "Lung-on-a-Chip") — микрофлюидное устройство, имитирующее газожидкостный интерфейс лёгочной альвеолы человека и предназначенное для прижизненных исследований *in vitro*. LoC представляет собой перспективную альтернативу животным моделям для изучения острых повреждений легких и скрининга потенциальных терапевтических стратегий. Микрофлюидная ячейка была создана с помощью технологии масочной стереолитографии на фотополимерном принтере Anycubic photon m3 max (Anycubic, Китай). Созданный чип состоит из двух половин, разделяемых полупроницаемой растяжимой мембраной из поликапролактона и рекомбинантного спидроина. Сверху на мембраны высаживались клетки альвеолярного эпителия (линия A549), снизу — immortalized эндотелиоциты пупочной вены (HUVEC); в верхний канал при этом подавался кислород, а в нижний — культуральная среда, таким образом между каналами формировалась граница раздела сред, имитирующая газожидкостный интерфейс альвеолы человека. На модели LoC исследовали воздействие критических температур на гематоальвеолярный барьер, с целью формирования диффузного альвеолярного повреждения. В ходе эксперимента микрофлюидный чип подвергался комплексному анализу с использованием следующих методов: микроскопия клеточных слоев (Axiovert A1, Zeiss, Германия); анализ жизнеспособности клеток (A549 и HUVEC) проводился на чипе с использованием кальцеина и йодида пропидия для флуоресцентного окрашивания и дальнейшей оценки морфологических изменений; количественного определения уровня ИЛ-6 методом ИФА в перфузирующей жидкости для оценки провоспалительного ответа. Полученные результаты продемонстрировали возможности LoC моделировать диффузно-альвеолярное повреждение, вызванное экстремальными температурами, и изучать ранние клеточные ответы на повреждения. В дальнейшем мы планируем усовершенствовать систему LoC, интегрировав акустоэлектронные методы и метаболомику, для решения разнообразных научных и практических задач, в том числе в рамках текущего моделирования диффузно-альвеолярного повреждения в чипе с использованием цитокинов и иммунных клеток.

Исследование выполнено в рамках государственного задания ФМБА России, в рамках государственного задания НИЦ "Курчатовский институт", а также по проекту РНФ ИРЭ им. В.А.Котельникова РАН

Влияние модуляции Hippo/YAP сигнального пути на PDGFRα+ клетки при органотипическом культивировании тонких срезов легких мыши

А.А. Воложинская ^{*1,2}, И.А. Говорова², Ю.А. Новикова², С.Ю. Никиточкина²,
Е.А. Воротеляк^{2,1}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *kashigina-sasha1@mail.ru*

Важную роль в формировании, поддержании гомеостаза и восстановлении после повреждения легочной ткани наряду с эпителием играют мезенхимальные клетки. Особую функцию в процессах регенерации и морфогенеза выполняют мезенхимальные Pdgfrα+ клетки. Также исследование Hippo сигнального пути, играющего ключевую роль в регуляции роста ткани, важно для понимания клеточных механизмов развития, регенерации и патогенеза в легких.

В работе апробирована методика органотипического культивирования тонких срезов легких мыши, позволяющая исследовать клеточные процессы *ex vivo*. Эксперименты выполнены на мышах линии C57Bl/6. Легкие мыши, предварительно анестезированной авертином (0,005 мл/мг), интратрахеально заполнялись 2% раствором тугоплавкой агарозы (Bioreagent, Sigma-Aldrich) и перекладывались в лед на 20 мин. Далее доли легкого нарезали толщиной 300 мкм с помощью вибротома (Microm HM 650 V). После многократной промывки срезы легких помещали в среду DMEM с гематоксилином (0,8 %) и амфотерицином (0,05 %) в термостат +37. Для модуляции Hippo пути применяли ингибитор YAP вертепорфин (ВТП) и условный активатор YAP TRULI. Методом ПЦР были определены оптимальные концентрации модуляторов, а цитотоксичность и оптимальное время культивирования - МТТ тестом.

Результаты ПЦР показали, что под воздействием 5 μM TRULI происходит повышение экспрессии генов YAP и TAZ, а также их целевых генов Ccn1, Ccn2. Под воздействием 1 μM ВТП снижалась экспрессия генов Yap, Taz и Ccn2. В результате ИГХ анализа срезов наблюдалось тенденция к снижению количества Pdgfrα+ клеток под воздействием TRULI по сравнению с контролем, под влиянием ВТП изменений не наблюдалось. Также было показано, что при воздействии TRULI интенсивность флуоресценции Ager (альвеолоциты 1 типа) имела тенденцию к повышению относительно контроля, а интенсивность Sftpc (альвеолоциты 2 типа) статистически значимо снижалась; изменений для ВТП не выявлено. Таким образом, активный YAP в клетках культивируемых срезов легких способствует дифференцировке альвеолоцитов, о чем свидетельствует снижение экспрессии Sftpc и повышением Ager. Кроме того, показано, снижение доли Pdgfrα+ клеток и уровня их флуоресценции при активации Yap.

РНФ № 21-74-30015-П.

Перспективные методы диагностики и лечения первичных иммунодефицитов человека

А.А. Воронцов *¹

¹ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

* 1404artemiy@gmail.com

Тезисы на конференцию "Генетические технологии в биомедицине"

1) Первичные иммунодефициты (ПИД) – это генетически обусловленные нарушения иммунной системы человека, приводящие к повышенной восприимчивости к инфекциям, аутоиммунным заболеваниям и аллергиям.

2) По данным IUIS (2022) насчитывается более 450 разновидностей ПИД. Общая частота ПИД – 1:1 200 – 1:2 000 (по последним данным, многие случаи не диагностированы).

3) На данный момент существует несколько эффективных методов диагностики ПИД (таких как NGS, WES или TREC/KREC), выявляющих заболевание на ранних стадиях развития плода, а также несколько стратегий лечения заболевания (таких как трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, трансплантация тимуса или заместительная иммунотерапия), однако все они лишь улучшают качество жизни пациента.

4) Наиболее перспективными же методами лечения ПИД являются те, которые направлены против причины возникновения данного заболевания и уже активно применяются для лечения SCID, WAS и X-сцепленной агаммаглобулинемии, такие как мРНК-терапия, редактирование системой CRISPR-Cas9 и редактирование стволовых клеток ex vivo.

5) Данные методы в перспективе можно применять против большинства других первичных иммунодефицитов человека, имеющих с SCID, WAS и X-сцепленной агаммаглобулинемией схожий патогенез.

Благодарность: Факультет биотехнологий ИТМО, Мегафакультет науки о жизни.

Роль YAP/TAZ в гормон-зависимых изменениях стромы эндометрия человека в условиях *in vitro*.

А.О. Гайдамака*¹, Н.А. Капочкина¹, Е.Н. Князев², Е.А. Воротеляк^{1,3}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *stadtrand@yandex.ru*

Эндометрий – слизистая оболочка тела матки. YAP и TAZ – транскрипционные кофакторы, участвующие в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток. Цель работы – определение функциональной роли YAP/TAZ в гормон-зависимых процессах в клетках стромы эндометрия человека. Исследования в этой области свидетельствуют об участии YAP/TAZ в регуляции менструального цикла (Chen et al., 2017).

На срезах биоптатов эндометрия YAP преимущественно локализован в ядрах клеток стромы, TAZ – в ядрах клеток стромы и эпителия желез в равной степени. При гиперплазии эндометрия интенсивность флуоресценции YAP в ядрах клеток ниже, чем в норме, TAZ – ниже, чем в норме секреторной фазы, и больше, чем в норме пролиферативной фазы.

При культивировании клеток стромы эндометрия в различных гормональных режимах уровень активного белка YAP растет в условиях децидуализации, а экспрессия YAP1 на уровне мРНК падает. Ингибирование активности YAP/TAZ с помощью вертепорфина приводит к снижению экспрессии генов децидуализации PRL и SCRIB. Примечательно, что SCRIB может модулировать активность YAP/TAZ (Zhao et al., 2021).

Модель имплантации *in vitro* с использованием сфероидов из клеток линии хориокарциномы человека BeWo b30 показывает, что инвазия сфероидов на монослое клеток стромы эндометрия проходит эффективнее при индукции активности YAP/TAZ с помощью TRULI, ингибитора сигнального пути Hippo.

Полученные данные указывают на участие YAP в регуляции процессов инвазии клеток эмбриона и децидуализации стромы эндометрия. Нарушения регуляции активности YAP/TAZ могут играть ключевую роль при возникновении патологий эндометрия.

Исследование поддержано грантом РНФ ИБР РАН, № 21-74-30015-П <https://www.rscf.ru/project/21-74-30015/>.

Дифференцировка ИПСК человека в нейроны при помощи генетических конструкций на основе аденоассоциированных вирусных векторов

А.А. Галиакберова*^{1,2}, М.А.К. Абдельнаби^{1,3}, Э.Б. Дашинимаев^{1,2,3}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

³ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

* *adgaliakberova@gmail.com*

Получение человеческих нейронов из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека *in vitro* открывает уникальные возможности для исследований. Такие модели позволяют изучать развитие нервной системы, механизмы нейродегенеративных заболеваний, а также подбирать потенциальные методы терапий. Особый интерес представляет применение таких нейрональных культур в персонализированной медицине — работа с клетками конкретного пациента может стать основой для разработки индивидуальных подходов к лечению. Существующие методы получения нейронов человека из ИПСК хотя и успешно применяются, все же имеют ряд недостатков, таких как длительное время дифференцировки, высокая стоимость, низкая эффективность и гетерогенность культур. В связи с этим разработка новых методов получения нейронов из ИПСК является довольно актуальной задачей. В данном исследовании мы разработали уникальный подход получения нейронов из ИПСК человека с использованием самокомплементарных аденоассоциированных вирусных (scAAV) векторов, содержащих гены пронеуральных факторов транскрипции. Протокол состоял из трех этапов. На первом этапе при помощи трансдукции ИПСК scAAV-вектором, содержащим ген пронеурального фактора ASCL1, мы получили промежуточно-дифференцированные клетки, сохраняющие пролиферативную активность в течение нескольких пассажей и демонстрирующие черты, сходные с нейральными стволовыми/прогениторными клетками. Затем для получения нейральных культур, на втором этапе промежуточные клетки трансдуцировали двумя разными scAAV-векторами: первый кодировал ген пронеурального фактора NGN2, а второй — ген анти-апоптотического фактора BCL-XL. Третий этап, самый длительный во всем протоколе, заключался в созревании полученных нейральных культур. При помощи методов иммуноцитохимического окрашивания и ОТ-ПЦР в реальном времени мы подтвердили нейрональную природу дифференцированных клеток. Полученные нами результаты демонстрируют эффективность использования scAAV-векторов для доставки пронеуральных факторов в ИПСК человека для их дифференцировки в нейроны. В дальнейшем планируется оптимизация протокола и более детальная функциональная характеристика полученных нейральных культур.

Данное исследование финансировалось грантом РНФ №25-15-00443.

Генетически кодируемые метки для мультимодального мониторинга клеток метастатической опухоли легкого

И.Е. Егорова^{*1,2}, А.О. Сосновцева³, А.А. Дресвянникова², А.Н. Габашвили²

¹ Национальный исследовательский ядерный университет МИФИ, Москва, Россия;

² Федеральный исследовательский центр Институт общей физики им. А.М.

Прохорова РАН, Москва, Россия;

³ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

* *Irishka.irinka.ira090304@yandex.ru*

Методом генетической инженерии были созданы генетические конструкции, несущие последовательности, кодирующие высокомолекулярные капсидоподобные белковые наноструктуры - нанокомпарменты бактерии *Quasibacillus thermotolerans*, запасющие железо. Упомянутые белки состоят из оболочки и грузового белка, находящегося внутри. При этом белковая оболочка, подобно вирусному капсиду, надежно защищает содержимое наноструктуры. Грузовым белком нанокомпарментов *Quasibacillus thermotolerans* является фермент с феррооксидазной активностью, катализирующий реакцию окисления двухвалентного железа до трехвалентного с образованием магнитных наночастиц (МНЧ) состава железокислород, имеющих Т2 контрастные свойства. Описанные последовательности были дополнены генами, кодирующими биolumинесцентные репортеры (fLuc и nanoLuc). На основе полученных генетических последовательностей были сконструированы лентивирусные векторы, позволившие добиться стабильной экспрессии генов интереса в клетках метастатической опухоли легкого (LLC, Lewis lung carcinoma). Наличие Т2 контрастных биогенных МНЧ в клетках дает возможность отслеживать их после введения в организм малых лабораторных животных методом МРТ, а также проводить оценку величины магнитного сигнала по нелинейному намагничиванию, а присутствие второй метки (люциферазы) позволяет проводить оптическую томографию. Таким образом, наличие двух комплиментарных меток дает возможность получать данные как о локализации клеток, так и об их жизнеспособности.

Нами была проведена сравнительная оценка скорости пролиферации полученных трансгенных клеток и контрольных (интактные клетки линии LLC), оценка интенсивности биolumинесцентного сигнала люциферазы в клетках, качественное и количественное определение содержания внутриклеточного железа, а также предварительные исследования на малых лабораторных животных. Было показано, что при введении в организм животного, полученные клетки сохраняли свою жизнеспособность, не вызывали иммунологического отторжения, и, при этом сохраняли и магнитный и биolumинесцентный сигналы в модели метастатического поражения легких на мышах.

Полученные клеточные линии могут быть использованы для улучшения имеющихся моделей легочных метастаз на малых лабораторных животных. Подобные модели могут быть полезны для исследования лекарственных препаратов, нацеленных на подавление легочных метастаз.

Работа поддержана грантом РФФИ № 25-12-00373.

Особенности регуляции активности гена *Pou5f1* при переходе от наивной к праймированной стадии плюрипотентности

В.В. Ермакова^{*1}, Е.В. Александрова¹, А.А. Кузьмин¹, А.Н. Томили¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

* v.ermakova@incras.ru

Oct4 является одним из важнейших транскрипционных факторов, необходимых для поддержания и индукции плюрипотентного состояния. Как у человека, так и у мыши ген *Pou5f1*, кодирующий этот белок, располагается в кластере генов главного комплекса гистосовместимости, характеризующийся повышенной генной плотностью. Гены здесь активно экспрессируются во множестве клеток взрослого организма. В свою очередь *Pou5f1* выполняет свои функции, как считается, только в клетках зародышевой линии. Ген *Pou5f1* у мыши имеет три ключевых регуляторных элемента (РЭ): промотор, а также дистальный и проксимальный энхансеры, которые активны на разных стадиях плюрипотентного состояния клеток: дистальный – в наивных эмбриональных стволовых клетках (ЭСК), проксимальный – в праймированных. Более того в недавних исследованиях было обнаружено множество ранее неизвестных РЭ гена *Pou5f1*, среди которых были и промоторы других белок-кодирующих генов. Однако вклад этих элементов в регуляцию *Pou5f1* и иерархия их взаимодействия на разных стадиях плюрипотентности остаются неопределенными.

В ходе работы над проектом, направленным на изучение неканонических свойств *Pou5f1*, мы получили ряд линий мышинных ЭСК с транслоцированным геном *Pou5f1*, включающим свои основные РЭ (промотор, дистальный и проксимальный энхансеры). И выяснили, что способность к переходу в праймированное состояние этих ЭСК была ограничена, что, вероятно, связано с некорректным контролем экспрессии гена *Pou5f1*, изолированного от дополнительных РЭ. Несмотря на то, что наша эктопическая конструкция содержала все, как считалось ранее, критические РЭ гена необходимые для этого перехода, все они располагались выше относительно гена *Pou5f1*. Исходя из недостаточной изученности 3'-некодирующей области *Pou5f1*, мы предположили, что недостающий РЭ находится именно в этом направлении. Ориентируясь на статью Yeom и коллег (Yeom Y. I. et al., 1996) мы определили гипотетические участки, содержащие недостающие РЭ, а затем создали линии мЭСК, содержащие один функциональный аллель гена *Pou5f1*, с делециями соответствующих участков. При делеции участка порядка 4700 нт, соответствующая линия мЭСК проявляла те же свойства, что и линия с перенесённым геном *Pou5f1*. Дальнейшая наша работа будет направлена на уточнение границ нового регуляторного элемента *Pou5f1*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 24-75-10131, (<https://rscf.ru/project/24-75-10131>).

Воздействие гидроксимочевина на популяцию эмбриональных стволовых клеток мыши с целью синхронизации клеточного цикла на G1-фазе

Е.Д. Ерофеева^{*1}, В.К. Абдыев¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

^{*} *erofeeva.zhenya@gmail.com*

Гидроксимочевина (Hydroxyurea, HU) — химическое соединение, используемое для остановки клеточного цикла на фазе G1/S (Young et al., 1964). Оно действует, ингибируя рибонуклеотидредуктазу I (RNR), что приводит к снижению уровня дезоксирибонуклеозидтрифосфатов и остановке репликационной вилки. С 1960-х годов HU используют для лечения опухолевых заболеваний мозга (Madaan et al., 2012), миелопролиферативных заболеваний (Spivak et al., 2011), серповидноклеточной анемии (Nevitt et al., 2017).

Эмбриональные стволовые клетки мыши (мЭСК) – это плюрипотентные стволовые клетки, выделенные из преимплантационных бластоцист. Для мЭСК в условиях 2i/LIF характерны такие свойства, как наивное состояние плюрипотентности и самообновление. При самообновлении в условиях 2i/LIF наивные мЭСК делятся симметрично, сохраняя плюрипотентность обеих дочерних клеток (Jasnos et al., 2013). Симметричное деление в условиях 2i/LIF опосредовано сниженной активностью метилтрансфераз Dnmt3a/b и гипометилированием генома (Jasnos et al., 2013).

Для мЭСК характерны быстрый клеточный цикл, укороченная G1-фаза и постоянная активность циклинов и циклин-зависимых киназ, сниженная активность ингибиторов клеточного цикла (Huurne ter et al., 2021). G1-фаза – это окно для принятия важных решений в жизни клетки – продолжение пролиферации, вход в покоящееся состояние, уход в дифференцировку. Многие группы исследователей показали, что именно во время G1-фазы плюрипотентные стволовые клетки, в частности, мЭСК, с большей степенью уходят в дифференцировку при получении сигналов дифференцировки (Coronado et al., 2013). В связи с этим представляет интерес получение популяции мЭСК на G1-фазе и исследование, является ли G1-фаза критическим периодом для продолжения самообновления мЭСК в наивных условиях 2i/LIF.

Так, целью нашего исследования было получить популяцию мЭСК, синхронизированную на G1-фазе клеточного цикла, подобрать оптимальные условия воздействия HU на мЭСК, учитывая ее токсические характеристики, показать эффект воздействия HU на геном, метаболизм, состояние плюрипотентности, клеточный цикл мЭСК.

Мы определили оптимальные условия воздействия HU для синхронизации клеточного цикла на G1-фазе при сохранении наивной плюрипотентности, показали воздействие HU на активность митохондриальных ферментов и маркера двучепочечных разрывов gH2AX. Мы провели запуск клеточного цикла мЭСК и показали, что при переходе мЭСК с G1- на S-фазу и в S-фазе клеточного цикла повышается экспрессия маркеров плюрипотентности Nanog, Klf2, маркера фокальной адгезии Vinculin, ламининов Lamc1, Lama5.

Работа выполнена благодаря поддержке гранта РНФ 21-74-30015-П.

Регуляция функциональной активности белков и клеток переключателями сплайсинг олигонуклеотидами

Д.Д. Жданов^{*1,2}, В.Г. Блинова^{1,3}

¹ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия;

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

³ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* zhdanovdd@mail.ru

Альтернативный сплайсинг (АС) пре-мРНК, это процесс избирательного включения или делеции кодирующих белок участков гена в зрелую мРНК. АС регулирует функциональную активность белков и клеточные процессы. Переключающие сплайсинг олигонуклеотиды (ПСО) способны селективно связываться с пре-мРНК целевого гена и модулировать образование индивидуальных сплайс-вариантов.

Применение ПСО, специфичных пре-мРНК каталитической субъединицы теломеразы человека (human Telomerase Reverse Transcriptase, hTERT), позволило индуцировать синтез сплайс-варианта данного белка с делецией экзона 7 и 8 и затормозить деление опухолевых клеток.

Модуляция ПСО АС пре-мРНК дезоксирибонуклеазы 1 (ДНКазы 1) позволила индуцировать делецию экзона 4 и синтез неактивной формы фермента. Индукция неактивной ДНКазы 1 привела к торможению процесса гибели нормальных лимфоцитов человека при воздействии цитотоксических агентов.

Действие специфических ПСО на пре-мРНК белка системы репарации ДНК рекомбиназы RAD51 вызывало делецию экзона 4 и сопровождалось понижением уровня повреждения ДНК и гибели нормальных лимфоцитов человека при действии генотоксических химиотерапевтических агентов.

Применение ПСО, специфически взаимодействующих с пре-мРНК мастерного белка регуляторных Т-клеток человека (Treg) Forkhead box protein 3 (FoxP3), позволило получить линии клеток с индивидуальными сплайс-вариантами FoxP3: с делецией экзона 2 (вариант delta2), с делецией экзона 7 (вариант delta7), с делецией обоих экзонах (вариант delta2delta7), а также полноразмерный вариант. Трег с полноразмерным вариантом FoxP3 обладали большей пролиферативной и супрессорной активностью, по сравнению с Трег с укороченными сплайс-вариантами. Подход к увеличению супрессорной активности Трег путём индукции полноразмерного варианта FoxP3 при помощи ПСО применим для целей регенеративной терапии некоторых аутоиммунных заболеваний. Таким образом, технология модуляции АС при помощи ПСО является одним из способов генетического редактирования на уровне мРНК и, воздействуя на клеточные процессы, открывает новые перспективы в области персонализированной медицины.

Исследование выполнено в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021-2030 годы) (№ 122022800499-5), а также за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00326.

Сравнение экспрессии провоспалительного цитокина TNF в астроцитах, полученных из ИПСК пациентов с полиглутаминовыми нейродегенеративными заболеваниями: спиноцереbellарной атаксией 17 типа, 1 типа и болезнью Гентингтона

А.Д. Жукова^{*1}, А.В. Давиденко², А.Н. Богомазова²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

* *alisazhukova2020@gmail.com*

Полиглутаминовые заболевания – это группа нейродегенеративных патологий, вызываемых экспансией CAG-повторов в кодирующей части различных генов, в результате в клетках синтезируются белки с удлинёнными полиглутаминовыми трактами. Примерами таких заболеваний являются спиноцереbellарные атаксии (SCA) 1 и 17 типов и болезнь Гентингтона (HD). SCA17 развивается в результате мутации в гене TBP, кодирующем транскрипционный фактор TBP. В случае SCA1 мутация происходит в гене ATXN1, кодирующем белок атаксин-1. В свою очередь, HD возникает в результате мутации в гене HTT, кодирующем белок гентингтин. Одним из факторов, предположительно обуславливающих развитие данных заболеваний, является нейровоспаление. Для этого процесса характерно появление реактивных астроцитов в головном мозге, которые отличаются повышенной продукцией провоспалительных цитокинов. Ранее нами было показано наличие провоспалительного фенотипа у астроцитов, полученных из ИПСК пациентов, больных SCA17.

Целью данной работы было исследование методом количественной ОТ-ПЦР экспрессии гена TNF в астроцитах, полученных от доноров со SCA17, SCA1 и HD, в интактном состоянии и после стимуляции TNF.

В интактных астроцитах пациентов со всеми тремя заболеваниями мы не обнаружили значимых отличий в уровне экспрессии TNF от клеток здоровых доноров. На стимуляцию экзогенным TNF все исследованные линии ответили повышением экспрессии гена TNF. В линиях SCA17 и HD повышение экспрессии TNF было менее выражено, чем в здоровом контроле, но в линии SCA1, наоборот, оно оказалось выражено сильнее.

Таким образом, было показано, что астроглиальные клетки SCA17 и HD обладают сниженной способностью к иммунной активации, что может свидетельствовать о выработке ими толерантности к воздействию экзогенных провоспалительных факторов. Однако для клеток SCA1 такого эффекта не наблюдалось, что говорит о том, что данный фенотип не является общим для всех полиглутаминовых заболеваний.

Мы выражаем благодарность Анастасии Владимировне Сурдиной за помощь в дифференцировке и Александре Никитичне Богомазовой за чуткое руководство!

Роль гена ZC3HC1 и полиморфизма rs11556924 в патогенезе малярии.

А.А. Зими́на^{*1}, А.Б. Гринев¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

* *zimina2004@yandex.ru*

Ген ZC3HC1 кодирует белок ядерной оболочки, локализован на хромосоме 7q32.2, регулирует клеточный цикл и структуру ядерных пор(NPC) через деградацию циклина B1. Полиморфизм rs11556924 (p.Arg363His) влияет на стабильность белка, экспрессию в гладкомышечных клетках сосудов и связан с изменением толщины интимы-медиа. При заражении *Plasmodium falciparum* наблюдается снижение активности ZC3HC1, что усиливает сигналы TNF- α , влияя на воспалительные механизмы и течение малярии. Был проведён анализ молекулярной роли гена и его варианта из материала замороженного материала крови человека, заражённого малярией, в контексте возможного протекания малярии и сопутствующих патологий. Паразит *P. falciparum* использует компоненты NPC хозяина для репликации, влияя на иммунный ответ и воспалительные процессы, определяющие тяжесть протекания малярии (Kehrer et al., 2018; Mohamedahmed, 2023).

В исследуемом материале обнаружен вариант ENST00000714098.1, он кодирует 212-аминокислотный белок. Аллель rs11556924 (T) (C/A/T|Ancestral: C|Highest population MAF: 0.49) снижает экспрессию ZC3HC1 в гладкомышечных клетках сосудов (p=0,012), повышает миграцию клеток, увеличивая толщину интимы-медиа на 0,05 мм (López-Mejías et al., 2013). Нокдаун гена удваивает накопление циклина B1 (Schmitt et al., 2021), приводит к снижению TPR на 50% (Gunkel & Cordes, 2022). Ген входит в путь TNF- α (STRING score=0,77, FDR=4.5 $\times 10^{-3}$), дефицит усиливает TNFR2 на поверхности клеток (+1.8 раза, p<0,01), повышая воспаление (Mohamedahmed, 2023). Уровни TNF- α >200 pg/ml ассоциированы с тяжёлой малярией (Miller et al., 2022). Корреляция аллельных частот rs11556924 T с исторической эндемичностью малярии $\rho=0,42$ (p=0,021). *P. falciparum* не имеет гомолога ZC3HC1, но активная динамика NPC указывает на взаимосвязь с экспрессией ZC3HC1 (Kehrer et al., 2018; Ambekar et al., 2022).

Полиморфизм rs11556924 снижает экспрессию ZC3HC1 и изменяет характеристики сосудистой стенки. ZC3HC1 регулирует TNF- α и клеточный цикл, влияя на течение малярии и повышая сердечно-сосудистые риски. Данные подчеркивают значимость ZC3HC1 как потенциального биомаркера и терапевтической мишени.

Определение параметров бифуркации траектории дифференцировки нейральных клеток человека в культуре *in vitro*

А.Г. Золкин^{*1,2}, А.А. Галиакберова^{3,4}, А.С. Артюхов^{3,4}, Э.Б. Дашинимаев^{3,4,1}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия;

² Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия;

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

⁴ Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

* zolkin.ag@phystech.edu

Поиск факторов, влияющих на дифференцировку нейральных стволовых клеток (НСК), является важным не только для фундаментальной нейробиологии, но и для разработки методов лечения и моделирования заболеваний.

В ходе работы работы были использованы данные scRNA-Seq НСК, полученных из ИПСК с помощью Dual SMAD ингибирования. Клетки далее были культивированы в течение 5 и 25 пассажей, спонтанно дифференцируясь, затем их РНК была выделена и секвенирована. Выравнивание прочтений на референсный геном GRCh38, кластеризация и оценка зрелости транскриптов позволили выделить глиальное и нейрональное направления клеточной судьбы, построить траектории дифференцировки, выделить типы клеток в кластерах.

Нами был проведён анализ дифференциальной экспрессии для выявления наиболее экспрессированных транскриптов в каждом кластере по сравнению с остальными. На основе этого анализа нам удалось выделить несколько известных транскрипционных факторов, возникающих на стадии незрелой глии: SOX6, GLIS3. Также для незрелых нейронов: EBF1, EBF2, SRRM4.

Интересен обнаруженный нами на глиальном пути транскрипт ENSG00000243620. Он присутствует как в незрелой глии, так и в кластерах, относящихся к НСК на ранней стадии глиальной траектории, делая его наиболее ранним маркером из обнаруженных. Транскрипт по информации базы данных GTEx экспрессируется практически исключительно в мозжечке мозга человека. Поскольку транскрипт простирается на ~460 т.п.о и фланкирован гипотетическим белком (leucine-rich repeat extensin-like protein 5, LRRP5) и нк-РНК с мотивом цинкового пальца (LOC112268449, LNC449), мы оценили корреляцию между степенью экспрессии двух этих частей, и пришли к выводу о том, что транскрипт экспрессируется равномерно.

Стоит заметить, что пики покрытия секвенирования далеко не всегда совпадают с указанными в базах данных NCBI и GENCODE для этого гена экзонами, указывая на возможные неточности в нынешних представлениях о структуре этого гена. Проведённые предсказания инструментами GeneMark и AUGUSTUS с учётом полученных данных также не совпадают с находящимися в базе, однако участки LRRP5 и LNC449 на концах гена предсказываются всеми инструментами и наблюдаются в покрытии.

Таким образом, мы полагаем, что обнаруженные нами транскрипционные факторы являются перспективными целями для воздействия, однако структура ENSG00000243620 может отличаться от находящейся в базах данных.

Генномодифицированные клеточные линии в современной биомедицине

А.Е. Зубкова*^{1,2}, Д.В. Юдкин¹

¹ ООО «Трансген», Кольцово, Россия;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

* a.zubkova1@g.nsu.ru

Различные биологические и медицинские исследования и разработка терапевтических и профилактических средств требуют наличия адекватных моделей. В частности, на моделях исследуют различные биологические процессы, на них испытывают эффективность лекарственных препаратов и определяют молекулярные механизмы различных патологий. В качестве живых моделей могут выступать лабораторные животные или клеточные линии. Например: стабильные перевиваемые клетки; immortalized клеточные линии; дифференцированные клеточные линии, полученные из ИПСК; генномодифицированные клеточные линии. Ниже рассмотрим примеры использования генетических модификаций клеток, которые были выполнены нашей группой для различных задач в контексте мировых исследований в этом направлении.

Вirus Эпштейна-Барр активно применяется для immortalization В-лимфоцитов. С помощью него мы получили коллекцию клеточных линий пациентов с различными хромосомными патологиями и исследовали на них молекулярные механизмы этих патологий.

Генномодифицированные клетки широко применяются в вирусологии, как для непосредственного исследования механизма развития инфекции, так и для наработки вирусного материала для широкого спектра работ. Нами были получены клеточные линии на основе Vero, в геном которых был интегрирован ген LAMP1 человека. В таких клеточных линиях значительно повышалась продукция коронавирусов.

Для исследования работы белка тетерина была получена генномодифицированная линия, экспрессирующая вариант тетерина без двух доменов. В таких клетках значительно снижалась продукция коронавирусов и вируса гриппа.

Генетические модификации позволяют создавать удобные модели для исследования механизмов патологии наследственных заболеваний. Например, для исследования влияния транскрипции на экспансию повторов при синдроме ломкой Х-хромосомы мы получали клеточную линию HEK293 несущую кассету с индуцируемой транскрипцией через повтор.

Нокаут рецептора TNFR1 в различных клеточных линиях позволил исследовать роль комплекса рецепторов TNFR1/TNFR2 в работе фактора некроза опухоли.

Это лишь выборочные примеры использования генномодифицированных клеточных линий в биомедицине. Развитие технологий геномного редактирования открывает практически безграничные возможности для создания клеточных моделей под любые прикладные и исследовательские задачи.

Динамика изменения С-реактивного белка сыворотки крыс на фоне гонартроза и избыточной массы тела и применения дексаметазона в эксперименте.

А.С. Иванов *¹, И.А. Александров¹

¹ Негосударственное частное учреждение Научный диагностический центр «Поликлиника на Смоленской», Москва, Россия

* *sashatravmatolog1985@mail.ru*

С-реактивный белок (СРБ) – представляет собой маркер острой фазы воспаления, его синтез происходит исключительно гепатоцитами, как ответ организма на провоспалительные цитокины (интерлейкин-1, 6, фактор некроза опухолей) (Plebani Mario, 2023; Tillet W.S., 1930). СРБ является общепринятым диагностическим маркером при ревматоидном артрите, остеоартрите (Liang Y., 2022). Хроническому воспалению способствует избыточная масса тела, за счет продукции провоспалительных цитокинов (Yang M., 2021; Juszczak A, 2019; Verma S, 2022; Bay-Jensen A.C., 2021).

Исследование проведено на 180 белых лабораторных крысах самцах линии Вистар возрастом 8-10 недель, массой 200-250 грамм, которые были разделены на 5 экспериментальных групп по 12 животных в каждой. Первая получала 1,0 физиологического раствора натрия хлорида, на второй смоделировано изолированное ожирение, третья получала 1 нг/мл раствора дексаметазона, четвертая 10 нг/мл раствора дексаметазона, пятая 100 нг/мл раствора дексаметазона. Кровь отбирали в объеме 1,0 из хвостовой вены для определения показателя СРБ на 3, 5, 10 сутки.

Установлено, что на фоне изолированного ожирения на 3 сутки концентрация СРБ увеличилась на 2,18%, на 5 сутки на 26,4%, а на 10 сутки на 174,5%. На фоне введения 1,0 нг/мл дексаметазона на 3 сутки наблюдали достоверное снижение СРБ на 7,9%, на 5 сутки произошло увеличение показателя на 44,2%, а на 10 сутки увеличение составило 231,6% в сравнении с контрольной группой.

Введение 10 нг/мл дексаметазона привело к достоверному снижению СРБ на 3 сутки на 26,1%, на 5 сутки снижение составило 8%, на 10 сутки наблюдали повышение на 152,3% в сравнении с контрольной группой. На фоне применения 100 нг/мл дексаметазона на 3 сутки концентрация СРБ достоверно снизилась на 21,5%, на 5 сутки наблюдали незначительное снижение на 9,6%, на 10 сутки произошло увеличение на 145% в сравнении с контрольной группой.

Установлено, что 1 нг/мл дексаметазона эффективно до 3 дней использования, 10 и 100 нг/мл оказывает положительное влияние до 5 суток, при более длительном использовании концентрация СРБ изменялась незначительно в сравнении с контрольной группой.

Активация экспрессии генов с помощью модифицированных олигонуклеотидов, таргетирующих вторичные структуры в ДНК и РНК

П.Н. Камзеева^{*1}, Н.М. Шепелев¹, Д.А. Федоров¹, С.Д. Орешков², В.В. Северов³,
Е.А. Климанова¹, М.П. Рубцова¹, А.В. Аралов²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, Москва, Россия;

³ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им.
академика Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

* *polinabast@yandex.ru*

Ряд заболеваний характеризуется дефицитом функционального белка. В то время как для селективного подавления экспрессии существуют универсальные подходы с применением антисмысловых олигонуклеотидов (АСО), возможности восстановления функции ограничены частными случаями регуляции сплайсинга. В связи с этим, целью работы является разработка новых методов таргетной активации экспрессии генов.

Предложенный нами подход предполагает «расплетение» вторичных структур в промоторах или 5'-нетранслируемых областях (5'-НТО). В качестве модельных объектов мы выбрали G-квадруплексы (G4) из промотора гена cKIT и 5'-НТО мРНК Bcl-2, оказывающие ингибирующее действие на экспрессию. Мы синтезировали низкомолекулярное соединение G-unclamp, потенциально способное «выдергивать» остатки гуанина из квадруплексных G тетрад за счет образования с ними множественных водородных связей. С помощью ряда физико-химических методов (спектроскопии кругового дихроизма и 1H ЯМР) и молекулярно-биологических методов (двойной люциферазный тест и кПЦР) были показаны дестабилизирующий эффект соединения на G4 cKIT1 и способность повышать эффективность транскрипции на >40% в зависимости от клеточной линии.

Мы также синтезировали ряд 2'-ОМе-олигонуклеотидов (2'-ОМе-ОДН), которые содержат модификацию G-clamp с аналогичной G-unclamp способностью образовывать множественные водородные связи с остатками гуанина. Было апробировано два подхода с таргетированием участков внутри собранного G4 cKIT1, а также с захватом фланкирующих его фрагментов. Два ОДН продемонстрировали способность повышать эффективность экспрессии гена-репортера под промотором гена cKIT до 40%, причем наиболее эффективным оказался ОДН, захватывающий 3'-фланкирующую последовательность.

В рамках разработанного подхода, были синтезированы G-clamp-модифицированные 2'-ОМе-ОДН, нацеленные на rG4, который ингибирует инициацию трансляции в 5'-НТО мРНК Bcl-2. Было определено влияние ОДН на трансляцию репортерной мРНК с 5'-НТО мРНК Bcl-2.

В целом, был разработан подход к активации экспрессии G4-регулируемых генов с помощью G-clamp-модифицированных ОДН. Полученные результаты могут найти применение в сфере клеточных технологий, а также в терапии патологий, характеризующихся повышенным апоптозом.

Проект поддержан грантом РФФ № 24-15-00236.

Генетические особенности рака молочной железы: сравнительный анализ NGS

О.Е. Кныш^{*1}, Е.В. Кудрявцева²

¹Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия;

²Уральский институт управления здравоохранением им. А.Б. Блохина,
Екатеринбург, Россия

* *knysh_oleg4@bk.ru*

Рак молочной железы (РМЖ) – самый распространенный вид онкологии у женщин. Значимую роль в онкогенезе играют герминальные патогенные варианты (ПВ) в генах-кандидатах, обнаружение которых определяет результативность терапии и прогноз пациента. При этом в РФ пациенткам зачастую рекомендуется лишь ПЦР-тест на наличие «частых» вариантов BRCA1, BRCA2. Секвенирование нового поколения (NGS), являющееся более информативным методом выявления ПВ, используется редко.

Цель исследования - проанализировать встречаемость и структуру ПВ в генах, ассоциированных с РМЖ, у пациенток с диагнозом РМЖ и здоровых женщин с онкологически отягощенным семейным анамнезом (ООСА) в РФ. Материал и методы: в ретроспективное исследование включены результаты NGS-тестирования 291 женщины (18 – 78 лет) по панели из 24 генов, ассоциированных с РМЖ на базе центра «Геномед». Участницы разделены на 2 группы: с РМЖ (всех подтипов, локализаций и стадий) в анамнезе – группа 1 (n=146); без РМЖ, но с ООСА – группа 2 (n=145).

Результаты и обсуждение: в группе 1 был выявлен 31 ПВ (21,2%); в группе 2 - 12 ПВ (8,3%). Возраст манифестации РМЖ у пациенток с ПВ был ниже, чем у пациенток без ПВ (39 / 44 года), подтверждая высокий риск развития «наследственных» форм РМЖ именно у молодых пациенток и оправдывая проведение NGS в этой когорте. В группе 1 чаще выявлялись ПВ (в 2,6 раз, $p=0,002$) и встречались варианты со сдвигом рамки считывания (в 3,5 раза), $p=0,0026$. Наиболее часто выявлялись ПВ BRCA1 (41,9%), BRCA2 (27,9%) и CHEK2 (18,6%). У пациенток с РМЖ ПВ BRCA1 (встречаемость в группе 1=8,9%) и CHEK2 (4,8%) встречались чаще, $p<0,03$; разница во встречаемости BRCA2 (5,5%) не была значима. ПВ BRCA1 были ассоциированы с тройным-негативным подтипом РМЖ, BRCA2 и CHEK2 – с гормон-зависимыми. Из всех выявленных в группе 1 ПВ к «частым мутациями BRCA» относились 6 (4,1% пациенток), показывая преимущество в чувствительности NGS над ПЦР в 5 раз. Встречаемость ПВ BRCA превалировала, при этом составляя лишь 69% от всех выявленных ПВ, показывая значимость генетического тестирования «за пределами» BRCA. Наиболее часто встречаемыми ПВ были BRCA1 c.5266dupC и CHEK2 c.1100delC с равной встречаемостью в 1 группе. Также были обнаружены ПВ ATM, RAD51D, BARD1, MLH1, BRIP1. У 8,3% женщин с ООСА был выявлен ПВ, что в 8 раз выше популяционных значений. ПВ не было выявлено в 13 генах – 10 характеризуются средней/низкой пенетрантностью, ставя под вопрос необходимость использования крупных NGS-панелей в тестировании РМЖ.

Влияние сверхэкспрессии Wip1 на резистентность клеток колоректального рака к химиопрепаратам

Е.Д. Колосова*^{1,2}, Д.А. Лисица¹, О.Н. Демидов^{1,2}, Д.А. Богданова^{1,2}

¹ Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия;

² Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

* katunechka_l@mail.ru

Устойчивость опухолевых клеток к противоопухолевой терапии является одной из наиболее важных проблем в онкологии. Современные методы лечения, включающие химиотерапию и таргетную терапию, не всегда эффективны из-за развития резистентности, которая может быть обусловлена генетическими и эпигенетическими механизмами. Поиск путей преодоления резистентности опухолевых клеток к противоопухолевым препаратам является критически важным для повышения эффективности лечения онкологических заболеваний. Одной из возможных причин резистентности к терапии является сверхэкспрессия фосфатазы Wip1 из-за амплификации гена или стабилизирующих белок мутаций, нередко встречающихся в опухолях.

В этом исследовании был изучен механизм развития устойчивости клеток колоректального рака к противоопухолевым препаратам на генетическом и эпигенетическом уровнях для разработки стратегий преодоления химиорезистентности.

В качестве линии опухолевых клеток была выбрана линия колоректального рака человека (DLD-1). Также была использована генетически модифицированная линия колоректального рака человека (DLD-1) со сверхэкспрессией гена фосфатазы Wip1. На данных линиях было произведено тестирование классического химиопрепарата (доксорубицин), ингибитора фосфатазы Wip1 (GSK2830371) и препарата, приводящего к гипометилированию ДНК (5-азациитидин). Для оценки пролиферации клеток использовали МТТ-тест. Анализ клеточной гибели проводили с использованием флуоресцентного красителя 7-AAD с последующей визуализацией на приборе IncuCyte S3.

В ходе проведенных экспериментов было установлено, что повышенная экспрессия Wip1 снижает чувствительность опухолевых клеток DLD-1 к химиопрепарату доксорубицину. Подавление активности Wip1 с помощью химического ингибитора GSK2830371 позволило преодолеть резистентность опухолевых клеток со сверхэкспрессией Wip1 к доксорубицину. Деметилирующий препарат 5-азациитидин существенно увеличивал уровень клеточной гибели в ответ на противоопухолевые препараты в клетках колоректального рака со сверхэкспрессией гена Wip1. Было показано, что деметилирование повышает экспрессию эпигенетически инактивированных генов (*CDKN1 β* , *CDKN2 β* , *R β 1*), регулирующих клеточный цикл и клеточную гибель, что создает предпосылки для увеличения чувствительности опухолевых клеток со сверхэкспрессией гена Wip1 к химиотерапевтическим агентам и открывает новые возможности для преодоления химиорезистентности.

Полученные результаты расширяют понимание механизмов развития устойчивости к противоопухолевой терапии и предлагают новые подходы к ее преодолению, что имеет важное значение для разработки более эффективных стратегий лечения онкологических заболеваний. >>

Исследование поддержано грантом РНФ 25-25-20134. Работа частично осуществлялась в рамках программы «Большие Вызовы». Авторы выражают благодарность участникам команды «Метильная группа»: Бердниковой Д.С., Ветюгову А.Д., Куманяйкиной В.Н., Рыбниковой Е.О., Холмирзаевой Д.О., Чумаковой Я.С.

Стендовый доклад

Устойчивость серых крыс к родентицидам-антикоагулянтам и ее связь с мутациями в гене *Vkorc1*

В.Ю. Комаров^{*1,2}, Е.Э. Хиразова¹, Д.В. Транквилевский^{1,3,2}

¹ Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана Роспотребнадзора, Мытищи, Россия;

² ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия;

³ Федеральный центр гигиены и эпидемиологии, Москва, Россия

* komarov.volodya@yandex.ru

Борьба с грызунами является актуальным и весьма значимым мероприятием, так как они являются резервуарами, прокормителями переносчиков и переносчиками целого ряда возбудителей болезней, общих для человека и животных, и поэтому дератизационные мероприятия входят в систему мер неспецифической профилактики инфекционных заболеваний. Правильная организация дератизации и ее качественное проведение являются гарантией благополучия человека. Одной из имеющих проблем дератизации и влияющих на результаты проводимых обработок является устойчивость грызунов к родентицидным средствам на основе антикоагулянтов. Поэтому в настоящее время проблеме распространения устойчивости синантропных грызунов к родентицидам на основе антикоагулянтов уделяется особое внимание. В научной литературе с 1950-х годов имеются данные о выявлении устойчивых особей грызунов к дератизационным средствам, содержащим в своем составе антикоагулянты первого поколения, такие как варфарин, зоокумарин, но, и к некоторым антикоагулянтам второго поколения после непродолжительного периода их применения, вопросы устойчивости стали подниматься вновь. По мере изучения вопроса проявления резистентности у синантропных грызунов было установлено, что устойчивость к родентицидам возникает, когда в гене *Vkorc1* возникают мутации, известные как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), приводящие к включению другой аминокислоты в белок (фермент *Vkorc1*). В настоящее время у серых крыс в гене *Vkorc1* выявлено более 30 точечных мутаций, и некоторые из них связаны с устойчивостью к антикоагулянтам. Молекулярное исследование белковых последовательностей выявили пять аминокислотных мутаций L120Q, L128Q, Y139C, Y139F, Y139S, которые связаны с фенотипическим проявлением устойчивости к родентицидам-антикоагулянтам.

Проведение исследований материала от 353 грызунов на устойчивость к родентицидам-антикоагулянтам позволили выявить у 32 особей серой крысы наличие соответствующих однонуклеотидных полиморфизмов, так в биоматериале от 25 серых крыс выявили мутацию Tyr139Ser и от 7 – Tyr139Phe. Анализ полученных результатов молекулярно-генетических исследований показал, что в 9,1 % исследованных проб от серых крыс выявлены распространенные мутации Tyr139Ser и Tyr139Phe, из них Tyr139Phe в 2 %, а Tyr139Ser в 7,1 %. Учитывая пространственное

распределение, имеются территории с весьма высокими значениями особей с выявленными мутациями.

Авторы выражают благодарность специалистам зоолого-энтомологической службы учреждений, подведомственных Роспотребнадзору, за сотрудничество в вопросе изучения распространения устойчивости грызунов к родентицидам и направление проб для проведения исследований.

Стендовый доклад

Регуляторные В-клетки как часть опухолевого клона в хроническом лимфоцитарном лейкозе

Н.Р. Конь^{*1,2}, Э.А. Жеремян¹, Д.В. Купраш^{1,2}, К.В. Корнеев¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* nikolenkakon@gmail.com

У пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) наблюдается выраженная иммуносупрессия, в реализации которой можно предположить участие регуляторных В-клеток (Bregs). Настоящая работа посвящена изучению связи Bregs с опухолевым клоном ХЛЛ и анализу функциональной активности этой популяции.

Для определения связи Bregs и опухолевого клона из периферической крови пациентов с ХЛЛ и здоровых доноров были выделены преобладающая регуляторная субпопуляция CD19⁺CD24^{hi}CD27⁺ Bregs памяти (mBregs) и контрольная популяция CD19⁺CD24^{lo/int} В-клеток (other В-клетки), обедненная Bregs. Данные высокопроизводительного РНК-секвенирования продемонстрировали высокое сходство транскрипционных профилей mBregs и other В-клеток при ХЛЛ при анализе методом главных компонент и оценке евклидовых расстояний. Кроме того, было оценено сходство репертуаров В-клеточных рецепторов (BCR) mBregs и other В-клеток, воссозданных при помощи алгоритма TRUST4, причем было обнаружено, что у пациентов с ХЛЛ BCR-репертуары демонстрировали полное перекрывание. Таким образом, сходство транскрипционных профилей и репертуаров BCR указывает на принадлежность mBregs к опухолевому клону ХЛЛ. Анализ дифференциальной экспрессии генов продемонстрировал, что при ХЛЛ mBregs сверхэкспрессируют маркеры иммунологического истощения, в частности, LAG-3, TIGIT, CTLA-4 и BTLA, в то время как экспрессия противовоспалительных цитокинов, ассоциированных с функционированием Bregs, таких как IL-10 и IL-35, напротив, снижена, как и экспрессия ряда рецепторов (CD40, TACI и BAFFR), характерных для активных В-клеток. Последующий анализ вариации генных наборов (GSVA) показал статистически значимое уменьшение транскрипционной активности генов, ассоциированных с активными Bregs, и повышение активности генов, связанных с иммунологическим истощением.

Полученные в настоящей работе данные позволяют предположить, что mBregs являются частью опухолевого клона ХЛЛ и демонстрируют истощенный фенотип, что может служить клинически важным иммунологическим фактором, который необходимо учитывать при использовании терапевтических подходов, ведущих к реактивации лимфоцитов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-14-00444 (<https://rscf.ru/project/24-14-00444/>).

Влияние экзогенного kiss1 на синтез тестостерона и прогестерона в эмбриогенезе и раннем постэмбриогенезе

М.И. Костина^{*1}, А.А. Нужнова¹, С.А. Глебская², А.А. Блаженко^{1,3}, Е.А. Кондакова^{4,5}

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

² aff;

³ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

* *koctena@list.ru*

Современная фармакология сосредоточена на поиске регуляторов ключевых гормонов репродукции — тестостерона и прогестерона, дисбаланс которого может лежать в основе генетических причин. Генетические вариации в системе регуляции этих гормонов могут обуславливать развитие преэклампсии при избытке тестостерона и нарушение имплантации эмбриона при недостаточности прогестерона. Особый интерес представляет ген KISS1 и его продукт — нейрпептид кисспептин, который регулирует синтез гонадотропинов и непосредственно влияет на стероидогенез. Для доклинических исследований уникальной моделью служит *Danio rerio*. Высокая степень консервативности и консервативности сигнальных путей, регулирующих функционирование репродуктивной системы и прозрачность зародышей позволяют изучать молекулярно-генетические аспекты воздействия экзогенного кисспептина.

В исследовании применяли синтетический пептид кисспептин-14 (NVAYYNLNSFGLRY-NH₂), соответствующий консервативному участку kiss1 *Danio rerio*, синтезированный твердофазным методом. Эмбрионов инкубировали в растворах пептида (10, 20, 50 нг/мл) или контроле (0,9% NaCl), начиная с 9 часа после оплодотворения (чпо, стадия 90% эпиболии), и отбирали пробы в точках 10, 24, 48 и 72 чпо. После проводили криогенную гомогенизацию и ресуспензирование в буфере. Концентрацию прогестерона определяли методом ИФА с последующей статистической обработкой данных.

Исследование выявило дозозависимое влияние кисспептина-14 на уровень тестостерона и прогестерона. На 10 чпо (стадия хвостовой почки по Kimmel et al, 1995) было выявлено повышение при инкубации в растворе 10 нг/мл ($p < 0.05$ для тестостерона) ($p < 0.001$ для прогестерона) и 20 нг/мл ($p < 0.001$ для тестостерона) ($p < 0.01$ для прогестерона). На 24 чпо (начало периода фарингулы) было выявлено повышение при 10 нг/мл ($p < 0.0001$ для тестостерона) и ($p < 0.001$ для прогестерона). Спустя 48 часов после оплодотворения (период вылупления, long rec stage) было выявлено снижение уровня тестостерона при введении пептида в концентрации 20 нг/мл ($p < 0.0001$) и 50 нг/мл ($p < 0.0001$), а также увеличение уровня прогестерона при введении 50 нг/мл ($p < 0.05$). Спустя 72 часа после оплодотворения (период вылупления, стадия выступающего рта protruding mouth stage). было отмечено снижение уровня тестостерона при введении 10 нг/мл ($p < 0.05$), 20 нг/мл ($p < 0.05$) и 50 нг/мл ($p < 0.01$) и увеличение уровня прогестерона при введении 20 нг/мл ($p < 0.05$). >>

Получены первые данные о дозозависимом влиянии kiss1 на уровень тестостерона и прогестерона у эмбрионов *Danio rerio*. Эффект развивается от стимуляции на ранних стадиях до ингибирования андрогенного пути к вылуплению, что указывает на его роль в запуске репродуктивной оси.

Стендовый доклад

Экспрессионный анализ Anxa2 и его генов-партнеров у мышей с токсической моделью болезни Паркинсона на основе введения МФТП

И.Р. Кумаков*¹, М.М. Руденок¹, Е.И. Семенова¹, С.А. Партевян¹, М.В. Шульская¹,
М.В. Лукашевич¹, И.Н. Рыболовлев¹, М.Г. Ратушняк¹, Е.Ю. Москалева¹, А.Х. Алиева¹

¹Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва,
Россия

* i.kumakov@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) относится к числу наиболее распространённых нейродегенеративных патологий, затрагивая приблизительно 1% людей старше 60-летнего возраста. С увеличением продолжительности жизни заболеваемость данной болезнью продолжает расти, делая её серьезной медико-социальной проблемой. Патогенез БП связан с длительной и неуклонно прогрессирующей дегенерацией и последующей гибелью дофаминергических нейронов, локализованных в чёрной субстанции головного мозга.

В настоящее время при исследовании БП большое внимание уделяется процессам, связанным с внутриклеточным и межклеточным транспортом. При этом везикулярный транспорт может рассматриваться в качестве одного из факторов развития БП, а введение экзосом, ввиду их способности преодолевать гематоэнцефалический барьер, – в качестве потенциальной терапевтической составляющей при лечении БП.

Исходя из этого, данная работа была направлена на исследование изменения экспрессии гена Anxa2, принимающего участие в везикулярном транспорте. Выбор этого гена основан на предыдущих экспериментальных данных, полученных авторским коллективом, указывающих на его возможную важную роль в патогенезе БП. Кроме того, был проведен экспрессионный анализ его ближайших генов-партнеров (*Wnt1, Egfr, S100a10*). Анализ проводился в тканях черной субстанции и стриатума мышей с моделированием ранней симптомной стадии БП, основанном на введении МФТП. Токсин вводился 4-кратно с интервалом в 2 часа в разовой дозе 12 мг/кг подкожно. При этом было сформировано две дополнительные группы мышей с аналогичным введением МФТП и интраназальным введением нейтральных и мезенхимальных экзосом.

В результате были получены интересные данные, которые могут указывать на определенное влияние введения экзосом на течение ранних стадий патогенеза БП.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-25-00073, <https://rscf.ru/project/25-25-00073/>.

Изменение количественных показателей лимфоцитов и Антигена-1 у мышей под действием диклофенака натрия.

В.В. Липунов *¹

¹ Негосударственное частное учреждение Научный диагностический центр
«Поликлиника на Смоленской», Москва, Россия

* lipunov777@mail.ru

Воздействие на воспаление и боль является приоритетом при лечении заболеваний. Наиболее известным препаратом, который способен обеспечить поставленную задачу является диклофенак натрия, который воздействуя на циклооксигеназу ингибирует синтез простагландинов 2 (Bagmut IY, 2022; Chumpitaz-Cerrate V., 2021; Menger Maximilian M., 2023). Важное значение борьбе с заболеваниями играют клетки иммунной защиты, а также Антиген-1, который не принимает участия в непосредственном уничтожении микроорганизмов, но способствует их распознаванию и последующей нейтрализации (Ivanova J.V., 2024; Gramatiuk S.N., 2023).

Для проведения исследования было отобрано 44 самца белых лабораторных мышей в возрасте 60 дней, весом 60 ± 5 г. Все животные были разделены на три группы: первая (n=12) получала внутрибрюшинно физиологический раствор натрия хлорида, второй (n=16) вводили 0,09 мг, третьей 0,18 мг раствора диклофенака натрия из расчета 1,5 мг/кг и 3,0 мг/кг соответственно. Подсчет лимфоцитов проводился при помощи методики иммуно-магнитной сепарации, показатели Антигена-1 исследовали при помощи диагностических планшетов.

Во второй группе наблюдали снижение количественных показателей лимфоцитов на 24,6%. Концентрация Антигена-1 в гомогенате костного мозга достоверно увеличился на 49% что может стать причиной предполагать компенсаторную реакцию различных звеньев иммунитета.

Повышение дозы диклофенака натрия у животных третьей группы привело к снижению показателей лимфоцитов на 60%. Концентрация Антигена-1 возросла на 18,2%, что дает представление о блокировке факторов, которые способствуют дифференцировке лимфоцитов и о развитии токсичности.

Установлена четкая зависимость между дозой вводимого диклофенака натрия и количественных показателей лимфоцитов и концентрации Антигена-1 в плазме крови. Применение максимальной дозы диклофенака натрия приводит к снижению иммунитета и общей сопротивляемости организма.

Исследование роли компонентов сложных биологических систем в реализации простейших логических функций на основе механизма молекулярной коммутации

А.В. Литвиненко *¹, П.К. Сазонов¹, А.П. Фитэль¹, М.А. Жилиева¹, М.П. Никитин^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия;

² Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия

* aleksandra.litvinenko.2001@gmail.com

Биокомпьютинг – биологическое направление, которое использует макромолекулы, такие как белки и нуклеиновые кислоты, для реализации сложных математических вычислений (Benenson, Y., Nat. Rev. Genet., 2012). Классические вычислительные системы на основе ДНК и РНК традиционно базировались на принципе комплементарности цепей, однако в 2023 году была опубликована работа, в которой был показан новый принцип хранения и передачи информации. Этот механизм, получивший название молекулярной коммутации (МК), открыл возможность для создания новой архитектуры биологических вычислительных систем за счет обратимых взаимодействий некомплементарных нуклеиновых кислот. В работе механизм был применен для реализации как базовых логических функций булевой алгебры, так и для более сложных вычислений (Nikitin, M.P., Nat. Chem., 2023).

В рамках данного исследования мы изучили потенциал использования компонентов сложных биологических систем в роли естественных молекулярных входов для реализации простейших логических функций на основе механизмов МК. Полученные результаты представляют потенциальный интерес для биомедицинских исследований. Предложенные системы могут служить в качестве модели для построения интерфейсов распознавания тканеспецифичных эндогенных сигналов. Последующая реализация таких интерфейсов на поверхности наночастиц может открыть новые возможности для адресной доставки терапевтических средств, включая противоопухолевые препараты. В более широком контексте генетических технологий данное направление может быть интегрировано с методами редактирования генов, что позволит создавать интеллектуальные системы персонализированной диагностики и терапии.

Отдельные части данного исследования были поддержаны Министерством науки и высшего образования РФ соглашение 075-03-2025-662, проект FS² G-2023-0017.

Генетические технологии в ксенотрансплантологии: подходы к получению генетически модифицированных свиней

И.С. Литвинова *¹, А.Е. Зубкова¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

* litvinova_i_s@staff.sechenov.ru

Острая нехватка донорских органов – одна из серьёзных проблем медицины. Большинство пациентов не дожидаются своего донора. Ксенотрансплантация свиных органов является перспективным направлением для решения проблемы дефицита аллотрансплантатов. Свиньи обладают анатомо-физиологическим сходством с человеком, коротким репродуктивным циклом и относительно низким риском передачи зоонозных инфекций. Основная проблема ксенотрансплантации – иммунная несовместимость тканей человека и свиньи, что требует генетической модификации доноров.

Для создания линий свиней, пригодных для ксенотрансплантации, необходимо внесение ряда генетических модификаций. Нокаут генов, ответственных за синтез антигенов α -Gal, Neu5Gc и Sd(a), позволяет снизить риск острого отторжения ксенотрансплантата. Для контроля активности системы комплемента, воспалительных реакций, фагоцитоза и гемостаза в геном свиньи встраивают гены человека, такие как CD46, CD55, TNFAIP3, HMOX1, CD47, THBD и PROCN. Риск активации эндогенных ретровирусов свиньи (PERV) минимизируют путём делеции последовательности каталитического домена обратной транскриптазы. Необходимо инактивировать все копии PERV в геноме.

Для ксенотрансплантации используют породы миниатюрных свиней, что обеспечивает оптимальный размер органов для пересадки. Генетические модификации вносят в фибробласты с помощью CRISPR/Cas с последующим переносом ядер в яйцеклетки. Для получения доноров требуется несколько циклов редактирования генома потомства. Разрабатываются методы одновременной модификации нескольких генов, но генетически модифицированные свиньи, полученные таким способом, ещё не использовались для пересадки органов человеку.

Клинические примеры подтверждают возможность ксенотрансплантации. В США были выполнены операции по пересадке сердца и почек от генномодифицированных свиней; пациент с пересаженной почкой живёт уже более пяти месяцев. В Китае проводятся эксперименты по трансплантации свиных почек и печени. В России это направление пока находится на раннем этапе из-за отсутствия правовой базы и требует поддержки государства. Хотя современные подходы позволяют получать свиней с множественными модификациями для ксенотрансплантации, дальнейшее развитие этой области потребует законодательного регулирования и тесного сотрудничества науки и системы здравоохранения.

Данная работа была поддержана программой академического лидерства «Приоритет 2030», реализуемой ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

Анализ экспрессии микроРНК в тканях мозга мышей с токсической моделью болезни Паркинсона после интраназальной терапии экзосомами разного происхождения

М.В. Лукашевич^{*1}, М.М. Руденок¹, И.Н. Рыболовлев¹, Е.И. Семенова¹, С.А. Партевян¹,
М.Г. Ратушняк¹, Е.Ю. Москалева¹, А.Х. Алиева¹

¹ Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт", Москва,
Россия

** farouki@mail.ru*

Болезнь Паркинсона (БП) характеризуется неуклонно прогрессирующей гибелью дофаминергических нейронов. Одним из ключевых механизмов развития БП является нарушение везикулярного транспорта, который играет критическую роль в поддержании нормального функционирования нейронов. В настоящий момент особое внимание уделяется экзосомам — нановезикулам, способным доставлять биологически активные молекулы в клетки мозга. Интраназальное введение экзосом позволяет эффективно преодолевать гематоэнцефалический барьер и влиять на ключевые патогенетические процессы, что может являться эффективной нейропротекторной стратегией. Однако механизмы влияния экзосом на клетки-реципиенты пока недостаточно изучены и, предположительно, их действие может быть связано с содержащимися в них микроРНК.

Исследование экспрессионного паттерна микроРНК в норме и патологии является перспективным направлением для таргетной терапии и ранней диагностики хронических заболеваний, в том числе БП.

В данной работе исследованы изменения экспрессионного профиля микроРНК 125a-5p, 125b-5p, 124-3p, 135b-5p, 205-5p в образцах черной субстанции и стриатума головного мозга мышей с паркинсон-подобным фенотипом. Моделирование осуществлялось с использованием 4-кратного подкожного введения нейротоксина МФТП с интервалом два часа в дозе 12 мг/кг трем экспериментальным группам животных. Двум группам дополнительно проводили курсовое интраназальное введение экзосом, выделенных из нейральных и мезенхимальных стволовых клеток. Вывод животных из эксперимента проводился через две недели после последней инъекции МФТП.

Анализ экспрессионного профиля микроРНК проводился методом ПЦР в реальном времени с технологией TaqMan. Полученные данные позволили уточнить роль исследуемых нами микроРНК в тканях, наиболее подверженных дегенерации при БП, а также лучше понять влияние введения экзосом различного происхождения на патогенез ранних этапов паркинсон-подобного фенотипа.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-25-00073, <https://rscf.ru/project/25-25-00073/>.

Мониторинг концентрации циркулирующей опухолевой днк как инструмент персонализированного подхода к лечению тройного негативного рака молочной железы

П.С. Мазина*¹, Т.М. Заварыкина^{1,2}, И.В. Пронина¹, О.А. Розонова³, А.А. Московцев⁴, Д.М. Зайченко⁴, Д.С. Ходырев¹, М.Б. Стенина³, С.В. Хохлова²

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Москва, Россия;

² Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, Москва, Россия;

³ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва, Россия;

⁴ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия

* *mazina-polina@bk.ru*

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенным видом рака среди женщин во всем мире. Наиболее агрессивный подтип РМЖ - тройной негативный вариант (ТНРМЖ) характеризуется отсутствием хорошо известных мишеней для таргетной и гормонотерапии, поэтому химиотерапия остается основным методом лечения. Достижение полного лечебного патоморфоза (pCR) является важным прогностическим фактором для таких пациентов, что связано с повышением общей выживаемости и безрецидивного периода. Для оценки эффективности неoadъювантного лечения (НАХТ) наиболее чувствительным методом может служить анализ циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК), характеризующейся наличием генетических изменений, идентичных тем, которые содержит опухолевая ткань. Использование цоДНК может иметь важное значение для персонализации лечения, коррелируя с ответом на терапию и динамикой опухолевого процесса в реальном времени.

Цель исследования – мониторинг концентрации цоДНК в процессе НАХТ у больных ТНРМЖ, сопоставление полученных результатов с выраженностью лекарственного патоморфоза опухоли.

У пациенток II-III стадии ТНРМЖ была собрана опухолевая ткань и цельная кровь до начала лечения, а также плазма крови на различных этапах лечения: до начала (T0), перед вторым (T1) курсом 1 блока (доксорубицин + циклофосфамид) НАХТ, перед 2 блоком (паклитаксел + карбоплатин) НАХТ (T2), после завершения НАХТ перед операцией (T3) и после операции (T4). Для парных образцов ДНК опухолевой ткани и крови было проведено полноэкзомное секвенирование, биоинформатический анализ для отбора соматических мутаций. Проводилась цифровая ПЦР для оценки уровня цоДНК (отобранных мутаций) с образцами внеклеточной ДНК, выделенной из плазмы крови.

Были определены уровни цоДНК у пациенток с ТНРМЖ в динамике и собраны клинические данные о степени патоморфоза опухоли после НАХТ. У пациенток, достигших pCR (RCB0), отмечено снижение уровня цоДНК к точкам T2 и T3, в некоторых случаях с резким подъемом концентрации на первых этапах лечения в точке T1. У пациенток, для которых не выявлено pCR, наблюдались отличия в динамике: уровень цоДНК поднимался в точках T2-T3. В случае наличия выраженной остаточной опухоли (RCBIII) количество цоДНК в точке T4 был существенно выше, чем в T0. >>

Динамика уровня цоДНК у пациенток с ТНРМЖ в процессе лечения была сопоставлена с выраженностью лекарственного патоморфоза опухоли. Выявлено, что наиболее информативным временным интервалом для количественного анализа цоДНК представляется T2-T3.

Анализ роли системы репарации в контексте сигнального пути PARP1 в развитии фенотипа болезни Хантингтона в дифференцированных из ИПСК пациентов нейрональных производных

В.С. Макеева*¹, А.А. Малахова¹

¹ Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

* vladamakkeeva@gmail.com

Болезнь Хантингтона происходит из группы орфанных нейродегенеративных заболеваний и причиной ее является увеличение тракта CAG повторов, кодирующих полиглутаминовый тракт (PolyQ), в первом экзоне гена HTT (>36) и синтезу мутантной формы белка хантингтина (mHTT). Наиболее подвержены влиянию mHTT срединные шипиковые нейроны стриатума, что отражается на двигательных и когнитивных функциях пациентов.

Первые признаки болезни появляются как правило в зрелом возрасте, около 60 лет, однако есть и ювенильные формы болезни. При этом более раннее проявление заболевания сопровождается более резким ее развитием и выраженностью симптомов. Согласно результатам недавних работ, возраст проявления болезни зависит от соматической экспансии CAG. Для более раннего выражения патологического фенотипа у пациента необходимо более 150 CAG повторов. Предполагается, что аномально увеличенный тракт (>36) CAG является индуктором накопления еще большего числа повторов. Однако mHTT и с числом повторов polyQ ниже критического уровня способен нарушить ряд ключевых молекулярных процессов в клетках, строя предпосылки для запуска финальных стадий патогенеза еще на ранних стадиях эмбриогенеза.

Механизм экспансии повторов и его роль в определении времени начала проявления симптомов еще мало изучен. mHTT непосредственно вовлечен в нарушение работы системы репарации – так, данный белок имеет PAR-связывающий домен и связывается как с белками-мишенями фермента репарации PARP1, так и с ним самим. Помимо прямого взаимодействия mHTT, будучи вовлеченным в норме в процессы регуляции транскрипции, может опосредовать нарушения поддержания стабильности ДНК: так, известно о снижении уровня экспрессии генов репарации APEX1, BRCA1, RPA1, RPA3.

В нашей работе изучили изменения в работе системы репарации под влиянием mHTT путем оценки целостности ДНК с помощью анализа комет, экспрессии генов, связанных с несколькими путями репарации, а также более подробно проанализировали влияние PARP1 на патогенез. Показано, что ингибиторы PARP1 сдерживают развитие симптомов на мышинной модели БХ, поэтому мы протестировали влияние ингибиторов PARP1 Niraparib и Rucaparib на дифференцированных из ИПСК пациентов (с 46 и 77 CAG) культурах нейрональных производных: проанализировали влияние разных доз ингибитора на целостность ДНК (анализ комет) и на жизнеспособность клеток (RTCA xCelligence), измерили уровень экспрессии специфических маркеров БХ (в т.ч. стресса ЭПР).

Работа поддержана грантом РФФ № 23-15-00224.

Разработка и апробация генетических конструкций для синтеза β -дефензина человека 1 в эукариотических клетках HEK-293T

М.П. Маркина^{*1}, О.О. Клычкова¹, А.А. Ли¹, Д.А. Каширских¹, В.А. Хотина¹, В. Гасанов¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *mmarkina46@gmail.com*

Антибиотикорезистентность признана ВОЗ одной из ключевых угроз здравоохранению. Антимикробные пептиды (АМП) рассматриваются как альтернатива антибиотикам благодаря мембранотропному механизму действия, затрудняющему развитие устойчивости. β -дефензин человека 1 (hBD1), экспрессируемый эпителиальными клетками, обладает высокой антимикробной активностью и сохраняет функциональность после протеолиза, однако его использование ограничено высокой стоимостью химического синтеза. Цель данной работы состояла в получении эукариотических клеток, экспрессирующих hBD1, как платформы для создания новых терапевтических агентов.

Плазмиды pHBD1-Out и pHBD1RFP-Out были сконструированы на основе вектора pcDNA3.1(+) с CMV-промотором. Векторы собирались стандартными методами молекулярного клонирования, нарабатывались в *E. coli* (XL1-Blue), выделялись с помощью коммерческого набора и верифицировались путем рестрикционного анализа. Для экспрессии пептида в клетках эукариот использовали клеточную линию HEK-293T, трансфецированные с использованием реагента для липофекции GenJect-39. Эффективность трансфекции оценивали через 48 ч с использованием флуоресцентного клеточного анализатора клеток с визуализацией путем флуоресцентной микроскопии. Детекция экспрессии hBD1 осуществлялась с помощью ВЭЖХ и электрофореза в ПААГ. Антимикробная активность против *E. coli* оценивалась методом диффузии в агар.

Были сконструированы плазмиды pHBD1-Out, содержащая последовательность гена hBD1 и сигнальный пептид SRP9 для внеклеточной экспрессии, и pHBD1RFP-Out с дополнительным самовырезающимся пептидом A2P и маркером RFP. Эффективность трансфекции составляла $8,6 \pm 1,8\%$. Пептид hBD1 детектировался в лизатах и супернатантах клеток (для pHBD1-Out 32,7 и 4,2 нг/мл, для pHBD1RFP-Out 27,5 и 4,6 нг/мл, соответственно), что подтверждалось электрофорезом в ПААГ. Лизаты трансфецированных клеток демонстрировали выраженную антимикробную активность: зоны ингибирования роста *E. coli* были сопоставимы с ампициллином (50 мг/мл). Супернатанты также обладали ингибирующим эффектом, однако менее выраженным по сравнению с таковыми от лизатов клеток.

Таким образом, разработанные плазмидные конструкции обеспечивают экспрессию hBD1 в клетках HEK-293T. Полученный пептид проявил сопоставимую с антибиотиком активность, что подтверждает перспективность создания клеточных продуктов, экспрессирующих hBD1, для терапии острых бактериальных инфекций.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение № 0088-2025-0004).

Использование машинного обучения для прогнозирования и редактирования физических свойств рекомбинантного паутиного шелка с помощью генной инженерии

А.А. Мохамед*¹, Н. Диб¹, А.П. Апрелькова¹

¹ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

* abbass@itmo.ru

Паучий шёлк известен своими исключительными механическими свойствами – высокой прочностью, растяжимостью и вязкостью, что делает его ценным биоматериалом для медицины и материаловедения. Эти свойства обусловлены белками спidroинами, кодируемыми определёнными генами. Однако масштабное производство натурального шёлка невозможно, поэтому ведутся работы по получению синтетического паучьего шёлка методом рекомбинантной ДНК в бактериях, дрожжах и растениях.

Механические свойства волокон напрямую связаны с аминокислотными последовательностями спidroинов и организмом-хозяином, в котором они экспрессируются. Генетическая модификация спidroиновых генов позволяет создавать волокна с заданными характеристиками. Тем не менее, сложная взаимосвязь между генетическим кодом и свойствами волокна затрудняет прогнозирование, что требует системного подхода для разработки шёлка с нужными свойствами.

Цель исследования – создать машинно-обучающуюся систему, способную предсказывать физические свойства волокон на основе генетических последовательностей и организма-хозяина. Планируется собрать и проанализировать обширную базу данных, включающую свойства белковых волокон и соответствующие генетические данные, чтобы выявить закономерности между конструкциями генов и механикой волокон.

Методика работы включает три этапа: 1) Сбор данных – генетические последовательности спidroинов, виды хозяев и параметры волокон (прочность, эластичность, вязкость). 2) Создание моделей машинного обучения – обучение на этих данных с применением нейросетей, деревьев решений и других методов для точного прогнозирования свойств. 3) Экспериментальная проверка – синтез и тестирование волокон с генетическими изменениями, рекомендованными моделью, а также моделирование 3D-структур белков с AlphaFold2 для понимания влияния на характеристики.

Задача – разработать надёжный и масштабируемый инструмент для точного прогнозирования и конструирования паучьих волокон с заданными механическими свойствами. Такое междисциплинарное исследование на стыке генетики, материаловедения и искусственного интеллекта способствует развитию синтетической биологии и созданию новых биоматериалов с уникальными применениями.

Эмбриогенез сети семенника мыши: вклад клеток Сертоли

В.В. Мун^{*1}, А.Ю. Кулибин¹, Е.А. Малолина¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

^{*} *valeriy.vl.mun@mail.ru*

Сеть семенника (СС) - первый отдел выносящей системы яичка. Она соединяет между собой 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. При этом её эмбриональное происхождение остаётся дискуссионным. Ряд работ демонстрирует общее происхождение эпителия СС и КС из целомического эпителия. Далее СС располагается на границе между гонадой и мезонефросом. (Omotehara et al., 2020; Mayère et al., 2022). При этом, в области, прилегающей к семенным тяжам СС экспрессирует как собственные маркеры, так и КС (Kulibin, Malolina, 2020; Mayère et al., 2022), что подтверждает идею о частичном происхождении КС из СС.

Целью настоящей работы было установить происхождение и механизмы развития СС мыши.

На стадии E12.5 (фаза, когда популяция клеток СС уже сформировалась, но продолжает активно расти) мы формировали химерные органоиды из «семенной» половины (гонада без СС) и «мезонефрической» половины (мезонефрос без КС, GFP+) и культивировали их 72 ч на агаровом блоке. Pax8⁺ клетки (маркер СС) возникали исключительно в «семенной» части, там же обнаруживались клетки с двойным фенотипом Amh⁺/Pax8⁺, что указывает на вклад линии КС в формирование эпителия СС.

Для сопоставления с экспериментальными данными мы использовали scRNA секвенирование эмбриональных семенников из (Mayère et al., 2022). Анализ RNA-velocity выявил траектории дифференцировки от КС к СС на стадиях E11.5–E13.5. Кроме того, по ИГХ окраске на Ki-67 установлено, что доля пролиферирующих клеток СС составляет $5,5 \pm 0,4$ % на E12.5 и $7,3 \pm 0,8$ % на E13.5, а численность клеток СС возрастает с 2250 ± 60 (E12.5) до 4251 ± 127 (E14.5). Даже если предположить, что каждая Ki-67⁺ клетка СС в этот период делится каждые 12 часов, этого недостаточно, чтобы объяснить наблюдаемый прирост популяции без притока извне. Анализ межклеточных взаимодействий в CellChat по тем же данным показывает взаимодействие популяций КС и СС при помощи путей NOTCH, NCAM, FGF, BMP и Wnt4.

Полученные результаты подтверждают вклад КС в формирование эпителия СС и демонстрируют возможные сигнальные пути, регулирующие этот переход.

Генетическое моделирование соматического микроокружения для повышения эффективности созревания ооцитов человека *in vitro*

Д.А. Никишин^{*1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* d.nikishin@idbras.ru

Низкая эффективность созревания ооцитов человека *in vitro* является ключевым барьером в лечении тяжелых форм бесплодия, особенно при отсутствии у пациенток собственных зрелых ооцитов. Основным ограничением существующих протоколов является отсутствие адекватного соматического микроокружения, которое в естественных условиях обеспечивает поддержку и регуляцию оогенеза.

Одним из перспективных направлений решения данной проблемы является разработка и применение генетически модифицированных клеточных моделей для создания оптимальной микросреды, способствующей полноценному созреванию ооцитов человека *in vitro*, включая ранние стадии мейоза при их получении из стволовых клеток. В рамках данного подхода можно выделить два основных направления. Первое — применение технологии генного редактирования для получения поддерживающих клеток со свойствами, позволяющими с высокой эффективностью применять протокол созревания ооцитов *in vitro*. Перспективным вариантом является нокаут генов, кодирующих ингибирующие факторы роста (AMH, INHA), в клетках гранулезы яичника. Это позволит создать клеточную модель с повышенным потенциалом для поддержания созревания ооцитов. Второе направление — разработка протоколов направленной дифференцировки и ПСК в функциональные гранулеза-подобные клетки. Данный подход представляет собой перспективный источник аутологичных поддерживающих клеток для персонализированной терапии, позволяющий получить клетки, соответствующие разным стадиям фолликулогенеза. Разработанные модели могут применяться в системах сокультивирования с ППК-подобными клетками, полученными из иПСК.

Применение генетических технологий для моделирования соматической ниши яичника открывает новые возможности для фундаментальных исследований механизмов оогенеза и разработки инновационных подходов к лечению бесплодия. В частности, создание функциональных поддерживающих клеток позволит преодолеть барьер мейотической остановки ППК-подобных клеток *in vitro*, что является критическим шагом на пути к получению зрелых гамет из стволовых клеток и может стать основой для терапии абсолютного женского бесплодия.

Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение № 075-15-2025-464 от 29.05.2025 г.).

Влияние вертепорфина *in vivo* на эпителиальный состав клеток легких мыши

Ю.А. Новикова*¹, И.А. Говорова¹, С.Ю. Никиточкина¹, А.О. Гайдамака¹, С.М. Румянцева¹, А.А. Воложинская¹, Е.А. Воротеляк^{1,2}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* yula1308@mail.ru

Hippo сигнальный путь и его фактор транскрипции YAP играют важную роль в процессах морфогенеза, гомеостаза, регенерации и дифференцировки клеток легких млекопитающих. Вертепорфин (ВТП) используется в фармакологии и действует как ингибитор взаимодействия YAP с семейством транскрипционных факторов TEAD, блокируя активацию транскрипции генов-мишеней YAP-TEAD. Известно, что в период эмбриогенеза в клетках легкого мыши в зависимости от изменения локализации YAP в клетке, ядерной или цитоплазматической, происходят изменения в соотношении типов эпителиальных клеток, в частности, реснитчатого эпителия, бокаловидных и базальных клеток, альвеолоцитов. Однако, не до конца изучен эффект воздействия ВТП на соотношение этих типов клеток в легких взрослой мыши *in vivo*.

Целью данной работы было исследовать влияние фармакологического ингибирования YAP на эпителий в клетках легкого здоровой мыши путем введения различных доз ВТП.

В работе были использованы половозрелые самки мышей линии C57Bl/6. ВТП вводили внутрибрюшинно в 3-х различных концентрациях (2 мг/кг, 5 мг/кг и 10 мг/кг веса мыши, контроль – DMSO) дважды, с интервалом 24 часа. Далее легкие перфузировали раствором DPBS и извлекали стандартным методом, после чего оценивали экспрессию маркерных генов эпителиальных клеток легких, специфических генов пролиферативной активности и Hippo пути с помощью ПЦР анализа. Количественное соотношение типов эпителиальных клеток оценивали с помощью иммуногистохимического (ИГХ) анализа криосрезов долей легкого.

Было показано, что с увеличением концентрации вводимого ВТП до 5 мг/кг происходит снижение количества клеток, содержащих ядерно локализованный YAP (DMSO : 2 мг/кг : 5 мг/кг : 10 мг/кг = 28% : 14% : 12% : 17%). Отмечено снижение доли ki67+ клеток, также снижается экспрессия генов пролиферации ki67, CyclinD1, CCN1, CCN2, и генов YAP и TAZ. ИГХ анализ выявил изменение в соотношении различных типов эпителия легких при воздействии ВТП *in vivo* на организм животного.

Таким образом, концентрация ВТП 5 мг/кг веса мыши является рабочей, но не максимальной концентрацией, после введения которой происходит переход YAP из ядра в цитоплазму, изменяется доля пролиферирующих клеток, а также клеток эпителия легкого мыши *in vivo*.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 21-74-30015-П.

Гистатины как кандидаты для антимикробных препаратов: разработка кассетной системы экспрессии рекомбинантного гистатина 5в *E. coli*

В.С. Новикова*¹, О.О. Клычкова², А.А. Ли², Д.А. Каширских², В.А. Хотина², В. Гасанов²

¹ Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* Reddkk@bk.ru

Устойчивость патогенных микроорганизмов к антибиотикам остается одной из ключевых проблем медицины, требующей разработки альтернативных антимикробных агентов. Антимикробные пептиды, продуцируемые организмами различных таксонов, обладают широким спектром действия и высокой селективностью, что делает их перспективными кандидатами для терапии инфекционных заболеваний. Особый интерес вызывают гистатины — гистидинсодержащие пептиды, синтезируемые в слюнных железах человека. Они обладают выраженной фунгицидной и бактериостатической активностью, а также способностью к заживлению ран и модуляции воспаления. Ввиду сложности химического синтеза пептидов, их получение в рекомбинантной форме приобретает особую актуальность. Настоящая работа направлена на биотехнологическое получение гистатина 5 (Hst5), включая создание кассетных форм с повышенной экспрессией в прокариотической системе.

Плазмидные векторы были сконструированы на основе pET30(a), собраны стандартными методами молекулярного клонирования и верифицированы рестрикционным анализом. Нарботку векторов проводили в *E. coli* (XL1-Blue). Плазмидную ДНК выделяли путем щелочного лизиса с фенол-хлороформной экстракцией и очисткой от РНК. Экспрессию пептидов проводили в *E. coli* (BL21(DE3)) с индукцией IPTG. Наличие пептида проверяли с помощью электрофореза в ПААГ. Белки очищали с помощью ионообменной хроматографии. Гидролиз кассетного пептида проводили с помощью бромциана (BrCN). Концентрацию пептида определяли методом Брэдфорда. Антимикробную активность пептида оценивали по зонам ингибирования роста бактерий. Получены генетические конструкции pH5 и p10xH5, кодирующие мономерную и кассетную формы Hst5. Были оптимизированы условия индукции экспрессии рекомбинантных Hst5 (200 мкМ IPTG, 90 мин), а также условия очистки на катионообменном сорбенте SP-Sepharose (элюирование пептидов наблюдали в диапазоне 170–290 мМ NaCl). После гидролиза с BrCN кассетной формы, были получены мономеры Hst5 в концентрации 280,7 мкг/мл. Диаметр зоны ингибирования роста бактерий при применении Hst5 составил 21,23 мм, что сопоставимо с действием ампициллина (50 мкг/мл).

Полученные результаты демонстрируют возможность получения функционально активных гистатинов в бактериальной системе экспрессии и открывают перспективы их использования в составе новых антимикробных препаратов в условиях растущей устойчивости патогенов к традиционным антибиотикам. Разработанный подход может быть адаптирован для производства других антимикробных пептидов, что расширяет потенциал применения генной инженерии в биомедицине. >>

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (Соглашение № 075-15-2025-464 от 29.05.2025 г).

Стендовый доклад

Модель преждевременного старения на основе клеток пациента с синдромом Видемана-Раутенштрауха

Е.А. Орлова^{*1}, В.К. Абдыев¹, В.В. Моргунова¹, А.А. Щукина¹, А.И. Калмыкова¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

^{*} *evgeniia.orlova.msu@gmail.com*

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК), полученные в результате репрограммирования соматических клеток пациентов с синдромами преждевременного старения, представляют собой современную модель для изучения фундаментальных механизмов старения. При репрограммировании происходит стирание прогероидных признаков, обновление клеток, а дифференцировка иПСК позволяет проследить инициацию и развитие клеточных и молекулярных проявлений признаков старения. Процесс ускоренного старения наиболее подробно изучен для прогерии Хатчинсон-Гилфорда (HGPS), вызванной мутацией в гене LMNA. Репрограммирование клеток HGPS приводит к их обновлению за счет снижения экспрессии мутантного ламина А, прогерина. Неонатальный прогероидный синдром Видемана-Раутенштрауха (WRS) отличается наиболее ранним появлением признаков преждевременного старения и вызван компаунд-гетерозиготной мутацией в гене POLR3A, кодирующем каталитическую субъединицу РНК-полимеразы III, которая принимает участие в регуляции продолжительности жизни модельных животных. В результате применения неинтегративного метода репрограммирования нами были получены иПСК из фибробластов пациентов с HGPS и WRS. Патогенные мутации, ассоциированные с генами данных синдромов, не влияли на процесс репрограммирования и поддержания плюрипотентности полученных линий иПСК. Наряду с этим иПСК WRS и HGPS продемонстрировали разную степень проявления мутантного фенотипа. В первую очередь это связано с тем, что экспрессия POLR3A в иПСК, в отличие от ламина А, повышается, в результате чего не происходит обновления прогероидных клеток при репрограммировании. иПСК WRS демонстрируют высокий уровень геномной нестабильности и неэффективное удлинение теломер. Сверхэкспрессия мутантной формы POLR3A в иПСК пациентов с WRS приводит к аномалиям структуры ядрышка и нарушению биогенеза теломеразной РНК (TERC), вызывая задержку TERC в ядрышках. Таким образом, линия иПСК из клеток пациентов с WRS может стать важной моделью для разработки новых подходов в лечении, направленного на предотвращение преждевременного старения стволовых клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства высшего образования и науки РФ, Соглашение № 075-15-2024-539 от 24 апреля 2024 г.

Скрининг мутаций в генах SDHx методом mPCR-TAS

В.С. Павлов^{*1}, М.С. Федорова¹, Т.С. Эльнукаев¹, А.В. Снежкина¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

^{*} vladislav1pavlov@gmail.com

Параганглиомы головы и шеи (ПГШ) являются редкими опухолями и составляют 0,03% от всех новообразований человека. ПГШ часто ассоциированы с наследственными мутациями в генах SDHx (SDHA, SDHB, SDHC и SDHD), которые связаны с повышенным риском развития мультифокальных, метастатических и синдромальных опухолей. Идентификация спектра мутаций в генах SDHx необходима для понимания механизмов канцерогенеза, а также диагностики пациентов и оценки прогноза течения заболевания.

Для генетического скрининга SDHx мутаций адаптирован метод целевого секвенирования ампликонов с использованием мультиплексной ПЦР (multiplex PCR and targeting amplicon sequencing, mPCR-TAS). Дизайн праймеров для мультиплексной ПЦР осуществлялся с помощью программы NGS-PrimerPlex; оптимизация условий для постановки реакций выполнялась с использованием MULTIPLEX TCR PCR Mix (Майлаборатори, Россия). Для баркодирования образцов проводили второй этап ПЦР с последующей очисткой ампликонов на магнитных частицах. Секвенирование готовых библиотек выполнено на приборе MiSeq System Illumina (США) в режиме парно-концевых прочтений 250x2. Обработка данных секвенирования включала оценку качества (FASTQC), обрезку и фильтрацию последовательностей (Trimmomatic), выравнивание на целевые участки референсного генома (GRCh37/hg19) с использованием BWA-MEM, процессинг BAM-файлов (Samtools и Picard-tools), поиск генетических вариантов несколькими коллерами (HaplotypeCaller GATK, Freebayes, Strelka2 и VarDict) и аннотацию вариантов (ANNOVAR).

Мутации в генах SDHx выявлены у 59 из 275 исследованных пациентов с ПГШ. Идентифицировано 32 различных патогенных/вероятно патогенных варианта. Среди вариантов преобладали несинонимичные однонуклеотидные замены (56%), также обнаружены сдвиги рамки считывания (12.5%), нонсенс мутации (12.5%) и варианты сайта сплайсинга (19%). Полученные результаты подтверждают высокую частоту SDHx-ассоциированных ПГШ. Метод mPCR-TAS продемонстрировал экономичность и эффективность для детекции мутаций в генах SDHx.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 24-14-00439. Экспериментальная работа выполнена на оборудовании ЦКП "Геном" ИМБ РАН (https://www.eimb.ru/ru1/ckp/ccu_genome_c.php).

Поиск новых генов, задействованных в регуляции митофагии

Е.М. Плешко^{*1,2}, Д.Д. Бородко²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² ООО «НИИ атеросклероза», Москва, Россия

* *lizapleshko@yandex.ru*

Митофагия - это избирательная деградация поврежденных митохондрий. Нарушения митофагии могут приводить к ряду воспалительных заболеваний, включая атеросклероз. Целью нашего исследования было выявить гены, связанные с дефектной митофагией, чтобы обнаружить новые мишени для лечения атеросклероза.

Мы получили 13 гибридных клеточных линий путем слияния р0 ТНР-1 с тромбоцитами пациентов с атеросклерозом и определили уровень митофагии с помощью стимуляции FCCP. В соответствии с этими результатами мы разделили клеточные линии на две группы: с нормальной и дефектной митофагией. Мы провели транскриптомный анализ полученных клеточных линий в трех биологических повторностях. Мы проанализировали качество считываний с помощью FastQC (0.12.1) и сопоставили считывания со сборкой генома человека GRCh38 с аннотацией Ensembl, используя STAR (2.7.0a). Для анализа дифференциальной экспрессии генов мы использовали пакет DESeq2 (1.12.3). Мы выполнили анализ взвешенных сетей коэкспрессии генов с использованием пакетов на языке R.

Мы идентифицировали 153 гена, регуляция которых снижена при нарушенной митофагии по сравнению с нормальной. Ни один из генов не был активирован. Мы определили модуль, состоящий из 98 генов, который демонстрирует хорошую корреляцию с уровнем митофагии. Клеточные линии с дефектной митофагией имеют отрицательную корреляцию с этим модулем, а большинство клеточных линий с нормальной митофагией - положительную. Выбранный модуль включает 18 генов, чья экспрессия понизилась в клеточных линиях с дефектной митофагией. Вершиной, имеющей наибольшую степень, является ген PITPNC1 (цитоплазматический белок-переносчик фосфатидилинозитола 1). Этот белок играет важную роль во многих процессах, включая передачу сигналов клетками и метаболизм липидов, способствуя переносу фосфатидилинозита между мембранными компартментами. Известно также, что он предотвращает аутофагию по пути mTOR. Мы предполагаем, что PITPNC1 может участвовать в контроле митофагии, но для уточнения его роли необходимы дополнительные исследования.

Мы определили модуль генов, который наилучшим образом коррелирует с уровнем митофагии, и выбрали гены из этого модуля, экспрессия которых подавляется в условиях дефектной митофагии. Ген PITPNC1 является вершиной с наибольшей степенью. Он является новым предполагаемым регулятором митофагии и перспективной мишенью для лечения воспалительных заболеваний.

Работа поддержана грантом РФФ №25-25-00364.

Гендерные аспекты влияния длины CAG-повторов гена AR на физическую агрессию: роль X-хромосомного мозаицизма и инактивации

П.А. Прошаков*¹, О.Е. Лазебный¹, А.М. Куликов¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *ub3dco@gmail.com*

Современная наука активно изучает генетические механизмы формирования поведенческих реакций, включая агрессивное поведение. Один из ключевых факторов – длина повторов CAG в гене андрогенового рецептора (AR). Известно, что вариабельность длины CAG-повторов влияет на экспрессию гена AR, что связано с различными фенотипическими проявлениями, в том числе с физической агрессией. Однако большинство ассоциативных исследований по изучению физической агрессии проводилось преимущественно среди мужского населения, оставляя вопросы относительно роли X-хромосомного мозаицизма и X-хромосомной инактивации у женщин практически неизученными.

Настоящее исследование направлено на изучение связи между длиной CAG-повторов гена AR и уровнями физической агрессии с учётом специфики мужской и женской выборок. Важным аспектом является оценка влияния разности в длине CAG-повторов на показатели физической агрессии отдельно у мужчин и женщин. Выборка состояла из представителей армянского этноса, включавшего 69 мужчин и 112 женщин. Для оценки уровней физической агрессии использовался опросник Басса-Перри, позволяющий измерить различные компоненты агрессивного поведения.

Для анализа длины CAG-повторов был использован метод фрагментного анализа на капиллярном секвенаторе. Полученные генотипические данные подверглись статистическому анализу, включавшему: 1) Корреляционный анализ по Пирсону, Кендаллу и Спирмену. 2) Дисперсионный анализ ANOVA.

У мужчин обнаружена чёткая негативная корреляция между длиной CAG-повторов и показателями физической агрессии (Pearson's $r = -0.26$, $p = 0.032$).

При анализе женской выборки выявлены значительные индивидуальные различия в уровнях агрессии, связанные с X-хромосомным мозаицизмом. У гетерозиготных женщин наименьшие показатели агрессивного поведения наблюдались при больших различиях в длине аллелей CAG-повторов.

Полученные результаты подтверждают важную роль длины CAG-повторов гена AR в детерминации физического агрессивного поведения. При этом следует отметить существенные гендерные различия в характере взаимосвязей между длиной CAG-повторов и агрессией. Поскольку мужчины являются гемизиготными носителями гена AR, влияние числа повторов у них носит линейный характер. Женщины, напротив, демонстрируют гораздо большую индивидуальную вариативность, обусловленную особенностями инактивации и мозаичной природы экспрессии X-хромосомы.

Выявленные закономерности могут быть использованы для понимания молекулярных основ поведенческих различий между полами.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-28-00990.

Эпигенетическое репрограммирование генов рибосомных РНК со вставками мобильных генетических элементов на фоне стрессовых состояний

Л.А. Ревякина*¹, А.А. Акишина¹, А.С. Шацких¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *gigliolaverde@yandex.ru*

Потребность в синтезе белка и рибосомах зависит от условий среды, типа клетки и стадии развития. Гены рибосомных РНК (рРНК) организованы в кластеры из множества повторов, часть которых эпигенетически инактивирована с целью регуляции синтеза рРНК и инактивации дефектных генов. Нарушения экспрессии рРНК ассоциированы со множеством патологий, таких как пороки развития, онкологические, нейродегенеративные заболевания, а также старение, поэтому изучение этих процессов имеет и фундаментальное и прикладное значение.

Мы изучали экспрессию генов рРНК со вставками транспозонов в стрессовых состояниях на модели *Drosophila*, удобной благодаря большому выбору генетических инструментов, мутаций и трансгенных конструкций. В норме изучаемые гены эпигенетически репрессированы за счет малоизученных механизмов, в число которых входит рРНК-сайленсинг.

Мы установили, что экспрессия генов рРНК с транспозонами постепенно возрастает после начала воздействия теплового стресса, достигая максимума к 5 часам. После стресса гены повторно репрессировались, т.е. эти эпигенетические изменения обратимы. Важно отметить, что экспрессия рРНК без вставок транспозонов, а также транспозонов вне генов рРНК, не возрастала, что говорит о специфическом механизме.

Поскольку белки теплового шока HSP70 могут связываться с кластерами рРНК при тепловом стрессе, мы предположили, что они играют роль в изучаемой дерепрессии. Однако мы показали, что делеция генов *hsp70* не приводит к изменению характера ответа генов рРНК на стресс, т.е. эти гены активируются отдельным механизмом.

Мы выяснили, что мутации в ключевом гене рРНК-пути *riwi* не приводят к существенному изменению эффекта теплового стресса на изучаемые гены, т.е. их реактивация реализуется не через снятие рРНК-сайленсинга.

Эффект теплового стресса был незначительным при мутациях в гене *udd*, приводящих к активации транскрипции генов рРНК с транспозонами, т.е. тепловой стресс не стабилизирует их транскрипты. На культуре клеток мы установили, что ингибирование транскрипции снижает экспрессию изучаемых генов в равной степени в норме и при тепловом стрессе, значит стресс влияет на транскрипцию, а не стабильность РНК.

Мы показали активацию генов рРНК с транспозонами при осмотическом стрессе, что говорит об универсальности их ответа на различные стрессовые состояния. Учитывая эволюционную консервативность изучаемых механизмов, дальнейшие исследования на нашей модели позволят лучше понять особенности экспрессии рРНК в различных патологических состояниях.

Выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2025 года № 0088-2024-0017.

Транскрибируемые регуляторные элементы генома в разрешении отдельных клеток

М.С. Сабиров *^{1,2}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center, Москва, Россия

* *m.sabirov@idbras.ru*

Метод секвенирования РНК отдельных клеток (single cell RNA sequencing, scRNA-seq) произвел революцию в изучении клеточного многообразия многоклеточных животных. Использование данного метода позволило в совершенно ином разрешении взглянуть на гетерогенность тканей и органов и выявить целый ряд новых, ранее не идентифицируемых клеточных суб-популяций на основе транскрипции специфичных генов - клеточных маркеров. Развитие вычислительных и аналитических инструментов для анализа scRNA-seq данных в настоящее время позволяет проверять гипотезы из самых разных областей биологии. Вариация scRNA-seq с длинным первым прочтением (5'-scRNA-seq) позволяет картировать сайты начала транскрипции и, таким образом, квантифицировать транскрибируемые цис-регуляторные элементы - активные промоторы с транскрибируемой РНК соответствующего им гена и активные энхансеры с соответствующей энхансероной РНК (эРНК). Исключительным преимуществом такого подхода является возможность проводить анализ активности генов и анализ активности регуляторных элементов из одних и тех же клеток, что значительно сокращает расходы на эксперименты.

На сегодняшний день существует два вычислительных подхода, которые позволяют получить информацию о транскрипции регуляторных элементов в отдельных клетках используя 5'-scRNA-seq данные: (1) SCAFE (Single Cell Analysis of Five-prime Ends) и (2) Reap-TEC (read-level pre-filtering and transcribed enhancer call). Два этих метода имеют как концептуальное, так и техническое отличия. В данной работе был произведен сравнительный анализ двух подходов, а также релевантность интерпретации результатов, полученных на 5'-scRNA-seq в сравнении с данными доступности хроматина в отдельных клетках (single cell assay for transposase-accessible chromatin by sequencing, scATAC-seq) в контексте изучения регуляторного ландшафта клетки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2025-464 от 29.05.2025.

Особенности аккуратной нормализации данных ПЦР-РВ у представителей типа Porifera

К.В. Скоренцева^{*1,2}, Н.П. Мельников^{1,2}, А.А. Саидова^{2,3}, А.И. Лавров^{1,2}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ Shenzhen MSU-BIT University, Шэньчжэнь, Китай

* skorentseva.ksenya.2016@post.bio.msu.ru

Количественная ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ, или RT-qPCR) – это точный, чувствительный и широко применяемый метод для оценки экспрессии генов. Однако его применение требует тщательной нормализации полученных данных, особенно при работе с немодельными организмами. Исследование таких организмов (например, представителей беспозвоночных) может быть осложнено: необходимо учитывать внутривидовую и сезонную изменчивость, ограничения в отношении получения материала, особенности содержания в лабораторных условиях и другие факторы.

Губки (тип Porifera) – сестринская к Eumetazoa группа многоклеточных животных, не обладающая мышечной и нервной тканями, но характеризующаяся высокой лабильностью эпителиальных тканей. Они являются перспективной моделью для области эволюционной биологии развития, представляя уникальные возможности для изучения тканевого гомеостаза, межклеточных взаимодействий в отсутствие нейрогуморальной регуляции и, в конечном итоге, выявления предпосылок происхождения многоклеточности.

В данной работе проведен анализ стабильности экспрессии семи широко используемых референтных генов для нормализации данных ПЦР-РВ: *CT1*, *R13*, *G2D2*, *RT1*, *RS3*, *TB* и *L1 N1*. Стабильность экспрессии оценивалась в ходе эксперимента индуцированной регенерации известковой морской губки *Leucosolenia corallorrhiza* и дополнительно валидировалась у трёх других видов: *Alisarca dujardinii*, *Ephydatia fluviatilis* и *Lycopodina hypogea*. Выбор этих видов обусловлен их широким экологическим и филогенетическим разнообразием: в исследование включены как известковые, так и обыкновенные губки, морские и пресноводные формы, фильтраторы и хищник.

Для оценки стабильности экспрессии были использованы четыре широко применяемых алгоритма: geNorm, NormFinder, BestKeeper и RefFinder. Кроме того, было протестировано влияние выбора референтного гена на количественную оценку экспрессии гена *R13*, ключевого регулятора актинового цитоскелета.

Ни один из протестированных генов не продемонстрировал универсальной стабильности во всех исследованных видах, что подчеркивает необходимость видоспецифической валидации. Также показано, что использование для нормализации нескольких референтных генов позволяет не только снизить вариабельность, но и избежать искажений в интерпретации биологически значимых процессов. Полученные результаты создают надежную методологическую основу для будущих молекулярных исследований губок, особенно в областях, связанных с регенерацией, нормальным развитием и взаимодействием с окружающей средой. >>

Работа поддержана грантами РНФ №23-74-10005 (работа на видах *Leucosolenia corallorrhiza* и *Alisarca dujardini*) и №24-14-00452 (работа на видах *Ephydatia fluviatilis* и *Lycopodina hypogea*).

Стендовый доклад

Изучение ранозаживляющей активности полиакрилата кобальта

М.С. Смирнова*¹, А.В. Хрестина¹, Т.Х. Нгуен¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

* smirnovams@vigg.ru

Нами был спроектирован и получен препарат, содержащий координационный комплекс иона кобальта (Co²⁺) с полиакриловой кислотой, обладающий выраженной бактерицидной и кровеостанавливающей активностью. В ходе тестирования гемостатических свойств полиакрилата кобальта было отмечено, что помимо своей основной активности препарат способствует заживлению ран и предотвращает их нагноение. В данном исследовании была поставлена цель подтвердить и количественно охарактеризовать ранозаживляющую активность. Проводилась оценка эффективности лечения, рассчитывая среднесуточную скорость уменьшения площади ран до тех пор, пока она не стала меньше 1 кв. мм. Кроме того, было проведено гистологические исследования ран на пятый, десятый и четырнадцатый день после нанесения, чтобы оценить такие параметры как воспалительная инфильтрация, неоваскуляризация, наличие фибриновых клеток и соотношение ретикулярных и коллагеновых волокон.

Острую токсичность препарата изучали, вводя полиакрилат кобальта мышам внутривенно. Испытание показало, что введение препарата в максимальных дозах до 5 г/кг массы тела не вызывает заметных изменений в поведении мышей. Это позволяет считать данное вещество полностью безопасным для наружного применения при лечении ран.

Испытание влияния полиакрилата кобальта на скорость заживления ран показали, что препарат способен значительно ускорять процесс закрытия ран по сравнению с плацебо и препаратами сравнения: ресвератролом, вводимым с помощью эмульсионного воска, и мазью Бепантен в сочетании с Левомиколем. Визуальное наблюдение за состоянием ран показывает, что полиакрилат кобальта, являясь гидрофильным веществом, хорошо проникает в формирующийся дефект и ускоряет формирование и сжатие фибринового сгустка. Применение полиакрилата кобальта показало, что он уменьшает продолжительность фазы воспаления и облегчает боль у животных.

Гистологический анализ показал, что полиакрилат кобальта значительно ускоряет образование ретикулярных волокон. Кроме того, применение полиакрилата кобальта оказывает положительное влияние на восстановление васкуляризации дермы, формировании волосяных фолликулов и базальной мембраны, разделяющей дерму и эпидермис.

Работа выполнена в рамках Госзадания по теме "Исследование фармакокинетики и механизма действия гемостатического средства с антимикробной и ранозаживляющей активностью на основе комбинации инновационных субстанций (FFRW-2025-0004)".

Влияние дизайна shRNA на созревание miR-93-5p при сверхэкспрессии в составе экспрессионной кассеты с промотором РНК-полимеразы III

Р.В. Суворов^{*1}, Д.В. Мальцева¹, А.П. Жиянов¹

¹ Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики",
Москва, Россия

** roman.suvorov.11@mail.ru*

МикроРНК играют важную роль как в нормальных, так и опухолевых клетках. Одним из распространенных способов изучения этих молекул является их сверхэкспрессия в составе экспрессионной кассеты, кодирующей shRNA, под промотором РНК-полимеразы III.

Одна из особенностей сверхэкспрессии микроРНК в системе с промотором рол III – это добавление полимеразой в процессе терминации транскрипции 2-5 остатков урацила на 3'-конец транскрипта, что потенциально может приводить к альтернативному процессингу шпильки shRNA РНКазой Dicer. Формирующиеся в ходе альтернативного процессинга 5'-изоформы микроРНК (5'-изомиРНК) имеют измененную специфичность и таргетом по сравнению канонической miR-93-5p. Таким образом, образование 5'-изомиРНК в ходе сверхэкспрессии целевой микроРНК способно исказить результаты исследования и привести к ложным выводам.

Данное исследование на примере сверхэкспрессии микроРНК miR-93-5p было направлено на выявление особенностей последовательности shRNA, которые бы позволили добиться процессинга шпильки РНКазой Dicer в положении, соответствующей канонической последовательности miR-93-5p и избежать формирования ее 5'-изомиРНК. Среди таких особенностей были выбраны те, которые по литературным данным могут влиять на процессинг РНКазой Dicer: (1) последовательность нуклеотидов в области разрезания шпильки shRNA РНКазой Dicer, (2) последовательность петли shRNA, (3) длина шпильки и (4) 5'-нуклеотид shRNA. В результате исследования было показано, что удлинение shRNA-транскрипта в процессе терминации транскрипции РНК-полимеразой III, действительно, приводит к смещению положения разрезания шпильки ферментом Dicer согласно «правилу отсчета 22 нуклеотидов». Причем, данное правило, по-видимому, является превалирующим, поскольку изменения последовательность других участков shRNA не повлияло на положение разрезания ферментом Dicer, и сопровождалось преимущественным образованием 5'-изомиРНК. Только укорочение шпильки shRNA на 4 нуклеотида показало формирование микроРНК-продуктов с seed-регионом, идентичным канонической miR-93-5p. Таким образом, определяющим фактором процессинга shRNA ферментом Dicer является, по-видимому, длина ствола шпильки.

Изменение контента везикулярного паракринного компонента клеток с индуцированной плюрипотентностью в стабильной и дифференцирующейся популяциях

Е.А. Супруненко*¹, Е.А. Сазонова¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *suprunenkoe@mail.ru*

При исследовании и возможном практическом применении генетически модифицированных клеток и их производных, необходимо учитывать существенный вклад везикулярного паракринного компонента данных клеток – внеклеточных везикул, регулирующего состояние клеточной популяции. Регуляторные возможности внеклеточных везикул обеспечиваются многокомпонентностью функциональных белков, липидов, нуклеиновых кислот, преимущественно РНК и микроРНК. МикроРНК являются посттранскрипционными регуляторами активности генов, модулирующими стабильность мРНК. Возможность переноса микроРНК в составе везикул увеличивает эффективность паракринной регуляции, защищая их от действия РНКаз. При переходе стабильной клеточной популяции к дифференцировке, таким образом, должен меняться и функциональный профиль регуляторных микроРНК в составе везикул.

Мы показали изменение профиля микроРНК во внеклеточных везикулах индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека линии KYOU-DXR0109B при их дифференцировке в нейральном направлении. Были проанализированы некоторые микроРНК, регулирующие (а) поддержание плюрипотентного состояния; (б) обеспечение регуляции нейрогенеза и (в) онкогенные микроРНК, обладающие двунаправленностью регуляций. Регуляторами активности онкогенных микроРНК выступали гены, обеспечивающие индукцию и поддержание плюрипотентности модифицированных клеток (Sox2 и с-Мус). В ходе дифференцировки индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в нейральном направлении в клетках и в их внеклеточных везикулах не сохраняется кластер микроРНК-302, определяющий плюрипотентное состояние. В полученной гетерогенной популяции нейральных производных показано наличие микроРНК, контролирующих нейральную дифференцировку (микроРНК-125b-5p, микроРНК-99a-5p и микроРНК let-7e), в их внеклеточных везикулах присутствует только микроРНК-99a-5p. В нейральных производных показано сохранение двух из трех исследованных характерных для плюрипотентных клеток онкогенных микроРНК (микроРНК-151a-5p и микроРНК-20b-5p). Кроме этого, последняя присутствует и в везикулах данных клеток, что при показанном значительном снижении уровня экспрессии с-Мус в самих клетках может свидетельствовать о возрастании роли данной микроРНК в обеспечении нейральной дифференцировки.

Таким образом, характеристика везикулярного паракринного компонента клеток может являться функциональным показателем изменения активности генома клеток, в том числе и в процессах экзогенных направленных геномных модификаций.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова, номер темы 121032300065-7.

Применение машинного обучения для оценки значимости геномных aberrаций, связанных с МОБ-положительной ремиссией при остром лимфобластном лейкозе

В.А. Суримова^{*1}, Н.В. Рисинская¹, Е.С. Котова¹, А.Ш. Абдулпатахов¹, Л.И. Воронова²,
С.Э. Старченко¹, С.М. Куликов¹, И.В. Гальцева¹, А.Б. Судариков¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр гематологии, Москва, Россия;

² Московский технический университет связи и информатики, Москва, Россия

* surimova.lera@mail.ru

Сохранение минимальной остаточной болезни (МОБ) после индукционной терапии является важным прогностическим фактором рецидива при В-клеточном остром лимфобластном лейкозе (В-ОЛЛ). Цель настоящего исследования — выявление геномных изменений, ассоциированных с МОБ-позитивной ремиссией, с применением хромосомного микроматричного анализа (ХМА) и интегрированного подхода, сочетающего методы машинного обучения и статистической валидации.

В исследование были включены 35 пациентов с впервые выявленным Рн-негативным В-ОЛЛ (медиана возраста — 30 лет), проходивших лечение по протоколу RALL-2016/2016m. ХМА проводился на диагностическом материале костного мозга с использованием платформы CytoScan™ HT-CMA 96F. Группу сравнения составили данные 105 здоровых доноров, мэтчируемых по возрасту и полу. Из полученных микроматричных данных было извлечено 46 581 бинарных признаков (ген × тип aberrации). Для первичной оценки значимости признаков использовался алгоритм случайного леса (Python 3.12, библиотека scikit-learn). На следующем этапе проводилась статистическая проверка выявленных признаков с применением точного критерия Фишера с поправкой на множественные сравнения и пермутационного теста (n = 1000) для оценки устойчивости результатов и минимизации переобучения.

МОБ-положительный статус был зафиксирован у 18 из 35 пациентов (51%). При этом традиционные прогностические маркеры, такие как дупликации KMT2A и делеции CDKN2A/CDKN2B, не продемонстрировали статистически значимой связи с МОБ. В то же время интегрированный анализ позволил выявить повторяющийся участок копийно-нейтральной потери гетерозиготности (cnLOH) в области 19q13.2–13.31, достоверно чаще встречавшийся у МОБ-положительных пациентов (70%) по сравнению с МОБ-отрицательными (16%) и референсной группой (47%) (p < 0,001 по критерию Фишера и пермутационному тесту). В данный регион входят гены, связанные с иммунной регуляцией и клеточной дифференцировкой, в частности PSG и ERF. Кроме того, среди наиболее значимых признаков были обнаружены крупные делеции, охватывающие участки хромосом 7 и 16.

Полученные результаты подтверждают эффективность сочетания ХМА с алгоритмами машинного обучения и статистической верификацией для выявления ранее неописанных геномных маркеров устойчивости МОБ. Применение данного подхода может способствовать уточнению стратификации риска и прогнозированию исходов терапии у пациентов с В-ОЛЛ, выходя за рамки классических цитогенетических критериев.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (РНФ), проект № 23-25-00490. URL: www.rscf.ru/en/project/23-25-00490/.

Внесение генетических модификаций в культуру клеток свиньи домашней для получения животных для ксенотрансплантации органов

А.Р. Тархова^{*1,2,3}, А.А. Хабарова², Н.Р. Баттулин²

¹ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия;

² Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

³ Sciencely.Новосибирск, Новосибирск, Россия

* *annatarhova49901@gmail.com*

Одним из перспективных решений проблемы недостатка донорских органов является использование ксенотрансплантатов, то есть органов животных, например, свиней. Для предотвращения острого отторжения необходимо, чтобы клетки свиней имели минимальное количество антигенов, отличающих их от человеческих. Одну из ключевых ролей в вызове иммунного ответа имеют углеводные производные α -Gal (ген GGTA1), Neu5Gc (ген CMAH) и SDa (гены B4GALNT2, B4GALNT2L). GGTA1 и CMAH у человека являются псевдогенами, а B4GALNT2 и B4GALNT2L имеют иной профиль экспрессии. Таким образом, для получения гуманизированной свиньи, чьи органы будут иметь пониженный иммунный ответ при пересадке человеку, нужно получить культуру клеток с нокаутом вышеперечисленных генов.

В работе использовалась первичная культура эмбриональных фибробластов свиньи. Генетические модификации вносились с помощью системы CRISPR/Cas9. Матрицу для синтеза гРНК получали ПЦР с перекрывающимися концами. Отбор клеток с функциональным нокаутом GGTA1: клетки окрашивали IsolectinB4-FITC (специфично связывающего α -Gal) и отбирали негативную по флуоресценции популяцию. Для оценки одновременного нокаута нескольких целевых генов использовали субклоны отсортированной популяции. Эффективность нокаута каждого гена оценивалась отношением прочтений с делецией и/или инсерцией к общему количеству прочтений NGS. Для увеличения эффективности варьировали соотношения Cas9/гРНК, а также соотношения гРНК специфичных к разным генам.

Применение стратегии с обогащением суммарной популяции клеток эмбриональных фибробластов свиньи с использованием изолектина IslB4-FITC для отбора негативных по флуоресценции клеток позволило увеличить долю гомозиготных функциональных нокаутов GGTA1 до 84,1%. Аналогичный подход для отбора клеток с функциональным нокаутом генов B4GALNT2/2L с помощью изолектина DBA-FITC не оказал ожидаемого эффекта для этих генов. Получено 2 субклона с одновременным гомозиготным нокаутом 3 целевых генов: GGTA1, CMAH, B4GALNT2 и гетерозиготным нокаутом B4GALNT2L. Увеличение доли гРНК специфичной к гену CMAH в смеси всех гРНК в Cas9/гРНК комплексе увеличило эффективность редактирования этого гена почти в 2 раза. Одновременный отбор клеток с функциональным нокаутом гена GGTA1 с помощью изолектина IslB4-FITC позволили нам получить популяцию клеток свиньи с долей нокаутов генов CMAH и GGTA1 более 50%.

Воспроизведение кишечной микробиоты животных в искусственных условиях

Ю.А. Тихменева *¹

¹ Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

* *tihmeneva.yulia@yandex.ru*

Актуальной задачей микробиологических исследований в ветеринарии является моделирование условий кишечной среды *in vitro* для воспроизводимого культивирования облигатной и факультативной микробиоты. В работе представлена разработка унифицированной искусственной кишечной среды (УИКС), адаптированной под физиологию кур породы Браун Ник. В качестве основы был выбран состав, имитирующий биохимические параметры содержимого слепой кишки.

В состав УИКС включены структурные углеводы (пектин, ксилан, арабиногалактаны, амилопектин), белки (казеин, бактопептон), крахмал, твин 80, соли и микроэлементы, а также витаминные компоненты и свиной муцин. Новизной разработки является включение микрокристаллической целлюлозы (5 г/л) как стабильного балластного субстрата и ферментного комплекса (0,5 г/л) для моделирования активности пищеварительных ферментов. Компоненты, чувствительные к высокой температуре (муцин, витамины, тиамин, цистеин), добавлялись асептически после автоклавирования основной смеси при 134 °С.

В отечественной практике отсутствует валидированная универсальная кишечная среда, позволяющая воспроизводимо культивировать широкий спектр микроорганизмов, характерных для микробиоты птиц. Существующие среды ориентированы преимущественно на отдельные бактериальные роды (например, лактобациллы) и не обеспечивают комплексную модель кишечной среды.

Цель работы – Создать физиологически релевантную, химически воспроизводимую и термоустойчивую искусственную среду для *in vitro*-культивирования микробиоты, соответствующей биохимии слепой кишки кур породы Браун Ник.

Для тестирования среды использовались десять образцов фекалий. Пять образцов инкубировались в УИКС, пять — без неё. Сравнивали родовой состав, численность и морфологию выделенных бактерий.

Различий в родовом составе микробиоты между средами статистически не выявлено ($p > 0,05$), что подтверждает адекватность среды и её соответствие условиям *in vivo*. Среда продемонстрировала стабильность при хранении, совместимость с анаэробными условиями и возможность использования в протоколах длительного культивирования.

Разработанная УИКС может служить эффективной моделью для исследования кишечной микробиоты кур. Включение микрокристаллической целлюлозы и ферментного комплекса расширяет функциональные возможности среды и делает её перспективной для применения в системах имитации ЖКТ, разработке пробиотиков и изучении антимикробных стратегий в ветеринарии.

Интегративный отбор высокоспецифичных мишеней CRISPR/Cas9 для задач генетического редактирования

Integrative selection of highly specific CRISPR/Cas9 targets for gene-editing tasks

А.А. Узденов*¹, А.К. Грибкова¹, А.К. Шайтан¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* azam02334@gmail.com

Integrative selection of highly specific CRISPR/Cas9 targets for gene-editing tasks. An integrated selection of highly specific CRISPR/Cas9 targets is essential for both basic research and applied gene-editing tasks. This study presents a strategy that combines transcriptomics, epigenetic marks and chemical DNA modifications to choose target genes. It also provides an automatic evaluation of the selected targets with the most reliable methods. We demonstrate its experimental testing in several cell models.

First, for the K562, NHEK and HEK293 lines we collected ChromHMM, RNA-seq and bisulfite-sequencing data, then classified genes as either active or inactive. Such classification is important when deciding whether to aim for repression or activation. Comparing the gene classes across the different datasets confirmed the correctness of this stratification (Pearson correlation $\rho = 0.6-0.8$) and showed high agreement between sources. We implemented a Python algorithm that extracts all 20-nucleotide sites with the NGG motif from promoter sequences and instantly calculates an overall on-target score (Doench-Fusi model, 2016), off-target specificity (Hsu, 2013), and the probability of forming DNA-DNA-RNA triplex structures. To check how transferable the approach is, we ran the calculations for the K-562 cell line and for a bacterial plasmid expressed in HEK293. From the chosen targets, ten sequences with the best on/off scores were tested *in vitro* and showed the expected high efficiency. The result of the work is an open software package that automates sgRNA selection while taking epigenomics and DNA structure into account. Using it increases the accuracy of target-gene selection and lowers the predicted number of off-site cuts. The presented strategy is easy to adapt to any cell system and can serve as a basis for rational CRISPR design.

This research was supported by the Russian Ministry of Science and Higher Education grant No. 075-15-2024-539.

Профилирование микобиома аденокарциномы поджелудочной железы

М.С. Федорова*¹, В.С. Павлов¹, А.А. Филатова², Д.В. Калинин²

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия;

² Национальный медицинский исследовательский центр хирургии
им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

* fedorowams@yandex.ru

Аденокарцинома поджелудочной железы (PDAC) имеет крайне низкую выживаемость из-за поздней диагностики и агрессивного течения. Кишечная микробиота может колонизировать опухоль, влияя на ее микробный состав и иммунный ответ, что определяет прогрессирование болезни. Особую роль в прогрессировании PDAC играет микобиом, однако его изучение остается недостаточно разработанным. Методология анализа микобиома, варьируется в разных исследованиях. В данной работе мы стремились определить оптимальную пару праймеров для секвенирования ITS участка в FFPE-образцах PDAC и проверить их эффективность на контрольной группе пациентов.

На основе анализа литературы были отобраны и протестированы наиболее подходящие пары праймеров (FF390-FR1, gist7-ITS4, ITS3-ITS4, ITS1-ITS2). Комбинированный метагеномный и эукариотический подход показал, что пара gist7-ITS4 наиболее соответствует нашим целям: длина ампликона (230-330 п.н.), 96,4% прочтений относились к грибам, а также обеспечивалось высокое видовое разнообразие.

Применение этих праймеров на расширенной выборке образцов выявило, что нормальная ткань обладает большим биоразнообразием по сравнению с опухолевой. В PDAC-ассоциированном микобиоме преобладали виды *Ustilago sambuci*, *Lecanicillium coprophilum*, *Ustilago alassezia sympodialis*, *Exophiala xenobiotica*, *Ustilago cremonium sclerotigenum* и *Ustilago spargillus fumigatus*. Некоторые из них связаны с внутрибольничными инфекциями (*Ustilago alassezia sympodialis*, *Exophiala xenobiotica*), другие обладают противоопухолевой активностью (*Ustilago cremonium sclerotigenum*), а *Ustilago spargillus fumigatus* активирует гены АКТ-сети, способствуя метастазированию и устойчивости опухоли. Кроме того, в опухолевой ткани повышено содержание *Exophiala lecanii-corni*, *Ustilago arengyodontium album* и *Ustilago alassezia sp.*, причем последний ассоциирован с низкой выживаемостью и встречается при гепатоцеллюлярной аденокарциноме и кишечной аденоме.

Итого: пара праймеров gist7-ITS4 обеспечивает наилучший результат секвенирования микобиома в FFPE образцах PDAC, и микобиом расширенной выборки образцов показал повышенное содержание *Ustilago spargillus fumigatus*, которая влияет на метастатический фенотип, сложность и устойчивость опухоли.

Важно отметить, что хотя хронические инфекции признаны значимым фактором онкогенеза, механизмы их воздействия требуют уточнения. Дискуссионным остается вопрос о причинно-следственных отношениях - является ли инфекция триггером опухолевого роста или следствием измененной микроокружением опухоли.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 24-25-00460.

Металл-органические каркасы как универсальная платформа для доставки терапевтических агентов

Д.Д. Фролова*¹, Р.О. Меликов¹, А.И. Ларченко¹, М.П. Никитин^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия;

² Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия

* dshfrlv792@mail.ru

Металл-органические каркасы (МОК) представляют собой класс перспективных наноматериалов с уникальными характеристиками, которые обуславливают возрастающий интерес к их применению в биомедицине. Эти соединения являются высокоорганизованными полимерными структурами, образованными ионами металлов и органическими линкерами. МОК демонстрируют исключительную пористость и высокую удельную поверхность, что позволяет эффективно использовать их в качестве систем доставки терапевтических молекул.

В данной работе представлена стратегия применения наноразмерных МОК для одновременной доставки низкомолекулярных соединений и нуклеиновых кислот. Такая комбинированная стратегия обладает значительным потенциалом для улучшения методов лечения социально значимых заболеваний по сравнению с монотерапией. Этот подход объединяет направленную активность фармакологических препаратов и способность нуклеиновых кислот к специфической регуляции ключевых клеточных процессов, что позволяет достигать синергетического терапевтического эффекта.

В рамках исследования был синтезирован ряд наноразмерных МОК на основе биосовместимых металлов. После синтеза полученные наночастицы были всесторонне охарактеризованы с использованием комплекса физико-химических методов, включая сканирующую электронную микроскопию, динамическое и электрофоретическое рассеяние света, а также рентгеновскую дифракцию. Затем была продемонстрирована высокая сорбционная емкость синтезированных частиц по отношению к ряду низкомолекулярных модельных соединений. Особое внимание было уделено разработке методов функционализации поверхности МОК. В результате оптимизации удалось обеспечить эффективную иммобилизацию различных типов нуклеиновых кислот при сохранении их структурной целостности и биологической активности. В результате была продемонстрирована возможность сонаправленной доставки нуклеиновых кислот и малых молекул в клетки-мишени *in vitro* при помощи синтезированных наночастиц, что подтверждает перспективность разработанных систем для создания новых терапевтических платформ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования, соглашения 075-03-2025-662, проект FSF G-2024-0010.

Клеточная модель болезни Гоше на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека

О.А. Халабуда*¹, О.Н. Шевелева², Н.Н. Буторина², М.В. Коняшин³, О.В. Курбатова³,
С.В. Петричук³, И.В. Лядова^{2,1}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

³ Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей
Минздрава России, Москва, Россия

* *xalabuda02@bk.ru*

Болезнь Гоше – наследственное лизосомное заболевание, характеризующееся мутациями в гене GBA, приводящими к снижению активности глюкоцереброзидазы и накоплению глюкоцереброзида в лизосомах макрофагов. Аккумуляция субстрата данного фермента приводит к хронической активации макрофагальной системы и разнообразным тяжелым клиническим проявлениям. По некоторым данным, макрофаги, несущие мутации в гене GBA, могут обладать частичной устойчивостью к микобактериальным инфекциям, что связывают с изменениями метаболизма липидов. На сегодняшний день отсутствует адекватная *in vitro* модель, которая бы точно воспроизводила ключевые патологические процессы, происходящие в клетках пациентов с болезнью Гоше, и позволяла бы эффективно изучать молекулярные механизмы развития заболевания и проводить скрининг потенциальных лекарственных средств.

Цель исследования – получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) из мононуклеарных клеток крови донора с болезнью Гоше и их первичная характеристика.

После получения информированного согласия от пациента с болезнью Гоше получены мононуклеарные клетки крови. Клетки репрограммированы в иПСК методом электропорации с применением набора Epi5™ Episomal iPSC Reprogramming Kit (Invitrogen™) и выращены. Проведена характеристика отобранного клона иПСК путем окрашивания на щелочную фосфатазу, иммунофлуоресцентного и молекулярно-генетического анализа экспрессии маркеров плюрипотентности.

Произведен первичный отбор иПСК по морфологическим критериям и окрашиванию на щелочную фосфатазу. Плюрипотентный характер полученной линии подтвержден экспрессией в ней ключевых генов плюрипотентности OCT4, SOX2 и NANOG на уровне мРНК и белка. Проводится анализ дифференцировочной способности выбранной линии иПСК.

На сегодняшний день почти полностью отсутствуют аналогичные работы, во многих из них для получения иПСК используются фибробласты и трансдукция. В нашей работе предлагается получение иПСК из крови донора методом, это является более адекватной моделью для дальнейшей дифференцировки в макрофаги и создает основу для получения персонализированной модели болезни Гоше.

**Применение CRISPR/Cas9 для модификации экспрессии микроРНК
в модели воспалительного ответа**

А.В. Цоллер *¹

¹ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

* zoller_alina@mail.ru

Развитие методов редактирования генома, особенно CRISPR/Cas9, открыло возможность точечного вмешательства в регуляторные механизмы клетки. Особый интерес представляет регуляция экспрессии микроРНК (miRNA), учитывая их ключевую роль в контроле иммунных и воспалительных ответов. Однако остаётся мало изученным, как искусственное модулирование экспрессии отдельных miRNA может повлиять на цитокиновый профиль в воспалительной модели *in vitro*.

Целью данной работы было исследовать влияние таргетной активации и репрессии экспрессии miR-146a, miR-21 и miR-155 на продукцию провоспалительных цитокинов в макрофагах мышинового происхождения после стимуляции липополисахаридом (ЛПС). Для этого использовалась модифицированная система CRISPR (CRISPRa/i), включающая dCas9, лишённую эндонуклеазной активности, и транскрипционные активаторы или репрессоры. Были сконструированы синтетические sgRNA, направленные на промоторные области соответствующих miRNA-генов.

Эксперименты показали, что подавление miR-155 сопровождается достоверным снижением уровня экспрессии IL-6 и TNF- α по сравнению с контролем. Напротив, активация экспрессии miR-146a приводила к умеренному снижению продукции TNF- α без значимых изменений уровня IL-6. Модуляция miR-21 не показала выраженного эффекта в данной модели. Полученные данные подтверждают, что индивидуальные miRNA могут по-разному влиять на компоненты воспалительного ответа, и их регуляция потенциально может использоваться в противовоспалительной терапии.

Таким образом, наша работа демонстрирует перспективность применения CRISPR-технологий не только для изучения, но и для тонкой регуляции активности регуляторных некодирующих РНК. Подобные подходы могут лечь в основу создания новых терапевтических стратегий при заболеваниях воспалительной природы, где традиционные методы лечения оказываются недостаточно эффективными.

Исследование роли полиморфных вариантов в генах длинных некодирующих РНК LINC02952/ LINC02953, LINC02747/LINC02952, LINC02664 в патогенезе светлоклеточного почечно-клеточного рака

А.К. Чумакова*¹, И.Р. Гилязова¹, А.А. Измайлов², Е.А. Иванова³, М.А. Бермишева¹,
Г.Р. Абдеева⁴, Э.К. Хуснутдинова^{1,4}, В.Н. Павлов⁴

¹ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфа, Россия;

² ГАУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер, Уфа, Россия;

³ Уфимский университет науки и технологий, Уфа, Россия;

⁴ Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

* *NettaChak@yandex.ru*

Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома (скПКК) – самый часто встречающийся подтип эпителиального рака почки с варибельным течением и исходом; на неё приходится около 2% всех злокачественных опухолей. Разработка новых диагностических и прогностических маркеров скПКК крайне актуальна. Текущий прогноз основывается на гистологии, ядерной степени злокачественности и стадии по TNM.

Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) – наиболее распространенные генетические вариации в геноме человека, играющие значимую роль в онкогенезе. SNP часто расположены в некодирующих участках, включая гены длинных некодирующих РНК (днРНК). Доказано, что днРНК регулируют экспрессию генов и вовлечены в патогенез скПКК.

Цель и задачи – поиск маркеров риска скПКК на основе анализа полиморфизмов в генах длинных некодирующих РНК. Исследованы 128 образцов ДНК пациентов со скПКК (татарская этническая принадлежность) и 134 образца здоровых индивидов. Генотипирование выполнено методом аллельной дискриминации TaqMan.

Статистический анализ данных выявил значимые ассоциации. Установлено, что аллель С полиморфного варианта rs11263432, расположенного в гене длинной некодирующей РНК LINC02952 (хромосома 11, позиция 11:69432586), выступает в роли протективного (защитного) фактора в отношении развития скПКК (OR = 0.44, 95% ДИ = 0.2–0.9, $p = 0.04$). Этот результат согласуется с данными масштабного исследования Purdue M.P. и соавт. (2024), в котором также был зафиксирован достоверный протективный эффект аллеля rs11263432*С ($p = 2 \times 10^{-28}$, OR = 0.85).

При анализе полиморфизма rs4506680, локализованного в гене LINC02747, статистически значимых различий в распределении генотипов и аллелей между группой пациентов и контролем обнаружено не было. Тем не менее, наблюдалась тенденция к увеличению частоты аллеля Т (rs4506680*Т) в группе здоровых доноров, которая, однако, не достигла уровня статистической значимости ($p > 0.05$), что, вероятнее всего, обусловлено ограниченным размером исследуемой выборки. Кроме того, показана ассоциация аллеля Т полиморфизма rs793096 с повышенным риском развития скПКК (OR = 1.49, 95% ДИ = 1.0–2.1, $p = 0.03$). И наоборот, аллель С этого же локуса rs793096 продемонстрировал ассоциацию со снижением риска заболевания (OR = 0.67, 95% ДИ = 0.5–1.0, $p = 0.03$).

Таким образом, полиморфные варианты rs11263432 и rs793096 могут быть значимыми для прогнозирования риска развития скПКК. >>

В работе использована «Коллекция биологических материалов человека Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук» (регистрационный номер CCU 499346). Работа была выполнена в рамках Госзадания (№1022040500074-9) ИБГ УФИЦ РАН.

Стендовый доклад

Новый метод мультиомного профилирования редких клеток

А.А. Швагер*^{1,2}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Институт Кюри, Париж, Франция

* anna.karpukhina12@gmail.com

Современные методы одно-клеточной мультиомики позволяют одновременно изучать состояние хроматина и транскриптом, что даёт глубокое понимание принципов регуляции генов. Однако существующие подходы требуют исходного материала из тысяч клеток, что сильно ограничивает возможность анализа редких клеточных популяций.

Мы разработали метод, который позволяет получать эпигеномные профили высокого разрешения, начиная всего с одной клетки, параллельно с полным транскриптомным анализом и количественной оценкой поверхностных белковых маркеров. Унифицированный и удобный рабочий процесс делает метод применимым как для тканей, так и для эмбрионов. В качестве доказательства концепции мы показали, что данный метод может использоваться для профилирования отдельных клеток молочной железы, отдельных зигот и редких персистирующих клеток, полученных из опухолевого материала пациентов.

В молочной железе мультиомное профилирование с помощью данного метода позволило выявить клеточные состояния, в которых транскриптомные и эпигеномные характеристики расходятся — такие различия невозможно было бы обнаружить без мультиомного подхода. Таким образом, наш метод открывает прямой и доступный способ изучения отдельных клеток, создавая новые возможности для исследований в области биологии развития и рака.

Реализация макрофагальной цитоблокады *in vivo* и оценка её эффективности для различных наноматериалов

М.А. Юрченко*¹, М.П. Козлова¹, М.В. Троилина¹, А.А. Сизиков¹, Е.Н. Мочалова^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия;

² Научно-технологический университет "Сириус", Сочи, Россия

* *mary511@inbox.ru*

Препараты на основе нуклеиновых кислот (НК) позволяют воздействовать непосредственно на генетические механизмы различных заболеваний. Генная терапия фокусируется на редактировании дефектных генов или изменении их экспрессии. Однако эффективность генной терапии ограничена рядом факторов, включающих быструю деградацию нуклеазами, низкую способность проникать в клетки-мишени и необходимость достижения ядра клетки. Для преодоления некоторых из этих ограничений были разработаны системы доставки на основе наночастиц (НЧ). Они защищают НК от биodeградации, обеспечивают целевую доставку и помогают преодолевать биологические барьеры.

Однако для подавляющего большинства НЧ основной проблемой всё ещё остается малое время циркуляции в кровотоке, что приводит к низкой эффективности накопления НЧ в целевой ткани. Попадая в кровоток, НЧ выводятся мононуклеарной фагоцитарной системой (МФС) с последующим накоплением в печени и селезенке. Одним из эффективных подходов к решению этой проблемы стал метод МФС-цитоблокады. Метод основан на введении антиэритроцитарных антител, которые «маркируют» эритроциты для фагоцитоза клетками МФС и приводят к их насыщению, что делает НЧ при последующем введении «невидимыми» для иммунной системы. Циркуляция НЧ значительно продлевается, и существенно повышается эффективность их накопления в целевых тканях. Метод имеет большой потенциал безопасного применения, так как ускоряет естественный процесс выведения собственных эритроцитов организма, не снижая его иммунные функции.

Для доставки НК могут быть использованы разные виды наночастиц, например, липидные, белковые, магнитные и др. В данной работе мы изучили эффективность МФС-цитоблокады для продления циркуляции в кровотоке некоторых из них. Данная работа так же была направлена на исследование изменения профиля биораспределения НЧ, а также некоторых гематологических показателей у модельных животных для комплексной оценки безопасности метода. Данные о кинетике циркуляции и биораспределении наночастиц были получены как для здоровых мышей, так и для мышей с моделью опухоли СТ-26. В частности, мы исследовали влияние МФС-цитоблокады на эффективность доставки НЧ в опухоль под действием внешнего магнитного поля.

Полученные в ходе исследования результаты показывают, что эффективность МФС-цитоблокады сохраняется для большинства изученных НЧ при сравнительной безопасности ее использования, что важно для исследований в области наномедицины, а в частности, для применения ее подходов в генной терапии.

Отдельные части данного исследования были поддержаны Министерством науки и высшего образования РФ соглашение 075-03-2025-662, проект FSF G-2025-0023.

Дифференцировка и генетическая модификация макрофагов человека

Е.А. Язикова^{*1}, О.Н. Шевелева², И.В. Лядова^{2,1}

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

** katya.yazikova234@gmail.com*

Генетическая модификация макрофагов человека важна для изучения функций генов и разработки клеточной терапии при злокачественных опухолях, наследственных и аутоиммунных заболеваниях. Однако введение генетических модификаций в геном макрофагов затруднено, так как макрофаги не делятся *in vitro* и элиминируют чужеродные нуклеиновые кислоты. Помимо этого, основной метод получения макрофагов человека – дифференцировка моноцитов периферической крови в присутствии макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) – ограничен низким выходом клеток. Альтернативой служат индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК), способные к неограниченной пролиферации, направленной дифференцировке и легко поддающиеся генетической модификации. Цель работы – оптимизация методов получения генетически модифицированных макрофагов из иПСК и моноцитов периферической крови.

Для оптимизации метода получения макрофагов человека из иПСК оценивали влияние различных условий культивирования на раннюю, критически важную стадию гемопоэтической дифференцировки иПСК – стадию образования мезодермы и гемогенного эндотелия. иПСК культивировали 4-6 дней в неадгезивных условиях в стандартных культуральных планшетах и планшетах AggreWell, в присутствии различных комбинаций факторов VEGF-A, SCF, BMP4 или без них. Формирование мезодермы и гемогенного эндотелия оценивали по ко-экспрессии маркеров CD309 и CD34 методом проточной цитометрии. Для оптимизации получения первичных макрофагов человека получали фракцию моноклеарных клеток крови в градиенте плотности фиколла, обогащали моноцитами адгезией или магнитной сепарацией клеток CD14+ и дифференцировали в среде с M-CSF, GM-CSF и другими факторами в различных комбинациях.

Таким образом, подобраны оптимальные условия, обеспечивающие эффективное образование клеток мезодермы и гемогенного эндотелия (CD309+, CD309+CD34+) – культивирование 6 дней с VEGF, SCF, BMP4. Отработаны схемы получения макрофагов из моноцитов. Во всех случаях получены клетки, экспрессирующие фенотип макрофагов CD14+. Выявлены различия по морфологии и пролиферативной активности между макрофагами, дифференцированными в присутствии различных факторов. Показана возможность получения высокоочищенной популяции первичных макрофагов человека методом адгезии моноклеарных клеток крови (важно для их потенциального клинического применения). Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию методики получения макрофагов человека из моноцитов крови и получение генетически модифицированных макрофагов с использованием различных подходов.

Активация экспрессии TFEB через микроРНК

Л.М. Яныгина*¹

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

* *linayanyg@gmail.com*

Регуляция генов с помощью промоторных микроРНК является специфичным и малопредсказуемым методом. В работе исследована возможность активации гена TFEB — ключевого регулятора лизосомного биогенеза и аутофагии — с использованием промоторных микроРНК в культуре клеток ретинального пигментного эпителия ARPE-19. Несмотря на отсутствие клинического применения, данный подход представляет интерес как гибкий и компактный метод регуляции экспрессии, однако побочные эффекты остаются недостаточно изученными.

На промоторе гена TFEB была выбрана область длиной 440 н. от сайта инициации транскрипции (TSS). Было синтезировано 10 дуплексов комплементарных микроРНК с 3'-dTdT, равномерно покрывающих эту зону, и негативный контроль. Эксперименты проводили на недифференцированных и частично дифференцированных клетках ARPE-19 в течение 2 недель в среде с 1% сывороткой, ниацинамидом, таурином и витамином А. Трансфекцию осуществляли агентом Molecta Genject-40 при 70–80%, 100% конфлюентности и на начальной стадии дифференцировки через 2 недели культивирования в монослое. Из трансфицированных клеток на третьи сутки выделялись РНК и белок с помощью реактива «Лира» по протоколу производителя. Обратная транскрипция проводилась MMLV-RT kit Евrogen, реал-тайм ПЦР с SYBR-green Евrogen по протоколам производителя. Нормализация проводилась на ген PPIA методом ΔCt.

При 70–80% конфлюентности активация TFEB в 8–16 раз наблюдалась только с дуплексом, ближайшим к TSS. С такой же конфлюентностью, но в условиях стресса вызванного избытком трансфекционного агента активацию вызывал более удалённый дуплекс. В клетках с 100% конфлюентностью базовый уровень экспрессии TFEB был выше в 2–4 раза. Максимальная активация достигала 8-кратного увеличения и происходила с дуплексом, комплементарным наиболее удалённой от TSS области. При этом несколько дуплексов вызывали умеренное повышение экспрессии, тогда как ближайший к TSS не действовал.

Таким образом, активация экспрессии TFEB происходит разными дуплексами в зависимости от состояния дифференцировки клеток и стресса максимально в 8-16 раз. Смена «активирующего» дуплекса и расширение ответа на несколько участков указывают на разные состояния промотора. Это позволяет селективно модулировать экспрессию в подгруппах клеток одного типа, что открывает перспективы для точечного регулирования генной активности.

**Сборник тезисов Международной конференции для молодых ученых
«Генетические технологии в биомедицине»
25 сентября 2025 г., 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 22.09.2025.
Объем Мбайт. Электрон. текстовые данные. Заказ 993.

