

**Лаборатория физиологии рецепторов и сигнальных систем**  
**50 Биология развития и эволюция живых систем**

**Автор: д.б.н., проф. Авдонин П.В.**

В последние годы установлено, что лизосомы и эндолизосомальные везикулы участвуют в регуляции обмена ионов кальция. Высвобождение  $Ca^{2+}$  из этих органелл происходит в результате открывания особого типа ионных каналов, так называемых двухпоровых каналов (two-pore channels – TPC). В лаборатории физиологии рецепторов исследована роль каналов TPC в регуляции сосудистой сократимости. Установлено, что в гладкомышечных клетках (ГМК) аорты крысы экспрессируются два вида этих каналов – TPC1 и TPC2, представленные в виде гликозилированных и дегликозилированных форм (рис.1B). Показана их локализация в лизосомах и эндолизосомальных везикулах (рис.2). Впервые показано, что каналы TPC в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов участвуют в вызываемом норадреналином подъёме уровня кальция в этих клетках (рис.3A) и в альфа1-адренергической регуляции сосудистого тонуса (рис. 3C). Блокаторы каналов TPC избирательно подавляют кальциевый сигнал в ГМК и сократительную реакцию сосудов в ответ на норадреналин (рис.3B,D). Альфа1-АР активируют в ГМК сосудов изоформу TPC1 (рис.4). Таким образом, кальциевые каналы TPC представляют собой новую перспективную мишень для фармакологической коррекции нарушений нейроэндокринной регуляции тонуса кровеносных сосудов.

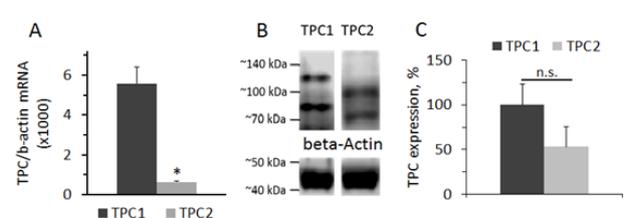


Рис.1. Экспрессия каналов TPC1 и TPC2 в гладкомышечных клетках (ГМК) аорты крысы

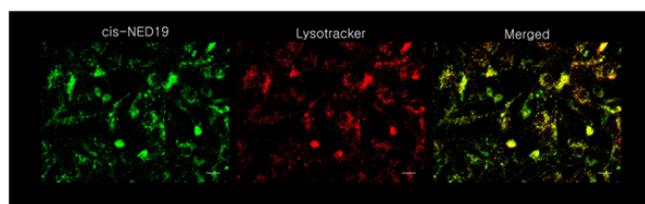


Рис.2. Колокализация маркера каналов TPC (cis-NED19) с лизосомальным зондом (LysoTracker) в ГМК.

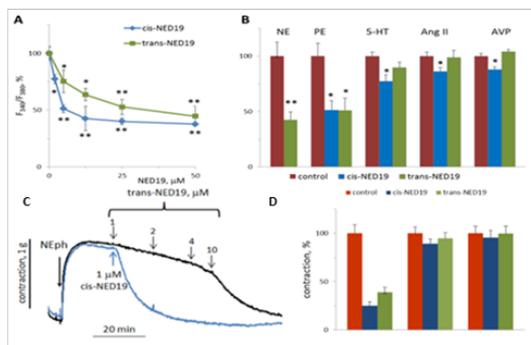


Рис.3. Блокаторы каналов TPC cis- и trans-NED19 избирательно подавляют вызванные норадреналином (NE) подъём  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК (A,B) и сокращение аорты (C,D). PE – фенилэфрин, 5-HT – серотонин, Ang II – ангиотензин, AVP – вазопрессин.

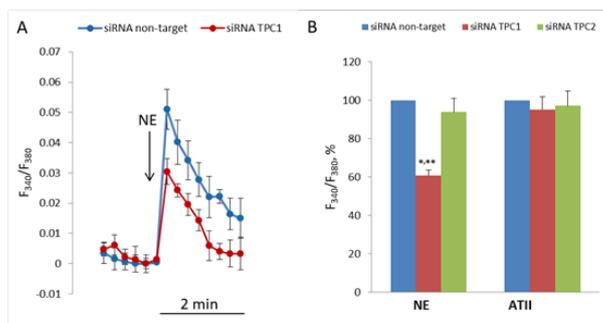


Рис.4. siRNA против TPC1 снижает, а siRNA против TPC2 не влияет на подъём  $[Ca^{2+}]_i$  в ГМК в ответ на норадреналин. Ответ на Ang II не изменяется.

Trufanov S.K., Rybakova E.Y., Avdonin P.P., Tsitrina A.A., Zharkikh I.L., Goncharov N.V., Jenkins R.O., Avdonin P.V. The Role of Two-Pore Channels in Norepinephrine-Induced  $[Ca^{2+}]_i$  Rise in Rat Aortic Smooth Muscle Cells and Aorta Contraction. *Cells*. 2019;8(10). pii: E1144. doi: 10.3390/cells8101144. **Q1, IF = 5,656.**

Работа поддержана грантом РФФ №18-15-00417.

Автор: д.б.н. Воронежская Е.Е.

**Трансглутаминаз-зависимое серотонилирование ядерных белков в плюрипотентных клетках эмбриона - значимый процесс для реализации нормального развития.**

Серотонин (5-HT) все чаще рассматривается как важное звено, через которое модулируется экспрессия генов (Farrelli et. al, Nature, 2019). До настоящего времени такие регуляторные функции 5-HT находили только для тканей взрослого организма (Muma and Mi, 2015; Bader, 2019). Авторам впервые удалось обнаружить цитоморфологическую основу эпигенетической роли серотонина в процессе развития первично- и вторичноротых животных (Ivashkin et al., ACS Chemical Neuroscience, 2019). Показано, что 5-HT концентрируется в ядрах дробящихся бластомеров у моллюсков, морских ежей, и костистых рыб. При этом образуются белки, имеющие специфическую трансглутаминаз-зависимую пострасляционную модификацию – серотонилирование. Полученные результаты впервые показывают, что ядерный серотонин, способный модифицировать экспрессию генов, содержится в плюрипотентных клетках эмбриона, каждая из которых даёт начало широкому набору тканей организма в будущем. Дальнейшие исследования обнаруженного регуляторного механизма позволят разработать новые стратегии лечения и профилактики состояний, вызванных дисбалансом моноаминов в организме, начиная с самых ранних дней жизни.

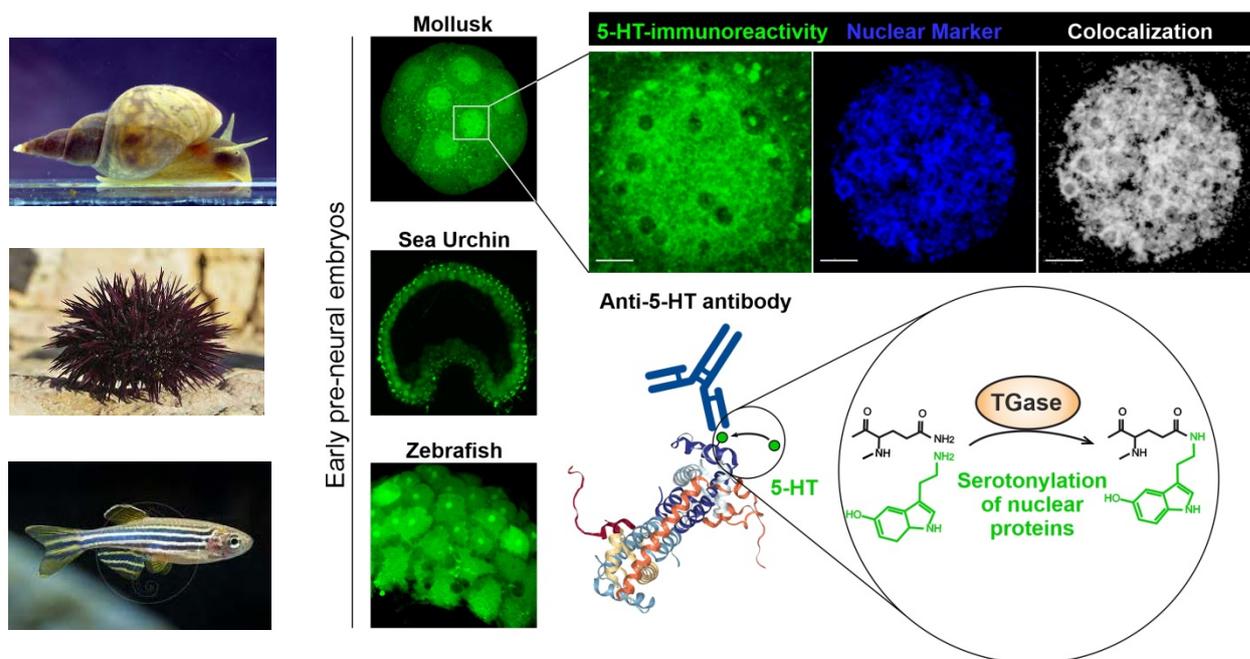


Рис. 1 . Антитела к серотонину выявляют специфические белки в ядрах дробящихся клеток зародышей моллюска, морского ежа и данио. Уровень иммунореактивности зависит как от концентрации серотонина, так и от активности трансглутаминазы в клетках.

**Ivashkin E., Melnikova V., Kurtova A., Brun N.R., Obukhova A., Khabarova M.Y., Yakusheff A., Adameyko I., Gribble K.E., Voronezhskaya E.E.** Transglutaminase Activity Determines Nuclear Localization of Serotonin Immunoreactivity in the Early Embryos of Invertebrates and Vertebrates // ACS Chemical Neuroscience. 2019. V. 10(8). P. 3888-3899. DOI: 10.1021/acscemneuro.9b00346.

WoS, Scopus - Q1-Q2. IF = 3,861

Автор: д.б.н. В.А. Краевский

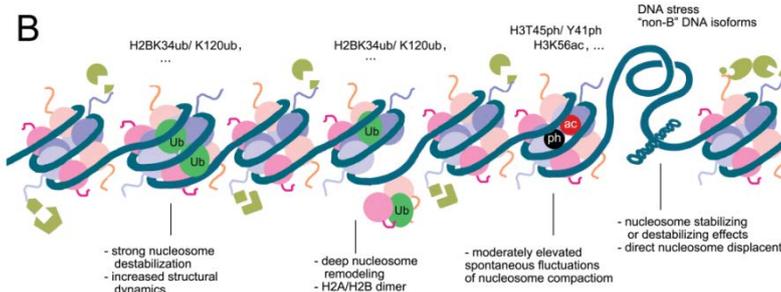
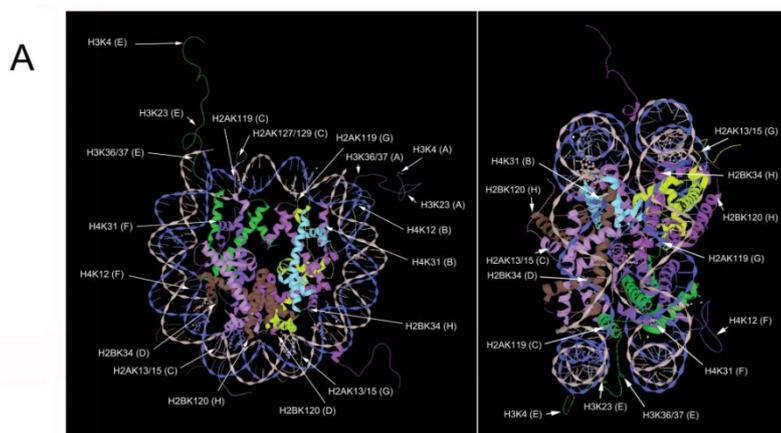
**Новая концепция эпигенетического «структурного кода» активности.**

Выдвинута новая концепция эпигенетического «структурного кода» активности хроматина, наряду с существующей концепцией «сигнального кода» активности хроматина. Обе концепции отражают действие «эпигенетической программы» регуляции активности генома, задаваемой через модификацию гистонов нуклеосом. В соответствии с общепринятой концепцией «сигнального кода» такая программа реализуется как разметка топологически консервативного хроматина модифицированными нуклеосомами. Соответствующие данной концепции «небольшие» модификации гистонов (фосфорилирование, ацетилирование и т.п.) только умеренно модулируют спонтанную динамику и стабильность нуклеосом через изменения локальных зарядов в субдоменах гистонов. Регуляция работы генома осуществляется за счет локальных смещений нуклеосом.

Новая концепция рассматривает механизм глобальной реорганизации структуры хроматина, связанный с взаимодействием модифицированных нуклеосом и ДНК. Соответствующие данной концепции модификации гистонов «объемными» лигандами (убиквитилирование и сумоилирование) вызывают стерические помехи при взаимодействии составных элементов нуклеосомы, что формирует высокодинамичные конформации нуклеосом и, в конечном итоге, нуклеосомные интермедиаты с измененной первичной структурой/ составом (рис. (А)). Суммарные нуклеосомные эффекты от H2В-убиквитилирования и напряжений в ДНК предполагают, что топология ДНК может играть роль в формировании стабильного профиля генной активности, являясь детерминантами эпигенетического кода активности хроматина (рис. (В)). Например,

«неканонические» структуры ДНК («крестообразные» структуры, палиндромы, «шпильки» и т.п.) могут действовать как «опосредственно» - регулируя уровень напряжений ДНК, так и «напрямую» - регулируя распределение нуклеосом путем физического «вытеснения» нуклеосом из ДНК.

В поддержку выдвинутой концепции нами впервые показано, что некоторые модификации – например, убиквитилирование гистонов H2ВK34ub и H2ВK120ub - способны непосредственно изменять структуру и динамику нуклеосом. Впервые показан кооперативный эффект убиквитилирования гистонов и топологии ДНК на структуру и динамику хроматина.



(А) Структура нуклеосом (PDB 1kx5), показывающая позиции для некоторых «объемных» («bulky») пострансляционных модификаций

гистонов (PTM; posttranslational histone modifications), включая H2ВK34ub/ H2ВK120ub. (В) В дополнение к сигнальным меткам, распознаваемым нижестоящими («downstream») регуляторными факторами, «код» модификаций гистонов может «программировать» стабильные конформационные состояния нуклеосом, которые отличаются от структуры канонической нуклеосомы и обладают другими функциональными свойствами.

1. Krajewski W.A. Ubiquitylation: How Nucleosomes Use Histones to Evict Histones // Trends in Cell Biology. 2019. DOI: 10.1016/j.tcb.2019.06.002. **WoS, Scopus – Q1. IF = 16,588**

2. Krajewski,W.A., Vassiliev O.L. Analysis of histone ubiquitylation by MSL1/MSL2 proteins in vitro // Archives of Biochemistry and Biophysics. 2019. V. 666. Is. 15. P. 22-30. DOI: 10.1016/j.abb.2019.03.015. **WoS, Scopus – Q2. IF = 3,559**

**Изменение активности канонического Wnt каскада в эксперименте приводит к формированию плана строения, характерного для другого вида.**

Как в ходе эволюции сформировалось разнообразие планов строения животных? Авторы приблизились к ответу на этот вопрос благодаря изучению развития представителя типа Cnidaria, гидроида *Dynamena pumila*. Морские гидроиды формируют архитектурно сложные колонии с разнообразными паттернами ветвления (Рис. 1 А). Целью исследования было выявить молекулярные механизмы, обеспечивающие регуляцию развития колонии гидроидов.

Показано, что ключевые компоненты канонического Wnt каскада (сWnt) вовлечены в разметку ветвящегося побега колонии и спецификацию его регионов. Это  $\beta$ -catenin, tcf и сWnt-зависимый ген *brachyury 2*. Полученные данные позволяют предположить, что сWnt путь - эволюционно консервативный регулятор морфогенезов ветвления, характерных и для современных позвоночных. Особенно интересно, что фармакологическое изменение активности сWnt пути приводит к радикальному изменению плана строения колонии *Dynamena*: в экспериментах она демонстрирует паттерны ветвления, характерные для других видов гидроидов (Рис. 1 Б - Г). Таким образом, изменение активности сWnt пути могло выполнять ключевую роль в диверсификации планов строения колониальных книдарий. Относительно небольшие изменения активности сигнальных путей могли приводить к драматическим преобразованиям траекторий развития и формирующихся на их основе планов строения животных.

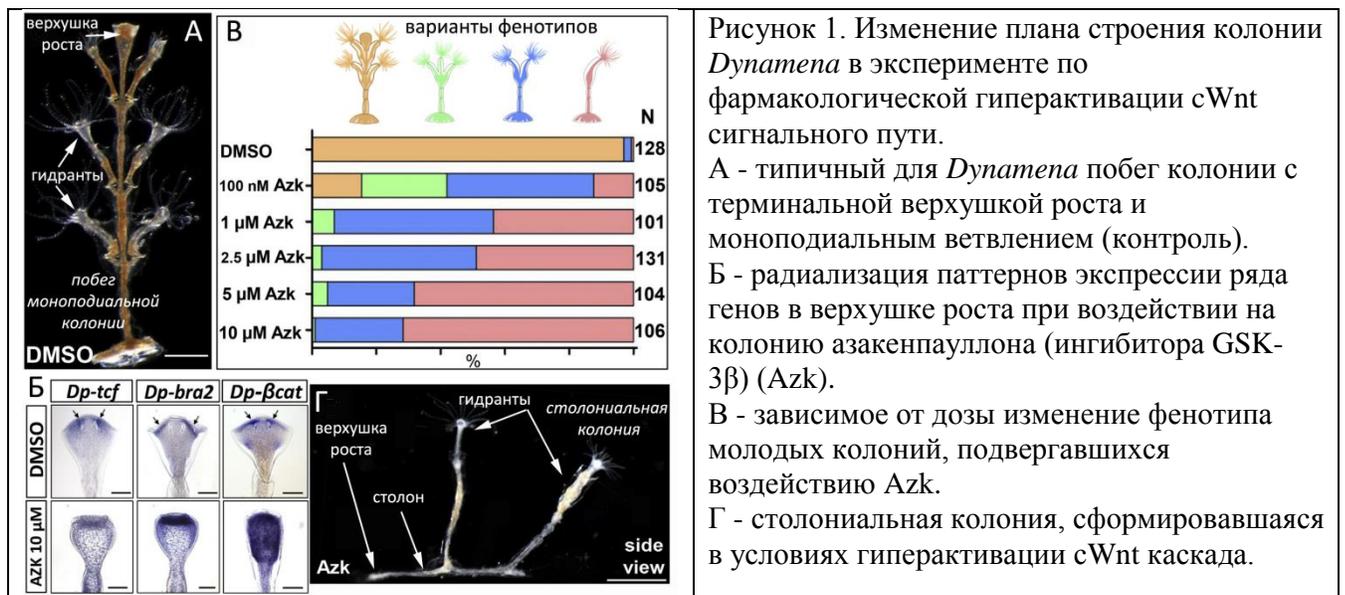


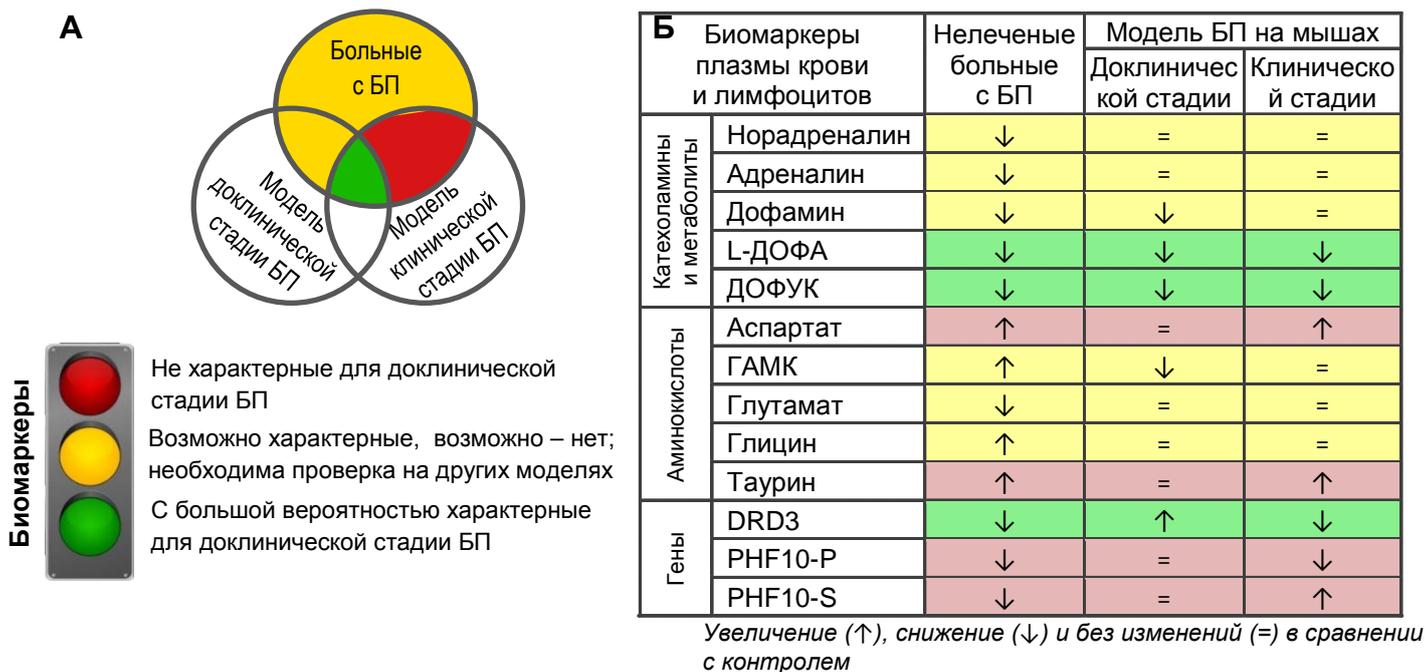
Рисунок 1. Изменение плана строения колонии *Dynamena* в эксперименте по фармакологической гиперактивации сWnt сигнального пути. А - типичный для *Dynamena* побег колонии с терминальной верхушкой роста и моноподиальным ветвлением (контроль). Б - радиализация паттернов экспрессии ряда генов в верхушке роста при воздействии на колонию азакенпауллона (ингибитора GSK-3β) (Azk). В - зависимое от дозы изменение фенотипа молодых колоний, подвергавшихся воздействию Azk. Г - столонияльная колония, сформировавшаяся в условиях гиперактивации сWnt каскада.

Bagaeva T.S., Kupaeva D.M., Vetrova A.A., Kosevich I.A., Kraus Yu.A., Kremnyov S.V.. cWnt signaling modulation results in a change of the colony architecture in a hydrozoan // *Developmental Biology*, DOI: 10.1016/j.ydbio.2019.08.019. WoS, Scopus - Q2. IF 2,936

Авторы: д.б.н., акад. РАН М.В. Угрюмов, к.б.н. А.Р. Ким

### Выявлены специфические маркеры доклинической стадии болезни Паркинсона.

Одним из глобальных вызовов XXI века является борьба с нейродегенеративными заболеваниями, такими как болезнь Паркинсона (БП). До сих пор, ни один больной с БП не был вылечен, поскольку это заболевание диагностируется через десятки лет после его начала, при гибели большей части нейронов мозга, ответственных за регуляцию двигательной функции. Поэтому важнейшей задачей является разработка ранней (доклинической) диагностики и превентивного лечения БП. К распространенным подходам к ее решению относится поиск периферических биомаркеров в крови больных. При этом, нет никаких гарантий, что биомаркеры, выявленные на клинической стадии БП, будут также характерны и для доклинической стадии. Как следствие, большинство выявленных к настоящему моменту биомаркеров БП являются неспецифичными. Авторы предложили принципиально новую методологию, основанную на сравнительном анализе биомаркеров, обнаруженных у пациентов с БП и на экспериментальных моделях доклинической и клинической стадий БП у мышей. Из 13 биомаркеров, обнаруженных у людей, 7 маркеров также проявлялись на модели клинической стадии БП, что указывает на то, что использованные МФТП модели по этим аспектам адекватно воспроизводят патогенез заболевания. Из вышеуказанных 7 маркеров только 3 проявлялись также и на модели доклинической стадии БП у мышей. Авторы предполагают, что именно эти маркеры: снижение концентрации L-ДОФА и ДОФУК в плазме и повышение экспрессии гена D3 рецепторов в лимфоцитах, – являются специфичными для доклинической стадии заболевания и у людей, и могут быть использованы для разработки ранней диагностики БП.



**Рисунок. 1.** Схема сравнительного анализа (А) и биомаркеры (Б), обнаруженные в крови больных с болезнью Паркинсона и экспериментальных моделей.

**Kim A., Nigmatullina R., Zalyalova Z., Soshnikova N., Krasnov A., Vorobyeva N., Georgieva S., Kudrin V., Narkevich V., Ugrumov M.** Upgraded Methodology for the Development of Early Diagnosis of Parkinson's Disease Based on Searching Blood Markers in Patients and Experimental Models // *Molecular Neurobiology*. 2019. V. 56. Is. 5. P. 3437-3450. DOI: 10.1007/s12035-018-1315-2. **WoS, Scopus – Q1. IF= 4,586**

Совместный проект Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Казанского государственного медицинского университета, Госпиталя ветеранов войн г. Казани, Института биологии гена РАН и НИИ фармакологии им. В.В. Закусова.

Авторы: Александр Ким (ИБР РАН), Разина Нигматуллина (КГМУ), Зулейха Залялова (ГВВ г. Казани), Наталья Сошникова (ИБГ РАН), Алексей Краснов (ИБГ РАН), Надежда Воробьева (ИБГ РАН), София Георгиева (ИБГ РАН), Владимир Кудрин (НИИ фармакологии), Виктор Наркевич (НИИ фармакологии), Михаил Угрюмов (ИБР РАН).

Работа финансируется программой Президиума РАН № 18 № ГЗ 0088-2019-0013