

Почти у всех изученных Metazoa система молекулярной разметки основной оси тела основана на каноническом каскаде Wnt (cWnt) и действует на протяжении всего эмбриогенеза. На одном из полюсов эмбриона под контролем cWnt формируются хорошо распознаваемые морфологические структуры, такие как бластопор (рис. 1а), то есть гастрология поляризована.

Однако у многих книдарий (базальные Metazoa, тип Cnidaria) гастрология морфологически апольярна и протекает как деламинация (рис. 1б, в). Возникает вопрос, контролирует ли cWnt морфогенетические процессы в гастрологии таких книдарий. Отвечая на этот вопрос, мы детально изучили эмбриональное развитие беломорского гидроида *Dynamena pumila*, вида с апольярной гастролой (рис. 1г-е). Мы обнаружили, что признаки морфологической полярности появляются у эмбриона только после окончания гастрологии (рис. 1ж, з), тогда как молекулярная разметка будущей оси компонентами cWnt существует уже во время гастрологии (рис. 1и, и'). Кроме того, гастрология *Dynamena* устойчива к изменению активности cWnt в эксперименте (рис. 1к, к', л, л'). Таким образом, у *D. pumila* гастрологические морфогенезы и разметка оси тела не связаны общей системой молекулярного контроля. Дальнейшее изучение апольярной гастрологии значительно расширит наше понимание того, как на молекулярном уровне связаны поляризованные гастрологические морфогенезы и разметка плана строения эмбриона.

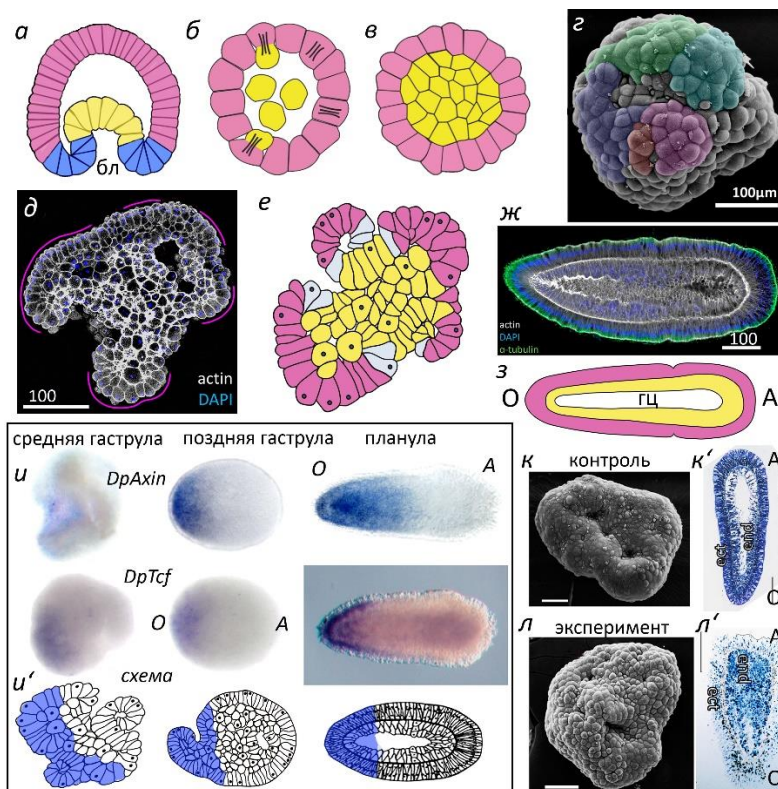


Рис. 1. Гастрология и молекулярная разметка оси тела *Dynamena*. Схемы (а-в, е, з, и'), розовый цвет - эктодерма, жёлтый - энтодерма, синий - экспрессия компонентов cWnt; электронная сканирующая микроскопия (з, к, л); конфокальная микроскопия (д, ж), гистология (к', л'). (а) Поляризованная гастрология книдарии *Nematostella*, бл - бластопор. (б, в) Апольярная гастрология книдарий. (г - е) Апольярная гастрология *Dynamena*: фрагменты эпителиальной эктодермы выделены разными цветами (г) или розовой линией (д). (ж, з) Личинка со сформированной орально-аборальной (ОА) осью. (и, и') Молекулярная разметка ОА оси, гибридизация *insitu*. (к, л) Устойчивость гастрологии по отношению к изменению активности cWnt: показаны гастролы (к, л) и личинки (к', л').

Автор: Воронежская Е.Е.

Материнский серотонин - связующее звено между факторами среды, формированием паттернов развития и поведенческой стратегией потомства .

Серотонин координирует множество физиологических процессов, непрерывно происходящих как во взрослом организме, так и во время формирования эмбриона. Мы впервые в деталях разобрали клеточный и молекулярный механизмы, лежащие в основе эпигенетической передачи сигнала о факторах внешней среды от матери потомкам. Результаты наших многолетних исследований позволили свести регуляционные эффекты серотонина на разных этапах развития в единую картину. Сезонные факторы и факторы окружающей среды приводят к повышению уровня серотонина в материнском организме. В результате активности мембранных транспортеров серотонин оказывается внутри клеток дробящихся бластомеров, где он служит субстратом для трансглутаминазы – фермента, осуществляющего посттрансляционную модификацию белков (серотонилирование), в том числе находящихся в ядрах плюрипотентных клеток эмбриона. В результате происходящих долговременных изменений появляется потомство с более быстрым развитием и активной локомоцией, негативным геотаксисом, повышенной выживаемостью и продуктивностью. Все эти признаки можно объединить в комплекс поведения, свойственный «мигрантным» особям.

На последующих нейрональных стадиях развития серотонин выделяется сенсорными нейронами зародыша в ответ на химические сигналы, выделяемые взрослыми животными при неблагоприятных условиях. В процессе развития экспрессия разных типов рецепторов серотонина на клетках эмбриона и связанных с ними G-белков динамически меняется. В результате темпы развития ускоряются или замедляются в ответ на внешние сигналы в зависимости от конкретной стадии развития.

Комбинация описанных серотонин-зависимых механизмов в процессе развития лежит в основе соответствующего адаптивного выбора жизненной стратегии потомства, что обеспечивает репродуктивный успех популяции и широкое распространение вида.

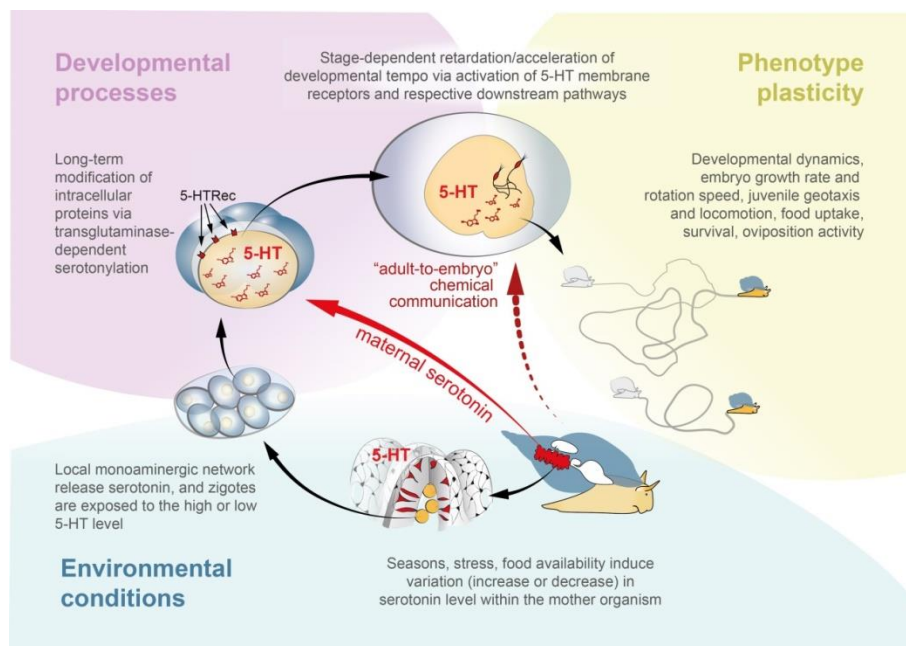


Рис. 1. Схема адапционных подстроек в стратегиях потомства, основанных на серотонин-опосредованных регуляторных механизмах (на примере жизненного цикла брюхоногих моллюсков).

Сплошная красная стрелка - прямое действие материнского серотонина на развивающиеся ооциты и зиготы (серотонилирование внутриклеточных белков). Пунктирная красная стрелка - химические сигналы, передаваемые от взрослых особей, которые

активируют высвобождение серотонина из специфических сенсорных нейронов эмбриона (активация мембранных рецепторов).

Voronezhskaya E.E. Maternal Serotonin: Shaping Developmental Patterns and Behavioral Strategy on Progeny in Molluscs // *Frontiers in Ecology and Evolution*. – 2021. – Vol. 9. – Art. no 739787. DOI: 10.3389/fevo.2021.739787. – Q1

ГЗ № 0088-2021-0008 Тема «Медиаторные, мембранные и внутриклеточные сигнальные факторы в развитии и реализации адаптационных программ».

Уникальные характеристики ферритинов холодноводных беломорских губок выявили особый кластер ферритинов у беспозвоночных

У всех живых организмов есть специализированные белки, контролирующие содержание железа в клетках — ферритины. Губки (Porifera), древнейшие многоклеточные водные животные, демонстрируют уникальный вид регенерации: восстановление полной структуры тела после диссоциации на отдельные клетки. В работе установлена структура генов ферритинов холодноводных морских губок *Halisarca dujardini* (*H.d.*) и *Halichondria panicea* (*H.p.*). У губки *H.p.* были найдены несколько близких консервативных ферритинов HpF1. У губки *H.d.* обнаружены три гена ферритина: HdF1a и HdF1b — консервативны и являются результатом недавней дупликации, а HdF2 имеет отличия не только от них, но и от большинства ферритинов эукариот. Согласно 3D-моделированию ферритины губок не связывают минерализованное железо, но связывают гем (gjlnd. Найдены свидетельства регуляции экспрессии ферритинов губок в зависимости от уровня железа и кислорода в среде, что обеспечивает их высокую жизнеспособность в приливно-отливной зоне арктических морей и пластичность клеток при реагрегации. С помощью биоинформатического анализа последовательностей 533 ферритинов 264 представителей всех отрядов беспозвоночных нам удалось выявить переходный кластер атипичных ферритинов, аналогичных HdF2 (Рис.1), секретируемых не с помощью сигнального пептида, как ферритины насекомых, а с помощью специального белкового xRGG-домена. Изучение особых ферритинов беспозвоночных расширит использование ферритинов в качестве «нанокейса для лекарств» в медицине.

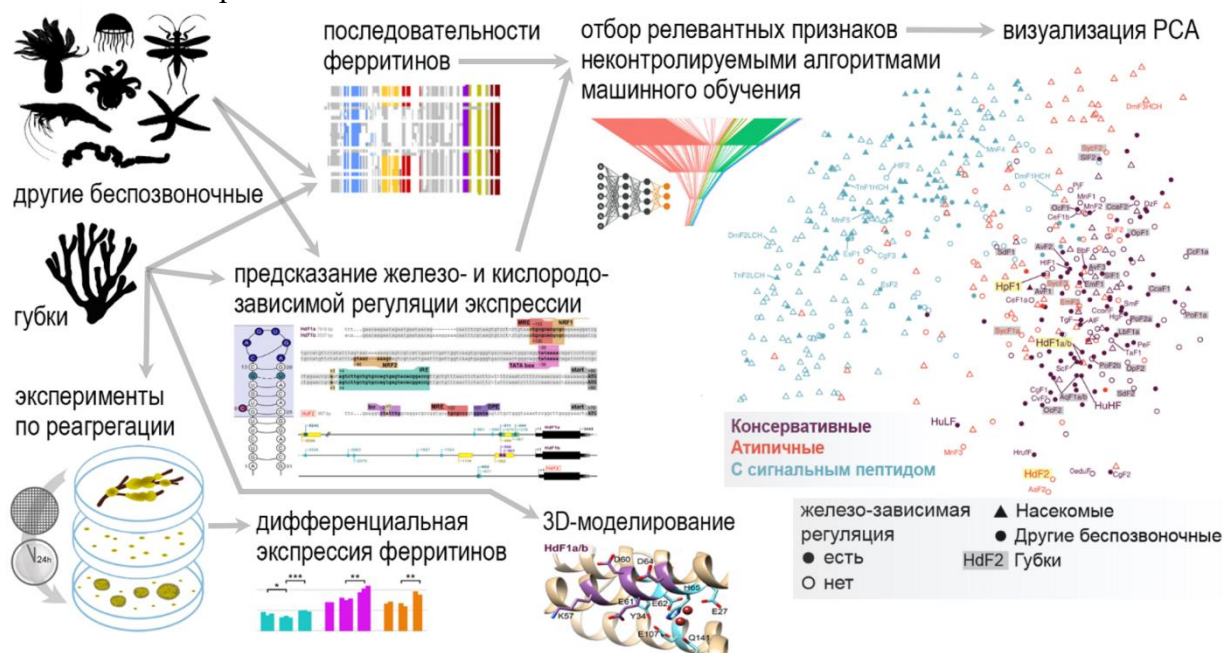


Рисунок 1. Схема методов исследования ферритинов губок и других беспозвоночных. Справа приведен график по методу главных компонент (PCA), построенный по выбранному неконтролируемым алгоритмами машинного обучения подмножеству признаков (474 из 6567) для 533 белковых последовательностей ферритинов 264 видов беспозвоночных. Ферритины губок *H.d.* и *H.p.* выделены желтым цветом, кластер атипичных ферритинов — красным.

Adameyko K.I.¹, Burakov A.V., Finoshin A.D.¹, Mikhailov K.V., Kravchuk O.I.¹, Kozlova O.S., Gornostaev N.G.¹, Cherkasov A.V., Erokhov P.A.¹, Indeykina M.I., Bugrova A.E., Kononikhin A.S., Moiseenko A.V., Sokolova O.S., Bonchuk A.N., Zhegalova I.V., Georgiev A.A., Mikhailov V.S.¹, Gogoleva N.E., Gazizova G.R., Shagimardanova E.I., Gusev O.A., **Lyupina Yu.V.**¹ Conservative and Atypical Ferritins of Sponges//International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22. Is. 16. Art no. 8635. DOI: 10.3390/ijms22168635. – Q1.

Разработка инновационного подхода противоопухолевой терапии

В аденокарциноме прямой кишки человека выявлена наиболее активная форма протеасом – LMP2- β 5-PA28 $\alpha\beta$, не характерная для нормальной ткани, удаленной от опухоли на 2 см. Предполагается, что эта форма участвует в образовании специфических пептидов, подавляющих противоопухолевую активность иммунных клеток. В этой связи рассматривается возможность более специализированного и узконаправленного подхода к противоопухолевой терапии, основанного на ингибировании этой формы протеасом при условии адресной доставки препаратов против LMP2- β 5-PA28 $\alpha\beta$ в опухолевые клетки. Отсутствие изменений в пуле протеасом, специфичных для данного типа рака, на расстоянии от 2 см до 20 см от опухоли, может служить важным аргументом при определении границ резекции кишечника, прилегающего к опухоли.

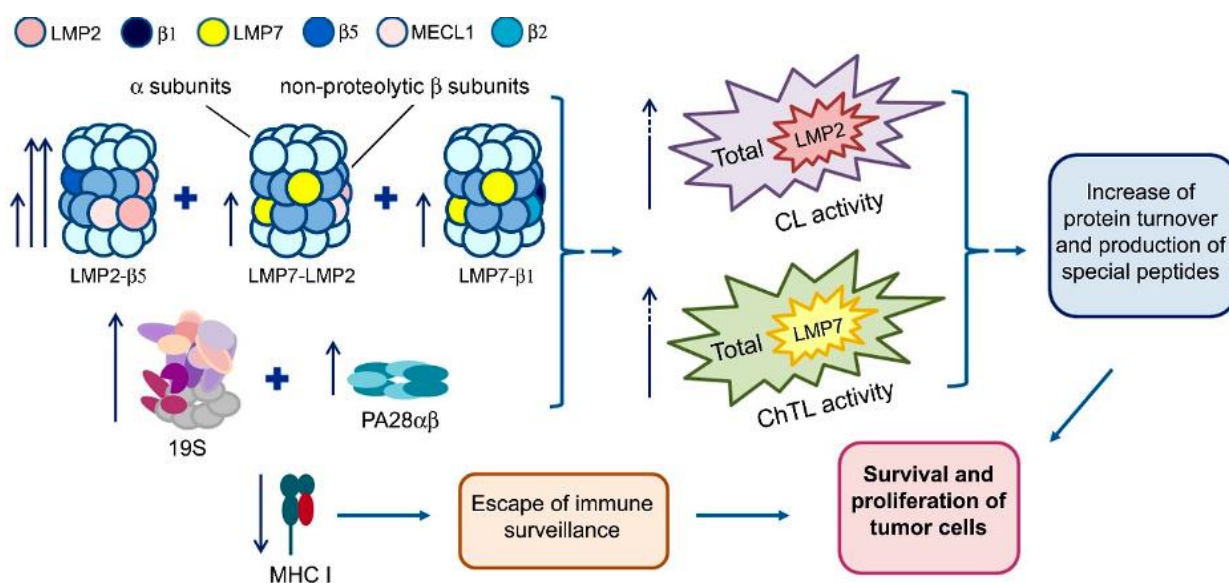
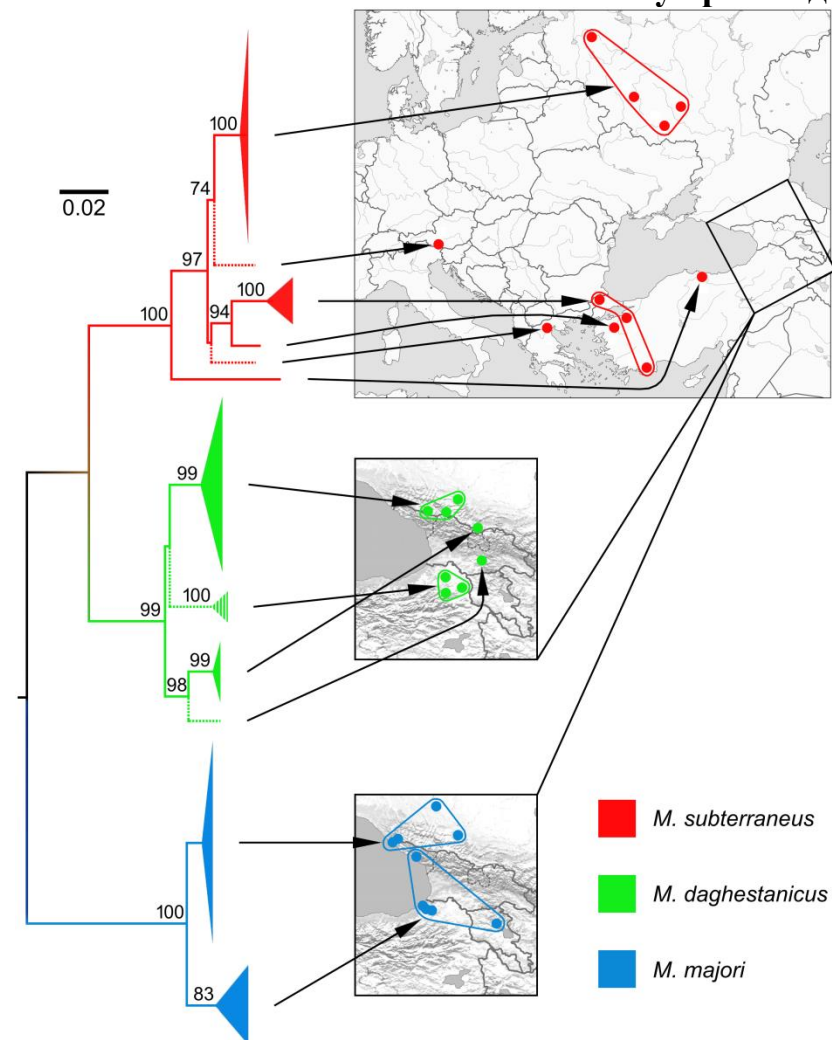


Схема. Изменения экспрессии протеолитических субъединиц протеасом, активаторов 19S и PA28 $\alpha\beta$ протеасом и молекул ГКГ класса 1 в аденокарциноме прямой кишки человека. Результатом повышенной экспрессии иммунных субъединиц LMP2 и LMP7, особенно LMP2, и активаторов протеасом явилось образование новых активных форм протеасом, обеспечивающих обмен белков и продукцию специфических пептидов в опухолевых клетках.

Pavel A. Erokhov, Alexey M. Kulikov, Yaroslava D. Karpova, Grigory V. Rodoman, Ilia R. Sumedi, Artem L. Goncharov, Dmitry V. Razbirin, Vera S. Gorelova, Natalia P. Sharova, and Tatiana M. Astakhova.

Proteasomes in Patient Rectal Cancer and Different Intestine Locations: Where Does Proteasome Pool Change? *Cancers*, 2021, V.13, 1108. <https://doi.org/10.3390/cancers13051108>; Q1.

Высокая генетическая изменчивость у трёх видов полёвок подрода *Terricola* и её возможные причины

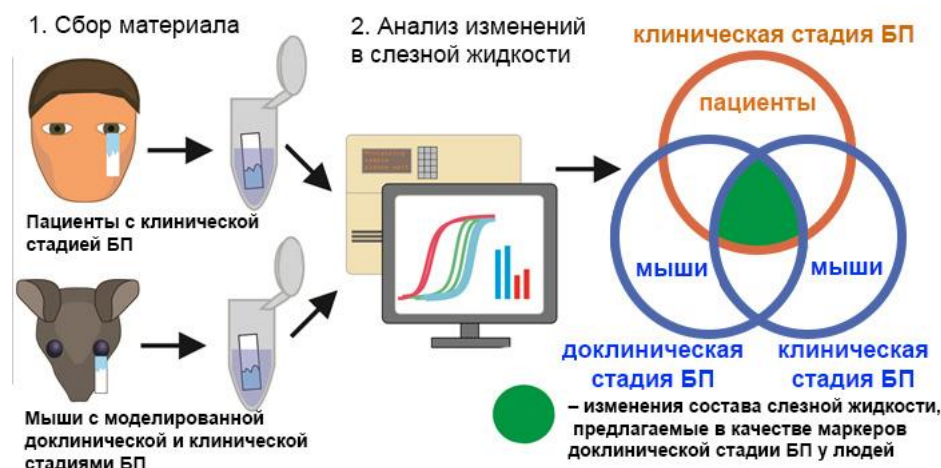


Кустарниковые полёвки (род *Microtus*, подрод *Terricola*) – многочисленная по числу видов и внутривидовых форм группа грызунов, являющаяся удобным объектом для изучения механизмов видообразования, а также синхронности эволюционных изменений генетических и морфологических признаков. Посредством анализа полного митохондриального гена *cytb* и фрагментов ядерных генов *BRCA1*, *IRBP* и *XIST*, нами исследована дифференциация трёх видов подрода *Terricola*: *M. subterraneus*, *M. daghestanicus* и *M. majori*. Показано, что каждый из них характеризуется специфическим внутривидовым полиморфизмом, и различия в паттернах дифференциации этих видов обусловлены их разными экологическими предпочтениями. У *M. majori* нами впервые обнаружены две близкие формы, отличающиеся по генам *cytb* и *XIST*; одна из этих форм населяет северные склоны Большого Кавказа, другая – Закавказье (рис. 1). У *M. daghestanicus* выявлена обособленность североосетинских популяций от всех прочих. У *M. subterraneus* наиболее гетерогенными оказались популяции юга Европы и Малой Азии; не исключена принадлежность популяций из северной части Анатолии к отдельному криптическому виду. Несмотря на полиморфизм по числу хромосом в популяциях *M. subterraneus*, населяющих Русскую равнину, они, по нашим данным, имеют обеднённый генофонд, что указывает на позднее (голоценовое) вселение вида на указанную территорию. Нами установлено, что изменчивость по числу хромосом в европейских популяциях *M. subterraneus* возникла в результате сравнительно редкой мутации – разделения пары метацентриков на акроцентрики (а не путём робертсоновского слияния, как считалось ранее) и быстрой фиксации этой перестройки в северо-восточной части ареала.

← Рис. 1. Дендрограмма, построенная методом Maximum Likelihood по результатам сравнительного анализа полного гена цитохрома *b* у трёх видов полёвок подрода *Terricola*. Кластеры и ветви, не поддерживаемые анализом ядерных генов, изображены пунктиром и штриховкой.

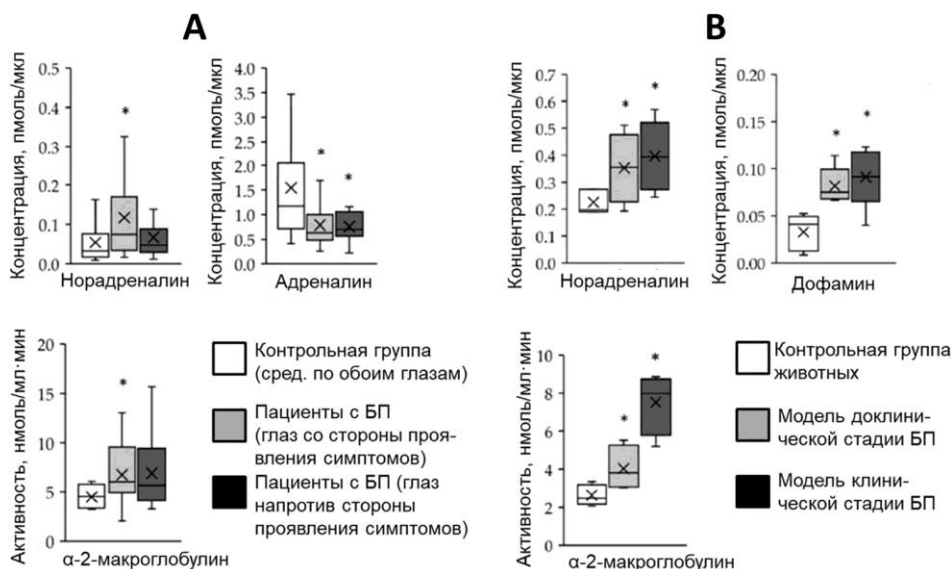
Разработка нового метода ранней диагностики болезни Паркинсона

Проявление двигательных симптомов при болезни Паркинсона (БП) является показателем далеко зашедшего процесса гибели nigrostriatalных дофаминергических нейронов – центрального звена регуляции моторной функции, а также истощения компенсаторных резервов мозга. Отсюда следует, что успех в лечении БП определяется возможностью ее диагностирования на ранней (доклинической) стадии. Нами был предложен новый метод разработки ранней диагностики БП, основанный на селекции среди биомаркеров, обнаруженных в гуморальных средах у больных ранней клинической стадии, только тех из них, которые также характерны для животных на моделях доклинической и клинической стадий этого заболевания. Объектом изучения стала слезная жидкость, которую можно неинвазивно собирать у пациентов и у животных, и состав которой, согласно современным исследованиям, меняется при нейродегенерации.



У нелеченых пациентов на ранней стадии БП нами показано увеличение концентрации норадреналина в слезе в глазу со стороны проявления двигательных симптомов и снижение концентрации адреналина в слезе обоих глаз. Также показано, что в слезной жидкости у пациентов при БП повышается активность белка α -2-макроглобулина по сравнению с контрольной группой. В слезе

у животных на моделях доклинической и клинической стадий БП нами также было отмечено увеличение концентрации норадреналина и дофамина и повышение активности α -2-макроглобулина по сравнению с контролем. Таким образом, основываясь на предложенном нами методе, повышение концентрации норадреналина и увеличение активности α -2-макроглобулина, обнаруженные как у больных, так и на животных моделях БП, можно считать перспективными диагностическими биомаркерами БП на доклинической стадии развития заболевания.



Концентрация моноаминов и активность α -2-макроглобулина в слезной жидкости у пациентов (А) и на мышинных моделях доклинической и клинической стадий болезни Паркинсона (В)

Авторы: к.б.н. Брандлер О.В., к.б.н. Капустина С.Ю.

Факторы межвидовой гибридизации у высокосоциальных колониальных млекопитающих

Гибридизация является одним из мощных факторов эволюции живых организмов. Механизмы сохранения специфичности и интеграции видовых геномов при межвидовой гибридизации в природе практически не изучены, более того, у млекопитающих межвидовая гибридизация долгое время не признавалась. Зоны вторичного контакта видов могут рассматриваться как природная лаборатория для изучения микроэволюционных процессов. Изучена модельная система гибридной популяции двух видов сурков *Marmota baibacina* и *M. sibirica* в зоне их вторичного контакта в горах Монгольского Алтая. На основе генотипирования особей, биоакустического и экологического анализа обнаружена интенсивная межвидовая гибридизация, локально ограниченная территорией с субоптимальными условиями обитания (рисунок). Высокая доля гибридов указывает на отсутствие или низкую эффективность посткопулятивных репродуктивных барьеров между этими видами. Подтверждено положение о том, что у высокосоциальных колониальных млекопитающих более эффективными являются прекопулятивные механизмы изоляции. Экологические и поведенческие особенности являются более значимыми факторами как нарушения межвидовых репродуктивных барьеров, так и сохранения целостности видовых геномов.

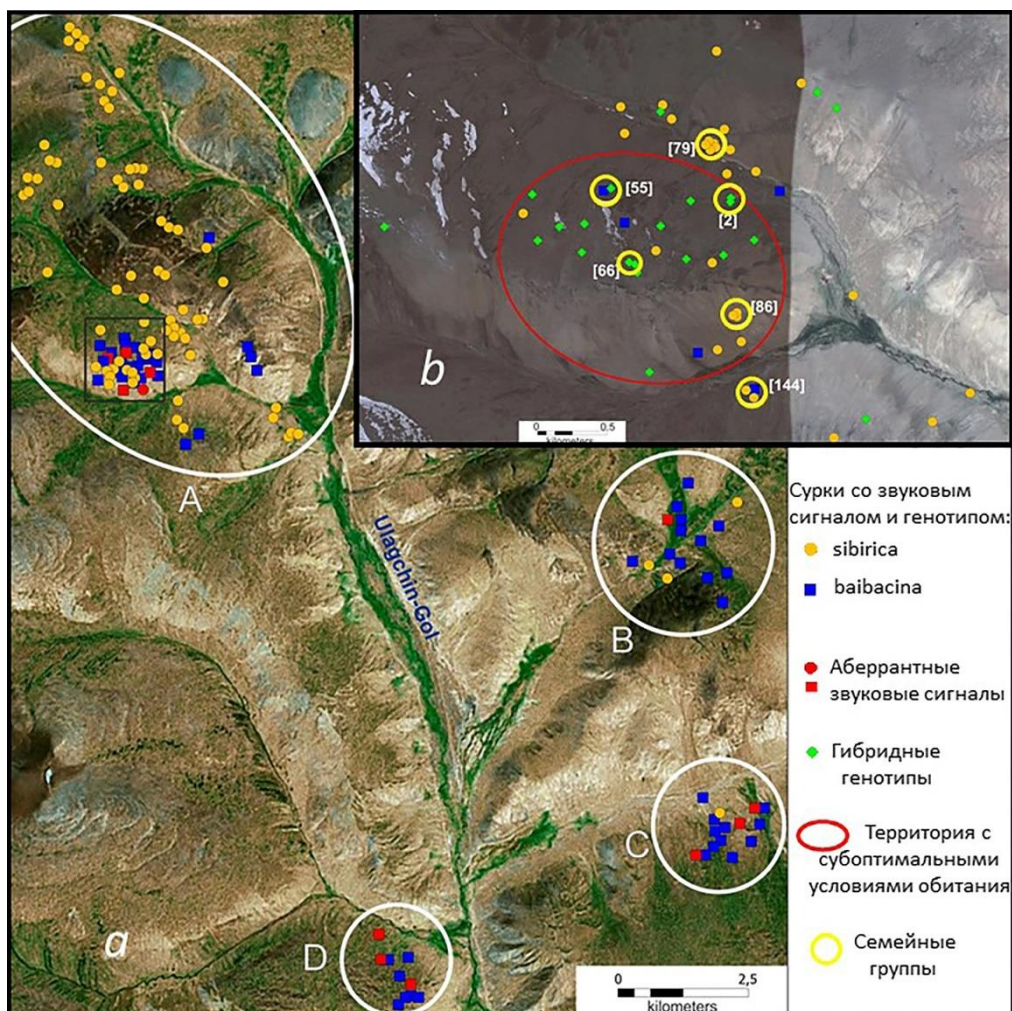


Рисунок. Пространственное распределение двух видов сурков *Marmota baibacina* и *M. sibirica* и гибридов в смешанной популяции на основе анализа акустических сигналов (a) и генотипирования (b). A–D (a) – места записи аудиосигналов.

Brandler O.V., Kapustina S.Yu., Nikol'skii A.A., Kolesnikov V.V, Badmaev B.B., Adiya Ya. A Study of Hybridization Between *Marmota baibacina* and *M. sibirica* in Their Secondary Contact Zone in Mongolian Altai // *Frontiers in Ecology and Evolution*. Special issue "Ecological, behavioral and genomic consequences in the rodent family Sciuridae: Why squirrels are so diverse?" 9:555341. doi:10.3389/fevo.2021.555341. Q1
Госзадание ИБР РАН № 0088-2021-0019 и проект РФФИ 20-04-00618.

совместно с ИППИ РАН

№ ГЗ 0088-2021-0008 «Медиаторные, мембранные и внутриклеточные сигнальные факторы в развитии и реализации адаптационных программ»

Частотная настройка роящихся самцов комаров (*Aedes communis*, Culicidae) и его нейронные механизмы

Принято считать, что слух нужен кровососущим комарам прежде всего для внутривидовой коммуникации. Самцы комаров привлекаются звуком полёта самок, хорошо знакомым многим теплокровным животным, включая человека. Исходя из этого, слуховую чувствительность комаров до сих пор оценивали по эффективности их приманивания к источнику звука. Но известно, что реакции комаров на звук не ограничиваются привлечением. Кроме того, характеристики слуха комаров, измеренные в лаборатории физиологическими методами, отличались от поведенческих, измеренных в свободном полёте.

Мы разработали методику, позволяющую зарегистрировать другой тип реакции на звуковой сигнал — кратковременное ускорение полёта роящихся комаров. Для оценки скорости летящих комаров мы использовали видеозапись с последующим видеотрекингом. Методика универсальна и может использоваться для измерений слуховой чувствительности различных роящихся насекомых, не только комаров. С помощью этой методики мы измерили чувствительность слуха комаров *Aedes communis* в природных условиях, которая оказалась довольно высокой: в среднем 26 дБ УЗД на частотах 180–220 Гц. Одновременно с полевыми экспериментами, в электрофизиологических опытах на тех же комарах мы обнаружили два типа слуховых нейронов: более чувствительные широкополосные нейроны и менее чувствительные, настроенные на узкий диапазон частот звука. Мы предлагаем, что первый тип обеспечивает обнаружение сигнала, в то время как второй используется для определения частоты звука и дальнейшего выбора адекватного поведения.

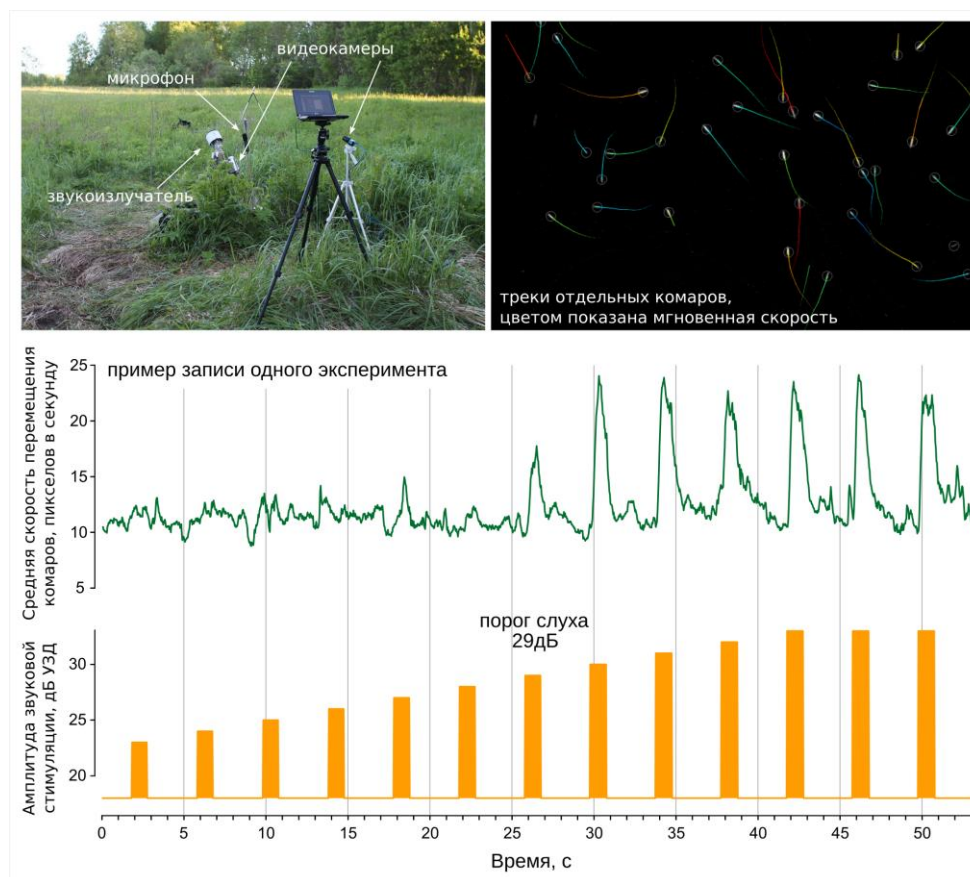
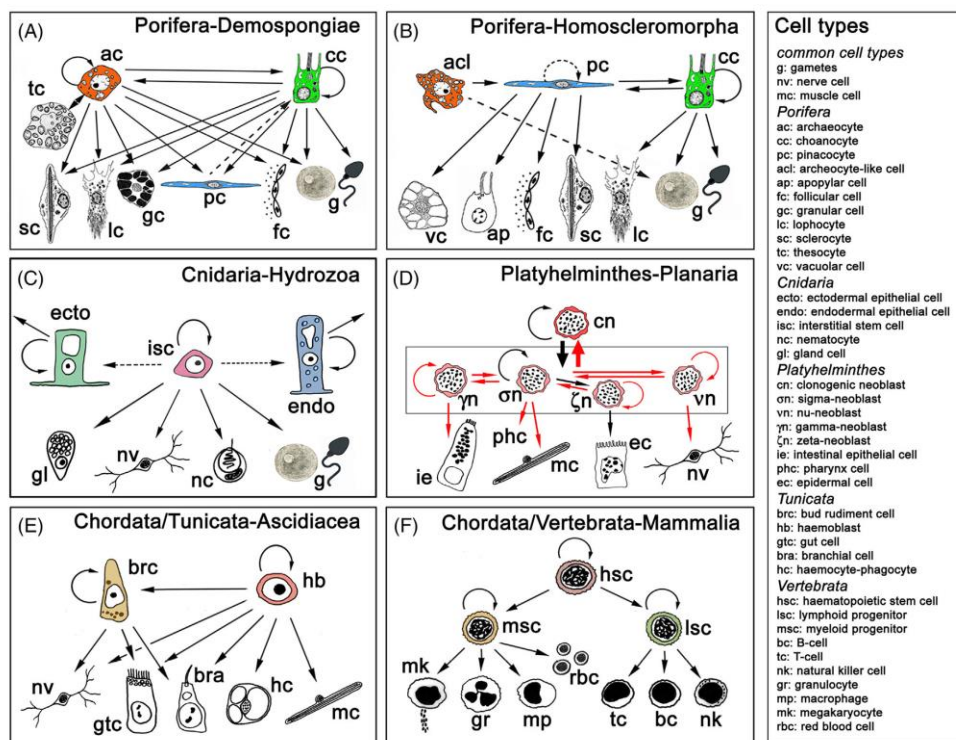


Рисунок 1. Методика регистрации скорости полёта роящихся комаров в ответ на звук. На фото показана развернутая в поле экспериментальная установка. Справа от неё — один кадр видеозаписи, прошедший компьютерную обработку, с нанесенными на него треками комаров. Внизу — график изменения скорости полёта роящихся комаров на фоне повторяющихся звуковых стимулов с возрастающей амплитудой.

Автор: д.б.н. Ересковский А.В. «Пан-метазойная концепция соматических стволовых клеток: колеблющийся ландшафт Пенроуза».

Предложена оригинальная концепция соматических стволовых клеток (Adult stem cells ASC) водных беспозвоночных. Показано, что ASC у них возникают на разных стадиях жизненного цикла и представляют собой как дифференцированные, так и недифференцированные фенотипы; они также могут обладать амебоидным движением. Многочисленные, преимущественно морские, типы беспозвоночных обладают большими пулами реальных ASC на протяжении всей жизни организма, большинство из которых мульти-, плюри- и даже тотипотентны с высоким потенциалом дифференцировки в пределах более чем одного зародышевого листка. Они могут возникать *de novo* путем трансдифференцировки из соматических и даже из половых клеток без признаков секвестрации зародышевых клеток и являются ключевыми участниками таких явлений, как регенерация всего тела, почкование, покой и рост. ASC у беспозвоночных представляют широкий спектр специфичных для филумов и характерных типов клеток. Они обычно не имеют специальных ниш стволовых клеток. Эти клетки могут экспрессировать маркеры зародышевых клеток, но часто не выделены в зародышевую линию. Они также экспрессируют ортологи многих генов «стволовости» позвоночных, а также генов, которые вносят вклад в «потенциал стволовых клеток» раковых клеток. ASC беспозвоночных являются единицами естественного отбора. Многие ключевые признаки ASC у беспозвоночных отличаются от тех, которые характерны ASC позвоночных,



для которых характерно то, что они являются долгоживущими, ограниченными по происхождению, клоногенными и покоящимися клетками, имеющими свои ниши. Такие ASC в основном редки, морфологически недифференцированы и подвергаются асимметричному клеточному делению.

Рис. 1. Динамика пластичности у некоторых линий соматических стволовых клеток животных (ASC). ASC выделены цветом,

продукты дифференциации показаны черно-белыми схемами. Превращение одного типа ASC в другой происходит у губок и гидрозоа, а также внутри линии необластов у плоских червей (A – D). Дифференциация гамет как потомков ASC является общей чертой у губок и гидрозоа (A, B). Источники видов: (A) *Amphimedon queenslandica*, *Ephydatia fluviatilis*; (B) *Oscarella lobularis*; (C) *Hydractinia* spp., *Hydra vulgaris*; (D) *Schmidtea mediterranea*; (E) *Botryllus schlosseri*, *Ciona robusta*; (F) *Homo sapiens*.

Rinkevich, B., Ballarin, L., Martinez, P., Somorjai, I., Ben-Hamo, O., Borisenko, I., Berezikov, E., **Ereskovsky, A.**, Gazave, E., Khnykin, D., Manni, L., Petukhova, O., Rosner, A., Röttinger, E., Spagnuolo, A., Sugni, M., Tiozzo, S., Hobmayer, B. 2021. A pan-metazoan concept for adult stem cells: The wobbling Penrose landscape. *Biological Reviews*. IF : 12.820, Q1. doi: 10.1111/brv.12801. ПИНЦ, Scopus, WoS.

Как усмирить окислительный стресс при мышечной дистрофии?

Окислительный стресс связан со многими заболеваниями человека, от СПИДа до рака. Поэтому имеет смысл лечить эти заболевания антиоксидантами, но, несмотря на их эффективность в моделях *in vitro*, антиоксиданты имели очень ограниченный успех во многих клинических испытаниях. Это относится к лице-лопаточно-плечевой дистрофии (ЛЛПМД), аутосомно-доминантному наследственному заболеванию, характеризующемуся прогрессирующей мышечной слабостью и дегенерацией. *DUX4*, транскрипционный фактор, вызывающий ЛЛПМД, вызывает окислительный стресс в миобластах, который может быть обращен вспять лечением антиоксидантами, но клинические испытания с использованием антиоксидантов у пациентов с ЛЛПМД не были успешными.

Анна Крапухина, аспирант ИБР РАН и ее научный руководитель Егор Васецкий разработали оригинальную стратегию, направленную на выявление генов и путей, deregulированных при ЛЛПМД через окислительный стресс, а не непосредственно через *DUX4* (Рис.1).

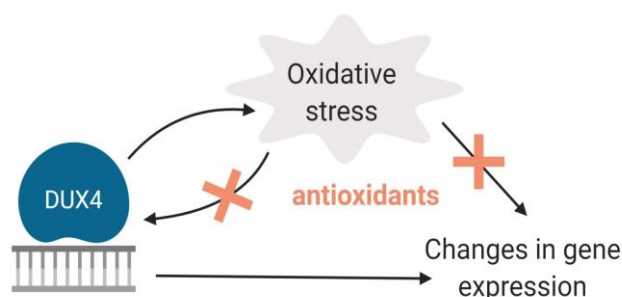


Рисунок 1. Схема идентификации генов, регулируемых *DUX4* через окислительный стресс.

Мы определили 200 генов, экспрессия которых deregulируется под действием *DUX4*, но нормализуется при лечении антиоксидантами (Рис. 2). В качестве доказательства они ингибировали один из этих генов, *PITX1*, и это частично устранило дефекты дифференцировки миобластов, экспрессирующих *DUX4*. Этот подход может быть использован для выявления и нацеливания на окислительно-восстановительные гены, вовлеченные в другие заболевания человека.

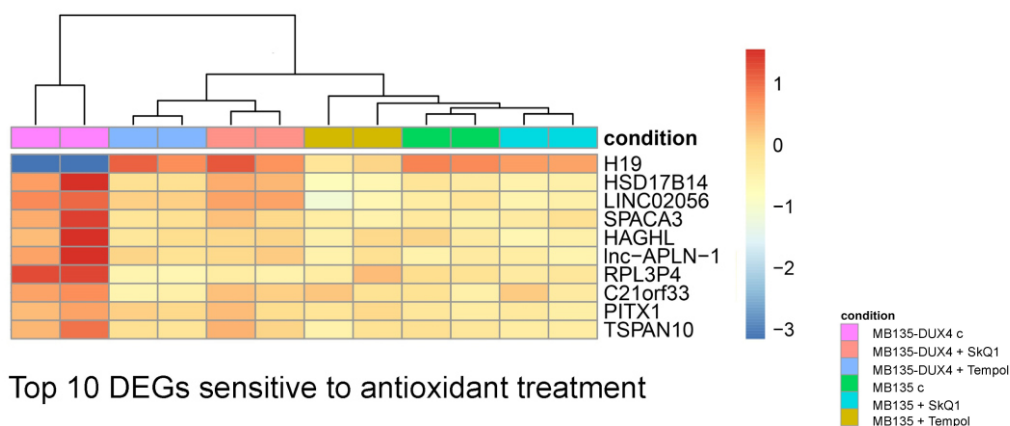


Рисунок 2. Гены, чувствительные к обработке антиоксидантами

Эта работа, выполненная в сотрудничестве с французскими коллегами в рамках Международной исследовательской сети (IRN) ONCO3D под руководством Егора Васецкого, была недавно опубликована в журналах *Redox Biology* и *Trends in Molecular Medicine*.

1. Karpukhina, A., Galkin, I., Ma, Y., Dib, C., Zinovkin, R., Pletjushkina, O., Chernyak, B., Popova, E. and VASSETZKY, Y.S. (2021) Analysis of genes regulated by *DUX4* via oxidative stress reveals potential therapeutic targets for treatment of facioscapulohumeral dystrophy. **Redox Biology**, DOI: 10.1016/j.redox.2021.102008 **IF=11.8 Q1**
2. Karpukhina, A., Tiukacheva, E., Dib, C., and VASSETZKY, Y.S. (2021) Control of *DUX4* expression in FSHD and cancer: from feedback loops to chromatin loops. **Trends in Molecular Medicine**, 27:588-601 DOI: 10.1016/j.molmed.2021.03.008 **IF=11.9 Q1**

Центральный биологический феномен вида может быть универсально обозначен, как “многоуровневое разнообразие организмов”: предлагается новый подход и обновленный практический набор методов для исследования биологического разнообразия.

На основе обширного набора молекулярных и морфологических данных для широко распространенных, но трудно различимых европейских видов рода *Polycera* (Nudibranchia, Mollusca) показано, что так называемые «криптические» и «не криптические» компоненты могут присутствовать в пределах одного и того же вида. Поэтому разделение биологического разнообразия на «криптическое» и «не криптическое» контрпродуктивно. Вместо этого предлагается универсально обозначить центральное биологическое явление вида, как “многоуровневое разнообразие организмов” и дается обновленный практический набор методов для его изучения.

В исследуемом видовом комплексе “*Polycera quadrilineata*” выделены четыре вида, в том числе один новый для науки вид *Polycera kernowensis* sp. nov. Хроматический полиморфизм для каждого из этих четырех видов картирован в форме периодического паттерна и совмещен с молекулярно-филогенетическим анализом и статистическим анализом диагностических признаков. Подобный подход облегчил идентификацию видов в этом сложном комплексе, а также выявил имеющиеся ошибки в оценке его видовой принадлежности.

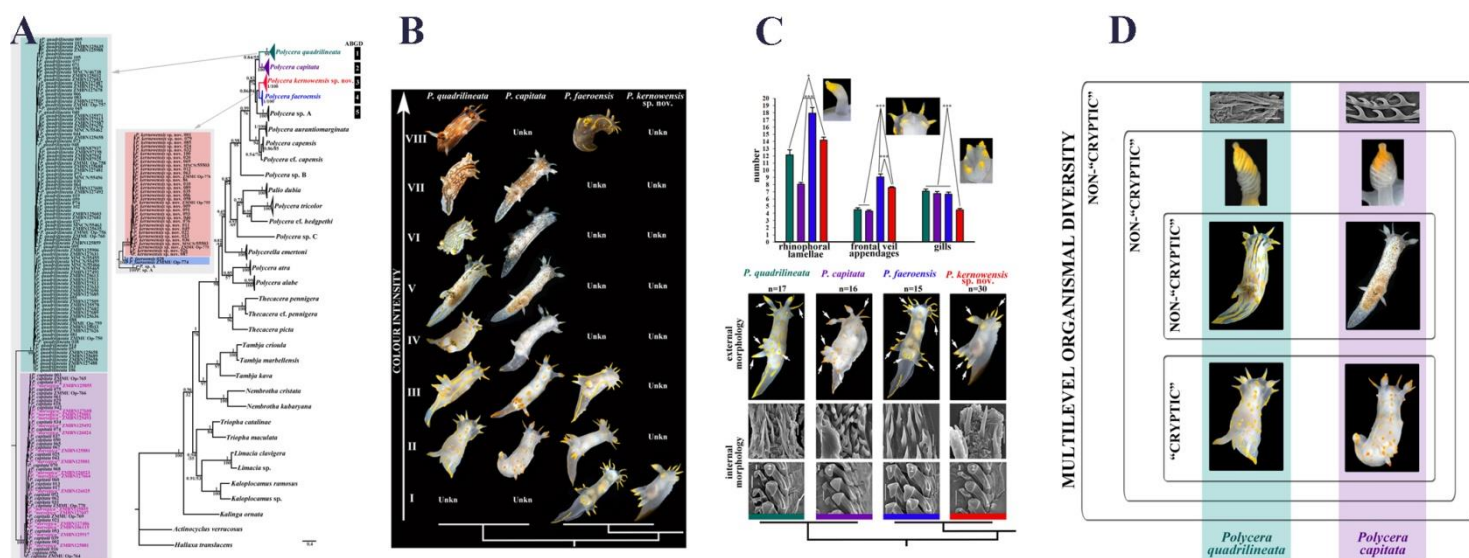


Рис. 1. А. Филогенетические отношения четырех близких видов рода *Polycera* на основе молекулярных маркеров. В. Периодическая таблица цветовых паттернов окраски. С. Анализ на основе комплекса внешних и внутренних морфологических признаков и молекулярно-филогенетических данных. D. Иллюстрация подхода “Multilevel organismal diversity” (многоуровневое разнообразие организмов).

Korshunova T.A., Driessen F.M.F., Picton B.E., Martynov A.V. The multilevel organismal diversity approach deciphers difficult to distinguish nudibranch species complex//Scientific Reports. 2021. Vol. 11. Is. 1. Art. no. 18323. DOI: 10.1038/s41598-021-94863-5. – Q1.

Авторы: д.м.н. Лядова И.В., к.б.н. Ненасева Т.А., к.б.н. Шевелева О.Н., к.б.н. Саковнич О.А., Антонов Д.А.

Отработка методики получения макрофагов человека из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток.

Макрофаги – клетки врожденного иммунитета, играющие важную роль в поддержании гомеостаза, элиминации патогенов, развитии и регуляции воспаления, инициации адаптивного иммунного ответа, а также заживлении тканей. Нарушение функций макрофагов является важным звеном патогенеза многих заболеваний. В связи с этим понимание механизмов функционирования макрофагов крайне важно, а сами макрофаги представляют перспективную терапевтическую мишень и инструмент клеточной терапии многих заболеваний. Однако разработка методов терапии, ориентированных на коррекцию функции макрофагов, требует наличия адекватных клеточных моделей. До недавнего времени основной моделью получения макрофагов человека являлась модель, основанная на дифференцировке макрофагов из моноцитов периферической крови. Существенными ограничениями этой модели является невозможность получения генетически однородной популяции макрофагов в необходимых количествах, трудность генетической модификации моноцитов и макрофагов, а также биологические различия между моноцитами периферической крови и тканерезидентными макрофагами. В последние годы в литературе появилось описание различных методов получения макрофагов человека (иМФ) из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК).

В нашей лаборатории были проведены исследования по отработке и оптимизации нескольких протоколов получения иМФ из иПСК, впервые проведен сравнительный анализ эффективности разных протоколов и биологической идентичности полученных в них иМФ. Эффективность протоколов оценивалась по «выходу» иМФ в процессе культивирования, по срокам начала и продолжительности их образования. Детально охарактеризован фенотип иМФ, показана экспрессия на всех иМФ характерных для макрофагов белков - CD14, CD163, CD206, HLA-DR и др. Продемонстрирована высокая фагоцитарная и антибактериальная активность всех иМФ. Впервые проведен сравнительный транскриптомный анализ иМФ, полученных при использовании разных протоколов дифференцировки. Показана общая схожесть транскрипционного профиля всех иМФ и выявлены различия между иМФ, полученными с использованием разных протоколов, по экспрессии генов, отвечающих за иммунный ответ. Впервые проведен анализ транскрипционного профиля дифференцирующихся в иМФ клеток на разных стадиях дифференцировки. Показана общность динамических профилей экспрессии генов, связанных с общебиологическими процессами - биогенезом рРНК, трансляцией белков, убиквитинированием, деградацией белков в протеосомах. Обнаружено, что динамические профили экспрессии генов, ассоциированных с иммунным и воспалительным ответом, клеточной адгезией, миграцией и коагуляцией, различаются при использовании разных протоколов дифференцировки иМФ. Отработаны методы получения генетически модифицированных иМФ с использованием технологии CRISPR/Cas9. В целом, впервые в России отработана методика получения макрофагов человека из иПСК, которая может быть использована для изучения механизмов регуляции и разработки методов коррекции функции макрофагов. Аналитическая часть работы представлена в опубликованном обзоре. Результаты экспериментальных исследований готовятся к печати. Работа проведена в сотрудничестве со «Сколковским институтом науки и технологий», а также лабораторией эпигенетики ИЦиГ СО РАН.

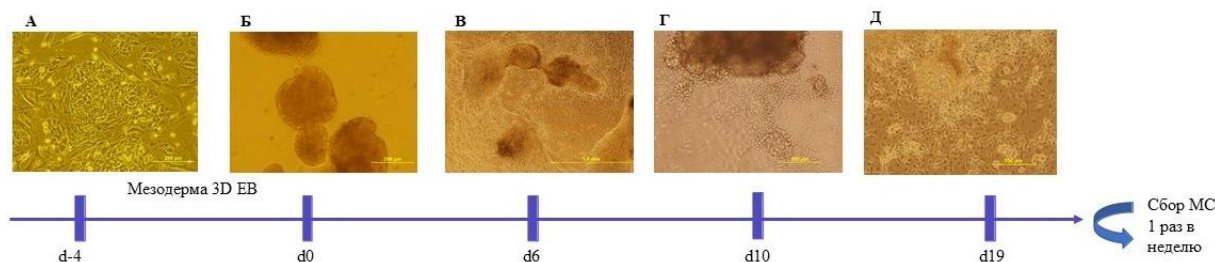


Рисунок 1. Микроскопия клеточных культур на разных стадиях получения иМФ по одному из протоколов. А: иПСК; Б-эмбрионидные тельца; В, Г – образование гемопоэтических клеток и их миелоидная спецификация; Д – образование моноцитоподобных клеток.

Тема № 3. Механизмы регуляции раннего онтогенеза: гаметогенез, оплодотворение и раннее развитие животных.

Раздел № 2. Медиаторные механизмы регуляции гаметогенеза и раннего эмбриогенеза.

Авторы: к.б.н. Д.А. Никишин

Влияние серотонина на функциональный статус клеток гранулы опосредовано воздействием на ооцит.

В экспериментах на культуре изолированных растущих преантральных овариальных фолликулов выявлены эффекты серотонина на экспрессию нескольких генов-показателей функциональной активности клеток гранулы (*Ccnd1*, *Ccnd2*, *Ccne1*, *Has2*, *Ptgs2*, *Ptgfr*, *Igfbr* и *Ihh*). Наблюдаемые эффекты гораздо более выражены по сравнению с наблюдаемыми в экспериментах на первичной культуре клеток гранулы, что, по всей вероятности, объясняется большей восприимчивостью фолликулярных клеток к воздействию серотонина в этих условиях, более приближенных к нативному состоянию. Кроме того, большая часть наблюдаемых эффектов отменяется флуоксетином, следовательно, опосредована активностью специфического транспортера серотонина SERT, активность которого характерна для растущих ооцитов. Логично предполагать, что усиление влияния серотонина на функциональную активность клеток гранулы в данном эксперименте связано с дополнительным воздействием ооцитов. Это подтверждается увеличением экспрессии мРНК гена ооцитарного фактора роста *Gdf9* в ответ на серотонин, которое также отменяется флуоксетином. Полученный результат является важным свидетельством того, что овариальный серотонин воздействует на функциональную активность клеток гранулы опосредованно через влияние на ооцит, и требует дальнейшего более внимательного исследования.

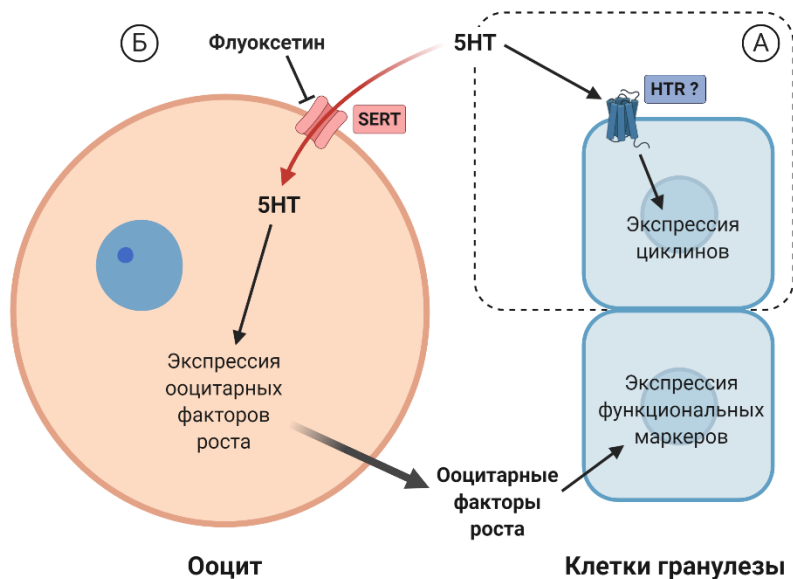


Рисунок. 1. Схема прямого (А) и опосредованного ооцитом (Б) влияния серотонина (5НТ) на функциональную активность клеток гранулы. (А) Серотонин повышает экспрессию мРНК циклинов *Ccnd1*, *Ccnd2* и *Ccne1* в первичной культуре клеток гранулы. Эффект не отменяется флуоксетином и, предположительно, опосредован рецепторами серотонина, экспрессирующимися в клетках гранулы. (Б) В культуре изолированных овариальных фолликулов серотонин повышает экспрессию мРНК генов *Has2*, *Ptgs2*, *Ptgfr*, *Ihh* и *Igfbr4* в клетках гранулы. Эффект отменяется флуоксетином. Предполагается, что эффект опосредован ооцитарными факторами роста, так как серотонин накапливается в ооцитах и повышает в них экспрессию мРНК *Gdf9*.

Никишин Д.А., Храмова Ю.В., Алешина Н.М., Мальченко Л.А., Шмуклер Ю.Б. Опосредованное ооцитом влияние серотонина на функциональный статус клеток гранулы//Онтогенез. - 2021. - Vol. 52, № 2. - С. 120-128. – Q4.

Лаборатория проблем регенерации
50 Биология развития и эволюция живых систем

Авторы: к.б.н. Сухинич К.К., к.б.н. Микаелян А.С., к.б.н. Дашенкова Н.О.

Разработка подходов: к моделированию развития и регенерации ЦНС млекопитающих с использованием трансплантации стволовых/прогениторных клеток разного генеза; фармакологической терапии, направленной на ингибирование ЭМП и восстановление функции ткани.

Применение технологий использования экзогенных и мобилизации резидентных стволовых клеток (СК) направлено на стимуляцию эндогенных резервов для восстановления структур ЦНС. Для исследования регенеративного потенциала мозга у крыс с экспериментально моделируемым ишемическим инсультом, проведена внутриартериальная трансплантация нейральных прогениторных клеток полученных из клеток костного мозга после прямого репрограммирования (НПК); и мезенхимальных стволовых клеток (МСК) плаценты человека. Основная цель работы состояла в оценке, в реальном времени с помощью магнитно-резонансного томографа, распределения и рекрутирования/хоминга трансплантированных клеток в головном мозге. Продemonстрировано уменьшение объема зоны повреждения мозга, что отражает, с одной стороны, способность ткани, поддерживать развитие СК/прогениторных клеток, с другой, отвечать на паракринные сигналы активацией регенерации.

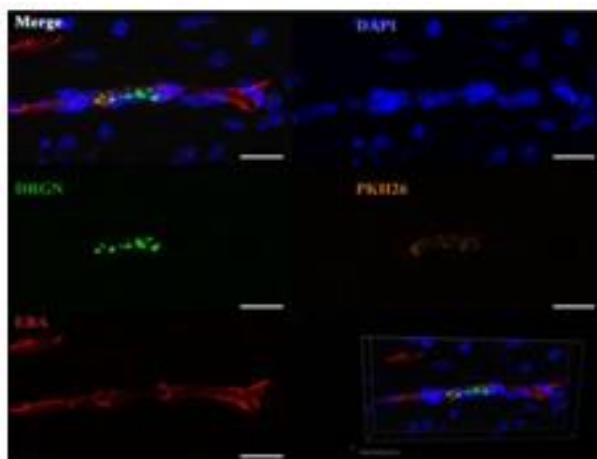


Рисунок.1. Трансплантация МСК в мозг крыс после инсульта. МСК с двойной меткой (SP100 и PKH26) находятся внутри сосудов, выявленных иммуногистохимически (EBA)

Namestnikova D.D., Gubskiy I.L., Revkova V.A., **Sukhinich K.K.**, Melnikov P.A., Gabashvili A.N., Cherkashova E.A., Vishnevskiy D.A., Kurilo V.V., Burunova V.V., Semkina A.S., Abakumov M.A., Gubsky L.V., Chekhonin V.P., Ahlfors J.-E., Baklaushev V.P., Yarygin K.N. Intra-Arterial Stem Cell Transplantation in Experimental Stroke in Rats: Real-Time MR Visualization of Transplanted Cells Starting With Their First Pass Through the Brain With Regard to the Therapeutic Action//Frontiers in Neurosci. 2021.Vol.15. Art. No 641970. DOI:10.3389/fnins.2021.641970.– **Q2**.

Гиалуронан, ферменты его синтеза и деградации (хитинсинтаза, гиалуронансинтаза и др.) вовлечены в сигнальные пути, запускающие процессы эпителио-мезенхимной трансформации клеток (ЭМП) и воспаления. На модели экспериментально индуцируемого фиброза печени мыши, с применением ингибиторного анализа и анализа гомологии доменной структуры, показано, что гиалуронансинтаза может служить новой мишенью для этоксазола, бупрофезина и трифлумулона. Исследуемые фармакологические препараты, являющиеся ингибиторами хитинсинтазы, также перспективны и для разработки ингибиторов гиалуронансинтазы.

Tsitrina A.A.1, Krasyllov I.V., Maltsev D.I.1, Andreichenko I.N., Moskvina V.S., Ivankov D.N., Bulgakova E.V.1, Nesterchuk M., Shashkovskaya V., **Dashenkova N.O.**1, Khilya V.P.2, **Mikaelyan A.**1, Kotelevtsev Y. Inhibition of Hyaluronan Secretion by Novel coumarin compounds and chitin synthesis inhibitors // Glycobiology. 2021. cwab038. DOI: 10.1093/glycob/cwab038. – **Q2**