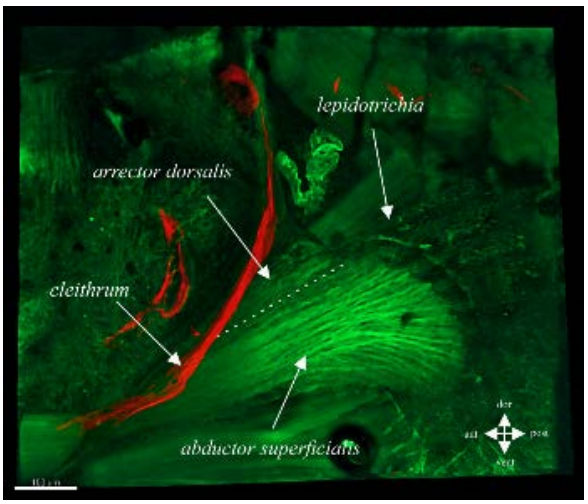
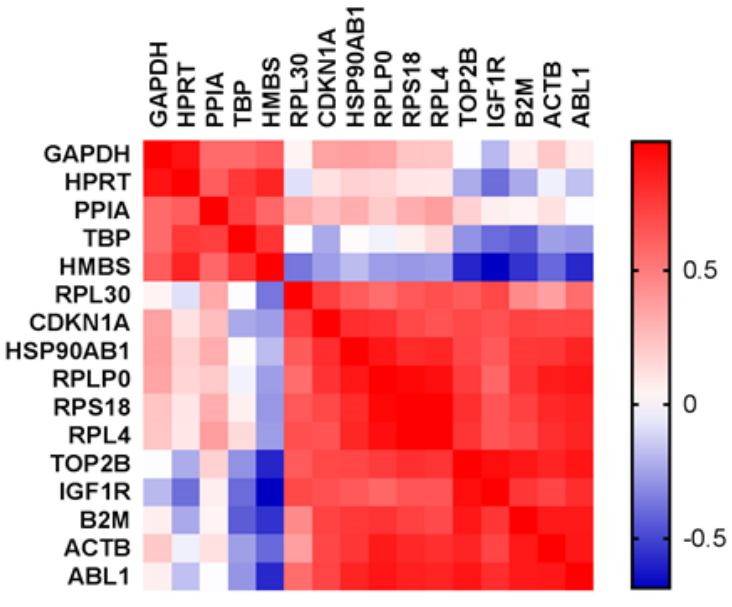
ВАЖНЕЙШИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИНСТИТУТА БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН

2018 год





50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0003 Тема «Механизмы регуляции раннего онтогенеза: гаметогенез, оплодотворение и раннее развитие животных».

Раздел 4. Клеточные и молекулярные механизмы морфогенеза в развитии животных.

к.б.н. С.В. Кремнёв, к.б.н. Краус Ю.А.

Подвергнута сомнению универсальность механизма дорсовентральной разметки нервной трубки у позвоночных.

Согласно общепринятым представлениям индуктором нервной трубки позвоночных и ее дорзо-вентральной разметки является зачаток хорды, обладающий свойствами региона-организатора. Роль хорды связана с секрецией сигнальной молекулы Sonic hedgehog, запускающей экспрессию гена *shh* в клетках будущего дна нервной трубки (vanStraaten et al., 1988). Насколько универсальна функциональная нагрузка зачатка хорды в развитии различных позвоночных животных? Целью нашего исследование был детальный анализ изучения паттерна экспрессии гена *shh* на разных стадиях развития в разных регионах эмбрионов курицы и кролика.

Оказалось, что у кролика экспрессия *shh* впервые детектируется в зачатке хорды, и только потом экспрессия обнаруживается в области дна нервной трубки (Рис. 1A-D), а это полностью согласуется с общепринятой моделью индукции этой структуры. Однако у курицы *shh* экспрессируется в проспективной нейроэктодерме еще до формирования хорды (Рис. 1E-G), что является значительным дополнением к существующей модели индукции нервной трубки у позвоночных.

Таким образом, наше исследование выявило значительные различия в динамике экспрессии *shh* у представителей разных классов позвоночных, что указывает на эволюционную дивергенцию механизмов индукции дна нервной трубки. Вероятно, именно эволюционная пластичность ранней эмбриональной индукции позволила позвоночным в широких пределах изменять гаструляционные морфогенезы в связи с эволюцией репродуктивных стратегий, которая затрагивала организацию яйцеклетки.

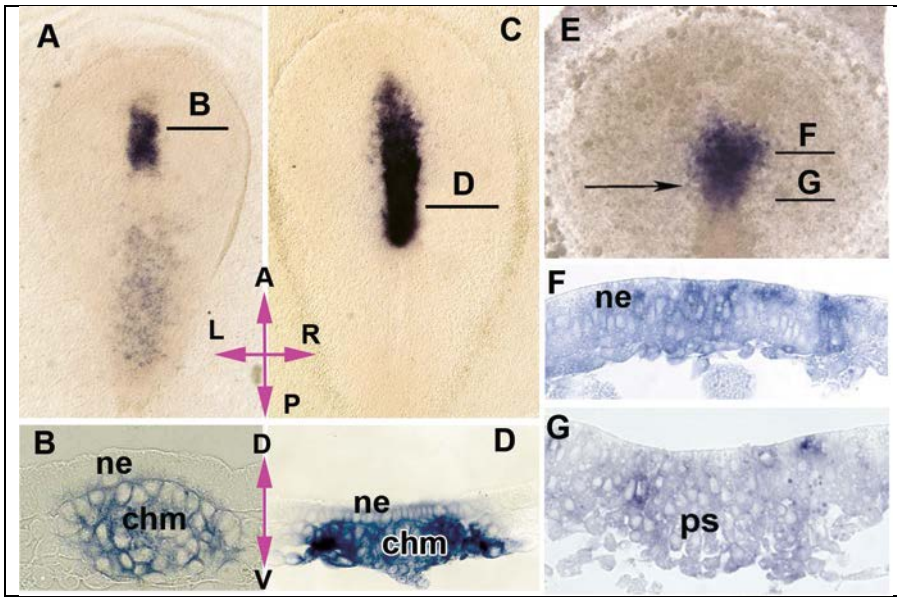


Рисунок 1. Экспрессия *shh* у эмбрионов кролика и курицы. A, C, E - тотальные препараты, B, D, F, G - поперечные срезы. A, B - у кролика на ранней стадии экспрессия видна в хордомезодерме (chm), но не в нейроэктодерме (ne); позже (C, D) она появляется и в нейроэктодерме. E-G - у курицы *shh* экспрессируется в нейроэктодерме еще до. формирования хорды (стрелка - конец первичной полоски, ps).

Kremnyov S., Henningfeld K., Viebahn C., Tsikolia N. Divergent axial morphogenesis and early shh expression in vertebrate prospective floor plate // **EvoDevo**. 2018. V. 9. N 1. P. 4. DOI: 10.1186/s13227-017-0090-x **Q1**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0001 Тема «Молекулярно-генетические механизмы регуляции клеточной дифференцировки и морфогенеза»

Раздел 5. Регуляция активности генов и процессы онтогенеза

д.б.н. В.А. Краевский

В основе многих заболеваний человека лежит нарушение функционирования генов. Работа генома определяется его эпигенетической «программой», задаваемой посредством модификации гистонов нуклеосом. Принято считать, что, модификации гистонов не оказывают значительного влияния на структуру нуклеосом. Нами впервые показано, что модификации гистонов H2B (например, убиквитинилирование: H2BK34ub и H2BK120ub) способны сами изменять структуру и динамику нуклеосом (Рис. 1). Впервые показан кооперативный эффект убиквитилирования гистонов и топологии ДНК на структуру и динамику хроматина. Наряду с существующей концепцией «сигнального кода» активности хроматина выдвинута новая концепция эпигенетического «структурного кода» активности хроматина, что важно для разработки методов направленной манипуляции активностью генов и коррекции дифференциальной экспрессии генома при его редактировании.

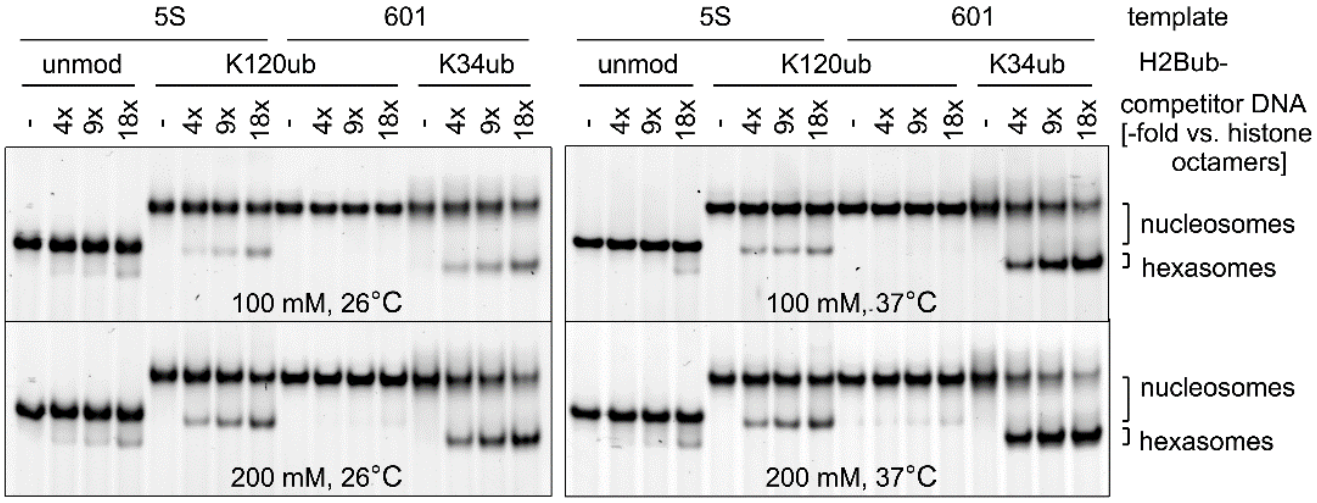


Рис. 1. H2BK34ub и H2BK120ub дестабилизируют димеры гистонов H2A-H2B нуклеосом и способствуют конверсии нуклеосом в функционально активные интермедиаты – гексасомы.

“unmod, K120ub, K34ub” – немодифицированные нуклеосомы, и нуклеосомы с остатком убиквитина по 120 и 34 гистона H2B, соответственно. Нуклеосомы реконструированы на фрагменте 5S ДНК и высокоафинной ДНК «601», как указано на рисунке. Реконструированные нуклеосомы инкубировали 2 ч при указанной температуре и ионной силе раствора в присутствии избытка плазмидной ДНК-конкурента, как указано на рисунке. Продукты реакции анализировали в 5% полиакриламидном геле с последующим окрашиванием флуоресцентным красителем (SYBR Gold).

Работа выполнена в сотрудничестве с медицинским центром университета Мичигана.

Krajewski, W.A., Li, J., and Dou, Y. (2018) Effects of histone H2B ubiquitylation on the nucleosome structure and dynamics. Nucleic Acids Res. *46*, 7631-7642. **Q 1**

Krajewski, W.A. (2018) Effects of DNA superhelical stress on stability of H2B-ubiquitylated nucleosomes (2018). J. Mol. Biol. doi.org/10.1016/j.jmb.2018.09.014 **Q 1**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0002 Тема «Медиаторные, мембранные и внутриклеточные сигнальные факторы в развитии и реализации адаптационных программ».

Подраздел 1.3. Протеасомы в развитии злокачественных опухолей. Поиск приложения к медицинской практике.

д.б.н. Н.П. Шарова,

к.б.н. Т.М. Астахова

Изучены механизмы действия новых противоопухолевых композиций, разработанных в ИБР РАН на основе менадиона натрия бисульфита и низких доз бортезомиба. Показано, что менадиона натрия бисульфит повреждает функции 19S-активатора 26S-протеасом опухолевых клеток во внутриклеточной среде опосредованно путем генерации супероксидных радикалов и не влияет на протеасомы in vitro (в пробирке). Однако in vitro это соединение усиливает ингибирование химотрипсинподобной активности всех форм протеасом бортезомибом, облегчая его проникновение в протеолитическую камеру протеасом. Комбинированное действие менадиона натрия бисульфита и бортезомиба на протеасомы приводит к синергетическому цитотоксическому эффекту этих соединений по отношению к опухолевым клеткам и лежит в основе высокой противоопухолевой эффективности и низкой токсичности разработанных композиций у грызунов in vivo.

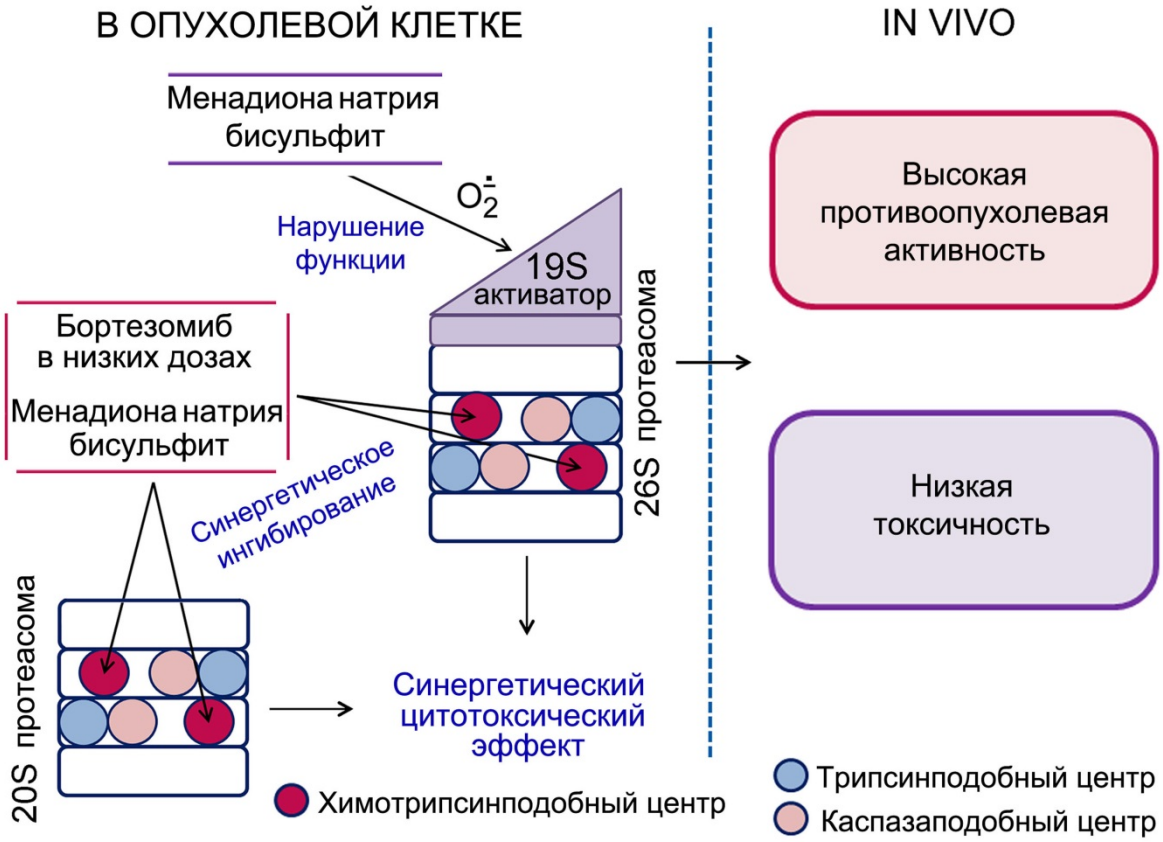


Рис. 1. Схематическое представление механизмов действия композиций менадиона натрия бисульфита и бортезомиба.

Astakhova T.M., Morozov A.V., **Erokhov P.A.**, **Mikhailovskaya M.I.**, Akopov S.B., **Chupikova N.I.**, **Safarov R.R**, **Sharova N.P.** Combined Effect of Bortezomib and Menadione Sodium Bisulfite on Proteasomes of Tumor Cells: The Dramatic Decrease of Bortezomib Toxicity in a Preclinical Trial // Cancers. 2018. V. 10. Issue 10. pii: E351. doi: 10.3390/cancers10100351; **Q1**.

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0005 «Клеточные и молекулярные механизмы развития и регенерации тканей и органов у низших и высших позвоночных. Поиск способов регуляции восстановительных процессов».

Раздел 4. Пролиферативный каскад в нише стволовых клеток зубчатой извилины гиппокампа.

к.б.н. Подгорный О.В.

Продукция нейрональных (нервных) клеток в гиппокампе имеет критическое значение для поддержания пластичности локальной нервной сети, что необходимо для реализации когнитивных функций и формирования памяти. Старение мозга, нейродегенеративные и нейропсихические заболевания сопровождаются драматическим сокращением продукции новых нервных клеток и истощением пула стволовых клеток в гиппокампе. Каскад продукции новых нейронов в гиппокампе является мишенью для терапии когнитивных нарушений, возникающих на фоне нейродегенеративных и нейропсихических заболеваний или развивающихся при старении. Был разработан оригинальный метод маркирования делящихся клеток с применением трех аналогов тимидина для изучения особенностей продукции новых нервных клеток. Использование метода тройного маркирования, позволило обнаружить различия в пролиферативной активности нейральных стволовых клеток в гиппокампе. При анализе соотношения пролиферативной и покоящейся фракций стволовых клеток и клеток-предшественников, мы установили, что стволовые клетки 1-месячных мышей производят 14 потомков, тогда как у 2-месячных мышей – 28 клеточных потомков. Полученные результаты открывают возможность влиять на продуктивность нейральных стволовых клеток и оптимизировать, таким образом, терапию когнитивных нарушений.

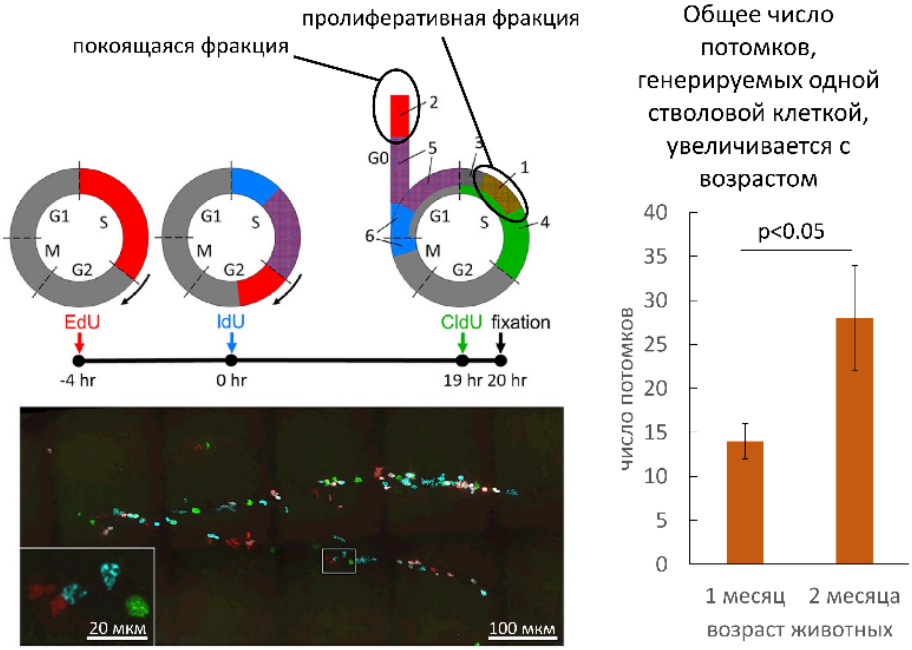


Рис. 1. Данные регистрации пролиферативной и покоящейся фракций стволовых и транзиторных амплифицирующихся клеток зубчатой извилины гиппокампа мышей.

Совместный проект ИБР РАН и лаборатории профессора Г.Н. Ениколопова в Университете Стони Брук, г. Стони Брук, шт. Нью-Йорк, США. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП по биологии развития ИБР РАН.

1). **Podgorny O,** Peunova N, Park JH, Enikolopov G. Triple S-Phase Labeling of Dividing Stem Cells. Stem Cell Reports. 2018. 10 (2):615-626. **Q 1-2**

2). **Podgorny O,** Peunova N, Enikolopov G. Tracing dividing stem cells. Aging (Albany NY). 2018. 10(7):1534-1535. **Q 1**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0007 «Молекулярно-генетические и экологические механизмы видообразования и ранних этапов эволюции. Разработка подходов для оценки гомеостаза развития биологических систем (методология популяционной биологии развития)».

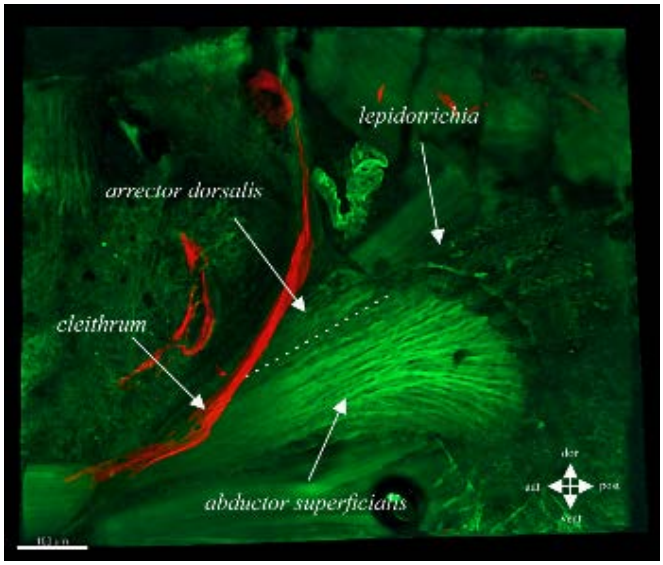
Раздел 6. Оценка стабильности развития при изменении онтогенетических каналов (на модельных объектах).

к.б.н. Шкиль Ф.Н., д.б.н. Е.Е. Воронежская

Впервые проведено детальное изучение развития мускулатуры парных и непарных плавников одного из наиболее востребованных объектов современной биологии развития позвоночных – *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei). Получены данные, свидетельствующие в пользу «гибридной» теории появления парных плавников, согласно которой грудные и брюшные плавники имеют разное происхождение. Пояс грудных плавников является производной жаберных дуг, так как демонстрирует общий с ними паттерн развития. При этом онтогенез брюшных плавников во многом совпадает с ходом развития туловищных непарных плавников – анального и дорзального, что позволяет рассматривать брюшные плавники в качестве их производных, а тазовый пояс в качестве производной проксимальных и дистальных радиалий – скелетных элементов, поддерживающих непарные плавники.

Рис. 1. Модельный объект - *Danio rerio* (Cyprinidae; Teleostei). Взрослая особь.

Рис. 2. Мускулатура грудного плавника развивающейся личинки *D. rerio* (SL=6,7 mm)



Siomava N; **Shkil F; Voronezhskaya E**; Diogo R. Development of zebrafish paired and median fin musculature: basis for comparative, developmental, and macroevolutionary studies // Scientific Reports. 2018. V. 8. DOI: 10.1038/s41598-018-32567-z. **Q1**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0002 Тема «Медиаторные, мембранные и внутриклеточные сигнальные факторы в развитии и реализации адаптационных программ».

Раздел 3. Механизмы поведенческого выбора и развития поведенческих состояний.

д.б.н. И.С. Захаров, д.б.н. В.Е. Дьяконова

Известно, что эффективность обучения зависит от уровня мотивации животного. Ранее нами было показано, состояние голода-насыщения и коррелирующий с ним уровень концентрации глюкозы в гемолимфе улитки отражается в активности системы серотонинергических нейронов. В 2018 году впервые получены свидетельства взаимодействия инсулина и серотонина в уменьшении ингибирующего действия прошлого опыта на способность формировать пищевую аверзию у улитки. В работе показано, что для эффективного формирование аверзии на пищу критично снижение концентрации серотонина происходящее в начальный период голодания. В то время как введение серотонина, так же как и длительный голод, сопровождающийся спонтанным повышением концентрации серотонина, снижает способность к выработке аверзии. Инъекция инсулина в итоговой концентрации в гемолимфе 100 нМ таким животным восстанавливает способность к формированию аверзивных реакций на пищевой стимул. Выявленное взаимодействие инсулин-продуцирующей и серотонинергической систем нейронов требует дальнейшего исследования.

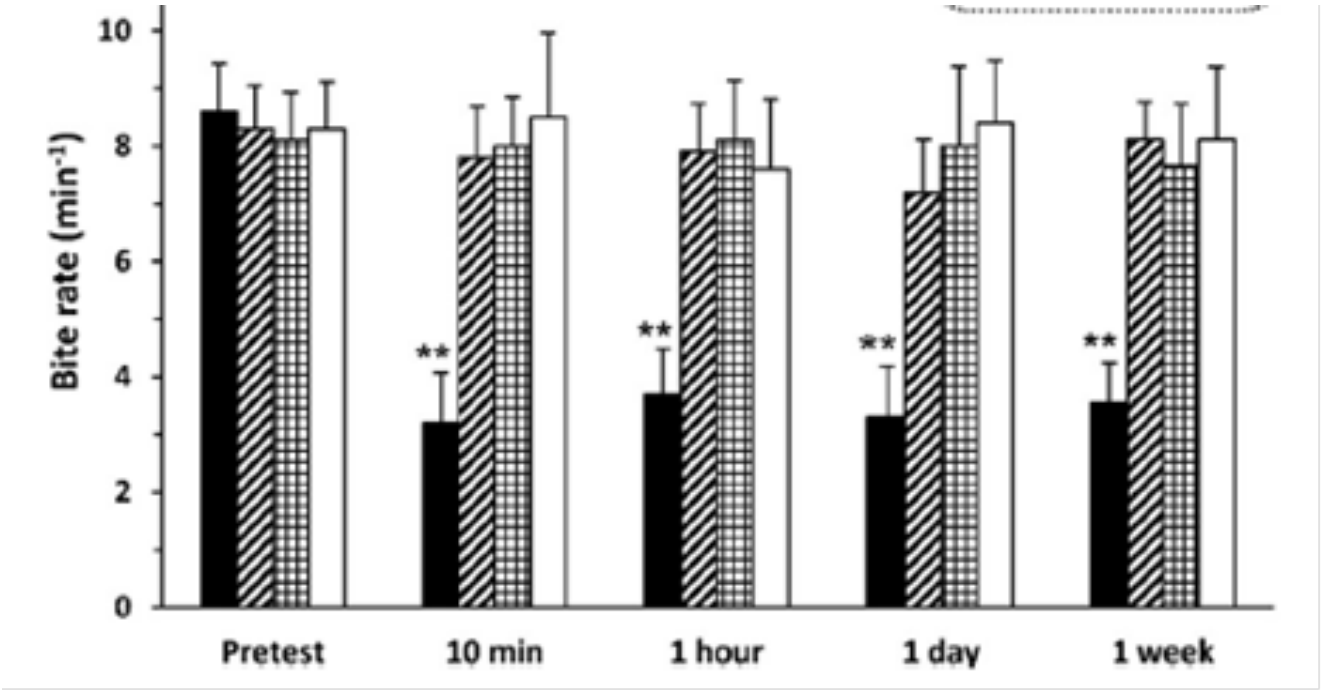


Рис. 1. Инсулин (темные столбики) восстанавливает способность формировать пищевую аверзию у улиток с высоким содержанием серотонина. Эффект сохраняется до недели.

Совместный проект ИБР РАН и Department of Biology, Waseda University, Tokyo, Japan. Авторы: Дьяконова Варвара Евгеньевна (ИБР РАН) и Etsuro Ito (Department of Biology,Waseda University, Tokyo).

Aonuma H., Totani Y., Kaneda M., Nakamura R., Watanabe T., Hatakeyama D., **Dyakonova V.E.,** Lukowiak K., Ito E. Effects of 5-HT and insulin on learning and memory formation in food-deprived snails // Neurobiology of Learning and Memory. 2018. V. 148. P. 20-29. DOI:10.1016/j.nlm.2017.12.010. **Q1-Q2**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0003 Тема «Механизмы регуляции раннего онтогенеза: гаметогенез, оплодотворение и раннее развитие животных».

Раздел 3. Медиаторные механизмы регуляции гаметогенеза и раннего эмбриогенеза.

к.б.н. Д.А. Никишин

Полимеразная цепная реакция в реальном времени является очень информативным методом исследования, широко распространенным в различных областях науки и медицинской практике. Чаще всего нормализацию полученных результатов проводят с применением «эталонных» референсных генов, которые представлены во всех клетках и не реагируют на экспериментальные воздействия. Выбор наиболее стабильных референсных генов является очень важной задачей, во многом определяющей адекватность и воспроизводимость результатов. Проведен анализ стабильности экспрессии 16 наиболее популярных референсных генов в ткани яичника человека, подвергнутой процедурам криоконсервации и оттаивания, с привлечением современных статистических алгоритмов. Выявлено, что исследуемые гены делятся на две группы (Рис. 1) – в первой уровень экспрессии генов не изменяется при экспериментальном воздействии, тогда как во второй, более обширной, количество копий мРНК уменьшается. Именно ко второй группе относятся наиболее репрезентативные референсные гены, в том числе RPLP0, RPS18 и RPL4, которые рекомендуется использовать для нормировки результатов, полученных на ткани яичника.

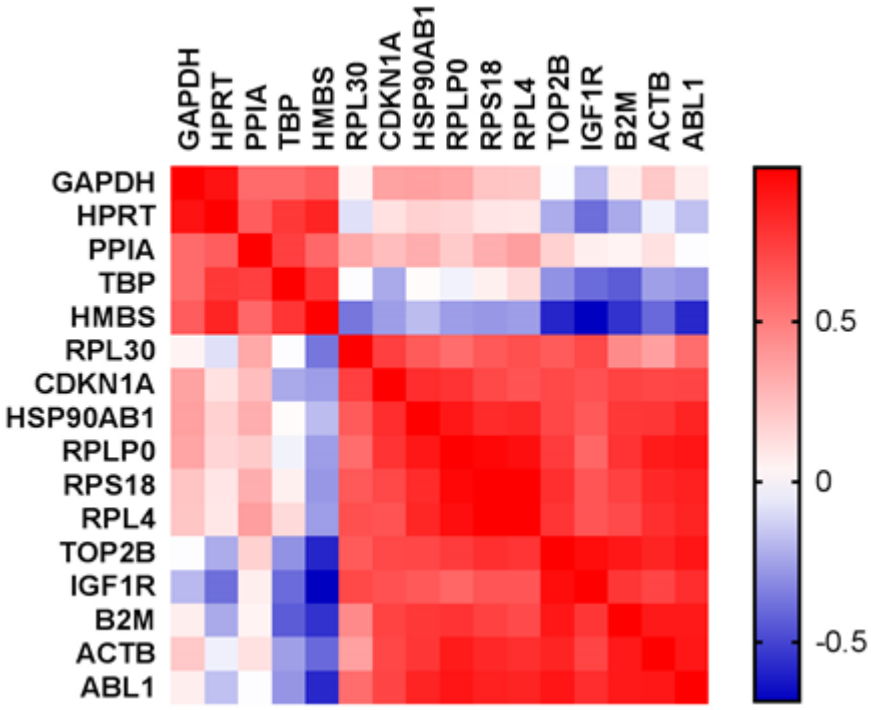


Рис. 1. Корреляционная матрица, рассчитанная для экспрессии кандидатных референсных генов в ткани яичника человека, подвергнутой процедурам криоконсервации и оттаивания. Красный цвет указывает на то, что экспрессия двух генов имеет положительную корреляцию; синий – отрицательную. Гены домашнего хозяйства кластеризуются в две группы, по-разному реагирующие на экспериментальное воздействие.

Nikishin D.A., Filatov M.A., Kiseleva M.V., Bagaeva T.S., Konduktorova V.V., Khramova Y.V., Malinova I.V., Komarova E.V., Semenova M.L. Selection of stable expressed reference genes in native and vitrified/thawed human ovarian tissue for analysis by qRT-PCR and Western blot // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2018. V. 35. Issue 10. P. 1851-1860. DOI: 10.1007/s10815-018-1263-9. **Q2** (совместно с кафедрой эмбриологии МГУ им. М.В. Ломоносова)

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0002 Тема «Медиаторные, мембранные и внутриклеточные сигнальные факторы в развитии и реализации адаптационных программ».

Подраздел 2.2. Регуляция протеома клеток насекомых при инфекции бакуловирусами.

д.б.н. Михайлов В.С.

Сегрегаза VCP/p97 осуществляет процессинг поврежденных и денатурированных белков в клетке, играет ключевую роль в контроле качества клеточного протеома и обеспечивает защиту клеток от стрессов и токсинов. В работе впервые выделена сегрегаза VCP/p97 из клеток чешуекрылого насекомого (кукурузная совка *Spodoptera frugiperda*) (Рис. 1) и показано, что этот белок выполняет важную функцию в инфекционном цикле бакуловирусов. Ингибирование АТФазной и сегрегазной активности VCP/p97 приводит к подавлению репликации вирусного генома, предотвращает формирование зрелых вирусных частиц и вызывает накопление в инфицированных клетках белков, модифицированных убиквитином. Бакуловирусы широко применяются в биотехнологии для продукции белков, сельском хозяйстве в качестве инсектицидов и в медицине для производства вакцин. Во всех практических приложениях, в которых используются клетки насекомых и рекомбинантные бакуловирусы, следует учитывать результаты данного исследования и контролировать факторы регуляции протеома, среди которых шапероны, протеасомы и сегрегаза VCP/p97.

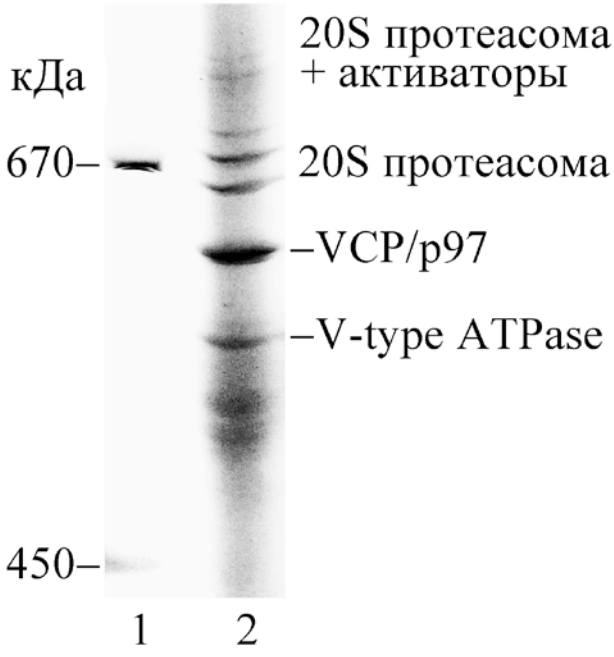


Рис. 1. Выделение белка VCP/p97 в нативном полиакриламидном геле. 1- стандарты, 2 – экстракт клеток *S. frugiperda*.

Lyupina Y.V., Erokhov P.A., Kravchuk O.I., Finoshin A.D., Abaturova S.B., Orlova O.V., Beljelarskaya S.N., Kostyuchenko M.V., **Mikhailov V.S.** Essential function of VCP/p97 in infection cycle of the nucleopolyhedrovirus AcMNPV in Spodoptera frugiperda Sf9 cells // Virus Res. - 2018. - Vol. 253. P. 68 - 76. doi.org/10.1016/j.virusres.2018.06.001. PMID:9890203. **Q3**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0005 «Клеточные и молекулярные механизмы развития и регенерации тканей и органов у низших и высших позвоночных. Поиск способов регуляции восстановительных процессов».

Раздел 3. Молекулярные механизмы изменений регенерационных процессов у позвоночных животных под влиянием факторов внешней среды.

д.б.н. Григорян Э.Н., к.б.н. Радугина Е.А.

Завершен анализ данных о состоянии тазобедренных мышц мышей после длительного, 30-дневного, космического полета (Бион М1). Установлено, что на фоне ожидаемой масштабной мышечной атрофии в условиях невесомости имеет место регенерация мышц. Морфологически, ПЦР и с помощью иммунолокализации белков-маркеров PAX7 и Myogenin была показана активация сателлитных клеток – источников регенерации мышц у млекопитающих – и их дифференцировка в миобласты. В то же время обнаружено, что поздние стадии этого процесса протекают аномально, а новообразованные волокна склонны к дегенерации и гибели путем апоптоза. Данное исследование впервые продемонстрировало регенерацию мышц млекопитающих в космическом полете, и показало влияние невесомости на разные ее стадии.

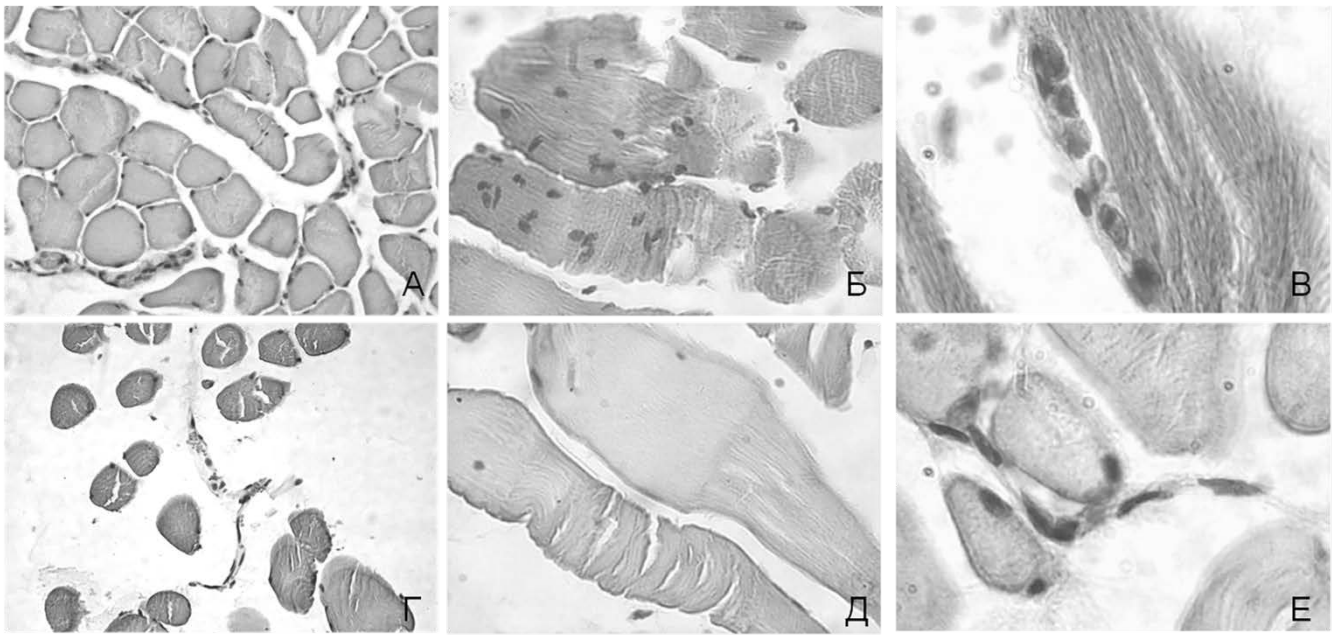


Рис. 1. Морфология мышечной ткани после 30-дн космического полета Бион-М1. Мышечная ткань в наземном контроле (А) и в полете (Г), 200×. Примеры мышечной атрофии в полете: центральное положение и потеря мышечных ядер; набухание, разрывы и разрушение мышечных волокон (Б, Д), 400×. Нормальная регенерация мышц в наземном контроле (В) по сравнению с атипичными регенератами в полете (Е), 1000×.

Работа выполнена Григорян Э.Н., Маркитантовой Ю.В., Поплинской В.А., Радугиной Е.А. (ИБР РАН) при участии Альмейда Э. и Блабер Э. (Эймский центр НАСА) в рамках проекта Бион-М1, проведенного под эгидой ИМБП РАН.

Radugina EA, Almeida EAC, Blaber E, **Poplinskaya VA, Markitantova YV, Grigoryan EN,** Exposure to microgravity for 30 days onboard Bion M1 caused muscle atrophy and impaired regeneration in murine femoral Quadriceps. Life Sci. Sp. Res. 2018. 16: 18–25. **Q3**

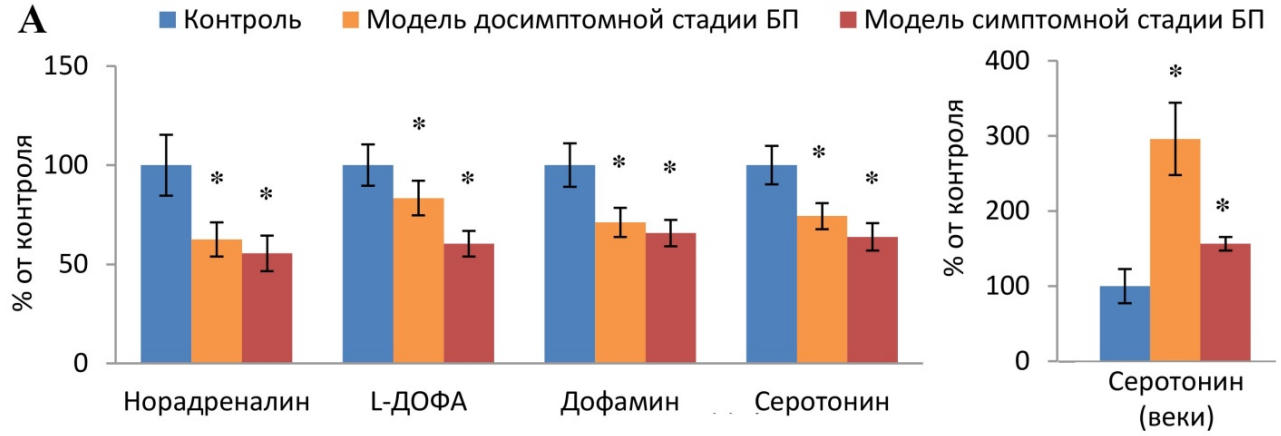
Статья удостоена награды COSPAR «Outstanding paper award for young scientists» 2018 г.

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0014 «Экспериментальный отбор клеточных источников экзосом с целью разработки эффективных препаратов, стимулирующих восстановление тканей» ПРРАН ФИМТ

д.б.н., академик РАН М.В. Угрюмов

Сравнительный анализ данных, полученных у больных и на экспериментальных моделях, является оригинальным и перспективным подходом для разработки ранней диагностики болезни Паркинсона. На моделях досимптомной и симптомной стадий заболевания у мышей были показаны биохимические изменения в тканях глаза и века, указывающие на протекающие нейродегенеративные и нейровоспалительные процессы. Повышение уровня норадреналина и α2-макроглобулина в слезе, а также повышение внутриглазного давления обнаружены как у больных, так и на обеих моделях болезни Паркинсона. Таким образом, обнаруженные у больных биомаркеры в виде изменения биохимического состава слезы вследствие функциональных нарушений в глазу с большой вероятностью проявляются и на более ранних стадиях болезни Парксинсона, что делает их перспективными для разработки ранней диагностики.



Б

Маркеры		Модель БП на мышах: Досимпт. стадии	Модель БП на мышах: Симпт. стадии	Нелеченые больные с БП
Уровень в слезе	Норадреналин	↑#	↑#	↑
	Дофамин	n/a	n/a	↑
	L-ДОФА	n/a	n/a	↑
	α2-макроглобулин	↑#	↑	↑
Внутриглазное давление		↑	↑	↑#

** – p < 0,05 к контролю*
↑ и ↓ – рост и снижение в сравнении с контролем
n/a – не определялось
 # – тенденция (p < 0,15)

Рис. 1. Концентрация моноаминов в глазах и веках (А) мышей на моделях болезни Паркинсона и сравнительный анализ (Б) биомаркеров в слезе и внутриглазного давления у больных с болезнью Паркинсона и экспериментальных моделей.

Совместный проект ИБР РАН, МНИИ глазных болезней им. Гельмгольца и МГМУ им. Сеченова.

Авторы: Александр Ким (ИБР РАН), Татьяна Павленко (МНИИ ГБ), Людмила Катаргина (МНИИ ГБ), Наталья Чеснокова (МНИИ ГБ), Михаил Угрюмов (ИБР РАН), Марина Нодель (МГМУ).

Ким А.Р., Павленко Т.А., Катаргина Л.А., Чеснокова Н.Б., **Угрюмов М.В**. Биохимические и функциональные изменения в глазу как проявление системной деградации нервной системы при паркинсонизме // Acta Naturae. 2018. Т. 10. № 3(38). С. 67-72. PubmedID 30397528 (для переводной версии) **Q4**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0009 «Разработка биомедицинской технологии коррекции симптомов буллезного эпидермолиза, основанной на генетической коррекции аутологичных клеток». ПРРАН ФИМТ

д.б.н., чл.-корр. РАН Воротеляк Е.А.

С помощью разработанных направляющих РНК и доставочных векторов для систем редактирования на основе CRISPR/Cas9 получен набор мутантных линий иммортализованных кератиноцитов, несущих мутации в гене KRT5 (кодирует белок промежуточных филаментов кератин 5). Данные линии являются модельными для простого буллезного эпидермолиза (БЭ). Выбор был сделан в пользу простого БЭ, т.к. это самый распространённый подтип заболевания и при этом он остается слабо изученным. Одна из мутантных линий клеток имеет чётко различимые при иммуноцитохимическом окрашивании агрегирующие скопления цитокератина 5 в интерфазных клетках (Рис.1). Такой фенотипический признак позволяет с легкостью отличать мутантные клетки от клеток со здоровым геном KRT5, что очень ценно при оценке эффектов различных воздействий *in vitro*. Данные линии могут быть использованы для разработки методов геномного редактирования мутаций у пациентов с соответствующим типом заболевания

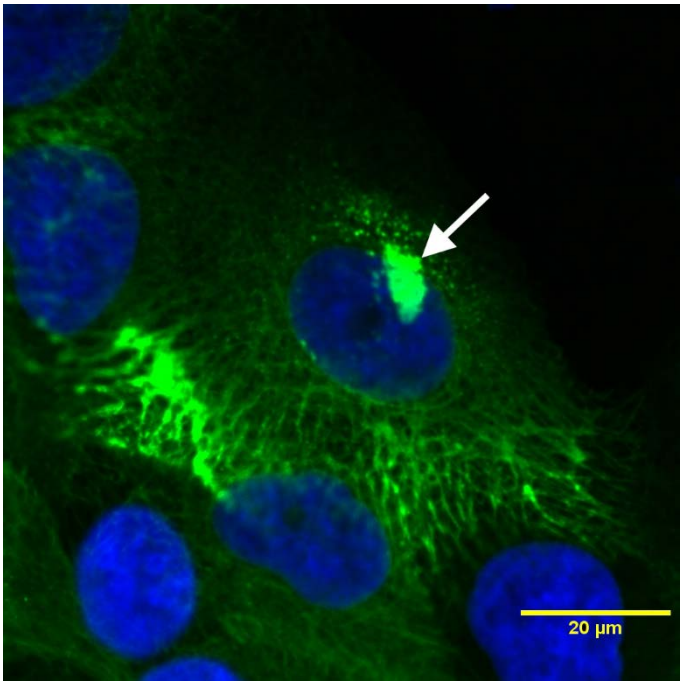


Рис. 1. Агрегация цитокератинов 5 (белая стрелка) в линии HaCaT с мутацией в гене KRT5. Зеленый – цитокератин 5. Синий – ядра клеток.

Проект «Разработка биомедицинской технологии коррекции симптомов буллезного эпидермолиза, основанной на генетической коррекции аутологичных клеток» Программы президиума РАН «Фундаментальные исследования для биомедицинских технологий»

Авторы: Бейлин Аркадий, Гурская Надежда, Воротеляк Екатерина.

A.K. Beilin, N.V. Andreeva, N.G. Gurskaya, and E.A. Vorotelyak. Development of a Model System for Epidermolysis Bullosa Simplex in HaCaT Cells by Mutagenesis of Keratin 5 with CRISPR/CAS9 Technology. ОНТОГЕНЕЗ 2018, т. 49, прил. №4, с. 5-6. ISSN 0475-1450. **Q4**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0012 «Разработка методики коррекции дефектов сперматогенеза ex vivo с использованием популяции активно пролиферирующих в культуре клеток Сертоли взрослого организма». ПРРАН ФИМТ

к.б.н. Кулибин А.Ю.

Комбинация низкомолекулярных веществ Y-27632, A-83-01 и CHIR99021 (YAC) используется для стабильного культивирования многих типов тканеспецифичных стволовых и прогениторных клеток. В проекте она впервые была применена для культивирования популяции клеток, которые располагаются в мужских гонадах млекопитающих и могут быть отнесены к прогениторным клеткам Сертоли, так как способны к пролиферации в культуре и поддержанию развития мужских половых клеток. Установлено, что добавление YAC к первичной культуре этих клеток и при пассажах значительно увеличивает экспрессию Dmrt1, играющего ключевую роль в дифференцировке и функционировании клеток Сертоли, тем самым приближая их по фенотипу к дифференцированным клеткам Сертоли. Выращенные в присутствии YAC в культуре прогениторные клетки Сертоли могут быть использованы для разработки in vivo и in vitro методов коррекции нарушений мужской фертильности.

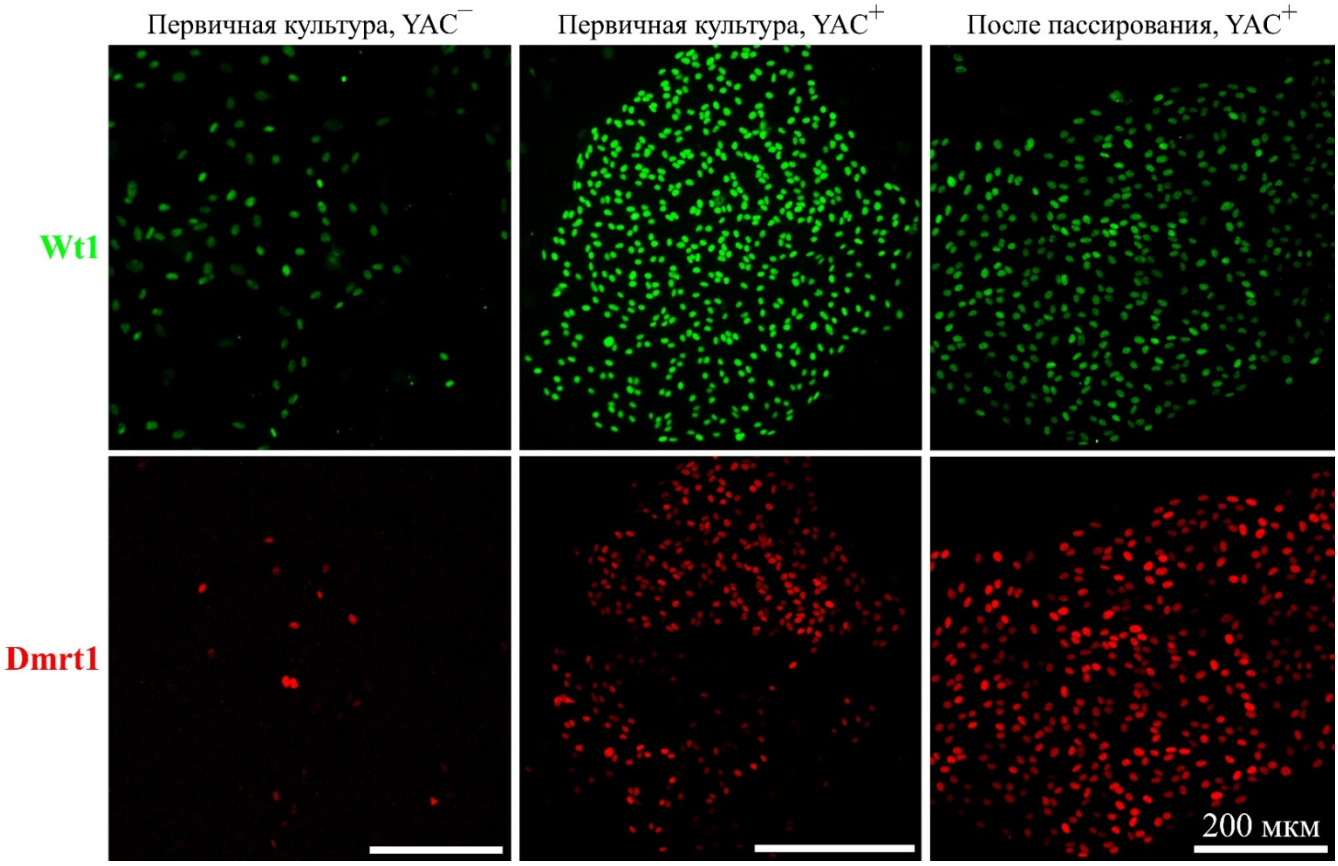


Рис. 1. Разница в уровнях экспрессии Dmrt1 в популяции активно-пролиферирующих прогениторных клеток Сертоли взрослых мышей при культивировании на среде с YAC и без него.

Кулибин А.Ю., Малолина Е.А. Комплекс низкомолекулярных ингибиторов YAC увеличивает уровень экспрессии Dmrt1 в клетках Сертоли транзиторной зоны семенника мыши в культуре // Гены и клетки. 2018. № 3. <**Q4**

50 Биология развития и эволюция живых систем

ГЗ № 0108-2018-0003 «Механизмы регуляции раннего онтогенеза: гаметогенез, оплодотворение и раннее развитие животных».

Раздел 5. Динамика энергетического метаболизма и роста в онтогенезе животных и механизмы метаболического гомеостаза.

д.б.н. Зотин А.А.

Проведен анализ собственных и литературных данных по сопоставимому стандартному обмену у животных. Показано, что средние для отрядов значения сопоставимого стандартного обмена группируются вокруг определенных значений, предположительно соответствующих стационарным состояниям, к которым стремятся организмы в процессе эволюции. Всего для животных выделено 12 уровней стационарных состояний. Установлено, что соотношение значений стандартного обмена для соседних уровней варьирует незначительно и составляет ~2.2, что свидетельствует об определенной закономерности формирования последовательных стационарных уровней в прогрессивной макроэволюции. Отмечено, что в процессе макроэволюции типов и классов входящие в их состав отряды занимают все более высокие стационарные уровни (рис. 1).

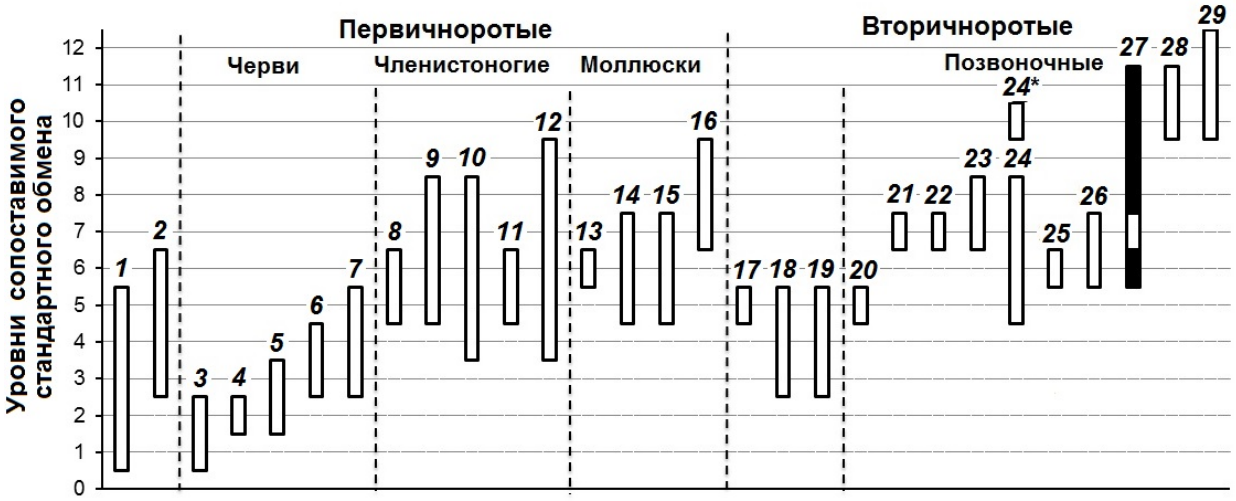


Рис. 1. Распределение таксонов по уровням сопоставимого стандартного обмена.
По оси ординат – номер энергетического стационарного уровня. Таксоны: 1 – Protozoa,
2 – Ctenophora, Cnidaria, 3 – Gnathostomulida, 4 – Sipuncula,
5 – Nematoda, 6 – Plathelminthes, 7 – Annelida, 8 – Myriapoda, 9 – Crustacea, 10 – Arachnida,
11 – Collembola, 12 – Insecta, 13 – Polyplacophora, 14 – Bivalvia, 15 – Gastropoda,
16 – Cephalopoda, 17 – Chaetognatha, 18 – Echinodermata,
19 – Tunicata, 20 – Leptocardii, 21 – Cephalaspidomorphi, 22 – Myxini, 23 – Elasmobranchii,
24 – Actinopterygii (* – Scombridae), 25 – Sarcopterygii, 26 – Amphibia, 27 – Reptilia
(не закрашено – современные, закрашено – вымершие), 28 – Aves, 29 – Mammalia.

Зотин А.А. Энергетическая макроэволюция беспозвоночных животных // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 1. С. 5–15. DOI: 10.7868/S0002332918010010 **Q4**

Зотин А.А. Энергетическая макроэволюция позвоночных животных // Изв. РАН. Сер. биол. 2018. № 4. С. 341–351. DOI: 10.1134/S000233291804015X **Q4**

Зотин А.А. Энергетический гомеостаз в биологической и социальной эволюции // Жизнь Земли. 2018. Т. 40. № 3. С. 324–334. <**Q4**