

Н.А. Жигалова, С.В. Женило

### KAISO ЯВЛЯЕТСЯ МАРКЕРОМ ОТДЕЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОЖИ

Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия

N.A. Zhigalova, S.V. Zhenilo

### KAISO IS A MARKER FOR INDIVIDUAL SKIN STEM CELLS

Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

nzhigalova@gmail.com

Белок Kaiso является членом VTB/POZ семейства метил-ДНК связывающих белков. Kaiso связывает метилированные CpG динуклеотиды за счет C-концевого домена «цинковые пальцы» C2H2 типа. На N-конце белка находится VTB/POZ домен, привлекающий крупные репрессивные комплексы к метилированной ДНК. Kaiso может являться как репрессором, так и активатором транскрипции генов, в зависимости от участка связывания и внешних воздействий [1]. Kaiso преимущественно экспрессируется в эпителиальных клетках различных органов и тканях, в нейронах и глии, является маркером отдельного вида сперматогониальных стволовых клеток. Данные по экспрессии белка Kaiso были получены методом иммуногистохимии [2, 3]. Цель данной работы заключалась в определении типа клеток у мыши, в которых экспрессируется Kaiso на основе анализа баз данных single-cell транскриптом (<https://tabula-muris.ds.czbiohub.org/>). В этой базе представлены данные для 53 760 клеток из 20 тканей, полученных из 8 мышей. Анализ уровня транскрипции Kaiso в различных органах подтвердил данные иммуногистохимии. Дополнительно мы нашли, что Kaiso экспрессируется в эпителиальных клетках сердца, легких, каналов поджелудочной железы, в клетках костного мозга. Высокий уровень Kaiso детектируется в гепатоцитах и beta панкреатических клетках, отвечающих за выработку инсулина. Экспрессия Kaiso характерна также для стволовых клеток и лейкоцитов кожи. Совместное иммуногистохимическое окрашивание на Kaiso и на CD34, который является поверхностным маркером стволовых клеток волосяных фолликул, подтвердило, что Kaiso локализуется в некоторых стволовых клетках волосяного фолликула. Экспрессия Kaiso в стволовых клетках наблюдается и на стадии анагена, во время роста волосяного фолликула. Удаление гена Kaiso приводит к снижению пролиферативной активности клеток волосяного фолликула в процессе роста волос у мышей.

Работа выполнена в рамках бюджетного проекта № 01201371085 и гранта РФФИ № 19-29-04139.

#### Литература:

- Zhenilo S, Deyev I, Litvinova E, Zhigalova N. et al. DeSUMOylation switches Kaiso from activator to repressor upon hyperosmotic stress. *Cell Death Differ.* 2018; 11: 1938–51.
- Zhigalova, N.A, Sokolov A.S., Prokhortchouk E.B., Zhenilo S.V. S100A3 is a new target gene of Kaiso in mouse skin. *Mol. Biol. (Mosk.)* 2015; 49: 362–65.
- Shumskaya V.S., Zhigalova N.A., Prokhortchouk A.V., Prokhortchouk E.B. Distribution of Kaiso protein in mouse tissues. *Histochem Cell Biol.* 2015; 143 (1): 29–43.

К.Э. Журенков<sup>1,2</sup>, Б.Д. Бабков<sup>3</sup>,  
М.С. Сердобинцев<sup>3</sup>, С.А. Александрова<sup>1</sup>,  
О.И. Александрова<sup>1</sup>, М.И. Блинова<sup>1</sup>

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОСТНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОСЛЕ ПЛАСТИКИ ДЕФЕКТА ТКАНЕИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИЕЙ

<sup>1</sup> Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

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

<sup>3</sup> Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии, Россия

K.E. Zhurenkov<sup>1,2</sup>, B.D. Babkov<sup>3</sup>, M.S. Serdobintsev<sup>3</sup>,  
S.A. Aleksandrova<sup>1</sup>, O.I. Aleksandrova<sup>1</sup>, M.I. Blinova<sup>1</sup>

### MORPHOLOGICAL ASPECTS OF BONE REGENERATION AFTER TISSUE-ENGINEERED GRAFTING

<sup>1</sup> Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Saint Petersburg State University, Russia

<sup>3</sup> Saint Petersburg Research Institute of Phthisiopulmonology MH RF, Russia

kirill.zhurenkov.97@mail.ru

Актуальность исследования продиктована необходимостью использования принципиально нового остеозамещающего материала для пластики операционных дефектов в хирургии костного туберкулеза. Опыт по использованию в СПб НИИФ МЗ РФ ряда коммерческих остеозамещающих материалов для пластики дефектов кости выявил необходимость дополнительной стимуляции регенерации костной ткани при лечении туберкулезных оститов [1]. Нами разработана тканеинженерная конструкция (ТК) эквивалента костной ткани, состоящая из мезенхимных стволовых клеток (МСК) красного костного мозга (ККМ), коллагенового геля и стеклокристаллического материала «Биосит Ср-Элкор» (Россия) (биоситалл) [2].

Цель исследования — установить наличие жизнеспособных МСК в составе ТК, имплантированной в искусственный дефект метафиза бедренной кости кроликов.

Первичную культуру МСК ККМ кролика получали из костей задней конечности кролика породы Шиншилла. Суспензию клеток, предварительно окрашенных прижизненным флуоресцентным красителем PKH26, помещали в коллагеновый гель (2 мг/мл) вместе с гранулами биоситалла (0,1–0,3 мм).

Разработанные ТК применяли для восстановления смоделированного дефекта в метаэпифизарной области бедренной кости кроликов. Через 1, 2 и 4 мес кроликов выводили из эксперимента, производили забор материала костной ткани, располагающейся на месте дефекта, и изготавливали гистологические (криостатные) срезы. Наличие клеток определяли методом конфокальной микроскопии при длине волны 560 нм.

Результаты гистологического исследования показали, что к 30 сут эксперимента дефект в метаэпифизарной области бедренной кости с имплантированным материалом заполняется хорошо оформленными костными трабекулами. Заживление дефекта происходит по механизму регенерации пластинчатой костной ткани. На препаратах встречаются группы окрашенных PKH26 клеток. Флуоресцентно-меченые клетки выявляются как на ранних сроках, так и спустя 4 мес после имплантации, однако количество их уменьшается.

Можно заключить, что выполненное исследование выявило наличие жизнеспособных имплантированных МСК в месте дефекта в течение длительного периода времени, что подтверждает их участие в процессе регенерации.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 19-29-04082 и государственного задания № 0124-2019-0003 при финансовой поддержке Минобрнауки России.

#### Литература:

1. Сердобинцев М.С., Кафтырев А.С., Бердес А.И., Луцкая О.Л. Пластика дефектов кости остеозамещающими материалами в хирургии туберкулезного коксита (клинико-экспериментальное исследование). Медицинский альянс. 2014; (1):31–36.
2. Касьянова Е.С., Копелев П.В., Александрова С.А. Оценка влияния модификации коллагеном I типа поверхности остеозамещающего материала «Биосит-Ср Элкор» на жизнеспособность мезенхимных стромальных клеток костного мозга. Бюллетень инновационных технологий. 2018; 2(3):33–37.

**И.В. Зубарев<sup>1,2</sup>, С.А. Синенко<sup>1</sup>, С.В. Пономарцев<sup>1</sup>, У.И. Поденкова<sup>1,2</sup>, А.Р. Газизова<sup>1</sup>, А.Н. Томилин<sup>1,2</sup>, А.С. Цимоха<sup>1</sup>, Т.И. Зюбко<sup>1</sup>**

#### **УЧАСТИЕ ИММУНОПРОТЕАСОМ В ПРОЦЕССЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ МЫШИНЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В ИНДУЦИРОВАННЫЕ ПЛЮРИПОТЕНТНЫЕ СТЕВЛОВЫЕ КЛЕТКИ**

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

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия

**I.V. Zubarev<sup>1,2</sup>, S.A. Sinenko<sup>1</sup>, S.V. Ponomartsev<sup>1</sup>, U.I. Podenkova<sup>1,2</sup>, A.R. Gazizova<sup>1</sup>, A.N. Tomilin<sup>1,2</sup>, A.S. Tsimokha<sup>1</sup>, T.I. Zyubko<sup>1</sup>**

#### **PARTICIPATION OF IMMUNOPROTEASOME IN THE PROCESS OF GENETIC REPROGRAMMING OF MOUSE EMBRYONIC FIBROBLASTS INTO INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS**

<sup>1</sup> Institute of Cytology RAS, Saint-Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

ZubarevIvanV@yandex.ru

Одним из основных подходов для лечения тяжелых заболеваний человека является заместительная терапия, основанная на применении плюрипотентных стволовых клеток (ПСК). Получение индуцированных ПСК (иПСК) в ходе генетического репрограммирования чревато возникновением генетических и эпигенетических ошибок с последующим злокачественным преобразованием этих клеток. Понимание молекулярных механизмов, задействованных в процессах клеточного репрограммирования, позволит управлять процессами получения иПСК, исключая вероятность образования опухолей. Поддержание белкового гомеостаза играет одну из ведущих ролей в этих клетках, основным способом поддержания которого является работа убиквитин-протеасомной системы. Протеасома состоит из коровой 20S и одной или двух регуляторных 19S частиц. Существует также дополнительный регулятор активности PA28. При определенных условиях конститутивные каталитические субъединицы 20S коровой частицы  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  и  $\beta 5$  могут замещаться на индуцибельные субъединицы —  $\beta 1i/LMP2$ ,  $\beta 2i/MECL1$  и  $\beta 5i/LMP7$ , формируя иммунопротеасому (ИП). Последние данные показывают,

что ИП участвуют в поддержании плюрипотентности клеток и в дифференцировке, однако, их роль в этих процессах не ясна. В связи с этим, целью нашей работы стало изучение роли ИП в индукции клеточной плюрипотентности. В процессе соматического репрограммирования мышечных эмбриональных фибробластов (МЭФ) с помощью форсированной экспрессии ключевых транскрипционных факторов Oct3/4, Sox2, Klf4 и c-Myc мы показали изменение экспрессии субъединиц ИП  $\beta 5i/LMP7$  и PA28 $\alpha$  частицы, что указывает на возможное участие ИП в процессе репрограммирования. Чтобы выяснить функциональную роль протеасомной системы в процессе репрограммирования, мы использовали ингибитор широкого спектра, блокирующий активности  $\beta 5$  и  $\beta 5i/LMP7$ , и селективный ингибитор для  $\beta 5i/LMP7$ . Ингибирование активности протеасом с помощью обоих ингибиторов приводило к резкому снижению эффективности генерации иПСК из МЭФ, что свидетельствует о важности ИП в генерации иПСК. Для выяснения роли ИП в генерации иПСК мы использовали генетическое нокаутирование. В нашей работе были использованы МЭФ, дефицитные по иммуносубъединицам  $\beta 5i/LMP7$ ,  $\beta 2i/MECL1$ , а также по обеим субъединицам регулятора PA28 $\alpha/\beta$ . Таким образом, нокаут по  $\beta 5i/LMP7$  и  $\beta 2i/MECL1$  приводил к выключению активности различных типов ИП. Мы показали, что МЭФ, дефицитные как по иммуносубъединицам  $\beta 5i/LMP7$ ,  $\beta 2i/MECL1$ , так и по регуляторной частице PA28 $\alpha/\beta$ , имеют существенно сниженную способность к репрограммированию в иПСК. Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что работа ИП в комплексе с регулятором PA28 $\alpha/\beta$  является исключительно важной при получении иПСК мыши.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (19-29-04117).

**Ю.С. Иванова, О.Г. Люблинская, Н.А. Пуговкина, И.Э. Неганова, Н.Н. Никольский**

#### **БИОСЕНСОР ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА HYPER КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССА КЛЕТОЧНОГО РЕПРОГРАММИРОВАНИЯ В ПЛЮРИПОТЕНТНОЕ СОСТОЯНИЕ**

Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

**Ju.S. Ivanova, O.G. Lyublinskaya, N.A. Pugovkina, I.E. Neganova, N.N. Nikolsky**

#### **HYDROGEN PEROXIDE BIOSENSOR HYPER AS A TOOL FOR STUDYING REDOX REGULATION OF CELL REPROGRAMMING TO PLURIPOTENCY**

Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia

ju.s.ivanova@yandex.ru

Развитие техники репрограммирования клеток в плюрипотентное состояние открывает большие перспективы для персонализированной регенеративной медицины. В настоящий момент главными недостатками данной технологии являются длительность и низкая эффективность процесса, что свидетельствует о наличии молекулярных барьеров репрограммирования, изучение способов более эффективного преодоления которых активно ведется в настоящее время. Известно, что сигнальные пути, контролируемые метаболические сдвиги, происходящие