М.Н. Карагяур, М.Г. Гладкова, М.Н. Скрябина, С.С. Джауари, Е.В. Семина, А.Ю. Ефименко, К.Ю. Кулебякин, П.А. Тюрин-Кузьмин, В.А. Ткачук

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНОМИКА: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ

Институт Регенеративной Медицины, Медицинский научно-образовательный центр МГУ имени М.В. Ломоносова
Факультет фундаментальной медицины ФГБОУ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
Факультет Биоинженерии и Биоинформатики ФГБОУ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия
НМИЦ Кардиологии Минздрава РФ, Москва, Россия

M.N. Karagyaur, M.G. Gladkova, M.N. Skryabina, S.S. Dzhauari, E.V. Semina, A.Yu. Efimenko, K.Yu. Kulebyakin, P.A. Tyurin-Kuzmin, V.A. Tkachuk

MEDICAL GENOMICS: CURRENT SITUATION AND DEVELOPMENT TRENDS

Institute of Regenerative Medicine, Medical Research and Education Center of Lomonosov Moscow State University
Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia
National Medical Research Center of Cardiology of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

m.karagyaur@mail.ru

Медицинская геномика играет ключевую роль в установлении взаимосвязи геномных вариантов и мутаций с предрасположенностью к возникновению болезни, ее течению и индивидуальной чувствительностью к лекарственным препаратам. Клеточные культуры и гуманизированные животные модели в сочетании с геномными технологиями стали факторами ее быстрого прогресса. С помощью технологий рекомбинантных ДНК и систем редактирования генома были установлены генетические причины развития множества наследственных заболеваний (спинальная мышечная атрофия, хроническая гранулематозная болезнь и пр.).

В нашей лаборатории с использованием ряда клеточных и животных моделей с выключенными генами *Plaur*, *Duox2* удалось установить связь между дисфункцией данных генов и развитием ряда патологий. При этом knock-out модели являются достаточно грубым инструментом и не способны отразить все нюансы молекулярных механизмов развития заболевания. Современные разновидности технологий редактирования генома позволяют моделировать отдельные SNP, как самую распространенную форму генетической изменчивости в развитии патологий. Еще одним вызовом для медицинской геномики является изучение роли некодирующих областей генома в развитии заболеваний.

В соответствии с этими тенденциями в нашей лаборатории разрабатываются технологические подходы, позволяющие изучать функциональную роль отдельных SNP и некодирующих РНК.

Развитие медицинской генетики, в том числе и с использованием экспериментальных методов, будет способствовать разработке новых терапевтических подходов и приблизит наступление эры персонализированной медицины.

Исследование выполнено за счёт гранта Российского фонда фундаментальных исследований — проект № 18-015-00535. В работе были использованы коллекции клеток и генетических конструкций, собранных и сохраняемых в рамках проекта «Ноев ковчег», и оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития МГУ имени М.В. Ломоносова.

Д.В. Качкин[1, 2, 3], А.А. Зелинский[1, 2], Ю.И. Хорольская[4], К.Ю. Куличихин[1], А.А. Рубель[1, 2, 3], Ю.О. Чернов[1, 5]

ИЗУЧЕНИЕ АГРЕГАЦИИ БЕЛКА PHC3 В КЛЕТКАХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ЧЕЛОВЕКА

[1] *Научная лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, России*
[3] *Научно-Технологический Университет Сириус, Сочи, Россия*
[4] *Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия*
[5] *School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, USA*

D.V. Kachkin[1, 2, 3], A.A. Zelinski[1, 2], J.I. Khorolskaya[4], K.Y. Kulichikhin[1], A.A. Rubel[1, 2, 3], Y.O. Chernoff[1, 5]

STUDY ON THE AGGREGATION OF PHC3 PROTEIN IN MICROBIAL AND HUMAN CELLS

[1] *Laboratory of Amyloid Biology, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia*
[2] *Genetics and Biotechnology Department, Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia*
[3] *Sirius University of Science and Technology, Sochi, Russia*
[4] *Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint-Petersburg, Russia*
[5] *School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, USA*

pspdaniel@mail.ru

Амилоиды — упорядоченные белковые агрегаты фибриллярной природы, которые формируются за счет образования межмолекулярных кросс-бета структур. Особый интерес к амилоидам связан с тем, что они ассоциированы с целым рядом неизлечимых заболеваний человека, наиболее известными из которых являются болезни Альцгеймера и Паркинсона, диабет II типа, прионные заболевания. Наряду с патогенными амилоидными белками, в последние годы появляется все больше данных о функциональных амилоидах, которые выполняют важные биологические функции у различных организмов

В ходе исследований, проведённых с использованием оригинальной дрожжевой тест-системы [1] был выявлен ряд потенциально амилоидогенных белков млекопитающих, включая короткие изоформ 5 и 6 белка PHC3 человека. Амилоидная агрегация коротких изоформ белка PHC3 была подтверждена с помощью биохимических и цитологических методов в клетках дрожжей, а также в бактериальных культурах с использованием системы C-DAG [2]. В ходе данной работы мы показали,

что короткие изоформы белка PHC3, слитые с флуорофором, формируют детергент-устойчивые цитоплазматические агрегаты при сверхпродукции в культуре клеток человека HEK293T. С использованием PHC3 антител было показано что при агрегации укороченных изоформ, полноразмерный белок PHC3 колокализуется с агрегатами и преимущественно накапливается в цитоплазме.

Полноразмерный белок PHC3 является одним из ключевых компонентов поликомб группы (PcG) — комплекса, модулирующего укладку хроматина и необходимого для поддержания репрессированного состояния многих генов, включая Hox-гены во время развития организма. Функции коротких изоформ PHC3 до настоящего времени не были известны. Наши данные указывают, что агрегация коротких изоформ белка PHC3 может сопровождаться секвестрированем в агрегаты его полноразмерной изоформы, что приводит к перемещению части белка PHC3 из ядра в цитоплазму. Мы предполагаем, что это может влиять на активность поликомб комплекса укладку хроматина и уровень экспрессии ряда генов. Таким образом, короткие амилоидогенные изоформы белка PHC3 могут регулировать его биологическую активность. В настоящее время ведутся исследования, направленные на проверку данной гипотезы.

Работа была поддержана грантами РФФИ № 19-34-51054, № 19-34-90153 и СПбГУ ID 51140332, а также при поддержке ресурсных центров «ЦКП ХРОМАС», «Биобанк» и «РМиКТ» Научного парка СПбГУ.

Литература:

1. Chandramowlishwaran P. et al., J. Biol. Chem. 2018; 293(9): 3436–3450.
2. Sivanathan V., Hochschild A. Nat Protoc. 2013; 8(7): 1381–90.

Е.С. Клушевская, Н.А. Чуриков

АНАЛИЗ МЕЖХРОМОСОМНЫХ КОНТАКТОВ ЯДРЫШЕК С ГЕНАМИ *DUX4* ЧЕЛОВЕКА С ПОМОЩЬЮ FISH

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской Академии наук, Москва, Россия

E.S. Klushevskaya, N.A. Tchurikov

ANALYSIS OF INTERCHROMOSOMAL CONTACTS OF NUCLEOLI WITH *DUX4* GENES IN HUMAN CHROMOSOMES USING FISH

Engelhardt Institute of Molecular Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

giedre@inbox.ru

Хроматин обладает динамичной структурой, которая регулируется в ответ на внутренние и внешние стимулы клетки. В нормально функционирующей клетке постоянно происходит синтез белковых молекул, для чего необходимо достаточное количество рРНК. В клетках млекопитающих множественные копи генов рРНК расположены последовательно и разделены межгенными спейсерами. Основные сигнальные пути, влияющие на рост и развитие клетки, регулируют в первую очередь скорость синтеза рРНК. В настоящее время хорошо изучены внутрихромосомные взаимодействия, но появляются данные о возможности межхромосомных взаимодействий и их значимости в регуляции активности генов. Изменение состояния хроматина кластеров генов рРНК может инициировать репрессию или активацию транскрипции в определенных районах хромосом, что позволяет предполагать участие контактов рДНК в регуляции активности генов. Методом 4C, который дает возможность определять взаимодействующие участки генома, было обнаружено, что кластеры рДНК контактируют со специфическими областями разных хромосом, в том числе с генами *DUX4* человека. Оказалось, что контакты генов рРНК с генами *DUX4* пропадают при тепловом шоке. Гены *DUX4* кодируют транскрипционные факторы, необходимые только на стадии двух бластомеров. Их экспрессия на более поздних стадиях приводит к одному из видов мышечной дистрофии. Методами флуоресцентной гибридизации (FISH) были определены места межхромосомных контактов и их частоты в норме и при тепловом шоке. Пробы ДНК генов рРНК метили Alexa-3, а генов *DUX4* — Alexa-5. Обнаружено, что на клетку приходится около 10 фокусов гибридизации зонда *DUX4*. При тепловом шоке число контактов генов *DUX4* с ядрышками уменьшается почти в 2 раза. Общее число фокусов гибридизации пробы *DUX4*, приближенных к ядрышку, не изменяется. При тепловом шоке возрастает среднее расстояние между фокусами гибридизации проб рРНК и *DUX4*. Модальное значение расстояния между генами *DUX4* и ядрышками увеличивается и повышается доля мест гибридизации генов *DUX4*, не связанных с областью гибридизации пробы рРНК. Таким образом, наши данные свидетельствуют о том, что при тепловом шоке гены *DUX4* дистанцируются от ядрышек. Результаты экспериментов согласуются с данными, полученными методом 4C и позволяют выявить разнообразие контактов в отдельных клетках.

Работа выполнена в рамках гранта РНФ № 18-14-00122.

В.В. Козин[1], А.Ю. Шалаева[1], А.И. Кайров[1], И.Е. Борисенко[1], К.В. Халтурин[2], Р.П. Костюченко[1]

ГЕНОМНЫЙ, ТРАНСКРИПТОМНЫЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАНОНИЧЕСКОГО WNT-СИГНАЛИНГА У НЕРЕИДНЫХ ПОЛИХЕТ

[1] *Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия*
[2] *Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University, Окинава, Япония*

V.V. Kozin[1], A.Yu. Shalaeva[1], A.I. Kairov[1], I.E. Borisenko[1], K.V. Khalturin[2], R.P. Kostyuchenko[1]

GENOMIC, TRANSCRIPTOMIC, AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF CANONICAL WNT SIGNALING IN NEREID POLYCHAETES

[1] *Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia*
[2] *Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University, Okinawa, Japan*

v.kozin@spbu.ru

Сигнальный путь Wnt хорошо известен в качестве наиболее консервативного и мультифункционального регулятора жизнедеятельности многоклеточных животных. Участие Wnt в разметке осей зародыша, управлении клеточной судьбой, миграцией и пролиферацией делает его незаменимым инструментом индивидуального