

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-33

**МУЛЬТИОМИКА ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК РАСКРЫВАЕТ
ЗАВИСЯЩИЕ ОТ СТАДИИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ПАТТЕРНЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ
ИММУННОГО ОТВЕТА В ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ
И ПРИ ОСТРЫХ ЛИМФОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗАХ***

**SINGLE-CELL MULTI-OMICS REVEAL STAGE-DEPENDENT PATTERNS
OF IMMUNE RESPONSE GENE EXPRESSION IN NORMAL AND ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA
HUMAN ERYTHROID CELLS**

Р. Ю. Перик-Заводский¹, О. Ю. Перик-Заводская¹, Ю. А. Шевченко¹,
М. О. Вольнец¹, С. Алрхмун¹, В. В. Денисова², С. В. Сенников¹

¹НИИ фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск

²Клиника иммунопатологии НИИ фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск

R. Y. Perik-Zavodskii¹, O. Y. Perik-Zavodskaya¹, Y. A. Shevchenko¹,
M. O. Volynets¹, S. Alrhoun¹, V. V. Denisova², S. V. Sennikov¹

¹Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk

²Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk

✉ zavodskii.1448@gmail.com

Аннотация

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) оказывает подавляющее воздействие на все популяции клеток костного мозга, в том числе на эритроидные ядродержащие клетки — предшественники эритроцитов с иммунорегуляторными свойствами [1]. Для детального изучения механизмов влияния ОЛЛ на эритроидные ядродержащие клетки мы провели анализ иммунного транскриптома и поверхностного протеома методом мультиомики единичных мононуклеарных клеток костного мозга на платформе BD Rhapsody. Мы обнаружили, что при ОЛЛ в поздних эритроидных ядродержащих клетках повышается экспрессия гена *MBZ1* и понижается экспрессия гена *S100A9*.

Abstract

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) exerts a suppressive effect on all bone marrow cell populations, including erythroid nucleated cells, the precursors of red blood cells with immunoregulatory properties [1]. To study in detail the mechanisms of the influence of ALL on erythroid nucleated cells, we analyzed the immune transcriptome and surface proteome using the multi-omics method of single bone marrow mononuclear cells on the BD Rhapsody platform. We found that in ALL, the expression of the *MBZ1* gene increases and the expression of the *S100A9* gene decreases in late erythroid nucleated cells

Цель — определение иммунотранскриптомного (397 генов) и иммунопротеомного (28 поверхностных белков) профиля единичных мононуклеарных клеток костного мозга в норме ($n = 4$) и при ОЛЛ ($n = 3$).

Материалы и методы

Из суспензии клеток костного мозга методом центрифугирования в градиенте плотности Ficoll были выделены мононуклеарные клетки. Мононуклеарные клетки костного мозга были помечены антителами с молекулярными штрихкодами для мультиплексирования Sample Tag и 28 AbSeq и загружены в станцию для мультиомного профилирования BD Rhapsody Express, в которой было произведено добавление улавливающих поли-А-молекулы металлических бус с молекулярными штрихкодами, лизис клеток и гибридизация поли-А-молекул лизированных клеток с металлическими бусами. Поли-А-молекулы затем были обратно транскрибированы с получением кДНК; кДНК была амплифицирована в двух раундах полугнездовой и одном раунде гнездовой ПЦР с целью получения финальных библиотек иммунного транскриптома, AbSeq и Sample Tag. Полученные библиотеки были пулированы и секвенированы на приборе Novaseq 6000 (50PE, S1 проточная кювета).

Полученные FASTQ-файлы были обработаны при помощи пайплайна BD версии 1.10.1 с целью получения финальных матриц экспрессии генов. Матрицы экспрессии генов были проанализированы в пакете Seurat V5 язы-

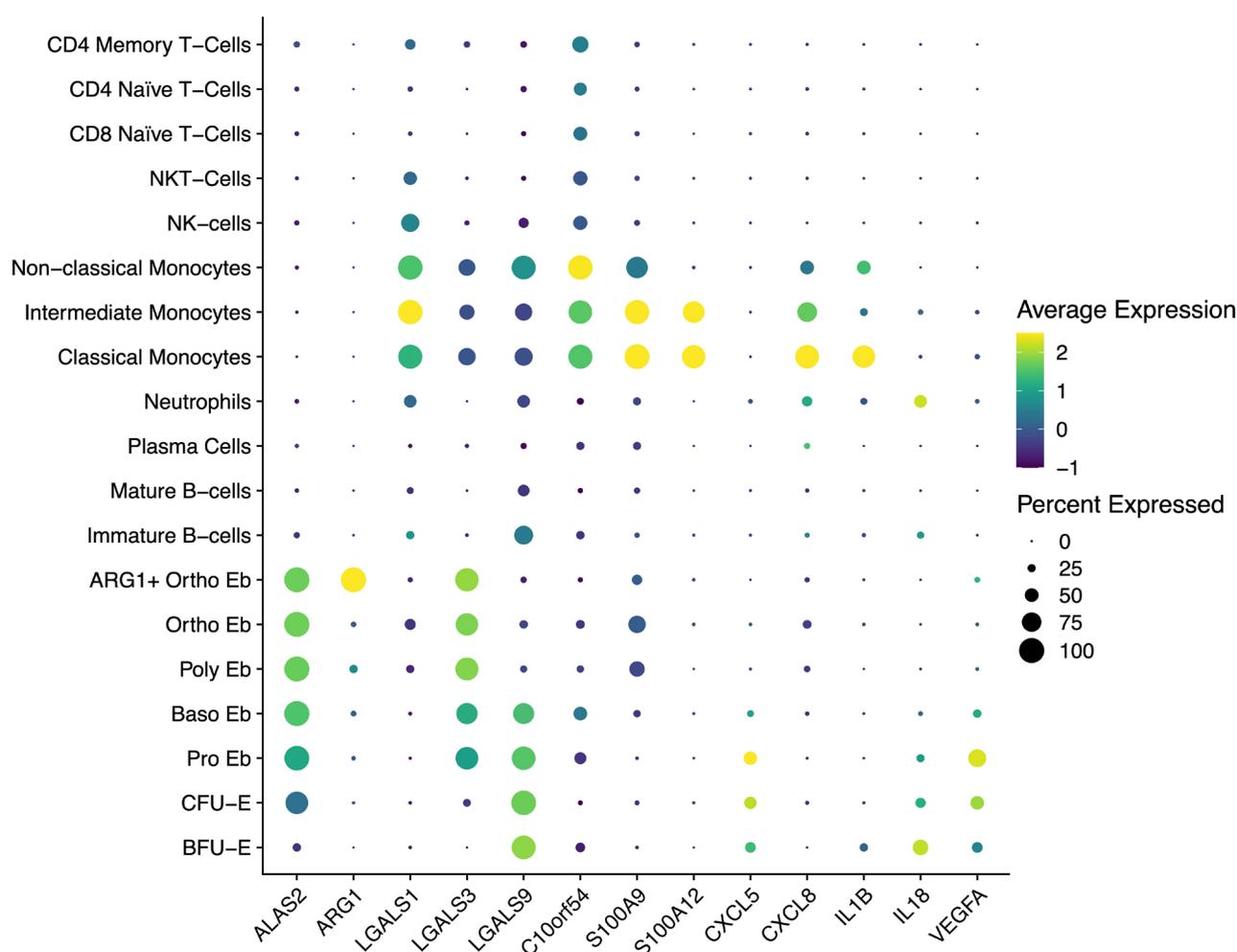
* Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования (государственное задание № 0415-2024-0012).

© Р. Ю. Перик-Заводский, О. Ю. Перик-Заводская, Ю. А. Шевченко, М. О. Вольнец, С. Алрхмун, В. В. Денисова, С. В. Сенников, 2024

ка программирования R. Для этого матрицы экспрессии генов и белков были подвергнуты процедуре контроля качества и объединены. Затем для объединенных матриц генов и белков были найдены наиболее вариабельные по экспрессии гены и белки. Объединенная матрица генов была нормализована при помощи пакета SCTransform языка программирования R с учетом выбранных вариабельных генов. Объединенная матрица белков была нормализована при помощи метода Centered Log-ratio. Для нормализованных матриц генов и белков было произведено снижение размерности PCA (анализ главных компонент), произведена коррекция эффекта партии при помощи пакета Harmony языка программирования R, произведено мультиомное снижение размерности WNN UMAP на 28 скорректированных при помощи Harmony главных компонентах экспрессии генов и на 18 скорректированных при помощи Harmony главных компонентах экспрессии белков. Затем для исследуемых клеток были найдены кластеры, которые соответствовали популяциям клеток костного мозга. Для эритроидных ядродержащих клеток была проведена внутрикластерная дифференциальная экспрессия генов при помощи теста Уилкоксона с критериями биологической и статистической значимости $\log_2(\text{Fold Change}) > 0,847$ или $\log_2(\text{Fold Change}) < -0,847$ и $q\text{-value} < 0,005$.

Результаты

В эритроидных ядродержащих клетках нами была обнаружена экспрессия миелоидных генов *C10orf54*, *CXCL5*, *CXCL8*, *IL1B*, *LGALS1*, *LGALS3*, *LGALS9*, *S100A9* и *VEGFA*, которые были обогащены в терминах Gene Ontology Biological Process, связанных с антибактериальным ответом, и экспрессия которых ранее была обнаружена в классических моноцитах. При ОЛЛ в поздних эритроидных ядродержащих клетках (базофильных и ортохроматофильных эритроблестах) была повышена экспрессия гена *MBZ1* и понижена экспрессия гена *S100A9* в сравнении с поздними эритроидными ядродержащими клетками костного мозга здоровых доноров (см. рисунок).



Точечный график миелоидных/антимикробных генов эритроидных клеток на различных стадиях дифференцировки в сравнении с другими популяциями костного мозга. Фиолетовый цвет обозначает минимальную экспрессию гена, желтый — максимальную. Размер точки отражает процент клеток, экспрессирующих ген

Выводы

Нами была обнаружена экспрессия миелоидных генов, связанных с антибактериальным ответом и свойственных классическим моноцитам, что позволяет говорить о роли эритроидных клеток во врожденном иммунитете. Снижение же экспрессии гена *S100A9* в поздних эритроидных клетках при ОЛЛ позволяет предположить снижение антимикробной функции эритроидных клеток при ОЛЛ, так как ген *S100A9* является частью димера белка Кальпротектина, имеющего противомикробную активность [2].

Литература

1. Perik-Zavodskii R., Perik-Zavodskaia O., Shevchenko J. et al. A subpopulation of human bone marrow erythroid cells displays a myeloid gene expression signature similar to that of classic monocytes // PloS one. 2024. Vol. 19 (7). P. e0305816.
2. Perik-Zavodskaia O., Perik-Zavodskii R., Nazarov K. et al. Murine Bone Marrow Erythroid Cells Have Two Branches of Differentiation Defined by the Presence of CD45 and a Different Immune Transcriptome Than Fetal Liver Erythroid Cells // International Journal of Molecular Sciences. 2023. Vol. 24 (21). P. 15752.