

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-270

**ТРАНСКРИПЦИОННАЯ КИНАЗА CDK19 УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ
ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПЕРВИЧНЫХ МАКРОФАГАХ МЫШИ*****THE TRANSCRIPTIONAL KINASE CDK19 IS INVOLVED IN THE REGULATION
OF IMMUNOMETABOLIC PROCESSES IN PRIMARY MOUSE MACROPHAGES**

А. Н. Незнамов, Ю. П. Байкова, М. В. Кубекина

Институт биологии гена РАН, Москва

A. N. Neznamov, Y. P. Baykova, M. V. Kubekina

Institute of Gene Biology RAS, Moscow

✉ shura.neznamov.2016@gmail.com

Аннотация

CDK19 относится к транскрипционным киназам и участвует в перепрограммировании транскрипции — одного из ключевых механизмов дифференцировки клеток, а также развития патологических процессов. В рамках представленной работы показана роль киназы CDK19 в регуляции метаболизма липидов, фагоцитарной активности и иммунного статуса в первичных макрофагах мыши.

Abstract

CDK19 is a transcriptional kinase involved in transcription reprogramming — one of a key mechanisms of cell differentiation and the development of pathological processes. Within the presented study, the role of CDK19 kinase in regulating lipid metabolism, phagocytic activity, and immune status in primary mouse macrophages was demonstrated.

Атеросклероз — хроническое воспалительное заболевание сосудов, важную роль в развитии которого играет нарушение функции макрофагов вследствие дисрегуляции их липидного обмена [1]. Ключевым механизмом адаптации клеток к изменяющимся условиям является перепрограммирование транскрипции. CDK19 — важный участник этого процесса [2]. Работа проводилась в рамках исследования атерогенеза и сосредоточена на установлении роли киназы CDK19 в таких процессах, как накопление липидов макрофагами, их фагоцитарная активность и воспалительный статус.

Таким образом, целью данного исследования было оценить влияние транскрипционной киназы CDK19 на фагоцитарную активность, липидный обмен и воспалительный ответ в культуре BMDM-макрофагов мыши.

Для работы были использованы макрофаги мыши костномозгового происхождения (BMDM), выделенные из мышей линий C57BL/6 и *Cdk19*^{-/-}. Костный мозг вымывали из берцовых костей исследуемых мышей. Затем клеточную суспензию культивировали в течение недели в присутствии колониестимулирующего фактора макрофагов M-CSF при 37 °C, 5 % CO₂. За это время клетки дифференцировались в макрофаги.

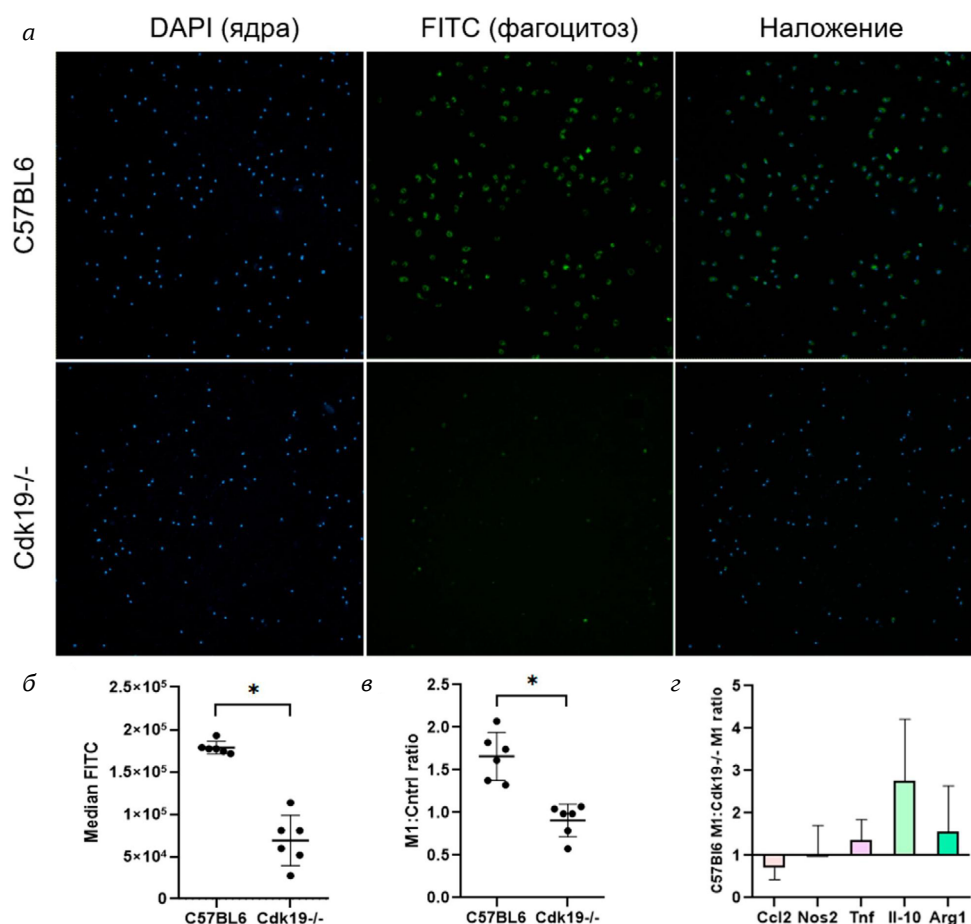
Для исследования фагоцитарной активности использовали флуоресцентно меченые частицы *E. coli* (Invitrogen), интенсивность флуоресценции которых значительно усиливается в кислой среде фаголизосом. После 4 ч инкубации с частицами при 37 °C проводили исследование фагоцитарной активности на проточном цитофлуориметре, а также дополнительно выполняли визуализацию процесса фагоцитоза методом флуоресцентной микроскопии. В результате было показано, что макрофаги с нокаутом *Cdk19* хуже, чем контрольные макрофаги, осуществляли фагоцитоз (см. рисунок, а, б), и эти различия достоверны ($p < 0,05$).

Известно, что в M1-поляризованных макрофагах происходит накопление липидов [3]. Следующим этапом работы было оценить накопление липидных включений макрофагами с нокаутом *Cdk19* при воспалительной M1-стимуляции. Для этого к дифференцированным макрофагам добавляли индукторы воспалительного ответа IFN- γ (20 ng/ml) и LPS (100 ng/ml), через 48 ч производили окрашивание липидных включений красителем LipidSpot (Biotium). Анализ производили на флуоресцентном микроскопе с последующей обработкой в программном обеспечении ImageJ. Оказалось, что в ходе воспалительного ответа макрофаги с нокаутом *Cdk19* накапливают меньше липидов по сравнению с контрольными макрофагами (см. рисунок, в), и эти различия достоверны ($p < 0,05$).

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 24-25-00384).

© А. Н. Незнамов, Ю. П. Байкова, М. В. Кубекина, 2025

На последнем этапе работы было проведено исследование влияния нокаута *Cdk19* на экспрессию про- и противовоспалительных генов при M1-поляризации макрофагов с помощью метода количественной ПЦР. Оказалось, что нокаут *Cdk19* не оказывает влияния на уровень экспрессии генов *Ccl-2*, *Tnf* и *Nos2* провоспалительного ответа макрофагов (см. рисунок, з), однако была обнаружена тенденция к снижению экспрессии противовоспалительных генов *Arg1* и *Il10*, что свидетельствует о возможном ухудшении переключения между M1- и M2-фенотипами макрофагов, но этот вопрос требует проведения дополнительных исследований.



Исследование фагоцитарной активности (а, б), накопления липидных включений (в) и уровня экспрессии про- и противовоспалительных маркеров (з) в культуре BMDM с нокаутом *Cdk19*

В представленной работе проведено комплексное исследование функциональных изменений в культуре BMDM мышей при нокауте гена *Cdk19*. Показано снижение фагоцитарной активности и накопления липидных включений в CDK19-дефицитных макрофагах по сравнению с контрольными макрофагами от мышей линии C57BL/6. Кроме того, в макрофагах от мышей линии *Cdk19*^{-/-} показана классическая M1-поляризация с тенденцией к снижению экспрессии противовоспалительных генов *Il-10* и *Arg1*. Полученные данные свидетельствуют о критической роли CDK19 в регуляции как иммунных функций, так и метаболических процессов макрофагов, что открывает новые перспективы для понимания молекулярных механизмов иммунометаболизма.

Литература

1. Remmerie A., Scott C.L. Macrophages and lipid metabolism // Cell. Immunol. 2018. Vol. 330. P. 27–42.
2. Chen M., Li J., Zhang L. et al. CDK8 and CDK19: positive regulators of signal-induced transcription and negative regulators of Mediator complex proteins // Nucleic Acids Res. 2023. Vol. 51 (14). P. 7288–7313.
3. Morgan P.K., Huynh K., Pernes G. et al. Macrophage polarization state affects lipid composition and the channeling of exogenous fatty acids into endogenous lipid pools // J. Biol. Chem. 2021. Vol. 297 (6). P. 101341.