

Транскриптомика единичных клеток позволяет считать *Acomys cahirinus* новой перспективной моделью для изучения надпочечников

Быданов А.^{1*}, Билялова А.¹, Билялов А.^{1,2}, Газизова Г.¹, Шагимарданова Е.¹, Козлова О.¹, Гусев О.^{1,3}

¹ Исследовательский центр регуляторной геномики, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский федеральный университет, Казань, Россия

² ГБУЗ Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова ДЗМ, Москва, Россия

³ Высшая медицинская школа, Университет Джунтендо, Токио, Япония

* bydanovandrey03@gmail.com

Ключевые слова: *Acomys cahirinus*; транскриптомика единичных клеток; надпочечник; *Cyp17a1*

Мотивация и цель: Изучение заболеваний надпочечника в наше время является актуальной проблемой. В свете разработки генетических и клеточных методов лечения заболеваний надпочечника крайне важно проводить доклинические исследования с использованием животных моделей, таких как мыши и крысы. Тем не менее между лабораторными животными и человеком существуют заметные различия в морфологических и генетических аспектах надпочечников. В связи с этим возникает вопрос о целесообразности использования этих животных в качестве моделей для изучения заболеваний надпочечника, а также для оценки новых методов лечения. *Acomys cahirinus* – вид, широко известный как иглистая мышь, является перспективным модельным организмом для изучения различных физиологических процессов благодаря своим замечательным способностям к регенерации и сходству с человеком в некоторых биологических аспектах, особенно в отношении надпочечников. В наших предыдущих исследованиях мы уже продемонстрировали морфологически сходную картину надпочечника человека и иглистой мыши. Цель данного исследования – изучить структуру надпочечника *Acomys cahirinus* с разрешением на уровне отдельных клеток.

Методы и алгоритмы: Мы использовали протокол 10X Genomics Single Cell 5' R2-only [1] для секвенирования РНК надпочечников 10 образцов *Acomys cahirinus* – 5 самцов и 5 самок. Все образцы были картированы на геном *Acomys cahirinus* в программе cellranger count, что дало нам около 88 % картирования и 73 % уникально картированных прочтений. Дальнейшая обработка проводилась с помощью стандартного пайплайна Seurat V5 [2] с нормализацией SCT и интеграцией с помощью Harmony [3].

Результаты: Контроль качества чтений 10 образцов надпочечника проводился по стандартным критериям. Интегрированный набор данных был проанализирован с использованием маркеров для надпочечников мыши, что позволило выявить следующие типы клеток: клубочковая, сетчатая и пучковая зоны, мозговое вещество, иммунные клетки, эндотелиальные клетки, нейроглия и мезенхимальные клетки. Интеграция с образцами лабораторной мыши *Mus musculus* показала значительную разницу в составе типов клеток, а именно: среди них были выявлены почти все типы клеток *Acomys*, за исключением сетчатой

зоны. Кроме того, в клетках *Acomys* был выявлен значительный уровень экспрессии гена *Cyp17a1*, который не экспрессировался в клетках мыши, но известен своей экспрессией в надпочечниках человека.

Выводы: В заключение следует отметить, что наше исследование позволяет рассматривать *Acomys cahirinus* как новую и надежную модель для изучения заболеваний надпочечника. Сочетание морфологического и транскриптомного подходов обеспечивает комплексную основу для понимания биологии надпочечника и разработки целевых методов лечения их заболеваний. Данное исследование способствует расширению наших знаний о функции и патофизиологии надпочечника, что в конечном итоге позволит улучшить диагностику и лечение заболеваний надпочечника как у человека, так и у других видов млекопитающих.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 075-15-2021-1344.

Single-cell transcriptomics suggests *Acomys cahirinus* to be a new promising model for adrenal gland studies

Bydanov A.^{1*}, Bilyalova A.¹, Bilyalov A.^{1,2}, Gazizova G.¹, Shagimardanova E.¹, Kozlova O.¹, Gusev O.^{1,3}

¹Regulatory Genomics Research Center, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University, Kazan, Russia

²Moscow Clinical Research Center named after A.S. Loginov MHD, Moscow, Russia

³Graduate School of Medicine, Juntendo University, Tokyo, Japan

* bydanovandrey03@gmail.com

Key words: *Acomys cahirinus*; scRNAseq; adrenal gland; *Cyp17a1*

Motivation and Aim: The study of adrenal gland disorders is a pressing issue in the present era. In light of the development of genetic and cellular therapies for adrenal conditions, it is imperative that preclinical research using animal models, such as mice and rats, be conducted. Nevertheless, there are notable differences in the morphological and genetic aspects of the adrenal gland between laboratory animals and humans. This prompts the question of whether it is appropriate to use these animals as models for studying adrenal disorders, and indeed for evaluating new treatments. *Acomys cahirinus*, commonly known as the spiny mouse, has emerged as a promising model organism for investigating various physiological processes, due to its remarkable regenerative capabilities and similarities to humans in certain biological aspects, particularly with regard to the adrenal gland. In our previous research, we have already demonstrated a morphologically analogous picture of the human and spiny mouse adrenal glands. The objective of this study is to investigate the structure of the *Acomys cahirinus* adrenal gland at the single-cell resolution.

Methods and Algorithms: We utilized 10X Genomics Single Cell 5' R2-only protocol [1] for RNA sequencing of adrenal glands of 10 *Acomys cahirinus* samples – 5 male and 5 female. All samples were mapped onto *Acomys cahirinus* genome with cellranger count tool, that gave us approximately 88 % mapping rate and 73 % of reads uniquely

mapped. Further processing was carried out with standard Seurat V5 [2] pipeline with SCT normalization and integration using Harmony [3].

Results: A quality control of reads from 10 samples was performed using standard criteria. The integrated dataset was analyzed using markers for mouse adrenal gland, which helped us to reveal the following cell types: zona reticularis, zona fasciculata, zona glomerulosa, medulla, immune cells, endothelial cells, neuroglia, and mesenchymal cells. The integration with *Mus musculus* showed a significant difference in cell types composition, with the mouse dataset exhibiting almost all *Acomys* cell types, except for zona reticularis. Furthermore, we observed a significant expression level of *Cyp17a1* gene in *Acomys* cells, which exhibited no expression in mouse cells but is known for its expression in human adrenal gland.

Conclusion: In conclusion, our study establishes *Acomys cahirinus* as a novel and robust model for investigating adrenal gland diseases. The combination of morphological and transcriptomic approaches provides a comprehensive framework for understanding adrenal gland biology and developing targeted therapies for adrenal disorders. This research contributes to advancing our knowledge of adrenal gland function and pathophysiology, ultimately paving the way for improved diagnosis and treatment of adrenal gland diseases in both humans and other mammalian species.

Funding: The study is supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation grant 075-15-2021-1344.

Список литературы/References

1. https://cdn.10xgenomics.com/image/upload/v1666737555/support-documents/CG000331_ChromiumNextGEMSingleCell5-v2_UserGuide_RevE.pdf
2. Hao Y., Stuart T., Kowalsk M.H. et al. Dictionary learning for integrative, multimodal and scalable single-cell analysis. *Nat Biotechnol.* 2024;42:293-304. doi 10.1038/s41587-023-01767-y
3. Korsunsky I., Millard N., Fan J., Slowikowski K., Zhang F., Wei K., Baglaenko Y., Brenner M., Loh P.R., Raychaudhuri S. Fast, sensitive and accurate integration of single-cell data with Harmony. *Nat Methods.* 2019;(12):1289-1296. doi 10.1038/s41592-019-0619-0