

Изучение молекулярных механизмов изменения транскриптомного возраста в период раннего эмбриогенеза мышей на уровне генной экспрессии одиночных клеток

Давитадзе М.С.^{1*}, Дмитриев С.Е.², Тышковский А.Э.^{2,3}

¹ Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет, Москва, Россия

² НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет, Москва, Россия

³ Brigham and Women's Hospital, Медицинская Школа Гарварда, Бостон, США

* maria.davitadze@mail.ru

Ключевые слова: часы старения; омоложение; эмбриогенез; scRNA-seq; траектории дифференцировки

Мотивация и цель: Современные исследования показывают, что половые клетки подвержены возрастным изменениям: так, в сперматозоидах накапливаются повреждения, ассоциированные со старением, такие как эпигенетические изменения и мутации [1], а эпигенетический возраст гамет и зиготы сопоставим с возрастом соматических клеток того же организма [2]. В связи с этим была выдвинута гипотеза, что после оплодотворения, в процессе эмбриогенеза, должно происходить обращение возрастных изменений, то есть омоложение. В подтверждение этой гипотезы в недавних исследованиях с помощью эпигенетических часов старения было продемонстрировано, что после оплодотворения биологический возраст эмбрионов мышей действительно снижается [2]. При этом конкретные механизмы, лежащие в основе этого процесса, и их универсальность для всех эмбриональных клеточных популяций остаются практически неизученными. Целью нашей работы являлось более детальное изучение механизмов изменения биологического возраста в отдельных клеточных популяциях в процессе раннего эмбриогенеза мышей.

Методы и алгоритмы: Для анализа мы использовали публично доступные данные секвенирования 116312 одиночных клеток 350 эмбрионов мыши, собранных в девяти последовательных временных точках от 6.5 до 8.5 дней после оплодотворения [3]. Восстановление траекторий дифференцировки проводили с помощью метода оптимального транспорта Waddington-OT [4]. Биологический и хронологический возраст, а также ожидаемый риск смертности предсказывали с помощью мульти-тканевых транскриптомных часов старения, представляющих собой модель линейной регрессии, обученной предсказывать возраст на данных секвенирования РНК. Также мы использовали модульные транскриптомные часы, построенные на наборах ко-регулируемых генов, связанных с определенными функциональными процессами клеток.

Результаты: Мы проанализировали изменение суммарного биологического возраста эмбрионов, измеренного с помощью транскриптомных часов, в процессе гастрюляции и раннего органогенеза. Мы обнаружили, что в этот период эмбрионального развития транскриптомный возраст падает, то есть профиль генной экспрессии меняется в сторону, противоположную изменениям, ассоциированным с возрастом и увеличением смертности. Эти результаты соотносятся с данными предыдущих исследований на уровне метилирования ДНК

[2]. Для того чтобы расширить понимание того, за счет чего наблюдается подобный эффект, мы проанализировали изменение транскриптомного возраста на уровне отдельных клеточных популяций. Для этого мы использовали данные scRNA-seq и с помощью метода оптимального транспорта восстановили траектории развития клеточных типов. Мы показали, что снижение биологического возраста происходит в ходе развития всех клеточных типов за исключением клеток первичной энтодермы, хотя скорость снижения молекулярного возраста варьируется между разными популяциями. Быстрее всего возраст падает у глоточной мезодермы, параксиальной мезодермы и эндотелия. С помощью модульных часов мы оценили, какие функциональные процессы вносят наибольший вклад в наблюдаемое снижение возраста. В целом молекулярные пути, отвечающие за падение биологического возраста, оказались схожи у различных клеточных популяций. Наиболее заметный эффект наблюдался для модулей, связанных с метаболизмом ксенобиотиков, коагуляцией, клеточной адгезией, клеточным циклом и модификацией хроматина. Интересно, что некоторые клеточные процессы, такие как метаболизм жирных кислот и ответ на тепловой стресс, напротив, показали увеличение возраста в процессе гастрюляции и раннего органогенеза для большинства типов клеток, что может указывать на отсутствие унифицированной возрастной динамики клеточных процессов в ходе эмбриогенеза мышей.

Выводы: Транскриптомный возраст снижается в ходе развития большинства клеточных типов в период гастрюляции и раннего органогенеза мышей (с 6.5 по 8.5 день), при этом у различных клеточных типов наблюдается разная скорость снижения возраста. Снижение транскриптомного возраста в разных клеточных популяциях происходит за счет схожих молекулярных путей, однако некоторые клеточные процессы начинают проявлять признаки старения уже на данной стадии эмбриогенеза, что может указывать на индивидуальный характер траектории омоложения и старения различных компонентов клеток в процессе эмбрионального развития млекопитающих.

Exploring the molecular mechanisms behind changes in transcriptomic age during early mouse embryogenesis at the level of single-cell gene expression

Davitadze M.S.^{1*}, Dmitriev S.E.², Tyshkovskiy A.E.^{2, 3}

¹ Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow State University, Moscow, Russia

² Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Moscow, Russia

³ Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA

* maria.davitadze@mail.ru

Key words: aging clocks; rejuvenation; embryogenesis; scRNA-seq; differentiation trajectories

Motivation and Aim: Modern research shows that gametes are subject to age-related changes. For instance, sperm cells accumulate aging-associated damages, such as epigenetic changes and mutations [1], and the epigenetic age of gametes and zygotes matches that of somatic cells of the same organism [2]. This observation has led to the hypothesis that embryogenesis involves a reversal of age-related changes, essentially resulting in rejuvenation. Supporting this hypothesis, recent studies using epigenetic aging clocks have shown that the biological age of mouse embryos decreases after

fertilization [2]. Nevertheless, the specific mechanisms underlying this process and their universality across all embryonic cell populations are still poorly understood. The aim of our study was to further investigate the mechanisms of biological age change in individual cell populations during early mouse embryogenesis.

Methods and Algorithms: We analyzed publicly available sequencing data from 116312 single cells from 350 mouse embryos, collected at nine consecutive time points from 6.5 to 8.5 days post-fertilization [3]. We reconstructed differentiation trajectories using the Waddington-OT optimal transport method [4]. Biological and chronological age, along with expected mortality risk, were predicted using multi-tissue transcriptomic aging clocks – a linear regression model trained on RNA sequencing data. We also employed modular transcriptomic clocks based on sets of co-regulated genes linked to specific cellular functions.

Results: Our analysis of changes in the total biological age of embryos, as measured by transcriptomic clocks, during gastrulation and early organogenesis showed a decrease in transcriptomic age. This suggests that the gene expression profile shifts away from age-related changes and increased mortality. These findings are consistent with previous DNA methylation studies [2]. To further explore the mechanisms behind this effect, we analyzed changes in transcriptomic age at the level of individual cell populations using scRNA-seq data and the Waddington-OT method to reconstruct cell type development trajectories. We found that biological age decreases in all cell types except for the extraembryonic endoderm cells, although the rate of decrease in transcriptomic age varies among cell populations. The most substantial decreases occur in the pharyngeal mesoderm, paraxial mesoderm, and endothelium. By using modular clocks, we evaluated which functional processes contribute most significantly to age reduction. We found that, overall, the molecular pathways responsible for decreasing biological age are similar across cell populations. The most noticeable effect was observed in modules associated with xenobiotic metabolism, coagulation, cell adhesion, cell cycle, and chromatin modification. Interestingly, some cellular processes, such as fatty acid metabolism and the heat stress response, showed an increase in age during gastrulation and early organogenesis for most cell types, which may suggest a lack of uniform age dynamics in cellular processes during mouse embryogenesis.

Conclusion: Transcriptomic age decreases during the development of most cell types from day 6.5 to 8.5 of mouse embryogenesis. Various cell types experience different rates of age reduction. The reduction in transcriptomic age in different cell populations is driven by similar molecular pathways, however, some cellular processes begin to show signs of aging at this stage of embryogenesis, which may indicate the individual character of the rejuvenation and aging trajectories of various cell components during the embryonic development of mammals.

Список литературы/References

1. Jenkins T.G., Aston K.I., Pflueger C., Cairns B.R., Carrell D.T. Age-associated sperm DNA methylation alterations: possible implications in offspring disease susceptibility. *PLoS Genet.* 2014;10(7):e1004458. doi 10.1371/journal.pgen.1004458
2. Kerepesi C., Zhang B., Lee S.G., Trapp A., Gladyshev V.N. Epigenetic clocks reveal a rejuvenation event during embryogenesis followed by aging. *Sci Adv.* 2021;7(26):eabg6082. doi 10.1126/sciadv.abg6082
3. Pijuan-Sala B., Griffiths J.A., Guibentif C. et al. A single-cell molecular map of mouse gastrulation and early organogenesis. *Nature.* 2019;566(7745):490-495. doi 10.1038/s41586-019-0933-9
4. Schiebinger G., Shu J., Tabaka M. et al. Optimal-Transport Analysis of Single-Cell Gene Expression Identifies Developmental Trajectories in Reprogramming. *Cell.* 2019;176(4):928-943.e22. doi 10.1016/j.cell.2019.01.006