



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ
И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН

Юбилейная научная конференция «Николай Константинович Кольцов и биология XXI века»



АО Биомедицинские Клеточные Продукты

3-8 октября 2022
Москва, ИБР РАН

УДК 57
ББК 28я43
М34

М34 **Материалы Юбилейной научной конференции «Николай Константинович Кольцов и биология XXI века», 3-8 октября 2022 г, Москва, ИБР РАН. — М. Издательство Перо, 2022. — 1,38 Мб. [Электронное издание].**

ISBN 978-5-00204-554-9

В сборнике представлены материалы Юбилейной научной конференции «Николай Константинович Кольцов и биология XXI века», которая состоялась 3-8 октября 2022 года в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва). Конференция приурочена к 150-летию Н.К. Кольцова – создателя отечественной школы экспериментальной биологии и основателя Института экспериментальной биологии, преемником которого является Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. Конференция посвящена обсуждению современных достижений, перспектив и основных направлений биологии развития. В рамках конференции проведен симпозиум «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии» памяти профессора Л.В. Белоусова и симпозиум «Генетические технологии в биологии развития и биомедицине». Также в рамках конференции проведен образовательный курс «Объекты биологии развития».

Конференция организована Институтом биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации и Российской академии наук. Симпозиум «Генетические технологии в биологии развития и биомедицине» поддержан Министерством науки и высшего образования (Соглашение № 075-15-2021-1075 от 28.09.2021 г).

Материалы конференции опубликованы на сайте ИБР РАН www.idbras.ru



www.idbras.ru

УДК 57
ББК 28я43

ISBN 978-5-00204-554-9

(с) Коллектив авторов, 2022
(с) ИБР РАН, 2022



**Николай Константинович
КОЛЬЦОВ**

15 июля 1872 – 2 декабря 1940

ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ

Васильев А.В. Председатель Оргкомитета	член-корр. РАН, д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; Кафедра эмбриологии Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова</i>
Рожнов С.В. Руководитель симпозиума	академик РАН, д.б.н.	<i>Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН</i>
Воротеляк Е.А. Руководитель симпозиума	член-корр. РАН, д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Краус Ю.А. Руководитель образовательного курса	д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Волина Е.В. Ответственный секретарь Оргкомитета	к.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Васецкий Е.С.	д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН; Институт Гюстава Русси, Национальный центр научных исследований (Вильжюиф, Франция)</i>
Голиченков В.А.	д.б.н., профессор	<i>Кафедра эмбриологии Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова</i>
Дгебуадзе Ю.Ю.	академик РАН, д.б.н.	<i>Отделение биологических наук РАН, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН</i>
Зарайский А.Г.	д.б.н., профессор	<i>Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН</i>
Захаров И.С.	д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Исаева В.В.	д.б.н., профессор	<i>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН</i>
Костюченко Р.П.	к.б.н., доцент	<i>Кафедра эмбриологии Биологического факультета Санкт- Петербургского государственного университета</i>
Куликов А.М.	д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Никишин Д.А.	к.б.н., доцент	<i>Кафедра эмбриологии Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Озернюк Н.Д.	д.б.н., профессор	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Фишман В.С.	к.б.н.	<i>Институт цитологии и генетики СО РАН</i>
Хабарова М.Ю.	к.б.н., доцент	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>
Шарова Н.П.	д.б.н.	<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН</i>

ПРОГРАММА

Юбилейной научной конференции «Николай Константинович Кольцов и биология XXI века»

3-8 октября 2022 г.
ИБР РАН, Москва

3 октября

УТРЕННЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н., член-корр. РАН Васильев Андрей Валентинович	
10:00 - 10:10	Дгебуадзе Юрий Юлианович (Отделение биологических наук РАН) Приветственное слово
10:10 - 10:30	Васильев Андрей Валентинович (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Вступительное слово. Феномен Николая Кольцова
10:30 - 11:00	Жимулёв Игорь Федорович (Лауреат премии РАН имени Н. К. Кольцова. Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия) Развитие идеи Н.К. Кольцова о структуре междисковых политенных хромосом <i>Drosophila</i>
11:00 - 11:30:	Калмыкова Алла Ивановна (Лауреат премии РАН имени Н. К. Кольцова. Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия) Многообразие функций теломер в развитии и старении
11:30 - 12:00	Бродский Всеволод Яковлевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Клеточная полиплоидия. Развитие идей Н.К. Кольцова
12:00 - 12:30	Лагарькова Мария Андреевна (ФНКЦ физико-химической медицины ФМБП России, Москва, Россия) Проблемы органогенеза <i>in vitro</i> - органоиды из плюрипотентных стволовых клеток
12:30 - 13:00	Кофе-брейк (Регистрация стендовых докладов)
13:00 - 13:30	Мельникова Виктория Ильинична (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Серотонин как посредник между окружающей средой и развивающимся организмом
13:30 - 14:00	Демаков Сергей Анатольевич (Лауреат премии РАН имени Н. К. Кольцова. Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия) Применение систем направленного редактирования генома в изучении структурно-функциональной организации интерфазных хромосом <i>Drosophila</i>
14:00 - 14:30	Суркова Светлана Юрьевна (Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия) Различия в динамике экспрессии генов сегментации дрозофилы на уровне мРНК и белка
14:30 - 15:30	Обед (Сессия стендовых докладов)

ВЕЧЕРНЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н., профессор, академик РАН Жимулёв Игорь Федорович	
15:30 - 16:00	Макеев Всеволод Юрьевич (Московский физико-технический институт, Москва, Россия) Транскриптомика одиночных клеток дифференцирующегося нервного гребня <i>Danio rerio</i>

**Юбилейная научная конференция
«Николай Константинович Кольцов и биология XXI века»**

16:00 - 16:20	Зыкова Татьяна Юрьевна (Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия) Продукты генов «домашнего хозяйства» участвуют в формировании черных дисков политенных хромосом <i>Drosophila</i>
16:20 - 16:40	Тамбовцева Валентина Георгиевна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Изменения хромосомных наборов в природе и эксперименте: слепушонки как модель для изучения эволюции видов-двойников
16:40 - 17:00	Кофе-брейк
17:00 - 17:20	Кондакова Ирина Викторовна (НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томск, Россия) Актин-связывающие белки в развитии злокачественных опухолей в сравнении с ранним онтогенезом
17:20 - 17:40	Астахова Татьяна Михайловна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Иммунные протеасомы в онтогенезе и онкогенезе: есть ли разница?
17:40 - 18:00	Фильм о Н.К. Кольцове
18:00 - 19:00	Фуршет

4 октября

УТРЕННЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н. Шарова Наталья Петровна

10:00 - 10:30	Нефедова Лидия Николаевна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Роль доместцированных последовательностей ретротранспозонов в процессах стресс-адаптации у личинок и имаго <i>Drosophila melanogaster</i>
10:30 - 11:00	Ересковский Александр Вадимович (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, IMBE, Aix-Marseille Université, France) Скрытое разнообразие регенеративных механизмов губок
11:00 - 11:20	Акуленко Наталья Викторовна (Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия) Герминальные клетки дрозофилы обладают специфичными паралогами ассоциированного с рибосомами шаперона NAC
11:20 - 11:40	Новикова Елена Львовна (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Такая разная регенерация аннелид – в чем секрет?
11:40 - 12:00	Кофе-брейк
12:00 - 12:30	Кулибин Андрей Юрьевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Дифференцировка поддерживающих клеток мужской гонады млекопитающих
12:30 - 13:00	Трифонов Владимир Александрович (Лауреат премии РАН имени Н.К. Кольцова. Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия) Паттерны редиплоидизации после полногеномных дупликаций у животных
13:00 - 13:20	Куликов Алексей Михайлович (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Демаскулинизация X-хромосомы у видов с мужским генотипом XY и механизмы, противодействующие демаскулинизации
13:20 - 13:40	Гасанов Евгений Валерьевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Роль калиевых каналов в развитии органа слуха рыб <i>Danio rerio</i>
13:40 - 14:30	Обед (Сессия стендовых докладов)

ВЕЧЕРНЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н., профессор Озернюк Николай Дмитриевич

14:30 - 15:00	Темерева Елена Николаевна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Онтогенез форонид и закономерности развития Bilateria
15:00 - 15:20	Гриньков Владимир Григорьевич (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Альтернативная репродуктивная стратегия как результат эписелекции: исследование внебрачного спаривания у социально моногамной мухоловки-пеструшки (<i>Ficedula hypoleuca</i>)
15:20 - 15:40	Никишин Денис Александрович (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Устройство серотонинергической системы в доимплантационном развитии млекопитающих
15:40 - 16:00	Базылев Сергей Сергеевич (Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия) Функциональный анализ регуляции гена <i>pirate</i> с помощью piRNA в семенниках <i>Drosophila melanogaster</i>
16:00 - 16:30	Зайцева Ольга Викторовна (Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург) Эволюционные и онтогенетические закономерности становления и развития катехоламинергических систем у представителей гастропод
16:30 - 16:50	Кофе-брейк ()
16:50 - 17:10	Захарова Людмила Алексеевна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Пренатальный стресс репрограммирует механизмы регуляции развития нейроэндокринной и иммунной систем
17:10 - 17:30	Ветрова Александра Алесандровна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Дупликация генов <i>Brachyury</i> в типе Cnidaria
17:30 - 17:50	Мюге Николай Сергеевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Букет видов бычков-подкаменщиков озера Байкал

5 октября

УТРЕННЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н. Захаров Игорь Сергеевич

10:00 - 10:30	Соколов Дмитрий Дмитриевич (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Происхождение злаков как пример возникновения новой группы
10:30 - 11:00:	Козин Виталий Владиславович (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Участие нервной системы в регуляции ранних этапов регенерации у полихеты <i>Alitta virens</i>
11:00 - 11:30	Костюченко Роман Петрович (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Участие генов программы поддержания половых и мультипотентных клеток в процессах эмбрионального и постэмбрионального развития аннелид
11:30 - 11:45	Евнукова Евдокия Антоновна (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Сравнительно-морфологическое исследование нейруляции <i>Coregonus nasus</i> и <i>Danio rerio</i>
11:45 - 12:10	Кофе-брейк

**Юбилейная научная конференция
«Николай Константинович Кольцов и биология XXI века»**

12:10 - 13:40	Лавров Андрей Игоревич (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Клеточная пролиферация и апоптоз в ходе восстановительных процессов у губок (Porifera): количественный и функциональный анализ
12:40 - 13:10	Дьяконова Варвара Евгеньевна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Постмитотический мутагенез нейронов и возможные эволюционные решения, снижающие «плату» за пластичность мозга
13:10 - 13:30	Старунова Зинаида Игоревна (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия) Особенности организации паразитических личинок двустворчатых моллюсков <i>Unio pictorium</i> и <i>Anadonta cygnea</i> (Unionidae)
13:30 - 13:45	Кондукторова Виктория Владимировна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Исследование экспрессии гена половой плазмы <i>Germes</i> в ооцитах и фолликулярных клетках шпорцевой лягушки
13:45 - 14:05	Тесакова Екатерина Михайловна (Геологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Эволюция полового диморфизма у некоторых древних Glyptocythere (Ostracoda, Crustacea) из средней юры Восточно-Европейской платформы
14:05 - 15:10	Обед (Сессия стендовых докладов)

ВЕЧЕРНЯЯ СЕССИЯ

Председатель: к.б.н., доцент Костюченко Роман Петрович

15:10 - 15:25	Ганцова Елена Александровна (Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН; Российский университет дружбы народов, Москва, Россия) Рецепторная тирозинкиназа IRR регулирует скорость раннего развития у <i>Xenopus laevis</i>
15:25 - 15:40	Гринберг Михаил Геннадьевич (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Свидетельства индуктивных взаимодействий у зародышей <i>Orphelia limacina</i> (Spiralia, Annelida) на основе MAP-киназного каскада
15:40 - 15:55	Петрова Мария Алексеевна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) Разнообразие раннего развития морских пауков (Pycnogonidae), предварительные данные
15:55 - 16:10	Варламова Екатерина Антоновна (Институт биологии гена РАН, Москва, Россия) Циклинзависимые протеинкиназы CDK8/19 необходимы для сперматогенеза у мышей в постнатальном периоде
16:10 - 16:25	Богомолов Антон Игоревич (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Брюхоногий моллюск <i>Lymnaea stagnalis</i> : свежий взгляд эмбриолога на классический модельный объект
16:25 - 16:45	Кофе-брейк
16:45 - 17:15	Малахов Владимир Васильевич (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Новые представления о происхождении сегментации, щупалец и конечностей Bilateria
17:15 - 18:30	Сессия стендовых докладов

Симпозиум «Морфогенез в индивидуальном и историческом развитии»
памяти профессора Л.В. Белоусова

6 октября

УТРЕННЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н., профессор, академик РАН Рожнов Сергей Владимирович	
10:00 - 10:10	Рожнов Сергей Владимирович (<i>Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва, Россия</i>) Вступительное слово
10:10 - 10:20	Голиченков Владимир Александрович (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия</i>) Слово о профессоре Льве Владимировиче Белоусове
10:20 - 10:40	Ермаков Александр Сергеевич (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия</i>) Профессор Л.В. Белоусов и рождение морфомеханики
10:40 - 11:00:	Скоренцева Ксения Витальевна (<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия</i>) Роль актомиозинового сокращения и его регуляторов в репаративных морфогенезах известковых губок
11:00 - 11:20	Володяев Илья Владимирович (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия</i>) Часть и целое: от клеточных полей к морфодинамике
11:20 - 11:40	Исаева Валерия Васильевна (<i>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия</i>) От морфогенетических полей к молекулярным организаторам осевого плана строения и роста Metazoa
11:40 - 12:00	Кофе-брейк
12:00 - 12:20	Краус Юлия Александровна (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия</i>) Многократные изменения порядка симметрии во время развития медузы <i>Pelagia postilusa</i>
12:20 - 12:50	Кремнёв Станисла Валерьевич (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия</i>) Молекулярная разметка морфогенетических машин на примере колониальных гидроидных полипов
12:50 - 13:10	Косевич Игорь Арнольдович (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия</i>) Как расти на обеих сторонах пластинчатого субстрата – решение колониальных гидроидов
13:10 - 13:30	Ремизова Маргарита Васильевна (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия</i>) Об общих примордиях у покрытосеменных растений
13:30 - 15:00	Обед

ВЕЧЕРНЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н. Краус Юлия Александровна	
15:00 - 15:20	Люпина Юлия Вячеславовна (<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия</i>) Роль клеточной системы контроля протеома в морфогенетических процессах у базальных многоклеточных животных
15:20 - 15:40	Федотов Алексей Павлович (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова</i>) Эволюция онтогенеза листьев в роде <i>Curio</i>

**Юбилейная научная конференция
«Николай Константинович Кольцов и биология ХХІ века»**

15:40 - 15:55	Петри Наталья Дмитриевна (<i>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова</i>) Роль форминов в морфогенезе лево-правого организатора и установлении асимметрии у шпорцевой лягушки <i>Xenopus laevis</i>
15:55 - 16:10	Кайров Арсений Игоревич (<i>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия</i>) Экспрессия генов полярности сегментов и роль Wnt-сигналинга в развитии первых постларвальных сегментов у <i>Alitta virens</i>
16:10 - 16:25	Кофе-брейк
16:25 - 17:00	Игамбердиев Абир (Андрей) Убаевич (<i>Memorial University of Newfoundland, Canada</i>) Принцип морфогенетического гипертвосстановления Л.В. Белоусова как динамическое расширение принципа устойчивого неравновесия Э. Бауэра
17:00 - 17:35	Gordon Richard (<i>Gulf Specimen Marine Laboratory in Panacea, Florida, USA</i>) Are we on the cusp of a new paradigm for biology? The illogic of molecular developmental biology versus Janus-faced control of embryogenesis via differentiation waves.
17:35 - 17:45	Игамбердиев Абир (Андрей) Убаевич (<i>Memorial University of Newfoundland, Canada</i>) Несколько слов о профессоре Л.В. Белоусове
17:45 - 19:00	Сессия стендовых докладов
19:00 - 19:15	Подведение итогов молодежного конкурса стендовых докладов и награждение победителей

Симпозиум «Генетические технологии в биологии развития и биомедицине»
(проводится в рамках выполнения работ по Соглашению №075-15-2021-1075 от
28.09.2021 с Министерством науки и высшего образования РФ)

7 октября

УТРЕННЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н., член-корр. РАН Воротеляк Екатерина Андреевна	
10:00 - 10:10	Воротеляк Екатерина Андреевна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Вступительное слово
10:10 - 10:40	Васецкий Егор Сергеевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия; Институт Гюстава Русси, Университет Пари-Сюд Пари-Сакле, Национальный центр научных исследований, Франция) Патологические изменения 3D генома и методы его модификации
10:40 - 11:10	Силаева Юлия Юрьевна (Институт биологии гена РАН, Москва, Россия) Создание генетически модифицированных животных в России: успехи, проблемы и пути их решения
11:10 - 11:40	Фишман Вениамин Семенович (Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия) Использование метода Hi-C для поиска и интерпретации сбалансированных хромосомных перестроек в геномах взрослых людей и у эмбрионов человека»
11:40 - 12:10	Мюге Николай Сергеевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) «Рукотворная эволюция» — анализ геномов аквакультурных рыб
12:10 - 12:30	Кофе-брейк
12:30 - 12:50	Калабушева Екатерина Павловна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Визуализация перестройки петлевых доменов хроматина в локусе 12q13.13, содержащем гены кератинов I и II типов, в ходе эпидермальной дифференцировки
12:50 - 13:20	Смирнихина Светлана Анатольевна (Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия) Генетические технологии, основанные на редактировании генома, для лечения муковисцидоза
13:20 - 13:50	Баттулин Нариман Рашитович (Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия) Исследование особенностей механизмов репарации в раннем эмбриогенезе на модели интеграции трансгенов в зиготу мыши
13:50 - 14:20	Карпухин Александр Васильевич (Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия) Экспрессия генов иммунных контрольных точек в раковых опухолях и ее регуляция для создания эффективных противоопухолевых средств
14:20 - 14:40	Вознина Елена (Фирма «Хеликон») Платформы NGS-секвенирования DNBSEQ - технология и преимущества метода
14:40 - 15:40	Обед

ВЕЧЕРНЯЯ СЕССИЯ

Председатель: д.б.н. Куликов Алексей Михайлович	
15:40 - 16:10	Романов Роман Александрович (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Транскриптомика одиночных клеток как базис для построения гипотезы о физиологической функции и типах межклеточных взаимодействий идентифицированных типов нейронов

**Юбилейная научная конференция
«Николай Константинович Кольцов и биология XXI века»**

16:10 - 16:40	Липатова Анастасия Валерьевна (<i>Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия</i>) Онколитические вирусы в терапии злокачественных глиом
16:40 - 17:10	Шеваль Евгений Валерьевич (<i>НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ</i>) Молекулярная коэволюция сигнальных последовательностей в составе Tat белка вируса иммунодефицита человека
17:10 - 17:30	Соколов Василий Викторович (<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия</i>) Анализ генных регуляторных сетей одиночных клеток в поисках коктейлей для специфической клеточной дифференциации на примере поджелудочной железы
17:30 - 17:50	Гайнуллина Анастасия Наильевна (<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия</i>) Анализ транскриптомных и композитных сдвигов в клетках головного мозга крысы в моделях агрессии
17:50 - 18:10	Шмакова Анна Андреевна (<i>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия</i>) Скрининг веществ, воздействующих на хромосомные транслокации
18:10 - 19:00	Подведение итогов Конференции

Образовательный курс «Объекты биологии развития»

Ответственный: д.б.н. Краус Юлия Александровна

7 октября

17:30 - 18:15	Краус Юлия Александровна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Какой вид может стать объектом биологии развития и сколько таких объектов нам нужно?
18:15 - 19:00	Ремизова Маргарита Васильевна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Растения как объекты биологии развития
19:15 - 20:00	Симонова Ольга Борисовна (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Объекты биологии развития: Ecdysozoa, <i>Drosophila melanogaster</i>

8 октября

10:00 - 10:45	Генихович Григорий Евгеньевич (Венский университет, Вена, Австрия) Объекты биологии развития: Cnidaria, <i>Nematostella vectensis</i>
10:45 - 11:30	Козин Виталий Владиславович (Санкт-Петербургский государственный университет) Аннелиды как объекты EvoDevo
11:45 - 12:30	Гасанов Евгений Валерьевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Объекты биологии развития: Позвоночные (костистые рыбы), <i>Danio rerio</i>
12:30 - 13:15	Лучинская Наталья Николаевна (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Объекты биологии развития: Позвоночные (амфибии), <i>Xenopus laevis</i>
13:15 - 14:15	Обед
14:15 - 15:00	Абдыев Вепа Керимбердыевич (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Объекты биологии развития: Плюрипотентные стволовые клетки.
15:00 - 20:30	ПРАКТИКУМЫ <ul style="list-style-type: none">• Книдарии: <i>Nematostella vectensis</i>, <i>Aurelia aurita</i> (Краус Юлия Александровна, Сухопутова Алёна Валентиновна, Ерошкин Фёдор Михайлович)• Spiralia: моллюск <i>Lymnaea stagnalis</i> (Воронежская Елена Евгеньевна, Богомолов Антон Игоревич) (практикум + лекция Е.Е. Воронежской)• Spiralia: аннелиды (Козин Виталий Владиславович)• Ecdysozoa: <i>Drosophila melanogaster</i> (Воронцова Юлия Евгеньевна)• Позвоночные: <i>Danio rerio</i> (Гасанов Евгений Валерьевич)• Позвоночные: <i>Xenopus laevis</i> (Ерошкин Фёдор Михайлович, Лучинская Наталья Николаевна)• Плюрипотентные стволовые клетки (Воротеляк Екатерина Андреевна, Абдыев Вепа Керимбердыевич, Рябинин Андрей Александрович)

СПИСОК ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ:

В.Е. Адашев (Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия) Исследование функций РНК-хеликазы *Vasa* в гаметогенезе *Drosophila melanogaster*

А.А. Акишина (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Особенности экспрессии арил-гидрокарбонового рецептора и его генов-мишеней под влиянием ингибитора гистоновой деацетилазы, белиностата, в культурах клеток человека

Н.М. Алёшина (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Активность систем транспорта и деградации серотонина в клетках гранулезы формирует функциональный барьер в яичнике мыши

А.В. Амосов (Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия; Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Дифференциальная экспрессия дуплицированных гомологов ParaNox-генов у олигохет

Е.И. Андропова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Эмбриогенез *Galathowenia oculata*: новые данные о развитии палеоаннелид

Д.А. Артемова (Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Россия; Российский университет дружбы народов, Москва, Россия) Изучение анти-эндометриозных свойств макрофагов с провоспалительным фенотипом

К.З. Астер (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия) Клеточные источники передней и задней регенерации аннелиды *Pugospio elegans* (Spionidae)

П.В. Бабина (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Развитие щитовидной железы сиговых рыб от эмбриональных до ранних ювенильных стадий

Д.Ю. Баранова (Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия; Московский зоопарк, Москва, Россия) Сравнительный эффект эктопической экспрессии арил-гидрокарбонового рецептора человека, мыши и дрозофилы в тканях *Drosophila melanogaster*

Г.А. Бармасова (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия) Апоптотические процессы в регенерации двух видов аннелид: *Pugospio elegans* и *Platynereis dumerilii*

М.В. Бекетова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Флуоксетин влияет на функциональную активность яичника мыши

И.Е. Борисенко (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Активация экспрессии транскрипционных факторов в регенерации *Halisarca dujardini* (Demospongiae, Porifera)

М.А. Голубкова (Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия) Метилирование гистона H3 и экспрессия генов актинового цитоскелета в яичниках *Drosophila melanogaster* в условиях симулированной невесомости

И.О. Гомжин (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Особенности регенерация *Phoronopsis harmeri*

Ю.Э. Ерюкова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Молекулярные подходы к исследованию овариального резерва при синдроме раннего истощения яичников

Е.Л. Заволока (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Функциональная направленность таксон-специфичного гена *lawc*, возникшего *de novo* в ходе эволюции видов группы *melanogaster*

Т.Г. Зачепило (Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия) Особенности метилирования гистона H3K4 через 1 час после трехкратного и однократного обучения в клетках Кеньона мозга медоносной пчелы

Е.А. Колос (Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия) Микроглия спинного мозга крысы на разных этапах онтогенеза

Е.А. Кондакова (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия; Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия) Развитие пищеварительной системы в эмбриогенезе *Stenodus leucichthys nelma*

Е.Е. Куваева (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Ген *toothrin* необходим для развития зрительной функции у *D. Melanogaster*

М.М. Кулак (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Определение доли клеток, содержащих дополнительную хромосому GRC, в эмбрионах зебровой амадины

М.А. Лазарев (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Изменение морфологии и паттерна экспрессии генов зародышей морского ежа *Strongylocentrotus pallidus* под действием вегетализующего агента LiCl

Е.П. Матвеева (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Нормальное развитие *Dimorphilus gyrociliatus*

Е.П. Матвеева (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Эмбриональное развитие беломорской литоральной *Oligochaeta*

Н.П. Мельников (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Экспериментальный анализ динамики клеточного цикла хоаноцитов беломорских губок *H. dujardinii* (Demospongiae) и *L. variabilis* (Calcarea)

Е.С. Петрова (Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия) Изучение клеточных взаимодействий в дистальном сегменте седалищного нерва крысы после механической травмы и применения клеточной терапии

Т.В. Потапова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Саморганизация ансамбля верхушечных клеток растущей вегетативной гифы *Neurospora crassa*

В.А. Разенкова (Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия) Особенности распределения ГАМК- и нитроксидазических структур субфорникального органа крыс-самцов породы Вистар в раннем постнатальном развитии

Г.А. Рубиновский (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Роль L-диоксифенилаланина в регуляции функциональной активности яичников млекопитающих

А.А. Рябинин (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Модель дифференцировки эмбриональных телец из ИПСК человека в кожные органоиды

Г.А. Савостьянов (Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия) Количественное измерение прогрессивного развития – возможно!

М.А. Свентицкая (Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия) Экспозиция в течение 80 часов в условиях симулированной невесомости приводит к увеличению скорости клеточного дыхания яичников *Drosophila melanogaster*

О.Д. Такки (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Картирование сателлитных последовательностей Tgut716A и Tgut191A на хромосомах типа ламповых щёток зебровой амадины *Taeniopygia guttata*

М.Д. Ткаченко (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Активность мембранного транспортера серотонина SERT как показатель зрелости яйцеклеток млекопитающих

Д.В. Трошев (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Нейроны стриатума частично экспрессирующие дофаминергический фенотип, функциональное значение и регуляция

Е.Г. Фофанова (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Аннелида *Dimorphilus gyrociliatus* – перспективная модель в изучении старения

В.С. Фролова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия) Морфофункциональная организация серотонинергической системы в ооцитах и ранних эмбрионах млекопитающих

Е.А. Чикина (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Метаболические модули одиночных клеток гипоталамуса в норме и при метаболических нарушениях организма

А.Ю. Шалаева (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Качественный и количественный анализ пролиферации в ходе регенерации у *Alitta virens* (Annelida, Errantia)

А.А. Шестипалова (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия) Апикальная нейрогенная зона в развитии пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis*: иммунохимические и молекулярные маркеры

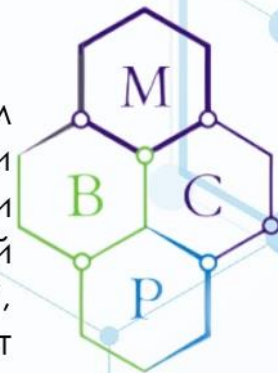
Н.С. Шульгина (Федеральный исследовательский центр "Карельский научный центр РАН", Петрозаводск, Россия) Экспрессия генов транскрипционных факторов регуляции миогенеза у молоди атлантического лосося *Salmo salar* L., выращенного в условиях искусственного воспроизводства, при влиянии разных режимов освещения и сезонных изменений температуры

К.В. Шунькина (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия) Регенерация нервной системы у *Platynereis dumerilii* и *Pygospio elegans*

А.М. Щербань (Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия) Гены Рахб у аннелид

АО Биомедицинские Клеточные Продукты

Компания была основана в 2016 году. Основным видом деятельности компании является торговля импортными и отечественными химическими реактивами, оборудованием и расходными материалами. Компаниям предлагаем широкий спектр продукции Российских и зарубежных производителей, ассортимент которой постоянно обновляется, в зависимости от конъюнктуры рынка.



НАПРАВЛЕНИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ КОМПАНИИ:

- Реагенты для исследований в области молекулярной биологии, клеточного культивирования, нейробиологии, иммунохимии. Пептиды и реагенты для пептидного синтеза. Питательные среды и их компоненты. Фетальные сыворотки. Наборы для выделения/очистки ДНК и РНК. Ферменты. Антибиотики. Антитела.



- Общелабораторное оборудование. Центрифуги. Роторные испарители. Муфельные печи. Нагревательные приборы. Весы. Перемешивающие и диспергирующие приборы. Вакуумные насосы и датчики. Термостаты и автоклавы. Холодильное и морозильное оборудование. Микроскопы. Ультразвуковые бани. Спектрофотометры.



- Оборудование для научных исследований. Станции для выделения НК. Амплификаторы ПЦР-РВ и термоциклеры. Микропланшетные ридеры и вошеры. Флуориметры. Гомогенизаторы и многое другое.



- Реактивы для синтеза и скрининга. Органические и неорганические кислоты и их соли, основания. Растворители. Реактивы для ГХ и ВЭЖХ. Реактивы для титрования. Катализаторы.



- Посуда стеклянная и пластиковая. Термометры, ариометры, пикнометры. Измерительная посуда. Пипетки автоматические, семплеры, дозаторы. Фильтры из разных материалов, широкого диапазона, размеров и пористости. Индикаторная бумага. Аксессуары для ГХ, ВЭЖХ, МС, ЯМР.



Компания АО «Биомедицинские Клеточные Продукты»
Подробности на сайте www.cellprod.ru
info@cellprod.ru
+7 (495) 369-00-74

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Исследование функций РНК-хеликазы *Vasa* в гаметогенезе *Drosophila melanogaster*

В.Е. Адашев*¹, А.А. Котов¹, С.С. Базылев¹, О.М. Оленкина¹, А.С. Шацких¹, Л.В. Оленина¹

¹ Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия

* adashev.vladimir@gmail.com

Одним из консервативных факторов герминальных тканей животных является DEAD-box содержащая РНК-хеликаза *Vasa* (DDX4). При отсутствии экспрессии *vasa* наблюдаются нарушения в работе репродуктивных органов. У *Drosophila* *Vasa* выполняет широкий спектр функций, ремоделинг РНП-комплексов и рiРНК-опосредованную репрессию ряда генетических элементов, включая транспозоны. Также *Vasa* играет существенную роль в формировании гонад и в поддержании гаметогенеза. Однако молекулярные аспекты её функционирования остаются невыясненными.

Нами было показано, что количество герминальных стволовых клеток (ГСК) у самцов *D. melanogaster* достоверно снижается в случае мутаций *vasa*. У самцов возрастом 6 дней количество ГСК снижается в 2 раза по сравнению с контролем дикого типа. Тест на фертильность таких самцов показал, что с возрастом у них происходит резкое снижение фертильности. Именно ГСК, дифференцируясь, и претерпевая ряд делений и метаморфозов, становятся сперматозоидами. Таким образом, нарушение экспрессии *vasa* негативно сказывается на сперматогенезе у *Drosophila melanogaster* благодаря потере ГСК.

Недавно показано, что на фоне нарушения экспрессии ещё одного фактора, специфичного для герминальных тканей – *Rhino* – также происходит снижение количества герминальных клеток в семенниках. При анализе семенников мух, мутантных по гену *rhino* мы обнаружили нарушения сперматогенеза, сходные с таковыми у мутантов *vasa*. Как и в случае с нарушенной экспрессии *vasa*, при нарушенной экспрессией *rhino* происходит резкое снижение фертильности самцов с возрастом по сравнению с контролем.

Мы создали линию мух, экспрессирующую дополнительную копию *rhino* на фоне мутации *vasa*. Дополнительная доза *Rhino* восстанавливает ранние стадии сперматогенеза, поддерживая количество ГСК, близкое к норме (для самцов возрастом 20 дней: в диком типе – 6 ГСК, на фоне мутации *vasa* – 0 ГСК, на фоне мутации *vasa* с дополнительной экспрессией *rhino* – 5 ГСК). Также мы провели RIP-qPCR анализ для выявления мРНК-мишеней *Vasa* в семенниках и яичниках. Основываясь на предварительных результатах, мы показали, что посредством RT-qPCR детектируется обогащение транскриптов *rhino*, *aubergine* и *vasa* по сравнению с контролем *Aubergine* является ключевым участником биогенеза рiРНК. У самцов, мутантных по *aubergine* мы также детектировали уменьшение количества ГСК и снижение фертильности с возрастом. Таким образом, можно предположить, что *Vasa* является регулятором экспрессии двух важнейших факторов сохранения целостности генома и жизнеспособности герминальных клеток – *aubergine* и *rhino*.

Исследование поддержано грантом РФФИ № 20-04-00562 А.

Особенности экспрессии арил-гидрокарбонowego рецептора и его генов-мишеней под влиянием ингибитора гистоновой деацетилазы, белиностата, в культурах клеток человека

А.А. Акишина*¹, Р.О. Черезов¹, О.Б. Симонова¹, Ю.Е. Воронцова¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* ilitiri@bk.ru

Арил-гидрокарбонový рецептор (Aryl hydrocarbon receptor, AHR) является высококонсервативным лиганд-зависимым транскрипционным фактором. Наиболее изученными генами-мишенями AHR являются гены, кодирующие ферменты системы цитохрома р450 (CYP), участвующие в метаболизме гормонов и лекарственных соединений. Для многих опухолевых клеток

характерно изменение соотношения различных изоформ CYP и их индуцибельности по сравнению с неопухолевыми, что может сильно влиять на эффективность лечения противоопухолевыми препаратами. Ранее, в экспериментах *in vivo*, нами был обнаружен эпигенетический механизм контроля индуцибельной экспрессии генов-мишеней AHR. Целью работы было проанализировать, существует ли механизм эпигенетического контроля индуцибельной экспрессии генов-мишеней AHR в клетках человека опухолевого и неопухолевого происхождения, поскольку ингибиторы гистоновых модификаторов и лиганды AHR часто используются при лечении разных типов рака. Белинонат, ингибитор гистоновой деацетилазы HDAC, рассматривают как возможное терапевтическое средство для лечения различных типов глиом, в том числе и глиобластом. В данной работе мы исследовали влияние белиноната на индукцию лигандами AHR экспрессии его генов-мишеней семейства *CYP1* (*CYP1A1*, *CYP1B*), уровень экспрессии самого гена *AHR* и его партнера, *ARNT*, в клетках неопухолевого происхождения (HEK293) и глиобластомы (Sus/fP2)

Применение лигандов AHR, индирубина и индол-3-карбинола, по-разному влияло на экспрессию исследуемых генов. Экспрессия гена *CYP1A1* при добавлении индирубина увеличивалась незначительно по сравнению с контролем. После добавления индол-3-карбинола уровень экспрессии *CYP1A1* увеличивался значительно, в 4,5 и в 19 раз, в клетках HEK293 и в клетках глиобластомы Sus/fP2 соответственно. Уровень экспрессии гена *CYP1B* повышался только при добавлении индол-3-карбинола в клетках Sus/fP2. Что интересно, воздействие лигандов так же приводило к увеличению экспрессии самого AHR в клетках линии HEK293 и к значительному снижению экспрессии в клетках линии Sus/fP2. Тогда как на экспрессию ARNT применение лигандов практически не оказывало эффекта.

Добавление белиноната, приводило к активации транскрипции *AHR* и усилению экспрессии всех исследуемых генов, кроме *ARNT*. Самое значительное (в 600 раз) повышение экспрессии было зафиксировано для гена *CYP1A1* в клетках глиобластомы. Интересно, что белинонат значительно сильнее влиял на уровень экспрессии генов-мишеней AHR в клетках глиобластомы Sus/fP2, чем в клетках неопухолевой культуры HEK293.

Таким образом, белинонат активировал экспрессию гена *AHR* и двух его генов-мишеней в клетках глиобластомы, усиливая действие лигандов AHR. Так как лиганды AHR и эпигенетические ингибиторы используются в противоопухолевой терапии разных видов рака, в том числе глиобластом, результаты нашей работы необходимо учитывать при разработке новых комбинаций терапевтических схем лечения онкологических заболеваний.

Данное исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН № 0088-2021-0007.

Герминальные клетки дрозофилы обладают специфичными паралогами ассоциированного с рибосомами шаперона NAC

Н.В. Акуленко*¹, Г.Л. Коган¹, Е.А. Михалева¹, С.С. Рязанский¹, С.В. Марфина¹, С.А. Лавров¹,
В.А. Гвоздев¹

¹ Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия

* *n.akulenko11@gmail.com*

Белок NAC (от англ. nascent polypeptide associated complex) состоит из двух субъединиц (α и β) и выполняет функцию шаперона, ассоциированного в рибосоме с новосинтезируемой полипептидной цепью. В процессе трансляции растущий пептид выходит из рибосомы, и NAC-шаперон способствует его правильному сворачиванию, а также обеспечивает локализацию в нужный клеточный компартмент, тем самым поддерживая клеточный протеостаз. Мы обнаружили герминально-специфичные паралоги α и β -субъединиц комплекса NAC (gNAC), β -субъединицы которого кодируются пятью высоко гомологичными копиями генов, тогда как α -субъединица – одним геном. Согласно результатам иммуноокрашивания, gNAC обнаруживается на самых ранних стадиях развития в составе примордиальных герминальных клеток и продолжает экспрессироваться в гонадах взрослых особей. Наличие значительно удлиненных неструктурированных участков в области N- и C-конца отличает герминальные α - и β -субъединицы от их паралофов, экспрессирующихся во всех клетках организма. В

составе этих участков нами было предсказано наличие нескольких сайтов фосфорилирования. В случае β -субъединицы, ассоциированной с рибосомами семенников, существование множественных фосфорилированных изоформ подтверждено с помощью двумерного электрофореза с последующим вестерн-блот-иммуноокрашиванием. Согласно результатам молекулярно-филогенетического анализа, разные виды дрозофил существенно различаются аминокислотными последовательностями неструктурированных участков в составе герминальных субъединиц белка NAC. Между тем, расположение сайтов фосфорилирования в неструктурированных участках у разных видов дрозофил консервативно.

Эктопическая экспрессия герминальной β - субъединицы на фоне летальной мутации в гене, кодирующем паралог, экспрессирующийся во всех клетках организма, частично восстанавливает жизнеспособность и фертильность особей. Этот эксперимент позволяет сделать вывод о способности герминального паралога компенсировать функции паралога β - субъединицы NAC, характерного для всех клеток организма. Показано, что фракция рибосом яичников, включающих герминальный NAC, заметно обогащена мРНК, кодирующими не только белки герминальной плазмы ооцитов, но и белки centrosom. Этот результат свидетельствует в пользу представлений о гетерогенности популяции рибосом и роли ассоциированных с рибосомами белков в определении их функциональной гетерогенности. Мы предполагаем, что структурные характеристики аминокислотных последовательностей герминальных паралогов NAC могут обеспечивать дополнительные белок-белковые взаимодействия, обеспечивая особенности протеостаза в линиях герминальных клеток.

Грант Российского научного фонда №19-74-20178.

Активность систем транспорта и деградации серотонина в клетках гранулезы формирует функциональный барьер в яичнике мыши

Н.М. Алёшина^{*1}, М.Д. Ткаченко², Л.А. Мальченко¹, Д.А. Никишин^{2,1}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *ninalyoshina@gmail.com*

Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5НТ) известен как классический нейротрансмиттер, однако основной его пул обнаруживается в кишечнике и тромбоцитах. Серотонин играет важную роль в работе женской репродуктивной системы, поскольку его консервативная функция заключается в модуляции процессов, протекающих в яичнике: созревании яйцеклетки, овуляции, а также в раннем развитии эмбриона. Важность исследования серотонина в яичниках связана с широким использованием нейрорхимических препаратов, изменяющих его уровень в тканях (в частности, антидепрессантов, таких как специфические ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС) и ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО)) при медикаментозном лечении депрессии у девочек до полового созревания и женщин репродуктивного возраста.

Ранее мы показали, что основным источником 5НТ в ооцитах растущих фолликулов является мембранный захват, управляемый специфическим мембранным транспортером (SERT), однако, механизм катаболизма серотонина в яичнике не был достаточно изучен. Целью данной работы стало описание систем транспорта и деградации серотонина в ооцитах и фолликулярных клетках яичника.

При двухчасовой инкубации фрагментов яичника с добавлением серотонина (1 μ M) его накопление наблюдается в ооцитах, но не в фолликулярных клетках. В данной работе мы показали, что при предварительном добавлении ингибитора MAO, паргилина (10 μ M, 100 μ M) с последующим добавлением серотонина (1 μ M) накопление серотонина увеличивается в фолликулярных клетках, а в ооцитах его уровень не меняется. Накопление серотонина также увеличивается в аналогичном эксперименте на первичной культуре клеток гранулезы (предварительное добавление паргилина (10 μ M) с последующим добавлением серотонина (1 μ M)). Таким образом, система деградации серотонина активна в клетках гранулезы и не активна в ооцитах растущих фолликулов.

Интересно, что при предварительном добавлении специфического ингибитора SERT (флуоксетин (1 μ M)), накопления серотонина клетками гранулезы в присутствии паргилина и серотонина не происходит. Так мы показали, что аккумуляция серотонина в клетках гранулезы происходит путем мембранного захвата с помощью SERT, а в дальнейшем захваченный серотонин подвергается деградации ферментом катаболизма MAO.

Так как в яичнике ооцит является основной мишенью серотонина, который может быть вовлечен в процесс созревания и овуляции, мы полагаем, что слой клеток гранулезы может играть роль некоего функционального барьера, ограничивающего преждевременное поступление серотонина в ооцит. В данной работе мы показали, что достоверное накопление серотонина в ооцитах в составе ткани яичника происходит при добавлении 5HT в концентрации от 75nM, а в случае изолированных ооцитов - от 25nM. Таким образом, клетки гранулезы действительно способны аккумулировать серотонин при помощи SERT и подвергать его деградации с помощью MAO, представляя собой функциональный фильтр для этого нейротрансмиттера на ранних стадиях фолликулогенеза.

Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН при поддержке гранта РФФИ (проект № 22-74-10009).

Дифференциальная экспрессия дублицированных гомологов ParaNoh-генов у олигохет

А.В. Амосов*^{1,2}, Р.П. Костюченко²

¹ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* artem221199@mail.ru

Дубликация генов, кодирующих важные для развития транскрипционные факторы, является одним из важнейших механизмов эволюции животных. Гомологи, образовавшиеся в результате дубликации, изменяются независимо друг от друга, что в результате может приводить к полной диверсификации их функций и вовлечению в новые для них морфогенетические процессы.

Представители олигохет являются перспективными моделями для изучения процессов дифференциации функций дублицированных гомологов, поскольку в последнее время в литературе накапливаются данные о множественных дубликациях гомеобокс-содержащих генов у этих животных. Кроме того, различные представители олигохет демонстрируют большое разнообразие постэмбриональных морфогенезов, таких как регенерация и бесполое размножение, позволяющих наглядно изучать изменения экспрессии транскрипционных факторов, паттернирующих тело взрослого животного.

Одними из представителей гомеобокс-содержащих генов являются члены семейства ParaNoh-генов, относящегося к классу Antennapedia. Данное семейство включает в себя три гена: Gsx, Xlox и Cdx, которые, подобно родственным им Noh-генам, организованы в кластер в геномах многих изученных животных. За последние двадцать лет в литературе было накоплено достаточное количество данных об экспрессии этих генов у широкого спектра объектов, но большинство описаний ограничиваются экспрессией на эмбриональных стадиях, в то время как известно, что данные гены продолжают экспрессироваться и в постэмбриональном периоде и могут выполнять функции, важные в том числе с точки зрения прикладной науки.

В ходе нашей работы были идентифицированы и клонированы гомологи всех трех ParaNoh-генов для нескольких видов аннелид, демонстрирующих разные стратегии эмбрионального и постэмбрионального развития. Экспрессия генов была исследована на примере олигохеты *Nais complanis*, размножающейся бесполом путем по типу паратомии. Полученные результаты свидетельствуют в пользу участия изученных генов в паттернировании тела олигохет при делении, при этом домены экспрессии дублицированных гомологов заметно различаются.

Проект выполняется при поддержке гранта РФФИ 22-24-00443 с использованием оборудования РЦ РМИКТ СПбГУ.

Эмбриогенез *Galathowenia oculata*: новые данные о развитии палеоаннелид

Е.И. Андропова*¹, Ю.А. Краус^{1,2}, Е.Е. Воронежская², Н.Н. Римская-Корсакова¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* comatrichandronova@gmail.com

Аннелиды — одна из самых разнообразных групп животных на Земле, насчитывающая более 16 000 описанных видов. Они демонстрируют огромное разнообразие морфологии и образа жизни взрослых особей и колонизировали морскую, пресноводную и наземную среды. До сих пор точно неизвестно, как выглядел общий предок всех аннелид и каковы были особенности его эмбрионального и личиночного развития. Большой вклад в понимание эволюции аннелид вносит изучение палеоаннелид *Oweniidae* – группы, сестринской по отношению ко всем остальным аннелидам. Для овениид характерна личинка митрария, которая парит в толще воды с помощью длинных щетинок. Эмбриональное и личиночное развитие этой группы лучше всего исследовано на примере рода *Owenia*. В то же время, о развитии других овениид практически ничего не известно. Поэтому целью нашей работы было описание эмбриогенеза еще одного представителя этого семейства – вида *Galathowenia oculata* (Zachs, 1923), широко распространенного в Северной Атлантике и Арктике.

Материал для исследований был собран в районе Беломорской Биологической станции МГУ им. Н.А. Перцова. *G. oculata* – бентосный вид, который обитает в трубках, построенных из частиц мягкого осадка. Сезон его размножения в районе ББС МГУ приходится на июнь – первую половину июля. Осадок с червями доставали с глубины 30 м с помощью трала. После извлечения червей из осадка и получения гамет ставили искусственное оплодотворение. Эмбрионы культивировались до стадии митрарии при 10,5°C. Их развитие наблюдали *in vivo* с помощью световой микроскопии, а ключевые стадии анализировались с помощью иммуноцитохимии в сочетании с конфокальной микроскопией. В результате была создана таблица нормального развития *G. oculata*. Оказалось, что развитие от оплодотворения до выхода личинки из оболочки занимает около 115 часов. При этом гастрюляция протекает в интервале между 30-м и 65-м часами развития. Формирование митрарии с тремя парами щетинок мы наблюдали с 75-го часа развития и до выхода личинки из оболочки. К 125 часам с начала развития диаметр тела митрарий составлял около 130 мкм в диаметре. Мы описали последовательные этапы инвагинации архентерона в ходе гастрюляции, формирование мезодермальных полосок и закладку щетинок.

Полученные данные являются основой для более подробного изучения эмбриогенеза *G. oculata* методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии. Наши исследования позволят не только расширить представление об эмбриональном развитии палеоаннелид, но и предположить, как выглядел эмбриогенез общего предка всех аннелид.

Изучение анти-эндометриозных свойств макрофагов с провоспалительным фенотипом

Д.А. Артемова*^{1,2}, П.А. Вишнякова^{3,2}, А.В. Ельчанинов^{3,1,2}

¹ Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского, Москва, Россия;

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

³ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, Москва, Россия

* artiomova.darya@yandex.ru

Эндометриоз — это хроническое воспалительное заболевание, которое связано с ростом ткани, подобной эндометрию, за пределами данного слоя. Как для опухолевого роста, так и для эндометриоза также характерно преобладание макрофагов с противовоспалительным фенотипом (M2) в развивающихся очагах. Кроме того, в предыдущих исследованиях показали, что провоспалительные макрофаги (M1) обладают противоопухолевой активностью. В связи с этим, данные свойства M1 макрофагов могут быть потенциально применимы при терапии эндометриоза.

Цель работы – исследовать активность противовоспалительных макрофагов на модели эндометриоза мыши. С целью изучения фенотипического профиля макрофагов в эктопических очагах эндометриоза и анти-эндометриозных свойств M1 макрофагов мы получили воспроизводимую аллогенную модель эндометриоза мыши. У овариэктомизированных мышей индуцировали эндометриоз путем внутрибрюшинной трансплантации фрагментов матки мыши на фоне хронического введения 17β-эстрадиола. Фенотипический профиль макрофагов исследовали с помощью иммуногистохимического окрашивания, ПЦР, вестерн-блоттинга и проточной цитометрии. Далее мы индуцировали поляризацию макрофагов в контексте потенциальной терапии. Для получения M1-поляризованных макрофагов клеточную линию макрофагов мыши RAW264 инкубировали с липополисахаридом (100 нг/мл) в течение 24 ч. Поляризация подтверждалась значимым повышением уровня маркеров MARCO, iNOS.

В ходе работ мы выявили, что в очагах эндометриоза преобладают макрофаги с противовоспалительным фенотипом, что подтверждалось повышением продукции маркера M2 макрофагов аргиназы 1. Вслед за подтверждением развития эндометриоза у мышей животным из экспериментальной группы вводили M1-поляризованные макрофаги, а контрольной группе — неполяризованные макрофаги, затем за животными наблюдали в течение двух недель. В результате проведенной нами терапии макрофагами, выявили, что количество очагов большого размера (больше 4 мм) значимо уменьшилось ($p < 0,05$) по сравнению с контрольными животными, при этом также снижалось общее число очагов. У животных после терапии наблюдалось снижение продукции маркеров M2 макрофагов и повышение содержания M1 макрофагов в очагах по сравнению с контрольными животными. Вдобавок фенотипический состав перитонеальных макрофагов у мышей после лечения практически соответствовал здоровым животным.

Таким образом, в своем исследовании мы получили воспроизводимую аллогенную модель эндометриоза мыши, показали преобладание M2 макрофагов в очагах эндометриоза и выявили анти-эндометриозные свойства M1-поляризованных макрофагов.

Работа поддержана грантом МК-1573.2022.3 и государственным заданием 121040600409-1.

Иммунные протеасомы в онтогенезе и онкогенезе: есть ли разница?

Т.М. Астахова*¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* tastakhova@bk.ru

Молекулярные механизмы онтогенеза и онкогенеза во многом определяются активностью протеасом – важнейших участников катаболизма белков. Иммунным протеасомам отводится особая роль, поскольку они, образуя биологически активные пептиды, выполняют регуляторную функцию. Наши исследования протеасомных пулов развивающихся органов крыс выявили, что иммунные протеасомы, содержащие субъединицы LMP2 и LMP7, формируются в первую очередь в Т- и В-лимфоцитах эмбриональной печени, которая на этом этапе развития является первичным лимфоидным органом и поставляет иммунные клетки в формирующиеся тимус и селезенку. В гепатоцитах обе иммунные субъединицы выявляются на третьей постнатальной неделе. К этому же сроку формируется функциональная лимфоидная зона селезенки – белая пульпа, в которой уровень иммунных субъединиц LMP2 и LMP7 возрастает до максимальных значений. Кроме того, начиная с эмбрионального периода, в клетках Купфера синусоидов печени формируется минорный субтип иммунных протеасом, содержащий субъединицу LMP2 (без LMP7) и связанный с развитием толерантности к пищевым и другим чужеродным антигенам. В кишечнике уровень обеих иммунных субъединиц резко увеличивается накануне рождения и плавно возрастает в течение первого постнатального месяца жизни. Такая трансформация протеасомного пула важна для развития адаптации к антигенам, поступающим с молоком матери, и к микробиоте, заселяющей кишечник во время рождения, а также для участия в иммунных реакциях в более поздние сроки. Таким образом, наши результаты показали, что выявленные изменения отражают этапы развития организма и важны для его адаптации к окружающей среде. Кроме того, полученные данные указывали на иммунные протеасомы как на объекты особого внимания при исследовании

онкогенеза. Мы обнаружили, что в злокачественных опухолях человека и модельных опухолях животных экспрессия иммунных субъединиц увеличивается по сравнению с контролем. Однако, при развитии злокачественных опухолей выявляется важное отличие в динамике содержания иммунных субъединиц: уровень субъединицы LMP2 возрастает значительно сильнее, чем субъединицы LMP7. Это указывает, во-первых, на присутствие в опухолевых клетках разных субтипов иммунных протеасом и, во-вторых, на их разную значимость. Мы провели ряд экспериментов на клетках C-26 (рак толстой кишки мыши) и показали, что иммунные протеасомы, содержащие субъединицу LMP7, важны для обеспечения внутриклеточных процессов, в то время как протеасомы, содержащие иммунную субъединицу LMP2, скорее всего участвуют в защите опухолевых клеток от агрессивного иммунологического микроокружения. Таким образом, нормальное развитие и онкогенез сопровождаются формированием субтипов иммунных протеасом, соотношение которых специфично для каждого из этих процессов.

Работа выполнена в рамках Государственного задания № 0088-2021-0008 в ФГБУН Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, финансирована Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 075-15-2020-773).

Клеточные источники передней и задней регенерации аннелиды *Pygospio elegans* (Spionidae)

К.З. Астер^{*1,2}, В.В. Старунов², З.И. Старунова², К.В. Шунькина², Е.Л. Новикова^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

* *clem.aster1218@gmail.com*

Многие животные демонстрируют регенерационные способности, будь то восстановление некоторых тканей после небольших повреждений или восстановление целых частей тела. Чрезвычайно интересен вопрос об источнике клеток, из которых образуются новые структуры – например, эти структуры могут образовываться в результате деления стволовых клеток или же в результате дедифференцировки уже дифференцированных клеток и их последующего деления. Сейчас популярным объектом изучения регенерации и ее клеточных источников являются аннелиды. Для аннелид характерна регенерация путем эпиморфоза, то есть за счет образования регенерационной бластемы, состоящей из недифференцированных мезодермальных клеток. Для формирования и роста бластемы необходима пролиферация клеток, и возникает вопрос о их природе.

Одним из маркеров клеточной пролиферации традиционно считается 5-этинил-2'-дезоксигуанидин (EdU), который включается в ДНК клеток в процессе репликации. Этот метод не может однозначно указывать на источник клеток, в ходе деления которых формируется бластема, однако он полезен для изучения динамики пролиферации в ходе регенерации – расположения клеток в теле животного, времени инициации делений, начала включения делящихся клеток или их потомков в регенерат; эти данные важны для последующего установления клеточного источника регенерации с использованием других методов.

В данном исследовании модельным объектом послужила небольшая седентарная аннелида *Pygospio elegans* из семейства Spionidae, способная как к задней, так и передней регенерации. Нами были поставлены три эксперимента, в ходе которых животные были инкубированы в растворе EdU перед ампутацией, сразу после нее или непосредственно перед фиксацией; в каждом эксперименте было выделено несколько стадий регенерации. Мы установили, что инициация клеточных делений начинается на вторые сутки после нанесения повреждения. Кроме того, при инкубации интактных животных перед ампутацией меченые EdU клетки включаются в состав регенерата, в отличие от некоторых других аннелид, для которых запуск клеточных делений отмечается преимущественно уже после разрезания.

Для уточнения природы этих клеток необходимо изучение экспрессии генов-маркеров стволовых клеток, таких как, например, *piwi*, *vasa*, *nanos* и *pumilio*. Их экспрессия поможет установить роль стволовых клеток в формировании бластемы. На данный момент нами были клонированы гены

piwi1 и *vasa*, и была проведена гибридизация *in situ* на интактных животных. Было показано, что эти гены экспрессируются в теле червя, кроме грудных сегментов. Интересно, что это коррелирует с распределением пролиферирующих клеток в теле животных, полученном при мечении EdU – меченые клетки отмечены во всех сегментах, кроме грудных.

Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, грант 21-14-00304. Работы проведены на базе ЦКП «Таксон», Зоологический институт РАН и ЦКП «Хромас» Научного парка Санкт-Петербургского Государственного Университета.

Развитие щитовидной железы сиговых рыб от эмбриональных до ранних ювенильных стадий

П.В. Бабина*¹, Е.А. Кондакова^{1,2}, В.А. Богданова²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

* *p.bbn@mail.ru*

Гормоны щитовидной железы (ЩЖ) обеспечивают ряд важнейших регуляторных процессов в эмбриональном и постэмбриональном развитии позвоночных и, в частности, Костистых рыб, в т. ч. при метаморфозе. Относительное время в развитии, когда происходит переход с материнского запаса гормонов ЩЖ на синтез собственных, у Костистых рыб существенно варьирует. Нами было проведено сравнительное исследование организации ЩЖ на эмбриональных, личиночных и ювенильных стадиях у сиговых рыб: чира, *Coregonus nasus*, пеляди, *Coregonus peled*, ее гибридов пелчира, *Coregonus peled* x *Coregonus nasus*, и пелнелма, *Coregonus peled* x *Stenodus leucichthys nelma*, а также муксуна, *Coregonus muksun* и волховского сига *Coregonus lavaretus*. Эти виды и гибридные формы являются ценными объектами холодноводной аквакультуры.

Серийные парафиновые срезы были окрашены гематоксилином Карацци и эозином. Были измерены большой и малый диаметры фолликулов и высота тиреоцитов. Для оценки различий использовали U-критерий Манна-Уитни (P<0.05).

Первые фолликулы у представителей перечисленных видов появляются на поздних эмбриональных стадиях, самое раннее определенное нами время их появления – 3,2 месяца (101 день после оплодотворения, дпо) у *C. lavaretus* (n=6). У 1 особи *C. muksun* был обнаружен один фолликул на 113 дпо (n=6). У гибрида *C. peled* x *S. leucichthys nelma* первые фолликулы ЩЖ были обнаружены у зародышей в возрасте 4,2 месяцев (130 дпо, n=6), у остальных видов – в возрасте 4,7-5,2 месяцев (140-156 дпо, n=6), кроме *C. peled* (90 дпо, n=6). ЩЖ представлена обособленными, преимущественно округлыми фолликулами, диффузно расположенными поодиночке, парами или тройками вдоль вентральной аорты. У всех видов на каждой стадии размеры фолликулов значительно варьируют, в коллоиде видны реабсорбционные пузырьки – признак функциональной активности ЩЖ.

Нами была описана ЩЖ у *C. muksun* (n=3) во время перехода от личиночной к стадии малька и у ранних ювенилей *C. peled* (n=5) и ее гибридов (*C. peled* x *C. nasus* (n=5), *C. peled* x *S. leucichthys nelma* (n=3)). Организация ЩЖ не изменилась по сравнению с более ранними стадиями, но количество фолликулов значительно увеличилось. Статистически значимых различий по линейным размерам фолликулов (большому и малому диаметрам) и высоте тиреоцитов при сравнении между *C. peled* и ее гибридами, а также между гибридами, выявлено не было. Сравнение тех же характеристик между ювенильными и личиночными стадиями для *C. peled* и *C. peled* x *S. leucichthys nelma* также не показало статистически значимых различий. Однако этот анализ показал статистически значимую разницу между линейными размерами фолликулов у особей *C. muksun* на стадиях личинки (14 дней после вылупления, дпв) и перехода к мальку (27 дпв) без значимых изменений в высоте фолликулярного эпителия.

Мы предполагаем, что различия в характеристиках ЩЖ у *C. muksun* могут быть связаны с ее активным состоянием во время перехода от личиночной стадии к ювенильной, так как в этом процессе ее гормоны выполняют критически важные функции.

Работа выполнена в рамках проекта «ProjectKS 4058 - ARCTAQUA». Авторы благодарят РЦ РМИКТ СПбГУ.

Функциональный анализ регуляции гена *pirate* с помощью piРНК в семенниках *Drosophila melanogaster*

С.С. Базылев*¹, А.А. Котов¹

¹ Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия

* *bazylevser@gmail.com*

Основной мишенью коротких piРНК в гонадах *Drosophila* являются мобильные элементы. Однако известно, что данный тип коротких РНК способен регулировать и белок-кодирующие гены. Ранее мы обнаружили белок-кодирующий ген, *pirate*, подавляемый этой системой в семенниках, но не в яичниках *Drosophila melanogaster*. Ген *pirate* (piRNA target in testis) кодирует SUMO протеазу и располагается на X-хромосоме. Функции этого гена в семенниках и необходимость подавления piРНК системой на данный момент не установлены. Анализ геномов *Drosophila* показал, что ортологи *pirate* присутствуют только у представителей подгруппы *melanogaster*, что указывает на то, что это довольно молодой ген. В отличие от *pirate* его ближайший гомолог ген *velo* (кодирующий SUMO протеазу Verloren) обнаруживается у множества видов *Drosophila*.

Мы нашли локус, производящий piРНК к *pirate* и названный нами *petrel*. *Petrel* расположен в перичентромерном районе Y-хромосомы, что объясняет связанное с полом подавление гена.

Для понимания функциональной необходимости подавления гена *pirate* мы проанализировали его распределение в клетках семенников с нарушением piРНК пути. Мы детектировали белковый продукт в ядрах на стадии сперматоцитов и на хроматине удлинённых сперматид, но при этом он полностью отсутствовал на зрелой сперме внутри семенных мешков. Ортолог *pirate* является мишенью эндогенных siРНК в семенниках близкородственного вида *Drosophila mauritiana*. Это, несмотря на разный механизм, свидетельствует об одинаковой эволюционной стратегии, направленной на его подавление в семенниках. Однако наш анализ выявил экспрессию ортологов в семенниках видов *D. mauritiana* и *D. simulans*, но не в их яичниках. Ортологи *Pirate* были найдены только в ядрах сперматоцитов, но не на более поздних стадиях сперматогенеза, что дает повод предполагать, что биологический эффект от подавления проявляется себя на стадиях индивидуализации сперматид. Известно, что у *Drosophila melanogaster* высокий уровень SUMOилирования белков обнаруживается в ядрах удлинённых сперматид.

Был проведен анализ фенотипа семенников *Drosophila melanogaster* с делецией гена *pirate*, а также экспрессией рекодированного трансгенного конструктора, избегающего подавления с помощью piРНК. Однако никаких значимых фенотипических отклонений от нормы обнаружено не было. Но более примечательно то, что делеция *pirate* на фоне нарушения piРНК пути у самцов усугубляет наблюдаемый фенотип и приводит к практически полной потере фертильности. Таким образом, мы предполагаем, что дерепрессия гена *pirate* при нарушениях piРНК пути может сглаживать пагубные эффекты и спасать сперматогенез у *Drosophila melanogaster*.

Работа выполнена при поддержке гранта МК-1205.2022.1.4 Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук.

Сравнительный эффект эктопической экспрессии арил-гидрокарбонового рецептора человека, мыши и дрозофилы в тканях *Drosophila melanogaster*

Д.Ю. Баранова*^{1,2}, А.А. Акишина³, Ю.Е. Воронцова³, О.Б. Симонова³

¹ Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия;

² Московский зоопарк, Москва, Россия;

³ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *baranova_dashenika@mail.ru*

Арил-гидрокарбоновый рецептор (AHR) является лиганд-зависимым транскрипционным фактором, сохранившим в ходе эволюции свои структурные и функциональные особенности. Активность AHR зависит от экзогенных и эндогенных лигандов, связавшись с которым он становится фактором транскрипции своих генов-мишеней, играющими ключевую роль в детоксикации, регуляции процессов развития и поддержании гомеостаза эукариот. Целью работы является изучение сравнительного эффекта экспрессии AHR мыши и человека в организме дрозофилы, необходимое для создания модельных систем, направленных на поиск его высококонсервативных эндогенных лигандов.

В работе мы использовали трансформированные линии дрозофил с индуцибельной экспрессией генов *AHR* человека (*hAHR*), мыши (*mAHR*) и дрозофилы (*spineless*, *ss*, гомолог *AHR*).

Индукция эктопической убиквитарной экспрессии *hAHR*, *mAHR* и *ss* приводила к 100% гибели особей. Однако, в случае *ss*, гибель шла на эмбриональной стадии, тогда как особи с экспрессией *hAHR* или *mAHR* доживали до 2 личиночной стадии.

Индукция экспрессии *ss* в нервной системе эмбриона приводила к 100% гибели особей, но индукция в нервной системе имаго никаких отклонений от нормы не вызывала. Экспрессия *mAHR* в нервной системе эмбриона приводила к нарушению сегментации брюшка, однако это не влияло на жизнеспособность. Индукция *hAHR* в нервной системе эмбрионов, личинок и имаго не вызвала эффекта, что означает отсутствие каких-либо эндогенных лигандов, способных активировать *hAHR* в нервной системе.

Индукция экспрессии *hAHR*, *mAHR* и *ss* в глазных имагинальных дисках повлияла на развитие глазных структур только в случае *ss*. Нарушение оогенеза, проводящее к 100% стерильности самок, и сокращение продолжительности жизни были отмечены при индукции экспрессии *ss* и *hAHR* в соматических клетках половой системы. При этом, эктопическая экспрессия *mAHR* никак не влияла на фертильность и продолжительность жизни особей.

Таким образом, самые обширные нарушения развития органов и тканей вызывала индукция экспрессии *ss*. Менее выраженные нарушения развития вызывала индукция экспрессии *hAHR* человека. Интересно, что только индукция убиквитарной экспрессии *mAHR* мыши вызывала гибель особей, а в отдельных органах и тканях не приводила к видимым нарушениям морфогенеза.

Губительные последствия эктопической экспрессии *ss*, возможно, вызваны его способностью работать в отсутствие каких-либо лигандов, тогда как для активации транскрипционной функции AHR позвоночных ему необходимо связываться с эндогенным лигандом, который не всегда присутствует в тканях дрозофилы. Более слабые последствия активности *mAHR* по сравнению с *hAHR* можно объяснить отличающейся конформацией его лиганд-связывающего домена, который имеет более низкую аффинность к эндогенным лигандам в исследуемых органах и тканях дрозофилы.

В данной работе мы показали, что в эмбриогенезе дрозофилы и в соматических клетках половой системы самок нарабатывается неизвестный высококонсервативный эндогенный лиганд, способный активировать AHR позвоночных.

Исследование выполнено при финансовой поддержке раздела Государственного задания ИБР РАН № 0088-2021-0007.

Апоптоз в регенерации двух видов аннелид: *Pygospio elegans* и *Platynereis dumerilii*

Г.А. Бармасова*^{1,2}, В.В. Старунов², З.И. Старунова², Е.Л. Новикова^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

* *st054827@student.spbu.ru*

В различных процессах развития, в том числе и в регенерации, апоптоз играет значимую роль. Во-первых, он обеспечивает формирование границ новообразованных органов; во-вторых, препятствует развитию иммунных и воспалительных процессов; в-третьих, способствует деградации поврежденных и отмирающих структур. Наконец, была показана функция апоптоза как фактора пролиферации, запускающего клеточные деления. Последний аспект вызывает наибольший интерес в контексте исследования репаративной регенерации, так как изучение апоптоза может помочь пролить свет на механизмы, влияющие на разницу в степени проявления регенеративных способностей у разных видов, а также определении клеточных источников новообразованных структур.

Аннелиды характеризуются высокой способностью к регенерации, который варьирует у различных представителей этой группы. Некоторые виды отращивают как передний, так и задний концы, и способны восстанавливать полноценное тело из единственного сегмента. Многие виды способны отращивать лишь задний конец тела, а отдельные представители аннелид вовсе не способны регенерировать. Выбранные нами объекты также различаются по регенерационным способностям. *Pygospio elegans* может восстанавливать как переднюю, так и заднюю части тела, в то время как *Platynereis dumerilii* способен лишь к постерионной регенерации.

Целью нашего исследования стало изучение роли апоптоза в регенерации аннелид и выявление зависимости успешности регенерации от интенсивности апоптоза на примере двух видов: *Pygospio elegans* и *Platynereis dumerilii*.

Для выявления клеток, подвергающихся апоптозу, нами был выбран метод TUNEL, обеспечивающий связывание флуоресцентной метки с двуцепочечными разрывами ДНК, возникающими в ходе ее деградации. Мы обнаружили наибольшее число клеток, включивших метку, на стадиях 12-30 часов после ампутации у передних и задних регенератов обоих видов. Однако затем в задних регенератах *P. dumerilii* апоптоз не останавливается, в то время как в передних регенератах этого вида и в обоих типах регенератов *P. elegans* наблюдается снижение интенсивности апоптоза к 48 часам. Соответственно, мы можем предположить, что в передних регенератах *P. dumerilii* и в теле *P. elegans* успешность регенерации и жизнеспособность животного после операции обуславливается соотношением интенсивности пролиферации и апоптоза.

Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, грант 21-14-00304. Работы проведены на базе ЦКП «Таксон», Зоологический институт РАН и ЦКП «Хромас» Научного парка Санкт-Петербургского Государственного Университета.

Молекулярные механизмы эффектов флуоксетина на функциональную активность яичника мыши

М.В. Бекетова*¹, Д.А. Никишин^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *grachsmeliy@gmail.com*

В последнее время широко распространено использование антидепрессантов типа ингибиторов обратного захвата серотонина (ИОЗС) для лечения психологических расстройств различного спектра. Но до сих пор достаточно мало данных о влиянии такого типа веществ на организм человека и на его репродуктивную систему. Известно, что серотонин – является не только важнейшим нейромедиатором, он также играет важную роль в правильном функционировании яичника и созревании яйцеклеток.

Известно, что ингибирование Sert путём нокаута его гена или длительное применение ИОЗС негативно влияет на экспрессию ароматазы и синтез эстрадиола у самок мышей. Кроме того, в экспериментах *in vitro* показано, что функциональная активность фолликулярных клеток опосредованно зависит от активности Sert в ооцитах.

Целью данной работы было исследовать влияние ИОЗС флуоксетина на морфофункциональное состояние яичника на модели системного воздействия флуоксетина на препубертатных мышей. Нами отработана модель системного воздействия флуоксетина в дозировке 20 мг/кг на взрослых самках мышей (2 мес) в течение 7 дней. Данная схема эксперимента приводит к значительному снижению концентрации серотонина как в крови, так и в яичнике, что говорит об эффективном угнетении функции Sert в периферических тканях. Методом ПЦР в реальном времени был проведен анализ экспрессии мРНК генов-маркеров функционального состояния клеток гранулезы (Fshr, Lhr, Has2, Ptgs2, Ccnd1), ооцитарных факторов роста (Gdf9, Vmp6, Vmp15, Igf1), стероидогенных ферментов (Star, Cyp11a1, Cyp17a1, Cyp19a1), а также транспортера серотонина Sert (Slc6a4). Выявлено статистически значимое снижение экспрессии Gdf9, Lhr и Sert, а также тенденция к снижению экспрессии Cyp19a1, Vmp6, Igf1 и Has2. Таким образом, на данной модели продемонстрировано, что недолгосрочное 7-дневное применение флуоксетина уменьшает экспрессию генов-маркеров функциональной активности овариальной ткани, а следовательно, оказывает негативное влияние на функциональное состояние яичника мыши.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-74-10009.

Брюхоногий моллюск *Lymnaea stagnalis*: свежий взгляд эмбриолога на классический модельный объект

А.И. Богомолов^{*1,2}, Е.Е. Воронежская², Ю.А. Краус^{2,1}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *ToshaBG.msu@gmail.com*

Для типа Mollusca (Spiralia) характерно высочайшее разнообразие планов строения и паттернов развития. Так, сопоставление эмбриогенеза головоногих и брюхоногих моллюсков вошло во все учебники как пример, демонстрирующий разнообразие развития внутри типа. Среди моллюсков выделяются Gastropoda - огромная группа, включающая около 70000 видов, различающихся строением, экологией, репродуктивными стратегиями и паттернами развития. Очевидно, что реконструировать эволюцию развития в такой разнообразной группе можно только с помощью целого набора модельных объектов. При этом эмбриональное развитие детально описано всего для одного вида гастропод - *Crepidula fornicata* - морского моллюска с планктотрофной личинкой.

Lymnaea stagnalis (большой прудовик) - представитель гастропод, которые перешли в наземную, а затем в пресноводную среду обитания. Такой переход привёл к адаптивным изменениям раннего развития, в частности, к утрате планктотрофной личинки. Это делает большого прудовика крайне интересным и ценным объектом для сравнительной и эволюционной эмбриологии. К сожалению, эмбриональное развитие *L. stagnalis* описано очень фрагментарно. Поэтому целью нашей работы было охарактеризовать на клеточном и субклеточном уровне развитие *L. stagnalis* на стадиях дробления - поздней гастролы.

Мы уточнили и детализировали таблицу нормального развития *L. stagnalis* для стадий, начиная с раннего дробления и до поздней гастролы. На последовательных стадиях развития, используя дополняющие друг друга методы (трансмиссионную и сканирующую электронную микроскопию, конфокальную микроскопию) мы охарактеризовали форму бластомеров и паттерн межклеточных контактов. Также на последовательных стадиях развития были описаны контакты между анимальными и вегетативными клетками эмбриона, в том числе, опосредованные филоподиями. Мы описали последовательные этапы гастрюляции, начиная с выделения домена поляризованных клеток на вегетативном полюсе эмбриона и их трансформации в колбовидные клетки. Подробно описана форма

бластопора, начиная с формирования впячивания и до его замыкания. Впервые для *Lymnaea* выявлено и описано формирование эктомезодермы. Мы также описали поведение, динамику формы и межклеточных контактов 3D бластомера, необходимого для корректного формирования плана строения эмбриона.

Полученные результаты обеспечивают материал для сравнительно-эмбриологических исследований моллюсков, которые помогут прояснить взаимосвязь между особенностями экологии вида, его репродуктивной стратегией и эволюцией паттернов раннего развития.

Работа выполнялась в рамках реализации гранта РФФИ № 22-24-01166.

Активация экспрессии транскрипционных факторов в регенерации *Halisarca dujardinii* (Demospongiae, Porifera)

И.Е. Борисенко*¹, А.И. Лавров², А.В. Ересковский^{1,3,4}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ Средиземноморский институт биоразнообразия и морской и континентальной экологии, Марсель, Франция;

⁴ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *i.borisenko@spbu.ru*

Губки обладают значительными способностями к регенерации – от восстановления небольшого фрагмента тела до развития целого организма из диссоциированных клеток. На морфологическом уровне в той или иной степени регенерация описана у многих видов, тогда как работы по молекулярным механизмам регенерации лишь начинают появляться. Даже для конкретной модели повреждения (удаления небольшого фрагмента тела) существует несколько вариантов морфогенезов у разных видов губок: формирование «бластемы» из недифференцированных клеток различного происхождения вблизи раны, или же согласованного движения клеток в составе пластов, примыкающих к ране. В качестве попытки расшифровки молекулярных механизмов, управляющих регенерацией, мы проанализировали данные RNA-seq, полученные путем секвенирования РНК из регенератов губки *H. dujardinii*. РНК выделяли в трех временных точках, соответствующих ключевым событиям регенерации: 3 ч, 12 ч и 24 ч после повреждения. Эти временные точки выбраны на основании полученных нами ранее морфологических описаний: через 3 ч наблюдается фагоцитоз и гибель клеток; через 12 ч начинается формирование бластемы из недифференцированных клеток; после 24 ч идет заживление раны и восстановление экзопинакодермы и водоносной системы. Моделью повреждения служило микрохирургическое удаление фрагмента тела. Обогащение по признакам GO среди генов, оверэкспрессированных на каждой из стадий по сравнению с неповрежденной губкой, показало следующее. В первые 3 ч после повреждения наблюдается активация экспрессии генов, обеспечивающих транскрипцию, а также транскрипционных факторов и ДНК-полимераз. При этом, как нами показано ранее, увеличения пролиферативной активности не наблюдается на протяжении всей регенерации. Экспрессирующиеся на данной стадии транскрипционные факторы относятся к гомеодомен-содержащим белкам, а также классам Forkhead и цинк-фингерным факторам. Через 12 ч после повреждения наибольшее число оверэкспрессированных генов наблюдаются в категориях убиквитинирование и ДНК-полимеразная активность. Через 24 ч после повреждения с большим отрывом лидируют транскрипты, связанные со связыванием с сигнальными рецепторами, притом большинство из них аффилированно с Wnt-каскадом. Таким образом, мы предполагаем, что за счет экспрессии транскрипционных факторов на ранних стадиях регенерации запускается дедифференцировка, а на поздних – происходит паттернирование вновь формирующейся ткани.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №22-74-00042.

Клеточная полиплоидия. Развитие идей Н.К. Кольцова

В.Я. Бродский*¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *brodsky.idb@bk.ru*

Умножение генома в соматических клетках – клеточная полиплоидия и политения – общебиологическое явление. Обнаружено у многих млекопитающих и у других изученных позвоночных, у червей, моллюсков, насекомых, а также у растений и одноклеточных. Механизм умножения генома – неоконченный обычный митоз. В профазе – (скрытая) политения, в метафазе – образование одноядерных полиплоидных клеток, в телофазе – образование двуядерных клеток (опыты с тимидиновой меткой), динамика полиплоидизации. Результаты умножения генома: повышение активности клеток; повышение жизнеспособности клетки. Полиплоидизация клеток – распространенный способ роста ткани и органа, а в некоторых случаях – способ дифференцировки клетки. Пример значимости клеточной полиплоидии для медицины – миокард млекопитающих: а) 90-95% миоцитов желудочков сердца всех изученных млекопитающих (около 20 видов) содержат 4 и более геномов; б) время полиплоидизации жестко ограничено программой (опыты с трансплантами); крыса 20-21 день после рождения; человека 10-12 лет в) выраженность полиплоидизации зависит от условий роста сердца в детстве (опыты с выращиванием крысят в разных гнездах); варибельность полиплоидизации у здоровых молодых людей от примерно 4n до 8n в среднем; г) в отличие от всех остальных полиплоидных клеток млекопитающих, масса кардиомиоцитов существенно меньше дозы генов; соответствие массы геному устанавливается на первой фазе гипертрофии при инфаркте миокарда. Преемственность в чтении лекций. Н.К. Кольцов и Г.И. Роскин.

Циклинзависимые протеинкиназы CDK8/19 необходимы для сперматогенеза у мышей в постнатальном периоде

Е.А. Варламова*¹, А.В. Брутер¹, В.В. Татарский¹, В.Н. Манских²

¹ Институт биологии гена РАН, Москва, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *katerinavarlamova196@gmail.com*

Циклинзависимая протеинкиназа CDK8 и ее паралог CDK19 регулируют экспрессию активно транскрибируемых генов за счет взаимодействия с циклином С и Медиаторным комплексом. CDK8/19 принимают участие в перепрограммировании транскрипции, в ответах на внешние стимулы и в развитии организма. Для изучения функции CDK8/19 в онтогенезе были получены мыши C57BL6 с индуцируемым тамоксифеном нокаутом CDK8 (CDK8^{fl/fl}/ERT-CRE) и с индуцируемым нокаутом CDK8 на фоне нокаута CDK19 (CDK8^{fl/fl}/CDK19^{-/-}/ERT-CRE). Активацию индуцируемого нокаута CDK8 у половозрелых мышей (6-8 недель) проводили с помощью интраперитонеальных инъекций тамоксифена в течение недели и через 8 недель после активации анализировали фенотип.

Нами было обнаружено, что у мышей с тройным нокаутом после активации редуцируются семенники и подавляется сперматогенез в сравнении с мышами без активации и с мышами дикого типа, которым проводились инъекции тамоксифена по аналогичной схеме. Гистологическое исследование показало резкое снижение (в некоторых случаях – отсутствие) в семенных канальцах двойных нокаутных мышей количества постмейотических клеток. Окрашивание иодидом пропидия и последующий цитофлюориметрический анализ подтвердили отсутствие у двойных нокаутов удлинённых сперматид и резкое снижение количества круглых сперматид.

Дальнейший иммунофлюоресцентный анализ (окрашивание DAPI и антителами против SYCP3) указал на возможный механизм наблюдаемых нарушений – у двойных нокаутов, в отличие от контрольных мышей, не наблюдалось нормальной сборки синаптонемального комплекса, что делает невозможным мейотические деления.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-15-002277

Дупликация генов *Brachyury* в типе *Cnidaria*

А.А. Ветрова*¹, Д.М. Купаева¹, Т.С. Лебедева², Н. Циколия³, С.В. Кремнёв^{4,1}

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Венский университет, Вена, Австрия;

³ Гёттингенский университет имени Георга-Августа, Гёттинген, Германия;

⁴ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *lalavetrova@gmail.com*

Транскрипционный фактор *Brachyury* является основным членом семейства белков с Т-боксом доменом. Несмотря на то, что он широко известен как фактор, регулирующий развитие мезодермы у трёхслойных животных, его гомологи были также обнаружены и у двухслойных животных, например, у представителей типа *Cnidaria*. В геноме представителей класса *Anthozoa* была обнаружена только одна копия гена *Brachyury*, однако в геномах гидроидов *Hydra* и *Clytia hemisphaerica* их по меньшей мере две. Возникает вопрос, произошла ли дупликация *Brachyury* один раз у общего предка всех гидроидов или несколько раз независимо у разных гидроидов.

Мы провели филогенетический анализ и реконструировали эволюцию гена *Brachyury* в типе *Cnidaria*. Выяснилось, что первый раунд дупликации гена *Brachyury* произошёл у общего предка клады *Medusozoa*, а второй - у общего предка гидроидов. Таким образом, у большинства представителей класса *Hydrozoa* в геноме присутствуют три копии гена *Brachyury*. Исключение представляют только несколько видов. Например, у *Hydra* есть только две копии гена.

Сравнение аминокислотных последовательностей белков *Brachyury* у гидроидов показало, что последовательность *Brachyury1* является наиболее консервативной, а белки *Brachyury3* самыми дивергированными.

Методом гибридизации *in situ* мы исследовали экспрессию трёх паралогов гена *Brachyury* (*DpBra1*, *DpBra2* и *DpBra3*) в ходе нормального развития и во взрослой колонии морского гидроидного полипа *Dynamena pumila*. У личинки *D. pumila* *DpBra1* и *DpBra2* экспрессируются на оральном конце личинки, что характерно для экспрессии *Brachyury* у личинок *Cnidaria*. Однако, экспрессия *DpBra3* была визуализирована в нервных клетках в центральной области личинки. Кроме того, было экспериментально показано, что *DpBra1* и *DpBra2*, но не *DpBra3*, являются мишенями канонического сигнального пути *Wnt*. Различия в паттерне экспрессии и регуляции позволяют нам предположить, что у *D. pumila* произошла неофункционализация самого дивергированного паралога.

В колонии *D. pumila* мы обнаружили экспрессию всех трёх паралогов *Brachyury* в гипостоме гидранта. Паттерны экспрессии паралогов *Brachyury* перекрывались и дополняли друг друга, что может свидетельствовать о произошедшей субфункционализации. В верхушке роста побега колонии мы визуализировали экспрессию *DpBra1* и *DpBra3*, но не *DpBra2*. Экспрессия *DpBra1* наблюдалась в апикальной эктодерме верхушки роста, а *DpBra2* маркировал зачатки формирующихся гидрантов.

Таким образом, согласно нашим результатам у *Cnidaria* дупликация привела к суб- и неофункционализации паралогов *Brachyury*.

Благодарим Бредова Дениса Владимировича за помощь в получении икры. Исследование поддержано грантом РФФИ №20-04-00978а.

Часть и целое: от клеточных полей к морфодинамике

И.В. Володяев*^{1,2,3}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Европейский медицинский центр, Москва, Россия;

³ Ассоциация "Междисциплинарная Клиническая Ассоциация Репродуктивной Медицины", Москва, Россия

* *ivolodyaev@gmail.com*

Будучи чрезвычайно сложной динамической системой, эмбрион обладает широкими возможностями регуляции. Они проявляются в способности эмбриона развиваться после биопсии бластомеров (в практике ЭКО-ПГТ), из клеток разных эмбрионов (при образовании химер) и даже из отдельного бластомера (до определенных стадий). Весь этот класс явлений очевидно связан с неким «ощущением целого», присущим клеткам эмбриона, и относится к Дришевским регуляциям.

Для объяснения феномена «ощущения целого» в развитии эмбриона было предложено множество моделей. Однако наиболее естественными, эффективными и доказанными из них являются модели механически опосредованных клеточных потоков, определяющих дальнейшее развитие эмбриона.

Значительная часть яркого и самобытного творческого пути Л.В. Белоусова была подчинена исследованию и осмыслению этих проблем. Начиная с первых работ по развитию концепции клеточных полей А.Г. Гурвича, Л.В. Белоусов постепенно создал и развил направления морфодинамики, в настоящее время широко распространившееся в разных областях биологии развития.

Будучи связанным со спонтанным снижением симметрии во многих аспектах (пространственном, динамическом и в смысле «судьбы клетки»), эмбриогенез представляется постоянным переплетением структурно устойчивой динамики (детерминистический аспект) и событий, нарушающих симметрию (связанных с неустранимой изменчивостью и квазистохастическими процессами). Оба эти аспекта, будучи многофакторными сложными процессами, в значительной степени регулируются механическими напряжениями, действующими внутри эмбриона.

Доклад посвящен памяти Л.В. Белоусова.

Анализ транскриптомных и композиционных сдвигов в клетках головного мозга крысы в моделях агрессии

А.Н. Гайнуллина*¹, М.С. Сабиров¹, А.А. Несмелов², А.И. Билялов², Р.В. Кожемякина³, Е.И. Шагимарданова², Ю.Э. Гербек³, О.А. Гусев², Р.А. Романов¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия;

³ Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

* *anastasiia.gainullina@gmail.com*

Экспериментальная модель, где группы крыс *Rattus norvegicus* имеют разный (высокий и низкий) уровень агрессии благодаря направленной селекции по поведенческим характеристикам, используется для исследования агрессии, передающейся на генетическом уровне. Будучи созданы под руководством академика Дмитрия Беляева в Институте цитологии и генетики Сибирского отделения АН СССР в середине прошлого века, такие модели и по сей день представляют большой научный интерес и продолжают активно исследоваться на геномном и транскриптомном уровнях.

В настоящем исследовании для выявления клеточной и молекулярной природы агрессии у взрослых крыс из обеих групп было осуществлено секвенирование одиночных клеток гипоталамуса. Последовательности сырых ридов секвенирования были выровнены на референсную последовательность крысиного генома последней версии. Благодаря уникальным клеточным

идентификаторам весь пул выровненных ридов был разделен на группы, соответствующие отдельным клеткам. Каждая полученная группа в дальнейшем анализировалась как экспрессионный профиль отдельной клетки. Из полученного набора клеток были отфильтрованы низкокачественные клетки, дублиеты и клетки крови. Далее все образцы были проинтегрированы с помощью пайплайна обработки данных секвенирования одиночных клеток. В полученном пуле клеток были идентифицированы все основных клеточные типы мозга: нейроны, олигодендроциты, астроциты, эпендима, танициты, микроглия. Для дальнейшего анализа различий между двумя группами крыс был выбран подход изучения транскриптомных и композиционных сдвигов в конкретных клеточных типах. Транскриптомный анализ в свою очередь представлен как анализом дифференциальной экспрессии отдельных генов, так и анализом представленности модулей, представляющих собой совокупность генов, объединённых в единую функциональную группу (канонические пути, а также регулоны, полученные методом SCENIC).

В первую очередь были проанализированы нейрональные клетки. Для этого гетерогенные группы нейронов были разбиты на различные подтипы. В качестве идентификационных меток для функционально специализированных пулов нейронов были использованы различные нейропептиды и нейротрансмиттеры. Композиционный анализ нейронов показал, что, во-первых, агрессивные крысы имеют тенденцию сдвига в сторону кластеров, маркирующихся генами, чьи продукты являются организаторами реакции организма на стресс, а также гормонами Sst и Trh, вовлеченными в процесс секреции гормонов щитовидной железы. Эти результаты согласуются с нашим независимым анализом с помощью метода SCENIC, поскольку среди регулонов SCENIC, обогащенных в клетках агрессивных мышей, есть Thra+ регулон. Thra представляет собой ТФ, который опосредует биологическую активность гормона щитовидной железы. Более того, согласно литературным данным, мыши с вариантами гена Thra проявляют депрессивный, тревожный и ASD фенотипы. Во-вторых, у агрессивных крыс также наблюдается тенденция к сдвигу состава нейронов в сторону кластера Adcyap+/Bdnf+. Клетки этого скопления принадлежат вентромедиальному ядру гипоталамуса. Активность его клеток принято считать ответственной за провоцируемое стрессом агрессивное поведение.

Грант 075-15-2021-1075 "Использование генетических технологий для поиска биомаркеров, моделирования и терапии заболеваний человека". Руководитель работ: Воротеляк Екатерина Андреевна.

Рецепторная тирозинкиназа IRR регулирует скорость раннего развития у *Xenopus laevis*

Е.А. Ганцова*^{1,2}, Д.Д. Короткова¹, Ф.М. Ерошкин¹, О.В. Серова¹, Ф.С. Шарко³, Н.Ю. Мартынова¹,
С.В. Женило³, А.Г. Зарайский¹, И.Е. Деев¹

¹ Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия;

² Российский университет дружбы народов, Москва, Россия;

³ Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" РАН, Москва, Россия

* gantsova@mail.ru

Одним из сенсоров щелочного pH является рецептор, подобный рецептору инсулина (IRR), член семейства рецептора инсулина, которое также включает рецептор инсулина (IR) и рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGF-IR). В отличие от своих близких гомологов рецепторов IR и IGF-IR, которые экспрессируются в широком спектре тканей и клеток, экспрессия IRR обнаруживается в некоторых органах в определенных типах клеток. Ген *insrg*, кодирующий рецепторную тирозинкиназу IRR имеет сильную экспрессию у эмбрионов лягушек. Однако роль IRR во время эмбриогенеза *Xenopus laevis* не известна. Чтобы понять роль *insrg* в развитии *X. laevis*, мы подавляли его экспрессию, вводя антисмысловый морфолиновый олигонуклеотид (*insrg* MO) в эмбрионы. В результате у этих эмбрионов наблюдалась значительная задержка развития по сравнению с эмбрионами, которым вводили контрольный MO (К MO). Первые признаки задержки становились видимыми во время нейруляции, когда у эмбрионов, инъецированных *insrg* MO, наблюдалась задержка закрытия нервной трубки по сравнению с контрольными. Для оценки влияния щелочного pH на эмбрионы, инъецированные *insrg* MO и К MO, их инкубировали в растворах с pH 7,2 и 8,5. Нами показано, что подавление *insrg* приводит к задержке развития, которая может быть восстановлена при инкубации эмбрионов в щелочной среде. У

эмбрионов дикого типа, выращенных в щелочной среде (pH 8,5), не наблюдалось задержки или ускорения развития по сравнению с контролем (pH 7,2). Для четырех групп эмбрионов провели анализ транскриптома, получили набор данных для *insrr* MO при pH 7,2 и pH 8,5; также для K MO при pH 7,2 и pH 8,5. Анализируя данные, полученные в результате РНК-секвенирования эмбрионов на стадии средней нейрулы, обнаружили, что подавление *insrr* вызывает общий сдвиг экспрессии в сторону генов, специфически экспрессируемых в начале гастрюляции. В то же время обработка средой с щелочным pH частично восстанавливала экспрессию генов, специфических для процесса нейруляции. Было выявлено несколько групп генов, характерных для описываемой картины развития эмбрионов *X. laevis*. Так, в первую группу попали гены, экспрессия которых увеличивается при нейруляции и которые отвечают за дифференцировку скелетных мышц и нервной трубки, включая десмин; несколько генов *hox*-комплекса – *mylfr*, *myl1*, *rax6*, *pitx2* и др. Ко второй группе относились гены, регулирующие общую схему развития зародыша в самом начале гастрюляции: *cer1*, *eomes*, *frzb*, *hhex*, *mix*, *rou5f3* и многие другие. Важно отметить, что, как и в случае морфологической задержки развития, экспрессию этих генов можно временно восстановить путем инкубации в среде с щелочным pH. Таким образом, впервые было показано влияние рецептора IRR на развитие лягушки *X. laevis*.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 19-34-90177, № 20-04-00880, № 20-04-00892.

Метилирование гистона H3 и экспрессия генов актинового цитоскелета в яичниках *Drosophila melanogaster* в условиях симулированной невесомости

М.А. Голубкова*¹, И.В. Огнева¹

¹ Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

* ma_golubkova@mail.ru

Одним из основных внешних факторов, оказывающих влияние на живые организмы во время космического полета, является невесомость, воздействие которой способно индуцировать изменение строения и функционирования клеток. Цитоскелет, участвующий в реализации деления клеток и регуляции внутриклеточных процессов, является одной из наиболее чувствительных к изменениям силы тяжести структур, и может быть подвержен перестройкам при минимальных отклонениях от 1g. Согласно литературным данным, часть наблюдаемых в условиях невесомости изменений структуры цитоскелета может быть обусловлена изменением содержания формирующих его структурных белков в результате модуляции экспрессии кодирующих их генов.

Вероятным механизмом регуляции экспрессии генов у *Drosophila melanogaster* служат посттрансляционные модификации гистонов, в частности, метилирование, которое, в зависимости от степени и модифицируемого сайта, может приводить как к активации, так и к репрессии транскрипции.

Определяли относительное содержание форм метилированных форм гистона H3, а также содержание мРНК генов, кодирующих белки, участвующие в формировании актинового цитоскелета, в яичниках 5-дневных *Drosophila melanogaster*, полный цикл развития которых проходил в условиях симулированной невесомости, создаваемой при помощи машины случайного позиционирования.

Результаты исследования показали, что в группе, экспозиция которой проходила в условиях симулированной невесомости, содержание формы гистона H3, диметилированной по 4 лизину, увеличилось по сравнению с контролем на 48% ($p < 0,05$), а содержание формы гистона H3, диметилированной по 9 лизину, было сопоставимо с показателями контрольной группы.

Результаты определения относительного содержания мРНК генов, кодирующих элементы актинового цитоскелета, свидетельствуют о том, что в группе, экспозиция которой проходила в условиях симулированной невесомости, содержание мРНК генов *Act57B* и *Act87E*, кодирующих бета-актин, и содержание мРНК гена *Actn*, кодирующего актин-связывающий белок - альфа-актинин, не отличалось от контрольных значений ($p < 0,05$).

Суммируя результаты, можно предположить, что наблюдаемое отсутствие изменений содержания мРНК генов, кодирующих элементы актинового цитоскелета, на фоне значительного повышения относительного содержания H3K4me2 и отсутствия изменений содержания H3K9me2, в яичниках 5-дневных *Drosophila melanogaster*, полный цикл гаметогенеза которых проходил в условиях симулированной невесомости, может быть обусловлено другими посттрансляционными модификациями гистонов, вовлеченными в регуляцию экспрессии генов на уровне транскрипции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований ГНЦ РФ - ИМБП РАН 65. 4.

Особенности регенерация *Phoronopsis harmeri*

И.О. Гомжин*¹, Е.Н. Темерева^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Национальный исследовательский университет "Высшая школа экономики", Москва, Россия

* *iligomzhin@gmail.com*

Регенерация – процесс формирования тканей живых организмов, в ходе которого может происходить восстановление de novo утраченных частей или же обновление тканей и органов. В первом случае говорят о репаративной регенерации, а во втором – о физиологической. Интенсивность регенерационных процессов различна у животных из разных групп. Так, для мелких беспозвоночных с постоянным клеточным составом тела регенерация либо не описана вовсе, либо чрезвычайно ограничена. Для форонид описана регенерация, связанная с восстановлением целого туловища (*Phoronis ovalis*) и щупальцевого аппарата – лофофора (*Phoronis psammophila*). Цель настоящей работы изучение регенерации у форониды *Phoronopsis harmeri*.

В ходе экспериментов взрослым животным удаляли передний конец тела с лофофором и частью туловища и следили за ходом регенерации. Были выделены следующие морфологические стадии регенерации:

- 1) пережатие проксимального к месту декапитации участка тела – первые минуты после отрезания;
- 2) заворачивание краёв эпителия внутрь раны – 0-3ч;
- 3) эпителизация раны – 3-16ч;
- 4) начало формирования латеральных выступов лофофора – 16-21ч;
- 5) слияние латеральных выступов лофофора в единую (подковообразную) структуру – 21-27ч;
- 6) начало формирования щупалец лофофора – 27-42ч;
- 7) конец формирования щупалец и формирование маленькой функциональной головой – 42ч.

Эксперименты, проведенные на регенерирующих животных разных стадий с использованием EdU, позволили выявить вблизи поврежденного конца тела несколько генераций стволовых клеток. На самых ранних этапах регенерации обнаруживаются пролиферирующие клетки в покровном эпителии переднего конца тела, наиболее многочисленные вблизи гигантского нервного волокна. Вторая генерация стволовых клеток, формирующаяся, предположительно, из клеток целомической выстилки наблюдается уже через 2,5 часа после декапитации. Эта генерация стволовых клеток образует диафрагму и выстилку формирующегося целома лофофора – мезоцеля. После появления основания мезоцеля пролиферация второй генерации стволовых клеток приостанавливается. Щупальца лофофора формируются за счет пролиферативной активности клеток эпидермиса.

Phoronopsis harmeri характеризуется чрезвычайно высокой скоростью регенерации переднего конца тела, который полностью восстанавливается за 48 часов. Для форонид ранее было показано

полное восстановление переднего конца тела за 72 часа. Впервые для форонид описан пул стволовых клеток, которые, по-видимому, формируются из клеток целомической выстилки и отвечают за восстановление отделов целомической системы, стенок кровеносных сосудов и воронок метанефридиев. Эпителиальные ткани (стенка тела, щупальца и каналы метанефридиев) восстанавливаются за счет дифференцировки клеток покровного эпителия.

Автор выражает глубокую признательность ННМБЦ ДВО РАН, в том числе: В.А. Дьячку, В.В. Юшину, О.В. Юрченко, В.В. Кумейко. РНФ 18-14-00082.

Свидетельства индуктивных взаимодействий у зародышей *Ophelia limacina* (Spiralia, Annelida) на основе MAP-киназного каскада

М.Г. Гринберг*¹, В.В. Козин¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* greenerkk@gmail.com

Традиционно полагалось, что спиральное дробление является высоко детерминированным, однако накопленные данные указывают на все большую роль индуктивных взаимодействий. Одним из важнейших классических примеров этих взаимодействий является факт необходимости физического контакта предшественника клетки-организатора с анимальными микромерами для его спецификации у моллюсков с гомоквадрантным типом дробления. Последние исследования в большой степени фокусируются на молекулярных основах межклеточных взаимодействий. Так, одним из активно изучаемых сигнальных путей является MAP-киназный каскад. У большинства изученных спиралей он принимает участие в определении клеточной судьбы, в т. ч. связанной с активностью организатора из D-квадранта как в случае гетероквадрантного, так и гомоквадрантного типов дробления.

Сравнительные исследования индуктивных взаимодействий в ходе спирального дробления открывают новые возможности для понимания эволюции программ развития и прояснения их консервативных аспектов у этой разнообразной группы живых организмов. Особый интерес в этом контексте вызывает беломорская седентарная аннелида с гомоквадрантным дроблением *Ophelia limacina*, для которой ранее был показан нехарактерный для аннелид, но встречающийся у зародышей моллюсков контакт одного из вегетативных бластомеров (предположительно 4d) с анимальными микромерами.

Целью данной работы является установление паттерна активности MAPK-каскада в ходе раннего развития *O. limacina*. Для этого на ББС МГУ были собраны половозрелые особи *O. limacina*, использованные для постановки оплодотворения и получения эмбриональных культур. Партии зародышей были зафиксированы и обработаны антителами к активной форме ключевого элемента MAPK-каскада – дифосфорилированной киназе ERK. Эти зародыши, дополнительно окрашенные фаллоидином и DAPI, были проанализированы на конфокальном микроскопе.

Первое проявление дифференциальной активности dpERK мы наблюдали на стадии 16 бластомеров в 1-2 анимальных клетках. Далее сигнал был обнаружен уже на стадии 32 клеток в нескольких анимальных микромерах, а также макромерах. Следующий клеточный цикл макромеры проходят асинхронно. После появления этой асимметрии в морфологии зародыша, мы наблюдали асимметрию и в распределении активности dpERK. Так, к стадии 44-48 клеток сигнал большой интенсивности локализован только в одной 4q клетке – предположительно 4d. Подобное двухфазное проявление активности dpERK сначала на анимальном, а затем вегетативном полюсе известно для многих исследованных спиралей. На стадиях контактного взаимодействия 4d и анимального полюса было обнаружено распространение сигнала по боковой поверхности зародыша вокруг 4d, что позволяет сделать предположение об индуктивных функциях этой клетки, потенциально связанных с процессом дорсолизации. Сходное явление распространения активности MAPK известно для моллюска с гетероквадрантным дроблением *Ilyanassa obsoleta*, однако для спиралей с гомоквадрантным дроблением оно описано нами впервые.

Работа выполнена на базе ББС МГУ и РЦ ММ СПбГУ.

Альтернативная репродуктивная стратегия как результат эписелекции: исследование внебрачного спаривания у социально моногамной мухоловки-пеструшки

В.Г. Гриньков*¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* grinkov@mail.bio.msu.ru

Стратегии спаривания (способы поиска и критерии выбора партнеров), обеспечивающие достижение максимального репродуктивного успеха особи, всегда находились в фокусе исследований эволюционной биологии. Мы изучали внебрачные спаривания (ВС) у мухоловки-пеструшки (*Ficedula hypoleuca*) в Западной Сибири. ВС встречается у более чем 90% социально моногамных видов птиц, а механизмы, приводящие к появлению внебрачных потомков (ВП), остаются дискуссионными. Мы выясняли, являются ли ВС у мухоловки-пеструшки особой репродуктивной стратегией.

В популяции Томской области за 6 лет родственные взаимоотношения птиц были изучены в 461й семье (3551 проба). Родственные связи проверяли с помощью генотипирования особей с использованием 6-8 микросателлитных локусов. Анализ данных проводили с помощью программы CERVUS 3.0. Наряду со сбором проб крови, отлавливали и описывали взрослых гнездящихся птиц, кольцевали всех птиц, регистрировали репродуктивный успех каждой особи.

Участие птиц во ВС может произвольно влиять на различные компоненты приспособленности особей. Некоторые результаты можно интерпретировать в качестве «доказательства адаптивности» ВС. Действительно, самцы, участвовавшие во ВС, были старше и имели больше потомков. Самцы ярко окрашенной морфы находили внебрачных партнеров ближе к своей территории. Продуктивность кладок была выше у самок, участвовавших во ВС.

Однако, другие результаты трудно трактовать с позиции баланса «выгод» и «издержек». ВС могут быть множественными, происходят с ближайшими соседями и с одинаковой частотой в течение всего гнездового периода. Почти все признаки самцов не были связаны с их статусом в ВС. Самки, гнездившиеся на самых качественных территориях, чаще вовлекались во ВС. Возврат окольцованных ВП и их приспособленность достоверно не отличались от аналогичных показателей всех других групп птенцов.

Кроме того, обнаружена почти нулевая наследуемость числа ВП. Это значит, что для изменения доли ВП в популяции на несколько процентов, интенсивность отбора должна достигать огромных величин, никогда не регистрировавшихся в природных популяциях. Однако, тип местообитания и межгодовые изменения плотности гнездования вызывают многократные изменения числа птиц, вовлеченных в ВС. Так, в городских условиях с высокой мозаичностью среды доля самцов, участвовавших во ВС, в 1.7 раза, а самок в 3.3 раза ниже, чем в более гомогенных естественных лесных местообитаниях. Более того, оценки вовлеченности птиц во ВС на одном и том же участке леса в разные годы гнездования мухоловки-пеструшки менялись в 5 раз!

Таким образом, ВС сами по себе не подвергаются напрямую естественному отбору. Можно предположить, что участие птиц в ВС является побочным эффектом различных изменений в экологических, поведенческих и физиологических процессах. Кроме того, нормальные сексуальные взаимоотношения в социальных парах мухоловки-пеструшки в качестве неожиданного побочного эффекта могут индуцировать «альтернативную» стратегию размножения. Иными словами, возникновение ВС у мухоловки-пеструшки является эписелективным процессом.

Применение систем направленного редактирования генома в изучении структурно-функциональной организации интерфазных хромосом *Drosophila*

С.А. Демаков*¹, О.В. Андреенков¹, Е.И. Волкова¹, М.Б. Шварц¹, С.А. Тихомиров¹, О.В. Антоненко¹,
И.Ф. Жимулев¹

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

* demakov@mcb.nsc.ru

До недавнего времени возможности молекулярно-генетических манипуляций с геномом дрозофилы в значительной степени были связаны с транспозон-опосредованным встраиванием рекомбинантных ДНК в геном мух. Однако в последние годы достигнут значительный прогресс в развитии техник геномного редактирования, которые позволяют эффективно и направленно изменять целевые участки ДНК непосредственно в составе генома.

В рамках изучения генетических механизмов формирования и регуляции хромосомной организации интерфазных хромосом, в данной работе с применением комплекса молекулярно-генетических методов и новых эффективных систем направленного мутагенеза (прежде всего CRISPR/Cas9, а также attP/attB интегразы фC31, FRT/FLP и loxP/Cre рекомбиназ) получены новые мутации в генах Notch и bantam, участвующих в контроле развития *Drosophila melanogaster*.

Впервые на уровне целого организма получена серия делеций в 5'-регуляторной области гена Notch, соответствующей в политенных хромосомах междиску 3С6/С7, и в одном из внутренних энхансерных районов этого гена в эндогенном (естественном) генетическом окружении. Молекулярно-генетический анализ линий мух с этими делециями позволил выявить участки ДНК, вовлеченные в регуляцию активности и организацию хроматина этого локуса. Определены участки ДНК, удаление которых приводит к изменению экспрессии гена. Наиболее сильные нарушения в развитии мух наблюдались в линиях с делециями, затрагивающими предполагаемый инсулятор в районе промотора этого гена. Показано, что данный инсуляторный элемент расположен в участке ДНК, соответствующем делеции размером 255 п.н., вызывающей исчезновение междиска 3С6/С7 и слияние соседних дисков.

С помощью трансгенных подходов исследована организация хроматина и регуляция активности гена микро-РНК bantam, расположенного в междиске 61С7/С8. Молекулярно-генетический и цитологический анализ мутантных линий показал, что удаление потенциальных сайтов связывания белков ADF1, BEAF-32 и DREF в регуляторной области этого гена влияет на организацию его хроматина в слюнных железах, а также приводит к нарушению активности данного гена в других тканях.

Результаты данной работы показывают высокую эффективность систем направленного геномного редактирования для исследования влияния регуляторных последовательностей ДНК на структурную организацию интерфазного хроматина и активность генов в их эндогенном генетическом окружении.

Работа поддержана грантом РФФ 20-14-00074.

Постмитотический мутагенез нейронов и возможные эволюционные решения, снижающие «плату» за пластичность мозга

В.Е. Дьяконова*¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* dyakonova.varvara@gmail.com

Имя Николая Константиновича Кольцова обязывает опережать свое время. Поэтому сейчас, когда проблема накопления постмитотических мутаций в геноме нейронов еще только начинает осознаваться исследователями, уже стоит задуматься о том, какие решения, найденные эволюцией,

позволяют снизить мутационную нагрузку мозга и ее биологические последствия. Понимать их было бы важно в том числе и для разработки методов лечения заболеваний человеческого мозга.

Сейчас уже не вызывает сомнений, что пластичность поведения и когнитивные функции связаны с пластичностью экспрессии генома нейронов. Она требует частых изменений состояния хроматина и предрасполагает к повышенному риску мутаций. Более того, самое базовое свойство нейрона – возбуждение, как оказалось, снижает метилирование ДНК в значительной части его генома, что также может способствовать мутагенезу. Интенсивный метаболизм и образование свободных радикалов при высокой электрической активности также являются факторами риска для нейрональной ДНК. Действительно, высокие частоты постмитотических мутаций обнаружены в нейронах мыши и человека, причем именно в функциональных частях генома (высокоэкспрессированные гены и промоторы). Кроме того, как показывают работы последних лет, у нематоды нейрональное возбуждение уменьшает продолжительность жизни. У человека здоровое когнитивное долголетие обратно коррелирует с возбуждением нейронов. У млекопитающих и беспозвоночных (насекомых) показана обратная связь продолжительности жизни с интенсивностью накопления соматических мутаций.

Похоже, что относительно новая для нейробиологии проблема накопления мутаций при функционировании нервной системы стара в эволюционном отношении. По всей вероятности, в ходе эволюции могли появиться адаптации, позволяющие снизить биологическую стоимость пластичности мозга, причем в разных таксонах животных эти адаптации могли оказаться разными. Доклад будет посвящен обзору и анализу таких возможных адаптаций у позвоночных, моллюсков и насекомых. Новые факты, а также давно известные особенности нервных систем представителей этих таксонов будут рассмотрены в ракурсе решения компромисса пластичность-мутагенез в нервной системе.

Работа поддержана грантом РФФ 22-24-00318, частично поддержана ГЗ 0108-2019-0002.

Сравнительно-морфологическое исследование нейруляции *Coregonus nasus* и *Danio rerio*

Е.А. Евнукова*¹, Е.А. Кондакова^{1,2}, В.А. Богданова², В.И. Ефремов¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

* *usia.evnuкова@yandex.ru*

Нейруляция зародышей костистых рыб исследована у небольшого круга объектов, преимущественно у *Danio rerio* – модельного для множества разделов биологии. В данной работе были изучены процессы нейруляции на гистологическом уровне у зародышей *Coregonus nasus* (Salmoniformes) и *D. rerio* (Cypriniformes). Мы предположили, что между двумя видами, принадлежащими к отдаленным группам Teleostei, развивающимися в разных условиях и отличающимися по продолжительности развития, могут быть вариации в процессах нейруляции.

Материал по развитию *C. nasus* был собран сотрудниками ГОСНИОРХа и зафиксирован жидкостью Буэна. В ходе работы были изготовлены парафиновые срезы для зародышей *C. nasus* на стадиях гастрюляции (зародышевый щиток) (18 дпо, n = 3, где n – число зародышей), 21 сомита (29 дпо, n = 4), 30 сомитов (41 дпо, n = 3), пигментации глаз (61 дпо, n = 5), на стадии, предшествующей началу пигментации тела (76 дпо, n = 4), пигментации тела (86 дпо, n = 4) и на стадии, предшествующей началу вылупления (116 дпо, n = 3). Гистологические препараты для *D. rerio* на стадиях 21 и 26 сомитов были изготовлены Гладышевой Ю. А.

Было показано, что нейруляция *C. nasus* и *D. rerio* протекает по принципиально сходным механизмам как в туловищном, так и в хвостовом отделе. Нейральный киль и нейральная пластинка, отмеченные у *C. nasus* на стадии 21 сомита, согласно данным литературы, наблюдаются у *D. rerio* на стадиях 6-10 пар сомитов. Принимая во внимание то, что у *C. nasus* всего в ходе развития формируется 56-57 сомитов, а у *D. rerio* – 30-34 сомита, можно сказать, что примерно к завершению первой трети сомитогенеза у обоих видов образуются подобные нейральные структуры.

Нейральный зачаток в хвостовом отделе, форма которого меняется от трапецевидной к округлой в направлении спереди назад, отмеченный в данной работе у *C. nasus* на стадии начала пигментации глаз, у *D. rerio* образуется к стадии 21 сомита.

Однако, были отмечены некоторые гетерохронии развития нервной трубки относительно других структур зародышей. Так, например, начало пульсации сердца у *C. nasus* приурочено к стадии 30 сомитов (41 дпо). В это время его нейральный зачаток представлен НТ в начале туловищного отдела, нейральным килем - в конце, а в хвостовом отделе наблюдается только материал ХП. В опубликованных ранее работах для *D. rerio* же описывают начало сердечных сокращений на стадии prim5, на которой нейральный зачаток в хвостовом отделе имеет вид нейрального тяжа, а в туловищном – НТ.

Также были отмечены различия в строении ХП. На стадиях, где наблюдалось сходство в морфологии зачатков осевых структур, ХП *C. nasus* на срезах имела более округлую форму, чем ХП *D. rerio*. Мы предполагаем, что подобные различия в форме могут быть связаны с расхождениями в процессах эпиволии и гастрюляции, так как, согласно данным литературы, гастрюляционные процессы *D. rerio* завершаются одновременно с закрытием желточной пробки (100% эпиволия), в то время как у *C. nasus* – к 50% эпиволии.

Работа выполнена в рамках проекта "ProjectKS 4058 - ARCTAQUA". Авторы благодарят РЦ РМИКТ СПбГУ.

Скрытое разнообразие регенеративных механизмов губок

А.В. Ересковский*^{1,2}, И.Е. Борисенко¹, Ф.В. Большаков³, Н.П. Мельников³, К.В. Скоренцева³,
А.И. Лавров³

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* aereskovsky@mail.ru

Губки обладают высокими регенеративными способностями, варьирующими от восстановления утраченных фрагментов тканей до регенерации всего тела из диссоциированных клеток. Изучение репаративной регенерации показало, что у разных таксонов она обеспечивается различными клеточными механизмами: (1) за счет накопления плюрипотентных и дедифференцированных клеток и формирования бластемы или (2) за счет ремоделирования интактной ткани вблизи раны на основе эпителиальных морфогенезов. Первый тип характерен для представителей класса Demospongiae, второй — для Homoscleromorpha и Calcarea.

Мы объединили морфологические, цитологические, молекулярно-биологические (транскриптомный анализ, гибридизация *in situ*) и биоинформатические методы для изучения механизмов морфогенетических событий во время регенерации у нескольких видов губок из классов Homoscleromorpha, Demospongiae и Calcarea.

Установлено, что эпителиальный морфогенез, в основном распластывание и слияние эпителиальных пластов, является ключевым морфогенетическим процессом при репаративной регенерации Homoscleromorpha и Calcarea, тогда как мезенхимный морфогенез путем мезенхимо-эпителиальных преобразований является основным механизмом при регенерации Demospongiae. Ни пролиферация клеток, ни апоптоз не имеют большого значения в регенерации независимо от ее типа. Трансдифференцировка клеток играет важнейшую роль в регенерации всех губок, независимо от их филогенетического положения, анатомии и типа водоносной системы.

С помощью транскриптомного анализа мы обнаружили, что среди молекул, меняющих свою экспрессию как сразу после повреждения, так и при восстановлении паттерна, имеется большое количество транскрипционных факторов и участников сигнальных каскадов, в частности пути Wnt. Используя гибридизацию *in situ*, мы показали, что Wnt и TGF-бета изменяют свою экспрессию на разных стадиях регенерации. Эти наблюдения подтверждает, что данные сигнальные пути участвуют в

формировании паттерна тела губки во время его восстановления после повреждения или восстановления из диссоциированных клеток. В целом мы показываем, что несмотря на простоту организации губок, регенерация у них включает множество разнообразных механизмов, используемых при аналогичных процессах у других животных, и подчеркиваем особую важность трансдифференцировки.

Работа поддержана грантами Президента РФ МК-1096. 2021. 1. 4 и грантом РФФИ №22-74-00042 (в части биоинформатического анализа).

Профессор Л. В. Белоусов и рождение морфомеханики

А.С. Ермаков*^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *asermakov1971@gmail.com*

Открытие феномена эмбриональных регуляций в конце XIX века заставило биологов взглянуть на живые организмы как на развивающиеся системы, обладающие целостностью и устойчивостью даже к очень серьезным нарушениям. Александр Гаврилович Гурвич, автор идеи морфогенетического поля, был одним из наиболее глубоких и последовательных исследователей первой половины XX века, пытавшихся понять механизмы интегральности развития живых систем. У Гурвича была нелегкая судьба. В конце жизни, после 1948 года, Александр Гаврилович попал в опалу, и уже не занимал никаких официальных постов в науке. Он работал в домашней лаборатории и организовывал семинары. Одним из его учеников был внук Лев Владимирович Белоусов (сын дочери Натальи Александровны Гурвич).

Большинство современных биологов придерживаются концепции генетического детерминизма, согласно которой форма живого организма закодирована в информационных молекулах, а индивидуальное развитие – лишь считывание этой закодированной информации. Наиболее четкого выражения этой взгляд достигает в Теории Позиционной Информации Льюиса Вольперта, выдвинутой в 1960-х. Согласно Вольперту, морфология организма в ходе развития определяется градиентами сигнальных молекул. В 1970-е годы в США и в СССР независимо друг от друга возникают научные школы, рассматривающие участие механических сил и напряжений в обеспечении целостности живых организмов.

В первой половине 1970-х Львом Владимировичем Белоусовым и его учениками (в первую очередь – Я. Дорфманом и В. Г. Черданцевым) было открыто, что ткани зародыши амфибий находятся под влиянием механических напряжений. Более того, паттерны напряжений характерны для определенных стадий и сменяют друг друга в ходе развития. Так произошло рождение Московской Школы Морфомеханики, нового научного направления, сделавшего упор на изучения механических аспектов интегральности биологических систем. В начале 1980-х профессор Л. В. Белоусов и его ученики активно сотрудничают с физиком-теоретиком Борисом Николаевичем Белинцевым, что позволяет построить математические модели, рассматривающие механические напряжения как участники механизмов интеграции раннего развития амфибий. Эти теоретические модели, в свою очередь, стимулируют новые эксперименты.

Лев Владимирович Белоусов руководил исследованиями в рамках морфомеханики несколько десятилетий, в буквальном смысле до последнего дня своей жизни. Сочетание математического моделирования, глубокого теоретического переосмысления феномена формы и микрохирургических экспериментов на эмбрионах позвоночных приводит к пониманию важнейшей роли механических напряжений как факторов «глобального контроля», организующих формообразование, клеточные движения и дифференцировки в ходе развития живых организмов.

Молекулярные подходы к исследованию овариального резерва при синдроме раннего истощения яичников

Ю.Э. Ерюкова*¹, Д.А. Никишин^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *eruckova.julia@yandex.ru*

Синдром раннего истощения яичников – это серьезное медицинское состояние, при котором пул примордиальных фолликулов в яичнике значительно уменьшается. Эта патология может возникнуть по различным причинам, в том числе из-за перенесенного ранее онкологического заболевания и процедуры химиотерапии. Важной задачей при исследовании синдрома преждевременного истощения яичника на мышиных и других моделях является точная количественная оценка состояния овариального пула. Работа направлена на разработку эффективного молекулярного подхода к оценке овариального резерва, которая могла бы составить альтернативу классическому морфологическому исследованию с применением серийных гистологических срезов.

Для решения задачи был поставлен фармакологический эксперимент на мышах *Mus musculus* (n=30) с использованием препарата циклофосфамид (ЦФА). Сформированы следующие экспериментальные группы: 1) введение физиологического раствора в контрольной группе; 2) однократное введение 10 мкл 80 мг/мкл ЦФА и 3) введение 10 мкл 80 мг/мкл ЦФА и далее каждые три дня 10 мкл 30 мг/мкл ЦФА в течение трех недель. По окончании эксперимента проведены фиксации яичников каждой мыши на морфологическое и молекулярно-генетическое исследование и сбор крови для оценки содержания эстрадиола. В результате количественного исследования экспрессии генов-маркеров овариального резерва выявлено его достоверное снижение в экспериментальных группах. В частности, относительные уровни экспрессии мРНК как гена компонента блестящей оболочки *Zp3*, так и маркера половой линии *Ddx4* снижаются при воздействии ЦФА в 3 и в 2 раза, соответственно. При сопоставлении классического морфометрического подхода с оригинальным методом флуоресцентного окрашивания тонких срезов яичника с последующей ПЦР в реальном времени, подобран оптимальный протокол для точного и воспроизводимого анализа овариального резерва, заключающийся в измерении экспрессии гена *Zp3* с нормировкой на внутренний стандарт (ген *TBP*) и внешний стандарт (синтезированная *in vitro* РНК рекомбинантного GFP). Разработанный подход будет применен для анализа эффективности модели синдрома преждевременного истощения яичника, а также исследования механизмов развития и подходов к компенсации данной патологии.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-74-10009.

Развитие идеи Н.К. Кольцова о структуре междисков политенных хромосом *Drosophila*

И.Ф. Жимулёв*¹, Т.Ю. Зыкова¹, В.Г. Левицкий², А.В. Цуканов²

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия;

² Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

* *zhimulev@mcb.nsc.ru*

Н.К. Кольцов (*Science*, v. 60, #2075, 313, 1934) предположил, что гены находятся в междисках политенных хромосом, после чего генетическая организация политенных хромосом была в центре внимания многих поколений генетиков. Мы предложили ряд методов, позволяющих привязать цитологические структуры политенных хромосом к физической карте ДНК. В наших исследованиях развития идеи Н.К. Кольцова мы показали, что в междисках расположена только промоторная область генов «домашнего хозяйства», а тело гена (интроны и экзоны) расположено в соседнем сером диске.

Гены, которые активны только на определенных этапах онтогенеза и в отдельных тканях, расположены в крупных черных дисках, состоящих из суперконденсированного материала.

В данной работе приведены результаты полногеномного анализа промоторов *Drosophila melanogaster*. С помощью биоинформатических методов показано, что гены, промоторы которых расположены в междисках, обогащены функциями, связанными с общеклеточными процессами, тогда как остальная часть генов (примерно половина генома *Drosophila*) связана с узкоспециализированными процессами.

Нами было обнаружено четыре мотива, строго специфичных для промоторов генов междисков. Оказалось, что существенная часть междисковых промоторов не содержит таких стабильных мотивов. Gene Ontology анализ показал, что для отдельных групп междисковых генов, содержащих в промоторах данные мотивы или их комбинации, характерны определенные, неперекрывающиеся функции.

Также мы обнаружили специфические мотивы для промоторов генов, расположенных в черных дисках.

Работа поддержана грантом РФФ 19-14-00051-П.

Функциональная направленность таксон-специфичного гена *lawc*, возникшего *de novo* в ходе эволюции видов группы *melanogaster*

Е.Л. Заволока*¹, Ю.Е. Воронцова¹, Р.О. Черезов¹, О.Б. Симонова¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *workerbh000@gmail.com*

Происхождение полностью функционального гена *de novo* из некодирующей ДНК считалось невероятным, пока биоинформационный анализ геномов не показал, что около 12% среди новых (по сравнению с их эволюционными предками) генов дрозофилы могли возникнуть *de novo*. Похожие процессы происходят и в геноме человека. Для этих генов характерны: короткая открытая рамка считывания; перекрытие с другими генами; таксон-специфичность. Главной проблемой доказательства гипотезы о возникновении генов *de novo* является подтверждение функциональности кодируемых ими коротких белков.

У *D. melanogaster* ген *Trf2* кодирует фактор базовой транскрипции и перекрывается с уникальным таксон-специфичным геном *leg-arista-wing complex (lawc)*, не имеющим гомологов за пределами группы *melanogaster*. По нашим данным, *lawc* имеет короткую открытую рамку считывания (219 п.н.) и возник *de novo* примерно 30 млн лет назад. Функция *Trf2* хорошо известна, однако, функция *lawc* оставалась неизученной.

Мы поставили следующие задачи: оценить фенотипические нарушения, вызванные подавлением экспрессии гена *lawc* в экспериментах *in vivo* по истощению его мРНК по пути РНК-интерференции (РНК-и) в разных тканях дрозофилы (нокдаун гена); создать трансгенную конструкцию для эктопической экспрессии белка Lawc и поставить эксперимент по "спасению" фенотипа предполагаемых *lawc*-мутантов. Для нокдауна гена *lawc* была создана линия трансгенных мух, экспрессирующих РНК-шпильки, комплементарные транскриптам *lawc*. Мы оценили фенотипические нарушения, вызванные нокдауном *lawc*, и показали, что он важен для развития репродуктивной системы самок. Подавление *lawc*-транскриптов в соматических фолликулярных клетках привело к стерильности самок и уникальному фенотипу – отсутствию формирования яйцевых камер (фолликулов). Таким образом, мы показали, что ген *lawc* обладает специфической функцией в организме, связанной с самовоспроизведением стволовых фолликулярных клеток в яичниках. Более того, оказалось, что нарушения, вызванные нокдауном *lawc*, сходны с фенотипом стерильных мутантов *lawc^{u3}*, полученных нами ранее в результате перестроек района гена. Для доказательства специфичности выявленных нарушений мы создали векторную конструкцию для оверэкспрессии белка Lawc и поставили rescue-эксперименты по «спасению» фенотипа стерильных самок *lawc^{u3}*. Оказалось, что индукция Lawc в фолликулярных тканях яичника самок *lawc^{u3}* восстанавливает формирование их фолликулярного слоя,

яйцевых камер и даже яиц. Результаты наших экспериментов показали, что ген *lawc* возник *de novo* и приобрёл свою функцию, возможно, независимую от гена *Trf2*, с которым он перекрывается, поскольку подавление экспрессии *Trf2* в фолликулярных клетках не приводит к подобным аномалиям. Тем не менее, окончательный вывод можно сделать только после аналогичных экспериментов по спасению фенотипа самок *lawc^{u3}* на фоне дополнительной экспрессии TRF2. Изучение генов, возникших *de novo*, важно для понимания их биологического вклада в видообразование. Такие исследования также расширяют наши представления об эволюции генома и функциональной направленности генов, возникших *de novo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 20-04-00272а) и в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2022 года № 0088-2021-0007 «Молекулярно-генетические механизмы регуляции клеточной дифференцировки и морфогенеза». Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им Н. К. Кольцова РАН.

Эволюционные и онтогенетические закономерности становления и развития катехоламинергических систем у представителей гастропод

О.В. Зайцева*^{1,2}, А. Шумеев¹, Е.Е. Воронежская³

¹ Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия;

³ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *ovzaitseva@inbox.ru*

Нейроны, синтезирующие биогенные амины - катехоламины (КА) и серотонин, являются важной составляющей периферической и центральной нервной систем всех исследованных к настоящему времени животных и человека. У позвоночных КА и 5-HT системы осуществляют регуляцию нейроэндокринных, репродуктивных, пищеварительных и поведенческих функций. Для понимания общих закономерностей и особенностей организации, а также развития этих систем в ходе эволюции и онтогенеза животных и человека важны данные по представителям всех основных групп животных. В работе проводится анализ и обобщение данных по становлению и дифференцировки катехоламинергических (КАе) систем в ходе индивидуального и исторического развития представителей разных филогенетических групп гастропод, многие из которых стали модельными объектами нейробиологии. КА выявляли гистохимическим методом GIF с использованием глиоксильной кислоты. Анализ и фотографирование препаратов проводили с помощью конфокального микроскопа Leica TCS SP5 ЦКП «Таксон» Зоологического института РАН (www.ckr-rf.ru/ckp/3038). В работе частично использован фиксированный материал и приготовленные из него препараты животных из коллекций Зоологического института РАН (УФК ЗИН РАН). При обобщении данных использованы также собственные данные, полученные с помощью импрегнации серебром по Гольджи-Коланье, электронной микроскопии и гистохимического выявления актиновых волокон фаллоидином.

Катехоламины рано появляются в онтогенезе моллюсков, уже на первых стадиях дробления и, по всей видимости, играют важную роль в морфогенезе еще в донервной стадии развития эмбриона. КА обнаруживаются в бластомерах, находящихся в области формирующегося бластопора. Часть катехоламинов локализуется в будущих мерцательных ресничных клетках и исчезает после развития ресничек, что может свидетельствовать об их участии в формировании последних. Анализ распределения КАе клеток и иннервации ими различных частей тела и органов у ювенильных и взрослых животных позволяет предположить, что КАе системы участвуют в регуляции механосенсорных функций, пищеварения, локомоции и других двигательных актов, в работе эндокриноподобных желез, в осуществлении центральных интегративных функций, а также, возможно, в регуляции защитно-оборонительного поведения. Полученные данные согласуются с локализацией и предполагаемой ролью КАе систем у других беспозвоночных (немуртин, мшанок и аннелид), что подтверждает раннее появление этих систем в ходе эволюции и универсальность основных принципов их организации и функции.

Работа выполнена по госзаданию Зоологического института РАН № 122031100281-5.

**Пренатальный стресс репрограммирует механизмы регуляции развития
нейроэндокринной и иммунной систем**

Л.А. Захарова*¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *l-a-zakharova@mail.ru*

Регуляция становления различных функций организма млекопитающих осуществляется единой сложной суперсистемой, включающей нейроэндокринную, иммунную и репродуктивную системы. Они оказывают взаиморегуляторное влияние на протяжении всего периода жизни, начиная с эмбрионального, в условиях постоянно меняющегося воздействия факторов внешней и внутренней среды. Реализация регуляторных функций этих систем осуществляется продуцируемыми ими нейро- и иммуномедиаторами, в частности цитокинами, а также половыми стероидами. В перинатальный период развития нейrogормоны программируют развитие иммунокомпетентных органов и становление функций иммунной системы. В этот период реализуются эпигенетические механизмы, обеспечивающие адаптационную пластичность иммунной системы. У взрослых особей гормоны и нейромедиаторы, наряду со своими специфическими функциями, участвуют в регуляции иммунного ответа. Воздействия стрессогенных стимулов в критические периоды онтогенеза нарушают программирование регуляторных механизмов развития этих систем, в результате увеличивается риск возникновения различных патологических состояний у потомства. Изменения физиологических концентраций сигнальных молекул в раннем онтогенезе вызывают длительно текущие или необратимые нарушения в развитии систем, тогда как у половозрелых особей это приводит к кратковременным нарушениям их функций. Дефицит нейромедиаторов или гормонов у плода таких, как серотонин, дофамин, гонадотропин-рилизинг-гормон, приводит к нарушениям развития тимуса, а в дальнейшем – к нарушениям функций Т-клеточного звена иммунитета. Значимым фактором риска, программирующим развитие и функционирование нейроэндокринной и иммунной систем, являются инфекционные агенты, вызывающие воспаление как в организме родителей, так и плода. Активация иммунной системы матери на ранних сроках беременности запускает каскад интермедиаторов, среди которых выделяют провоспалительные цитокины, вызывающие нарушения формирования не только иммунной, но и нейроэндокринной и репродуктивной систем. Их повышенное содержание приводит к преждевременным родам, нарушениям развития различных структур мозга, полового созревания, поведенческих реакций. Нарушения развития мозга увеличивают риск возникновения таких заболеваний, как шизофрения, депрессия, аутизм, болезнь Паркинсона. Происходящие в мозге изменения могут приводить также к нарушениям развития гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, снижению репродуктивной способности или бесплодию у половозрелого потомства. Однако процессы становления этих систем не строго детерминированы генетически. Они характеризуются функциональной лабильностью и чувствительностью ко многим регуляторным факторам, что открывает возможности коррекции нарушений процессов развития.

**Исследование нативно-неупорядоченных нейрональных белков *BASP1* и *GAP-43* в ооцитах
и ранних эмбрионах мыши**

Ф.М. Захарова*^{1,2}, В.В. Захаров^{3,4,5}

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

³ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ "Курчатовский институт",
Гатчина, Россия;

⁴ Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург, Россия ;

⁵ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

* *fzakharova@mail.ru*

Два близких по своим свойствам нативно-неупорядоченных белка BASP1 и GAP-43 в большом количестве экспрессируются в нейронах и участвуют в навигации конусов роста аксонов и синаптической пластичности. Недавно мы обнаружили эти белки в ооцитах мыши и предположили, что они участвуют в кальций- и фосфоинозитид-зависимых сигнальных путях при развитии и оплодотворении ооцита. В нейронах BASP1 и GAP-43 локализованы преимущественно на периферии клетки, в частности, связаны с плазматической мембраной. Однако в ооцитах (на стадии MII) и в бластомерах ранних эмбрионов мыши внутриклеточная локализация этих белков отлична от наблюдаемой в нейронах. Белок BASP1 был обнаружен в примембранной области, а также в цитоплазме, ядрах бластомеров и пронуклеусах зигот. На плазматической мембране и в ядрах белок BASP1 колокализован с фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфатом. Белок GAP-43 в ооцитах и ранних эмбрионах демонстрирует исключительно немембранную локализацию. Он обнаруживается в тубулиновых структурах ооцитов на стадии MII – веретене деления и центрах организации микротрубочек (ЦОМТ), также он связан с конденсированными хромосомами во время мейоза и митоза, присутствует в ядрах бластомеров ранних эмбрионов. GAP-43, фосфорилированный по остатку Ser41 протеинкиназой C, был обнаружен в ЦОМТ и ядрах. Используя различные моноклональные антитела, мы обнаружили несколько внутриклеточных пулов белка GAP-43, вероятно имеющих различные посттрансляционные модификации. Отсутствие мембранной локализации GAP-43 может быть объяснено отсутствием остатков Cys3 и Cys4, пальмитоилирование которых обеспечивает транспорт белка к плазматической мембране. Мы предполагаем, что в ооцитах и ранних эмбрионах образуется укороченная форма GAP-43 (ранее описанная в мозге и получившая название GAP-43-2), лишенная четырех N-концевых остатков, которая может образовываться вследствие инициации трансляции с альтернативного стартового кодона Met5. Сверхэкспрессия флуоресцентно меченных BASP1 и GAP-43 в ранних эмбрионах мыши (после микроинъекции соответствующих плазмид в цитоплазму зиготы) вызывает декомпактизацию эмбрионов вследствие нарушения адгезии бластомеров. Образующиеся при этом с плазмид полноразмерные (нейрональные) формы этих белков локализованы на плазматической мембране бластомеров. Полученные данные позволяют предположить, что образование цитоплазматической и ядерной форм белка GAP-43 связано с образованием специфического мРНК-транскрипта и его альтернативной трансляцией.

Особенности метилирования гистона H3K4 через 1 час после трехкратного и однократного обучения в клетках Кенъона мозга медоносной пчелы

Т.Г. Зачепило*¹, Н.Г. Лопатина¹

¹ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

* polosataya2@mail.ru

Формирование долговременной памяти в процессе обучения сопровождается изменением транскрипционного состояния генов, которое происходит в результате эпигенетических модификаций, представляющих собой присоединение или удаление определённых химических групп к молекуле ДНК или к гистонам без изменения последовательности нуклеотидов в цепи ДНК. Ранее мы показали (Швецов и др. , 2013; Зачепило, Лопатина, 2020), что трехкратное обучение в модели условнорефлекторного вытягивания хоботка (Proboscis extension reflex - PER) приводит к повышению уровня метилирования гистона H3K4 в нейронах калликсов грибовидных тел (клетки Кенъона) мозга медоносной пчелы. В данном исследовании мы сравнивали уровень метилирования гистона H3K4 (H3K4me1) через 1 час после трехкратного и однократного обучения.

Было показано, что и трех-, и однократное обучение вызывает повышение метилирования гистона H3 в ядрах внутренних клеток Кенъона грибовидных тел медоносных пчёл. Уровень H3K4me1 больше возрастает при трехкратном обучении, чем при однократном, и протекает сильнее в левых калликсах. Полученные данные могут указывать на активацию транскрипции при формировании памяти.

Продукты генов «домашнего хозяйства» участвуют в формировании черных дисков политенных хромосом *Drosophila*

Т.Ю. Зыкова*¹, М.В. Мальцева¹, Г.В. Похолкова¹, Ю.А. Веряскина^{1,2}, О.И. Лаврик³, И.Ф. Жимулёв¹

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия;

² Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

* *vatolina@mcb.nsc.ru*

В политенных хромосомах *Drosophila*, как было показано на картах Н.К. Кольцова (1934) и Бриджиса (1935-1938), выделяются такие структуры, как междиски, серые и черные диски.

Известно, у *Drosophila melanogaster* геном разделяется на две группы: гены «домашнего хозяйства» и гены развития. Оказалось, что первые занимают две структуры – междиск и серый диск, а вторые расположены в черных дисках.

Ранее был охарактеризован ген RCC1 (Regulator of Chromosome Condensation 1), который считается регулятором конденсации хромосом в клеточном цикле. Этот ген кодирует ядерный белок, последовательность аминокислот которого высоко консервативна среди всех эукариот и состоит из семи бета-спиралей, также известных как семь повторяющихся единиц. Мы показали, что около 200 черных дисков политенных хромосом и хромоцентр связывают антитела на этот белок. Как оказалось, во время активации генов, локализованных в черных дисках (формирования пухов), материал черных дисков декомпактизуется и одновременно с этим белок RCC1 покидает этот район.

Мы охарактеризовали 18 белков, включая RCC1, которые локализованы в черных дисках и показали, что промоторы структурных генов, кодирующих эти белки расположены в междисках, а тело генов в подавляющем большинстве случаев расположено в серых дисках. Таким образом, эти гены характеризуются как гены «домашнего хозяйства». При этом белковые продукты данных генов участвуют в организации компактного хроматина черных дисков, хромоцентра и теломер.

Работа поддержана грантом РФФИ 19-14-00051-П.

Принцип морфогенетического гипервосстановления как динамическое расширение принципа устойчивого неравновесия

А.У. Игамбердиев*¹

¹ Мемориальный университет Ньюфаундленда, Сент-Джонс, Канада

* *igamberdiev@mun.ca*

В 1935 г. Эрвин Бауэр сформулировал основной принцип организации живой материи, который он определил как принцип устойчивого неравновесия. Гомеостатическое устойчивое неравновесие реализуется внутри биологической системы путем выбора траекторий сохранения стабильных конфигураций метаболизма при изменяющихся внешних условиях. Устойчивое неравновесие поддерживается динамической структурой метаболизма, состоящей из метаболических циклов, петель обратной связи и закономерностей прямой связи. В развивающихся и эволюционирующих системах принцип устойчивого неравновесия трансформируется в закон возрастания внешней работы, основанный на принципе гипервосстановления, или гипервосстановительного неравновесия. В основе данного принципа, сформулированного Львом Владимировичем Белоусовым, лежит гипервосстановительный процесс при конформационной релаксации биологических макромолекул и их комплексов, который добавляет дополнительную энергию в систему и управляет усложнением ее организации. В данном процессе происходит активное формообразование, соответствующее

трансформации системы координат пространства биологической системы. Процесс усложнения морфологической организации происходит на уровне цитоскелета, который представляет собой макроскопическую ферментативную систему и может генерировать волны дифференцировки, распространяющиеся между клетками. Этот процесс связан с функцией цитоскелета по передаче сигналов и генерации импульсов. Разным типам волн при морфогенезе соответствуют разные диапазоны длин волн излучения – от биофотонного излучения при различных типах клеточной коммуникации до гиперзвуковых волн при передаче нервных импульсов. Делается вывод, что в основе морфогенеза лежит гипертоническое неравновесие, поддерживаемое функциональной структурой цитоскелета. Рассматривается значение принципа гипертонического восстановления, сформулированного Л. В. Белоусовым, для дальнейшего развития эмбриологии и эволюционной биологии.

Автор благодарен Р. Гордону и В. Г. Черданцеву за конструктивное обсуждение проблем морфогенеза. Данная работа является результатом общения автора с профессором Л. В. Белоусовым на протяжении многих лет.

От морфогенетических полей к молекулярным организаторам осевого плана строения и роста Metazoa

В.В. Исаева*^{1,2}

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия;

² Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток, Россия

* vv_isaeva@mail.ru

Теоретические представления об интегральных и факторах, контролирующих целостность, регулятивные способности и план строения развивающегося организма, были разработаны в XX веке как холистические концепции морфогенетических полей, организаторов, морфогенов и позиционной информации.

Л. В. Белоусов после окончания аспирантуры и незадолго до защиты кандидатской диссертации о морфогенезе гидроидных полипов выступил на Третьем Всесоюзном совещании эмбриологов с докладом о морфогенетических полях. Это было в 1960 году, вскоре после открытия Уотсоном и Криком генетического кода ДНК, в период доминирования геноцентризма – и критика доклада была сокрушительной. Но Лев Владимирович продолжал экспериментальный и теоретический поиск интегральных аспектов развития, исследуя преобразования симметрии, роль самоорганизации биологических систем, развивая новую междисциплинарную область исследований механозависимости морфогенеза и занимаясь построением новых моделей формообразования вместе с учениками и коллегами. При этом он читал лекции, писал учебники, книги и множество журнальных публикаций – его работы хорошо цитируются.

Тем временем ландшафт современной эволюционной биологии развития существенно преобразился. Умозрительные концепции интегральной регуляции раннего развития ныне блестяще подтверждены открытиями молекулярного контроля плана строения Metazoa; осуществлен перевод этих возрожденных теоретических представлений на молекулярно-генетический язык. Показано, что организатор Шпеманна и подобные ему организационные центры стадии гастрюлы функционируют как источник диффундирующих молекул сигнальных путей Wnt, BMP, Nodal, функционирующих как морфогены-организаторы плана строения, создающие систему позиционной информации, пространственная анизотропия которой транслируется в морфологические различия развивающегося организма. Формирование организационного центра канонической сигнализации Wnt, определяющего ориентацию первичной оси и локализацию гастрюляции у изученных представителей губок, кишечнополостных и билатеральных животных, свидетельствует о консерватизме этого анцестрального сигнального пути. У Bilateria позиционная информация вдоль переднезадней оси раннего зародыша специфицируется машинерией временной и пространственной экспрессии генов Hox-кластера, инициируемой сигнализацией Wnt и детерминирующей в координации с геном *cdx/caudal* (ParaHox) осевой план строения и роста организма.

Возрастает объем экспериментальных данных о морфогенетической роли механического стресса, механосенсорики, механотрансдукции и механозависимой регуляции экспрессии некоторых генов, определяющих ранний эмбриогенез. Выявлена механозависимая активация компонентов каскада сигнального пути Wnt, регулирующего становление переднезадней оси, инициацию гастрюляции и образования мезодермы. Таким образом, становление осевой симметрии плана строения сопряжено с векторизацией роста и его биомеханическим контролем у раннего зародыша, развивающегося в физическом мире.

Экспрессия генов полярности сегментов и роль Wnt-сигналинга в развитии первых постларвальных сегментов у *Alitta virens*

А.И. Кайров*¹, Р.П. Костюченко¹, В.В. Козин¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* *kayrov.tw@yandex.ru*

Членистоногие и аннелиды имеют яркий общий признак – сегментацию. Осталась ли она от общего предка или возникла конвергентным путем неясно. На молекулярном уровне наблюдаются как сходства, так и различия. Одним из путей разрешения этой проблемы является глубокое изучение и сравнение механизмов развития сегментации у этих двух групп животных.

В развитии с сегментацией связан процесс терминального роста. На молекулярном уровне в процессе терминального роста принимает участие Wnt-сигналинг. Показано, что изменения уровня сигналинга приводят к нарушениям в сегментации у насекомых с короткой зародышевой полоской (например, *Tribolium* sp). В этом аспекте аннелиды остаются недостаточно изученными.

Важнейшими регуляторами поздних этапов сегментации являются гены *wingless* (*wg/wnt1*) и *engrailed* (*en*). У насекомых показана их однозначная роль в определении границ сегментов, поэтому их можно считать «маркерами» сегментации. Гомологи этих генов были выявлены у различных представителей кольчатых червей. На нереидной полихете *Platynereis dumerilii* показана экспрессия этих генов в раннем личиночном развитии и во взрослом состоянии, однако характер экспрессии этих генов при переходе к ювенильной стадии (в момент начала функционирования зоны роста) неизвестен.

Целью данной работы является определение динамики экспрессии генов *wnt1* и *en* при формировании первого постларвального сегмента у нереидной полихеты *Alitta virens*, а также выявление роли Wnt-сигналинга в этом процессе. Для модуляции активности Wnt-сигналинга использовали ингибиторный анализ.

Было показано, что в ходе личиночного развития *en* экспрессируется в полосе клеток, маркирующих границу пигидия и третьего сегмента, однако затем возникает вторая полоса вплотную к первой на территории пигидия, обозначая границу будущего четвертого сегмента. Ген *wnt1* экспрессируется на заднем конце тела, предположительно маркируя сигнальный центр. При гиперактивации Wnt-сигналинга четвертый сегмент не формируется, но характерные домены экспрессии *wnt1* и *en* сохраняются. Однако под воздействием более высоких концентраций гиперактиватора происходит полное подавление экспрессии *wnt1* и *en*.

Полученные данные свидетельствуют о ключевой роли Wnt-сигналинга в процессе формирования постларвальных сегментов у *A. virens*. Наличие экспрессии *en* при модуляции не является достаточным условием для морфологического обособления сегментов, что схоже с результатами, полученными на насекомых с короткой зародышевой полоской. Однако паттерн экспрессии *en* в нормальном развитии говорит о том, что формированию молекулярных границ будущего сегмента не предшествует накопление клеточного материала, что резко контрастирует с картиной, известной у насекомых. Все это свидетельствует о наличии как схожих, так и отличающихся молекулярных компонентов механизма сегментации, что делает необходимыми дополнительные исследования для решения вопроса об её эволюционном происхождении.

Благодарим МБС СПбГУ за предоставленные возможности для работы.

Визуализация перестройки петлевых доменов хроматина в локусе 12q13.13, содержащем гены кератинов I и II типов, в ходе эпидермальной дифференцировки

Е.П. Калабушева*¹, А.С. Штомпель², О.С. Роговая¹, А.Л. Риппа¹, М.К. Сидорова², С.В. Разин²,
Е.А. Воротеляк¹, С.В. Ульянов²

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

* *kalabusheva.e@gmail.com*

Кератиноциты кожи человека в ходе эпидермальной дифференцировки переключают экспрессию пары кератинов 5/14 на 1/10. Гены кератинов, специализированных промежуточных филаментов эпителиальных клеток, в геноме сосредоточены в двух локусах на разных хромосомах. Кластеризация кератиновых генов предполагает наличие общих регуляторных последовательностей ДНК, контролирующей экспрессию генов внутри каждого локуса. Активация экспрессии конкретного гена сопряжена с формированием петлевого домена между его промотором и регуляторным элементом. Целью нашей работы было исследование трехмерной организации локуса 12q13.13, содержащего гены кератинов II типа, в том числе кератинов 1 и 5, на разных стадиях эпидермальной дифференцировки.

Методом обогащения фрагментов Hi-C библиотеки по протоколу C-TALE построили карту пространственных взаимодействий хроматина в локусе 12q13.13 для кератиноцитов базального слоя эпидермиса, положительных по кератину 5, и шиповатого слоя, экспрессирующих кератин 1. Анализ тепловых карт выявил, что значительная часть локуса изолирована в петлевой домен, формируемый участками LCR1и LCR2, которые обладают эпигенетическими маркерами энхансерных областей и зон контроля локуса. В базальных кератиноцитах промотор гена кератина 5 контактировал с обеими областями, в то время как в шиповатых кератиноцитах этот контакт исчезал, в то время как формировался между LCR1/2 и промотором гена кератина 1. Исследовали топологию локуса в клетках, не экспрессирующих кератины – дермальных фибробластах. На карте пространственных взаимодействий выявили только контакт между областями LCR1 и LCR2, но не с промоторами генов кератинов. В индуцированных плюрипотентных стволовых клетках мы обнаружили, что контакт между областями LCR1 и LCR2 не сформирован, частота взаимодействий между этими участками значительно ниже в сравнении с клетками с меньшим дифференцировочным потенциалом. Для проверки конденсации локуса при дифференцировке визуализировали его объем методом FISH, дополненным микроскопией высокого разрешения STED. Разрешение полученных микрофотографий позволило нам не только определить линейные размеры локуса, но и достоверно подтвердить деконденсированное состояние исследуемого участка ДНК в плюрипотентных клетках и наличие сформированной доменной структуры в зрелых эпидермальных кератиноцитах с активной экспрессией кератинов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00778.

Многообразие функций теломер в развитии и старении

А.И. Калмыкова*¹

¹ Институт молекулярной генетики НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия

* *allakalm@img.ras.ru*

Теломеры представляют собой нуклеопротеиновые структуры, защищающие концы линейных хромосом эукариот от деградации и слияния. Однако структурно-защитная роль теломер не является единственной. Теломерный гомеостаз чувствительно реагирует на внешние и внутренние стрессы, на генетические нарушения, сигнализируя такой аномальной клетке о необходимости прекратить деления. Нарушение стабильности теломер может быть пусковым механизмом клеточной гибели при ламинопатии и старении. Сигнальная функция теломер только начинает исследоваться и является новой интригующей областью теломерной биологии.

Работа поддержана грантом РФФ 22-14-00006

Участие нервной системы в регуляции ранних этапов регенерации у полихеты *Alitta virens*

В.В. Козин*¹, И.Е. Борисенко¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* *vitaly.kozin@mail.ru*

Интегрирующая роль нервной системы (НС) в физиологических и поведенческих реакциях хорошо изучена, однако в контексте развивающегося организма ее влияние на морфогенез и дифференцировку не менее важны, но все еще слабо изучены, особенно у беспозвоночных. Взаимная обусловленность формирования нервной системы и эффекторных органов дает ключ к пониманию сложнейших усовершенствований всего тела, органов и тканей в ходе эволюционных изменений. Интереснейшей организменной моделью с феноменальными способностями нервной системы контролировать позиционную информацию, тканевой гомеостаз, репродукцию и регенерацию являются аннелиды. В настоящее время нервная система аннелид придает не только трофическую и организующую функцию, но и важнейшее значение в создании осевого паттерна, контролирующего специфику морфогенеза. Несмотря на яркие экспериментальные доказательства необходимости НС для регенерации аннелид, конкретные механизмы ее влияния остаются загадкой. Цель настоящей работы – выявить специфические для поврежденной нервной системы регуляторные процессы, вовлеченные в ранние события регенерации сегментов у полихеты *Alitta virens*. Для этого у регенерирующих животных из отпрепарированной брюшной нервной цепочки (БНЦ) была выделена тотальная РНК и произведено секвенирование транскриптома на платформе Illumina. Статистический анализ данных показал наибольшие отличия транскриптомного профиля НС между образцами из интактных животных и через 4 часа после ампутации. К этому моменту наиболее отличающимися по уровню экспрессии оказались гены, связанные с иммунным ответом и катаболизмом. Через 1 день после ампутации (дпа) в НС были гиперэкспрессированы регуляторы транскрипции, пролиферации и миграции, в т. ч. компоненты сигнальных путей BMP и ростовых факторов. К 3 дпа транскриптом НС был обогащен генами, регулирующими цитотонию, клеточный цикл, межклеточную адгезию и морфогенез. Полученные результаты точно соответствуют тканевым событиям, наблюдаемым в первые дни регенерации *A. virens*. Поскольку во время регенерации *A. virens* в БНЦ не происходит существенных структурных перестроек, динамика транскриптома указывает на первостепенное значение НС в заживлении раны, индукции клеточных источников и регуляции восстановительных морфогенезов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ №21-74-00055 на базе УНБ «Беломорская», РЦ РМИКТ и РЦ ММ СПбГУ.

Аннелиды как объекты EvoDevo

В.В. Козин*¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* *vitaly.kozin@mail.ru*

Несмотря на чрезвычайно консервативный паттерн спирального дробления, аннелиды демонстрируют колоссальное разнообразие планов строения. Многих представителей этого типа ранее даже выделяли в самостоятельные таксоны высокого ранга. И действительно, признать эхиур (лишенных сегментации), сипункулид (обладающих петлеобразным кишечником) и погонофор (утративших пищеварительную систему) всего лишь семействами в составе Annelida оказалось непросто. Тем не менее, современная филогения существенно изменила постановку вопроса об эволюции аннелид, лабильности их программ раннего развития и жизненного цикла. Как же решается этот парадокс превращения удивительно похожих зародышей в животных с неповторимыми чертами строения, физиологии и образа жизни? Скрупулёзное изучение биологии развития аннелид охватывает сейчас все больший спектр объектов и методов, призванных дополнить сравнительно-эмбриологический анализ экспериментальными и молекулярно-генетическими данными. В ходе этого

научного поиска были получены принципиально важные сведения о молекулярных и биофизических основах спиральной симметрии дробления, о природе индуктивных сигналов в раннем развитии, об эволюции клеточных типов и жизненных циклов. В докладе будет освещен обозначенный круг проблем с акцентом на уникальные феномены в развитии аннелид, делающих их незаменимыми модельными объектами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №21-74-00055.

Микроглия спинного мозга крысы на разных этапах онтогенеза

Е.А. Колос*¹, Д.Э. Коржевский¹

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

* *koloselena1984@yandex.ru*

Микроглия (МГ) животных и человека в настоящее время активно исследуется в связи с большим разнообразием выполняемых ею функций. Известно, что в физиологических условиях микроглиоциты присутствуют в ЦНС в неактивированной форме и обладают тонкими разветвленными отростками (рамыфицированная МГ). В ответ на повреждение и изменение гомеостаза нервной ткани МГ вступает в процесс активации. Такие микроглиоциты фенотипически и морфологически отличаются от рамыфицированной МГ, увеличиваются размеры тел клеток, утолщаются и укорачиваются их отростки. Поскольку на разных этапах онтогенеза функции МГ меняются (с возрастом наблюдается снижение способности МГ к хемотаксису, фагоцитозу и контролю гомеостаза, отмечена поляризация в сторону провоспалительного фенотипа), предполагается, что микроглиоциты в раннем и позднем онтогенезе имеют существенные отличия. В настоящем исследовании проведена оценка распределения и морфологических изменений микроглиоцитов шейного отдела спинного мозга (СМ) крыс на разных этапах онтогенеза. Исследование выполнено на эмбрионах крыс Вистар 11-20 сут развития (E11-E20) (n=40), новорожденных (P1) (n=5), взрослых (4 мес) (n=5) и стареющих (18 мес) (n=5) крысах-самцах. Для идентификации клеток микроглии использовали поликлональные козы анти тела к кальций-связывающему белку Iba-1. Показано, что первые Iba-1+клетки обнаруживаются в дорсальной части СМ на E12. В вентральной области единичные микроглиоциты появляются на E14. На E15 наибольшая плотность микроглиальных клеток отмечена в двух зонах: в формирующемся сером веществе вентральной части СМ и в области входа заднего корешка. Показано, что на ранних сроках эмбриогенеза (E12-E17) Iba-1+клетки имеют гипертрофированную форму и лишены длинных отростков. Лишь на поздних сроках эмбриогенеза (после E18) и в раннем постнатальном периоде в СМ появляются первые микроглиоциты, обладающие морфологическими признаками рамыфицированной МГ. Можно предположить, что такие морфологические изменения связаны с переходом клеток от высокой мобильности в раннем эмбриональном периоде к стационарному состоянию с преобладанием контролирующих функций на поздних сроках эмбриогенеза. Сравнительное исследование МГ в спинном мозге взрослых (4 мес) и стареющих (18 мес) животных позволило выявить региональные различия реакции микроглиоцитов на старение. Установлено, что реактивные изменения микроглиоцитов у стареющих крыс более выражены в белом, а не в сером веществе, где преобладают рамыфицированные клетки. В белом веществе СМ (в области вентрального и дорсального канатиков) Iba-1+ клетки обладают гипертрофированным или амебоидным клеточным телом с короткими толстыми отростками. В настоящей работе в белом веществе СМ стареющих животных впервые обнаружены не описанные ранее скопления амебоидных микроглиоцитов (клеточные агрегаты), предположительно участвующих в процессах де- и ремиелинизации нервных волокон.

Развитие пищеварительной системы в эмбриогенезе *Stenodus leucichthys nelma*

Е.А. Кондакова*^{1,2}, В.А. Богданова²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

² Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

* 23eak@mail.ru

Для сиговых рыб характерен продолжительный эмбриогенез в осенне-зимний период и вылупление на продвинутых стадиях развития. В отличие от большинства Teleostei, включая модельные объекты, у *Stenodus leucichthys nelma* на момент вылупления открыты рот и анус, пищеварительный тракт подразделен на отделы, имеются печень с липидными включениями в клетках и поджелудочная железа с минимум двумя островками Лангерганса, а также зачаток плавательного пузыря. Целью этой работы была характеристика развития пищеварительной системы нельмы на средних и поздних эмбриональных стадиях.

Материал был получен на рыбноводном хозяйстве «Форват» в Ленинградской области в 2016-2017 и 2017-2018 гг. Нерест проходил при температуре 5,4-5,7 °С. Икру инкубировали в аппаратах Вейса при естественном температурном режиме. Преобладающая температура в процессе инкубации составляла 0,2 °С. Однако на начальных этапах развития икры снижение температуры воды до 0,2 °С в 2017 г прошло в конце, тогда как в 2016 г. – в начале декабря. Материал фиксировали жидкостью Буэна. Серийные парафиновые срезы окрашивали гематоксилином Карацци и эозином. Было исследовано не менее 3 зародышей на стадию.

Желточный комплекс имеет сложную динамичную организацию; распределенные в желтке жировые капли в ходе развития сливаются в одну крупную и 1-3 меньшего размера.

На стадиях сегментации можно видеть широкий зачаток глотки и пищевода. В возрасте 40 сут. п/о (возраст указан для материала 2017-2018 гг) в зачатке пищевода образуется просвет. На 92 сут. п/о видны мышцы пищевода. К этому же возрасту появляются зачатки нижних глоточных зубов, к 92-101 сут. п/о - зачатки верхних глоточных зубов. В ходе развития эпителий ротовой полости становится плоским, однослойным. Слизистые клетки в пищеводе появляются к 111 сут. п/о, в ротоглоточной полости – к 123 сут. п/о.

На стадиях сегментации при рассмотрении в направлении спереди назад клетки зачатка кишки располагаются радиально, затем такое расположение клеток становится менее выраженным. Просвет начинает формироваться в средней части зачатка кишки. В возрасте 40 сут. п/о кишка представляет собой трубку; ее эпителий простой, столбчатый. Между роstralной и кишечной энтодермой просвет прерывается; дифференциация на отделы выражена слабо. К возрасту 92 сут. п/о становятся различимы невысокие складки кишечного эпителия. В ходе развития складки кишечного эпителия становятся глубже. Немногочисленные бокаловидные клетки появляются незадолго до вылупления.

Морфологически зачатки печени и поджелудочной железы различимы к 40 сут. п/о. К 50 сут. п/о в формирующейся поджелудочной железе имеются экзокринная и эндокринная части. К 92 сут. п/о в печени хорошо видны кровеносные сосуды. На 111 сут. п/о в клетках печени становятся различимы липидные включения. К 150 сут. п/о печень из-за большого количества липидов выглядит «ажурной».

Зачаток плавательного пузыря становится различим к 150 сут. п/о.

Работа выполнена в рамках проекта «ProjectKS 4058 - ARCTAQUA». Авторы благодарят РЦ РМИКТ СПбГУ.

Актин-связывающие белки в развитии злокачественных опухолей в сравнении с ранним онтогенезом

И.В. Кондакова*¹, Е.Е. Середа¹, Г.В. Какурина¹, Е.А. Сиденко¹

¹ Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия

* *kondakova@oncology.tomsk.ru*

Анализ литературных данных по механизмам раннего онтогенеза навел на мысль о подобном исследовании в онкогенезе. В последние годы растет понимание того, что молекулярные процессы раннего онтогенеза млекопитающих также вовлечены в онкогенез некоторых органов. Эпителиально-мезенхимальный и мезенхимально-эпителиальные переходы играют значительную роль в эмбриогенезе, морфогенезе и регенерации. Ранее было показано, что по мере развития печени крыс содержание мезенхимального маркера виментина увеличивается периода с 1 по 17 сутки после рождения, а затем снижается. В то же время, показано, что эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) может инициировать и усугублять канцерогенез и метастазирование злокачественных опухолей. Одной из основных характеристик ЭМП является приобретение клетками подвижности, которая сопровождается перестройкой актинового цитоскелета. Динамическая организация сетей актинового цитоскелета зависит от множества актин-связывающих белков, к которым относятся гельзолин и кофилин.

Гельзолин участвует в реорганизации цитоскелета и может влиять на подвижность клеток. Выявлен высокий уровень гельзолина в развивающихся нервных тканях куриных эмбрионов, который снижается в постнатальном периоде. В наших исследованиях показано, что при развитии метастазов при раке молочной железы (РМЖ) наблюдалось увеличение в них уровня гельзолина по сравнению с тканью первичной опухоли. В тканях инвазивного рака эндометрия (РЭ) уровень гельзолина был выше по сравнению с неинвазивными опухолями. Кофилин, играющий центральную роль в регуляции актина, в высокой степени экспрессируется в различных органах при раннем постнатальном развитии, но не у взрослых организмов. При развитии злокачественных опухолей наблюдается значительное повышение уровня кофилина. Так, наши результаты показали увеличение уровня кофилина в тканях РЭ по сравнению с неизменной тканью и его дальнейший рост при увеличении инвазии опухоли в миометрий. При изучении РМЖ показано повышение уровня гельзолина в лимфогенных метастазах по сравнению с тканью первичной опухоли.

В то же время, злокачественные опухоли характеризуются высокой химотрипсинподобной (ХТП) активностью протеасом по сравнению с неизменными тканями, которая важна и в процессе онтогенеза. Изучение связи ХТП активности с уровнем кофилина показало, что в ткани РЭ выявлена отрицательная корреляция для содержания кофилина и ХТП активности протеасом ($R = -0,46$; $p = 0,02$). В ткани метастазов РМЖ уровень гельзолина был связан с ХТП ($R = -0,67$; $p = 0,04$) и каспазаподобной активностями протеасом ($R = -0,92$; $p = 0,01$).

Таким образом, актин-связывающие белки играют важную роль в онтогенезе и в развитии злокачественных опухолей. В тканях рака эндометрия и метастазах РМЖ протеасомы могут регулировать уровень гельзолина и кофилина.

Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания НИИ онкологии Томского НИМЦ, № FGWM-075-001184-22-04

Исследование экспрессии гена половой плазмы *germes* в ооцитах и фолликулярных клетках шпорцевой лягушки

В.В. Кондукторова*¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *virgo584@yandex.ru*

У шпорцевой лягушки первичные половые клетки (ППК) образуются из цитоплазматического материала специализированной области вегетативного полюса ооцита, которая называется половая плазма (ПП). В зрелом ооците *Xenopus* половая плазма организована в виде многочисленных мелких островков. Каждый из этих островков содержит митохондрии, эндоплазматический ретикулум, гранулярно-фибриллярный матрикс, мРНК и белки. Именно эти мРНК и белки ПП позже во время раннего развития регулируют правильное формирование и миграцию ППК. Одной из таких мРНК является *germes*. Нами показано, что *germes* - компонент половой плазмы и ранний маркер первичных половых клеток. мРНК *germes* начинает экспрессироваться с самых ранних этапов оогенеза (ст I). К стадии III ооцитарного роста РНК заякоревается в вегетативном кортексе ооцитов вместе с некоторыми другими маркерами ПП. Затем, начиная с первых суток развития, содержание транскрипта в эмбрионах постепенно падает. На стадии средней нейрулы материнский транскрипт уже не детектируется.

С помощью кроличьих поликлональных антител к *Germes* мы исследовали наличие и локализацию белка в яичниках, а также раннем развитии шпорцевой лягушки. Белок *Germes* обнаружен в ранних ооцитах (I–II стадии) и сохраняется во время роста. Далее белок присутствует в ранних стадиях развития до стадии нейрулы, а после наблюдается плавное снижение количества белка *Germes* в зародышах вплоть до последней изученной нами стадии 48, однако он не исчезает полностью. Во время ооцитарного роста белок, как и РНК-транскрипт, на I–II стадии имеет диффузное распределение, затем локализуется в островки ПП к III стадии. В ооцитах поздних стадий белок также детектируется в вегетативном кортексе в составе ПП. На ранних этапах эмбрионального развития количество белка сохраняется, а затем, по-видимому, белок *Germes* сохраняется только в ППК, где он выявляется с помощью ИГХ анализа.

В ходе изучения локализации белка в оогенезе, мы установили, что белок содержится не только в ооцитах всех стадий, но и в фолликулярных клетках (ФК). Дальнейшее изучение экспрессии *germes* в тонком фолликулярном слое показало, что относительное количество мРНК *germes* в ооцитах V-VI стадий и ФК сопоставимо. А содержание транскрипта в ФК малых ооцитов превышает количество в самих ооцитах. В ФК мРНК обнаруживается как в цитоплазме, так и в ядре больших и малых фолликулов. ФК образуются из эпителиального компартмента формирующегося яичника лягушки, т.е. имеют соматическое происхождение. Наличие мРНК и белка гена-маркера половой линии *germes* в соматических фолликулярных клетках показано впервые. Можно предположить, что это является результатом транспорта из ооцита. Доказательством экспрессии *germes* в ФК является обнаружение нами непроцессированной формы мРНК на протяжении всего оогенеза.

Как расти на обеих сторонах пластинчатого субстрата – решение колониальных гидроидов

И.А. Косевич*¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *ikosevich@gmail.com*

Рост и формообразование у колониальных текатных гидроидов (*Leptothecata*, *Hydrozoa*, *Cnidaria*) обеспечивается функционированием специальных модулей колонии – верхушек роста столонов гидроризы и побегов. Морфогенетическая активность верхушек роста проявляется в ростовых пульсациях – регулярно повторяющихся периодических расширений/выдвижений апексов верхушек и следующих за этим частичных сжатий/отступлений.

Верхушки роста побегов функционируют в гомогенной среде (в толще воды). С достаточной степенью достоверности можно считать, что они обладают радиально-симметричным строением. Изменения формы верхушки побега наблюдаются при формировании определенных элементов побегов и связаны с регуляцией скорости затвердевания внешнего скелета (перисарка). Верхушки роста столонов растут по субстрату, обеспечивая удлинение столонов и прикрепление колонии к субстрату. Верхушки роста столонов характеризуются билатеральной симметрией: главная плоскость симметрии проходит по главной оси верхушки и перпендикулярна плоскости субстрата. На поперечном срезе видно, что «вентральная» сторона верхушки роста уплощена. На уровне гистологической организации «вентральная» сторона верхушки столона (прилежащая к субстрату) несколько отличается от «дорсальной» (стороны, противоположащей субстрату).

По гладкому субстрату верхушка столона растет прямолинейно. Изменения направления связаны с механическими препятствиями или иными механическими воздействиями. Исходя из моделей, объясняющих механизм ростовых пульсаций верхушки, можно было бы ожидать, что, достигнув края пластинчатого субстрата (таллом водоросли), верхушка роста продолжит прямолинейный рост и сформирует столон, не закрепленный на субстрате. К такому же результату должны были бы приводить любые неровности субстрата – борозды, выпуклости и т.п. Однако независимо от характера поверхности субстрата верхушка роста столона всегда растет по субстрату. «Отрыв» верхушки от субстрата и формирование «свободных» столонов наблюдается крайне редко. При достижении края пластинчатого субстрата (или края глубокой выемки), верхушка роста столона следует изгибу субстрата, с легкостью «переходя» на другую сторону пластинчатого таллома водоросли или на стенку выемки. Вместе с тем, продолжить рост вверх от субстрата по вертикальной стенке верхушка роста столона не может – такое препятствие верхушка роста «обходит» (обрастает) вдоль снования.

Такие особенности роста верхушек столонов связаны с их билатерально-симметричной организацией и особенностями регуляции затвердевания вновь выделенного перисарка. В отличие от верхушек побегов, у верхушек столонов на заключительном этапе фазы выдвижения верхушки наблюдается ассиметричное «придавливание» апекса верхушки к субстрату. Данная особенность ростовых пульсаций определяет следование верхушки роста столона всем изгибам субстрата и невозможность «подъема» на вертикальные стенки.

Участие генов программы поддержания половых и мультипотентных клеток в процессах эмбрионального и постэмбрионального развития аннелид

Р.П. Костюченко*¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* *r.kostyuchenko@spbu.ru*

Многие животные обладают удивительной способностью к регуляции и восстановлению утраченных типов клеток, тканей и частей тела. Так аннелиды, сегментированные черви, несмотря на стереотипный характер раннего развития, могут, в отдельных случаях, формировать половую линию клеток даже после удаления ее предшественников на стадии зародышей. Еще более выраженные регенеративные способности показаны в ходе постэмбрионального развития этих животных. Настоящая работа посвящена поиску вероятных источников половых и соматических стволовых клеток в ходе эмбрионального развития и регенерации у нескольких видов аннелид. С использованием различных методов дано описание, показана динамика клеточных популяций и проанализирована экспрессия генов программы поддержания половых и мультипотентных клеток в ходе этих процессов у изучаемых видов. Являясь надежными маркерами линии половых клеток, которым принадлежит решающая роль в репродуктивном процессе всех организмов, размножающихся половым способом, эти гены активны и в различных соматических тканях, включая брюшную нервную цепочку, головной мозг, переднюю кишку, мезодермальные полосы и зону роста, за счет которой происходит терминальный рост аннелид. Экспрессия этих генов *de novo* в ходе регенерации может указывать на локальную дедифференцировку клеток.

Проект выполняется при поддержке гранта РФФ 22-24-00443 с использованием оборудования РЦ РМИКТ СПбГУ.

Многokратные изменения порядка симметрии во время развития медузы *Pelagia noctiluca*

Ю.А. Краус*^{1,2}, Л. Леклер³

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

³ Океанологическая обсерватория Вильфранша - лаборатория биологии развития, Вильфранш-сюр-Мер, Франция

* yulia_kraus@mail.ru

Биология развития до сих пор не может объяснить почему животные симметричны и как в онтогенезе и филогенезе формируются симметричные планы строения. При этом определяющей чертой плана строения является именно тип симметрии. Тип симметрии (а значит, и план строения) часто трансформируется в процессе развития. Так, билатеральные личинки иглокожих превращаются в пентарадиальных взрослых. Менее известен тот факт, что в развитии некоторые животные друг друга сменяют более чем два типа симметрии. Такие животные являются ценными модельными объектами для понимания молекулярных и морфогенетических механизмов, лежащих в основе установления симметрии в развитии и эволюции.

Сцифоидная медуза *Pelagia noctiluca* (Forsskall) - вид с голопелагическим жизненным циклом, утративший в ходе эволюции стадию полипа. Из личинок-планул *Pelagia* развиваются эфиры (ювенильные медузы с 8-ю лопастями), а из эфир - взрослые медузы. Таким образом, в ходе развития *Pelagia* цилиндрическая симметрия личинки-планулы постепенно трансформируется в 8-лучевую симметрию эфиры. Интересно, что внешняя симметрия планулы остается практически неизменной до стадии ранней эфиры, а все морфогенетические процессы происходят в зачатке эндодермы - архентероне. Мы обнаружили, что морфогенез архентерона можно рассматривать как переход между следующими типами симметрии: цилиндрической, билатеральной, 4-лучевой радиальной и, наконец, 8-лучевой радиальной симметрией. Эктодерма становится морфогенетически активной только после формирования в архентероне 8 зачатков лопастей эфиры. Используя световую и электронную микроскопию, мы реконструировали сложную динамику формы архентерона в ходе развития личинки и охарактеризовали клеточные основы морфогенеза архентерона. Наши фармакологические эксперименты показали, что в преобразование формы архентерона вовлечен cWnt-каскад. Мы обнаружили, что предразметка плана строения эфиры устанавливается гораздо раньше, чем становятся заметны его первые морфологические признаки. Мы также определили временные рамки паттернинга формирующейся эфиры.

Сравнение формирования эфиры у двух сцифоидных медуз - *Pelagia* (прямое развитие) и *Aurelia* (стробилиция полипа) - дало нам некоторые подсказки о том, как трансформировалось развитие в ходе эволюционного перехода *Pelagia* к голопелагическому жизненному циклу.

Молекулярная разметка морфогенетических машин на примере колониальных гидроидных полипов

С.В. Кремнёв*^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* s.kremnyov@gmail.com

Книдарии занимают сестринское филогенетическое положение по отношению к билатерально симметричным животным, что делает их ценными модельными объектами для эволюционной биологии развития. Отличительной особенностью колониальных книдарий является их непрерывный рост и морфогенез на протяжении всей жизни колонии, что делает их удобными модельными объектами для изучения эволюции и разметки плана тела.

Текатные колониальные гидроидные полипы (Cnidaria, Hydrozoa, Leptomedusae) демонстрируют наиболее широкий спектр морфологического разнообразия среди книдарий. Колонии текатных

гидроидных состоят из двух основных частей. Прикрепление к субстрату обеспечивается разветвленной гидроризой, каждая из ветвей которой – стolon – удлиняется на дистальном конце. На столонках через определенные промежутки располагаются или отдельные зооиды колонии, или сложные образования, несущие большое число зооидов и именуемые побегами колонии. Морфологическое разнообразие гидроидных основано на разнообразии формы элементов побегов. Несмотря на то, что каждый отдельный зооид, имеет простую структуру и радиальную симметрию, побеги колонии демонстрируют различные уровни сложности и типы симметрии. Колонии текатных гидроидов растут за счет морфогенетической активности специализированных органов – верхушек роста. Верхушки роста побега претерпевают циклические морфогенетические процессы, которые приводят к формированию новых междоузлий и узлов колонии, что и определяет общую архитектуру колонии.

Удивительно, но большинство исследований в области Evo-Devo на стрекающих направлено на выяснение механизмов разметки тела неколониальных представителей этой группы, таких как *Nematostella* и *Hydra*, или колониального гидроидного полипа *Hydractinia*, формирующего столониальную колонию. В тоже время, молекулярные механизмы, обеспечивающие разметку архитектурно сложных колоний, таких как, например, у *D. pumila* и *G. loveni*, остаются невыясненными. Какие молекулярные механизмы обеспечивают устойчивое формирование сложной структуры колоний? Как колониальные гидроиды используют эволюционно консервативные молекулы и сигнальные пути, которые формируют разметку тела одиночных полипов? Каким образом происходит регуляция эволюционно консервативных сигнальных путей при формировании разной архитектуры колонии у разных видов гидроидов? Чтобы ответить на эти вопросы, нам необходимо исследовать молекулярные основы пространственной разметки архитектурно сложных колоний гидроидных полипов. Данные вопросы касаются более глобальной научной проблемы: как сформировалось такое широкое разнообразие планов строения тела, учитывая удивительно консервативный инструментальный регуляторных генов участвующих в развитии Metazoa.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00978а.

Ген *toothrin* необходим для развития зрительной функции у *D. melanogaster*

Е.Е. Куваева*¹, И.Б. Мерцалов¹, О.Б. Симонова¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* lena_kuv@mail.ru

Ген *toothrin* (*tth*) дрозофилы относится к эволюционно консервативному семейству генов *d4*. Белки семейства включают набор уникальных доменов: N-концевой домен 2/3, домен Krüppel-типа и C-концевой D4-домен «цинковых пальцев» PHD-типа.

У дрозофилы обнаружено два гомолога *d4*-семейства (*tth* и *dd4*), но только *tth* кодирует единственный характерный для белков семейства домен – 2/3. Известно, что белки семейства D4 дрозофилы входят в состав хроматин-ремоделирующих SWI/SNF-подобных ВАР комплексов, характерных для дифференцированных нейронов, но не нейробластов. Однако функция гена *tth* и его паттерн экспрессии не были исследованы, нет ни одной мутации этого гена, что затрудняло исследование его функций.

С целью восполнить этот пробел мы: 1. Изучили картину специфической экспрессии ТТН у личинки и имаго; 2. Провели нокаут гена *tth* и исследовали фенотип нокаутных особей.

Для изучения специфической экспрессии ТТН нами были получены две линии трансгенных дрозофил. Первая имела в геноме дополнительный локус гена, модифицированный для экспрессии флуоресцентно-меченного химерного белка ТТН::GFP, вторая экспрессировала Gal4 под промотором *tth*, то есть являлась драйвером, способным активировать репортерные UAS-конструкции *in vivo* в *tth*-компетентных клетках в двухкомпонентной системе Gal4/UAS.

Иммунофлуоресцентное окрашивание мозга личинок линии *tth-Gal4/UAS-RFP.nls* маркерными антителами против нейронов и глии показало, что *tth* экспрессируется в нейронах, но не в глиальных клетках

Изучение структур головного мозга личинок с помощью созданных линий дрозофил позволило определить локализацию экспрессии *tth* в рядах кластеров фоторецепторных нейронов, нейронах оптической доли мозга и грибовидном теле, в аксонах нейропиля головного мозга и вентрального нервного ствола (ВНС), в ядрах нейронов ВНС; а также в ядрах клеток кольцевой железы и слюнных желёз. В мозге взрослых мух экспрессия *tth* была обнаружена в зрительной доле: клетках ламины, медуллы, лобулярном комплексе, а также в грибовидных телах центрального мозга.

Анализ фенотипа нокаутных по *tth* эмбрионов выявил у них нарушение развития оптических зачатков. Зрительные доли мозга отвечают за первичную обработку визуальной информации. Поэтому мы провели ряд поведенческих тестов для оценки фоточувствительной реакции нокаутных по гену *tth* мух. Мы обнаружили, что нулевые мутанты *tth* не реагировали в ответ на световой раздражитель, что свидетельствует об их полной слепоте. Rescue-эксперименты по «спасению» фенотипа нокаутных дрозофил показали полное восстановление их зрения на фоне сверхэкспрессии копии гена *tth*, что подтверждает роль этого гена в зрительном восприятии.

Таким образом, мы впервые исследовали функциональную направленность гена *tth* и показали его участие в развитии зрительных долей головного мозга и необходимость для формирования зрительной функции у дрозофил. Тем не менее, остаются открытыми вопросы: на какие пути передачи зрительной информации влияет *tth*, и каким образом он реализует свою функцию.

Работа выполнена в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2022 года № 0088-2021-0007 «Молекулярно-генетические механизмы регуляции клеточной дифференцировки и морфогенеза». Работа проводилась с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н. К. Кольцова РАН.

Определение доли клеток, содержащих дополнительную хромосому GRC, в эмбрионах зебровой амадины

М.М. Кулак*¹, О.Д. Такки¹, С.А. Галкина¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* ontica@mail.ru

Зебровая амадина *Taeniopygia guttata* — это австралийский вид певчих птиц (Aves, Passeriformes, Estrildidae). Благодаря неприхотливости в содержании, короткому сроку достижения половой зрелости (3-5 месяцев при разведении в неволе) и быстрому репродуктивному циклу, этот вид широко используется в биологии в качестве модельного объекта. Особую роль зебровая амадина играет в исследовании добавочной хромосомы клеток половой линии (англ. germline restricted chromosome, GRC) у певчих птиц. Поскольку эта хромосома стабильно присутствует только в ооцитах и дифференцирующихся сперматоцитах (до метафазы мейоза I), предполагается, что она может содержать последовательности, важные для дифференцировки половых клеток и функционирования зрелых яйцеклеток. Помимо непонятной функции, остаются также не известными точное время и механизм элиминации GRC из соматических клеток. В нашей работе мы попробовали оценить стадию эмбриогенеза, на которой соматические клетки теряют GRC. С этой целью мы оценили долю клеток, содержащих и не содержащих GRC, на препаратах диссоциированных клеток эмбрионов зебровой амадины. Мы использовали эмбрионы, полученные из яиц до и сразу после откладки самкой. GRC в клетках выявляли методом FISH (протокол ДНК/ДНК) с помощью специфического зонда *dph6*, разработанного ранее. Эмбрион зебровой амадины в только что отложенном яйце находится на более ранней стадии, чем эмбрион курицы (EGK. VI vs. EGK. X). Работы по более ранним стадиям эмбриогенеза зебровой амадины на данный момент отсутствуют. Мы показали, что на стадии EGK. V/EGK. VI ~11% клеток содержат GRC, что приблизительно в два раза больше, чем число DAZL-положительных примордиальных половых клеток. Это говорит о том, что элиминация материала GRC из соматических клеток начинается до стадии EGK. V и заканчивается предположительно к EGK. X. Работу проводили в

соответствии с этическими требованиями, что подтверждено заключением Этической комиссии СПбГУ № 131-03-3 от 01. 06. 2017.

Работа поддержана грантом РФФИ №20-04-00967. Авторы выражают благодарность сотрудникам ресурсного центра «Хромас» Научного Парка СПбГУ за техническую поддержку.

Клеточная пролиферация и апоптоз в ходе восстановительных процессов у губок (Porifera): количественный и функциональный анализ

А.И. Лавров*¹, Ф.В. Большаков¹, Д.М. Саидов¹, Н.П. Мельников¹, К.В. Скоренцева¹, А.В. Ересковский²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Средиземноморский институт биоразнообразия и морской и континентальной экологии, Марсель, Франция

* *lavrovai.bio@yandex.ru*

Губки являются одной из базальных ветвей животных. Они демонстрируют широкие регенеративные способности, механизмы которых остаются слабоизученными. Мы провели анализ вклада пролиферации клеток и апоптоза в восстановительные процессы у *Halisarca dujardini* (Demospongiae) и *Leucosolenia variabilis* (Calcarea). Интактные ткани обоих видов содержат значительные количества пролиферирующих клеток (~8-10% клеток в S-фазе и единичные митотические клетки). Апоптотические клетки встречаются крайне редко. При репаративной регенерации *L. variabilis* распределение и количество пролиферирующих клеток не меняется. В ходе реагрегации клеток *H. dujardini* интенсивность пролиферации значительно меняется, демонстрируя высокие значения на ранних и поздних этапах процесса и отсутствуя на промежуточных. Долгосрочная блокировка пролиферации не оказывает влияния на ход обоих процессов. Вклад апоптоза в регенерацию и реагрегацию не велик: единичные апоптотические клетки присутствуют только на ранних этапах.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-1096.2021.1.4 и грантами РФФИ № 19-04-00563 и №19-04-0545.

Изменение морфологии и паттерна экспрессии генов зародышей морского ежа *Strongylocentrotus pallidus* под действием вегетализующего агента LiCl

М.А. Лазарев*¹, А.В. Воротников¹, М.Л. Семенова¹, Д.А. Никишин^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *mikelazz30@gmail.com*

Детерминация передне-задней оси тела у большинства представителей Eumetazoa реализуется через Wnt/ β -катенин сигнальный путь. У беспозвоночных из клады Вторичноротых на ранних этапах развития происходит накопление внутриядерного β -катенина в вегетативной части зародыша. Области зародыша, в которых аккумулируется β -катенин в ходе дальнейшего развития дают начало эндомезодермальным производным. Этот процесс был подробно изучен на разных видах морских ежей. В данном исследовании мы анализируем изменения морфологии и уровня экспрессии маркеров производных зародышевых листков в эмбрионе морского ежа *Strongylocentrotus pallidus* под действием вегетализующего агента LiCl.

Основным механизмом действия LiCl является подавление активности GSK3 – киназы, дестабилизирующей β -катенин в клетках. К эмбриональным культурам, полученным в результате искусственного оплодотворения, добавляли разные концентрации LiCl (3, 10 и 30 мМ) и культивировали до наступления гастрюляции. Анализ морфологии зародышей проводили на стадии эпителизованной бластулы незадолго до вылупления. Выраженное утолщение всей стенки бластулы, свидетельствующее о вегетализации зародышей в результате расширения области ядерной активности β -катенина наблюдалось под действием LiCl в концентрации 30 мМ.

Зародыши на стадии средней гастролы фиксировали стабилизирующим РНК раствором IntactRNA, после чего проводили выделение тотальной РНК, обработку ДНКазой I и обратную транскрипцию. Полученные библиотеки кДНК использовали для количественного анализа экспрессии генов маркеров нейроэктодермы, эндомезодермы и скелетогенной мезенхимы методом ПЦР в реальном времени. Под действием LiCl наблюдается выраженное увеличение уровня экспрессии эндомезодермальных маркеров FoxA (с 3 мМ) и Endo16 (с 30 мМ), и снижение уровня экспрессии маркеров передней нейроэктодермы FoxQ2 (с 30 мМ) и Six3 (с 10 мМ). В то же время, изменений в количестве транскриптов маркера скелетогенной мезенхимы P19 под действием LiCl не обнаружено.

В ходе работы также был проведен анализ строения апикального органа нормальных и экзогастрюляционных личинок, самопроизвольно появляющихся в эмбриональной культуре, с целью выяснить механизм возникновения аномалии. Иммуноокрашивание личинок антителами против серотонина выявило, что серотонин-содержащие клетки локализуются в анимальной части как нормальных, так и экзогастрюляционных зародышей. Кроме того, анализ методом поляризационной микроскопии не выявил у экзогастрюляционных личинок серьезных отклонений в строении скелетных элементов. Эти факты свидетельствуют о нормальном прохождении передне-задней разметки зародыша и могут указывать на то, что самопроизвольное формирование экзогастрюлей в культуре не связано с нарушением молекулярных механизмов детерминации передне-задней оси тела.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра микроскопии ББС МГУ и ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-04-00303.

Механические силы в морфогенезе растений

А.А. Липчинский*¹, Д.В. Сулов¹, С.С. Медведев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* alipchinsky@gmail.com

Обширный массив экспериментальных данных, накопленный за последние десятилетия, свидетельствует об интегрирующей роли механических сил в регуляции морфогенеза растений. Ключевыми участниками механобиологических каскадов в морфогенезе растений являются осмотические потоки, динамические структуры цитоскелета, функциональная архитектура клеточных стенок и механозависимая поляризация мембранных белков, транспортирующих фитогормон ауксин. Кроме того, наши исследования свидетельствуют об участии в морфогенетических контурах электрокинетических и хемофоретических явлений. Все эти процессы вносят существенный вклад в формирование внутриклеточных и тканевых напряжений и, в свою очередь, находятся под многоуровневым контролем результирующих механических сил. Наличие рассматриваемых прямых и обратных связей указывает на участие внутренних механических напряжений в структурной самоорганизации меристем и в прогрессивном течении морфогенеза. Экспериментальные воздействия, заключающиеся в приложении к недифференцированным тканям растения физиологически адекватных механических сил, модифицирующих паттерн эндогенных механических напряжений, вызывают закономерные и существенные изменения морфогенеза. Морфогенетические ответы образовательных тканей растения на механические воздействия во многих случаях хорошо согласуются с концепцией гипертонического восстановления механических напряжений, предложенной Л.В. Белоусовым для описания морфогенеза животных более 30 лет назад.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-04-01041.

Роль клеточной системы контроля протеома в морфогенетических процессах у базальных многоклеточных животных.

Ю.В. Люпина*¹, К.И. Адамейко¹, А.Д. Финошин¹, В.С. Михайлов¹, О.И. Кравчук¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* yulial@bk.ru

Способность клеток чувствовать гипоксию и реагировать на изменения в микроокружении возникла ещё у базальных многоклеточных животных и формировалась согласованно с развитием факторов гипоксии HIF (Hypoxia-inducible factor). Губки (Porifera) – древнейшие из ныне живущих многоклеточных животных. Морские губки развиваются только в присутствии ионов железа, устойчивы к гипоксии и могут служить хорошей моделью для исследования ранней эволюции регуляции обмена железа у многоклеточных животных, которая происходила на фоне глобальной оксигенизации. Симбионты морских губок производят вторичные метаболиты, необходимые для жизнедеятельности клеток губок. Однако, ничего не известно о функционировании убиквитин-протеасомной системы (УПС), путей биосинтеза гема и белков цитоскелета клеток губок в условиях меняющегося симбиотического микроокружения. Целью настоящей работы было оценить роль УПС, биосинтеза гема и белков цитоскелета в механизмах адаптации к гипоксии и морфогенетических процессах у холодноводных морских губок. С помощью широкомасштабного секвенирования, протеомного и биоинформатического анализов, использования метода нейросетей были реконструированы белки обмена железа холодноводных губок Белого моря *Halichondria panicea* и *Halisarca duajardinii*, а также выявлены взаимосвязи белков биосинтеза гема с шаперонами HSP/HSC70, белками УПС и цитоскелета. Методом нативного электрофореза с последующей масс спектрометрией впервые установлено, что комплексы ферритина и протеасом являются главными белковыми комплексами в клетках губок. Показано, что белок цитоскелета - актин и гемсодержащий белок - нейроглобин входят в состав комплекса ферритина губки *Halisarca duajardinii*. Обнаружено, что в разные периоды жизненного цикла губки *Halisarca duajardinii* (периоды спермато- и оогенеза, размножения и роста губки) изменяется экспрессия генов белков биосинтеза гема и изоформ ферритина, а при диссоциации/реагрегации клеток губок наблюдаются изменения и в экспрессии белков УПС и цитоскелета. Экспрессия транскрипционных факторов HIF, NFκB и сегрегазы VCP/p97 увеличивается в клетках в период размножения и роста губки, сопровождающегося изменением состава ее симбионтов. Исследования структуры и активности протеасом клеток губок с помощью биохимических методов выявили увеличение экспрессии регуляторов протеасом и повышение химотрипсин- и каспазоподобной активностей протеасом. Добавление специфических ингибиторов протеасом (Bortezomib) или ключевого фермента биосинтеза гема (Morphlock-1) снижает подвижность и адгезивные свойства клеток губок, вследствие чего нарушается процесс реагрегации. Полученные результаты свидетельствуют о взаимосвязи путей биосинтеза гема с УПС клеток губок и их симбиотического микроокружения в реализации морфогенетических процессов у губок. Дальнейшее изучение других немодельных эволюционно удаленных организмов в различных функциональных состояниях позволит расширить знания механизмов системы клеточного контроля протеома для всего древа жизни.

Грант Минобрнауки РФ № 75-15-2020-773 "Молекулярно-клеточные механизмы онкологических, иммунных, метаболических заболеваний, моделирование и экспериментальное обоснование методов репрограммирования и онкотаргетинга" 2020-2022 гг.

Новые представления о происхождении сегментации, щупалец и конечностей Bilateria

В.В. Малахов*¹, О.В. Ежова¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* vmalakhov@inbox.ru

Современная эволюционная биология позволяет обнаружить глубокие гомологии, пронизывающие все животное царство, от кишечнополостных до позвоночных. Анализ экспрессии гомеобоксных генов позволяет доказать гомологию плоскости билатеральной симметрии Cnidaria и сагиттальной плоскости трехслойных Bilateria и происхождение сквозного кишечника билатерий путем амфистомии. Современная биология развития подтверждает классические представления о происхождении целомических сегментов от карманов целентерона кишечнополостных и формирование метамерии от цикломерии, а также позволяет проследить сквозную гомологию сегментов трехслойных Bilateria. Так, например, простомииум Lophotrochozoa гомологичен протоцеребральному сегменту Arthropoda, хоботному сегменту Ambulacraria и премандибулярному сомиту Vertebrata, тогда как тентакулярный (перистомиальный) сегмент Lophotrochozoa гомологичен дейтоцеребральному сегменту

Arthropoda, воротниковому сегменту Ambulacraria и мандибулярному сомиту Vertebrata. Общие предки Cnidaria и Bilateria имели два круга щупалец, окаймлявших щелевидный бластопор – лабиальный и маргинальный. Маргинальные щупальца Cnidaria гомологичны метамерным конечностям трехслойных Bilateria. Лабиальные щупальца Cnidaria гомологичны околотротовым ресничным щупальцам и вентральной ресничной подошве трехслойных Bilateria. Ресничные личинки билатерий суть поднятые в планктон ювенили, их ресничное вооружение организовано по общему плану и включает адоральное ресничное поле, окаймленное предротовым и послеротовым ресничными шнурами, невротрох и телотрох и гомологично элементам круга лабиальных щупалец предков Bilateria. Первично-двухветвистые конечности Ecdysozoa состоят из первичных эндоподов – гомологов придатков лабиального круга и первичных экзоподов – гомологов придатков маргинального круга. Вторично-двухветвистая конечность ракообразных возникла за счет расщепления первичного эндопода на экзоподит и эндоподит. Для ракообразных характерна не двухветвистая, а трехветвистая конечность, в состав которой входят экзоподит и эндоподит и эпиподиты – придатки первичного экзопода. Крылья насекомых – гомологи жаберных придатков ракообразных. У позвоночных гомологами придатков маргинального круга являются радиалии парных плавников, формирующиеся как метамерные выросты сомитов. Стилоподий и цейгоподий парных конечностей Tetrapoda суть гомологи базалий, тогда как аутоподий – гомолог радиалий плавников хрящевых и двоякодышащих рыб. Таким образом, пальцы конечностей Tetrapoda (с учетом инверсии хордовых) гомологичны экзоподам первично-двухветвистой конечности членистоногих и метамерным придаткам сегментов Lophotrochozoa. Это обстоятельство объясняет сходство генетических механизмов, регулирующих развитие конечностей трехслойных Bilateria, и даёт возможность протянуть нити гомологии от маргинальных щупалец кишечнополостных к крыльям насекомых и пальцам конечностей позвоночных.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-04-00909 А.

Эмбриональное развитие беломорской литоральной *Oligochaeta*

Е.П. Матвейчева*¹, А.Д. Смыслов¹, Т.В. Неретина¹, И.А. Екимова¹, Д.А. Никишин^{1,2}, М.Л. Семенова¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *matveich0eva@gmail.com*

Развитие Annelida в основном изучено на представителях уже устаревшего сейчас класса Polychaeta (по современным данным Annelida разделены на несколько других классов, и более правильным считается деление на Sedentaria и Errantia). Oligochaeta (внутри группы Clitellata) представляет не меньший интерес с эволюционной точки зрения – нет однозначного взгляда на их филогению внутри Annelida, они обладают рядом черт, таких как гермафродитизм, прямое развитие, дорсально расположенная глотка (эта черта обнаружена всего у нескольких других Annelida), упрощенное строение по сравнению с другими группами Annelida. Изучение раннего развития Oligochaeta может быть очень полезным при исследовании отличительных эволюционных черт этой группы. Однако раннее развитие Oligochaeta изучено на довольно небольшом числе организмов.

Целью работы было изучить стадии раннего развития беломорской олигохеты с неизвестной видовой принадлежностью, широко распространенной на литорали, и сравнить с описанным развитием *Tubifex tubifex* и *Enchytraeus coronatus*, а также определить ее видовую принадлежность.

Был подготовлен материал для секвенирования (взрослая особи и кладки) с целью определения вида олигохеты, секвенирование проводилось по ядерному гену 18S и митохондриальному гену COI), была проведена фоторегистрация и описана морфология кладок и стадии нормального развития олигохеты, эмбрионы были извлечены из кладок и был проведен анализ их морфологии с помощью окрашивания фибриллярного актина и конфокальной микроскопии.

По результатам секвенирования изучаемая олигохета принадлежит к роду *Lumbicillus*.

Получены фотографии всех основных стадий развития со стерео- и конфокального микроскопа. Эмбрионы могут быть успешно извлечены из кладок с осмотической средой, краситель фибриллярного актина фаллоидин проходит через оболочки эмбриона – окрашивание идет успешно.

Два вида рода *Lumbricillus*, известных для Белого моря, *Lumbricillus pagenstecheri* и *Lumbricillus lineatus* не родственны изучаемому виду. Третий вид известный в фауне ББС, *Lumbricillus murmanicus* отсутствует в базе данных GenBank. Можно сделать предварительный вывод, что образцы или являются представителями вида *Lumbricillus murmanicus*, описанного с побережья Мурмана, либо являются представителями другого известного вида, отсутствующего в списках фауны ББС, или представляют собой новый для науки вид.

Развитие олигохеты сопоставимо с развитием *Tubifex tubifex* и *Enchytraeus coronatus* и соответствует типичному развитию для этой группы. Эмбрионы легко извлекаются из кладок, краситель фаллоидин проходит через оболочку эмбриона – это, вместе с широкой распространенностью делает беломорскую олигохету удобным объектом для дальнейших исследований.

Работа выполнена с использованием оборудования Центра микроскопии ББС МГУ.

Нормальное развитие *Dimorphilus gyrociliatus*

Е.П. Матвейчева¹, Е.Г. Фофанова*²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* lizchenbio@mail.ru

Представители аннелид демонстрируют разнообразные планы строения, жизненные циклы и образы жизни. К настоящему моменту накоплен массив данных о раннем развитии многих клад внутри аннелид, таких как *Errantia*, *Sedentaria*, *Sipuncula* и *Palaeoannelida*. Однако, данных о раннем развитии *Dinophiliformia* почти нет. Эта группа представляет большой интерес так как представители сочетают в себе морфологические признаки различных *Lophotrochozoa*. Основная часть исследований по морфологии и развитию были выполнены в 19-начале 20 века на соответствующем тому времени методическом уровне. Раннее развитие *D. gyrociliatus* было описано в начале 20 века Нельсоном достаточно подробно. Но это единственная подобная работа, кроме того многие аспекты раннего развития не описаны, в частности развитие карликового самца. Целью нашей работы было изучить развитие самцов и самок *D. gyrociliatus* с момента появления кладки до вылупления из нее ювенильной особи. Мы вели прижизненные наблюдения за самками, отбирали свежееотложенные кладки и регистрировали изменения в морфологии, начало вращения, появление ротового отверстия, сегментов и наконец вылупления. Мы использовали стандартный набор антител к серотонину и тубулину для выявления групп нейронов и ресничных структур, а также фаллоидин и дапи. Мы показали, что начиная со стадии 4 бластомеров развитие самца идет медленнее. Ротовое отверстие появляется на второй день развития у самок и отсутствует у самца. Первые ресничные клетки появляются на второй день развития как у самцов, так и у самок. Вращение самок начинается на второй день развития, тогда как самцов на третий. Первые серотонинергические нейроны появляются раньше у самок на второй день развития. Признаки наружной сегментации у самок появляются на четвертый день развития, у самцов сегментации не наблюдается. Кроме того отличается количество клеток, у самок перед вылуплением тело состоит из 5000 клеток, а у самцов из 975, большая часть из которых - сперматозоиды. Таким образом нам удалось показать существенную разницу в развитии самцов и самок *D. gyrociliatus*. Наиболее интересными представляются данные по развитию карликового самца, который является самым мелким 28x40 мкм представителем аннелид.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 19-34-60040.

**Экспериментальный анализ динамики клеточного цикла хоаноцитов беломорских губок
H. dujardini (Demospongiae) и *L. variabilis* (Calcarea)**

Н.П. Мельников*¹, А.И. Лавров¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* npmelnikoff@gmail.com

Тип Porifera, или губки – одна из наиболее эволюционно древних групп многоклеточных животных. Для тканей губок характерна уникальная пластичность, проявляющаяся как в регенерации, так и постоянной перестройке и возобновлении. Основой тканевой пластичности губок служит способность их клеток к пролиферации и трансдифференцировке. В качестве основных источников новых клеток у губок обычно рассматривают популяции пищедобывающих клеток (хоаноцитов) и подвижных клеток мезохила (амебоцитов); при этом хоаноциты, по-видимому, являются основным типом стволовых клеток у губок.

Исследование клеточного цикла хоаноцитов играет важную роль для понимания временных характеристик процессов возобновления и регенерации тканей у губок. Немногочисленные известные оценки клеточного цикла хоаноцитов у различных видов губок в своем большинстве основаны на применении математической модели Новаковски для анализа динамики включения меченых нуклеотидов и определения пролиферирующего пула (всей совокупности пролиферирующих клеток). Однако условия для применения модели (в частности, строгая асимметричность деления хоаноцитов) в этих исследованиях должным образом проверены не были. Поэтому в качестве цели данной работы мы поставили разработку альтернативного метода анализа клеточного цикла хоаноцитов на примере беломорских губок *Halisarca dujardini* (Demospongiae) и *Leucosolenia variabilis* (Calcarea).

Пролиферирующий пул хоаноцитов оценивали через синхронизацию клеток в S-фазе клеточного цикла с помощью обратимого ингибитора ДНК-полимеразы, афидиколина. Синхронизированные клетки выявляли с помощью инкубации в меченых нуклеотидах EdU. Пролиферирующий пул составил порядка 40% от общего числа хоаноцитов у *H. dujardini* и 60% - у *L. variabilis*; сами хоаноциты составляют более 95% пролиферирующих клеток. Распределение клеток по фазам клеточного цикла исследовали с помощью количественной окраски ДНК пропидий-йодидом для проточной цитофлуориметрии.

Общую длительность клеточного цикла оценивали по динамике накопления количества EdU-положительных хоаноцитов (через 2 и 6 ч с начала инкубации). С учетом известного пролиферирующего пула, общая длительность клеточного цикла хоаноцитов составила порядка 70 ч для *H. dujardini* и 80 ч для *L. variabilis*.

Длительность G2-фазы клеточного цикла оценивали по динамике включения EdU в митотические клетки, выявляемые с помощью антител к фосфорилированному гистону 3; первые EdU-положительные митотические клетки были зафиксированы через 6 (*L. variabilis*) и 9 (*H. dujardini*) ч после начала инкубации. Общая доля митотических клеток при этом не превышала 1%, а ориентация веретен деления указывала на симметричный характер деления хоаноцитов.

Совместив распределение клеток по фазам клеточного цикла, значения пролиферирующего пула и полученные оценки длительности клеточного цикла/G2-фазы, мы смогли получить длительность каждой из фаз клеточного цикла хоаноцитов у исследуемых объектов.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-1096.2021.1.4.

Серотонин как посредник между окружающей средой и развивающимся организмом

В.И. Мельникова*¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* v_melnikova@mail.ru

Серотонин является не только нейротрансмиттером, но и важным регулятором широкого спектра процессов за пределами центральной нервной системы. Особо важную роль серотонин играет в эмбриогенезе, что обусловлено его морфогенетическим влиянием на формирование различных органов. Благодаря современным методам и подходам на примере формирования надпочечников удалось установить не только конкретные механизмы дифференцировки хромаффинных клеток, но и раскрыть один из возможных путей эпигенетического контроля формирования поведения у потомства через серотонин-зависимую регуляцию развития надпочечников. Хромаффинные клетки надпочечников дифференцируются из нейроэктодермальных предшественников через короткоживущую транзиторную популяцию так называемых bridge-cells, чувствительных к серотонину благодаря экспрессии рецептора Htr3a. Образующиеся хромаффинные клетки накапливают и выделяют серотонин, который замедляет клеточный цикл bridge-cells предшественников и останавливает генерацию новых хромаффинных клеток, как бы посылая сигнал "достаточно". В норме такой паракринный механизм отрицательной обратной связи защищает от чрезмерного роста надпочечников и, вероятно, потенциального развития опухолей, а также может иметь важные поведенческие, экологические и эволюционные аспекты. Действительно, помимо локального источника серотонина, следует учитывать ведущую роль плаценты в поддержании необходимого уровня серотонина в крови плодов, что добавляет еще одну переменную к регуляции количества хромаффинных клеток и открывает потенциал для негенетического контроля развития симпатoadреналовой системы у потомства. Синтез серотонина в плаценте очень изменчив и чутко реагирует на внешние условия, в которых находится беременная мать. В наших экспериментах умеренный пренатальный стресс у беременных самок приводил к повышению уровня серотонина у плодов, уменьшению мозгового вещества надпочечников и изменению паттернов поведения потомства, а именно снижению агрессивности и изменению стратегий преодоления трудностей. Такие животные более приспособлены к выживанию в меняющихся условиях внешней среды, что и удалось подтвердить на дикой популяции мелких грызунов с периодическими колебаниями численности. Социальный стресс беременных животных на максимальном пике численности популяции приводит к рождению потомства, способного к смене ареала и освоению новых территорий. По-видимому, описанные молекулярные механизмы важны не только для естественного отбора, но и для искусственного. Гипофункция надпочечников и снижение уровня гормонов стресса хорошо документированы у одомашненных видов и были экспериментально вызваны отбором на "приручаемость". В целом обнаруженный серотонин-опосредованный механизм раскрывает один из возможных путей эпигенетической, то есть обусловленной внешними факторами, передачи информации от матери к потомству, который обеспечивает своего рода пренатальное программирование долгосрочных изменений в постнатальной жизни. Это открывает большой потенциал для негенетического контроля развития не только надпочечников, но и других периферических органов, в которых реализуются локальные серотонин-опосредованные регуляции. Отдельно следует подчеркнуть, что наличие серотонин-чувствительных клеток делает органы восприимчивыми к колебаниям уровня циркулирующего в крови серотонина, что обеспечивает возможность системной гуморальной координации процесса эмбрионального развития.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ No. 17-14-01353.

Такая разная регенерация аннелид – в чем секрет?

Е.Л. Новикова*^{1,2}, В.В. Старунов¹, З.И. Старунова¹, К.В. Шунькина¹, М.А. Кулакова^{1,2}

¹ Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия;

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* *elena.novikova.03.06@gmail.com*

Явление регенерации широко представлено среди Metazoa и считается базальным свойством билатеральных животных. В ходе эволюции представители разных ветвей частично или полностью утрачивали эту способность. Крайне интересным представляется поиск причины этих утрат, в основе которых в первую очередь лежат изменения в молекулярных программах контроля морфогенетических процессов развития и регенерации. Кольчатые черви являются перспективной группой для изучения восстановительных процессов. Имея достаточно сложное строение, они отличаются выдающимися регенерационными способностями, которые тем не менее свойственны далеко не всем представителям этой группы. Умение восстанавливать и переднюю, и заднюю часть тела считается анцестральным для аннелид. Оно в разной степени утрачивалось у представителей разных семейств. В связи с этим мы выбрали два объекта исследования – средиземноморскую *Platynereis dumerilii* (Nereididae) и баренцевоморскую *Pygospio elegans* (Spionidae). *P. elegans*, принадлежащий к группе сидячих аннелид (Sedentaria), прекрасно регенерирует и переднюю и заднюю часть тела, в то время как *P. dumerilii* – бродячий червь (Errantia) – восстанавливает лишь задний конец тела. Оба животных регенерируют в лабораторных условиях и демонстрируют сходные темпы регенерации при 18° С. Мы исследовали регенерацию червей на разных этапах, каждый из которых может оказаться критичным для успешного прохождения восстановительного процесса.

С помощью сканирующего электронного микроскопа мы изучили процесс заживления раны. На переднем конце тела *P. elegans* рана затягивалась значительно быстрее, чем у *P. dumerilii*, при этом формировался сплошной слой эпителия.

Чтобы охарактеризовать стадию формирования бластемы, мы использовали метод инкубации с EdU для выявления клеток в S-фазе клеточного цикла. Включение метки после 24 часов происходило в сайте задней регенерации и у *P. dumerilii* и у *P. elegans*, в то время как в сайте роста головы EdU-положительные клетки обнаруживались только у *P. elegans*. Далее мы попытались выявить гены, которые могут вариационно контролировать процесс регенерации у двух аннелид. Мы обратили внимание на консервативные гены, контролирующие становление передне-задней оси многих билатеральных животных: сигнальные каскады Wnt, ParaHox ген *caudal* и Hox-ген *Post2*. Мы обнаружили, что гены *Pele-wnt*, *Pele-caudal* и *Pele-Post2* *P. elegans* маркируют в первую очередь задние домены тела, то есть, по всей видимости, участвуют в спецификации этой территории животного. При регенерации *P. elegans* гены демонстрировали раннюю активацию в области роста «хвоста», но включались в передних доменах только на поздних сроках или не включались вовсе. Напротив, для *P. dumerilii* показано включение некоторых задних позиционных маркеров в переднем сайте регенерации. Мы предполагаем, что нарушение позиционного маркирования вдоль передне-задней оси тела *P. dumerilii* в ходе регенерации может негативно сказываться на его способности восстанавливать переднюю часть тела.

Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, грант 21-14-00304. Работы проведены на базе ЦКП «Таксон», Зоологический институт РАН и ЦКП «Хромас» Научного парка Санкт-Петербургского Государственного Университета.

Роль форминов в морфогенезе лево-правого организатора и установлении асимметрии у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*

Н.Д. Петри*¹, Н. Циколия², С.В. Кремнёв^{1,3}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Гёттингенский университет имени Георга-Августа, Гёттинген, Германия;

³ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *petri1543@inbox.ru*

У большинства позвоночных лево-правая асимметрия устанавливается на стадии нейрулы благодаря левонаправленному току жидкости, который создаётся подвижными ресничками на так называемом лево-правом организаторе и воспринимается краевыми зонами организатора. Этот механизм и соответствующие ресничные структуры показаны для многих млекопитающих, амфибий и рыб. Существует группа альтернативных гипотез, предполагающая установление асимметрии на более ранних этапах развития за счёт хиральности цитоскелета. На роль факторов хиральности выдвигаются формины - компоненты цитоскелета, регулирующие спиральное дробление у моллюсков.

Нашим модельным объектом была шпорцевая лягушка *Xenopus laevis*. Для исследования роли форминов в установлении лево-правой асимметрии у эмбрионов *X. laevis* мы использовали ингибитор форминов SMIFH2. Обработку ингибитором производили во время дробления и на стадиях гастрюлы-нейрулы (стадии формирования и работы лево-правого организатора). Далее мы изучали:

- 1) паттерны экспрессии мРНК *nodal1* и *pitx2* в качестве маркеров установления асимметрии на стадии вылупления;
- 2) морфологию асимметричных органов - сердца и кишечника - у головастиков;
- 3) морфологию и молекулярную разметку крыши гастроцеля (лево-правого организатора) методами сканирующей электронной микроскопии, гистологии, световой микроскопии и гибридизации *in situ*.

Мы показали, что ингибирование работы форминов на стадиях дробления дробления не приводило к изменению паттернов экспрессии *nodal* и *pitx2*, к изменению морфологии висцеральных органов и не нарушало морфологию и молекулярную разметку лево-правого организатора. Воздействие во время гастрюляции и ранней нейруляции приводило к достоверным нарушениям экспрессии *nodal* и *pitx2* и гетеротаксии органов у головастиков. Также было нарушено развитие лево-правого организатора: краевые зоны лево-правого организатора, отвечающие за восприятие левонаправленного тока жидкости, оказывались преждевременно перекрыты окружающими энтодермальными структурами.

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу гипотезы становления лево-правой асимметрии у амфибий в результате функционирования левонаправленного тока жидкости на стадиях нейруляции и важной роли цитоскелета в этом процессе.

Работа выполнена при поддержке научного проекта государственного задания МГУ No 121032300066-4.

Изучение клеточных взаимодействий в дистальном сегменте седалищного нерва крысы после механической травмы и применения клеточной терапии

Е.С. Петрова*¹, Е.А. Колос¹

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

* *iempes@yandex.ru*

В ранние сроки после повреждения нерва в его дистальном сегменте происходит комплекс клеточных реакций, обеспечивающих дегенерацию и последующую регенерацию нервных волокон. В дистальном сегменте развиваются процессы валлеровской дегенерации: разрушение аксонов, их демиелинизация, миграция гематогенных макрофагов, фагоцитоз продуктов распада миелина, дедифференцировка шванновских клеток и др. В качестве новых способов стимуляции регенерации поврежденных нервов в настоящее время широко применяются экспериментальные методы генной и клеточной терапии. Механизмы влияния такой терапии на репаративные процессы, происходящие в поврежденном нерве, остаются малоизученными. Настоящее исследование посвящено изучению реакции макрофагов и тучных клеток эндоневрия седалищного нерва крысы на повреждение и введение мезенхимных стволовых клеток (МСК). МСК костного мозга крыс линии Вистар-Киото были получены в ООО «Транстехнологии» (СПб). Седалищные нервы крыс той же линии (n=16) повреждали путем наложения лигатуры (40 с). Подопытным животным субперинеурально вводили суспензию МСК (5x10⁴ клеток в 5 мкл среды). Контрольной группой служили крысы, которым после наложения лигатуры вводили культуральную среду в том же объеме. Идентификацию макрофагов осуществляли с помощью иммуногистохимического выявления кальций-связывающего белка Iba-1 (маркера фагоцитирующих мононуклеарных клеток) на парафиновых срезах. В дистальном сегменте нерва реципиента определяли площадь, занимаемую Iba-1+ клетками. Показано, что через 7 сут после наложения лигатуры в дистальном сегменте нерва резко увеличивается количество макрофагов. Это наблюдение подтверждает известный факт повышения числа гематогенных макрофагов в дистальном сегменте нерва через неделю после передавливания. Сравнительное исследование площади, занимаемой иммунореактивными клетками, в группе крыс с лигатурой и в группе крыс, которым после наложения лигатуры трансплантировали МСК, показало, что однократное введение суспензии МСК приводит к снижению количества Iba-1+ макрофагов. Тучные клетки изучали с помощью гистохимической окраски толуидиновым синим, позволяющей выявлять популяцию зрелых гранулированных тучных клеток. Оказалось, что однократное субперинеуральное введение МСК в поврежденный нервный ствол приводит к снижению плотности популяции зрелых тучных клеток в дистальном сегменте нерва почти в два раза (p<0.05) по сравнению с контролем. Полученные данные об уменьшении плотности популяции воспалительных клеток (макрофагов и тучных клеток) свидетельствуют об изменении процессов валлеровской дегенерации в нерве реципиента после однократной субперинеуральной трансплантации МСК. Следствием этого может быть нарушение регенерации нервных волокон. Этот вопрос требует дальнейших исследований.

Разнообразие раннего развития морских пауков (Pycnogonidae), предварительные данные

М.А. Петрова*¹, Е.В. Богомолова¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *mashkaromashka225@gmail.com*

Морские пауки – базальная ветвь хелицерных. Исходным для пикногонид является развитие с экзотрофной свободноживущей личинкой, но у ряда форм прослеживаются два пути модификации развития: 1) миниатюризация яиц и личинок, переход к ларвальному паразитизму; 2) увеличение размеров яиц и лецитотрофность. Разнообразие постэмбрионального развития пикногонид описано относительно подробно, но эмбриологические исследования преимущественно выполнены в конце 19

– начале 20 века и на видах со свободноживущими личинками. Описание эмбриогенеза морских пауков с разными типами постэмбрионального развития необходимо для понимания эволюции онтогенеза пикногонид и всех хелицеровых. В данной работе методами КЛСМ и световой микроскопии изучали раннее развитие вида с миниатюрными личинками *Phoxichilidium femoratum* (Rathke, 1799) (Phoxichilidiidae) и двух видов с лецитотрофными личинками: *Nymphon grossipes* (Fabricius, 1780) (Nymphonidae) и *Pseudopallene spinipes* (Fabricius, 1780) (Callipallenidae).

Дробление *Ph. femoratum* полное, равномерное, бластомеры пирамидальные, бластоцель отсутствует. Гастрюляция начинается на стадии 63 бластомеров с иммиграции единственной клетки. Поздняя гастрюла имеет вид шара с эктодермой из призматических клеток и энтодермой из изодиаметрических, плотно прилегающих друг к другу клеток. Зародышевый диск не формируется, стомодеум и конечности закладываются сразу после гастрюляции. Значимых различий между ранним развитием *Ph. femoratum* и видами со свободноживущими личинками не обнаружено.

Дробление *N. grossipes* полное, равномерное. Гастрюляция начинается на стадии около 60 клеток. Поздняя гастрюла имеет форму шара с эктодермой из кубических клеток и энтодермой из клеток неправильной формы. За счёт изменения формы и неравных делений клеток эктодермы формируется зародышевый диск, и лишь затем в его пределах закладываются стомодеум и конечности.

У *P. spinipes* ядро зиготы смещено от центра, дробление начинается как неравное, однако уже на стадии 16 бластомеров разница в размере клеток сглаживается. По литературным данным, дробление у других представителей Callipallenidae неравномерное с первого деления и до гастрюляции. До начала формирования стомодеума и конечностей формируется зародышевый диск.

При сопоставлении полученных нами и литературных данных видно, что при миниатюризации личинок и яиц раннее развитие морских пауков не изменяется. У видов с крупными яйцами раннее развитие изменено тем сильнее, чем ярче проявляется тенденция к лецитотрофности и эмбрионизации развития. У *N. grossipes* постэмбриональное развитие отличается от исходного типа только размерами и способом питания личинок, а раннее развитие – только формированием зародышевого диска до закладки стомодеума. У Callipallenidae, развитие эмбрионизовано, вылупляется продвинутая постличинка. Изменения в эмбриональном развитии Callipallenidae затрагивают все ранние стадии, начиная с дробления.

Авторы благодарят водолазов ББС МГУ за помощь в сборе материала и Елену Евгеньевну Воронежскую за советы по методам работы.

Саморганализация ансамбля верхушечных клеток растущей вегетативной гифы *Neurospora crassa*

Т.В. Потапова*¹

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* potapova@belozersky.msu.ru

При анализе механизмов, с помощью которых на активность генома может влиять структурно-функциональная организация клетки, уместно опираться на хемиосмотическую логику, которая постулирует использование живой клеткой мембранного электрогенеза и электрических кабельных свойств для разделения в пространстве молекулярных и ионных событий, связанных с извлечением энергии из внешних или внутренних источников и с ее использованием для совершения разных видов работы, полезных для клетки. Связь энергетики живой клетки с мембранным электрогенезом и наличие диффузионных и электрических взаимодействий между клетками через проницаемые контакты (ПК) позволяет создавать за счет пространственного разделения в мембранах соседних клеток генераторов и потребителей энергии мембранного потенциала (МП) локальные электрические поля, способные влиять на самоорганизацию внутриклеточных структур. Удобная модель для исследования этого явления - вегетативная гифа мицелиального гриба *Neurospora crassa*, многоядерные сегменты которой длиной 50-100 мкм разделены септами и сообщаются через ПК — септальные поры. Развивается гифа

N. crassa путем поляризованного верхушечного роста (ВР) - векторного удлинения верхушки со скоростью 20 — 30 мкм/мин и периодического образования ветвей, которые также удлиняются на верхушках и ветвятся. Верхушка растущей гифы — высокоупорядоченный многоклеточный ансамбль, у которого: 1) первая септальная перегородка образуется не ближе ~165 мкм от апикуса; 2) H⁺-АТФ-азы (основные генераторы МП у *N. crassa*) встраиваются в плазматические мембраны не ближе ~120 мкм от апикуса; 3) на передних 150—200 мкм гифы МП существенно ниже, чем в дистальной части гифы; 4) на переднем участке длиной 100—150 мкм принципиально меняется характер движения микротрубочек: они ориентируются строго параллельно оси гифы и перемещаются уже не потоком цитоплазмы, а с помощью собственной векторной сборки–разборки, требующей расхода АТФ; 5) на расстоянии 20—30 мкм от апикуса концентрируются нитевидные митохондрии; 6) передние 20—30 мкм - зона, свободная от ядер. С помощью внутриклеточных микроэлектродов мы оценили напряженность электрического поля вдоль переднего конца гифы: 100 В/м. Интересно использовать для выяснения деталей самоорганизации верхушечного ансамбля как экспериментальную модель изолированные от мицелия верхушки гиф длиной ~400 мкм, которые после операции продолжают рост с прежней ориентацией, но с уменьшением диаметра и скорости удлинения, что удобно для количественной оценки параметров флуоресценции. В отличие от ВР гиф, связанных с мицелием, у такой модели нарушена ритмичность ветвления с появлением аномально больших межузловых расстояний.

Работа выполнена по государственной программе № 0120. 0 894191.

Особенности распределения ГАМК- и нитроксидазических структур субфорникального органа крыс-самцов породы Вистар в раннем постнатальном развитии

В.А. Разенкова*¹, Д.Э. Коржевский¹

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

* *valeriya.raz@yandex.ru*

Субфорникальный орган (СФО) расположен вблизи третьего желудочка и относится к циркумвентрикулярным органам нервной системы. С помощью гуморальных сигналов, поступающих в СФО через сеть фенестрированных капилляров, он регулирует энергетический и водно-солевой баланс организма. Несмотря на растущий интерес к исследованию физиологических функций СФО, организация и взаимодействие его тканевых компонентов остаются малоизученными. В связи с этим, целью настоящего исследования стало изучение ГАМК- и нитроксидазической систем СФО с применением методов иммуногистохимии (ИГХ).

Исследование выполнено на 7-дневных (P7), 14-дневных (P14) и половозрелых (4-6 мес) самцах крыс породы Вистар (n=9). Для выявления ГАМК- и нитроксидазических структур головного мозга использовали поликлональные кроличьи антитела к GAD67 и NO-синтазе (NOS) (Spring BioScience, США). Анализ и фотографирование препаратов проводили с использованием микроскопа Leica DM750 и камеры ICC50 (Leica, Германия).

ИГХ реакция на GAD67 у крыс P7 позволила выявить тела и отростки ГАМК-ергических клеток. Популяция клеток немногочисленна, клетки располагаются преимущественно в латеральных частях СФО и вблизи покрывающих орган клеток. NOS у P7 локализована в цитоплазме, но не в отростках клеток. Клетки расположены преимущественно в латеральной части, в субэпендимной зоне и вокруг септальных вен СФО. К сроку P14 ГАМК-ергические синаптические терминалы распределены равномерно в составе органа, и отростки GAD67-положительных клеток нельзя проследить на всей их протяженности. Наблюдали терминалы в контакте с эпендимным пластом и непосредственно с ликвором. Большинство клеток СФО у P14 синтезируют NO-синтазу. В толще нейропилия можно различить NOS-положительные отростки и синаптические терминалы, а отдельные отростки оплетают кровеносные сосуды. В латеральных частях располагаются преимущественно терминалы, но не тела NOS-содержащих клеток. NOS-положительные клетки на этом сроке можно разделить на две популяции в зависимости от интенсивности реакции: клетки с интенсивной реакцией и клетки с реакцией средней интенсивности. У взрослых животных отмечали интенсивную ГАМК-ергическую иннервацию СФО. На этом сроке наблюдали слабоокрашенные NOS-содержащие клетки. Клетки с интенсивной реакцией на

NO-синтазу располагаются вблизи кровеносных сосудов, в дорсальной части органа и в субэпендимной зоне.

Полученные данные характеризуют изменения активности ГАМК- и нитроксидазной систем СФО в ходе развития. Наличие GAD67 в отростках клеток у крыс P7 может говорить о сниженной скорости транспорта фермента на этом сроке по сравнению с другими возрастными группами. Созревание NOS-положительных клеток СФО происходит постепенно в ходе постнатального развития. Наличие в СФО разных популяций NOS-содержащих клеток свидетельствует об их различном функциональном статусе.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда, проект № 22-25-00105, <https://rscf.ru/project/22-25-00105/>

Об общих примордиях у покрытосеменных растений

М.В. Ремизова*¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* margarita.remizowa@gmail.com

Наличие общих примордиев – это проявление гетерохроний в развитии цветка, благодаря чему одновременно закладываются разноименные органы, расположенные на одном радиусе или одном секторе флоральной меристемы. Понятием «общий примордий» в литературе по морфогенезу цветка пользуются очень часто, но внятного определения термина до сих пор не было предложено, из-за чего применяют его крайне непоследовательно. Феномен общих примордиев не очень понятен в морфогенетическом и эволюционном контексте. Необходимо отметить, что и выявление общих примордиев на практике иногда затруднительно.

Мы предлагаем рассматривать общие примордии как вариант одновременного заложения разноименных органов, лежащих на одном радиусе и принадлежащих одному сектору флоральной меристемы. Для визуального выявления общих примордиев необходимо, чтобы органы в составе общего примордия развивались из единого массива меристематической ткани. Под выдвинутый нами критерий попадают две принципиально разные ситуации: 1) на общем примордии с изначально ровной поверхностью по мере его роста появляется горизонтальное углубление, разделяющее формирующиеся органы и 2) у общего примордия с самого начала присутствует углубление или ложбинка, разделяющая примордий на части. Эти варианты можно выделить в качестве типов. Вариант 1 равнозначен появлению на первичном примордии вторичных примордиев. Вариант 2, который чаще всего и наблюдается, можно интерпретировать как два «слипшихся» примордия, именно этот паттерн вызывает наибольшие проблемы, поскольку бывает довольно трудно решить, видны ли два отдельных или два слившихся примордия.

Нам представляется возможным рассмотреть общие примордии в контексте конгенитального срастания. Первый тип общих примордиев, несомненно, можно отнести к раннему конгенитальному срастанию, так как сначала появляется общая часть, на которой затем закладываются свободные верхушки органов. Второй тип общих примордиев из-за того, что изначально видны верхушки развивающихся органов, больше похож на позднее конгенитальное срастание. Отличие общих примордиев от прочих случаев конгенитального срастания (когда срастаются органы в пределах круга) состоит в том, что общая часть зачастую остается очень короткой и в зрелом цветке практически неразличима.

Заложению общими примордиями чаще подвержены примордии внутренних тычинок и элементов околоцветника, но не допустим плодolistиков и наружных тычинок или каких-либо иных органов цветка. Более того, гинецей вообще исключен из подобных преобразований. Вероятно, гинецей – более автономная часть цветка, развитию которой не должны мешать другие органы.

Предпосылками для формирования общих примордиев, на наш взгляд, в первую очередь являются одинаковые тангентальные размеры органов и одновременное заложение органов в пределах круга (для органов, которые будут развиваться из общих примордиев). Гетерохрония в развитии цветка,

связанная с формированием общих примордиев, может проявиться только при соблюдении этих двух условий.

РНФ 19-14-00055П.

План строения многоклеточных животных и молекулярно-генетические механизмы его формирования в онтогенезе и эволюции

С.В. Рожнов*¹

¹ Палеонтологический институт им. А.А. Борисяка РАН, Москва, Россия

* *rozhnov@paleo.ru*

В эволюционной биологии развития план строения многоклеточных животных определяют как особое пространственное расположение и морфология частей тела, а также общая анатомическая характеристика, например, наличие головы или сегментации. Столь общее определение требует сравнительно эмбриологического анализа на основе выявления в онтогенезе так называемых узлов сходства. Такой анализ показывает, что план строения сложно организованного животного представляет собой иерархическую систему сочетания планов строения разного таксономического уровня, соответствующую филогенетической иерархии («линнеевской лестнице») высших таксонов. Филогенетическая иерархия отражает и модель иерархической системы генной регуляторной сети, в которой выделяются эволюционно консервативные модули (kernels), определяющие устойчивость и постоянство уже возникших планов строения. Данные сравнительной геномики свидетельствуют о том, что большая часть молекулярного инструментария, определяющего план строения животных, появилась уже у общего предка Metazoa. Формирование планов строения того или иного таксономического уровня могло происходить взрывообразно, о чем свидетельствуют палеонтологические данные (кембрийский эволюционный взрыв появления типов, великая ордовикская эволюционная радиация с почти последним появлением классов). Архаическое многообразие при возникновении высших таксонов, выявляющееся у ископаемых животных и у некоторых современных форм, характеризуется необычным проявлением изменчивости стабильных морфологических признаков будущего высокого ранга. Это дает возможность предположить формирование иерархии генетических регуляторных систем на основе ее легко изменяющейся периферии, формирующей адаптивные признаки, обычно имеющие широкую изменчивость. В ходе эволюции часть из этих признаков стабилизируется и их формирование в онтогенезе более жестко коррелируется с другими признаками. Формирующие их регуляторные механизмы уходят вглубь сети и образуют новый, эволюционно устойчивый kernel, отвечающий за становление нового плана строения и встраивающийся в иерархическую систему ранее сформировавшихся kernelей. Иерархическая система планов строения нарастает, расширяется. Обеспечивающая ее формирование генная регуляторная сеть усложняется и одновременно оптимизируется, ее цепи и узлы модифицируются, что маскирует их эволюционную историю. С такой точки зрения появившийся на докембрийской заре многоклеточных животных план строения не был детализирован в виде планов строения типов и надтипов, но обладающие им животные были обеспечены разнообразными структурами, часть которых стала стабильной генетической основой фенотипа появившихся в кембрии как быстро вымерших, так и доживших до современности типов. Весьма вероятно, что генная регуляторная сеть у животных докембрия была весьма обширной, обладая при этом относительно небольшой эволюционно устойчивой kernelьной частью.

Роль L-диоксифенилаланина в регуляции функциональной активности яичников млекопитающих

Г.А. Рубиновский*¹, Д.А. Никишин^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *rubinovskii.gregory@mail.ru*

L-Диоксифенилаланин (ДОФА) является предшественником в биосинтезе дофамина и других катехоламинов. За последние десятилетия было накоплено множество данных о том, что ДОФА является не просто промежуточным продуктом биосинтеза катехоламинов, но имеет и свою собственную сигнальную функцию. Целью нашей работы стало изучение роли ДОФА в регуляции функциональной активности яичников в норме и при синдроме поликистозных яичников.

В ходе исследования нами были получены данные об экспрессии фермента синтеза ДОФА тирозингидроксилазы (ТН) в яичниках мышей *Mus musculus*. По литературным данным анализа тканеспецифичной экспрессии мРНК, транскрипты ТН идентифицируются в ткани яичника человека (0.7 nTPM) и мыши (1,062 RPKM). Анализ транскриптомных данных динамики экспрессии генов в оогенезе и раннем развитии выявил, что как у мыши, так и у человека максимальный уровень экспрессии ТН наблюдается в ооцитах примордиальных фолликулов и снижается по мере созревания и раннего развития. Так, у человека транскрипты ТН выявляются на минимальном уровне уже к преовуляторным стадиям оогенеза, а у мыши экспрессия ТН сохраняется до стадии 2 бластомеров, после чего резко снижается. Проведенный нами анализ экспрессии белка ТН, выполненный методом Вестерн-блоттинга, показал присутствие фермента как в ооцитах, так и в фолликулярных клетках мыши. Иммуногистохимическое окрашивание криосрезов яичников с последующим анализом результатов при помощи лазерной сканирующей конфокальной микроскопии показал, что в наибольшей степени ТН локализуется в ооцитах растущих овариальных фолликулов. С учетом показанным ранее отсутствием активности декарбоксилазы ароматических аминокислот, которая использует ДОФА как субстрат для синтеза дофамина, наличие экспрессии ТН в яичнике указывает на возможную роль ДОФА в регуляции его функции.

В пользу данного предположения также говорит экспрессия рецептора ДОФА GPR143. Согласно результатам анализа транскриптомных данных экспрессии генов в ооцитах и фолликулярных клетках на последовательных стадиях фолликулогенеза человека, транскрипты гена GPR143 выявляются в ооцитах на всех стадиях созревания, от примордиальных до преовуляторных фолликулов, причем максимальный уровень экспрессии гена наблюдается в антральных фолликулах. Довольно высокий уровень экспрессии (RQ 0.3-0.7 относительно RPS18) и наблюдаемая динамика свидетельствуют о возможной активности данного рецептора на поздних стадиях оогенеза, предшествующих овуляции. В дальнейших экспериментах с применением ингибитора ТН планируется выявить роль ДОФА в регуляции фолликуло- и оогенеза.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН 2020 года № 0108-2019-0003 и при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-04-00303.

Модель дифференцировки эмбриональных телец из ИПСК человека в кожные органоиды

А.А. Рябинин*¹, Е.П. Калабушева¹, Е.А. Воротеляк¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* andrey951233@mail.ru

Актуальной задачей для современной регенеративной медицины и клеточной биологии является разработка технологий генерации *in vitro* и пересадки живых эквивалентов кожи (ЖЭК), которые могут быть использованы для ускоренной регенерации повреждений кожи, а также в качестве модели для изучения морфогенеза кожи и для тестирования различных препаратов и физических воздействий в фармакологии. Современным подходом к получению ЖЭК является генерация кожных органоидов из ИПСК человека, которые могут быть получены из любых аутологичных соматических клеток. Помимо этого, дифференцировка ИПСК в трехмерных органных структурах в теории могут быть использованы как модели эмбрионального развития соответствующих органов и тканей.

Целью нашей работы было получение кожных органоидов, содержащих в своей структуре ВФ, *in vitro*, без использования сыворотки, инструментов генетической модификации и антибиотиков, в результате направленной дифференцировки эмбриональных телец из ИПСК, и изучение активности белка YAP в различных структурах кожных органоидов в ходе их морфогенеза. В процессе

дифференцировки на разных временных точках (15 дней, 30 дней, 110 дней после начала дифференцировки) органоиды фиксировали и использовали для выявления маркеров различных субпопуляций клеток, характерных для конкретной стадии развития кожи, при помощи ИГХ методов. После почти 4 месяцев развития органоидов были выявлены ВФ, клетки в составе которых экспрессировали маркер стержня волоса AE13, маркер волосяного влагалища K71, маркеры эпителиальных клеток Е-кадгерин, также в составе структуры ВФ по экспрессии α ГМА были выявлены гладкомышечные клетки, участвующие в подъеме волоса. Помимо этого на всех стадиях была выявлена активность белка YAP.

В ходе дифференцировки эмбриональных телец удалось получить кожные органоиды с ВФ. В полученных органоидах на разных стадиях их развития была изучена активность белка YAP. В дальнейшем планируется продолжить изучение морфогенеза кожи на данной модели.

Исследование было поддержано грантом РФФИ № 21-74-30015.

Количественное измерение прогрессивного развития – возможно!

Г.А. Савостьянов*¹

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

* *genasav38@mail.ru*

Фундаментальная проблема количественной оценки меры развития организмов до сих пор остается нерешенной. Со времен Мильн-Эдвардса и Дарвина эту меру пытались связывать с достигнутой организмом степенью разделения труда. Однако пока такие представления носят качественный характер. Для решения этой проблемы нами был проведен формализованный анализ процедуры разделения труда и построены математические модели элементарных единиц многоклеточности. В докладе предлагаются вытекающие из этого анализа параметры, пригодные для количественного измерения развития.

Основные понятия для анализа разделения труда. 1) Число L и набор функций, подлежащих разделению; 2) набор исполнителей функций (клетки); 3) исходный организм: клетка, выполняющая набор L функций в режиме автономного выживания; 4) элементарные акты развития: приобретение потенций в результате ароморфозов и реализация потенций путем специализации в результате идиоадаптаций; 5) интеграция специализированных клеток в клеточные сообщества – гистионы, являющиеся элементарными единицами многоклеточности. Гистион – это новый объект биологии развития, возникающий в результате разделения функций между клетками и представляющий самостоятельный уровень организации между уровнями клеток и тканей.

Основные параметры гистиона: L показывает общее число функций; m – число функций, приобретших потенции, а n – число функций, реализовавших потенции, или – число типов клеточной специализации. Все эти параметры в принципе можно определять экспериментально.

С помощью основных параметров можно получать и остальные. Так, общее число потенций S у гистиона определяется как $S=1/2(m+1)m$, а общее число актов его развития N определяется как $N=1/2(m+1)m+n$. Последний параметр и является тем искомым параметром, который позволяет проводить количественное измерение прогрессивного развития на основе разделения труда.

Предлагается аксиоматика, регламентирующая процессы специализации и интеграции, а также алгоритм развития, позволяющий вычислять множество всех гистионов, разрешенных принятыми аксиомами. При этом параметр N позволил обнаружить закон сохранения потенций, объясняющий возникновение стволовых клеток, а также закон периодического развития гистионов. На их основании построена параметрическая классификация гистионов в виде трехмерной периодической таблицы (Савостьянов, 2020). Ее формальной основой является треугольник Паскаля. Таблица позволяет прогнозировать развитие и может служить математической моделью для построения подобных систем для реальных организмов, если их развитие основано на разделении труда.

Предложенные параметры позволяют измерять развитие реальных организмов путем определения величины их N , даются примеры такого измерения. Верно и обратное: по величине N можно определять m и n гистионов и их структуру, а также число их потенциалов.

Построенную теорию разделения труда можно рассматривать как формализованное продолжение номогенеза.

Экспозиция в течение 80 часов в условиях симулированной невесомости приводит к увеличению скорости клеточного дыхания яичников *Drosophila melanogaster*

М.А. Свентицкая*¹, И.В. Огнева¹

¹ Государственный научный центр РФ - Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

* usik.maria@mail.ru

Среди ряда негативных факторов, которые могут воздействовать на организм во время космического полета за пределы магнитосферы Земли, выделяют ионизирующее излучение, гипомагнитные условия, а также невесомость. Невесомость заслуживает особого внимания ввиду технической исключительно сложно реализуемого метода протекции. Женская репродуктивная система может быть особенно уязвима для различных негативных факторов из-за ограниченного запаса первичных половых клеток, в частности, у человека. Однако, в целом, женские половые клетки и органы в условиях невесомости практически не изучены.

Целью нашего исследования был анализ скорости клеточного дыхания для оценки функционального состояния митохондриального аппарата яичников плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, полный цикл оогенеза которой прошел в условиях моделированной микрогравитации (в течение 80 часов). Скорость клеточного дыхания определяли с помощью метода полярографии, а относительное содержание белков, являющихся компонентами III-V комплексов дыхательной цепи, методом вестерн-блоттинга. Все процедуры с животными были одобрены комиссией по биомедицинской этике ГНЦ РФ – ИМБП РАН (протокол № 521 от 25. 09. 2019).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что после полного цикла оогенеза в условиях моделируемой микрогравитации скорость клеточного дыхания пермеабиллизированных яичников *Drosophila melanogaster* была выше по сравнению с контрольной группой на 210% ($p < 0,05$). Аналогично, были выше скорость клеточного дыхания при добавлении субстратов (10 мМ глутамата + 5 мМ малата) на 161% ($p < 0,05$) и максимальная скорость дыхания при добавлении 2 мМ АДФ на 161% ($p < 0,05$). Субстрат-ингибиторный анализ показал, что после ингибирования первого комплекса дыхательной цепи 0,5 мкМ ротенона и последующего добавления субстрата комплекса II (10 мМ сукцината) скорость клеточного дыхания также выше, чем в контрольной группе на 72% ($p < 0,05$). При этом после ингибирования комплекса III 5 мкМ антимицина и добавления искусственных субстратов комплекса IV (0,5 мМ TMPD + 2 мМ аскорбата) скорость поглощения кислорода в группе моделированной микрогравитации не отличалась от контрольной группы. При этом изменений площади ооцитов или содержания белков дыхательной цепи обнаружено не было.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что скорость клеточного дыхания яичников плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, полный цикл оогенеза которой прошел в условиях моделированной микрогравитации, увеличивается, по-видимому, за счет второго комплекса дыхательной цепи.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ – ИМБП РАН 65.4.

Роль актомиозинового сокращения и его регуляторов в репаративных морфогенезах известковых губок

К.В. Скоренцева*¹, Н.П. Мельников², А.А. Саидова², А.В. Ересковский^{1,3}, А.И. Лавров²

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

*skorentseva.ksenya.2016@post.bio.msu.ru

Заживление ран у многоклеточных животных представляет собой серию скоординированных перемещений и трансформаций клеточных пластов и миграции отдельных клеток, имеющих значительное сходство с морфогенетическими процессами в эмбриогенезе. Особенно это сходство проявляется на уровне реорганизации цитоскелета, в первую очередь – актиновых филаментов и микротрубочек, что обеспечивается крайне консервативной системой регуляции: белками из семейства малых ГТФаз Rho и их эффекторами.

Губки (тип Porifera) являются базальными многоклеточными животными, сестринской группой к иным представителям Eumetazoa. Это, в совокупности с их выдающимися способностями к регенерации, делает губок перспективными объектами для изучения разных аспектов морфогенетических процессов. Например, для выявления функциональной роли систем цитоскелета в морфогенезах.

В данной работе мы приводим качественный и количественный анализ трансформаций клеток, сопровождающих эпителиальный репаративный морфогенез у известковой губки *Leucosolenia variabilis*. Описаны структуры, образуемые актиновыми филаментами в клеточных пластах экзопинакодермы и хоанодермы, их реорганизация в ходе формирования регенеративной мембраны (PM), проведён функциональный анализ. Проанализированы компоненты Rho/ROCK сигнального каскада. Используются методы иммуноцитохимии, конфокальной микроскопии, ингибиторного и биоинформатического анализа и ПЦР-РВ.

Формирование PM носит нелинейный характер, сопровождается многочисленными ретракциями лидирующего края, вызванными его разрывами. Регенеративная мембрана является трёхслойной структурой, состоящей из трансформированных (относительно интактной стенки тела) клеточных пластов экзопинакодермы и хоанодермы – внешнего и внутреннего слоёв соответственно, между которыми залегает мезохил, содержащий одиночные подвижные клетки.

На лидирующем крае PM формируется актомиозиновый кабель, с характерным прерывистым паттерном колокализации немышечного миозина II типа на пучках актиновых филаментов. Функциональный анализ с использованием ингибиторов (латрункулин В, блеббистатин) демонстрирует, что формирование PM зависит как от сократительной активности кабеля, так и от изменения морфологии экзо- и хоаноцитов. Добавление ингибиторов нарушает динамику формирования PM, препятствует её росту, вызывает её разборку.

У *L. variabilis* найдены компоненты Rho/ROCK сигнального каскада и описана их консервативная доменная структура. Показана экспрессия найденных ортологов на уровне мРНК в интактных тканях и в PM, достоверных различий в экспрессии не найдено.

В работе проведён анализ актиновых структур в интактных тканях и PM у представителя типа Porifera, продемонстрирована их функциональная роль и возможные механизмы регуляции. Полученные результаты позволят в дальнейшем провести сравнительный анализ морфогенетических процессов как у других видов губок, так и у иных представителей базальных многоклеточных, что в перспективе расширит наши знания о ходе эволюции механизмов морфогенеза.

Работа поддержана грантом РФФИ №21-54-15006.

Анализ генных регуляторных сетей одиночных клеток в поисках коктейлей для специфической клеточной дифференциации на примере поджелудочной железы

В.В. Соколов*¹, Р.А. Романов¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* vasyasokol@list.ru

Исследование факторов влияющих на дифференцировку клеточных типов – перспективное направление, имеющее большое значение для науки и медицины. Наборы транскрипционных факторов, отобранные в таких исследованиях, позволяют управлять дифференцировкой стволовых клеток в желаемые клеточные типы или производить редифференцировку каких-либо взрослых клеток в такие клеточные типы. Технология работы с одиночными клетками увеличивает точность подбора подобных наборов по сравнению с анализом фрагментов исследуемой ткани, содержащих различные клеточные типы.

В нашей работе мы анализируем генные регуляторные сети одиночных клеток поджелудочной железы человека, используя ранее опубликованные наборы данных. Целью исследования является поиск набора транскрипционных факторов позволяющих управлять редифференцировкой различных клеток имеющих энтодермальное происхождение в бета-подобные клетки поджелудочной железы, выделяющие гормон инсулин, реагируя при этом на концентрацию глюкозы во внешней среде. Наборы данных одиночных клеток, полученные от 4 доноров, были интегрированы между собой, клетки разделялись на кластеры в соответствии с особенностями генной экспрессии и им присваивались предполагаемые клеточные типы. В дальнейшем проводился анализ регуляторных генных сетей при помощи конвейера SCENIC. После 50 итераций программы, полученные данные объединялись между всеми итерациями. Отбирались регулоны присутствующие в 20% итерациях, и их таргетные гены с аналогичной частотой присутствия. На основании полученных наборов регулонов производилась иерархическая кластеризация (построение дендрограммы) при помощи алгоритма UPGMA, с анализом общих и индивидуальных регулонов для различных клеточных типов. В результате были отобраны наборы регулонов имеющие ассоциацию с ранней дифференцировкой клеток поджелудочной железы на эндокринные и неэндокринные типы, а так же наборы ассоциированные с последующей дифференцировкой внутри этих клеточных типов.

075-15-2021-1075 "Использование генетических технологий для поиска биомаркеров, моделирования и терапии заболеваний человека". Руководитель работ: Воротеяк Екатерина Андреевна.

Происхождение злаков как пример возникновения новой группы

Д.Д. Соколов*¹, К.И. Фомичев¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* sokoloff-v@ya.ru

Происхождение новых крупных таксономических групп с хорошо выраженными синдромами морфологических признаков – важная проблема эволюционной биологии. В ботанике хорошо известна и далека от разгадки проблема возникновения покрытосеменных. Представляет интерес ее рассмотрение в сравнении с проблемой возникновения одной из ярких групп в пределах покрытосеменных – злаков. Покрытосеменные – несомненно семенные растения. Злаки – несомненно однодольные покрытосеменные. Синдромы признаков покрытосеменных в целом и злаков как части покрытосеменных в общих чертах поддаются функциональной интерпретации, а диверсификация этих групп имела огромное значение для становления облика природы современной суши. Морфологическая интерпретация и сценарий возникновения цветка покрытосеменных и цветка злаков – классические проблемы эволюционной ботаники. Так как злаки возникли позже, чем покрытосеменные, в современной флоре сохранились родственные формы, формирующие ясно выраженную граду при основании филогенетического древа злаков. Именно сравнение с этими внешними группами позволяет доказать, что верхняя цветковая чешуя и лодукулы злаков – части околоцветника, а типичный пестик злака состоит из одного фертильного плодолистика без рыльца и двух стерильных, образующих рыльца. Пестик злаков оказался настолько интегрированной структурой, что разгадать его природу на материале по одним только злакам невозможно, а некоторые его преобразования, имевшие место в ходе эволюции злаков, можно было бы а priori считать «запрещенными». Это подчеркивает важность надежного установления внешних групп и сравнения с ними для понимания морфологической природы цветка покрытосеменных, а также необходимость учитывать возможность на первый взгляд «запрещенных» преобразований при его происхождении.

Работа поддержана грантом РФФИ, проект 19-14-00055-П.

Особенности организации паразитических личинок двустворчатых моллюсков *Unio pictorium* и *Anadonta cygnea* (Unionidae)

З.И. Старунова*¹, О.В. Зайцева¹, В.В. Старунов¹

¹ Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

* *z.starunova@gmail.com*

Пресноводные двустворчатые моллюски *Unio pictorium* и *Anadonta cygnea* в своем жизненном цикле имеют паразитическую личинку – глохидий. Взрослые моллюски *Anadonta* и *Unio* – широко распространенные свободноживущие фильтраторы. Для всех Unionidae характерно наличие глохидиев, которые поражают широкий спектр пресноводных рыб. Глохидии прикрепляются к жабрам, реже к коже взрослых рыб и их молоди. В отличие от свободноживущих личинок других двустворчатых глохидии имеют специализированное строение, сформировавшееся в связи с переходом к паразитизму. Особенности организации этих личинок представляют значительный интерес для понимания перестроек в онтогенезе, обусловленных переходом к личиночному паразитизму.

Личинок собирали в прудах г. Петергофа в период нереста. Полностью сформированные глохидии обоих видов четко отличаются по морфологическим признакам. Личинки *A. cygnea* крупные в среднем 350 мкм, раковина окрашена в желтоватый цвет, снаружи имеет пористую структуру, на вершине расположены зубцы. Личинки *U. pictorium* в среднем 200 мкм, раковина чаще бесцветная, покрыта порами и имеет зубцы по краю. Исследование проводили с помощью сканирующей электронной микроскопии и иммуногистохимии с использованием конфокального лазерного микроскопа Leica TCS SP5. У личинок до метаморфоза, который начинается при переходе к свободному образу жизни и оседанию на грунт, пищеварительная система отсутствует, питание осуществляется от хозяина через поры в раковине. Апикальный орган отсутствует, но имеются многочисленные ресничные структуры, выявляемые антителами к ацетилованному α -тубулину. У зубов на вершинах личиночной раковины с каждой стороны выявляется по три полицилиарные сенсорные клетки, около нескольких десятков моноцилиарных рецепторных клеток располагается диффузно по всей мантии, а также имеется ресничное поле вдоль мускула-замыкателя. Нервная система представлена зачатками трех пар ганглиев, в которых обнаруживается несколько пар 5-HT- и FMRФамид-иммунореактивных нейронов и аксоны расположенных на периферии рецепторных клеток. 5-HT-иммунореактивные нейроны иннервируют цилиарное поле, биссусные железы, мантию и частично мускулатуру. FMRФамид-иммунореактивные нейроны, осуществляют иннервацию почти всей мускулатуры, области зубцов и цилиарного поля. Среди рецепторных клеток мантии основная часть проявляет 5-HT-иммунореактивность. Клетки этого типа располагаются группами по две. Часть сенсорных клеток демонстрирует FMRФамид-положительную иммунореактивность. Эти клетки, скорее всего, выполняют осязательную функцию, которая необходимо при закреплении на хозяине с помощью зубцов. Предполагается, что среди моноцилиарных клеток мантии имеются хемо- и механорецепторные. Выявлен ряд отличий в расположении и морфологии рецепторных и нервных клеток у глохидиев разных видов моллюсков.

Работы выполнены в рамках темы госзадания № 122031100281-5 на оборудовании ЦКП «Таксон» ЗИН РАН и при использовании коллекционных материалов Зоологического института РАН (Санкт-Петербург, Россия).

Различия в динамике экспрессии генов сегментации дрозофилы на уровне мРНК и белка

С.Ю. Суркова*¹, М.А. Дук², В.В. Гурский², М.Г. Самсонова¹

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия;

² Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

* *sestr_sve@mail.ru*

До недавнего времени основным фактором, определяющим характер экспрессии генов на уровне белка, считалась динамика экспрессии мРНК. Однако анализ полногеномных данных во многих биологических системах выявил, что в среднем только в 40% случаев динамика концентраций белка может быть объяснена динамикой концентраций мРНК. В данной работе мы получили количественные данные по экспрессии генов *hunchback*, *giant* и *even skipped* в раннем эмбрионе *Drosophila melanogaster*, и сравнили их пространственно-временную динамику на уровне мРНК и белка. Для того, чтобы оценить, в каких случаях динамика концентраций белка определяется динамикой экспрессии мРНК, а в каких случаях задействованы механизмы пост-транскрипционной регуляции, мы применили математическое моделирование. Для каждого гена и условия (включающих генотип и область экспрессии гена) модель воспроизводит динамику экспрессии белка на основе картин экспрессии мРНК. На выходе модели мы получили наборы параметров, характеризующих синтез, диффузию и распад белка, а также, задержку появления молекул белка относительно молекул мРНК. В случае неоднородности значений параметров модели в зависимости от условий, мы считали, что различия в динамике экспрессии мРНК и белка могут быть обусловлены пост-транскрипционной регуляцией. Предложенный подход может применяться для предсказания регуляторных сценариев, определяющих различия в экспрессии генов на уровне мРНК и белка в раннем развитии других организмов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Научного центра мирового уровня «Передовые цифровые технологии» (соглашение № 075-15-2022-311 от 20 апреля 2022 года).

Картирование сателлитных последовательностей Tgut716A и Tgut191A на хромосомах типа ламповых щёток зебровой амадины *Taeniopygia guttata*

О.Д. Такки*¹, М.М. Кулак¹, С.А. Галкина¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* *st071188@student.spbu.ru*

Зебровая амадина *Taeniopygia guttata* - представитель семейства вьюрковых ткачиков (Aves, Passeriformes, Estrildidae), модельный объект нейробиологии, эндокринологии и эволюционной биологии. Кариотип зебровой амадины состоит из 8 пар макрохромосом, 31 пары микрохромосом, пары половых хромосом ZZ или ZW, а также дополнительной хромосомы, присутствующей только в клетках зародышевой линии (germ-line restricted chromosome, GRC). Наличие GRC в клетках зародышевого пути позволяет использовать зебровую амадину для изучения процесса элиминации хроматина и ранней дифференцировки клеток.

Ранее мы описали в геноме зебровой амадины два наиболее представленных сателлитных повтора Tgut716A и Tgut191A и картировали их в центромерных районах макрохромосом и на микрохромосомах. Соотношение повторов уникально для каждой пары хромосом, но сателлит Tgut191A наиболее представлен в макрохромосомах, а сателлит Tgut716A - в микрохромосомах. Похожие на Tgut716A и Tgut191A последовательности были также обнаружены в секвенированных геномах 5 представителей семейства Estrildidae и у 2 видов семейства Вдовушковых (Viduidae), отделившегося 15,5 миллионов лет назад от вьюрковых ткачиков.

Для того, чтобы определить точное положение на хромосомах двух сателлитов Tgut716A и Tgut191A мы картировали эти последовательности на хромосомах типа ламповых щеток, полученных из ядер ооцитов на стадии диплотены первой профазы мейоза. Хромосомы типа ламповых щеток состоят из конденсированных хромомеров и активно транскрибирующихся деконденсированных петель. Мы не наблюдали активной транскрипции сателлитов Tgut716A и Tgut191A в петлях хромосом типа

ламповых щеток. При картировании с высоким разрешением сателлитов Tgut716A и Tgut191A на микрохромосомах оказалось, что эти последовательности входят в состав не только центромерных, но и субтеломерных районов. Также мы выявили последовательность Tgut716A в беспетлевом участке GRC.

Наличие одинаковых повторов в центромерных и субтеломерных участках хромосом наблюдалось также у курицы и японского перепела. Это может свидетельствовать о том, что у многих представителей птиц гетерохроматин разных участков хромосом может быть представлен одинаковыми последовательностями.

Работу проводили в соответствии с этическими требованиями, что подтверждено заключением Этической комиссии СПбГУ № 131-03-3 от 01. 06. 2017. Работа поддержана грантом РФФИ №20-04-00967. Авторы выражают благодарность сотрудникам ресурсного центра «Хромас» Научного Парка СПбГУ за техническую поддержку.

Изменения хромосомных наборов в природе и эксперименте: слепушонки как модель для изучения эволюции видов-двойников

В.Г. Тамбовцева*¹, С.Н. Матвеевский², О.Л. Коломиец², А.С. Богданов¹, И.Ю. Баклушинская¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия;

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

* *tambovceva@idbras.ru*

Видообразование не всегда сопровождается морфологическими изменениями; все большее число видов-двойников – криптических близкородственных видов – описывается при использовании генетических методов. Виды-двойники слепушонок подрода *Ellobius* (*Ellobius talpinus*, *E. tancrei*, *E. alaicus*) различаются по числу и морфологии хромосом, при этом два последних вида демонстрируют разные варианты робертсоновских транслокаций (Rbs). При хромосомном видообразовании реорганизация генома начинается с хромосомных перестроек. Как мы обнаружили, в случае *E. talpinus* и *E. tancrei* таким изменением было возникновение нецентромеры, что привело к формированию субметацентрической хромосомы у последнего вида.

При изучении мейотической профазы I у межвидовых гибридов первого поколения впервые были обнаружены "растянутые" центромеры в тривалентах, так как точки прикрепления хромосом к ядерной оболочке удалены друг от друга, что, вероятно, обусловлено различным положением хромосомных территорий родительских видов. Эволюционная реорганизация структуры ядер у близких видов приводит к различным мейотическим нарушениям у стерильных межвидовых гибридов, что обеспечивает репродуктивную изоляцию *E. talpinus* и *E. tancrei*.

При моделировании процесса хромосомного видообразования в эксперименте мы показали, что в результате гибридизации возможно возникновение новых кариотипов с отличным от родительских числом и набором хромосом. В многолетнем эксперименте были получены 11 поколений гибридов от одной пары родителей, принадлежавших к хромосомным формам *E. tancrei* с одинаковым числом хромосом $2n=50$, но разным набором Rbs, из которых одна пара была гомологична по одному плечу. Ранее считалось, что монобрахиальная гомология ведет к стерильности гибридов, но у слепушонок резкое снижение плодовитости первого поколения компенсировалось в последующих. Действие мейотического драйва привело к появлению гомозигот с $2n=48-52$ (разные наборы Rbs) начиная со 2-го поколения, при этом обнаружена разная динамика наследования Rbs в 11 поколениях гибридов.

В природных популяциях *E. tancrei* ($2n=54-30$) и *E. alaicus* ($2n=52-48$) Памиро-Алая и Тянь-Шаня описана изменчивость хромосом робертсоновского типа. Фрагментация местообитаний в высокогорьях создает сложную мозаику распространения живущих колониями слепушонок, у которых наряду с быстрыми изменениями кариотипов, гибридизацией разных форм и видов нами обнаружена частично несовпадающая изменчивость митохондриального и ядерного геномов. Мы полагаем, что "мозаичность" и несоответствие паттернов полиморфизма являются свидетельством быстро идущих процессов видообразования в данной группе млекопитающих.

Онтогенез форонид и закономерности развития *Bilateria*

Е.Н. Темерева*¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *temereva@mail.ru*

Форониды - отдельный тип животного царства, представители которого демонстрируют уникальные черты строения и развития, сочетающие признаки первичноротости и вторичноротости. Есть мнение, что эти особенности форониды унаследовали от общего предка *Bilateria* и, таким образом, изучение онтогенеза форонид имеет значение для понимания путей ранней эволюции билатерально-симметричных животных. Дробление яйца у форонид может быть охарактеризовано как радиальное с некоторыми девиациями, зависящими от типа развития. Замыкание бластопора происходит сзади наперед и бластопор дает начало ротовому отверстию. Целомическая мезодерма формируется из двух зачатков - переднего и заднего. Два источника целомической мезодермы описаны в развитии других *Bilateria* и их наличие, по-видимому, является общей характерной чертой всех билатерально-симметричных животных. Ранняя личинка - актинотроха – имеет предротовую лопасть с проходящим по ее краю предротовым ресничным шнуром и постротовую часть, несущую постротовый ресничный шнур. Иннервация обоих ресничных шнуров возникает в развитии форонид одновременно, что подтверждает единство ресничного аппарата актинотрохи, который может быть гомологизирован с ресничным аппаратом личинок вторичноротых и первичноротых. Разрастание постротового ресничного шнура приводит к формированию личиночных щупалец. Появление первых серотонин-эргических нейронов происходит на стадии поздней гастролы; нервные клетки дифференцируются в эпителии апикальной пластинки – это будущий апикальный орган личинки. У компетентной личинки апикальный орган имеет сложное строение и сходен с таковым у личинок вторичноротых. Основной особенностью актинотрох является наличие метасомального мешка, который представляет собой глубокое впячивание покровов вентральной стороны тела. Метаморфоз начинается с резкого сокращения тела личинки в длину, что обеспечивается особыми мышцами ретракторами и приводит к выворачиванию метасомального мешка. В ходе катастрофического метаморфоза преоральная лопасть и апикальный орган поедаются ювенильным животным. Судьба щупалец у форонид различна, однако, во всех случаях личиночные щупальца претерпевают существенные перестройки. Туловище взрослого животного формируется из метасомального мешка и представляет собой разрастание вентральной стороны тела личинки. Вероятно, появление в онтогенезе подвижного мускулистого выроста брюшной стороны тела, используемого для закапывания в грунт, отражает эволюционный процесс формирования плана строения современных форонид. Эволюция жизненного цикла форонид может быть рассмотрена с позиций двух основных концепций: интеркалярной гипотезы и гипотезы терминального добавления. Вероятно, исходный жизненный цикл *Bilateria* включал стадию двухслойного донного взрослого существа и две пелагические радиально-симметричные стадии – бластулу и гастролу. У трехслойных билатерий происходит удлинение жизненного цикла за счет поднятия в толщу воды ювенильного животного – личинки.

Работа выполнена при поддержке РФФ (18-14-00082).

Эволюция полового диморфизма у некоторых древних *Glyptocythere* (*Ostracoda*, *Crustacea*) из средней юры Восточно-Европейской платформы

Е.М. Тесакова*^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Геологический институт РАН, Москва, Россия

* ostracon@rambler.ru

Ископаемые остракоды представлены минеральным скелетом (раковины или отдельные створки из кальцита), очень редко мумиями (замещение фосфатом или халцедоном) или инклюзами в янтаре. Долгая геологическая история (500 млнл) в сочетании с хорошо различимыми стадиями онтогенеза (ювенилии (juv.) разных возрастов, взрослые самки (♀) и самцы (♂)) делает остракод прекрасным объектом для изучения эволюции онтогенеза вида, но не организма – сброшенные во время линек juv. раковины невозможно соотнести с конкретной взрослой особью. Различия между ♀ и ♂ позволяют изучать эволюцию полового диморфизма (ПД), в т. ч. скорость и особенности развития ♀ и ♂. Гетерохронные сдвиги того или иного диморфного признака могут проявляться как на скелетах взрослых ♀ и ♂, так и juv. этого вида, в разное геологическое время (если полнота летописи позволяет это фиксировать). Но эволюцию ПД по скелетам ♀ и ♂ на ископаемом материале легче наблюдать в филогенезе.

Для некоторых видов рода *Glyptocythere* Brand et Malz из средней юры (поздний байос (b2) – ранний бат (bt1)) Западной и Восточной Европы реконструирована филогенетическая линия *G. tuberodentina* Brand et Malz in Br. et Fahrion (b2) → *G. losoviensis* Perm. (b2) → *G. aspera* (Khab.) (b2-bt1) → *G. bathonica* Tes. (bt1). Эти виды определяются по следующим признакам, различным у полов: контур и линейные размеры раковины, замок и скульптура. Северогерманский *G. tuberodentina* мигрировал в бассейн Днепровско-Донецкой впадины в позднем байосе с возникновением аллопатрического вида *G. losoviensis*, который отличался измельчением экземпляров и перестройкой замка у ♀ и стал предком восточноевропейской ветви. Размеры и замок *G. aspera* и *G. bathonica* (хронологические виды) отличались между собой гораздо меньше. Скульптура этой филолинии состоит из продольных и поперечных ребер, возникших на базе первичных ячеек. У ранних juv. хорошо сформированы поперечные ребра, а продольные представлены тонкими стенками ячеек и развивались позже – сначала как перемычки между поперечными, потом как продольные ребра. У *G. tuberodentina* и *G. losoviensis* поперечные ребра лучше развиты у juv. и ♀. Продольные перемычки весьма слабы у juv. (скульптура поперечно ребристая), у ♀ развиты хорошо (поперечно ребристая или сетчатая), у ♂ наиболее сильно (сетчатая). У *G. aspera* наибольшее развитие перемычек достигнуто ♀, сетчатая скульптура которых приблизилась к таковой ♂ предка, а у ♂ *G. aspera* наблюдался регресс в развитии этого признака, их ребристая скульптура сходна с juv. Вслед за ♂ *G. aspera*, ♀ *G. bathonica* вторично приобрели ребристую скульптуру, которая в результате сравнялась у полов этого вида. В эволюции скульптуры – с первоначальным усилением признака (развитие продольных ребер) и последующей его редукцией – наблюдалась “цикличность морфогенеза”, описанная Е.И. Шорниковым. Более раннее проявление этапов этого цикла у ♂ свидетельствует о разных темпах эволюции диморфных признаков у ♂ и ♀ этих видов.

Работа выполнена в рамках тем госзадания №№ 0135-2019-0062 (ГИН РАН) и АААА-А16-116033010096-8 (МГУ).

Активность мембранного транспортера серотонина SERT как показатель зрелости яйцеклеток млекопитающих

М.Д. Ткаченко^{*1}, Н.М. Алёшина², Д.А. Никишин^{1,2}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* tkmadm@yandex.ru

Будучи одним из классических нейромедиаторов, серотонин (5-НТ) также обладает большим количеством функций вне нервной системы. У самок млекопитающих серотонин обнаруживается в яичнике, где он регулирует синтез половых гормонов, созревание ооцитов и овуляцию, а также играет роль донервного трансмиттера в раннем развитии зародышей. Ранее нами показано, что основным механизмом накопления серотонина в растущем овариальном фолликуле является его захват ооцитами с помощью мембранного транспортера SERT. При этом активность этого механизма различается в морфологически сходных фолликулах: в одних ооцитах не происходит накопления, а в других уровень 5-НТ значительно повышается. Целью данной работы стало изучение взаимосвязи активности

специфического мембранного захвата серотонина в ооцитах с показателями их качества и потенцией к развитию.

Для того, чтобы определить, чем обусловлен разный уровень захвата серотонина ооцитом, мы провели краткосрочную (2 ч) инкубацию GV-ооцитов, выделенных из преантральных фолликулов мышей, с серотонином (1μM). В изолированных ооцитах наблюдается бимодальное распределение активности накопления 5-HT, аналогичное результатам эксперимента с тканью яичника. Таким образом, различия в интенсивности накопления серотонина обуславливается различной активностью SERT самого ооцита и не зависит от окружающих овариальных тканей.

В связи с тем, что модуляция созревания яйцеклеток является эволюционно консервативной функцией серотонина, интересно было изучить корреляцию активности SERT с уровнем зрелости ооцитов мыши. Методом Вестерн-блоттинга нами показано, что уровень экспрессии активной гликозилированной формы белка SERT в зрелых постовуляторных MII-ооцитах выше, чем в GV-ооцитах, полученных из антральных фолликулов. При инкубации таких ооцитов с серотонином (1μM) уровень накопления серотонина также оказывается достоверно выше в более зрелых MII ооцитах. Интересно, что активность SERT постепенно возрастает в ряду от менее зрелых GV-ооцитов (NSN) к более зрелым (SN), и от MI к MII-ооцитам. Это говорит о том, что активность SERT в ооцитах отражает уровень их зрелости.

Механизм захвата серотонина может иметь значение в регуляции ранних доимплантационных стадий эмбрионального развития. Известно, что в яйцеводах млекопитающих, где проходит этот этап развития, уровень серотонина выше, чем в яичнике и матке. После хронического воздействия селективным ингибитором SERT (флуоксетин, 20 мг/кг/сут, 7 сут), серотонин не выявляется в постовуляторных MII-ооцитах, при этом его уровень в GV-ооцитах не меняется и остается низким. Это может происходить как в результате блокады SERT в MII-ооцитах, так и вследствие снижения концентрации серотонина в яйцеводах. Полученные результаты имеют большое значение в рамках изучения влияния действия препаратов, меняющих уровень серотонина в организме, на женскую репродуктивную систему.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н.К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-74-10009.

Паттерны редиплоидизации после полногеномных дупликаций у животных

В.А. Трифионов*^{1,2}, М.В. Фофанов^{1,2}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

* *vlad@mcb.nsc.ru*

После полногеномных дупликаций в эволюции обязательно следуют процессы редиплоидизации генома, в результате которых большинство дублированных генов утрачивается, а небольшая часть может приобретать либо новые функции, либо разделять функцию с паралогом. В последнее время появилось много проектов по сборке геномов полиплоидных организмов. Мы проследили эволюционные процессы, происходящие с дублированными копиями генов в недавно секвенированном и собранном геноме стерляди (*Acipenser ruthenus*, *Acipenseriformes*) и геномах других животных и обнаружили, что хотя паттерны и скорости редиплоидизации очень сильно отличаются у разных видов, судьба конкретных дублированных генов может быть схожей и сильно зависит от выполняемой функции.

**Нейроны стриатума частично экспрессирующие дофаминергический фенотип:
функциональное значение и регуляция**

Д.В. Трошев*¹, А.Е. Банникова¹, В.Е. Блохин¹, А.А. Колачева¹, Т.С. Пронина¹, М.В. Угрюмов¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *dmitry.vad.troshev@gmail.com*

Нигростриатные дофаминергические нейроны играют ключевую роль в регуляции движения и некоторых других видов поведения. Дегенерация этих нейронов и обусловленный этим дефицит дофамина в стриатуме приводят к развитию болезни Паркинсона. До конца 1980-х годов не вызывало сомнений, что единственным источником дофамина в стриатуме являются аксоны дофаминергических нейронов, расположенных в черной субстанции. Однако позднее было показано, что в стриатуме существуют нейроны, экспрессирующие тирозингидроксилазу – скорость-лимитирующий фермент синтеза дофамина. За последние два десятилетия с помощью иммуоцитохимии было показано, что тирозингидроксилаза-экспрессирующие нейроны обнаружены в стриатуме у всех исследованных млекопитающих, включая приматов и человека. Это поставило вопрос о том, являются ли эти нейроны дофаминергическими и синтезируют ли они дофамин.

С момента открытия нейронов стриатума, экспрессирующих ферменты синтеза дофамина, предпринимались попытки определить их фенотип и функциональное значение. В этом исследовании было показано, что у трансгенных мышей, экспрессирующих зеленый флуоресцентный белок (GFP) под промотором тирозингидроксилазы: (i) имеются нейроны стриатума, экспрессирующие только тирозингидроксилазу, только декарбоксилазу ароматических L-аминокислот, или оба фермента синтеза дофамина; (ii) нейроны стриатума, экспрессирующие ферменты синтеза дофамина, не являются дофаминергическими, поскольку в них отсутствует транспортер дофамина; (iii) моноферментные нейроны, экспрессирующие один из ферментов синтеза дофамина, могут совместно продуцировать этот нейротрансмиттер; (iv) в стриатуме волокна, содержащие только тирозингидроксилазу, только декарбоксилазу ароматических L-аминокислот, или оба фермента, проецируются в боковые желудочки, тем самым обеспечивая потенциальные пути доставки L-3,4-дигидроксифенилаланина и дофамина в спинномозговую жидкость; (v) GFP-нейроны стриатума экспрессируют гены рецепторов для различных сигнальных молекул — классических нейротрансмиттеров, нейропептидов и стероидов, что указывает на тонкую регуляцию этих нейронов.

На основании наших данных предполагается, что синтез дофамина нейронами стриатума является компенсаторной реакцией на гибель дофаминергических нейронов черной субстанции при болезни Паркинсона, что открывает широкие перспективы для разработки принципиально нового подхода к терапии этого заболевания.

Авторы выражают свою благодарность Ненашевой Т. А. и Шевалье Д. А. за помощь в сортировке клеток. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-14-00325.

Эволюция онтогенеза листьев в роде *Curio*

А.П. Федотов*^{1,2}, А.К. Тимонин¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

* *alex-f96@yandex.ru*

Род *Curio* (Asteraceae) и круг его ближайших родственников образуют уникальную группу двудольных растений, в которой встречаются все основные морфологические типы листьев: бифациальные, субунифациальные, унифациальные и ложнобифациальные. Совмещение молекулярных данных и результатов анатомо-морфологического исследования позволяет пролить свет на эволюцию листьев в роде *Curio* и закладывает основу для дальнейшего изучения морфологического разнообразия листьев в этой группе.

Были отобраны 10 видов из рода *Curio*, отражающих морфологическое разнообразие листьев, и ещё 12 видов из сближаемых с *Curio* родов. В работе был использован материал из коллекции ГБС РАН им. Цицина. Для всех видов были получены транскриптомы путём выделения РНК и дальнейшего секвенирования на платформах Illumina и Oxford Nanopore Technologies по стандартным методикам с последующей обработкой данных и осуществлением гибридной сборки в программе SPAdes 3. 14. 0 (Center for Algorithmic Biotechnology). Была произведена программная оценка пloidности изучаемых видов. На основании генов BUSCO Eudicots было построено филогенетическое дерево группы в программе IQ-Tree 1. 6. 1. Для видов 8 видов *Curio* было проведено сравнительное морфолого-анатомическое исследование развития листовых примордиев.

Исследованные виды *Curio* представлены 2 тетраплоидами, 4 гесаплоидами и 1 октаплоидом. Выяснено, что субунифациальные листья являются симплезиоморфией этого рода, а унифациальные листья являются гомоплазиями и возникали дважды в эволюции рода. В субунифациальных листьях функционирует адаксиальная меристема, которая обеспечивает утолщение листовой пластинки и неполную редукцию адаксиальной стороны, представленной в дефинитивном состоянии листа узким световым окошком. В унифациальных листьях адаксиальная меристема становится меристемой закругления sensu Hagemann (1970), что приводит к полной редукции адаксиальной стороны. Унифациальные листья произошли от субунифациальных посредством преобразования адаксиальной меристемы.

Ложнобифациальные листья возникали дважды в роде *Curio*. У *C. repens* дорсовентральные ложнобифациальные листья возникли из унифациальных, поскольку у этого вида функционирует адаксиальная меристема округления, как и у унифациальных листьев. *C. ficoides* с синистродекстральными ложнобифациальными листьями является октаплоидом, одним из предков которого является *C. talinoides* с унифациальными листьями. Однако морфогенез его листьев схож с морфогенезом субунифациальных листьев.

Настоящие бифациальные листья *C. muirii* являются реверсией к бифациальности от субунифациальных листьев, что объясняет отличия их морфогенеза от морфогенеза типичных бифациальных листьев *B. articulatum*.

Авторы хотели бы выразить благодарность Озеровой Людмиле Викторовне за представленный материал, Лаборатории Электронной Микроскопии МГУ им. М.В. Ломоносова за возможность проведения исследований.

Аннелида *Dimorphilus gyrociliatus* – перспективная модель в изучении старения

Е.Г. Фофанова*¹, Е.Е. Воронежская¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* lizchenbio@mail.ru; fofanova@idbras.ru

Старение – неотъемлемая часть онтогенеза организма. Нематоды, плодовые мушки и дрожжи позволили существенно продвинуться в понимании механизмов старения. Однако эти модели имеют свои ограничения, что делает актуальным поиск новых объектов для исследований долговременных процессов. Предполагаемые модели должны обладать определенным набором черт: небольшой размер, проницаемые покровы, быстрый цикл размножения, простота содержания в культуре. Среди трохофорных животных морские аннелиды *Dimorphilus gyrociliatus* обладают всеми перечисленными чертами. Кроме того, известен геном и транскриптом *D. gyrociliatus*, что делает данный вид подходящей

моделью и для молекулярно-генетических исследований. Целью нашей работы было выявить и детально описать признаки старения у данного вида животных.

Мы провели индивидуальные наблюдения за 720 особями от стадии зиготы до смерти организма. Учитывали сроки полового созревания, смертность, количество яиц и соотношение полов в кладке, расстояние от стенки тела до кишки, скорость ресничной локомоции, длину и количество наружных ресничек и количество серотонин-содержащих нейронов в нервной системе. Нам удалось показать, что первые кладки, содержащие 1 женское и 1 мужское яйцо, появляются на 8-9 день после вылупления. С возрастом количество яиц увеличивается, достигая максимально 10-12 на 2й месяц жизни, при этом соотношение женских и мужских яиц в кладке составляет 8:3. Максимальная продолжительность жизни составляет 4,5 месяца. На четвертый месяц жизни уменьшается количество женских яиц в кладке, соотношение женских и мужских яиц инвертируется и становится 1:9. Снижается скорость ресничной локомоции в 3-5 раз. Уменьшается длина ресничек вентральной локомоторной полосы с 7-8 мкм до 3-4 мкм, а также количество ресничек в ресничных клетках с 70-80 до 40-50. Соответственно скорость ресничной локомоции снижается в 3-5 раз. Также уменьшается длина и количество ресничек пищедобывающего аппарата и кольцевых ресничных шнуров, что, по видимому, приводит к нарушениям в питании особи. Увеличивается расстояние от стенки кишки до стенки тела. В ганглиях уменьшается количество серотониновых клеток с 3-4 до 1-2. Также становится меньше сеть серотониновых волокон, что скорее всего связано с уменьшением количества ресничных клеток.

Среди перечисленных признаков, на наш взгляд, наиболее перспективным является изменение длины ресничек полицилиарных клеток и соответствующей серотонинергической иннервации ресничных структур. Эти компоненты являются очень консервативными и встречаются в половых протоках, легких и выстилке канала мозга у позвоночных животных. Исследование процесса старения *D. gurgosiliatus* может пролить свет на клеточные механизмы, лежащие в основе изменения активности ресничек полицилиарных клеток с возрастом.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-34-60040.

Морфофункциональная организация серотонинергической системы в ооцитах и ранних эмбрионах млекопитающих

В.С. Фролова*¹, А.Д. Иванова^{2,3}, Ю.Б. Шмуклер⁴, Д.А. Никишин^{1,4}

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Геологический институт РАН, Москва, Россия;

³ Медицинский центр «ИваМед», Ростов-на-Дону, Россия;

⁴ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *frolova.veronika.2014@post.bio.msu.ru*

Нейротрансмиттерами называют некоторые биологически активные вещества, которые играют важную роль в передаче электрохимического импульса между нейронами, а также от нейронов к клеткам мышечной ткани и железистым клеткам. Долгое время эти химические соединения изучались в контексте передачи сигналов между клетками взрослого организма, однако во второй половине XX столетия начали появляться работы, которые постулировали роль некоторых нейротрансмиттеров, в частности серотонина, в эмбриогенезе различных организмов. Однако, несмотря на то, что уже на протяжении целого столетия роль серотонина изучается в развитии различных организмов, представление о его локализации, а также распределении его рецепторов и транспортеров в клетках эмбрионов остается неполным.

В рамках данной работы мы описали характер распределения серотонина и компонентов серотонинергической системы в ооцитах и ранних зародышах млекопитающих. Методами иммуногистохимии и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии нам удалось показать, как сам серотонин, его везикулярный транспортер VMAT2 и рецепторы HTR2A и HTR1D локализуются в различных областях GV-ооцитов и бластомеров дробящихся эмбрионов мышей линии C57BL/6.

Серотонин и везикулярный транспортер моноаминов VMAT2 выявляется в цитоплазме как GV-ооцитов, так и доимплантационных зародышей в виде мелких гранул преимущественно в периферической части клетки. Сходный паттерн окрашивания серотонина и VMAT2, осуществляющего его везикулярный транспорт, может свидетельствовать об активности серотонина как посредника межклеточной сигнализации на поздних стадиях оогенеза. Рецептор серотонина HTR2A выявляется в ооцитах в виде крупных округлых везикул, распределенных по цитоплазме неравномерно, с образованием скоплений. В ооцитах преовуляторных фолликулов антитела против HTR2A окрашивают крупные везикулы округлой формы размером 1-1,5 мкм. В бластомерах доимплантационных зародышей появляется выраженное окрашивание в области мембраны, что может свидетельствовать об активности данного рецептора в межклеточной сигнализации на данных стадиях развития. Паттерн распределения HTR2A-иммунопозитивных частиц резко отличается от наблюдаемого для серотонина и VMAT2, что свидетельствует о пространственном разобщении трансмиссерного и рецепторного компонентов серотонинергической системы в цитоплазме ооцитов и ранних зародышей. Рецептор серотонина HTR1D также иммуногистохимически выявляется в цитоплазме GV-ооцитов и бластомеров в виде гранул. При этом в зрелых ооцитах и доимплантационных зародышах наблюдается неравномерность их распределения – в некоторых участках цитоплазмы гранулы расположены более плотно, образуя скопления. Мы предполагаем, что такое распределение компонентов серотонинергической системы может свидетельствовать о том, что серотонин, способный накапливаться в зрелых ооцитах, в дальнейшем может использоваться при межбластомерном взаимодействии в раннем развитии эмбрионов.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ИБР им. Н. К. Кольцова РАН при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-04-00303.

Метаболические модули одиночных клеток гипоталамуса в норме и при метаболических нарушениях организма

Е.А. Чикина*¹, А.Н. Гайнуллина¹, Р.А. Романов¹

¹ Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *chikina.evgeniia@gmail.com*

Метаболизм представляет собой совокупность всех биохимических процессов, протекающих в организме и поддерживающих его нормальное функционирование. Огромную роль в поддержании метаболического гомеостаза играет гипоталамус как важнейший нейроэндокринный орган. Множество его ядер участвует в различных аспектах регуляции метаболизма, но особенно следует выделить дугообразное ядро, содержащее AgRP и POMC-нейроны, ответственные за регуляцию пищевого поведения. Известно, что во многом функции нейронов, в том числе синаптическая передача информации, регулируются глиальными клетками. Однако, конкретные механизмы, лежащие в основе модуляции нейрональных функций в норме и патологии остаются не до конца изученными.

Анализировать метаболические изменения, происходящие в клетках и тканях, возможно с помощью различных подходов, одним из которых является анализ экспрессии генов в данных секвенирования одиночных клеток. Данные экспрессии генов ферментов могут быть проанализированы совместно с информацией обо всех биохимических превращениях, протекающих в клетках, то есть глобальной метаболической сетью. Для такого анализа используется метод GAM-кластеризации, позволяющий находить метаболические модули - участки метаболической сети, в которых гены ферментов связаны друг с другом, а их профили экспрессии скоррелированы между собой.

В данной работе мы провели анализ данных, полученных в результате секвенирования одиночных клеток гипоталамуса мышей (1) в условиях голодания, (2) диеты с повышенным содержанием жиров (только дугообразное ядро гипоталамуса) и (3) мышей со стрептозотоцин-индуцированным диабетом I типа по сравнению с контрольными здоровыми мышами, получавшими нормальное питание.

Для сравнения метаболических изменений, индуцированных диетой (голодание или диета с повышенным содержанием жиров), с помощью GAM-кластеризации были определены метаболические модули, характерные для той или иной диеты. Полученные модули связаны с изменениями в энергетическом метаболизме (цикл трикарбоновых кислот, метаболизм жирных кислот), метаболизме холестерина, глутатиона и нейтрализации активных форм кислорода, что может быть связано с особенностями работы митохондрий при различных метаболических нарушениях. Используя данные, полученные в результате секвенирования гипоталамуса контрольных мышей и мышей со стрептозотоцин-индуцированным диабетом I типа, мы выявили дифференциально экспрессируемые гены между двумя состояниями, связанные с окислительным фосфорилированием, дыхательной цепью и синаптической передачей.

Работа поддержана грантом "Использование генетических технологий для поиска биомаркеров, моделирования и терапии заболеваний человека" (№ 075-15-2021-1075). Руководитель работ: Воротеяк Екатерина Андреевна

Качественный и количественный анализ пролиферации клеток в ходе регенерации у *Alitta virens* (Annelida, Errantia)

А.Ю. Шалаева*¹, В.В. Козин¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* shalaeva.sasha@gmail.com

Регенерация большинства животных, и аннелид в частности, сопряжена с процессами клеточных делений, которые обеспечивают прирост необходимой для дальнейшей дифференцировки клеточной массы. Одним из актуальных вопросов на сегодняшний день остаётся выявление клеточных источников формирующейся бластемы. Количественный анализ изменения пролиферации, в свою очередь, позволяет оценить динамику, с которой происходит восстановление, а также косвенно оценить изменение длины клеточного цикла, происходящее по мере созревания новых морфологических структур в регенерационной почке. Совместная оценка качественных и количественных параметров регенерации *Alitta virens* является важным шагом в углублении знаний о клеточных процессах, происходящих в ходе восстановления утраченной задней части у аннелид.

Для оценки интересующих нас параметров мы использовали инкубацию в EdU, выявляющего клетки, находившиеся в S-фазе цикла, и окраску ядер DAPI. Для количественной оценки мы использовали программу Bitplane Imaris, оценивая количество ядер, включивших EdU, и ядер, окрашенных DAPI. Мы также применяли различные схемы экспериментов: кратковременная инкубация в EdU, позволившая оценить индекс меченых ядер (отношение ядер в S-фазе цикла к общему количеству ядер) и их пространственно-временное распределение после ампутации; кратковременная инкубация до и сразу после ампутации с отмывкой, необходимая для оценки вклада старых тканей и влияние ампутации на формирование регенерационной бластемы; длительная инкубация в EdU, количественная оценка которой позволила построить кривую насыщения, по которой мы смогли установить примерную продолжительность стадий клеточного цикла.

Сравнивая включение EdU с последующей отмывкой у интактных червей и при инкубации до повреждения, мы видим разницу в распределении метки. Это различие говорит о снижении пролиферативной активности в тканях прилежащего к ране сегмента. Преимущественный вклад в формирующуюся бластему вносят клетки, включающие метку при инкубации в EdU сразу после операции: активные деления происходят не в прилежащем к ране сегменте, а в регенерационной почке, когда она становится морфологически выраженной. Мы отметили, что клеточная популяция в ранней регенерационной почке *A. virens* уже обладает гетерогенностью. Увеличение длительности фаз клеточного цикла на более поздних стадиях связано с тем, что к определённом моменту необходимая клеточная масса набрана и на первый план выходит паттернирование бластемы, а не увеличение количества её клеток. Формирование нового сегмента сопровождается более активной пролиферацией бластемных клеток в проксимальной части поздней регенерационной почки. Полученные данные свидетельствуют о том, что у *A. virens* источником бластемы, скорее всего, является

дифференцировка клеток рядом с местом повреждения. Дальнейший прирост клеток осуществляется за счёт их локальной пролиферации и ограничен типами своего зародышевого листка.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №21-74-00055 на базе УНБ «Беломорская» и РЦ «Микроскопии и микроанализа» СПбГУ.

Молекулярная коэволюция сигнальных последовательностей в составе Tat белка вируса иммунодефицита человека

Е.В. Шеваль*¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* *evsheval@gmail.com*

Вирусы хорошо адаптированы к сложной организации эукариотической клетки. Так, многие вирусные белки обладают сигналами ядерной локализации (NLS) и сигналами ядрышковой локализации (NoLS), что позволяет им накапливаться в ядре и/или ядрышках. Поскольку вирусные белки относительно малы и их размер ограничен объемом вирусного капсида, приобретение новых последовательностей является более сложной задачей для вирусных белков, чем для белков эукариот. В ходе проведенных исследований мы показали, что в составе основного домена Tat белка вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) интегрированы также NLS и NoLS. Интеграция NLSs и NoLSs может быть механизмом, который позволяет концентрировать различные функции в небольших белковых областях и, в результате, уменьшать размер белков вирусов.

Работа поддержана грантом РФФИ №21-74-20134.

Апикальная нейрогенная зона в развитии пресноводного моллюска *Lymnaea stagnalis*: иммунохимические и молекулярные маркеры

А.А. Шестипалова*^{1,2}, Е.Е. Воронежская²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

* *anastasia4722@mail.ru*

Апикальная зона является одним из основных мест в зародыше, с которой связывают закладку головных нейрональных структур. У животных самых разных систематических групп молекулярно-генетические характеристики этой зоны презумптивной нейроэктодермы позволяют говорить о высокой консервативности базовых механизмов, лежащих в основе спецификации клеток нейральной линии в развитии. Однако маркеры этой зоны зародыша у брюхоногих моллюсков до настоящего времени изучены фрагментарно. А гомология основной нейрональной структуры – апикального органа Gastropoda и апикального органа трофорных личинок других Lophotrochozoa до сих пор является спорным вопросом.

Иммуно- и гистохимический анализ показал, что апикальная зона у большого прудовика состоит из ресничной пластинки и пары сенсорных нейронов. Эти клетки содержат дофамин и пептид FMRФамид, а также могут проявлять иммунореактивность к серотонину. Короткий дендрит несет пучок чувствительных ресничек, а базально отходящие аксоны активно ветвятся под ресничной пластинкой. Клетки появляются одними из первых в развитии, еще до начала формирования ЦНС, и активно функционируют на стадиях поздней трохофоры – велигера (стадии 20-24 согласно таблице Мещерякова, 1975). На стадиях 20-22 в апикальной зоне выявляются только две описанные апикальные клетки, со стадии 23 начинают дифференцироваться нейроны в центральных ганглиях.

Целью нашей работы было проанализировать структуры апикального органа в развитии представителя пресноводных брюхоногих моллюсков – большого прудовика *Lymnaea stagnalis*, выявить

присутствие молекулярных маркеров апикальной зоны на стадиях его активного функционирования. Считается, что апикальные моноаминергические нейроны у этого вида (как и у многих эмбрионов легочных моллюсков) представляют собой редуцированный до двух клеток апикальный орган (ASO — apical sensory organ), который свойственен другим трохофорным животным. В общем случае, ASO включается в себя апикальный ганглий и ресничные сенсорные структуры.

Сравнительный биоинформатический анализ показал наличие у *L. stagnalis* ряда генов, характерных для апикальной нейрогенной зоны других трохофорных животных. Мы выделили несколько наиболее точно соответствующих транскриптам в транскриптоме *L. stagnalis* – *six3*, *otr*, *fez*. По результатам ПЦР-амплификации все из соответствующих этим генам транскриптов присутствуют в зародышах *L. stagnalis* 21-22 стадий. Это подтверждает экспрессию в клетках эмбрионов *L. stagnalis* на стадиях активного функционирования апикальных сенсорных нейронов, генов, соответствующих молекулярным маркерам апикального органа других трохофорных животных. Дальнейшие исследования по пространственной и временной локализации продуктов обнаруженных генов позволят установить их точное распределение у *L. stagnalis*.

Работа выполнялась в рамках реализации гранта РНФ № 22-14-00375.

Экспрессия генов транскрипционных факторов регуляции миогенеза у молоди атлантического лосося *Salmo salar* L., выращенного в условиях искусственного воспроизводства, при влиянии разных режимов освещения и сезонных изменений температуры

Н.С. Шульгина*¹, М.В. Кузнецова¹, М.Ю. Крупнова¹, Н.Н. Немова¹

¹ Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", Петрозаводск, Россия

* *Shulgina28@yandex.ru*

Известно, что формирование и рост скелетных мышц, составляющих у рыб большую часть тела, является результатом взаимодействия между факторами окружающей среды и экспрессией генов мышечных белков, контролирующей развитие, рост и структуру мышечных волокон. Дифференциальная экспрессия ряда генов факторов миогенеза - *MyoD*, *Myf5*, *миогенина (MyoG)*, регулирует процессы гиперплазии и гипертрофии мышечных волокон у рыб на протяжении их жизненного цикла. Экспрессия гена тяжелой цепи миозина (*MyHC*) является одним из ключевых факторов, определяющих развитие скелетных мышц. Изучение характера экспрессии вышеперечисленных генов в мышцах рыб, выращенных в условиях изменчивости внешних факторов – фотопериода и температуры среды, позволит в определенной степени понять молекулярные механизмы, лежащие в основе регуляции мышечного роста рыб и, как следствие, их темпов роста при адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды.

Исследовали прирост массы и уровни экспрессии генов *MyHC*, *MyoG*, *Myf5* и паралога *MyoD1* (*MyoD1a*, *MyoD1b*, *MyoD1c*) у молоди атлантического лосося, содержащейся в экспериментальных группах с круглосуточным освещением (24 ч/сут) и контрольных группах без дополнительного освещения в условиях рыбного хозяйства. В первый год сеголеток (0+) и двухлеток (1+) лосося содержали в указанных группах в течение трех месяцев (с июля по октябрь). Во второй год аналогичный эксперимент был проведен для двухлеток на протяжении пяти месяцев (с мая по октябрь). Рыб выращивали в условиях проточного водоснабжения при естественных колебаниях температуры окружающей среды.

Согласно полученным данным, круглосуточное освещение оказало положительное воздействие на темпы роста рыб и способствовало их более продолжительному росту в осенний период. Выявлены особенности в одновременной экспрессии исследуемых генов у сеголеток и двухлеток лосося в группах с круглосуточным освещением и без дополнительного освещения. Установлены закономерности в

сезонной динамике уровней экспрессии исследуемых генов, схожие для групп разновозрастной молодежи лосося из разных экспериментов. Так, увеличение экспрессии генов *MyHC* и *MyoD1a* осенью по сравнению с летним периодом наблюдалось у сеголеток лосося, а также двухлеток в длительном эксперименте, а экспрессия *MyoG* возрастала у рыб во всех экспериментах. У рыб во всех экспериментах установлено совместное снижение уровней экспрессии генов *Myf5*, *MyoD1b* и *MyoD1c* в осенний период. Вероятно, различия в одновременной экспрессии вышеуказанных генов на протяжении экспериментального периода отражают их дифференциальную роль в регуляции мышечного роста у рыб при их адаптации к сезонному изменению температуры воды.

Таким образом, результаты предполагают различия в механизмах регуляции мышечного роста у рыб, связанные как с воздействием искусственно увеличенной длины светового дня, так и сезонных изменений температуры окружающей среды.

*Работа выполнена в лаборатории экологической биохимии ИБ КарНЦ РАН на научном оборудовании ЦКП при финансовой поддержке Российского научного фонда, проекты № 19-14-00081 и № 19-14-00081П «Влияние физических факторов на эффективность искусственного (заводского) воспроизводства молодежи атлантического лосося *Salmo salar*: физиолого-биохимическая и молекулярно-генетическая характеристика».*

Регенерация нервной системы у *Platynereis dumerilii* и *Pygospio elegans*

К.В. Шунькина*¹, З.И. Старунова¹, Е.Л. Новикова¹, В.В. Старунов¹

¹ Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург, Россия

* keyelastic@gmail.com

Кольчатые черви являются удобным объектом для изучения механизмов регенерации, так как внутри одного класса и даже рода часто можно встретить абсолютно разные восстановительные способности.

Нервная система – одна из важнейших интегративных систем организма, без которой течение нормального регенерационного процесса невозможно. Целью данного исследования было изучение регенерации нервной системы у двух видов аннелид: *Platynereis dumerilii*, способного восстанавливать только задний конец тела, и *Pygospio elegans*, способного к восстановлению обоих концов тела.

P. elegans были собраны на литорали бухты Дальние Зеленцы (Баренцево море) и содержались в лаборатории ЗИН РАН. *P. dumerilii* были взяты из лабораторной культуры. Для изучения процессов регенерации оба вида червей разделялись лезвием пополам (в случае *P. dumerilii*) или за 20м сегментом тела (*P. elegans*). Обе части помещали в индивидуальные чашки Петри с морской водой и экспонировали от 4 часов до 7 дней при температуре 18 °С. Для исследования регенерации нервной системы образцы метили антителами к гистамину, октопамину, ГАМК, серотонину и FMRF-амиду. Готовые препараты изучали при помощи конфокального микроскопа Leica TCS SP5 (ЦКП «Таксон» ЗИН РАН, РЦ «Хромас» СПбГУ).

При регенерации заднего конца тела происходит восстановление пигидиального отдела, а восстановление количества сегментов идет за счет вставочного роста. На переднем конце тела у *P. elegans* сразу же закладываются зачаток головы и 12 грудных сегментов. Процесс регенерации начинается с образования бластемы (примерно на 1й день после операции). Восстановление элементов нервной системы можно наблюдать, начиная с первых суток после операции. Причем, исследованные нами нейромедиаторы в области регенерата начинают детектироваться в разное время.

Первыми – на первые-вторые сутки – обнаруживаются серотонин и FMRFамид, затем, на 3-4 сутки можно обнаружить гистамин-, октопамин-, ГАМК-положительные нервные элементы и катехоламины. Начальные этапы регенерации НС в переднем и заднем концах тела проходят с примерно одинаковой скоростью. Однако, уже на 3-4е сутки хвостовой конец полностью сформирован, и по строению нервной системы не отличим от интактного, в то время как в головном конце *P. elegans* можно наблюдать только формирование будущего церебрального ганглия. На 7е сутки в головном конце тела хорошо различим церебральный ганглий, сформированы ганглии вновь образованных

туловищных сегментов и нервы отросших пальп. Регенерационные процессы в заднем конце тела *P. dumerilii* сопоставимы с процессами у *P. elegans*.

Исследование выполнено при поддержке Российского Научного Фонда, грант 21-14-00304. Работы проведены на базе ЦКП «Таксон», Зоологический институт РАН и ЦКП «Хромас» Научного парка Санкт-Петербургского Государственного Университета.

Гены Рахб у аннелид

А.М. Щербань*¹, Р.П. Костюченко¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* anscherban@mail.ru

Гены семейства Рах кодируют транскрипционные факторы, которые связываются со специфическими последовательностями ДНК и играют важную роль в развитии центральной нервной системы, сенсорных структур, органов чувств и некоторых других основных систем организма на разных стадиях онтогенеза животных. Белки, кодируемые генами Рах, имеют общий принцип строения. У всех представителей присутствует парный ДНК-связывающий домен, состоящий из 128 аминокислот и расположенный на NH₂-конце. Парный домен является высоко консервативным и обнаруживается у разных видов животных. Рах гены также могут иметь октапептидный домен и ДНК-связывающий полный или неполный гомеодомен парного типа, которые находятся в последовательности после парного домена. Семейство генов Рах широко распространено среди Bilateria и включает в себя подсемейства Рах1/9, Рах2/5/8, Рах3/7, Рах4/6 и Рах neuro. Кроме того, было описано подсемейство Рах-beta, обнаруженное только у Lophotrochozoa. Одни из самых изученных генов, гены Рахб, как позвоночных, так и беспозвоночных участвуют в развитии глаза и центральной нервной системы. Эволюционно консервативная функция этих генов в развитии глаза была неоднократно показана в различных экспериментах и послужила отправной точкой становления Evo-devo. При этом дубликации гена Рахб были найдены сравнительно редко, в т. ч. у позвоночных. У аннелид наличие и характер экспрессии этого гена были до сих пор показаны для представителей полихет и пиявок. В ходе наших исследований обнаружено, что у олигохет, как у пиявок, но в отличии от полихет, имеются паралоги Рахб. Это, возможно, говорит о появлении дублицированных форм этого гена при расхождении групп полихет и поясковых аннелид, и разделении функций между паралогичными генами Рахб.

Проект выполняется при поддержке гранта РФФ 22-24-00443 с использованием оборудования РЦ РМИКТ СПбГУ.



**МАТЕРИАЛЫ ЮБИЛЕЙНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «НИКОЛАЙ
КОНСТАНТИНОВИЧ КОЛЬЦОВ И БИОЛОГИЯ XXI ВЕКА»
3-8 октября 2022 г.**

Издательство «Перо»
109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 27, ком. 105
Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36
Подписано к использованию 26.09.2022.
Объем 1,38 Мбайт. Электрон. текстовые данные. Заказ 774.