

«Актуальные проблемы биологии развития»

проводится 4-6 октября 2017 г.

в Институте биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
г. Москва, ул. Вавилова, д. 26



Организатор конференции
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Материалы конференции можно найти на сайте Института
<http://idbras.comcor.ru/>

Конференция организована при поддержке Российского фонда
фундаментальных исследований (грант № 17-04-20545) и ФАНО России



РОССИЙСКИЙ
ФОНД
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
АГЕНТСТВО
НАУЧНЫХ
ОРГАНИЗАЦИЙ

Спонсоры конференции

ThermoFisher
SCIENTIFIC

ЗАО «Термо Фишер
Сайентифик»

helicon

ООО «Компания Хеликон»

BIO-RAD

ООО «Био-Рад
Лаборатории»

ACRUS

ЗАО ACRUS

evrogen

ЗАО Евроген

ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ КОНФЕРЕНЦИИ

Васильев А.В., председатель

чл.-кор. РАН, Директор Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Заведующий кафедрой эмбриологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Захаров И.С., заместитель председателя

д-р. биол. наук, Председатель ученого совета Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Смирнова Ю.А., ответственный секретарь

канд. биол. наук, Руководитель научно-организационного отдела Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Александрова М.А.

д-р. биол. наук, Главный научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Авдонин П.В.

д-р. биол. наук, проф., Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Балабан П.М.

чл.-кор. РАН, Директор Института высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН

Бродский В.Я.

д-р. биол. наук, проф., Главный научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Васецкий С.Г.

д-р. биол. наук, Главный научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Воронежская Е.Е.

д-р. биол. наук, Ведущий научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Воротеляк Е.А.

чл.-кор. РАН, Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Голиченков В.А.

д-р. биол. наук, проф., Профессор кафедры эмбриологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Григорян Э.Н.

д-р. биол. наук, Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Зарайский А.Г.

д-р. биол. наук, проф., Заведующий лабораторией Института биоорганической химии

им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Костюченко Р. П.

канд. биол. наук, доц., Заведующий кафедрой эмбриологии СПбГУ

Кузин Б.А.

д-р. биол. наук, проф., Главный научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Куликов А.М.

д-р. биол. наук, Заместитель директора Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Хабарова М.Ю.

канд. биол. наук, доц., Ученый секретарь Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Никишин Д.А.

канд. биол. наук, Председатель Совета молодых ученых Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Озернюк Н.Д.

д-р. биол. наук, проф., Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Онищенко Г.Е.

д-р. биол. наук, проф., Заведующий кафедрой биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Павлов Д.С.

акад. РАН, Научный руководитель Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

Рожнов С.В.

акад. РАН, Заведующий лабораторией Палеонтологического института им. А.А. Борисяка РАН

Строева О.Г.

д-р. биол. наук, проф., Главный научный сотрудник Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Шарова Н.П.

д-р. биол. наук, Заместитель директора Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

Угрюмов М.В.

акад. РАН, Заведующий лабораторией Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН

перекрывающихся генов в соматических тканях и репродуктивных органах может идти различными путями и с различной скоростью.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов №16-04-00829-а и №15-04-01917-а и является частью темы государственного задания ИБР РАН № 0108-2016-0002.

ВЛИЯНИЕ ЭСТРАДИОЛА И ТЕСТОСТЕРОНА НА ПОЛОВОЕ СОЗРЕВАНИЕ САМОК КРЫС, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ПРЕНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *E. coli*

Игнатюк В.М.¹, Извольская М.С.²

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

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва
e-mail: gwynnlynx@mail.ru

Воздействия различных негативных факторов в критические периоды развития репродуктивной системы оказывают неблагоприятное влияние на ее становление. Одним из таких факторов является пренатальный иммунологический стресс, вызванный бактериальным инфицированием. Введение эндотоксина липополисахарида (ЛПС) *E. coli* самкам мышей или крыс на ранних сроках беременности приводит к значительному повышению содержания цитокинов воспаления в периферической крови матери и плодов. Изменение их баланса вызывает нарушения в развитии различных физиологических систем, включая гонадотропин-рилизинг-гормон (ГРГ)-продуцирующую систему. Ранее нами было показано, что воздействие ЛПС приводит к подавлению миграции нейронов, синтезирующих ГРГ (основной регулятор гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы). У половозрелого потомства крыс наблюдалось сниженное содержание ГРГ, лютеинизирующего и половых гормонов. С 5-го по 14-й постнатальные дни (П) у них выявлено повышенное содержание в крови эстрадиола. Целью настоящей работы было исследовать роль половых стероидов и их антагонистов в развитии нарушений репродуктивной системы у потомства самок крыс, подвергавшихся пренатальному воздействию ЛПС. В экспериментах использовали крыс Wistar с датированной беременностью. Самкам вводили ЛПС в/б (50мкг/кг в 0,9% растворе NaCl) на 12 день беременности, контрольной группе – 0,9% раствор NaCl. Рожденному потомству ежедневно с П5 по П14 вводили подкожно фульвострант (антагонист рецепторов к эстрадиолу), 1,5 мг/кг или с П14 по П30 флютамид (антагонист рецепторов к тестостерону), 20 мг/кг в кунжутном масле, контрольной группе – кунжутное масло. У потомства самок определяли массу тела на П5, П14 и П30, время открытия полового отверстия и первого эструса. На П80 животных забивали, собирали сыворотку крови для определения половых стероидов с помощью ИФА., получали криостатные срезы яичников для гистологического анализа. Статистическую обработку результатов проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (Anova) и критерия Фишера. После воздействия ЛПС масса тела на П14 и П30 снижалась; введение антагонистов половых стероидов приводило к увеличению веса. Воздействие ЛПС замедляло открытие полового отверстия самок. Введение антагониста эстрадиола приводило к еще большей задержке, а введение антагониста тестостерона приближало время открытия к контролю. Пренатальное введение ЛПС вызывало также значительные структурные изменения гонад: почти полное отсутствие вторичных (антральных) и преовуляторных фолликулов, снижение количества первичных (примордиальных и преантральных) фолликулов и увеличение числа фолликулов в стадии атрезии. Желтые тела не обнаруживались. После введения антагонистов численность первичных и вторичных фолликулов, а также желтых тел увеличивалась, а уровень атрезии снижался. Восстановление структуры яичников приводило к восстановлению концентрации половых стероидов в крови половозрелых самок. Таким образом, нарушения развития репродуктивной системы у потомства самок крыс, наблюдаемые после пренатального воздействия ЛПС, связаны не столько с ГРГ-продуцирующей системой, сколько с нарушениями в развитии яичников, определяемых повышением концентрации половых стероидов в препубертатном периоде.

Работа поддержана РФФИ (проект №16-04-00031-а).

СРАВНЕНИЕ ПОВЕДЕНИЯ ДЕРМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА И МЫШИ В ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Калабушева Е.П.^{1,2}, Воротеяк Е.А.^{1,2,3}

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

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
e-mail: kalabusheva.e@gmail.com

Повреждение кожи приводит к локальной реакции воспаления в окружающих тканях. Важнейшими медиаторами воспаления является TGFβ1 и возникающая вследствие повреждения сосудов гипоксия. Мы проанализировали воздействие этих факторов на дермальные фибробласты (ДФ) и клетки дермальной папиллы (ДП) человека и мыши с целью выявления потенциального вклада этих клеточных популяций в процессы ранозаживления. ДФ после повреждения формируют грануляционную ткань, превращаясь в миофибробласты. Роль клеток ДП в процессах ранозаживления к настоящему моменту не известна.

Клетки культивировали в течение 7 дней в атмосфере 1% кислорода в присутствии 10нг/мл TGFβ1 на среде DMEM с добавлением 2% эмбриональной телячьей сыворотки. Контрольные группы содержали в атмосфере 21% кислорода с использованием DMEM с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки. Анализ экспрессии специфических маркеров миофибробластов (гладкомышечный актин (SMA), SM22α, коллаген I, кальпонин, миокардин) и факторов, индуцируемых гипоксией (HIF1α, HIF2α) проводили методами иммуногистохимии и количественного ПЦР анализа в реальном времени.

Результаты иммуноцитохимического и количественного ПЦР анализа показали, что ДФ мыши под действием TGFβ1 дифференцируются в направлении миофибробластов (повышение экспрессии SMA, SM22α, коллагена I и др.). Гипоксия не оказывала значимого влияния на ДФ, но усиливала их реакцию на наличие TGFβ1. В отличие от ДФ, клетки ДП мыши при нормальном содержании кислорода в присутствии TGFβ1 или в гипоксических условиях дифференцируются в направлении ДФ (снижение экспрессии SMA, SM22α, коллагена). Дермальные клетки человека (ДФ и ДП) дифференцировались в миофибробласты в значительно меньшей степени, чем клетки мыши при таких же условиях: TGFβ1 незначительно повышал экспрессию специфических маркеров миофибробластов у клеток ДП и ДФ человека как в гипоксии, так и при нормальном содержании кислорода. Вероятно, различия определяются присутствием транскрипционных факторов HIF1α и HIF2α. Дермальные клетки мыши повышали экспрессию этих белков в ответ на гипоксию, TGFβ1 не оказывал значительного влияния. Дермальные клетки человека реагировали на присутствие TGFβ1 повышением синтеза HIF1α и HIF2α, в то время как при гипоксии подобный эффект мы не обнаруживали.

Механизмы регенерации кожи человека и мыши очень схожи, что позволяет использовать этих грызунов в доклинических испытаниях ранозаживляющих препаратов. Тем не менее, есть существенные отличия, которые определяют скорость ранозаживления, рубцевания и неофолликулогенез. Наши данные могут пролить свет на эти ключевые различия в механизмах регенерации кожи мыши и человека, что позволит точнее интерпретировать результаты, полученные с использованием лабораторных животных, и лучше представлять данные процессы у человека.

Работа проводилась при поддержке гранта Российского Научного Фонда (проект № 16-14-00204).

РОЛЬ МЕЗОДЕРМЫ В СОЗДАНИИ МЕТАМЕРНОГО ПЛАНА СТРОЕНИЯ: НОВЫЕ ДАННЫЕ О РАЗВИТИИ И РЕГЕНЕРАЦИИ НЕРЕИД (SPIRALIA, ANNELIDA)

Козин В.В., Мелентий А.Г., Шалаева А.Ю., Гук Д.В., Филиппова Н.А., Косточенко Р.П.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: vitaly.kozin@mail.ru

Появление третьего зародышевого листка – мезодермы – стало важнейшим эволюционным приобретением раннего развития билатеральных животных. Примечательно, что и механизмы определения переднезадней и дорсовентральной осей эмбриона неразрывно связаны с мезодермальным зачатком. Весьма популярно мнение о том, что формирование мезодермы во многом обеспечило взрывообразный рост числа морфологических типов в раннем кембрии. Был ли связан этот успех билатерий с изобретением метамерного плана строения? Несомненно, этот вопрос о единстве или независимом развитии сегментации в разных таксонах Bilateria остается одним из самых острых в эволюционной биологии развития.

Сегментация в полной мере развита у трех типов животных: аннелид, артропод и хордовых. Метамерную организацию у них имеют как эктодермальные, так и мезодермальные производные. Как эволюционно более молодой, мезодермальный листок имеет наибольшую вариабельность в механизмах своего формирования в разных филогенетических линиях. Примечательно, что у позвоночных сегментация мезодермы происходит автономно, индуцируя зависимое развитие повторяющихся элементов нервной системы. У ракообразных и насекомых, напротив, эктодерма приобретает метамерное строение независимо, воздействуя на мезодерму. Несмотря на очень подробное сравнение молекулярных механизмов формирования серийно повторяющихся структур, отчетливо ощущается недостаток современных данных о сегментации тела кольчатых червей.

В связи с проблемой сегментации мезодермы нами получены новые и весьма ценные сведения на материале нормального развития и регенерации нереидных полихет. С помощью гибридизации *in situ* и выявления тканеспецифичных маркеров была описана динамика молекулярной разметки мезодермы и дифференцировка мышц. В ходе эмбрионального, личиночного развития и при каудальной регенерации паттерны активности гомологов *Twist*, *Mox*, *MyoD*, *Vasa* и *Piwi* демонстрируют метамерный характер. В развитии мышц и целомов отмечен последовательный переднезадний порядок созревания. Вместе с известным посегментным распределением продуктов таких регуляторных генов, как *Engrailed*, *Gbx*, некоторые *Hox* и *NK*, наши данные указывают на скрытую метамерную организацию первичной трохофорной личинки и преимущественно одновременное проявление этой особенности в эктодерме и мезодерме. Мы полагаем, что циркумблостолярная закладка и ранняя метамеризация мезодермы нереид отражает эволюционную историю формирования третьего зародышевого листка. Наши данные поддерживают архичеломатную эволюционную гипотезу, по которой круговое расположение камер кишечной полости (цикломерия) у радиально-симметричных предковых форм превратилось в метамерию Bilateria.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (16-34-00472, 16-04-00991-а) с использованием оборудования РЦ РМИКТ и РЦ ММ СПбГУ.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И КЛЕТОЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ ЗАЧАТКОВ ГОНАД, ФОРМИРУЮЩИХСЯ *de novo* ПРИ БЕСПОЛОМ РАЗМНОЖЕНИИ У *Nais communis* (CLITELLATA: NAIDIDAE)

Колосов Н.И., Костюченко Р.П.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: nikita-kolosov@yandex.ru, r.kostyuchenko@spbu.ru

Гонады – это специализированные органы, продуцирующие гаметы, и, следовательно, являющиеся принципиально важными структурами в онтогенезе каждого животного. Одними из важнейших участников морфогенетических процессов образования зачатков гонад у большинства Metazoa являются клетки половой линии. В эмбриональном периоде половая клеточная линия формируется путем наследования определенных цитоплазматических детерминант на самых ранних этапах эмбриогенеза (преформизм) или возникает путем индукции от соседних клеток на более поздних стадиях развития (эпигенез). Однако у некоторых животных линия половых клеток образуется и в постэмбриональном периоде, например из стволовых элементов, таких как i-клетки у гидры и т.д. Более того, показано, что предшественники половой линии могут мигрировать или ожидать начала процесса активного формирования гонады, т.е. обладают некой пластичностью в поведении, особенно при регенерации и бесполом размножении. В этом смысле, несомненный интерес для изучения формирования гонад представляют аннелиды, в частности малоцетинковые черви из семейства Naididae (*Nais communis*). *N. communis* – гермафродит, способный, согласно ряду зоологических исследований на природном материале, к половому размножению, демонстрируя сексуализированные особи. Однако в условиях лабораторной культуры животные этого вида размножаются исключительно бесполом путем, а именно поперечным делением по типу паратомии, при которой полноценной половой системы у организма не образуется. В ходе паратомии на одном из сегментов материнского организма возникает зона деления, разделяющая сегмент на соматогенную и цефалогенную части. В пределах соматогенной части формируется новый хвостовой конец с зоной роста и молодыми сегментами материнского организма (переднего зооида), а в пределах цефалогенной части – головные сегменты дочернего (заднего) зооида. Затем дочерняя особь отделяется, и процесс повторяется снова. При таком типе репродукции, однако, потенции к половому размножению у *N. communis*, вероятно, сохраняются. Проведенные нами эксперименты по гибридизации *in situ* выявили экспрессию некоторых маркеров половых, стволовых и мультипотентных клеток в передних сегментах и показали наличие перспективных зачатков гонад, что может говорить

о сохранении у *N. communis* потенций к сексуализации после длительного периода бесполого размножения. Следовательно, клетки половой линии должны либо передаваться от материнского организма к дочернему, например, путем миграции, либо возникать *de novo* за счет стволовых элементов или дедифференцировки соматических клеток. Однако для достоверного результата недостаточно исключительно молекулярных данных, необходимы исследования на ультраструктурном и клеточном уровнях. Только комплексный подход позволит с достоверностью сказать о механизме возникновения гонад и стратегии передачи клеток половой линии при бесполом размножении.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-00991-а с использованием оборудования РЦ РМИКТ СПбГУ.

ТРАНС-ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ЭНХАНСЕРОМ И ПРОМОТОРОМ НА ПРИМЕРЕ ГЕНА *YELLOW Drosophila melanogaster*

Кравчук О.И.¹, Савицкий М.Ю.²

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

²Университет Умео, Умео, Швеция

e-mail: Kravchuk444@mail.ru

Регуляция транскрипции генов у эукариот поддерживается различными регуляторными элементами, включающими промоторы, энхансеры и инсультаторы. Энхансер может активировать промотор на большом расстоянии, причем потенциально он способен взаимодействовать как с *цис*-, так и с *транс*-промотором. Явление межклеточной комплиментации, при которой энхансер на одной хромосоме может активировать промотор, расположенный на гомологичной хромосоме, получило название трансвекции. Подробнее всего трансвекция была изучена на примере гена *yellow Drosophila melanogaster*, который определяет окраску кутикулярных структур мух и имеет четкие фенотипы. Чтобы исследовать трансвекцию в разных местах генома, мы встраивали случайным образом трансгены в составе *P* элемента, формируя репрезентативную выборку. Трансгенные конструкции моделировали природную ситуацию *транс*-взаимодействий между энхансером и промотором *yellow*. Нами показано, что *транс*-активация может иметь место в разных местах генома. Сила трансвекции зависела от геномного окружения. Инсультаторные элементы, находящиеся в обоих гомологах, способны усиливать трансвекцию. Ранее было доказано, что энхансер предпочтительно активирует промотор, находящийся в *цис* положении. *Транс*-активация начинается, если *цис*-промотор нарушен. Используя трансгенные конструкции мы обнаружили сильную трансвекцию во многих местах генома даже при наличии интактного *цис*-промотора, но в некоторых сайтах *цис*-предпочтение выполнялось. Таким образом, мы показали, что *цис*-предпочтение энхансером промотора зависит от геномного окружения, и, видимо, в полной мере имеет место только в природной позиции *yellow*.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ПОЛЯРНОСТИ СЕГМЕНТОВ ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПОЛИХЕТЫ *Alitta virens*

Мелентий А.Г., Костюченко Р.П., Козин В.В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
e-mail: blackbox96@mail.ru

Среди высокоорганизованных билатеральных животных одними из наиболее сильных регенеративных потенций обладают кольчатые черви. У некоторых полихет даже в естественных условиях встречается восстановление целостной структуры тела всего из нескольких сегментов. Изучению проблемы регенерации и сегментации полихет сейчас уделяется достаточно большое внимание, поскольку это представляет огромный интерес для разрешения многих фундаментальных и прикладных вопросов биологии развития. Результаты исследований на аннелидах подчас обеспечивают новое понимание эволюции развития животных и регенерации.

Очевидно, что во время регенерации, клетки, формирующие границы сегментов получают позиционную информацию с помощью каких-то морфогенетических механизмов, например, сигналинга. Известно, что сигнальный путь Wnt принимает участие во многих биологических процессах, таких как закладка осей тела на этапах раннего эмбрионального развития, регуляция органогенеза, регенерация и сегментация. Участие *wnt* генов в процессе регенерации показано у губок, кишечнополостных и кольчатых червей, асцидий и амфибий. У аннелид, членистоногих и позвоночных животных выявлено участие компонентов Wnt/beta-катенинового сигналинга в процессе сегментации. Одним из наиболее консервативных генов-мишеней Wnt при создании пограничных территорий является *engrailed*. Ген *engrailed* также задействован в процессах формирования нервной