

Влияние экспрессии РНК-хеликазы Belle в соматических клетках семенников на поддержание и дифференцировку герминальных клеток.

Научный руководитель – Оленина Людмила Владимировна

Годнеева Баира Константиновна

Студент (магистр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биохимии, Москва, Россия

E-mail: bairagodneeva@gmail.com

Семенники *D.melanogaster* представляют собой ценный модельный объект для изучения процессов поддержания и дифференцировки герминальных клеток. В данной работе мы исследовали функции РНК-хеликазы Belle, которая функционирует во множестве аспектов метаболизма РНК.

Нами были исследованы семенники мух, с RNAi-нокдаун *belle* в соматических клетках семенников. Мы провели серию иммунофлюоресцентных окрашиваний семенников с использованием антител к ряду клеточных маркеров. В контрольных семенниках наблюдались все стадии сперматогенеза. RNAi-нокдаун *belle* в соматических клетках семенника приводил к формированию больших кластеров мелких герминальных клеток, которые не вступали в дальнейшую дифференцировку и не переключались на программу роста сперматоцитов. Мы измерили распределение белка клеточной адгезии арматилло (β -катенина), необходимого для адгезионных контактов между герминальными и соматическими клетками в цисте, и показали, что на фоне мутации *belle* нарушается адгезия между герминальными и соматическими клетками. Иммунофлюоресцентное окрашивание семенников с использованием антител к маркеру делящихся клеток pS10H3 позволило сделать вывод, что на фоне мутации *belle* герминальные клетки в кластерах делятся независимо от ниши и асинхронно, что указывает на их туморогенную пролиферацию. Подобный фенотип был обнаружен при нарушениях в сигнальных путях BMP и EGFR, поэтому мы провели мини-скрининг с помощью Вестерн-блот анализа. Мы наблюдали снижение экспрессии фактора Spitz, который является лигандом пути EGFR, но при этом в ранних соматических клетках активация белка ERK - последнего компонента MAP-киназного каскада пути EGFR - соответствует норме. Таким образом, можно сделать вывод, что в соматических клетках цисты активация MAP-киназного каскада не нарушена. Также в данной работе мы проанализировали с помощью Вестерн-блот анализа экспрессию некоторых дифференцировочных маркеров. Так, соматический нокдаун *belle* приводит к увеличению экспрессии белка Piwi - маркера стволовых клеток. Нами было обнаружено снижение белка Eya- маркера поздних соматических клеток цисты. По всей видимости в условиях отсутствия экспрессии Belle в соматических клетках происходит нарушение их внутренней дифференцировочной программы, что, в свою очередь, нарушает развитие и дифференцировку герминальных клеток и приводит к остановке сперматогенеза.

Сигнальный путь BMP также, как и EGFR-путь, является важным в поддержании и дифференцировке соматических и герминальных клеток. Мы наблюдали значительное увеличение экспрессии белка Gbb, который является лигандом BMP- пути. Мы предполагаем, что Belle влияет на трансляцию Gbb. Экспрессия конечного эффектора BMP- пути pSmad, который влияет как раз на дифференцировку, также увеличивается. Таким образом, RNAi-нокдаун *belle* в соматических клетках приводит к гиперактивации компонентов сигнального пути BMP в герминальных клетках.

