

**РОЛЬ НОВОГО ТРАНСМЕМБРАННОГО БЕЛКА
ХОЛОДНОКРОВНЫХ *c-Answer* В РЕГЕНЕРАЦИИ И РАЗВИТИИ
МОЗГА У ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ**

***Короткова Д.Д.^{1,2}, Иванова А.С.¹, Любецкий В.А.³, Селиверстов А.В.³,
Нестеренко А.М.^{1,4}, Терёшина М.Б.¹, Зарайский А.Г.¹***

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

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

³Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва

⁴НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва
Электронный адрес: ddkorotkova@gmail.com

Прогрессивное развитие переднего мозга и низкая способность к регенерации крупных придатков тела - важные различия между теплокровными (птицы, млекопитающие) и холоднокровными (рыбы, амфибии, рептилии) животными. Причиной их появления считается перестройка функциональных связей внутри приблизительно одного и того же набора генов. Мы предположили, что возникновение отмеченных различий могло быть также обусловлено исчезновением или появлением отдельных генов. Некоторые из этих генов были идентифицированы с помощью биоинформатического скрининга.

Для проверки гипотезы о том, что такие гены могут одновременно контролировать развитие переднего мозга и регенерацию, мы исследовали экспрессию и физиологические функции исчезнувшего в эволюции гена *c-Answer* в ходе указанных процессов на модельном объекте - шпорцовой лягушке *Xenopus laevis*.

При изучении роли *c-Answer* в развитии переднего мозга методами гибридизации *in situ* и qRT-PCR было установлено, что транскрипты данного гена в эмбрионах локализованы в дорсальной эктодерме, в том числе в зачатке переднего мозга. Показано, что оверэкспрессия *c-Answer* в зародышах приводит к аномалиям развития головных структур, в частности к увеличению переднего мозга, развитию дополнительного переднего мозга и разрастанию пигментного эпителия сетчатки. При этом в таких эмбрионах наблюдалось расширение зон экспрессии генов-маркеров переднего мозга. В то же время блокирование трансляции мРНК *c-Answer* с помощью морфолиновых антисмысловых олигонуклеотидов (*c-Answer* MO) вызывало уменьшение переднеголовных структур у головастика.

При исследовании роли *c-Answer* в процессе регенерации было выявлено, что количество мРНК *c-Answer* резко возрастает в раневом эпителии и бластеме регенератов конечностей и хвоста головастика уже на первый день после ампутации. Инъектированные *c-Answer* головастики демонстрировали восстановление способности к регенерации в период, когда она невозможна. У головастика, инъектированного *c-Answer* MO, наблюдалось подавление регенерации.

Мы установили, что ген *c-Answer* кодирует трансмембранный белок, мембранная локализация которого была подтверждена с помощью конфокальной микроскопии зародышей шпорцевой лягушки, инъецированных конструкцией EGFP-*c-Answer*.

Полученные данные позволили предположить, что белок *c-Answer* может участвовать в регуляторных сигнальных каскадах, лигандами которых являются факторы роста фибробластов и внеклеточные пуриновые нуклеотиды. С помощью ко-иммунопреципитации было проведено тестирование взаимодействия *c-Answer* с рядом лигандов и рецепторов этих сигнальных каскадов, и выявлено связывание *c-Answer* с двумя трансмембранными рецепторами - FGFR4 и P2Y1.

Результаты настоящей работы подтверждают предположение о том, что исчезнувший в эволюции ген *c-Answer* регулирует как раннее развитие мозга, так и процесс регенерации придатков тела у шпорцевой лягушки посредством участия в сигнальных каскадах, активных в ходе обоих процессов.

Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ № 13-04-40194-НКОМФИ.