Уважаемые сотрудники института биоинформатики, коллеги, позвольте представить Вам промежуточный доклад на тему «Скрининг мишеней канонического каскада Wnt, регулирующих формирование оси тела Dynamena pumilla, с применением дифференциального анализа экспрессии генов».

Практически у всех представителей Bilateria формирование молекулярной разметки оси тела регулируется каноническим каскадом Wnt, сокращенно cWnt. Но, возможно, эта функция cWnt является консервативной для всех Eumetazoa, т.к. недавно была продемонстрирована главенствующая роль этого каскада в определении архитектуры колонии у представителей Cnidaria, сестринской по отношению к Bilateria группы.

На примере колониального гидроидного полипа *Dynamena pumila* было показано, что гиперактивация cWnt приводит к нарушению молекулярной разметки верхушки роста - специализированного органа, отвечающего за рост и морфогенез колонии, что в свою очередь, приводит к критическому изменению архитектуры всей колонии. Ответвления столона, отдельные побеги, перестают удлиняться, на них не формируются новые гидранты, и колония, преимущественно, стелется по субстрату.

Чтобы выявить конкретные молекулярные механизмы, которые регулируют архитектуру колоний, нашими коллегами были отсеквенированы образцы интактных верхушек роста и верхушек роста, обработанных активатором cWnt, после чего получены транскриптомы для каждого из образцов.

Мы использовали программу kallisto для выравнивания транскриптома каждого из образцов на референсный транскриптом, и затем пакет DESeq2 для непосредственно анализа дифференциальной экспрессии. Нормализацию каунтов осуществляли методом медианы отношений с помощью функции DESeq. В качестве контрольного гена при вычислении факторов нормализации использовали GAPDH.

Мы выбрали 100 транскриптов с наиболее выраженным изменением уровня экспрессии, и аннотировали их с помощью вёб-сервиса KofamKOALA. Отобранные нами транскрипты чаще всего соответствовали генам коллагенов различных типов. Этот результат является достаточно ожидаемым, так как коллаген является основным белком мезоглеи – соединительнотканный мембраны между эпителальными слоями гидрантов. Соответственно, при ингибировании верхушки роста, а, значит, и ингибировании формирования новых гидрантов, мы можем ожидать снижение экспрессии генов коллагена. Также, мы обнаружили, что часть транскриптов соответствует генам лигандов семейства Nocth и их трансмембранных рецепторов, delta. Этот результат представляет особый интерес, т.к. каскад delta-Notch является одним из базовых механизмов создания пространственной разметки в раннем развитии. Возможно, именно этот каскад и опосредует наблюдаемое ингибирование формирования верхушки роста у побегов.

В дальнейшем мы планируем идентифицировать 100 генов с наиболее выраженным увеличением уровня экспрессии и 100 генов с наиболее выраженным уменьшением уровня экспрессии, а также изучить изменение экспрессии генов конкретных участников cWnt.

Повысилась экспрессия генов каскада Wnt, что соответствует теоретическому ожиданию.