Отчеты сдаются 9.12, до этого их надо отредактировать, прописать второстепенные пункты типа народохозяйственное значение, перевести и подписать. Хочу иметь заполненные существенные пункты к 5 декабря. Шлю отчеты прошлых лет. Заявка на проект-продолжение через неделю после отчета, то есть к отчету д.б. четкое понимание, что каждый хочет делать дальше.

У нас формально и годовой, и финальный отчеты, но приложение с иллюстрациями можно прилагать только к годовому. В первую очередь нужны иллюстрации, представляющие темы, не отраженные в публикациях и (или) самые выигрышные достижения. Поскольку годовой и финальный отчет подаются и рецензируются вместе, на иллюстрации в приложении можно будет ссылаться и в годовом отчете.

Условные названия иллюстраций (блоков иллюстраций), которые обязательно должны быть (в скобках авторы, Нэлия Адольфовна и Майорова вместе именованы «ДВ»).

1. Морская мозаичная гибридная зона в пространстве и времени (Mytilus edulis, M. trossulus, Кольский залив Баренцева моря). Карта с частотами МЕ и МТ в поселениях в разные годы исследования, график с динамикой MT в индивидуальных генерациях с регрессионной моделью, графики с зависимостью степени гибридизации от «солености» (кута залива) по всем данным. (Юля, Хайтов, Марина)

2. Гибридизация и интрогрессия у морских сельдей (C. harengus, C. pallasii) северной Европы. Карта и единообразно оформленные графики Structure (доля генов harengus/pallasii) для всех генотипированных рыб с указанием, для изученных в этом отношении, числа позвонков и мтДНК генотипов. (Стрелков, Лайус)

3. Гибридизация и интрогрессия у балтийских ракушек комплекса Macoma balthica. Карта, единообразно оформленные графики иерархической типа Structure с указанием, где это возможно, мтДНК генотипов, и что-нибудь ассоциирующееся с функциональным анализом дивергенции типа ядерно-цитоплазматического неравновесия. (Юрченко, Стрелков)

4. Гибридизация и интрогрессия у мидий р. Mytilus северо-восточной Европы. Карта, единообразно оформленные графики Structure для всех kasp-типированных выборок, включая ногу и гемолимфу «BTN-suggested» мидий с указанием, где это возможно, и мтДНК генотипов. (Стрелков, Лайус)

5. Карта исследований BTN в северных морях. Polar-view map как для Кольской статьи с двумя врезками – Кольский з-в и околоток Магадана. Места исследований, объемы наших выборок (можно как в Кольской статье), наличие BTN1 и BTN2, суммарная зараженность (%). (Сказина)

Помимо этого, желательны блоки иллюстраций: (1) с мтДНК изменчивостью у BTN и Кольских M. trossulus (Сказина) и (2) с гистологическими/цитологическими красивыми препаратами и графиком либо таблицей с цитологическими статистиками (плоидность неопластических клеток, ядерно-цитоплазматическое отношение у больных и здоровых гемоцитов) у мидий с DN разной этиологии (линии и штаммы BTN, спонтанная неоплазия) в разных географических популяциях. (ДВ)

К иллюстрациям - развернутые подписи. Делать другие иллюстрации не возбраняется, но лучше словами сказать.

**Годовой отчет.**

В годовом отчете три существенных формы для заполнения: (1) Сведения о фактическом выполнении плана работы в отчетный период, (2)Сведения о достигнутых конкретных научных результатах в отчетном периоде и (3) Описание выполненных в отчетном периоде работ и полученных научных результатов для публикации на сайте РНФ. Писать для всех трех форм, отталкиваясь от заявленных плана и ожидаемых результатов (таблица). В таблице также указаны ответственные авторы (дальневосточные дополнительно выделены желтым) и желательный объем текста для формы (1). Текст для формы (2) писать вдвое короче, а для (3) вообще одну-две фразы.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Заявленный в проекте план работы научного исследования на отчетный период | Заявленные научные результаты на конец отчетного периода | Исполнители, объем |
| 1.1. Продолжить наблюдения за динамикой «криптических» видов мидий Mytilus edulis и M. trossulus и гибридной зоны между ними в водах Кольского полуострова. | | |
| 1.1.1 Динамика видов. В Белом море продолжить наблюдения за таксономической структурой четырех мониторинговых поселений в вершине Кандалакшского залива и переописать состав поселений из точек генетических исследований 2000-2010 гг., не изученных в 2021 году. Завершить анализ данных о распределении видов в водах Кандалакшского залива, выявить средовые факторы, регулирующие таксономический состав смешанных поселений. | Завершен анализ массива данных по распределению видов в водах Кандалакшского залива в связи с градиентами основных факторов среды | Хайтов ½ страницы |
| В Баренцевом море продолжить подробное картирование распределения видов в южной части Кольского залива. Проанализировать богатые «малолокусные» (аллозимные) данные проекта по Кольской гибридной зоне для ответа на вопрос: как менялась, за годы исследований, генотипическая структура отдельных генераций мидий в разных точках залива. | Проанализированы богатые «малолокусные» (аллозимные) данные проекта по Кольской гибридной зоне, для ответа на вопрос: как менялась, за годы исследований, генотипическая структура отдельных генераций мидий в разных точках залива. | Юля ½ страницы и ссылка на иллюстрацию 1. Здесь же ввернуть про анализ связи между гибридизацией и расстоянием от кута. |
| Завершить анализ данных о биотопическом распределении M. edulis и M. trossulus в губе Тюва Кольского залива, динамике их симпатрических поселений за 2004-2018 гг. и динамике популяций мидий района Тювы за все время научных исследований (1930-2010 гг.). | Завершен анализ массива данных по биотопическому распределению видов в губе Тюва Кольского залива, динамике их симпатрических поселений за 2004-2018 гг. и динамике популяций мидий района Тювы за все время научных исследований (1930-2010 гг.). | Юля, ½ страницы и ссылка на **препринт**, если будет |
| 1.1.2 Анализ паттернов гибридизации. Увеличить объем мультилокусных (KASP) данных о генотипической структуре выборок из гибридных зон. Выборки должны удовлетворять следующим критериям: быть смешанными (M. edulis, M. trossulus), представлять контрастные местообитания; также желательно, чтобы у животных был известен пол. | Увеличен объем мультилокусных (KASP) данных о генотипической структуре выборок из гибридных зон (минимум 200 генотипов). В выборках из контрастных местообитаний оценены частоты гибридов, их разнообразие, а также связь между генотипом и полом мидий. | Юля, ¼ страницы и ссылка на иллюстрацию 4 |
| 1.2 Проверить гипотезы о заходах атлантической сельди C. harengus в Белое море и ее гибридизации с беломорской сельдью C. pallasii в настоящее время. | | |
| На примере коллекционных сборов сельди из разных географических популяций и сборов нерестящейся беломорской сельди 2021 года отработать новые ядерные и митохондриальные маркеры, информативные для различения C. pallasii и C. harengus. Генотипировать сельдей с разным числом позвонков из сборов 2021 г., проверить таксономический статус рыб с повышенным числом позвонков, убедиться в наличии/отсутствии в сборах генотипов C. harengus и межвидовых гибридов ранних поколений. | Проверены гипотезы о заходах атлантической сельди Clupea harengus в Белое море и ее гибридизации с беломорской сельдью C. pallasii в настоящее время. На примере коллекционных сборов сельди из разных географических популяций и сборов нерестящейся беломорской сельди 2021 года отработаны новые ядерные и митохондриальные маркеры, информативные для различения C. pallasii и C. harengus. Генотипированы сельди с разным числом позвонков из сборов 2021 г., проверены гипотезы о наличии в сборах генотипов C. harengus и межвидовых гибридов ранних поколений. | Стрелков, Лайус ¼ страницы и ссылка на иллюстрацию 2 |
| Направление 2. Популяционная транскриптомика Limecola (Macoma) balthica. | | |
| 2.1. Завершить анализ данных по популяционной структуре L. balthica, ядерно-цитоплазматическому неравновесию и интрогрессии в европейских популяциях, на генофонды которых повлияла гибридизация между двумя эволюционными линиями ракушки. | Завершен анализ популяционной структуры L. balthica, ядерно-цитоплазматического неравновесия и интрогрессии в европейских популяциях, на генофонды которых повлияла гибридизация между двумя эволюционными линиями ракушки (по имеющимся данным). | Юрченко, ½ страницы и ссылка на иллюстрацию 3 |
| Направление 3. Описание варьирования фенотипов. | | |
| 3.1. Для Clupea из разных европейских популяций, проанализировать связь между генетическим и морфологическим дистанциями с использованием вновь полученных генетических данных. Для беломорских сельдей 2021 г. сбора, если подтвердится их таксономическая гетерогенность, провести подробный морфологический сравнительный анализ генотипов по комплексу меристических признаков, описывающих костные структуры. На всех накопленных по сельди данных провести следующий анализ: разделить общую внутрипопуляционную фенотипическую изменчивость остеологических признаков на факториальный (обусловленный генотипической гетерогенностью и разнообразием условий среды) и стохастический компонент (обусловленный нестабильностью развития), путем использования данных по флуктуирующей асимметрии, и тестировать гипотезу проекта о том, что у гибридов факториальный компонент выше из-за их более высокого генетического разнообразия. | Для Clupea из разных европейских популяций проанализированы связи между генетическим и морфологическим дистанциями с использованием вновь полученных генетических данных. Для беломорских сельдей 2021 г. сбора, если подтвердится их таксономическая гетерогенность (п. 1.2), проведен подробный морфологический сравнительный анализ разных генотипов по комплексу меристических признаков, описывающих костные структуры.На всех накопленных по сельди данных проведен анализ вклада факториального и стохастического компонентов в общую внутрипопуляционную фенотипическую изменчивость остеологических признаков и проверена гипотеза проекта о том, что у гибридов факториальный компонент выше из-за их более высокого генетического разнообразия. | Лайус, ½ страницы по мотивам прошлогоднего анализа и объективного знания об особенностях «много-« и «малопозвонковых» сельдей в Белом море (гибридов ранних поколений у нас в данных все равно нет) |
| Направление 4. В поисках СТС. | | |
| 4.1 Продолжение исследования разнообразия и паттернов распределения трансмиссивного рака в популяциях мидий Mytilus северных и дальневосточных морей России с использованием цитологических и генетических методов диагностики рака. Главные направления работ будут следующие. 4.1.1. Обработать богатые коллекционные сборы 2021 г. из окрестностей Магадана Охотского моря (карта на рис. 4.2.1). 4.1.2. Провести исследование, подобное Магаданскому, нацеленное на поиск “очагов” рака в Кольском заливе Баренцева моря, где по нашим предварительным данным, есть трансмиссивный рак. 4.1.3. Продолжить поиск трансмиссивного рака в других морях, в первую очередь Белого моря. | Получены новые данные по распространению и разнообразию трансмиссивного рака Mytilus в морях России. По свежим и коллекционным сборам проведен поиск «очагов» рака путем подробного картирования инфекции в популяциях мидий окрестностей Магадана в Охотском море и Мурманска в Баренцевом море. | Сказина, Хайтов (Ирина регрессия), до 1 страницы и ссылка на иллюстрацию 5 |
| 4.2 Отработка секвенирования фрагментов диагностических для трансмиссивного рака мидий локусов (EF1a, COI, CR) с помощью секвенирования следующего поколения (NGS) на системе высокопроизводительного полногеномного секвенирования MiSeq Sequencing System на базе РЦ “Биобанк” СПбГУ. По задумке, данный подход должен заменить, как более точный, метод молекулярного клонирования, которое сейчас применяется для идентификации нуклеотидных последовательностей раковых и хозяйских аллелей, находящихся в смеси в ПЦР-продукте. Потребуется подбор специфичных праймеров для амплификации фрагментов не более 500 п.н. локусов, а также биоинформационного алгоритма обработки полученных данных. | На коллекционных и свежих сборах апробирована перспективная методика различения раковых и хозяйских аллелей у мидий, инфицированных трансмиссивным раком, с помощью секвенирования следующего поколения (NGS) на MiSeq Sequencing System. Результаты сопоставлены с таковыми, полученными традиционным методом молекулярного клонирования. В случае удачи, уточнено разнообразие генотипов рака по ядерным и митохондриальным маркерам внутри и между инфицированными мидиями, в том числе из разных географических популяций. | Сказина, ½ страницы |
| 4.3 Определение круга генотипов хозяев трансмиссивного рака в гибридной зоне между M. edulis и M. trossulus в водах Кольского полуострова (Кольский залив, Белое море). Один из подходов, предложенный Hammel et al. 2001 основан на генотипировании тканей раковых мидий по батареям таксономически-информативных маркеров SNP методом аллель специфичной ПЦР (KASP). KASP (полу)количественно определяет соотношение аллелей в тканях, что теоретически должно позволять отличать гетерозигот (соотношение 1:1) от химер (соотношение иное). Мы в первую очередь попробуем применить этот подход. | Апробированы подходы, в первую очередь с использованием метода аллель специфичной ПЦР (KASP), к определению видового генотипа инфицированных трансмиссивным раком мидий из гибридной зоны между M. edulis и M. trossulus в водах Кольского полуострова. Проверена гипотеза о заражении раком, эндемичным для инвазивного M. trossulus, атлантического вида M. edulis, а также гибридов между M. edulis и M. trossulus. | Сказина, ½ страницы и ссылка на иллюстрацию 4. FM-MtDNA заявить надо, поскольку эта информация будет востребована в финальном отчете; желательна иллюстрация с CR как в «кольской» статье |
| 4.4 Провести, методами цитологии и гистологии, сравнительное исследование диссеминированной неоплазии у мидий, инфицированных разными генетическими линиями трансмиссивного рака (BTN1, BTN2, не-трансмиссивный рак) из популяций мидий дальневосточных морей, где разные формы рака встречаются вместе. | Проведено сравнительное цитологическое и гистологическое исследование двух эволюционных линий трансмиссивных неоплазий мидий на примере дальневосточных популяций мидий, где эти линии встречаются вместе. | ДВ, ½ страницы и ссылка на иллюстрацию, если будет |
| 4.5. Продолжить эксперименты по культивированию раковых гемоцитов мидий, используя разные клоны трансмиссивного рака и методические заделы прошлых исследований (Walker et al. 2009, Odintsova et al. 2017; работы по проекту 2020 г.). | Проведен новый эксперимент по культивированию раковых гемоцитов мидий с использованием разных клонов трансмиссивного рака и подходов, наработанных в предыдущих экспериментах (Walker et al. 2009; Odintsova et al. 2017; работы по проекту 2020 г.). | ДВ, ½ страницы |
| 4.6. Продолжить поиск диссеминированной неоплазии и трансмиссивного рака у маком Limecola balthica в Баренцевом море методами проточной цитометрии и анализа митохондриальной гетероплазмии. Методы генотипирования придется совершенствовать (добиваться стабильной амплификации полиморфного COIII), а маком искать крупных (>1.5 см), поскольку у мелких сложно брать гемолимфу. | Методами проточной цитометрии и анализа митохондриальной гетероплазмии изучены новые макомы L. balthica из баренцевоморских популяций, где отмечали диссеминированную неоплазию и «химеризм» по транскриптомным данным. Сделаны предварительные выводы о наличии/отсутствии СТС у ракушки. | Стрелков, Сказина ¼ страницы по мотивам отчета ДВ и Юрченко |
| 4.7. Провести поиск наиболее зараженных раком мидий, секвенировать транскриптомы гемолимфы и мышц ноги этих мидий (не менее пяти раковых мидий), а также контрольных здоровых мидий. Провести анализ дифференциальной экспрессии и выявить генные пути, наиболее отличающиеся между пораженными раком и здоровыми тканями. Определить на основе транскриптомных данных ядерные локусы, дифференцированные между разными линиями рака и его хозяевами мидиями. | Секвенированы транскриптомы гемолимфы и мышц ноги сильно зараженных BTN мидий (не менее пяти мидий) и контрольных здоровых мидий из тех же популяций. Проведен анализ дифференциальной экспрессии, выявлены генные пути, наиболее отличающиеся между пораженными раком и здоровыми тканями. На основе транскриптомных данных выявлены ядерные локусы, наиболее дифференцированные между разными линиями рака и его хозяевами мидиями. | Юрченко, фальсифицировать на ½ страницы по мотивам прошлогоднего отчета, если не успеть с новыми данными |

**Годовой отчет.**

Три формы. (1) Содержание фактически проделанной работы, полученные результаты (за все годы, не более 10 стр.); (2) Основные результаты выполнения проекта (не более 10 стр.); (3) Описание выполненных работ и полученных научных результатов (в том числе степень выполнения проекта) для публикации на сайте РНФ на русском языке (до 3 страниц текста). Писать, по возможности делая результаты короткими, потому что там еще надо будет писать обобщение (также, см. ниже).

В годовом отчете, где только можно, хвалить себя («впервые», «беспрецедентно по масштабу», т.пр. ) и акцентировать внимание на публикации по проекту («подробнее, см. Khaitov et al. 2021», «в развернутом виде, результаты представлены в Khaitov et al. 2021»). О результатах думать ответственно, поскольку они автоматически копируются в заявку проекта-продолжения. Все, что вы хотите делать дальше, должно проистекать из этих результатов.

Ниже, тексты из заявки, перемежаемые таблицами с примерным содержанием отчетных пунктов и ответственными персонами.

Направление 1. Анализ паттернов гибридизации и интрогрессии. Мы параллельно изучаем три системы, каждая из которых включает популяции родительских видов (в том числе, интрогресированные) и, в гибридных зонах, гибридов разных поколений. Мы ищем ответы на следующие вопросы, используя популяционно-генетические подходы и методы. Каково географическое и биотопическое распределение родительских видов, где происходит межвидовая гибридизация сегодня и где происходила ранее? В какой степени гибридизация привела к «загрязнению» генофондов родительских популяций «чужеродными» генами? Разнится ли структура интрогрессии в генофондах разных популяций родительских видов (ситуация, когда в разных случаях интрогрессируют разные гены). Как отличить в гибридных зонах гибридов от «чистопородных», учитывая, что интрогрессия «смазывает» видовые различия? Какова генотипическая структура выборок из гибридных зон, и как она меняется в пространстве? Разнится ли структура разных гибридных зон между одними и теми же видами? Насколько стабильны гибридные зоны, и каковы механизмы их стабильности/динамики? Как пространственно-временная структура гибридных зон согласуется с базовыми моделями гибридных зон, сформулированными по результатам исследований континентальных видов?

|  |  |
| --- | --- |
| Mytilus |  |
| Laakkonen 21: неоднократные транс-арктические инвазии в Плейстоцене-Голоцене как «помпа видообразования» (speciation pump) в морях северной Атлантики | ¼ страницы, Стрелков |
| Khaitov 21: генотипическая структура выборок из сериальных гибридных зон между видами Mytilus в Северной Атлантике (аллозимы) | 1 страница, Стрелков |
| Wenne 20: генотипическая структура выборок из сериальных гибридных зон между видами Mytilus в Северной Атлантике (мультилокусные данные) |
| Simon 19: «антропогенные» гибридизация и интрогрессия (инвазивная M. galloprovincialis в портах Атлантического побережья Европы) |
| Simon 21: структура интрогрессии в сериальных гибридных зонах между видами Mytilus в Северной Атлантике: «кометы интрогрессии» |
| Мозаичная гибридная зона в пространстве и времени | ½ страницы, Юля |
| Khaitov 21: Проблема экспресс-идентификации криптических видов и метод диагностики коммерческих видов Mytilus | ¼ страницы, Хайтов |
| Marchenko preprint: Пространственно-временная динамика симпатрических видов мидий в Баренцевом море | ¼ страницы, Юля |
| Пространственно-временная динамика симпатрических язычков в Белом море | ½ страницы, Хайтов |
| Clupea |  |
| Анализ паттернов гибридизации и интрогрессии | ½ страницы, Стрелков, Лайус |

Направление 2. Популяционная транскриптомика Macoma cf. balthica. Основным объектом мультилокусных (геномных) исследований гибридизации будет балтийская ракушка. Мы планируем секвенировать выборки транскриптомов Macoma и получить информацию о нескольких тысячах SNP, распределенных в транскрибируемой части генома… Для выявления общих паттернов гибридизации между различными популяциями будут использованы тесты, основанные на дискордантности популяционных генеалогий (Patterson’s D-statistic, Durand et al. 2011; 3- и 4 population test, Reich et al. 2009; f – statistics, Martin et al. 2015). Анализ генов и отдельных SNP, демонстрирующих слишком высокий, либо слишком низкий уровень дифференциации между популяциями (Fst – гены-аутлайеры), позволит выявить участки генома, ответственные за репродуктивную изоляцию популяций и за универсальные адаптации, соответственно. Такие варианты будут аннотированы в известные базы данных (GO, KEGG) и рассмотрены как по отдельности, так и в группах генов, выполняющих ту или иную функцию, либо участвующих в одних и тех же метаболических процессах. Из-за высокой степени интрогрессии митохондриального генома Macoma rubra в европейские популяции M. balthica (Nikula et al. 2007, 2008), эта система представляет собой прекрасный объект для картирования генов и полиморфизмов, вовлеченных в ядерно-митохондриальную несовместимость, с помощью методов admixture mapping (Smith, O’Brien 2005). При анализе истории гибридизации, сложные варианты генных потоков будут тестированы на основе моделей дивергенции популяций при разнонаправленных миграционных потоках между ними. Будут применены модели, реализованные в параллельной версии программы IMa2p (Senthuraman, Hey 2016), а также в программе fastsimcoal2 (Excoffier, Fall 2011), позволяющие моделировать и тестировать сложные демографические сценарии и датировать популяционные события.

|  |  |
| --- | --- |
| Популяционная транскриптомика | 1 страница, Юрченко, Стрелков |

Направление 3. Описание варьирования фенотипов. На трех исследуемых системах (мидии, балтийские ракушки, сельди) мы планируем оценить вклад в фенотипическую изменчивость (морфологические и морфофункциональные признаки, характеристики жизненного цикла) двух источников варьирования: (1) «таксономического сродства» (taxonomic affinity) особей, оцененного по вкладу генов родительских видов в их генотипы (как гибридов ранних поколений, так и представителей интрогрессированных популяций), и (2) ключевых экологических градиентов среды. Материал. Тот же, что по направлению 1. Морфологические и функциональные характеристики. Общепринятые в исследованиях сельдей и двустворчатых моллюсков морфологические, морфофункциональные признаки и характеристики жизненного цикла. Помимо этого, мы хотим использовать оригинальные методики - комплекс меристических и пластических признаков, описывающих костные структуры, для сельдей, и комплекс признаков внутренней скульптуры раковин, для мидий.

Экологические характеристики. Для географических сборов: базовые характеристики среды, доступные из литературы и открытых баз данных, такие как среднегодовые температура и соленость. Для сельди, все локальные популяции которой каталогизированы (Runnstrom 1941; Tambovtsev 1957; Lajus 1996, 2001), будут использованы дополнительные параметры, такие как время, глубина и субстрат нереста. Для районов мониторинговых наблюдений доступны более подробные характеристики среды, включая соленость, степень прибойности, тип субстрата, биотическое окружение, степень антропогенного влияния.

Статистические методы. Будут построены регрессионные модели (включающие случайные эффекты географической локации), описывающие связь морфологических и морфофизиологических характеристик с генетической конституцией особей и экологическими характеристиками мест сбора выборок. Изменчивость морфологических параметров, включая флуктуирующую асимметрию, будет проанализирована с применением дисперсионного анализа и методов многомерной статистики.

|  |  |
| --- | --- |
| Mytilus |  |
| морфология (раковина) | Хайтов, ¼ страницы |
| Bakhmet 22, физиология | Юля, ¼ страницы |
| Физиология язычков | Хайтов, ½ страницы |
| Clupea |  |
| Наши сборы | Лайус, ½ страницы |
| Lajus 22, теория | Лайус, ¼ страницы |

Направление 4. В поисках СТС.

Формулируя программу поисковых исследований, мы используем преимущества наших природных моделей. Во-первых, нам доступны все три модельных объекта исследований СТС – двустворчатые моллюски Mya arenaria, Cerastoderma edule и Mytilus trossulus (Metzger et al. 2016), а также Macoma rubra и M. edulis, для которых присутствие СТС установлено (Paynter et al. 2017, Riquet et al. 2017).

А) Диагностика СТС. Для поиска СТС в региональных популяциях Bivalvia будет применен весь арсенал доступных методов диагностики, перечисленных ниже. В качестве источников материала мы будем целенаправленно искать плотные одно- и разновидовые поселения взрослых моллюсков. Хотя экология СТС не изучена, мы предполагаем, во-первых, что СТС, как любая инфекционная болезнь, должен иметь «очаги», во-вторых, что передача СТС между особями может происходить при нересте. Мы выдвигаем гипотезу, что СТС, как и CTVT, - «венерическая» болезнь.

|  |  |
| --- | --- |
| Mytilus |  |
| Диагностика диссеминированной неоплазии, с упоминанием Одинцова 20, Skazina 21, Skazina 22 | ДВ, ½ страницы |
| Молекулярно-генетическая диагностика BTN, с упоминанием Skazina 21, Skazina 22 | Сказина, ½ страницы |
| Распространение и разнообразие BTN в морях России, с упоминанием Skazina 21, Skazina 22 | Сказина, ½ страницы |
| Экологические, факторы, определяющие зараженность BTN в Охотском море | Хайтов, ½ страницы |
| Успехи культивирования BTN | ДВ, ½ страницы |
| Macoma, Cerastoderma |  |
| Не нашли, испанский препринт | Стрелков, Сказина, ¼ страницы |
| Mya |  |
| Villalba 22 in press, Отчеты ДВ | Стрелков, Сказина, ¼ страницы |

Б) Проверка гипотезы о связи нарушений двоякого однородительского наследования мтДНК с СТС. У Bivalvia, в норме, двоякое однородительское наследование мтДНК (doubly uniparental inheritance, DUI). У животных с DUI два дифференцированных митохондриальных генома, женский (F), передающийся от матерей всем потомкам, и мужской (M), передающийся от отцов сыновьям. Самцы гетероплазмичны (F, M), самки гомоплазмичны (F) (Breton et al 2007, Zouros 2013). У мидий из Cеверной Европы описаны необычные нарушения DUI – множественность М и (или) F мтДНК у одних и тех же особей, т.е. гетероплазмия второго порядка (Śmietanka, Burzyński 2017). Мы это видим и в своем материале. Например, F мтДНК M. trossusus в дополнение к полному комплекту поло-специфичных митохондрий (F, M) M. edulis у самцов с ядерными генотипами «чистопородных» M. edulis (Skazina et al. 2017). Появление этих «химер» можно объяснять интрогрессией и нарушением DUI. А можно СТС, тем более, что именно такие генотипы мтДНК имели ядерные «химеры», найденные в западноевропейских популяциях M. edulis (Riquet et al. 2017). Эти гипотезы мы хотим проверить, продолжив свои исследования сегрегации мтДНК в гибридных зонах обитания мидии. Для этого мы проведем дополнительные сборы из популяций, где нами обнаружены митохондриальные «химеры». Проведем диагностику СТС цитологическими методами. В случае обнаружения неопластических клеток, уточним диагноз генетически (методы см. 4.А). Участки М- и F- мтДНК в гемолимфе больных мидий будут амплифицированы со специфическими праймерами (Rawson et al. 2005, 2009, Burzynski et al. 2006, Filipowicz et al. 2008). Смесь ПЦР-продуктов, полученная от каждой особи, будет разделена в ходе молекулярного клонирования и секвенирована. Полученные нуклеотидные последовательности будут сопоставлены друг с другом и с опубликованными последовательностями мидий и раковых линий этих моллюсков. Это позволит различить митохондриальную филогению СТС мидий и филогению самих мидий, в частности, проверить гипотезу (Metzger et al. 2016, Riquet et al. 2017), что линии мтДНК СТС, родственного M. trossulus, формируют отдельную кладу на филогении M. trossulus.

|  |  |
| --- | --- |
| Mytilus |  |
| Митохондриальная изменчивось (16S) в гибридных зонах между МЕ и МТ, проблема кольских МТ | Сказина, Юля ½ страницы |
| Изменчивость MtDNA у BTN (включая факультативную гетероплазмию у BTN2, Skazina 21), гипотеза Yonemitsu, реинтерпретация 62mc (Skazina 21), гипотеза “мужского” происхождения BTN2 Skazina 22, FM у Кольских МТ и гипотеза, объясняющая нарушения у них DUI. Акцентирование результата, что популяция, в которой отмечается нештатная гетероплазмия, действительно заражена. | Сказина, ½ страницы |

В) Транскриптомика СТС. Мы планируем секвенировать транскриптомы гемолимфы больных и здоровых животных для сравнительного анализа их структуры и генной экспрессии. Это будет первая попытка проникнуть в ядерный геном трансмиссионного рака беспозвоночных. После секвенирования, короткие прочтения будут выравнены на референсный транскриптом. Анализ дифференциальной генной экспрессии между образцами будет проведен с помощью программы DESeq2 (Love at al. 2014), оптимизированной для работы с малыми выборками. Гены, демонстрирующие наибольшие различия в экспрессии, будут аннотированы с помощью баз генной онтологии и метаболических путей (GO, Ashburner et al. 2000; KEGG, Kanehisa et al. 2015). Сравнительный анализ однонуклеотидных полиморфизмов между транскриптомами позволит оценить уровень генетической дивергенции между ними.

|  |  |
| --- | --- |
| Mytilus |  |
| Наши BTN | Юрченко, ½ страницы |
| Cerastoderma, по мотивам испанского препринта | Сказина, ¼ страницы |