

УДК: 616.248-092.9

## НЕМАТОДА (CAENORHABDITIS ELEGANS) КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ В БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКЕ

Головин М.Д., Петрова О.В., Атешев Д.М.

Волгоградский государственный медицинский университет, Россия, Волгоград, e-mail:  
hodok.nikita@yandex.ru

*Caenorhabditis elegans* — это небольшие, свободноживущие нематоды около 1-1.5 мм в длину, которые могут быть найдены в умеренных почвенных средах, питаются различными бактериями, включая кишечную палочку. *C. elegans* был мощным экспериментальным объектом на протяжении почти полувека. Сидней Бреннер впервые использовал нематод как генетический модельный организм в 1965 году для анализа развития и поведения. За эту работу Бреннеру и его коллегам в 2002 году была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине. За прошедший период, *C. elegans* была использована в качестве модели для изучения широкого спектра биологических явлений, и, следовательно, есть огромное количество генотипических и фенотипических данных, доступных для исследователей. Это привело к нескольким прорывам в биомедицинской науке, которые включают открытие генетических регуляторов запрограммированной смерти клеток, использования зеленого флуоресцентного белка в качестве белкового маркера и открытие РНК-интерференции. Действительно, эта нематода сочетает в себе ряд характеристик, которые делают её выгодной моделью, анатомически и генетически. Кроме того, характеристики этого беспозвоночного делают его легкой экспериментальной моделью для того, чтобы изучать биологические процессы в относительно дешевом, быстром, и легком пути.

**Ключевые слова:** нематода, модельный объект, *c. elegans*.

## NEMATODE (CAENORHABDITIS ELEGANS) AS A MODEL OBJECT IN BIOLOGY AND GENETICS

Golovin M.D., Petrova O.V., Ateshev D.M.

Volgograd State Medical University, Russia, Volgograd, e-mail: hodok.nikita@yandex.ru

*Caenorhabditis elegans* are small, free-living nematodes about 1-1.5 mm long that can be found in temperate soil environments and feed on a variety of bacteria, including *E. coli*. *C. elegans* has been a powerful experimental subject for almost half a century. Sydney Brenner first used nematodes as a genetic model organism in 1965 to analyze development and behavior. For this work, Brenner and his colleagues were awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine in 2002. Over the past period, *C. elegans* has been used as a model to study a wide range of biological phenomena, and hence there is a vast amount of genotypic and phenotypic data available to researchers. This has led to several breakthroughs in biomedical science, which include the discovery of genetic regulators of programmed cell death, the use of green fluorescent protein as a protein marker, and the discovery of RNA interference. Indeed, this nematode combines a number of characteristics that make it an advantageous model, anatomically and genetically. In addition, the characteristics of this invertebrate make it an easy experimental model for studying biological processes in a relatively cheap, fast, and easy way.

**Keywords:** nematode, model object, *c. elegans*.

## **Введение**

Работа посвящена нематодам вида *Caenorhabditis elegans* и возможностям использования их в генетике и биологии. В конце 60-х годов Расселом и Берчем была предложена концепция 3R, которая на сегодняшний день является общепринятым мировым стандартом, позволившим в значительной степени сократить число лабораторных животных, используемых в научных целях. Согласно этой концепции возрос интерес исследователей к беспозвоночным моделям, в частности к такой модели, как крошечные свободно живущие нематоды *Caenorhabditis elegans*. За более чем 40 лет интенсивных исследований раскрыты секреты их генетики, физиологии, анатомии и поведения. Известно точное количество нервных клеток в их нервной системе (302), синаптическая структура нервной системы, а каждый из нейронов полностью изучен электронно-микроскопически; геном был тщательно изучен ещё в 1998 г.

- Царство: Животные
- Тип: Нематоды
- Класс: Chromadorea
- Отряд: Rhabditida
- Семейство: Rhabditidae
- Род: *Caenorhabditis*
- Вид: *Caenorhabditis elegans*

## **Материалы и методы**

*C. elegans* – это небольшая свободно живущая нематода, распространенная по всему миру. Длина взрослой особи достигает  $\approx 1$  мм, *C. elegans* имеет достаточно простое строение. Снаружи нематоды покрыты многослойной кутикулой, своеобразным наружным скелетом. Под кутикулой залегает гиподерма. Под гиподермой лежат продольные мышечные волокна, которые контролируют движение организма, а также брюшной и спинной нервные стволы, которые иннервируют мышцы. Внутри нейромышечной области находятся пищеварительная, выделительная и репродуктивная системы. У нематод этого вида одна из самых «простых» нервных систем. Взрослая гермафродитная особь состоит из 959 клеток (самец – из 1031 клетки) и имеет всего 302 нейрона, связи между которыми тщательно изучены

Нематоды этого вида обладают прозрачным телом, что позволяет совершать прижизненное наблюдение за делением, миграцией и дифференцировкой клеток, а также описывать генеалогические отношения и поведение всех клеток, начиная от стадии одноклеточного яйца и заканчивая взрослым животным

*C.elegans* был первым многоклеточным организмом, чей геном был полностью секвенирован. Геном *C.elegans* имеет длину приблизительно 100 миллионов пар оснований и содержит приблизительно 20 000 генов. Большинство этих генов кодирует белки, среди них есть примерно 1000 генов РНК. Официальная версия геной последовательности *C.elegans* продолжает изменяться по мере того, как новые исследования приводят к нахождению ошибок в первоначальной последовательности (секвенирование ДНК не защищено от ошибок). Большинство изменений обычно незначительны, добавляется или удаляется только несколько комплементарных пар оснований ДНК. Генетический аппарат *C.elegans* так же очень простой: в 6 парах гомологичных хромосом содержится, около 3000 жизненно важных генов. Гаплоидный геном содержит 80 млн. пар нуклеотидов (в 17 раз больше, чем у *E. coli* и в 38 раз меньше, чем у человека). Получена библиотека генома в виде большого набора перекрывающихся фрагментов ДНК.

### **Основная**

### **часть**

Ключевым открытием, которым мы обязаны *C. elegans*, является механизм РНК-интерференции, которая позволяет «заглушить» экспрессию определенного гена с помощью двухцепочечного фрагмента РНК, одна из цепей которого комплементарна гену. Достаточно скормить ей бактерий, синтезирующих необходимую РНК-заглушку, и фрагмент двухцепочечной РНК распространяется по всему организму *C. elegans*, заглушая ген во всех клетках! За это открытие Эндрю Файер и Крэйг Мэлло удостоились Нобелевской премии в 2006 году. А сам механизм в наши дни, более чем десятилетие спустя, наконец-то ложится в основу новейших лекарственных препаратов. У этих червей нет самок. Популяции состоят из самцов и гермафродитов, причем последние преобладают. У гермафродитов две X-хромосомы, у самцов — только одна (система определения пола XO). Гермафродиты производят сперматозоиды и яйцеклетки и могут размножаться без посторонней помощи путем самооплодотворения. Самцы производят только сперматозоиды и могут оплодотворять гермафродитов. В результате самооплодотворения на свет появляются только гермафродиты. При перекрестном оплодотворении половина потомства оказывается гермафродитами, половина — самцами.

Во-первых, это облегчает содержание и разведение нематод, так как одна особь может дать начало целой популяции. Во-вторых — вытесняет гетерозиготность и делает популяцию изогенной, то есть очень схожей по генетическим признакам, что облегчает генетический анализ. В-третьих, самооплодотворение у нематод подчиняется менделевскому закону расщепления признаков, а это гарантирует, что у предка, гетерозиготного по определенному рецессивному признаку, четверть потомства будет

гомозиготным по мутантному аллелю, что позволяет изучать гены, связанные с аутосомно-рецессивными заболеваниями. При этом на ранних стадиях работы с нематодами особей с желаемыми мутациями обнаруживали в основном по фенотипу, то есть по тому, как менялся вид или поведение червяка после внесения интересующей исследователя мутации. Сейчас для этого используются различные маркеры (в основном флуоресцентные), позволяющие пометить особей, несущих интересующие признаки. Флуоресценцию легко обнаружить, так как тело *C. elegans* совсем прозрачное, и для этого ученые уже используют специальные «сортеры нематод» (надо полагать, превзошедшие собой сортеры клеток): приборы, которые автоматически детектируют флуоресценцию и сортируют нематод по разным пробиркам

С помощью мутационного анализа идентифицировано около 800 генов. Среди них гены, влияющие на форму и поведение червей, гены, кодирующие миозин гены, контролирующие характер и направление развития, гены гибели и долголетия. Получена библиотека генома в виде большого набора перекрывающихся фрагментов ДНК. У нематоды *C. elegans* было охарактеризовано более 40 генов, чьи мутации ведут к увеличению продолжительности жизни и к возрастанию устойчивости к повреждающим воздействиям окислительного стресса.

## Результаты

Описано несколько сот мутаций *C. elegans*, и примерно 2/3 из них затрагивают поведение. В спектр поведенческих изменений входят нарушения координации движений червя, аномалии строения тела, которые влекут за собой аномальные движения, изменения хемотаксиса, нарушение откладки яиц. Мутация *Slow* - мутант перемещается в 8 раз медленнее, чем особи дикого типа. Мутация *roller* - червь перемещается, переворачиваясь через головной и хвостовой концы. Мутация *bent head* - при этой мутации изменена анатомия головного конца, и вместо обычных "рыскающих" движений перемещение идет по спирали.

За более чем 40 лет интенсивных исследований раскрыты секреты генетики, физиологии, анатомии и поведения нематоды *C. elegans*. Нервная система *C. elegans* хорошо изучена. На сегодняшний день известно, что нервная система нематоды состоит из 302 нейронов 118 подтипов, 6393 химических, 890 электрических и 1410 нейромышечных синапсов. Были также составлены карты всех нейронов различных клеточных линий нематоды. Совокупность этих знаний делает *C. elegans* удобным объектом для нейротоксикологических исследований, а также для изучения механизмов управления движениями, передачи сигналов по нейронной сети, хемотаксиса

## **Заключение**

## **И**

## **Выводы**

Исследования на *C. elegans* осветили механизмы развития нервных клеток, показав, что ген *sem-4* участвует в контроле развития мезодермальных и нейронных клеток. Ген *lin-9*, который влияет на пути передачи сигнала, контролирующего развитие гонад нематоды, имеет аналоги у многих видов, что делает *C. elegans* полезной моделью для исследований биологии развития и механизмов межклеточной сигнализации. *C. elegans* является важной моделью для понимания патофизиологии и молекулярных механизмов нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера и Паркинсона.

## **Список**

## **литературы**

1. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2007). *Molecular Biology of the Cell* (5th ed.).
2. Kamath R, Ahringer J (2003) Genome-wide RNAi screening in *Caenorhabditis elegans*. *Methods* 30(4):313–321
3. Brenner, S. (1974). *The Genetics of Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 77: 71–94
4. . Clare JJ, Tate SN, Nobbs M, Romanos MA (November 2000). "Voltagegated sodium channels as therapeutic targets". *Drug Discovery Today*. 5 (11): 506–520.
5. Schafer WR (September 2005). "Deciphering the neural and molecular mechanisms of *C. elegans* behavior". *Current Biology*. 15 (17): R723–9