

Транскриптомный анализ развития полипида пресноводной мшанки *Cristatella mucedo*: от почкования до дегенерации

Квач А.Ю.^{1*}, Кутюмов В.А.¹, Старунов В.В.^{1, 2}, Островский А.Н.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра зоологии беспозвоночных, Санкт-Петербург, Россия

² Зоологический институт РАН, Лаборатория эволюционной морфологии, Санкт-Петербург, Россия

* ay.kvach@yandex.ru

Ключевые слова: RNA-seq; развитие; колониальность; Bryozoa; почкование, дифференциальная экспрессия генов

Мотивация и цель: Изучение колониальных беспозвоночных позволяет взглянуть на ряд важных биологических процессов под новым углом. Для роста и развития модульного организма необходимы: (1) механизмы, обеспечивающие почкование модулей на протяжении всей жизни колонии за счет наличия стволовых клеток или клеточной дедифференцировки; (2) механизмы периодической дегенерации модулей колонии, сроки жизни которых существенно короче, чем у самой колонии; (3) механизмы, регулирующие эти антагонистические процессы. Колониальная организация возникала неоднократно и независимо в пяти типах Eumetazoa (Cnidaria, Bryozoa, Kamptozoa, Hemichordata, Chordata) [1], однако за исключением нескольких модельных видов гидроидов и асцидий, нам очень мало известно о развитии колониальных беспозвоночных на молекулярном и клеточном уровнях. С целью восполнить этот пробел для Bryozoa, мы провели постадийный транскриптомный анализ развития полипида в колонии пресноводной мшанки *Cristatella mucedo*.

Методы и алгоритмы: Мы секвенировали транскриптомы 6 последовательных стадий развития и дегенерации полипида – пищедобывающего щупальцевого аппарата с кишечником, включая почку полипида. ювенильный полипид, три возраста зрелых полипидов и дегенерирующий полипид, на платформе Illumina HiSeq2500. На основе полученных данных мы собрали и проаннотировали референсный транскриптом. После этого мы провели анализ дифференциальной экспрессии генов, выявили кластеры ко-экспрессии и охарактеризовали их с помощью анализов обогащения GO и KO групп. Также мы исследовали паттерны экспрессии наиболее важных групп генов, связанных с процессами развития и их регуляцией.

Результаты: Подавляющее большинство консервативных маркеров стволовых клеток и транскрипционных факторов, связанных с процессами развития, а также элементы Wnt/beta-catenin сигналинга, повышают свою экспрессию на начальных стадиях формирования полипида. Однако небольшая доля из них также повышают экспрессию в зрелых или дегенерирующих полипидах. Наши результаты свидетельствуют о том, что дегенерация полипидов – сложный регулируемый процесс, включающий аутофагию, апоптоз, и другие типы программируемой

клеточной смерти, а также, вероятно, локальную транс- или дедифференцировку клеток. Также мы выдвигаем гипотезу, что сигнальный путь mTOR может играть важную роль в регулировании продолжительности жизни полипидов, а также переключении между фазами «развития», «функционирования» и «дегенерации».

Выводы: Проанализировав изменения в транскриптом полипида во время его развития, мы выявили круг генов, процессов и сигнальных путей, обеспечивающих как формирование, так и дегенерацию полипида. Кроме того, мы обнаружили, что дегенерация полипида, по всей видимости, такой же сложный и регулируемый процесс, как и почкование, и, таким образом, представляет собой перспективную область для дальнейших исследований.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РНФ № 23-14-00351.

Transcriptome analysis of polypide development in the freshwater bryozoan *Cristatella mucedo*: from budding to degeneration

Kvach A.^{1*}, Kutyumov V.¹, Starunov V.^{1, 2}, Ostrovsky A.¹

¹ Saint Petersburg State University, Department of Invertebrate Zoology, Saint-Petersburg, Russia

² Zoological Institute of RAS, Laboratory of Evolutionary Morphology, Saint-Petersburg, Russia

* ay.kvach@yandex.ru

Key words: RNA-seq; development; coloniality; Bryozoa; budding, differential gene expression

Motivation and Aim: The study of colonial invertebrates provides a new perspective on a number of important biological processes. Growth and maintenance of the colonial body is provided by (1) mechanisms that ensure budding of modules throughout the life of the colony using stem cell lineage or the ability of the cells to dedifferentiate; (2) mechanisms for the cyclic non-pathological degeneration of colony modules whose lifespan is shorter than that of the colony itself; (3) mechanisms that regulate these antagonistic processes. Colonial body organization has arisen repeatedly and independently in five eumetazoan phyla (Cnidaria, Bryozoa, Kamptozoa, Hemichordata, Chordata) [1], but with the exception of a few model species of hydroids and ascidians, we know very little about the basics of coloniality at the molecular and cellular levels. Our study on the freshwater *Cristatella mucedo* is the first step in addressing this gap to Bryozoa.

Methods and Algorithms: We sequenced the transcriptomes of 6 consecutive stages of the development of the polypide – tentacle food-gathering apparatus with a gut), namely the polypide bud, juvenile polypide, three ages of mature polypides, and degenerating polypide, using the Illumina HiSeq2500 platform. Next, we assembled and annotated the reference de novo transcriptome. After that we performed differential gene expression analysis, identified gene co-expression clusters and characterized them using GO and KO group enrichment analyses. We also investigated the expression patterns of the most important groups of genes associated with developmental processes and their regulation.

Results: The vast majority of conserved "stemness" markers and transcription factors, associated with developmental processes, as well as elements of the Wnt/beta-catenin signaling pathway increase their expression during the early stages of polypide

development. However, a small amount of them also increase expression in mature or degenerating polypides. Our results suggest that polypide degeneration is a complex regulated process involving autophagy, apoptosis, and other types of programmed cell death, as well as probably local trans- or dedifferentiation of cells. We also suggest that the mTOR signaling pathway may play an important role in regulating the lifespan of polypides.

Conclusion: By analyzing changes in the polypide transcriptome during development, we have identified the genes, processes and signaling pathways that enable both budding and polypide degeneration. In addition, we found that polypide degeneration appears to be as complex and regulated as budding and, thus, represents a promising area for further research.

Funding: The study has been supported by the Russian Science Foundation (grant No. 23-14-00351).

Список литературы/References

1. Hiebert L.S., Simpson C., Tiozzo S. Coloniality, clonality, and modularity in animals: The elephant in the room. *J Exp Zool Mol Dev Evol.* 2021;336(3):198-211