

## Исследование активности серотонинергической системы у ранних эмбрионов *Ophelia limacina*

Научный руководитель – Никишин Денис Александрович

**Панявина Мария Сергеевна**

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: ld-thh@yandex.ru

Серотонин (5-НТ) появился задолго до возникновения нервных клеток в процессе онтогенеза. Изучение роли 5-НТ в регуляции раннего эмбриогенеза у различных типов беспозвоночных животных - актуальный вопрос для биологии развития. При этом наличие систем его синтеза и транспорта во время раннего развития недостаточно изучено. Данная работа была выполнена на эмбрионах *Ophelia limacina* (Rathke, 1843), так как данные о представителях Lophotrochozoa практически отсутствуют.

Целью исследования было выяснить наличие 5-НТ и функциональной активности систем его синтеза и захвата из внешней среды у эмбрионов *O. limacina* на ранних стадиях. Для этого были поставлены следующие задачи:

1. Установить наличие серотонина в ранних эмбрионах *O. limacina*;
2. Определить, увеличится ли концентрация 5-НТ после инкубации эмбрионов в предшественнике серотонина гидрокситриптофане (НТР) и экзогенном 5-НТ; установить наличие концентрационной зависимости эффектов;
3. Выявить экспрессию мРНК гена транспортера серотонина SERT на ранних стадиях развития;
4. Выявить возможные морфологические нарушения эмбриогенеза при инкубации эмбрионов в селективном ингибиторе обратного захвата 5-НТ флуоксетине.

Для выявления активности серотонинергической системы часть эмбрионов инкубировали в 5-НТ (1, 10  $\mu\text{M}$ ), часть - в НТР (0,1, 1, 10  $\mu\text{M}$ ), еще одна группа была контрольной. После иммуноокрашивания антителами против серотонина проводили регистрацию иммунофлуоресценции. По сравнению с контрольной группой, флуоресценция эмбрионов, которых содержали в 1  $\mu\text{M}$  5-НТ, составила 91.6%, а при увеличении концентрации до 10  $\mu\text{M}$  - поднялась до 171.2% (интенсивность контроля взята за 100%). Для эмбрионов, инкубированных в НТР: при концентрации 0,1  $\mu\text{M}$  - 75.5%, при 1  $\mu\text{M}$  - 136.1%. Дальнейшее увеличение концентрации НТР до 10  $\mu\text{M}$  не дало усиления флуоресценции, она оказалась равной 122.2%.

Для исследования экспрессии мРНК гена SERT подобрали специфические олигонуклеотиды, используя последовательности гена SERT представителей Lophotrochozoa из NCBI GenBank. Последующий ПЦР-анализ и секвенирование ПЦР-продукта показали наличие экспрессии гена SERT на ранних стадиях развития.

Для выявления возможных морфологических нарушений раннего эмбриогенеза при ингибировании захвата 5-НТ, эмбрионы инкубировали в флуоксетине (10  $\mu\text{M}$ ). На ранних этапах развития нарушений не наблюдалось. Однако далее зародыши остановились на стадии бластулы, состояли из меньшего количества клеток, но оставались живыми и подвижными.

Полученные результаты подтверждают, что эмбрионы *O. limacina* имеют активную серотонинергическую систему на ранних стадиях развития, в том числе активные системы синтеза и захвата 5-НТ. SERT экспрессируется на ранних стадиях развития *O. limacina*, а

флуоксетин приводит к ингибированию гаструляции и остановке развития. Выполненное исследование подтверждает универсальность донервных функций серотонина как регулятора процессов раннего развития животных.