

УДК 591.3

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ СТВОЛОВЫХ РЕЗЕРВНЫХ КЛЕТОК, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ БЕСПОЛОЕ И ПОЛОВОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ¹

© 2009 г. В. В. Исаева***, А. В. Ахмадиева*, Я. Н. Александрова*, А. И. Шукалюк*

*Институт биологии моря ДВО РАН

690041 Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17

**Институт проблем экологии и эволюции РАН

119071 Москва, Ленинский пр-т, д. 33

E-mail: vv_isaeva@mail.ru

Поступила в редакцию 22.12.07 г.

Окончательный вариант получен 15.05.08 г.

В обзоре рассматриваются литературные и собственные данные, свидетельствующие об эволюционном консерватизме морфофункциональной организации стволовых резервных клеток, обеспечивающих бесполое и половое размножение беспозвоночных животных. Изучены стволовые клетки представителей пяти типов животных: архециты губки *Oscarella malakhovi* (Porifera), большие интерстициальные клетки колониального гидроида *Obelia longissima* (Cnidaria), необласты планарии бесполой расы *Girardia tigrina* (Platyhelminthes), стволовые клетки колониальных корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis*, *Polyascus polygenea* и *Thylacoplethus isaevae* (Arthropoda) и колониальной асцидии *Botryllus tuberatus* (Chordata). Стволовые клетки животных столь различных таксонов характеризуются присутствием герминальных гранул, реакцией выявления ядерного антигена пролиферирующих клеток, активности щелочной фосфатазы (маркеров эмбриональных стволовых и первичных половых клеток позвоночных) и экспрессией в стволовых клетках корнеголовых ракообразных *vasa*-подобного гена (экспрессия таких генов характерна для клеток половой линии различных представителей Metazoa). Самообновляющийся резерв стволовых клеток – клеточная основа репродуктивной стратегии, включающей половое и бесполое размножение.

Ключевые слова: бесполое размножение, стволовые клетки, герминальные гранулы, ген *vasa*.

Принято различать два основных типа детерминации первичных половых клеток - с помощью преформации (асимметричного распределения половых детерминантов материнского происхождения в раннем эмбриогенезе), как это наблюдается у ряда многоклеточных животных, и путем эпигенеза (индукции сигналами соматического клеточного окружения), что происходит у мыши с развитием половой линии после имплантации бластоцисты (Saffman, Lasko, 1999; Wylie, 1999; Houston, King, 2000; Extavour, Akam, 2003; Saitou et al., 2003; Hayashi et al., 2007; Travis, 2007), морского ежа (Juliano et al., 2006), некоторых насекомых (Chang et al., 2006) и у других организмов (Extavour, Akam, 2003; Travis, 2007). У колониальных клональных организмов не происходит раннего выделения клеток половой линии (Buss, 1999): у размножающихся бесполом путем беспозвоночных животных линия стволовых резервных клеток, способных дифференцироваться и в поло-

вые, и в соматические клетки, поддерживается в течение всей жизни организма. Наиболее убедительно такая способность стволовых клеток (необластов) проявляется у планарий (Agata, Watanabe, 1999; Shibata et al., 1999; Peter et al., 2001; Isaeva et al., 2005). К подобным же стволовым клеткам, дифференцирующимся в половые и соматические, относятся архециты губок (Simpson, 1984; Müller, 2006) и большие интерстициальные клетки книдарий (Campbell, 1974; Thomas, Edwards, 1991; Bode, 1996; Mochizuki et al., 2001). В последние годы наметилась тенденция обобщенно называть стволовыми клетками архециты губок (Müller, 2006), интерстициальные клетки книдарий (Bode et al., 1996) и необласты турбеллярий (Gschwentner et al., 2001; Peter et al., 2001; Sato et al., 2001; Orii et al., 2005). Клетки колониальных асцидий, способные дифференцироваться как в половые, так и в соматические, названы стволовыми (Stoner et al., 1999; Weissman, 2000; Laird et al., 2005). Следуя этой тенденции, мы назвали стволовыми обнаруженные нами клетки почкующихся столонов интерны колониальных представителей корнеголовых ракооб-

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 06-04-48744, 06-04-63092, 06-04-96039) и ДВО РАН (проект № 06-III-A-06-162).

разных: они способны к самообновлению и дифференцировке в соматические и половые клетки бластозооидов (Исаева, Шукалюк, 2007; Исаева и др., 2008; Isaeva et al., 2001, 2004; Shukalyuk et al., 2005, 2007).

В обзоре рассмотрены ультраструктурные и некоторые цитохимические, иммунохимические и молекулярные характеристики стволовых клеток беспозвоночных животных с бесполом размножением. Мы изучили морфофункциональную организацию стволовых клеток представителей пяти типов многоклеточных животных: губки *Oscarella malakhovi* (Porifera), колониального гидроида *Obelia longissima* (Cnidaria), планарии бесполой расы *Girardia (Dugesia) tigrina* (Platyhelminthes), колониальных корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis*, *Polyascus polygenea* и *Thylacoplethus isaevae* (Arthropoda) и колониальной асцидии *Botryllus tuberatus* (Chordata). Герминальные гранулы исследованы в качестве ультраструктурного маркера и ключевого органоида клеток половой линии и стволовых резервных клеток этих беспозвоночных животных. Выявление продукта гена, родственного эволюционно консервативному гену *vasa*, экспрессия которого характерна для клеток половой линии различных представителей Metazoa, применено в качестве молекулярного маркера. Ядерный антиген пролиферирующих клеток (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) использован как маркер клеточной репродукции самообновляющейся линии стволовых клеток. Цитохимическим маркером стволовых клеток была избрана реакция выявления активности щелочной фосфатазы, ранее применявшаяся другими исследователями для идентификации первичных половых и эмбриональных стволовых клеток млекопитающих. Основываясь на литературных и собственных данных, мы предполагаем общность структурной и функциональной организации стволовых резервных клеток бесполо размножающихся животных и клеток половой линии.

ТЕРМИНОЛОГИЯ

Общепринятого универсального определения термина “стволовая клетка” еще нет – этим утверждением начинается книга по биологии стволовых клеток (Stem cell biology. 2001. P. 1). Стволовые клетки рассматриваются как способные к самообновлению и дифференцировке в специализированные клетки; в зависимости от потенциала цитодифференцировки различают тотипотентные, плюрипотентные, мультипотентные, олигопотентные и унипотентные стволовые клетки (Weissman, 2000; Glossary ...; Stem cell information). Принятая в настоящее время терминология разработана главным образом исследователями стволовых клеток млекопитающих и не унифицирована даже применительно к ним.

Так, тотипотентные клетки определяют либо как способные дифференцироваться во все клеточные типы организма млекопитающих, включая клетки экстраэмбриональных тканей (Glossary ...), либо как способные сформировать целый организм – в таком случае тотипотентность не свойственна никаким стволовым клеткам позвоночных и присуща лишь зиготе и клеткам самых ранних зародышей (Stem cell information; Smith, 2001, 2006). В то же время в биологии развития термин “тотипотентность” используется для обозначения потенциала клетки или ее потомков продуцировать все типы клеток (Developmental ...; Gilbert, 2006; Seydoux, Braun, 2006). Одни исследователи полагают, что потенциал тотипотентности поддерживается клетками женской половой линии (Weissman, 2000; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007); другие считают клетки половой линии лишь плюрипотентными (Hogan, 2001; Smith, 2006). Определение плюрипотентных стволовых клеток еще более противоречиво: это либо клетки, способные дать многие, но не все, клеточные типы организма (Developmental ...; Winslow, 2001), либо клетки всех трех зародышевых листков (Stem cell information), либо все типы клеток имплантированного эмбриона и развивающегося организма, за исключением клеток трофобласта и плаценты (Glossary ...), либо все типы клеток эмбриона, включая экстраэмбриональные (Smith, 2006). Мультипотентные клетки могут дать много клеточных типов, олигопотентные – немногие типы клеток, а унипотентные – единственный тип дифференцированных клеток (Glossary ...).

Культивируемые эмбриональные стволовые клетки млекопитающих, способные при определенных условиях дифференцироваться в половые клетки и во все типы соматических клеток тела, принято рассматривать как плюрипотентные (Smith, 2001, 2006; Glossary ...), хотя некоторые авторы (Reddy et al., 1992; Pesce et al., 1999) называют их тотипотентными. Мы разделяем определение тотипотентности, принятое в биологии развития, и концепцию поддержания тотипотентности клетками женской половой линии (см. выше). Возможность дифференцировки эмбриональных стволовых клеток в женские половые клетки (Hübner et al., 2003; Daley, 2007; Kerkis et al., 2007), по нашему мнению, свидетельствует о тотипотентности.

Стволовые клетки беспозвоночных с бесполом размножением, способные дифференцироваться и в половые, и в соматические клетки всех типов, традиционно именуют тотипотентными; стволовые же клетки, дающие половые и многие, но не все, типы соматических клеток организма, иногда называют мультипотентными. Так, архециты губок и необласты турбеллярий считают тотипотентными, тогда как большие интерстициальные клетки книдарий – мультипотентными

(см. ниже). Рассматриваемые нами стволовые клетки беспозвоночных, обеспечивающие половое и бесполое размножение, мы именуем здесь стволовыми резервными клетками. Мы полагаем, что способность таких клеток к дифференцировке в женские половые клетки позволяет рассматривать их как тотипотентные – вне зависимости от широты спектра их соматических производных.

Во избежание недоразумений следует заметить, что из нашего рассмотрения исключены стволовые камбиальные клетки, обеспечивающие физиологическое и репаративное обновление тканей и характеризующиеся неспособностью к дифференцировке в половые клетки, ограниченным морфогенетическим потенциалом (мульти-, олиго- или унипотентностью), неспособностью к обширным миграциям и асимметричным митозом, которому некоторые исследователи, например Вольперт (Wolpert, 1988), придают большое значение.

СПОСОБНОСТЬ СТВОЛОВЫХ РЕЗЕРВНЫХ КЛЕТОК БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАТЬСЯ В ПОЛОВЫЕ И СОМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ

Архециты губок способны дифференцироваться в гаметогенные и соматические клетки (Simpson, 1984; Müller, 2006) и рассматриваются как тотипотентные клетки (Müller, 2006). Никитин (1974) экспериментально доказал, что однородные клеточные агрегаты, сформированные из изолированных ядрышковых амебоцитов (археоцитов) пресноводной губки *Ephydatia fluviatilis* L., способны к развитию в организм губки.

Большие интерстициальные клетки гидры и других представителей кишечнополостных продуцируют и половые клетки, и некоторые, но не все, типы соматических клеток, поскольку эпителиальные и гастродермальные клетки способны к митотической репродукции (Campbell, 1974; Thomas, Edwards, 1991; Vode, 1996), и потому отнесены к мультипотентным клеткам (Mochizuki et al., 2001). По нашим данным, гониальные клетки и ранние ооциты гидроиды *O. longissima* отличимы от больших интерстициальных клеток лишь более крупным размером (Ахмадиева, 2008; Akhmadieva et al., 2005).

Необласты размножающихся бесполом путем планарий и других турбеллярий, способные дифференцироваться и в половые, и в соматические клетки всех типов, принято рассматривать как тотипотентные клетки (Agata, Watanabe, 1999; Shibata et al., 1999; Peter et al., 2001; Orii et al., 2005). Необласты планарии бесполой расы *G. tigrina* могут становиться гониальными клетками: одна из особей такой расы, размножавшейся исключительно путем архитомии в течение более 40 лет, в

результате спонтанной сексуализации отложила коконы; гистологическое и ультраструктурное исследование этой планарии показало наличие гонад, гониальных клеток и ооцитов (Isaeva et al., 2005).

В интерне колониальных корнеголовых ракообразных *P. polygenea* и *P. gracilis* стволовые клетки формируют ранние зачатки бластозооидов, дифференцируясь затем во все типы соматических клеток развивающегося путем бластогенеза организма, и мигрируют в развивающийся яичник, становясь оогониями (Исаева, Шукалюк, 2007; Isaeva et al., 2004; Shukalyuk et al., 2005) Стволовые клетки колониальной интерны корнеголовых по своим потенциям подобны необластам планарий; мы рассматриваем такие клетки как тотипотентные.

Объединение сосудистых систем колоний асцидий *Botryllus schlosseri* может вести к замещению половых и соматических клеток одной из колоний клетками другой (Pancer et al., 1995; Stoner, Weissman, 1996; Stoner et al., 1999; Weissman, 2000; Laird, De Tomaso, 2004/2005). У колониальных асцидий половые и соматические клетки дифференцируются из циркулирующих клеток крови (Pancer et al., 1995; Stoner, Weissman, 1996; Stoner et al., 1999). Остается неизвестным, разделены ли линии половых и соматических клеток у ботриллид или они возникают из единой исходной популяции стволовых клеток (Stoner et al., 1999; Brown, Swalla, 2007), поэтому стволовые клетки асцидий рассматриваются как плюри- (Sunanaga et al., 2006) или тотипотентные (Stoner et al., 1999; Laird, Weissman, 2004). Недавно показана дифференцировка гемобластов *Botryllus primigenus* в женские половые клетки, причем первичные половые клетки морфологически неотличимы от гемобластов (Sunanaga et al., 2006).

САМООБНОВЛЕНИЕ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Общая черта стволовых, первичных половых и гониальных клеток – самообновление путем митотической репродукции в течение длительного периода или на протяжении всей жизни организма (Houston, King, 2000; Stem cell biology, 2001; Hogan, 2001; Winslow, 2001). Например, большие интерстициальные клетки гидры и других представителей кишечнополостных – стволовые клетки, непрерывно находящиеся в митотическом цикле; система стволовых клеток гидроидов включает также способные к митотической репродукции клетки эпителиальной и гастродермальной тканей (Campbell, 1974; Thomas, Edwards, 1991; Vode, 1996). Для выявления пролиферации интерстициальных клеток гидры (Teragawa, Vode, 1990), необластов плоских червей (Gschwenter et al., 2001; Peter et al., 2001) и стволовых клеток кольчатых червей (Козин и др., 2007) был использован бромдезоксисуридин, аналог тимидина, включающийся в ДНК в

фазе ее синтеза. Реакция выявления PCNA служит маркером пролиферации клеток позвоночных (Hall, Woods, 1990; Mueller, Wullmann, 2003). Такая реакция была применена также для идентификации необластов планарий *Dugesia japonica* (Ogii et al., 2005).

Мы провели иммунохимический тест для выявления пролиферирующих клеток колониального корнеголового *P. gracilis* и колониального гидроида *O. longissima* с применением антител к PCNA мышцы. Единственными клетками интерны *P. gracilis*, проявляющими интенсивную позитивную реакцию, оказались стволовые клетки почкующихся столонов (Исаева, Шукалюк, 2007; Shukalyuk et al., 2005). При проведении этой реакции у *O. longissima* наблюдали наиболее интенсивное окрашивание больших интерстициальных и гониальных клеток, хотя окрашивались также репродуцирующиеся эпи- и гастродермальные клетки (Ахмадиева, 2008; Akhmadieva et al., 2005).

Высокая активность теломеразы, защищающей хромосомы стволовых клеток от недорепликации, выявлена в клетках геммул губок (Müller, 2002), а также в клетках эмбрионов, гонад и ранних почек колониальной асцидии *B. schlosseri* (Laird, Weissman, 2004).

ОБЩАЯ МОРФОЛОГИЯ И ПОДВИЖНОСТЬ СТВОЛОВЫХ И ГОНИАЛЬНЫХ КЛЕТОК БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Морфологическое строение стволовых резервных клеток исследованных представителей Porifera, Cnidaria, Platyhelminthes, Arthropoda и Chordata имеет общие черты: отсутствие морфологических признаков цитодифференцировки; высокое ядерно-цитоплазматическое отношение; крупное ядро с дисперсным хроматином; крупное ядрышко и компактную базофильную цитоплазму, содержащую многочисленные свободные рибосомы, митохондрии, а также околядерные гериальные гранулы. Подобная морфология характерна также для гониальных клеток изученных беспозвоночных.

Бесполое размножение губок включает фрагментацию, почкование и геммулообразование (Иванова-Казас, 1977; Simpson, 1984); доминирующий тип клеток в почках – археоциты (Müller, 2006). Почкование было обнаружено и у губки *O. malakhovi* (Ereskovsky, 2006). По нашим данным, в почковании *O. malakhovi* активное участие принимают мигрирующие археоциты, морфологически подобные описанным ранее у других видов губок (Ахмадиева, 2008).

У гидры и других представителей кишечнополостных большие интерстициальные клетки способны активно мигрировать (Campbell, 1974; Thomas, Edwards, 1991; Vode, 1996). Интерстициальные и го-

ниальные клетки колониального гидроида *Obelia longissima* обладают ультраструктурной морфологией, типичной для стволовых и половых клеток кишечнополостных; в почкующейся колонии *O. longissima* множество крупных интерстициальных клеток мигрируют к местам формирования почек (Ахмадиева, 2008; Akhmadieva et al., 2005).

Необласты и гониальные клетки планарии *G. tigrina* (Isaeva et al., 2005) имеют морфологическое строение, подобное описанному ранее другими авторами; необласты турбеллярий способны мигрировать к раневой поверхности и местам формирования гонад (Rieger et al., 1991; Auladell et al., 1993; Agata, Watanabe, 1999; Shibata et al., 1999).

Колониальная организация некоторых представителей корнеголовых ракообразных (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) возникает на паразитической стадии их жизненного цикла за счет бесполого размножения (Касьянов и др., 1997а, б; Исаева и др., 1999, 2008; Исаева, Шукалюк, 2007; Nøeg, Lützen, 1995; Takahashi, Lützen, 1998), однако процесс бластогенеза убедительно продемонстрирован лишь на немногих видах корнеголовых. Мы обнаружили стволовые клетки на эндопаразитической стадии жизненного цикла колониальных представителей корнеголовых *P. polygenea*, *P. gracilis* и *Th. isaevae* (Исаева и др., 2003, 2008; Исаева, Шукалюк, 2007; Isaeva et al., 2001, 2004; Rybakov, Shukalyuk, 2004; Shukalyuk et al., 2005, 2007). Внутри каждой ранней почки столона найдены недифференцированные стволовые клетки, такие же клетки мигрируют внутри столона. Стволовые клетки корнеголовых ракообразных обладают всеми перечисленными выше морфологическими чертами, общими для стволовых и гониальных клеток других исследованных животных с бесполом размножением.

Гемобласты колониальной асцидии *Botrylloides leachi* и других представителей асцидий рассматриваются в качестве предполагаемых тотипотентных или плюрипотентных стволовых клеток (Burighel, Cloney, 1997; Cima et al., 2001; Sunanaga et al., 2006). Показано, что при объединении гистосовместимых колоний асцидий *B. schlosseri* возможно замещение половых и соматических клеток одной из колоний клетками другой за счет циркулирующих в сосудистой системе стволовых клеток (Pancer et al., 1995; Stoner et al., 1999; Weissman, 2000; Laird, De Tomaso, 2004/2005; Laird et al., 2005); однако стволовые клетки асцидий рода *Botryllus* до сих пор не были морфологически описаны. Мы обнаружили стволовые клетки колониальной асцидии *B. tuberatus*: недифференцированные стволовые клетки, способные к миграции, найдены в ранних почках и сосудистой системе колонии (Ахмадиева и др., 2007). Стволовые клетки *B. tuberatus* морфологически подобны гемобластам *B. leachi* (Cima et al., 2001) и других исследованных представителей асцидий (Burighel, Cloney, 1997).

Морфофункциональная организация первичных половых и гониальных клеток всех исследованных представителей многоклеточных животных имеет те же черты, что и стволовые резервные клетки размножающихся бесполом путем беспозвоночных: высокое ядерно-цитоплазматическое отношение, крупное ядро с диффузным хроматином и большим ядрышком, базофильную цитоплазму, включающую структурированные герминальные гранулы. Первичные половые клетки животных, как известно, возникают вне будущей гонады и затем мигрируют в нее как путем активной амебоидной подвижности, так и за счет пассивных морфогенетических перемещений (Wylie, 1999; Matova, Cooley, 2001; Kunwar, Lehmann, 2003; Travis, 2007).

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ ГРАНУЛЫ КЛЕТОК ПОЛОВОЙ ЛИНИИ

Известно, что дифференцировка первичных половых и затем гониальных клеток в гаметы связана с функционированием специализированной области цитоплазмы, называемой герминальной (половой или зародышевой) плазмой. Концепция преформированной зародышевой плазмы (Keimplasma, germ plasm) с детерминантами половых клеток, передающейся от поколения к поколению и обеспечивающей непрерывность половой линии с наследованием комплекса видоспецифичных признаков, была развита Вейсманом (Weismann, 1882, 1893).

Половая плазма включает герминальные гранулы (половые детерминанты) в виде обогащенного РНК гранулярного или фибриллярного материала (не окруженного мембраной), который может служить ультраструктурным маркером, позволяющим идентифицировать клетки половой линии и проследить их судьбу в ходе развития организма. Основные компоненты герминальных гранул – белки, мРНК, некодирующие РНК (Seydoux, Braun, 2006). Герминальные гранулы, рассматриваемые как специфические органеллы клеток половой линии (Saffman, Lasko, 1999; Amikura et al., 2001; Seydoux, Braun, 2006; Lim, Kai, 2007; Strome, Lehman, 2007), именуются также у различных животных полярными гранулами, герминальными, хроматоидными, перинуклеарными или плотными телами, материалом nuage (облако – француз.), интермитохондриальным цементом, оосомами и т.д. (Айзенштадт, 1984; Исаева, Руннов, 2001; Mahowald, 1971, 2001; Beams, Kessel, 1974; Eddy, 1975; Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Wylie, 1999; Houston, King, 2000; Matova, Cooley, 2001; Chang et al., 2006; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007). Присутствие герминальных (перинуклеарных) гранул – эволюционно консервативный признак для клеток половой линии многоклеточных животных. Такие специ-

фические органеллы были найдены ранее более чем у 80 видов, по крайней мере, восьми типов животных (Eddy, 1975). Структура этих органелл сходна, но они могут быть представлены в клетках разных организмов и на разных стадиях жизненного цикла либо немногими крупными гранулами (телами), либо облачком (nuage) мелкодисперсного материала. В процессе оогенеза герминальные тельца преобразуются морфологически, но не исчезают в женских половых клетках на протяжении всего жизненного цикла: так, у дрозофилы во время миграции полярных клеток полярные гранулы постепенно замещаются материалом nuage. Непрерывность наследуемого по материнской линии материала зародышевой плазмы в жизненном цикле установлена для дрозофилы, лягушки и нематоды (Mahowald, 1971, 2001; Ikenishi, 1998).

Белки, локализованные в гранулах половой плазмы, вовлечены в детерминацию клеток половой линии, а кодирующие их гены эволюционно консервативны у различных исследованных представителей Metazoa – от губок до млекопитающих (Кленов и др., 2007; Ding, Lipshitz, 1993a, b; Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Houston, King, 2000; Matova, Cooley, 2001; Mochizuki et al., 2001; Chang et al., 2006; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007).

Насколько известно, богатые РНК и РНК-связывающими белками герминальные гранулы выполняют функции локализации, протекции и контроля трансляции мРНК (Saffman, Lasko, 1999; Extavour, Akam, 2003; Leatherman, Jongens, 2003; Saitou et al., 2003; Seydoux, Braun, 2006; Hayashi et al., 2007; Lim, Kai, 2007; Strome, Lehman, 2007). Предполагается, что герминальные гранулы функционируют как специализированный регуляторный центр, предотвращающий экспрессию генов соматической дифференцировки, поддерживающий “тотипотентность генома” клеток половой линии (Seydoux, Braun, 2006) и “защищающий их от соматической судьбы” (Strome, Lehman, 2007).

Недавно в соматических клетках найдены цитоплазматические тельца (processing bodies, P-bodies), осуществляющие функции трансляции и рассматриваемые как структурно-функциональный вариант герминальных (перинуклеарных) гранул (Кленов и др., 2007; Seydoux, Braun, 2006; Kotaja et al., 2006).

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ ГРАНУЛЫ СТЕВЛОВЫХ КЛЕТОК БЕСПОЗВОНОЧНЫХ С БЕСПОЛЫМ РАЗМНОЖЕНИЕМ

Герминальные гранулы в стволовых клетках беспозвоночных, жизненный цикл которых включает бесполое размножение, были обнаружены ранее лишь у гидры и планарий. Электронно-плотные тела, подобные или идентичные герминальным гра-

нулам клеток половой линии, найдены в больших интерстициальных клетках гидры *Pelmatohydra robusta* (Noda, Kanai, 1977; Mochizuki et al., 2001) и не-областах планарий (Hori, 1982; Rieger et al., 1991; Auladell et al., 1993; Agata, Watanabe, 1999; Shibata et al., 1999). Число и размер герминальных гранул (“плотных тел”) *P. robusta* уменьшается по мере дифференцировки соматических клеток (книдобластов) из интерстициальных клеток и, наоборот, возрастает на начальных этапах оогенеза (Noda, Kanai, 1977). Подобным образом герминальные (“хроматоидные”) тела необластов планарий исчезают в процессе дифференцировки в соматические клетки, что рассматривается как свидетельство их функции, связанной с поддержанием тотипотентности (Shibata et al., 1999).

В цитоплазме археоцитов губки *O. malakhovi* мы обнаружили небольшие герминальные гранулы типичной морфологии, располагающиеся вблизи ядерной оболочки (Ахмадиева, 2008). Найденные нами в больших интерстициальных клетках и оогониях гидроида *O. longissima* электронно-плотные герминальные тела сходны по своей ультраструктуре с “плотными телами” половых и интерстициальных клеток *P. robusta* (Noda, Kanai, 1977), ооцитов *Hydra carnea* (Honegger et al., 1989) и других представителей книдарий (Thomas, Edwards, 1991). Такие герминальные гранулы оказались общими как для больших интерстициальных клеток, так и гониальных клеток и ооцитов *O. longissima* (Ахмадиева, 2008; Akhmadieva et al., 2005). В необластах и гониальных клетках планарии *G. tigrina* найдены герминальные гранулы (“хроматоидные тела”), которые располагаются вблизи ядерной оболочки, часто в контакте с порами ядерной оболочки, и окружены митохондриями (Isaeva et al., 2005).

В цитоплазме эмбриональных и стволовых резервных клеток исследованных нами видов корнеголовых ракообразных выявлены герминальные гранулы, морфологически сходные с таковыми клеток половой линии дрозофилы и других многоклеточных животных. В частности, стволовые клетки корнеголовых *P. gracilis* характеризуются присутствием герминальных тел типичной ультраструктурной морфологии; у дробящихся эмбрионов *P. polygenea* все или большинство бластомеров содержат крупные герминальные гранулы (Исаева, Шукалюк, 2007; Shukalyuk et al., 2005, 2007).

Гемобласты колониальной асцидии *B. primigenus* не содержат электронно-плотного материала и скоплений митохондрий, такие органеллы появляются позже в дифференцирующихся оогониях и ооцитах (Sunanaga et al., 2006). В цитоплазме некоторых стволовых клеток ранних почек асцидии *B. tuberatus* мы нашли небольшие электронно-плотные тельца, сходные не с крупными герминальными гранулами других беспозвоночных, а с

дисперсным материалом nuage, нередко встречающимся у позвоночных (Ахмадиева и др., 2008).

Таким образом, стволовые резервные клетки всех исследованных нами размножающихся бесполом путем представителей губок, книдарий, турбеллярий, членистоногих и хордовых характеризуются присутствием герминальных гранул.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *vasa* И РОДСТВЕННЫХ ГЕНОВ В ПОЛОВЫХ И СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ

Белковый продукт гена *vasa* дрозофилы и его гомологов – РНК-хеликаза, принадлежащая к семейству белков, содержащих консервативные последовательности DEAD-бокса, – компонент герминальных гранул и универсальный маркер клеток половой линии Metazoa (Saffman, Lasko, 1999; Raz, 2000; Extavour, Akam, 2003; Chang et al., 2006; Juliano et al., 2006). Белки семейства DEAD вовлечены в сплайсинг, ядерно-цитоплазматический транспорт, инициацию трансляции и деградацию РНК у всех эукарит (Raz, 2000); белковый продукт гена *vasa* необходим для формирования и поддержания структурной организации полярных (герминальных) гранул и предположительно – для сохранения тотипотентности клеток половой линии (Houston, King, 2000; Raz, 2000; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007). У размножающихся лишь половым путем животных экспрессия гомологов гена *vasa* ограничена линией половых клеток в ходе всего развития – от раннего эмбриона до гаметогенеза (Raz, 2000; Mochizuki et al., 2001; Sunanaga et al., 2006). Избирательная экспрессия *vasa*-подобного гена найдена в клетках половой линии книдарии *Nematostella vectensis* (Extavour et al., 2005), у ракообразного (амфиподы) *Parhyale hawaiiensis* (Extavour, 2005), в первичных половых клетках и их предшественниках-бластомерах асцидии *Ciona intestinalis* (Fujimura, Takamura, 2000; Takamura et al., 2002) и в оогенных клетках человека (Castrillon et al., 2000; Stoop et al., 2005). Гены, по структуре близко родственные *vasa*, найдены у всех исследованных многоклеточных животных (от губок и книдарий до позвоночных); продукт этих генов (РНК и/или белок Vasa) локализован в герминальных гранулах клеток половой линии представителей нематод, насекомых, турбеллярий, щетинкочелюстных, позвоночных. Белок Vasa рассматривается как один из ключевых детерминантов судьбы этих клеток (Hay et al., 1988; Ding, Lipshitz, 1993a, b; Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Shibata et al., 1999; Castrillon et al., 2000; Houston, King, 2000; Matova, Cooley, 2001; Mochizuki et al., 2001; Carré et al., 2002; Seydoux, Braun, 2006). Антитела к белку Vasa реагируют и с полярными гранулами, и с материалом nuage дрозофилы (Hay et al., 1988), что свидетельствует о функциональной идентичности этих структур (Mahowald, 2001). Присутствие Vasa-подобного белка в герминальной плазме

различных животных – свидетельство консерватизма клеточных и молекулярных механизмов формирования и поддержания герминальной плазмы (Saffman, Lasko, 1999; Raz, 2000; Houston, King, 2000; Carré et al., 2002; Extavour, Akam, 2003; Juliano et al., 2006).

У способного к полиэмбрионии насекомого *Copidosoma floridanum* вторичные эмбрионы развиваются либо в полноценных личинок, а затем в фертильных ос, либо в личинок-солдат, выполняющих защитные функции. На стадии четырех бластомеров один из них Vasa-позитивен и дает начало первичным половым клеткам – именно такие зародыши становятся фертильными имаго. Каста солдат, не имеющих половых клеток, развивается из зародышей, лишенных экспрессии гомолога гена *vasa*, или после экспериментального уничтожения Vasa-позитивного бластомера, что доказывает вовлечение продукта гомолога гена *vasa* в детерминацию клеток половой линии и каст у *C. floridanum* (Donnell et al., 2004; Corley et al., 2005).

Присутствие Vasa-подобного белка показано не только в клетках половой линии, но и в больших интерстициальных клетках гидры *P. robusta* (Mochizuki et al., 2001) и необластах планарий (Shibata et al., 1999), поэтому продукт родственных *vasa* генов может быть полезен как молекулярный маркер стволовых клеток беспозвоночных, размножающихся бесполом путем (Shibata et al., 1999; Mochizuki et al., 2001). У асцидии *B. primigenus* экспрессия *vasa*-подобного гена найдена в оогониях, ооцитах и первичных половых клетках, морфологически неотличимых от гемобластов (Sunanaga et al., 2006). Экспрессия генов, родственных *vasa*, найдена и в стволовых клетках кольчатых червей (Козин и др., 2007).

У корнеголовых ракообразных *P. polygenea* и *Clistosaccus paguri* мы обнаружили эволюционно консервативные гены семейства DEAD, в частности *vasa*-подобные гены, по структуре близко родственные таким же генам других членистоногих. Локализация РНК *vasa*-подобного гена найдена исключительно в гаметогенных и стволовых клетках, а также в герминальных гранулах всех или большинства бластомеров ранних эмбрионов *P. polygenea* (Исаева, Шукалюк, 2007; Shukalyuk et al., 2007).

Итак, у планарий, гидры и колониального корнеголового ракообразного *P. polygenea* показано присутствие продукта родственных *vasa* генов не только в клетках половой линии, но и в стволовых резервных клетках. У планарий (Shibata et al., 1999) и корнеголового *P. polygenea* (Shukalyuk et al., 2007) найдена избирательная локализация продукта этих генов в герминальных гранулах. Таким образом, поддержание морфофункциональной организации стволовых клеток вовлекает в развитие эволюционно консервативные механизмы, общие для размножающихся бесполом путем представителей многоклеточных животных.

РОЛЬ МИТОХОНДРИЙ В БИОГЕНЕЗЕ ГЕРМИНАЛЬНЫХ ГРАНУЛ

Характерная особенность структурированных герминальных гранул у разнообразных представителей многоклеточных животных – их контакт с митохондриями (Айзенштадт, 1984; Исаева, Реунов, 2001; Matova, Cooley, 2001; Carré et al., 2002). У дрозophilы, планарий и лягушки в гранулах зародышевых детерминантов выявлена рибосомная РНК митохондриального происхождения и некоторые другие продукты митохондриального генома (Ding, Lipshitz, 1993a, b; Kobayashi et al., 1993, 1998, 2005; Kashikawa et al., 1999). Герминальные гранулы обычно окружены полисомами (Mahowald, 2001); показано, что у эмбрионов дрозophilы полисомы включают рибосомы, “подобные митохондриальным” по размерным характеристикам (Amikura et al., 2001; Kobayashi et al., 2005). Митохондриальная рибосомная РНК способна восстановить образование полярных клеток у эмбрионов дрозophilы после ультрафиолетового облучения (Kobayashi, Okada, 1989), тогда как отсутствие экстрамитохондриальной рибосомной 16S РНК (митохондриального происхождения) ведет к подавлению формирования клеток половой линии (Iida, Kobayashi, 1998). Показано, что у лягушки *Xenopus* 16S РНК присутствует вне митохондрий только в гранулах половой плазмы (Kobayashi et al., 1998). Предполагается, что продукты и ядерного, и митохондриального генома существенны для структурной организации и функционирования детерминантов половой плазмы (Kobayashi et al., 1993, 1998, 2005; Ding, Lipshitz, 1993a, b; Iida, Kobayashi, 1998; Ikenishi, 1998; Kashikawa et al., 1999).

Присутствие митохондриальной (большой и малой) рибосомной РНК выявлено также в хроматидных телах необластов турбеллярий (Sato et al., 2001). Присутствие митохондриальной рибосомной РНК вне митохондрий, в ассоциации с герминальными гранулами, уже общепризнано; становится очевидным, что митохондриальная рибосомная РНК и другие продукты митохондриального генома вовлечены в формирование линии половых клеток различных многоклеточных животных (Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Houston, King, 2000; Kloc et al., 2000; Mahowald, 2001; Amikura et al., 2001; Matova, Cooley, 2001; Leatherman, Jongens, 2003; Seydoux, Braun, 2006). Более того, митохондриальная рибосомная 16S РНК найдена в ядрах сперматогониев, сперматоцитов и сперматид млекопитающих (Villegas et al., 2002). Транспорт большой и малой субъединиц рибосомной РНК из митохондрий в герминальные гранулы уже не подвергается сомнению, но его механизм считается беспрецедентным и загадочным (Ding, Lipshitz, 1993a, b; Amikura et al., 2001).

Наши ультраструктурные наблюдения митохондрий в герминальной плазме гониальных и

стволовых клеток выявляют этот механизм перемещения митохондриальных производных в герминальные гранулы. Обнаружено разрушение наружной мембраны митохондрий, выход материала митохондриального матрикса в цитоплазму и его преобразование в герминальные гранулы в гониальных клетках морского ежа (Reunov et al., 2000), трепанга и камбалы (Реунов и др., 2004). Получены ультраструктурные свидетельства митохондриального происхождения герминальных гранул (хроматоидных тел) в гониальных клетках и необластах планарии *G. tigrina* – преобразование митохондриального матрикса с кристами внутренней мембраны в герминальные тела (Isaeva et al., 2005). Митохондриальные производные, лишённые наружной мембраны, но ещё содержащие кристы внутренней мембраны, – обычная картина, наблюдаемая в герминальной плазме стволовых и гониальных клеток исследованных нами представителей разных таксонов, в частности губки *O. malakhovi* и гидроида *O. longissima* (Ахмадиева, 2008). Освобождение материала митохондриального матрикса в герминальной плазме – способ включения митохондриальных производных в герминальные гранулы, опосредующий участие продуктов митохондриального генома в биогенезе макромолекулярного комплекса герминальных детерминантов (Исаева, Реунов, 2001; Isaeva et al., 2005). Мы предполагаем, что существует перенос молекулярных компонентов герминальных гранул в ядро, программирующий поддержание тотипотентности и функционирование молекулярных информационных потоков, которые связывают ядро, митохондрии и герминальные гранулы (Isaeva et al., 2005).

Экспорт митохондриальной рибосомной РНК из митохондрий в полярные гранулы у дрозофилы зависит от активности ядерных генов *oskar*, *vasa* и *tudor* (Saffman, Lasko, 1999; Matova, Cooley, 2001; Amikura et al., 2001). Белок *Vasa* или его гомолог, известный компонент герминальных гранул разных животных, обнаружен и в митохондриальном матриксе клеток половой линии эмбрионов *Xenopus* (Watanabe et al., 1992). Подобным образом белок, кодируемый ядерным геном *tudor*, присутствует и в полярных гранулах, и внутри митохондрий ранних зародышей дрозофилы (Ding, Lipshitz, 1993a). Кроме этих белков половые детерминанты включают многие другие компоненты, кодируемые ядерным геномом (Ikenishi, 1998; Saffman, Lasko, 1999; Houston, King, 2000; Matova, Cooley, 2001). Образование герминальных (перинуклеарных, хроматоидных) тел – достаточно сложный процесс сборки белковых комплексов, обладающих РНК-связывающими свойствами и способных специфически взаимодействовать друг с другом и с разными типами РНК (Кленов и др., 2007; Ding, Lipshitz, 1993a, b; Williamson, Lehman, 1996; Ikenishi, 1998; Matova, Cooley, 2001; Strome, Lehman, 2007).

Поддержание предсуществующей структурной и функциональной организации детерминантов герминальной плазмы, вероятно, определяется древними консервативными механизмами, общими для всех многоклеточных животных. Мы полагаем, что своеобразный комплекс белков и РНК герминальных гранул – регуляторный центр макромолекулярной организации, включающий структуры материнского наследования (Исаева, Реунов, 2001; Isaeva et al., 2005).

АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ

Эмпирически найденным маркером первичных половых и эмбриональных стволовых клеток млекопитающих *in vivo* и *in vitro* стал выявляемый гистохимически высокий уровень активности щелочной фосфатазы (Chiquoine, 1954; Mintz, 1959; Merchant-Larios et al., 1985; Talbot et al., 1993; Lacham-Kaplan, 2004). Высокая активность щелочной фосфатазы найдена также в культивируемых эмбриональных стволовых клетках птиц (Pain et al., 1996) и рыб (Hong et al., 1998). Щелочная фосфатаза выявлена и в оогониальных клетках человека с помощью иммуногистохимической реакции (Stoop et al., 2005).

Высокий уровень активности щелочной фосфатазы наблюдается только в цитоплазме стволовых клеток исследованных видов колониальных корнеголовых; при этом все остальные клетки и ткани эндопаразитической интерны корнеголовых не проявляют подобной активности (Исаева и др., 2003; Исаева, Шукалюк, 2007; Shukalyuk et al., 2005). В бластомерах дробящихся зародышей *P. polygenea* высокая активность щелочной фосфатазы локально выявляется в герминальных гранулах (Исаева, Шукалюк, 2007; Shukalyuk et al., 2005). При гистохимической реакции на щелочную фосфатазу наблюдается интенсивное окрашивание интерстициальных и гониальных клеток гидроида *O. longissima* (Ахмадиева, 2008; Akhmadieva et al., 2005), а также ранних почек и части популяции гемоцитов (вероятно, стволовых клеток – гемобластов) асцидии *B. tüberatus* (Ахмадиева и др., 2007).

Специфическая кирпично-красная окраска стволовых резервных клеток исследованных нами колониальных представителей книдарий, членистоногих и хордовых по цвету и интенсивности подобна таковой культивируемых эмбриональных стволовых клеток мыши, использованных в качестве стандартного “эталоны”.

РЕПРОДУКТИВНАЯ СТРАТЕГИЯ, ВКЛЮЧАЮЩАЯ БЕСПОЛОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ

Репродуктивная стратегия в широких рамках эволюционно-экологического подхода понимается как комплекс адаптивных признаков и черт биологии размножения и развития, затрагиваю-

щий уровни организации от субклеточного и клеточного до видового и биоценотического (Касьянов, 1989; Kasyanov, 2001). Бластогенез и колониальность представителей корнеголовых ракообразных вовлекают радикальную, эволюционно вторичную, перестройку исходной репродуктивной стратегии ракообразных в связи с переходом к паразитическому образу жизни. Для типа членистоногих бесполое размножение и тем более колониальность совершенно нетипичны: лишь у некоторых насекомых встречается полиэмбриония, связанная либо с паразитизмом, либо с живорождением (Иванова-Казас, 1977, 1981). Метаморфоз типичных для *Cirripedia* личинок ведет к утрате индивидуальности одиночного организма, его систем органов и сегментации у личинок женского пола. Метаморфоз личинок мужского пола редуцирует их еще более – до состояния популяции сперматогенных клеток, культивируемых в женском организме (иначе говоря, паразитирующих в женском организме паразита). В итоге у корнеголовых ракообразных наблюдается гонохоризм с предельно выраженной формой полового диморфизма – карликовыми самцами, редуцированными до половых клеток; такого упрощения нет у других многоклеточных животных (Касьянов и др., 1997а,б–1999; Kasyanov, 2001).

Присутствие герминальных тел (с селективной локализацией РНК гена, родственного *vasa*) во всех или большинстве бластомеров дробящихся эмбрионов корнеголового ракообразного *P. polygenea* означает радикальную перестройку исходного типа раннего развития членистоногих животных, типичного и для всей ветви *Ecdysozoa*, – эволюционный скачок от детерминированного мозаичного дробления с ранним выделением полового зачатка (преформации) к регулятивному развитию с эпигенезом.

Проследить судьбу зародышевых листков после метаморфоза корнеголовых не представляется возможным (Иванова-Казас, 1979; Касьянов и др., 1998). Попытки соотнести составные части ранних почек при бластогенезе других колониальных животных с зародышевыми листками в эмбриогенезе также не кажутся успешными (Иванова-Казас, 1977). В процессе бластогенеза у размножающихся бесполом путем беспозвоночных, как мы полагаем, решающую роль играют тотипотентные стволовые клетки. Обнаружение в ранних почках асцидий *B. tuberosus* недифференцированных стволовых клеток (Ахмадиева и др., 2007; Ахмадиева, 2008) отвечает на вопросы, связанные с предполагавшимся ранее развитием производных всех трех зародышевых листков из одного лишь эпителиального слоя – атриального эпителия – при паллеальном почковании ботриллид (Иванова-Казас, 1978; Berrill, 1961). Колониальные корнеголовые ракообразные и асцидии рода *Botryllus* оказываются встроенными в общий ряд многоклеточных животных, репродуктивная стратегия которых включает бесполое

размножение, реализуемое за счет стволовых резервных клеток.

В заключение подведем итоги. Итак, стволовые резервные клетки размножающихся бесполом путем животных столь различных таксонов, как губки, книдарии, плоские черви, членистоногие и хордовые, обладают эволюционно консервативными чертами, предположительно связанными с поддержанием их тотипотентности. У исследованных беспозвоночных с бесполом размножением стволовые резервные клетки способны дифференцироваться в гаметы и подобны клеткам половой линии. Подобны их общая морфология, включающая ультраструктурный уровень (присутствие герминальных тел); экспрессия гена, родственного *vasa*; активность щелочной фосфатазы и способность к митотической репродукции. Первичные половые и стволовые резервные клетки колониальных беспозвоночных способны к обширным миграциям в пределах организма с конечной локализацией в гонадах или местах бесполого размножения, а у одиночных организмов, способных к бесполому размножению (турбеллярий), – к раневой поверхности после деления или повреждения.

Первичные половые и тотипотентные стволовые клетки обладают многими общими морфологическими чертами и вовлекают функции родственных генов; предполагается их эволюционная и онтогенетическая связь (Weissman, 2000; Extavour, Akam, 2003; Hayashi et al., 2007; Travis, 2007). Общие свойства этих клеточных линий отражают их общее происхождение от тотипотентных клеток раннего зародыша (Weissman, 2000). Мы также отметили общие черты морфофункциональной организации клеток половой линии и тотипотентных стволовых клеток размножающихся бесполом путем многоклеточных животных (Исаева и др., 2007; Shukalyuk, Isaeva, 2005a,b). Клетки половой линии, как и стволовые резервные клетки животных с бесполом размножением, происходят в раннем эмбриогенезе от тотипотентных бластомеров или их производных, сохранивших тотипотентность. Мы полагаем, что эволюционно и онтогенетически родственные клетки ранних эмбрионов, первичные половые и тотипотентные стволовые клетки относятся к популяциям резервных клеток, способных реализовать полную программу развития. Концепция резервных, “отложенных” клеток (*set-aside cells*), сохраняющих широкий морфогенетический потенциал, реализуемый после метаморфоза, разработана Дэвидсоном и другими авторами (Davidson, 1991; Davidson et al., 1995; Peterson et al., 1997; Jenner, 2000; Collins, Valentine, 2001) применительно к животным с непрямым личиночным развитием. Важное отличие стволовых резервных клеток беспозвоночных с бесполом размножением – способность к дифференцировке не только в соматические, но и половые клетки, т.е. неограниченный морфогенетический потенциал, тотипотент-

ность. Такие клетки беспозвоночных с бесполом размножением, потенциально способные реализовать всю программу эмбрионального развития и бластогенеза, близки по своим потенциям эмбриональным стволовым клеткам млекопитающих, однако последние представляют собой искусственные системы клеток, культивируемых вне организма. У паразитических корнеголовых стволовые клетки “культивируются” в питательной среде гемолимфы родственного организма хозяина, а у свободно живущих беспозвоночных – в собственном организме. Половые и тотипотентные стволовые клетки – привилегированные, “хищные” клетки, способные выживать при голодании за счет “каннибализма” (Kerszberg, Wolpert, 1998) и склонные к “паразитизму” (Pancer et al., 1995; Laird, de Tomaso, 2004/2005).

Таким образом, имеющиеся в литературе и наши собственные данные свидетельствуют об эволюционном консерватизме и общности исследованных морфофункциональных характеристик стволовых резервных клеток размножающихся бесполом путем Metazoa (от губок и кишечнополостных до хордовых) и клеток половой линии. У беспозвоночных животных с бесполом размножением стволовые клетки способны дифференцироваться и в половые, и в соматические клетки, тем самым представляя собой источник клеточного материала для реализации жизненной стратегии, включающей половое и бесполое размножение.

Выполнение всей нашей работы было бы невозможно без огромного, неоценимого вклада, непосредственного участия и постоянной поддержки Владимира Леонидовича Касьянова, академика РАН, директора Института биологии моря ДВО РАН, научного лидера созданной им лаборатории эмбриологии ИБМ, руководителя ведущей научной школы, трагически погибшего 1 октября 2005 года.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. М.: Наука, 1984. 247 с.
- Ахмадиева А.В. Морфофункциональное исследование стволовых клеток беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: Институт биологии моря, 2008. 24 с.
- Ахмадиева А.В., Шукалюк А.И., Александрова Я.Н., Исаева В.В. Стволовые клетки в бесполом размножении колониальной асцидии *Botryllus tuberosus* // Биология моря. 2007. Т. 33. № 2. С. 134–137.
- Иванова-Казас О.М. Бесполое размножение животных. Л.: Изд-во ЛГУ, 1977. 240 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Низшие хордовые. М.: Наука, 1978. 167 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Членистоногие. Там же. 1979. 224 с.
- Иванова-Казас О.М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Неполноусые. Там же. 1981. 208 с.
- Исаева В.В., Реунов А.А. Половая плазма и детерминация линии половых клеток: роль митохондрий // Биология моря. 2001. Т. 27. № 4. С. 231–237.
- Исаева В.В., Шукалюк А.И. Колониальные корнеголовые ракообразные (Crustacea: Rhizocephala): бесполое размножение, стволовые клетки, репродуктивная стратегия. М.: Наука, 2007. 132 с.
- Исаева В.В., Рыбаков А.В., Касьянов В.Л. Выявление *in vitro* колониальной организации интерны корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis* и *Sacculina polygenea* // Докл. АН. 1999. Т. 366. № 6. С. 840–842.
- Исаева В.В., Шукалюк А.И., Кизилова Е.А. Выявление стволовых клеток в колониальной интерне корнеголовых ракообразных *Peltogasterella gracilis* и *Sacculina polygenea* на паразитической стадии жизненного цикла // Цитология. 2003. Т. 45. № 8. С. 758–763.
- Исаева В.В., Шукалюк А.И., Ахмадиева А.В. Стволовые клетки беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение // Биология моря. 2007. Т. 33. № 1. С. 3–10.
- Исаева В.В., Шукалюк А.И., Ахмадиева А.В. Бесполое размножение и репродуктивная стратегия колониальных представителей корнеголовых ракообразных (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Зоол. журн. 2008. Т. 87. № 3. С. 1–12.
- Касьянов В.Л. Репродуктивная стратегия морских двусторчатых моллюсков и иглокожих. Л.: Наука, 1989. 179 с.
- Касьянов В.Л., Корн О.М., Рыбаков А.В. Репродуктивная стратегия усоногих ракообразных. 1. Половой диморфизм, репродуктивная система, гаметогенез // Биология моря. 1997а. Т. 23. № 5. С. 263–274.
- Касьянов В.Л., Корн О.М., Рыбаков А.В. 2. Бесполое размножение, плодовитость, репродуктивные циклы // Там же. 1997б. Т. 23. № 6. С. 337–344.
- Касьянов В.Л., Корн О.М., Рыбаков А.В. 3. Эмбриональное развитие и ранние личинки // Там же. 1998. Т. 24. № 5. С. 269–277.
- Касьянов В.Л., Корн О.М., Рыбаков А.В. 4. Ципривидные личинки, метаморфоз, оседание // Там же. 1999. Т. 25. № 1. С. 3–12.
- Кленов М.С., Столяренко А.Д., Рязанский С.С. и др. Роль коротких РНК в регуляции экспрессии генов и мобильных элементов в герминативных клетках // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 3. С. 213–227.
- Козин В.В., Смирнова Н.П., Бабаханова Р.А., Костюченко Р.П. Клеточные источники развития зоны роста у аннелид при метаморфозе, регенерации и бесполом размножении // Матер. симп. “Клеточные, молекулярные и эволюционные аспекты морфогенеза”. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2007. С. 85–87.
- Никитин Н.С. Формообразовательные потенции конгломератов ядрышковых амебоцитов пресноводной

- губки *Ephydatia fluviatilis* L. в зависимости от их размера // Морфогенетические процессы при разных типах размножения и в ходе регуляций / Под ред. Токина Б.П. Л.: Изд-во ЛГУ, 1974. С. 134–142.
- Реунов А.А., Незнанова С.Ю., Александрова Я.Н., Исаева В.В. Ультраструктурное исследование взаимодействия герминативных гранул и митохондрий у *Apostichopus japonicus* (Echinodermata: Holothuroidea) и *Pleuronectes asper* (Teleostei: Pleuronectidae) // Биология моря. 2004. Т. 30. № 3. С. 244–246.
- Agata K., Watanabe K. Molecular and cellular aspects of planarian regeneration // Cell Devel. Biol. 1999. V. 10. P. 377–383.
- Akhmadiyeva A.V., Shulalyuk A.I., Isaeva V.V. Interstitial cells in reproductive strategy of colonial hydroid *Obelia longissima* // Mol. Biol. Cell. 2005. V. 16. № 11 (Suppl.). P. 752a.
- Amikura R., Kashikawa M., Nakamura A., Kobayashi S. Presence of mitochondria-type ribosomes outside mitochondria in germ plasm of *Drosophila* embryos // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. V. 98. P. 9133–9138.
- Auladell C., Garcia-Valero J., Baguna J. Ultrastructural localization of RNA in the chromatoid bodies of undifferentiated cells (neoblasts) in planarians by the RNase-gold complex technique // J. Morphol. 1993. V. 216. P. 319–326.
- Beams H.W., Kessel R.G. The problem of germ cell determinants // Int. Rev. Cytol. 1974. V. 39. P. 413–479.
- Berrill N.J. Growth, development, and pattern. San Francisco; L.: Freeman and Co., 1961. 556 p.
- Bode H.R. The interstitial cell lineage of hydra: a stem cell system that arose early in evolution // J. Cell Sci. 1996. V. 109. P. 1155–1164.
- Brown F.D., Swalla B.J. Vasa expression in a colonial ascidians *Botrylloides violaceus* // Evol. Devel. 2007. V. 9. P. 165–177.
- Burighel P., Cloney R.A. Urochordata: Ascidiacea // Microscopic anatomy of invertebrates. V. 15 / Eds. Harrison F.W., Ruppert E.E. et al. N.Y.: Wiley-Liss, 1997. P. 221–347.
- Buss L.W. Slime molds, ascidians and the utility of evolutionary theory // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. V. 96. P. 8801–8803.
- Campbell R.D. Cnidaria // Reproduction of marine invertebrates. V. 1 / Eds. Giese A.C., Pierce J.S. N.Y.; L.: Acad. Press, 1974. P. 133–199.
- Carré D., Djediat C., Sardet C. Formation of a large Vasa-positive germ granules and its inheritance by germ cells in the enigmatic Chaetognaths // Development. 2002. V. 129. P. 661–670.
- Castrillon D.H., Quade B.J., Wang T.Y. et al. The human VASA gene is specifically expressed in the germ cell lineage // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. V. 97. P. 9585–9590.
- Chang C.-C., Lee W.-C., Cook C.E. et al. Germ-plasm specification and germline development in the parthenogenetic pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: Vasa and Nanos as markers // Int. J. Devel. Biol. 2006. V. 50. P. 413–421.
- Chiquoine A.D. The identification, origin and migration of the primordial germ cells of the mouse embryo // Anat. Rec. 1954. V. 118. P. 135–146.
- Cima F., Perin A., Burighel P., Ballarin L. Morpho-functional characterization of haemocytes of the compound ascidian *Botrylloides leachi* (Tunicata, Ascidiacea) // Acta Zool. 2001. V. 82. P. 261–274.
- Collins A.G., Valentine J.W. Defining phyla: evolutionary pathways to metazoan body plan // Evol. Devel. 2001. V. 3. P. 432–442.
- Corley L.S., White M.A., Strand M.R. Both eodogenous and environmental factors affect embryo proliferation in the polyembryonic wasp *Copidosoma floridanum* // Ibid. 2005. V. 7. P. 115–121.
- Daley G.Q. Gametes from embryonic stem cells: a cup half empty or half full? // Science. 2007. V. 316. P. 409–410.
- Davidson E.H. Spatial mechanisms of gene regulation in metazoan embryos // Development. 1991. V. 113. P. 1–26.
- Davidson E.H., Peterson K.J., Cameron R.A. Origin of bilaterian body plan: evolution of developmental regulatory mechanisms // Science. 1995. V. 270. P. 1319–1325.
- Developmental biology glossary (<http://home.sandiego.edu/bio176/gloss.html>)
- Ding D., Lipshitz H.D. Localized RNAs and their functions // BioEssays. 1993a. V. 15. P. 651–658.
- Ding D., Lipshitz H.D. A molecular screen for polar-localized maternal RNAs in the early embryo of *Drosophila* // Zygote. 1993b. V. 1. P. 257–271.
- Donnell D.M., Corley L.S., Chen G., Strand M.R. Caste determination in a polyembryonic wasp involves inheritance of germ cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 10095–10100.
- Eddy E.M. Germ plasm and the differentiation of the germ cell line // Int. Rev. Cytol. 1975. V. 43. P. 229–280.
- Erescovsky A.V. A new species of *Oscarella* (Demospongiae: Plakinidae) from the Western Sea of Japan // Zootaxa. 2006. № 1376. P. 37–51.
- Extavour C.G. The fate of isolated blastomeres with respect to germ cells formation in the amphipod crustacean *Parhyale hawaiiensis* // Devel. Biol. 2005. V. 277. P. 387–402.
- Extavour C.G., Akam M. Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation // Development. 2003. V. 130. P. 5869–5884.
- Extavour C.G., Pang K., Matus D.Q., Martindale M.Q. Vasa and nanos expression patterns in a sea anemone and the evolution of bilaterian germ cell specification mechanisms // Evol. Devel. 2005. V. 7. P. 201–215.
- Fujimura M., Takamura K. Characterization of an ascidian DEAD-box gene, *Ci-DEAD1*: specific expression in the germ cells and its mRNA localization in the posterior-most blastomeres in early embryos // Devel. Genes Evol. 2000. V. 210. P. 64–72.
- Gilbert S.F. Developmental biology. Sunderland: Sinauer Ass., Inc., 2006. 751 p.
- Glossary of stem cell-related terms // Int. Soc. Stem Cell Res. (<http://www.isscr.org/glossary/>)
- Gschwentner R., Ladurner P., Nimeth K., Rieger R. Stem cells in a basal bilaterian. S-phase and mitotic cells in *Convolutriloba longifissura* // Cell Tiss. Res. 2001. V. 304. P. 401–408.

- Hall P.A., Woods A.L. Immunohistochemical markers of cellular proliferation: achievements, problems and prospects // Cell Tiss. Kinet. 1990. V. 23. P. 23–55.
- Hay B., Jan L. Y., Jan Y. N. A protein component of *Drosophila* polar granules is encoded by *vasa* and has extensive sequence similarity to ATP-dependent helicases // Cell. 1988. V. 55. P. 577–587.
- Hayashi K., de Sousa Lopes S.M.C., Surani M.A. Germ cell specification in mice // Science. 2007. V. 316. P. 394–396.
- Høeg J.T., Lützen J. Life cycle and reproduction in the Cirripedia Rhizocephala // Ocean. Mar. Biol. Ann. Rev. 1995. V. 33. P. 427–485.
- Hogan B. Primordial germ cells as stem cells // Stem cell biology / Eds. Marshak D.R. et al. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001. P. 189–204.
- Honegger T.G., Zurrer D., Tardent P. Oogenesis in *Hydra carnea*: a new model based on light and electron microscopic analyses of oocyte and nurse cell differentiation // Tiss. Cell. 1989. V. 21. P. 381–393.
- Hong Y., Winkler C., Schartl M. Production of medakafish chimeras from a stable embryonic stem cell line // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 3679–3684.
- Hori I. An ultrastructural study of the chromatoid body in planarian regenerative cells // J. Electr. Micr. 1982. V. 31. P. 63–72.
- Houston D.W., King M.L. Germ plasm and molecular determinants of germ cell fate // Curr. Top. Devel. Biol. 2000. V. 50. P. 155–181.
- Hubner K., Fuhrmann G., Christenson L. et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells // Science. 2003. V. 300. P. 1251–1256.
- Iida T., Kobayashi S. Essential role of mitochondrially encoded large rRNA for germ-line formation in *Drosophila* embryos // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 11274–11278.
- Ikenishi K. Germ plasm in *Caenorabditis elegans*, *Drosophila* and *Xenopus* // Devel. Growth. Differ. 1998. V. 40. № 1. P. 1–10.
- Isaeva V.V., Shukalyuk A.I., Trofimova A.V. et al. The structure of colonial interna in *Sacculina polygenae* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Crust. Res. 2001. № 30. P. 134–147.
- Isaeva V.V., Shukalyuk A.I., Korn O.M., Rybakov A.V. Development of primordial externa in the colonial interna of *Polyascus polygenae* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Ibid. 2004. № 33. P. 61–71.
- Isaeva V., Alexandrova Ya., Reunov A. Interaction between chromatoid bodies and mitochondria in neoblasts and gonial cells of the asexual and spontaneously sexualized planarian *Girardia (Dugesia) tigrina* // Invertebr. Reprod. Devel. 2005. V. 48. P. 119–128.
- Jenner R.A. Evolution of animal body plans: the role of metazoan phylogeny at the interface between pattern and process // Evol. Devel. 2000. V. 2. P. 208–221.
- Juliano C.E., Voronina E., Stack C. et al. Germ line determinants are not localized early in sea urchin development, but do accumulate in the small micromere lineage // Devel. Biol. 2006. V. 300. P. 406–415.
- Kashikawa M., Amikura R., Nakamura A., Kobayashi S. Mitochondrial small ribosomal RNA is present on polar granules in early cleavage embryos of *Drosophila melanogaster* // Devel. Growth Differ. 1999. V. 41. P. 495–502.
- Kasyanov V.L. Reproductive strategy of marine bivalves and echinoderms. Enfield, NH, USA: Sci. Publ. Inc., 2001. 229 p.
- Kerkis A., Fonseca S.A.S., Serafim R.C. et al. In vitro differentiation of male mouse embryonic stem cells into both presumptive sperm cells and oocytes // Cloning Stem Cells. 2007. V. 9. № 4. P. 535–548.
- Kerszberg M., Wolpert L. The origin of Metazoa and the egg: a role for cell death // J. Theor. Biol. 1998. V. 193. P. 535–537.
- Kloc M., Bilinski S., Chan A.P., Etkin L.D. Mitochondrial ribosomal RNA in the germinal granules in *Xenopus* embryos revisited // Differentiation. 2000. V. 67. P. 80–83.
- Kobayashi S., Okada M. Restoration of pole-cell-forming ability to u.v.-irradiated *Drosophila* embryos by injection of mitochondrial lrRNA // Development. 1989. V. 107. P. 733–742.
- Kobayashi S., Amikura R., Okada M. Presence of mitochondrial large ribosomal RNA outside mitochondria in germ plasm of *Drosophila melanogaster* // Science. 1993. V. 260. P. 1521–1524.
- Kobayashi S., Amikura R., Mukai M. Localization of mitochondrial large ribosomal RNA in germ plasm of *Xenopus* embryos // Curr. Biol. 1998. V. 8. P. 1117–1120.
- Kobayashi S., Sato K., Hayashi Y. The role of mitochondrial rRNAs and *nanos* protein in germline formation in *Drosophila* embryos // Zool. Sci. 2005. V. 22. P. 943–954.
- Kotaja N., Bhattacharyya S.N., Jaskiewicz L. et al. The chromatoid bodies of male germ cells: similarity with processing bodies and presence of Dicer and microRNA pathway components // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. V. 103. P. 2647–2652.
- Kunwar P.S., Lehmann R. Developmental biology: germ-cell attraction // Nature. 2003. V. 421. P. 226–227.
- Lacham-Kaplan O. In vivo and in vitro differentiation of male germ cells in the mouse // Reproduction. 2004. V. 128. P. 147–152.
- Laird D.J., De Tomaso A.W. Predatory stem cells in the non-zebrafish chordate, *Botryllus schlosseri* // Zebrafish. 2004/2005. V. 1. P. 357–361.
- Laird D.J., Weissman I.L. Telomerase maintained in self-renewing tissues during serial regeneration of the urochordate *Botryllus schlosseri* // Devel. Biol. 2004. V. 273. P. 185–194.
- Laird D.J., de Tomaso A.W., Weissman I.L. Stem cells are units of natural selection in a colonial ascidian // Cell. 2005. V. 123. P. 1351–1360.
- Leatherman J.L., Jongens T.A. Transcriptional silencing and translational control: key features of early germline development // BioEssays. 2003. V. 25. P. 326–335.
- Lim A.K., Kai T. Unique germ-line organelle, nuage, functions to repress selfish genetic elements in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. P. 6714–6719.
- Mahowald A.P. Polar granules in *Drosophila*. III. The continuity of polar granules during the life cycle of *Drosophila* // J. Exp. Zool. 1971. V. 170. P. 551–563.

- Mahowald A.P.* Assembly of the *Drosophila* germ plasm // *Int. Rev. Cytol.* 2001. V. 203. P. 187–213.
- Matova N., Cooley L.* Comparative aspects of animal oogenesis // *Devel. Biol.* 2001. V. 16. P. 1–30.
- Merchant-Larios H., Mendelovic F., Alvarez-Buyalla A.* Characterization of alkaline phosphatase from primordial germ cells and ontogenesis of this enzyme in the mouse // *Differentiation.* 1985. V. 29. P. 145–151.
- Mintz B.* Continuity of the female germ cell line from embryo to adult // *Arch. Micr. Morphol. Exp.* 1959. V. 48. P. 155–172.
- Mochizuki K., Nishimiya-Fujisawa C., Fujisawa T.* Universal occurrence of the *vasa*-related genes among metazoans and their germline expression in Hydra // *Devel. Genes Evol.* 2001. V. 211. P. 299–308.
- Mueller T., Wullmann M.F.* Anatomy of neurogenesis in the early zebrafish brain // *Devel. Brain Res.* 2003. V. 140. P. 137–155.
- Müller W.E.G.* Telomerase activity in sponges (Porifera) the closest related taxa of the hypothetical ancestral animal the Urmetazoa // *Telomeres and telomerase* / Eds. Krupp G., Parwaresch R. Georgetown: Mol. Biol. Intelligence, 2002. P. 300–313.
- Müller W.E.G.* The stem cell concept in sponges (Porifera): Metazoan traits // *Sem. Cell Devel. Biol.* 2006. V. 17. P. 481–491.
- Noda K., Kanai C.* An ultrastructural observation of *Pelmatohydra robusta* at sexual and asexual stages, with a special reference to “germinal plasm” // *J. Ultrastruct. Res.* 1977. V. 61. P. 284–294.
- Orii H., Sakurai T., Watanabe K.* Distribution of the stem cells (neoblasts) in the planarian *Dugesia japonica* // *Devel. Genes Evol.* 2005. V. 215. P. 143–157.
- Pain B., Clark M.E., Shen M. et al.* Long-term *in vitro* culture and characterization of avian embryonic stem cells with multiple morphogenetic potentialities // *Development.* 1996. V. 122. P. 2339–2348.
- Pancer Z., Gershon H., Rinkevich B.* Coexistence and possible parasitism of somatic and germ cell lines in chimeras of the colonial urochordate *Botryllus schlosseri* // *Biol. Bull.* 1995. V. 189. P. 106–112.
- Pesce M., Anastassiadis K., Scholer H.R.* Oct-4: Lessons of totipotency from embryonic stem cells // *Cells Tiss. Organs.* 1999. V. 165. P. 144–152.
- Peter R., Ladurner P., Rieger R.M.* The role of stem cell strategies in coping with environmental stress and choosing between alternative reproductive modes: turbellaria rely on a single cell type to maintain individual life and propagate species // *Marine Ecol.* 2001. V. 22. № 1–2. P. 35–51.
- Peterson K.J., Cameron R.A., Davidson E.H.* Set-aside cells in maximal indirect development: evolutionary and developmental significance // *BioEssays.* 1997. V. 19. P. 623–631.
- Raz E.* The function and regulation of the *vasa*-like genes in germ-cell development // *Genome Biol.* 2000. V. 3. P. 1017.1–1017.6.
- Reddy S., Rayburn H., von Melchner H., Ruley H.E.* Fluorescence-activated sorting of totipotent embryonic stem cells expressing developmentally regulated *lacZ* fusion genes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P. 6721–6725.
- Reunov A., Isaeva V., Au D., Wu R.* Is it possible the arising of nuage constituents from mitochondria? // *Devel. Growth Differ.* 2000. V. 42. P. 129–143.
- Rieger R.M., Tyler S., Smith J.P.S., III, Rieger G.E.* Plathelminthes: Turbellaria // *Microscopic anatomy of invertebrates.* V. 3. Plathelminthes and Nemertea / Ed. Harrison F.W. N.Y.: Wiley-Liss, 1991. P. 7–140.
- Rybakov A.V., Shukalyuk A.I.* *Thylacoplethus isaevae* sp. n., a new species of colonial rhizocephalans (Crustacea: Rhizocephala: Thompsoniidae) parasitic on a northwest Pacific hermit crab *Pagurus trigonocheirus* (Stimpson) // *J. Marine Biol. Ass. UK.* 2004. V. 84. P. 1009–1017.
- Saffman E.E., Lasko F.* Germline development in vertebrates and invertebrates // *Cell Mol. Life Sci.* 1999. V. 55. P. 1141–1163.
- Saitou M., Payer B., Lange U.C. et al.* Specification of germ cell fate in mice // *Phil. Trans. Royal Soc. L.* 2003. V. 358. P. 1363–1370.
- Sato K., Sugita T., Kobayashi K. et al.* Localization of mitochondrial ribosomal RNA on the chromatoid bodies of marine planarian polyclad embryos // *Devel. Growth Differ.* 2001. V. 43. P. 107–114.
- Seydoux G., Braun R.E.* Pathway to totipotency: lessons from germ cells // *Cell.* 2006. V. 127. P. 891–904.
- Shibata N., Umehono Y., Orii H. et al.* Expression of *vasa* (vas)-related genes in germline cells and totipotent somatic stem cells of planarians // *Devel. Biol.* 1999. V. 206. P. 73–87.
- Shukalyuk A.I., Isaeva V.V.* Stem cells in invertebrate animals: evolutionary conservative mechanism of totipotency // *Int. Soc. Stem Cell Res. San Francisco.* 2005a. P. 214–215.
- Shukalyuk A.I., Isaeva V.V.* Stem and germ cells in asexually reproducing animals: a comparative study // *Mol. Biol. Cell.* 2005b. V. 16. № 11 (Suppl.). P. 752a.
- Shukalyuk A., Isaeva V., Kizilova E., Baiborodin S.* Stem cells in reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Invertebr. Reprod. Devel.* 2005. V. 48. P. 41–53.
- Shukalyuk A.I., Golovkina K.A., Baiborodin S.I. et al.* *vasa*-related genes and their expression in stem cells of colonial parasitic rhizocephalan barnacle *Polyascus polygenea* (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // *Cell Biol. Int.* 2007. V. 31. P. 97–108.
- Simpson T.L.* The cell biology of the sponges. N.Y.: Springer-Verlag, 1984. 662 p.
- Smith A.* Embryonic stem cells // *Stem cell biology* / Eds. Marshak D.R. et al. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001. P. 205–230.
- Smith A.* A glossary for stem-cell biology // *Insight Nature.* 2006. V. 441. P. 1060. (<http://www.grg.org/resources/ASmithStemCellGlossary.htm>)
- Stem cell biology* / Eds. Marshak D.R. et al. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001. 550 p.
- Stem cell information.* The National Institutes of Health resource for stem cell research. (<http://stemcells.nih.gov/info/scireport/appendixF.asp>)
- Stoner D.S., Weissman I.L.* Somatic and germ cell parasitism in a colonial ascidian: possible role for a highly polymorphic

- allorecognition system // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 15254–15259.
- Stoner D.S., Rinkevich B., Weissman I.L. Heritable germ and somatic cell lineage competitions in chimeric colonial protochordates // Ibid. 1999. V. 96. P. 9148–9153.
- Stoop H., Honecker F., Cools M. et al. Differentiation and development of human female germ cells during prenatal gonadogenesis: an immunohistochemical study // Hum. Reprod. 2005. V. 20. P. 1466–1476.
- Strome S., Lehman R. Germ versus soma decisions: lessons from flies and worms // Science. 2007. V. 316. P. 392–393.
- Sunanaga N., Saito Y., Kawamura K. Postembryonic epigenesis of Vasa-positive germ cells from aggregated hemoblasts in the colonial ascidian, *Botryllus primigenus* // Devel. Growth Differ. 2006. V. 48. P. 87–100.
- Takahashi T., Lützen J. Asexual reproduction as part of the life cycle in *Sacculina polygenea* (Cirripedia: Rhizocephala: Sacculinidae) // J. Crust Biol. 1998. V. 18. № 2. P. 321–331.
- Takamura K., Fujimura M., Yamaguchi Y. Primordial germ cells originate from the endodermal strand cells in the ascidian *Ciona intestinalis* // Devel. Genes Evol. 2002. V. 212. P. 11–18.
- Talbot N.C., Rexroad C.E., Jr., Pursel V.G., Powell A.M. Alkaline phosphatase of pig and sheep epiblast cells in culture // Mol. Reprod. Devel. 1993. V. 36. P. 139–147.
- Teragawa C.K., Bode H.R. Spatial and temporal patterns of interstitial cell migration in *Hydra vulgaris* // Devel. Biol. 1990. V. 138. P. 63–81.
- Thomas M.B., Edwards N.C. Cnidaria: Hydrozoa // Micr. Anat. Invertebr. 1991. V. 2. P. 91–183.
- Travis J. A close look at urbisexuality // Science. 2007. V. 316. P. 390–391.
- Villegas J., Araya P., Bustos-Obregon E., Burzio L.O. Localization of the 16S mitochondrial rRNA in the nucleus of mammalian spermatogenic cells // Mol. Hum. Reprod. 2002. V. 8. P. 977–983.
- Watanabe M., Itoh K., Abe K. et al. Immuno-localization of DEAD family proteins in germ cell line cells of *Xenopus* embryos // Devel. Growth Differ. 1992. V. 34. P. 223–231.
- Weismann A. Das Keimplasma. Eine Theorie der Vererbung. Jena: Verlag von Gustav Fisher, 1882. 682 S.
- Weismann A. The germ plasm. A theory of heredity. N.Y.: Charles Scriber's Sons, 1893. 468 p.
- Weissman I.L. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution // Cell. 2000. V. 100. P. 157–168.
- Williamson A., Lehman R. Germ cell development in *Drosophila* // Annu. Rev. Devel. Biol. 1996. V. 12. P. 365–391.
- Winslow T. Stem cells. Scientific progress and future research directions. Bethesda: Nat. Inst. Health, 2001.
- Wolpert L. Stem cells: a problem in asymmetry // J. Cell Sci. 1988. Suppl. 10. P. 1–9.
- Wylie C. Germ cells // Cell. 1999. V. 96. P. 165–174.

Morphofunctional Organization of Reserve Stem Cells Providing for Asexual and Sexual Reproduction of Invertebrates

V. V. Isaeva^{a,b}, A. V. Akhmadieva^a, Ya. N. Aleksandrova^a, and A. I. Shukalyuk^a

^a Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Pal'chevskogo 17, Vladivostok, 690041 Russia

^b Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 33, Moscow, 119071 Russia
e-mail: vv_isaeva@mail.ru

Abstract—Published and original data indicating evolutionary conservation of the morphofunctional organization of reserve stem cells providing for asexual and sexual reproduction of invertebrates are reviewed. Stem cells were studied in representatives of five animal types: archeocytes in sponge *Oscarella malakhovi* (Porifera), large interstitial cells in colonial hydroid *Obelia longissima* (Cnidaria), neoblasts in an asexual race of planarian *Girardia tigrina* (Platyhelminthes), stem cells in colonial rhizocephalans *Peltogasterella gracilis*, *Polyascus polygenea*, and *Thylacoplethus isaevae* (Arthropoda), and colonial ascidian *Botryllus tuberatus* (Chordata). Stem cells in animals of such diverse taxa feature the presence of germinal granules, are positive for proliferating cell nuclear antigen, demonstrate alkaline phosphatase activity (at marker of embryonic stem cells and primary germ cells in vertebrates), and rhizocephalan stem cells express the *vasa*-like gene (such genes are expressed in germline cells of different metazoans). The self-renewing pool of stem cells is the cellular basis of the reproductive strategy including sexual and asexual reproduction.

Key words: asexual reproduction, stem cells, germinal granules.