Незаменимый инструмент: особенности эволюции клеточных типов гонад позвоночных

Зимин Арсений, Хриптан Георгий, Чеснокова Анна, Немчанинова Татьяна, Дорошков Алексей

Введение

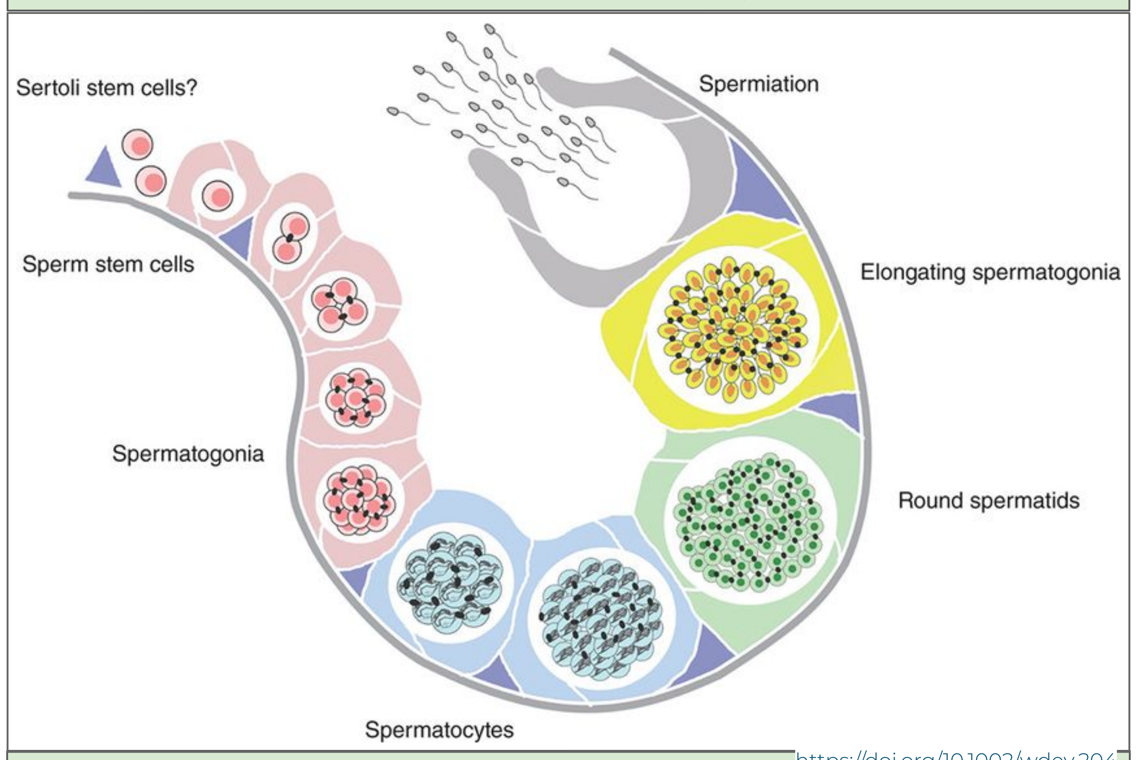
В процессе эволюции множество органов появлялось, изменялось и исчезало. Но структуры, определяющие пол и продуцирующие половые клетки, были актуальны для всех организмов любой сложности строения. Их функции были крайне важны, а соответствующие гены испытывали большее давление стабилизирующего отбора.

Однако семенники всё же постепенно меняли морфологическую структуру и поэтому являются интересным объектом для проверки гипотезы о консервативном характере эволюции регуляторных систем, определяющих экспрессию генов, специфичную для клеточных типов.

В настоящее время накоплен массив данных профилирования экспрессии с клеточным разрешением для проведения массового сравнительного анализа экспрессионных паттернов генов дифференцировки клеток в семенниках.

Особенности сперматогенеза анамний и амниот

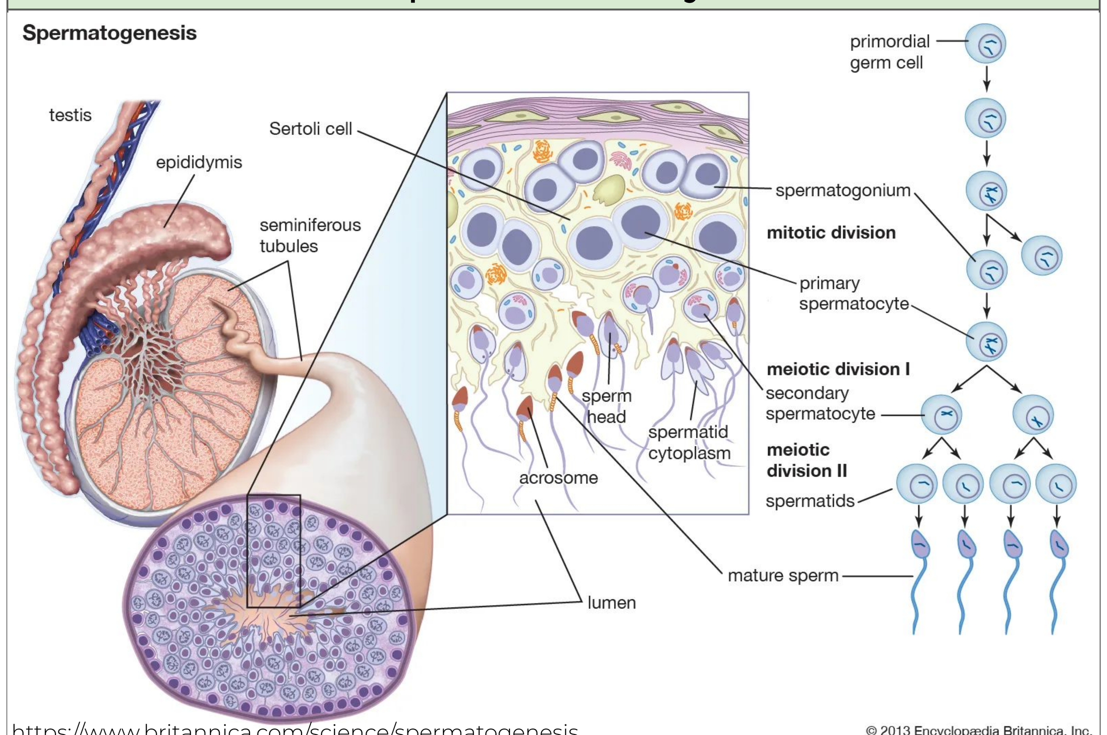
Схема сперматогенеза у анамний*



https://doi.org/10.1002/wdev.204

Проходит с образованием цист: каждый сперматогенный синцитий* окружён оболочкой из клеток Сертоли. После созревания цисты оболочка лопается, высвобождая сперматозоиды.

Схема сперматогенеза у амниот*



https://www.britannica.com/science/spermatogenesis

Проходит в извитых канальцах, дифференциация клеток в направлении от стенок канальца к его центру. Клетки Сертоли прилегают к стенкам и питают будущие гаметы.

Цель:

Установить особенности эволюции экспрессионного паттерна генов, специфически маркирующих основные клеточные типы тестикулов позвоночных.

Задачи:

- Провести стандартизованный анализ данных scRNA-seq, полученных для разных видов позвоночных несколькими научными группами.
- Выделить кластеры, соответствующие клеточным типам гонад позвоночных.
- Определить маркерные гены для клеточных типов.
- Для маркерных генов каждого вида провести анализ молекулярной эволюции, идентифицировать ортологов и паралогов.
- Соотнести распределение экспрессии маркерных генов ключевых клеточных типов между видами.

Методы

данные транскриптомов одиночных клеток гонад

	Cell: 1	2	...	N
GENE 1	1	2		14
GENE 2	4	27		8
GENE 3	0	0		1
⋮				
GENE M	6	2		0

NCBI

предварительная обработка данных
- нормализация и фильтрация
- отбор высоко - вариабельных генов
- шкалирование

визуализация и поиск клеточных типов
- определение числа главных компонент
- кластеризация графа соседей
- визуализация в двумерном пространстве
- аннотация кластеров

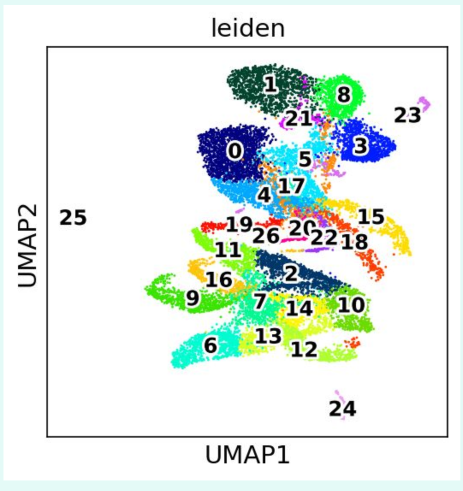
геномные данные

анализ молекулярной эволюции и идентификация ортологов

сравнительный анализ экспрессии маркерных генов у разных видов

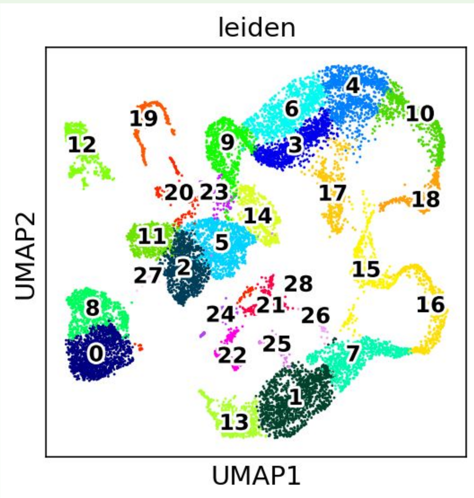
Представления UMAP результатов кластеризации single-cell RNA-seq данных 4 видов и распределение экспрессии маркерных генов сперматид.

Zebrafish (Danio rerio)



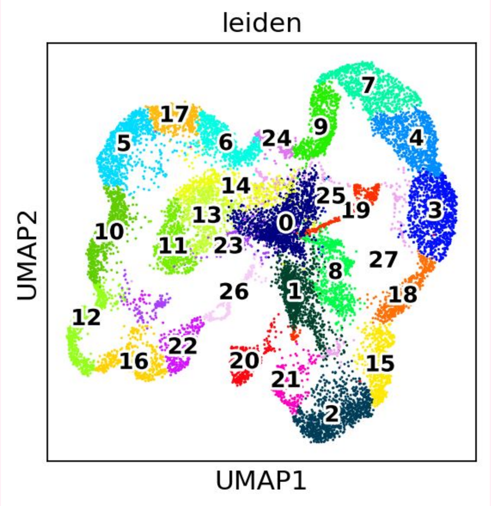
{0,3,4,5} - сперматоциты; {2,6,7,10,13,14} и {9,11,12,15,16,18,19,20,22,26} - удлиненные и круглые сперматиды; {23} - клетки Сертоли; {1,8} - сперматогонии; {24} - клетки Лейдига

Домовая мышь (Mus musculus)



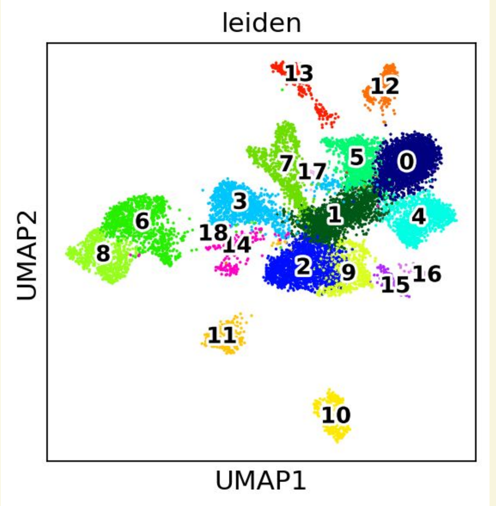
{1, 7, 3} и {15, 16} - удлинённые и круглые сперматиды;
{2, 5, 11} - сперматогонии; {9} - сперматоциты;
{0, 8} - клетки Сертоли

Кабан (Sus scrofa)



{15, 18} - сперматоциты;
{9, 24 6, 17, 5, 10, 12, 16, 22, 26} - сперматиды;
{19} - клетки Сертоли; {20} - миоидные клетки; {21} - сперматогонии;
{27} - клетки Лейдига

Домашняя овца (Ovis aries)



{14, 16} - сперматоциты; {2, 9} - сперматиды; {0, 5, 13} - миоидные клетки; {16} - клетки Сертоли; {4} - клетки Лейдига

EDRF1 - маркерный ген для сперматид у danio rerio

TSSK6 - маркерный ген для сперматид у mus musculus

Fhl5 - маркерный ген для сперматид у sus scrofa

PHGDH - маркерный ген для сперматид у ovis aries