

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ ГРАНУЛЫ В АРХЕОЦИТАХ ГУБКИ *OSCARELLA MALAKHOVI* ERESKOVSKY, 2006¹

© 2011 г. В. В. Исаева^{1, 2}, А. В. Ахмадиева¹

¹Учреждение Российской академии наук Институт биологии моря
им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток 690041;

²Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва 119071
e-mail: vv_isaeva@mail.ru

Статья принята к печати 30.09.2010 г.

Морфология археоцитов – стволовых клеток губки *Oscarella malakhovi*, исследована в период бесполого размножения (почкования) с помощью световой и электронной микроскопии. Впервые у губок в перинуклеарной цитоплазме археоцитов выявлены электронно-плотные герминальные гранулы – ультраструктурный маркер и ключевой органоид клеток половой линии Metazoa и потенциально гаметогенных стволовых клеток беспозвоночных животных с бесполом размножением. Обсуждаются общие черты морфофункциональной организации "первичных" стволовых клеток размножающихся бесполом путем беспозвоночных и клеток половой линии животных.

Ключевые слова: Porifera, археоциты, герминальные гранулы, герминальная плазма, стволовые клетки, половая линия клеток.

Germinal granules in archaeocytes of the sponge *Oscarella malakhovi* Ereskovsky, 2006. V. V. Isaeva^{1, 2}, A. V. Akhmadieva¹ (¹A. V. Zhirmunsky Institute of Marine Biology, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041; ²A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow 119071)

The morphology of archaeocytes, sponge stem cells, was studied in *Oscarella malakhovi* during asexual reproduction (budding) using light and electron microscopy. Electron-dense germinal granules, which are ultrastructural markers and key organelles of metazoan germline cells and potentially gametogenic stem cells of asexually reproducing invertebrates, were found in the perinuclear cytoplasm of the sponge archaeocyte for the first time. Shared features of the morphological and functional organization of the "primary" stem cells of asexually reproducing invertebrates and the germline cells in Metazoa are discussed. (Biologiya Morya, Vladivostok, 2011, vol. 37, no. 3, pp. 199–207).

Key words: Porifera, archaeocytes, germinal granules, germ plasm, stem cells, germ cell line.

У животных с бесполом размножением на протяжении всей жизни индивида или колонии сохраняется резерв стволовых клеток, способных к дифференциации в половые и соматические, что признано в последние годы третьим вариантом обособления клеток половой линии, помимо преформации и эпигенеза (Blackstone, Jasker, 2003; Extavour, Akam, 2003; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009). Стволовые клетки таких животных служат клеточным источником для процессов гаметогенеза, бесполого размножения и регенерации (Frank et al., 2009; Sköld et al., 2009; Исаева, 2010). Стволовые клетки, потенциально способные становиться и соматическими, и первичными половыми и морфологически неотличимые от последних, названы первичными стволовыми клетками (Sköld et al., 2009). Такие клетки представлены археоцитами губок, интерстициальными клетками книдарий, необластами планарий, стволовыми клетками колониальных корнеголовых ракообразных и колониальных асцидий (Исаева и др., 2007, 2009; Frank et al., 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Исаева, 2010).

Археоциты губок рассматриваются как основной источник клеток при половом и бесполом размножении (Simpson, 1984; Harrison, De Vos, 1991; Müller et al., 2003,

2009; Müller, 2006; Funayama, 2008). Показано, что археоциты могут вступать на путь дифференцировки как гаметогенных, так и соматических клеток (Tuzet, 1964; Simpson, 1984; Ефремова, 1988; Müller, 2006). Губки не имеют постоянной половой линии (Tuzet, 1964; Blackstone, Jasker, 2003; Sköld et al., 2009).

"Первичные" стволовые клетки – недифференцированные клетки с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением и другими морфологическими особенностями, включая наличие в цитоплазме "зародышевой плазмы" (Исаева и др., 2007, 2009; Rinkevich et al., 2009). Знаменитый термин Вейсмана (Keimplasma, germ plasm: Weismann, 1892, 1893), исходно означавший генетический ядерный материал, стал метафорой. "Зародышевая плазма" в современном понимании, содержащая "зародышевые (половые) детерминанты", структурированные в виде относительно компактных герминальных гранул или более дисперсного материала "облачка" (nuage) – специфический ультраструктурный маркер и ключевой органоид клеток половой линии Metazoa (Matova, Cooley, 2001; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007), а также потенциально гаметогенных стволовых клеток беспозвоночных животных, способных к бесполому размножению (Shibata et al., 1999; Mochizuki et

¹ Работа поддержана грантом РФФИ № 09–04–00019.

al., 2001; Исаева и др., 2007, 2009; Frank et al., 2009). Электронно-плотные герминальные гранулы найдены в интерстициальных клетках книдарий (Noda, Kanai, 1977; Akhmadieva et al., 2005; Исаева и др., 2009), необластах планарий (Coward, 1974; Hori, 1982; Auladell et al., 1993; Shibata et al., 1999; Isaeva et al., 2005) и стволовых клетках колониальных корнеголовых ракообразных (Shukalyuk et al., 2005; Исаева, Шукалюк, 2007). Таким образом, герминальные гранулы могут служить морфологическим маркером не только клеток половой линии, но и способных к гаметогенезу стволовых клеток беспозвоночных животных с бесполом размножением.

На основании литературных и собственных данных мы предполагаем общность морфофункциональной организации "первичных" стволовых клеток размножающихся бесполом путем животных и клеток половой линии всех Metazoa (Исаева и др., 2009; Исаева, 2010). На губках получены молекулярные свидетельства некоторых общих черт стволовых и половых клеток (Müller, 2006; Funayama, 2008). Насколько нам известно, герминальные гранулы в стволовых клетках губок до сих пор не были идентифицированы.

С целью поиска герминальных гранул в археоцитах губок с помощью световой и электронной микро-

скопии исследована губка *Oscarella malakhovi* в период почкования. Впервые *O. malakhovi* описана Ересковским (Ereskovsky, 2006), им изучены гистологическая организация и клеточные типы, а также почкование этого вида. У *O. malakhovi* полностью отсутствуют скелетные элементы (Ereskovsky, 2006), что благоприятствует гистологическому и ультраструктурному исследованию клеток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Материал для исследования губки *Oscarella malakhovi* Ereskovsky, 2006 (Porifera: Demospongiae: Homosclerophorida: Plakinidae) был собран в районе Морской биологической станции "Восток" ИБМ ДВО РАН (зал. Петра Великого Японского моря) с глубины около 1.5 м в июле и августе. Небольшие кусочки губок фиксировали непосредственно после сбора. Живых губок рассматривали с помощью инвертированного микроскопа Telaval (Zeiss) и фотографировали цифровой камерой Canon. Для электронно-микроскопического анализа губок фиксировали 2.5% раствором глутаральдегида в какодилатном буфере (pH 7.4), дофиксировали в 2% четырехокиси осмия (OsO_4), дегидратировали этанолом и ацетоном и заключали в эпон-аралдит. Тонкие срезы, полученные с помощью ультратома Ultracut-E (Reichert), контрастировали 2% раствором уранилацетата и цитрата свинца и изучали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM 100B. Полутонкие срезы окрашивали толудиновым синим, рассматривали с помощью светового микроскопа и фотографировали цифровой камерой.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Oscarella malakhovi – живородящая губка, эмбрионы которой развиваются внутри материнского тела. Эмбриональное развитие при половом размножении данного вида губки наблюдали в июле. В это время мезохил материнского организма заполнен ооцитами и развивающимися зародышами (рис. 1А–В). В организме каждой губки обнаружены разные стадии развития – от раннего дробления до морулы и развивающейся личинки. Дробление голобластическое, равномерное или почти равномерное (рис. 1А–В).

В августе после завершения полового размножения и выхода личинок происходило бесполое размножение путем почкования. Почкование начиналось с образования на поверхности тела губки многочисленных небольших выступов, превращающихся в течение 1–3 сут (в лабораторных условиях) в сферические почки диаметром около 100 мкм, соединенные стебельками с родительской губкой (рис. 1Г), от которой они отделялись спустя 2–4 сут.

Основные типы клеток *O. malakhovi* – хоаноциты, экзо- и эндопинакоциты и археоциты; присутствуют также симбиотические бактерии (рис. 2А–В). В период бесполого размножения появляются группы археоцитов с морфологией амебоидных клеток: каплевидных, несколько удлиненных или имеющих 3–4 псевдоподии. Археоциты – небольшие клетки (около 5 мкм диаметром) с относительно крупным светлым ядром и хорошо заметным темным ядрышком (рис. 2Б, В). Процессы

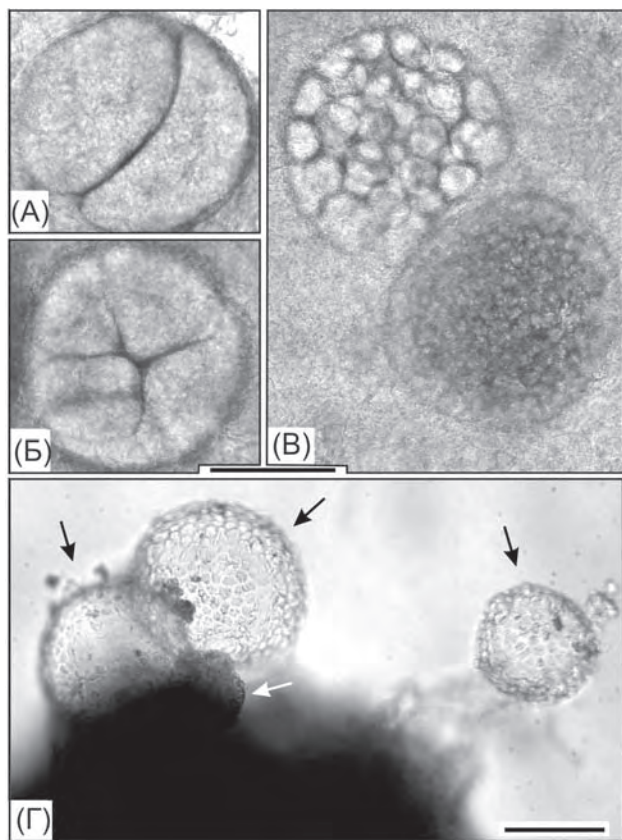


Рис. 1. Развивающиеся зародыши в теле материнской губки *Oscarella malakhovi* при половом размножении и почки на поверхности при бесполом размножении (прижизненные фотографии). А – два бластомера; Б – четыре бластомера; В – морула и развивающаяся личинка; Г – почкование (почки указаны стрелками). Масштаб: А–В – 50 мкм; Г – 100 мкм.

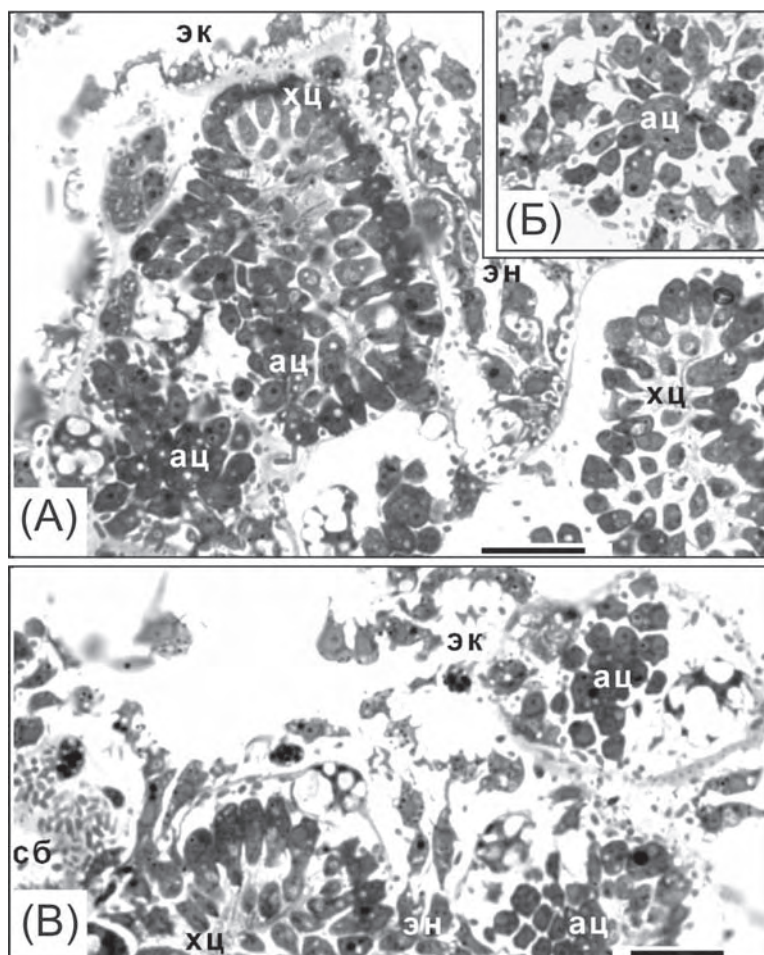


Рис. 2. Световая микроскопия поверхностной зоны *Oscarella malakhovi* в период почкования (полутонкие срезы). А – хоаноцитные камеры и группы археоцитов; Б – археоциты; В – периферическая область тела губки. Обозначения: ак – археоциты, сб – симбиотические бактерии, хц – хоаноциты, эк – экзопинакоциты, эн – эндопинакоциты. Масштаб – 20 мкм.

гаметогенеза в период почкования не наблюдались, бесполое размножение осуществлялось после завершения полового.

При ультраструктурном исследовании археоцитов выявлены дисперсный ядерный хроматин и крупное ядрышко; цитоплазма археоцитов включает немногие митохондрии, вакуоли и многочисленные рибосомы (рис. 3А–Б). В перинуклеарной цитоплазме археоцитов обнаружены электронно-плотные гранулы – мелкозернистые тельца, не имеющие четко очерченной границы (рис. 3Б–Г) и морфологически подобные герминальным гранулам либо материалу "облачка" (puage) других животных. Герминальные гранулы располагаются вблизи ядерной оболочки и окружены полисомными комплексами (рис. 3В, Г). В хоаноцитах и других типах дифференцированных клеток *O. malakhovi* таких гранул не отмечено.

Герминальные гранулы археоцитов нередко содержат уплощенные мембранные цистерны (рис. 3Г) – предполагаемые остатки крист внутренней митохондриальной мембраны. Кроме того, мы наблюдали разрушение наружной мембраны некоторых митохондрий с осво-

бождением митохондриального матрикса в цитоплазму археоцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее было показано, что *Oscarella malakhovi* размножается и половым, и бесполом путем (Ereskovsky, 2006). Наши данные по эмбриональному развитию *O. malakhovi* согласуются с результатами других исследований на губках (Harrison, De Vos, 1991; Fell, 1993), включая род *Oscarella* (Ereskovsky, Boury-Esnault, 2002) и вид *O. malakhovi* (Ereskovsky, 2006).

Известно, что бесполое размножение происходит у губок всех классов и осуществляется путем почкования, фрагментации и образования геммул (Brien, 1973; Fell, 1974, 1993; Simpson, 1984; Harrison, De Vos, 1991; Funayama, 2008). Многие виды губок образуют отделяющиеся наружные почки, в частности, образование почек наблюдалось у всех исследованных представителей Demospongia (Fell, 1974, 1993; Simpson, 1984; Müller, 2006; Ereskovsky, Tokina, 2007), в том числе и у *O. malakhovi* (Ereskovsky, 2006). Для почкования губок типичны миграция археоцитов к эктосомной области,

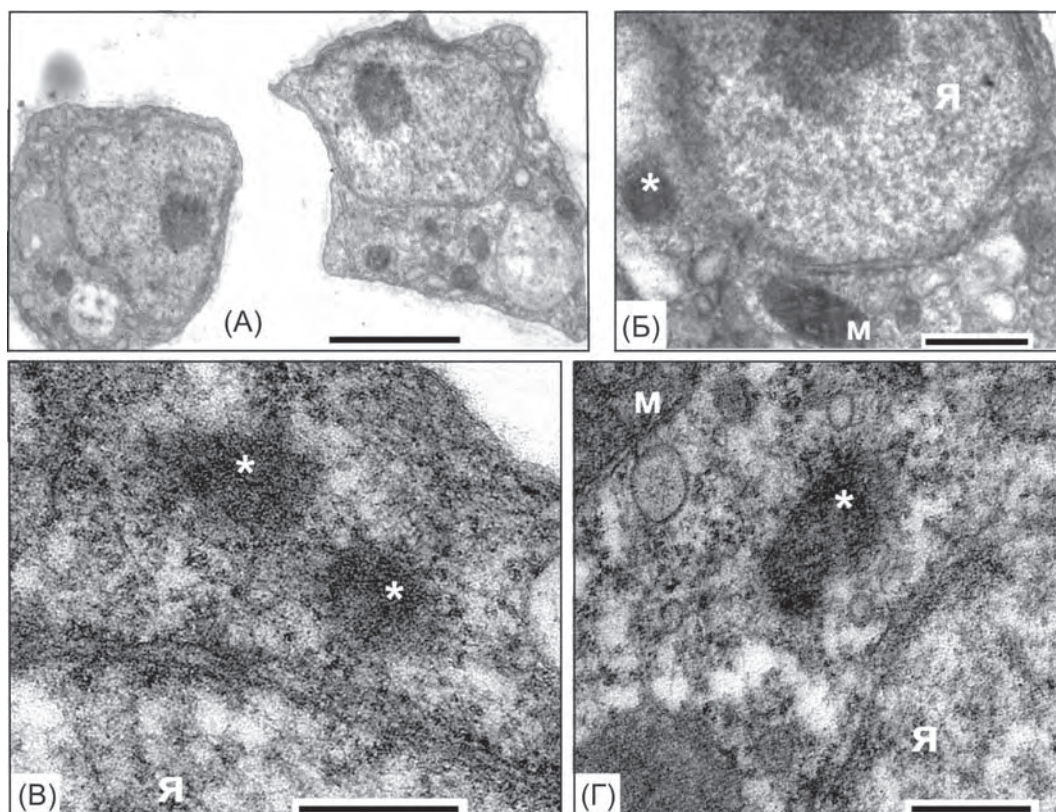


Рис. 3. Трансмиссионная электронная микроскопия археоцитов *Oscarella malakhovi* в период почкования. А – археоциты; Б – участок археоцита, включающий часть ядра, герминальную гранулу и митохондрию; В, Г – герминальные гранулы при большем увеличении. Герминальные гранулы указаны звездочками. Обозначения: м – митохондрия, я – ядро. Масштаб: А – 2 мкм; Б – 1 мкм; В – 0.2 мкм; Г – 0.1 мкм.

формирование эктосомного агрегата клеток и последующее развитие почки (Connes, 1964, 1967; Boury-Esnault, 1970; Simpson, 1984; Saller, 1990; Harrison, De Vos, 1991; Corriero et al., 1998). Таким образом, формирование почек у большинства губок обеспечивается археоцитами (Fell, 1974, 1993; Simpson, 1984; Harrison, De Vos, 1991; Müller, 2006) и обычно осуществляется путем мезенхимного морфогенеза, однако по данным Ересковского и Токиной (Ereskovsky, Tokina, 2007) образование почек у двух видов рода *Oscarella* – *O. lobularis* и *O. tuberculata* – происходит путем простого выпячивания стенки тела, т.е. эпителиального морфогенеза, и не вовлекает миграцию археоцитов.

Ересковский (Ereskovsky, 2006) описал клеточный состав *O. malakhovi*, включающий хоаноциты, эндопиноакоциты, экзопиноакоциты, археоциты, а также апопилярные, гранулярные, вакуолярные клетки и симбиотические бактерии. Мы наблюдали у этого вида такие же основные клеточные типы: хоаноциты, эндопиноакоциты, экзопиноакоциты и археоциты. В период почкования обнаружены группы археоцитов, морфологически подобных уже описанному у *O. malakhovi* Ересковским (Ereskovsky, 2006) и другими авторами у иных видов губок. Амебоидная форма археоцитов и локализация вблизи поверхности тела позволяют говорить об их активной

миграции и о возможном участии в формировании почек. Возможно, почкование *O. malakhovi* вовлекает и мезенхимный, и эпителиальный морфогенез, как большинство морфогенетических событий у многоклеточных животных.

Археоциты губок митотически активны (Efremova, 1970; Funayama, 2008), т.е. подобно клеткам половой линии способны к самообновлению (Müller, 2002; Müller et al., 2003; Zhang et al., 2003). Археоциты характеризуются крупным ядром с хорошо заметным ядрышком, высоким уровнем РНК в цитоплазме, а также амебоидной подвижностью, активной миграцией и способностью к фагоцитозу (Lévi, 1970; Fell, 1974, 1993; Simpson, 1984; Harrison, De Vos, 1991; Müller, 2006; Funayama, 2008).

В экспериментах с диссоциированными клетками *Ephydatia fluviatilis* Никитин (1977) показал, что однородные клеточные агрегаты, образованные из археоцитов (ядрышков амебоцитов), способны развиваться с образованием целой губки, тогда как агрегаты других клеточных типов неизбежно погибают. Подобные результаты, демонстрирующие развитие целого организма губки лишь из агрегатов клеточной фракции, богатой археоцитами, были представлены несколько позже другими исследователями (De Sutter, Van de Vyver, 1977). Археоциты способны дифференцироваться в половые

и соматические клетки (Tuzet, 1964; Borojevic, 1966, 1970; Simpson, 1984; Müller, 2006; Funayama, 2008). Такая способность археоцитов позволяет рассматривать их как тотипотентные (Simpson, 1984; Müller et al., 2003, 2009; Zhang et al., 2003; Müller, 2006), плюрипотентные (Funayama, 2008; Harrison, De Vos, 1991) или тотиплюрипотентные (Müller et al., 2009) клетки. Фунаяма (Funayama, 2008) полагает, что и археоциты, и хоаноциты губок плюрипотентны. Стволовые клетки размножающихся бесполом путем беспозвоночных животных обычно именуют тотипотентными, если показана их способность дифференцироваться в гаметы и любые соматические клетки организма, и плюрипотентными, если они дают начало гаметам и многим, но не всем, типам соматических клеток (Исаева и др., 2007, 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009; Исаева, 2010).

Множественно показано, что половые клетки возникают у разных губок из двух различных клеточных источников – археоцитов и хоаноцитов (Tuzet, 1964; Brien, 1973; Fell, 1974; Sarà, 1974; Diaz et al., 1975; Diaz, 1977; Simpson, 1984; Ефремова, 1988; Harrison, De Vos, 1991; Funayama, 2008). Есть данные и о трансформации хоаноцитов в археоциты (Tuzet, 1947, 1964; Fell, 1974; Diaz, 1977; Funayama, 2008). Вероятно, стволовая система губок включает два типа плюрипотентных стволовых клеток: археоциты и хоаноциты; оба типа клеток способны дифференцироваться как половые и соматические; хоаноциты могут трансформироваться в археоциты, продуцирующие затем другие типы клеток (Funayama, 2008). Итак, по общему согласию, археоциты представляют собой тотипотентные или плюрипотентные, потенциально гаметогенные, клетки.

В цитоплазме археоцитов *O. malakhovi* мы выявили герминальные гранулы типичной морфологии, локализованные вблизи ядра, причем подобных телец не найдено в хоаноцитах или других типах дифференцированных клеток. Типичные электронно-плотные герминальные гранулы не были ранее описаны в археоцитах или каких-либо других клетках губок. Лишь Диаз с соавторами (Diaz et al., 1975) выявили в перинуклеарной цитоплазме археоцитов *Suberites massa* плотный материал, названный ими ядерной экструзией. Электронно-плотные гранулы были неоднократно описаны в оогенных клетках губок. Плотные фибриллярные тела обнаружены в оогониях и ооцитах *S. massa* (Diaz et al., 1975), *Verongia aerophoba* (см.: Gallissian, Vacelet, 1976), *Grantia compressa* (см.: Gallissian, 1981). Фибриллярные и глобулярные тела ("хромидии") выявлены вблизи ядер оогониев и ооцитов *Sycon raphanus* (см.: Tuzet, 1964), *Leucosolenia botryoides* (см.: Duboscq, Tuzet, 1942), *Sycon elegans* (см.: Duboscq, Tuzet, 1944) и *Reniera elegans* (см.: Tuzet, 1947).

Специфический электронно-плотный материал "зародышевой плазмы", не окруженный мембраной и богатый РНК, рассматривается как ключевой органоид клеток половой линии (Ikenishi, 1998; Matova, Cooley, 2001; Seydoux, Braun, 2006; Lim, Kai, 2007; Strome, Lehman,

2007). Присутствие такого материала представляет собой эволюционно консервативную черту клеток половой линии многоклеточных животных и выявлено более чем у 80 видов, принадлежащих к семи типам животных (Eddy, 1975). Герминальные гранулы, как и подобный им материал цитоплазмы клеток различных животных, а иногда и разных стадий развития, именуются также полярными, хроматоидными, перинуклеарными, плотными тельцами, интермитохондриальным цементом и т.д. (Исаева, 2010). Непрерывность этого наследуемого по материнской линии материала прослежена на протяжении жизненного цикла дрозифилы, лягушки *Xenopus* и нематоды *Caenorhabditis* (Ikenishi, 1998; Mahowald, 2001). Благодаря таким ультраструктурным маркерам клетки половой линии могут быть идентифицированы и прослежены в ходе развития.

У некоторых беспозвоночных животных с бесполом размножением в перинуклеарной цитоплазме стволовых клеток также обнаружены специфические электронно-плотные структуры, морфологически и по некоторым молекулярным маркерам подобные или идентичные герминальным гранулам стволовых клеток. Так, электронно-плотные тела, подобные герминальным гранулам клеток половой линии и ассоциированные с ядерными порами и митохондриями, выявлены в интерстициальных клетках гидры *Pelmatohydra robusta* (см.: Noda, Kanai, 1977). Число и размер этих телец увеличиваются в ходе раннего оогенеза и уменьшаются при дифференциации соматических клеток (книдобластов) из интерстициальных клеток (Noda, Kanai, 1977). Мы обнаружили электронно-плотные герминальные гранулы в интерстициальных и оогенных клетках колониального гидроида *Obelia longissima* (Akhmadieva et al., 2005). Герминальные гранулы *O. longissima* подобны "плотным телам" интерстициальных и половых клеток *P. robusta* (Noda, Kanai, 1977) и других книдарий (Thomas, Edwards, 1991). У планарий герминальные гранулы, именуемые хроматоидными телами, наблюдали не только в клетках половой линии, но и в необластах, где они также лежат вблизи ядерной оболочки, в контакте с митохондриями (Coward, 1974; Hori, 1982; Auladell et al., 1993; Shibata et al., 1999; Isaeva et al., 2005). Число и размер хроматоидных тел необластов планарий уменьшаются при дифференциации соматических клеток из необластов. В полностью дифференцированных клетках хроматоидные тела исчезают, тогда как в оогенных клетках они присутствуют в течение всего жизненного цикла (Hori, 1982; Auladell et al., 1993; Shibata et al., 1999). Эти наблюдения позволили высказать предположение о роли хроматоидных тел в поддержании тотипотентности клеток (Shibata et al., 1999). Типичные герминальные гранулы, морфологически сходные с полярными гранулами клеток половой линии дрозифилы и других многоклеточных животных, найдены в цитоплазме стволовых клеток и бластомеров двух изученных нами видов колониальных корнеголовых ракообразных: *Peltogasterella gracilis*

и *Polyascus polygenea* (Shukalyuk et al., 2005, 2007). В цитоплазме некоторых стволовых клеток ранних почек колониальной асидии *Botryllus tuberatus* мы наблюдали небольшие электронно-плотные тельца (Ахмадиева и др., 2007), подобные материалу nuage, часто встречающемуся у позвоночных.

Основные компоненты герминальных гранул: белки, иРНК, некодирующие РНК; РНК-связывающие белки герминальных гранул вовлечены в локализацию и защиту РНК и трансляционный контроль (Extavour, Akam, 2003; Leatherman, Jongens, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Lim, Kai, 2007; Strome, Lehman, 2007). Вероятно, регуляторные функции герминального материала половой (зародышевой) плазмы заключаются в поддержании тотипотентности и защите клеток от соматической дифференциации, что подтверждается данными о транскрипционном молчании клеток половой линии (Leatherman, Jongens, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007). Предполагается, что герминальные гранулы функционируют как специфический регуляторный центр, поддерживающий тотипотентность генома и защищающий клетки от соматической судьбы (Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007).

Показано, что некоторые белки, локализованные в герминальных гранулах, вовлечены в детерминацию клеток половой линии, а кодирующие их гены эволюционно консервативны у всех исследованных многоклеточных животных (Houston, King, 2000; Mahowald, 2001; Matova, Cooley, 2001; Mochizuki et al., 2001; Sato et al., 2001; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007). В частности, в составе гранул половых (зародышевых) детерминантов клеток половой линии различных представителей животного мира найден белковый продукт (РНК-хеликаза) гена *vasa* или родственных генов – один из детерминантов линии половых клеток, необходимый для формирования и поддержания структурной организации герминальных гранул и, предположительно, для сохранения тотипотентности клеток (Matova, Cooley, 2001; Extavour, Akam, 2003; Seydoux, Braun, 2006; Strome, Lehman, 2007). Экспрессия гена, родственного *vasa*, специфична не только для гаметогенных, но и для стволовых клеток размножающихся бесполом путем беспозвоночных, и может служить их селективным маркером (Shibata et al., 1999; Mochizuki et al., 2001; Исаева и др., 2007, 2009; Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). Стволовые клетки беспозвоночных животных с бесполом размножением, как и клетки половой линии, характеризуются также экспрессией белковых продуктов генов, родственных генам *piwi*, *nanos* и некоторым другим (Rinkevich et al., 2009; Sköld et al., 2009). В стволовых клетках губки *E. fluviatilis* выявлена активность гена, родственного гену *piwi*, который экспрессируется в клетках половой линии и в стволовых клетках других животных и функционирует, поддерживая тотипотентность этих клеток (Funayama, 2008).

Таким образом, особенности структурной организации цитоплазмы и функциональной активности клеток

половой линии всех исследованных Metazoa и стволовых клеток животных с бесполом размножением оказываются во многом общими и обеспечиваются эволюционно консервативными механизмами. Стволовые клетки, предшественники половых и соматических клеток у животных с бесполом размножением, как и первичные половые клетки при половом размножении, представлены рассеянными в организме подвижными клетками и не принадлежат ни одному зародышевому листку, дифференцированной ткани или популяции соматических клеток – это не соматические клетки в обычном понимании.

Фелл (Fell, 1974) и другие авторы (Tuzet, 1947, 1964; Diaz et al., 1975) интерпретируют электронно-плотные тела ("хромидии", "ядерные экструзии") в ооцитах губок как выход ядерного материала в ооплазму. Описано прохождение плотного ядерного материала через ядерные поры в цитоплазму ооцитов *S. massa* (Harrison, De Vos, 1991). Ядерное происхождение приписывается также плотному перинуклеарному материалу, часто окруженному митохондриями, в археоцитах *S. massa* (Diaz et al., 1975). Несомненно, материал герминальных гранул включает продукты ядерного генома (в частности, белковый продукт *vasa* и родственных генов). Однако к настоящему времени накопились свидетельства митохондриального происхождения некоторых молекулярных компонентов герминальных гранул (Kobayashi et al., 1998, 2005; Исаева, Реунов, 2001; Mahowald, 2001; Matova, Cooley, 2001; Leatherman, Jongens, 2003; Isaeva et al., 2005; Seydoux, Braun, 2006; Исаева и др., 2007, 2009). Предполагается, что продукты и ядерного, и митохондриального геномов существенны для структурной организации и функционирования герминальных гранул половой (зародышевой) плазмы (Kobayashi et al., 1998, 2005; Исаева, Реунов, 2001; Isaeva et al., 2005; Исаева и др., 2009). Наши ультраструктурные данные, полученные на представителях различных таксонов животных и свидетельствующие о разрушении наружной мембраны митохондрий и трансформации митохондриального матрикса с кристами внутренней мембраны в материал герминальных гранул, как мы полагаем, проясняют механизм биогенеза герминальных гранул (Reunov et al., 2000; Реунов и др., 2004; Isaeva et al., 2005).

Герминальные гранулы цитоплазмы археоцитов *O. malakhovi* нередко включают уплощенные мембранные пузырьки; мы наблюдали также митохондриальные производные, сохранившие кристы внутренней мембраны, но лишенные наружной. Ранее на ооцитах *S. massa* было показано, что митохондрии часто теряют мембрану и освобождают гранулярный материал в ооплазму (Harrison, De Vos, 1991). Мы предполагаем митохондриальное происхождение структурной основы герминальных гранул археоцитов, заполняемой продуктами транскрипции ядерного генома.

Таким образом, стволовые клетки у размножающихся бесполом путем представителей типов губок, книдарий, плоских червей, артропод и хордовых, как

и клетки половой линии всех многоклеточных животных, характеризуются присутствием герминальных гранул – ключевого органоида способных к гаметогенезу клеток. Электронно-плотные гранулярные структуры, подобные герминальным гранулам гаметогенных клеток многоклеточных животных, выявлены также в репродуктивных клетках некоторых низших и высших растений (Alexandrova, Reunov, 2008), что свидетельствует об очень консервативном паттерне морфофункциональной организации репродуктивных клеток растений и животных.

Мы предполагаем эволюционный консерватизм и общность черт морфофункциональной организации тотти-(плюри-)потентных, потенциально гаметогенных, "первичных" стволовых клеток беспозвоночных с бесполом размножением и клеток половой линии всех многоклеточных животных. Архециты губок – "первичные" стволовые клетки, клеточный источник полового и бесполого размножения и клеточная основа реализации репродуктивной стратегии, включающей оба способа размножения этих животных.

Авторы очень благодарны С.М. Ефремовой и А.В. Ересковскому (Санкт-Петербургский государственный университет) за ценные консультации и помощь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахмадиева А.В., Шукалюк А.И., Александрова Я.Н., Исаева В.В. Стволовые клетки в бесполом размножении колониальной асидии *Botryllus tuberatus* (Tunicata: Ascidiacea) // Биол. моря. 2007. Т. 33, № 3. С. 217–222.
- Ефремова С.М. Происхождение половых клеток и проблема "зародышевого пути" у губок // Губки и книдарии. Л.: ЗИН АН СССР. 1988. С. 17–22.
- Исаева В.В. Разнообразие онтогенезов у животных с бесполом размножением и пластичность раннего развития // Онтогенез. 2010. Т. 41, № 4. С. 317–320.
- Исаева В.В., Реунов А.А. Половая плазма и детерминация линии половых клеток: роль митохондрий // Биол. моря. 2001. Т. 27, № 4. С. 231–237.
- Исаева В.В., Шукалюк А.И. Колониальные корнеловые ракообразные (Crustacea: Rhizocephala): бесполое размножение, стволовые клетки, репродуктивная стратегия. М.: Наука. 2007. 132 с.
- Исаева В.В., Ахмадиева А.В., Александрова Я.Н., Шукалюк А.И. Морфофункциональная организация стволовых резервных клеток, обеспечивающих бесполое и половое размножение беспозвоночных животных // Онтогенез. 2009. Т. 40. С. 83–96.
- Исаева В.В., Шукалюк А.И., Ахмадиева А.В. Стволовые клетки беспозвоночных животных с репродуктивной стратегией, включающей бесполое размножение // Биол. моря. 2007. Т. 33, № 1. С. 3–10.
- Никитин Н.С. Экспериментальное исследование морфогенетического потенциала гомогенных конгломератов различных клеточных типов пресноводной губки *Ephydatia fluviatilis* // Онтогенез. 1977. Т. 8. С. 460–467.
- 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) // Биол. моря. 2004. Т. 30, № 3. С. 244–246.
- Akhmadieva A. V., Shulalyuk A. I., Isaeva V. V. Interstitial cells in reproductive strategy of colonial hydroid *Obelia longissima* // Amer. Soc. for Cell Biology 45th Annual Meeting (San Francisco, December, 2005): Mol. Biol. Cell. 2005. Vol. 16, no. 11 (suppl.). P. 752a.
- Alexandrova Ya. N., Reunov A. A. The oogonia of macroalga *Undaria pinnatifida* are alkaline-phosphatase positive and contain germinal body-like structures // J. Phycol. 2008. Vol. 44. P. 712–715.
- Auladell C., Garcia-Valero J., Baguña J. Ultrastructural localization of RNA in the chromatoid bodies of undifferentiated cells (neoblasts) in planarians by the RNAase-gold complex technique // J. Morph. 1993. Vol. 216. P. 319–326.
- Blackstone N. W., Jasker B. D. Phylogenetic consideration of clonality, coloniality, and mode of germline development in animals // J. Exp. Zool. 2003. Vol. 287. P. 35–47.
- Borojevic R. Étude expérimentale de la différenciation des cellules de l'éponge au cours de son développement // Dev. Biol. 1966. Vol. 14. P. 130–153.
- Borojevic R. Différentiation cellulaire dans l'embryogénèse et al morphogénèse chez les spongiaires // Biology of the Porifera. New York; London: Academic Press. 1970. P. 467–490.
- Boury-Esnault N. Un phénomène de bourgeonnement externe chez l'éponge *Axinella damicornis* (Esper.) // Cah. Biol. Mar. 1970. Vol. 11. P. 491–496.
- Brien P. Les Démospouges. Morphologie et reproduction // Traité de zoologie. Tome. 3: Spongiaires. Vol. 1 / Ed. P. P. Grassé. Paris: Masson. 1973. P. 133–461.
- Connes R. Contribution a l'étude de la prolifération par voie asexuée chez le Sycon // Bull. Soc. Zool. France. 1964. Vol. 89. P. 188–195.
- Connes R. Structure et développement des bourgeons chez l'éponge siliceuse *Tethya lyncurium* Lamarck. Recherches expérimentales et cytologiques // Arch. Zool. Exp. Gén. 1967. Vol. 108. P. 157–195.
- Corriero G., Liaci L. S., Marzano C. N., Gaino E. Reproductive strategies of *Mycale contarenii* (Porifera, Demospongiae) // Mar. Biol. 1998. Vol. 131. P. 319–327.
- Coward S. J. Chromatoid bodies in somatic cells of the planarian: observation on their behavior during mitosis // Anat. Rec. 1974. Vol. 180. P. 533–546.
- De Sutter D., Van de Vyver G. Aggregative properties of different cell types of the freshwater sponge *Ephydatia fluviatilis* isolated on ficoll gradients // Roux's Arch. Dev. Biol. 1977. Vol. 183. P. 151–161.
- Diaz J.-P. Transformations histologiques et cytologique post-traumatiques chez la Démospouge *Suberites massa* Nardo // Bull. Mus. Nat. Hist. Natur. (Paris). 1977. Vol. 445. P. 373–396.
- Diaz J.-P., Connes R., Paris J. Étude ultrastructurale de l'ovogénèse d'une Démospouge: *Suberites massa* Nardo // J. Microsc. 1975. Vol. 24. P. 105–116.
- Duboscq O., Tuzet O. Recherches complémentaires sur l'ovogénèse, la fécondation, et les premiers stades du développement des éponges calcaires // Arch. Zool. Exp. Gén. 1942. Vol. 81. P. 395–466.
- Duboscq O., Tuzet O. L'ovogénèse, la fécondation et les premiers stades du développement de *Sycon elegans* Bow // Arch. Zool. Exp. Gén. 1944. Vol. 83. P. 445–459.

- Eddy E.M. Germ plasm and the differentiation of the germ cell line // Int. Rev. Cytol. 1975. Vol. 43. P. 229–280.
- Efremova S.M. Proliferation activity and synthesis of protein in the cells of fresh-water sponges during development after dissociation // Biology of the Porifera. New York; London: Academic Press. 1970. P. 399–413.
- Ereskovsky A.V. A new species of *Oscarella* (Demospongiae: Plakinidae) from the western Sea of Japan // Zootaxa. 2006. Vol. 1376. P. 37–51.
- Ereskovsky A.V., Boury-Esnault N. Cleavage pattern in *Oscarella* species (Porifera, Demospongiae, Homoscleromorpha): transmission of maternal cells and symbiotic bacteria // J. Natur. Hist. 2002. Vol. 36. P. 1761–1775.
- Ereskovsky A.V., Tokina D.B. Asexual reproduction in homoscleromorph sponges (Porifera: Homoscleromorpha) // Mar. Biol. 2007. Vol. 151. P. 425–434.
- Extavour C.G., Akam M. Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation // Development. 2003. Vol. 13. P. 5869–5884.
- Fell P.E. Porifera // Reproduction of marine invertebrates. Vol. 1: Acoelomate and pseudocoelomate metazoans. New York; London: Academic Press. 1974. P. 51–132.
- Fell P.E. Porifera // Reproductive biology of invertebrates. Vol. 6A: Asexual propagation and reproductive strategies / Eds K.G. Adiyodi, R.G. Adiyodi. Oxford and New Delhi: John Wiley and Sons. 1993. P. 1–44.
- Frank U., Plickert G., Müller W.A. Cnidarian interstitial cells: the dawn of stem cell research // Stem cells in marine organisms. Dordrecht; Heidelberg: Springer. 2009. P. 33–59.
- Funayama N. Stem cells of sponge // Stem cells. From *Hydra* to man. Springer. 2008. P. 17–36.
- Gallissian M.-F. Etude ultrastructurale de l'ovogenèse chez quelques éponges calcaires (Porifera, Calcareia) // Arch. Zool. Exp. Gén. 1981. Vol. 122. P. 329–340.
- Gallissian M.-F., Vacelet J. Ultrastructure de quelques stade de l'ovogenèse de spongiaires du genre *Verongia* (Dictyoceratida) // Ann. Sci. Nat. Zool. 1976. Vol. 18. P. 381–404.
- Harrison F.W., De Vos L. Porifera // Microscopic anatomy of invertebrates. Vol. 2: Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora / Eds F.W. Harrison, J.A. Westfall. New York: Wiley-Liss. 1991. P. 28–89.
- Hori I. An ultrastructural study of the chromatoid body in planarian regenerative cells // J. Electron Microsc. 1982. Vol. 31. P. 63–72.
- Houston D.W., King M.L. Germ plasm and molecular determinants of germ cell fate // Curr. Top. Dev. Biol. 2000. Vol. 50. P. 155–181.
- Ikenishi K. Germ plasm in *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila* and *Xenopus* // Dev. Growth Differ. 1998. Vol. 40. P. 1–10.
- 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. Dev. 2005. Vol. 48. P. 119–128.
- Kobayashi S., Amikura R., Mukai M. Localization of mitochondrial large ribosomal RNA in germ plasm of *Xenopus* embryos // Curr. Biol. 1998. Vol. 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. Vol. 22. P. 943–954.
- Leatherman J.L., Jongens T.A. Transcriptional silencing and translational control: key features of early germline development // BioEssays. 2003. Vol. 25. P. 326–335.
- Lévi C. Les cellules des éponges // The biology of the Porifera. New York; London: Academic Press. 1970. P. 353–364.
- Lim A.K., Kai T. Unique germ-line organelle, nuage, functions to repress selfish genetic elements in *Drosophila melanogaster* // PNAS. 2007. Vol. 104. P. 6714–6719.
- Mahowald A.P. Assembly of the *Drosophila* germ plasm // Int. Rev. Cytol. 2001. Vol. 203. P. 187–213.
- Matova N., Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis // Dev. Biol. 2001. Vol. 16. P. 1–30.
- Mochizuki K., Nishimiya-Fujisawa C., Fujisawa T. Universal occurrence of the *vasa*-related genes among metazoans and their germline expression in *Hydra* // Dev. Genes Evol. 2001. Vol. 211. P. 299–308.
- Müller W.E.G. Telomerase activity in sponges (Porifera), the closest related taxa of the hypothetical ancestral animal the Urmetazoa // Telomeres and telomerase. Georgetown: Molecular Biology Intelligence Unit. 2002. P. 300–313.
- Müller W.E.G. The stem cell concept in sponges (Porifera): metazoan traits // Semin. Cell Dev. Biol. 2006. Vol. 17. P. 481–491.
- Müller W.E.G., Custódio M.R., Wiens M. et al. Effect of bacterial infection on stem cell pattern in Porifera // Stem cells in marine organisms. Dordrecht: Springer. 2009. P. 309–336.
- Müller W.E.G., Korzhev M., Le Pennec G. et al. Origin of metazoan stem cell system in sponges: first approach to establish the model (*Suberites domuncula*) // Biomol. Eng. 2003. Vol. 20. P. 396–379.
- 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. Vol. 61. P. 284–294.
- Reunov A., Isaeva V., Au D., Wu R. Nuage constituents arising from mitochondria: is it possible? // Dev. Growth Differ. 2000. Vol. 42. P. 129–143.
- Rinkevich Y., Matranga V., Rinkevich B. Stem cells in aquatic invertebrates: common premises and emerging unique themes // Stem cells in marine organisms. Dordrecht; Heidelberg: Springer. 2009. P. 61–104.
- Saller U. Formation and construction of asexual buds of the freshwater sponge *Radiospongilla cerebellata* (Porifera, Spongillidae) // Zoomorphology. 1990. Vol. 109. P. 295–301.
- Sarà M. Sexuality in the Porifera // Boll. Zool. 1974. Vol. 41. P. 327–348.
- Sato K., Sugita T., Kobayashi K. et al. Localization of mitochondrial ribosomal RNA on the chromatoid bodies of marine planarian polyclad embryos // Dev. Growth Differ. 2001. Vol. 43. P. 107–114.
- Seydoux G., Braun G. Pathway to totipotency: lessons from germ cells // Cell. 2006. Vol. 127. P. 891–904.
- Shibata N., Umesono Y., Orii H. et al. Expression of *vasa* (*vas*)-related genes in germline cells and totipotent somatic stem cells of planarians // Dev. Biol. 1999. Vol. 206. P. 73–87.
- Shukalyuk A., Isaeva V., Kizilova E., Baiborodin S. Stem cells in reproductive strategy of colonial rhizocephalan crustaceans (Crustacea: Cirripedia: Rhizocephala) // Invertebr. Reprod. Dev. 2005. Vol. 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. Vol. 31. P. 97–108.
- Simpson T.L. The cell biology of sponges. Berlin; Heidelberg: Springer. 1984. 662 p.

- Sköld H.N., Obst M., Sköld M., Åkesson B.* Stem cells in asexual reproduction of marine invertebrates // *Stem cells in marine organisms*. Dordrecht; Heidelberg: Springer. 2009. P. 105–137.
- Strome S., Lehman R.* Germ versus soma decisions: lessons from flies and worms // *Science*. 2007. Vol. 316. P. 392–393.
- Thomas M.B., Edwards N.C.* Cnidaria: Hydrozoa // *Microscopic anatomy of invertebrates*. Vol. 2: Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora / Ed. F.W. Harrison. 1991. P. 91–183.
- Tuzet O.* L'ovogenèse et la fécondation de l'éponge calcaire *Leucosolenia (Clathrina) coriacea* Mont. et de l'éponge siliceuse *Reniera elegans* Bow // *Arch. Zool. Exp. Gén.* 1947. Vol. 85. P. 127–148.
- Tuzet O.* L'origine de la lignée germinale et la gametogénèse chez les spongiaires // *L'origine de la lignée Germinale*. Paris: Hermann. 1964. P. 79–111.
- Weismann A.* Das Keimplasma. Eine Theorie der Vererbung. Jena: Verlag von Gustav Fischer. 1892. 682 S.
- Weismann A.* The germ plasm. A theory of heredity. New York: Charles Scribner's Sons. 1893. 468 p.
- Zhang X., Cao X., Zhang W.* et al. Primmorphs from archaeocytes-dominant cell populations of the sponge *Hymeniacidon perleve*: improved cell proliferation and spiculogenesis // *Biotech. Bioeng.* 2003. Vol. 84. P. 583–590.