

АНТИГЕННЫЙ МАРКЕР ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ КЛЕТОК ПОДОШВЫ ГИДРЫ

© В. Н. Широкова,¹ О. С. Бегас, Н. А. Князев, М. П. Самойлович

Научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург, пос. Песочный;

¹ электронный адрес: klimovich@gmail.com

Работа посвящена описанию нового антигенного маркера дифференцировочных клеток полипов рода *Hydra*. Антиген, названный 3G11, выявляется одноименным моноклональным антителом в гранулах эктодермальных секреторных клеток базального диска. В развивающейся ткани ноги при почковании, при регенерации и в ткани эктопической ноги появление антигена свидетельствует о дифференцировке эпителиальных клеток гастрального отдела в секреторные клетки подошвы. Антиген 3G11 видоспецифичен: среди шести исследованных видов он обнаружен нами только у гидр систематической группы *vulgaris*, надвидового таксона рода *Hydra*. Показано, что антигенный маркер 3G11 и описанный ранее биохимический маркер, пероксидаза подошвы, имеют сходную локализацию в тканях полипа. Однако данные иммуноферментного анализа свидетельствуют о том, что молекула, несущая маркер 3G11, не обладает пероксидазной активностью. Таким образом, новый антигенный маркер 3G11 дополняет ряд ранее описанных маркеров дифференцировки и позволяет совершенствовать методику выявления дифференцированной ткани подошвы гидры.

Ключевые слова: морфогенез гидры, антигенный маркер, моноклональные антитела.

Исследование процессов морфогенеза кишечнопольстных связано с использованием маркеров дифференцировки, позволяющих отличить специализированные клетки от мультипотентных предшественников (Galliot, 1996). Гидру как экспериментальную модель изучения морфогенеза характеризуют простой план строения, способность к регенерации и высокий пролиферативный потенциал клеток. Тело полипа образовано двумя слоями эпителия, экто- и энтодермой. Единственная ось тела, орально-аборальная, на апикальном полюсе завершена специализированными структурами головного отдела — щупальцами и гипостомом, на базальном полюсе — стебельком и подошвой (базальным диском), образующим ногу (Канаев, 1952). Головной отдел и нога представляют собой две морфогенетические зоны, разделенные тканью гастральной трубки. Эпителиальные клетки гастрального отдела постоянно пролиферируют и смещаются к полюсам тела, где дифференцируются в специализированные клетки головного отдела или ноги. Общее число клеток полипа не меняется, поскольку часть их теряется в щупальцах при ловле добычи и в подошве при слушивании, избыток клеток расходуется на создание почки (Vode, 1996). Таким образом, во взрослом организме гидры постоянно активны процессы клеточной пролиферации и дифференцировки, а также закладки новой оси тела при почковании.

Эктодермальные эпителиальные клетки в процессе дифференцировки претерпевают более значительные изменения, чем энтодермальные, и становятся в головном отделе батарейными клетками щупалец, в ноге — секреторными клетками подошвы. На базальном полюсе дифференцировка клеток начинается на границе стебелька и базального диска. В клетках появляются секреторные гранулы, число которых возрастает с увеличением срока

жизни клеток. Постепенно старея, клетки смещаются от периферии к аборальной поре в центре подошвы (Davis, 1973).

В процессе морфогенеза — при восстановлении организма из суспензии клеток, трансплантации, регенерации — структуры апикального полюса проявляют свойства организатора (Mac Williams, 1983). Ткань головного отдела провоцирует формирование новой оси тела и определяет место дифференцировки второй морфогенетической зоны — ноги (Lee, Javois, 1993). По этой причине большее внимание исследователей было направлено на изучение закономерностей формирования и функционирования апикального отдела. Однако в работах последних лет приведены подробные данные о морфологии и развитии базального диска (Amimoto et al., 2006; Thomsen, Bosch, 2006; Shimizu et al., 2007).

Маркеры дифференцировки тканей гидры в соответствии со способом детекции разделяют на генетические (экспрессия гена) и антигенные (распознавание антителами) (Galliot, 1996). Известны два маркера дифференцированных клеток базального диска: антигенный, связываемый моноклональным антителом (МКАТ) АЕ03 (Amono et al., 1997), и единственный биохимический маркер гидры — пероксидазная активность клеток подошвы (Hofmeister-Ullrich et al., 2002). Применение этих маркеров имеет ограничение: МКАТ АЕ03 связывает также антиген стрекательных клеток, а ферментную активность при необходимости невозможно выявить одновременно с иммуногистохимическим окрашиванием.

Целью исследования явилось описание нового антигенного маркера дифференцированной ткани гидры. Инструментом изучения служили МКАТ против антигена 3G11, полученные ранее в рамках проекта по изучению

мембранных и внутриклеточных белков беспозвоночных (Самойлович и др., 2001, 2004). Представлены данные о тканевой и клеточной локализации, видоспецифичности экспрессии маркера и возможности его использования для выявления клеток базального диска в дифференцирующейся ткани ноги гидры.

Материал и методика

Полипов пяти видов и двух штаммов одного из них, *H. vulgaris* (Basel), *H. vulgaris* (АЕР), *H. magnipapillata* (SF-1), *H. carnea*, *H. circumcincta* и *H. oligactis*, содержали в среде для культивирования гидр (Loomis, Lenhoff, 1956) при 18 °С, 3 раза в неделю кормили свежевылупленными *Artemia salina*. Для экспериментов отбирали полипов через 24 ч после кормления.

Экспрессию антигена 3G11 у гидр разных видов, а также в разных отделах тела исследовали иммуноферментным методом в материале из целых полипов или отдельно из подошв, апикальных и гастральных отделов. Источником антигена служил экстракт тканей, полученный после трехкратного замораживания—оттаивания в 0.05 М Трис-солевом буферном растворе (ТСП), рН 7.4, с добавлением 0.1 мМ PMSF (Sigma, США) и центрифугированием в течение 30 мин при 11 000 g (Hoffmeister-Ullrich et al., 2002, с модификациями). Надсадок наносили на нитроцеллюлозу, высушивали на воздухе, затем в течение 1 ч при комнатной температуре инкубировали на орбитальном шейкере при скорости 100—120 об/мин в растворе МКАТ. Раствор МКАТ (3 мкг/мл) готовили на 0.05 М ТСП, содержащем 0.05%-ный Твин-20 и 0.15%-ный казеин. Связывание МКАТ выявляли приготовленным в лаборатории конъюгатом кроличьих антимышиных антител с пероксидазой хрена (SERVA, Германия), ферментную активность определяли с помощью хлорнафтола (Sigma, США) (Кэтти, 1991).

Локализацию антигена в формирующейся почке, в регенерирующей ткани и в эктопической ноге исследовали методом иммунофлуоресценции на тотальных препаратах. Гидр расслабляли в 2%-ном водном растворе уретана, фиксировали 4%-ным формалином (MERCK Chemicals, Германия) или смесью Лавдовского (Gurr, 1962). Экспрессию антигена при регенерации оценивали через 28, 45, 70, 78 и 90 ч после удаления ноги. Формирование эктопической ноги у гидры индуцировали 2-недельным культивированием полипов в среде, содержащей 0.5 мМ LiCl (Grens et al., 1996). Распределение антигена в тканях изучали на парафиновых срезах, клеточную локализацию исследовали на суспензиях фиксированных клеток полипов. Клеточную суспензию получали при инкубации гидр в мацерующем растворе (David, 1973), клетки фиксировали 4%-ным формалином. МКАТ, связавшиеся с антигеном, визуализировали с помощью приготовленных в лаборатории меченных флуоресцеином козьих антимышиных антител. Пероксидазную активность подошвы выявляли на тотальных препаратах интактных и регенерирующих гидр и в экстракте тканей. Целых полипов фиксировали 4%-ным формалином и инкубировали 20 мин в растворе хлорнафтола. При определении пероксидазной активности в экстракте подошв в качестве субстрата использовали ортофенилендиамин (ОФД) (Sigma, США). С целью обнаружить связывание МКАТ с пероксидазой гидры иммобилизованное на твердой фазе МКАТ инкубировали с экстрактом подошв, после удаления экст-

ракта выявляли связавшуюся с МКАТ пероксидазу. Оценку варьирования показателей оптической плотности по данным трех повторностей опыта проводили при сравнении средних значений выборок. В качестве показателя варьирования использовали стандартные ошибки среднего значения.

Результаты

Иммунофлуоресцентное окрашивание целых полипов *H. vulgaris* (Basel) и иммуноферментный анализ тканевых экстрактов, приготовленных из подошв, апикальных и гастральных отделов полипов, выявили антиген 3G11 только в подошве гидры (табл. 1; рис. 1). Исследование парафиновых срезов базального диска и фиксированных клеток показало, что антиген локализован в секреторных гранулах дифференцированных эктодермальных клеток (рис. 2). Тканеспецифичная экспрессия позволила рассматривать антиген 3G11 в качестве потенциального маркера дифференцированных клеток базального диска полипов *H. vulgaris* (Basel).

Антиген 3G11 был обнаружен также в подошвах гидр других видов: *H. magnipapillata* (SF-1) и *H. carnea* и в штамме *H. vulgaris* (АЕР) (табл. 2; рис. 1). Все перечисленные виды относятся к систематической группе *vulgaris* — надвидовому таксону рода *Hydra* (Campbell, 1983; Hemmrich et al., 2006). Антиген не был выявлен у полипов *H. oligactis* (рис. 1) и у *H. circumcincta* (не демонстрируется).

Важной характеристикой потенциального маркера является динамика его проявления в развивающейся ткани. Экспрессию антигена 3G11 исследовали в дифференцирующейся базальной ткани при почковании, регенерации и формировании эктопической ноги.

В процессе морфогенеза почки антиген появляется в подошве сформированного маленького полипа перед отделением от материнского организма (рис. 3). Более интенсивное окрашивание формирующейся подошвы со стороны, близкой к ноге взрослого полипа, указывает на асимметрию закладки базального диска.

В процессе регенерации ноги антиген не обнаружен в ткани на ранних стадиях восстановления базального диска. Появление антигена зарегистрировано через 45 ч после удаления ноги. Через 70 ч, уже после замыкания раны, антиген экспрессировали все клетки по краю повреждения, в центре будущей подошвы были видны лишь отдельные окрашенные дифференцированные клетки (рис. 4). Через 78 ч дифференцированные клетки подошвы, содержащие антиген, формировали несколько слоев на поверхности раны. Через 90 ч базальный диск полностью регенерировал и восстанавливалось нормальное распределение антигена 3G11 в ткани ноги (рис. 4).

Таблица 1

Локализация антигена 3G11 в теле *Hydra vulgaris*

Отдел тела	Наличие антигена
Голова	—
Туловищный отдел	—
Нога	+

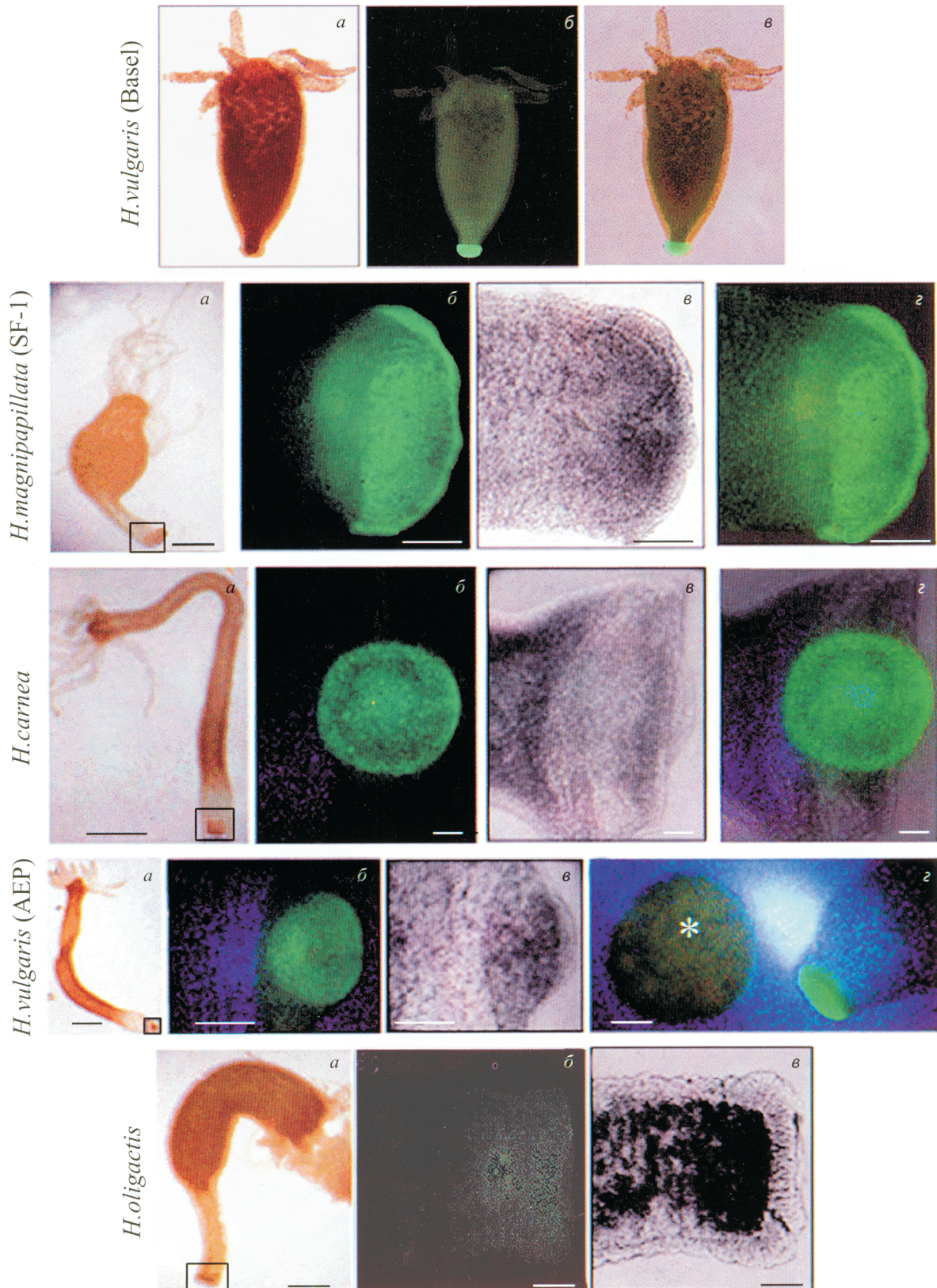


Рис. 1. Иммунофлуоресценция на тотальном препарате гидры.

Антиген 3G11 локализован в подошве гидр систематической группы *vulgaris*. Антиген отсутствует у исследованных представителей группы *circumcincta* (не демонстрируется) и у представителя группы *oligactis* *Hydra oligactis*; *H. vulgaris* (Basel); *a* — изображение в проходящем свете, *б* — флуоресцентное, *в* — совмещенное; *H. magnipapillata* (SF-1) и *H. carnea*: *a* — общий вид, *б* — флуоресцентное изображение, *в* — в проходящем свете, *г* — совмещенное; *H. vulgaris* (AEP): *a* — общий вид, *б* — флуоресцентное изображение, *в* — в проходящем свете, *г* — отсутствие экспрессии в оболочке яйца (звездочка); *H. oligactis*: *a* — общий вид, *б* — флуоресцентное изображение *в* — в проходящем свете.

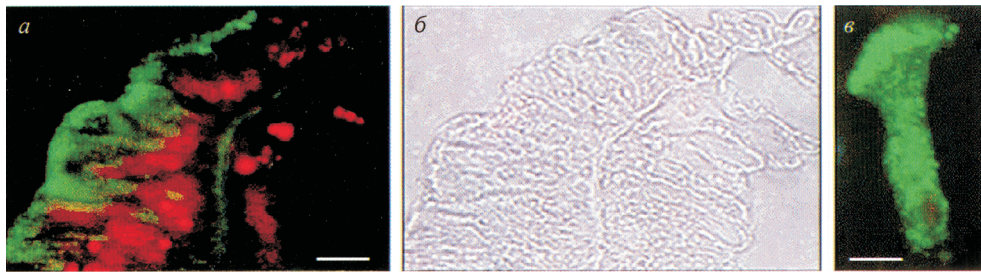


Рис. 2. Иммунофлуоресценция на парафиновых срезах (а, б) и фиксированных клетках (в).

Антиген 3G11 выявлен в эпителиальных клетках эктодермы базального диска; ядра клеток окрашены иодидом пропидия (красное свечение). а — флуоресцентное изображение, б — в проходящем свете (масштабная линейка — 20 мкм), в — антиген локализован в секреторных гранулах эктодермальных клеток (масштабная линейка — 10 мкм).

Антиген был выявлен также в ткани эктопической ноги, индуцированной к разрастанию ионами лития (рис. 5). Очевидно, в условиях стимулированного морфогенеза ноги экспрессия антигена маркирует всю ткань, вовлеченную в базальную дифференцировку.

Представленные данные указывают на значительное сходство локализации антигена 3G11 и описанного ранее маркера базальной дифференцировки гидры — пероксидазы подошвы (Hoffmeister-Ullerich et al., 2002). С целью сравнить эти маркеры базальной ткани были изучены особенности выявления пероксидазы подошвы.

Пероксидазная активность подошвы характерна для всех исследованных видов гидр (рис. 6). Пероксидаза, в отличие от антигена 3G11, выявляется также в ооцитах у полипов *H. vulgaris* (АЕР) и *H. circumcincta* — гидр, спо-

собных к половому размножению при стандартных условиях культивирования (Martin, 1997). Пероксидазные активности в яйце и подошве, как было показано ранее, обусловлены функционированием разных ферментов (Thomsen, Bosch, 2006).

Динамику появления пероксидазной активности подошвы исследовали при дифференцировке базальной ткани в почке и регенерирующей ноге. Ферментативную активность обнаружили в почке на самых поздних стадиях развития полипа, незадолго до его отделения от материнского организма (рис. 7). Продукция пероксидазы, выявляемой при окрашивании субстрата, начинается во время перехода клеток гастрального отдела в состояние терминальной дифференцировки при формировании базального диска.

В процессе регенерации подошвы пероксидазная активность не выявлялась первые 70 ч после удаления ноги (рис. 8). Только спустя 78 ч удавалось обнаружить пероксидазную активность в тонком ободке ткани регенерирующей подошвы. Через 90 ч у всех гидр нога полностью восстанавливалась, что подтверждалось сходством окраски регенерировавшего базального диска и подошвы интактных полипов.

Таким образом, антиген 3G11 и пероксидаза подошвы имеют одинаковую локализацию в теле взрослой гидры и одновременно появляются в почке. При регенерации ноги антиген 3G11 удается выявить раньше, чем пероксидазную активность развивающейся подошвы, в то же время полное восстановление нормального распределения пероксидазы и антигена в ткани ноги происходит за одни и те же сроки.

Т а б л и ц а 2

Экспрессия антигена 3G11 у гидр разных систематических групп

Систематическая группа	Вид (штамм)	Экспрессия антигена 3G11
<i>Vulgaris</i>	<i>H. vulgaris</i> (Basel)	+
	<i>H. magnipapillata</i> (SF-1)	+
	<i>H. vulgaris</i> (АЕР)	+
	<i>H. carnea</i>	+
<i>Oligactis Braueri</i>	<i>H. oligactis</i>	–
	<i>H. circumcincta</i>	–

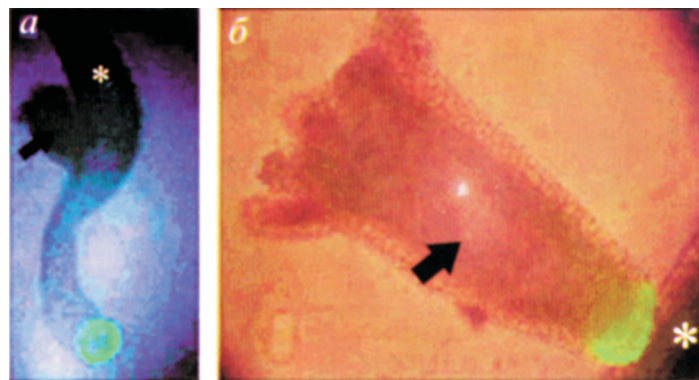


Рис. 3. Экспрессия антигена 3G11 в почке.

Приведены совмещенное флуоресцентное изображение и изображение в проходящем свете. а — отсутствие антигена в ранней почке, б — появление антигена в сформированной почке незадолго до отделения от материнского организма; звездочка — тело материнского полипа.

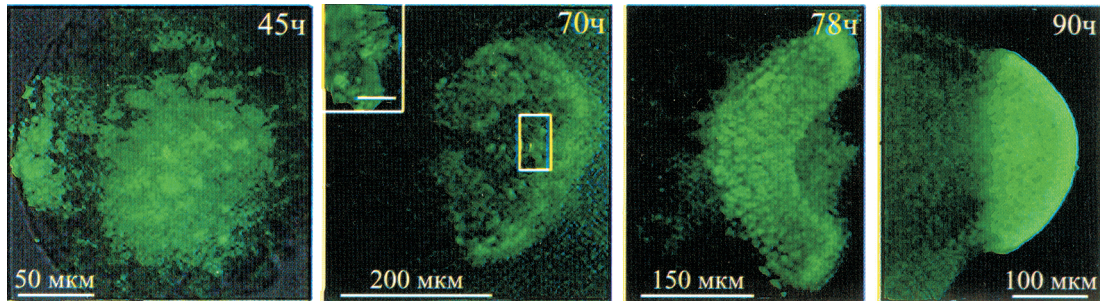


Рис. 4. Иммунофлуоресценция на тотальном препарате регенерирующей гидры.

Появление антигена зарегистрировано через 45 ч после удаления ноги, затем число клеток, экспрессирующих антиген, увеличивалось, через 90 ч от момента удаления ноги восстанавливалось нормальное распределение антигена в ткани ноги; указано время, прошедшее от момента удаления ноги. Масштабная линейка на врезке — 50 мкм.



Рис. 5. Выявление антигена 3G11 в эктопической ноге.

a — флуоресцентное изображение, *б* — в проходящем свете, *в* — совмещенное.



Рис. 6. Peroxidазная активность в подошвах гидр разных видов.

Peroxидаза выявляется также в яйцах у гидр, перешедших к половому размножению.

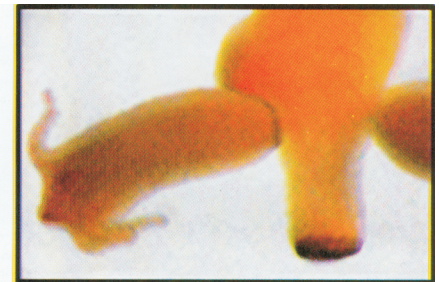


Рис. 7. Peroxidазная активность в подошве полностью сформированной почки.

Сходство в локализации антигена и пероксидазной активности подошвы позволило предположить, что маркеры имеют единую природу и что антиген 3G11 — часть молекулы пероксидазы. Для проверки этого предположения исследовали пероксидазную активность молекулы, связываемой МКАТ. В полученном путем замораживания—оттаивания экстракте была сохранена структура антигена 3G11 и не инактивировалась эндогенная пероксидазная активность (рис. 9, *a*). Было установлено, что антиген, связавшийся с антителом, не обладает ферментативной активностью. Этот результат свидетельствовал о том, что МКАТ против антиген 3G11 либо не связывает пероксидазу, либо взаимодействует с активным центром фермента и блокирует его активность.

Последнее предположение проверяли сравнением пероксидазных активностей экстрактов подошв до и после инкубации с МКАТ. Присутствие антител в растворе с экстрактом не приводило к подавлению ферментной реакции, следовательно, МКАТ не блокирует активный центр пероксидазы (рис. 9, *б*).

Таким образом, несмотря на чрезвычайно схожую локализацию в теле полипа, антиген, распознаваемый МКАТ, не принадлежит пероксидазе подошвы. Молекула, несущая антиген 3G11, представляет собой новый маркер гидры, дополняющий ряд уже известных маркеров дифференцировки тканей.

Дальнейшую характеристику маркера 3G11 проводили иммуноферментным методом, изучая его устойчи-

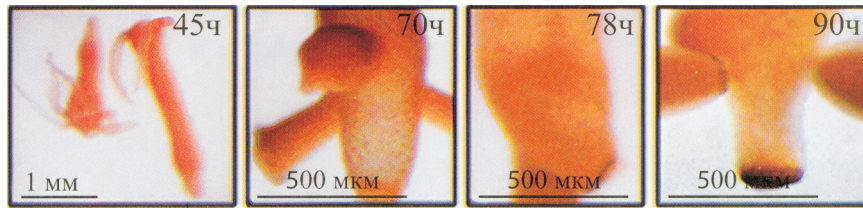


Рис. 8. Peroксидазная активность регенерирующей подошвы. Указано время, прошедшее от момента удаления ноги.

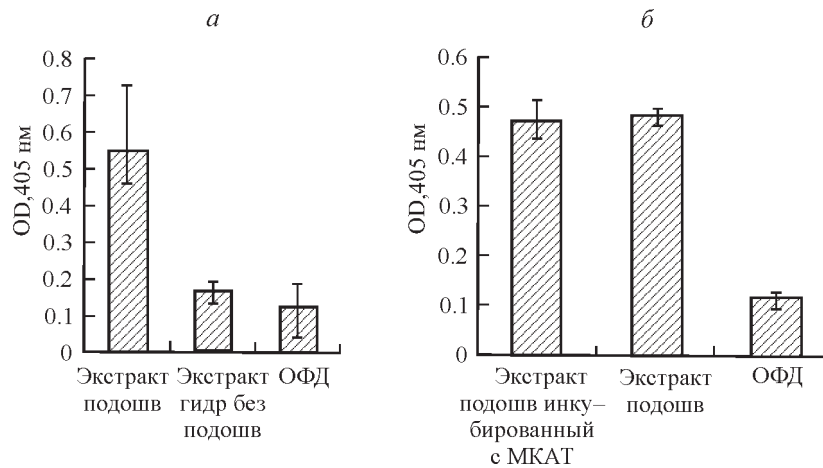


Рис. 9. Peroксидазная активность экстрактов тканей гидры.

a — пероксидазная активность тканей, полученных из разных отделов тела полипа; б — пероксидазная активность экстракта подошв в присутствии моноклональных антител против антигена 3G11. По вертикали — оптические плотности растворов, полученные в результате изменения окраски субстрата пероксидазы ортофенилендиамина (ОФД).

вость к воздействию денатурирующих агентов. Обработка экстракта подошв 0.1 М раствором дитиотреитола (Sigma, США) и тепловая денатурация при 100 °C отменяли связывание МКАТ с антигенным материалом (данные не приведены), что указывает на зависимость структуры распознаваемого антителами эпитопа от конформации молекулы антигена 3G11. Вследствие этого оказывается невозможным определение молекулярной массы антигена методами денатурирующего электрофореза и вестерн-блота.

Обсуждение

Особенность антигена 3G11 заключается в избирательности экспрессии у полипов разных видов: антиген обнаружен только у представителей систематической группы *vulgaris* (рис. 10). Современная систематика делит все виды гидр на четыре последовательно выделявшиеся в эволюции группы: *viridis*, *braueri*, *oligactis* и *vulgaris* (Campbell, 1983; Hemmrich et al., 2006). Геном каждого животного содержит как высококонсервативные гены, так и уникальные, свойственные отдельной группе организмов и отсутствующие у представителей других таксонов. В геноме гидры представлены гомологи многих ключевых генов развития высших животных (Galliot, 2000), обнаружены также гены, отсутствующие у дрозофилы и нематоды, но функционирующие у позвоночных (Galliot, Schmid, 2000). Вследствие консервативности генома гидру рассматривают как модельный объект, максимально воспроизводящий состояние общего предка Bilateria и Radiata. Характер экспрессии генов развития вдоль оси тела

позволяет увидеть гомологию орально-аборальной оси гидры и антериально-постериальной оси высших животных. Эта связь инвертирована: область ноги, гастральный

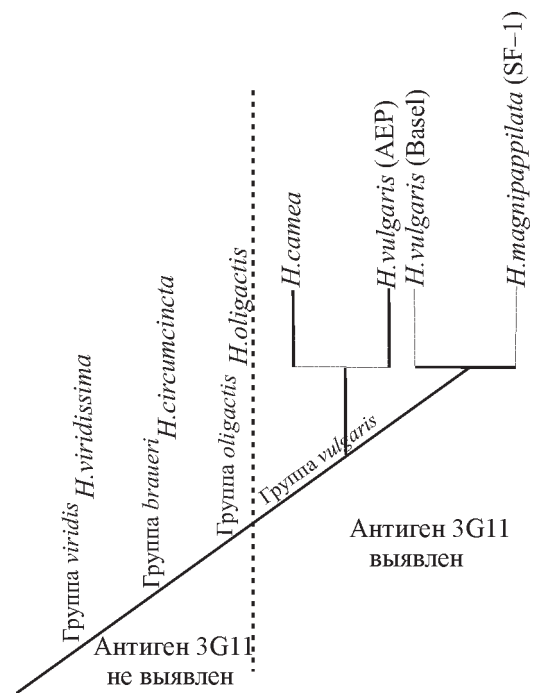


Рис. 10. Экспрессия антигена 3G11 у гидр разных видов в зависимости от их филогенетического положения.

отдел и венец щупалец гомологичны антериальному полюсу, узкая зона гипостома и рот — постериальной части туловища и бластопору (Meinhardt, 2002). В отличие от консервативных генов, контролирующих общие закономерности развития филогенетически далеких организмов, специфичные гены могут отвечать за появление таких таксон-специфических черт, как стрекательные клетки кишечнорастворимых (Galliot, 2000; Bosch, Khalturin, 2002). Экспрессия нового антигена может означать возникновение дополнительного систематического признака у полипов наиболее поздно дивергировавшей группы гидр.

В процессе развития нового организма при почковании ткань ноги дифференцируется асимметрично, что подтверждается неравномерным распределением антигена 3G11 в области формирующейся подошвы. Асимметрия наблюдается также в экспрессии генов *manacle*, *shin*, *guard* и *anklet*, активирующихся в почке при закладке ноги (Bridge et al., 2000; Amimoto et al., 2006). Взрослая гидра обладает характерной для Cnidaria радиальной симметрией. Среди кишечнорастворимых элементы билатеральной симметрии отмечаются только у представителей класса Anthozoa в строении глотки и расположении мышечных пучков во внутренних камерах. Открытие асимметричных структур в развитии гидры и других представителей Cnidaria, сестринской группы Bilateria, способствует формированию нового взгляда на вопрос о происхождении билатеральной симметрии (Amimoto et al., 2006).

В 1970-е годы экспериментальные исследования гидры позволили описать регуляцию морфогенеза с помощью модели активации—ингибирования (Gierer, Meinhardt, 1972) и теории позиционной информации (Wolpert et al., 1972). Впоследствии были открыты гены и пептиды, управляющие дифференцировкой тела полипа, и продолжают появляться сведения о новых участниках многокомпонентной регуляции морфогенеза гидры (Fujisawa, 2004). Раннее определение момента дифференцировки ткани может способствовать совершенствованию методов их функционального тестирования.

В сравнении с описанными маркерами дифференцированных клеток базального диска новый антигенный маркер 3G11 обеспечивает выявление более точное, чем пероксидаза подошвы, и более специфичное, чем антиген АЕ03, который обнаружен не только в секреторных гранулах клеток базального диска, но и в составе стрекательных нитей одного типа нематоцитов (Amano et al., 1997). Оба антигенных маркера, АЕ 03 и 3G11, имеют конформационную природу, что должно учитываться при выборе методов их выявления.

Применение нового антигенного маркера совершенствует методику выявления дифференцированной ткани подошвы гидры и позволяет расширить возможности экспериментальных исследований морфогенеза.

Авторы признательны проф. Томасу Бошу (Thomas C. G. Bosch) за предоставление первичных культур гидр разных видов. Авторы выражают благодарность В. В. Климовичу за помощь и содействие в работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 00-04-49516 и 02-04-49120).

Список литературы

- Канаев И. И. 1952. Гидра. Очерки по биологии пресноводных полипов. М.; Л.: Изд-во АН СССР. 372 с.
- Кэтти Д. (Ред.). 1991. Антитела. Методы. М.: Мир. 2 : 382 с.
- Самойлович М. П., Бегас О. С., Князев Н. А., Климович В. Б. 2004. Антигены кишечнорастворимых и иглокожих, выявляемые моноклональными антителами. Журн. эволюц. биохим. физиол. 39 (4) : 132—136.
- Самойлович М. П., Кузнецов С. Г., Павлова М. С., Климович В. Б. 2001. Моноклональные антитела (МКАТ) против антигенов клеток *Hydra vulgaris* и *Hydra oligactis*. Журн. эволюц. биохим. физиол. 37 (4) : 262—269.
- Amano H., Koizumi O., Kobayakawa Y. 1997. Morphogenesis of the atrichous isorhiza, a type of nematocyst, in hydra observed with a monoclonal antibody. Develop. Genes Evol. 207 : 413—416.
- Amimoto Y., Kodama R., Kobayakawa Y. 2006. Foot formation in hydra: novel gene, ankle, is involved in basal disk formation. Mech. Develop. 123 : 352—361.
- Bode H. R. 1996. The interstitial cell lineage of hydra: a stem cell system that arose early in evolution. Cell Sci. 109 : 1155—1164.
- Bosch T. G., Khalturin K. 2002. Patterning and cell differentiation in hydra: novel genes and the limits to conservation. Can. J. Zool. 80 : 1670—1677.
- Bridge D. M., Stover N. A., Steele R. E. 2000. Expression of novel receptor tyrosine kinase gene and a paired-like homeobox gene provides evidence of differences in patterning at the oral and aboral ends of hydra. Develop. Biol. 220 : 253—262.
- Campbell R. D., Bode H. R. 1983. Terminology for morphology and cell types. In: Hydra: research methods. New York: Plenum Press. 5—14.
- David C. N. 1973. A quantitative method for maceration of hydra tissue. Wilhelm Roux Arch. Ent. Mech. 171 : 259—268.
- Davis L. E. 1973. Histological and ultrastructural studies of the basal disk of hydra. 3. The gastodermis and the mesoglea. Cell Tissue Res. 162 : 107—118.
- Fujisawa T. 2004. Systematic identification of signaling molecules in hydra. Zool. Sci. 21 : 1191—1192.
- Galliot B. 1996. Signaling molecules in regenerating hydra. BioEssays. 19 : 37—46.
- Galliot B. 2000. Conserved and divergent genes in apex and axis development of cnidarians. Curr. Opin. Genet. Develop. 10 : 629—637.
- Galliot B., Schmid V. 2000. Cnidaria as a model system for understanding evolution and regeneration. J. Develop. Biol. 46 : 39—48.
- Gierer A., Meinhardt H. 1972. A theory of biological pattern formation. Kibernetik. 12 : 30—39.
- Grens A., Gee L., Fisher D. A., Bode H. R. 1996. CnNK-2, an NK-2 homeobox gene, has a role in patterning of the basal end of the axis in hydra. Develop. Biol. 180 : 473—488.
- Gurr E. 1962. Staining, practical and theoretical. Baltimore: Williams & Wilkins. 316 p.
- Hemmrich G., Anokhin B., Zacharias H., Bosch T. C. G. 2006. Molecular phylogenetics in hydra, a classical model in evolutionary developmental biology. Mol. Phylogenet. Evol. 44 : 281—290.
- Hoffmeister-Ullrich S. A. H., Herrmann D., Kielholz J., Schweizer M., Schaller H. C. 2002. Isolation of putative peroxidase, a target for factors controlling foot formation in the coelenterate hydra. Eur. J. Biochem. 269 : 4597—4606.
- Lee P.-C., Javois L. C. 1993. Patterning of heads and feet during regeneration of *Hydra oligactis* aggregates. Develop. Biol. 157 : 10—18.
- Loomis W. F., Lenhoff H. M. 1956. Growth and sexual differentiation of hydra in mass culture. J. Exp. Zool. 132 : 555—574.
- Mac Williams H. K. 1983. Hydra transplantation phenomena and the mechanism of hydra head regeneration. 2. Properties of the head activation. Develop. Biol. 96 : 239—257.
- Martin V. J., Littlefield C. L., Archer W. E., Bode H. R. 1997. Embryogenesis in hydra. Biol. Bull. 192 : 345—363.

Meinhardt H. 2002. The radial-symmetric hydra and the evolution of the bilateral body plan: an old body became a young brain. *BioEssay*. 24 : 185—191.

Shimizu H., Takaku Y., Zhang X., Fujisawa T. 2007. The aboral pore of hydra: evidence that the digestive tract of hydra is a tube not a sac. *Develop. Genes Evol.* 217 : 563—568.

Thomsen S., Bosch T. S. G. 2006. Foot differentiation and genomic plasticity in hydra: lessons from the *PPOD* gene family. *Develop. Genes Evol.* 216 : 57—68.

Wolpert L., Clarke M. R., Hornbruch A. 1972. Positional signaling along hydra. *Nature New Biol.* 239 : 101—105.

Поступила 24 VI 2008

THE ANTIGEN OF THE DIFFERENTIATED BASAL DISC CELLS OF *HYDRA*

V. N. Shirokova,¹ O. S. Begas, N. A. Knyazev, M. P. Samoilovich

Scientific Center of Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg, Pesochinii;

¹ e-mail: vklimovich@gmail.com

A new antigenic marker of the differentiated basal disk cells of *Hydra* was characterized. An antigen named 3G11 was revealed by monoclonal antibody in granules of the basal disk gland cells of the ectoderm. The antigen appearance during budding, regeneration and ectopic foot formation evidences for the differentiation of the body column epithelial cells into basal disk gland cells. Antigen 3G11 is species-specific: among six hydra species investigated, the antigen was observed exclusively in polyps of *vulgaris* group which is a special taxon of the filum *Hydra*. Cell and tissue localization of the antigen 3G11 was similar to that of the well-established biochemical hydra marker, foot specific peroxidase, reported formerly. However, ELISA data suggest that the molecule bearing antigen 3G11 does not possess any peroxidase activity. Thus the new hydra antigenic marker 3G11 extends the number of previously used markers of differentiation and allows to improve the technique of the basal disk differentiated tissue identification.

Key words: pattern formation of hydra, antigenic marker, monoclonal antibodies.