

Эмбриональное развитие сети семенника мыши

Научный руководитель – Кулибин Андрей Юрьевич

Мун Валерий Владимирович

Аспирант

Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

E-mail: valeriy2125@gmail.com

Сеть семенника - отдел выносящей системы яичка, соединяющий извитые семенные канальцы, в которых протекает сперматогенез, и выносящие канальцы, по которым гаметы покидают гонаду. Происхождение сети семенника до конца не ясно.

Первая волна клеток сети семенника мыши выселяется из целомического эпителия в сторону мезонефроса до E10.5, формируя её дистальный участок, клетки которого характеризуются экспрессией гена *Rax8* [4]. Позже, из целомического эпителия выселяются предшественники клеток Сертоли (КС), характеризующиеся экспрессией *Amh* и *Dmrt1*, формирующие половые тяжи - будущие семенные тяжи. Далее формируется проксимальный участок сети семенника, клетки которого экспрессию как *Rax8*, так и *Dmrt1*, а на границе с половыми тяжами присутствуют *Rax8+*/*Amh+* клетки [2,3]. Эти результаты указывают на формирование проксимального отдела сети семенника из КС, но не опровергают возможность формирования клеток проксимального отдела сети семенника из дистального.

Целью текущей работы является определение происхождения проксимального отдела сети семенника. Мы получали химерные органоиды гонад на E12.5, стадии, когда дистальная часть сети семенника уже сформирована, а проксимальная - только возникает. Одна половина органоида состояла из части семенника без клеток сети семенника - “семенная” часть. Другая половина - из мезонефроса без КС, но с клетками сети семенника. “Мезонефрическую” часть органоида получали от мышей экспрессирующих репортерный ген GFP. Культивировали органоид в течении 3х суток на агаровом блоке.

Для разработки методики диссекции гонады, была сделана ее 3D реконструкция по серийным срезам окрашенным на *Amh* и *Rax8*. Для получения “семенной” части органоида, необходимо делать разрез, отступив [U+2153] толщины семенника от границы гонада-мезонефрос. Для получения “мезонефрической” части - по границе гонада-мезонефрос. Эффективность методики оценивали ИГХ окраской на соответствующие маркеры. 8/8 семенников не содержали *Rax8+* клеток, 6/6 мезонефросов - *Amh+* клеток.

Культивирование этих органоидов в течении 3х суток показало, что в 6/6 мезонефросов не формируются *Amh+* клетки, а в 7/8 семенников - не формируются *Rax8+* клетки. 1 органоид, скорее всего, является следствием ошибки диссекции.

При культивировании химерного органоида показано, что в “семенной” части органоида, формируются как *Rax8+* клетки, так и клетки с двойным фенотипом *Amh+*/*Rax8+*. *Rax8+* клетки обнаружены в 5 из 6 образцов. В “мезонефрической” части *Amh+* клетки не появляются ни в одном из образцов. Полученные результаты свидетельствуют в пользу происхождения проксимального отдела сети семенника из эмбриональных КС.

Мы обнаружили, что формирование *Amh+*/*Rax8+* клеток происходит только в тех органоидах семенника, где уже присутствовали клетки сети семенника. Эти результаты, свидетельствуют об индуктивной роли дистального отдела сети семенника в развитии проксимального отдела. Проведенный нами анализ межклеточного взаимодействия CellChat [1] по данным scRNA-seq эмбриональных семенников [3], показал возможность взаимодействия между КС и клетками сети семенника на соответствующих эмбриональных стадиях.

Источники и литература

- 1) Jin S., Guerrero-Juarez C., Zhang L., et al. Inference and analysis of cell-cell communication using CellChat//Nat Commun., 2021, V. 12, P. 1088.
- 2) Kulibin A.Yu., Malolina E.A. Formation of the rete testis during mouse embryonic development//Developmental Dynamics, 2020, V. 249, P. 1486-1499.
- 3) Mayere C., Regard V., Perea-Gomez A., et al.. Origin, specification and differentiation of a rare supporting-like lineage in the developing mouse gonad//Sci Adv., 2022, V. 8, P. eabm0972.
- 4) Omotehara T., Wu X., Kuramasu M., Itoh M.. Connection between seminiferous tubules and epididymal duct is originally induced before sex differentiation in a sex-independent manner//Developmental Dynamics, 2020, V. 249, P. 754-764.