

ИНФУЗОРИЯ *DILEPTUS ANSER* – ОБЪЕКТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В СИСТЕМЕ СЕРОТИПОВ И ТИПОВ СПАРИВАНИЯ

© 2019 г. З. И. Успенская*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: zoyaus@mail.ru

Поступила в редакцию 04.06.2019 г.

После доработки 10.07.2019 г.

Принята к публикации 12.07.2019 г.

В предлагаемой сводке представлены результаты, которые были получены в течение довольно продолжительного времени с помощью инфузорий *Dileptus anser*. Этот объект является новым для генетики и эпигенетики инфузорий и интересным с точки зрения сравнительной генетики этих простейших. Для исследования были выбраны классические для генетики инфузорий признаки: серотипы и типы спаривания. Приводятся результаты, не укладывающиеся в общепринятые схемы, описанные в литературе при изучении классических объектов – инфузорий *Paramecium* и *Tetrahymena*. Впервые для *D. anser* проведен гибридологический анализ признака тип спаривания. Обсуждаются данные по наследованию и генетической детерминации этого признака. Заслуживающим внимания оказалось обнаружение нестабильности типа спаривания у молодых эксконъюганных клонов в некоторых скрещиваниях. Предполагается, что тип спаривания клона – результат стабильной эпигенетической дифференцировки сложного мультипотенциального локуса.

Ключевые слова: i-антигены, инфузории, инфузория *Dileptus anser*, менделеевское наследование, серотипы, температура культивирования, типы спаривания, эпигенетическое наследование признака

DOI: 10.1134/S0041377119100080

В настоящее время ни у кого не появляется сомнения в том, что существенная роль в процессах жизнедеятельности клетки принадлежит эпигенетическим факторам. Эпигенетика имеет долгую историю, и ее текущая молекулярная реконфигурация является результатом целой серии основополагающих открытий и экспериментальных достижений. Понятие эпигенетика было впервые введено в сороковых годах прошлого столетия английским эмбриологом Конрадом Уоддингтоном, который под эпигенетикой понимал в широком немолекулярном смысле “весь комплекс процессов развития”, который соединяет генотип с фенотипом. Современные представления об эпигенетической изменчивости сложились в значительной мере под влиянием работ, проводившихся на протистологическом материале, а именно – на инфузориях (Nanney, 1958). Генетические особенности инфузорий сделали их очень полезными модельными организмами для обнаружения и понимания механизмов наследственности. Ранний генетический анализ показал, что передачу многих наследуемых признаков нельзя было

полностью объяснить менделеевскими законами (Sonneborn, 1937).

Инфузория *Dileptus anser* (Rhynchostomata, Litostomatea) (см.: Adl et al., 2012) была выделена в разное время из водоемов Ленинградской области. Ее научились культивировать, клонировать и скрещивать в Лаборатории цитологии одноклеточных организмов Института цитологии РАН. Первые эксперименты с этим объектом относятся к 70-м годам прошлого века (Юдин и др., 1988). Инфузорий культивировали по принятой в лаборатории методике в солевой среде Прескотта при 25°C, используя в качестве корма инфузории *Tetrahymena pyriformis* (Николаева, 1968; Тавровская, 1989).

СЕРОТИПЫ У ИНФУЗОРИИ *D. ANSER*

Для *D. anser* получены данные о серотипах, их индуцированной трансформации и внутривидовом полиморфизме этого признака (Успенская, 1988, 1990; Uspenskaya, Yudin, 1992, 1998). Серотип инфузорий определяется иммунологическими методами и является результатом присутствия определенного класса поверхностных белков. Эти белки названы иммобилизационными антигенами (i-антигенами), по-

Принятые сокращения: AmD – актиномицин D, i-антигены – иммобилизационные антигены, ИС – иммуносыворотки, ТС – типы спаривания, ФС – феромоны спаривания.

сколькx при обработке клеток гомологичной иммуносывороткой (ИС) инфузории обездвигиваются (иммобилизуются). В пределах морфологического вида *D. anser* обнаружен полиморфизм по серотипам, основу которого еще предстоит установить. Представляет несомненный интерес оценить уровень и характер изменчивости биохимических признаков (при помощи изозимного анализа) и выяснить, имеются ли виды-двойники в пределах морфологического вида *D. anser*.

В системе серотипов инфузорий наибольший интерес представляют механизмы регуляции активности генов поверхностных белков в норме и при трансформации серотипов. Этим вопросам посвящены многочисленные исследования (основную литературу см.: Vleuyan, 1996). Тем не менее, до сих пор неизвестны механизмы, обеспечивающие весьма характерный для работы этой системы принцип взаимного исключения, когда в данной клетке в данный период времени экспрессируется лишь один ген из целой серии генов, которые кодируют альтернативные поверхностные белки. С этим принципом тесно связано явление трансформации серотипов, когда спонтанно, а чаще при различных воздействиях на клетку, происходит переключение активности с одного гена на другой и соответственно — смена одного поверхностного белка клетки другим. При этом нередко наблюдается явление “функциональной инерции” или “гистерезиса” серотипов — их тенденции к наследованию в ряду клеточных поколений, в силу чего несколько разных серотипов могут поддерживаться в клоне при одних и тех же условиях культивирования (Nappu, 1980; Caron, Meyer, 1989).

Таким образом, серотип у инфузорий оказывается (и таковым остается) интересным объектом для исследований регуляции активности генов как на клеточном, так и на молекулярном и биохимическом уровнях. Несмотря на большие достижения молекулярно-биологических исследований поверхностных антигенов и кодирующих их генов у инфузорий, фундаментальные особенности системы серотипов так и не получили объяснения, хотя экспериментально проверялись различные гипотезы (Preer, 1986; Schmidt, 1988, 1996; Forney et al., 1996; Meyer, Duharcourt, 1996).

Сведений о ядерном аппарате, конъюгации и конъюгационном цикле дилептуса *D. anser* немного. Ранние сведения приводятся в обширной сводке (Dragesco, 1963). Деление клетки начинается с митоза генеративных ядер — микронуклеусов. Они всегда сферические, мелкие, число их может колебаться от 6 до 20. Сразу после микронуклеусов начинает делиться вегетативное ядро — макронуклеус, который состоит из большого числа фрагментов. Половой процесс представлен конъюгацией, которая может быть нескольких типов.

Из более поздних работ следует назвать работы (Винникова, 1974; Vinnikova, 1976; Karadzhan, 1985;

Golinska, Afon'kin, 1993). Наблюдения Винниковой Н.В. позволили высказать предположение о том, что у дилептусов происходит обмен мигрирующими пронуклеусами по классической схеме. В большинстве случаев набор новых макронуклеусов эксконъюганта образуется из нескольких зачатков в результате многократных последовательных делений надвое. Метагамные деления эксконъюгантов с распределением зачатков по дочерним клеткам, а также слияние зачатков у дилептусов не отмечены, поэтому допускается, что макронуклеусы в пределах клона могут быть неоднородными по происхождению (Винникова, 1974). Как и все инфузории, *D. anser* является диплонтом с гаметической редукцией числа хромосом, и мейоз проходит по классической схеме Metazoa (Raikov, 1972).

В наших ранних работах были определены серотипы 20 клонов инфузории *D. anser* с помощью антисывороток, полученных против двух из этих клонов инфузорий (Успенская, 1988). Всего было проверено 38 гетерологических комбинаций “клетка—сыворотка”. Обе иммуносыворотки (ИС) давали характерную реакцию иммобилизации при действии на гомологичные клетки, как это было показано при работе с парамециями и тетрахименами (см. обзоры: Beale, 1954, 1957), демонстрируя, что специфичность ИС связана именно с *i*-антигеном. По тесту иммобилизации в 33 комбинациях не наблюдали реакции клеток с гетерологичными ИС, что означало наличие другого серотипа, определяющегося другими поверхностными *i*-антигенами. Однако в четырех комбинациях с одной ИС и в одной комбинации с другой ИС обнаружили реакцию иммобилизации, которая говорила о сходстве своего серотипа с серотипом гомологичных клонов.

При культивировании в постоянных условиях серотип инфузорий *D. anser* оставался неизменным неопределенно долго в ряду клеточных агамных поколений. При тестировании клонов через 1 год и через несколько лет наблюдали почти 100%-ную иммобилизацию клеток гомологичными сыворотками и отсутствие реакции с гетерологичными клетками. В последующие годы протестировали множество новых клонов дилептусов и выявили всего 2–3 случая перекрестных реакций (Тавровская, 1989; Успенская, 1990). Таким образом, использование даже двух ИС выявляет в природных популяциях дилептусов полиморфизм клонов по серотипам, который сохраняется при культивировании в постоянных условиях.

При изменении условий культивирования дилептусов изменялся их серотип. Детально исследовано изменение серотипа в результате изменения температуры культивирования. Инфузорий, культивировавшихся при 25°C, переносили в среду с температурой 17°C и затем ежедневно тестировали их серотип по реакции иммобилизации. Аналогично поступали с инфузориями, перенесенными из более холодной

среды (17°C) в теплую (25°C). Было показано, что каждый из использованных клонов (6 и 5Ф) способен проявлять 2 серотипа – один при температуре культивирования 25°C (“тепловой”) и другой при температуре 17°C (“холодовой”). Исчезновение старого серотипа и появление нового происходило постепенно, но одновременно и с одинаковыми скоростями. Эти изменения были массовыми, полностью обратимы и, следовательно, происходили путем постепенной трансформации всех клеток в культуре (Uspenskaya, Yudin, 1992). Еще в двух клонах отмечены перекрестные реакции ИС с инфузориями из культур, содержащихся при другой температуре. Использовались клоны 28 и 29, субклоны каждого из которых культивировали при 25 и 17°C. Две ИС были получены против двух культур клона 5Д, культивировавшихся при тех же температурах. Каждая ИС обездвигивала только гомологичные клетки, но оказалось, что оба температурных субклона клона 29 реагировали с обеими ИС (5Д-25 и 5Д-17). Точно так же ИС 5Д-25 и 5Д-17 обездвигивали инфузорий клона 28, культивируемых при 25°C, то есть один и тот же серотип проявлялся при обеих температурах (Успенская, 1990). Такие перекрестные реакции описаны у парамеций. Известно, что их i-антигены, контролируемые разными (неаллельными) генами, как правило, не обнаруживают перекрестных реакций с антисыворотками. Антигены же, контролируемые аллелями одного гена, нередко обладают той или иной степенью иммунологического сходства (Beale, 1957; Bishop, 1963; Schmidt, 1988). Можно предположить, что вопреки принципу взаимного исключения клетки клонов 28 и 29 синтезируют два различных i-антигена, которые одновременно экспрессируются при той и другой температурах.

У *D. anser* выявлены три типа (I–III) спаривания. В обычных условиях конъюгация происходит только между особями комплементарных типов спаривания (Тавровская, 1979). Предконъюгационные взаимодействия особей опосредуются специфическими сигнальными веществами – гамонами или феромонами спаривания (ФС), выделяемыми половозрелыми инфузориями в среду. Для каждого типа спаривания характерен свой тип ФС. Показано, что ФС II является термостабильным полипептидом с молекулярной массой около 3000 Да (Парфенова и др., 1988). Все три ФС оказались хемоаттрактантами для клеток комплементарных типов спаривания. Они замедляют движение инфузорий, индуцируют у них дополнительные конъюгационные клеточные деления, и тогда клетки способны к объединению в пары и прохождению половой процесса (Parfenova et al., 1989). Гамоны запускают половой процесс, и тип спаривания организма определяется тем, какие ФС инфузория экскретирует в среду и на какие ФС, экскретируемые другими клетками этого вида, она способна реагировать.

Для исследования характера наследования серотипов у инфузории *D. anser* использовали два неза-

висимых клона из нашей лабораторной коллекции – Б и Д, которые относились к комплементарным типам спаривания (I и III) и активно вступали в конъюгацию. К этим клонам были получены ИС, после чего были проведены скрещивания. Эксконъюгантные клоны F₁ тестировали по реакции иммобилизации клеток ИС, полученными против клеток Б и Д, через 30 сут после конъюгации и через 4 мес, т.е. по достижении ими половой зрелости (Успенская, Юдин, 2000; Yudin, Uspenskaya, 2000). Инфузории всех клонов F₁, протестированных в возрасте 1 мес, реагировали с обеими ИС, то есть имели гибридный фенотип. Поверхностные антигены обоих родительских типов присутствовали не в равных количествах. Например, у 33 из 46 клонов доля клеток, обездвигиванных под действием той и другой ИС, была разной. Однако закономерного преобладания какого-то одного i-антигена не наблюдали: 14 клонов сильнее реагировали с ИС-Б, а 19 – с ИС-Д. Гибридный фенотип сохранялся и при дальнейшем культивировании этих клонов вплоть до их созревания. Но не было обнаружено ни материнского наследования изучаемого признака (как у *Paramecium primaurelia*), ни ситуации, которую можно было бы описать как аллельное исключение, ни ситуации, которая походила бы на вегетативную рассортировку серотипов в гетерозиготных клонах *Tetrahymena thermophila*. Картина была такой же, как и при наследовании аллельных серотипов у гетерозигот *P. tetraurelia*, когда имеет место коэкспрессия аллелей (Beale, 1954, 1957; Preer 1968; Sommerville, 1970; Finger, 1974; Nanny, 1980; Bleyman, 1996).

Тестирование созревших эксконъюгантных клонов показало, что они все относились ко II типу спаривания. Поэтому для получения потомства F₂ клоны скрещивали не друг с другом, а с каждым из родительских клонов (возвратные скрещивания). Были поставлены возвратные скрещивания 5 разных клонов F₁ (БхД) с родительскими клонами Б и Д. От них удалось вырастить и протестировать по серотипу соответственно 25 и 26 клонов F₂. Результат оказался неожиданным – все клоны имели тот же гибридный фенотип, что и клоны F₁, т.е. полностью отсутствовали расщепления во втором гибридном поколении, что говорило о менделевском наследовании признака. Некоторые клоны F₂ от разных скрещиваний были протестированы значительно позже (через 6 и 9 мес.), и они стабильно сохраняли свой гибридный фенотип (Успенская, Юдин, 2000).

В экспериментах с парамециями температурная трансформация серотипов явилась важным вспомогательным фактором гибридологического анализа (Beale, 1954). В связи с отсутствием расщепления среди клонов F₂ дилептусов, не было ясно, контролируются ли серотипы родительских клонов Б и Д аллелями одного локуса или разных. В этой связи предприняты эксперименты по температурной трансформации серотипов у клонов F₂. Такое временное “выключение”

могло дать возможность оценить степень стабильности произошедших эпигенетических изменений, выразившихся в отсутствии расщепления и сохранения гибридного фенотипа всеми клонами F_2 . У клонов F_2 вызывали трансформацию серотипа изменением температуры среды с 25 на 17°C. Затем их тестировали по реакции иммобилизации спустя 7 и 20 сут после возвращения клонов в прежний температурный режим (25°C), в котором они находились около 2 нед. Оказалось, что каждый клон без исключения реагирует как с одной, так и с другой ИС, обнаруживая гибридный фенотип или совместную экспрессию поверхностных i-антигенов того и другого родителя (Успенская, Юдин, 2001).

Итак, изучая серотипы у *D. anser* мы получили данные, что в системе серотипов этих инфузорий обнаруживаются особенности, описанные в литературе при изучении систем серотипов классических объектов – инфузорий *Paramecium* и *Tetrahymena*. В то же время столкнулись со случаями нарушения правила взаимного исключения при экспрессии i-антигенов. У одного из клонов *D. anser* обнаружено длительное совместное проявление двух i-антигенов при промежуточных температурах между теми, которые вызывают полную трансформацию одного антигенного типа в другой. Кроме того, у *D. anser* наблюдали отсутствие расщепления в F_2 . Однако в большинстве случаев в данное время и в данных условиях экспрессируется только один тип поверхностного i-антигена (действует правило взаимного исключения), значит контроль серотипов у дилептусов имеет эпигенетическую составляющую.

На основе таких примеров была сформулирована концепция эпигена в 70-х годах прошлого века (Чураев, 1975). Эпигеном была названа циклическая система из двух или нескольких генов, которая имеет не менее двух режимов функционирования, сохраняемых в последовательном ряду клеточных поколений. Выбор режима функционирования зависит от регуляторных молекул белков и РНК, которые целочно циркулируют между ядром и цитоплазмой и обеспечивают обратные связи. Все последующие годы разрабатывалась гипотеза о эпигене, а примеры генетических явлений, связанных с эпигенетической изменчивостью, постоянно увеличивались (Tchurayev, 2010). Идеи об эпигенах и функциональной наследственной памяти получили подтверждение и развитие у ряда зарубежных авторов (Holliday, 1987; Jorgensen, 1993; Holliday, Ho, 2002). Серьезным подтверждением существования эпигенов послужил их синтез, осуществленный Чураевым с сотрудниками (Tchurayev et al., 2000) – впервые спроектирован и сконструирован двухкомпонентный стационарный эпиген с заданными и управляемыми наследуемыми динамическими свойствами и функционирующий *in vitro*. В США вышла коллективная сводка по эпигенетическим механизмам генной регуляции (Russo et al., 1996). К настоящему времени можно утвер-

ждать, что доказано существование нового класса наследственных единиц – эпигенов, которые обуславливают наблюдаемые феномены наследования приобретенных признаков и могут служить основой неадаптивных путей эволюции (Jablonka, Lamb, 1999).

ТИПЫ СПАРИВАНИЯ У ИНFUЗОРИИ *D. ANSER*

Изучали еще один классический для генетики инфузорий признак – типы спаривания (ТС). Со времени открытия Соннеборном типов спаривания у *Paramecium aurelia* (Sonneborn, 1937) в исследовании этого признака вовлекались все новые и новые виды инфузорий. В результате накоплено большое количество данных о физиологии, биохимии и молекулярной биологии половых процессов и типов спаривания у инфузорий (см. обзор Miyake, 1996). Тип спаривания у инфузорий, их генетический контроль и способы наследования оказались весьма разнообразны. Есть варианты, где ТС непосредственно и однозначно определяется генами и их аллелями. Напротив, обнаружены примеры, где мультипотенциальный локус ТС претерпевает эпигенетическую дифференцировку, в результате которой фенотипически реализуется лишь одна из нескольких наследственных генотипических потенций (обзоры: Сигел, 1970; Sonneborn, 1977; Афонькин, 1991; Bleyman, 1996; Miyake, 1996). Конкретные механизмы эпигенетической дифференцировки по ТС у инфузорий остаются все еще неизвестными, их начинают исследовать на молекулярном уровне лишь в последнее время (Cervantes et al., 2013; Singh et al., 2014; Vallesi et al., 2014).

Особь *D. anser*, различающиеся по ТС, способны конъюгировать (вступать в половой процесс). После конъюгации два конъюганта расходятся, начинают питаться и размножаться делением надвое (агамное или вегетативное размножение) и образуют эксконъюгантные клоны, по два от каждой пары конъюгантов – синклон. Некоторое время у дилептусов эксконъюгантного клона, как и у многих инфузорий, клетки обычно являются сексуально незрелыми – они не способны спариваться с клетками комплементарных ТС и вступать в следующую конъюгацию (Bleyman, 1971, 1972; Nanney, 1980; Takagi, 1988). У них имеет место период незрелости (adolescent), когда они неспособны повторно вступать в половой процесс. Поэтому по классификации Соннеборна (Sonneborn, 1975) инфузория *D. anser* должна быть отнесена к тем видам инфузорий, основная стратегия которых – аутбридинг. У *D. anser* по нашим данным период незрелости длится в среднем около 15 нед (от 10 до 21 нед у разных клонов, т.е. приблизительно 50–70 клеточных делений), после чего, наступает кратковременный период частичной зрелости, а затем зрелость, когда клетки любого из трех ТС конъюгируют с клетками двух других комплементарных ТС (Тавровская 1977; Tavrovskaya, 1979; Успенская, Юдин, 2003). Как было отмечено выше, половой

процесс запускают феромоны спаривания. То есть, дифференцировка по ТС у дилептусов связана с экспрессией генов, контролирующей выработку ФС и их рецепторов (Юдин и др., 1990). Сигнальная роль ФС, их роль в экспрессии генов, их взаимоотношения с другими сигнальными системами интенсивно изучаются на инфузориях *Euplotes* (Lupogini et al., 2014a, 2014b).

Мы провели гибридологический анализ признака ТС у *D. anser*. Принадлежность клона к тому или иному ТС определяли, скрещивая этот клон с тремя зрелыми клонами-тестерами (типы I, II и III), поддерживаемыми в лаборатории. В ходе агамного (вегетативного) размножения ТС клонов оставался неизменным. Например, клон 7С при ежемесячном тестировании на протяжении 24 мес. всегда проявлял ТС-I, клон 14 при тех же условиях – ТС-II, клон 155 на протяжении 19 мес. – ТС-III. Есть наблюдения за группой изолированных из природы клонов на протяжении 7 лет, которые свидетельствовали о сохранении за это время исходного ТС (Тавровская, 1989). Проведено 20 скрещиваний, и получены двоякого рода результаты. В некотором количестве скрещиваний наблюдали: 1) синклональное наследование признака в половых поколениях; 2) доминирование ТС-I над ТС-II и ТС-III, а ТС-II – над ТС-III; 3) расщепление по ТС, не отличающееся существенно от расщепления 1 : 1. То есть имело место более или менее очевидное менделирование монофакториального признака.

На этом основании была ранее предложена гипотеза о механизме генетического контроля признака ТС у *D. anser* (Юдин, Афонькин, 1987). Согласно этой гипотезе, признак ТС у инфузорий *D. anser* в половых поколениях контролируется одним локусом (обозначим его *mat*) с тремя аллелями, обнаруживаемыми по отношению друг к другу серийное доминирование: $mat^1 > mat^2 > mat^3$. Синклональное наследование и менделирование в скрещиваниях свидетельствует о прямом генном контроле признака (Сигел, 1970). Подобные результаты были описаны при изучении наследования и генетической детерминации ТС у инфузории *Tetrahymena pigmentosa* (Orias, 1963; Simon, 1980). Итак, оказалось, что системы генетической детерминации и наследования ТС для “нормальных” эксконъюгантных клонов у *T. pigmentosa* и для “нормальных” клонов *D. anser* выглядят весьма сходными. В обоих случаях у вида имеются три ТС, наследующихся при конъюгации синклонально и таким образом, как если бы они контролировались одним локусом с тремя аллелями, обнаруживаемыми серийное доминирование. Однако в упомянутых данных имелись оставшиеся без объяснения отклонения от этой схемы, которые выражались, в частности, в избытке сегрегантов типа II в скрещиваниях и в наличии небольшой фракции клонов-селферов (Orias, 1963).

Вместе с этим мы наблюдали в ряде проведенных скрещиваний более или менее существенные отклонения от предложенной схемы – обнаружены аномальные особенности эксконъюгантных клонов, которые заключались в следующем. При исследовании потомства F_1 и F_2 двух клонов: клон Б (ТС-I) и клон Д (ТС-III) зарегистрирована задержка созревания по сравнению с другими клонами. Наблюдался временный возврат из зрелого состояния в незрелое, либо в частично зрелое – “юношеское” состояние, т.е. наблюдалась нестабильность состояния зрелости. Параллельно отмечали смену ТС (иногда неоднократно) у одного и того же недавно созревшего клон, в результате у него мог появиться ТС, вообще не ожидавшийся в потомстве от данного скрещивания, а у отдельных клонов поочередно проявлялись даже все три ТС. Причины, определяющие нестабильность дифференцировки ТС у *D. anser* могут иметь очень разную природу, нельзя исключить и эпигенетическую компоненту наследственного контроля ТС, предположенную ранее (Nanney, 1958, 1980; см. также: Jablonka, Lamb, 1999; Meyer, Chalker, 2007).

Исходя из этих данных, была предложена гипотеза о том, что локус *mat*, контролирующий три ТС у дилептусов, имеет сложную комплексную природу, т.е. содержит генетические потенции для всех трех ТС (Юдин, Успенская, 2007). В ходе созревания эксконъюгантного клон этот сложный локус претерпевает в макронуклеусе эпигенетическую дифференцировку, в результате которой экспрессируется та или иная из трех генетических потенций этого локуса, т.е. возникает та или иная эпиаallelь этого локуса, определяющая тот или иной ТС. Эти предположения объясняют изменения ТС у молодых эксконъюгантных клонов, а также те или иные отклонения от менделевского поведения признака в скрещиваниях.

Менделевское же поведение признака ТС, очевидно, возможно лишь в тех случаях, если сложный локус *mat* способен дифференцироваться в генеративном ядре микронуклеусе, в результате чего возникает та или иная микронуклеальная аллель (или в зависимости от механизма дифференцировки, эпиаallelь) этого локуса: mat^1 , mat^2 или mat^3 . Каковы бы ни были в нашем случае конкретные молекулярные механизмы эпигенетических изменений и их наследования, можно представить себе, что ТС у дилептусов находятся под контролем сложного локуса, кодирующего потенции для всех трех ТС, встречающихся у этого вида. Этот локус наследуется как целое и сохраняет свою сложность в макронуклеусе. Однако он способен претерпевать эпигенетическую дифференцировку по принципу взаимного исключения (Nanney, 1958), в результате которой активируется только одна из трех закодированных в нем генетических потенций, а две другие остаются неактивными. В результате такой дифференцировки возникают три эпиаallelли этого сложного локуса, определяющие ТС-I, ТС-II или ТС-III.

Степень стабильности такой дифференцировки может по непонятным причинам варьировать. Если дифференцировка стабильна, эпиааллели функционально ведут себя как обычные аллели генетического локуса, возникающие мутационным путем — имеет место обычное менделирование признака с серийным доминированием, монофакториальным расщеплением и др. Если же эпигенетическая дифференцировка локуса более или менее нестабильна, то возможно переключение активности сложного локуса с одной потенции на другую — своего рода эпимутации. При этом может нарушаться картина обычного менделирования — отношения доминантности и рецессивности между эпиааллелями, характер расщепления и т.п. Нарушение контроля дифференцировки в силу не совсем понятных причин приводит к нестабильности экспрессируемого ТС у созревающих эксконъюгантных клонов и нарушениям регулярного менделирования.

АКТИНОМИЦИН D КАК ЭПИМУТАГЕН У ПРОТИСТОВ

Возникал естественный вопрос — как долго сохраняется нестабильное состояние молодых эксконъюгантных клонов. Нельзя было исключить, что эти клоны, заканчивая процесс дифференцировки своего макронуклеуса, утрачивают все генетические потенции по ТС, кроме одной, стабилизируются и далее стабильно наследуют свой ТС. В этом случае макронуклеусы молодых эксконъюгантных клонов и макронуклеусы зрелых клонов в отношении признака ТС генетически различны, и зрелые клоны дилептусов не способны дестабилизироваться и изменять свой ТС в ряду вегетативных поколений. Напротив, если детерминация ТС имеет эпигенетическую природу, зрелые клоны могут сохранять в своих макронуклеусах генетические потенции для всех трех ТС и способны изменить свой ТС.

Подтверждением этого предположения явилась возможность вызвать изменения ТС у старых, давно ведущихся в лаборатории клонов, воздействием антибиотика актиномицина D. Ранее было установлено, что актиномицин D является индуктором наследуемой нестабильности по целому ряду контролируемых ядром признаков у другого вида простейших — у амёб *Amoeba proteus*, имеющих по многим критериям эпигенетическую природу (Калинина, 1968; Оленов, 1970; Юдин, 1979, 1982). Известно, что этот антибиотик не является мутагеном в общепризнанном смысле (см. обзор: Коба, Конора, 2005). В экспериментальной клеточной биологии актиномицин D широко известен как ингибитор транскрипции. Подавление происходит вследствие образования стабильного комплекса его с ДНК и нарушения ДНК-зависимого синтеза РНК (Hollstein, 1974; Sobell,

1985). Данных о мутагенной активности актиномицина D почти нет; если он и является мутагеном, то очень слабым (Fishbein, et al., 1970; Fishbein, 1979; Koba, Конора, 2005).

При постановке экспериментов нами была выбрана рабочая концентрация актиномицина D 15 мкг/мл, при которой выживали 75% обработанных клеток при 100% выживаемости в контрольный условиях (Успенская, Юдин, 1996; Юдин, Успенская, 2009). Использовали три клона, ведущихся в лаборатории — 3 (ТС-I), 13 (ТС-II) и 153 (ТС-III). Дилептусы находились в растворе антибиотика 3 сут, затем их отмывали, рассаживали поодиночке и далее культивировали субклоны как обычно. Всего было выращено по 20 субклонов каждого клона, которые затем тестировали по ТС с клетками исходных клонов еженедельно на протяжении 4 мес. В ходе тестирования устанавливали ТС субклона, либо его незрелость (отсутствие mating-реакции с любым из клонов-тестеров), либо частичную зрелость (mating-реакция только с одним каким-либо клоном-тестером). Результаты показали, что субклоны всех трех клонов вели себя сходным образом. У части клонов возникало временное, более или менее длительное состояние незрелости, некоторые клоны обнаруживали ТС, не свойственный исходному клону, а также переключение в процессе наблюдения на все возможные у дилептусов ТС (Uspenskaya, Yudin, 2017). Результаты этих экспериментов доказывают, что у дилептусов, стабильно воспроизводящих в ходе вегетативного размножения один какой-то ТС, в макронуклеусах сохраняются генетические потенции для проявления двух других известных у этого вида ТС — потенции, которые в определенных условиях или после определенных воздействий могут активироваться. Механизм такой активации остается неизвестным. С другой стороны, весьма вероятно, что актиномицин D, подавляя синтез РНК и соответственно белков, может нарушать нормальные регуляторные связи в эпигенетических контурах и тем самым приводить к наследуемым изменениям, в частности, “эпимутациям”, к дестабилизации эпигенетически контролируемых признаков. В таких случаях актиномицин D может рассматриваться как эпимутаген, по аналогии с другими агентами, индуцирующими наследуемые изменения немутационной природы (Holliday, Ho, 2002; Малецкая и др., 2006; Lamparska et al., 2012; Agai et al., 2015). Интересно также, что у двух совершенно разных видов простейших — амёб и инфузорий — актиномицин D с высокой частотой вызывает эпигенетические изменения (Юдин, Успенская, 2009; Uspenskaya, Yudin, 2017).

Что касается возможных молекулярных механизмов эпимутагенного действия актиномицина D, то этот вопрос очевидно связан с вопросом о молеку-

лярных механизмах эпигенетической дифференцировки и трансдифференцировки по ТС у *D. anser*, которые пока остаются неизвестными. Тот факт, что у давно культивируемых в лаборатории клонов *D. anser*, неизменно экспрессирующих один из возможных ТС, в определенных условиях могут обратимо экспрессироваться и другие ТС, свидетельствует по нашему мнению, что у дилептусов в период созревания дифференцировка макронуклеусов по ТС не может происходить по механизму делеций и сплайсинга ДНК сложного локуса *mat* (Orias, 1981; Cervantes et al., 2013). В целом картина генетического контроля ТС у инфузории *D. anser* оказалась достаточно сложной и нуждается в дальнейшей разработке. Наш анализ наследования серотипов и ТС во многом не отвечает строгим требованиям генетического анализа. Это, к сожалению, неизбежно при работе с видом, который не стал широко известной лабораторной моделью. Однако попытка воспроизвести на этом объекте эффекты, полученные ранее на других инфузориях, оказалась оправданной, поскольку получены новые, не описанные ранее явления (Uspenskaya, 2018). Можно утверждать с полным основанием, что имеется еще одна очень полезная и удачная модель — инфузория *Dileptus anser* — для исследования эпигенетической изменчивости и наследственности у инфузорий.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена по теме Государственного задания Института цитологии РАН № 0124-2019-0005

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей автор не проводил.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Афонькин С.Ю. 1991. Межклеточное самораспознавание у простейших. Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Зоология беспозвоночных. М.: ВИНТИ. 9. 160 с. (Afon'kin S.Y. 1991. Cell-cell recognition in Protozoa, Progress in science and engineering. Moscow: VINITI. Invertebrate Zoology. 9. 160 p.)
- Винникова Н.В. 1974. Конъюгация *Dileptus anser*. Acta protozool. 12 : 275–288. (Vinnikova N.V. 1974. Conjugation of *Dileptus anser*. Acta Protozool. 12: 275–288.)
- Калинина Л.В. 1968. Наследуемые изменения у амёб, вызываемые действием актиномицина D. Цитология. 10 (12) : 1589–1597. (Kalinina L.V. 1968. Hereditary changes in amoebae caused by actinomycin D treatment. Tsitologiya 10 (12) : 1589–1597.)
- Малецкая Е.И., Юданова С.С., Малецкий С.И. 2006. Влияние эпимутагена 5-азациитидина на ветвление цветочных побегов сахарной свеклы (*Beta vulgaris*). Генетика. 40 (6) : 16–22. (Maletskaya E.I., Iudanova S.S., Maletskii S.I. 2006. Effect of the epimutagen 5-azacytidine on the structure of floral-stalk metameres in sugar beet (*Beta vulgaris* L). Genetika. 40 (6) : 16–22.)
- Николаева Г.В. 1968. Методика культивирования *Dileptus anser*. Цитология. 10 (12) : 1603–1605. (Nikolaeva G.V. 1968. On a new procedure of cultivation of *Dileptus anser*. Tsitologiya. 10. 1603–1605.)
- Оленов Ю.М. 1970. Эпигеномная изменчивость. Онтогенез. 1 (1) : 10–16. (Olenov J.M. 1970. Epigenomic variability. Ontogenez. 1 (1) : 10–16.)
- Парфенова Е.В., Афонькин С.Ю., Юдин А.Л., Этингоф Р.Н. 1988. О природе феромона, продуцируемого инфузориями *Dileptus anser* II типа спаривания. Ж. эволюц. биохим. физиол. 24 (4) : 593–596. (Parfenova E.V., Afon'kin S.Yu., Yudin A.L. Etingof R.N. 1988. On the nature of a pheromone produced by the infusorian *Dileptus anser* belonging to mating type II. J. Evol. Biochem. Physiol. 24 (4) : 593–596.)
- Сигел Р.У. 1970. Генетическая обусловленность типов спаривания у инфузорий. Онтогенез. 1 (2) : 157–165. (Siegel R. 1970. Genetics of mating types in ciliates. Ontogenez. 1 (2) : 157–165.)
- Тавровская М.В. 1977. Пищевая реакция хищной инфузории *Dileptus anser* на особей других клонов того же вида. В кн. Молекулярные основы структуры и функциональной активности клетки. Л., Наука : 179–182. (Tavrovskaya M.V. 1977. Nutritional response of the predatory ciliate *Dileptus anser* to conspecific organisms from other clones. In: Molecular basis of structure and functional activity of the cell. Leningrad: 179–82.)
- Тавровская М.В. 1989. Внутрипопуляционная физиологическая дифференцировка у инфузории *Dileptus anser*. В кн. Экология морских и пресноводных простейших. Ярославль, 68. (Tavrovskaya M.V. 1989. Intrapopulation physiological differentiation in the ciliate *Dileptus anser*. In: Ecology of marine and fresh-water protozoa. Yaroslavl, 68.)
- Успенская З.И. 1988. Анализ антигенных различий между клонами инфузорий *Dileptus anser*. Цитология. 30 (5) : 623–631. (Uspenskaya Z.I. 1988. An analysis of antigenic differences among clones of ciliates *Dileptus anser*. Tsitologiya. 30 (5) : 623–631.)
- Успенская З.И. 1990. Изменение серотипа у инфузорий *Dileptus anser* при изменении температуры их культивирования. Цитология. 32 (12) : 1231–1239. (Uspenskaya Z.I. 1990. Serotype transformation in the ciliate *Dileptus anser* under changing the cultivation temperature. Tsitologiya. 32 (12) : 1231–1239.)
- Успенская З.И., Юдин А.Л. 1996. Влияние актиномицина D на процесс трансформации серотипа у инфузорий *Dileptus anser*. Генетика. 32 (3) : 379–385. (Uspenskaya Z.I., Yudin A.L. 1996. Effect of actinomycin D on serotype transformation in the ciliate *Dileptus anser*. Genetika. 32 (3) : 379–385.)

- Успенская З.И., Юдин А.Л. 2000. Наследование серотипов в эксконъюгантном потомстве инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 42 (11) : 1103–1110. (*Uspenskaya Z.I., Yudin A.L.* 2000. Mode of serotype inheritance in exconjugant progeny of the ciliate *Dileptus anser*. Tsitologiya. 42 (11) : 1103–1110.)
- Успенская З.И., Юдин А.Л. 2001. Возобновление совместной экспрессии разных i-антигенов инфузориями *Dileptus anser* после временной трансформации серотипа. Цитология. 43 (6) : 613–618. (*Uspenskaya Z.I., Yudin A.L.* 2001. Re-expression of two different i-antigenes in the *Dileptus anser* after temporary transformation of their serotype. Tsitologiya. 43 (6) : 613–618.)
- Успенская З.И., Юдин А.Л. 2003. Типы спаривания у инфузории *Dileptus anser*. Генетическая нестабильность в системе типов спаривания. Цитология. 45 (5) : 5010–5014. (*Uspenskaya Z.I., Yudin A.L.* 2003. Mating types in the ciliate *Dileptus anser*. Genetical instability in the mating type system. Tsitologiya. 45 (5) : 5010–5014.)
- Чураев Р.Н. 1975. Гипотеза о эпигене. В кн.: Исследования по математической генетике. Новосибирск, ИЦиГ АН СССР, 77–94. (*Tchuraev R.N.* 1975. The epigene hypothesis. In: Studies on mathematical genetics. Novosibirsk, Issue of Scientific Papers, 77–94.)
- Юдин А.Л. 1979. Механизмы дестабилизации наследственных признаков у амёб. II. Наследуемые изменения, индуцированные некоторыми антибиотиками. Acta protozool. 18 : 571–579. (*Yudin A.L.* 1979. Mechanisms of destabilization of hereditary characters in *Amoebae*. II. Heritable variations induced by some antibiotics. Acta protozool. 18 : 571–579.)
- Юдин А.Л. 1982. Ядерно-цитоплазматические взаимоотношения и клеточная наследственность у амёб. Л.: Наука. 200 с. (*Yudin A.L.* 1982. Nucleocytoplasmic relationships and cell heredity in amoebae. L.: Nauka. 200 p.)
- Юдин А.Л., Афонькин С.Ю. 1987. Генетическая детерминация и наследование типов спаривания у инфузории *Dileptus anser*. В сб.: Современные проблемы протозоологии. Л., Наука, IV: С. 32. (*Yudin A.L., Afon'kin S.Yu.* 1987. Genetic determination and inheritance of mating types in *Dileptus anser*. In: Modern problems in protozoology. L., Nauka, IV: P. 32.)
- Юдин А.Л., Афонькин С.Ю., Парфенова Е.В. 1990. Феромоны спаривания у инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 32 (2) : 107–116. (*Yudin A.L., Afon'kin S.Yu., Parfenova E.V.* 1990. Mating pheromones in the ciliate *Dileptus anser*. Tsitologiya. 32 (2) : 107–116.)
- Юдин А.Л., Успенская З.И. 2009. Индуцированная актиномицином D смена типа спаривания у инфузории *Dileptus anser*. Цитология. 51 (1) : 84–88. (*Yudin A.L., Uspenskaya Z.I.* 2009. Change of mating type induced by Actinomycin D in the ciliate *Dileptus anser*. Tsitologiya. 51 (1) : 84–88.)
- Adl S.M., Simpson A.G.B., Lane C.E., Lukeš J., Bass D., Bowser S.S., Brown M.W., Burki F., Dunthorn M., Hampl W., Heiss A., Hoppenrath M., Lara E., Gall L.L., Lynn D.N., McManus H., Mitchell E., Mozley-Stanrite Sh.E., Parery Z.W., Pawlowski J., Rueckert S., Shadwick I., Schoch C., Smirnov A., Spiengel F.M. 2012. The revised classification of eukaryotes. J. Eukaryot. Microbiol. 59 : 429–493.
- Arai Y., Hayakawa K., Arai D., Ito R., Iwasaki Y., Saito K., Akutsi K., Takatori S., Ishii R., Hayashi R., Izumi Sh-I., Sugino N., Kondo F., Horie M., Nakazawa H., Makino T., Hirotsawa M., Shiota K., Ohgane J. 2015. Putative epimutagens in maternal peripheral and cord blood samples identified using human induced pluripotent stem cells. BioMed Res. Int. Article ID 876047, <https://doi.org/10.1155/2015/876047>
- Beale G.H. 1954. The genetics of *Paramecium aurelia*. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 179 p.
- Beale G.H. 1957. The antigen system of *Paramecium aurelia*. Int. Rev. Cytol. 6 : 1–26.
- Bishop J.O. 1963. Immunological assay of some immobilization antigens of *Paramecium aurelia*, variety 1. J. Genet. Microbiol. 30 : 271–280.
- Bleyman L.K. 1971. Temporal patterns in the ciliated protozoa. In: Developmental aspects of the cell cycle. New York, Academic Press, 67–91.
- Bleyman L.K. 1972. A new spontaneous early mature mutant in *Tetrahymena pyriformis*. Genetics. 71 : s5–s6.
- Bleyman L.K. 1996. Ciliate genetics. In: Ciliates: cells as organisms. Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, Gustav Fischer Verlag, 291–324.
- Caron F., Meyer E. 1989. Molecular basis of surface antigen variation in paramecia. Annu. Rev. Microbiol. 43 : 23–42.
- Cervantes M.D., Hamilton E.P., Xiong J., Lawson M.J., Yuan D., Hadjithomas M. Miao W., Orias E. 2013. Selecting one of several mating types through gene segment joining and deletion in *Tetrahymena thermophila*. PLoS Biol. 11(3) : e1001518. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001518>
- Dragesko J. 1963. Révision du genre *Dileptus*, Dujardin 1871 (Ciliata, Holotricha) (Sistématique, cytologie, biologie). Bulletin Biologique de la France et la Belgique. 97 : 103–145.
- Finger L. 1974. Surface antigens in *Paramecium aurelia*. In: *Paramecium*, a current survey. Amsterdam, Elsevier, 131–164.
- Fishbein L. 1979. Potential industrial carcinogens and mutagens. Amsterdam, Oxford, New York, Elsevier Scientific Publishing Company. 533 p.
- Fishbein L., Flamm W.G., Falk H.L. 1970. Chemical mutagens. New York, London, Acad. Press, 378 p.
- Forney J.D., Yantiri F., Mikami K. 1996. Developmentally controlled rearrangement of surface antigen genes in *Paramecium tetraurelia*. J. Euk. Microbiol. 43 : 462–467.
- Golinska K., Afon'kin S.Yu. 1993. Preparatory changes and the development of the conjugation junction in a ciliate *Dileptus*. Protoplasma. 173 : 144–157.
- Holliday R. 1987. The inheritance of epigenetic defects. Science 238 : 163–179.
- Holliday R., Ho T. 2002. DNA methylation and epigenetic inheritance. Method 27 : 179–183.
- Hollstein U. 1974. Actinomycin. Chemistry and mechanism of action. Chem. Rev. 74 : 625–652, <https://doi.org/10.1021/cr60292a002>
- Jablonka E., Lamb M.J. 1999. Epigenetic inheritance and evolution. The Lamarckian dimension. New York, Oxford Univ. Press, 82 p.

- Jorgensen R. 1993. The germinal inheritance of epigenetic information in plants. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 339 : 173–181.
- Karadzhan B.P. 1985. Development of the macronucleus following conjugation of the ciliate *Dileptus anser*. I. Cytophotometric study of the changes in DNA content of the macronuclear anlagen. *Acta Protozool.* 24 : 199–209.
- Koba M., Konopa J. 2005. Actinomycin D and its mechanisms of action. *Postery Hig. Med. Dosv.* 59 : 290–298.
- Lamparska K., Clark J., Babilonia G., Bedell V., Yip W., Smith S.S. 2012. 2'-Deoxyriboquanylurea, the primary breakdown product of 5-aza-2'-deoxyribocytidine, is a mutagen, an epimutagen, an inhibitor of DNA methyltransferases and an inducer of 5-azacytidine-type fragile sites. *Nucleic Acids Res.* 40 : 9788–801, <https://doi.org/10.1093/nar/gks706>
- Luporini P., Alimenti C., Vallesi A. 2014a. Ciliate pheromone structure and activity: A review. *Italian J. Zool.* 82: 3–14.
- Luporini P., Alimenti C., Vallesi A. 2014b. Ciliates mating types and pheromones. In: *Cilia and Flagella – Ciliates and Flagellates*. Stuttgart, Schweizerbart Science Publishers, 95–118.
- Meyer E., Chalker D. 2007. Epigenetics of Ciliates. In: *Epigenetics*, New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 7, 127–150.
- Meyer E., Duhaucourt S. 1996. Epigenetic regulation of programmed genomic rearrangements in *Paramecium aurelia*. *J. Euk. Microbiol.* 43 : 453–461.
- Miyake A. 1996. Fertilization and sexuality in ciliates. In: *Ciliates: cells as organisms*. Stuttgart, Jena, Luebeck, Ulm, Fischer Verlag, 243–290.
- Nanney D.L. 1958. Epigenetic control systems. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 44 : 712–717.
- Nanney D.L. 1980. Experimental ciliatology. An introduction to genetic and developmental analysis in ciliates. New York, Chichester, Brisbane, Toronto. John Wiley and Sons, 330 p.
- Orias E. 1963. Mating type determination in variety 8, *Tetrahymena pyriformis*. *Genetics.* 48 : 1509–1518.
- Orias E. 1981. Probable somatic DNA rearrangements in mating type determination in *Tetrahymena thermophila*: are view and model. *Develop. Genet.* 2: 185–202.
- Parfenova E.V., Afon'kin S.Yu., Yudin A.L., Etingof R.N. 1989. Characterization and partial purification of mating pheromone excreted by mating type II cells of the ciliate *Dileptus anser*. *Acta Protozool.* 28 : 11–21.
- Preer J.R., Jr 1968. Genetics of Protozoa. In: *Research in protozoology*. Oxford, London, New York, Paris. Pergamon Press, 3, 129–278.
- Preer J.R., Jr. 1986. Surface antigens of *Paramecium*. In: *The molecular biology of ciliated protozoa*. New York. Acad. Press, 301–339.
- Raikov I.B. 1972. Nuclear phenomena during conjugation and autogamy in ciliates. In: *Research in protozoology*. Oxford, London, New York, Paris. Pergamon Press, 4, 147–289.
- Russo V.E.A., Martienssen R.A., Riggs A.D. 1996. Epigenetic mechanisms of gene regulation. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 692 p.
- Schmidt H.J. 1988. Immobilization antigens. In: *Paramecium*. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Springer-Verlag, 155–166.
- Schmidt H.J. 1996. Molecular biology of ciliates. In: *Ciliates: cells as organisms*. Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm, Gustav Fischer Verlag, 327–353.
- Simon E.M. 1980. Mating-type inheritance and maturity times in crosses between subspecies of *Tetrahymena pigmentosa*. *Genetics.* 94: 93–113.
- Singh D.P., Saudemont B., Guglielmi G., Arnaiz O. et al. 2014. Genome—defence small RNAs exapted for epigenetic mating-type inheritance. *Nature.* 509. 447–452. <https://doi.org/10.1038/nature>
- Sobell H. 1985. Actinomycin and DNA transcription. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 82 : 5328–5331, <https://doi.org/10.1073/pnas.8216.5328>
- Sommerville J. 1970. Serotype expression in *Paramecium*. *Adv. Microbiol. Physiol.* 4 : 131–178.
- Sonneborn T.M. 1937. Sex, sex inheritance and sex determination in of *Paramecium aurelia*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 23 : 378–385.
- Sonneborn T.M. 1975. *Tetrahymena pyriformis*. *Paramecium aurelia*. In: *Handbook of genetics*, 2, New York, Plenum Press, 493–594.
- Sonneborn T.M. 1977. Genetics of cellular differentiation: stable nuclear differentiation in eukaryotic unicells. *Annu.Rev.Genet.* 11 : 428–432.
- Takagi Y. 1988. Aging. In: *Paramecium*. Springer-Verlag, Berlin, 131–140.
- Tavrovskaya M.W. 1979. Intraspecific intercellular interaction in the ciliate *Dileptus anser*. *J. Protozool.* 26 : 35–36.
- Tchuraev R.N. 2010. Epigenes — overgenes level hereditary units. *Ecological Genetics.* 8 : 17–24.
- Tchuraev R.N., Stupak I.V., Tropynina T.S., Srupak E.E. 2000. Epigenes: design and construction of new hereditary units. *FEBS Lett.* 486 : 200–202.
- Uspenskaya Z.I. 2018. Epigenetic factors in vital functions of the ciliate *Dileptus anser*. *Protistology.* 12 : 61–72. doi 10.21685/1680-0826-2018-12-2-1
- Uspenskaya Z.I., Yudin A.L. 1992. Clonal and temperature induced differences in serotype in ciliate *Dileptus anser*. *Eur. J. Protistol.* 28 : 85–93.
- Uspenskaya Z.I., Yudin A.L. 2017. Actinomycin D as an epimutagen in Protists. *Acta Protozool.* 56 : 139–147. doi AP.17.012.7493 <https://doi.org/10.4467/1680027>
- Vallesi A., Alimenti C., Federici S., Giuseppe G., Dini F., Guella G., Luporini P. 2014. Evidence for gene duplication and allelic codominance (not hierarchical dominance) at mating-type locus of the Ciliate *Euplotes crassus*. *J. Euk. Microbiol.* 61 : 620–629.
- Vinnikova N.V. 1976. Conjugation in the ciliate *Dileptus anser*. I. Ultrastructure of micronuclei during mitosis and meiosis. *Protistologica.* 12 : 7–24.
- Yudin A.L., Uspenskaya Z.I. 2000. Serotypes in the ciliate *Dileptus anser*: a case of non-Mendelian inheritance. *Protistology.* 1 : 185–194.
- Yudin A.L., Uspenskaya Z.I. 2007. Nuclear differentiation for mating types in the ciliate *Dileptus anser*: A hypothesis. *Cell Biol. Int.* 31 : 428–432.

THE CILIATE *DILEPTUS ANSER* IS AN OBJECT FOR RESEARCH GENETIC INSTABILITY IN THE SYSTEM OF SEROTYPES AND MATING TYPES

Z. I. Uspenskaya*

Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia

**e-mail: zoyaus@mail.ru*

The proposed report presents the results that were obtained for quite some time with the help of the ciliates *Dileptus anser*. This object is new for the genetics and epigenetics of ciliates and interesting in terms of comparative genetics of these Protozoa. For the study, the classic signs for infusorians genetics were selected – serotypes and mating types. The results are given that do not fit into the generally accepted schemes described in the literature when studying classical objects – *Paramecium* and *Tetrahymena*. For the first time for the *D. anser*, a hybridologic analysis of the character mating type was performed. The data on the inheritance and genetic determination of this character are discussed. Noteworthy was the discovery of mating type instability in young exconjugant clones in some crosses. It is assumed that the type of mating clone is the result of stable epigenetic differentiation of a complex multipotential locus.

Keywords: ciliates, *Dileptus anser*, serotypes, i-antigens, mating types, temperature of cultivation, non-Mendelian inheritance, epigenetic inheritance