

УДК 577

ЦЕМЕНТНАЯ ЖЕЛЕЗА – ОРГАН АДГЕЗИИ ЗАРОДЫШЕЙ *Xenopus laevis*

© 2012 г. Е. С. Пшенникова, А. С. Воронина

Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук

Москва 119071, Ленинский проспект, д. 33

E-mail: pshennikova57@mail.ru

Поступила в редакцию 05.04.10 г.

Окончательный вариант получен 23.12.10 г.

Цементная железа у бесхвостых амфибий – это временный эктодермальный орган, необходимый для прикрепления зародыша к субстрату. В обзоре даны некоторые представления о происхождении цементной железы лягушек *Xenopus laevis*, ее функционировании, экспрессирующихся в ней генах, регуляции ее формирования и развития. Отмечена роль некоторых гомологов генов *agr* цементной железы *Xenopus laevis* при различных состояниях других животных и человека.

Ключевые слова: *Xenopus laevis*, цементная железа, эмбриональная индукция, регуляция экспрессии генов.

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ

В самой крайней точке ростральной области личинки большинства бесхвостых амфибий располагается небольшой, слегка возвышающийся над окружающей поверхностью, очень липкий островок клеток. Это цементная железа, орган адгезии, называемая еще присоской, хотя правильнее было бы назвать ее липучкой (Ryder, 1888; Nieuwkoop, Faber, 1967; обзоры Sive, Bradley, 1996; Pennati et al., 2000). Клетки цементной железы выделяют водостойкую слизь, которая позволяет вылупившемуся зародышу прикрепиться к твердой опоре до тех пор, пока он не сможет хорошо плавать и питаться. Есть данные, что еще до вылупления зародыш прикрепляется цементной железой к внутренней поверхности вителлиновой оболочки. В месте воздействия фермента железы вылупления (расположена на лбу зародыша выше цементной железы и имеет форму перевернутой рогатки) вителлиновая оболочка прорывается, и зародыш выносятся из нее напором жидкости, но остается фиксированным на ней (Bles, 1905, по Nokhbatolfoghahai, Downie, 2005).

Цементные железы обнаружены у зародышей других хордовых – одиночных асцидий, некоторых костных рыб, таких, как цихлиды (Sive, Bradley, 1996). У некоторых хвостатых амфибий существует временный орган адгезии – балансиры (Harrison, 1925). И липучки, и балансиры выделяют слизь, имеют одинаковую иннервацию и, возможно, эволюционно сходны (Sauka-Spengler et al., 2002). Однако они имеют явно не одинако-

вую гистологическую структуру (Nokhbatolfoghahai, Downie, 2005).

Изучению онтогенеза бесхвостых амфибий с прямым развитием, сумчатых лягушек, а также сравнению их с *Xenopus laevis*, посвящен обзор Десницкого (2004). Закономерно, что цементные железы не обнаруживаются у видов, в развитии которых зародыши не попадают в открытые водоемы (Nokhbatolfoghahai, Downie, 2005). Так, головастики лягушек *Phyllomedusa trinitatis* вылупляются на более поздней стадии, чем *Xenopus laevis*, и уже способны питаться и плавать. У квакши *Eleutherodactylus urichi* вовсе нет стадии головастика, а из большого яйца вылупляется лягушонок. Третий вид амфибий, у которого авторы не обнаружили цементной железы (*Leptodactylus fuscus*), биологически очень близок к видам, имеющим этот орган. Это оказалось неожиданным, но вполне объяснимым, поскольку перед тем, как попасть в воду, вылупившийся головастик впадает в состояние так называемого “ареста развития”, которое длится до сильного дождя, и за это время головастик успевает стать готовым к жизни в водоеме.

У бесхвостых амфибий цементная железа видна сначала как пигментированная плоская полоска клеток чуть вентральнее самого переднего конца зародыша. В дальнейшем лишь у зародышей *Xenopus laevis* она остается на том же месте. У других она обретает V- или M-образную форму, или делится на две части, как у *Rana temporaria* (Nokhbatolfoghahai, Downie, 2005). В той же работе приводятся результаты скрупулезнейших микроскопических исследований цементных желез 20 видов бесхвостых

амфибий, относящихся к 6-ти семействам, и сделана попытка морфологической классификации этих структур. Подробно описаны 5 типов развития цементных желез у зародышей этих животных, и приведено сравнение полученных результатов с литературными данными других авторов.

Цементная железа имеет собственную иннервацию нижнечелюстной веткой тройничного нерва, благодаря которой осуществляется так называемая “тормозная реакция”, не позволяющая прикрепившемуся зародышу шевелиться. Тем самым экономится энергия и зародыш становится менее заметным (Roberts, Blight, 1975; Davies et al., 1982; Boothby, Roberts, 1992a, b).

Прикрепление головастика с помощью цементной железы является сложным физиологическим процессом (Lambert et al., 2004). В покое слизь отрывается от субстрата примерно каждые 17 минут, после чего, поплавав, головастик снова прикрепляется. Механочувствительные нейроны постоянно подают в цементную железу импульсы с частотой около 1 герца для подтверждения прикрепления. Для прекращения плавательных движений, когда голова касается подложки, и для снижения реактивности на прикосновения, необходимы рецепторы гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК). При нажатии на присоску аксоны чувствительных нейронов выделяют глутамат, чтобы возбудить ГАМК-эргические ретикулоспинальные нейроны, которые в свою очередь ингибируют ГАМК-чувствительные спинальные нейроны. Действие ингибиторов ГАМК-рецепторов и перерезка иннервирующих цементную железу нервов приводит к потере указанных адаптивных реакций. Авторы отмечают, что это один из очень немногих случаев, когда чувствительные нейроны, получив внешний стимул, провоцируют снижение реакции и двигательной активности животного (Lambert et al., 2004).

МОРФОЛОГИЯ И АНАТОМИЯ ЦЕМЕНТНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цементная железа формируется из наружного слоя зародышевой эктодермы (Nieuwkoop, Faber, 1967; Drysdale, Elinson, 1992). Из этого наружного слоя развиваются также эпидермис, железа вылупления, некоторые нейроны и — после смыкания нервной трубки — эпэндимный эпителий, выстилающий спинномозговой канал и стенки желудочков мозга (Hartenstein, 1989).

Морфологически впервые цементная железа идентифицируется в начале нейруляции, когда группа клеток, лежащих впереди нервной складки, становится пигментированной сильнее, чем окружающие ткани. Во время смыкания нервной трубки клетки эти вытягиваются в высоту и перед вылуплением зародыша начинают секретировать

слизь. Гистологически, в световом микроскопе, на стадии 19 (стадии нервной трубки) цементная железа видна ниже переднего конца нейральной складки как плотная группа эктодермальных клеток, нагруженных пигментными гранулами, запасенными в ооците. К стадии 35–36 клетки железы увеличиваются в высоту и становятся в 10 раз выше нежелезистых клеток эктодермы (Sive, Bradley, 1996). Апикальная эозинофильная зона клеток железы содержит пигментные гранулы, базальная зона — светлые капли жира, в центре клетки располагается ядро. К 40-й стадии — ранней стадии головастика — клетки уменьшаются в высоту и начинают терять пигментные гранулы. В период между 45-й и 48-й стадиями пигмент выводится со слизью, а количество светлых капель жира уменьшается. На стадии 48–49 происходит вакуолизация клеток железы и характерные черты теряются. Кровоснабжение цементной железы прекращается. Однако фагоцитирующих клеток поблизости не было обнаружено ни на одной стадии дальнейшего развития. Она остается окруженной эктодермой на протяжении всего своего жизненного цикла в 10–12 дней при комнатной температуре (Uehlinger et al., 1971; Lyerla, Pelizzari, 1973; Van Evercooren, Picard, 1978).

Наблюдение за развитием цементной железы обнаружило определенную автономность этого органа (Lyerla, 1975). Так, было описано развитие эктодермы цементной железы *Xenopus laevis*, культивируемой как эпидермальные везикулы, взятые на стадии нейрулы. Жизненный цикл экспланированной железы проходил почти параллельно с таковым у целого зародыша. Клетки увеличивались в размере, секретировали слизь и большую часть пигментных гранул и затем угасали. Вся последовательность событий занимала 16–21 день при 18°C. Изучаемые везикулы внешне не менялись после старения железистых клеток и оставались живыми на протяжении 35-и дней культивирования. Автор делает вывод, что развитие цементной железы может происходить нормально в отсутствие какого-либо влияния зародыша и является независимой цепью событий, происходящих с клетками железы, которые, однако, уже начали дифференцировку на стадии нейрулы (Lyerla, 1975).

Остается не ясным, происходит ли запрограммированная гибель клеток цементной железы. В связи с этим интересен летальный мутант развития *Xenopus DCG* (*degeneration of cement gland*). Гомозиготные мутанты легко идентифицируются на стадии 29–30 по отсутствию развития полноценной цементной железы. На последующих стадиях цементная железа дегенерирует, как и, вероятно, другие органы, и на 45-й стадии наступает смерть (обзор с каталогом мутаций *Xenopus laevis* Droin, 1992).

ГЕНЫ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕСЯ ПРЕИМУЩЕСТВЕННО В КЛЕТКАХ ЦЕМЕНТНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Гены XCG, XAG, XA

Чтобы установить точное время и место появления цементной железы в развитии *Xenopus*, был проведен поиск генов, экспрессирующихся специфично в этом органе. Были получены три к-ДНК клона XCG2, 7 и 13 и показано, что эти к-ДНК гибридизуются с РНК, выделенной из головной области зародыша, но не из туловища (Jamrich, Sato, 1989). Экспрессия гена XCG 13 наблюдалась лишь в области цементной железы и появлялась на стадии 12, когда ни одна область нервной пластинки не определялась. Если ген XCG 13 обнаруживается на протяжении всего развития железы, то гены XCG 2 и XCG 7 – лишь начиная со стадии 25. Позже их экспрессия обнаруживается и в других органах – глотке, пищеводе и слуховых везикулах. Кроме того, авторы показали, что в результате индукции формирования цементной железы на анимальных эксплантах с помощью раствора 10 мМ хлористого аммония (Picard, 1975a, b) наблюдалась значительная активация экспрессии всех трех генов. Контролем служило поведение эпидермального цитокератина XK 81, чья экспрессия спадала в результате такой обработки.

Анализ генов, экспрессирующихся в клетках цементной железы *Xenopus*, проводили и в других лабораториях. Эквивалентом XCG 13 (Jamrich, Sato, 1989) считают ген XCG (Sive et al., 1989; Sive, Bradley, 1996), кодирующий муциноподобный белок и экспрессирующийся исключительно в клетках цементной железы. Ген XAG (эквивалент XCG 7) экспрессируется интенсивно в клетках цементной железы и менее интенсивно в железе вылупления. Ген XA, возможно идентичный XCG 2 (Jamrich, Sato, 1989), также кодирует секретлируемый белок, его экспрессия ассоциирована лишь с клетками задней части цементной железы, что подтверждает сложность ее строения (Hemmati-Brivanlou et al., 1990). У взрослого *Xenopus* эти гены экспрессируются только в желудке (Baldessari et al., 2005).

При более детальном исследовании гена XAG (Aberger et al., 1998) выяснилось, что он представлен двумя псевдоаллелями XAG 1 и XAG 2, имеющими 35% различий в N-концевой области длиной 40 нуклеотидов. Авторы показали, что лишь XAG 2 отвечает за специфичность развития передней эктодермы у *Xenopus*. В той же работе было показано, что на стадии поздней гаструлы м-РНК XAG2, а следовательно, и клетки будущей цементной железы, обнаруживаются точно в переднем отделе дорзальной эктодермы. К началу нейруляции м-РНК XAG2 обнаруживается на границе между дорзальной и вентральной областями эктодермы, в районе закладки железы.

Маркер XAG2 также позволил проследить развитие цементной железы при таких воздействиях, как искусственные дорзализация зародыша с помощью обработки раствором хлористого лития (Abe, Ohzu, 1987) или вентрализация с использованием ультрафиолета (Scharf, Gerhart, 1983). Так, обработка раствором хлористого лития приводила к значительному расширению зоны экспрессии XAG2 к заднему концу зародыша, а облучение ультрафиолетом, напротив, сужало эту зону до небольшой группы клеток на самом переднем конце зародыша.

В недавней работе с мышинным гомологом *agr2* (Park S.-W. et al., 2009) определено, что продукт этого гена – не сама муциноподобная слизь, а фермент дисульфид изомеразы, цистеинбогатый гликопротеин, который из слизи формирует защитный гель, выстилающий слизистые оболочки. Недостаток работы этого гена у мышей не снижает их выживаемости, однако мыши в результате страдают колитами. Остаток цистеина в тиреодоксинподобном домене AGR2 способствует образованию дисульфидных связей в молекулах муцина, т.е. участвует в посттрансляционном его процессинге. Муцины – это полипептиды длиной от 322 до 13280 аминокислотных остатков, содержащие на всем протяжении цистеинбогатые участки (обзоры Perez-Vilar, Hill, 1999; Perez-Vilar, Mabolo, 2007). Образование внутри- и межмолекулярных дисульфидных связей существенно для формирования третичной и четвертичной структур этих секреторных белков.

Ген Xotx2

Одним из кандидатов в регуляторные гены цементной железы *Xenopus laevis* стал гомеобоксный ген *Xotx2* – свойственный позвоночным гомолог мушиного гена *otd* (*orthodentical*), отвечающего за правильное развитие головных структур (Cohen, Jürgens, 1990; Finkelstein, Perrimon, 1990). *Xotx2* был клонирован и показано, что он начинает экспрессироваться в ранней гаструле в дорзальной мезодерме и слабее в дорзальной эктодерме, однако к поздней гаструле м-РНК *Xotx2* обнаруживается в широкой антеро-дорзальной области зародыша, включая область будущих переднего мозга и цементной железы (Blitz, Cho, 1995; Pannese et al., 1995). Ретиноевая кислота, которая препятствует развитию цементной железы (Durstun et al., 1989; Sive et al., 1990) ингибировала экспрессию *otx2* (Pannese et al., 1995; Simeone et al., 1995), что также указывало на связь *otx2* с цементной железой. Для того, чтобы определить, как регулируется активность *otx2* в пространстве и времени, и непосредственно ли *otx2* активировал экспрессию маркерных генов цементной железы, было исследовано поведение гормон-индуцибельного рекомбинантного

otx2-GR (Gammill, Sive, 1997). Было установлено, что, во-первых, существуют некие кофакторы, моделирующие активность *otx2*, поскольку *otx2-GR* активирует экспрессию генов цементной железы только в вентро-латеральной области эктодермы и никогда в нервной ткани. Во-вторых, авторы определили, что время, в течение которого эктодерма способна отреагировать на действие *otx2-GR*, ограничено. Максимальная компетентность эктодермы приходится лишь на период средней гастрюлы, когда теряется способность воспринимать сигналы мезодермы. В-третьих, было определено, что гены цементной железы *XCG* и *XAG*, а также эндогенный *otx2*, являются мишенями действия *otx2-GR*, причем ген *XCG* может активироваться в отсутствие синтеза белка. И, в-четвертых, показано, что, по меньшей мере, частично ингибиторный эффект ретиноевой кислоты на развитие цементной железы объясняется прекращением экспрессии *otx2* (Gammill, Sive, 1997, 2000). Интересно, что гомолог *Xotx2 Ecotx2* был идентифицирован у листовой лягушки с прямым развитием *Eleutherodactylus coqui*, клонирован, и показано, что топографически его экспрессия не выходит за пределы нервной пластинки. Следовательно, у зародышей *Eleutherodactylus coqui* не формируется цементная железа из-за отсутствия экспрессии гена *otx2* в соответствующей области (Fang, Elinson, 1999). Однако остается не ясным, какие факторы модулируют активность *Xotx2*, отвечающего за расположение цементной железы в том месте, где ей положено быть.

Гены *Xpitx*

В развивающейся цементной железе *Xenopus* помимо *Xotx2* были обнаружены гены *Xpitx* из семейства регуляторных гомеобоксных генов (Holleman, Pieler, 1999; Schweickert et al., 2001a, b; Dickinson, Sive, 2007). Ген *pitx1* первоначально был идентифицирован как тканеспецифичный регулятор транскрипции гена проопиомеланокортина в гипофизе *Drosophila* (Lamonerie et al., 1996). Было показано, что на стадии 26–32 эти белки обнаруживаются и в железистом, и в базальном слоях цементной железы, однако позже лишь в базальном слое, в котором располагаются иннервирующие этот орган волокна. Подобно гомеобоксным белкам *otx*, белки *pitx* у позвоночных содержат ДНК-связывающий домен из 60 аминокислот, образующий достаточно консервативную структуру спираль–поворот–спираль (*helix–turn–helix*), в которой последняя спираль взаимодействует с ДНК и отвечает за специфичность узнавания ее последовательности (Poulin et al., 2000). Гиперэкспрессия *Xpitx1* приводит к разрастанию цементной железы или восстановлению ее размера после действия ретиноевой кислоты (Chang et al., 2001).

Чтобы установить, какие еще факторы обеспечивают дифференцировку цементной железы *Xenopus* был проанализирован промотор гена *XAG* (Wardle et al., 2002). Авторы показали, что в нем области связывания факторов транскрипции Ets и ATF/CREB существенны для экспрессии этого гена. Однако сами эти факторы транскрипции не были обнаружены в клетках цементной железы. При анализе различных конструкций промоторной области *XAG* выяснилось, что введение *Otx2* гена не вызывало экспрессии *XAG*, если часть промотора, содержащая область связывания фактора CREB, была удалена. Таким образом был установлен сайт действия *Xotx2*. Интересно, что сайта связывания белков *Xpitx* в промоторной области гена *XAG* авторы не обнаружили.

Проведен анализ изменений экспрессии генов *XCG*, *XAG* и *Xotx2* при изучении последствий действия на зародыши *Xenopus laevis* повышенной гравитации (Kawakami et al., 2006). Показано, что повышение силы тяжести в 2–5 раз приводило, во-первых, к замедлению развития, микроцефалии и микроофтальмии; во-вторых, подавлению экспрессии генов *XAG* в цементной железе и *Xotx2* в мозгу и глазах и, в-третьих, к усиленному апоптозу нервной ткани. Снижение гравитации (микроG на стадиях 11–45), получаемое при космических полетах или экспериментально в лаборатории (Olson et al., 2010), также вызывало задержку развития, удлинение хвоста, изменения в легких и хрящах головы. Однако при “возвращении на Землю” нормальное развитие восстанавливалось. Авторы полагают, что большинство этих изменений было вызвано вибрацией, резкими перепадами давления, а не снижением силы тяжести как таковым.

Некоторые другие гены, экспрессия которых обнаружена в клетках цементной железы *Xenopus laevis*, представлены в таблице 1.

РЕГУЛЯЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ И РАЗВИТИЯ ЦЕМЕНТНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Рассмотрению индуцирующих и ингибирующих сигналов, которые определяют формирование и местоположение цементной железы у *Xenopus laevis*, посвящено несколько обзоров (Sive, Bradley, 1996; Wardle, Sive, 2003; De Robertis, 2006).

Выбор клетками зародышевой эктодермы судьбы эпидермальных клеток происходит под влиянием белков BMP. Роли этих белков в раннем развитии *Xenopus* посвящен обзор Дейла и Джонса (Dale, Jones, 1999). BMP1 – металлопротеиназа, родственная ферменту *UVS.2* в железе вылупления *Xenopus laevis* (Maeno et al., 1993). Остальные BMP – это члены подсемейства трансформирующих ростовых факторов (*Transforming Growth Factors beta (TGFbeta)*), секретлируемые сигнальные молекулы.

Таблица 1. Некоторые гены, экспрессия которых обнаружена в цементной железе *Xenopus laevis*, помимо генов *Xcg*, *Xag*, *Xa*, *Xotx2* и *Xpitx*

Название гена	Продукт гена	Стадия обнаружения	Функции в цементной железе	Литература
<i>XK 70</i>	цитокератин эпидермальный	с гастролы	развитие цитоскелета	LaFlamme, Dawid, 1990
<i>XK endo B</i>	цитокератин неэпидермальный	с 23	развитие цитоскелета	LaFlamme, Dawid, 1990
<i>XNIF</i>	белок нейрофиламентов	с 24	развитие нейронов	Charnas et al., 1992
<i>Beta-catenin</i>	бета-катенин	с 24	поддерживает клетки вместе	Fagotto, Gumbiner, 1994
<i>Xgal VIa</i>	галектин <i>VIa</i>	с 24	адгезия клеток	Michiue et al., 2007
<i>Xbdnf</i>	нейротрофин <i>BDNF</i>	с нейрулы	указание конечной точки роста аксона	Huang et al., 2007
<i>Xcntn-1</i>	контактин 1	со стадии хвостовой почки	нейрональные молекулы узнавания	Fujita, Nagata, 2007
<i>Xinsm1</i>	фактор транскрипции <i>IA1</i>	с нейрулы	участие в формировании норадренергических нейронов	Parlier et al., 2008
<i>Xcerc1</i>	фактор роста, родственник аденозин дезаминазе	с нейрулы	участие в нейро- и ангиогенезе (?)	Iijima et al., 2008
<i>Nocturnin</i>	деаденилаза ген циркадного ритма	19–25	(?)	Baggs, Green, 2003
<i>xBmal1</i> , <i>xPer2</i>	гены циркадного ритма	25–32	(?)	Curran et al., 2008
<i>Xcxcl14</i>	хемокин <i>CXCL14</i>	20–40	обеспечение движения лейкоцитов к очагу воспаления и клеток в эмбриогенезе (?)	Park B.Y. et al., 2009
<i>Xglut1</i>	мембранный переносчик глюкозы	с нейрулы	энергообеспечение клеток (?)	Kuzawa et al., 2007
<i>Xару</i>	апираза	с нейрулы	гидролизует УТФ и УДФ с образованием энергии	Devader et al., 2006
<i>Альфа-цепей ламинина</i>	компонент основных мембранных гликопротеинов	с 25	(?)	Ahmad, 2009
<i>xIHAS3</i>	гиалуронан-синтаза 3	с нейрулы	синтез гиалуронана	Vigetti et al., 2003

Нервная ткань может сформироваться из эктодермы лишь там, где та защищена от эпидермальной индукции (Hemmati-Brivanlou, Melton, 1997). Такой защитой служат BMP-антагонисты – *noggin*, *chordin*, *Nodal-Related-3 (Xnr-3)*, *follistatin* – белки, секретируемые клетками дорзальной губы бластопора (организатора Шпеманна-Мангольд), и связывающие BMP в межклеточном пространстве, препятствуя их связыванию с рецепторами. Антагонисты BMP вблизи Организатора оказывают сильнейшее ингибирующее действие, которое ослабевает с расстоянием. В дорзальной области активность BMP минимальна, и образуется нервная ткань; там, где активность BMP максимальна, образуется эпидермис; там, где некий промежуточный уровень активности, – формируется цементная железа. Однако простой диффузией анта-

гонистов BMP из места синтеза в стороны нельзя объяснить локальность их действия при образовании цементной железы. Были предприняты попытки точнее разобраться, как формируется градиент активности BMP (например, De Robertis, Kuroda, 2004).

При изучении рецепторов BMP выяснилось, что в эту сложную структуру входит серин-треониновая протеинкиназа. Рецептор, связавшись с BMP, фосфорилирует сериновые остатки в С-области ДНК-связывающего белка *Smad1* (Liu et al., 1996), активируя его, т.е. обеспечивая его активность как фактора транскрипции. Далее *Smad1* должен образовать комплекс со *Smad4* для перехода в ядро (Schmiereg, Hill, 2007). Возможно, что количественное и временное дозирование сигнала

ВМР происходит на уровне регуляции активности Smad. Известно, что активность Smad4 не контролируется фосфорилированием, однако, существует убихитин-лигаза Smad4 (Izzi, Attisano, 2006). Убихитинирование, как и фосфорилирование, процесс обратимый, так как существует целое семейство (*DUBs*) деубихитинирующих ферментов (Nijman et al., 2005). Для *Xenopus* (и человека) был идентифицирован такой фермент *FAM/USP9x*, аналог *Drosophila Fat Facets* (Dupont et al., 2009). Биохимически это можно объяснить так. Некая убихитин-лигаза, например, *Ectoderm/Tif1gamma (Ecto)* присоединяет убихитин к *Smad4*, инактивируя его (Dupont et al., 2005), а *FAM* освобождает *Smad4* от убихитина, тем самым снимая блокировку со всего ВМР сигнала. Приведенная схема объясняет и опубликованные ранее данные о том, что *E3* убихитин-лигаза *GREUL1* способствует роstralизации дорзальной эктодермы у зародышей *Xenopus* (Borchers et al., 2002). Авторы показали, что гиперэкспрессия ортолога *Goliath Related E3 Ubiquitin Ligase 1 (GREUL1)* *Drosophila* у зародышей *Xenopus laevis* может косвенно индуцировать развитие цементной железы, о чем свидетельствует экспрессия генов *XAG* и *Hotx2*. Таким образом, можно предположить, что работа этой *E3* убихитин-лигазы и ее ингибитора обеспечивает промежуточный уровень ВМР сигнала, необходимый для формирования цементной железы.

Известно, что диссоциация клеток эктодермы *Xenopus* в течение нескольких часов сама по себе приводит к приобретению ими черт нервных клеток (Grunz, Tacke, 1989; Wilson, Hemmati-Brivanlou, 1995). Выяснилось, что утрата межклеточных связей приводит к активации митогенактивируемой протеинкиназы (*MAPK*), которая фосфорилирует Smad1, что приводит к потере этим белком активности фактора транскрипции (Kuroda et al., 2005), или вовсе к деградации после убихитинирования (Sarkota et al., 2007). При нормальном эмбриогенезе фосфорилирование Smad1 киназой *MAPK* является следствием действия тирозиновых киназ рецепторов факторов роста фибробластов *FGF* (Weaver et al., 2000) и рецепторов инсулиноподобных факторов роста *IGF* (Richard-Parpaillon et al., 2002). Это приводит к прерыванию сигнала ВМР к формированию эпидермиса и в итоге дает свободу для развития нервной ткани и/или цементной железы. Введение м-РНК *IGF* в зародыш на стадии двух бластомеров приводило к индукции экспрессии гена *Xag* в эктодермальных эксплантах.

Формирование нервной ткани и цементной железы у зародыша *Xenopus* ограничивается помимо ВМР действием белков семейства гликопротеинов *Wnt*. Одним из антагонистов *Wnt* служит белок *segrberus*, который может связывать и ВМР4, и *Xwnt8*, способствует формированию цементной железы,

глаз и обонятельных плакоидов (Glinka et al., 1997; Piccolo et al., 1999) и завершает индукцию формирования головных структур зародыша (Bouwmeester et al., 1996; Kuroda et al., 2004). *Wnt*-регуляция осуществляется через ингибирование киназы 3 гликогенсинтазы *GSK3* (обзор Logan, Nusse, 2004). Было обнаружено, что *Smad1/5/8* у позвоночных после первичного фосфорилирования *MAPK* может быть фосфорилирован *GSK3*, что существенно для работы *E3* убихитин-лигазы (Fuentealba et al., 2007). Таким образом, определенный промежуточный уровень ВМР сигнала, необходимый для формирования цементной железы у зародышей *Xenopus*, обеспечивается тремя последовательными процессами фосфорилирования *Smad1* — сначала рецепторами ВМР, далее — *MAPK*, потом — *GSK3*. При этом лишь первое фосфорилирование способствует проведению сигнала, а последующие — его ограничению.

Ингибирующим развитие цементной железы действием обладает и ретиноевая кислота (Sive, Cheng, 1991; Sive, Bradley, 1996). Изучение мутации в гене ретиноидного рецептора позволило установить, что эндогенные ретиноиды отвечают за развитие задних структур зародыша и препятствуют расползанию клеток цементной железы далее к спине. Был выяснен механизм такого сдерживания. Роль репрессора выполняют сами рецепторы ретиноевой кислоты (Koide et al., 2001). Рецепторы связываются с ДНК и, если лиганда нет, то образуется некий комплекс, который деацетилюет гистоны. В результате происходит конденсация хроматина в этой области и репрессия транскрипции генов-мишеней. Если лиганд есть, то образуется комплекс коактиваторов, гистоны ацетилюются, их сродство к ДНК падает и транскрипция разрешается. Таким образом, если ретиноевая кислота свяжется со своими рецепторами, произойдет дерепрессия генов задних структур, а цементная железа редуцируется.

Индуктировать развитие цементной железы в эпидермисе зародыша можно 10 мМ раствором хлористого аммония (Picard, 1975a, b). Синтез эпидермального цитокератина и X-эпилектина при этом угнетается (Jamrich, Sato, 1989; Massé et al., 2004). Показано также, что если эктодерма уже обработана индуктором нервной ткани 12-о-тетрадеканойл форбол-13-ацетатом (*TPA*), то в такой нейтральной ткани хлористый аммоний не может индуцировать развитие цементной железы. Однако из клеток цементной железы получить нервную ткань обработкой *TPA* возможно (Sotgia et al., 1998).

Так, на основании имеющихся в литературе данных, примерную схему индукции формирования цементной железы у зародышей *Xenopus laevis* можно представить следующим образом. Белки

ВМР оказываются в области будущей цементной железы. Часть из них преодолевают линию обороны ВМР-антагонистов в межклеточном пространстве и связываются со своими рецепторами. Комплекс ВМР–рецептор фосфорилирует часть молекул белка *Smad1* по серину, обеспечивая его активацию. Часть молекул *Smad1* будет фосфорилирована *MAP*-киназой, затем фосфорилирована *GSK3*, убихитинирована и расщеплена, если этому не помешает WNT-сигналинг. Фосфорилированный по серину *Smad1* связывается с белками *Smad4*. Если не пойдёт дело их убихитинирования и расщепления, то эти комплексы активируют промотор гена *Hox2*. Затем фактор транскрипции *XOTX2* активирует транскрипцию собственного гена, гена *Xagr2* и других генов цементной железы, если этому не помешают ретиноевые рецепторы. При таком стечении обстоятельств может сформироваться цементная железа. Однако даже в этой грубой схеме должно быть место неким агентам обратной связи, “дозированным” активностью модифицирующих ферментов и ретиноидных рецепторов, чтобы это не было случайным процессом.

ОТ АДГЕЗИИ ЦЕМЕНТНОЙ ЖЕЛЕЗЫ К АДГЕЗИИ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Следует заметить, что интерес к изучению генов, экспрессирующихся в клетках цементной железы лягушки *Xenopus laevis*, не ограничивается областью эмбриологии бесхвостых амфибий. В заключении к своей работе исследователи генов *XAG* предсказали, что главной целью будущих экспериментов станет идентификация генов, родственных *XAG2*, у амниот и млекопитающих (Aberger et al., 1998). Действительно, в библиотеке к-ДНК, представляющих м-РНК, интенсивно экспрессирующихся в клетках злокачественных опухолей человека, обнаружена к-ДНК к м-РНК, которая экспрессируется в клетках карциномы груди, но не в клетках доброкачественной опухоли груди. Эта к-ДНК имеет кодирующую последовательность, идентичную таковой гена *anterior gradient 2 (AGR2)*, человеческого гомолога лягушачьего гена цементной железы (Liu et al., 2005). Экспрессирующий вектор, несущий этот ген, вводили в клетки доброкачественной нематазирующей опухоли молочной железы крысы, а суспензию полученных клонов клеток переносили в молочную железу здорового животного. В результате образующиеся опухоли не отличались от контрольных по срокам развития. Однако у животных с перевитыми опухолями, несущими ген *AGR2*, обнаруживались метастазы в легких. Предполагается, что именно этот ген, кодирующий дисульфид изомеразу (Park S.-W. et al., 2009), обуславливает повышенную способность клеток к адге-

зии. Эти эксперименты впервые показали наличие связи продукта гена, экспрессирующегося при эмбриогенезе, с метастазированием *in vivo* (Liu et al., 2005).

Аналог этого же гена *Xenopus laevis* был найден в жабрах атлантической семги, страдающей амёбидной болезнью жабр (Morrison, Nowak, 2008). Иммуногистохимический анализ срезов жабр показал, что продукт этого гена в большом количестве присутствует в клетках, образующих слизь, но не в самих слизевых гранулах. Авторы также обратили внимание на то, что в литературе описано много примеров непосредственной связи экспрессии этих генов со злокачественностью опухолей преимущественно эпителиального или железистого происхождения.

При изучении эпителия так называемого “пищевода Барретта” (следствия гастроэзофагиальной рефлюксной болезни) оказалось, что у больных часть клеток плоского эпителия нижнего отдела пищевода замещается клетками цилиндрического секреторного эпителия желудка или клетками всасывающего эпителия тонких кишок. В первом случае слизь, выделяемая новыми клетками желудка, защищает пищевод от забрасываемой из желудка кислоты, а во втором – клетки тонкого кишечника образуют аденокарциномы. И в том, и другом случае состояние больного считается предраковым. Было подтверждено, что в случае замещения плоскоклеточного эпителия пищевода клетками цилиндрического эпителия в результате рефлюксной болезни только в клетках “пищевода Барретта” экспрессируется ген *AGR2* (Groome et al., 2008). Авторы предложили использовать этот ген в качестве маркера заболевания.

Белок *AGR2* был обнаружен в среде инкубации клеток рака поджелудочной железы (Ramachandran et al., 2008). Недавно была выявлена роль гиперэкспрессии белка *AGR 2* в развитии метастазирующего рака простаты (Zhang et al., 2005; Zhung et al., 2010). В обоих случаях гиперэкспрессия этого белка была ассоциирована с повышением выживаемости, подвижности и инвазивности раковых клеток и понижением чувствительности к химиопрепарату гемцитабину (в случае рака поджелудочной железы). Механизм этого явления пока точно не установлен, однако показано, что этот белок, возможно, инактивирует супрессор опухоли белок *p53*, препятствуя его фосфорилированию (Pohler et al., 2004). Можно также предположить, что этот секретлируемый белок неким образом модифицирует окружение или оболочки раковых клеток, делая их не узнаваемыми для иммунной системы организма. Было предложено использовать этот белок как маркер клеток метастазирующих опухолей в периферической крови у людей (Smirnov et al., 2005).

Таблица 2. Гомологи гена *Xag2 Xenopus laevis* (база данных NCBI)

Название белка	Название гена	Организм	Длина (АК)
Anterior gradient protein 1	<i>ag1 (ag)</i>	<i>Xenopus laevis</i> (африканская шпорцевая лягушка)	183
Anterior gradient protein 1	<i>ag1</i>	<i>Xenopus tropicalis</i> (западная шпорцевая лягушка) (<i>Silurana tropicalis</i>)	187
Anterior gradient protein 2	<i>ag2 (np77)</i>	<i>Xenopus laevis</i>	185
Anterior gradient protein 2	<i>agr2 (TNeu048m19.1)</i>	<i>Xenopus tropicalis (Silurana tropicalis)</i>	164
Anterior gradient protein 2 homolog	<i>agr2 (si:ch211-201m19.5) (wu:fj29g05) (zgc:112187)</i>	<i>Danio rerio</i> (данио) (<i>Brachydanio rerio</i>)	171
Anterior gradient protein 2 homolog	<i>AGR2 (AG2) (UNQ515/PRO1030)</i>	<i>Homo sapiens</i> (человек)	175
Anterior gradient protein 2 homolog	<i>Agr2 (Gob4)</i>	<i>Mus musculus</i> (мышь)	175
Anterior gradient protein 2 homolog	<i>AGR2</i>	<i>Pongo abelii</i> (суматранский орангутан)	175
anterior gradient homolog	<i>AGR2</i>	<i>Bos taurus</i> (дикий бык)	175
anterior gradient homolog 2	<i>AGR2</i>	<i>Canis lupus familiaris</i> (собака домашняя)	175
anterior gradient homolog 2	<i>Agr2</i>	<i>Rattus norvegicus</i> (серая крыса)	175
anterior gradient homolog 2	<i>AGR2</i>	<i>Gallus gallus</i> (индийский петух)	172
Anterior gradient protein 2-A	<i>agr2-A (agr2)</i>	<i>Xenopus laevis</i>	159
Anterior gradient protein 2-B	<i>agr2-B (agr2)</i>	<i>Xenopus laevis</i>	164
Anterior gradient protein 3	<i>agr3</i>	<i>Xenopus tropicalis (Silurana tropicalis)</i>	164
Anterior gradient protein 3 homolog	<i>AGR3 (BCMP11) (UNQ642/PRO1272)</i>	<i>Homo sapiens</i>	166
Anterior gradient protein 3 homolog	<i>Agr3</i>	<i>Mus musculus</i>	165

Гомологи гена *Xag2 Xenopus laevis*, идентифицированные и у некоторых других организмов, представлены в таблице 2.

Работа поддержана грантом РФФИ 09-04-00276.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Десницкий А.Г. Эволюционные преобразования онтогенеза у бесхвостых амфибий // Онтогенез. 2004. Т. 35. № 3. С. 165–170.
- Abe N., Ohzu E. Differentiation of Hatching Gland Cells in the from Anuran Embryos treated by LiCl // Proc. Japan Acad. 1987. V. 63. № 7. Ser. B. P. 261–264.
- Aberger F., Weidinger G., Grunz H. et al. Anterior specification of embryonic ectoderm: the role of the *Xenopus* cement gland-specific gene *XAG-2* // Mech. Dev. 1998. V. 72. №. 1–2. P. 115–130.
- Ahmad N. Temporal and spatial expression pattern of four laminin Alpha chains in *Xenopus laevis* // J Biol Sci. 2009. V. 9. № 2. P. 128–136.
- Baggs J.E., Green C.B. Nocturnin, a deadenylase in *Xenopus laevis* retina: a mechanism for posttranscriptional control of circadian-related mRNA // Curr. Biol. 2003. V. 13. № 3. P. 189–198.
- Baldessari D., Shin Y., Krebs O. et al. Global gene expression profiling and cluster analysis in *Xenopus laevis* // Mech. Dev. 2005. V. 122. № 3. P. 441–475.
- Blitz I., Cho K. Anterior neurectoderm is progressively induced during gastrulation: the role of the *Xenopus* homeobox gene orthodenticle // Development 1995. V. 121. P. 993–1004.
- Boothby K.M., Roberts A. The stopping response of *Xenopus laevis* embryos: behaviour, development and physiology // J. Comp. Physiol. 1992a. V. 170. № 2. P. 171–180.
- Boothby K.M., Roberts A. The stopping response of *Xenopus laevis* embryos: pharmacology and intracellular physiology of rhythmic spinal neurones and hindbrain neurones // J. Exp. Biol. 1992b. V. 169. P. 55–86.
- Borchers A.G., Hufton A.L., Eldridge A.G. et al. The E3 ubiquitin ligase GREUL1 anteriorizes ectoderm during *Xenopus* development // Dev. Biol. 2002. V. 251. № 2. P. 395–408.
- Bouwmeester T., Kim S., Sasai Y. et al. Cerberus is a head-inducing secreted factor expressed in the anterior endoderm of Spemann's organizer // Nature. 1996. V. 382. P. 595–601.
- Chang W., KhosrowShahian F., Chang R. et al. xPitx1 plays a role in specifying cement gland and head during early *Xenopus* development // Genesis. 2001. V. 29. № 2. P. 78–90.
- Charnas L.R., Szaro B.G., Gainer H. Identification and developmental expression of a novel low molecular weight neuronal intermediate filament protein expressed in *Xenopus laevis* // J. Neurosci. 1992. V. 12. P. 3010–3024.

- Cohen S., Jürgens G. Mediation of *Drosophila* head development by *gap*-like segmentation genes // Nature. 1990. V. 346. P. 482–485.
- Curran K.L., LaRue S., Bronson B. et al. Circadian genes are expressed during early development in *Xenopus laevis* // PLoS One. 2008. V. 3. № 7. P. e2749.
- Dale L., Jones M.C. BMP signalling in early *Xenopus* development // BioEssays 1999. V. 21. P. 751–760.
- Davies S.N., Kitson D.L., Roberts A. The development of the peripheral trigeminal innervation in *Xenopus* embryos // J. Embryol. Exp. Morph. 1982. V. 70. P. 215–224.
- De Robertis E.M. Spemann's organizer and self-regulation in amphibian embryos // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2006. V. 7. № 4. P. 296–302.
- De Robertis E.M., Kuroda H. Dorsal-ventral patterning and neural induction in *Xenopus* embryos // Annu Rev. Cell. Dev. Biol. 2004. V. 20. P. 285–308.
- Devader C., Webb R.J., Thomas G.M. et al. *Xenopus* apyrase (Xapy), a secreted nucleotidase that is expressed during early development // Gene. 2006. V. 15. № 367. P. 135–141.
- Dickinson A., Sive H. Positioning the extreme anterior in *Xenopus*: Cement gland, primary mouth and anterior pituitary // Seminars in Cell & Developmental Biology. 2007. V. 18. № 4. P. 525–533.
- Dröin A. The developmental mutants of *Xenopus* // Int. J. Dev. Biol. 1992. V. 36. № 4. P. 455–64.
- Drysdale T., Elinson R. Cell migration and induction in the development of the surface ectodermal pattern of the *Xenopus laevis* tadpole // Dev. Growth Differ. 1992. V. 34. P. 53–59.
- Dupont S., Zacchigna L., Cordenonsi M. et al. Germ-layer specification and control of cell growth by Ectodermin, a Smad4 ubiquitin ligase // Cell. 2005. V. 121. P. 87–99.
- Dupont S., Mamidi A., Cordenonsi M. et al. FAM/USP9x, a deubiquitinating enzyme essential for TGFβ signaling, controls Smad4 monoubiquitination // Cell. 2009. V. 136. № 1. P. 123–135.
- Durston A., Timmermans J., Jage W. et al. Retinoic acid causes an anteroposterior transformation in the developing central nervous system // Nature. 1989. V. 340. P. 140–144.
- Fagotto F., Gumbiner B.M. gb-cutenin localization during *Xenopus* embryogenesis: Accumulation at tissue and somite boundaries // Development. 1994. V. 120. P. 3667–3679.
- Fang H., Elinson R.P. Evolutionary Alteration in anterior patterning: *otx2* expression in the direct developing frog *Eleutherodactylus coqui* // Dev. Biol. 1999. V. 205. P. 233–239.
- Finkelstein R., Perrimon N. The orthodenticle gene is regulated by bicoid and torso and specifies *Drosophila* head development // Nature. 1990. V. 346. P. 485–488.
- Fuentealba L.C., Eivers E., Ikeda A. et al. Integrating patterning signals: Wnt/GSK3 regulates the duration of the BMP/Smad1 signal // Cell. 2007. V. 131. № 5. P. 980–993.
- Fujita N., Nagata S. Contactin 1 knockdown in the hindbrain induces abnormal development of the trigeminal sensory nerve in *Xenopus* embryos // Dev. Genes Evol. 2007. V. 217. № 10. P. 709–713.
- Gammill L.S., Sive H. Coincidence of *otx2* and BMP4 signaling correlates with *Xenopus* cement gland formation // Mech. Dev. 2000. V. 92. № 2. P. 217–226.
- Gammill L.S., Sive H. Identification of *otx2* target genes and restrictions in ectodermal competence during *Xenopus* cement gland formation // Development. 1997. V. 124. P. 471–481.
- Glinka A., Wu W., Onichtchouk D. et al. Head induction by simultaneous repression of Bmp and Wnt signalling in *Xenopus* // Nature. 1997. V. 389. P. 517–519.
- Groome M., Lindsay J., Ross P.E. et al. Use of oesophageal stress response proteins as potential biomarkers in the screening for Barretts oesophagus // 2008. V. 20. № 10. P. 961–965.
- Grunz H., Tacke L. Neural differentiation of *Xenopus laevis* ectoderm takes place after disaggregation and delayed re-aggregation without inducer // Cell Differ. Dev. 1989. V. 28. P. 211–217.
- Harrison R.G. The development of the balancer in amblystoma, studied by the method of transplantation and in relation to the connective tissue problem // J. Exp. Zool. 1925. V. 41. P. 349–427.
- Hartenstein V. Early neurogenesis in *Xenopus*: The spatiotemporal pattern of proliferation and cell lineages in the embryonic spinal cord // Neuron. 1989. V. 3. P. 399–411.
- Hemmati-Brivanlou A., Frank D., Bolce M. et al. Localization of specific mRNAs in *Xenopus* embryos by whole-mount in situ hybridization // Development. 1990. V. 110. P. 325–330.
- Hemmati-Brivanlou A. and Melton D. Vertebrate embryonic cells will become nerve cells unless told otherwise // Cell. 1997. V. 88. P. 13–17.
- Holleman T., Pieler T. *Xpitx-1*: a homeobox gene expressed during pituitary and cement gland formation of *Xenopus* embryos // Mechanisms of Development. 1999. V. 88. P. 249–252.
- Huang J.K., Dorey K., Ishibashi S. et al. BDNF promotes target innervation of *Xenopus* mandibular trigeminal axons *in vivo* // BMC Dev. Biol. 2007. V. 7. P. 59.
- Jamrich M., Sato S. Differential gene expression in the anterior neural plate during gastrulation of *Xenopus laevis* // Development. 1989. V. 105. P. 779–786.
- Iijima R., Kunieda T., Yamaguchi S. et al. The extracellular adenosine deaminase growth factor, ADGF/CECR1, plays a role in *Xenopus* embryogenesis via the adenosine/P1 receptor // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. № 4. P. 2255–2264.
- Izz L., Attisano L. Ubiquitin-dependent regulation of TGFβ signaling in cancer // Neoplasia. 2006. V. 8. P. 677–678.
- Kawakami S., Kashiwagi K., Furuno N. et al. Effects of hypergravity environments on amphibian development, gene expression and apoptosis // Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 2006. V. 145. № 1. P. 65–72.
- Koide T., Downes M., Chandraratna R.A. et al. Active repression of RAR signaling is required for head formation // Genes Dev. 2001. V. 15. № 16. P. 2111–2112.
- Kolm P., Sive H. Efficient hormone-inducible protein function in *Xenopus laevis* // Dev. Biol. 1995. V. 171. P. 267–272.

- Kuroda H., Fuentealba L., Ikeda A. et al. Default neural induction: neuralization of dissociated *Xenopus* cells is mediated by Ras/MAPK activation // *Genes Dev.* 2005. V. 19. P. 1022–1027.
- Kuroda H., Wessely O., De Robertis E.M. Neural induction in *Xenopus*: requirement for ectodermal and endomesodermal signals via Chordin, Noggin, β -Catenin and Cerberus // *PLoS Biol.* 2004. V. 2. P. 625–634.
- Kuzawa K., Yukita A., Hayata T. et al. *Xenopus* glucose transporter 1 (xGLUT1) is required for gastrulation movement in *Xenopus laevis* // *Int. J. Dev. Biol.* 2007. V. 51. P. 183–190.
- LaFlamme S.E., Dawid I.B. Differential keratin gene expression during the differentiation of the cement gland of *Xenopus laevis* // *Dev. Biol.* 1990. V. 137. P. 414–418.
- Lambert T.D., Howard J., Plant A. et al. Mechanisms and significance of reduced activity and responsiveness in resting frog tadpoles // *J. Exp. Biol.* 2004. V. 207. № 7. P. 1113–1125.
- Lamonerie T., Tremblay J.J., Lanctôt C. et al. Ptx1, a bicoid-related homeobox transcription factor involved in transcription of the pro-opiomelanocortin gene // *Genes Dev.* 1996. V. 10. P. 1284–1295.
- Liu F., Hata A., Baker J.C. et al. A human Mad protein acting as a BMP-regulated transcriptional activator // *Nature.* 1996. V. 381. № 6583. P. 620–623.
- Liu D., Rudland P.S., Sibson D.R. et al. Human homologue of cement gland protein, a novel metastasis inducer associated with breast carcinomas // *Cancer Res.* 2005. V. 65. № 9. P. 3796–3805.
- Logan C.Y., Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2004. V. 20. P. 781–810.
- Lunardi A., Vignali R. *Xenopus Xotx2* and *Drosophila otd* share similar activities in anterior patterning of the frog embryo // *Dev. Genes Evol.* 2006. V. 216. № 9. P. 511–521.
- Lyerla T.A., Pelizzari J.J. Histological development of the cement gland in *Xenopus laevis*: A light microscopic study // *J. Morphol.* 1973. V. 141. P. 491–502.
- Lyerla T.A. In vitro regression of cement gland epithelium from *Xenopus laevis* // *J. Exp. Zool.* 1975. V. 193. № 3. P. 399–405.
- Maeno M., Xue Y., Wood T.I. et al. Cloning and expression of cDNA encoding *Xenopus laevis* bone morphogenic protein-1 during early embryonic development // *Gene.* 1993. V. 134. P. 257–261.
- Massé K., Baldwin R., Barnett M.W. et al. X-epilectin: a novel epidermal fucoselectin regulated by BMP signaling // *Int. J. Dev. Biol.* 2004. V. 48. № 10. P. 1119–1129.
- Michiue T., Danno H., Tanibe M. et al. *Xenopus* galectin-VIa shows highly specific expression in cement glands and is regulated by canonical Wnt signaling // *Gene Expr. Patterns.* 2007. V. 7. № 8. P. 852–857.
- Morrison R.N., Nowak B.F. Immunohistochemical detection of anterior gradient-2 in the gills of amoebic gill disease-affected Atlantic salmon, *Salmo salar* L. // *J. Fish Dis.* 2008. V. 31. V. 9. P. 699–705.
- Nieuwkoop P.D., Faber J. Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin). A systematical and chronological survey of the development from the fertilized egg till the end of metamorphosis. Amsterdam. North Holland Publishing Company, 1967. 252 P.
- Nijman S.M., Luna-Vargas M.P., Velds A. et al. A genomic and functional inventory of deubiquitinating enzymes // *Cell.* 2005. V. 123. № 5. P. 773–786.
- Nokhbatolfoghahai M., Downie J.R. Larval cement gland of frogs: comparative development and morphology // *J. Morphol.* 2005. V. 263. № 3. P. 270–283.
- Olson W.M., Wiens D.J., Gaul T.L. et al. *Xenopus* development from late gastrulation to feeding tadpole in simulated microgravity // *Int. J. Dev. Biol.* 2010. V. 54. P. 167–174.
- Pannese M., Polo C., Andreazzoli M. et al. The *Xenopus* homologue of Otx2 is a maternal homeobox gene that demarcates and specifies anterior body regions // *Development.* 1995. V. 121. P. 707–720.
- Park B.Y., Hong C.S., Sohail F.A. et al. Developmental expression and regulation of the chemokine CXCL14 in *Xenopus* // *Int. J. Dev. Biol.* 2009. V. 53. № 4. P. 535–540.
- Park S.-W., Zhen G., Verhaeghe C. et al. The protein disulfide isomerase AGR2 is essential for production of intestinal mucus // *PNAS.* 2009. V. 106. № 17. P. 6950–6955.
- Parlier D., Ariza A., Christulia F. et al. *Xenopus* zinc finger transcription factor IA1 (Insm1) expression marks anteroventral noradrenergic neuron progenitors in *Xenopus* embryos // *Dev. Dyn.* 2008. V. 237. № 8. P. 2147–2157.
- Pennati R., Bolzern A.M., Gropelli S. et al. The adhesive organs of anura: a histological and molecular study // *Ital. J. Zool.* 2000. V. 67. № 1. P. 1–8.
- Perez-Vilar J., Hill R.L. The structure and assembly of secreted mucins // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 45. P. 31751–31754.
- Perez-Vilar J., Mabolo R. Gel-forming mucins. Notions from *in vitro* studies // *Histol. Histopathol.* 2007. V. 22. № 4. P. 455–464.
- Picard J.J. *Xenopus laevis* cement gland as an experimental model for embryonic differentiation. I // *J. Embryol. Exp. Morph.* 1975a. V. 33. P. 957–967.
- Picard J.J. *Xenopus laevis* cement gland as an experimental model for embryonic differentiation. II // *J. Embryol. Exp. Morph.* 1975b. V. 33. P. 969–978.
- Piccolo S., Agius E., Leyns L. et al. The head inducer Cerberus is a multifunctional antagonist of Nodal, BMP, and Wnt signals // *Nature.* 1999. V. 397. P. 707–710.
- Pohler E., Craig A.L., Cotton J. et al. The Barrett's antigen anterior gradient-2 silences the p53 transcriptional response to DNA damage // *Mol. Cell Proteomics.* 2004. V. 3. P. 534–547.
- Poulin G., Lebel M., Chamberland M. et al. Specific protein-protein interaction between basic helix-loop-helix transcription factors and homeoproteins of the Pitx family // *Mol. Cell. Biol.* 2000. V. 20. № 13. P. 4826–4837.
- Ramachandran V., Arumugam T., Wang H. et al. Anterior gradient 2 is expressed and secreted during the development of pancreatic cancer and promotes cancer cell survival // *Cancer Res.* 2008. V. 68. № 19. P. 7811–7818.
- Richard-Parpaillon L., Heligon C., Chesnel F. et al. The IGF pathway regulates head formation by inhibiting Wnt signaling in *Xenopus* // *Dev. Biol.* 2002. V. 244. № 2. P. 407–417.
- Roberts A., Blight A.R. Anatomy, physiology and behavioural role of sensory nerve endings in the cement gland of em-

- bryonic *Xenopus* // Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1975. V. 192. № 1106. P. 111–127.
- Ryder J. Ventral suckers or sucking discs of the tadpoles of different genera of frogs and toads // Am. Nat. 1888. V. 22. P. 263–264.
- Sapkota G., Alarcón C., Spagnoli F.M. et al. Balancing BMP signaling through integrated inputs into the Smad1 linker // Mol. Cell. 2007. V. 25. № 3. P. 441–445.
- Sauka-Spengler T., Germot A., Shi D.L. et al. Expression patterns of an Otx2 and an Otx5 orthologue in the urodele *Pleurodeles waltl*: implications on the evolutionary relationships between the balancers and cement gland in amphibians // Dev. Genes Evol. 2002. V. 212. № 8. P. 380–387.
- Scharf S.R., Gerhart J.C. Axis determination in eggs of *Xenopus laevis*: a critical period before first cleavage, identified by common effects of cold, pressure and ultraviolet irradiation // Dev. Biol. 1983. V. 99. P. 75–87.
- Schmierer B., Hill C.S. TGF-beta-SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2007. V. 12. P. 970–982.
- Schweickert A., Deissler K., Blum M. et al. Pitx1 and Pitx2c are required for ectopic cement gland formation in *Xenopus laevis* // Genesis. 2001a. V. 30. № 3. P. 144–148.
- Schweickert A., Steinbeisser H., Blum M. Differential gene expression of *Xenopus* Pitx1, Pitx2b and Pitx2c during cement gland, stomodeum and pituitary development // Mech. Dev. 2001b. V. 107. № 1–2. P. 191–194.
- Simeone A., Avantaggiato V., Moroni M. et al. Retinoic acid induces stage-specific anteroposterior transformation of rostral central nervous system // Mech. Dev. 1995. V. 51. P. 83–98.
- Sive H., Bradley L. A sticky problem: The *Xenopus* cement gland as a paradigm for anteroposterior patterning // Dev. Dyn. 1996. V. 205. P. 265–280.
- Sive H., Cheng P.F. Retinoic acid perturbs the expression of *Xhox.lab* genes and alters mesodermal determination in *Xenopus laevis* // Genes Dev. 1991. V. 5. № 8. P. 1321–1332.
- Sive H., Draper B., Harland R. et al. Identification of a retinoic acid-sensitive period during primary axis formation in *Xenopus laevis* // Genes Dev. 1990. V. 4. № 6. P. 932–942.
- Sive H., Hattori K., Weintraub H. Progressive determination during formation of the anteroposterior axis in *Xenopus laevis* // Cell. 1989. V. 58. P. 171–180.
- Smirnov D.A., Zweitzig D.R., Foulk B.W. et al. Global gene expression profiling of circulating tumor cells // Cancer Res. 2005. V. 65. № 12. P. 4993–4997.
- Sotgia C., Fascio U., Pennati R. et al. Regulation of ectodermal differentiation in *Xenopus laevis* animal caps treated with TPA and ammonium chloride // Dev. Growth Differ. 1998. V. 40. № 1. P. 75–84.
- Uehlinger V., Beauchemin M.L., Droin A. The behaviour of the egg pigment in wild-type and ‘rusty’ tadpoles of *Xenopus laevis* // J. Embryol. Exp. Morph. 1971. V. 26. № 3. P. 571–585.
- Van Evercooren A., Picard J.J. Surface changes during development and involution of the cement gland of *Xenopus laevis* // Cell Tissue Res. 1978. V. 194. P. 303–313.
- Vigetti D., Viola M., Gornati R. et al. Molecular cloning, genomic organization and developmental expression of the *Xenopus laevis* hyaluronan synthase 3 // Matrix Biol. 2003. V. 22. № 6. P. 511–517.
- Wardle F.C., Sive H.L. What’s your position? The *Xenopus* cement gland as a paradigm of regional specification // Bioessays. 2003. V. 25. № 7. P. 717–726.
- Wardle F.C., Wainstock D.H., Sive H.L. Cement gland-specific activation of the Xag1 promoter is regulated by co-operation of putative Ets and ATF/CREB transcription factors // Development. 2002. V. 129. P. 4387–4397.
- Weaver M., Dunn N.R., Hogan B.L. Bmp4 and Fgf10 play opposing roles during lung bud morphogenesis // Development. 2000. V. 127. P. 2695–2704.
- Wilson P.A., Hemmati-Brivanlou A. Induction of epidermis and inhibition of neural fate by Bmp-4 // Nature. 1995. V. 376. P. 331–333.
- Zhang J.S., Gong A., Cheville J.C. et al. AGR2, an androgen-inducible secretory protein overexpressed in prostate cancer // Genes Chromosomes Cancer. 2005. V. 43. № 3. P. 249–259.
- Zhung Y., Ali T.Z., Zhou H. et al. Erb B3 binding protein 1 represses metastasis-promoting gene anterior gradient protein 2 in prostate cancer // Cancer Res. 2010. V. 70. № 1. P. 240–248.

Cement Gland as the Adhesion Organ in *Xenopus laevis* Embryos

E. S. Pshennikova and A. S. Voronina

Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr., 33, Moscow, 119071 Russia

e-mail: pshennikova57@mail.ru

Abstract—The cement gland in batrachians is a temporal ectodermic organ which is necessary for an embryo’s attachment to the substrate. In this review, some notions about the origin of the cement gland of *Xenopus laevis* frogs, its functioning, genes being expressed in it, and regulation of its formation and development are provided. The role of some homologues of *agr* genes of the cement gland in *Xenopus laevis* is noted at different conditions of other animals and man.

Keywords: *Xenopus laevis*, cement gland, embryonic induction, regulation of gene expression