

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Биологический факультет

Кафедра молекулярной биологии

СОГЛАСОВАНО

Председатель учебно-методической
комиссии биологического факультета
Поликсенова В.Д.



«26» ноября 2014 г.

СОГЛАСОВАНО

Декан
биологического факультета
Лысак В.В.



«26» ноября 2014 г.

Регистрационный номер № УД-289



УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ПО УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ

Молекулярные основы онтогенеза

для специальности

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

направления специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология)

Составители: канд. биол. наук, доцент Ходосовская А.М.
канд. биол. наук Качан А.В.

Рассмотрено и утверждено
на заседании

Научно-методического совета БГУ

«24» ноября 2014 г.

протокол № 2

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

кафедра биохимии и биофизики УО «Международный государственный экологический университет имени А.Д. Сахарова» (зав. кафедрой кандидат биологических наук, доцент С.Б. Бокуть)

заведующий лабораторией «Центр аналитических и генно-инженерных исследований» ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси»
кандидат биологических наук Л.Н. Валентович

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА | 4 |
| 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ | 6 |
| 2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ | 19 |
| 3. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ | 21 |
| Структура рейтинговой системы | 21 |
| Вопросы для самоконтроля | 21 |
| Темы рефератов | 25 |
| Вопросы для подготовки к экзамену | 26 |
| 4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ | 29 |
| Учебно-программные материалы | 29 |
| Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов | 29 |

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебно-методический комплекс (УМК) по учебной дисциплине «Молекулярные основы онтогенеза» создан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для студентов специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям), направление специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология). Содержание разделов УМК соответствует образовательным стандартам высшего образования данной специальности. Главная цель УМК – оказание методической помощи студентам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к итоговой аттестации по курсу «Молекулярные основы онтогенеза».

Структура УМК включает:

1. Учебно-методическое обеспечение дисциплины.

1.1. Теоретический раздел (учебное издание для теоретического изучения дисциплины в объеме, установленном типовым учебным планом по специальности).

1.2. Практический раздел (материалы для проведения лабораторных занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

2. Контроль самостоятельной работы студентов (материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематика рефератов и др.).

3. Вспомогательный раздел.

3.1. Учебно-программные материалы (типовая учебная программа, учебные программы (рабочий вариант) для студентов дневной формы получения образования).

3.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса и др.).

Работа с УМК должна включать на первом этапе ознакомление с тематическим планом дисциплины, представленным в типовой учебной программе. С помощью рабочего варианта учебной программы по дисциплине можно получить информацию о тематике лекций и лабораторных занятий, перечнях рассматриваемых вопросов и рекомендуемой для их изучения литературы. Для подготовки к лабораторным занятиям и промежуточным зачетам необходимо, в первую очередь, использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы. В ходе подготовки к итоговой аттестации рекомендуется ознакомиться с требованиями к компетенциям по дисциплине, изложенными в типовой учебной программе, структурой рейтинговой системы, а также перечнем вопросов к экзамену. Для

написания рефератов могут быть использованы информационно-аналитические материалы, указанные в соответствующем разделе УМК.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

Краткий конспект лекций по курсу «Молекулярные основы онтогенеза»

Лекция №1. Введение. Молекулярная биология онтогенеза возникла на стыке таких научных дисциплин как генетика, цитология, молекулярная биология, геновая инженерия, классическая эмбриология животных и эволюционная теория. Основным вопросом, стоящим перед данной наукой – каким образом из одной клетки развивается высокодифференцированный, необыкновенно морфологически сложный многоклеточный организм.

Специфика индивидуального развития заключается в структурной и функциональной интеграции молекулярных, клеточных и тканевых процессов во времени и пространстве формирующегося организма. Если рассматривать развитие с точки зрения экспрессии генов, то оно представляется как многоступенчатый динамический процесс с постоянно изменяющимися спектрами экспрессии генов.

Основными методами изучения молекулярных закономерностей индивидуального развития организма является изменение степени экспрессии генов или их белковых продуктов, содержащих какую-либо метку.

Модельными объектами при изучении закономерностей развития являются эмбрионы четырех видов позвоночных животных – амфибий (*Xenopus laevis*), птиц (куриный зародыш), мышей и рыб (*Danio rerio*). Каждая из этих моделей позвоночных имеет свои преимущества и недостатки.

До начала «современной молекулярной эры» в биологии и понимания того, что механизмы развития высококонсервативны у самых разных организмов, было распространено мнение, что эмбрионы млекопитающих и особенно эмбрионы мышей являются лучшими моделями для изучения механизмов развития человека. Сейчас стало понятным, что для этой цели возможно использовать и другие, более доступные и экспериментально подходящие модели, включая беспозвоночных – таких как *Drosophila melanogaster* и *Caenorhabditis elegans*. Указанные организмы входят в список наиболее популярных модельных объектов биологии развития.

Лекции №2-3. Дифференциальная экспрессия генов как основа индивидуального развития организма.

Путь от гена к его молекулярному признаку сложен и последовательно осуществляется в несколько этапов, на каждом из которых процесс может быть подвержен изменениям.

Экспрессия генов может регулироваться на нескольких уровнях:

- транскрипции ДНК;
- процессинга РНК и ее транспорта из ядра;
- трансляции РНК;
- посттрансляционной модификации белков и их фолдинга;

- продолжительности жизни белковых молекул.

Некоторые гены (такие как глобиновые) могут подвергаться регуляции на каждом из этих уровней.

Большинство эукариотических генов отличается от большинства прокариотических генов двумя основными признаками. Во-первых, ДНК эукариот находится в комплексе с белками в виде *хроматина*. Вторым существенным отличием является прерывистый характер многих генов эукариот, означающий чередование кодирующих последовательностей ДНК – *экзонов* - и некодирующих участков – *интронов*.

В лекции рассматриваются вопросы структуры эукариотических генов и механизм инициации транскрипции, а также влияние структуры хроматина на регуляцию активности генов, в том числе роль модификаций гистонов и метилирования ДНК в изменении степени экспрессии генов.

Регуляция активности генов на посттранскрипционном уровне включает ядерную селекцию и дифференциальный процессинг РНК. Распространенным механизмом посттранскрипционной регуляции экспрессии генов в клетках эмбриона является изменение активности мРНК, т.е. способности эффективно участвовать в процессе трансляции.

Лекции №4-5. Избирательные взаимодействия клеток. Роль нейроэндокринной регуляции в онтогенезе.

Сигнальные молекулы, которые синтезируются одними клетками и воспринимаются другими клетками, участвуют в процессах детерминации и дифференцировки в ходе раннего развития и нередко обнаруживаются уже в период дробления зародыша. Межклеточные коммуникации являются важной составляющей всех этапов индивидуального развития.

Взаимодействия между клетками осуществляются с помощью сигнальных веществ, которые можно разделить на 3 группы:

1. Гормоны – регуляторы, образуемые клетками эндокринных желез и попадающие к клеткам-мишеням через кровь;
2. Нейромедиаторы – соединения, передающие сигнал в синапсах от пресинаптического окончания к постсинаптической мембране;
3. Гистогормоны (тканевые гормоны, или аутокоиды) – регуляторы, выделяемые неэндокринными клетками в межклеточное пространство и обладающие местным действием; не являются истинными гормонами.

Некоторые вещества могут быть отнесены одновременно к нескольким группам, например, адреналин, гистамин.

Общим свойством для трех групп межклеточных сигнальных молекул является то, что клетки имеют специфический набор рецепторов для их восприятия. После связывания сигнальной молекулы рецептор передает информацию внутрь клетки и запускает цепь реакций, определяющих ответ на действие соответствующего фактора.

На ранних этапах развития, когда кровеносная система и эндокринные органы еще отсутствуют, решающая роль в межклеточном взаимодействии

принадлежит паракринным факторам – секретируемым белкам, которые распространяются в межклеточном пространстве путем диффузии и поэтому имеют ограниченную сферу влияния. В эту группу сигнальных веществ входят различные факторы роста. Паракринные факторы, участвующие в регуляции развития зародыша, могут быть разделены на 4 основные группы в соответствии с их структурными свойствами: суперсемейство трансформирующего фактора роста β (TGF β), семейство фактора роста фибробластов (FGF), Hedgehog-семейство и Wingless (Wnt)-семейство.

В некоторых случаях источником паракринных сигналов могут быть белки внеклеточного матрикса, секретируемые клеткой. Существуют также юкстакринные факторы – сигнальные молекулы, которые являются интегральными белками плазматической мембраны. Они не секретируются в межклеточное пространство, а передают сигналы, непосредственно взаимодействуя со своими рецепторами на поверхности соседних клеток. Примером таких межклеточных взаимодействий является система латерального ингибирования Delta/Notch.

Наряду с появлением внеклеточного матрикса существенное значение в возникновении и эволюции Metazoa имело явление межклеточной адгезии. Избирательное сродство подобных клеток друг к другу является основой создания тканей многоклеточного организма. Адгезивные свойства клеток определяются расположенными на их поверхности особыми молекулами клеточной адгезии. Среди молекул клеточной адгезии выделяют три семейства белков: кадгерины, иммуноглобулины и селектины. В ходе эмбрионального развития происходит закономерное изменение состава белков плазматической мембраны за счет дифференциальной экспрессии генов и посттрансляционной модификации белков, что отражается на способности разных типов клеток к взаимодействию друг с другом.

Лекция №6. Молекулярные основы гаметогенеза.

Процесс образования мужских и женских половых клеток – гаметогенез – осуществляется путем мейотического деления, целью которого является получение гаплоидных клеток. Однако развитие зрелых спермиев и яйцеклеток из предшественников половых клеток имеет свою специфику.

Спермии являются мелкими подвижными клетками, имеющими общие черты строения у всех организмов. В результате двух делений мейоза, которым подвергаются сперматогонии, образуются четыре гаплоидные сперматиды. Превращение сперматид в сперматозоиды (спермии) носит название спермиогенеза. Структура типичного сперматозоида оптимально обеспечивает доставку гаплоидного ядра в яйцеклетку.

Яйцеклетка является самой крупной клеткой организма. Основная её функция – накопление метаболических ресурсов, необходимых для инициации и поддержания развития. Несмотря на различие в характере размножения у животных разных видов, что отражается в разнообразии механизмов оогенеза, основные стадии оогенеза сходны у разных видов. Образование будущих

яйцеклеток начинается еще на эмбриональной стадии развития, когда первичные половые клетки мигрируют в формирующиеся гонады и превращаются в оогонии. Оогонии, вступившие на путь конечной дифференцировки, носят название ооцитов I-го порядка. В этот период осуществляется рост половых клеток.

Следующая стадия оогенеза называется созреванием яйцеклетки. Она начинается лишь с наступлением половой зрелости под действием половых гормонов. Оба деления мейоза ооцитов являются ассиметричными: от ооцита отделяется небольшая клетка – полярное тельце. В результате этого из оогония формируется только одна гамета.

Наиболее хорошо процесс регуляции оогенеза изучен на примере ооцитов амфибий, как более простой (по сравнению с млекопитающими) модели. Оогенез у амфибий сопровождается наличием двух блоков в прохождении клеточного цикла – диплотенного (в первом мейотическом делении) и метафазного (во втором мейотическом делении). Возникновение этих блоков связано с регуляцией активности MPF-фактора (фактора, стимулирующего созревание), который состоит из регуляторной субъединицы – белка циклина В – и из каталитической субъединицы – циклинзависимой киназы (Cdk1). В снятии первого блока мейоза принимает участие прогестерон, который начинает вырабатываться у половозрелых особей при наступлении сезона спаривания, в снятии второго блока – ионы Ca^{2+} , концентрация которых возрастает после оплодотворения яйцеклетки спермием.

Лекция №6. Молекулярные основы оплодотворения.

Большинство данных о механизме процесса оплодотворения получено в результате исследований на морских беспозвоночных, в особенности на морских ежах. Несмотря на огромную эволюционную дистанцию, отделяющую млекопитающих от морских ежей, процесс оплодотворения у них сходен и может быть разделен на несколько фаз.

1-я фаза - взаимодействие гамет на расстоянии - важна для организмов, выметывающих свои гаметы непосредственно в окружающую среду. (хемотаксис) Для многих животных, в том числе для кишечнополостных, моллюсков, иглокожих и первичнохордовых, доказано наличие видоспецифического хемотаксиса.

2-я фаза - контактное взаимодействие - начинает осуществляться с момента взаимодействия спермия с наружной оболочкой яйцеклетки (у морских ежей – со студенистой оболочкой). Спермий активируется материалом этой оболочки и наступает акросомная реакция. У большинства морских беспозвоночных акросомная реакция протекает в два этапа: разрыв акросомного пузырька и выдвижение акросомного выроста

Эволюционно были выработаны различные механизмы, позволяющие избежать объединения более чем двух гаплоидных ядер при оплодотворении, наиболее распространенный из которых – защита от попадания в яйцо более чем одного спермия. В яйце морского ежа имеется два механизма предотвращения

полиспермии: быстрая реакция, которая осуществляется с помощью электрических изменений в плазматической мембране яйцеклетки, и более медленная реакция, связанная с экзоцитозом кортикальных гранул, вызванным повышением концентрации ионов Ca^{2+} в цитоплазме яйцеклетки. Высвобождение ионов Ca^{2+} из депо является следствием активации инозитол-трифосфатной системы после взаимодействия рецептора в мембране яйцеклетки и белка биндина, экспонированного на акросомном выросте спермия.

3 фаза - процессы, протекающие после вхождения спермия в яйцо, включают преобразование ядер гамет и слияние генетического материала. У морского ежа в результате слияния пронуклеусов возникает диплоидное ядро зиготы.

Особенности процесса оплодотворения у млекопитающих связаны с тем, что он осуществляется во внутренней среде организма. Спермии млекопитающих сразу после эякуляции не способны к акросомной реакции. Для ее осуществления они должны некоторое время находиться в половых путях самки, где происходит капацитация - приобретение сперматозоидом оплодотворяющей способности. В этот период происходит изменение липидного состава мембраны спермия - соотношение холестерина и фосфолипидов снижается, что связано со способностью альбумина, имеющегося в половых путях самки, связывать холестерин спермия. Снижение содержания холестерина дестабилизирует мембрану и способствует выходу ионов K^+ из спермия и поступлению ионов HCO_3^- . В результате изменения мембранного потенциала происходит открывание Ca^{2+} -каналов. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} активирует аденилатциклазу и далее - сигнальный путь, что в итоге реализуется активацией акросомной реакции и повышением подвижности спермия. Кроме этих реакций изменение состава мембраны способствует перемещению рецепторных белков в область головки спермия.

Спермий специфически связывается с гликопротеинами прозрачной (блестящей) оболочки (*zona pellucida*), называемыми ZP3-рецепторами. После акросомной реакции присоединение спермия к яйцеклетке переносится с ZP3-на ZP2-рецепторы. У млекопитающих головка спермия проникает не перпендикулярно поверхности яйцеклетки, а почти касательно к ней. Так как при движении пронуклеусов навстречу друг другу происходит репликация ДНК, поэтому у млекопитающих истинно диплоидное ядро появляется не у зиготы, а у двухклеточного зародыша.

Лекция №8. Ооплазматическая сегрегация как фактор, определяющий судьбу зародыша.

После проникновения спермия начинаются интенсивные перемещения цитоплазмы яйцеклетки и происходит ее расслоение - ооплазматическая сегрегация. Цитоплазма яйца содержит морфогенетические детерминанты, которые в ходе сегрегации попадают в различные ее участки и затем в процессе дробления передаются определенным клеткам. Правильное распределение морфогенетических детерминант, которое приводит к активации или репрессии

специфических генов, является решающим условием нормального развития. В ходе ооплазматической сегрегации намечаются основные элементы пространственной организации зародыша и закладываются основы для будущих морфогенетических процессов.

Ооплазматическая сегрегация является продолжением ооплазматической полярности, формирующейся в ходе оогенеза. Наиболее ярко ооплазматическая полярность проявляется у животных с так называемым мозаичным типом развития, примером которых является дрозофила. В ходе оогенеза в формирующемся яйце дрозофилы намечаются основные черты плана строения будущего организма, которые реализуются после оплодотворения яйцеклетки.

Сегрегация цитоплазмы оплодотворенной яйцеклетки протекает у различных видов с неодинаковой интенсивностью. У некоторых бесхвостых амфибий, например, у лягушек рода *Rana*, поворот кортикального слоя цитоплазмы после проникновения спермия приводит к появлению вблизи экватора против места проникновения спермия серповидной слабо пигментированной области, получившей название области серого серпа. Первоначальная организация цитоплазмы яйцеклетки претерпевает глубокие изменения, что инициирует цепь реакций, определяющих положение будущей дорсо-вентральной оси зародыша. Серый серп соответствует области, в которой у зародыша амфибий инициируется гастрюляция. Кроме того, плоскость первого деления дробления проходит, как правило, через середину серого серпа, и два первых бластомера представляют собой правую и левую стороны тела зародыша.

Лекции № 9-10. Молекулярные механизмы раннего развития дрозофилы.

Понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе формирования плана строения будущего организма, оказалось возможным благодаря изучению наследственных изменений у дрозофилы (*Drosophila melanogaster*) – классического объекта генетических исследований. Основные закономерности в регуляции развития этого организма были установлены Эдвардом Льюисом (Edward B. Lewis), Кристиной Нюслеин-Вольхард (Christiane Nusslein-Volhard) и Эриком Вейсхаусом (Eric F. Wieschaus), которые за это открытие были удостоены Нобелевской премии в 1995 г.

Исследования на дрозофиле позволило сформулировать представление о существовании «генов развития», т.е. генов, которые отвечают за реализацию программы развития организма.

Гены, контролирующие развитие дрозофилы, можно разделить на три группы:

1. гены материнского эффекта, или материнские гены - фенотипические проявления мутаций этих генов не имеют какого-либо эффекта на самок, но эмбрионы и личинки, развивающиеся из отложенных ими яиц,

погибают на ранних стадиях развития; данные гены отвечают за становление пространственных координат развивающегося организма;

2. гены сегментации - определяют число и полярность сегментов эмбриона;

3. гомеозисные гены - определяют характер дифференцировки сегментов и развитие дефинитивных структур.

Активация генов материнского эффекта осуществляется еще в ходе оогенеза, а их мРНК или белковые продукты поступают в развивающийся ооцит из окружающих клеток. В зависимости от места экспрессии выделяют материнские гены зародышевого пути (активируются в питающих клетках) и материнские соматические гены (активируются в фолликулярных клетках). Данные гены принимают участие в формировании переднего и заднего полюсов, несегментированных терминальных участков зародыша, а также в становлении дорсо-вентральной оси.

Установлено, что активным компонентом цитоплазмы переднего полюса эмбриона является продукт гена *bicoid*, мРНК которого транспортируется в развивающийся ооцит в ходе оогенеза, а трансляция осуществляется после оплодотворения. Вещество, локальная концентрация которого определяет судьбу или направление развития расположенных рядом с ним районов зародыша, получило название «морфоген».

Основным морфогеном, отвечающим за формирование заднего полюса эмбриона дрозофилы, является ген *nanos*. Он экспрессируется в питающих клетках в ходе оогенеза, и его мРНК, проходя через всю цитоплазму в передне-заднем направлении, локализуется на заднем полюсе яйца.

Путь активации, отвечающий за становление дорсо-вентральной оси, инициируется сигналами, поступающими из фолликулярных клеток на вентральной стороне яйца и передающимися через трансмембранный рецептор, который кодируется геном *Toll*. Результатом этого является активация факторов транскрипции, необходимых для образования вентральных структур, а развитие дорсальных структур происходит «по умолчанию».

Позиционная информация, созданная с помощью активности генов с материнским эффектом, прочитывается зиготическими генами, среди которых первыми активируются гены сегментации, а затем гомеозисные гены.

По фенотипу возникающих мутаций среди генов сегментации выделяют три группы генов:

- гены «пробела» (кодируют факторы транскрипции) отвечают за развитие определенных парасегментов, в результате этого зародыш подразделяется на несколько пространственных доменов;

- гены «парного правила» (кодируют факторы транскрипции) активируются под действием продуктов генов предыдущих групп и разделяют зародыш на семь повторяющихся доменов шириной по два парасегмента, в одном из которых этот ген активен, а в другом – нет;

- гены «сегментной полярности» детерминируют границы конкретных сегментов. У мутантов этой группы число сегментов неизменно, однако внутри каждого сегмента происходит зеркальное замещение одного компартмента другим. Сужение областей экспрессии данных генов осуществляется благодаря перекрыванию зон активности генов парного правила и созданию уникальных комбинаций, которые определяют ответную реакцию клеточного генома.

Гомеозисные гены контролируют качественные особенности сегментов и подразделяются на два комплекса: *Antennapedia-Complex (ANT-C)* и *Bithorax-Complex (BX-C)*, которые расположены в правом плече 3-ей хромосомы.

Анализ фенотипического проявления мутаций гомеозисных генов позволил выявить уникальную черту обоих комплексов, которая заключается в том, что чем правее расположен ген в комплексе, тем сильнее распространяется его эффект в сторону задних частей тела личинки или имаго, т.е. наблюдается коллинеарность в линейном расположении генов слева направо в кластере и их экспрессии вдоль передне-задней оси эмбриона. Кроме того, функционирование гомеозисных генов осуществляется иерархическим способом, и гены, расположенные более постериорно, являются супрессорами для генов, расположенных антериорно. Это объясняет эффекты мутаций, выражающиеся в том, что задний компартмент развивается по типу более передней структуры.

Гомеозисные гены кодируют факторы транскрипции и содержат консервативную последовательность протяженностью 180 п.н. – гомеобокс, определяющий формирование в молекуле белка гомеодомена, способного специфически связывающегося с ДНК по типу спираль-поворот-спираль.

В геноме млекопитающих (человек, мышь) содержится 38 гомеобокс-содержащих генов, которые организованы в 4 кластера – *HOXA*, *HOXB*, *HOXC* и *HOXD* - и имеют значительное сходство с общим кластером гомеозисных генов дрозофилы (*НОМ-С*). Продукты этих генов принимают участие в регуляции развития нейтральных структур, а также элементов конечности в соответствии с принципом коллинеарности.

Лекции № 11-12. Становление общего плана строения в раннем развитии позвоночных животных.

Существенный прогресс в понимании закономерностей и механизмов индивидуального развития позвоночных животных был достигнут на классическом эмбриологическом объекте – амфибиях.

Г. Шпеман и Х. Мангольд в 1921 г. показали, что если дорсальную губу бластопора на стадии ранней гаструлы у зародыша тритона пересадить на брюшную сторону другого зародыша на той же стадии развития, то в этом месте у него разовьется второй комплекс осевых органов. В некоторых случаях «лицом к лицу» с зародышем-хозяином формировался вторичный зародыш.

Участие дорсальной губы бластопора в программе развития нового зародыша можно свести к трем наиболее значительным результатам (Городилов, 2001):

1. формирование осевых структур и установление плана билатеральной симметрии;
2. переопределение судьбы части клеток хозяина и включение их в структуры трансплантата;
3. индуцирование нейральной системы.

Индукция дорсальной мезодермой вышележащей эктодермы к дифференцировке в нейральные структуры получила название **первичной эмбриональной индукции**, в наше время это явление принято называть просто **эмбриональной индукцией**. Область спинной губы бластопора Шпеман назвал **организатором**, который впоследствии стали называть организатором Шпемана.

У *Xenopus* на стадии гастролы различают три области организатора, каждая из которых индуцирует определенные структуры: самая передняя область организатора, которая формируется в дорсальной маргинальной зоне за счет глубинной содержащей желток энтодермы, головной и туловищный организатор. Первый молекулярный маркер организатора был обнаружен в 1991 г. Этим маркером стал ген *gooseoid*. Несколько позже были открыты и другие гены, ответственные за формирование дорсальной мезодермы и нейрализацию вышележащей эктодермы. Часть из них кодируют ядерные белки, которые, в свою очередь, активируют другую группу генов, отвечающих за синтез целого ряда секретлируемых факторов. Именно секретлируемые белки определяют способность хордомезодермы выступать в качестве организатора.

Доказательство существования индукционных событий на более ранней стадии развития зародыша амфибий было получено в экспериментах П.Ньюкопа (P. Nieuwkoop, 1969, 1973, 1977) и О.Накамура и Г.Такасаки (O.Nakamura, H.Takasaki, 1970), целью которых было исследование детерминации мезодермы в раннем развитии амфибий.

Дорсальная вегетативная область бластулы шпорцевой лягушки, из которой поступают индуктивные сигналы в вышележащие клетки краевой зоны, вынуждающие их формировать осевую мезодерму, была впоследствии названа **центром Ньюкопа** (Gerhart et al., 1989). Эта область зародыша характеризуется экспрессией таких генов как *siamos* и *twinn*, название которых отражает эффект удвоения зародыша при инъекции их мРНК в вегетативные бластомеры. Стимуляция презумтивной дорсальной энтодермой преобразований смежных клеток в хордомезодермальную закладку представляет собой истинно первичную эмбриональную индукцию.

Лекции № 13-14. Нейрогенез.

Для морфогенетических процессов и клеточной специализации в ходе эмбрионального развития существенное значение имеет индуцирующее влияние одной ткани на другую. Взаимодействие материала хордомезодермы с лежащей над ней эктодермой в процессе развития зародыша позвоночных побуждает эктодерму к образованию нейральной ткани. Данное индуктивное

взаимодействие было открыто Г. Шпеманом (1924) в экспериментах на амфибиях и было названо им явлением первичной эмбриональной индукции. Несмотря на то, что позднее были выявлены факты более ранних индукционных событий, данное явление считается одним из наиболее важных во всем развитии. Структуры, гомологичные организатору амфибий, - щиток у рыб и узелок у куриного эмбриона и зародыша мыши – таким же образом воздействуют на клетки эктодермы, вызывая их нейроэктодермальную специализацию.

Клеточный ответ на индукцию, приводящий к трансформации плоского слоя эктодермальных клеток в полую нервную трубку, называется нейруляцией. Зародыш, претерпевающий эти изменения, называется нейрулой. Одновременно с образованием нервной трубки происходит дифференциация мезодермы, и начинается органогенез.

В ходе нейруляции в эктодерме образуются клетки трех типов: 1) клетки нервной трубки, 2) клетки эпидермиса кожи, 3) клетки нервного гребня (в области, которая соединяет нервную трубку с эпидермисом).

Региональная специфичность нейральной индукции была установлена Отто Мангольдом (O. Mangold, 1933). Оказалось, что организатор неоднороден: самая передняя его область связана с индукцией наиболее передних нейральных структур, головной организатор обеспечивает образование структур передней нервной пластинки, а туловищно-хвостовой организатор обеспечивает постериоризацию нервной ткани, которая вследствие этого формирует задний и спинной мозг.

После выявления молекулярных маркеров организатора было установлено, что передне-задний паттерн нейроэктодермы, формирующей впоследствии нервную трубку, является следствием неоднородности клеток подстилающей ее мезодермальной ткани организатора, секретирующих различные ингибиторы паракринных сигнальных факторов.

Дорсо-вентральное паттернирование нервной трубки является результатом индуцирующего действия хорды (секретирующей фактор Sonic hedgehog) и эпидермиса (секретирующего факторы BMP, Wnt). Таким образом, как дорсализующие, так и вентрализирующие сигналы, поступающие соответственно из эпидермиса или хорды, обеспечиваются паракринными факторами, которые способны распространяться на ограниченные дистанции. При этом создается градиент таких молекул в дорсо-вентральном направлении, что обеспечивает паттернирование нервной трубки и спецификацию нейронов.

Лекция №15. Мезодерма и ее производные в ходе спецификации зачатков вдоль осей зародыша.

Появление мезодермальной ткани является поздним эволюционным приобретением Metazoa по сравнению с эктодермой и энтодермой. В классических экспериментах на амфибиях, выполненных Ньюкопом и рядом других авторов, было показано, что детерминация мезодермы происходит еще

до начала гаструляции путем прогрессивного взаимодействия между анимальными и вегетативными клетками.

Движения клеток в период гаструляции приводят к формированию трех зародышевых листков, и области, предназначенные для формирования мезодермальных органов, оказываются внутри зародыша между слоями эктодермальных и энтодермальных клеток. Дальнейшая дифференцировка мезодермальных структур в зародыше амфибий происходит благодаря сигналам, поступающим из организатора Шпемана, аналогом которого является гензеновский узелок у птиц, щиток - у рыб и область первичной полоски у млекопитающих. По ходу гаструляции область организатора разделяется на головной и туловищно-хвостовой отделы, участвуя в создании передне-заднего паттерна мезодермы.

Мезодермальные органы, так же как и производные двух других зародышевых листков, начинают закладываться одновременно с образованием нервной трубки. В мезодерме зародыша позвоночных животных на стадии нейрулы можно различить пять областей.

Механизмы дифференцировки мезодермальных производных рассмотрены на примере формирования сомитов из дорсальной мезодермы у куриного зародыша и последующего образования склеротома и дермамиотома.

Лекция №16. Органогенез.

Фундаментальной проблемой морфогенеза является ответ на вопрос, каким образом у эмбриона происходит образование специфических структур в определенном месте. К наиболее изученным в настоящее время морфогенетическим процессам относится формирование конечности у Tetrapoda.

Позиционная информация, определяющая формирование конечности, функционирует в трехмерной системе координат. Выделяют проксимодистальную ось конечности (плечо/бедро – пальцы), дорсо-вентральную (тыльная сторона ладони/ступни - ладонь/подошва) и передне-заднюю (первый – пятый пальцы). Вдоль проксимодистальной оси конечности выделяют три отдела: более проксимальный – стилоподий, средняя часть – зигоподий (состоит из 2-х костей) – и наиболее дистальный участок – аутоподий. Так как развитие конечности происходит во времени, то более правильно рассматривать этот процесс в четырех измерениях.

В покровной эктодерме, опоясывающей зачаток конечности, формируется структура, названная апикальным эктодермальным гребнем (АЭГ). Спецификация зоны АЭГ происходит еще до образования почки конечности за счет взаимодействия сигналов, исходящих из различных отделов мезодермы, главным из которых является фактор FGF10, индуцирующий в эктодермальных клетках экспрессию фактора FGF8. Удлинение конечности происходит благодаря пролиферации мезенхимных клеток, располагающихся под АЭГ. Эта область называется транзитной зоной, или зоной прогресса (progress zone). Решающее значение для формирования передне-задней оси конечности играют

мезодермальные клетки небольшой области, расположенной на заднем крае ранней почки конечности, - зоны поляризующей активности, которые характеризуется экспрессией гена *Sonic hedgehog*. Установлено, что дорсо-вентральная ось формируется под влиянием, по крайней мере частично, паракринного фактора Wnt7a. Взаимодействие между этими сигнальными молекулами характеризуется многочисленными путями обратной положительной связи, что в конечном итоге определяет пролиферацию клеток и их дифференцировку.

Клетки АЭГ являются сигнальным центром, определяющим: 1) поддержание пролиферативного статуса мезенхимных клеток транзиторной зоны; 2) стабилизацию экспрессии генов, определяющих становление передне-задней оси; 3) взаимодействие сигналов, участвующих в формировании передне-задней и дорсо-вентральной осей.

Лекция №17. Молекулярные механизмы апоптоза.

В ходе индивидуального развития организма процессы клеточной пролиферации и специализации сопровождаются элиминацией ненужных клеток, что необходимо для дифференцировки тканей и формирования определенных структур из тканевых зачатков. Удаление клеток в процессе развития носит название программированной клеточной гибели и обычно осуществляется по механизму апоптоза. Запрограммированное разрушение клеток сопровождает многие этапы онтогенеза, начиная с имплантации зародыша (у млекопитающих), и включает точную регуляцию количества клеток в популяции, в частности удаление избыточных половых клеток, нейробластов, лимфоцитов у зародыша, формообразовательные процессы, такие как органогенез, метаморфоз. Одним из наиболее изученных случаев апоптоза в эмбриогенезе является морфогенез конечности у Tetrapoda.

В механизме развития апоптоза выделяют четыре основных компонента:

1. Специфические протеазы, называемые каспазами;
2. Рецепторы клеточной гибели на поверхности клетки;
3. Митохондрии и выходящие из них цитохром С и другие белки;
4. Специальные про- и антиапоптозные белки.

Активация инициаторных каспаз у позвоночных животных происходит различными способами. В соответствии с этим выделяют два пути развития апоптоза: с участием рецепторов клеточной гибели (внешний путь) и с участием митохондрий (внутриклеточная инициация процесса). Оба пути взаимосвязаны, т.к. имеются точки пересечения благодаря некоторым общим участникам.

В регуляции апоптоза участвует и белок p53 – транскрипционный фактор, который вызывает задержку клеточного цикла и является одним из наиболее важных опухолевых супрессоров. Экспрессия этого фактора контролируется, по меньшей мере, десятью путями обратной связи, среди которых преобладают отрицательные связи. Белок p53 является «диспетчером» апоптоза, его содержание и активность изменяются в ответ на конкретные факторы. Так, при появлении повреждений в ДНК активирующие сигналы к p53 передаются с

помощью различных протеинкиназ. Содержание белка p53 возрастает в случае несоблюдения условий, необходимых для вступления клетки в клеточный цикл. Для осуществления нормального деления клеток требуется действие фактора роста, прикрепление клетки к внеклеточному субстрату, т.е. к опоре, и отсутствие прямого контакта с соседними клетками (отсутствие контактного торможения).

Белок p53 активирует гены ряда рецепторов клеточной гибели, а также стимулирует митохондриальный путь апоптоза, оказывая влияние на экспрессию генов белков Bcl-семейства, регулирующих работу каналов в мембране митохондрий.

Лекция №18. Молекулярные механизмы старения.

Старение представляет собой сложный многогранный процесс, в регуляцию которого на молекулярном и клеточном уровне вовлечены многие участники, и поэтому ни одна из существующих в настоящее время теорий не может в полной мере объяснить причины старения.

Начало принципиально нового этапа в изучении механизмов старения было положено благодаря обнаружению первого долгоживущего штамма *C. elegans* в 1983 г. К настоящему времени накоплен большой массив экспериментальных данных, касающихся изучения процесса старения с использованием модельных организмов, а также результаты генетических и биохимических исследований возрастных изменений в организме человека, в том числе и при врожденных патологиях, сопровождающихся преждевременным старением (прогерии). Анализ этих данных позволил Лопез-Отин с соавт. (C. Lopez-Otin et al., 2013) выделить девять основных причин старения и сгруппировать их в зависимости от степени значимости. К первичным причинам старения были отнесены геномная нестабильность, сокращение длины теломер, эпигенетические изменения и потеря контроля за фолдингом и деградацией белков (протеостазом). Негативные эффекты, вызванные этими факторами, со временем накапливаются. Если системы поддержания клеточного гомеостаза не компенсируют возникшие повреждения, то запускаются или ускоряются уже имеющиеся процессы клеточного ответа на повреждения, включающие дерегуляцию клеточных сенсоров трофических сигналов, дисфункцию митохондрий и клеточное старение. На начальном этапе изменения в перечисленных системах смягчают повреждающее действие, оказываемое первичными факторами инициации старения, но при хроническом действии или при усилении повреждения сами начинают оказывать негативный эффект. При отсутствии сбалансированного ответа клетки на первичные и вторичные повреждения возникают интегративные признаки старения, которые отвечают за прогрессирующую и необратимую утрату функций организма. В эту группу входит истощение пула стволовых клеток и изменение межклеточных взаимодействий.

Критериями отбора приведенных данными авторами молекулярных и клеточных признаков старения служили их проявление в ходе естественного

старения организма, а также ускорение или замедление степени старения при экспериментальном изменении выраженности этих признаков у различных модельных организмов.

Поскольку в процессе старения организма многие из перечисленных процессов сосуществуют одновременно, то понимание их точной связи и последовательности взаимодействия остается предметом дальнейшего изучения. Возможными методами достижения поставленной цели могут стать секвенирование геномов долгожителей, исследование эффектов выключения и сверхэкспрессии генов на модельных организмах, а также анализ изменений в организме при различных экзогенных воздействиях.

2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

В соответствии с учебным планом практические занятия проходят в форме семинаров, на которых рассматриваются вопросы регуляции индивидуального развития организма и закрепляется материал, изложенный в ходе лекций.

Изучаемые на практических занятиях вопросы распределяются по темам следующим образом:

Семинар №1 «Дифференциальная экспрессия генов как основа индивидуального развития организма. Регуляция на уровне транскрипции»

1. Строение эукариотических генов: структурные и регуляторные области (на примере β -глобинового гена человека). Промоторы, энхансеры, сайленсеры.

2. Регуляция транскрипции генов с помощью РНК-полимеразы II: образование комплекса преинициации транскрипции, базальные и специальные транскрипционные факторы. Регуляции инициации транскрипции.

3. Структура ДНК-связывающих доменов факторов транскрипции: НТН-мотив, гомеодомен, НЛН-мотив, «лейциновая застёжка», «цинковые пальцы».

4. Роль хроматина в регуляции транскрипции: нуклеосомное строение хроматина, компактизация хроматина, особенности транскрипционно активного хроматина (чувствительность к нуклеазам, смещение нуклеосом, модификация гистонов, комплексы ремоделирования хроматина; хромосомные домены, обладающие гиперчувствительными к ДНКазе I сайтами). Роль MAR/SAR-последовательностей, LCR-участки, инсуляторы.

5. Роль метилирования ДНК в регуляции экспрессии генов.

Семинар №2 «Избирательные взаимодействия клеток»

1. Строение, механизм действия и биологические эффекты паракринных факторов:

- TGF β -семейства;
- FGF, EGF и др., передающих сигнал через тирозинкиназные рецепторы;
- Wnt;

- Hedgehog;
- передающих сигнал через STAT-белки.
- 2. Молекулы клеточной адгезии (кадгерины, иммуноглобулины, селектины).
- 3. Молекулы внеклеточного матрикса (протеогликаны, фибронектины, коллагены, ламинины, эластины).
- 4. Молекулы субстратной адгезии (гликозилтрансферазы, интегрины).
- 5. Юкстакринные факторы (система латерального ингибирования Delta/Notch).
- 6. Миграция клеток как результат избирательных взаимодействий.

Семинар №3 «Оогенез. Оплодотворение»

1. Оогенез: характеристика стадий созревания яйцеклетки, особенности овуляции у различных групп *Methazoa*.
2. Механизм формирования и последующего снятия диплотенного блока мейоза в ооцитах амфибий.
3. Механизм формирования и последующего снятия метафазного блока мейоза в ооцитах амфибий.
4. Характеристика MPF-фактора: структура и механизм действия.
5. Оплодотворение – характеристика событий каждого из трех этапов взаимодействия гамет (на расстоянии, при контакте, после проникновения спермия).
6. Капацитация спермиев млекопитающих.

Семинар №4 «Становление общего плана строения организма в раннем развитии позвоночных животных»

1. Ооплазматическая полярность и ооплазматическая сегрегация в паттернировании организма в ходе эмбриогенеза.
2. Сущность явления и история открытия эмбриональной индукции.
3. Формирование центра Ньюкопа - история открытия, молекулярная характеристика.
4. Формирование организатора Шпемана – морфологическая и молекулярная характеристика. Неоднородность организатора – головной и туловищно-хвостовой отделы.
5. Характеристика ядерных и секретируемых белков в организаторе Шпемана.

Семинар №5 «Мезодерма и ее производные. Органогенез»

1. Дифференцировка мезодермы: основные области, их морфофункциональное значение, молекулярные факторы дифференцировки.
2. Молекулярные механизмы сомитогенеза у позвоночных.
3. Факторы, принимающие участие в мышечной дифференцировке.
4. Индукция апикального эктодермального гребня (АЭГ) и его значение для морфогенеза конечности.

5. Зона поляризующей активности (ЗПА) в спецификации передне-задней оси. Роль генов белковых факторов Shh, FGF4,8, Hoxb-8, BMP2,4.
6. Роль генов *hoxa* и *hoxd* 9-13 в спецификации структур конечности вдоль проксимо-дистальной оси.

Семинар №6 «Генетический контроль раннего развития дрозофилы»

1. Роль генов материнского эффекта в формировании переднего полюса эмбриона дрозофилы и несегментированных концевых участков.
2. Формирование заднего полюса эмбриона дрозофилы и половых зачатков.
3. Характеристика генов сегментации в регуляции раннего развития дрозофилы:
 - гены пробела;
 - гены парного правила;
 - гены сегментной полярности.
4. Характеристика гомеозисных генов дрозофилы ANT-C и BX-C комплексов.

3. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Структура рейтинговой системы

Структура рейтинговой системы приведена в учебной программе (рабочий вариант) по учебной дисциплине «Молекулярные основы онтогенеза» по специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям), направление специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) для студентов дневной формы обучения, которая доступна по адресу:

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/105193>

Вопросы для самоконтроля

Лекция №1

1. Что изучает молекулярная биология онтогенеза?
2. Какие методы исследования используются при изучении молекулярных основ онтогенеза?
3. Каким образом можно ввести чужеродный генетический материал в клетки с целью получения трансгенных зародышей?
4. Как получают трансгенных мышей?
5. Какое применение имеет *Cre/loxP*-рекомбиназная система в молекулярной биологии онтогенеза?
6. Какие животные являются основными модельными объектами биологии онтогенеза?

Лекции №№2-3

1. В чем разница представлений Т. Моргана и Р. Гольдшмидта о селективном проявлении наследственной информации?
2. Что составляет основу современных концепций молекулярных закономерностей раннего развития?
3. Какова структура регуляторных областей гена?
4. Какие функции выполняют белковые факторы транскрипции?
5. Какова роль структуры хроматина в регуляции экспрессии генов?
6. Какое влияние оказывает метилирование ДНК на экспрессию генов?
7. Что такое посттранскрипционный уровень регуляция дифференциальной активности эукариотических генов?
8. Как осуществляется регуляция дифференциальной активности генов на трансляционном уровне?

Лекции № 4-5.

1. Приведите примеры классификации молекул, передающих сигналы между клетками.
2. Какие типы рецепторов взаимодействуют с гидрофильными сигнальными молекулами?
3. Каков механизм действия липофильных сигнальных молекул?
4. Что такое HRE-элементы в молекуле ДНК?
5. Как происходит передача межклеточных сигналов через тирозинкиназные рецепторы? Приведите примеры их участия в регуляции развития.
6. Объясните механизм передачи сигнала с помощью нейромедиаторов.
7. Что такое внеклеточный матрикс?
8. Дайте характеристику молекул клеточной адгезии.
9. Как осуществляется межклеточный сигналинг с помощью Wnt-паракринных факторов и какова их роль в регуляции развития?
10. Какие белки относятся к TGF β -суперсемейству и как с их помощью происходит передача сигнала в клетку?
11. Дайте характеристику паракринных факторов Hedgehog-семейства и их биологического действия.
12. Что такое система латерального ингибирования Delta/Notch и ее роль в регуляции развития.

Лекции №№6-7.

1. Что общего и в чем различия процессов оогенеза и сперматогенеза?
2. Как происходит формирование и снятие диплотенного блока мейоза в ооцитах амфибий?
3. В чем заключается механизм формирования и снятия метафазного блока мейоза в ооцитах амфибий?

4. Дайте характеристику MPF-фактора. Какова его роль в митозе и мейозе?
5. Что лежит в основе процесса капацитации спермиев млекопитающих?
6. Что известно о молекулярных механизмах оплодотворения?

Лекция №8.

1. Каковы особенности клеточного цикла при дроблении?
2. В чем заключается биологическое значение дробления?
3. Что такое точка перехода в ритме клеточных делений? Приведите примеры для различных представителей Metazoa.
4. Какие преобразования цитоплазмы яйцеклетки наблюдаются после оплодотворения?
5. Как протекает ооплазматическая сегрегация у асцидии *Styela partita*?
6. Какое значение для развития зародыша амфибий имеет область серого серпа?

Лекции №№9-10.

1. Что такое «морфогены» и какова роль градиентов их концентраций в развитии эмбриона?
2. Каковы особенности оогенеза дрозофилы?
3. Что такое «гены материнского эффекта» дрозофилы?
4. Как происходит формирование переднего полюса и терминальных участков эмбриона дрозофилы?
5. Как происходит формирование заднего полюса эмбриона дрозофилы?
6. Что определяет дорсо-вентральную полярность эмбриона дрозофилы?
7. Как функционируют гены «пробела» дрозофилы?
8. Каковы особенности экспрессии генов «парного правила» дрозофилы?
9. Как происходит активация генов «сегментной полярности» дрозофилы и дальнейшее поддержание их экспрессии?
10. Дайте характеристику гомеозисных генов комплексов *Antennapedia* и *Bithorax* дрозофилы.

Лекции №№11-12

1. Какова история открытия явления эмбриональной индукции?
2. Какова общая схема событий в ходе эмбриональной индукции?
3. Как происходит образование зачатка мезодермы у зародыша амфибий (опыты П.Ньюкопа, Р.Гиммлиха, Дж.Герхарда)?
4. Как происходит формирование центра Ньюкопа?

5. Как создаются градиенты морфогенов *Vmp4*, *Wnt8* и *Xnr* при формировании организатора Шпемана?
6. Какие белки экспрессируются в организаторе Шпемана?
7. Каковы морфологические и молекулярные особенности головного и туловищно-хвостового отделов организатора Шпемана?
8. Дайте характеристику факторов, принимающих участие в нейральной индукции в зародыше рыб.
9. Какие гены участвуют в регуляции формирования осей у зародыша птиц?
10. Что известно о молекулярной регуляции формирования передне-задней и дорсо-вентральной осей зародыша мыши?
11. Какие белки принимают участие в регуляции лево-правой асимметрии зародышей позвоночных животных?
12. Сравните структуры, гомологичные организатору Шпемана амфибий, у других групп позвоночных животных.

Лекции №№ 13-14.

1. Какова роль производных организатора Шпемана в образовании нервной трубки в зародыше амфибий?
2. Какие механизмы лежат в основе нейруляции?
3. Какие факторы отвечают за спецификацию структур вдоль передне-задней оси в ходе нейруляции у зародыша амфибий?
4. Какие факторы отвечают за спецификацию структур вдоль дорсо-вентральной оси в ходе нейруляции у зародыша амфибий?
5. Как осуществляется регуляция дифференцировки нейронов?
6. Какова роль *Нох*-генов в нейрогенезе?

Лекция №15.

1. Каким образом происходит закладка мезодермы у различных представителей Metazoa?
2. Какие области мезодермы выделяют у позвоночных животных на стадии нейрулы?
3. Как осуществляется генетический контроль образования сомитов у куриного зародыша?
4. Каковы паракринные факторы, участвующие в формировании различных тканей внутри сомитов?

Лекция №16

1. Расшифруйте термин «морфогенетическое поле конечности».
2. Каково происхождение мезенхимных клеток, участвующих в развитии конечности?
3. Какова роль апикального эктодермального гребня в развитии конечности?

4. Дайте характеристику сигнальных молекул, функционирующих в области зоны поляризующей активности.
5. Какова роль *Hox*-генов в формировании конечности?
6. Как происходит формирование пальцев у хвостатых и бесхвостых амфибий?

Лекция №17.

1. Что такое апоптоз?
2. В чем отличие апоптоза и некроза?
3. Как программируемая клеточная гибель участвует в процессе развития?
4. Что такое каспазы?
5. Как реализуется рецепторо-опосредованный путь развития апоптоза?
6. Как реализуется митохондриальный путь развития апоптоза?

Лекция №18

1. Что подразумевается под физиологическим старением организма?
2. Какие теории выдвинуты для объяснения процесса старения организма?
3. Какие факторы развития процессов старения считаются доказанными?
4. Что такое протеостаз?
5. Как эпигенетические факторы влияют на процессы старения?
6. Влияет ли ограничение калорийности питания на процессы старения организма?

Темы рефератов

1. Роль цитоскелета в процессах поляризации ооцита, кортикальной реакции, дробления.
2. Участие MPF фактора в регуляции митоза и мейоза.
3. Молекулярные механизмы дифференцировки нейронов и их спецификации.
4. Регуляция дифференцировки сомитов у куриного зародыша.
5. Молекулярные механизмы мышечной дифференцировки.
6. Регуляция формирования лево-правой оси симметрии у позвоночных животных (на примере шпорцевой лягушки, курицы, млекопитающих).
7. Регуляция дифференцировки клеток нервного гребня и их миграции.
8. Молекулярные механизмы формирования конечности у высших позвоночных животных.
9. Роль апоптоза в эмбриогенезе.

10. Разнообразие функций пути передачи сигнала Delta/Notch в регуляции процессов, происходящих в эмбриогенезе.
11. Важнейшие модельные объекты молекулярной биологии индивидуального развития.
12. Кластеры гомеозисных генов животных и механизм регуляции их экспрессии.
13. Ключевые регуляторы осевой спецификации, задействованные в морфогенезе конечностей позвоночных.
14. Структура и функции секретируемых белков организатора Шпемана.
15. Метилирование ДНК как механизм регуляции активности генов у эукариот.
16. Молекулярные принципы активации циклин-зависимых киназ на примере фактора MPF.
17. Пространственно–временная регуляция экспрессии генов в процессе формирования сомитов.
18. Принципы паттернирования зародыша *Drosophila melanogaster* с помощью каскада транскрипционных факторов.
19. Дифференциальная экспрессия генов как результат альтернативного сплайсинга.
20. Современные представления о структуре и функционировании энхансерных последовательностей.
21. Важнейшие молекулы-регуляторы уровня компактизации хроматина.
22. Роль молекул клеточной адгезии в регуляции эмбриогенеза.
23. Разнообразие ДНК-связывающих доменов эукариот.
24. Каскад событий, происходящий при контакте спермия с яйцеклеткой.
25. Роль межклеточных взаимодействий в развитии процесса старения организма.

Вопросы для подготовки к экзамену

1. Молекулярная биология онтогенеза как наука, предмет и объекты исследования, история формирования данной науки.
2. Характеристика методов исследования, используемых в классической эмбриологии, и их молекулярных эквивалентов.
3. Способы получения трансгенных зародышей (на примере различных объектов биологии развития).
4. Методы создания «генного нокаута» в экспериментах по изучению молекулярных механизмов развития.
5. Характеристика основных составляющих процесса раннего развития. Задачи, «решаемые» зародышем в процессе развития. Формирование

теории генетического контроля развития (Т.Морган, Р.Гольдшмидт) и современные концепции молекулярных закономерностей развития.

6. Регуляция дифференциальной активности эукариотических генов на уровне транскрипции: структура регуляторных областей, транс-факторы регуляции транскрипции. Характеристика транскрипционных факторов, важных для раннего развития.

7. Роль структуры хроматина и метилирования ДНК в регуляции экспрессии генов.

8. Регуляция дифференциальной активности эукариотических генов на уровне сплайсинга. Роль альтернативного сплайсинга в формировании пола у дрозофилы.

9. Регуляция дифференциальной активности генов на претрансляционном и трансляционном уровнях: транспорт и хранение мРНК в цитоплазме яйцеклеток и их активация в раннем развитии *Drosophila*, *Xenopus*.

10. Механизм формирования и снятия диплотенного блока мейоза в ооцитах амфибий.

11. Механизм формирования и снятия метафазного блока мейоза в ооцитах амфибий.

12. Характеристика MPF-фактора и его роль в митозе и мейозе.

13. Роль ооплазматической полярности, формирующейся в ходе оогенеза, и ооплазматической сегрегации, возникающей после оплодотворения, в создании общего плана строения тела и дифференцировке тканей зародыша.

14. Капацитация спермиев млекопитающих, роль рецепторов на мембране сперматозоида и белков *zona pellucida*.

15. Молекулярные механизмы оплодотворения.

16. Дробление: биологическое значение, закономерности процесса, особенности клеточного цикла, точка перехода в ритме клеточных делений у различных представителей *Metazoa*.

17. Понятие морфогенов и градиентов их концентраций. Роль морфогенов в развитии *Drosophila*, *Xenopus*.

18. Характеристика генов материнского эффекта дрозофилы, определяющих формирование переднего полюса и терминальных участков эмбриона.

19. Характеристика генов материнского эффекта дрозофилы, определяющих формирование заднего полюса эмбриона.

20. Характеристика генов материнского эффекта дрозофилы, определяющих дорсо-вентральную полярность эмбриона дрозофилы.

21. Характеристика *gap*-генов (генов «пробела») дрозофилы; принципы их регуляции и участие в сегментации эмбриона.

22. Характеристика генов «парного правила» дрозофилы; принципы их регуляции и участие в сегментации эмбриона.

23. Характеристика генов «сегментной полярности» дрозофилы; принципы их регуляции и участие в сегментации эмбриона.

24. Характеристика гомеозисных генов комплекса *Antennapedia* дрозофилы и их продуктов; принципы их действия; фенотипическое проявление мутаций данных генов.
25. Характеристика гомеозисных генов *Bithorax*-комплекса дрозофилы и их продуктов; принципы их действия; фенотипическое проявление мутаций данных генов.
26. Общая схема событий в ходе первичной эмбриональной индукции у зародыша амфибий. История открытия данного явления.
27. Образование зачатка мезодермы у зародыша амфибий (опыты Ньюкопа, Р.Гиммлиха, Дж.Герхарда). Молекулярные маркеры мезодермы, спецификация мезодермы на стадии бластулы и гастролы.
28. Формирование центра Ньюкопа у зародыша амфибий, участие белков β -катенина, Disheveled, белков TGF β -семейства.
29. Создание градиентов морфогенов *Vmp4*, *Wnt8* и *Xnr* при формировании организатора Шпемана у зародыша амфибий.
30. Белки, экспрессирующиеся в организаторе Шпемана. Роль производных организатора в образовании нервной трубки.
31. Головной и туловищно-хвостовой отделы организатора Шпемана у зародыша амфибий (морфологическая и молекулярная характеристика).
32. Образование нервной трубки: роль кадгеринов, спектрина, белков микротрубочек и микрофиламентов. Градиенты факторов, ответственных за спецификацию структур вдоль передне-задней оси в ходе нейруляции у зародыша амфибий.
33. Градиенты факторов, ответственных за спецификацию структур вдоль дорсо-вентральной оси в ходе нейруляции у зародыша амфибий. Дифференцировка нейронов.
34. Гомология путей формирования нервной системы у позвоночных и беспозвоночных животных.
35. Генетический контроль образования сомитов у куриного зародыша.
36. Дифференцировка различных тканей внутри сомитов и ее молекулярная регуляция.
37. Роль апикального эктодермального гребня, зоны поляризующей активности и *Nhx*-генов в формировании конечностей.
38. Характеристика молекул клеточной и субстратной адгезии и молекул внеклеточного матрикса.
39. Межклеточный сигналинг с помощью *Wnt*-паракринных факторов и его роль в регуляции развития.
40. Характеристика белков TGF β -семейства, механизм их действия и роль в регуляции развития.
41. Передача межклеточных сигналов через тирозинкиназные рецепторы и ее роль в регуляции развития.
42. Характеристика паракринных факторов *Hedgehog*-семейства, их биологическая роль.

43. Действие системы латерального ингибирования Delta/Notch и ее роль в регуляции развития.
44. Апоптоз и некроз: морфология и пусковые факторы процессов. Участие программируемой клеточной гибели в онтогенезе.
45. Рецептор-опосредованный путь развития апоптоза.
46. Митохондриальный путь развития апоптоза.
47. Механизм передачи сигналов через рецепторы, связанные с G-белками: лиганды, рецепторы, G-белки, эффекторы, вторичные посредники.
48. Механизм передачи сигналов, инициируемых цитокинами.
49. Общий механизм действия гидрофобных гормонов.
50. Молекулярные механизмы старения.

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

Учебно-программные материалы

Типовая учебная программа по дисциплине «Молекулярные основы онтогенеза» для учреждений высшего образования по специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям), направление специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) доступна по адресу:

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/14989>

Учебная программа (рабочий вариант) по дисциплине «Молекулярные основы онтогенеза» для учреждений высшего образования по специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям), направление специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология) доступна по адресу:

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/105193>

Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов

Список рекомендуемой литературы и Интернет-ресурсов приведен в типовой программе и учебной программе (рабочий вариант) по дисциплине «Молекулярные основы онтогенеза» для учреждений высшего образования по специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям), направление специальности 1-31 01 01-03 Биология (биотехнология), которые доступны по адресам:

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/14989>

<http://elib.bsu.by/handle/123456789/105193>