



Учреждение образования
«Международный государственный
экологический институт
имени А. Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета

**МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ**



Учреждение образования
«Международный государственный экологический
институт имени А. Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета

МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Учебно-методическое пособие

Минск
«ИВЦ Минфина»
2017

УДК 576:611(075.8)
ББК 288я7
М55

Составители:

кандидат медицинских наук, доцент *Н. В. Кокорина*,
кандидат биологических наук, доцент *М. С. Морозик*,
кандидат биологических наук, старший преподаватель *Ю. В. Малиновская*

Рецензенты:

доктор физико-математических наук, профессор кафедры физики
БГАТУ *В. М. Добрянский*;
кандидат физико-математических наук, доцент,
заведующий кафедрой экологических информационных систем
МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ *В. А. Иванюкович*

М55 **Механизмы** клеточной дифференцировки : учебно-методическое пособие / сост. Н. В. Кокорина, М. С. Морозик, Ю. В. Малиновская. – Минск : ИВЦ Минфин, 2017. – 92 с.

ISBN 978-985-7168-84-2.

В пособии рассмотрены вопросы клеточной дифференцировки, механизмы специализации клеток в ходе онтогенеза, процессы межклеточных взаимодействий, общие закономерности регуляции индивидуального развития. Каждый раздел содержит теоретический материал, вопросы для подготовки к занятию, список рекомендуемой литературы.

Предназначается студентам пятого курса специальности «Медико-биологическое дело». Может быть использовано ими как для самостоятельной работы, так и для подготовки к лабораторным занятиям.

УДК 576:611(075.8)
ББК 288я7

ISBN 978-985-7168-84-2

© МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, 2017

Содержание

РАЗДЕЛ 1. КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И ПРОГРАММА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ	4
РАЗДЕЛ 2. ДЕТЕРМИНАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА.....	14
РАЗДЕЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ПЛАНА СТРОЕНИЯ ОРГАНИЗМА.....	26
РАЗДЕЛ 4. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЦЕССОВ СЕГМЕНТАЦИИ РАЗВИВАЮЩИХСЯ ОРГАНИЗМОВ.....	32
РАЗДЕЛ 5. ГОМЕОЗИСНЫЕ ГЕНЫ.....	38
РАЗДЕЛ 6. ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ И ЕЕ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ	47
РАЗДЕЛ 7. МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ.....	60
РАЗДЕЛ 8. ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ.....	67
ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ	77
ЛИТЕРАТУРА.....	88

Раздел 1. Клеточный цикл и программа дифференцировки

Основными процессами, обеспечивающими формирование и развитие зародыша в эмбриогенезе, являются:

- 1) клеточное деление и клеточный рост, приводящие к увеличению количества клеток и их размеров;
- 2) клеточная дифференцировка (появление специфических черт строения клетки, благодаря чему одинаковые клетки в процессе дифференцировки приобретают специфические различия);
- 3) детерминация – программирование путей дифференцировки;
- 4) эмбриональная индукция;
- 5) клеточные перемещения;
- 6) межклеточные взаимодействия (сегрегация и адгезия);
- 7) апоптоз (запрограммированная гибель клеток).

Зигота, бластомеры и все соматические клетки организма делятся митозом, половые клетки в периоде гаметогенеза – мейозом. Клеточное деление как таковое является одной из фаз клеточного цикла: митоз – для митотического, мейоз – для мейотического цикла.

В результате мейотического цикла, происходящего в гонадах, из диплоидных сперматоцитов и овоцитов образуются гаплоидные гаметы: сперматиды (в дальнейшем – сперматозоиды) и яйцеклетки.

В результате митотического цикла из диплоидной зиготы формируются все соматические клетки организма.

Митотический цикл – это совокупность морфологических и физиолого-биохимических процессов, происходящих в каждой клетке от профазы материнской клетки до профазы двух дочерних клеток.

Клеточный цикл (как митотический, так и мейотический) состоит из двух этапов: интерфазы и деления.

В свою очередь, деление включает профазу, метафазу, анафазу и телофазу. Различают два типа интерфаз: автосинтетическую, охватывающую G_1 -, S- и G_2 -периоды (для активно пролиферирующих клеток) и гетеросинтетическую, включающую, кроме G_1 -, S- и G_2 -, еще и G_0 - период (для клеток дифференцирующихся, которые в G_0 - периоде либо завершают пролиферацию и начинают цитодифференцировку, либо после некоторого периода гетеросинтеза опять вступают в период G_1).

Роль деления клеток в процессах онтогенеза

1. Благодаря делению из зиготы, которая соответствует одноклеточной стадии развития, возникает многоклеточный организм.

2. Пролиферация клеток, происходящая после стадии дробления, обеспечивает рост организма и отдельных его органов и тканей.

3. Избирательное размножение клеток обеспечивает морфогенетические процессы, реализацию программы развития.

4. В процессе жизнедеятельности организма происходит обновление тканей, а также восстановление утраченных органов, заживление ран в постнатальном периоде.

5. В процессе созревания происходят количественные изменения структур клеток, ведущие к формированию зрелых функционирующих форм (изменение морфологии ядра, накопление специфических цитоплазматических структур, изменение размеров клеток).

Разновидности митоза:

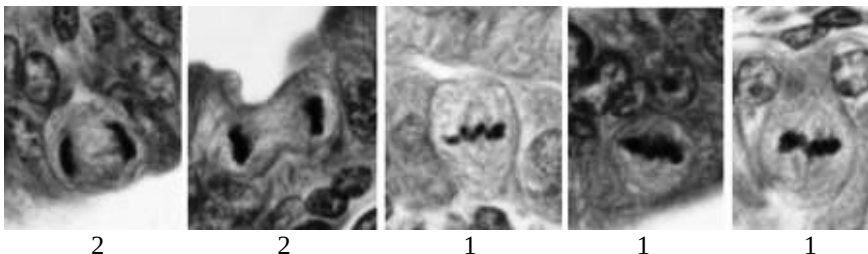
- ***стволовой митоз*** – из одной материнской стволовой клетки образуются 2 дочерние;

- ***ассиметричный митоз*** – из двух дочерних клеток одна является стволовой, а вторая вступает на путь дифференцировки;

- ***квантальный митоз*** – обе дочерние клетки отличаются от стволовых, так как уже приступили к дифференцировке.

Митоз принято делить на отдельные стадии (или фазы): профаза; метафаза; анафаза; телофаза.

В профазе хромосомы конденсируются, образуются две центриоли, которые начинают двигаться к противоположным полюсам клетки. Начинает также образовываться митотическое веретено. В метафазе митоза хромосомы выстраиваются в экваториальной плоскости клетки. Они максимально конденсированы. Хроматиды каждой хромосомы расходятся, оставаясь соединенными в центромере. В анафазе центромеры всех хромосом продольно делятся и дочерние хроматиды расходятся к противоположным полюсам клетки. В телофазе митоза группы хроматид, представляющие теперь полные кариотипы двух будущих клеток, покрываются ядерной мембраной, делится также цитоплазма клетки, на этом процесс клеточного деления заканчивается.



*Рис. 1. Митоз животной клетки. Окраска железным гематоксилином:
1 – метафаза, 2 – анафаза*

В интерфазе последовательно различают периоды G_1 , S и G_2 .

G_1 (англ. gap промежуток) – пресинтетический период между митозом и следующим периодом – синтетическим S (синтез ДНК). G_2 – пост-синтетический период между S и M (митоз).

Клетки, которые прекращают делиться, находятся в периоде условно называемым периодом покоя – G_0 . Клетку в G_0 от той же самой клетки в G_1 , отличает набор синтезируемых ею белков: в периоде G_1 – для пролиферации; в G_0 – для дифференциации и роста. В G_1 -периоде преобладают анабиотические процессы, активизируется синтез РНК для роста клеток, увеличения органелл.

Продолжительность G_1 -периода зависит от типа клетки и условий её существования. При неблагоприятных условиях продолжительность периода удлиняется, а при стимуляции фактором роста или определёнными гормонами – сокращается время, но активность возрастает.

В S-периоде в клетке осуществляется синтез ДНК (репликация) белков хроматина с последующим удвоением хромосом. Репликация ДНК осуществляется в участках – репликалах, которым соответствуют петлевые домены хроматина. Репликалы объединены в кластеры и реплицируются в своих кластерах одновременно.

В G_2 -периоде происходит непосредственная подготовка к делению: продолжается синтез РНК и белка при этом синтезируется так называемые долгоживущие РНК, обеспечивающие синтез белков в дочерних клетках сразу после деления (например, в ходе дробления). Дочерние центриоли достигают размеров дефинитивных органелл. В эту же фазу накапливается АТФ для энергетического обеспечения последующего митоза. Эта фаза длится 2–4 часа в активно профилирующих клетках.

После завершения митоза образуются две дочерние клетки, которые могут либо переходить в G_1 -период клеточного цикла (характерно для быстрорастущих тканей), либо вступать в G_0 -период – состояние пролиферативного покоя выполнения функций.

Соматические клетки приобретают способность дифференцироваться не сразу, а лишь после некоторого периода стабилизации их детерминированного состояния. В период стабилизации происходит выработка предшественников, необходимых для цитодифференцировки.

Период стабилизации связывают с выработкой долгоживущих иРНК. Присутствие таких иРНК, обнаруживаемое по продолжению белкового синтеза после подавления выработки РНК с помощью актиномицина D, показано для клеток печени, поджелудочной железы, молочной железы, для эритроидных и других клеток. Следует отметить, что переход к выработке стабильных иРНК не обязательно связан с подавлением способности клеток к размножению.

При этом установлено, что большая устойчивость дифференцированных клеток к подавлению синтеза иРНК по сравнению с недифференцированными обусловлена не большей стабильностью белков в дифференцированных клетках, а продолжающимся синтезом белка благодаря наличию долгоживущих молекул иРНК.

Частота последовательных делений в ряду клеточных поколений зависит в основном от продолжительности интерфазы (G, S, G₂). В свою очередь, интерфаза имеет разную продолжительность в зависимости от стадии развития зародыша, локализации и функции клеток.

Так, в периоде дробления клетки делятся быстрее, чем в другие, более поздние периоды эмбриогенеза. Во время гастрюляции и органогенеза клетки делятся избирательно в определенных областях зародыша. Там, где скорость клеточного деления высокая, происходят качественные изменения в структуре эмбриональной закладки. Таким образом, органо-генетические процессы сопровождаются активным избирательным размножением клеток. В результате митоза могут образовываться две идентичные дочерние клетки, либо в той или иной степени разнокачественные.

Клетки, остающиеся в клеточном цикле, составляют пролиферативный пул, величина которого в стабильных, не обновляющихся клеточных популяциях не превышает 1 %. В растущих тканях величина пролиферативного пула составляет 20–30 %. В быстрорастущих опухолях – 90 %.

Таким образом, деление клеток протекает с разной интенсивностью в разное время и в разных местах, носит клональный характер и подвержено генетическому контролю. Все это характеризует клеточное деление как сложнейшую функцию целостного организма, подчиняющегося регулирующим влияниям на различных уровнях: генетическом, тканевом, онтогенетическом.

Регуляция клеточного роста осуществляется на внутриклеточном, межклеточном и организменном уровнях. Уровни регуляция клеточного роста:

1. Внутриклеточный уровень регуляции происходит под действием генов, ответственных за митотическое деление и благодаря триггерным белкам цитоплазмы, которые подавляют или активизируют митоз. Генетический контроль цикла обеспечивается семейством генов, которые обозначаются как гены клеточного деления – cell division control – *Cdc*. Продукты этих генов – *киназы* – ферменты, которые фосфорилируют белки по определенным аминокислотам. Регуляторные белки – *циклины* – определяют последовательность активации киназ клеточного деления. В регуляции клеточного цикла участвуют комплексы циклин/циклин-зависимая киназа, фосфатазы PP1 и PP2a (дефосфорилируют белки), циклин-активирующие киназы (CAK), ингибиторы киназ.

Важную роль в регуляции клеточного цикла играет белок p53, который способен узнавать специфические последовательности в ДНК и регулировать активность генов, контролирующих пролиферацию.

Так, к концу G₁-периода интерфазы концентрация p53 в ядре увеличивается, а к началу S-периода – резко снижается. Переход из G₁- в S-период считается первой контрольной точкой клеточного цикла или точкой рестрикции – R, когда клетка принимает решение о репликации ДНК.

Вторая контрольная точка клеточного цикла – R2 соответствует переходу постсинтетического периода интерфазы в митоз. Начало митоза активизируется ферментом фосфатазой Cdc 25, которая активирует киназу Cus B/Cak1. Антагонистом является киназа weel, которая подавляет активность киназы. Таким образом, начало митоза определяется балансом активности ферментов Cdc 25 и weel.

2. Межклеточный уровень регуляции осуществляется благодаря эффекту контактного торможения, а также под действием кейлонов – веществ белковой природы, которые вырабатываются дифференцированными клетками. При воздействии на стволовые клетки кейлоны способны подавлять митоз. Индукторы, напротив, стимулируют митоз. Постоянство клеточного состава регулируется кейлонами и индукторами.

Кейлоны – тканеспецифичные ингибиторы клеточного деления, действие которых заключается в подавлении скорости деления клеток в тканях. Кейлоны обладают тканеспецифичностью (эпидермальные кейлоны действуют только на эпидермис), но лишены видовой специфичности (эпидермальный кейлон трески действует аналогичным образом и на эпидермис млекопитающего).

3. Организменный уровень регуляции. Размножение клеток делением регулируется нервной, эндокринной и иммунной системами. Например: гормоны, стимулирующие митотическую активность клеток – инсулин, тиреотропные гормоны; гормоны, подавляющие митоз – глюкокортикоиды.

Факторы роста – вещества, влияющие на деление клеток и рост органа или ткани. К ним относятся факторы роста, полученные из тромбоцитов (ФРТ), эпидермальный фактор роста, факторы роста фибробластов, гормоны – соматотропин (гормон роста, который начинает синтезироваться плодом уже через 70 дней после оплодотворения), инсулин, лактоген плаценты. Кроме факторов, стимулирующих рост, существуют белки, подавляющие его (β-интерферон и трансформирующий фактор роста).

β-интерферон проявляет свое ингибирующее пролиферацию действие, задерживая клетки перед вступлением в фазу S. В этот же период клеточного цикла проявляется действие фактора роста тромбоцитов: сравнительно недавние данные свидетельствуют о том, что β-интерферон

блокирует активность ФРТ. Таким образом, β -интерферон ингибирует клеточную пролиферацию и блокирует переход клеток из фазы G_0 в фазу G .

Так, экспериментально установлено, что ФРТ заставляет клетку перейти в фазу S . Но если одновременно добавить β -интерферон, то клетки не будут реагировать на ФРТ. Кроме того, под действием β -интерферона ингибируется синтез специфических белков, связанный со стимуляцией ФРТ. Следовательно, можно полагать, что β -интерферон нейтрализует действие ФРТ, препятствуя клеткам вступать в фазу S клеточного цикла.

Таким образом, деление клеток и рост органов и тканей контролируется взаимодействием стимулирующих и подавляющих рост гормонов, что, в свою очередь, регулирует клеточный рост, и митоз может быть остановлен прежде, чем клетки перейдут границы дифференцировки, определенные для них генетически.

При изучении расположения делящихся клеток в тканях обнаружено, что они группируются гнездами. Само по себе деление клеток не придает эмбриональному зачатку определенной формы. Нередко эти клетки располагаются беспорядочно, но в результате последующего их перераспределения и миграции зачаток приобретает форму. Перераспределение клеток в эмбриогенезе осуществляется в процессе межклеточных взаимоотношений.

Клеточная пролиферация есть процесс, регулируемый с высокой степенью точности многими факторами. Например, факторы роста и протоонкогены являются позитивными регуляторами клеточного цикла. Гены-супрессоры опухолей действует в противоположном направлении. Известны и многочисленные другие ингибиторы и индукторы апоптоза. Все эти факторы работают на определенных фазах клеточного цикла.

Значительную роль в онтогенезе играет апоптоз, поскольку в многоклеточных организмах гомеостаз поддерживается благодаря балансу между клеточной пролиферацией и гибелью,

Апоптоз – генетически запрограммированная гибель клеток, благодаря которой в ходе эмбриогенеза происходит исчезновение ненужных органов или частей органов.

Элиминация ненужных клеток необходима в эмбриогенезе, при обновлении клеточного состава; при функционировании иммунной системы. В целом эмбриональное развитие происходит с образованием большого избытка клеток, которые своевременно подвергаются апоптозу. Это создает запас клеточного материала и возможность последовательного развития.

В эмбриогенезе одновременно с ростом тканей происходит регрессия частей эмбриональных зачатков, тканей и органов, инволюция провизорных (временных) органов, появление просвета в полых органах. При формировании органов в эмбриогенезе апоптоз является механизмом

постоянного контроля их размеров. Угнетение апоптоза приводит к накоплению клеток (гиперплазия или опухолевой рост); увеличение – к уменьшению количества клеток (гипотрофия, атрофия).

За последние годы установлено, что многие структуры зародыша образуются клетками, происходящими от небольшого числа или даже одной клетки. В опытах на мышах показано, что организм развивается всего из трех клеток внутренней клеточной массы на стадии, когда бластоциста состоит из 64 клеток, а сама внутренняя клеточная масса содержит примерно 15 клеток.

В ходе эмбрионального развития высших позвоночных и человека имеют место процессы дегенерации органов, которые вначале закладываются, а затем исчезают. Немалое значение принадлежит процессам гибели клеток при образовании полостей тела или сосудов (так называемая кавитация), имеющих вначале вид тяжей без просвета. Наиболее выражены процессы апоптоза в нервной системе, где в ходе гистогенеза гибнет до 85 % всех нейронов. В центральной нервной системе сначала образуется больше нервных клеток, чем затем сохраняется, так как часть нейронов, не установивших связи со своими мишенями, погибает. Морфогенетические процессы обычно сопровождаются гибелью значительных масс клеток и это обеспечивает последовательную смену популяций клеток в ходе онтогенеза.

Значение апоптоза в эмбриогенезе:

- формообразование;
- точная регуляция количества клеток в клеточных ансамблях;
- удаление лишних или потенциально опасных клеток;
- удаление опухолевых клеток;
- удаление клеток, инфицированных вирусом.

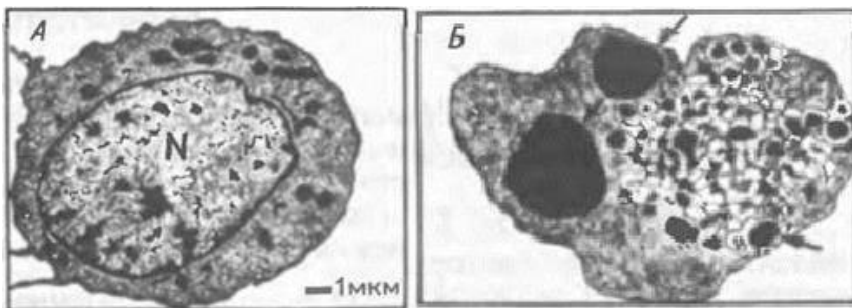


Рис. 2. Изменения структуры клетки при апоптозе (по: Lewis, 1998):
А – нормальная клетка; Б — клетка, измененная при апоптозе. Обращают на себя внимание конденсированные фрагменты ядерного хроматина

Механизм апоптоза заключается в том, что в отличие от некроза – патологической массивной гибели клеток, расположенных в одном участке ткани, при апоптозе гибнут единичные клетки, расположенные в ткани мозаично, их гибель происходит запрограммированно в результате воздействия специально синтезируемых белков апоптоза. Под их действием происходит упорядоченное расщепление ДНК, в отличие от некроза, где расщепление ДНК незакономерное, случайное. Апоптоз регулируется межклеточными отношениями, в результате чего организм может элиминировать нежелательные клетки.

В основе механизма апоптоза лежит генетически регулируемая активация нелизосомных эндогенных эндонуклеаз, которые расщепляют ядерную ДНК на фрагменты. Апоптоз характеризуется утратой митохондриальной функции, что позволяет предположить их важную роль в регуляции этого процесса. Плазматическая мембрана при апоптозе остается целой. При этом формируются апоптотические тельца – округлые, окруженные мембраной тельца, которые фагоцитируются окружающими клетками.

Таким образом, при апоптозе в клетках «срабатывает» внутренняя программа их гибели, включающая активацию эндогенных протеаз. В связи с этим апоптоз часто называют программированной клеточной смертью (PCD).

Этапы апоптоза:

1. Сжатие клетки.
2. Конденсация хроматина.
3. Формирование апоптотических телец.
4. Фагоцитоз.

Судьба клеток (выживут или погибнут) зависит от соотношения активаторов и ингибиторов апоптоза.

Ингибиторы апоптоза: факторы роста, клеточный матрикс, половые стероиды, некоторые вирусные белки.

Активаторы апоптоза: недостаток факторов роста, глюкокортикоиды, вирусы, потеря связи с матриксом, свободные радикалы, ионизирующее излучение.

Апоптоз представляет собой универсальный процесс, свойственный самым различным видам животных. В 80-е годы XX в. было установлено, что у круглого червя *Caenorhabditis elegans* из составляющих его 1090 клеток в ходе эмбрионального развития погибает посредством апоптоза 131 клетка.

У *C. Elegans*¹ программированную гибель клеток принято подразделять на 4 стадии:

- решение, что данная клетка погибнет или выберет другую судьбу;
- гибель клетки;
- поглощение гибнущей клетки фагоцитом;
- деградация поглощенного тела.

В настоящее время найдены многочисленные гомологичные гены, связанные с реализацией внутренней программы гибели клеток – апоптозом. Примером генетического контроля апоптоза является открытие гена *p53*. Белок, контролируемый этим геном, обладает способностью при определенных условиях блокировать клеточное деление и запускать механизм апоптоза.

При развитии зародыша различают **три категории автономного апоптоза**: морфогенетический; гистогенетический; филогенетический.

1. **Морфогенетический апоптоз** участвует в разрушении тканевых зачатков (гибель клеток в межпальцевых промежутках; гибель клеток избыточного эпителия при формировании твёрдого нёба; гибель клеток при смыкании дорсальной части нервной трубки).

2. **Гистогенетический апоптоз** наблюдается при дифференцировке тканей и органов, например, гормонозависимая дифференцировка тканевых зачатков (проток Мюллера).

3. **Филогенетический апоптоз** обеспечивает удаление рудиментарных структур у зародыша (пронефрос, затылочные сомиты и др.).

Нарушение процесса апоптоза в эмбриогенезе может вызвать внутриутробную гибель плода; пороки развития; новообразования.

Различают **две формы патологии апоптоза** в эмбриогенезе: чрезмерная выраженность апоптоза и его недостаточность.

Чрезмерно выраженный апоптоз эмбриогенеза сопровождается дефицитом клеточной массы в тех или иных участках тела зародыша (*агенезия, аплазия, гипоплазия, атрезия, стеноз*).

¹ У *C. elegans* удалось впервые выделить мутации, которые влияли на процессы апоптоза. Оказалось, что гены *ced-3* и *ced-4* являются генами смерти. Ген *ced-9* – антиапоптозный ген, активность которого предохраняет клетки от апоптоза. В случае дефекта в CE09-белке, обладающем протеазной активностью, выживают все 131 клетки, в противном случае они были бы обречены на гибель посредством апоптоза. У млекопитающих был обнаружен ген *bcl-2*, идентичный онкогену, защищающий иммунные и нервные клетки от апоптоза. Оба гена были секвенированы, и было доказано, что ген *ced-9* на 23 % идентичен гену *bcl-2*, обладающему сходной функцией. При этом ген *bcl-2* может функционально замещать ген *ced-9* у *C. elegans* и спасать мутантов от гибели. Таким образом, можно полагать, что генетическая программа апоптоза консервативна и универсальна от червя до человека.

Недостаточность апоптоза в эмбриогенезе приводит к возникновению двух типов тканевых пороков развития: гамартий (избыточное развитие ткани – гемангиомы, пигментные невусы, хондромы) и хориствий (появление в органе нехарактерных для него тканевых структур – дермоидных кист различной локализации).

Таким образом, апоптоз является естественным и генетически контролируемым механизмом морфогенеза, который регулирует число клеток в развивающихся тканях, участвует в их перестройке, исчезновении рудиментарных зачатков, в элиминации дефектных клеток.

Следовательно, избирательная гибель клеток не менее важна для морфогенеза, чем другие клеточные процессы.

Вопросы для повторения.

1. Фазы клеточного цикла. Периоды интерфазы. G₁- период интерфазы.
2. Влияние продолжительности G₁-периода на дифференцировку клеток.
3. Генетический контроль скорости клеточной пролиферации путем изменения продолжительности периодов клеточного цикла.
4. Механизм апоптоза и его генетическая регуляция.
5. Роль апоптоза в эмбриогенезе.

Рекомендуемая литература.

1. Глушен, С. В. Цитология и гистология: конспект лекций. – Минск: БГУ, 2003. – 138 с.
2. Корочкин, Л. И. Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва: Изд-во МГУ, 2002. – 264 с.
3. Steller H. Apoptosis // Science. – 1995. – Vol. 267. – P. 1443–1449.

Раздел 2. Детерминация и дифференцировка

2.1. Уровни дифференцировки

Дифференцировка – это процесс, в результате которого клетка становится специализированной, приобретает химические, морфологические и функциональные особенности. В процессе *дифференцировки* происходит постепенное (на протяжении нескольких клеточных циклов) возникновение все больших различий между клетками, происшедшими из однородных клеток одного исходного зачатка. Этот процесс сопровождают морфогенетические преобразования: возникновение и дальнейшее развитие зачатков определенных органов в дефинитивные органы. Процесс, в результате которого отдельные ткани в ходе дифференцировки приобретают характерный для них вид, называют *гистогенезом*. Дифференцировка клеток, гистогенез и органогенез совершаются в совокупности, причем в определенных участках зародыша и в определенное время, что указывает на координированность и интегрированность эмбрионального развития.

Дифференцировка представляет собой качественный процесс геномного программирования клеток (репрессия и активация генов), приводящий к специализации клеток в определенном направлении (появление специфических рецепторов и маркеров клеточной поверхности, специфические синтезы в цитоплазме). Можно выделить ряд признаков, которые характеризуют степень дифференцированности клеток. Так, для недифференцированного состояния характерны относительно крупное ядро, высокое ядерно-цитоплазматическое отношение (объем ядра / объем цитоплазмы), диспергированный хроматин, хорошо выраженное ядрышко, многочисленные рибосомы, интенсивный синтез РНК, высокая митотическая активность, неспецифический метаболизм. Все эти признаки изменяются в процессе дифференцировки, характеризуя приобретение клеткой специализации.

С момента одноклеточной стадии (зиготы) развитие организма определенного вида жестко предопределено. В процессе дифференцировки клетки, обладающие одинаковыми кариотипом и генотипом, дифференцируются и участвуют в гисто- и органогенезе в необходимых местах и в определенные сроки, соответственно целостному «образу» данного вида организмов.

В настоящее время в качестве основного механизма клеточной дифференцировки принята гипотеза *дифференциальной экспрессии генов в признак*. *Экспрессия гена в признак* – это сложный этапный процесс. Уровни регуляции дифференциальной экспрессии генов соответствуют этапам реализации информации в направлении ген → полипептид → признак и включают внутриклеточные, тканевые и организменные процессы.

Основные этапы дифференциальной экспрессии генов:

1. Активность генов.
2. Транскрипция, первичный РНК-транскрипт (ядерные РНК).
3. Матричная РНК цитоплазмы.²
4. Трансляция (белки – продукты генной активности).
5. Морфологическая дифференцировка.

Все этапы экспрессии генов являются результатом сложных видоизменений продуктов первичной генной активности (посттранс-крипционные преобразования РНК, трансляция и посттрансляционные процессы).

В ряде случаев окончательная дифференцировка связана с «до-стройкой» молекул ферментов или гормонов или четвертичной структуры белка (посттрансляционные события). Например, фермент тирозиназа появляется у зародышей амфибий в раннем эмбриогенезе, но переходит в активную форму после рождения.

В процессе дифференцировки клетки приобретают способность реагировать на определенные вещества не сразу после синтеза соответствующего рецептора, а только в определенный момент. Установлено, что мышечные волокна в своей мембране имеют рецепторы к медиаторному веществу ацетилхолину. Эти холинорецепторы обнаруживали внутри цитоплазмы клеток-миобластов до образования ими мышечных волокон, а чувствительность к ацетилхолину возникала только с момента встраивания рецепторов в плазматическую мембрану во время образования мышечных трубочек и мышечных волокон. Этот пример свидетельствует, что экспрессия генов и тканевая дифференцировка могут регулироваться после трансляции в процессе межклеточных взаимодействий.

² Большая часть мРНК цитоплазмы одинакова по качественному составу в клетках, относящихся к различным стадиям онтогенеза; мРНК необходимы для обеспечения жизнедеятельности клеток и детерминируются генами «домашнего хозяйства», представленными в геноме в виде нескольких нуклеотидных последовательностей со средней частотой повторяемости. Продуктами их активности являются белки, необходимые для сборки клеточных мембран, различных субклеточных структур и т. д. Количество этих мРНК составляет примерно 9/10 от всех мРНК цитоплазмы. Остальные мРНК являются необходимыми для определенных стадий развития, а также различных типов клеток.

При изучении разнообразия мРНК в почках, печени и головном мозге мышей, в яйцеходах и печени кур было обнаружено около 12000 различных мРНК. Лишь 10–15 % были специфичны для какой-либо одной ткани. Они считаются с нуклеотидных последовательностей тех структурных генов, действие которых специфично в данном месте и в данный момент и которые называются генами «роскоши». Количество их соответствует примерно 1000–2000 генов, ответственных за дифференцировку клеток.

Уровни дифференцировки:

- *оотипическая* – возникновение различий в строении разных зон яйцеклетки;
- *бластомерная* – появление различий у бластомеров;
- *зачатковая* – появление зародышевых листков и зачатков органов, различных по строению;
- *гистогенетическая (тканевая)* – появление в одном зародышевом листке зачатков разных тканей.

Оотипическая дифференцировка представляет собой процесс, в результате которого возникают различия между отдельными частями зиготы, обеспечивающие разметку пространственной организации будущего зародыша. Оотипическая дифференцировка определяет (детерминирует) последующие этапы развития. В основе ее лежит дифференциальная экспрессия генов.

Ооцит представляет собой высокоспециализированную структуру, поскольку в процессе его созревания закладывается план строения будущего организма. Так, в процессе оплодотворения происходит перераспределение содержимого цитоплазмы: белковых молекул кортикальных гранул, пигментных гранул, РНК – так называемых морфогенных детерминант. Попадая при дроблении в разные бластомеры, морфогенные детерминанты в разных областях зародыша обеспечивают дифференцированную экспрессию генов и тем самым формируют определенные клеточные клоны, которые представляют собой зачатки органов. Бластомеры являются основателями клеточных клонов дифференцирующихся клеток, из которых в дальнейшем сформируется тело зародыша.

Таким образом, морфогенные детерминанты:

- синтезируются в процессе оогенеза;
- перераспределяются в процессе ооплазматической сегрегации;
- запускают определённую программу развития.

Бластомерная дифференцировка – процесс формирования качественно разнородных бластомеров, которые, располагаясь определенным образом, детерминируют дальнейший эмбриогенез и намечают пространственную организацию зародыша. В основе бластомерной дифференцировки лежат контактные межклеточные взаимодействия.

Взаимодействие клеток зародыша начинается со стадии двух бластомеров и представляет собой химические, физические и биологические процессы (изменение концентрации ионов, обмен молекулами, выделение продуктов жизнедеятельности, электрические и механические взаимодействия, излучения, действия поля, контакты клеточных мембран).

Зачатковая дифференцировка – процесс формирования отличающихся друг от друга зародышевых листков и осевых органов. При этом

клеточный материал каждого зародышевого листка становится детерминированным в направлении образования определенного круга тканевых производных.

В основе зачатковой дифференцировки лежит индукционное влияние близлежащих клеток (индукционные контакты), которые приводят к дифференциальной экспрессии генного материала, что обеспечивает морфогенетические перемещения и дальнейшую дифференцировку клеток.

Зачатковая дифференцировка протекает под влиянием *первичной эмбриональной индукции*.

Гистогенетическая (тканевая) дифференцировка – процесс превращения малодифференцированных клеток в специализированные ткани. В основе тканевой дифференцировки лежит *вторичная эмбриональная индукция* – индукционное взаимодействие дифференцирующихся клеток, которые сами находятся под влиянием индукционных контактов (явление перекрестной или реципрокной *эмбриональной индукции*). Дифференцировка клеток не сводится только к синтезу специфических белков, поэтому применительно к многоклеточному организму эта проблема неотрывна от пространственно-временных аспектов и, следовательно, от еще более высоких уровней ее регуляции, чем уровни регуляций биосинтеза белка на клеточном уровне. Дифференцировка всегда затрагивает группу клеток и соответствует задачам обеспечения целостности многоклеточного организма.

Детерминация (лат. determinatio – ограничение, определение) – возникновение качественных различий между частями развивающегося организма, которые предопределяют дальнейшую судьбу этих частей прежде, чем возникают морфологические различия между ними.

Детерминация предшествует дифференцировке и морфогенезу, которые обычно начинаются после дробления, в периоде гастрюляции и органогенеза. В ходе эмбрионального развития детерминация предопределяет развитие конкретного зачатка органа или его части.

Уровни детерминации:

- *оотипическая* – программирует развитие зародыша из зиготы;
 - *зачатковая* – программирует развитие органов и систем из эмбриональных зачатков;
 - *тканевая* – программирует развитие специализированных тканей.
- При этом происходит закрепление окончательных свойств, и ткани теряют способность к взаимопревращениям. Такое явление называют стабильной детерминацией.

Установлено, что детерминация связана не со свойствами отдельных клеток, а признаками развивающегося организма как целостной системы, обладающей взаимосвязанными и взаимозависимыми частями.

Если яйцеклетка в целом с самого начала генетически детерминирована на развитие определенного организма, то ни одна ее часть в отдельности еще не детерминирована и может в случае нарушения целостности яйцеклетки изменить свою судьбу. То же самое можно сказать о зачатке почти любого органа. Сначала зачаток проходит фазу зависимой дифференцировки: в этот период его судьба зависит от индукторов и других внешних относительно него условий окружения. Затем наступает момент, когда он может считаться «в целом» детерминированным и вступает в фазу независимой дифференцировки. Это обнаруживают по способности зачатка к полноценной дифференцировке при пересадке в другое окружение. Такую способность зачатки приобретают еще задолго до своей окончательной дифференцировки. Однако судьба отдельных частей зачатка к этому времени еще не детерминирована. Так, из уже детерминированной в целом нервной пластинки, зачатка глаза, конечности можно удалить значительную часть материала (например, у амфибий до $\frac{3}{4}$ материала конечности), и из оставшейся части возникает целый и правильно организованный, хотя и меньших размеров, орган. То же самое получится после добавления к зачатку недетерминированного эмбрионального материала или перемешивания его собственного материала. Добавленный или перемешанный материал ассимилируется, включается в состав органа, не искажая его структуры. Например, мезенхиму почки конечности можно извлечь из-под эпителия, рассыпать на клетки и в перемешанном виде вновь имплантировать под эпителий. После этого разовьется конечность нормальной структуры.

2.2. Ядерно-цитоплазматические взаимодействия в развитии

Все признаки и свойства организма, его клеток и тканей, органов и систем органов определяются генами, их дифференциальным функционированием.

Экспрессия гена – проявление активности (реализация функции) гена. Все клетки зародыша имеют идентичный набор генов. Главной причиной возникновения различий между ними в процессе дифференциации клеток рассматривается избирательная (дифференциальная) активность генов: гены или их группы избирательно активируются или инактивируются. В ходе дифференцировки клеток зародыша наблюдается последовательная смена активных генов. По мере дифференцировки число активных генов в клетке прогрессивно снижается. Так, из 40 тыс. генов генома морского ежа на стадии бластулы активны примерно 30 тыс., на стадии гастрюлы и личинки – 12–15 тыс., у взрослых животных – 3–5 тыс. генов. При этом необязательно происходят необратимые изменения клеточного ядра, что было продемонстрировано в 60-е годы XX в.

Дж. Гердоном на серии опытов по трансплантации ядер. Гердон «убивал» ядро неоплодотворенного яйца лягушки ультрафиолетовыми лучами и затем трансплантировал в него ядро из дифференцированной клетки кишечника. В некоторых случаях (1–2 %) из таких яиц развивались взрослые особи. Из этого следует, что вся информация, необходимая для нормального развития тотипотентной клетки, присутствует в ядре дифференцированной клетки и может вновь активироваться и использоваться для повторения процесса развития.³

Реализация наследственной информации в онтогенезе представляет собой многоступенчатый процесс и включает различные уровни регуляции – *клеточный, тканевой, организменный*. На каждом этапе развития организма функционирует большое количество генов, каждый из которых контролирует ход той или иной биохимической реакции и через нее принимает участие в осуществлении формообразовательных процессов. Локализация генов в хромосомах ядер определяет их *ведущую роль* в регуляции формообразования.

В ходе экспериментальных эмбриологических исследований было установлено, что именно ядру принадлежит главенствующая роль в развитии. При этом было обнаружено, что на начальных стадиях онтогенеза ядро сохраняет свой потенциал и способность обеспечить нормальное развитие зародышей. Эта способность ядер клеток была названа ***тотипотентной***.

В результате экспериментальных исследований по трансплантации ядер (Дж. Гердон) была установлена способность ядер некоторых дифференцированных систем сохранять начальную наследственную информацию и обеспечивать нормальное развитие в процессе эмбриогенеза. Такое явление было названо ***эквивалентностью***.

Ядра, даже если они эквивалентны, в разных частях зародыша и в разные периоды развития проявляются разными своими «сторонами»

³ В ходе эволюции сформировался ряд специальных механизмов избирательной активации генов. Один из них осуществляется с участием белков с низким молекулярным весом (2000–10000), входящих в состав хромосом – гистонов. Соединяясь с определенными генами в цепи ДНК, гистоны препятствуют преждевременному считыванию информации, которая понадобится позже. Структурные перестройки ДНК (инсерции) влияют на активацию генов. Инсерция – врезание молекулы ДНК или ее фрагмента в ген – приводит к инактивации гена. Разные участки цитоплазмы зиготы, различающиеся молекулярной и субклеточной структурой и попадающие в различные бластомеры в процессе дробления, влияют на активацию и инактивацию генов ядер этих бластомеров. Следовательно, различия участков цитоплазмы ранних бластомеров могут обеспечивать активацию или инактивацию различных однотипных клеточных ядер.

(дифференциальная экспрессия), что связано с попаданием эквивалентных ядер в разную цитоплазму. Многочисленными исследованиями по трансплантации ядер в энуклеированную яйцеклетку было установлено, что у животных отдельные соматические клетки после стадии бластулы, как правило, не способны развиваться в целый нормальный организм, но их ядра, пересаженные в цитоплазму ооцита, начинают вести себя соответственно той цитоплазме, в которой они оказались. При этом фактор, индуцирующий синтез ДНК, отсутствует в ядре и цитоплазме растущего ооцита и появляется через несколько часов после введения питуитарного гормона, вслед за разрушением оболочки ядра ооцита. Он сохраняется в цитоплазме яйцеклетки в течение часа после оплодотворения или активации яйцеклетки искусственным путем.

Таким образом, было установлено, что наследственный аппарат ядра выдает информацию в соответствии с цитоплазматическим окружением.

Морфогенетическая активность ядер в различных клетках осуществляется за счет синтеза специфических мРНК, продуцирующих белки, которые принимают участие в формообразовательных процессах. Установлено, что всем эмбриональным зачаткам присуща периодичность морфогенетической функции ядер. В ходе экспериментов, используя различные способы подавления транскрипции, было доказано, что иРНК, обеспечивающая формообразовательные процессы, синтезируется в определенные, ограниченные промежутки времени (исследования А. А. Нейфаха). При этом информация, выдаваемая в период морфогенетической активности ядра, обеспечивает формообразовательные процессы в течение определенного этапа развития, после чего в цитоплазму посылается очередная порция матричной РНК. Иными словами, информация выдается ядром не непрерывно, а периодически. Исследования А. А. Нейфаха свидетельствуют, что всем эмбриональным зачаткам присуща периодичность морфогенетической функции ядер. При этом обнаруживаются специфические особенности каждой закладки, которые проявляются в различиях временных интервалах чувствительности к подавлению ядерной функции. Соответствующая периодичность морфогенетической активности ядер была обнаружена и в постнатальном онтогенезе, когда завершаются процессы специализации клеток (при дифференцировке хрусталика, мышц, гемопоэзе и др.).

Открытие периодичности в морфогенетической функции ядер позволило объяснить с позиций молекулярной генетики классическое положение о критических периодах развития, выдвинутое С. Стоккардом в 20-е годы XX в. и позднее развитое П. Г. Светловым. В нем утверждалось, что в онтогенезе имеются периоды, когда развивающийся организм особенно чувствителен к действию различных повреждающих факторов.

Таким образом, ядро, несущее наследственный материал, в котором записана программа индивидуального развития, характеризуется следующими особенностями:

- в ходе эмбрионального развития оно играет ведущую роль в регуляции формообразовательных процессов как во времени, так и в пространстве;
- осуществляет эту роль посредством ядерно-цитоплазматических взаимодействий (из ядра в цитоплазму поступают различные РНК, а из цитоплазмы в ядро – регуляторные молекулы – индукторы и репрессоры);
- в некоторых случаях клеточной дифференцировки и у некоторых объектов сохраняет свой потенциал к обеспечению развития целостного организма, то есть испытывает в ходе онтогенеза обратимые функциональные изменения;
- в ходе регуляции индивидуального развития проявляет периодичность морфогенетической активности;
- в разных частях зародыша и в разные периоды развития эквивалентные ядра проявляют разные свойства;
- разная цитоплазма индуцирует разные функциональные состояния ядра, которое попадает в эту цитоплазму.

Яйцеклетка представляет собой гетерогенную, химически преформированную, высокоспециализированную систему. Гетерогенность цитоплазмы в процессе развития ооцита в оогенезе формируется последовательно. Известно, что яйцеклетка характеризуется анимально-вегетативным градиентом, который проявляется в постепенном падении концентрации РНК и белков, а также активности синтеза РНК и белков в направлении от анимального к вегетативному полюсу. В вегетативной области яйца, напротив, сосредоточены метаболически инертные запасные питательные вещества. Цитоплазма ооцита содержит специфические включения (желточные, пигментные), которые накапливаются в раннем онтогенезе. Желточные гранулы распределяются преимущественно на вегетативном, а ядро – в свободной от желтка цитоплазме на анимальном полюсе. Пигментные гранулы (асцидии, амфибии) распределяются таким образом, что наибольшая их концентрация находится на анимальном полюсе в глубине кортикального слоя, при этом наибольшая концентрация РНК сосредоточена в зоне пигментации. Такая анимально-вегетативная поляризация у низших организмов намечает кранио-каудальную ось тела будущего зародыша.

У некоторых организмов (асцидий) неоднородность цитоплазмы яйцеклетки можно заметить по разнице в окраске разных ее частей. В яйцеклетках насекомых выделяется часть цитоплазмы, формирующаяся на заднем полюсе ооцита – так называемая *полярная плазма*, богатая

РНК и имеющая четко выраженную зернистую структуру. Клеточные ядра, которые попадают в эту цитоплазму, дают начало половым клеткам.

Полярная плазма характеризуется следующими свойствами:

- функционирует автономно, способна вызвать эффект в любом участке зародыша;
- функционирует специфически, индуцируя образование только одного определенного типа клеток – половых;
- видонеспецифична – микроинъекции полярной плазмы одного вида в бластодерму другого вида вызывают положительный эффект – стимуляцию образования гоноцитов в месте инъекции, однако образующиеся при этом половые клетки сохраняют строение, свойственное «своему» виду.

Установлено, что гетерогенность цитоплазмы ооцита вызвана его положением в материнском организме. Так, один из полюсов ооцита еще до оплодотворения находится в более благоприятных условиях. Например, питательные вещества у амфибий по артериальным сосудам (рис. 3), у насекомых с помощью трофоцитов (рис. 4) доставляются преимущественно к одному из полюсов яйца, который в дальнейшем будет анимальным.

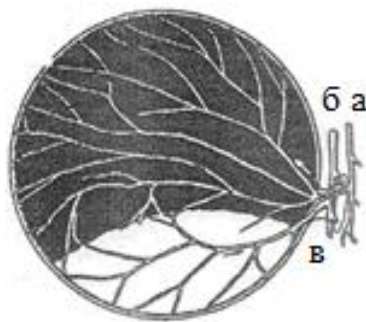


Рис. 3. Созревший ооцит из яичника лягушки (по Чайлд, 1941):
а – артерия; б – вена; в – стебелек

На основании изложенного можно сделать вывод, что формирование анимально-вегетативного градиента зависит от материнского организма.

Распределение и локализация цитоплазматических специфицирующих факторов по разным зонам ооцита происходит не только в процессе оогенеза, но и при оплодотворении. Оплодотворение вызывает перемещения цитоплазмы ооцита – так называемую ооплазматическую сегрегацию. Белковые молекулы кортикальных гранул, пигментные гранулы, РНК представляют собой сигнальные (инструктивные) молекулы – морфогенные детерминанты (морфогены), которые попадают в разные зоны цитоплазмы в процессе оплодотворения, а при дроблении – в разные бла-

стомеры и запускают определенную программу развития.

Таким образом, в процессе ооплазматической сегрегации формируются региональные особенности цитоплазмы, которые как бы намечают, «преформируют» на химическом уровне план строения будущего организма. В основу формирования этого плана лежит образование **полярных градиентов** распределения биологически активных веществ.

В ходе экспериментов, проделанных Ж. Браше, было доказано наличие полярных градиентов в развивающемся зародыше. Ж. Браше с помощью разных режимов центрифугирования нарушал градиентное распределение веществ цитоплазмы двояким способом: 1 – разрушал систему градиентов, вызывая равномерное распределение РНК, белков и других веществ по цитоплазме; 2 – расчленил единый анимально-вегетативный градиент на два самостоятельных градиента.

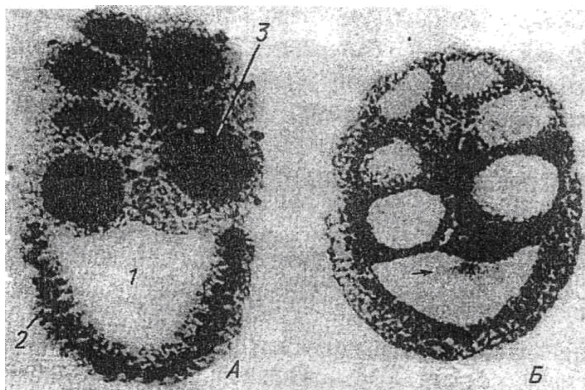


Рис. 4. Радиоавтограф ооцита (1), питающих клеток и фолликулярного эпителия (2) домашней мухи (по Девидсон, 1972): А – инкубацию проводили в течение 30 мин. С H^1 -цитидином; Б – то же самое через пять часов после инкубации. Видно, как меченая РНК поступает в ооцит из прилегающей питающей клетки (указано стрелкой). Интенсивно меченая РНК, присутствующая ранее (А) в ядрах питающих клеток (3), теперь наблюдается в основном в их цитоплазме

В первом случае развитие останавливалось на самых ранних стадиях развития, и зародыш погибал (рис. 5 А). Во втором случае возникал зародыш с двумя системами осевых органов (рис. 5 Б), с двумя головами. Таким образом, было установлено, что при отсутствии градиента распределения система осевых органов вообще не формируется, а двум градиентам распределения соответствуют две системы осевых органов.

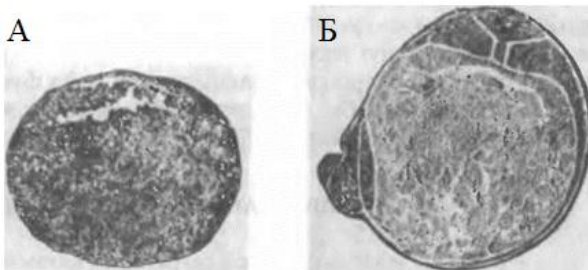


Рис. 5. Результаты эксперимента Ж. Браше: А – вариант 1; Б – вариант 2

Также было установлено, что неравномерное распределение РНК ведет к специфическому синтезу соответствующих белков в определенных областях развивающегося зародыша. В процессе дробления бластомеры приобретают определенные свойства, которые вызывают их различия, что определяет специфичность ядерно-цитоплазматического отношения и определяемую этой специфичностью дифференциальную активность генов.

Таким образом, зрелый ооцит представляет собой высоко-специализированную систему, в процессе созревания которой закладывается план строения будущего организма. Гетерогенность цитоплазмы и формирование полярных градиентов происходит при участии питающих клеток материнского организма и предопределяет план строения будущего организма.

Вопросы для повторения:

1. Что такое дифференцировка?
2. Перечислить уровни дифференцировки.
3. Дать характеристику оотипической, бластомерной, зачатковой и тканевой дифференцировке.
4. Что такое детерминация?
5. Обратимы ли изменения ядер в процессе онтогенеза?
6. Для чего используется метод трансплантации ядер?
7. Как цитоплазма влияет на функции ядра?
8. Что такое периодичность в морфогенетической активности ядер?
9. Свойства полярной плазмы.

Рекомендуемая литература:

1. Альберт Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. Молекулярная биология: в 3 т. – Москва: Мир, 1994–1996.
2. Гердон Дж. Регуляция функции генов в развитии животных. – Москва: Мир, 1977.

3. *Гилберт С.* Биология развития: в 3 т. – Москва: Мир, 1993–1995.
4. *Корочкин Л. И.* Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва: Изд-во МГУ, 2002. – 264 с.
5. *Дондуа А. К.* Биология развития: в 2 т. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.
6. *Болотов А. В.* Биология индивидуального развития // Биология размножения и развития: учеб. пособие. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 2011. – 217 с.
7. *Кузнецов С. Л., Пугачев М. К.* Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии: учеб. пособие. – Москва : Мед. информ. Агентст., 2004. – 432 с.
8. *Белоусов Л. В.* Основы общей эмбриологии: учебник. – 3-е изд. переработ. и доп. – Москва: Изд-во Моск. ун-та; Наука, 2005. – 368 с.
9. *Джелдубаева Э. Р.* Биология индивидуального развития: курс лекций. – Симферополь, 2008. – 10 с.
10. *Серов О. Л.* Перенос генов в соматические и половые клетки. – Новосибирск: Наука, 1985.
11. *Wakayama T. [et al.]* Full term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei // Nature. –199. – V. 394. – P. 369–373.

Раздел 3. Молекулярно-генетическое обеспечение плана строения организма

3.1. Формирование полярных градиентов

Зрелый ооцит представляет собой высокоспециализированную систему, в процессе созревания которой закладывается план строения будущего организма.

У амфибий в процессе ооплазматической сегрегации происходит последовательное формирование гетерогенности цитоплазмы ооцита, что обусловлено неравномерным специализированным распределением пигментных гранул в цитоплазме (в глубине кортекса на анимальном полюсе), при этом наибольшая концентрация РНК наблюдается в зоне пигментации.

В этот период функционируют почти все гены, так что в яйцеклетке содержится набор самых разнообразных мРНК, многие из которых станут нужными на относительно поздних стадиях развития, то есть ядро развивающегося ооцита функционирует с опережением.

В ходе ооплазматической сегрегации формируются региональные особенности цитоплазмы, которые как бы намечают, «преформируют» на молекулярно-биологическом уровне план строения будущего организма. В основе формирования этого плана лежит образование *полярных градиентов* распределения биологически активных веществ, многие из которых являются индукторами и репрессорами процессов индивидуального развития зародыша на разных этапах развития.

Яйцеклетка амфибий характеризуется анимально-вегетативным градиентом, который проявляется в постепенном падении концентрации РНК и белков, активности синтеза РНК и белков в направлении от анимального к вегетативному полюсу. В вегетативной области яйца сосредоточены метаболически инертные запасные питательные вещества. Следует в то же время отметить, что яйца млекопитающих не имеют такой жестко фиксированной, морфологически выявляемой гетерогенности, как яйца амфибий или дрозофилы.

В ходе индивидуального развития организма параллельно с клеточной дифференцировкой и формированием анатомических структур, начиная с самых ранних этапов, происходят процессы, связанные с формированием общего плана строения организма или формирование паттерна (англ. pattern – модель, рисунок).

Понимание принципов формирования паттерна развития насекомых было заложено в конце 1980-х годов исследованиями Кристианы Нюсслин-Фольхард и Эрика Висхауза. Авторы предложили выделить три группы генов материнского действия, которые ответственны за развитие передней и задней сегментированных областей, а также за развитие несег-

ментированных терминальных участков тела – переднего акрона и заднего – тельсона (в 1995 г. получили звание лауреатов Нобелевской премии).

Формирование плана строения организма заключается в том, что среди генов «передней» группы ведущую роль играет ген *bicoid*. Благодаря активности этого гена синтезируется иРНК, которая по цитоплазматическим мостикам транспортируется в формирующийся ооцит. Наличие белка Bicoid модифицирует эти процессы так, что формируется акрон. Терминальная группа генов представлена генами *torso* и *torsolike*. Транскрипция этих генов инициирует процессы, связанные с развитием тельсона.

3.2. Гены материнского эффекта

Для формирования полярных градиентов выделяют три основные системы генов.

Первая система генов обеспечивает формирование анимально-вегетативного градиента. Среди этих генов главным является *bicoid*, содержащий гомеобокс – специфическую консервативную последовательность ДНК из 180 нуклеотидных пар. В случае его мутации у дрозофилы нарушается развитие головного конца. У эмбрионов, носителей мутации по этому гену, задний конец развивается нормально, но нарушено развитие передних брюшных сегментов, а вместо головы и груди развиваются структуры, свойственные заднему концу. Если с помощью гибридизации *in situ* с зондом ДНК *bicoid* исследовать локализацию соответствующего транскрипта, то можно проследить транспорт РНК, синтезированной этим геном из питательных клеток в анимальный полюс развивающегося ооцита. В результате формируется четко выраженный анимально-вегетативный градиент распределения продукта этого гена. Такие продукты принято называть **морфогенами**. С другой стороны, фолликулярные клетки «поставляют» в ооцит РНК, синтезированную геном *nanos*, которая концентрируется на противоположном полюсе. У мутантов *nanos* нарушается развитие заднего конца зародыша. Если *nanos* РНК инъецировать в передний конец эмбриона, она может индуцировать формирование в головном конце различных структур, свойственных заднему полюсу. Белок *nanos* синтезируется в области заднего полюса и затем транспортируется в область брюшных сегментов, что осуществляется при участии продукта гена *pumilio*. Для активации гена *nanos* необходимы пять генов с материнским эффектом.

В формировании плана строения организма на ранних этапах созревания ооцита принимает участие ген *hunchback*, который активно функционирует не только в материнском, но и в зиготическом геноме. Он активируется белком *bicoid*, его продукт накапливается, как и *bicoid*, в передней половине зародыша и репрессирует гены, активные в брюшных сегментах, так что в зоне его распределения формируются головные

и грудные структуры. Белок *bicoid* присоединяется к пяти сайтам, расположенным выше промотора гена *hunchback*. Все эти сайты имеют общую последовательность.

Вторая система генов контролирует формирование дорсо-вентрального градиента. Более 10 генов материнского действия участвуют в спецификации дорсо-вентральной оси зародыша дрозофилы. Это протяженный во времени процесс. Он начинается в период оогенеза и завершается после оплодотворения, на стадии формирования бластодермы. Во время оогенеза экспрессируется ген *dorsal* и, соответствующая иРНК, которая равномерно распределяется по ооциту. Примерно через 1,5 часа после оплодотворения синтезируется белок Dorsal, который является транскрипционным фактором, необходимым для спецификации вентральных структур зародыша, в частности, мезодермы и нейральной эктодермы.

Третья система генов контролирует формирование полярных градиентов в оогенезе. Эта группа генов контролирует формирование терминальных структур: **акрона** (несегментированного головного конца) и **тельсона** (несегментированного хвостового конца). Ключевую роль в этом процессе играет ген *torso*. При отсутствии его продукта ни акрон, ни тельсон не развиваются, и эмбрион оказывается полностью сегментированным. У доминантных мутантов по этому гену вся передняя половина зародыша превращается в акрон, а задняя – в тельсон. Активация белка *torso* осуществляется как на переднем, так и на заднем концах зародыша продуктом гена *torsoless*, функционирующем в фолликулярных клетках. Следовательно, анатомические границы терминальных структур – аксона и тельсона – детерминируются геном *torso*, для активации продукта которого необходимы сигнал из фолликулярных клеток (белок *torsoless*) и взаимодействие с генами *tailless* и *huckebein* (рис. 6).

Как уже отмечалось, гетерогенность цитоплазмы ооцита вызвана его положением в материнском организме, поскольку один из полюсов ооцита еще до оплодотворения находится в более благоприятных условиях, так как питательные вещества, в частности у насекомых, с помощью трофоцитов доставляются преимущественно к одному из полюсов, который в дальнейшем будет анимальным.

Таким образом, гетерогенизация цитоплазмы созревающего ооцита и формирование полярных градиентов, химически преформирующих план строения будущего организма, реализуется на основе взаимодействия трех систем генов и при участии питающих клеток материнского организма, окружающих ооцит.

Активность генов в эмбриональном развитии связана:

- с формированием плана строения организма;
- с формированием паттерна;
- со спецификацией зачатков и клеток, с формированием многообразия типов клеток, тканей и зачатков, с процессами цитодифференцировки.

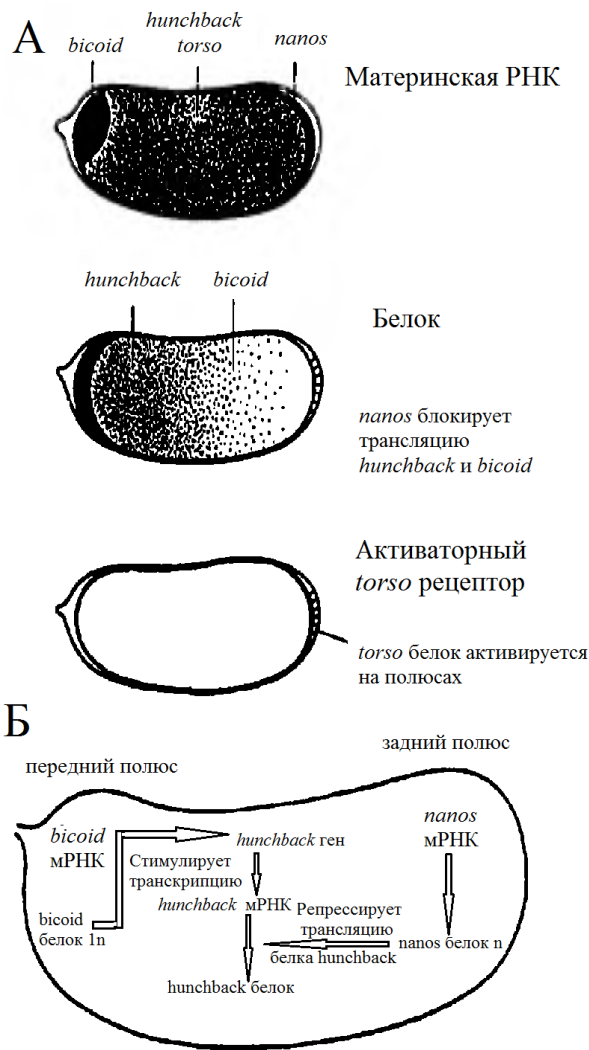


Рис. 6. Детерминация анимально-вегетативного градиента в яйце дрозофилы посредством действия трех независимых генных систем (по Lawrence, 1992): А – локализация продуктов соответствующих генов в яйце. Б – координация действия этих продуктов в процессе детерминации передне-заднего паттерна

Координация формирования паттерна и процессов клеточной дифференцировки обеспечивает формообразование или морфогенез.

В ходе формирования паттерна единое пространство зародыша подразделяется на ограниченное число доменов, соответствующих основным

областям зародыша. Такие пространственно разделенные системы неспецифицированных клеток, в рамках которых протекают морфогенетические процессы и цитодифференцировка, называются **морфогенетическими полями**. Таким образом, в ходе формирования паттерна из единого поля, представленного оплодотворенным яйцом, происходит образование многих морфогенетических полей, дающих начало разнообразным органам. Важными элементами таких полей служат передне-задняя, дорсо-вентральная, проксимо-дистальная и другие оси тела.

Экспрессия генов в этом случае в трехмерном пространстве зародыша предопределяет положение осей тела, детерминируя его переднюю и заднюю, вентральную и дорсальную, левую и правую области, независимо от того, производные каких зародышевых листков располагаются в этих зонах.

Формирование паттерна состоит в том, что в ходе развития в пространстве морфогенетического поля происходит изменение набора экспрессируемых регуляторных генов для активации последующих программ развития.

3.3. Способы управления дифференциальной активностью генов

Существуют два способа управления дифференциальной активностью генов в онтогенезе: автономный и зависимый. Оба способа управления всегда сосуществуют у всех многоклеточных.

Автономный способ управления

Дифференциальная активность генов в разных областях зародыша достигается за счет неравномерного распределения в ооците транскрипционных факторов или их иРНК, синтезированных под контролем генов материнского организма в период оогенеза. Принцип автономной спецификации широко используется при формировании генерального плана строения организма, при образовании осей тела. Автономная спецификация, обусловленная особым пространственным распределением материнских цитоплазматических факторов в яйце, обеспечивает развитие различных зачатков эпидермальной, энтодермальной и мезодермальной природы. Определение судьбы клеток зародыша с помощью материнских факторов, содержащихся в цитоплазме ооцита, широко распространено в природе. Классическим примером роли этих факторов может служить детерминация первичных половых клеток.

Автономная детерминация проявляется только на ранних этапах индивидуального развития. Материнские цитоплазматические факторы могут обеспечить лишь начальную поляризацию зародыша и формирование нескольких типов клеточных линий. Для морфогенетических процессов, которые происходят в период гастрюляции и в процессе органогенеза, требуются иные механизмы межклеточной передачи молекулярных сигналов, определяющих детерминацию клеток и зачатков.

Детерминация, которая обусловлена внешними сигналами, вырабатываемыми другими клетками, называется зависимой.

Зависимый способ управления

При зависимом способе управления дифференциальная активность генов устанавливается с помощью межклеточных взаимодействий, в ходе которых сигнальные молекулы, вырабатываемые одними клетками, взаимодействуют с рецепторами других клеток и побуждают их дифференцироваться в определенном направлении.

Зависимая детерминация происходит практически на всех этапах индивидуального развития и обусловлена сложной межклеточной системой передачи сигнальных молекул, или сигналингом. Скоординированная во времени и пространстве активность молекул сигнальных систем создается и регулируется сложными сетями взаимодействующих генов в процессе межклеточных взаимодействий.

Вопросы для повторения

1. Что такое ооплазматическая сегрегация?
2. Что такое полярные градиенты?
3. Как материнский генотип влияет на развитие зародыша?
4. Как формируется ооцит?
5. Как гены контролируют формирование анимально-вегетативного градиента?
6. Как гены контролируют формирование дорсо-вентрального градиента?
7. Что такое акрон и тельсон?

Рекомендуемая литература

1. Дондуа А. К. Биология развития : в 2 т. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.
2. Корочкин Л. И. Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва : Изд-во МГУ, 2002. – 263 с.
3. Белоусов Л. В. Основы общей эмбриологии: учебник. – 3-е изд. переработ. и доп. – Москва : Изд-во Моск. ун-та; Наука, 2005. – 368 с.
4. Черданцев В. Г. Морфогенез и эволюция. – Москва: Тов-во науч. изд. КМК, 2003. – 360 с.
5. Development. *Frontiers in biology // Science*. – 1994. – Vol. 266. – P. 513–700.
6. Lawrence P. The making of a fly. The genetics of animal design. – Oxford: Blackwell, 1992.
7. Банников Г. А. Молекулярные механизмы морфогенеза. – Москва : ВИНТИ, 1990. – 117 с.

Раздел 4. Генетическая регуляция процессов сегментации развивающихся организмов

В реализации плана строения организма ключевое значение имеет его сегментация, разделение на головной, грудной, брюшной отделы и их производные. Этот процесс является универсальным в животном мире и характеризуется двумя основными признаками – количеством сегментов и их качеством. Таким образом, различают две группы генов, ответственных за развитие этих признаков: *сегрегационные* и *гомеозисные*.

Различают несколько групп сегрегационных генов. Это **гены материнского эффекта**, которые контролируют формирование градиентов в ходе оогенеза (рис. 7), **GAP-гены**, **pair-rule-гены**, **гены сегментарной полярности**. Сегрегационные гены последовательно осуществляют сегментацию зародыша и готовят почву для функционирования гомеозисных генов.

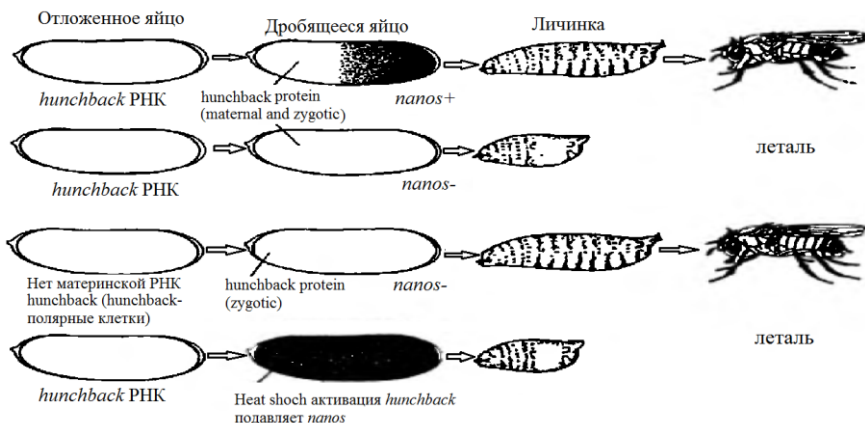


Рис. 7. Взаимодействие генов в становлении анимально-вегетативного градиента в развивающемся яйце дрозофилы (по Lawrence, 1992)

Как уже отмечалось, гены материнского эффекта формируют градиенты в ходе оогенеза. Яйцеклетка дрозофилы развивается из общей с трофобlastами клетки-предшественника, которая претерпевает 4 деления и образует 16 клеток – одну половую и 15 питающих – трофобlastов. Трофобlastы соединены с яйцеклеткой цитоплазматическими мостиками, по которым в яйцеклетку поступают вещества, принимающие участие в формировании градиентов. При этом будущий передний конец располагается в той области яйцеклетки, которая прилежит к трофобlastам. В трофобlastах происходит активное функционирование материнских ге-

нов, которые обеспечивают формирование анимально-вегетативного, дорсо-вентрального градиентов, а также головных и хвостовых структур.

В процессе индивидуального развития сегрегационные гены активируются последовательно. В первую очередь активируются **GAP-гены** (англ. gap – брешь, щель), транскрипция которых стимулируется продуктами генов материнского организма. Их функция – синтез матричной РНК. *GAP-гены* начинают функционировать на синцитиальной стадии развития, когда к 10–11-му циклу клеточного деления ядра мигрируют к периферии развивающегося эмбриона и «прочитывают» позиционную информацию, возникшую благодаря активности генов материнского организма, формируя на поверхности яйца синцитий.

В результате этого процесса зародыш подразделяется на несколько пространственных доменов. Ген *hunchback*, например, экспрессируется в парасегментах 1, 2, 3, 13 и в переднем компартменте 14-го парасегмента, ген *Kruppel* – в 4, 5, 6 и заднем компартменте 14-го, ген *knirps* – в парасегментах с 7-го по 12-й.

На фоне специфического распределения продуктов *GAP-генов* под их влиянием активируются *Pair-rule-гены*, которые «дробят» зародыш на более мелкие повторяющиеся домены шириной по два парасегмента, в одном из которых этот ген активен, в другом – нет. Благодаря функционированию генов *Pair-rule* зародыш подразделяется на отдельные сегменты. Нарушение их функционирования ведет к выпадению отдельных (чередующихся) сегментов.

Основная «задача» *Pair-rule*-генов заключается в том, чтобы распределить клетки по 14 парасегментам.

Различные сочетания белковых продуктов генов *Pair-rule* активируют гены **сегментарной полярности**. Гены сегментарной полярности детерминируют границы конкретных сегментов. Мутации, нарушающие их функционирование, приводят к нарушению в развитии отдельных сегментов – четных или нечетных, в зависимости от того, какой из генов сегментарной полярности мутировал. Известно около 15 генов сегментарной полярности, которые создают пространственную дифференцировку внутри каждого сегмента, поскольку области их экспрессии совпадают с границами парасегментов, подразделяющих сегменты на переднюю и заднюю половины.

Все сегрегационные гены, последовательно активируемые в ходе развития дрозофилы, оказывают друг на друга взаимные влияния через кодируемые ими продукты. В свою очередь экспрессия сегрегационных генов подготавливает «почву» для функционирования ключевой системы генов, обеспечивающих качественную спецификацию сегментов, – системы **гомеозисных генов** (рис. 8).

В развитии позвоночных животных органогенезу предшествует образование разного рода морфогенетических полей – особых областей, которые появляются до морфологического обособления зачатка органа.

На стадии нейрулы амфибий выявлены поля детерминации глаза, слухового пузырька, хрусталика, сердца, жабр, а также поля конечностей. Морфогенетическое поле представляет собой совокупность клеток, детерминированную как целостный зачаток органа.

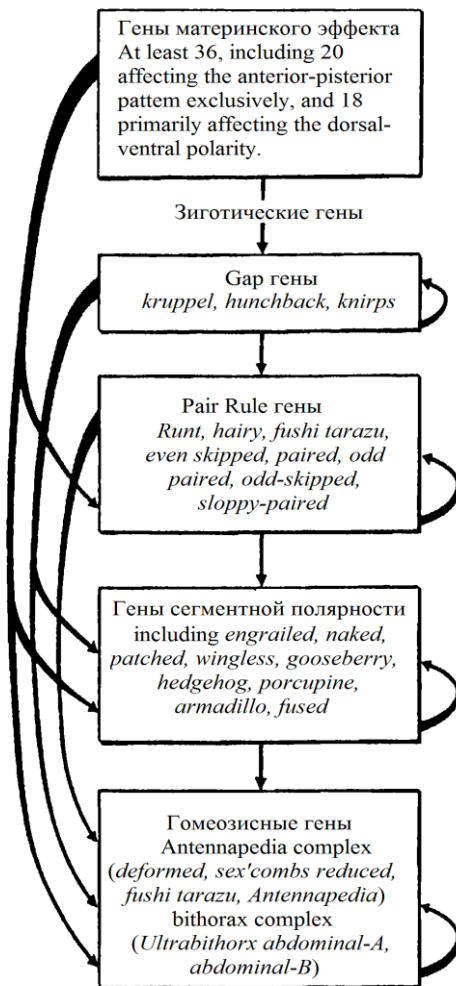


Рис.8. Схема взаимодействий генов, контролирующих сегментацию дрозофилы (А. И. Корочкин, 2002)

Так, зоны, детерминированные как поля конечностей, образуются задолго до появления морфологических признаков конечностей.

Во время развития зародыша происходит дифференциация и перемещение его клеток с образованием тканей и органов. Этот процесс можно рассмотреть на примере мухи-дрозофилы. В развитии мухи происходит последовательная смена форм, значительно отличающихся друг от друга: яйцо, личинка, куколка и имаго (взрослая особь). Такое развитие называется развитием с метаморфозом.

Как уже отмечалось, цитоплазма яйцеклетки не гомогенна, в ней асимметрично распределены различные биологически активные компоненты (морфогены), которые намечают план развития будущего организма.

У эмбриона уже определены оси, число сегментов тела, из которых затем развиваются части тела взрослой мухи. Эти процессы контролируются различными наборами генов. Они кодируют белки, которые регулируют экспрессию других генов, отвечающих за формирование органов. После оплодотворения транскрибируется около 25 генов сегментации, их экспрессия регулируется градиентами белков *Bicoid* и *Nanos*.

Градиент концентрации белков-морфогенов определяет передне-заднюю и дорсо-вентральную оси тела. У дрозофилы в определении дорсо-вентральной оси тела участвуют 12 генов, главным из которых является *dorsal*. Белок *Dorsal* сконцентрирован в цитоплазме на той стороне эмбриона, которая станет спинной, и проникает в ядро клеток на брюшной стороне, активируя группы генов, продукты которых необходимы для определения осей тела. Детерминация передне-задней оси тела контролируется другими генами. Один из них – *bicoid*, его мРНК сконцентрирована в цитоплазме передней части яйца (фиксирована своим 3-м концом). В результате при трансляции возникает градиент концентрации белка *Bicoid* от переднего к заднему концу яйца. Градиент поддерживается продолжительным периодом синтеза белка и его коротким временем жизни.

Bicoid, так же как и *Dorsal*, является морфогеном и активирует гены, необходимые для развития головы и грудных структур. Его экспрессия ингибируется продуктом гена *nanos*, сконцентрированного на заднем конце эмбриона (рис. 9).

На следующем этапе включаются гены сегментации. Они контролируют дифференциацию эмбриона на индивидуальные сегменты. После сегментации и установления ориентации сегментов активируются так называемые гомеозисные гены. Различные их наборы активируются специфическими соотношениями концентраций белков, упоминавшихся выше.

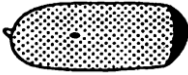
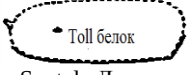
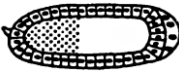
	Передняя система	Задняя система	Дорсо-вентральная система
Яйцо. Продукты поступают из окружающих клеток	bicoid РНК – передняя	hunchback РНК – повсеместна nanos РНК – задняя	Toll белок – повсеместен Spatzle белок (и поэтому Toll активируется вентрально)
			
Синтициальная бластодерма. Материнская РНК транслируется	bicoid белок формирует градиент	nanos белок – в передней половине	dorsal белок – цитоплазматический
			
Клеточная бластодерма. Зиготическая РНК транскрибируется	Hunchback РНК заполняет переднюю область	stripes of knirps and giant РНК	dpp and zen РНК – дорсальная
			
			twist and snail РНК – вентральная

Рис. 9. Локализация продуктов генов, определяющих образование полярных градиентов в развивающемся яйце дрозофилы (по Lewin, 1998)

Вопросы для повторения

1. Что такое гены сегментации? Их классификация.
2. Что такое гар-гены?
3. Что такое *Paire-rule*-гены?
4. Что такое гены сегментарной полярности?
5. Каково значение сегрегационных генов?
6. Что такое морфогенетическое поле?

Рекомендуемая литература

1. Гилберт С. Биология развития: в 3 т. – Москва : Мир, 1993–1995.
2. Корочкин Л. И. Введение в генетику развития. – Москва : Наука, 2000.

3. *Дондуа А. К.* Биология развития: в 2 т. – СПб. :Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.
4. *Корочкин Л. И.* Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва : Изд-во МГУ, 2002. – 263 с.
5. *Белоусов Л. В.* Основы общей эмбриологии: учебник. – 3-е изд. переработ. и доп. – Москва : Изд-во Моск. ун-та; Наука, 2005. – 368 с.
6. *Черданцев В. Г.* Морфогенез и эволюция. – Москва : Тов-во науч. изд. КМК, 2003. – 360 с.
7. *Банников Г. А.* Молекулярные механизмы морфогенеза. – Москва : ВИНТИ, 1990. – 117 с.
8. *Белоусов Л. В.* Проблема эмбрионального формообразования. – Москва : Изд-во МГУ, 1971. – 175 с.
9. Development- Frontiers in biology // Science. – 1994. – Vol. 266. – P. 513–700.
10. *Lawrence P.* The making of a fly. The genetics of animal design. – Oxford: Blackwell, 1992.

Раздел 5. Гомеозисные гены

5.1. Позиционная информация

В разных областях эмбриона включается экспрессия своих специфических наборов регуляторных генов, каждый из которых обеспечивает разные программы развития. Дифференцировка зародыша обусловлена системой распределенных в пространстве сигналов, своего рода позиционной информацией.

Позиционная информация создается разными способами: на ранних этапах эмбриогенеза – благодаря материнским факторам детерминации; в последующем – межклеточным взаимодействиям, в результате которых в разных областях зародыша продуцируются сигнальные молекулы (морфогены), предопределяющие пространственную организацию зародыша.

В процессе развития и формирования паттерна позиционная информация закономерно изменяется. С одной стороны, позиционная информация служит предпосылкой формирования паттерна и, таким образом, предопределяет клеточную дифференцировку, рост и морфогенетические процессы. Вместе с тем в каждый данный момент, позиционная информация как система морфогенетических сигналов, является выражением паттерна.

Одна и та же позиционная информация по-разному интерпретируется клетками различной генетической природы. Интерпретация позиционной информации полностью зависит от генома реагирующей ткани.

Исключительно важным фактором формирования паттерна и создания пространственной информации являются кластерные гомеобоксодержащие гены.

Название этой группы генов происходит от термина «гомеозис», который ввел У. Бэйтсон в 1894 году. Под гомеозисом он понимал превращение одной части тела в другую. Гомеозисные гены не представляют собой нечто самостоятельное, но являются частью специфической системы генов, контролирующих сегментацию тела насекомых, в частности, дрозофилы и других организмов. Ошибки экспрессии гомеозисных генов приводят к крупным изменениям в морфологии индивида. Бейтсоном впервые были описаны гомеозисные мутации у растений – появление тычинок на месте лепестков.

Следует различать два способа действия мутаций на фенотип, вызывающих дизруптивные и гомеозисные изменения. В первом случае мутации приводят к нарушению нормального развития, отсутствию или аномальному строению органов. В другом случае отклонение от нормы заключается в том, что под действием мутации типичный орган замещается гомологичным или совсем другим, но с нормальным строением. Это

особый класс гомеозисных мутаций, описанный у насекомых, характерной особенностью которых является переключение одной программы развития на другую. Примером гомеозисных мутаций является превращение антенны в ногу или аристы в ногу у дрозофилы (рисунок 10, 11).

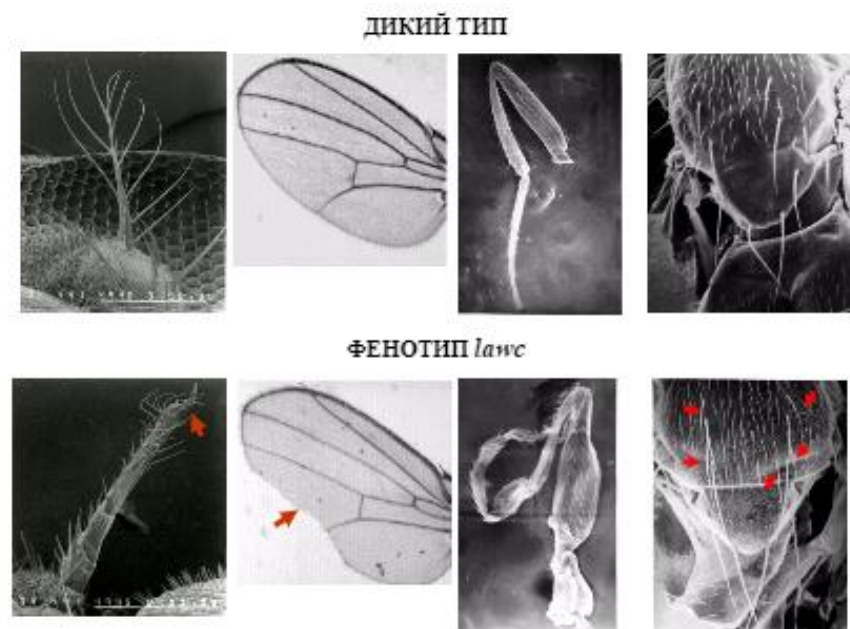


Рис. 10. Фенотипическое проявление мутации *lawc^{pl}*. *Верхняя панель:* антенна, крыловая пластинка, нога, торакс дрозофил дикого типа (слева направо соответственно). *Нижняя панель:* трансформированная в лапку ариста (стрелка указывает на гомеозисный коготик), крыловая пластинка (вырезка указана стрелкой), искривленная поверхность и торакс (дополнительные щетинки указаны стрелками) мух линии *lawc^{pl}* (слева направо соответственно)

В конце 1940-х годов на модельном объекте *Drosophila melanogaster* Эдвард Льюис изучал гомеозисные мутации, которые приводили к формированию причудливых органов. Мутации в генах, участвующих в развитии конечности, могут приводить к уродствам или даже к смерти. Например, мутации в гене *Antennapedia* приводят к образованию конечностей на голове мухи на месте антенн.

Другим известным примером у дрозофилы является мутация в гомеозисном гене *Ultrabithorax*, который определяет развитие третьего грудного сегмента. Обычно на данном сегменте представлена пара ног и пара гальтер (редуцированных крыльев). У мутантных особей, которые

не имеют функционального белка *Ultrabithorax*, на третьем сегменте образуются такие же структуры, как на втором грудном сегменте, который несет пару конечностей и пару полностью развитых крыльев. Такие мутанты иногда встречаются в диких популяциях дрозофил, и изучение таких мутантов привело к открытию гомеозисных генов животных.

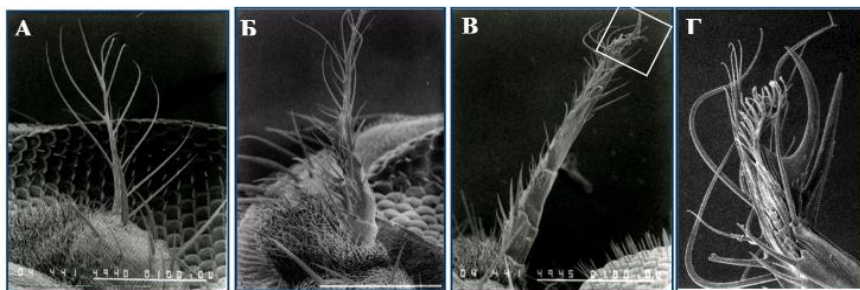


Рис. 11. Различная степень проявления трансформированной аристы у мутантов *lawc^{pl}*. А – дикий тип, Б – слабая трансформация, В – сильная трансформация с формированием коготка (отмечен рамкой и показан крупно на Г)

5.2. Строение и функции гомеозисных генов

Гомеозисные гены экспрессируются в эмбриогенезе и определяют организацию общего плана строения организма. Экспрессия генов контролирует разделение тела эмбриона по координатным осям на морфогенетические поля. Гомеозисные гены активируются после сегментации и установления ориентации сегментов. Различные их наборы активируются специфическими соотношениями концентраций белков. В свою очередь, продукты гомеозисных генов активируют другие гены, которые определяют специфические особенности сегментов.

Гомеозисные гены кодируют регуляторные белки, связывающиеся с ДНК. Каждый из них содержит кластер нуклеотидов – короткую последовательность, которая была названа **гомеобоксом**. Гомеобокс сходен во всех гомеозисных генах, содержит 180 нуклеотидов и кодирует 60 аминокислот, функционирующих как ДНК-связывающий домен. Соответствующая последовательность из 60 аминокислот в кодируемых этими генами белках, обогащенная аргинином и лизином, была обозначена термином **гомеодомен**. Гомеодомены являются составной частью белков-регуляторов транскрипции и принадлежат, следовательно, к числу активирующих транскрипцию факторов.

Гомеодомен впервые был обнаружен в составе генов, контролирующих развитие, и, в частности, в составе гомеозисных генов у дрозофилы. Однако многие гены, содержащие гомеобокс, не являются гомеозисными.

Гомеобокс – это особая последовательность нуклеотидов, в то время как гомеозисность – это потенциальная возможность образования гомеозисной мутации.

Белковые продукты гомеозисных генов принадлежат к особому классу белков – транскрипционным факторам, которые связываются с нуклеотидной последовательностью ТААТ молекулы ДНК и регулируют транскрипцию генов. Принцип работы этих генов (*Нох*-гены) одинаков. Их продукты являются транскрипционными факторами, функция которых состоит во «включении» или «выключении» других генов. В результате работы *Нох*-факторов запускается каскад реакций, приводящий к появлению в клетке нужных белков. Гены, которые регулируются белками, содержащими гомеобокс, называют реализаторными и являются белковыми продуктами генов полярности сегментов, которые кодируют ткане- и органо-специфичные белки.

Благодаря методам генной инженерии удалось выявить распределение продуктов гомеозисных генов. Эти продукты, содержащиеся преимущественно в ядрах клеток, локализованы коррелированно с транскриптами, при этом характер их качественного и количественного распределения зачастую регулируется генами, расположенными в пределах данного комплекса.

Глаза в норме возникают только на головном сегменте, а ноги – только на грудных сегментах. Гомеозисные гены как бы определяют адрес клетки в конкретном сегменте, сообщая клеткам, в каком районе они находятся. Когда они мутируют, клетки получают «ложный адрес» и ведут себя так, будто они находятся в другом месте эмбриона. Порядок расположения гомеозисных генов соответствует порядку контролируемых ими сегментов тела.

При изучении гомеозисных генов дрозофилы было установлено, что они контролируют качественные особенности сегментов и в свою очередь подразделяются на два комплекса: *Antennapedia-Complex (ANT-C)* и *Bithorax-Complex (BX-C)*.

Гены, принадлежащие к *ANT-C*, контролируют развитие головных сегментов, в том числе интеркалярного, максиллярного, мандибулярного, лабиального, а также грудных сегментов. При утрате функции гена *Antp* область тела, включающая заднюю часть первого грудного сегмента T1, весь второй грудной сегмент T2 и переднюю часть T3, приобретают свойства головных сегментов, что проявляется в образовании головных структур в грудной области. Наоборот, в случае эктопической активности гена *Antp*, вызванной мутацией, которая нарушает нормальную для данной области тела репрессию данного гена (например, мутация типа *gain-of-function*), происходит образование грудных структур на голове. Очевидно, ген *Antp* участвует в выборе программ развития в направлении головы или груди. Активное состояние гена *Antp* детерминирует образо-

вание некоторых структур грудного отдела посредством подавления развития в направлении головных структур. При подавлении экспрессии этого гена высвобождается тормозившаяся им способность к формированию головных структур.

Гены комплекса *BX-C* ответственны за спецификацию грудных и брюшных сегментов. Гены, входящие в состав этой области генома, собраны в кластер в небольшом участке 3-й хромосомы. В этот кластер входят следующие гены в порядке их расположения: *bithorax* (*bx*), *Contrabithorax* (*Cbx*), *Ultrabithorax* (*Ubx*), *bithoraxoid* (*bxo*), *postbithorax* (*pbx*).

В результате молекулярно-генетических исследований комплекса *BX-C* установлены следующие особенности строения и функционирования гомеозисных генов:

1. Большинство мутаций *BX-C* связано со вставками или вырезанием мобильных генетических элементов.

2. При анализе участка ДНК, содержащего *Ubx* было выявлено его экзон-интронное строение – чередование кодирующих и некодирующих участков ДНК.

3. Раннее появление транскриптов *BX-C* (2-4-часы после оплодотворения) свидетельствует о функционировании гомеозисных генов с опережением.

После того, как были открыты и изучены гомеозисные гены дрозофилы, сходные гены были найдены у всех других животных от нематоды до человека. Гомеобоксодержащие гены (с повсеместным сохранением принципа коллинеарности) были найдены практически у всех живых организмов.⁴

У млекопитающих гомеозисные гены называются *Нох*-генами (гомеобоксодержащими генами), и также кодируют белки, регулирующие транскрипцию и определяющие структуры тела и их положение в передне-заднем направлении. Они хорошо изучены у мыши и человека. В геноме млекопитающих обнаружено 38 *Нох*-генов, собранных в 4 кластера. Кластеры занимают область примерно по 120 кб каждый и распо-

⁴ У первичноротых существует около 10 гомеозисных генов, которые составляют два кластера *Antennapedia* и *Bithorax*, и называются гомеозисным комплексом *C* (*HomC*). Позвоночные имеют четыре набора паралогов этих десяти генов. Данные кластеры паралогов образовались в результате двух дупликаций геномов позвоночных. Хотя гомеозисные гены позвоночных являются копиями генов первичноротых, эти копии не идентичны. В результате накопления мутаций в течение длительного промежутка времени, белки выполняют различные функции. У разных групп позвоночных некоторые гены в процессе эволюции были утрачены или дуплицированы. У вторичноротых (иглокожих, хордовых) гомеозисные гены были названы *Нох*-генами.

ложены в четырех разных хромосомах: у мыши — II, VI, XI, XV, у человека — II, VII, XII, XVII.

Семейство гомеозисных генов млекопитающих сгруппировано в 4 комплекса – *Hox* (*Homeobox*) A, *Hox* B, *Hox* C и *Hox* D (по номенклатуре Human Gene Mapping Workshops [рабочая группа картирования генов человека] соответственно *Hox 1*, *Hox 2*, *Hox 3* и *Hox 4*). В состав каждого из комплексов входят от 9 до 11 *Hox*-генов. Гомологичные гены, находящиеся в разных комплексах, называются паралогами. В отличие от дрозофилы, у которой развитие конкретных сегментов контролируется одним *Hox*-геном, у позвоночных развитие сегмента контролируется двумя, а в некоторых случаях – четырьмя паралогами. Как и у дрозофилы, *Hox*-гены позвоночных проявляют свойство коллинеарности, то есть корреляции между положением генов в кластере и расположением зон их экспрессии вдоль оси тела.

В отличие от дрозофилы у млекопитающих регионализация тех или иных структур обеспечивается не специфической активностью отдельных гомеозисных генов, а перекрытием зон активности наборов этих генов, так что каждая обособленная область той или иной структуры обязана своим происхождением функционированию специфического, свойственного именно этой области набора гомеозисных генов.

Из-за наличия в геноме позвоночных 4 комплексов *Hox*-генов гомеозисные мутации представляют большую редкость. В случае мутации одного из генов остальные паралоги компенсируют его нехватку.

Транскрипты гомеозисных генов присутствуют в головном и спинном мозге, в почках конечностей и сердце с 5 по 9 неделю развития человека. Гомеозисными генами направляется региональная специализация структур позвоночного столба. Они контролируют пролиферацию и дифференцировку кроветворных клеток. Таким образом, *Hox*-гены играют ключевую роль в развитии животных, определяя спецификацию отдельных сегментов тела и участвуя в дифференцировке сегментов отдельных органов.

Морфогенетические процессы в развивающемся организме заключаются в образовании компартментов. Компартмент представляет собой морфогенетическую зону из поликлонов, которые формируются из клеточных клонов, а те, в свою очередь, являются потомками отдельных клеток-предшественниц. Эти зоны отделены друг от друга четкими границами и обозначаются термином **компартмент**.

Было высказано предположение, что гомеозисные гены ответственны за образование компартментов и являются своеобразными **генами-селекторами**, поскольку именно они «выбирают» путь развития клетки. (F. Crick, P. Lawrence). Этот путь определяется бинарными решениями – стать клетке передней или задней, дорсальной или вентральной, грудной или крыловой.

Роль генов в регуляции процессов развития неодинакова. Часть генома состоит из генов, определяющих так называемые жизненно важные функции и отвечающих, например, за синтез тРНК или ДНК-полимеразы, без которых невозможно функционирование ни одной клетки. Эти гены были названы «housekeeping» или генами «домашнего хозяйства». Другая часть генов непосредственно участвует в детерминации, дифференцировке и морфогенезе, то есть функция их более специфическая, ключевая.

Итак, дифференциальная транскрипция обеспечивается взаимодействием продуктов многих регуляторных генов, контролирующих функциональное состояние соответствующих участков ДНК. Было выдвинуто также предположение о существовании как бы «суперрегуляторных» генов, способных запускать последовательные каскады генов, которые реализуют программу специфической клеточной дифференцировки.

Для таких генов шведский цитолог Я. Э. Эдстрем в начале 60-х годов XX в. предложил термин «Master Genes» («гены-господа»), а для контролируемых ими структурных генов соответственно – «Slaves-Genes» («гены-рабы»).

Наличие таких суперрегуляторных генов было доказано в ходе экспериментов швейцарским генетиком В. Герингом. На серии опытов с трансгенной дрозофилой он доказал, что морфогенетическая реакция, завершающаяся формированием целого органа, может быть запущена одним, «главным» геном, который разрешает или запрещает (в случае мутации) целый комплекс формообразовательных процессов. Американскими эмбриологами, в свою очередь, было доказано, что аналогичный эффект может быть получен у позвоночных животных.

Из опытов В. Геринга можно сделать следующие выводы:

1. Действительно существуют «гены-господа» и «гены-рабы».
2. Сложнейшая морфогенетическая реакция, завершающаяся формированием целого органа, может быть запущена одним, «главным» геном, который является ответственным за морфогенетические процессы, разрешая или запрещая (в случае мутации) сложный комплекс формообразовательных событий.

3. Морфогенетические процессы основываются на молекулярно-генетических событиях, специфика формы обуславливается спецификой последовательных ткане- и органоспецифических синтезов, разрешенных активацией «главного» гена.

4. Соответствующие молекулярно-морфогенетические системы являются высоко консервативными и обеспечиваются гомологичными молекулярно-генетическими системами у самых разнообразных организмов.

Таким образом, было установлено, что формообразование в эмбриогенезе зависят от внутренних процессов, и ключевая роль в этих процессах принадлежит гомеозисным генам.

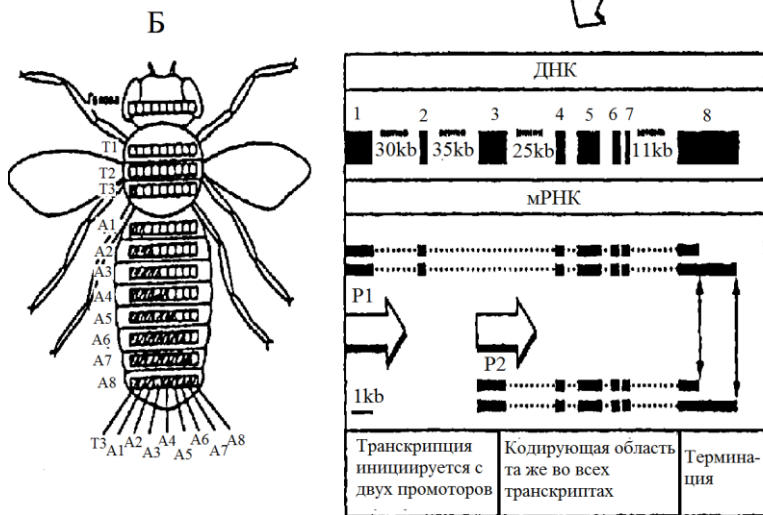
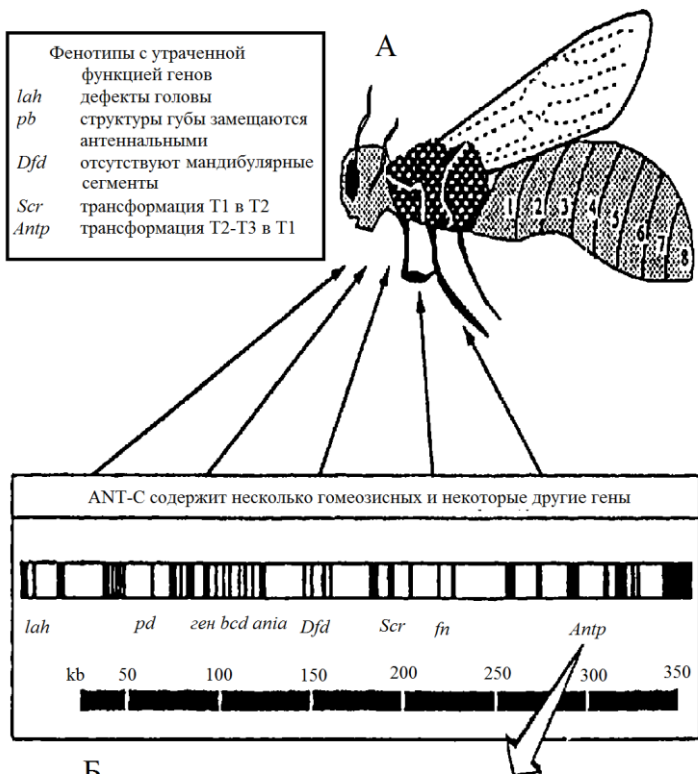


Рис. 12. Функции гомеозисных генов

Вопросы для повторения

1. Что такое гомеозисные гены?
2. Что такое генные комплексы ANT-C и BX-C?
3. Какова функция гомеозисных генов?
4. Каково возможное эволюционное значение гомеозисных генов?
5. Что дал молекулярно-генетический анализ гомеозисных генов?

Рекомендуемая литература

1. Дондуа А. К. Роль кластерных гомеобоксодержащих генов в морфогенезе животных // Онтогенез. – 1997. – Т. 28. – С. 3–17.
2. Корочкин Л. И. Новое в учении о гомеозисных генах // Онтогенез. – 1987. – Т. 18. – С. 565–572.
3. Корочкин Л. И. Введение в генетику развития. – Москва : Наука, 1999.
4. Холанд П., Гарсия-Фернандес Х. Гены Нох, эволюция развития и происхождение позвоночных // Онтогенез. – 1996. – Т. 27. – С. 273–279.
5. Haider O., Gallaert P., Gehring W. Induction of ectopic eyes by targeted expressed of the eyeless gene in *Drosophila* // Science. – 1995. – Vol. 267. – P. 1778–1792.
6. Lawrence P. The making of a fly. The genetics of animal design. – Oxford: Blackwell, 1992.

Раздел 6. Эмбриональная индукция и ее генетическая регуляция

6.1. Первичный организатор

Эмбриональная индукция – это взаимодействие частей развивающегося зародыша, при котором один участок зародыша влияет на судьбу другого участка. Явление эмбриональной индукции с начала XX в. изучает экспериментальная эмбриология.

Классическими считаются опыты немецкого ученого Г. Шпемана и его сотрудников (1924) на зародышах амфибий. Для того чтобы проследить за судьбой клеток определенного участка зародыша, Г. Шпеман использовал два вида тритонов: тритона гребенчатого, яйца которого лишены пигмента (имеют белый цвет), и тритона полосатого, яйца которого благодаря пигменту имеют желто-серый цвет. Один из опытов заключался в следующем: кусочек зародыша из области дорсальной губы бластопора на стадии гастрюлы тритона гребенчатого пересаживают на боковую или вентральную сторону гастрюлы тритона полосатого. В месте пересадки происходит развитие нервной трубки, хорды и других органов вплоть до образования дополнительного зародыша на боковой или вентральной стороне зародыша реципиента. Дополнительный зародыш содержал в основном клетки зародыша-реципиента, при этом светлые клетки зародыша-донора также обнаруживались в составе различных органов.

На основании проделанных Г. Шпеманом экспериментов были сделаны следующие выводы.

1. Участок, взятый из спинной губы бластопора, способен направлять развитие материала, который находится вокруг него, на определенный путь развития. Он организует (индуцирует) развитие зародыша не только в обычном, но и в нетипичном месте.

2. Боковая и брюшная стороны гастрюлы обладают более широкими потенциями к развитию, чем их презумптивное направление (в условиях эксперимента там образуется целый зародыш).

3. Точное строение органов в месте пересадки указывает на эмбриональную регуляцию. Это означает, что фактор целостности организма приводит к образованию второго зародыша из нетипичных клеток в нетипичном месте, регулирует процессы его образования.

Г. Шпеман назвал спинную губу бластопора первичным эмбриональным организатором. Первичным потому, что на более ранних стадиях развития подобных влияний обнаружить не удавалось, а организатором потому, что индуцирующее воздействие дорсальная губа бластопора оказывала именно на морфогенез. В настоящее время установлено, что главная роль в спинной губе бластопора принадлежит хордомезодермальному зачатку, который был назван первичным эмбриональным

индуктором, а само явление, при котором один участок зародыша влияет на судьбу другого, – эмбриональной индукцией.

На основании полученных результатов Г. Шпеманн доказал, что развитие зародыша происходит под действием индукции, в результате которой осуществляется последовательная дифференцировка зародыша.

В 50–60-е годы XX в. голландский эмбриолог П. Ньюкуп экспериментально доказал, что первым индуцирующим событием в развитии зародыша является не воздействие хордомезодермы на презумптивную нервную пластинку, а стимуляция энтодермой преобразования смежных клеток в хордомезодермальную закладку. На серии опытов было продемонстрировано, что первичный организатор формируется под индуцирующим воздействием вентрально расположенной энтодермы на экваториально расположенную группу клеток, из которых формируется хордомезодерма. Формирование первичного организатора под индуцирующим влиянием энтодермы было названо истинной первичной эмбриональной индукцией, а энтодерма на данном этапе эмбриогенеза – центром Ньюкупа.⁵

Таким образом, первое индуцирующее событие в эмбриогенезе заключается в стимуляции презумптивной (будущей) энтодермой образования презумптивной мезодермы.

В акте индукции следует различать два компонента: индуктор и компетентную (реагирующую) область.

Индуктором могут быть ткань, зачаток, клетка, которые вырабатывают сигнальные молекулы, действие которых вызывает изменение потенции развития ткани-мишени. **Реагирующая ткань**, или ткань-мишень – это особым образом дифференцированная ткань, которая характеризуется компетенцией, способностью воспринять сигнальные молекулы и адекватным образом на них реагировать.

При изучении свойств индуцируемых тканей установлено, что специфичность действия индуктора может быть различной, а его индуцирующее воздействие проявляется способностью определенного участка развивающегося зародыша воспринимать это воздействие и отвечать на него.

⁵ Оказалось, что если эксплантировать клетки анимального и вегетативного полюса со стадии бластулы *Xenopus laevis*, то они сформируют только эктодерму и энтодерму, но эктодерма может быть индуцирована к формированию мезодермальной ткани в комбинации, содержащей вместе эктодермальные и энтодермальные клетки. Это позволило предположить, что вегетативная энтодерма в период дробления продуцирует сигнал, индуцирующий образование мезодермы. При этом энтодерма может определять дорсо-вентральный паттерн мезодермы: дорсальные вегетативные клетки индуцируют дорсальную мезодерму, в то время как латеральные и вентральные вегетативные клетки – вентролатеральную мезодерму.

Способность эмбрионального материала реагировать на различные воздействия изменением своей презумптивной судьбы получила название **компетенции**. Так, было установлено, что компетенция к образованию нервной системы у амфибий затрагивает всю эмбриональную эктодерму и возникает с момента начала гаструляции. К концу гаструляции эта компетенция прекращается.

Изменение хода развития возможно лишь в том случае, если область компетенции к образованию некоторой закладки шире, чем область, из которой она в норме развивается, а также, если индукционное действие происходит в определенный период эмбриогенеза. Индукционные взаимодействия могут проявляться в культуре ткани *in vitro*, но по-настоящему полноценными они бывают только в структуре целостного организма.

Некоторые индукторы специфичны в определении судьбы индуцируемой ткани. Об этом свидетельствуют следующие опыты. Если пересадить спинную губу ранней гаструлы, то индуцируется развитие структур переднего мозга (головной индуктор), если же пересадить спинную губу поздней гаструлы, то развиваются спинной мозг и мезодермальные ткани (туловищный индуктор; рис. 13). Было показано также, что наиболее сильное нейтрализующее влияние оказывает фракция нуклеопротеинов, а мезодермализующим индуктором оказался белок. Если имплантировать оба эти индуктора в виде смеси клеток или смеси веществ, то получаются хорошо развитые зародыши.



Рис. 13. Результаты пересадки головного (А) и туловищного (Б) индукторов

В результате многочисленных экспериментов была выявлена химическая природа индуктора. При этом оказалось, что специфичность индукционного ответа не связана с химическими свойствами индуктора.

Эффект эмбриональной индукции обусловлен индуцирующими агентами. Это низкомолекулярные белки, которые выделяются индуцирующей тканью и воспринимаются компетентной тканью, вызывая формообразовательный эффект. Они образуются еще в период оогенеза и распределяются по объему развивающегося ооцита неравномерно, формируя градиенты распределения, необходимые для эмбрионального развития. Было обнаружено, что индуктор находится в связанном с белком-ингибитором инактивированном состоянии, при этом акт индукции сопровождается высвобождением индуктора из этой связи.

Индуктор (организатор) – тканевая закладка, воздействующая на компетентную ткань, которая характеризуется рядом особенностей: образованием индуцирующих агентов, созреванием способности к индукции, автономностью созревания.

1. Эффект эмбриональной индукции обусловлен индуцирующими агентами. Это низкомолекулярные белки, которые выделяются индуцирующей тканью и воспринимаются компетентной тканью, вызывая формообразовательный эффект. Они образуются еще в период оогенеза и распределяются по объему развивающегося ооцита неравномерно, формируя градиенты распределения, необходимые для нормального процесса эмбрионального развития.

2. Созревание способности к индукции заключается в постепенном приобретении каждой частью индуцирующей ткани способности индуцировать определенный набор структур. Ткань индуктора не сразу приобретает способность к индукции всего спектра структур, который образуется под ее влиянием в ходе эмбриогенеза. На самых ранних стадиях созревания она обладает способностью индуцировать лишь образование пигментных клеток, затем переднеголовных структур и, наконец, мезодермальных структур. Индуцирующая хордомезодерма постепенно расчленяется на зоны, дающие разный региональный эффект.

3. Созревание индуктора осуществляется автономно, независимо от окружающих тканей зародыша. В ходе созревания изменяются индуцирующие свойства ткани в строго определенном направлении и закономерно.

Компетентная ткань (реагирующая система) – тканевая закладка, которая подвергается действию индуктора и отвечает на него формообразовательным процессом. Компетентная ткань обладает следующими свойствами: компетенцией, автономностью созревания, эффектом минимальной массы.

1. Компетенция – это физиологическое состояние реагирующей системы, в котором она способна воспринимать воздействие индуктора. Клетки реагирующей системы должны пройти определенные этапы развития, прежде чем приобретут способность к восприятию сигналов индуктора к детерминации и дифференцировке.

2. Реагирующая система, подобно индуктору, должна созреть для осуществления индукции. Это созревание реализуется в данном случае на уровне изменения компетенции. Созревание компетентной ткани, как и созревание индуктора, автономно, строго направлено, закономерно и не зависит от тканевого окружения. В созревании компетентной ткани важную роль играет не только клеточный, но и тканевый уровень.

3. Эффект минимальной массы. Чтобы компетентная ткань реагировала на действие индуктора, необходимо наличие в ней определенного, минимального количества клеток: требуется определенный «порог массы».

Чтобы воспринять действие индуктора, *компетентная ткань* должна обладать минимальной организацией. Одиночные клетки не воспринимают действие индуктора, а чем больше клеток в реагирующей ткани, тем активнее ее реакция. В то же время для оказания индуцирующего действия может быть достаточно одной клетки индуктора.

Взаимодействие индуктора и компетентной ткани

Их взаимодействие характеризуют следующие три параметра: проникновение индуцирующих агентов в компетентную ткань, пространственные закономерности взаимодействия, временные закономерности взаимодействия.

1. Проникновение индуцирующих агентов в компетентную ткань. Для осуществления индуцирующего эффекта важен не контакт индуктора и компетентной ткани, а транспорт индуцирующих агентов в компетентную ткань, который осуществляется с помощью различных механизмов (рис. 15).

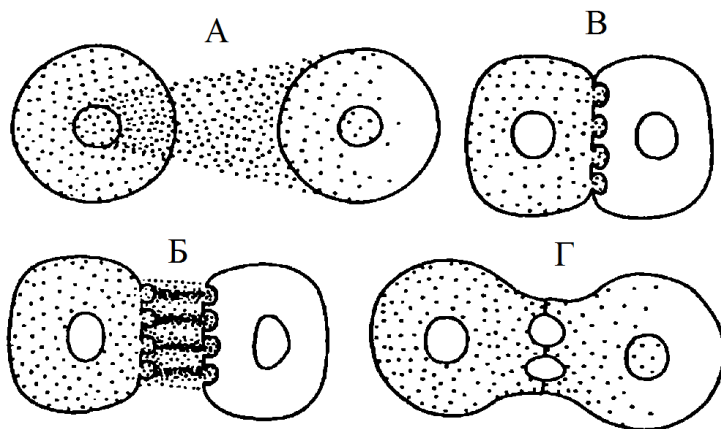


Рис. 15. Возможные механизмы передачи индукционных влияний (Lehtonen, цит. по: Михайлов, 1988). А – диффузия; Б – взаимодействие молекул матрикса с комплементарными структурами мембран клеток-мишеней; В – взаимодействие между поверхностными мембранными структурами клеток ткани-индуктора и реагирующей ткани; Г – взаимодействие через межклеточные соединения

2. Пространственные закономерности взаимодействия «индуктор–компетентная ткань» проявляются в строгом соответствии положения ткани индуктора и реагирующей системы относительно друг друга, поскольку ткань-индуктор характеризуется дифференциацией индукционных свойств своих частей и, следовательно, четкой пространственной организацией.

3. Временные закономерности взаимодействия «индуктор–компетентная ткань». Они проявляются в величине времени контакта тканей организатора и реагирующей системы для достижения положительного эффекта индукции.

Закономерности изучаются с помощью использования методики сэндвича, из которых в любой момент времени можно удалить ткань индуктора (рис. 16). Оказалось, что минимально необходимое время контакта двух взаимодействующих систем для осуществления индукции различно для разных животных и для разных видов индукции. Так, для получения эффекта архенцефалической индукции в эктодерме аксолотля достаточно 5 мин. контакта с тканью организатора, в то время как для тритона это время достигает 4 ч. Чтобы получить спино-каудальные и туловищно-мезодермальные структуры для зародышей аксолотля, необходимо 10-часовое взаимодействие этих систем, а для тритонов время контакта еще более продолжительное.

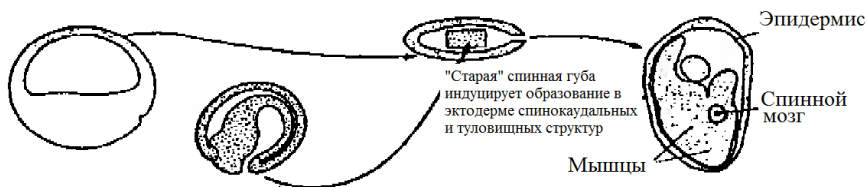
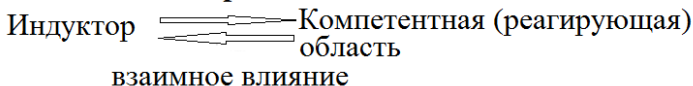


Рис. 16. Методика «сэндвича», разработанная Дж. Гольтфретером (по: Гилберт, 1994)

Было обнаружено, что в зависимости от времени контакта ткани-организатора и реагирующей системы может измениться эффект индукции, так что индуцируемые структуры располагаются в следующем порядке: нормальный эпидермис – производные нервного гребня (пигментные клетки) – передне-головная индукция – каудальная структура.

Следовательно, для регионализации основное значение имеет не продолжительность контакта, а строгое *пространственно-временное соответствие* физиологически активного состояния индуктора и реагирующей системы. Нарушение этого соответствия ведет к нарушению эффекта индукции.

Закономерности индукции



1. Каскадная смена индукторов
 - а) первичный,
 - б) вторичный,
 - в) третичный и т.д.
2. Переплетающиеся индукторы (сети индукторов)
3. Химическая природа индукторов
4. Специфичность индукторов
 - а) относительно специфичные
 - б) неспецифичные
5. Может быть представлен одной единственной клеткой

1. Определяет специфичность ответа при индукционных взаимодействиях
2. Ограничивает ответную реакцию на действие индуктора размером реагирующей области и стадией эмбрионального развития
3. Всегда группа клеток
4. Области и сроки компетенции различны у различных хордовых

6.3. Генетическая природа индуктора

Разработка молекулярно-биологических методов клонирования генов открыла новые подходы к проблеме организатора. В 1991 г. был клонирован первый специфический ген организатора. Им оказался ген *goosecoid* (*gsc*). Расшифровка нуклеотидной последовательности гена *gsc* обнаружила в его составе гомеобокс, наличие которого указывало на то, что *gsc* кодирует какой-то транскрипционный фактор. Инъекция иРНК *gsc* в вентральную область зародыша, подобно трансплантации материала организатора, вызывала развитие вторичного зародыша.

Несколько позже были открыты гены с аналогичным действием *Xlim-1*, *HNFSfi*, *Xnot*, *Xanf-1*, *Otx-2*, *Siamois*, *Xtwn*, *bozozok*. Выяснилось, что все они являются регуляторными и кодируют транскрипционные факторы, под контролем которых находятся разнообразные гены, в том числе – гены секретируемых белков. Именно секретируемые белки определяют способность хордомезодермы выступать в качестве организатора.

Было установлено, что специфический для организатора ген *goosecoid* экспрессируется не только у амфибий, но также на стадии гастрюляции у рыб, птиц и млекопитающих. Была установлена гомология спинной губы бластопора амфибий и рыб с первичным (гензеновским) узелком птиц и млекопитающих.

Молекулярная природа мезодермальных индукторов

При культивировании эмбриональных тканей амфибий в среде, содержащей предполагаемые индуцирующие факторы, а также инъекцией

в бластомеры соответствующей мРНК было обнаружено несколько субстанций, индуцирующих образование мезодермы.

Vgl – локализованный в вегетативной части зародыша индуцирующий мезодерму фактор, член суперсемейства transforming growth factor-beta (TGF-beta), локализован в вегетативной области ооцитов и эмбрионов. Белок Vgl способен индуцировать дорсальную мезодерму.

Активин – один из самых известных белков, источников индукции дорсальной мезодермальной ткани (рис. 17; 18).

Функции активина: активиновая мРНК экспрессируется в гипобласте (индуцирующая ткань) в период формирования осевой мезодермы, а растворимый активин индуцирует осевую организацию в эпибласте (реагирующая система).

Bonemorphogenetic protein (BMP) – способен стимулировать образование кости у эмбрионов *Xenopus*

Fibroblast growth factor (FGF) – способен индуцировать образование мезодермы в эксплантатах клеток анимального полюса. Необходим для ответа туловищных клеток и клеток заднего отдела развивающегося эмбриона на индукцию активином.

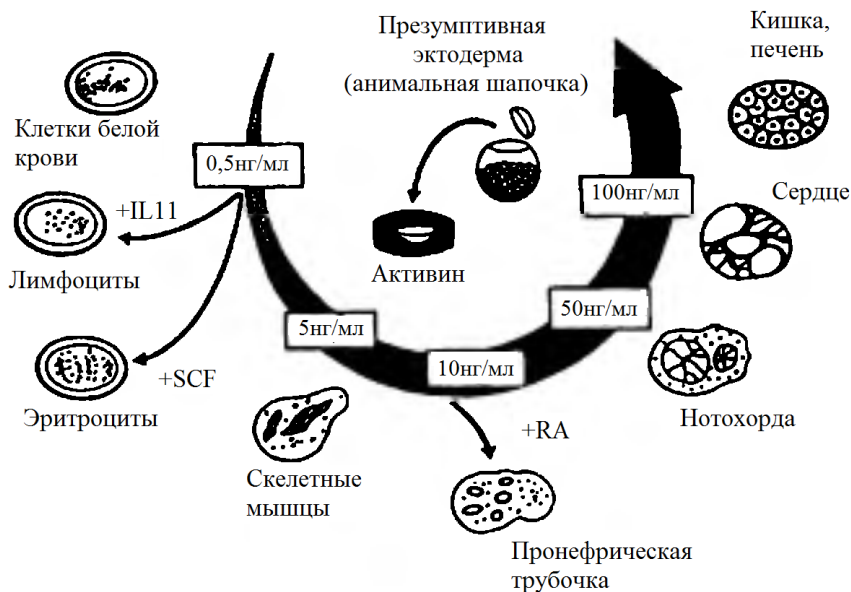


Рис. 17. Контроль in vitro клеточной дифференцировки и органогенеза активином и другими факторами (по: Asashima, 1998)

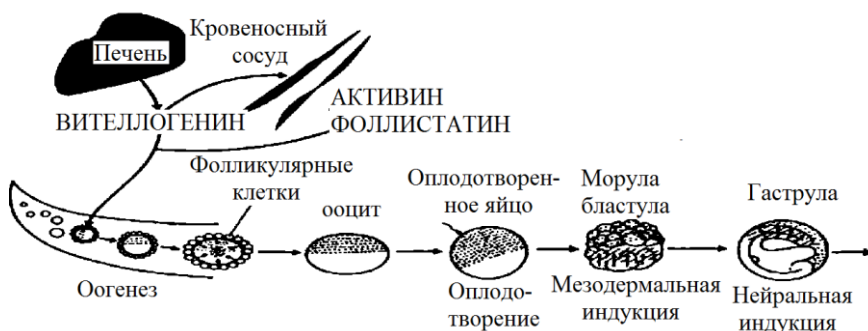


Рис. 18. Модель накопления активина в ходе оогенеза, эмбриональной индукции и раннего развития *Xenopus* (по: Asashima, 1998)

Молекулярная природа нейральных индукторов

Молекулярная природа нейроиндуцирующих факторов была выяснена благодаря исследованиям, проведенным на зародышах птиц и *Xenopus*.

Noggin – это основной нейроиндуцирующий агент был изолирован благодаря способности дорсализовать мезодерму. Его транскрипты экспрессируются в ткани организатора (в дорсальной губе бластопора) на стадии гаструлы и позднее – в ното хорде на более поздних стадиях развития, вызывая в обоих случаях нейроиндуцирующий эффект.

Notch – ген открыт и впервые выделен у дрозофилы. Он кодирует трансмембранный белок, участвующий в определении судьбы клеток нейроэктодермы, в выборе ими нейрального или эпидермального пути развития.

Wnt – члены этого семейства генов обуславливают развитие ограниченного разнообразия фенотипических паттернов в развивающейся центральной нервной системе.

Dorsalin – член семейства *TGF-beta*. Соответствующий ген выделен из спинного мозга цыпленка. Транскрипты этого гена впервые обнаруживаются при замыкании нервной пластинки в нервную трубку.

При этом первоначально вся нервная трубка компетентна к экспрессии гена *dorsalinl*, но эта способность впоследствии ограничивается дорсальной третью нервной трубки вследствие диффундирующего сигнала из ното хорды, который одновременно индуцирует дифференцировку мотонейронов.

Белок *dorsalinl* стимулирует дифференцировку клеток нервного гребня в дорсальной части нервной трубки, его диффузия в вентральном направлении подавляет вентральные сигналы, устанавливая таким способом верхнюю границу дифференцировки мотонейронов.

6.4. Варианты эмбриональной индукции

Явления индукции многочисленны и разнообразны. Помимо первичной индукции со стороны спинной губы бластопора описаны индукционные влияния на более поздних этапах развития. Все они являются *вторичными* и *третичными*, представляя собой каскадные взаимодействия, типичные для дифференцировки, потому что индукция многих структур зависит от предшествующих индукционных событий.

Первичная эмбриональная индукция. Молекулярно-генетические механизмы первичной эмбриональной индукции универсальны и осуществляются как у позвоночных, так и беспозвоночных животных посредством продуктов сходных генетических систем.

В зависимости от типа образуемых при этом структур различают следующие **варианты первичной эмбриональной индукции**:

- **архенцефалическая** – в результате нее образуются *передний мозг, ног, глаз, хрусталик*;

- **дейтеренцефалическая** – *средний мозг, задний мозг, слуховые пузырьки*;

- **мезодермально-эктодермальная** – представлена тремя вариантами:

- 1) **спино-каудальная** – *спинной мозг, хвостовая хорда, сомиты*;

- 2) **туловищно-мезодермальная** – *туловищная хорда, сомиты, почечные канальцы, мезотелий, кровяные островки*;

- 3) **эктодермальная** – *глотка, пищевод, кишечник*.

Вторичная эмбриональная индукция осуществляется путем тканевых взаимодействий и обеспечивает дифференцировку тканей (тканевой уровень дифференцировки). Существует два типа тканевых взаимодействий:

1-й тип – **инструктивный**: индуцирующая ткань инструктирует компетентную ткань относительно того, какой набор генов ей надо экспрессировать, при этом тип образующейся ткани изменяется. Индукцию, при которой происходит включение новых генетических программ, определяющих спецификацию клеток, называют *инструктивной*.

2-й тип – **разрешающий**: компетентная ткань готова к экспрессии и нужны только определенные условия, которые разрешают эту экспрессию, при этом тип ткани не меняется.

Тканевые взаимодействия реализуются:

- при непосредственном контакте клеток;
- под индукционным влиянием матрикса одной клетки на другую;
- при диффузии индукторов от одной клетки к другой.

Примером *вторичной* индукции может служить действие глазного бокала (выпячивание переднего мозга) на прилежащий покровный эпителий, под влиянием чего эпителий впячивается, а затем отшнуровывается хрусталиковый пузырек – зачаток глазного хрусталика. Расположенный

над хрусталиком покровный эпителий тоже испытывает сложные изменения, теряет пигмент и становится роговичным эпителием. Это пример *третичной* индукции. Таким образом, получается, что глазной бокал возникает только после развития передней части головного мозга, хрусталик – после формирования бокала, а роговица – после образования хрусталика.

Вместе с тем индукция носит не только каскадный, но и переплетающийся характер: в индукции той или иной структуры может участвовать не одна, а несколько тканей. В свою очередь, такая структура может служить индуктором для нескольких других тканей.

Например, глазной бокал служит главным, но не единственным индуктором хрусталика. Морфогенез всегда сопровождается значительными перемещениями тканей друг относительно друга. Так, презумптивный хрусталик (эпидермис), из которого в последующем должен развиваться хрусталик, во время гастрюляции лежит над энтодермой будущей глотки, которая служит первым индуктором хрусталика. Затем под этим эпидермисом оказывается сердечная мезодерма, которая тоже действует как индуктор. И только позднее, во время нейруляции, на переднем конце нервной трубки выпячиваются глазные пузыри, образующие глазной бокал и сетчатку, являющуюся главным индуктором хрусталика.

Таким образом, эмбриональная индукция определяет как спецификацию клеточных типов, так и морфогенетические процессы, координируя их в пространстве и во времени. У позвоночных принцип эмбриональной индукции лежит в основе формирования практически всех органов, независимо от их принадлежности к тому или иному зародышевому листку.

Вопросы для повторения

1. Что такое эмбриональная индукция? Назовите ее виды.
2. Что такое индуктор и компетентная ткань?
3. Что такое компетенция?
4. Каковы основные закономерности созревания индуктора и компетентной ткани?
5. Что такое эффект минимальной массы?
6. Как взаимодействуют индуктор и компетентная ткань?
7. Как гены участвуют в регуляции мезодермальной индукции?
8. Как гены участвуют в регуляции нейральной индукции?
9. Что известно о нейральной и мезодермальной индукции?
10. Как гены влияют на процессы эмбриональной индукции?

Рекомендуемая литература

1. Михайлов А. Т. Эмбриональные индукторы. – Москва : Наука, 1988.

2. *Тидеман Грунц Х., Кнехель В.* Индуцирующие факторы и молекулярные механизмы дифференцировки у ранних зародышей амфибий // *Онтогенез*. – 1993. – Т. 24. – С. 5–27.

3. *Михайлов А. Т.* Эмбриональные индукторы. – Москва : Наука, 1988.

4. *Саксен Л. Тойвонен С.* Первичная эмбриональная индукция. – Москва : ИЛ, 1963.

5. *Голиченков В. А.* Эмбриология / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. – Москва : Академия, 2004. – 224 с.

6. *Дондуа А. К.* Биология развития : в 2 т. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.

7. *Корочкин Л. И.* Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва : Изд-во МГУ, 2002. – 263 с.

8. *Белоусов Л. В.* Основы общей эмбриологии. – Москва: Изд-во МГУ, 2005. – 368 с.

Раздел 7. Межклеточные взаимодействия

Межклеточные взаимодействия – адгезия (склеивание клеток) и сегрегация – (сортировка клеток) играют важную роль в процессе миграции, благодаря чему зародыш существует как единое целое.

7.1. Адгезия и сегрегация клеток

Морфогенетические движения клеток и их пластов представляют собой преимущественно активные перемещения клеток посредством механизма амебoidalного движения. Направление перемещения определяется чаще всего рельефом поверхности, по которой перемещается клетка (контактное ориентирование) или по градиенту концентрации химических веществ (хемотаксис).

Основным отличием клеток разных зародышевых листков являются их различные морфогенетические движения, характер которых специфичен у разных групп животных. Эктодерма в ходе гастрюляции, как правило, расплывается и, оставаясь на поверхности, окружает весь зародыш. Энтодерма, напротив, свертывается в трубку – первичную кишку. Мезодерма, образуясь на границе эктодермы и энтодермы, также вворачивается и проникает под эктодерму, отделяя ее от энтодермы.

На конечную судьбу клеток влияют контакты, возникающие по ходу их движения. Избирательная сортировка и адгезивность заключается в выделении и объединении клеток одного зачатка из совокупности, содержащей клетки различных зачатков. Она свойственна клеточному материалу как зародышевых листков, так и отдельных органов. Связи между однотипными клетками отличаются большей устойчивостью, то есть более высокой адгезивностью, что обеспечивает формирование клеточного комплекса – упорядоченно расположенных клеток одного зачатка.

Многочисленными опытами показано, что наибольшей адгезивностью обладает мезодерма, наименьшей – эктодерма, а энтодерма занимает промежуточное положение. Таким образом, региональные различия в адгезивности способствуют возникновению сложной тканевой организации развивающегося зародыша.

Необходимым условием сортировки является степень подвижности клеток и особенности их мембран. В поздней бластуле амфибий, например, клетки будущей эктодермы обладают тенденцией слипаться друг с другом и распространяться в виде сплошного слоя над мезодермой и энтодермой. Эта тенденция проявляется и в культуре тканей. Клетки мезодермы имеют тенденцию впиваться в любой находящийся поблизости комочек клеток, а клетки энтодермы относительно неподвижны.

Существует ряд гипотез, объясняющих избирательную сортировку клеток. Возможно, что контакты между подобными клетками сильнее, чем между чужеродными клетками из-за различий в поверхностном заряде их мембран. Обнаружено, что поверхностный заряд клеток мезодермы ниже, чем клеток экто- или энтодермы, благодаря чему клетки мезодермы легче деформируются и втягиваются в бластопор в начале гаструляции. По другой гипотезе, контактные взаимодействия между одинаковыми клетками основываются на антигенных свойствах их мембран.

Избирательная адгезия клеток определенного зародышевого листка друг с другом является необходимым условием нормального развития. По-видимому, в обеспечении сортировки клеток важное место принадлежит генетическим механизмам.

Сегрегация или избирательная сортировка – процесс, благодаря которому, в частности, образуются зародышевые листки. Если в эксперименте смешать клетки различных зародышевых листков, то клетки, смешанные в беспорядке, вступают в контакт только с клетками этого же листка, то есть клетки сами сортируются и сами разделяются на соответствующие зародышевые листки.

Подобную агрегацию клеток зародышевого листка с себе подобными можно объяснить способностью к избирательному слипанию клеток одного типа между собой (рис. 19). Одновременно это является проявлением ранней дифференцировки клеток на стадии гаструлы.



Рис. 19. Адгезия клеток зародышевых листков: А – смесь диссоциированных клеток гаструлы амфибий, Б – клетки эктодермы, мезодермы и энтодермы, группирующиеся послойно путем адгезии

7.2. Молекулы клеточной адгезии

Все межклеточные взаимодействия в процессе морфогенеза обусловлены комбинациями молекул клеточной адгезии, которые способны как объединять клетки разных типов, так и создавать и поддерживать между ними границы. **Молекулы клеточной адгезии** – белковые молекулы, участвующие в адгезии «клетка–клетка». Молекулы объединяют клетки в эпителиальные слои.

По современным данным, в основе которых лежат работы Д. Эдельмана, эпителизация мезенхимы, а также усиление контактов между эпи-

телиальными клетками (происходящее при их поляризации) связаны с синтезом в данных клетках так называемых молекул клеточной адгезии (англ. – *cell adhesion molecules*, или **CAM**). Они представляют собой гликопротеины. Описаны и выделены гены, кодирующие различные виды молекул клеточной адгезии.

Существует несколько разновидностей молекул клеточной адгезии.

В зародышах и взрослых организмах широко распространены NCAM. (N – от neural). Эти молекулы определяют, в частности, адгезию нейроэпителиальных клеток зародыша друг к другу. У зародышей шпорцевой лягушки они появляются перед началом нейруляции, когда возрастают контактные зоны между поляризующимися клетками нервной пластинки. Присутствуют они и в других столбчатых эпителиях.

Другая разновидность молекул клеточной адгезии называется L-CAM. Она выделена из печени (L – от liver – печень), но встречается и во многих типах клеток. При подавлении синтеза CAM клетки данного типа не образуют между собой контактов. Наоборот, если в мезенхимные клетки, лишенные генов L-CAM, ввести эти гены, то они склеиваются в плотный эпителий.

Наконец, описаны так называемые Ng-CAM, ответственные за установление контактов между нейронами и клетками нейроглии.

Наличие и распределение различных видов CAM резко меняются по ходу развития зародышей. В бластомере куриного зародыша до начала гаструляции наблюдается относительно равномерное распределение как NCAM, так и L-CAM по всему эпибласту и гипобласту. При миграции мезодермальных клеток через первичную бороздку на их поверхности CAM не обнаруживается. Однако на поверхности клеток презумптивной нервной системы и осевых органов обнаруживаются только молекулы N-CAM, а на клетках будущей покровной эктодермы и энтодермы – L-CAM.

Кадгерины – отвечают за пространственную сегрегацию (сортировку) клеток и объединение клеток в ткани и организацию формы тела. Мембранные ферменты – гликозил-трансферазы – соединяются с углеводными субстратами по типу «ключ–замок» и осуществляют прочное сцепление клеток.

Кадгерины обнаружены у зародышей млекопитающих, причем один из них (Е-кадгерин) выявляется уже на стадии зиготы. Позже в трофобласте, а также в стенке матки обнаруживается другой вид молекул – Р-кадгерин, возможно, ответственный за клеточные контакты при имплантации зародыша. Клетки нейроэктодермы утрачивают Е-кадгерин, но приобретают новый – N-кадгерин. Таким образом, параллельно с морфологическими изменениями происходят сложные молекулярные пере-

стройки клеточных поверхностей, определяющие, какие клетки будут в дальнейшем развиваться совместно, а какие – отделяться друг от друга.

Одним из основных процессов, лежащих в основе морфогенеза, является переход эпителиальных пластов в мезенхиму и, наоборот, конденсация клеток мезенхимы с образованием эпителиальных или массивных зачатков. Эти эпителиально-мезенхимные переходы, очевидно, связаны с экспрессией молекул клеточной адгезии. Например, перед образованием массивного зачатка хрящевого скелета в почке конечности куриного эмбриона в клетках мезенхимы отмечена экспрессия N-кадгерина. Блокирование активности этих молекул соответствующими антителами, инъецированными в почку конечности, препятствует развитию элементов скелета в конечности. Если N-кадгерин важен для инициации образования хрящевых узелков, то для их сохранения необходим иммуноглобулиновый N-CAM. Другой пример – конденсация мезенхимы при образовании сомитов. Подробно исследована экспрессия кадгеринов при формировании нервной трубки. Обособление нервной пластинки и последующее обособление нервной трубки от покровной эктодермы, где экспрессируется E-кадгерин, связано с инициацией синтеза N-кадгерина. Если экспериментально вызвать экспрессию N-кадгерина в эктодермальном эпителии, то обособление нервной трубки нарушается.

Имуноглобулины CAM, структура которых напоминает структуру антител и выполняют различные функции в зависимости от содержания в них сиаловой кислоты: при низком содержании клеточная адгезия стимулируется, при высоком – подавляется.

Молекулы адгезии молекул к субстрату. Внеклеточный матрикс содержит волокна, гликозаминогликаны и гликопротеины. Компоненты внеклеточного матрикса синтезируются самими клетками. Он разделяет соседние группы клеток и препятствует взаимодействию между ними, но также служит субстратом миграции. К данной группе относятся молекулы адгезии: коллаген (образует волокна во внеклеточном матриксе), ламинин, фибронектин (связующие молекулы между мигрирующей клеткой и другими компонентами внеклеточного матрикса).

Молекулы клеточных контактов – обеспечивают пути сообщения цитоплазмы соседних клеток (щелевые контакты), а также непроницаемость и механическую прочность эпителиальных слоев (десмосомы, плотные контакты).

Интегрины – объединяют (интегрируют) внутри- и внеклеточные конструкции и обуславливают движение клетки путем сокращения актиновых микрофибрилл. Интегрины представляют собой клеточные рецепторы, взаимодействующие с молекулами внеклеточного матрикса. Они являются трансмембранными гликопротеинами, которые обычно связывают клетку и внеклеточный матрикс, хотя могут связывать между собой

и клетки. Известно более 20 различных интегринов. Интегрины в активном состоянии – это крупные трансмембранные белки – гетеродимеры, состоящие из нековалентно связанных α и β цепей. Разнообразные типы этих цепей по-разному комбинируются между собой, давая множество форм интегринов.

Внутриклеточные области интегринов связаны с актиновым цитоскелетом. Таким образом, интегрины создают непосредственную связь компонентов внеклеточного матрикса с цитоскелетом клетки. В результате взаимодействия с лигандами матрикса интегрины индуцируют экспрессию определенных генов, изменяют организацию цитоскелета клетки, контролируют движение клеток и клеточную пролиферацию. Интегрины служат фактором дифференциации тканей и участвуют во многих морфогенетических процессах, например, в образовании нервных складок. Благодаря интегринам осуществляется непосредственная связь цитоскелета клетки с компонентами матрикса, при этом определенным образом ориентированная клетка способна упорядочить расположение молекул фибронектина в матриксе. В свою очередь, это упорядоченное расположение молекул в матриксе создает предпосылки ориентированного расположения клеток области формирования ткани или зачатка.

Важные биологические функции в эмбриогенезе выполняют фибронектины, взаимодействие с которыми осуществляется, главным образом, интегринами клетки. Главным рецептором фибронектина у раннего зародыша Ксенопуса служит RDG-специфический интегрин $\alpha 5 \beta 1$. В яйце Ксенопуса имеется большое количество материнских иРНК обеих субъединиц ($\alpha 5$ и $\beta 1$). В период дробления и гастрюляции зрелый $\alpha 5 \beta 1$ интегрин синтезируется непрерывно и включается в образующиеся мембраны всех клеток. Фибронектин в раннем развитии амфибий впервые появляется на стадии бластулы, когда сеть его фибрилл образуется на внутренней поверхности многоклеточного слоя клеток – крыши бластоцеля. При гастрюляции этот матрикс обеспечивает миграцию мезодермы. Фибронектины обеспечивают миграцию мезодермальных клеток по поверхности энтодермы и при формировании зачатка сердца у куриного зародыша в конце первых суток инкубации.

Как уже говорилось, функция молекул клеточной адгезии не ограничивается только задачами механического соединения клеток. Молекулы клеточной адгезии входят в состав сложной сигнальной системы, которая, воспринимая сигналы внешней среды, участвует в регуляции транскрипции, и тем самым – в регуляции клеточного размножения, дифференциации и формообразования. В экспериментах с мутантными формами интегринов и кадгеринов, у которых отсутствовали внутриклеточные домены, выяснилось, что изменяются не только адгезивные свойства клеток, но и их дифференциация. Внутриклеточные области молекул кле-

точной адгезии, как показали эти эксперименты, исполняют роль соответствующих областей клеточных рецепторов. Поскольку внутренний домен кадгерина соединен с актиновым цитоскелетом клетки с помощью α -, β - и γ -катенинов, а β -катенин используется как транскрипционный кофактор при Wnt сигналинге, высказывается предположение, что Wnt сигналинг, с его механизмом регуляции стабильности β -катенина может влиять на функции кадгеринов, и наоборот. Имеются данные о том, что концентрация Е-кадгеринов влияет на дифференциацию ооцита у Дрозофилы. Оказалось, что ооцитом становится тот цистокит, который характеризуется максимальным содержанием Е-кадгерина. В тех случаях, когда в эксперименте Е-кадгерина отсутствовали в половых или фолликулярных клетках, детерминация ооцита происходила случайным образом. Если экспрессия Е-кадгерина происходила лишь у части фолликулярных клеток, то ооцит всегда возникал в области контакта цистокита с клеткой фолликулярного эпителия с максимальной концентрацией Е-кадгерина. Данных о непосредственной роли иммуноглобулиноподобных молекул адгезии в управлении процессами дифференциации мало. Тем не менее, косвенным свидетельством их участия в этом процессе может служить их активная экспрессия в период морфогенеза.

В эмбриогенезе для образования тканей необходимо, чтобы клетки зачатка сначала мигрировали, а затем образовали клеточные ансамбли. Для осуществления миграции необходимо, чтобы клетки зачатка потеряли МКА, что инициирует начало миграции. В дальнейшем МКА контролируют миграцию клеток и обеспечивают ее целенаправленность. В клетках, завершивших миграцию, вновь появляются МКА, между клетками устанавливается взаимодействие и начинается формирование нужных клеточных ансамблей. Эти процессы можно сформулировать следующим образом: конец адгезии – начало миграции – конец миграции – начало адгезии.

За последние годы установлено, что многие структуры зародыша образуются клетками, происходящими от небольшого числа или даже одной клетки. Совокупность клеток, являющихся потомками одной родоначальной клетки, называют клоном. Показано, например, что большие по объему участки центральной нервной системы формируются из определенных клеток раннего зародыша. Пока неясно, в какой именно срок происходит отбор родоначальных клеток, каков механизм этого отбора.

Важным следствием такой селекции является то, что многим клеткам раннего зародыша не суждено участвовать в дальнейшем развитии. Клональные клетки могут быть причиной мозаицизма, когда большие группы клеток отличаются по набору хромосом или аллельному составу. В процессе эмбриогенеза клетки не только активно перемешаются, но и «узнают» друг друга: образуют скопления и пласты только с опреде-

ленными клетками. Значительные координированные перемещения клеток характерны для периода гаструляции, в процессе которой образуются обособленные друг от друга зародышевые листки. При этом клетки избирательно сортируются (в зависимости от свойств).

Таким образом, сортировка клеток и их избирательная адгезия, наряду с другими клеточными процессами, играет важную роль в морфогенезе развивающегося зародыша и одновременно подвержена многоуровневым регуляционным воздействиям (генетическим, межклеточным, онтогенетическим), отражая целостность организма как системы.

Вопросы для повторения:

1. Молекулы клеточной и субстратной адгезии как факторы морфогенеза.
2. Значение интегринов в процессах дифференцировки и морфогенеза.
3. Функция кадгеринов в формообразовательных процессах.
4. Роль избирательной сортировки и адгезии в миграционных процессах.

Рекомендуемая литература

1. Дондуа А. К. Биология развития : в 2 т. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.
2. Корочкин Л. И., Михайлов А. Т. Введение в нейрогенетику. – Москва : Наука, 2000.
3. Корочкин Л. И. Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва : Изд-во МГУ, 2002.
4. Болотов А. В. Биология индивидуального развития // Биология размножения и развития: учеб. пособие. – Иркутск : Изд-во ИГУ, 2011. – 217 с.
5. Кузнецов С. Л., Пугачев М. К. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии: учеб. пособие. – Москва : Мед. информ. аг-во, 2004. – 432 с.
6. Ярыгин В. Н. [и др.]. Биология : учебник: в 2 кн. – 7-е изд., стер. – Москва : Высш. шк., 2005. – Кн. 1. – 432 с.

Раздел 8. Общие закономерности генетической регуляции индивидуального развития

8.1. Особенности взаимодействия генов в развитии

В основе развития индивидуума, то есть скоординированных в пространстве и времени процессов клеточной репродукции, морфогенеза и клеточной дифференцировки лежит экспрессия генов. Теория дифференциальной активности генов исходит из предположения, что деления клеток обычно равнонаследственны, а экспрессируемые гены сохраняются. Дифференциальная активность генов достигается различными способами путем активации и репрессии генов как прямыми (с помощью транскрипционных факторов), так и опосредованными (за счет изменения структуры ДНК и укладки хроматина, модификации структуры ДНК путем метилирования). Процессы эмбриогенеза основаны на дифференциальной активности генов, но не исчерпываются генетическим уровнем регуляции. Образующиеся структуры выступают как физические и химические тела с присущими им особенностями взаимодействия (силы натяжения, силы давления, электрические силы и пр.). Некоторые синтезированные под контролем генома белки, благодаря генетически детерминированной первичной и вторичной структуре, обладают способностью к самосборке, и их конкретная судьба определяется факторами среды. Так, переход глобулярного актина в фибриллярную форму зависит от концентрации ионов водорода и непосредственно не зависит от активности генома. Имеются многоуровневые системы взаимодействия генов, создающие предпосылки для самоорганизации.

Активность генов в эмбриональном развитии связана с решением двух основных задач. Одна из них связана с формированием плана строения организма, *формированием паттерна*. Экспрессия генов в этом случае создает в трехмерном пространстве зародыша позиционную информацию и намечает положение осей тела зародыша. Вторая задача связана с процессами *цитодифференцировки* – с формированием многообразия типов клеток и тканей. Координация формирования паттерна и процессов дифференцировки создает предпосылки *формообразования*, или *морфогенеза*. Генетические системы, которые обеспечивают эту координацию, исследованы в настоящее время недостаточно глубоко, что объясняется сложностью строения организма.

У эукариот дифференциальная экспрессия носит многоуровневый характер, так что «включение» того или иного гена и активация его транскрипции еще не означают выхода кодируемого им признака в клеточный фенотип. Путь от гена к признаку зависит от значительной части генома, продуктов многих генов и градиента их распределения в развивающемся

зародыше, а также от особенностей их взаимодействия друг с другом и с конкретным геном. Основу индивидуального развития составляет *взаимодействие генов, их системное*, а не автономное функционирование.

Система генов, регулирующих развитие морфогенетического процесса, организована по иерархическому принципу, так что в каждом регуляторном генетическом «каскаде» существуют «гены-господа» и «гены-рабы». Первые в случае их активации, являются своеобразным триггером, «разрешающим» реализацию определенного морфогенетического процесса и включающим «каскад» генов, которые осуществляют этот процесс.

Генетические и молекулярно-генетические системы, управляющие развитием, консервативны и присущи как примитивным, так и высоко развитым организмам. Специфичность развивающегося органа обусловлена особенностями функционирования генов промежуточного звена между «генами-господами» и «генами рабами», например генами типа гомеозисных («гены-селекторы»). От них может зависеть синтез продуктов, которые обуславливают специфические межклеточные взаимодействия, детерминирующие становление определенной формы.

Весь процесс индивидуального развития осуществляется на основе двух типов воздействия генов друг на друга: *активирующего* и *репрессирующего*. Дифференцировка клеток эмбриона, их взаимовлияния в ходе морфогенеза основаны на установлении «баланса» между этими воздействиями в различных областях развивающегося зародыша. Результатом этого сбалансированного процесса является неравномерное распределение генопродуктов вдоль эмбриональных осей, так что создается система полярных градиентов распределения биологически активных веществ, своеобразная химическая мозаика, химически преформированный «план строения» организма.

Специфическое соотношение различных генопродуктов в различных частях зародыша является молекулярно-генетической основой так называемой *позиционной информации*. Под позиционной информацией подразумевается зависимость судьбы той или иной клетки от того положения (позиции) в системе развивающегося организма, которое она занимает. Сигналом, передающим позиционную информацию, являются особенности молекулярной «микросреды», в пределах которой происходит дифференцировка данной клетки.

Некоторые генные системы, последовательно включающиеся в процессе развития, организованы по *кластерному принципу*. В частности, порядок расположения *Нох-генов* соответствует временной последовательности их активации в ходе развития. Колинеарность в расположении генов и контролируемых ими признаков означает соответствие линейного расположения генов линейной последовательности распределения детерминируемых ими признаков в теле развивающегося зародыша.

Так, признаки, которые контролируют гомеозисные гены (голова, грудь, брюхо), расположены в той же последовательности, что и соответствующие комплексы генов (*ANT-C*, *BX-C*, *abd-A*, *Abd-B*). Иными словами, в определенном участке хромосомы как бы «нарисована» в молекулярных терминах миниатюрная мушка-дрозофила (мышка, человек).

8.2. Особенности функционирования генетических систем, контролирующих развитие

«Опережающее» функционирование генов в ходе онтогенеза. Многие продукты синтезируются в развивающемся зародыше «заранее», часто задолго до того, как они будут востребованы. Это, в частности, вещества, которые участвуют в «разметке» плана строения организма (продукты генов сегментации, гомеозисных генов), в осуществлении эмбриональной индукции (индуцирующие вещества и их ингибиторы). Некоторые молекулы, например глобин, образуются еще в яйцеклетке задолго до того, как начнут выполнять свои функции в клетках эритроидного ряда.

Автономия частей при единстве целого. Это качество функциональной динамики генома проявляется в раннем эмбриогенезе при созревании индуктора (хордомезодермы) и компетентной ткани (нейроэктодермы). Генетические системы, регулирующие созревание индуцирующих свойств хордомезодермы и способность компетентной ткани реагировать на воздействие индуктора, функционируют в автономном режиме независимо от того, находится ли данная развивающаяся эмбриональная закладка в составе целого зародыша или вне его. При этом целостность развивающейся системы обеспечивается за счет того, что сроки созревания двух взаимодействующих тканей «синхронизированы», в результате чего достигается нормальное течение онтогенетического процесса.

Можно выделить три автономно функционирующих генетических системы, контролирующих три соответственно автономных процесса:

- формообразовательные события;
- дифференцировку специфических морфологических типов клеток;
- молекулярно-генетическую и молекулярно-биологическую спецификацию этих клеток.⁶

⁶ Известны случаи, когда процесс нейруляции проходит нормально, и нервная трубка замыкается, однако дифференцировки входящих в ее состав нейробластов не происходит. Точно так же возможен синтез нейроспецифических белков в клетках. В частности, в ходе экзогастрюляции, когда происходит не выпячивание, а, напротив, выпячивание хордомезодермы, эктодерма как бы отделяется от остальной части зародыша и морфогенетические процессы в ней не происходят, так что и нервная трубка не формируется, и дифференцировки нейробластов не происходит, однако нейроспецифические белки в них синтезируются!

8.3. Механизмы регуляции активности генов

Регуляция экспрессии генов в эмбриогенезе животных имеет многоуровневый характер. Можно различать *прямую* и *опосредованную* (непрямую) регуляцию экспрессии.

Прямая система регуляции, затрагивающая непосредственно гены, состоит из транс-регуляторного и цис-регуляторного аппаратов. *Транс-регуляторный аппарат* клетки понимается как набор генов, которые кодируют специфические регуляторные белки, и, прежде всего, транскрипционные факторы. *Цис-регуляторный аппарат* представлен цис-регуляторными элементами, или *модулями*, которые расположены в молекуле ДНК на определенном расстоянии от кодирующих областей генов или внутри них. Цис-регуляторные модули содержат специфические последовательности – сайты-мишени, с которыми взаимодействуют транскрипционные факторы.

Под опосредованной регуляцией понимается изменение активности генов путем видоизменения структуры хроматина или ДНК.

Регуляция активности генома в клетке достигается двумя главными способами:

- с помощью транскрипционных факторов, которые вырабатываются и действуют внутри клетки, контролируя активность собственного генома;
- под влиянием внешних факторов, которые синтезируются и секретируются другими клетками с участием специальных рецепторов, воспринимающих внешний сигнал, а также проводящих систем, с помощью которых трансформированный сигнал доводится до транскрипционных факторов и активирует их.

Среди сигнальных молекул, контролирующих эмбриональное развитие, различают эндокринные и паракринные сигнальные молекулы. На относительно поздних стадиях развития используются *эндокринные* сигнальные молекулы, которые выводятся из клеток в кровяное русло и распространяются по развивающемуся зародышу на большие расстояния. На ранних стадиях, когда отсутствует кровеносная система и эндокринные органы, решающая роль в межклеточных отношениях принадлежит *паракринным* факторам – секретируемым белкам, которые распространяются в межклеточном пространстве путем диффузии и имеют ограниченную сферу влияния.

Разновидностью паракринных факторов являются:

- *автокринные* факторы – секретируемые сигнальные молекулы, которые регулируют функции самой клетки-производительницы;
- *юкстакринные* факторы – сигнальные молекулы, которые являются интегральными белками плазматической мембраны. Юкстакринные

факторы не секретируются. Они влияют на спецификацию соседних клеток, непосредственно взаимодействуя с рецепторами последних.

Паракринные сигнальные факторы в эмбриогенезе регулируют процессы клеточной репродукции, клеточной дифференциации и морфогенеза. Известно несколько семейств этих белков. Каждое из них характеризуется своими особенностями взаимодействия с трансмембранными рецепторами клеток, активность которых они регулируют.

Фибробластические факторы роста (семейство FGF). Факторы FGF участвуют в индукции мезодермы на стадии бластулы и гастрюлы амфибий, в разделении головного мозга на разные отделы, в формообразовательных процессах при развитии конечности, черепа и других процессах.

Трансформирующие факторы роста бета (TGF- β) образуют сверхсемейство, в которое входят собственно TGF- β , *активины*, разнообразные BMP-факторы. Они контролируют клеточную репродукцию, программируемую гибель клеток, миграцию клеток, установление осей зародыша, спецификацию мезодермы, дифференцировку нервной системы и органов чувств.

Wnt-сигналинг. Семейство генов *wnt* широко распространено в природе. Гены *wnt* кодируют секретируемые паракринные белки, которые исполняют роль сигнальных молекул для решения самых различных задач в эмбриогенезе животных. Например, у зародышей амфибий и рыб они используются при формировании переднезадней оси, при спецификации вентральной мезодермы, при дифференциации мозга, для осуществления гастрюляции и др.

Белки семейства Hedgehog (Hh). Эти паракринные факторы, которые используются при формировании нервной трубки и сомитов, обеспечении нормального течения сперматогенеза, при формировании лево-правой асимметрии тела и переднезадней оси конечности позвоночных.

Регуляция экспрессии всех генов происходит на различных уровнях:

1. Регуляция на генном уровне:

1.1. Модификация ДНК (например, замена цитозина или гуанина на метил-цитозинилиметил-гуанин; метилирование оснований снижает активность генов).

1.2. Увеличение объема ДНК в клетке путем дифференциальной амплификации ДНК (например, многократное копирование генов рРНК) или за счет образования политенных хромосом.

1.3. Программированные количественные изменения ДНК (например, изменение ориентации промотора).

1.4. Сплайсинг ДНК (например, вырезание участков генов, кодирующих антитела).

1.5. Диминуция хроматина – необратимая утрата части генетического материала в соматических клетках некоторых организмов (инфузорий, аскарид, циклопов).

1.6. Изменение активности целых хромосом (например, инактивация одной из двух X-хромосом самок млекопитающих).

1.7. Изменение последовательностей ДНК с помощью подвижных генетических элементов, например, транспозонов.

2. Регуляция на уровне транскрипции путем регуляции транскрипции мРНК. Интенсивное функционирование отдельных генов или их блоков соответствует определенным этапам развития и дифференцировки. Регуляторами транскрипции у животных часто являются стероидные гормоны.

3. Регуляция на уровне сплайсинга (посттрансляционной модификации мРНК) обеспечивает возможность образования различных типов зрелой, функционально активной мРНК. Процессинг РНК регулируется с помощью рибозимов (катализаторов рибонуклеиновой природы) и ферментов матураз. Некоторые генетические заболевания человека (фенилкетонурия, некоторые гемоглобинопатии) обусловлены нарушением сплайсинга.

4. Регуляция на уровне трансляции обусловлена различной активностью разных типов мРНК.

5. Регуляция на уровне посттрансляционной модификации белков путем фосфорилирования, ацетилирования, расщепления исходной полипептидной цепи на более мелкие фрагменты и т. д.

В природе существуют два способа управления дифференциальной активностью генов в онтогенезе: *автономный* и *зависимый*. В первом случае дифференциальная активность генов в разных областях зародыша достигается за счет неравномерного распределения в ооците транскрипционных факторов или их иРНК, синтезированных под контролем генов материнского организма в период оогенеза. Во втором случае дифференциальная активность генов устанавливается с помощью межклеточных взаимодействий, в ходе которых сигнальные молекулы, вырабатываемые одними клетками, взаимодействуют с рецепторами других клеток и побуждают их дифференцироваться в определенном направлении.

Принцип автономной спецификации широко используется при формировании генерального плана строения животного, при образовании осей тела индивидуума. У многих животных автономная спецификация лежит в основе формирования клеточных систем.

8.4. Поля органов

Эмбриональные территории, на которые распространяется состояние целостной детерминации – способности развиваться в зачаток того или иного органа, называются полями органов. Поля органов обладают следующими свойствами:

- *унитарности* (единственности), которое состоит в том, что внутри поля развивается лишь один данный зачаток, тогда как развитие второго такого же, пересекающего в то же самое поле, подавляется (или он сливается с первым);

- *регуляционности*: из любого малого участка поля возникает столь же целостный орган (хотя, как правило, и меньшего размера), как из всего поля;

- *автономности* (независимости) от других полей: какое-либо воздействие на одно из полей не влияет на соседнее поле.

Следует отметить, что феномен, обозначаемый как **морфогенетическое поле**, реально существует, но под таким полем следует понимать равнодействующую межклеточных взаимодействий, которая направляет формообразовательные перемещения клеточного материала. Специфика таких перемещений связана с особенностями адгезионных поверхностных клеточных белков, детерминирующих клеточное сродство и в конечном итоге определяется активностью соответствующих генов. Молекулярно-генетические исследования подтвердили правомочность понятия полей органов. Границы этих полей являются, как правило, и границами экспрессии определенных генов.

Морфогенез или формообразование представляет собой процесс возникновения новых структур и изменения их формы как в индивидуальном, так и в эволюционном развитии. Морфогенез, как рост и клеточная дифференцировка, относится к ациклическим процессам, то есть не возвращающимся в прежнее состояние и по большей части необратимым. Он определяется последовательностью переключения экспрессии групп генов, однако эти гены пока не столь детально изучены.

Генетические программы морфогенеза образованы двумя группами генов:

1. Гены, управляющие переключением, – главные гены, «гены-господа». К ним относятся гены-регуляторы, продукты которых влияют на экспрессию других генов, и гомеостатические гены, продуцирующие морфогены – вещества, определяющие морфогенетические процессы. К морфогенам относятся как тканеспецифические вещества (например, гормоны), так и неспецифические низкомолекулярные соединения (ретиноевая кислота).

2. Гены, обеспечивающие переход от одного состояния к другому – исполняющие гены, «гены-рабы», продуктами которых являются ферменты, структурные белки.

Экспрессия всех генов контролируется разнообразными эффекторами. Часть из них закодирована в генотипе, часть – поступает в клетки извне или образуется в ходе метаболических реакций. Синтез эффекторов контролируется условиями внешней среды, например, белки «теплового шока», регулирующие процессы транскрипции, синтезируются у дрозофилы при температуре выше 35 °С, при воздействии антибиотика актиномицина А, гидроксилamina, колхицина, хлорида аммония и других веществ.

В ходе индивидуального развития организма параллельно с клеточной спецификацией и дифференцировкой, а также наряду с формированием анатомических структур, начиная с самых ранних этапов, обнаруживается самостоятельная цепь процессов, связанная с формированием общего плана тела, или формированием паттерна. В ходе формирования паттерна единое пространство зародыша подразделяется на определенное число доменов, соответствующих основным областям зародыша. Экспрессия генов в этом случае создает в трехмерном пространстве зародыша позиционную информацию, предопределяет положение осей тела зародыша. При этом из единого поля, которое представлено оплодотворенным яйцом, происходит образование многих *морфогенетических полей*, которые дают начало разнообразным органам.

С молекулярно-биологической точки зрения, эмбриональные поля характеризуются экспрессией определенных регуляторных генов. Формирование паттерна состоит в том, что в ходе развития в пространстве эмбрионального поля происходит изменение набора экспрессируемых регуляторных генов для активации последующих программ развития.

Таким образом, экспрессируемые в эмбриональных полях факторы, наряду с материнскими, синтезированными в период оогенеза, создают позиционную информацию, которая необходима для пространственной координации процессов развития.

Наблюдаемая в разных областях зародыша дифференциальная активность генов в ходе развития устанавливается на основе автономной и зависимой детерминации. В разных областях эмбриона включается экспрессия специфических наборов регуляторных генов, каждый из которых обеспечивает разные программы развития. Дифференцировка зародыша обусловлена системой распределенных в пространстве сигналов – так называемой позиционной информацией.

Позиционная информация создается разными способами: на ранних этапах эмбриогенеза – благодаря материнским факторам детерминации, в последующем – межклеточным взаимодействиям, в результате которых

в разных областях зародыша продуцируются сигнальные молекулы, предопределяющие пространственную организацию. Особый интерес представляют морфогены: такие сигнальные молекулы, позиционная информация которых обусловлена градиентами их распределения в пространстве.

В ходе развития и в процессе формирования паттерна позиционная информация закономерно изменяется. С одной стороны, позиционная информация служит предпосылкой формирования паттерна и, таким образом, предопределяет морфогенетические процессы. В то же время позиционная информация, как система морфогенетических сигналов, является выражением паттерна.

Одна и та же позиционная информация по-разному интерпретируется клетками различной генетической природы. Интерпретация позиционной информации полностью зависит от генома реагирующей ткани, представляющего собой эпигенотип данного типа клеток. Наиболее важным фактором формирования паттерна и создания пространственной информации являются кластерные гомеобоксодержащие гены.

В ходе развития происходит не просто последовательное включение все новых и новых генов по принципу «передачи эстафетной палочки». Возникающие сигнальные молекулы обеспечивают взаимодействие между клетками. Одни из них активируют, другие – ингибируют процессы транскрипции в клетках, благодаря чему у зародыша возникает строго закономерный рисунок (паттерн) экспрессии генов. *Взаимодействуя друг с другом, системы генов клеток создают в трехмерном пространстве зародыша динамически меняющуюся позиционную информацию, в соответствии с которой происходит их спецификация и дифференциация.*

Одной из особенностей экспрессии генов, управляющих развитием, является то, что единое вначале пространство зародыша или зачатка со временем подразделяется на все более мелкие подпространства, каждое из которых дает начало определенной части органа или зародыша. Относительно гомогенный характер первоначального распределения сигнальных молекул в области эмбрионального поля сменяется гетерогенным паттерном экспрессии генов. В результате непрерывного взаимодействия генов неоднородность этого паттерна в ходе эмбриогенеза нарастает. Таким образом, в основе известного морфологического принципа развития «от общего к частному» лежит последовательное усложнение сети генных взаимодействий.

Другая особенность функциональной активности генов развития состоит в *синергизме* их действия. В процессе развития происходит переход от внешних сигналов настройки к авторегуляции, или *самонастройке*, в ходе которой уточняются и, устанавливаются границы между зонами, где экспрессируются различные наборы генов – эпигенотип каждого типа клеток.

Вопросы для повторения:

1. Как происходит формирование паттерна
2. Как осуществляется регуляция экспрессии (прямая и опосредованная).
3. Что такое *паракринные* факторы,
4. Способы управления дифференциальной активностью генов в онтогенезе
5. Уровни регуляции экспрессии генов.

Рекомендуемая литература

1. *Рэфф Р., Кофман Т.* Эмбрионы, гены, эволюция. – Москва : Мир, 1986.
2. Эмбриология / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. – Москва : Академия, 2004. – 224 с.
3. *Дондуа А. К.* Биология развития : в 2 т. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.
4. *Корочкин Л. И.* Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва : Изд-во МГУ, 2002. – 263 с.
5. *Гилберт С.* Биология развития : в 3 т. Т. 3: пер. с англ. – Москва : Мир, 1995. – 352 с.
6. *Болотов А. В.* Биология индивидуального развития // Биология размножения и развития: учеб. пособие. – Иркутск : Изд-во ИГУ, 2011. – 217 с.
7. Development. *Frontiers in biology // Science.* – 1994. – Vol. 266. – P. 513–700.
8. *Davidson, E. H.* Genomic regulatory systems. Development and evolution. Acad. Press. 2001. – 261 p.

Терминологический словарь

Агенезия – полное отсутствие у плода тех или иных частей тела или органов вследствие резкого нарушения их развития.

Адгезия – прилипание, процесс прикрепления зародыша в ходе имплантации.

Акрон – несегментированный терминальный участок тела зародыша (головной конец).

Акросома – цитоплазматический чехлик на переднем конце сперматозоида.

Аллантоис – провизорный орган зародышей высших позвоночных, образующийся в виде пальцевидного выроста заднего отдела развивающейся закладки кишечной трубки.

Амнион – провизорный орган зародышей высших позвоночных (амниот), создающий водную среду определенного химического состава, необходимую для развития зародыша.

Амфибластула – типичная бластула с резко отличающимися по размерам бластомерами анимального и вегетативного полюсов.

Апоптоз – способ гибели клеток в эмбриогенезе в результате активации внутренней программы самоуничтожения.

Атрезия – врожденное отсутствие или недоразвитие естественных отверстий, связанное с аномалиями эмбрионального развития.

Бластомеры – клетки, образующиеся в результате деления зиготы. Составляют тело зародыша в период дробления до появления эмбриональных зачатков.

Бластопатия – патология бластогенеза в первые 15 суток после оплодотворения. Реализуется в виде общих нарушений развития всего зародыша, несовместимых с жизнью или двойниковых пороков.

Бластопор – отверстие, при помощи которого полость бластулы сообщается с внешней средой.

Бластоцель – первичная полость зародыша на стадии бластулы.

Бластоциста – зародыш млекопитающих и человека в процессе дробления.

Бластула – зародыш в периоде дробления. Имеет форму пузырька, стенки которого состоят из бластомеров, окружающих бластоцель, – первичную полость тела.

Гамеопатия – патология внутриутробного периода развития, связанная с изменениями наследственного материала в процессе закладки и созревания гамет, что может приводить к летальным мутациям или наследственным болезням.

Гастроцель (гастральная полость или полость первичной кишки) – полость развивающегося зародыша, находящегося на стадии гастролы.

Гастрола – развивающийся организм в период гастрюляции. Способы образования гастролы у различных классов позвоночных неодинаковы, в связи с чем различают несколько ее разновидностей.

Гастрюляция – процесс перемещения и дифференцировки бластомеров зародыша после формирования бластулы, приводящий к образованию сначала двух, затем – трех зародышевых листков (эктодермы, энтодермы, мезодермы).

Гематоплацентарный барьер – система взаимодействующих клеток различной генетической природы, объединенных общностью выполняемой функции – обеспечение жизнедеятельности плода в процессе его эмбрионального развития и препятствующих смешиванию крови зародыша и материнской крови.

Гиперплазия – избыточное увеличение количества клеток в результате их интенсивного размножения.

Гипертрофия – увеличение объема клеток за счет нарастания массы клеток.

Гипобласт – нижний слой зародышевого щитка на стадии гастрюляции, на основе которого формируется энтодерма.

Гипогенезия – недоразвитие органов или их частей.

Гипоплазия – недоразвитие клеток и тканей в связи с нарушениями нормального хода гистогенеза.

Гистогенез – процесс развития тканей плода на стадии поздней гастрюлы из дифференцирующихся зародышевых листков.

Гомеобокс – специфическая, консервативная последовательность ДНК из 180 нуклеотидных пар. Гены, содержащие гомеобокс, кодируют ядерные белки, регулирующие экспрессию генов, а гомеобокс кодирует часть ДНК–связывающего белка.

Гомеодомен – соответствующая последовательность из 60 аминокислотных остатков, кодируемая гомеобоксом, входит в состав белков-регуляторов транскрипции или гомеобелков.

Гонобласт – половой зачаток, состоящий из первичных половых клеток, которые в ходе своего развития образуют гаметы.

Гоноциты – первичные недифференцированные половые клетки. У высших позвоночных гоноциты впервые обнаруживаются во внезародышевой энтодерме, затем мигрируют в закладку половых желез.

Деламинация – расщепление бластодермы в ходе гастрюляции на два слоя клеток – наружный и внутренний, которые соответствуют эктодерме и энтодерме.

Дерматом – эмбриональный зачаток (сегмент сомита), образующийся из дорсолатеральной части спинных сегментов мезодермы, из которого развивается соединительная часть кожи.

Детерминация – процесс определения пути развития материала эмбриональных зачатков в направлении образования специфических тканевых структур.

Дисгенезия – нарушение нормального хода эмбрионального развития ткани, органа или организма.

Дискобластула – зародыш в периоде дробления, имеющий внешний вид диска. Характерна для рыб, птиц и рептилий, дробление у которых неполное, частичное, меробластическое в связи с большим количеством желтка в исходной яйцеклетки.

Дифференцировка – появление специфических черт строения клетки, благодаря чему одинаковые клетки в процессе развития приобретают специфические различия.

Зародышевый щиток – утолщенный центральный участок бластодиска птиц, из материала которого образуется тело зародыша.

Зачатки презумптивные – предполагаемые, будущие зачатки органов, выделяемые в бластуле на основе экспериментальных данных.

Зачатки эмбриональные – зачатки определенных органов и тканей, обособляющиеся в ходе гастрюляции из материала зародышевых листков. Состоят из комплекса малодифференцированных клеток, служащих источником развития тканей в онтогенезе.

Зигота – оплодотворенная яйцеклетка с диплоидным набором хромосом, несущих генетическую информацию по отцовской и материнской линиям, является одноклеточной стадией развития нового организма.

Интегрины – МКА, которые объединяют (интегрируют) внутри- и внеклеточные конструкции и обуславливают движение клетки путем сокращения актиновых микрофибрилл.

Иммиграция – один из способов гастрюляции, состоящий в выселении клеток бластодермы внутрь бластоцеля с образованием внутреннего зародышевого листка – энтодермы.

Инвагинация – один из способов гастрюляции, при котором происходит впячивание вегетативной части бластулы внутрь бластоцеля.

Индукция – взаимовлияние одних клеток или зачатков на другие клетки или зачатки, в результате чего определяется направление их развития.

Кадгерины – МКА, которые отвечают за пространственную сегрегацию (сортировку) клеток, объединение клеток в ткани и организацию формы тела.

Кейлоны – тканеспецифичные ингибиторы клеточного деления, действие которых заключается в подавлении скорости деления клеток в тканях.

Киназы – ферменты, которые фосфорилируют белки по определенным аминокислотам.

Кортикальная реакция – изменения в кортикальном слое и оболочках яйцеклетки, направленные на предупреждение полиспермии и образование непроницаемой для спермиев оболочки оплодотворения.

Критические периоды эмбриогенеза – периоды наибольшей чувствительности зародыша к действию повреждающих факторов.

Коммитирование – процесс ограничения потенций развития.

Мезенхима – эмбриональная ткань, образующаяся преимущественно из материала мезодермы, из которой впоследствии развивается гладкая мускулатура, эндотелий сосудов, кровь, лимфа.

Мезодерма – средний зародышевый листок. Расчленяется на дорсальную (сегментированную), вентральную (несегментированную) и соединяющие их части. Производными мезодермы являются ткани внутренней среды, кровеносная система, мышечные ткани, эпителий печеночного и целомического типов.

Мезонефрос – первичная почка (вольфово тело).

Метанефроз – (вторичная, постоянная, дефинитивная почка) дефинитивный (постоянный, окончательный) орган выделения у взрослых позвоночных и человека. У зародыша человека развивается во второй половине эмбрио-генеза из материала несегментированного метанефрогенного зачатка.

Миотом – слой клеток между дерматомом и склеротомом в средней части дорсального сегмента мезодермы, из которого развивается скелетная мускулатура.

Молекулы клеточной адгезии (МКА) – белковые молекулы, участвующие в адгезии «клетка-клетка». Молекулы объединяют клетки в эпителиальные слои.

Морула – промежуточная бластула млекопитающих и человека, не содержащая внутри полости. Представляет собой компактную группу клеток эмбриобласта и трофобласта.

Морфоген – сигнальная молекула, формирует паттерн в морфогенетическом поле, несет позиционную информацию и оказывает влияние на клетки по концентрационному градиенту.

Морфогенез – развитие определенной формы и структуры органов и тканей организма.

Морфогенетическое поле – совокупность клеток, детерминированных как целостный зачаток органа.

Невропоры – отверстия, ведущие в канал нервной трубки на переднем и заднем концах зародыша.

Нейруляция – процесс обособления нервной пластинки и образования нервной трубки в ходе развития зародышей животных типа хордовых.

Нервная трубка – зачаток нервной системы. Образуется из нервной пластинки. В дальнейшем нервная трубка погружается под кожную эктодерму и отшнуровывается от нее.

Нефротомы – (сегментные ножки) парные сегментированные участки мезодермы, соединяющие дорсальные сегменты с несегментированным спланхнотомом. Из головных нефротомов развивается пронефрос, из туловищных – мезонефрос.

Онтогенез – индивидуальное развитие организма от момента образования зиготы и до его смерти.

Оплодотворение – процесс слияния мужской и женской половых клеток с образованием зиготы.

Осевой комплекс зачатков – совокупность зачатков нервной системы, осевого скелета и соматической мускулатуры в эмбриогенезе хордовых. Зачатки располагаются симметрично оси, проходящей через хорду или позвоночник.

Паракринные сигнальные факторы – факторы, которые в раннем эмбриогенезе регулируют процессы клеточной репродукции, дифференциации и морфогенеза.

Первичный (гензеновский) узелок – утолщение зародышевого щитка на переднем конце первичной полосы, из которого развиваются прехордальная пластинка и хорда.

Период антенатальный (внутриутробный, пренатальный, эмбриональный) – дородовой период.

Плакоды – парные утолщения эктодермы на месте погружения переднего конца нервной трубки, из которых в дальнейшем развиваются нейроглиальные элементы, входящие в состав органов чувств.

Плацента – орган связи зародыша млекопитающих с телом матери. Образуется за счет ворсинчатого хориона (зародышевая часть) и участка слизистой оболочки матки (материнская часть).

Плацентация – период эмбриогенеза, на протяжении которого происходит развитие плаценты. У человека плацентация соответствует 3–6-й неделе беременности.

Плод – развивающийся зародыш человека в возрасте старше 8 недель (с 3-го по 10-й лунный месяц утробного развития).

Позиционная информация – зависимость судьбы той или иной клетки от того положения (позиции) в системе развивающегося организма, которое она занимает.

Полярная плазма – часть цитоплазмы в яйцеклетках некоторых насекомых (дрозофила), богатая РНК, формирующаяся на заднем полюсе яйца.

Правило Бэра – положение о том, что в ходе эмбрионального развития у зародыша сначала появляются самые общие признаки, характерные для всего типа, затем последовательно выявляются черты класса, отряда, семейства, рода и вида и, наконец, индивидуальные признаки особи.

Прехордальная пластинка – эмбриональный зачаток, выявляющийся в ходе гастрюляции у птиц и млекопитающих в передней части хордального отростка. Материал прехордальной пластинки дает начало эпителиальной выстилке полости рта, глотки пищевода, дыхательных путей и легких, а также переднему концу хорды и мезодерме передних двух сегментов.

Провизорные органы – временные органы зародыша, имеющие приспособительное значение для его развития. К ним относятся желточный мешок, амнион, аллантаис и серозная оболочка – у птиц и рептилий; желточный мешок, амнион, аллантаис и хорион – у млекопитающих и человека.

Прогенез – предзародышевый период развития, на протяжении которого происходит возникновение и формирование половых клеток.

Пронефрос – предпочка, парный орган выделения у низших рыб и рудиментарное образование в органогенезе почек у человека.

Пронуклеус – ядерное вещество сперматозоида или яйца яйцеклетки, которое в процессе оплодотворения до образования синкариона переходят из плотного в более рыхлое состояние, приобретая при этом сходство с обычными клеточными ядрами.

Пупочный канатик – орган, соединяющий тело зародыша с плацентой. Основу пуповины составляет студенистая ткань, окруженная с поверхности амниотической оболочкой. Пуповина содержит две артерии и одну вену, а также остатки редуцированных провизорных органов – желточного мешочка и аллантаиса.

Ротовая бухта – выпячивание на вентральной стороне головы трехнедельного зародыша человека, которое к концу 4-й недели соприкасается со слепым концом передней кишки и прорывается с образованием ротового отверстия.

Рудименты – органы или остатки органов, утратившие свое значение в ходе филогенеза.

Сегрегация – избирательная сортировка клеток.

Сегментация – процесс подразделения мезодермального материала гастротрулы на ряд последовательно расположенных сегментов – сомитов.

Сероза или **серозная оболочка** – один из провизорных органов у птиц и рептилий, выполняет дыхательную и трофическую функции.

Симпластотрофобласт – наружная часть трофобласта зародыша, находящегося в процессе имплантации.

Сингамия – соединение мужской и женской половых клеток с образованием зиготы.

Синкарион – ядро клетки, образующееся в результате слияния мужского и женского пронуклеусов в зиготе.

Складка туловищная – кольцевидный перехват, отделяющий тело развивающегося зародыша от желточного мешка.

Склеротом – эмбриональный зачаток спинных сегментов мезодермы, из которого в дальнейшем развивается позвоночник.

Соматоплевра – стенка щелевидного целомического мешка, обращенная в сторону эктодермы зародыша. Она соответствует париетальному листку спланхнотомы.

Сомиты – сегменты дорсальной мезодермы в процессе сегментации.

Сперматиды – развивающиеся мужские половые клетки, образующиеся в результате второго деления созревания. В фазе формирования превращаются в зрелые мужские половые клетки – сперматозоиды.

Спланхноплевра – стенка целомического мешка, обращенная в сторону кишечника. Соответствует внутреннему листку спланхнотомы.

Спланхнотом – несегментированная вентральная часть мезодермы у зародышей позвоночных. Состоит из двух листков: наружного – париетального и внутреннего – висцерального. Между листками имеется щелевидное пространство – вторичная полость тела (целом).

Тельсон – (несегментированный терминальный участок тела зародыша (хвостовой конец).

Тератогены – химические, физические, биологические факторы, способные нарушать процессы эмбриогенеза, что приводит к возникновению аномалий и пороков развития.

Тератогенез – механизм возникновения пороков развития.

Трофобласт – внезародышевый зачаток, развивающийся из светлых поверхностных бластомеров внутренней клеточной массы, окружающих темные бластомеры.

Фетопатии – повреждение плода под воздействием неблагоприятных факторов в сроке с 9-й недели гестации до рождения.

Филогенез – процесс исторического развития мира животных и растений.

Хорда – эмбриональный зачаток, из которого у круглоротых рыб развивается скелетный тяж. У остальных позвоночных хорда редуцируется, замещаясь позвоночником.

Хорион – временный, провизорный орган зародышей млекопитающих и человека, выполняющий трофическую, защитную, дыхательную и выделительную функции. Принимает участие в образовании плаценты.

Хорион ворсинчатый – часть хориона с многочисленными ворсинами, обращенная вглубь стенки матки, входит в состав плаценты.

Хорион гладкий – часть хориона, лишенная ворсинок и обращенная в сторону полости матки. Состоит из хориального эпителия.

Целом – вторичная полость тела. У млекопитающих и человека целом подразделяется на полости плевры, брюшины, околосердечную и околожичниковые полости.

Циклины – регуляторные белки, которые определяют последовательность активации киназ клеточного деления.

Эквивалентность – способность ядер некоторых дифференцированных систем сохранять начальную наследственную информацию.

Эктодерма – наружный зародышевый листок, из которого обособляются эмбриональные зачатки: кожная эктодерма и нейроэктодерма.

Эктопия – развитие органов в местах, где они в норме отсутствуют.

Эмбриобласт – часть клеток внутренней клеточной массы бластоцисты – источник развития тканей и органов зародыша.

Эмбриогенез – период индивидуального развития организма от момента оплодотворения до момента рождения.

Эмбрион – организм в процессе развития от периода зиготы до рождения. У человека зародыш до 8 недель называется эмбрионом, после 8 недель – плодом.

Эмбриопатии – все виды патологии эмбриона в период с 16 по 75 день гестации, индуцированные действием повреждающих факторов, в ре-

зультате чего происходит нарушение формирования органов и развитие порока.

Энтодерма – внутренний зародышевый листок. Часть первичной энтодермы составляет кишечную энтодерму, из которой позднее развивается эпителий кишечной трубки. Другая часть первичной энтодермы (желточная энтодерма) дает эпителий желточного мешка.

Эпибласт – наружный слой клеток в составе зародышевого щитка млекопитающих. Образуется путем деламинации эмбриобласта.

Эпиболия – способ гастрюляции, при котором происходит нарастание материала анимальной части бластулы на вегетативную с одновременным погружением последней внутрь образующейся гастрюлы.

Литература

1. Банников Г. А. Молекулярные механизмы морфогенеза. – Москва : ВИНТИ, 1990. – 117 с.
2. Белоусов Л. В. Проблема эмбрионального формообразования. – Москва : Изд-во МГУ, 1971. – 175 с.
3. Белоусов Л. В. Основы общей эмбриологии: учебник. – 3-е изд. переработ. и доп. – Москва : Изд-во Моск. ун-та; Наука, 2005. – 368 с.
4. Ярыгин В. Н. [и др.]. Биология: учебник: в 2 кн. / ред. В. Н. Ярыгин. – 7-е изд., стер. – Москва : Высш. шк., 2005. – Кн. 1. – 432 с.
5. Болотов А. В. Биология индивидуального развития // Биология размножения и развития: учеб. пособие. – Иркутск : Изд-во ИГУ, 2011. – 217 с.
6. Быков В. Л. Цитология и общая гистология: функциональная морфология клеток и тканей человека. – СПб.: Сотис, 1999. – 520 с.
7. Городиллов Ю. Н. 1990. Значение фактора времени в регуляции эмбрионального развития (на примере низших позвоночных) // Онтогенез. – 1990. – № 21(3). – С. 319–330.
8. Гилберт С. Биология развития: в 3 т. Т. 1: пер. с англ. – Москва : Мир, 1993. – 228 с.
9. Гилберт С. Биология развития: в 3 т. Т. 2: пер. с англ. – Москва : Мир, 1993. – 228 с.
10. Гилберт С. Биология развития: в 3 т. Т. 3: пер. с англ. – Москва : Мир, 1993. – 228 с.
11. Гистология, цитология и эмбриология: учебник / Ю. И. Афанасьев [и др.]; под ред. Ю. И. Афанасьева, С. Л. Кузнецова, Н. А. Юриной. – 6-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2004. – 768 с.
12. Газарян К. Г. Биология индивидуального развития животных / К. Г. Газарян, Л. В. Белоусов – Москва : Высш. шк., 1983. – 287 с.
13. Глушен, С. В. Цитология и гистология: конспект лекций. – Минск: БГУ, 2003, – 138 с.
14. Голиченков В. А. Эмбриология / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. – Москва : Академия, 2004. – 224 с.
15. Голиченков В. А. Практикум по эмбриологии / В. А. Голиченков, М. Л. Семенова. – Москва : Academia, 2004. – 208 с.
16. Гурвич А. Г. Принципы аналитической биологии и теории клеточных полей. – Москва : Наука, 1991. – 288 с.
17. Джелдубаева Э. Р. Биология индивидуального развития: курс лекций. – Семфилополь, 2008. – 10 с.
18. Дондуа А. К. Биология развития: в 2 т. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. – Т. 1. – 244 с.

19. Дондуа А. К. Биология развития: в 2 т. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 2. – 188 с.
20. Исаева В. В. Клетки в мофогенезе. – Москва : Наука, 1994. – 224 с.
21. Корж В. П. 1987. Гомеобокс. Факты и гипотезы // Онтогенез – 1987. – № 18 (4). – С. 345–354 с.
22. Корочкин Л. И. Новое в учении о гомеозисных генах // Онтогенез. – 1987. – № 18 (6). – С. 565–572.
23. Корочкин Л. И. Биология индивидуального развития (генетический аспект): учебник. – Москва : Изд-во МГУ, 2002. – 263 с.
24. Кузнецов С. Л. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии: учеб. пособие / С. Л. Кузнецов, М. К. Пугачев. – Москва : Мед. информ. агентство, 2004. – 432 с.
25. Лабораторные занятия по курсу гистологии, цитологии и эмбриологии: учеб. пособие / Ю. И. Афанасьев [и др.]; под ред. Ю. И. Афанасьева, А. Н. Яцковского. – Москва : Медицина, 2004. – 328 с.
26. Медицинская биология : учебник / под ред. В. П. Пишака, Ю. И. Бажоры. – Винница : Нова Книга, 2004. – 656 с.
27. Реунов А. А. Сперматогенез многоклеточных животных / А. А. Реунов; отв. ред. В. Л. Касьянов; Ин-т биологии моря. – Москва : Наука, 2005. – 123 с.
28. Ролдугина Н. П. Практикум по цитологии, гистологии и эмбриологии: учеб. пособие / Н. П. Ролдугина, В. Е. Никитченко, В. В. Яглов. – Москва : Колос, 2004. – 215 с.
29. Рэфф Р., Кофмэн Т. Эмбрионы, гены и эволюция. – Москва : Мир, 1986. – 402 с.
30. Слэк Дж. М. У. Коммитирование клеток в раннем развитии амфибий // Онтогенез. 1990. – № 21 (2). С 119–132.
31. Станек И. Эмбриология человека / И. Станек. – Братислава: Веда, 1997. – 440 с.
32. Тейлор Д. Биология: в 3 т. / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут ; ред. Р. Сопер ; пер. с англ. Ю. Л. Амченкова, И. В. Еланской, Н. О. Фоминой. – 2002. – Т. 3. – 452 с.
33. Черданцев В. Г. Морфогенез и эволюция. – Москва : Тов-во науч. изд. КМК, 2003. – 360 с. _____
34. Юшканцева С. И. Гистология, цитология и эмбриология. Краткий атлас : учеб. пособие / С. И. Юшканцева, В. Л. Быков. – СПб: Изд-во П-2, 2006.
35. Davidson, E. H. Genomic regulatory systems. Development and evolution. Acad. Press. 2001. – 261 p.

36. Erives, A., Corbo, J. C., Levine, M. Lineage-specific regulation of the *Ciona snail* gene in the embryonic mesoderm and neuroectoderm // Dev. Biology. 1998. – Vol. 194. – P. 213–225.
37. Erives, A., Levin, M. Characterization of a maternal T-box gene in *Ciona intestinalis* // Dev. Biology. – 2000. – No. 225. – P. 169–178.
38. Steller, H. Apoptosis // Science. – 1995. – Vol. 267. – P. 1443–1449.
39. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. – 5th ed. – World Health Organization, 2010. – 271 p.

Учебное издание

**МЕХАНИЗМЫ КЛЕТОЧНОЙ
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ**

Учебно-методическое пособие

Составители:

Кокорина Надежда Васильевна
Морозик Михаил Сергеевич
Малиновская Юлия Викторовна

Редактор *Л. М. Корневская*
Компьютерная верстка *Д. В. Головач*
Технический редактор *А. В. Красуцкая*

Подписано в печать 04.12.2017. Формат 60×90 1/16.

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. 5,69. Уч.-изд. л. 4,19.

Тираж 100 экз. Заказ № 14.

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-
вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий

№ 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014.

Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.