

**Метаболизм  
эмбриональной клетки  
(спецкурс для магистров  
кафедры эмбриологии МГУ)**

О.П. Мелехова,  
д.б.н., вед.н.с.,  
+79153501293;  
muffs2013@gmail.com

## **Лекция 6.**

**Десинхронизация дробления.  
Предгаструляционные явления.**

## Структура лекции:

1. Удлинение клеточного цикла.
2. Начало морфогенетической функции ядер (переход на средней бластуле).
3. Проявления спецификации клеточных популяций.
  4. Предгастрюляционные события.
5. Эпигенетическая регуляция. Энергетические факторы.

*Изменение скорости пролиферации* – первое приложение паттерна ооплазматической сегрегации. Изменение структуры клеточных циклов и потенция к развитию неодновременны в презумптивных зачатках зародышевых листков.

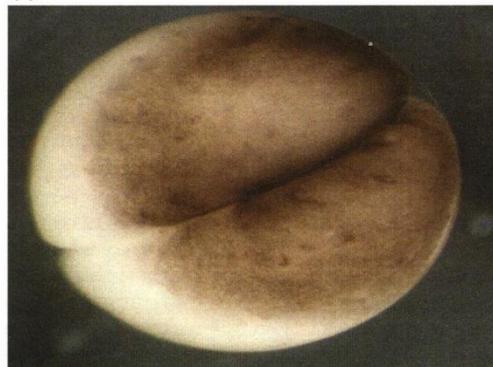
**Рисунок 2.2**

Раннее развитие лягушки *Xenopus laevis*. А — При созревании яйцо накапливает желток (здесь отмечен жёлтым и зелёным) в вегетативной цитоплазме. Б — таким образом, что самец обхватывает самку вокруг брюшка и оплодотворяет яйца по мере их выметывания. В — Свежая кладка яиц. Коричневая область каждого яйца — пигментированная апикальная шапочка. Белая точка в середине пигмента — область, где расположено ядро. Г — Перераспределение цитоплазмы в ходе первого дробления (сравните с начальной стадией —А). Д — 2-клеточный зародыш в конце первого деления дробления. Е — 8-клеточный зародыш. Ж — Ранняя бластула. Заметим, что клетки становятся мельче, но объём яйца остаётся прежним. З — Поздняя бластула. И — Срез поздней бластулы, показан бластоцель (полость) (А–З фото М. Danilchik и К. Ray; З — фото J. Heasman.)

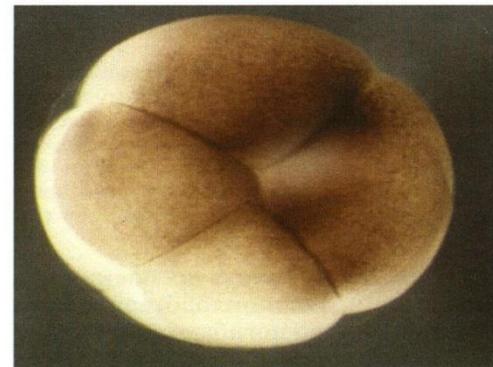
(Г)



(Д)



(Е)



(Ж)

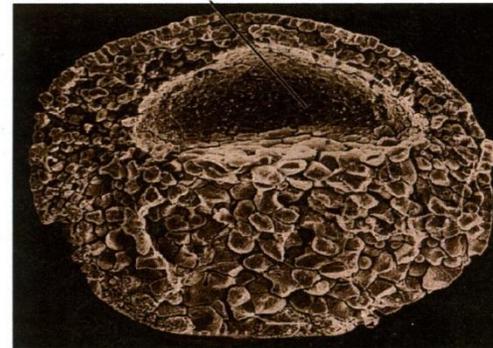


(З)



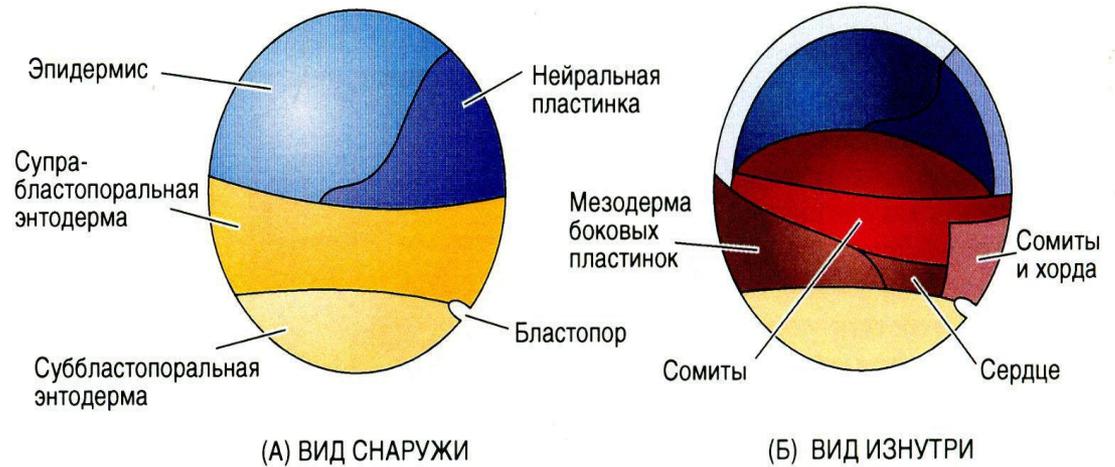
(И)

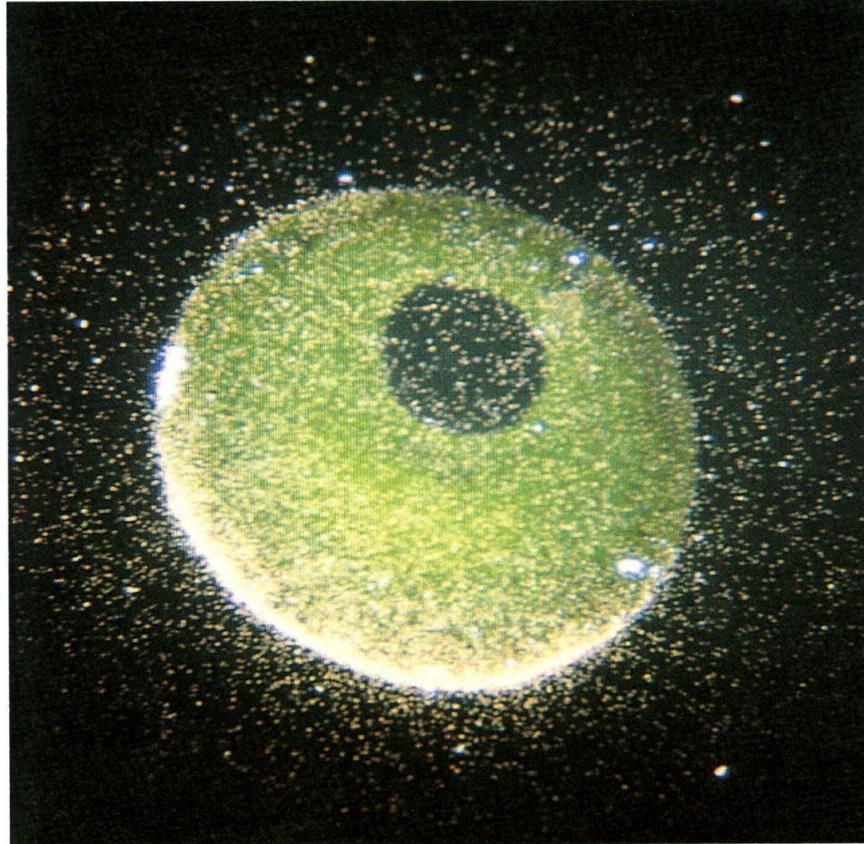
Бластоцель



**Рисунок 10.5**

Карты зачатков бластулы лягушки *Xenopus laevis*. А — Вид снаружи. Б — Вид изнутри. Основная часть производных мезодермы образуется внутренними клетками. Происхождение вентральной мезодермы остается неясным. (По Lane, Smith 1999; Newman, Krieg 1999).



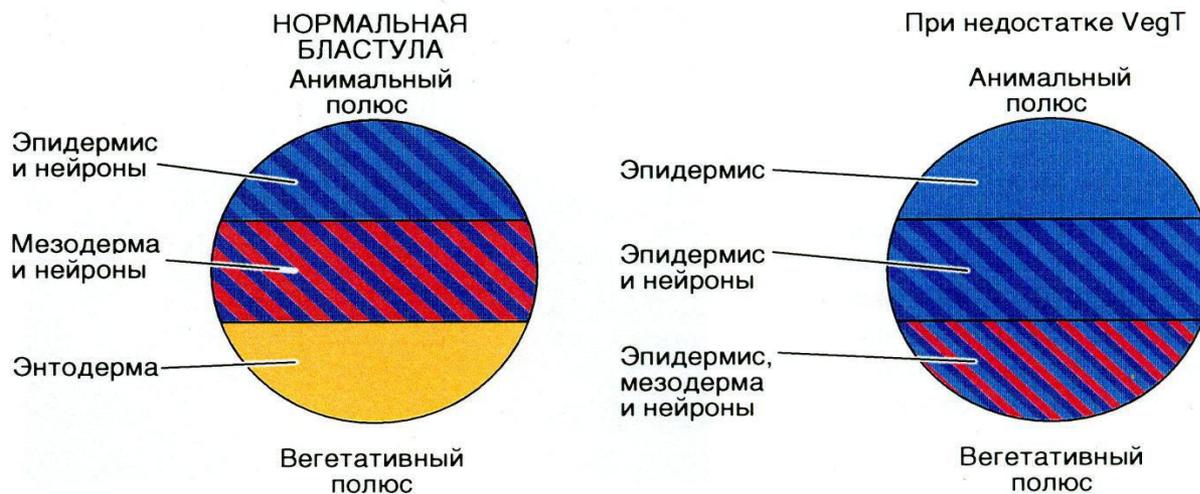


**Рисунок 5.34**

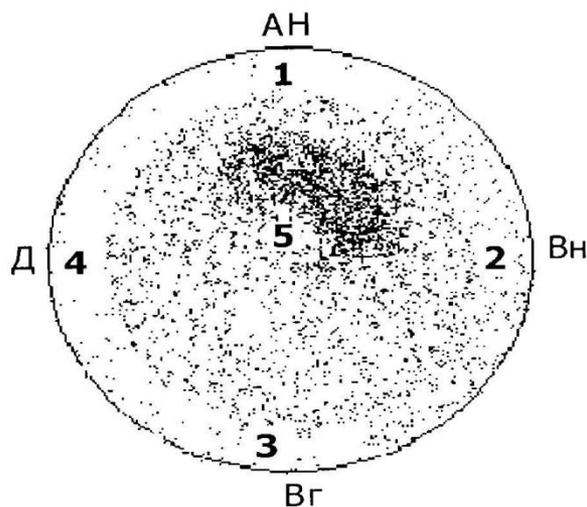
Локализация иРНК *Vg1* на вегетативном полюсе ооцита *Xenopus*. Белый серп внизу ооцита соответствует «заякоренной» иРНК *Vg1*. Тёмная область внутри ооцита — гаплоидное ядро. При оплодотворении иРНК *Vg1* транслируется в неактивный белок. Если этот белок будет процессирован в активную форму, то он становится важным сигнальным белком зародыша. Фото — D. Melton.

### Рисунок 10.6

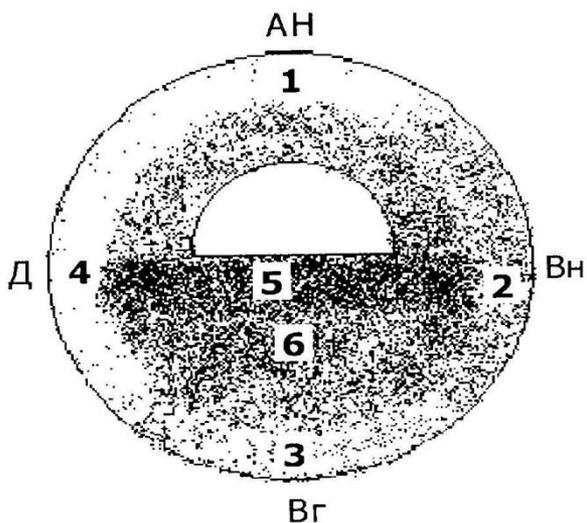
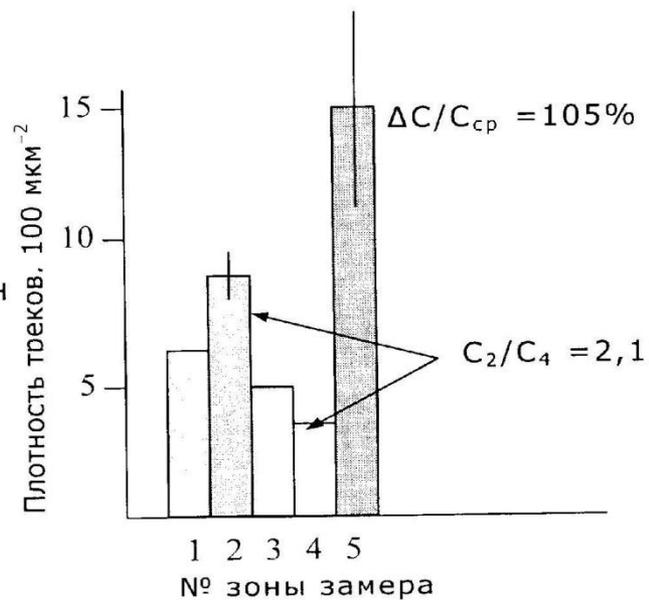
Изменение перспективного значения трех областей бластулы *Xenopus* вследствие недостатка VegT. У нормальных зародышей анимальная треть формирует эпидермальную и нейральную эктодерму, экваториальная треть дает мезодерму, вегетативная треть, содержащая белок VegT, образует энтодерму. При недостатке VegT анимальная шапочка формирует только вентральный эпидермис, в то время как экваториальная треть дает эпидермальную и нейральную эктодерму. Вегетативная треть этих зародышей дает как эктодерму (эпидермальную и нейральную), так и мезодерму. Энтодерма не образуется. (По Zhang et al. 1998).



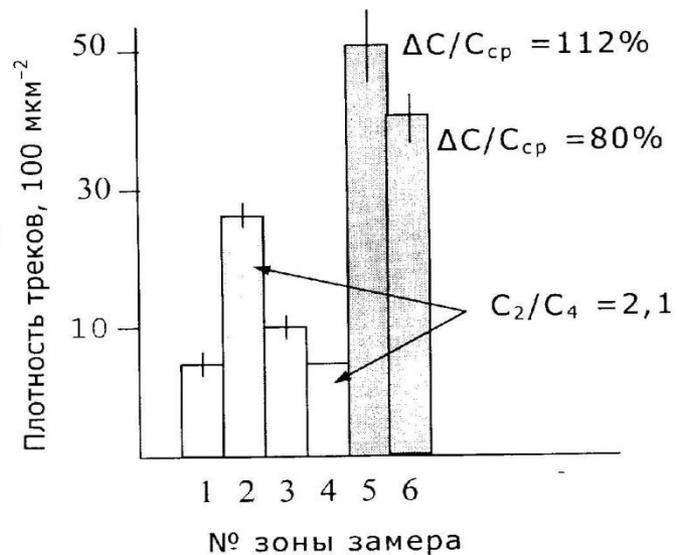


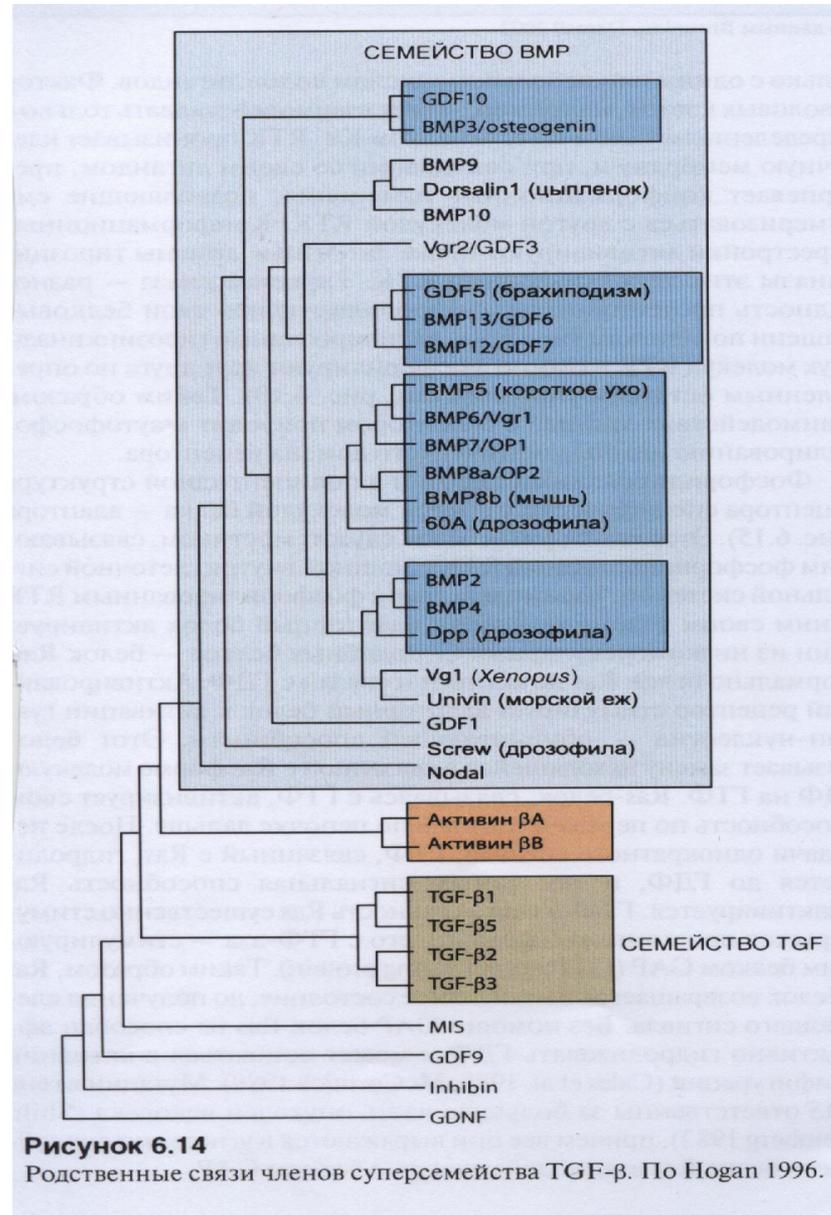


**Стадия 2. 2-4 бластомера**



**Стадия 5. Ранняя бластула**





**Рисунок 6.14**

Родственные связи членов суперсемейства TGF- $\beta$ . По Hogan 1996.

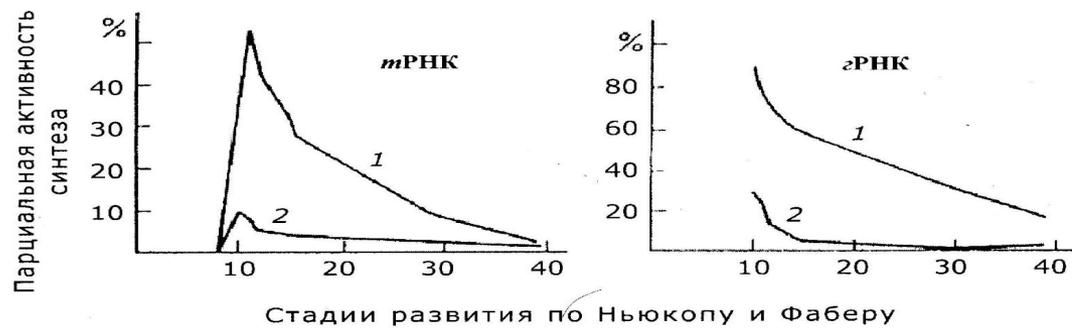


Рис. 10. Изменение интенсивности синтеза транспортной ( $m$ ) и гетерогенной ( $z$ ) РНК в процессе развития шпорцевой лягушки в пересчете на 1 клетку; 1 – эктодерма; 2 – энтодерма (по Woodland and Gurdon, 1968).

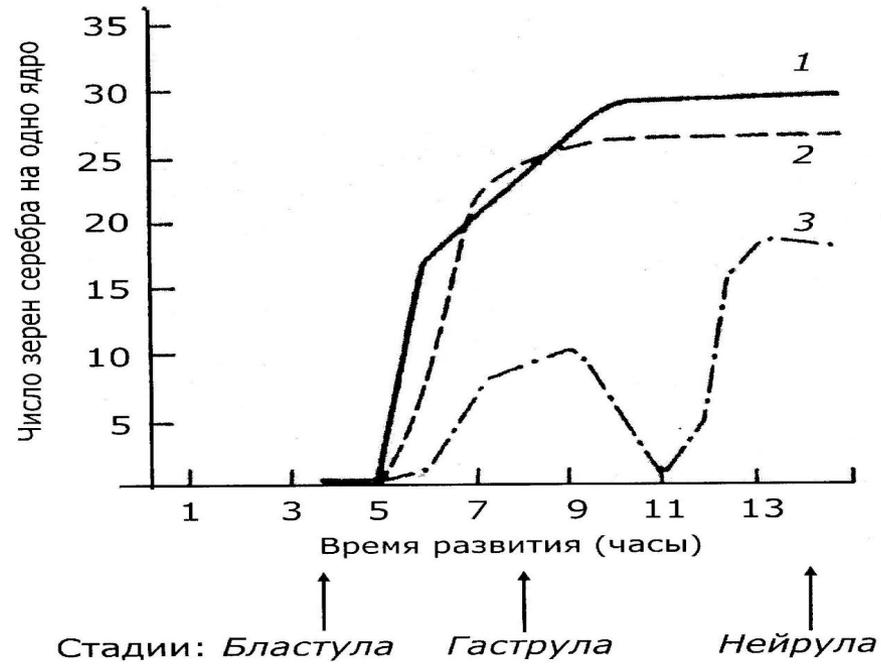


Рис. 11. Изменение интенсивности ядерного синтеза РНК в различных регионах зародыша шпорцевой лягушки: 1 – мезодерма, 2 – энтодерма, 3 – эктодерма (по Bachvarova and Davidson, 1966).

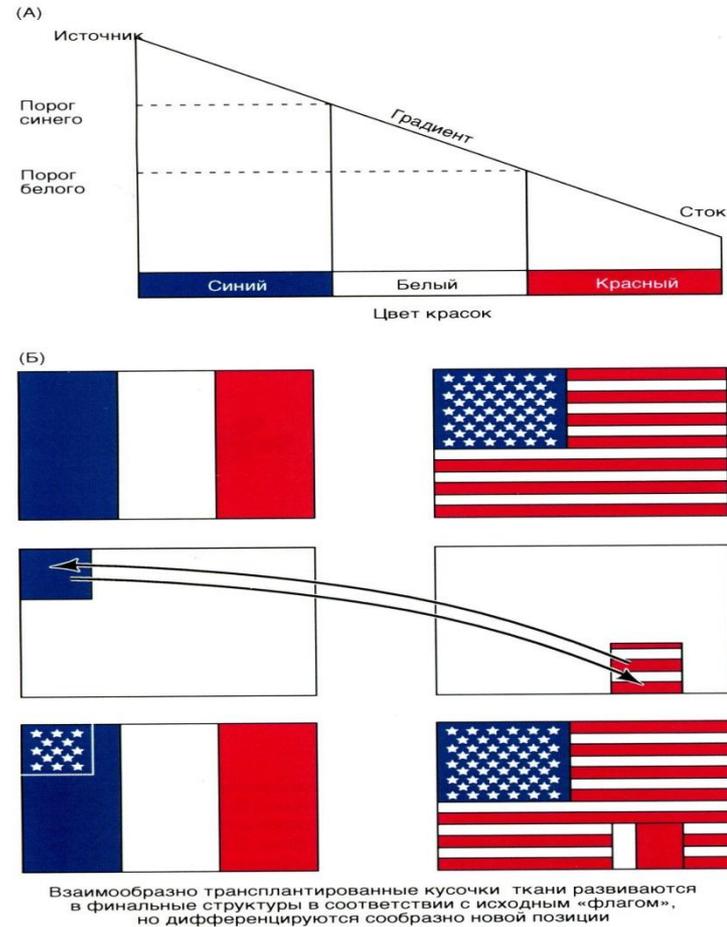
## *Изменение потенций эмбриональных клеток*

По эксплантационному критерию и опытам с флуоресцентными маркерами: на средней бластуле области презумптивных эктодермы, мезодермы и энтодермы *различны* по потенциям.

Энтодермальные клетки до средней бластулы тотипотентны, на поздней бластуле могут дать энтодерму и мезодерму, но не эктодерму. На ранней гаструле – только энтодерму.

Мезодермальные клетки на средней бластуле тотипотентны.

Эктодермальные клетки до ранней гаструлы при эксплантации дают только покровную эктодерму.



**Рисунок 3. 18**

Аналогия с французским флагом для объяснения действия градиента позиционной информации. А — Согласно этой модели, позиционная информация доставляется объекту по градиенту диффундирующего морфогена от источника к стоку. Пороговые значения указаны слева направо и отражают способность клеток интерпретировать градиент. Например, клетки становятся синими при определённой (пороговой) концентрации морфогена, а по мере снижения концентрации ниже следующего порогового значения они становятся белыми. Когда концентрация падает ниже очередного порогового значения, клетки становятся красными. В результате образуется картина (паттерн) из трёх цветов. Б — Важной чертой этой модели является то, что кусочек ткани, пересаженный из одного района зародыша в другой, сохраняет свою оригинальность (по отношению к месту своего происхождения), но дифференцируется в соответствии с новой позиционной информацией. Это явление схематично поясняется взаимными «пересадками» между флагами США и Франции (по Wolpert 1978).

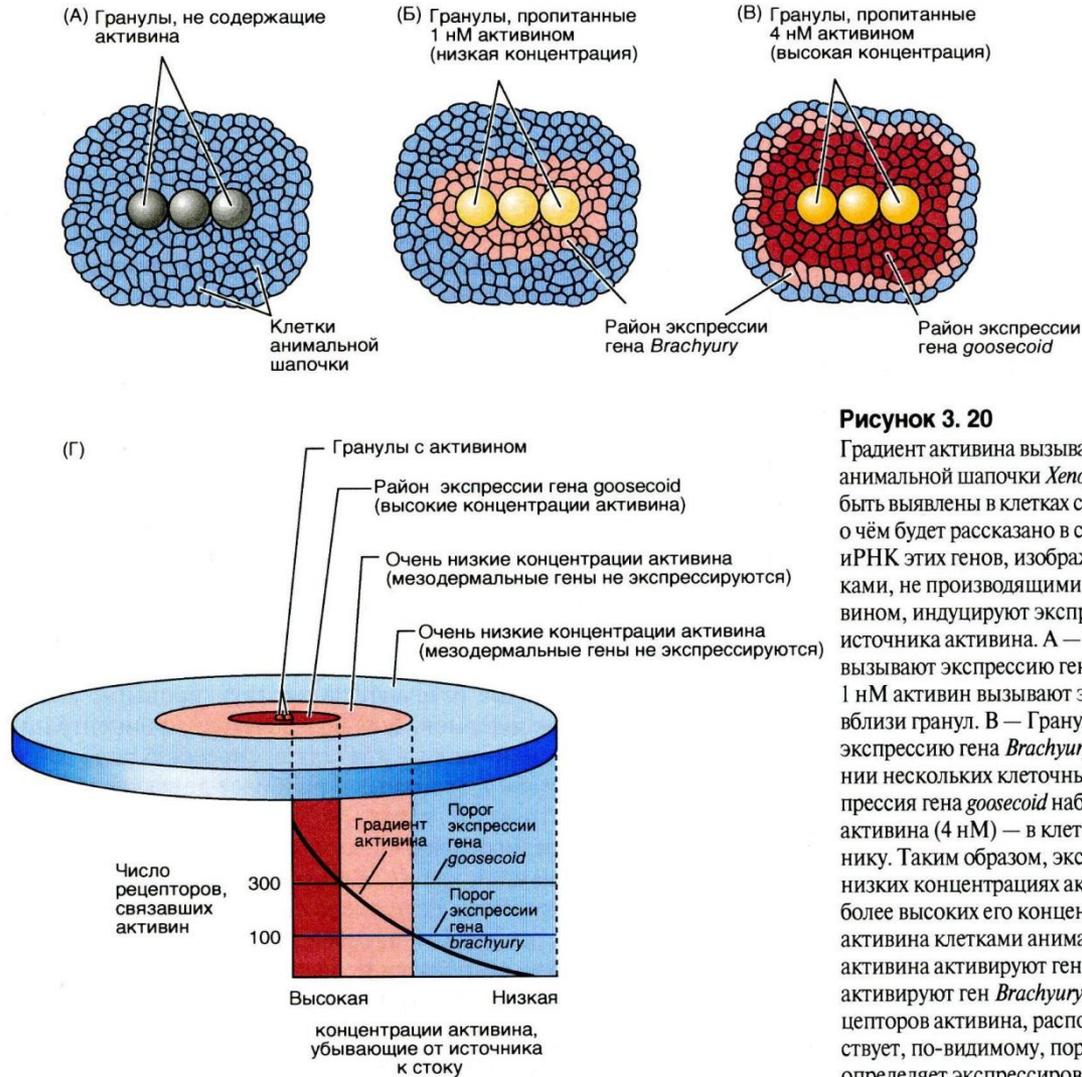
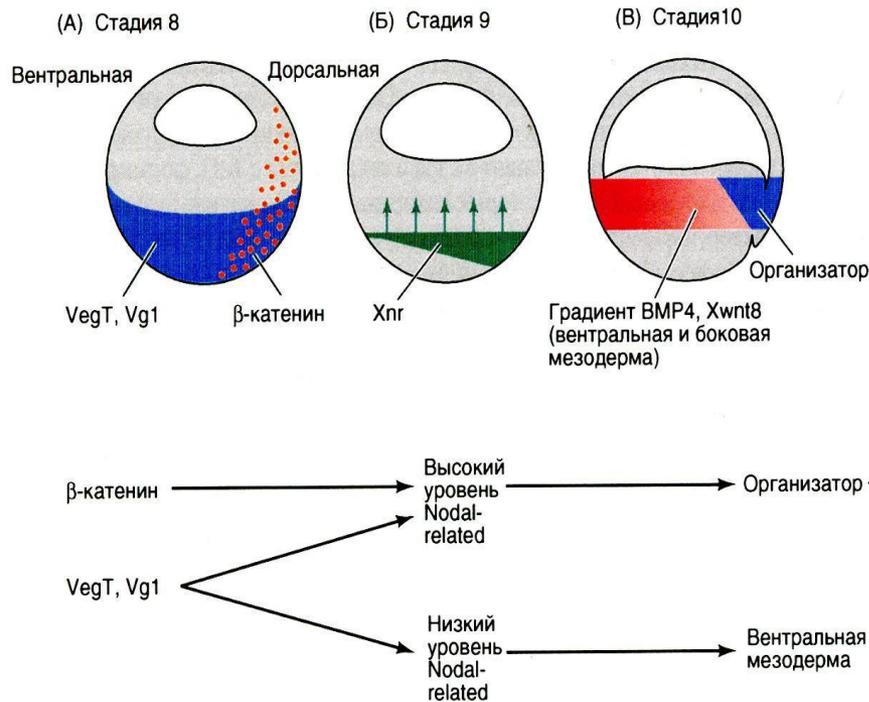


Рисунок 3. 20

Градиент активина вызывает экспрессию различных генов в клетках анимальной шапочки *Xenopus*. иРНК генов *Brachyury* и *goosecoid* могут быть выявлены в клетках с помощью гибридационных методов, о чём будет рассказано в следующей главе. Клетки, содержащие иРНК этих генов, изображены более тёмными, в сравнении с клетками, не производящими эти иРНК. Гранулы, пропитанные активином, индуцируют экспрессию разных генов по мере удаления от источника активина. А — Гранулы, не пропитанные активином, не вызывают экспрессию гена *Brachyury*. Б — Гранулы, содержащие 1 нМ активин вызывают экспрессию гена *Brachyury* в клетках вблизи гранул. В — Гранулы, содержащие 4 нМ активин вызывают экспрессию гена *Brachyury* в клетках, расположенных на расстоянии нескольких клеточных диаметров от гранул. Вместе с тем, экспрессия гена *goosecoid* наблюдается при высоких концентрациях активина (4 нМ) — в клетках, расположенных ближе к его источнику. Таким образом, экспрессия гена *Brachyury* индуцируется при низких концентрациях активина, тогда как гена *goosecoid* лишь при более высоких его концентрациях. Г — Интерпретация градиента активина клетками анимальной шапочки. Высокие концентрации активина активируют ген *goosecoid*, тогда как низкие концентрации активируют ген *Brachyury*. Этот паттерн коррелирует с числом рецепторов активина, расположенных на отдельных клетках. Существует, по-видимому, пороговое значение градиента, которое определяет экспрессироваться в клетке генам *goosecoid*, *Brachyury* или не экспрессироваться ни тому, ни другому (А–В — по Gurdon et al. 1994; Г — по Gurdon et al. 1998).

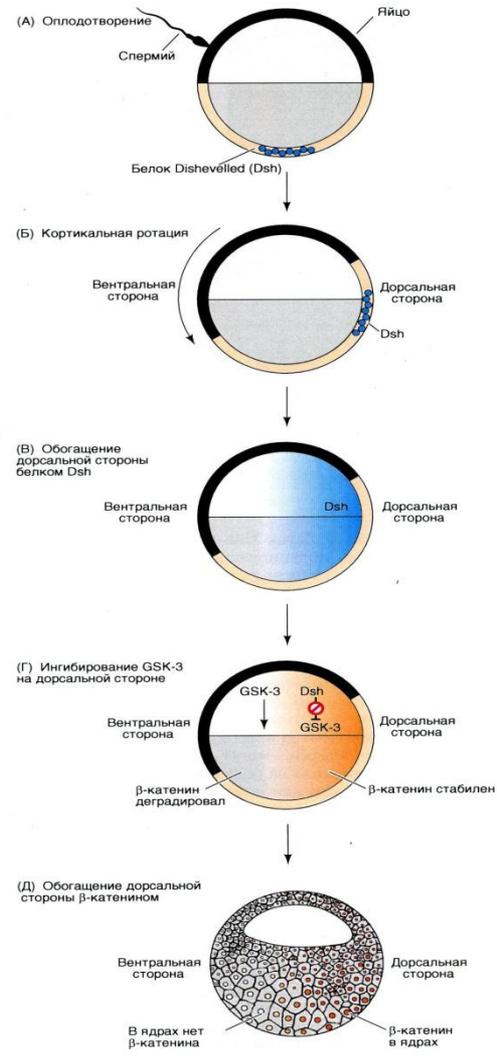


**Рисунок 10.27**

Модель индукции мезодермы и формирования организатора в результате взаимодействия  $\beta$ -катенина и белков TGF- $\beta$ .

А — На стадиях поздней бластулы в вегетативном полушарии обнаруживаются белки Vg1 и VegT, а в дорсальной области локализован  $\beta$ -катенин. Б —  $\beta$ -катенин, действуя синергически с Veg1 и VegT, активирует гены *Xenopus*, родственные *Nodal* (*Xnr*). В результате в энтодерме создается градиент белков, с наивысшей концентрацией в дорсальной области.

В — Градиент белков Xnr специфицирует мезодерму. Области мезодермы, получающие небольшое количество белков Xnr или не получающие их вовсе, имеют высокий уровень BMP-4 и Xwnt-8, они дадут вентральную мезодерму. Области, подвергающиеся действию промежуточных концентраций белков Xnr, станут латеральной мезодермой. В местах высоких концентраций белков Xnr, где активируется их гены и другие гены дорсальной мезодермы, мезодермальная ткань станет организатором. (С помощью этих данных можно объяснить результаты экспериментов с различными концентрациями активина, упомянутые в главе 3) (По Agius et al. 2000).



**Рисунок 10.25**

Модель механизма, путем которого белок Dishevelled стабилизирует  $\beta$ -катенин на дорсальной стороне яйца амфибии. А — Dishevelled (Dsh) связывается с особым набором белков, сосредоточенных в области вегетативного полюса оплодотворенного яйца. Б — При оплодотворении эти белковые везикулы перемещаются вдоль тяжелой субкортикальных микротрубочек в дорсальном направлении. В — Затем Dishevelled высвобождается из везикулы распределяется на будущей дорсальной трети одноклеточного зародыша. Г — Dishevelled связывается с GSK-3 и блокирует ее действие, препятствуя таким образом деградации  $\beta$ -катенина на дорсальной стороне зародыша. Д — Ядра бластомеров в дорсальной области зародыша получают  $\beta$ -катенин, в то время как ядра бластомеров в вентральной — нет.

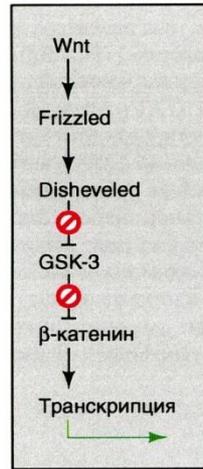
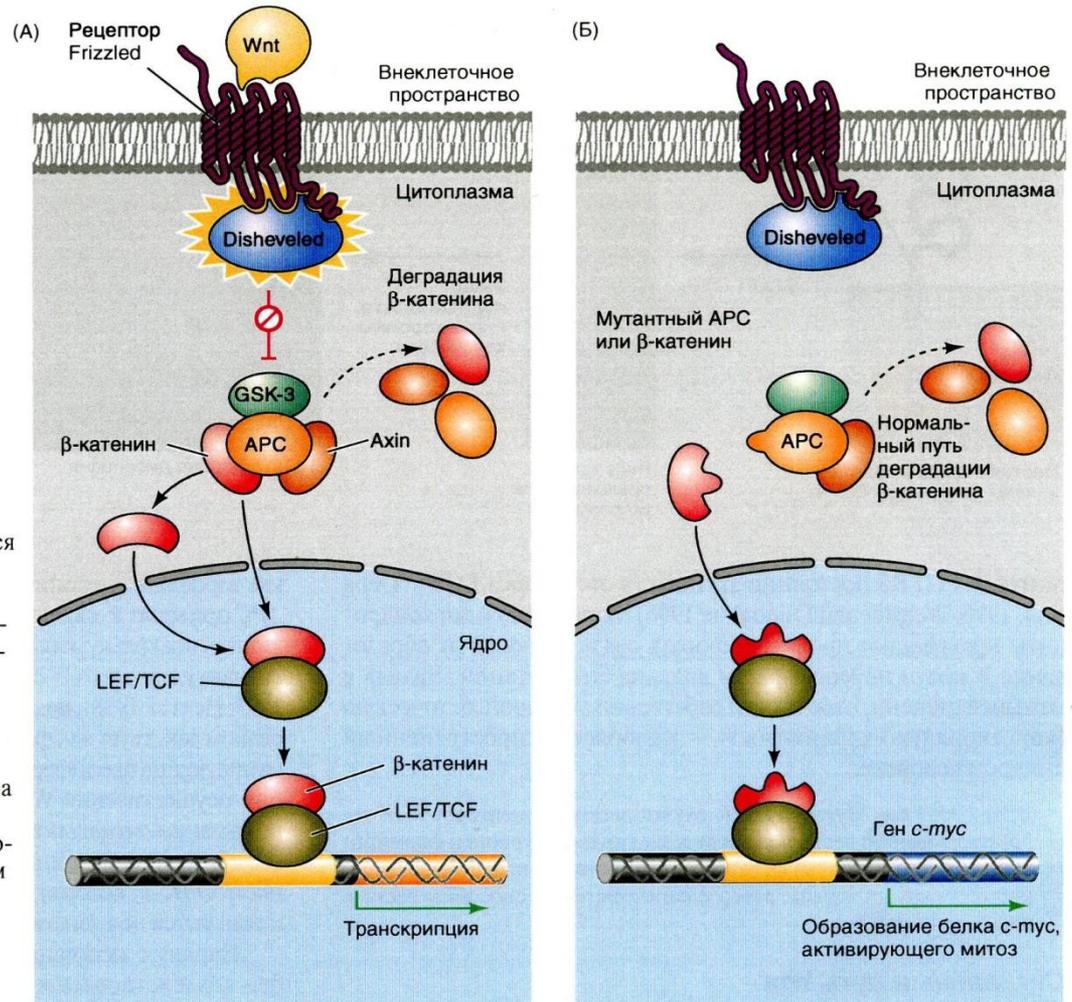
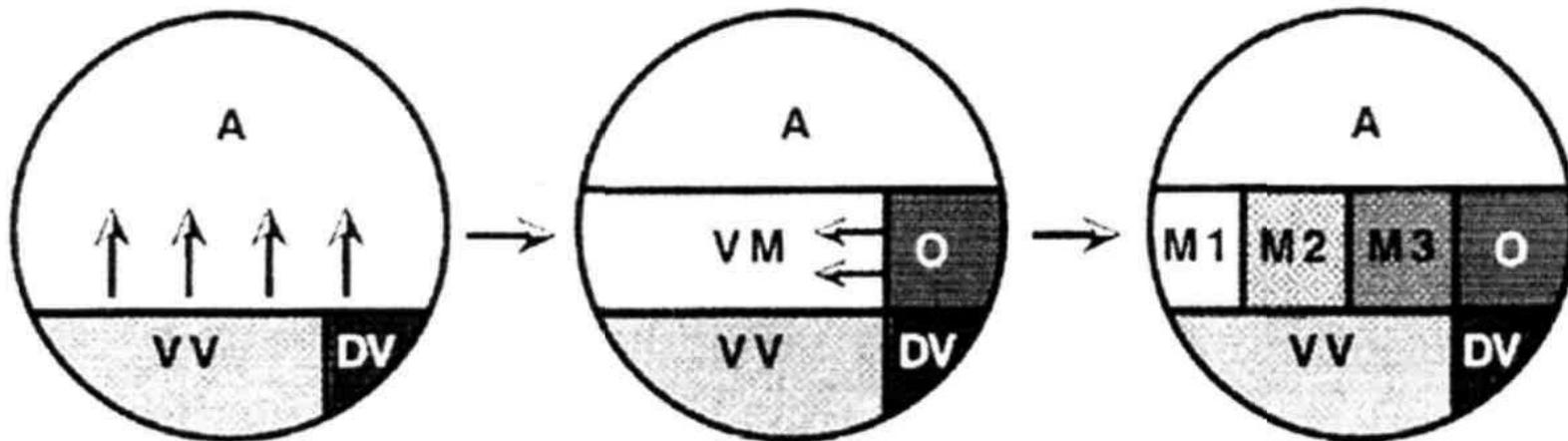


Рисунок 6.24

Сигнальный путь Wnt. А — Wnt связывается с рецептором, членом семейства Frizzled. При этом Frizzled активирует способность другого белка Disheveled становиться ингибитором киназы гликогенсинтазы-3 (GSK-3). В отсутствие ингибитора GSK-3 препятствует диссоциации  $\beta$ -катенина и белка APC. Приходящий от Wnt сигнал угнетения ферментативной активности GSK-3 вызывает освобождение  $\beta$ -катенина от связи с цитоплазматическими структурами, он приобретает способность транслироваться в ядро, ассоциировать с белком LEF или TCF, превращаясь в активный транскрипционный фактор. Б — Если в клетках взрослого организма происходят мутации гена APC или  $\beta$ -катенина, связь между белковыми продуктами экспрессии этих генов в цитоплазме нарушается и  $\beta$ -катенин постоянно поступает в ядро. Это обстоятельство приводит к постоянной активации ряда генов клеточного деления и инициирует образование опухолей (по Renpisi 1998). Слева представлена упрощенная версия сигнального пути.





Трёхсигнальная модель эмбриональной индукции (по Smith, 1989).

На стадии ранней бластулы вегетативная часть зародыша посылает два сигнала: вентральный индуцирует вентральную мезодерму, а дорсальный – организатор Шпеманна. Во время гастрюляции организатор посылает третий, дорсализирующий сигнал в маргинальную зону. Из области M3 формируется мышечная ткань, и только из самой вентральной M1 – кровяные островки.

*Обозначения:* A – анимальное полушарие; VV – вентральная вегетативная область; DV – дорсальная вегетативная область; VM – вентральная мезодерма; O – организатор Шпеманна (дорсальная мезодерма); – M1, M2 и M3 – в разной степени дорсализированная мезодерма.

*Таким образом, первичная спецификация клеточных популяций происходит до включения генома зародыша на стадии средней бластулы за счет материнских факторов, накопленных в оогенезе.*