**[Фонд знаний «Ломоносов»](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/)**

[Войти](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/sso_login) [Зарегистрироваться](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/pages/registration)

* [Энциклопедия](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia)
* [Библиотека](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library)
* [Сообщество](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/community)
* [Журнал](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/magazine)
* [Обучение](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/learning)

Начало формы

поиск по разделам сайта

Конец формы

* [Алфавитный указатель статей(А-Я)](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/pages/az/articles?letter=_)
* [Алфавитный указатель категорий(А-Я)](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/pages/az/categories?letter=_)
* [Структура портала](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/pages/sitemap)

**Поделиться с друзьями**

* [Twitter](http://twitter.com/home?status=%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F+%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8F+http%3A%2F%2Fwww.lomonosov-fund.ru%3A80%2Fenc%2Fru%2Fencyclopedia%3A0135)
* [Facebook](http://www.facebook.com/sharer.php?u=%2Fenc%2Fru%2Fencyclopedia%3A0135&t=%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F+%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8F&src=sp)
* [Yandex](http://wow.ya.ru/posts_add_link.xml?URL=http%3A%2F%2Fwww.lomonosov-fund.ru%3A80%2Fenc%2Fru%2Fencyclopedia%3A0135&title=%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F+%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8F)
* [Mail.ru](http://connect.mail.ru/share?share_url=%2Fenc%2Fru%2Fencyclopedia%3A0135)
* [Статьи](http://lomonosov-fund.ru/stattyi/)  
    
    
  [рефераты, курсовые, дипломы на заказ](http://diplomart.ru)  
  [Создать материал](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/cms)
* [Просмотр](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135)
* [Править](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/cms:0135)
* [Перейти к списку версий](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:versions)
* [Перейти к обсуждению](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:discuss)

**Биология развития**

Категории [Биология развития](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135) | Под редакцией сообщества: [Биология](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/community:0126296)

**Биология развития** – раздел биологии, изучающий закономеерности индивидуального развития (онтогенеза) филогенетически разнообразных животных и растительных организмов с привлечением широкого спектра методов сопредельных дисциплин: биофизики, биохимии, физиологии, молекулярной биологии и генетики. Биология развития возникла от одного из разделов экспериментальной эмбриологии – механики развития. С расширением методического арсенала расширялась сфера влияния этого направления. В настоящее время биология развития охватывает весь онтогенез биологических систем в целом, претендуя на разрешение чрезвычайно широкого круга фундаментальных проблем, включая проблемы реализации генетической информации, молекулярно-генетические механизмов дифференцировки клеток, умножения клеток и межклеточных взаимодействий и т.д. и т.п., на всем протяжении существования живых систем, в норме и при патологии.

Современные знания в области биологии развития базируются на нескольких теоретических положениях.

1. **Клеточная теория развития.** Она утверждает, что сложный многоклеточный организм развивается обычно из единственной клетки (яйцеклетки, точнее, оплодотворенной яйцеклетки – зиготы). Развитие начинается с *деления* зиготы без расхождения дочерних клеток, остающихся связанными, что приводит к многоклеточности. В образовавшейся многоклеточной массе начинается [дифференцировка](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133511:article) клеток, т.е. появление устойчивых различий между группами клеток в их цитохимии и цитоморфологии. Ставшие различными клетки делятся, образуя клоны (т.е. группы клеток – потомков одной клетки, претерпевших этап дифференцировки в числе первых). Клоны формируют разные органы и ткани, причем в состав органа может входить по несколько клонов. Деления клеток в разных органах ведут к росту соответствующих зачатков органов и эмбриона в целом.
2. **Генетическая идентичность клеток одного организма.** При делении и дифференцировке клеток набор генов, содержащихся в них обычно остается неизменным (не считая случайных мутаций), так как перед каждым клеточным делением происходит самокопирование всего генома (репликация ДНК) с образованием двух копий и распределением этих копий по двум дочерним клеткам. **Учитывая тот факт, что все клетки организма являются производным одной исходной клетки или зиготы, все они обладают идентичным ей набором генов.** Исключение составляют лимфоциты иммунной системы, в которых в процессе дифференцировки происходят обязательные мутации генов белков иммунноглобулинов (в частности, белков антител) и эти гены в ходе дифференцировки приобретают отличия от соответствующих генов зиготы.
3. **Связь генома с дифференцировкой органов и тканей.** Возникновение устойчивых различий между тканями обусловлены тем, что в них синтезируются и функционируют разные белки, каждый из которых является продуктом активности определенного гена(ов). Следовательно, в клетках разных тканей экспрессируются разные наборы генов из единого для всех клеток генома. Включение экспрессии и подавление экспрессии генов обеспечивается активизированными регуляторными белками и другими механизмами.
4. **Позиционная информация в развитии зародыша и трансдукционный механизм передачи ее сигналов для запуска органоспецифичной и тканеспецифичной экспрессии генов.**Этот понятия биологии развития наиболее специфичны для нее и требуют более пространных пояснений, чем предыдущие три.

С тех пор, как клеточная теория окончательно заняла подобающее ей место в биологии, в том числе, и в биологии развития, представляется очевидным, что онтогенез Metazoa начинается с одноклеточной стадии (яйцеклетки или зиготы) и проходит стадию своеобразного “размножения” этой клетки (дробления), в результате которого у многих видов получается скопление мало отличающихся друг от друга клеток.

При этом даже у таких высших животных, как плацентарные млекопитающие, в этой куче клеток до такой степени отсутствует четкая информация о расположении будущих органов и тканей, что двух эмбрионов можно “слепить” в один (т.е. в “химеру”) и из такого объединенного эмбриона может развиться гармонично построенный организм с одной головой, четырьмя конечностями и т.д., иными словами, анатомически нормальный, а не какой-нибудь “двойной” урод, типа сиамского близнеца. Из этого факта можно сделать вывод, что “решение” о том, какие из клеток этого скопления сформируют, скажем, голову, а какие хвост будущего организма на стадии кучи клеток еще не “созрело” к моменту объединения эмбрионов, а если созрело, то не окончательно (по крайней мере у этой группы животных).

Об этом же свидетельствует обратный опыт, который сама природа ставит даже на людях: когда такая “куча” клеток почему-либо разваливается на две, из каждой развивается по генетически идентичному организму, т.е. однояйцовые близнецы, что на животных биотехнологи-эмбриоинженеры уже умеют делать искусственно.

Каким же образом “куча” клеток, не имеющая никакого сходства по форме со взрослым организмом, постепенно образует на одном своем конце голову, а на противоположном конце хвост. Сбоку, соответственно, точно против друг друга возникают левая и правая передние и левая и правая задние конечности, “где положено” глаза, нос и пр.

Откуда же приходит “решение”, т.е. **информация,** о том, каким клеткам следует формировать голову, а каким хвост?

Профессионально не подготовленные по биологии развития люди дают, обычно, такой ответ на этот вопрос. “Развитие зародыша определяется наследственной информацией, содержащейся в генах”. Бесспорно, очень большая доля истины в самом по себе этом положении есть. Но все не так просто. Ведь набор генов во всех клетках зародыша и даже взрослых животных большинства видов один и тот же. Вспомним хотя бы овечку Долли выращенную из лишенной ядра яйцеклетки, в которую ввели ядро одной из клеток специфичнейшей ткани молочной железы. Значит в ядрах клеток молочной железы есть все гены, нужные чтобы обеспечить развитие всей овцы со всеми ее органами.

Допустим, геном клеток, расположенных с одного края “кучи” клеток (из которого развилась голова), “продиктовал” своей цитоплазме приступить к развитию в голову. Тогда, спрашивается, почему **такой же** геном клетки, расположенной на противоположном конце “кучи” (из которого впоследствии развился хвост) не продиктовал **того же** (т.е. развития **головы**)?

Значит в **одинаковые геномы** разных клеток поступают **разные команды.** Значит не только **геном диктует,** но и **геному диктуют** в процессе развития.

Но **“кто”** может диктовать геному? В общем виде ответ очевиден – химически измененная цитоплазма (а, непосредственно, кариоплазма) клетки. Ведь гены и весь геном это всего лишь длинные нитевидные молекулы ДНК, вернее их определенные сегменты, и язык, на котором им “диктуют” может быть, по существу, только химическим.

Почему же цитоплазма (и кариоплазма) оказывается измененной в одних, первоначально одинаковых клетках (или хотя бы одинаковых ядрах), по сравнению с другими?

На самых ранних стадиях развития эмбриона различия в цитоплазме первоначально одинаковых клеток могут возникать под влиянием несколько различных условий, в которые они **случайно** или **закономерно** попадают в ходе развития. Такими разными условиями могут быть положение клетки на поверхности или внутри раннего эмбриона, формирование клетки при дроблении из области цитоплазмы, богатой желтком или бедной желтком, что может зависеть от действия силы тяжести, под влиянием которой более тяжелый желток опускается к нижнему вегетативному концу яйцеклетки. Бурные события в яйцеклетке после проникновения в нее в какой-то точке единственного сперматозоида также могут приводить к поляризации яйцеклетки, т.е. к возникновению различий в концентрации некоторых компонентов в толще ооплазмы в области проникновения сперматозоида и на противоположной ей стороне. Эти различия могут приводить ко включению в клетках разных частей эмбриона, в которые попала разная по составу цитоплазма, разных генов, что ведет к формированию из этих клеток, соответственно разных, частей тела.

Таким образом, иногда высказываемый профессионально неподготовленными в области биологии развития лицами взгляд, согласно которому геном в одностороннем порядке “распоряжается” ходом развития, а цитоплазма только выполняет эти распоряжения, далеко не отражает реальную картину развития. Не менее верен, пожалуй, был бы взгляд, что цитоплазма в зависимости от своих “ потребностей” включает те гены, которые “ей нужны” на данном этапе развития, чтобы получить потребовавшиеся ей белки, кодируемые данными генами. Иными словами, в действительности имеет место сложный диалог между геномом и цитоплазматическими компонентами в процессе развития

Место и время дифференцировки органов и тканей обусловлено поступлением в геном клетки сигналов извне клетки по трансдукционным цепочкам веществ-передатчиков сигналов. Цепочки обычно начинаются с молекул паракринного индуктора, вырабатываемого другими клетками, и молекул-рецепторов данного индуктора в дифференцирующейся клетке. Молекулы-рецепторы способны специфически соединяться (“захватывать”) индуктор и приобретать в результате этого новые химические свойства, изменяя другие молекулы, составляющие следующее звено цепочки, которое изменяет молекулу, являющуюся третьим звеном и т.д. Кончаются цепочки активизацией элементами цепочки функции регуляторных белков, контролирующих активность гена.

**Содержание**

1. [Процессы, лежащие в основе эмбриогенеза животных](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9F%D1%80%D0%BE%D1%86%D0%B5%D1%81%D1%81%D1%8B,%20%D0%BB%D0%B5%D0%B6%D0%B0%D1%89%D0%B8%D0%B5%20%D0%B2%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B5%20%D1%8D%D0%BC%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%B7%D0%B0%20%D0%B6%D0%B8%D0%B2%D0%BE%D1%82%D0%BD%D1%8B%D1%85)
   1. [Цитофизиологические основы морфогенеза](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A6%D0%B8%D1%82%D0%BE%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D1%8B%20%D0%BC%D0%BE%D1%80%D1%84%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%B7%D0%B0)
      1. [Клеточное деление: митоз и мейоз](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9A%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%BE%D0%B5%20%D0%B4%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5:%20%D0%BC%D0%B8%D1%82%D0%BE%D0%B7%20%D0%B8%20%D0%BC%D0%B5%D0%B9%D0%BE%D0%B7)
      2. [Клеточная миграция](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9A%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%B0%D1%8F%20%D0%BC%D0%B8%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F)
      3. [Клеточная адгезия и слияние клеток](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9A%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%B0%D1%8F%20%D0%B0%D0%B4%D0%B3%D0%B5%D0%B7%D0%B8%D1%8F%20%D0%B8%20%D1%81%D0%BB%D0%B8%D1%8F%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%BA%3Cem%3E%C2%A0%3C/em%3E)
      4. [Апоптоз](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%90%D0%BF%D0%BE%D0%BF%D1%82%D0%BE%D0%B7)
      5. [Трансдукция: передача информации между клетками и внутри клеток. Понятие о трансдукционных цепочках](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F:%20%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%B4%D0%B0%D1%87%D0%B0%20%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%B8%20%D0%BC%D0%B5%D0%B6%D0%B4%D1%83%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B0%D0%BC%D0%B8%20%D0%B8%20%D0%B2%D0%BD%D1%83%D1%82%D1%80%D0%B8%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%BA.%20%D0%9F%D0%BE%D0%BD%D1%8F%D1%82%D0%B8%D0%B5%20%D0%BE%20%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D1%85%20%D1%86%D0%B5%D0%BF%D0%BE%D1%87%D0%BA%D0%B0%D1%85)
   2. [Транскрипционные факторы и эпигенетическая наследственность](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%BA%D1%80%D0%B8%D0%BF%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5%20%D1%84%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%BE%D1%80%D1%8B%20%D0%B8%20%D1%8D%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F%20%D0%BD%D0%B0%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D1%8C)
   3. [Примеры промежуточных элементов трансдукционных цепочек](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9F%D1%80%D0%B8%D0%BC%D0%B5%D1%80%D1%8B%20%D0%BF%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D0%B6%D1%83%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D1%8B%D1%85%20%D1%8D%D0%BB%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%BE%D0%B2%20%D1%82%D1%80%D0%B0%D0%BD%D1%81%D0%B4%D1%83%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D1%85%20%D1%86%D0%B5%D0%BF%D0%BE%D1%87%D0%B5%D0%BA)
   4. [Цитофизиологические основы клеточной дифференцировки и эпигенетической наследственности клетки. Специфическая роль генома в развитии](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A6%D0%B8%D1%82%D0%BE%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D1%8B%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%BE%D0%B9%20%D0%B4%D0%B8%D1%84%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%BA%D0%B8%20%D0%B8%20%D1%8D%D0%BF%D0%B8%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%BE%D0%B9%20%D0%BD%D0%B0%D1%81%D0%BB%D0%B5%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%B8%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B8.%20%D0%A1%D0%BF%D0%B5%D1%86%D0%B8%D1%84%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F%20%D1%80%D0%BE%D0%BB%D1%8C%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%BC%D0%B0%20%D0%B2%20%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D0%B8)
      1. [Общие представления о молекулярно-биологической основе функционирования генов](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9E%D0%B1%D1%89%D0%B8%D0%B5%20%D0%BF%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%B2%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%20%D0%BE%20%D0%BC%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D0%BE-%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%BE%D0%B9%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B5%20%D1%84%D1%83%D0%BD%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%3Cem%3E%C2%A0%3C/em%3E)
      2. [Цитофизиологическая основа функционирования генов](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A6%D0%B8%D1%82%D0%BE%D1%84%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B0%D1%8F%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%20%D1%84%D1%83%D0%BD%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%8F%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%3Cem%3E%C2%A0%3C/em%3E)
      3. [Специфичная для онтогенеза Metazoa роль генов](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A1%D0%BF%D0%B5%D1%86%D0%B8%D1%84%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B0%D1%8F%20%D0%B4%D0%BB%D1%8F%20%D0%BE%D0%BD%D1%82%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%B7%D0%B0%20Metazoa%20%D1%80%D0%BE%D0%BB%D1%8C%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2)
      4. [Хокс-гены(Hox- гены) как пример специализированных генов управления морфогенезом](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A5%D0%BE%D0%BA%D1%81-%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D1%8B%28Hox-%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D1%8B%29%20%D0%BA%D0%B0%D0%BA%20%D0%BF%D1%80%D0%B8%D0%BC%D0%B5%D1%80%20%D1%81%D0%BF%D0%B5%D1%86%D0%B8%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D0%B7%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D1%85%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%20%D1%83%D0%BF%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%20%D0%BC%D0%BE%D1%80%D1%84%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%B7%D0%BE%D0%BC%3Cem%3E%C2%A0%3C/em%3E)
      5. [Общее представление о генетике развития](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9E%D0%B1%D1%89%D0%B5%D0%B5%20%D0%BF%D1%80%D0%B5%D0%B4%D1%81%D1%82%D0%B0%D0%B2%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D0%BE%20%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D1%82%D0%B8%D0%BA%D0%B5%20%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8F)
   5. [Гистологические и макроморфологические аспекты морфогенеза.](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%93%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%B8%20%D0%BC%D0%B0%D0%BA%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%BE%D1%80%D1%84%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%B0%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%8B%20%D0%BC%D0%BE%D1%80%D1%84%D0%BE%D0%B3%D0%B5%D0%BD%D0%B5%D0%B7%D0%B0.)
      1. [Рост зародыша и деление клеток](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%A0%D0%BE%D1%81%D1%82%20%D0%B7%D0%B0%D1%80%D0%BE%D0%B4%D1%8B%D1%88%D0%B0%20%D0%B8%20%D0%B4%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%BA%3Cem%3E%20%3C/em%3E)
      2. [Перемещения эмбриональных зачатков в ходе развития](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9F%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D1%89%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D1%8F%20%D1%8D%D0%BC%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D1%8B%D1%85%20%D0%B7%D0%B0%D1%87%D0%B0%D1%82%D0%BA%D0%BE%D0%B2%20%D0%B2%20%D1%85%D0%BE%D0%B4%D0%B5%20%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8F%3Cem%3E%C2%A0%3C/em%3E)
      3. [Дифференцировка зачатков органов](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%94%D0%B8%D1%84%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%B5%D0%BD%D1%86%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%BA%D0%B0%20%D0%B7%D0%B0%D1%87%D0%B0%D1%82%D0%BA%D0%BE%D0%B2%20%D0%BE%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%B2)
2. [Биотехнологические и биомедицинские аспекты биологии индивидуального развития](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%91%D0%B8%D0%BE%D1%82%D0%B5%D1%85%D0%BD%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%B8%20%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BC%D0%B5%D0%B4%D0%B8%D1%86%D0%B8%D0%BD%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B5%20%D0%B0%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%8B%20%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D0%B8%20%D0%B8%D0%BD%D0%B4%D0%B8%D0%B2%D0%B8%D0%B4%D1%83%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D0%B3%D0%BE%20%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B2%D0%B8%D1%82%D0%B8%D1%8F)
3. [Литература](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article#%D0%9B%D0%B8%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%82%D1%83%D1%80%D0%B0)

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Процессы, лежащие в основе эмбриогенеза животных**

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Цитофизиологические основы морфогенеза**

Из классических работ по описательной и экспериментальной биологии развития вытекает постановка вопросов о цитофизиологических механизмах реализации процессов развития на всех уровнях от **клеточного** до макроанатомического (**органная дифференцировка**). Последняя предполагает **обособление** из морфологически однородного “ поля клеток”, включающего иногда более одного зародышевого листка (например, эктодермы и мезодермы латеральной поверхности эмбриона при развитии конечностей), участка в той или иной степени обособляющегося от этого поля. Это может быть локальное выпячивание (конечность), отшнуровка до полной или частичной изоляции от единого поля (хрусталик глаза, изолирующийся от эктодермы), миграция клеток в другие части эмбриона (клетки сердцевины надпочечника и меланоциты, мигрирующие из нервного гребня), программируемая гибель клеток, промежуточных между изолирующимися зачатками, и т.д.

С “механической” точки зрения в основе всех этих процессов лежат **локальные:**

а) **изменения адгезии клеток**, т.е. усиления или ослабление склеивания их цитомембран друг с другом (иногда до слияния клеток в многоядерные симпласты), или с межклеточным субстратом (коллагеновые волокна и пр.),

б) амебоидная **миграция** отдельных клеток или краев их пластов,

в) **пролиферация** (размножение) клеток,

г) **рост объема** клеток, часто преимущественно вдоль их определенных осей, т.е. вытягивания клеток,

д) **апоптоз,** т.е. запрограммированная гибель клеток.

С “информационной” точки зрения эти процессы обеспечиваются путем поступления позиционной информации. Подача позиционной информации нередко реализуется часто в 4 этапа:

1) Выделение **паракринного вещества-индуктора** клетками уже “оформленного” зачатка органа (т.е. зачатка-индуктора), воздействующего на часть клеток однородного поля.

2) “Захват” молекул паракринного индуктора **молекулами-рецепторами** тех клеток однородного поля, которые близко расположены к зачатку, выделяющему паракринный индуктор.

3) Активация захваченным индуктором ферментной активности молекул-рецепторов, в свою очередь, приводящая к активации других молекул реагирующей клетки, которые активируют третьи молекулы и т.д.

Так возникает цепочка (точнее разветвленный каскад) химических реакций, биологический смысл которых – обеспечение экспрессии генов, которые до этого не экспрессировались; такая форма внутриклеточной передачи сигнала от активированного рецептора к генам (или продуктам их транскрипции и трансляции), приводящая к экспрессии этих ранее “молчавших” генов, названа **цепочкой трансдукции.**

4) Непосредственное включение “молчавших” до этого генов тканеспецифичной экспрессии путем активизации **транскрипционных факторов,** т.е. белков, связывающихся с промоторами или энхансерами генов тканеспецифичной экспрессии. Часто первыми такие активизированные транскрипционные факторы включают гены опять-таки следующего круга ***транскрипционных факторов***. Эти последние, в свою очередь, «включают» “главные” гены тканеспецифичной экспрессии, т.е. гены белков тканеспецифичной ***функции*** клеток, например, тканеспецифичного метаболизма.

В целом, определенным паракринным индукторам соответствуют определенные рецепторы, которые начинают одну или немногие варианты цепочек трансдукции, завершающиеся определенными транскрипционными факторами, включающими определенные гены. Число этих цепочек и составляющих их элементов не слишком велико не только у каждого вида, но даже у разных типов животных. Доказана даже взаимозаменяемость некоторых элементов цепочек у животных из разных типов (например, млекопитающих и насекомых). Одни и те же цепочки или элементы цепочек могут в ходе онтогенеза использоваться для передачи позиционной информации более, чем в одном [морфогенезе](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133510:article) (например, конечности и мозга). Это возможно потому, что для формирования определенной ткани или органа обычно требуется срабатывание не одной, а наскольких трансдукционных цепочек. Иными словами, срабатывание одной трансдукционной цепочки может быть **необходимым**, но **не достаточным** условием формирования определенного органа, и органы отличаются в силу **разных комбинаций** сработавших трансдукционных цепочек и только некоторые из цепочек являются общими для разных органов, тогда как другие отличаются в разных органах. Таким образом, природа “экономно использует” имеющиеся цепочки и не слишком “склонна” создавать новые или радикально менять старые, однажды возникшие у примитивных многоклеточных животных, а те новые элементы, которые все-таки создаются, представляют собой небольшие добавочные варианты-модификации элементов все тех же цепочек.

Эффекты паракринных и других индукторов, несущих позиционную информацию, могут определяться не только самым фактом появления вещества- индуктора, но и его **концентрацией** в данной части однородного поля клеток. Один диапазон концентраций включает одни гены тканеспецифичной (органоспецифичной) экспрессии, а другой диапазон другие гены. Это значит, что при воздействии разных концентраций одного и того же вещества-индуктора в однородном поле клеток будут развиваться **разные органы**. Значение этого обстоятельства очень велико. Действительно, если в ходе развития в теле эмбриона закономерно появляется градиент какого-то вещества (т.е. высокая концентрация этого вещества у одного края однородного поля клеток, постепенно понижающаяся к другому краю поля), то этот градиент может служить основой для закономерного появления разных органов в разных частях однородного поля клеток, причем в определенном порядке. Иными словами, **градиент может быть формой кодирования позиционной информации.**

По-видимому, таким образом градиент ретиноевой кислоты обуславливает качественно различные особенности строения разных участков позвоночника (т.е. шейного, грудного, поясничного и т.д. отделов). Аналогично градиент паракринного индуктора BMP от заднего края зачатка конечности к переднему определяет качественно различные особенности пальцев от мизинца к большому.

В результате включения генов **тканеспецифичной экспрессии** в части клеток однородного поля, они обычно так или иначе “оформляются” в особый зачаток, выделяясь из однородного поля, и часто становятся источником новых паракринных индукторов, действующих на другое однородное поле клеток. Таким образом обеспечивается последовательное развертывание органной дифференцировки зародыша и нарастание числа “оформленных” органов. Так оформленные зачатки сетчатки глаза – выросты промежуточного мозга (глазные пузырьки) индуцируют в однородном поле эктодермы зачаток хрусталика, который, в свою очередь, оформившись (обособившись из однородного поля), индуцирует в однородном поле более поздней эктодермы прозрачный эпителий роговицы (рис. 1). Помимо позиционной информации, строго увязанной с “анатомич еской системой координат”, т.е. когда характерная анатомическая структура занимает строго определенное положение по отношению к другим анатомическим структурам, может возникать и более “стохастически” (случайно) локализованная позиционная информация. Например, полосы на теле зебры или пятна леопарда локализованы настолько не строго определенно, что могут не быть симметричными на левой и правой стороне тела. Раз возникнув, такая позиционная информация может породить столь же устойчивый вариант эпигенетической наследственности, как и “анатомически привязанные” варианты. Генерация такой позиционной информации рассматривается в рамках **диффузионно-реакционной модели**, о которой речь еще пойдет ниже.

Рис.1

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Клеточное деление: митоз и мейоз**

Детальное описание деления клеток дается в курсе цитологии. Поэтому в этом разделе мы отметим лишь отдельные моменты этой темы, важные для биологии развития.

Управление пролиферацией (митотическим делением) клеток осуществляется при участии ключевого белка деления **циклина**, представленного несколькими разновидностями, действующими на разных стадиях митотического клеточного цикла. Необычным свойством этого белка является его способность разрушаться в процессе митоза и накапливаться после завершения митоза. По достижении критической концентрации того или иного циклина включается синтез ДНК или клетка вступает в митоз. Для реализации митоза должен образоваться сложный белок MPF, состоящий из двух элементарных белков: циклина и сdc2. Последний способен присоединять фосфат к волокнистому белку ламинину, подстилающему ядерную мембрану изнутри, что приводит к деполимеризации ламинина и распадению ядерной мембраны на мелкие везикулы (Рис. 2). В результате хромосомы оказываются прямо в цитоплазме и становятся способными взаимодействовать с микротрубочками формирующегося ахроматинового веретена. Некоторые из микротрубочек вступают в контакт с хромосомами и содействуют их установлению на экватор клетки и расхождению хроматид к разным полюсам ахроматинового веретена. Микротрубочки ахроматинового веретена, не вступившие в контакт с хромосомами, содействуют, скользя друг по другу расхождению двух центриолей на большее расстояние друг от друга и вытягиванию делящейся клетки в длину, облегчая последующее разделение клетки на две дочерние. В разных тканях ритм деления клеток управляется по-разному. В одних случаях присутствуют белки, приостанавливающие движение клеток по циклу. Они являются продуктами транскрипции и трансляции особого рода генов – антионкогенов. Мутация гена, способная вызвать дисфункцию этого белка, может повести к неудержимой пролиферации клетки и развитию рака. В других тканях митотический цикл автоматически приостанавливается и для его завершения нужен сигнал, подаваемый через трансдукционную цепочку. Мутация в некоторых белках – элементах цепочки (проонкогенах) может так изменить белок или темпы его синтеза, что деления клетки будут происходить без длительных задержек, что создает шансы на развитие рака. Детали процесса регулирования клеточного деления изучаются в курсе общей цитологии.

Рис.2

Особым типом клеточного деления является мейоз. Этот вид деления характерен для половых клеток иммигрировавших в яичник, а также для клеток, мигрировавших в эпителиальные тяжи семенника по завершении ими цикла из серии синхронных митотических делений.

Одно из самых ранних отличий мейоза от митоза заключается в **незавершенности репликации** ДНК в точках хромосом, которые обеспечивают конъюгацию их с гомологичной хромосомой. Последние конъюгируют именно нереплицированными одиночными цепочками, а завершение репликации наступает после конъюгации гомологичных хромосом. Эта **конъюгация гомологичных хромосом**, одна из которых получена от отца, а другая от матери – второе важнейшее отличие мейоза от митоза. Такой способ расхождения хромосом по двум дочерним клеткам приводит к ***уменьшению числа хромосом в 2 раза***. В митозе конъюгации не наблюдается, и в дочерние клетки расходится по одной хроматиде от каждой из двух гомологичных хромосом, т.е. число хромосом сохраняется без изменений. Третье различие заключается в том, что каждая дочерняя клетка получает не одну из двух идентичных хроматид бывшей хромосомы материнской клетки, а целую **двухроматидную хромосому**, которая сразу готова к новому делению уже по митотическому механизму , т.е. с расхождением двух хроматид по дочерним клеткам. По этой причине для второго деления мейоза не требуется предварительной репликации ДНК каждой хромосомы, которая необходима в обычном митозе, где она заканчивается превращением однохроматидной хромосомы в двухроматидную.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Клеточная миграция**

Одним из часто встречающихся вариантов клеточной миграции является амебоидное движение. Оно сводится к формированию уплощенного отростка цитоплазмы, удлиняющегося в направлении движения клетки и “подтягивания” отставшей основной части клетки “вдогонку” за выдвигающейся псевдоподией. Механизм выдвижение псевдоподии включает формирование цитоскелетного элемента – пучка микротрубочек, направленных от центральной части клетки в сторону конца псевдоподии. Этот пучок служит транспортером, обеспечивающим доставку к вершине псевдоподии необходимых материалов для ее продвижения вперед, в частности, материала для достройки цитомембраны в форме везикул, образующихся в задних отделах клетки в процессе пиноцитоза. Доставленные везикулы вливаются путем процесса, сходного с экзоцитозом, в мембрану псевдоподии, обеспечивая возможность локального увеличения ее поверхности при вытягивании псевдоподии (Рис. 3). Напротив, в задней части клетки площадь мембраны сокращается, что, видимо, увязывается с перетеканием цитоплазмы вперед в направлении псевдоподии, а также с сокращением подстилающих мембрану элементов цитоскелета, связанных с помощью трансмембранных белков с внеклеточным субстратом (коллагеном и др.). Транспортная функция микротрубочек базируется на присутствии на их поверхности молекул белка динеина, способных сгибаться наподобие того, как сгибаются реснички эпителия трахеи, продвигая частички пыли к глотке. Сгибание молекулы динеина осуществляется за счет расходования молекул АТФ, в отсутствие которого (в экспериментах in vitro) транспортная функция микротрубочек замирает. В основе морфогенезов лежат изменения надмолекулярных структур цитоскелета и клеточной мембраны. Цитоскелет образован микротрубочками, микрофиламентами, промежуточными филаментами и т.н. микротрабекулярной сетью. Среди них наибольшее значение для морфогенеза имеют микротрубочки и микрофиламенты.

Микрофиламенты имеют вид нитей диаметром 5-7 нм из актина, миозина и актинсвязывающих белков. Актины могут составлять до 15% от общего белка, а в активно движужихся клетках до 30%. Благодаря своей ригидности актиновый гель выполняет опорную функцию и его много в кортикальном слое яйца. Микротрубочки, состоящие из глобулярного гликопротеида тубулина и белка динеина имеют диаметр 20-30 нм. Они обеспечивают полярность клеток и способствуют их движению. Микротрубочки часто связаны особыми белками с микрофиламентами.

Рис. 3

Особое значение для морфогенезов имеют клеточные контакты. Установлено, что новые клеточные контакты могут возникать и исчезать за считанные минуты. Наиболее непостоянны т.н. точечные (фокальные) контакты, способные закрепляться за субстрат или соседние клетки. Изнутри контакты ассоциированы с актином, а снаружи к ним прикрепляются фибронектиновые волокна внеклеточного матрикса (фибронексусы).

Амебоидное движение в более или менее “чистом” виде свойственно клеткам, лишенным существенной межклеточной адгезии. Примером амебоидной миграции может служить миграция клеток нервного гребня.

На стадии гаструлы у птиц клетки презумптивной мезодермы “выклиниваются” из эпителия бластодермы в бластоцель, превращаясь в амебоидные мезенхимные клетки, где и формируют мезодерму.

Однако и клетки эмбриона, объединенные в эпителий, могут обнаруживать сходные механизмы миграции даже без нарушения эпителиальной структуры. Например, на стадии гаструляции у морских ежей с помощью цейтраферной киносъемки прозрачного эмбриона удалось зарегистрировать формирование эпителием начавшей инвагинацию головной части первичной кишки очень длинных и тонких псевдоподий протянутых через бластоцель до клеток передней эктодермы (рис. 4)

Рис. 4

По-видимому, продолжение инвагинации осуществляется с участием сокращения длинных псевдоподий, что помогает подтянуть переднюю часть инвагинирующей первичной кишки до передней эктодермы. Если с латеральной поверхности туловища эмбриона лягушки удалить квадратик эктодермы, то окружающие ранку клетки эпителия эктодермы быстро (менее чем за час) наползают на поверхность обнажившихся слоев мезодермы и закрывают рану. Это происходит за счет уплощения окружающих рану эпителиальных клеток (т.е. истончения слоя эпителия эктодермы) и увеличения их суммарной площади. Движение свободного края эпителия по поверхности ранки имеет много общего с амебоидным движением. Последующая ускоренная пролиферация окружающих рану клеток позволяет восстановить первоначальную толщину эпителия (обычно даже через фазу избыточной толщины эпителия над бывшей раной) за счет увеличения числа клеток эпителия в области раны.

Таким образом, клеточная подвижность свойственна не только мезенхимным амебоидным клеткам, но и клеткам эпителиальных пластов.

Особой формой клеточной миграции можно считать фантастический рост аксонов и дендритов нейронов, кода длина этих отростков может у крупных животных достигать метров (от позвоночника до кончиков пальцев). Принципиально, рост аксонов можно считать формированием очень длинных псевдоподий, однако, без последующего подтягивания несущей ядро центральной части клетки (перикариона).

Направление миграции клеток в теле зародыша, как показано в ряде случаев, обусловлено проявлениями адгезии клеток к субстратам или к другим клеткам. Направляющие субстраты – это часто волокнистые межклеточные вещества. Одним из наиболее важных классов веществ этого типа являются фибронектины. Эти белки, способные полимеризоваться в межклеточные волокна, имеют домены, соединяющиеся с белками клеточных цитомембран – интегринами. С помощью других своих доменов фибронектины соединяются с межклеточными волокнистыми белками типа коллагенов и фибриногенов. Это позволяет фибронектинам ориентироваться вдоль таких межклеточных волокнистых структур и служить “рельсами”, по которым движутся мигрирующие в процессе морфогенеза клетки. Таким образом цитомембраны мигрирующих клеток посредством интегринов и фибронектинов оказываются связанными с коллагеновыми и фибриновыми волокнами. В частности у лягушек миграция первичных половых клеток из задней части кишки в гонаду происходит по фибронектиновым “рельсам”. Обработка брызжейки (по которой мигрируют первичные половые клетки из задней части кишки к области зачатка гонад) антителами против фибронектинов затормаживает миграцию к гонадам первичных половых клеток.

Аналогичным образом происходит миграция клеток крыши первичной кишки (зачатка осевой мезодермы) по поверхности эктодермы, обращенной к бластоцелю и покрытой фибронектином, при гаструляции у амфибий. При введении в бластоцель коротких пептидов, соответствующих домену фибронектина, пептид связывается с интегринами мезодермы, и предотвращает возможность их связи с самими фибронектинами. Мезодерма не вворачивается в бластоцель, а остается на поверхности гаструлы в виде огромной пробки в бластопоре.

Совершенно особый тип миграции клеток в онтогенезе представляет собой движение сперматозоидов у большинства классов Metazoa с помощью жгутиков, расположенных на заднем конце сперматозоида.

Его важной особенностью, по крайней мере, у некоторых видов является хемотаксис, направляющий движение сперматозоидов по градиенту концентрации гиногамонов, выделяемых яйцеклеткой. Механизм движения связан со скольжением внутри жгутика собранных в трубку параллельных микротрубочек друг по другу, причем это скольжение прокатывается по этой трубке в виде кольцевой волны, приводя к изгибанию жгутика по очереди в разные стороны, чем и обусловлено проталкивание клетки вперед.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Клеточная адгезия и слияние клеток**

Одним из самых важных цитофизиологических механизмов формообразования является способность клеток прилипать друг к другу и утрачивать эту способность. Из общей гистологии мы знаем, что эпителиальная ткань характеризуется, в первую очередь, тем, что клеточные мембраны на большом протяжении плотно прилегают друг к другу. Это обусловлено присутствием в составе цитомембран специфических типов молекул белка или гликопротеидов, которые вступают в связи с такими же или иного типа молекулами белка в цитомембране соседней клетки на основе стереохимической комплементарности тех своих доменов (т.е. характерных участков молекулы), которые “торчат” из мембраны в окружающую клетку среду. При сближении двух клеток такие молекулы вступают в связь по тому же принципу ключ-замок, о котором не раз говорилось выше, и удерживают клетки вместе, а их мембраны параллельными друг другу. Эти молекулы клеточной адгезии (cell adhesion molecules – CAM и другие типы молекул аналогичного назначения) имеют гидрофобные домены, позволяющие им удерживаться в фосфолипидном слое, а также домены высовывающиеся из мембраны во внутреннюю среду клетки, где они могут вступать связь при участии молекул-посредников с элементами цитоскелета, подстилающими цитомембрану. Это придает некоторую механическую прочность клеточной адгезии.

В принципе, чем больше молекул такого типа имеется в составе цитомембран, тем больше площадь прилегания мембран соседних клеток. При отсутствии молекул межклеточной адгезии или их малом количестве клетки не прилипают друг к другу или прилипают незначительной долей площади своей поверхности.

В этом случае клетки имеют шарообразную форму и касаются друг друга “в одной точке”, как прилегающие друг к другу биллиардные шары. Такую картину можно видеть на ранних стадиях дробления плацентарных млекопитающих, когда зародыш состоит из нескольких шарообразных клеток. Другим вариантом формы клеток с низким содержанием адгезивных молекул в цитомембране могут служить амебоидные клетки с формирующимися отростками-псевдоподиями, которые, если и касаются мембранами, то в основном концами узких отростков и, видимо, временно. Примером могут служить клетки эмбриональной мезенхимы.

По мере увеличения концентрации адгезивных молекул доля поверхности клеток, которой они склеиваются друг с другом, должна возрастать и клетки должны принимать форму кубического, а затем и высокоцилиндрического эпителия. У эмбриона плацентарных млекопитающих на стадии дробления в какой-то момент происходит такая компактизация структуры от сферических ранних бластомеров до плотного эпителия поздней морулы. В ходе развития разных зачатков эмбриона может неоднократно происходить переход из состояния мезенхимы (слабая адгезия и высокая подвижность клеток) в состояние эпителия (высокая адгезивность и низкая подвижность) и обратно. Примером такого перехода может служить образование сомитов – компактных эпителиальных шариков из мезенхимы осевой мезодермы. Этот переход обеспечивает сегментацию осевой мезодермы позвоночных (рис. 5). Позднее эти эпителиальные шарики вновь распадаются на мезенхиму уже нескольких типов, представляющих собой посегментные предшественники миобластов, остеобластов и хондробластов и соединительнотканных клеток дермы. Эпителий эктодермы на стыке презумптивной нервной трубки и презумптивного эпидермиса на стадии после замыкания нервной трубки переходит в мезенхипоподобное состояние и формирует различные структуры, в том числе эпителий сердцевины надпочечника.

В эксперименте адгезию эпителиального типа можно разрушить обработав эпителий антителами против соответствующих молекул клеточной адгезии с переводом клеток в мезенхимоподобное состояние.

Рис.5

Одной из самых характерных форм морфогенеза является следующая последовательность событий, преобразующая единый пласт эмбрионального эпителия:

1. локальное воздействие на группу клеток пласта ( индукция),
2. изменение структуры подвергшихся индукции клеток с превращением их в плакоду, т.е. в более высокоцилиндрический эпителий, чем окружающий не индуцированный,
3. прогибание плакоды под эпителий и свертывание в шарик или трубку,
4. отшнуровывание (т.е. обособление) от окружающего неиндуцированного эпителия, т.е. дифференцировка зачатка нового органа,
5. смыкание неиндуцированного эпителия над углубившимся под него шариком или трубкой индуцированного эпителия.

Примерами такого морфогенеза могут служить формирование нервной трубки и хрусталика позвоночных.

По крайней мере для некоторых из таких случаев удалось показать, что ход событий в индуцированной части эпителия обусловлен появлением в индуцированном эпителии новых молекул клеточной адгезии, отсутствующих в неиндуцированном окружающем эпителии при постепенной утрате старых молекул адгезии, которые были общими у индуцированных и неиндуцированных клеток эпителия до индукции. Утрата старых молекул приводит к обособлению индуцированных клеток от неиндуцированных и сворачиванию индуцированных в трубку. В частности, когда в эксперименте с помощью трансгеноза удалось во **всех** клетках эпителия эктодермы экспрессировать гены не только старых молекул адгезии, но и тех новых, которые должны появиться в будущей нервной трубке после ее индукции, то никакого обособления нервной трубки от остальной эктодермы не наблюдалось, и она сохранила адгезивные связи с остальной эктодермой.

Рис.6

Огромное значение клеточной адгезии в эмбриогенезе иллюстрируется экпериментом, проделанным Таунсом и Гольтфретером. Подщелачивая среду, в которой находились нейрулы амфибий, они временно нарушили межклеточные контакты и перемешать полученную массу клеток в “кучу”, состоящую из клеток эктодермы, мезодермы и энтодермы, расположенных случайным образом (Рис. 6).

После замены этой среды на обычную, клетки начинают активные амебоидные перемещения в куче, и постепенно разбираются по слоям за счет большей адгезии клеток каждого из листков друг к другу, чем к клеткам других слоев. При этом клетки эктодермы занимают, как и до перемешивания, соответственно, наружное положение, мезодермы – среднее, энтодермы – внутреннее. Таким образом, каким бы способом не достигалось расслоение бластулы на 3 зародышевых листка в норме, оно может быть нарушено, но сохраняет способность к самовосстановлению на основе миграции и реадгезии клеток. Такая реставрация зародышевых листков может сопровождаться некоторыми проявлениями последующей тканевой дифференцировки, но ориентация осей тела, по-видимому, при таких условиях не восстанавливается (например, голова и хвост).

Помимо молекул межклеточной адгезии, существуют и молекулы адгезии клеток к субстрату, т.е. прежде всего к волокнам межклеточного вещества, включая некоторые типы коллагеновых волокон, фибронектины и др. Если поместить такие волокна узкой полосой на предметное стекло, то клетки, содержащие в своей цитомембране молекулы адгезии к данному типу волокон, амебоидно движутся только в пределах этой полосы вдоль направления волокон. Их псевдоподии выдвигаются вдоль этих волокон (как по рельсам) и за ними “подтягивается” сама клетка. Если обработать участок такой полоски на стекле антителами против вещества этих волокон, движение клеток в этом месте становится “броуновским”, т. е. теряет связи с полосой. Дело в том, что антитела связываются с участками молекул, к которым приклеиваются в норме молекулы адгезии к субстрату, имеющиеся в псевдоподиях, и эти молекулы более не могут “приклеивать” цитомембрану клетки к волокну (Рис. 7). Таким образом, молекулы адгезии к субстрату помогают направлять мигрирующие в ходе морфогенеза клетки в направлении той части тела эмбриона, куда им “надлежит прибыть”, как например, клеткам нервного гребня при формировании ими таких структур, как вегетативная нервная система, мозговое вещество надпочечника или пигментные клетки всех частей кожного эпидермиса.

Самая форма клеток в очень значительной степени определяется молекулами адгезии. При отсутствии существенного количества молекул адгезии как межклеточных, так и субстратных клетки должны принимать более или менее сферическую форму. При наличии субстрата и адгезивных молекул к нему клетка должна распластываться по субстрату и образовывать отростки. При наличии также и межклеточных адгезивных молекул возникает эпителиальная структура, причем эпителий тем более высокопризматический, чем больше мажклеточные связи и тем меньше площадь связи с субстратом. Если возникает закономерная вертикальная зональность в концентрации молекул межклеточной адгезии, например, высокая там, где клетки соприкасаются с субстратом, и низкая у свободного конца, то клетки должны принять бутылковидную форму, т.е. расширенную округлую у свободного конца и узкоцилиндрическую у субстрата. В этом случае, если субстрат представлен тонкослойной волокнистой мембраной (как та, что одевает раннюю гаструлу некоторых видов), эпителиальный пласт должен прогибаться в сторону свободных концов клеток, так как сумма диаметров свободных концов клеток больше, чем их концов, закрепленных на мембране. Этот прогиб (инвагинация) может объяснять, например, процесс вворачивания бластодермы в начале гаструляции.

Рис.7(а, б)

При некоторых условиях тесное сближение цитомембран соседних клеток может вести не только к их склеиванию, но и слиянию. Такой процесс наблюдается при оплодотворении (слияние сперматозоида с яйцеклеткой), формировании остеокластов (слияние макрофагов) и образовании мышечных волокон поперечно-полосатых мышц и элементов миокарда (слияние миобластов или сателлитных клеток с мышечным волокном). В эксперименте слияние клеток может быть достигнуто пропусканием электрического разряда через прижатые друг к другу клетки, с помощью вируса Сендаи или добавления в среду полиэтиленгликоля.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Апоптоз**

Апоптоз – органический элемент морфогенеза. Клетки несут в себе “программу” своего рода “самоубийства”, которое оказывается необходимым в тех случаях, когда нужно ограничить бурный клеточный рост, прервать рост в связи с завершением этапа морфогенеза, сформировать отверстия, полости, щели в сплошном эмбриональном органе (отверстие, связывающее матку и влагалище, полость среднего уха, межпальцевые перепонки).

Масштабы апоптоза чрезвычайно велики. Например, 2/3 нейронов или их предшественников, появившихся в ходе развития мозга эмбриона человека погибают до рождения. При мутации гена, кодирующего белок, запускающий апоптоз у мышей, развивается непомерно большой мозг с нарушением его нормальной структуры и структуры черепа и этот ход развития несовместим с жизнью после рождения. В частности, при отсутствии апоптоза желудочки мозга недоразвиваются и оказываются слишком маленькими.

В одних тканях (эритроцитарная линия клеток костного мозга эмбриона в печени) и даже у некоторых видов (нематода Саеnorhabditis elegans) физиология клеток такова, что они имеют предрасположенность по достижении определенной стадии развития автоматически подвергаться апоптозу, если в них не поступит определенный сигнал об остановке апоптоза (в эритроцитарной линии клеток это гормон – эритропоэтин). В других тканях, наоборот, для запуска апоптоза требуется сигнал извне или изнутри клетки (при ее определенном повреждении). Для разных тканей эти сигналы различны. Интересно, что маленькая нематода С. elegans, в норме по окончании развития состоящая из 959 клеток при наследственном нарушении механизма апоптоза включает на 15% клеток больше, что приводит к уродству совместимому однако с жизнью непосредственно по окончании развития.

Ключевым элементом самого процесса гибели клетки являются мощные протеазы – каспаза 9, каспаза 3 и каспаза 8, способные вызывать фрагментацию ДНК ядра и разрушать клеточные белки.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Трансдукция: передача информации между клетками и внутри клеток. Понятие о трансдукционных цепочках**

*Начальные элементы трансдукционных цепочек – паракринные факторы и другие вещества-индукторы.*

Напомним, что паракринные факторы (ПФ) действуют в качестве локальных индукторов, диффундируя на расстояние не более нескольких диаметров клеток. Нужно отметить две их удивительные, с первого взгляда, особенности:

1. Один и тот же ПФ может служить индуктором разных зачатков (естественно, в разных частях эмбриона или на разных стадиях его развития), что позволяет обойтись в ходе онтогенеза относительно небольшим числом ПФ,
2. У разных даже очень далеких видов встречаются идентичные или очень сходные паракринные факторы, действующие в гомологичных частях эмбрионов далеких видов и индуцирующие крайне несходные, но гомологичные структуры. Это означает высокую степень эволюционного консерватизма ПФ (по сравнению с большей филогенетической лабильностью структуры индуцируемых ими органов).
3. Многие ПФ даже одной и то же особи составляют семейства, подсемейства и надсемейства по степени близости (гомологичности) их первичной структуры. Эта близость может быть так велика, что разные ПФ оказываются взаимозаменяемыми в эксперименте. Однако промоторы и энхансеры при этих генах не идентичны. Поэтому данные гены экспрессируются не в одних и тех же зачатках зародыша и физиологически близкие ПФ служат индукторами совсем разных органов.

Большинство известных ПФ может быть отнесено из-за своего биохимического сходства (а, следовательно, филогенетического происхождения) к 4 семействам, причем **названия** ПФ отражают не столько функции, сколько случайности истории открытия того или иного ПФ.

**Семейство FGF, или семейство факторов роста фибробластов.**В состав семейства входят десятки родственных белков, действующих далеко не только на фибробласты. Они различаются по номерам, например, FGF8, FGF7 и т.д., причем исторически могут получать и другие названия, в частности, FGF7 называют нередко “фактором роста кератиноцитов”. ПФ данного семейства воздействуют на клетки, присоединяясь к белкам-рецепторам типа тирозинкиназ (эти рецепторы обозначаются FGF**R**, где буква R в конце аббревиатуры обозначает, что речь идет не о FGF, а о его белке-рецепторе). Молекула FGFR состоит из нескольких частей (доменов), причем один из доменов “высовывается” за наружную поверхность цитомембраны, другой ее пронизывает и удерживает FGFR в составе цитомембраны, а третий выступает внутрь клетки за внутреннюю границу цитомембраны реагирующей клетки. Первый домен специфично связывается с FGF, к которому с другой стороны присоединяется второй FGFR.

В результате формируется пара молекул FGFR, связанная мостиком из FGF. Такая “спаренная” молекула FGFR приобретает, во-первых, свойство АТФ-азы, т.е. способность расщеплять АТФ на АДФ и фосфат, а также свойство тирозинкиназы, т.е. фермента, способного присоединять этот фосфат к самой себе, а затем и белку, имеющемуся в растворенном виде в цитоплазме. После присоединения фосфата этот белок приобретает активность и запускает каскад биохимических реакций, изменяющих цитофизиологию клетки и приводящих к новому этапу ее дифференцировки.

Представители семейства FGF принимают участие в индукции мезодермы, дифференцировки кровеносных сосудов (FGF2), индукции конечности и ее частей (FGF4, FGF8, FGF10), среднего мозга и хрусталика глаза (FGF8), роста аксонов нейронов и др.

**Семейство Hedgehog**(дословный перевод “дикообраз” от названия мутации этолого локуса у дрозофолы, делающей муху немного похожей из-за структуры щетинок на этого грызуна). У позвоночных известно 3 ПФ этого семейства, названные sonic hedgehog (shh), desert hedgehog (dhh) и indian hedgehog (ihh).

Ihh принимает участие в индукции структур кишечника и постнатального роста костей. Dhh участвует в индукции сперматогенеза. Shh по-видимому изучен лучше других. Известна его роль в индукции хордой мотонейронов в вентральной части зачатка спинного мозга и хрящевых клеток в составе склеротома сомитов.

Shh принимает участие в индукции лево-правой асимметрии тела куриного эмбриона, кранио-каудальной оси конечности (мизинец – большой палец), различий между частями кишечной трубки, индукции перьев и зубов.

**Семейство Wnt** (название происходит от объединения сокращений названия локуса у дрозофил wingless – бескрылый и локуса integrated у позвоночных, которые оказались гомологичными, т.е. имеющими близкую первичную структуру, указывающую на единство филогенетического происхождения). У позвоночных известно более 10 представителей этого семейства. Wnt1 индуцирует миотом в верхней части сомита. Представители этого семейства принимают участие в индукции среднего мозга, дорзальных структур конечности (ногтей) (Wnt7). Wnt4 принимает участие в индукции нефронов почки и развития гонад по женскому типу, т.е. яичников.

**Надсемейство Tgf-b.**Надсемейство включает десятки важнейших для хода развития ПФ. Надсемейство подразделяется на несколько семейств, в частности:

* Собственно TGF-b,
* Активина,
* BMP,
* Vg1,

а также другие белки.

**Семейство Tgf-*b***. Представители этого семейства индуцируют и стабилизируют выделение межклеточных белков, в частности, коллагенов и фибронектинов, а также индуцируют деление клеток, в частности, определяющее ветвление трубочек формирующегося железистого эпителия и легких.

**Семейство BMP.** Его представители впервые были обнаружены как индукторы остеогенеза, хотя впоследствии оказалось, что они имеют много других функций, в частности, индуцируют сперматогенез, апоптоз (программируемую гибель клеток), участвуют в регулировании клеточного деления, индуцируют структуры почки, принимают участие в дорзо-вентральной дифференцировке структур мозга и детерминации дорзо-вентральной оси эмбриона (Vg1), а также передне-задней и лево-правой оси эмбриона (Nodal).

**Семейство активина.** Его представители принимают участие в индукции мезодермы на предгаструляционной стадии развития, индукции зубов и поджелудочной железы.

В надсемейство входят и другие важные ПФ, такие как нейротрофические сигнальные вещества, вырабатываемые глиальными клетками (GDNF).

**Вне этих семейств** находятся другие ПФ, имеющие большое значение в развитии эмбриона. В частности, в индукции дифференцировки эпидермиса кожи играет важную роль эпидермальный фактор роста, в развитии печени – фактор роста гепатоцитов, в росте и развитии костного мозга и меланоцитов – фактор роста стволовых клеток, а также многочисленные факторы роста линий костного мозга от эритропоэтина до интерлейкинов.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Транскрипционные факторы и эпигенетическая наследственность**

Установление в ансамблях клеток или отдельных клеток определенной эпигенетической наследственности предполагает, как указывалось ранее, экспрессию определенного набора генов и репрессию других генов. Экспрессирующиеся в той или иной ткани гены можно разделить на:

1. **гены тканеспецифичной экспрессии**, т.е. экспрессирующиеся исключительно в данном типе ткани (часто их неудачно называют “тканеспецифичными”, хотя они присутствуют во всех тканях), например, ген казеина (важнейший белок молока) в молочной железе ,
2. экспрессирующиеся в нескольких или во всех тканях, но с образованием белкового продукта гена (“транслята”) в несопоставимых количествах, например, актин в мышцах и лейкоцитах,
3. экспрессирующиеся в нескольких тканях, например, белки b-рецепторы гормона адреналина, у гепатоцитов и жировых клеткок,
4. экспрессирующиеся во всех или почти во всех типах клеток, например, гены ферментов цикла Кребса.

Первым шагом экспрессии является обеспечение транскрипции генов, достигающееся путем присоединения к промоторной части генов и к их энхансерам транскрипционных факторов (ТФ). Сами ТФ являются белками или их соединениями с другими классами веществ. Такое присоединение к ДНК предполагает, во-первых, некоторые особенности химического строения самих белков, в частности, наличие преимущественно **основных** (слабощелочных) доменов ТФ, без чего самое присоединение водородными связями к дезоксирибонуклеиновой **кислоте** невозможно. Во-вторых, присоединение ТФ к ДНК имеет биологический смысл только тогда, когда каждый из ТФ присоединяется не к любому участку ДНК вообще и даже не к любому промотору или энхансеру, а только к одному или некоторым из них, имеющих в своем составе последовательности нуклеотидов стереохимически “комплементарные” основным доменам ТФ, что и является условием включения определенных, а не любых генов каждым из ТФ.

Один и тот же ТФ может присутствовать: а) во всех тканях и, следовательно, не имеет прямого отношения к тканевой дифференцировке, б) присутствовать в определенных частях цитоплазмы яйцеклетки, еще до проникновения туда ядра, а при появлении ядра в этой части цитоплазмы ТФ проникает в ядро, включая в работу гены **тканеспецифичной экспрессии** и предопределяя тем самым рамки эпигенетической наследственности клетки (детерминацию), в)транскрипционный фактор синтезируется или активируется, будучи заранее синтезированным, под влиянием индукции паракринным или другим фактором, причем сигнал индуктора передается через трансдукционную цепочку от рецептора к гену ТФ или его трансляту.

С другой стороны, даже ТФ, участвующие в определении варианта дифференцировки клетки (т.е. ее эпигенетической наследственности), синтезируются **не только** в клетках этой ткани. Дело в том, что для включения транскрипции любого гена обычно требуется присоединение к его энхансеру или промотору нескольких ТФ в определенных комбинациях. В одной ткани данный ТФ входит в состав одной комбинации ТФ, обеспечивающих включение набора генов данной **тканеспецифичной экспрессии,** тогда как в другой ткани тот же ТФ входит в состав иной комбинации ТФ, обеспечивающих включение генов иной **тканеспецифичной экспрессии,** чем и объясняется *тканевая неспецифичность* отдельно взятых ТФ. Тканеспецифичны лишь комбинации ТФ. Поэтому, несмотря на наличие некоторых сходных ТФ в разных тканях, в одной из них ген, контролируемый данным ТФ экспрессируется, а в другой нет. Следовательно, присутствие одного и того же ТФ может являться необходимым, но недостаточным условием транскрипции данного гена. Для транскрипции гена необходимо присоединение к промотору и энхансеру и других ТФ **в определенной комбинации (или нескольких возможных комбинациях)**, подобно тому, как в кодовых замках установление на одном барабане правильной цифры необходимо, но недостаточно для открывания замка. Нужны правильные цифры и на других барабанах замка. Следовательно, если мы видим, что в двух клетках с разным типом дифференцировки присутствует один и тот же ТФ, необходимый для запуска транскрипции данного гена, а транскрипция происходит лишь в одном из клеточных типов, значит в одном из клеточных типов отсутствует другой(ие) ТФ, необходимый(е) для транскрипции гена. Присутствие в разных тканях одинаковых ТФ, причем в одной из них он приводит к экспрессии данного гена, а в другой не приводит к такой же экспрессии, объясняется тем, что этот ТФ необходим также для включения экспрессии какого-то другого гена. Пользуясь аналогией с кодовым замком, мы можем представить дело так, что в двух разных кодовых замках на одном и том же диске используются одинаковые цифры, но на других-то дисках у разных замков требующиеся для открытия замка цифры разные. В этом смысле синтезируемые в данной ткани комплекты ТФ можно рассматривать как **тканевые коды.**

Более того, даже наличие нужных ТФ не всегда гарантирует экспрессию гена, так как присоединение ТФ к промоторам и энхансерам может быть сделано невозможным с помощью их метилирования, т.е. замены в пуриновых или пиримидиновых основаниях ДНК атома водорода на метильную группу, что нарушает стереохимическую комплементарность ТФ и промотора. Процесс метилирования должен осуществляться тканеспецифичными ферментами – метилазами, также имеющими стереохимическую комплементарность к определенным участкам ДНК.

Из сказанного выше ясно, что разные варианты дифференцировки клетки (эпигенетической наследственности) базируются на присутствии определенной **комбинации** ТФ в клетке, которые обеспечивают возможность транскрипции определенного набора генов. Но ТФ сами являются белками, и для экспрессии их генов также требуются ТФ! Поскольку эпигенетическая наследственность клеток достаточно устойчива, должна существовать система **самоподдержания** экспрессии генов ТФ. Для разных генов ТФ возможны разные механизмы самоподдержания.

Простейший вариант – белок-ТФ связывается с промоторами или энхансерами нескольких генов, в том числе и собственного гена, т.е. кодирующего данный ТФ. Примером такого варианта **самоподдержания экспрессии гена** является ТФ MyoD, синтезируемого в мышцах.

Другой вариант – клетка вырабатывает белки, выделяющиеся из нее в окружающую среду и захватываемые из нее молекулами-рецепторами этой же (**аутокринный** фактор) или соседними клетками. Активированный таким образом рецептор через цепочку трансдукции активирует имеющиеся в клетки белки, служащие ТФ для генов других ТФ **этой же комбинации**. Повидимому таким способом самоподдерживается дифференцировка клеток Сертоли семенника млекопитающих.

Третий вариант – две разные сближенные ткани производят каждая ПФ, включающие в соседней ткани-партнере экспрессию ТФ, обеспечивающих соответствующую устойчивость их эпигенетической наследственности. Если ткани изолировать друг от друга их дифференцировка нарушается. В этом случае речь должна идти не о **само**поддержании ***определенной комбинации ТФ*** в каждой из них, а о **взаимо**поддержании тканями друг в друге таких комбинаций ТФ. Примером этого варианта могут служить взаимная индукция

**Таблица 1**

Классификация транскрипционных факторов (ТФ), участвующих в формировании эпигенетической наследственности (по S.F.Gilbert, 2003)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| N | Семейства и подсемейства | Некоторые характерные ТФ | Некоторые регулируемые ТФ морфогенезы |
|  | Гомеодоменные  Hox  POU      LIM    Pax | Hoxa-1 – Hoxd-13  Pit-1, Unc-86, Oct-4    Lim-1, Forkhead    Pax-1 – Pax-6 | Разделение тела на отделы  Гипофиз, нервные связи, плюрипотентность клеток    Голова, нервные связи    Мозг, глаз |
| 2 | Основные спираль-петля-cпи-ральные (bHLH) | MyoD, Mitf | Мышцы, пигментация волос |
| 3 | Основные лейциновые за-  стежки (вZip) | С/EBP, AP1 | Печень, жировая ткань |
| 4 | Цинковые пальцы:  Стандартные      Ядерные рецепторы гормонов      Sry – Sox | WT1, Kruppel      Рецепторы стероидных гормонов и ретиноевой кислоты    Sry, SoxD, Sox2 | Почки, гонады, макрофаги, сегментация у мух    Вторичные половые признаки, конечности, лицевая область      Первичные половые признаки (тип гонады), эктодерма |

эктодермы (выделение FGF) и прилежащей мезенхимы (выделение Shh и др. ПФ) почки конечности в период ее роста и дифференцировки.

Транскрипционные факторы, как и сигнальные белки классифицируются биохимиками по происхождению, способу присоединения к ДНК и структуре на следующие “классы” (Табл.1).

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Примеры промежуточных элементов трансдукционных цепочек**

1) **Цепочка рецепторной тирозинкиназы (РТК).** Рецепторная тирозинкиназа – белок, встроенный в цитоплазматическую мембрану. Он имеет a) рецепторный домен, “торчащий” из мембраны наружу в окружающую клетку среду, б) домен, заякоривающий (удерживающий) молекулу в толще мембраны и с) домен с протеинкиназной активностью, включающейся при соединении рецепторного домена с паракринным фактором. Таким образом, молекула несет 2 главные функции: принимает индуцирующий сигнал (“антенна” паракринного сигнала) и ферментная (протеинкиназная) функция, т.е. расщепление АТФ и присоединение высвободившегося фосфата к самой себе и другому белку -2му члену трансдукционной цепочки, “адапторному” белку **SOS**, а также ферменту **GAP,** активирующему расщепление ГТФ, связанной с 4м элементом цепочки G-белком **Ras** (рис. 8).

Рис.8

Ген этого белка известен как проонкоген, т.е. как ген, некоторые мутации которого характерны для клеток целого ряда злокачественных опухолей. 3й элемент цепочки **GNRP**, соединяясь с адаптерным белком SOS, приобретает способность переносить фосфат из гидролизуемого им свободного ГТФ (гуанинтрифосфата) на гуаниндифосфат (ГДФ), связанный с Ras. Таким образом, работа G-белка происходит по следующей схеме. Когда он связан с ГДФ, он не активен, а когда к его ГДФ присоединяется третий фосфат и он становится ГТФ, G-белок приобретает способность активировать 5й член цепочки – белок Raf при одновременном отщеплении от связанного с G-белком ГТФ одного из фосфатов при участии GAP. **Raf**фосфорилирует 6-й член цепочки – протеинкиназу **МЕК**, которая фосфорилирует 7й член цепочки протеинкиназу **ERK**, проникающую в ядро и фосфорилирующую 8й член цепочки – белок, являющийся в фосфорилированном виде транскрипционным фактором, например, **Mitf.** Последний в фосфорилированном виде присоединяет 9й член цепочки – кофактор **p300/CBP** и с его помощью ацетилирует гистоны нуклеосом вблизи генов тканеспецифичной экспрессии меланоцитов, с которыми связывается Mitf, и включает их транскрипцию. Это и предопределяет дифференцировку клеток в нашем примере в меланоциты. [Компетенция](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133513:article) клеток к индукционному воздействию (в данном случае) **фактора роста стволовых клеток**определяется присутствием в промеланобластах соответствующей разновидности рецепторов к этому фактору из семейства РТК, называемых **Kit**.

Помимо цитофизиологического аспекта исследование трансдукционных цепочек имеет и генетический аспект. Действительно, элементы цепочки – это белки или их производные. Но каждому белку соответствует ген. Мутация такого гена может иметь самые разные последствия для цепочки, а следовательно и для хода дифференцировки, причем часто одни и те же элементы цепочки в разных тканях передают разные сигналы, что должно вести к плейотропности действия мутантного гена, т.е. к проявлению эффекта мутаций в морфогенезе разных тканей и органов. С другой стороны, если для достижения определенной дифференцировки клетки (приобретения эпигенетической наследственности) требуется прохождение соответствующего сигнала по всем элементам цепочки, то мутации любого из генов белков цепочки, вызывающие полную потерю трансдукционной функции этого белка должны вызывать нарушение соответствующей дифференцировки. Это верно, конечно, при определенных условиях, в частности, что мутация совместима с жизнью организма, что нет добавочной “обходной” цепочки трансдукции, передающий сходный сигнал, что функция белка выключена мутацией действительно полностью, а не в какой-то степени и т.п.

На примере с дифференцировкой меланоцитов удобно рассмотреть генетический аспект работы трансдукционных механизмов. Самым очевидным проявлением эпигенетической наследственности меланоцита является его способность синтезировать пигмент меланин. Ключевым ферментом этого синтеза является тирозиназа, ген которой транскрибируется в меланоцитах. Включение транскрипции идет по описанной выше РТК-цепочке. Мутации, приводящии к дисфункции белков цепочки должны делать волосы мышей белыми, лишенными пигмента. Действительно, такая мутация с потерей функции белка-гормона **фактора роста стволовых клеток**предотвращает пигментацию волос у мышей, а также вызывает дисплазию костного мозга, который также нуждается в этом факторе для своего нормального развития. Этот ген был идентифицирован по мутантной окраске волос еще до исследования кодируемого им белка как ген **Steel**. Мутация с потерей функции **белка-рецептора Kit** также делает волосы белыми. Соответствующий ген также был идентифицирован до изучения роли кодируемого им белка и назван **White.** В костном мозгу для него существует иной рецептор, чем в меланоцитах, и состояние костного мозга у мышей с мутацией white нормальное. Известна мутация гена **транскрипционного фактора *Mitf –* микрофтальмия** (гипоплазия глаза), которая сопровождается опять-таки отсутствием пигмента в волосяном покрове из-за неспособности измененного мутацией белка транскрипционного комплекса Mitf включать транскрипцию гена тирозиназы. Наконец известна мутация самого **гена тирозиназы**, или **локуса С,** которая так изменяет фермент тирозиназу, что он не способен выполнять функцию катализа окисления аминокислоты тирозина, который после окисления служит сырьем для синтеза пигмента меланина, причем мутантные по этому гену животные начисто лишены пигмента и называются альбиносами.Таким образом, целый ряд генов, которые были известны сначала как гены окраски, а позднее как гены белков трансдукции в цепочке РТК оказались одними и теми же генами, и благодаря успехам молекулярной генетики и генетики развития стали понятнее механизмы влияния мутаций этих генов на морфогенетический процесс формирования окраски волосяного покрова.

2) **Трансдукционная цепочка JAK-STAT.** Другой вариант цепочки, также запускаемой паракринными факторами **FGF**,начинается с рецептора из семейства RTK, связанного с протеинкиназой JAK. Лиганд соединяет 2 молекулы рецептора в димер, JAK фосфорилирует рецептор, приобретающий, в свою очередь, протеинкиназную активность, и фосфорилирует белок STAT, что приводит к объединению двух его молекул в димер, который проникает в ядро и проявляется в нем как транскрипционный фактор, включающий транскрипцию генов тканеспецифичной экспрессии. В частности, поступающий через эту цепочку сигнал приводит к включению экспрессии гена p21, белок которого приостанавливает пролиферацию хондроцитов и дифференцировку их в клетки хряща во вставочных пластинках трубчатых костей и ребер при регулировании их роста. Мутация рецептора FGFR3, придающая ему способность к протеинкиназной активности и без присоединения лиганда, ведет к карликовости и недоразвитию ребер, несовместимую с жизнью после рождения из-за неэффективности реберного аппарата в процессе дыхания, а менее тяжелая мутация к ахондроплазии (карликовости из-за уменьшенной длины костей конечности). Цепочка задействована и в дифференцировке клеток крови и даже в запуске транскрипции гена казеина через воздействие гормона пролактина на секреторные клетки молочной железы.

3) **Трансдукционная цепочка Smad*.*** Эта цепочка служит для трансдукции сигналов, поступающих через паракринные индукторы **надсемейства TGF-b.**

В цитомембране реагирующих клеток присутствуют 2 типа белков-рецепторов. Лиганд захватывается рецептором типа 2, который после этого соединяется с рецептором типа 1 в димер, причем в рецепторе 1 димера происходит фосфорилирование по аминокислотным остаткам серина или треонина. После фосфорилирования димер выступает как протеинкиназа белков трансдукции Smad. Если лиганд – активин, то фосфорилируются Smad 2 и 3, а если BMP, то Smad 1 и 5. После фосфорилирования этих Smad они присоединяют Smad 4. Получившийся Smad – димер входит из цитоплазмы в ядро и служит транскрипционным фактором, включающим транскрипцию соответствующих генов.

4) **Трансдукционная цепочка Wnt – Frizzled.** Как видно из названия, лигандами для рецепторов **Frizzled**является паракринные факторы семейства Wnt. При соединении с лигандом **Frizzled** приобретает способность активировать белок Disheveled, который после активации становится ингибитором протеинкиназы GSK-3.Эта протеинкиназа известна как активатор фермента синтеза гликогена из глюкозы – гликогенсинтазы, но в составе цепочки она выполняет совсем другую функцию. Когда синтезируются два белка АРС и b-катенин они в норме вступают в ассоциацию, которая кончается деградацией b-катенина, причем устойчивости ассоциации (и, следовательно, деградации) сопутствует *GSK-3* . При ингибировании *GSK-3* активированным *Disheveled* b-катенин легко отделяется от APC, входит в ядро, соединяется там в гетеродимер с белком LEF или TCF, являющимися в таком виде транскрипционными факторами для генов тканеспецифичной экспрессии, индуцируемой паракринными фактороми семейства Wnt.

Другие элементы этой цепочки также имеют помимо данной трансдукционной и другие функции. Так b-катенин является одним из белков клеточной адгезии, APC через предотвращение проникновения b-катенина в ядра играет роль противоракового агента. Активированный по цепочке *Disheveled* может действовать не только на *GSK-3,* но и на Rho ГТФазу, фосфорилирующую киназу, которая в своюочередь фосфорилирует белки цитоскелета (микротрубочки, актин влияя на их сборку в элементы цитоскелета, а следовательно на форму, подвижность и полярность клетки.

Еще один вариант цепочки, начинающейся как Wnt -> Frizzled имеет продолжение в виде активирования фосфолипазы, расщепляющей фосфолипид с образованием вторичных мессенджеров, воздействующих на кальциесомы и позволяющих тем самым выход из них ионов Ca+2 в цитозоль.

5) **Трансдукционная цепочка Hedgehog – Рatched.** В отсутствие паракринного фактора Hedgehog рецептор **Рatched** связан с белком Smoothened, который является генератором трансдукционного сигнала, причем несвязанный с лигандом Рatched подавляет генерацию сигнала. Когда белок Hedgehog связывается с Рatched ингибирование Smoothened прекращается вследствие изменения конформации белка Рatched, и сигнал генерируется. Структура дальнейшей цепочки сигнала выглядит следующим образом. Если Smoothened ингибирован, транскрипционный фактор Ci посредством белков Cos2 и Fused прикрепляется к микротрубочкам. В таком прикрепленном состоянии он расщепляется при участии белков PKA и Slimb. Отщепившаяся часть способна проникать в ядро и садиться на промоторы и энхансеры генов, зависимых от индуктора Hedgehog и обеспечивать ингибирование их транскрипции.

При соединении Hedgehog с Рatched последний более не ингибирует Smoothened и Smoothened приобретает киназную активность и, по-видимому, фосфорилирует белки Сi, Cos2 и Fused. Это мешает связыванию Ci с микротрубочками и нерасщепленный Ci проникает в ядро, соединяется с белком CBP и такой димер сязывается с промоторами и энхансерами тех же генов, но выступает на этот раз как активатор их транскрипции.

Цепочка, начинающаяся с Hedgehog-Рatched очень важна для развития мозга и конечностей. Мутации генов белков цепочки ведут к серьезным уродствам. Мутации гена Sonic Hedgehog у мышей в гомозиготном состоянии вызывают циклопию и грубые нарушения развития конечностей. У человека известна мутация гена GLI3, соответствующего гену Ci других позвоночных. Делеция большой части этого гена вызывает дисфункцию соответствующего белка с развитием синдрома Грига (цефалосиндактилия – одновременное поражение мозга с развитием патологически высокого лба и срастания пальцев). Делеция только активаторной части GLI3 имеет еще более тяжелые последствия: недоразвитие анального отверстия, почек, гипофиза и гипоталамуса, лишние пальцы (синдром Паллистера-Холла). Есть мутация гена Patched, которая приводит к дисфункции белка, т.е. к его неспособности ингибировать активность smoothened. Это приводит к эктопической экспрессии генов, в норме включаемых Sonic hedgehog, т.е. в тканях, где они в норме не действуют. Экспрессия этой мутации в эпидермисе ведет к развитию рака базальных клеток. Одна из доминантных мутаций этого же гена помимо множественных раков приводит к развитию nevus, слиянию пальцев, аномалиям ребер и лица. Интересно, что в этой цепочке большую роль играет холестерин. Он, во-первых, нужен в процессе расщепления первоначального продукта трансляции Hedgehog с образованием аминоконцевого сегмента, который в связанном с холестерином виде, собственно, и является паракринным фактором, способным диффундировать на расстояние 30 диаметров клеток. Во-вторых, присутствие холестерина необходимо для функционирования белка Рatched. Поэтому, нет ничего удивительного, что как наследственные факторы (мутация генов ферментов синтеза холестерина), так и средовые факторы (яд растений рода Veratrum, поедаемого овцами), подавляющие синтез холестерина способны вызвать циклопию, как и мутация гена Hedgehog.

6) **Трансдукционная цепочка апоптоза.**За анализ цепочки апоптоза у нематоды Caenorhabditis elegans С. [Бреннер](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library:0134750:article), Б.Хорвиц и Дж.Салстонбыли удостоены Нобелевской премии 2002 года. Их исследования позволили разобраться и в апоптозе у позвоночных, механизмы которого оказались гомологичны тем, которые найдены у нематоды.

В разных тканях начальные звенья цепочки могут быть различны. В частности, в качестве паракринного фактора для апоптоза в зачатке зуба (в эмалевом органе после завершения формирования коронки) выступает BMP4. Гомологию обнаруживают прежде всего средние части цепочки и сами протеазы. Протеазе (каспазе 9 или 8 позвоночных, СED-3 нематоды) предшествует в цепочке белок-активатор протеазы (у позвоночных это Apafl в неронах и Fadd в лейкоцитах, CED-4 нематод). Белкам-активаторам протеаз предшевствуют белки-ингибиторы белков активаторов (в нейронах позвоночных Bcl2 , CED-9 нематод). Следовательно, в начале цепочки запуска апоптоза должен сработать ингибитор ингибитора активатора протеазы (в нейронах позвоночных Bik, у нематоды EGL-1 ). Гомология нематодного белка CED-9 и белка нейронов позвоночных Bcl2 столь велика, что введение в клетки нематод Bcl2 предотвращает нормальный апоптоз в них, т.е. эти белки взаимозаменяемы.

Сигналы на предотвращение апоптоза клеток предшественников эритроцитов начинаются эритропоэтином и на начальных этапах передаются по цепочке JAK-STAT. В меланоцитах транскрипционный фактор Mitf , составляющий звено цепочки рецепторной тирозинкиназы с запуском цепочки через фактор стволовых клеток запускает не только ген фермента синтеза меланина – тирозиназы, но и транскрипцию гена Bcl2, предотвращая тем самым апоптоз меланоцитов.

Помимо паракринных индукторов существуют контактные индукторы, в качестве которых могут выступать белки, входящие в сотав цитомембран клеток-индукторов, к которым у реагирующих клеток имеются рецепторы. Примером является цепочка Notch, где под влиянием лиганда – домена цитомембранного белка, “торчащего” из мембраны наружу, рецеторный белок Notch мембраны соседней клетки отделяет часть своего домена, “торчащего” в цитоплазму. Этот фрагмент входит в ядро, связывается с белком ядра CSL и и превращает его в активный транскрипционный фактор. Эта индукция пускает клетку на путь дифференцировки в глию, но запрещает дифференцировку в нейрон.

Другой вариант контактного индуктора – элементы структуры межклеточного матрикса (например, коллагеновые волокна базальной мембраны) к участкам молекул которого есть рецепторы в реагирующей клетке, приходящей в контакт с матриксом. Рецепторами могут быть белки-интегрины, связывающиеся одновременно с внеклеточными волокнами (например, фибронектинами) и внутриклеточными “подмембранными” волокнами актина (через белок актинин или талин). Значение межклеточных субстратов в индукции дифференцировки показано для гепатоцитов, семенника и молочной железы, а также для подавления апоптоза в некоторых тканях, например, в хондроцитах. Апоптоз хондроцитов грудины цыпленка можно спровоцировать, блокируя антителами связь интегринов с внеклеточным матриксом. Контакт между клетками культуры молочной железы и волокнистого внеклеточного белка ламинина индуцирует транскрипцию генов дифференцировки, в частности гена b-казеина и гена белка р-21, подавляющего митозы.

Вещества-индукторы могут присутствовать и в цитозоле клеток-индукторов, оказывая индуцирующее влияние через щелевые контакты, т.е. через “трубочки”, проходящие сквозь мембраны обеих соседних клеток и ведущие из цитозоля одной клетки прямо в цитозоль другой клетки. Эти трубочки построены из белков коннексинов, специфичных для разных тканей. Выключение одного из генов (коннексина-43) белков щелевых контактов у мышей приводит к заполненности правого желудочка сердца тканью и неспособности его прокачивать кровь через легкие, а следовательно к немедленной смерти новорожденного мышонка, у которого одновременно наблюдаются и дефекты уха. У 8-бластомерного мышиного зародыша обработка его антителами против коннексинов приводит к сохранению низкой адгезии клеток (нет компактизации клеток эмбриона). Клетки продолжают делиться, но развитие эмбриона (дифференцировка) прекращается. Введение антисмысловой РНК коннексинов в один из 8 бластомеров мыши препятствует формированию им щелевых контактов и приводит к исключению его из состава клеток развивающегося эмбриона. Введение антител против коннексинов в один из 8 бластомеров дробящейся зиготы лягушек не исключает эту клетку из состава эмбриона, но ткани, формирующиеся в эмбрионе из этого бластомера оказываются анатомически дефектными ( в частности не развивается глаз, на той стороне промежуточного мозга, которая сформировалась из данного бластомера, тогда как на противоположной стороне тела глаз нормально сформировался из симметричного интактного бластомера).

7) **Диффузионно-реакционная модель дифференцировки**.

Выше мы упоминали о том, что наряду с дифференцировкой строго привязанной к конкретному месту на теле животного встречается и дифференцировка стохастического характера. Примером могут служить пятна и полосы в волосяном покрове млекопитающих, не привязанные четко к определенной анатомической позиции на поверхности тела. Они могут быть асимметричными на левой и правой половинах тела (леопард, зебра). Их механизм индукции связывают с диффузионно-реакционной моделью Тьюринга.

Суть ее можно представить на неплохо изученной живой модели миксомицетов. Жизненный цикл миксомицетов выглядит следующим образом. На поверхность пня, где активно размножаются бактерии и постепенно разрушают ее, ветер заносит одноклеточные споры миксомицетов, из которых выходят амебоидные вегетативные клетки, фагоцитирующие бактерий и делящиеся по мере роста на новые и новые дочерние клетки, продолжающие питание амебами. Когда размножившиеся амебы уничтожают окружающие их бактерии, они начинают голодать и приступают к формированию плодового тела. Какие-то единичные амебы разбросанные по поверхности пня первыми начинают испытывать голод. Это служит для них сигналом начала “ организации” совместно с окружающими их клетками-амебами плодового тела. Первые голодающие клетки выделяют во внешнюю среду циклический аденозинмонофосфат (цАМФ) (рис. 9), несущий две главные функции:

1. он привлекает амеб, т.е. служит для хемотаксиса, заставляющего амеб ползти в ту сторону, откуда пришла волна диффузии, т.е. к первой амебе отреагировавшей на голод,
2. он заставляет амеб, принявших этот сигнал, в свою очередь, выделять цАМФ, т.е. “ретранслировать” полученный сигнал.

После короткого периода выделения сигнала клеткой наступает пауза в выделении сигнала и через несколько минут выделение возобновляется. Голодающие амебы выделяют и фермент, разрушающий цАМФ, что предотвращает насыщение среды вокруг амеб этим аттрактантом. Это помешало бы амебам устойчиво ориентироваться в своем движении в сторону первой клетки подавшей сигнал. Вслед за волной фермента, разрушающего цАМФ, вновь приходит волна “ретрансляции цАМФ” со стороны амебы, первой “издавшей” сигнал, что позволяет остальным амебам вновь сориентироваться в ее направлении и вновь временно потерять его после

Рис.9

наступления паузы в секреции цАМФ. В пространстве вокруг амебы – инициатора в каждый данный момент можно видеть как бы концентрические чередующиеся слои амеб сориентированных на клетку инициатор и дезориентированных, по отношению к ней. Слой с ориентированными амебами содержит градиент концентрации цАМФ от клетки-инициатора наружу, а слой дезориентированных амеб представлен областями, где наступила пауза секреции цАМФ, и он был разрушен ферментом.

Все это приводит к сползанию амеб с определенной части поверхности пня к этой амебе-инициатору. Здесь в них включается синтез белков клеточной адгезии и они склеиваются в целостное колбасовидное образование, способное ползти уже как целое некоторое время в сторону одного из концов. После этого “колбаса” становится вертикально, и из части верхних клеток образуются споры, а остальные служат ножкой этого плодового тела.

Детальное изучение развития миксомицетов представляет собой исключительные интерес для общей биологии развития как модель целого ряда сторон морфогенеза. Укажем только на некоторые из них.

1) Организм – плодовое тело может рассматриваться как спонтанно развивающаяся химера, так как клетки, из которых он формируется, не являются клоном, происходящим из единственной клетки-зиготы, и вполне могут иметь генетические отличия друг от друга в рамках тех, которые существуют между разными особями одного вида. Действительно, ведь споры на пень могли прилететь из разных плодовых тел.

Впрочем, тоже можно было бы сказать и о других грибах, образующих плодовое тело из “срастающихся” гиф, каждая из которых является клоном, но разные гифы происходят из спор, генетически не обязательно идентичных друг другу.

2) Интегрированная “организменная” структура – плодовое тело образуется из первоначально самостоятельных независимых организмов – амеб, которые складываются в многоклеточный организм вторично, и тем не менее претерпевают, хотя и относительно простую, но дифференцировку на разные ткани.

3) Где именно на поверхности пня возникнут центры агрегации амеб, а, следовательно, и места образования плодовых тел, определяется стохастически (случайно).

4) Механизм агрегации амеб в плодовое тело включает в себя секрецию стохастически детерминированными клетками-инициаторами хемотактического аттрактанта (он же индуктор ретрансляции сигнала соседним амебам) и ингибитора этого индуктора, т.е. проявление в популяции амеб важных сторон реакционно-диффузионной модели Тьюринга.

На достаточно крупном пне возникают несколько таких центров, куда сползаются амебы, и, соответственно, образуется несколько плодовых тел, в которые собираются все амебы, питавшиеся на пне.

Применительно к окраске поверхности тела животных приложение модели Тьюринга сводится к следующему. В эмбриональной коже стохастически возникают очаги опережающего созревания клеток (возможно даже отдельных клеток) для перехода на очередную новую стадию дифференцировки. В этих очагах начинается синтез индукторов, диффундирующих из этих очагов и включающих способность участков кожи, куда они проникли, поддерживать в дальнейшем пигментацию волос на них. Одновременно, вернее, с небольшой задержкой эти же очаги выделяют ингибитор пигментации, который диффундирует быстрее, обгоняя диффузионную волну индуктора. В тех областях, куда волна индуктора приходит позже, чем волна ингибитора, синтез меланина предотвращается или ослабляется (вместо черного пятна или полосы формируется белый или желтый участок). Если отношение скоростей диффузии индуктора и его ингибитора к площади кожи эмбриона (естественно, на стадии, когда эта диффузия имеет место у эмбриона), очень велико, то черные пятна окажутся крупными и немногочисленными. В противном случае появляются многочисленные мелкие пятна. Если форма зачатка кожи или части этого зачатка на момент диффузии узкая и длинная, индуктор успевает распространиться влево и вправо по всей полуокружности тела, и формируются не пятна, а полосы. Немало пятнистых животных имеют полосатые хвосты (пятна на широких участках шкуры переходят в полосы на узких) (рис. 10).

Возможный список процессов морфогенеза, которые можно было бы истолковать на базе модели Тьюринга, включает такие, как образование волосяных фолликулов, нефронов и др. Мы знаем, что индуктором волосяного фолликула даже во взрослой коже, лишенной волос, может быть соединительнотканный сосочек луковицы, пересаженный под эпидермис. Развитие самого сосочка происходит путем местного уплотнения популяции

Рис.10

мезенхимных клеток кожи. Почему же уплотнение произошло именно в тех местах, где мы видим сосочки, а не в промежутках между ними? По всей вероятности, и здесь раньше, чем в других местах появилась клетка-инициатор, хемотаксически или иным способом, привлекающая соседние клетки, которые сползаются к ней, причем какая из клеток мезенхимы раньше других “созревает” для подачи хемотаксического сигнала определяется стохастически (является делом случая).

Стохастическая структура цветных пятен может возникать и под влиянием генетических различий между клетками или из-за действия относительно стабильных эпигенетических различий. В первом случае речь идет об искусственно создаваемых путем соединения генетически отличающихся друг от друга по генам окраски эмбрионов в единый химерный “четырехродительский” организм (опыты Минца). В этом случае стохастично (случайно) только, какая из закономерно образующихся полос является клоном первичных пигментных клеток с разным генотипом по окраске, так как меланоциты полосы являются потомками единственной клетки, которая может принадлежать либо белой, либо пигментированной линии мышей. Возможно и спонтанное возникновение клона клеток эмбриона с мутацией гена масти и образованием пятна или полосы.

Эпигенетически мозаичные клоны могут возникать за счет генетического импринтинга (например, метилирования ДНК Х-хромосом отцовского происхождения или материнского происхождения в разных клонах). Дело в том, что у плацентарных млекопитающих на ранних эмбриональных стадиях развития женского организма, когда общее число клеток не превышает нескольких сотен, каждая из клеток несет, как известно, 2 женские половые Х-хромосомы: одну от отца и одну от матери, причем обе потенциально функциональны. Позднее в каждой клетке происходит метилирование ДНК одной из двух хромосом, причем большая часть генов метилированной хромосомы оказывается, тем самым, инактивированной в плане транскрипции. Которая из двух Х-хромосом инактивируется в той или иной клетке раннего эмбриона: материнская или отцовская, является делом случая. Каждая из клеток раннего эмбриона впоследствии, размножаясь, образует клон, причем клетки клона сохраняют метилированность (инактивированное состояние) той же Х-хромосомы, которая была инактивирована у клетки-основателя клона. В этом смысле женский организм плацентарных млекопитающих можно рассматривать как мозаичный, так как он состоит из смеси клонов с активной отцовской и с активной материнской хромосом. Мужские организмы, клетки которых содержат только одну (материнскую) Х-хромосому, такого мозаицизма лишены. Х-хромосома, по крайней мере у кошек и, возможно, морских свинок несет ген, участвующий в детерминации окраски волосяного покрова. Это видно из существования кошек самок так называемой черепаховой масти, т.е. масти, включающей желтые и черные пятна (часто наряду с белыми пятнами). Самцы такой масти не встречаются (т.е. они либо черные, либо желтые). Это связано с тем, что у самок на разных участках волосяного покрова присутствуют разные клоны клеток : с активной отцовской Х-хромосомой или с активной материнской Х-хромосомой, несущими аллели разной масти (желтой или черной). Локализация пятен на шкуре отражает случайности распределения клонов клеток с активными материнскими или отцовскими Х-хромосомами по поверхности шкуры. Для понимания стохастического характера позиционной информации в этом случае важное значение может иметь опыт клонирования трехцветной (черепаховой) окраски кошки, аналогичный тому, который свелся к получению овечки Долли.

Хотя родившийся котенок также оказался трехцветным, расположение желтых и черных полос не соответствовало таковому кошки, от которой взято ядро. Это означает, что ядро при переходе в состояние дедифференцированности потеряло и клональную дифференцировку по активности только одной из двух хромосом. Позднее соответствующие клоны возникли заново (так как у котенка вновь проявились и желтые, и черные пятна). Это означает, что у котенка заработала не только Х-хромосома, которая была активна в пересаженном ядре, но и Х-хромосома от второго родителя, несущая аллель иной масти. С другой стороны, распространение по коже клонов с разными активными Х-хромосомами, у котенка вновь было стохастическим, несвязанным с распространением желтых и черных пятен и кошки, от которой взяли ядро. Поэтому рисунок полос котенка и наследственно идентичной ему взрослой кошки не соответствовали друг другу (Рис. 11), пройдя путь независимого стохастического распределения по поверхности кожи в ходе онтогенеза.

Рис.11

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Цитофизиологические основы клеточной дифференцировки и эпигенетической наследственности клетки. Специфическая роль генома в развитии**

Разные исследователи подходят не одинаково к понятию клеточной дифференцировки. Одни подчеркивают закономерное появление морфологических и цитохимических отличий в части клеток первоначально однородной популяции, позволяющих их отличить от остальной части популяции. Другие делают акцент на утрате способности клетки к делению как признака окончательной дифференцировки и т.д. Большинство однако, согласно в том, что дифференцировка в определенном направлении предполагает определенный набор экспрессирующихся генов, специфичный для каждого направления дифференцировки, а, следовательно, на присутствие в клетке определенного “ансамбля” белков, обеспечивающих возможность осуществления клеткой определенных функций. Во многих случаях клеточная физиология обеспечивает устойчивое самоподдержание (хотя бы периодического) экспрессии этого специфического для типа клеточной дифференцировки набора генов. Эта способность к самоподдержанию экспрессии лишь определенного набора генов нередко называют эпигенетической наследственностью клеток.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Общие представления о молекулярно-биологической основе функционирования генов**

Структурной единицей наследственности является ген, а совокупность генов, свойственных данному организму называют геномом. Понятие ген родилось задолго до появления молекулярной генетики. Однако, благодаря успехам последней, да и успехам классической генетики и цитогенетики стало куда более конкретным (детали структуры гена). С другой стороны, оно стало более размытым (некоторая неопределенность границ гена, в частности, считать ли промоторную нетранскрибируемую область, служащую для регулирования транскрипции, и транскрибируемые, но не транслируемые интронные участки частью гена). С одной стороны, мы знаем, что ген представляет собой участок очень длинной молекулы ДНК, состоящей из двух нитей ковалентно связанных нуклеотидов, причем обе нити совместно образуют двойную спираль и удерживаются друг около друга в определенном положении (аденин одной нити против тимидина другой, а цитозин против гуанина) более слабыми, чем ковалентные, связями. Некоторые сегменты одной из нитей (“антисмысловой”) способны после разъединения этих слабых связей служить матрицей для синтеза рибонуклеиновых кислот (“процесс **транскрипции**”), в том числе информационных РНК, служащих позднее матрицами для синтеза молекул белка (процесс “**трансляции**”). Порядок рибонуклеотидов (в таких синтезированных на антисмысловой нити ДНК) РНК оказывается сходным с порядком дезоксирибонуклеотидов во второй (“смысловой”) нити ДНК ( с поправкой на замену тимидина в ДНК на урацил в РНК). Поэтому синтезированная РНК также называется смысловой. Смысловая ДНК служит матрицей для синтеза копии антисмысловой нити ДНК . Соответственно, антисмысловая нить ДНК, наряду с ранее упомянутой функцией в процессе транскрипции, служит также матрицей для синтеза смысловой нити ДНК. Результатом синтеза при помощи смысловой нити ДНК антисмысловой, а при помощи антисмысловой нити синтеза смысловой является копирование всей ДНК обоими нитями (процесс “**репликации**”).

У некоторых бактерий и вирусов возможна транскрипция и смысловой нити ДНК с образованием антисмысловой РНК, которая комплементарно связываясь со смысловой РНК, блокирует ее трансляцию, чем достигается, в частности, регулирование скорости трансляции (т.е. синтеза белка) в клетке.

Таким образом, если под геном понимать только транскрибируемую его часть, то с точки зрения физиологии клетки каждый ген имеет всего две основные функции, каждая из которых передается одним термином (правда, весьма емким): **репликация**и **транскрипция.** При этом участие в транскрипции принимает только антисмысловая нить ДНК, и, следовательно, только она является геном. В то же время к самокопированию способны только смысловая и антисмысловая нити ДНК в совокупности. В этом смысле геном является только 1я + 2я нити. Детально явления, соответствующие этим терминам излагаются в курсе молекулярной биологии. Мы же обратим внимание лишь на некоторые моменты, наиболее существенные с точки зрения понимания онтогенеза.

**Репликация** – процесс самокопирования ДНК, т.е. синтез ДНК из раствора нуклеотидов при непосредственном участии уже имеющейся ДНК, предопределяющей порядок расположения полимеризующихся в новую молекулу ДНК нуклеотидов раствора. Собственно, репликация ДНК происходит не в границах каждого гена, а в более длинных, чем ген, участках молекулы ДНК . Молекулой ДНК, по существу, является вся ДНК хромосомы, длина непрерывной нити ДНК которой у человека измерялась бы в распрямленном виде сантиметрами. Эти крупные участки ДНК хромосомы, подвергающиеся репликации, включают как ряд генов, так и другие части хромосомы, генов не содержащие. Участки разделены особыми сегментами ДНК хромосомы, называемыми точками начала репликации. В каждой хромосоме их обычно несколько и не все гены реплицируются одновременно. Сам процесс репликации осуществляется при участии крупных белковых молекул фермента ДНК-полимеразы путем разъединения смысловой и антисмысловой нитей ДНК, присоединения к ним свободных нуклеотидов нуклеоплазмы, комплементарных составляющим нить нуклеотидам, и сшивания их в новую нить ДНК- полимеразой, движущейся по мере этого сшивания вдоль уже существующей нити от стартовой точки репликации до следующей такой точки.

Для ранних стадий эмбриона характерно деление всех составляющих его клеток, причем, каждая клетка получает по полному диплоидному комплекту всех хромосом1. Но, чтобы обе дочерние клетки предшествующей им материнской могли получить по диплоидному комплекту всех хромосом, в материнской клетке с каждой из хромосом должна быть снята копия, т.е. пройти репликация.

Не считая стадии дробления оплодотворенной яйцеклетки – зиготы (когда размеры клетки по мере деления соответственно уменьшаются), перед делением клеток в них должно удвоиться и содержание всех других молекул от воды до белков и РНК. Это удвоение молекул не носит, однако, характера самокопирования. Структурно неспецифичные для вида животных и индивида молекулы (вода, глюкоза и т.п.) поступают в готовящуюся к делению клетку извне в готовом виде или образуются в клетке на основе более или менее универсальных для всех видов биохимических процессов. Видоспецифичные и специфичные для индивида молекулы (такие биополимеры как информационные РНК, белки, некоторые углеводы, определяющие группу крови) требуют для своего образования структурной информации, заключенной вне этих молекул. Иными словами, в молекуле белка или РНК многоклеточных организмов информация об их структуре **не содержится в форме, которая может быть использована для их самокопирования.** Другое дело ДНК. Именно структура молекулы ДНК пригодна для самокопирования. Конечно, самокопирование – репликация идет при участии других молекул, в основном фермента ДНК- полимеразы, которые не определяют сами по себе, однако, конкретную структуру ДНК, т.е. информационный компонент генов – порядок расположения А-Т и Г-Ц пар в молекуле.

(1 Исключение составляют только немногие виды, где в клетках, не являющихся предшественниками половых клеток, часть хромосомной ДНК “выбрасывается” из ядер и дегенерирует – “диминуция хроматина”.)

**Одна и та же полимераза** обеспечивает копирование **разных ДНК,** а порядок нуклеотидов во вновь синтезируемых ДНК определяется последовательностью нуклеотидов в уже существующей ДНК материнской клетки и никак иначе.

Но, если *само*копирование структуры РНК, белков и др. видоспецифических молекул невозможно, то какие молекулы несут эту структурную информацию, без которой не может быть синтезирована ни одна из молекул РНК и белка? Как известно, молекулы РНК синтезируются, как и молекулы ДНК, *непосредственно* на молекулах ДНК (процесс **транскрипции),** которые, тем самым являются и носителями структурной информации не только о самих себе, но “по совместительству” и о структуре РНК. Молекулы же белка синтезируются на молекулах информационной РНК (процесс **трансляции**) с участием рибосом (играющих роль “аминокислот-полимеразы”, во многом аналогичную той, которую при репликации играет ДНК-полимераза, а при транскрипции РНК-полимераза). Таким образом, хотя ген **непосредственно**(как “химический реактив”) в синтезе молекул белка участия не принимает, но структура молекул белка определяется все же именно геном через определение структуры информационной РНК.

Все три процесса: репликация, транскрипция и трансляция предполагают участие химического процесса полимеризации, т.е. соединение ковалентными связями в длинную цепочку элементарных компонентов (мономеров), нуклеотидов в случае НК и аминокислот в случае белка. При репликации (т.е. синтезе ДНК) в цепочку соединяются 4 типа нуклеотидов, имеющих в своем составе дезоксирибозу), при транскрипции (синтез РНК – 4 типа нуклеотидов, имеющих в своем составе рибозу) и при трансляции (синтез белка) – 20 типов аминокислот. Соединение мономеров осуществляется ферментами, соответственно, ДНК-полимеразой, РНК-полимеразой и рибосомой. Во всех случаях для начала полимеризации фермент должен соединиться с готовой молекулой биополимера, на которой и пойдет сборка новой молекулы биополимера. При репликации ДНК- полимераза присоединяется к определенным участкам молекулы ДНК – стартовым точкам репликации (их несколько на каждой хромосоме). При транскрипции РНК-полимераза присоединяется к характерному участку у “начала” транскрибирующейся части каждого гена. Таких участков на хромосоме столько, сколько в ней генов. При трансляции рибосома присоединяется к “началу” молекулы информационной РНК.

Далее к молекуле ДНК или иРНК в области ее связи с соответ-ствующими молекулами полимераз или рибосом по принципу комплементарности один за другим присоединяются нуклеотиды (или в случае трансляции транспортные РНК, связанные с аминокислотами). Полимеразы (или рибосомы) сшивают их друг с другом, после чего сами полимеразы (или рибосомы) скользят, как бусины по нитке, вдоль ДНК (или при трансляции вдоль иРНК), где к ДНК (или иРНК) присоединяются новые мономеры , которые сшиваются полимеразами с ранее сшитыми друг с другом участками синтезируемой молекулы, и так далее пока полимераза (или рибосома) не достигнут точки, где они “отцепляются” от молекулы ДНК (или иРНК).

Таким образом, с точки зрения клеточной биологии ген имеет две основные функции: **репликацию** и **транскрипцию**. В этих процессах ген участвует непосредственно, т.е. как химический “реактив” или, скорее, своеобразный “катализатор”, направляющий химический процесс синтеза ДНК и РНК в строго определенное русло. Эти функции не специфичны для биологии развития, так как обеспечивают, в первую очередь, саму жизнеспособность клеток и в полной мере присутствуют и у Protozoa, например, у амеб, где нет процесса эмбрионального развития.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Цитофизиологическая основа функционирования генов**

Достаточно очевидно, что каждый ген клетки не может функционировать вне связи с общим ходом клеточных процессов. Ведь даже процессы репликации и транскрипции одного и того же гена не могут протекать одновременно, а только по очeреди. Следовательно, оба эти процесса должны управляться сигналами, поступающими к гену от других структур клетки.

Каким же образом ген принимает эти сигналы? Непосредственным результатом приема этих сигналов для начала транскрипции должно быть присоединение РНК-полимеразы к “началу” гена, т.е. подлежащему транскрипции участку ДНК. Для начала репликации, соответственно, это присоединение ДНК-полимеразы к стартовой точке начала репликации того участка хромосомы, в котором находится данный ген. От чего же зависит присоединятся эти ферменты к соответствующим участкам в данный момент или нет?

Общее правило молекулярной биологии в отношении главных биополимеров клетки сводится к тому, что управление их активностью осуществляется посредством изменения их конформации (формы молекулы в реальных условиях водного раствора цитоплазмы или кариоплазмы). Конформация чаще всего изменяется в результате присоединения (или отсоединения) к биополимеру других молекул, в том числе, и молекул других биополимеров. Мы знаем, что двойная спираль ДНК в составе хромосомы сложно упакована и связана с белками-гистонами, присутствующими в ядре. Все это затрудняет или делает невозможным присоединение упомянутых выше полимераз.

Следовательно, для начала транскрипции или репликации необходимы: а) наличие в достаточной концентрации самих полимераз, б) приведение конформации самого гена в состояние, когда он может присоединять РНК полимеразу и позволять ей функционировать. Каким же образом гену придается необходимая для начала транскрипции конформация? В настоящее время известно, что это в значительной мере достигается при участии белков так называемого **транскрипционного комплекса (ТК)**, способных избирательно присоединяться к определенным местам нити ДНК, расположенным перед началом транскрибируемой части гена (**промотор** гена) или даже на значительном расстоянии от гена, в том числе и по другую сторону гена (**энхансер**). Среди белков ТК есть активаторы процесса транскрипции (“дерепрессоры”) и ингибиторы этого процесса (“репрессоры”). Активированный энхансер может в разной степени ускорять процесс транскрипции. По крайней мере, в некоторых случаях, включение транскрипции гена предполагает присоединение к промотору гена комбинации из нескольких белков транскрипционного комплекса (рис. 12).

Рис.12

Таким образом, чтобы запустить транскрипцию гена (“включить” его), клетка должна открыть своего рода “кодовый замок” – промотор и энхансер, соединив с ними в определенных его местах “сайтах” группу белков ТК. Присоединение к промотору и энхансеру белков ТК позволит РНК- полимеразе “сесть” на начало транскрибируемого участка гена и приступить к синтезу соответствующей РНК, а активированный таким же образом энхансер ускоряет этот процесс.

Добавочным средством регулирования транскрипции гена может служить метилирование нуклеотидов (в частности, цитозина при условии, что в цепи ДНК он соседствует с гуанином) в промоторах некоторых генов (рис. 13) . Метилирование делает невозможным присоединение белка ТК и тем самым предотвращает транскрипцию гена. Метилирование нуклеотида осуществляется ферментом метилазой, специфически связывающейся с промотором определенного гена или промоторами определеной группы генов. Фермент отделяет один из водородных атомов цитозина и на его место устанавливает метильную группу СН3. Метилирование промотора не мешает репликации ДНК, т.е. ДНК-полимеразе движущейся по ДНК. В процессе репликации метилированной группы ГЦ...CH3 возникает, соответственно, неметилированная ...ЦГ... группа, которая, по-видимому, подвергается метилированию по цитозину с помощью неспецифической (по отношению к конкретным промоторам) метилазой, что делает метилированное (выключенное) состояние воспроизводимым при делении клеток.

Рис.13

На метилировании ДНК основано явление генетического импринтинга, которое сначало воспринималось как любопытная частность, а по мере развития исследований ему придают все большее значение, так что само это явление и родственные ему по механизму явления, наиболее радикально мыслящие биологи истолковывают как конец генетики и замену ее эпигенетикой. Суть генетического импринтинга, характерного, по крайней мере, для млекопитающих, сводится к следующему. Растет по мере исследований список генов, которые подвергаются стойкой репрессии метилированием их промоторов на стадии формирования либо мужской, либо женской гаметы. Эта метилированность может сохраняться у некоторых генов на протяжении всей жизни организма, развившегося из зиготы, образованной с участием данной гаметы, т.е. данный ген в этом поколении не транскрибируется. Естественно, если метилируется промотор данного гена в сперматозоиде, в яйцеклетке гомологичный промотор гомологичного гена не метилируется и ген активно функционирует. Этого достаточно для нормального развития, как достаточно для развития мужского организма единственного комплекта генов Х-хромосомы. Вторая Х-хромосома в клетках мужского пола отсутствует. У женщин в каждой клетке две Х-хромосомы, но почти все гены в одной из них репрессированы с помощью метилирования промоторов. В качестве примера можно привести ген белка – фетального ростового фактора Igf2, репрессируемый метилированием в той хромосоме, которая пришла в зиготу со стороны матери. В клетках развивающегося эмбриона этот ген транскрибируется только в гомологичной хромосоме привнесенной в зиготу сперматозоидом. Наоборот, ген белка-рецептора к этому ростовому фактору, т.е. Ifg2r, стабильно репрессирован в хромосоме, привнесенной сперматозоидом, но активен в хромосоме, привнесенной в генотип зиготы яйцеклеткой. Таким образом, нормальная доза гена не 2 аллеля на клетку, а 1 аллель на клетку. В патологических случаях может произойти дерепрессия второго (материнского) гена Ifg2, т.е. удвоение дозы гена, что грозит развитием рака прямой кишки. Таким образом, в норме, хотя “физически” в кариотипе присутствуют и отцовский, и материнский аллель, функционально организм является гемизиготным по данному гену, так как транскрибируется только отцовский аллель.

Сама по себе **транскрипция** гена не гарантирует осуществления функции, кодируемого им белка. Осуществление этой функции предполагает цепь молекулярных событий, которые далеко не всегда, безусловно следуют одно за другим, но наступают лишь при определенных условиях, служащих нередко регуляторами функции такого белка. Главные из этих событий: **процессинг** синтезированной в ходе транскрипции ядерной РНК (яРНК) и ее выход сквозь “поры” ядерной мембраны в цитоплазму, ее **трансляция** (т.е. синтез белка) при участии образующихся рибосом, формирование четвертичной структуры белка (объединение нескольких белков-субъединиц в сложный белок), **активация** белков при участии ферментов протеинкиназ или других молекул (например, внутриклеточных “гормонов” – вторичных мессенджеров типа ионов Са или цАМФ), активность которых в свою очередь регулируется **трансдукционными** сигналами, поступающими в клетку извне и т.д.

Вся совокупность этих процессов от транскрипции гена до выполнения активированной молекулой белка ее специфической функции нередко обозначается термином “**экспрессия гена**”, т.е. проявление гена. Этот термин заимствован из классической домолекулярной генетики, изучавшей неустойчивость связи между наличием гена в генотипе и проявлением признака, определяемого этим геном. В частности эти исследования привели к понятиям пенетрантности и экспрессивности гена.

В последние годы было показано, что после транскрипции гена продукт транскрипции – яРНК в одних тканях подвергается процессингу иначе, чем в других, что приводит к появлению в одних типах клеток одного варианта структуры белка, кодируемого данным геном, а в других типах клеток другого варианта белка. Более того, в разных типах клеток может транскрибироваться один и тот же ген, но в одном типе клеток его транскрипт, т.е. иРНК, “выпускается” из ядра для последующей трансляции (синтеза белка), а в другом типе клеток не выпускается из ядра и тем самым предотвращается экспрессия транскрибированного гена, что и приводит к дифференцировке разных тканей в эмбрионе.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Специфичная для онтогенеза Metazoa роль генов**

Специфичными для онтогенеза многоклеточных организмов являются процессы клеточной и органной дифференцировки.

Клеточная дифференцировка – появление морфологических и биохимических различий между первоначально одинаковыми клетками. Органная дифференцировка, или органогенез – формирование разных органов в первоначально однородных частях тела эмбриона, приобретающего при этом специфические для вида (или более крупных таксонов) варианты симметрии. Выше также указывалось, что сами по себе гены (одни и те же во всех клетках) принципиально не могут предопределить, например, с какой стороны у раннего эмбриона начнется развитие головы, а с какой хвоста. Такая категория, как **направление** к голове не может быть зашифровано в первичной структуре ДНК, одинаковой для всех клеток как будущей головы, так и хвоста.

Более того, невозможно с помощью генов, одинаковых во всех клетках, зашифровать сигнал, обеспечивающий включение в одних клетках одного набора генов, а в других – другого набора генов, что и приводит к биохимической и морфологической дифференцировке клеток. Этот процесс может быть или стохастическим, т.е. наступать, как одно из возможных случайных событий с той или иной вероятностью, или под влиянием складывающихся в ходе развития неоднородностей условий для первоначально одинаковых клеток. Например, условия в середине “кучи” клеток могут отличаться от условий на периферии “кучи” клеток, что может предопределить включение закономерно различных групп генов, например, из-за неодинаковой складывающейся концентрации индукторов, вырабатываемых в разных слоях кучи клеток.

Самыми ранними источниками сигналов для дифференцировки клеток могут быть **различия в концентрации** сигнальных веществ-морфогенов (на разных сторонах или в разных слоях эмбриона), к которым в клетках имеются молекулы-рецепторы. Последние запускают после соединения с этими морфогенами каскад внутриклеточных процессов, воздействующий тем или иным образом на активность определенных генов или их транскриптов и белков, соответствующих транскриптам. Такие различия часто называют градиентами концентрации, т.е. изменение концентрации от полюса к полюсу эмбриона или от поверхности эмбриона вглубь него. Такие градиенты могут стать теми первоначальными отличиями в условиях для разных клеток “кучи”, которые и приводят, в конечном счете, к дифференцировке первоначально одинаковых клеток. Иными словами, **градиенты могут быть формой кодирования в эмбрионе позиционной информации**, причем на основе количественных, а не качественных особенностей.

В технике передача информации об объекте на таком принципе называется аналоговым принципом кодирования. Громкость звука на звукозаписывающем фонографе Эдисона или на граммофонной пластинке, сделанной по тому же принципу, передавалась большей или меньшей разницей в глубине ямок и возвышенностей в бороздке, по которой бежит звукоснимающая игла. С появлением простейших магнитофонов громкость звука передавалась степенью намагничивания бегущей магнитной ленты и т.п. При тиражировании пластинок и магнитофонных записей легко возникают большие искажения из-за того, что точность аналогового копирования слишком зависит от изменчивых состояний и характеристик копирующих устройств. Для повышения контрастности и однозначности передачи информации в последние десятилетия в технике стали применять так называемое цифровое кодирование, где основные параметры передаваемого сигнала представлены не размытой “степенью выраженности признака”, а уровнем, представленным числом, которое при тиражировании информации передается однозначно, как тексты или цифровые таблицы с компьютера на компьютер.

Если бы аналоговый принцип передачи информации всегда строго выдерживался в ходе эмбриогенеза, то, пожалуй, не развивалась бы, скажем, голова и шея как две дискретные качественно различные структуры, а у переднего конца тела развивались бы преимущественно головные структуры, несколько каудальнее структуры, совмещающие некоторые признаки головы и шеи, а еще каудальнее преимущественно шейные структуры и т.д. У некоторых примитивных семейств цветковых растений со спиральным расположением лепестков и тычинок нет резких “качественных переходов” от лепестков к тычинкам, а наблюдается плавный переход от чистых лепестков без пыльников (характерных для тычинок) к лепесткам со слабо выраженными пыльниками, затем суженным лепесткам с резко выраженными пыльниками и, наконец, совсем узким тычинкам с развитыми пыльниками без признаков лепестка. Да и клетки имели бы характер не нейронов, эпидермиса и хрящевой клетки, а полунейрона и полухрящевой клетки. Такого хаоса удается избежать отчасти потому, что дифференцировка клеток есть активизация конкретных генов, которые являются, во-первых, дискретными (прерывистыми) структурами, а во-вторых, информация, в них содержащаяся, по способу тиражирования является “цифровой”, а не аналоговой. Ген тиражируется в форме конкретной последовательности вполне конкретных нуклеотидов (репликация), транскрибируется точно также на основе нуклеотидов другой природы, а транслируется в виде однозначной последовательности вполне определенных аминокислот. Декодирование позиционной информации на его позднем этапе проявляется как **включение определенного набора генов в клетках определенной локализации (места в теле) и типа (например, эктодермы или мезодермы).**

Достаточно очевидно, что действие генов на физиологию клеток реализуется через транскрипцию и трансляцию, т.е. через синтез определенных белков, соответствующих этому гену. В самом первом приближении можно классифицировать эти белки по их функциям следующим образом.

А. Белки универсальные или почти универсальные, присутствующие во всех (или почти всех) клеточных типах в сравнимых количествах (обычно небольших) и необходимые для поддержания жизнеспособности клеток (например, дыхательные ферменты цикла Кребса, белки цитоскелета ламины, поддерживающие структуру ядерной мембраны, гистоны, поддерживающие структуру хроматина и т.п.). Эти белки должны быть объектом общей клеточной биологии.

Б. Белки органо- или тканеспецифичные, т.е. присутствующие в одних органах и тканях, но отсутствующие (в сравнимых количествах) в других, где соответствующие им гены пребывают в неактивном состоянии (не “включены” или транскрибируются медленно) . Как уже говорилось выше, одним из важнейших аспектов биология развития является исследование потоков информации, обеспечивающих дифференцировку первоначально одинаковых клеток эмбриона. Эти белки можно условно разделить на:

Б1 – массовые белки главной функции, являющиеся важнейшим химическим субстратом специализированной функции данного типа клеток, например, актин и миозин мышечной клетки, гемоглобин эритроцита, кератины кератиноцита, секретируемые белки желез и т.п.

Б2 – белки менее массовые, обеспечивающие в самом широком смысле слова регулирование выполнения клеткой главной функции от включения и выключения генов тканеспецифичских белков (белки транскрипционного комплекса) до белков-рецепторов гормонов и эмбриональных индукторов, других белков цепей трансдукции, включая протеинкиназы, ферменты синтеза тканеспецифичных включений или гормонов (например, тирозиназы), белков, поддерживающих тканеспецифичную адгезию клеток (САМ) и т.п.

Необходимо иметь в виду, что тканеспецифичность белков группы Б далеко не всегда абсолютна. Иногда один и тот же белок- рецептор встречается в нескольких (но не во всех) тканях (только в тех, которые реагируют на выделение одного и того же гормона, например, в сердечной мышце, печени и жировой ткани есть рецепторы адреналина). Цитоскелетный белок актин встречается во многих типах клеток, но только в мышечной ткани он становится массовым белком, составляющим большую долю сухого веса клетки.

Одни и те же белки транскрипционного комплекса (ТК) также встречаются в разных тканях. Специфичны для тканей, скорее **комбинации** присутствующих в них белков ТК.

С этой точки зрения, **эпигенетическая наследственность** представляется основанной на присутствии в клетках каждого данного типа дифференцировки **определенной комбинации белков ТК*,*** которые и обеспечивают включение транскрипции определенной комбинации генов, специфичной для данного типа дифференцировки (в том числе, транскрипции генов самих белков ТК), а также на метилировании промоторов “ненужных” этим клеткам генов, обеспечивающим их репрессию. Впрочем, репрессию могут осуществлять и некоторые белки ТК. Гены белков, специфичных для **иных** типов клеточной дифференцировки, не транскрибируются потому, что список присутствующих в их ядрах белков ТК недостаточен для их включения. Однако, транскрипцию этих “ненужных” в данных типах клеток генов все же можно получить, если методами генной инженерии промоторы этих генов заменить на промоторы какого-либо из тех генов, которые в клетках данного типа транскрибируются. Так, например, фибробласты не синтезируют в норме фермент тирозиназу, необходимый для синтеза пигмента меланина. Но, если выделить ген тирозиназы, отделить его собственный промотор и на его место поставить промотор гена коллагена (активно работающего в фибробластах), а затем ввести такой преобразованный ген в фибробласты, эти клетки синтезируют тирозиназу и в них даже начинается синтез меланина.

Таким образом, эпигенетическая наследственность базируется как на тканеспецифичных комбинациях белков ТК, так и на “стереоспецифическом сродстве” с ними промоторов генов, “подлежащих” включению именно в данном типе клеток, причем это сродство должно обеспечивать такое изменение конформации гена, которое позволяет присоединение РНК-полимеразы к нему и начало транскрипции генов тканеспецифичной экспрессии. Очевидно, появление дифференцировки клеток в филогенезе предполагает “согласованную” коэволюцию белков ТК и промоторов и энхансеров определенных генов.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Хокс-гены(Hox- гены) как пример специализированных генов управления морфогенезом**

Особый интерес у специалистов по биологии развития вызвали белки транскрипционного комплекса (из группы Б2). В первую очередь внимание привлекли так называемые гены гомеобокса, или Хокс-гены, характеризующиеся наличием в их составе особого участка “гомеобокса”, кодирующего соответствующий “гомеодомен” молекулы белка. С помощью этого домена белок связывается с ДНК промоторов некоторых других генов, запуская их транскрипцию.

Один из Хокс-генов мушки дрозофилы попал в поле зрения генетиков благодаря найденной мутации с очень интересным, с точки зрения эмбриологии, эффектом: на месте одной конечности – обонятельных усиков насекомого антенн развивались также конечности, но соответствующие по строениям обычным “ходильным” ногам мухи, т.е. нормальный орган, но развившийся в сегменте тела, где должен развиться другой орган. Такие мутации были названы гомеозисными, откуда и название гены гомеобокса.

Хокс-гены присутствуют в геноме в виде серий из очень близких по строению, но все же не идентичных генов, которых в каждой серии насчитывается более десятка (у позвоночных). Hox-гены принято обозначать с указанием серии и номера гена в серии. Например, Нохc-6 означает, что данный ген относится к серии “с” и занимает в ней 6ю позицию, т.е. имеет N 6. Серии располагаются в разных хромосомах. У позвоночных 4 серии Hox-генов, а у дрозофил и даже ланцетника по одной серии (на гаплоидный набор хромосом).

Странным образом, порядок расположения Хокс-генов одной серии на хромосоме соответствует порядку расположения на туловище эмбриона (вдоль передне-задней оси тела) мест их экспрессии. Иными словами, ген, с которого в хромосоме начинается серия Хокс-генов, на постгаструляционных стадиях эмбриогенеза транскрибируется в головной области, гены, расположенные за ним транскрибируются в шейной области, следующие гены серии – в грудном отделе и так до хвостового отдела (рис. 14). Интересно, что граница зоны экспрессии каждого Хокс-гена со стороны переднего конца тела эмбриона выглядит резкой, а каудальнее концентрация продукта транскрипции постепенно падает и сохраняется на пониженном уровне в зоне транскрипции следующего по номеру Hox-гена (рис. 14).

Самое замечательное, с точки зрения биологии развития, заключается в том, что транскрипция каждого из Хокс-генов происходит в зачатках сразу нескольких тканей (нервной трубке, осевой мезодерме, поверхностной эктодерме, нервном гребне), но **в одном и том же сегменте тела зародыша**. На нескольких примерах исследователям удалось показать, что конкретные номера Хокс-генов серии начинают транскрибироваться при определенных уровнях концентрации веществ, образующих градиент концентрации в теле эмбриона, а включение определенного Хокс-гена обеспечивает синтез его белка, который соединяясь с определенными стереохимически комплементарными ему участками ДНК генома включает группы генов, ответственных за развитие определенных сегментов тела (например, шейного или грудного отдела тела животного). Роль градиентов концентрации определенных веществ в развитии определенных органов давно известна экспериментаторам- морфологам, но механизм действия этой концентрации оставался непонятным до глубокого анализа серий Hox-генов. Удивительна и универсальность для животного и отчасти даже для растительного мира Hox-генов и даже их серий. Во всяком случае доказана взаимозаменяемость некоторых Hox-генов мух и человека.

Рис.14

С точки зрения достигнутых и наметившихся представлений такие анатомические понятия, как **шея,** получают не только чисто анатомическое толкование, но и, по существу, молекулярно-генетическое. Например, “шея – это структура, развивающаяся в определенной части эмбриона, благодаря появлению в ней определенной концентрации “сигнального” вещества (повидимому, ретиноевой кислоты, выделяемой из клеток гензеновского узелка), более высокой, чем в головном отделе, и более низкой, чем в грудном отделе, что обеспечивает включение 4-5 го Хокс-генов соответствующей серии, в свою очередь, обеспечивающих включение каскада генов, необходимых для формирования именно шейных, но не головных или грудных структур”.

Этот прорыв в биологических знаниях был обеспечен работой на стыке ряда отраслей биологии при важнейшей роли молекулярной генетики и биологии развития, но с участием частной генетики мышей (в том числе генетики фенотипически идентифицируемых морфологических признаков), приобретшей давно общебиологическое значение, биохимии, гистохимии и др. При всей необычайной теоретической важности открытия генетических (включение конкретных генов-регуляторов других генов, т.е. “цифровое” кодирование информационного обеспечения развития) и негенетических (формирование градиентов концентрации “сигнальных” веществ, т.е. “аналоговое” обеспечение развития) механизмов **запуска** формирования конкретных анатомических структур остается еще очень много работы по объяснению хотя бы в общих чертах, что собственно происходит **после** запуска в ходе самого морфогенеза. Какие именно гены или комбинации генов должны быть задействованы под влиянием генов запуска, и в чем конкретно выражается функция кодируемых ими белков на уровне цитофизиологии и гистофизиологии, чтобы получился шейный отдел, так четко отличающийся от грудного при исследовании анатомическими методами?

На сегодня сколько-нибудь полного ответа на этот вопрос мы не имеем, хотя мало оснований сомневаться в том, что в этих процессах не последнюю роль играют белки клеточной адгезии (САМ) и управление в процессе морфогенеза транскрипцией соответствующих им генов, трансляцией и активацией самих синтезированных белков.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Общее представление о генетике развития**

Генетика развития – раздел биологии развития (и генетики), изучающий роль и механизм действия отдельных генов на процессы развития. Выступая в рамках традиционной генетики, генетика развития ставит задачу идентификации (выявления) генов, способных определять конкретный морфогенез или вариант морфогенеза. Традиционный метод работы – поиск наследуемых нарушений развития, вызванных мутациями, с последующим гибридологическим анализом и картированием гена в определенном локусе определенной хромосомы. В рамках биологии развития помимо этой задачи перед генетикой развития ставятся как минимум три другие задачи, а именно попытаться ответить на вопросы:

1. Когда (на какой стадии развития) экспрессируется ген?
2. Где (в клетках какой ткани) экспрессируется ген?
3. Каков механизм действия экспрессирующегося гена (какова биохимическая и цитофизиологическая функция белка, кодируемого геном) на морфогенез?

Приведем пример ответа на эти вопросы в отношении гена SRY, расположенного в Y-хромосоме млекопитающих, и определяющего мужской пол.

1. **Когда экспрессируется ген?** Ген экспрессируется **на стадии появления различий между гонадами мужского и женского типа** (первоначально уже появившиеся у эмбрионов мужского и женского пола зачатки гонад, т.е. семенники и яичники, не отличаются при их гистологическом исследовании). Позднее экспрессия этого гена прекращается.
2. **Где экспрессируется ген?** Ген экспрессируется **в соматических (неполовых) клетках зачатков семенников,** в частности, вероятно, тех, которые позднее превращаются в клетки Сертоли канальцев семенника, но не экспрессируются в половых клетках, которые дают начало сперматозоидам. Этого и следует ожидать, если учесть, что только половина сперматозоидов содержит y-хромосому, тогда как вторая половина сперматозоидов содержит только X-хромосому и лишена гена SRY. Следовательно, половые клетки становятся сперматозоидами, а не яйцеклетками не потому, что в них экспрессируется ген SRY (он в них не экспрессируется), а потому, что они оказываются в контакте с соматическими клетками, где на определенном этапе развития происходит экспрессия гена SRY.
3. **Как действует ген?** Белок, кодируемый геном SRY, является **транскрипционным фактором,** т.е. способен избирательно связываться с промоторами или энхансерами других генов, в частности, повидимому, гена Sox9, включая их транскрипцию. Есть данные, что ген Sox9 является обязательным посредником гена SRY в обеспечении мужского направления развития гонады, и в женском организме он присутствует, но бездействует.

Другим примером ответа на эти же 3 вопроса о действии гена на развития межет служить индукция конечности позвоночных геном FGF10.

1. Экспрессия гена наблюдается непосредственно **перед появлением** на латеральной поверхности тела эмбриона **почки (раннего зачатка) конечности.**
2. Экспрессия наблюдается в **участке латеральной мезодермы,** которая позднее входит в состав конечности.
3. Белок FGF10 – **паракринный белок-индуктор индуцирует** в участке латеральной эктодермы **временный орган – апикальный эктодермальныйгребень,** секретирующий паракринный белок-индуктор FGF8.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Гистологические и макроморфологические аспекты морфогенеза.**

Как уже указывалось, классическая эмбриология, без овладения основами которой немыслимо понимание зародышевого развития, оперирует преимущественно данными морфологических исследований. В свою очередь, совокупность сложнейших формообразовательных процессов представляет собой внешнее выражение глубинных динамических явлений на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях, в том числе описанных выше.

Ниже дается краткое описание некоторых “макропроцессов”, лежащих в основе развития зародыша.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Рост зародыша и деление клеток**

В процессе индивидуального развития организм многократно увеличивается в размерах. При этом происходит увеличение площади поверхности тела (пропорционально квадрату линейных размеров) и рост объема (пропорционально кубу линейных размеров). То есть, объем или масса растут быстрее, чем поверхность тела. Рост или увеличение размеров тела зародыша обычно является результатом увеличения числа составляющих его клеток и объема межклеточного вещества. Причем ведущую роль играет размножение клеток (пролиферационный тип роста или гиперплазия). В редких случаях рост вызван увеличением размеров клеток, которые при этом не делятся. Такой тип роста называется ауксетичным или гипертрофией и описан у коловраток, нематод и личинок насекомых. Гипертрофия характерна для тех тканей высших животных, клетки которых не делятся (жировая и скелетная мышечная ткани). Рост объема и массы тела, вызванный гипертрофией данных тканей может достигать огромных величин. Всем известны примеры гипертрофии мускулатуры у атлетов и жировой ткани у толстяков, масса тела при этом в отдельных случаях может превышать 500-600 килограммов. Часто при этом гипертрофия клеток связана с полиплоидизацией их ядер. У высших животных есть клетки (помимо перечисленных, нейроны, например), которые в периоде роста не делятся, другие (в частности, фибробласты) делятся ограниченно, а третьи (стволовые)- делятся постоянно.

Однако рост большинства тканей и органов осуществляется за счет размножения клеток. Лошадь больше мыши главным образом потому, что у нее во много раз больше клеток. Увеличение числа клеток является следствием их деления. Причем функциональная роль митотических делений не сводится лишь к росту клеточной массы зародыша, но также инициирует качественные изменения в клеточных популяциях, вызывая активацию определенных групп генов до этого репрессированных.

Считается, что существуют два уровня контроля клеточных делений: внешний и внутренний. Внешний уровень контролируется обычно гормоном роста – соматотропином, выделяемым аденогипофизом, т.н. соматомединами, выделяемыми печенью в ответ на гормон роста, инсулином и другими внешними факторами роста. Внутренний уровень регулируется самим органом или тканью. Вместе с тем существуют белки, подавляющие деление клеток. Среди них можно отметить бета-интерферон и бета-трансформирующий фактор роста.

Рост зародыша характеризуется либо изометрией, либо положительной или отрицательной аллометрией. Изометрический или равномерный рост различных частей зародыша, при котором пропорции его тела не изменяются, встречается гораздо реже, чем аллометрический или неравномерный рост (рис. 15). Примером отрицательной аллометрии является замедленный рост конечностей по отношению к телу у человеческого плода, а положительной – ускоренный рост головы. У павианов скорость роста челюстей и лицевого черепа более чем в 4 раза превышает скорость роста мозгового черепа, что определяет своебразное строение его головы. Аллометрия приводит к изменению пропорций тела и темпов развития органов, а при изометрии размеры тела увеличиваются без существенного изменения пропорций (у личинок многих костных рыб).

С точки зрения продолжительности различают два основных типа роста – ограниченный и неограниченный. К животным с ограниченным ростом относят те виды, размеры которых увеличиваются лишь до определенной стадии онтогенеза, например, до наступления периода зрелости (птицы, млекопитающие). При неограниченном росте какой-то, пусть небольшой, положительный рост продолжается в течение всего онтогенеза (рыбы, рептилии).

Рис.15

Процессам роста свойственны сезонная (особенно у животных, обитающих в умеренных и высоких широтах) и суточная (прослеживается по изменению митотической активности клеток) ритмичность.

Считается, что наследственный потенциал роста животных организмов обусловлен комбинированным действием множества генов с малым индивидуальным эффектом; в то же время аномалии роста (карликовость, укороченные конечности) определяются действием отдельных генов. Регуляция ростовых процессов осуществляется посредством гормонов, в частности, у позвоночных – гормонами гипофиза, вилочковой, щитовидной, половых желез.

В случаях замедления или даже полного прекращения роста под влиянием неблагоприятных внешних факторов (дефицита пищи, воды, экстремальных температур и т.п.) внешней среды, он может возобновиться в более высоком темпе после прекращения действия этих факторов (компенсаторный рост). Естественно, что в данном случае речь идет о тех стадиях онтогенеза, когда рост еще возможен.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Перемещения эмбриональных зачатков в ходе развития**

Одним из необходимых условий формирования сложной структуры органов и организма в целом в онтогенезе являются разнообразные и целенаправленные перемещения клеточного материала. Морфологические движения клеток при развитии зародыша впервые были описаны в классических работах Фогта (1925г., 1929г.), использовавшего метод прижизненного окрашивания различных участков яйца и зародыша. Позже многие исследователи, используя метод Фогта, более детально изучили морфологические движения у представителей почти всех классов хордовых. Эти исследования показали универсальный характер данных движений и вскрыли их важное биологическое значение, так как именно посредством перемещений клеток и клеточных пластов идет формообразование тела животного, и презумптивные зачатки различных органов занимают свое окончательное положение в зародыше, наподобие того, как строится здание целенаправленным перемещением кирпичей, бетонных балок, лестниц, окон и дверей .

Значение морфогенетических движений состоит также в том, что весь процесс развития представляет собой цепь индуктивных взаимодействий между клетками, тканями и зачатками различных органов. Эмбриональные индукции были бы невозможны без перемещений клеток, необходимых для установления контактов между индуктором и реагирующим материалом.

Следует оговориться, что, несмотря на огромную роль, которую играло использование в эмбриологии метода Фогта, до сих пор не утратившего своего значения, полученные с его помощью данные, носят описательный характер и не раскрывают механизмов морфогенетических движений. Начало причинного анализа этих движений было положено в 30 годах блестящими исследованиями И.Гольтфретера, упоминавшихся выше.

Позднее было показано, что при эмбриогенезе определяющими и наиболее важными являются движения клеточных пластов, а не отдельных клеток. В связи с этим становится понятным значение адгезивных сил, обеспечивающих объединение клеток в пласты и механизмов, благодаря которым активность отдельных клеток превращается в движение клеточных пластов. В последние годы большое внимание уделяется молекулярным основам клеточных контактов.

Примером морфогенетических движений клеточных пластов являются перемещения эпителиевидных зачатков зародыша, в частности, клеток наружного зародышевого листка – эктодермы и хордомезодермального зачатка в ходе гаструляции у амфибий.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Дифференцировка зачатков органов**

Дифференцировкой называется процесс возникновения различий между первоначально однородными клетками и тканями зародыша в ходе его развития, приводящий к формированию специализированных клеток, тканей и органов. Процессы дифференцировки в основном происходят в эмбриогенезе, но также наблюдаются и в постэмбриональном периоде онтогенеза, в частности, при повторных гистогенезах (обновление эпителиальных тканей и клеток крови, например).

Во многом дифференцировка – это событие, касающееся отдельной клетки, однако в действительности дифференцировка многих тканей зародыша возможна лишь при наличии определенного минимального количества клеток, как впервые обнаружил [Д.П.Филатов](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library:0133522:article) (1931, 1933 гг.). Работами целого ряда исследователей (Детлаф, 1938г., 1964г.; Grobstein, 1952г.; Лопашов, 1960г.; Голиченков, 1988 г., 1991 г. и др.) на огромном экспериментальном материале было показано, что процесс дифференцировки однородного клеточного материала запускается лишь по достижении критической массы клеток или ее переизбыточности. Предположительно, эффект критической массы может быть следствием "протечки генов", включая суммирование подпороговых количеств генных продуктов до надпороговых величин, вызывающих каскад дифференцировок. Таким образом, типичная дифференцировка – это коллективный процесс группы сходных клеток.

В результате дифференцировки в развивающемся зародыше возникают разнообразные типы клеток (в составе органов дыхания около 40 типов клеток, а в нервной системе человека – около 100), отличающиеся между собой морфологически, функционально, биохимически и т.п. (разнообразные нервные, эпителиальные, железистые, мышечные и др. клетки). Классификация затруднена тем, что различия между некоторыми клеточными типами чрезвычайно незначительны и выражены даже меньше, чем в одной и той же клетке при различных функциональных состояниях. Кроме того, в последние годы описан целый класс клеток "смешанного" типа, совмещающих в себе особенности разных клеточных популяций.

Обычно процесс дифференцировки происходит в рамках одного, чаще всего единственного, клеточного цикла, то есть клетка дифференцируется в ходе своего созревания. Но иногда дифференцировка охватывает несколько последовательных клеточных циклов, то есть, ряд поколений одной клетки. Процессы цитодифференцировки при этом происходят в периоде gi интерфазы.

Следует подчеркнуть, что в процессе дифференцировки клетка теряет генеративные способности. Практически все высокоспециализированные клетки не размножаются, а некоторые даже утрачивают в ходе генезиса ядра (эритроциты и тромбоциты млекопитающих).

В норме дифференцированная клетка представляет собой достаточно стабильную в структурно-функциональном отношении единицу. Однако при определенных условиях клетка может либо утратить признаки дифференциации (дедифференцироваться), либо перейти в иное дифференцированное состояние (явление трансдифференцировки). Интересно отметить, что в соответствии с универсальным для живого принципом обратной корреляции, при дедифференцировке клетки вновь приобретают способность размножаться.

В случае малигнизации в клетке происходят радикальные структурно-функциональные и молекулярно-генетические изменения, она выходит из-под контроля интегрирующих систем организма и начинает усиленно размножаться (опухолевый рост).

Ядро одноклеточного зародыша – зиготы содержит наследственную информацию не только о будущем организме, но и об онтогенезе в целом. В частности, о том, в каком возрасте у эмбриона образуется закладка легких, а у ребенка, произойдет смена зубов, начнется менархе (репродуктивный период), возникнет облысение и т.п. Хотя, конечно, многие фенотипические процессы происходят в результате взаимодействия генетических механизмов с внешними, экзогенными факторами (вспомним хотя бы роль солнечного излучения в старении кожи). То есть, зигота обладает тотипотентностью – способностью формировать целый (тотальный) организм. Как показали многочисленные эксперименты по изоляции бластомеров (клеток самых ранних зародышей), каждый из них может в принципе развиться в полноценный организм. У млекопитающих утрата клетками тотипотентности происходит на стадии бластоцисты. Когда начинается дробление зиготы, активируются и депрессируются определенные группы генов, освобождаясь от ассоциированных с ними основных белков – гистонов, блокировавших синтез различных мРНК. Первыми депрессируются гены, обусловливающие способность клеток к пролиферации и регулирующие общий метаболизм (через синтез соответствующих ферментов). На стадии гаструляции начинают активироваться первые тканеспецифические гены. Наивысшая активность тканеспецифических генов отмечена в ходе органо- и гистогенезов, когда происходит дифференцировка высокоспециализированных клеток.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Биотехнологические и биомедицинские аспекты биологии индивидуального развития**

Огромный объем информации, накопленный учеными в области биологии индивидуального развития позволил развернуть исследования, имеющие не только чисто научное, но и огромное прикладное значение. Среди них можно отметить работы по клонированию животных, изучению стволовых клеток, биологии размножения, трансгенозу.

Большой интерес привлекают в последние годы исследования в области клонирования животных. Клонирование -это процесс создания клонов или организмов, имеющих одинаковый набор генов или генотип. Классическим примером клонов у человека и животных являются очень похожие друг на друга однояйцевые близнецы, которые возникают вследствие естественного разделения оплодотворенной яйцеклетки на два отделяющихся друг от друга и в последующем самостоятельно развивающихся бластомера. Как известно, в процессе размножения подавляющего большинства высших организмов дочерняя особь получает половину генов от отца, а половину – от матери. В результате полученная особь отличается по генотипу, а, значит, и по фенотипу, как от отца, так и от матери. Именно этим достигается такое разнообразие морфологических (внешних) признаков особей даже в пределах одного вида. В случае же клонов – внешние отличия если и имеют место, то они незначительны и формируются под влиянием внешних факторов.

В чём же практический смысл создания клонов? В том, что это дает возможность повторить какую-либо биологическую особь, отличающуюся выдающимися качествами. В практическом плане создание клонов привлекательно в области животноводства для дублирования, к примеру, коров с большим надоем молока или овец с большим настригом шерсти. В более отдалённой перспективе клонирование можно использовать как метод дублирования не всего организма в целом, а лишь отдельных его частей или органов для нуждающихся пациентов, тем самым, обходя проблемы неприживляемости трансплантантов, возникающих вследствие генетической неидентичности донора и реципиента.

Однако для клонирования взрослых позвоночных животных существуют многочисленные препятствия, главным из которых является то, что соматические клетки в животных в эмбриогенезе лишаются тотипотентности (клетки растений это свойство сохраняют).

Одним из вариантов получения клонов является партеногенез (см. главу 7). Естественно, что те особи, которые развиваются из потомков той или иной исходной половой клетки, будут в генетическом отношении одинаковыми и могут составить клон. Получают клоны и в экспериментальной эмбриологии. Если зародыша морского ежа на стадии раннего дробления искусственно разделить на составляющие его клетки – бластомеры, то из каждого разовьется целый организм. В ходе последующего развития зародышевые клетки теряют эту замечательную способность и становятся все более специализированными. У многих объектов можно также использовать ядра так называемых стволовых эмбриональных клеток от какого-нибудь конкретного раннего эмбриона, которые еще не являются очень специализированными (таковым будет их потомство). Эти ядра пересаживают в яйцеклетки, из которых удалено собственное ядро, и такие яйцеклетки, развиваясь в новые организмы, опять-таки могут образовать клон генетически идентичных животных.

Отметим, кстати, что получение клона еще не означает получения точной копии клонированного животного. В описанных в главе 7 исследованиях В.А. Струнникова было показано, что в партеноклонах шелкопряда разнообразие по многим признакам может быть даже выше, чем в обычной популяции. Даже у однояйцевых (монозиготных) близнецов человека обнаруживают отличия, иногда существенные.

История искусственного клонирования позвоночных начинается в 40-е годы, когда советский эмбриолог Г.В. Лопашов разработал метод пересадки (трансплантации) ядер в яйцеклетку лягушки. В 50-е годы американские эмбриологи Бриггс и Кинг выполнили сходные опыты на лягушках. Они разработали микрохирургический метод пересадки ядер эмбриональных клеток с помощью тонкой стеклянной пипетки в лишенные ядра (энуклеированные) яйцеклетки. Ими было показано, что если брать ядра из клеток зародыша леопардовой лягушки (Rana pipiens) на стадии бластулы, то примерно в 80% случаев зародыш благополучно развивается дальше и превращается в нормального головастика. Если же донорами ядер являлись клетки гаструлы или нейрулы, то лишь менее чем в 20% или 5% случаев соответственно, оперированные яйцеклетки развивались нормально. То-есть, в ходе развития соматические клетки становятся все более детерминированными и дифференцированными, а их потенции снижаются. Эти результаты позже были подтверждены и в других работах.

Большой вклад в разработку этой проблемы внес английский биолог Джон Гердон. При этом им были получены гораздо более внушительные результаты, главным образом потому, что он экспериментировал с более примитивными чем *Rana pipiens* южноафриканскими лягушками *Xenopus laevis* (1962). В качестве донора ядер Гердон использовал не только клетки раннего зародыша, но и вполне специализировавшиеся клетки эпителия кишечника плавающего головастика. Ядра яйцеклеток реципиентов он не удалял хирургическим путем, а разрушал ультрафиолетовыми лучами. В большинстве случаев реконструированные яйцеклетки не развивались, но примерно десятая часть их них образовывала эмбрионы. 6,5% из этих эмбрионов достигали стадии бластулы, 2,5% – стадии головастика и только 1% развился в половозрелых особей. Однако появление нескольких взрослых особей в таких условиях могло быть связано с тем, что среди клеток эпителия кишечника развивающегося головастика довольно длительное время присутствуют первичные половые клетки, ядра которых могли быть использованы для пересадки. В последующих работах как сам автор, так и многие другие исследователи не смогли повторить данные этих первых опытов (таково значение элемента удачи!).

Позже (1966) Гердон модифицировал схему эксперимента. Поскольку большинство реконструированных яйцеклеток (с ядром клетки кишечного эпителия) погибают до завершения стадии гаструлы, он попробовал извлечь из них ядра на стадии бластулы и снова пересадить их в новые энуклеированные яйцеклетки (такая процедура называется "серийной пересадкой" в отличие от "первичной пересадки"). Число зародышей с нормальным развитием после этого увеличивалось, и они развивались до более поздних стадий по сравнению с зародышами, полученными в результате первичной пересадки ядер.

Затем Гердон вместе с Ласки (1970) стали культивировать in vitro (в питательной среде вне организма) клетки почки, легкого и кожи взрослых животных и использовать уже эти клетки в качестве доноров ядер. Примерно 25% первично реконструированных яйцеклеток развивались до стадии бластулы. При серийных пересадках они развивались до стадии плавающего головастика. Таким образом было показано, что клетки трех разных тканей взрослого позвоночного (*X. laevis*) содержат ядра, которые могут обеспечить развитие по крайней мере до стадии головастика.

Несколько позднее Ди Берардино и Хофнер использовали для трансплантации ядра неделящихся клеток крови – эритроцитов лягушки *Rana pipiens* (1975). После серийной пересадки таких ядер 10% реконструированных яйцеклеток достигали стадии плавающего головастика. Однако, даже с помощью многократных серийных пересадок (более 100 клеточных циклов) реконструированные яйцеклетки дальше стадии головастика не развивались.

Таким образом, во многих работах показано, что в случае амфибий донорами «полноценных» ядер могут быть лишь зародыши на ранних стадиях развития. Некоторые авторы называют подобные эксперименты клонированием амфибий, хотя правильнее называть их клонированием эмбрионов амфибий, так как в этом случае экспериментаторы размножают бесполым путем не взрослых животных, а ранних зародышей.

Дифференцировка клеток в ходе развития позвоночных сопровождается инактивацией неработающих генов. Именно поэтому клетки теряют тотипотентность и дифференцировка становится необратимой. В конце концов у одних клеток происходит полное репрессирование генома, у других – в той или иной степени деградирует ДНК, а у эритроцитов млекопитающих разрушается даже ядро. Однако наряду с дифференцированными клетками, культивируемые *in vitro* клеточные популяции организма содержат малодифференцированные стволовые клетки, которые и могут быть использованы как доноры ядер для клонирования млекопитающих.

Опыты с амфибиями показали, что ядра различных типов клеток одного и того же организма генетически идентичны и в процессе клеточной дифференцировки постепенно теряют способность обеспечивать развитие реконструированных яйцеклеток, однако серийные пересадки ядер и культивирование клеток *in vitro* в какой-то степени увеличивает эту способность.

Успешные опыты с амфибиями заставили ученых задуматься о клонировании эмбрионов млекопитающих. Работа методически оказалась довольно трудной, прежде всего потому, что объем яйцеклетки у млекопитающих примерно в тысячу раз меньше, чем у амфибий. Однако эти трудности были успешно преодолены. Вначале экспериментаторы научились микрохирургически удалять пронуклеусы из зигот (оплодотворенных яйцеклеток) мыши и пересаживать в них клеточные ядра ранних эмбрионов. Однако все полученные разными способами зародыши мышей неизменно развивались лишь до стадии бластоцисты.

Значительно усовершенствовав методы извлечения ядер и введения их в клетку, МакГрат и Солтер провели серию экспериментов и сообщили, что высокий выход живых мышей они получили, когда в качестве доноров ядер использовали зиготы, но если донорами были ранние эмбрионы, то реконструированные яйцеклетки, как и прежде, развивались только до стадии бластоцисты.

Метод МакГрата и Солтера стал широко использоваться разными экспериментаторами. Так, Манн и Ловел-Бадж выделяли пронуклеусы из яиц, активированных к партеногенезу, и пересаживали их энуклеированные зиготы мышей. В этих случаях эмбрионы погибали на ранних стадиях. Если же наоборот, пронуклеусы получали из оплодотворенных яиц и пересаживали в партеногенетически активированные и лишенные ядра яйца, то такие зародыши развивались нормально до рождения. Сурани с соавторами установили, что если добавить женский пронуклеус из зиготы мыши к гаплоидному набору хромосом яйцеклетки, то нормального развития не происходит, добавление же мужского ядра приводит к нормальному развитию. С другой стороны, рекомбинации мужского и женского пронуклеусов из разных оплодотворенных яйцеклеток мышей обеспечивает нормальное развитие, а комбинация двух мужских или двух женских пронуклеусов останавливает развитие эмбриона.

Эти опыты показали, как уже говорилось ранее (в главе 7), что для нормального развития млекопитающих требуются два набора хромосом – отцовский и материнский. Поэтому ни у одного из известных видов млекопитающих не описан партеногенез.

Гибель партеногенетических (гиногенетических) и андрогенетических зародышей у млекопитающих связана с различной активностью в онтогенезе материнского и отцовского геномов. Механизм, регулирующий эти функциональные различия, был назван геномным импринтингом и изучался в ряде работ, где было показано, что для нормального развития млекопитающих требуется наличие мужского генома.

МакГрат и Солтер показали, что ядра 8-клеточных зародышей и клеток внутренней клеточной массы бластоцисты мышей не обеспечивают развитие *in vitro* реконструированных яйцеклеток даже до стадии морулы, которая предшествует стадии бластоцисты. Небольшая часть (5%) ядер 4-клеточных зародышей дает возможность развиваться только до стадии морулы. В то же время 19% реконструированных яйцеклеток, содержащих ядра 2-клеточных зародышей, смогли достичь стадии морулы или бластоцисты.

Эти и многие другие данные показывают, что в эмбриогенезе у мышей клеточные ядра очень рано теряют тотипотентность, что связано, очевидно, с очень ранней активацией генома мышиного зародыша – уже на стадии 2-х клеток. У других млекопитающих, в частности, у кроликов, овец и крупного рогатого скота, активация первой группы генов в эмбриогенезе происходит позднее, на 8-16-клеточной стадии. Возможно, поэтому первые значительные успехи в клонировании эмбрионов были достигнуты на других видах млекопитающих, а не на мышах. Тем не менее, работы с мышами значительно расширили современные представления о методологии клонирования млекопитающих.

Американские исследователи Стик и Робл, используя методику МакГрата и Солтера, получили 6 живых кроликов, пересадив ядра 8-клеточных эмбрионов одной породы в лишенные ядра яйцеклетки кроликов другой породы. Фенотип родившихся полностью соответствовал фенотипу донора. Однако только 6 из 164 реконструированных яйцеклеток (3,7%) развились в нормальных животных.

Работа с реконструированными яйцеклетками крупных домашних животных, коров или овец шла несколько по-другому. Их сначала культивировали не *in vitro*, a *in vivo* – в перевязанном яйцеводе – промежуточного (первого) реципиента. Затем их оттуда вымывали и трансплантировали в матку окончательного (второго) реципиента – коровы или овцы соответственно, где их развитие происходило до рождения детеныша. Уиладсин предложил заключать реконструированные яйцеклетки в агаровый цилиндр, который он затем трансплантировал в перевязанный яйцевод овцы. По данным одних авторов реконструированные зародыши лучше развиваются в яйцеклетке, чем в культуральной среде, хотя некоторые исследователи получили неплохие результаты и при культивировании. Уиладсин еще в 1986 году показал, что и у эмбрионов овец на 16-клеточной стадии развития ядра сохраняют тотипотентность. Реконструированные яйцеклетки, содержащие ядра бластомеров 16-клеточных зародышей, развивались нормально до стадии бластоцисты в перевязанном яйцеводе овцы (в агаровом цилиндре), а после освобождения от агара и пересадки в матку овцы – второго реципиента – еще 60 дней. В другом случае донорами служили ядра 8-клеточных зародышей и были получены 3 живых ягненка, фенотип которых соответствовал породе овец – доноров. Зародыши в этой работе развивались только в тех случаях, когда в зиготы пересаживали пронуклеусы: 17% таких зародышей достигли стадии морулы или бластоцисты.

Позднее Уиладсину удалось получить четырех генетически идентичных бычков голштинской породы в результате пересадки в реципиентные яйцеклетки ядер бластомеров одного 32-клеточного зародыша. Автор утверждал, что большинство ядер сохраняет тотипотентность на 32-клеточной стадии, а значительная их часть даже и на 64-клеточной стадии, обеспечивая нормальное развитие реконструированных яйцеклеток до стадии ранней бластоцисты в яйцеводе овцы. После пересадки в матку коров – окончательных реципиентов, как полагает автор, они могут и дальше нормально развиваться (схема эксперимента приведена на рис. 16).

Рис.16

Наибольший общественный резонанс получили проведенные в конце 1990-х годов замечательные эксперименты по клонированию овец. В 1989 году Смит и Уилмут из Рослинского института (Эдинбург, Шотландия) трансплантировали ядра клеток 16-клеточного эмбриона и ранней бластоцисты в лишенные ядра неоплодотворенные яйцеклетки овец. В первом случае было получено два живых ягненка, фенотип которых соответствовал породе овец – доноров ядер. Во втором случае один полностью сформировавшийся ягненок погиб во время родов. Его фенотип также соответствовал породе – донору. Авторы считали, что в ходе дифференцировки эмбриональных клеток происходит инактивация некоторых важных для развития генов, в результате которой ядра бластоцисты уже не могут репрограммироваться в цитоплазме яйцеклетки и обеспечить нормальное развитие реконструированного зародыша. Поэтому, по мнению авторов, в качестве доноров ядер лучше использовать 16-клеточные эмбрионы или культивируемые *in vitro* линии эмбриональных клеток, ядра которых обладают тотипотентностью.

Позднее, в 1993-1995 годах, группа исследователей под руководством Уилмута получила клон овец – 5 идентичных животных, донорами ядер которых была культура эмбриональных клеток. Клеточную культуру получали следующим образом: выделяли микрохирургически эмбриональный диск из 9-дневного овечьего эмбриона (бластоцисты) и культивировали клетки *in vitro* в течение многих пассажей (по крайней мере до 25). Сначала клеточная культура напоминала культуру стволовых недифференцированных эмбриональных клеток, но вскоре, после 2-3-х пассажей, клетки становились уплотненными и морфологически сходными с эпителиальными. Эта линия клеток из 9-дневного зародыша овцы была обозначена как TNT4.

Чтобы донорское ядро и реципиентная цитоплазма находились на сходных стадиях клеточного цикла, останавливали деление культивируемых клеток TNT4 на определенной стадии (Gо) и ядра этих клеток пересаживали в энуклеированные яйцеклетки (соответственно на стадии метафазы II). Реконструированные эмбрионы заключали в агар и трансплантировали в перевязанные яйцеводы овец. Через 6 дней эмбрионы вымывали из яйцевода первого реципиента и исследовали под микроскопом. Отбирали те, которые достигли стадии морулы или бластоцисты и пересаживали их в матку овцы – окончательного реципиента, где развитие продолжалось до рождения. Фенотипически все ягнята были сходны с породой овец, от которой получали исходную линию клеток TNT4. Это подтвердил и генетический анализ.

Эта работа, особенно в части культуры эмбриональных клеток, – значительное достижение в клонировании млекопитающих, хотя она и не вызвала столь шумного интереса, как статья того же Уилмута с соавторами, опубликованная в феврале 1997 года, где сообщалось, что в результате использования донорского ядра клетки молочной железы овцы было получено клональное животное – овца по кличке Долли. Яйцеклетки для этой цели извлекли из овец породы шотландская черномордая, затем поместили их в искусственную питательную среду с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки при температуре 37оС и удалили собственное ядро. В энуклеированные яйцеклетки вводились разные клетки животного -донора, но наиболее приемлимыми оказались диплоидные клетки молочной железы взрослой беременной овцы породы финский дорсет. Эти клетки выводили из стадии роста клеточного цикла, разбавляя сыворотку, и через пять дней сливали с энуклеированным ооцитом. Последний затем активировали к развитию посредством электрического разряда. Развивающийся зародыш культивировали в течение 6 дней в искусственной химической среде или в яйцеводе овцы, перетянутом лигатурой ближе к рогу матки. На стадии морулы или бластоцисты эмбрионы (от одного до трех) трансплантировали в матку приемной матери, где они могли развиваться до рождения. Из 236 опытов успех сопутствовал лишь одному, в результате которого и родилась овечка Долли. Позднее, в ответ на сомнения ряда крупнейших ученых, точными молекулярно-генетическими исследованиями было доказано, что Долли является клонированной.

Следует, однако, отметить, что в 2002 году у Долли было отмечено развитие артрита, который как предполагается мог стать результатом генных мутаций, инициированных процессом клонирования. Помимо артрита у животного наблюдался еще целый ряд отклонений от нормального развития. Животное аномально быстро старело и в феврале 2003 года ученые усыпили знаменитую овечку из-за прогрессирующей болезни легких в возрасте 6 лет. После нее осталось 4 нормальных ягненка.

Успех авторов этой работы прежде всего связан с использованием длительных клеточных культур, так как после многих пассажей в культуре клеток могли быть отобраны малодифференцированные стволовые клетки, которые, вероятно, и были использованы как доноры ядер. Большое значение также имел тот факт, что авторы, учитывая результаты своих предыдущих работ, синхронизировали стадии клеточного цикла яйцеклеток реципиентов и клеток доноров.

Большой интерес вызвали опыты группы ученых из университета в Гонолулу во главе с Р. Янагимачи. Авторам удалось усовершенствовать метод Уилмута, они отказались от электрической стимуляции слияния донорской соматической клетки с яйцеклеткой и сконструировали такую микропипетку, с помощью которой можно было безболезненно извлекать ядро из соматической клетки и трансплантировать его в энуклеированную яйцеклетку. Кроме того, авторы использовали в качестве донорских относительно менее дифференцированные ядра клеток, окружающих ооцит. Наконец, как бы удалось синхронизировать процессы, протекающие в яйцеклетке и трансплантируемом в нее ядре, что позволило обеспечить естественные ядерно-цитоплазматические взаимоотношения между ядром и цитоплазмой, поскольку трансплантируемое дифференцированное в определенном направлении ядро и цитоплазма яйцеклетки до того работали как бы в разных режимах. Янагимачи использовал для трансплантации ядра клеток, окружающих ооцит, клеток Сертоли из семенников и клеток, выделенных из мозга (авторы утверждают, что из нейронов). Ядра, выделенные из соматических клеток, инъецировали в энуклеированное яйцо с помощью микропипетки. Яйцо активировали к развитию, поместив в специальный раствор (так называемый HEPES-CZB), свободный от кальция, и добавляя стронций и цитохалазин. Стронций активировал яйцо, а кальций подавлял образование полярных телец. Эмбрионы культивировали до стадии 2-8 клеток, а затем трансплантировали в матку приемной матери, где многие из них имплантировались и некоторые (15-16%) продолжали развитие. Процент выхода рожденных мышат (их извлекали с помощью кесарева сечения на 18,5-19-й дни беременности) был, однако, низок – в разных сериях экспериментов от 2 до 2,8%. Молекулярные исследования доказали принадлежность ядер рожденных мышат к клеткам донора соматических клеток.

На сегодняшний день в мире клонированы овцы, мыши, кролики, коровы, козы, кошки, собаки, свиньи, лошади и мулы. Однако, хотя эти работы являются, бесспорно, выдающимся достижением, перспективы их дальнейшего развития следует оценивать с осторожностью. На самом деле получить абсолютно точную копию данного конкретного животного (а именно такая конечная цель ставится сейчас в экспериментах по клонированию) намного сложнее, чем это представляется при поверхностном знакомстве с проблемой. И дело вовсе не в технической разработке методов клонирования, а в том, что структурно-функциональные изменения ядер в ходе индивидуального развития животных достаточно глубоки: одни гены активно работают, другие инактивируются и "молчат", при этом сам зародыш представляет собой своеобразную мозаику полей распределения таких функционально различных генов. И чем организм более специализирован, чем выше ступенька эволюционной лестницы, на которой он стоит, тем эти изменения глубже и труднее обратимы. У некоторых организмов, например у известного кишечного паразита аскариды, генетический материал в будущих зародышевых клетках остается неизменным в ходе развития, а в других, соматических клетках выбрасываются целые большие фрагменты ДНК – носителя наследственной информации. В красных кровяных клетках (эритроцитах) птиц ядра сморщиваются в маленький комочек и не работают, а из эритроцитов млекопитающих, стоящих эволюционно выше птиц, вообще выбрасываются за ненадобностью. У плодовой мушки дрозофилы особенно четко выражены процессы, свойственные и другим организмам: селективное умножение или, наоборот, недостача каких-то участков ДНК, по-разному проявляющиеся в разных тканях. Совсем недавно было показано, что в соматических клетках в ходе их развития хромосомы последовательно укорачиваются на своих концах, в зародышевых клетках специальный белок – теломераза достраивает, восстанавливает их, то есть полученные данные опять-таки свидетельствуют о существенных различиях между зародышевыми и соматическими клетками. И, следовательно, встает вопрос, способны ли ядра соматических клеток полностью и эквивалентно заменить ядра зародышевых клеток в их функции обеспечения нормального развития.

Итак, работы по клонированию позвоночных были начаты на амфибиях в начале 50-х годов и интенсивно продолжаются вот уже более четырех десятилетий. Что касается амфибий, то, как было сказано ранее, несмотря на значительные достижения, проблема клонирования взрослых особей остается до сих пор не решенной. Установлено, что в ходе клеточной дифференцировки у позвоночных происходит или потеря определенных генных локусов или их необратимая инактивация. Судя по всему, утрачивается та часть генома, которая контролирует не ранние, а более поздние этапы онтогенеза, в частности, метаморфоз амфибий. Механизм этого явления пока не поддается научному объяснению. Но очевидно, что для клонирования взрослых позвоночных необходимо использовать малодифференцированные делящиеся клетки. Это методически важное положение было учтено в более поздних работах.

Другим обстоятельством на пути к получению точной копии клонируемого индивидуума является роль эпигенетических факторов. Согласно закономерностям двух основных разделов генетики – наследственности и изменчивости, – становление любого признака происходит в результате взаимодействия генов и среды. Роль этих факторов не одинакова: в развитии качественных признаков влияние среды сказывается существенно меньше, чем в формировании количественных. В последнем случае доля участия среды устанавливается статистически. Однако генетическая идентичность вовсе не означает абсолютного повторения морфологии, характера и темперамента клонов. Так например, у клонов наблюдаются значительные физические различия в густоте шерсти и количестве зубов.

В ближайшие годы главная задача исследователей, работающих в данной области – это, по-видимому, создание культивируемых *in vitro* линий малодифференцированных стволовых клеток, характеризующихся высокой скоростью деления. Ядра именно таких клеток должны обеспечить полное и нормальное развитие реконструированных яйцеклеток, формирование не только морфологических признаков, но и нормальных функциональных характеристик клонированного организма.

Особенно большой ажиотаж нагнетается вокруг идеи о клонировании человека. В сущности речь идет даже не о клонировании, а о получении копии отдельного индивида, поскольку термин "клонирование" предполагает получение некоего множества особей. В этом вопросе в настоящее время существует как техническая, так и большая этическая проблемы.

Актуальнее, с практической точки зрения, работы по клонированию домашних животных. Использование технологии клонирования предоставляет уникальную возможность получать фенотипически и генетически идентичных животных, которые могут быть использованы для решения различных теоретических и практических задач, стоящих перед биомедициной. В частности, использование клонирования животных должно способствовать изучению проблемы тотипотентности дифференцированных клеток, развития и старения организмов, злокачественного перерождения клеток. Клонирование животных позволит проводить испытания медицинских препаратов на идентичных животных. В медицине представляется перспективной клеточная терапия на базе использования клонированных клеток. Такие клетки должны компенсировать недостаток и дефект собственных клеток организма и, главное, они не будут отторгаться при трансплантации.

Несколько слов о трансгенных животных. Современные методы селекции сельскохозяйственных животных базируются на использовании внутривидовой генетической изменчивости. При этом возможности селекции ограничены рамками генома. Преодолеть биологические границы видов и использовать межвидовую генетическую изменчивость для создания новых форм животных можно с помощью переноса генов из генома одного вида в геном другого вида.

Если рекомбинантная конструкция гена интегрировалась в геном другого животного, то такой ген обозначается как трансген.

Кодируемый трансгеном белок носит название трансгенного продукта. Животное, которое содержит в своем геноме трансген, называется трансгенным. Если животные передают трансгены своим потомкам, то образуются родственные группы трансгенных животных – трансгенные линии.

Для переноса генов млекопитающих в настоящее время используют четыре оновных метода:

* микроинъекцию рекомбинантной ДНК в пронуклеус зиготы;
* опосредованный ретровирусами перенос генов;
* перенос трансформированных ядер половых и соматических клеток;
* использование спермиев как переносчиков ДНК;

Все методы переноса генетической информации млекопитающих охватывают ранние этапы онтогенеза- от оплодотворенной яйцеклетки до формирования бластоцисты, способной имплантироваться в матку реципиента.

Рассмотрим в качестве примера перенос генов методом микроиньекции ДНК в пронуклеус зиготы мыши. Суть метода заключается в следующем. Из яйцевода самки извлекают зиготы, освобождают их от окружающих фолликулярных клеток, инкубируют в специальных средах под объективом микроскопа. Затем зиготу фиксируют микропипеткой, а с противоположной стороны подводят инъекционную микропипетку, в которой находится раствор с геном. Для инъекции чужеродной ДНК в мужской пронуклеус зиготы используют плазмиды с конструкциями, промотор и структурный ген. В мужской пронуклеус инъецируют около 1 пл буферного раствора с рекомбинантной ДНК, содержащей до 100 и более копий гена. Как правило, 60-80% реконструированных зигот хорошо переносят микроманипуляции. После оценки жизнеспособности зиготы трансплантируют ложнобеременной самке-реципиенту другой генетической линии. Для подтверждения интеграции чужеродного гена от детенышей, родившихся из реконструированных зигот, извлекают кусочек ткани из хвоста или печени. ДНК из ткани этих органов анализируют с помощью дот – и блот – гибридизации. В большинстве экспериментов выход трансгенных мышей, оцененных по методу дот – и блот- гибридизации, составляет 1%. Однако экспрессия чужеродного гена происходит у 5-10% полученных трансгенных мышей. Для оценки стабильности наследования чужеродных генов в процессе смены поколений методами дот – и блот – гибридизации анализируют потомство трансгенных животных.

Успешные эксперименты по получению трансгенных мышей с новыми генетическими признаками способствовали проведению подобных работ и с другими видами млекопитающих- кроликами, овцами, свиньями, крупным рогатым скотом. Технология получения трансгенных сельскохозяйственных животных имеет свои особенности. Это связано с тем, что у крупных сельскохозяйственных животных зиготы содержат значительные количества жировых и пигментных включений, что существенно затрудняет визуализацию пронуклеусов. Для лучшей визуализации требуются дополнительные микроманипуляции: центрифугирование, флуоресцентная микроскопия, что снижает жизнеспособность зигот и выход полноценных потомков.

Считается, что в настоящее время имеют практическое значение три направления генно-инженерной работы с животными. Первое — продовольственное. Например, трансгенные свиньи растут гораздо быстрее «традиционных». Кроме того, такие свиньи «откладывают» значительно меньше жира, то есть их мясо полезнее для здоровья. Результат получен всего за несколько лет — в геном животных внедрен один ген. Традиционной селекции на это понадобились бы десятилетия.

Второе направление — животные, генетически устойчивые к болезням. В цену животноводческой продукции, среди прочего, заложены немалые расходы на вакцинацию. Но такие расходы неизбежны, так как, например, лейкозом крупного рогатого скота в России заражено 25% поголовья. В России уже получены животные с геном, который препятствует развитию лейкоза.

Третье, пожалуй, самое важное направление — животные, продуцирующие лекарства. Например, препараты с гормоном роста для детей, которые из-за нарушений в эндокринной системе рискуют остаться карликами на всю жизнь. Сегодня производить их сложно и дорого. Препараты, полученные их молока трансгенных коров несравнимо дешевле. Следует отметить, что для того чтобы получать лекарственные вещества, не обязательно генетически изменять все животное. Можно модифицировать отдельные органы, в данном лишь молочные железы. Цены на современные лекарства постоянно растут, что сужает круг больных способных лечиться ими. С помощью трансгенных животных многие из этих препаратов могут стать более доступными. При введении сельскохозяйственным животным генов пептидов и белков можно получить их в больших масштабах. Такие гены получили название Gene farming. Теоретически возможно промотор коровьего или овечьего белка соединить со структурной частью желаемого гена, например гена инсулина, интерферона, фактора свертываемости и гормонов. Такие гены, как показали эксперименты, экспрессируются в молочной железе и выделяются с молоком. Например, трансгенных сельскохозяйственных животных используют для продуцирования человеческого инсулина. Экспериментально было доказано, что ген инсулина человека, введенный в геном мыши, функционирует в мышиных клетках поджелудочной железы. Другими словами, ген инсулина человека проявляет себя в организме мыши, как его собственный.

Другим, весьма перспективным направлением современной биологии является исследование стволовых клеток. Стволовые клетки – это клетки, сохраняющие потенциал к развитию в разных направлениях. Из них могут возникнуть и кожная, и нервная клетки, и клетки крови. Считалось, что во взрослом организме стволовые клетки отсутствуют, что их существование ограничивается самым ранним периодом эмбрионального развития. Однако в конце 60-х годов А.Я. [Фриденштейн](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library:0132866:article) с соавторами обнаружили эти клетки в мезенхиме (строме) взрослого костного мозга. По принадлежности к строме их в дальнейшем стали называть стромальными стволовыми клетками. В 70-е годы были опубликованы работы, демонстрировавшие наличие стволовых клеток практически во всех органах взрослых животных и человека. В связи с этим принято разделять стволовые клетки на эмбриональные стволовые клетки – ЭСК (их выделяют из эмбрионов на стадии бластоцисты) и региональные стволовые клетки – РСК (их выделяют из органов взрослых особей или из органов эмбрионов более поздних стадий). Будучи мультипотентными, стволовые клетки составляют регенерационный резерв организм.

Особое удивление вызывает наличие стволовых клеток в центральной нервной системе. Они отвечают на различные поражения нервной ткани размножением (сами нервные клетки, как известно, утрачивают способность к размножению уже на стадии нейробласта) и дифференцировкой в нервные и глиальные клетки. Полагают, что изолированные нейральные РСК способны превращаться и в другие производные.

Способность стволовых клеток (как РСК, так и ЭСК) трансформироваться в разных направлениях делает их весьма удобной модельной системой для изучения молекулярно-генетических процессов, обусловливающих дифференцировку клеток в разных направлениях. Действительно, стволовые клетки можно изолировать, так сказать, в чистом виде и затем анализировать функции генных сетей на последовательных этапах их дифференциального развития .

Оказалось, в частности, что время последовательного включения генов, контролирующих развитие, совпадает в постимплантационных зародышах и в культуре эмбриоидных тел, образованных ЭСК. Анализ культур стволовых клеток с помощью молекулярно-генетического микроэррэй- метода продемонстрировал, что в одном клоне мезенхимных стволовых клеток синтезируется по крайней мере 1200 матричных РНК. В разных стволовых клетках присутствует похожий набор предсинтезированных матричных РНК- копий многих генов. По мере дифференцировки стволовых клеток наблюдаются изменения спектра экспрессирующихся генов. При этом удалось выяснить, что, как и случае дифференцировки в составе целостного эмбриона, в мезенхимных стволовых клетках взрослой гематогенной ткани содержится практически весь набор матричных РНК, которые функционируют в зародышевых листках и на стадии органогенеза. Идентифицированы также матричные РНК ключевых генов, регулирующих созревание клеток мезенхимального и мезодермального происхождения, а также энто- и эктодермы. Большинство матричных РНК HOX-генов присутствует уже в яйцеклетке и презумптивных зародышевых клетках. Следовательно, в стволовых клетках проявляется общий принцип онтогенеза – функция генов с опережением , т.е. синтез тех матричных РНК, которые будут нужны на более поздних стадиях развития.

Исследовательский бум вокруг стволовых клеток ослабил внимание к так называемым "камбиальным клеткам". На Западе их теперь называют transit amplifying cells, т.е. рассматривают как некую преходящую фазу развития, а не как самостоятельную популяцию клеток как это было принято раньше. Иногда о них вообще забывают. А между тем, обычно восстановительные процессы в тканях протекают при их непосредственном участии – наглядный тому пример клетки росткового слоя кожи, пополняющие постоянно расходуемый запас зрелых клеток кожного покрова. Более того, до открытия стволовых клеток речь шла только о таком способе репарации. В нервной ткани камбиальных нервных клеток, сохранивших способность к размножению, нет (о глии речь не идет), но там сохраняется резерв нейробластов, посредством своей дифференцировки способных восполнить возникающие при различных формах патологии дефекты, сохраняя тем самым функциональную дееспособность соответствующего отдела мозга или периферической нервной системы. В этом случае встает чрезвычайно важный вопрос о взаимоотношении стволовых и камбиальных клеток . Возможны ли их взаимопревращения? Может ли региональная стволовая или прогениторная клетка дать начало камбиальной и, наоборот, имеет ли место этот процесс в целостном организме, каково его значение для нормального течения восстановительных процессов и каков (если он существует) его молекулярно-генетический механизм. Решение этой проблемы имеет важное не только фундаментальное, но и практическое значение. Исследование стволовых клеток в разных экспериментальных условиях, бесспорно, поможет этому решению и позволит представить в новом свете тонкие механизмы восстановительных процессов, протекающих в организме. Работы подобного рода уже начаты, в частности, на примере стволовых клеток эпителиального покрова кожи. Результаты, свидетельствующие по крайней мере о "порождении" камбиальных клеток стволовыми впечатляющи, но нередко противоречивы и дают повод для дискуссий. Стволовые клетки, которые порою находят в шиповатом слое эпидермиса кожи, как раз и могут быть мигрантами из эпидермального очага стволовых клеток. Важную роль в подобных случаях играет микроокружение клеток, которое оказывает существенное влияние на направление процесса [детерминации](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133512:article) и дифференцировки. Иными словами, ситуация с превращениями стволовых клеток и их взаимоотношениями с камбиальными клетками далеко не так проста, как это может показаться на первый взгляд.

Плюри- и мультипотентность стволовых клеток делает их идеальным материалом для использования в трансплантационных методах клеточной и генной терапии. При этом следует учитывать то, что наряду с «местными» стволовыми клетками, которые при повреждении тканей соответствующего органа мигрируют к зоне повреждения, делятся и дифференцируются, образуя в этом месте новую ткань, существуют и «центральные» стволовые клетки, локализованные в строме костного мозга. Эти клетки универсальны, они, по-видимому (полученные многочисленные данные такого рода все же требуют дополнительной проверки), способны поступать с кровотоком в поврежденный орган или ткань, и на месте под влиянием различных сигнальных веществ дают начало нужным специализированным клеткам, которые замещают погибшие. В частности, установлено, что введение стромальных клеток костного мозга в зону повреждения сердечной мышцы (зону инфаркта) устраняет явления постинфарктной сердечной недостаточности у экспериментальных животных. Так, стромальные клетки, введенные свиньям с экспериментальным инфарктом, уже через восемь недель полностью перерождаются в клетки сердечной мышцы, восстанавливая ее функциональные свойства. Результаты такого лечения инфаркта впечатляющи. По данным Американского кардиологического общества за 2000 год у крыс с искусственно вызванным инфарктом 90% стромальных клеток костного мозга, введенных в область сердца, трансформируется в клетки сердечной мышцы.

Большое значение придают стволовым клеткам (и, в частности, стромальным) при лечении различных нейродегенеративных и неврологических заболеваний паркинсонизма, болезни Альцгеймера (старческое слабоумие), хореи Гентингтона, мозжечковых атаксий, рассеянного склероза и др. Группа неврологов из Американского национального института неврологических заболеваний и Стэнфордского университета обнаружили, что стромальные клетки костного мозга могут дифференцироваться в нейральном направлении. Следовательно, костный мозг человека может быть использован в качестве источника стволовых клеток для восстановления поврежденных тканей в головном мозгу. Возможна также трансформация этих клеток в печеночные, почечные клетки, а также в клетки, синтезирующие инсулин, что может быть использовано для лечения диабета. Следовательно, пациент может стать собственным донором, что предотвратит реакцию иммунологической несовместимости тканей.

Международная группа ученых под руководством Евы Мизей (2005г.) полагает, что стволовые клетки, куда бы они ни имплантировались, могут достигать поврежденного места, в частности, мозга и обеспечивать там восстановительные процессы. Так, после внутривенного введения взрослым мышам стромальных стволовых клеток, различные нейральные производные были ими обнаружены во многих областях мозга, включая неокортекс, гиппокамп, таламус, ствол мозга и мозжечок. Предпринимаются успешные попытки разработать методы клинического использования стволовых клеток пуповины и плаценты, отбрасываемых при родах.

Открытие стволовых клеток во взрослом организме изменило наши представления об организации тканей и о механизмах восстановительных процессов, в них протекающих. Был сделан новый и очень важный вывод о том, что эмбриональные клетки с высоким потенциалом к развитию сохраняются и во взрослом организме. Более того, они составляют важнейшее звено в цепи репаративных процессов, о чем ранее не подозревали. В ходе клеточного деления стволовых и камбиальных клеток возникают материнская и дочерняя клетки. Материнские клетки используются для самоподдержания популяции, а дочерние в случае стволовых выходят либо в стволовую клетку, либо непосредственно в дифференцировку, а в случае камбиальных – непосредственно в дифференцировку. На стадии камбиальной клетки сохраняются свойства ранних эмбриональных клеток развиваться в разных направлениях, на стадии камбиальной клетки эта способность утрачивается, они производят лишь региональные структуры.

Помимо вышеописанных направлений, продолжаются многочисленные исследования в области биологии размножения, а также работы, конечной целью которых является ранняя диагностика нарушений эмбриогенеза и разработка методов их коррекции. Традиционно большой удельный вес составляют научные проекты, посвященные изучению механизмов старения с целью замедлить процессы старения.

[**↑**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:article)**Литература**

1. Астауров Б.Л. Партеногенез, андрогенез и полиплоидия. Изд-во « Наука» М., 1977.
2. Белоусов Л.В. Основы общей эмбриологии: Учебник. Изд. МГУ, 2005.
3. Бочаров Ю.С. Эволюционная эмбриология позвоночных. Изд-во МГУ, М., 1988.
4. Газарян К.Г., Белоусов Л.В. Биология индивидуального развития животных. Из-во «Высшая школа» М., 1983.
5. Гилберт С. Биология развития (в 3-х томах) Изд-во «Мир» М., 1993-1995.
6. Голиченков В.А. Биология развития. Изд-во МГУ, 1991
7. Нуртазин С.Т., Всеволодов Э.Б. Биология индивидуального развития: Учебник – Алматы: Казак университет, 2005.
8. Токин Б.П. Общая эмбриология. Изд-во «Высшая школа» М., 1970, 1980

**Материал подготовили:**

* проф. Л.В. Белоусов,
* к.б.н. И.В. Володяев,
* проф. Э.Б. Всеволодов,
* проф. В.А. Голиченков,
* проф. Ю.К. Доронин,
* проф. С.Т. Нуртазин.

**Выходные данные:**

* Просмотров: 9915
* Комментариев: [0](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:discuss)
* Опубликовано: 07.02.2014
* Версий: [26](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:versions) , текущая: [26](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0135:versions)
* Статус: экспертная
* Рейтинг: 100.0

**Автор:**

[Володяев Илья Владимирович](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/user:0133475:-profile)

* старший научный сотрудник; кандидат биологических наук

**Ссылки отсюда**

Персоны:

[Бреннер Сидней](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0134750:article); [Филатов Дмитрий Петрович](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133522:article); [Фриденштейн Александр Яковлевич](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0132866:article);

Детализирующие понятия:

[Детерминация](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133512:article); [Дифференцировка](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133511:article); [Компетенция](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133513:article); [Морфогенез](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133510:article).

**Ссылки сюда**

Категории:

[Эмбриология](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0198:article);

Детализирующие понятия:

[Возрастная антропология](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0132725:article); [Морфогенез](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0133510:article).

[](http://www.msu.ru/)

[**Энциклопедия**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encylopedia)

* [Наука](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:017)
* [Государство](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:019)
* [Культура](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:018)

[**Библиотека**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library)

* [Авторы](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library:0271:searchall)
* [Произведения](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/library:0273:searchall)

[**Сообщество**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/community)

* [Люди](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/community:search-users)
* [Сообщества](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/community:search-communities)

[**Научный журнал**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/magazine)

* [Новости](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/news)
* [Публикации](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/publications)

[**О проекте**](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/encyclopedia:0125048)

* [Участники и партнеры](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/community:0126289:users)
* [Обратная связь](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/themes:0129189:0026289:discuss)
* [Статистика](http://lomonosov-fund.ru/enc/ru/pages/portal:statistics)