

Министерство образования и науки Украины
Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина

МЕХАНИЗМЫ ОНТОГЕНЕЗА КУРС ЛЕКЦИЙ

Для студентов биологических специальностей

Харьков – 2015

УДК 575.16(042.4)
ББК 28.03я73
М 54

Рецензенты:

Г. А. Божок – доктор биологических наук, старший научный сотрудник отдела криобиохимии и фармакологии нейрогуморальных систем Института проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины;

А. В. Некрасова – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики и цитологии биологического факультета Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина.

*Утверждено к печати решением Ученого совета
Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина
(протокол № 8 от 29.08.2014 г.)*

Механизмы онтогенеза: курс лекций (для студентов биологических специальностей) / сост., Н. В. Колот, Н. Е. Волкова, Л. И. Воробьёва. – Х. : ХНУ имени В. Н. Каразина, 2015. – 220 с.

ISBN 978-966-285-149-6

Лекционный курс разработан в соответствии с учебной программой нормативной дисциплины «Механизмы онтогенеза» для студентов, обучающихся в магистратуре по специальности 8.04010201 – биология. В пособии обобщены данные научной литературы об особенностях механизмов онтогенеза одноклеточных и многоклеточных организмов. Включён материал о генетической, гормональной и нервной регуляции, а также о механизмах клеточных взаимодействий на разных стадиях онтогенеза, о процессах гистогенеза и органогенеза, об эволюции онтогенеза и его взаимосвязи с филогенезом. Изложены основные гипотезы старения. Пособие может быть полезно студентам ВУЗов, обучающихся по биологическим специальностям.

**УДК 575.16(042.4)
ББК 28.03я73**

ISBN 978-966-285-149-6

© Харьковский национальный университет
имени В. Н. Каразина, 2015
© Колот Н. В., Волкова Н. Е.,
Воробьёва Л. И. сост., 2015
© Дончик И. Н., макет обложки, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
ЛЕКЦИЯ 1. Общая характеристика онтогенеза	6
ЛЕКЦИЯ 2. Особенности онтогенеза организмов разных таксономических групп	32
ЛЕКЦИЯ 3. Главные направления эволюции онтогенеза	72
ЛЕКЦИЯ 4. Клеточные взаимодействия в онтогенезе организмов. . .	89
ЛЕКЦИЯ 5. Регуляция дифференциальной активности генов в онтогенезе	119
ЛЕКЦИЯ 6. Генетические основы онтогенеза.	146
ЛЕКЦИЯ 7. Гормональная и нервная регуляция онтогенеза (на примере животных).	165
ЛЕКЦИЯ 8. Регуляция онтогенеза растений.	180
ЛЕКЦИЯ 9. Старение – этап онтогенеза.	195
Заключение	216

ВВЕДЕНИЕ

Курс «Механизмы онтогенеза» направлен на изучение теоретических и практических вопросов регуляции онтогенеза одноклеточных и многоклеточных организмов, сущности и причин формообразовательных процессов, проблем детерминации и дифференциации, механизмов и причин старения на основе последних достижений биологии.

Проблематика регуляции онтогенеза охватывает большой спектр биологических проблем. Наличие соответствующего курса в системе подготовки квалифицированных биологов играет объединяющую роль в отношении разных биологических наук и создает основу для интеграции молекулярной биологии, физиологии, биологии клетки, генетики, гистологии, цитологии, анатомии, эндокринологии, онкологии и даже эволюционных и экологических исследований. Изучение механизмов разных этапов онтогенеза необходимо для понимания любой области современной биологии.

Известно, что в онтогенезе организмы, особенно многоклеточные, проходят сложнейшие преобразования (дифференциация частей, формирование внешней и внутренней структуры (морфогенез), рост), в основе которых лежат клеточные и системные механизмы развития. К клеточным механизмам относят деление, перемещения, избирательную сортировку, дифференцировку, гибель клеток. Важной особенностью этих механизмов является их избирательность, которая означает, что тот или иной механизм реализуется в определённом периоде онтогенеза и в определённом месте организма с определённой интенсивностью и скоростью, приводя к конкретному качественному и количественному результату.

Строгая закономерность действия клеточных механизмов в онтогенезе регулируется системными механизмами развития, к которым относят ооплазматическую сегрегацию, эмбриональную индукцию, межклеточные взаимодействия, взаимодействия клеточных комплексов, частей и структур зародыша, образование морфогенетических полей и эффекты позиционной информации, нервную и гуморальную регуляцию.

Онтогенез развёртывается согласно генетической программе, и его основными свойствами являются целостность, дискретность и необратимость. При этом организмы являются результатом реализации генетического материала клеток в конкретных условиях микроокружения и под воздействием факторов окружающей среды.

В данном учебном пособии материал расположен в определённой последовательности. Предшествующие лекции могут служить основой для понимания последующих. Это облегчает изучение материала каждой новой лекции. Каждая лекция предваряется планом и завершается вопро-

сами для самоконтроля и списками рекомендованной литературы. Курс адресован студентам магистратуры очной и заочной форм обучения направления – биология, специальности «Биология». Пособие может быть полезно в качестве дополнительной литературы при освоении специальных дисциплин студентами других биологических специальностей.

Данное пособие составлено на основе лекций, прочитанных магистрантам-биологам Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина в 2012–2013, 2013–2014 и 2014–2015 учебных годах.

ЛЕКЦИЯ 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОНТОГЕНЕЗА

ПЛАН

1. Понятие «онтогенез». Рост и развитие организмов, жизненные циклы и их типы.
2. Свойства онтогенеза: целостность, дискретность и необратимость.
3. Типы онтогенеза при наличии сложных жизненных циклов.
4. Нерегулярные типы полового размножения.

1. Понятие «онтогенез».

Рост и развитие организмов, жизненные циклы и их типы

Онтогенез – совокупность последовательных преобразований в индивидуальном развитии организмов от зарождения (оплодотворение яйцеклетки, начала самостоятельной жизни органа вегетативного размножения или деление материнской одноклеточной особи) до конца жизни (гибель или новое деление особи).

Онтогенез является последовательной реализацией наследственной генетической программы развития организма в конкретных условиях внешней среды.

Термин «онтогенез» использовал Э. Геккель в 1866 году при формулировании биогенетического закона, подразумевая под онтогенезом только процесс внутриутробного развития. В настоящее время с этим термином связывается весь спектр последовательных преобразований: рост, дифференцировка, интеграция частей развивающегося организма от момента появления до окончания жизненного цикла.

В ходе онтогенеза все организмы претерпевают рост и развитие.

Рост – увеличение линейных размеров и массы индивидуума (особи) за счёт деления клеток, повышения массы клеток и неклеточных образований в результате преобладания анаболизма над катаболизмом.

Различают два типа роста: *неограниченный* и *ограниченный*. *Неограниченный рост* (например, моллюски, ленточные и кольчатые черви, рыбы, земноводные, древесные формы растений и другие) продолжается на протяжении всего онтогенеза организма до его гибели. При *ограниченном росте* особь достигает определённых размеров в основном до стадии приобретения способности к размножению, после чего прекращает расти (например, большинство членистоногих, птицы, млекопитающие и другие).

В зависимости от строения покровов тела, особенностей индивидуального развития некоторых организмов и условий окружающей среды, рост бывает *непрерывным* и *периодическим*. В случае непрерывного роста организм постепенно увеличивается, пока не достигнет определённых размеров или пока не погибнет (большинство растений и животных, грибы). Периодический рост наблюдается в тех случаях, когда периоды увеличения размеров чередуются с периодами прекращения роста. Например, у круглых червей и членистоногих тело растёт во время линьки, когда сбрасываются старые покровы, а новые ещё не затвердели. Кроме этого, периодический рост характерен для животных, которым присущий анабиоз под воздействием факторов окружающей среды.

Рост обеспечивается следующими механизмами:

- увеличением числа клеток (гиперплазия, пролиферативный рост);
- увеличением размера клеток (гипертрофия, ауксентичный рост);
- увеличением объёма и массы внеклеточного вещества.

У сложноорганизованных многоклеточных организмов реализуются все три указанных механизма.

Пролиферативный рост большинства тканей животных происходит путем митотических делений клеток, например рост кожи. В органах, состоящих из функциональных единиц, таких как печень, почки, легкие, также наблюдается пролиферативный рост. Например, количество нефронов в почке и альвеол в лёгком закладывается в раннем онтогенезе, а рост органов происходит за счёт увеличения числа клеток в уже существующих структурах. Скорость роста определяется соотношением между пролиферацией клеток и их гибелью. Пролиферативный рост известен в двух формах: *мультипликативный* и *аккреционный*.

Мультипликативный пролиферативный рост характеризуется тем, что обе клетки, образовавшиеся при делении исходной, снова вступают в деление. Число клеток растёт в геометрической прогрессии. Мультипликативный рост очень эффективен и происходит, например, в эмбриональном и раннем постэмбриональном периоде онтогенеза.

Аккреционный пролиферативный рост заключается в том, что после каждого последующего деления лишь одна из дочерних клеток снова делится, тогда как другая прекращает деление. При этом число клеток растёт линейно. Этот тип роста связан с разделением органа на камбиальную и дифференцированную зоны. Характерен для тканей, где происходит обновление клеточного состава. Например, клетки эпителия кишечника или дыхательных путей – одна дочерняя клетка делится, а другая дифференцируется и после выполнения функций погибает.

Ауксентичный рост характеризуется увеличением размеров клеток без изменения их количества за счёт возрастания объёма цитоплазмы, количества органоидов, полиплоидизации. Например, увеличение размеров мышечных волокон, количества содержащихся в них ядер происходит при слиянии волокон с сателлитными клетками. Рост нейронов происходит за счёт увеличения размеров тела клетки и ветвления отростков.

В некоторых органах наблюдается оба вышеописанных типа роста. Так, в развитии хрусталика сначала осуществляется деление клеток пролиферативных зон, а затем, в ходе дифференцировки, увеличение размеров клеток.

Рост, который базируется на увеличении количества межклеточного вещества, характерен, например, для кости и хряща, где основная масса ткани приходится на экстрацеллюлярную часть. При этом в межклеточном веществе происходят процессы минерализации, накапливаются метаболиты, увеличивается содержание воды.

Одним из основных ограничений роста является соотношение поверхности к объёму. Если особь становится крупнее, но сохраняет свою старую форму, то площадь её поверхности, имеющая большое значение для поглощения кислорода и питательных веществ, уменьшается по отношению к её новому объёму. Метаболические потребности растущего организма при этом возрастают.

Пространственная организация роста сложна, закономерна, обеспечивает нормальное функционирование организма на протяжении всего онтогенеза и может реализовываться в нескольких вариантах:

- *изометрический рост* происходит путём включения нового материала в существующие ткани тела. Организм увеличивает свой объём, сохраняя пропорции неизменными (у членистоногих);
- *логарифмическая спираль* характерна для животных, способных расти только с одного конца (развитие организма в раковине) за счёт расширения и удлинения;
- *аллометрический (дифференциальный) рост* сопровождается неодинаковой скоростью роста как в различных участках организма, так и на разных стадиях развития (обеспечивает видоспецифичность размеров и строения организмов).

На рост как процесс онтогенетического развития регулирующее действие оказывают генетические и гуморальные факторы. Подтверждением генетического контроля роста является наличие у каждого вида организмов генетических линий, характеризующихся предельными размерами особей (карликовые или гигантские формы). Реализация генетической информации в значительной мере опосредована гуморальными воздей-

ствиями, а именно действием разнообразных ростовых факторов и гормонов (соматотропин, тироксин, стероидные гормоны) или фитогормонов. Влияние на рост оказывают также факторы среды (питание, время года, температура, влажность, солёность, плотность популяции, физическая нагрузка и психологические воздействия и другие). Динамика роста характеризуется сезонностью и суточной ритмичностью (чередование процессов интенсивного или замедленного роста), например 15-ти суточные ритмы роста у морских моллюсков (*Mytilus edulis*), связанные с минимальными и максимальными приливами. В случае замедления роста под влиянием неблагоприятных факторов внешней среды он может компенсаторно возобновиться в более высоком темпе после прекращения действия неблагоприятных факторов.

Развитие организмов – система морфогенетических событий, которая реализуется через многочисленные метаболические процессы, деление клеток, увеличение их размера, дифференцировку, формообразование тканей, органов и их систем. В организме качественные преобразования происходят независимо от роста на всех этапах реализации генетического материала: от последовательностей нуклеотидов ДНК до фенотипа (формирование признака). Показателем темпов развития служит переход организма к размножению.

Таким образом, именно рост и развитие организма есть суть реализации неповторимой наследственной программы (генотипа) в её внешнее проявление (фенотип) под воздействием и контролем разнообразных и всегда уникальных факторов среды. С преобразованиями, происходящими в процессе онтогенеза, связаны все виды изменчивости биологических признаков живых организмов. Все морфологические, физиологические, биохимические, этологические признаки, реализующиеся на определённых стадиях онтогенеза и обеспечивающие приспособление организма к соответствующим условиям среды, сформировались у вида в ходе его эволюционного становления и сохраняются в ряду поколений в закодированном виде в его геноме.

Жизненный цикл – совокупность стадий индивидуального развития, пройдя которые организм достигает зрелости и становится способным давать начало следующему поколению. При чередовании поколений в один жизненный цикл входят этапы развития двух и трёх последовательных поколений, каждое из которых имеет свой онтогенез. Например, у сцифоидных: яйцо – планула – сцифистома – эфира – медуза. Следовательно, жизненный цикл может быть представлен как одним онтогенезом, так и рядом сменяющих друг друга онтогенезов. Длительность жизненного цикла определяется числом поколений, развивающихся в течение какого-то

времени с учётом периода покоя или диапаузы. Например, у высших растений различают однолетний, двулетний и многолетний жизненный цикл.

У животных различают *простой жизненный цикл* – при прямом развитии особей и *сложный* – с метаморфозом или с чередованием поколений.

Прямое развитие

1. Неличиночное развитие характерно для следующих беспозвоночных (свободноживущие плоские черви (Turbellaria), коловратки (Rotatoria), малощетинковые черви (Oligochaeta) и пиявки (Hirudinea), паукообразные (Arachnida)) и хордовых (круглоротые (миксины) (Cyclostomata, отряд Muxini), часть рыб (представители как Chondrichthyes, так и Osteichthyes), пресмыкающиеся (Reptilia), птицы (Aves) и другие). Для данного типа развития характерна откладка яиц с большим количеством желтка. Благодаря этому в яйцах, откладываемых во внешнюю среду, проходит значительная часть онтогенеза, метаболизм зародышей обеспечивается развивающимися провизорными органами, представляющими собой зародышевые оболочки (желточный мешок, амнион, аллантоис).

2. Внутриутробное развитие (например, млекопитающие животные (Mammalia), человек (*Homo sapiens*)). Так как в яйцеклетках этих организмов сравнительно мало питательных веществ, то все жизненные функции зародышей обеспечиваются материнским организмом посредством провизорных органов, среди которых основной является плацента. Эволюционно внутриутробное развитие является самой поздней формой, однако оно наиболее выгодно для зародышей, так как наиболее эффективно обеспечивает их выживание.

Следовательно, при прямом развитии зародышевый период заканчивается рождением молодой формы, которая общим планом строения сходна со зрелой формой, а различия между ними заключаются лишь в размерах, а также в структурно-функциональной незрелости некоторых систем органов.

Непрямое развитие или развитие с метаморфозом

Развитие с полным превращением или метаморфозом появилось в эволюции как приспособление к конкретным условиям окружающей среды, повышающее выживаемость особей вида. *Метаморфоз* – совокупность процессов превращения личиночной формы во взрослую особь, находящиеся под контролем эндокринной системы.

Значение метаморфоза:

1) личинки могут самостоятельно питаться и расти, накапливая клеточный материал для формирования постоянных органов, свойственных взрослым животным;

2) свободноживущие личинки прикрепленных или паразитических, животных играют важную роль в расселении вида, в расширении ареала их обитания;

3) смена образа жизни или среды обитания в процессе онтогенеза снижает интенсивность борьбы за существование внутри вида.

Виды непрямого развития

1. Непрямое развитие с неполным метаморфозом: яйцо → личинка (нимфа) → взрослая особь (рис. 1). Такой тип развития характерен для земноводных (Amphibia) и некоторых отрядов насекомых: таракановых (Blattoptera), привиденьевых (Phasmatoptera), богомоловых (Mantoptera), прямокрылых (Orthoptera), уховерток (Dermaptera), эмбий (Embioptera), равнокрылых (Homoptera), клопов (Hemiptera), подёнок (Ephemeroptera), веснянок (Plecoptera), стрекоз (Odonata) и других.

2. Непрямое развитие с полным метаморфозом: яйцо → личинка → куколка → взрослая особь или имаго (рис. 2). Этот тип метаморфоза наблюдается у представителей отрядов большекрылых (Megaloptera), ручейников (Trichoptera), бабочек (Lepidoptera), перепончатокрылых (Hymenoptera), жуков (Coleoptera), сетчатокрылых (Neuroptera), двукрылых (Diptera) и другие.

Продолжительность отдельных стадий у разных животных варьирует в широких пределах. Например, личиночная стадия может длиться от нескольких дней (*Drosophila melanogaster*) до 2–3 лет (*Melolontha*).

Таким образом, онтогенез и жизненный цикл характеристики разных биологических уровней (организменного и видового). При этом в ходе онтогенеза осуществляются «жизненные задачи» особи, а в ходе жизненного цикла – «жизненные задачи» вида.

2. Свойства онтогенеза: целостность, дискретность и необратимость

Онтогенез каждого организма представляет собой *целостную систему*.

Один из законов теоретической биологии (закон Дриша; по имени немецкого эмбриолога Г. Дриша (1867–1914 гг.)) гласит, что индивидуальное развитие организма есть целостный процесс, и будущее состояние каждого развивающегося элемента есть функция его положения в целом.

Основные положения закона следующие:

1. Целостность организма – его внутреннее единство, относительная автономность, подчинённость частей целому – проявляется в течение всех стадий онтогенеза. Онтогенез представляет собой упорядоченное единство последовательно чередующихся состояний целостности.

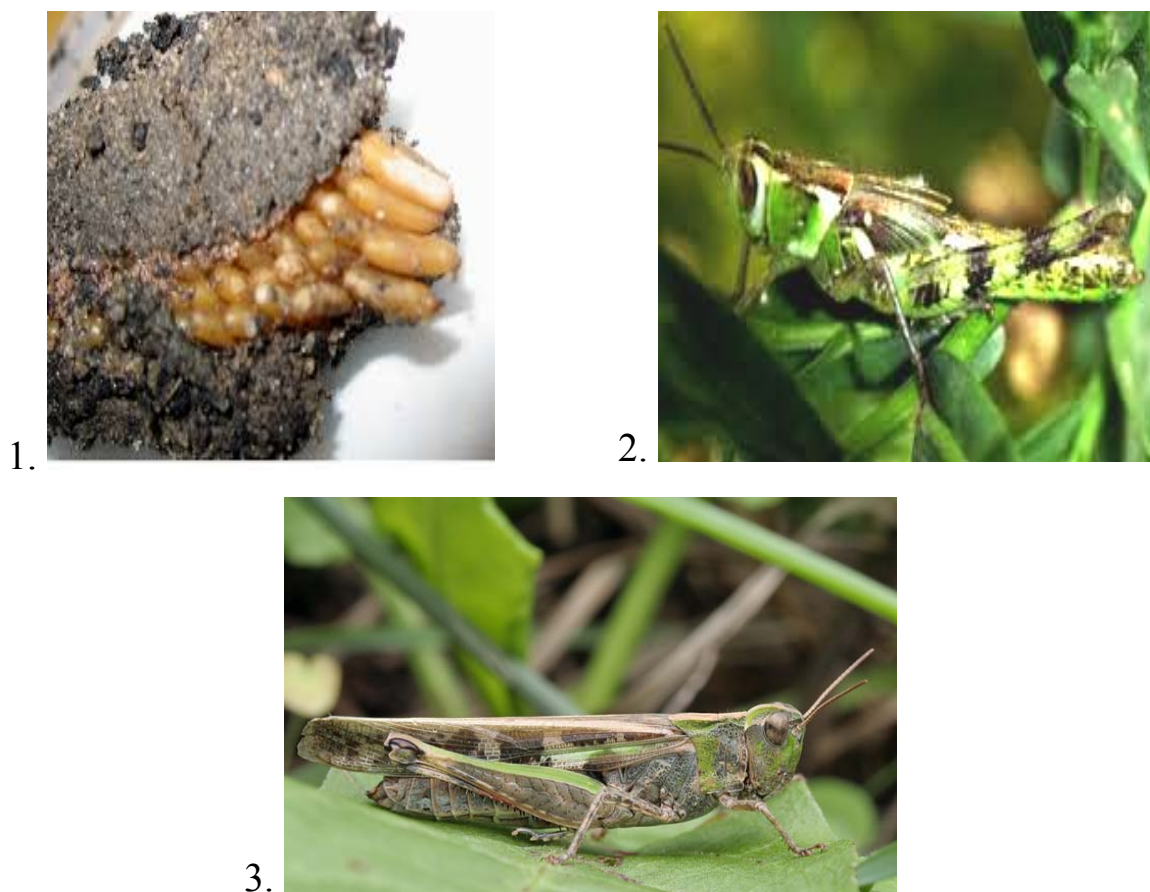


Рис. 1. Развитие насекомых семейства Acrididae с неполным превращением: 1 – яйцо; 2 – нимфа; 3 – взрослая особь [11]

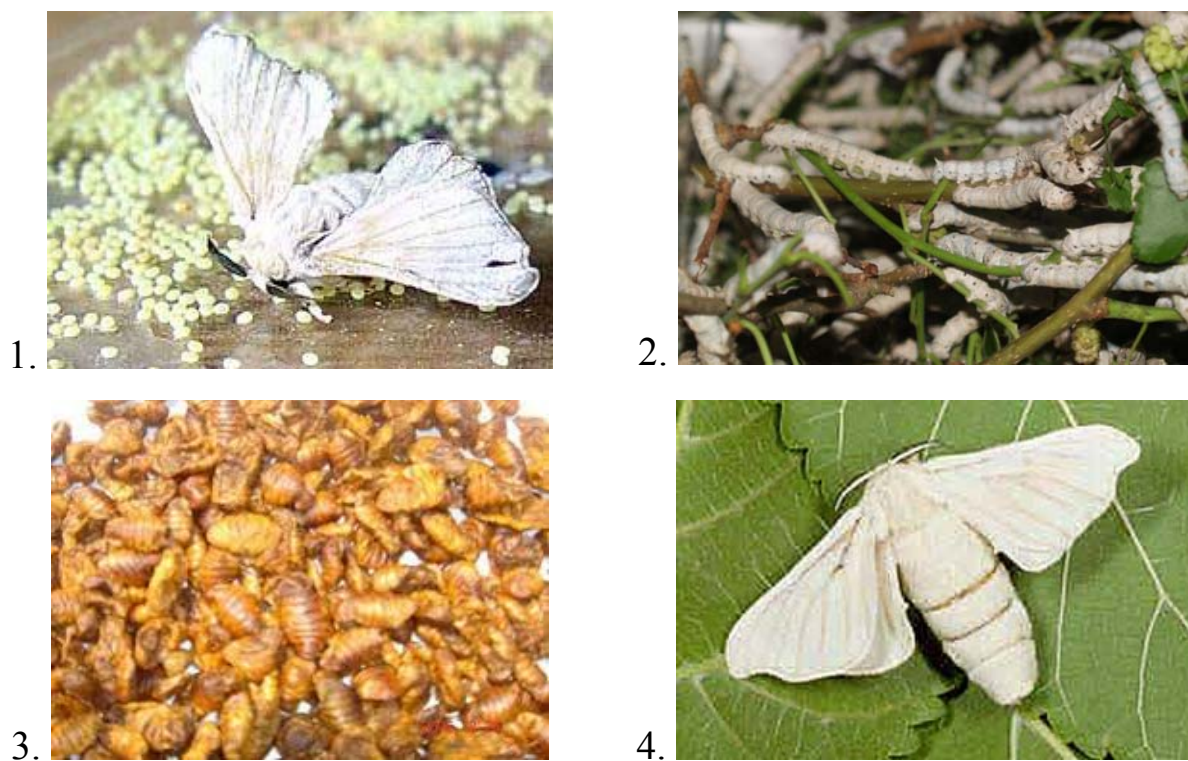


Рис. 2. Развитие насекомых с полным превращением (*Bonbyx mori*): 1 – яйцо; 2 – личинка; 3 – куколка; 4 – имаго (взрослая особь) [11]

2. Целостность онтогенеза базируется на действии системно-регуляторных факторов: цитогенетических, морфогенетических, гормональных, морфофизиологических, а у большинства животных также нейрогуморальных. Эти факторы, действуя по принципу обратной связи, координируют ход развития и жизнедеятельность организма как активного целого в тесной связи с условиями окружающей среды.

3. Свойство целостности имеет количественное выражение, неодинаковое для представителей разных видов, для разных особей, стадий и состояний организма. У растений целостность, как правило, выражена в меньшей степени, чем у животных. В процессе регенерации, т. е. восстановления утраченных частей или восстановления организма из части, целостность возрастает. Усложнение организации в процессе онтогенеза и филогенеза, усиление координирующей функции системно-регуляторных факторов организма означают возрастание целостности.

4. Филогенетические изменения основываются на изменениях целостных онтогенезов, протекающих в условиях воздействия естественного отбора на системно-регуляторные факторы. Поэтому свойство целостности сохраняется организмами не только в их индивидуальном, но и в историческом развитии. Изменения, разрушающие целостность, устраняются отбором.

Известно, что онтогенез всех организмов носит стадийный характер. У вирусов стадии связаны с жизненным циклом, с их репродукцией и переходом из одной клетки в другую. Онтогенез одноклеточных и клеток многоклеточного организма включает фазы клеточного цикла. В онтогенезе многих растений выделяются хорошо различимые стадии чередования поколений (полового и бесполого). У растений и особенно животных чётко разграничены стадии: *эмбриональная, ювенильная, зрелости и старения*.

Стадии развития и уровень целостности организма:

- 1) *цитогенетическое целое*, присущее отдельной делящейся клетке;
- 2) *эмбриональное целое*, характеризующее фазы дробления яйца, дифференцировки, морфогенеза и роста зародыша;
- 3) *постэмбриональное онтогенетическое целое* характерно для ювенильной стадии и зрелости;
- 4) *инволюционное целое* отражает системный характер инволюционного развития организма на стадии старения.

Таким образом, одним из основных свойств онтогенеза является целостность, сохраняющаяся на всех уровнях организации (молекулярном, клеточном, тканевом и других) за счёт интеграции и упорядоченных взаимодействий различных структур.

Тем не менее, в ходе онтогенеза наблюдается и ярко выраженная прерывность, дискретность. Индивидуальное развитие организмов про-

текает неравномерно с качественной сменой периодов, выражающейся в изменении характера роста и дифференцировки вследствие реализации дискретной генетической информации. Дискретность генетической информации как выражение действия отдельных генов проявляется, например, при внутривидовой гибридизации в комбинировании альтернативных признаков исходных форм у расщепляющегося потомства. Реализация генотипа в онтогенезе изменчива и происходит приспособительно к конкретным условиям среды. Степень возможной изменчивости при реализации генотипа называется *нормой реакции* и выражается совокупностью возможных фенотипов при различных условиях среды. Это определяет онтогенетическую адаптацию, обеспечивающую выживание и репродукцию организмов, иногда даже при значительных изменениях внешней среды. *Таким образом, дискретная генетическая информация способна обеспечивать в определённых пределах изменчивость онтогенеза в зависимости от меняющихся условий среды.*

При реализации генетической программы онтогенеза невозможен возврат к предыдущим стадиям – необратимость онтогенеза. Онтогенез многоклеточных организмов сопровождается общими процессами:

- рост – увеличение числа клеток и / или их объема (растяжение);
- гистогенез – образование и дифференцировка тканей;
- органогенез – образование органов и систем органов;
- морфогенез – формирование морфологических признаков;
- репродукция;
- физиолого-биохимические преобразования;
- инволюция систем и организма в целом.

Все вышеперечисленные процессы происходят на основе биохимической, физиологической, генетической и морфологической дифференцировки клеток, тканей и органов. Следовательно, *развитие организма происходит с соблюдением принципов целостности, дискретности и необратимости онтогенеза, при этом организм вначале использует энергию для осуществления морфогенетических процессов, а по достижении зрелости – для воспроизведения, после чего начинаются инволюционные процессы.*

3. Типы онтогенеза при наличии сложных жизненных циклов

Типы онтогенеза:

- онтогенез организмов с бесполом размножением и / или при зиготном мейозе (прокариоты и некоторые низшие эукариоты);
- онтогенез организмов с чередованием ядерных фаз при споровом и гаметном мейозе;

- онтогенез с чередованием полового и бесполого размножения без смены ядерных фаз;
- онтогенез с наличием личиночных и промежуточных стадий: от первично-личиночного анаморфоза до полного метаморфоза;
- онтогенез с утратой личиночных и конечных стадий. Гетерохрония.

Одно из основных свойств живого состоит в размножении. В основном размножение совершается тремя способами: вегетативным, бесполом и половым. Бесполое размножение *эволюционно возникло раньше полового*.

Онтогенез организмов с бесполом размножением и /или при зиготном мейозе (прокариоты и некоторые низшие эукариоты)

Бесполое размножение – размножение организмов, происходящее без образования гамет с участием лишь одного родительского организма. Осуществляется спорами (митоспорами и мейоспорами), которые возникают в вегетативных клетках, либо у многоклеточных организмов в спорангиях, а у одноклеточных водорослей вся клетка становится спорангием. В жизненном цикле в основном встречается в сочетании с вегетативным и /или половым размножением, и способствует воспроизведению потомства сходного генетически с материнским (клон) организмом. Особи одного клона могут быть генетически различными только в случае возникновения случайной мутации.

Зиготный или начальный мейоз (у многих грибов, водорослей, паразитических простейших (Sporozoa)) происходит в зиготе сразу после оплодотворения и приводит к образованию гаплоидных клеток, формирующих мицелий и таллом. Затем из отдельных клеток гаплоидного таллома образуются гаметы или споры. Зиготный мейоз встречается у организмов, в жизненном цикле которых преобладает гаплоидная фаза. Диплоидна у них только зигота.

Онтогенез организмов с чередованием ядерных фаз при споровом и гаметном мейозе

Чередование ядерных фаз – смена поколений организмов, в онтогенезе которых при половом процессе в результате слияния гамет и их ядер происходит удвоение числа хромосом в ядре – *диплоидная фаза*. А на следующем этапе цикла развития, при мейозе, происходит редукция числа хромосом, в результате которой образующиеся ядра получают одинарный набор хромосом – *гаплоидная фаза*. При этом мейоз может происходить или при образовании спор, или при образовании гамет.

Споровый тип мейоза встречается, например, у высших споровых растений, красных водорослей (родов *Cladophora*, *Ectocarpales* и др.) между стадиями спорофита и гаметофита (например, при спорообразовании у высших споровых растений). При этом процессы полового

и бесполого размножения закономерно сочетаются в жизненном цикле. Бесполое размножение осуществляется с помощью спор, образующихся мейозом в спорангиях, располагающихся на спорофите. Половое размножение происходит путём слияния гамет: сперматозоидов (антерозоидов), созревающих в антеридиях, и яйцеклеток, формирующихся в архегониях, расположенных на гаметофитах.

Чаще всего организм со споровым типом мейоза присущ *чередование поколений*, при котором половое поколение гаплоидно, а бесполое – диплоидно. Диплоидный организм называется *спорофитом*, поскольку образует гаплоидные споры. На спорофите развиваются органы бесполого размножения (спорангии, зооспорангии), образующие в результате мейоза гаплоидные споры, прорастающие затем в новые половые поколения (рис. 3 А, Б). Вырастающий из споры гаплоидный организм – *гаметофит* – продуцирует гаметы и осуществляет половое размножение. Он может быть обоеполым (сфагнум, равноспоровые Polypodiophyta, Lycopodiophyta) или раздельнополым (некоторые бурые водоросли, разноспоровые Polypodiophyta, Lycopodiophyta и др.). Из зиготы вновь образуется спорофит.

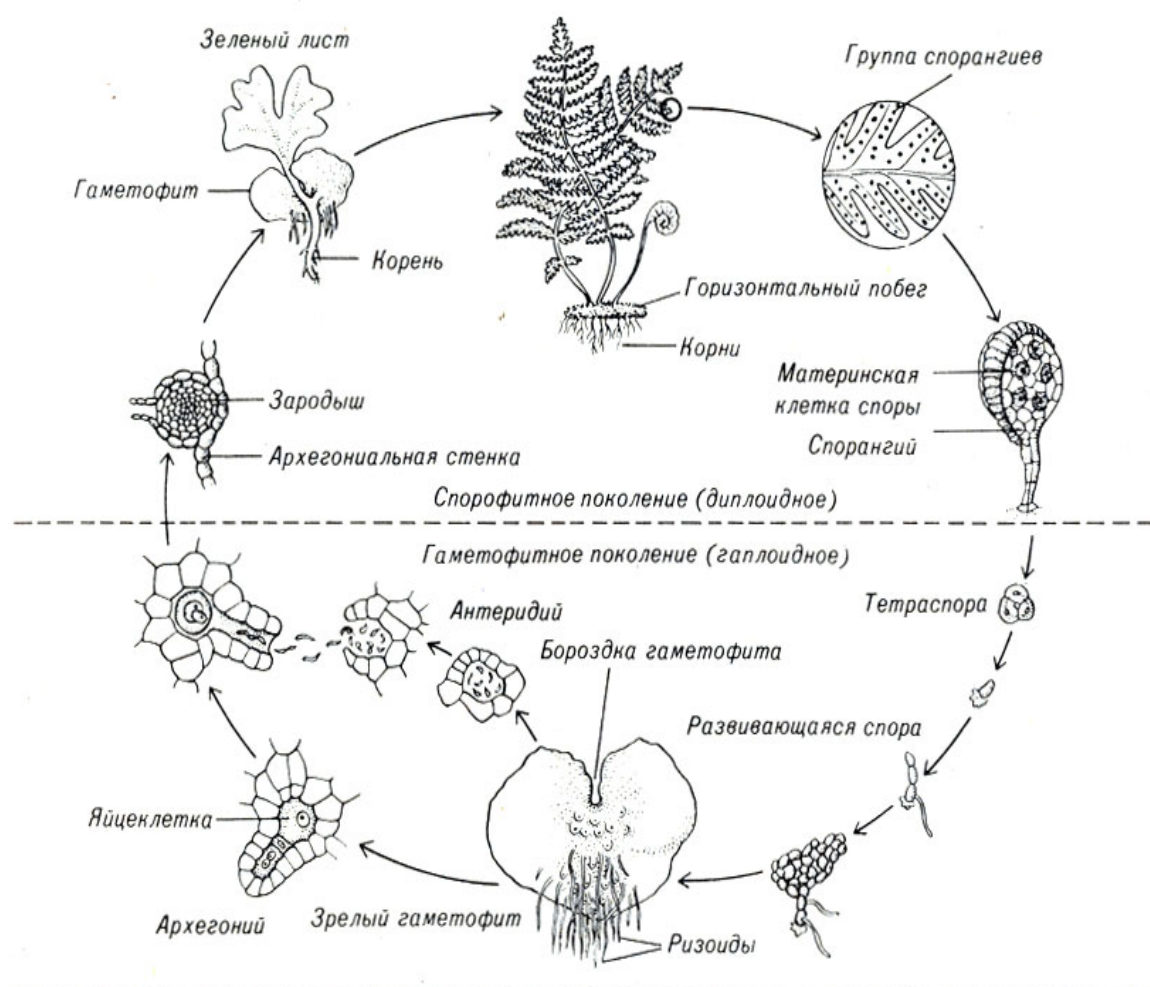


Рис. 3 А. Цикл развития папоротника со сменой полового (гаметофит) и бесполого (спорофит) поколений [3]

Гаметофит и спорофит могут быть одинаковы морфологически и по продолжительности жизни (*изоморфное чередование поколений*), например, у некоторых зелёных, бурых и красных водорослей. При изоморфной смене каждое поколение представлено самостоятельно живущей особью. Если гаметофит и спорофит резко различаются – *гетероморфное чередование поколений* (высшие растения). При гетероморфной смене поколений оба организма развиваются либо независимо друг от друга (равноспоровые Polypodiophyta, Lycopodiophyta, Equisetophyta), либо одно из поколений существует за счёт другого (Bryophyta и др.).

Гаметный тип мейоза происходит при образовании гамет из клеток-предшественников. Он встречается у большинства многоклеточных животных и семенных растений, а также у бурых водорослей рода *Fucus*.

Эволюционно у большинства организмов с гаметным типом мейоза в жизненном цикле происходит редукция гаметофита, и тело представлено спорофитом, а гаметофит является частью спорофита.

Таким образом, в жизненном цикле низших и высших споровых растений закономерно сменяется гаметофит спорофитом. Эволюция жизненного цикла высших растений имела два противоположных направления. У Bryophyta она была направлена в сторону возрастания самостоятельности гаметофита и его постепенного морфологического усложнения, потери самостоятельности спорофита и его морфологического упрощения. А у всех остальных высших растений самостоятельной фазой жизненного цикла стал спорофит, а гаметофит у них в течение эволюции постепенно уменьшался и упрощался. Максимальная редукция гаметофита связана с разделением полов.

Онтогенез с чередованием полового и бесполого размножения без изменения ядерных фаз

У некоторых животных чередование поколений в онтогенезе может происходить без изменения ядерных фаз. Различают первичное и вторичное чередование поколений. *Первичное чередование поколений* встречается у многих простейших, при этом происходит смена полового поколения поколением, размножающимся агаметами (неполовыми клетками). Например, у класса Foraminifera гаплоидное поколение представлено *гамонтами* (n), которые путём митотического деления формируют гаметы (n). После изогамного полового процесса образуется диплоидная зигота ($2n$), которая развивается в *агамонт* ($2n$). Агамонты подвергаются мейозу при формировании агамет (n), которые, затем, трансформируются в гамонтов (n).

У многих простейших (*Heliozoa, Mastigophora*) при благоприятных условиях происходит интенсивное бесполое размножение путём деления, что приводит к быстрому росту их численности. Время от времени у них осуществляется мейоз, который приводит к образованию гамет (гаплоидная стадия онтогенеза).

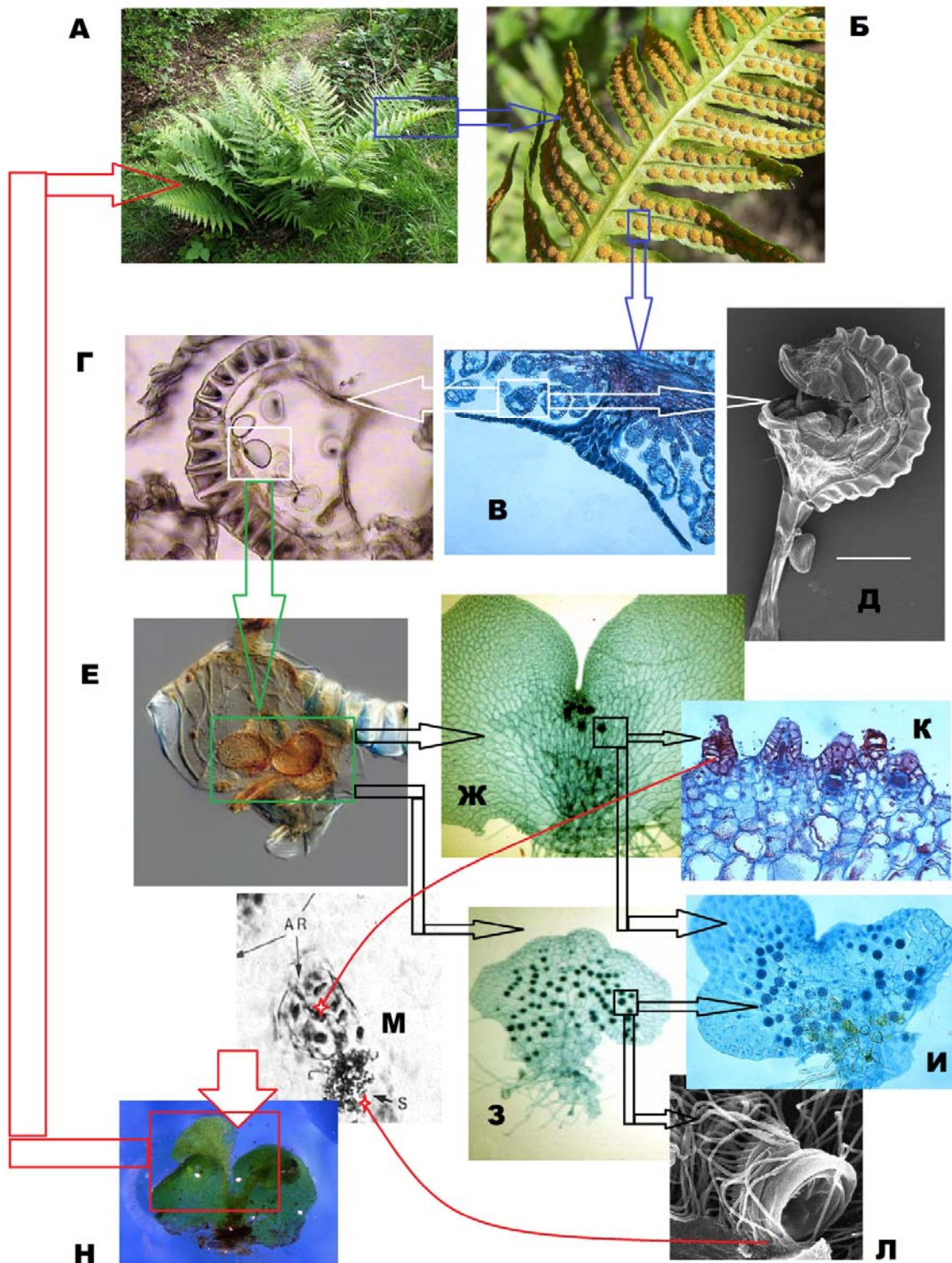


Рис. 3 Б. Цикл развития Polypodiophyta: А – спорофит (диплоидное поколение); Б – сорус (группа спорангиев); В – срез соруса; Г – сорус со спорами; Д – спорангий; Е – зрелые споры; Ж – заросток с архегониями (гаплоидное поколение); З – заросток с антеридиями (гаплоидное поколение); И – антеридий со сперматозоидами; К – архегоний с яйцеклетками; Л – сперматозоиды; М – слияние сперматозоидов с яйцеклетками (оплодотворение); Н – зелёный лист (проростание спорофита) [9, 14]

Вторичное чередование поколений встречается у животных в двух формах:

- чередование амфимиктических (половое размножение с оплодотворением) и партеногенетических поколений – *гетерогония* (у трематод, некоторых круглых червей, коловраток, некоторых членистоногих);
- чередование полового и бесполого поколений – *метагенез* (например, у оболочников и кишечнополостных).

Онтогенез с наличием личиночных и промежуточных стадий: от первично-личиночного анаморфоза до полного метаморфоза

У большинства насекомых из яйца выходит молодое животное или личинка с полным числом сегментов. Однако у примитивных скрыто-челюстных отряда Protura молодые особи после выхода из яйца отличаются от взрослых отсутствием трёх задних сегментов брюшка (анаморфоз), которые затем формируются из задней зоны роста последовательно после первых линек.

Анаморфоз – одна из форм постэмбрионального развития, при котором личинка отличается от взрослой особи неполным числом туловищных сегментов.

У наиболее представлелей подкласса Entognatha рост и развитие молодого организма не сопровождаются существенными изменениями строения. Молодые особи во всех главных чертах похожи на материнский организм, личиночная стадия и метаморфоз отсутствуют.

Крылатые насекомые, стоящие более высоко в эволюционном ряду, обладают метаморфозом, причём по характеру превращения они делятся на *гемиметаболических* (с неполным превращением) и *голометаболических* (с полным метаморфозом). При неполном превращении вылупляющаяся из яйца личинка по внешнему виду похожа на взрослый организм, отличаясь от него лишь зачаточным состоянием крыльев, недоразвитием вторичных половых признаков и наличием личиночных органов, например, трахейные жабры у личинок подёнок и другие. В процессе последовательных линек личинка всё более становится похожа на взрослую стадию имаго. У некоторых насекомых количество линек может достигать 25–30 (подёнки отряд Ephemeroptera). У представителей других отрядов линек меньше (4–5).

У голометаболических насекомых личинка резко отличается от имаго наличием ряда примитивных признаков: отсутствие крыльев, слабое развитие органов чувств (сложных глаз нет, а имеются лишь глазки, антенны очень малы и другое), различия в строение ротового аппарата (например, грызущий у гусениц бабочек и сосущий ротовой аппарат у взрослых бабочек). Кроме этого, в некоторых случаях, наблюдается

отличие в строении и количестве конечностей: например, у гусениц бабочек и личинок некоторых перепончатокрылых (пилильщики – Tenthredinidae) на брюшных сегментах развивается ещё несколько пар конечностей – ложные ножки; последние отличаются слабой расчленённостью и наличием присоски, что у взрослых насекомых не сохраняется. Также встречаются личинки, у которых не только грудные, но и часть ротовых конечностей может редуцироваться. Это характерно для личинок, которых либо выкармливают взрослые особи (многие перепончатокрылые – Hymenoptera), либо для обитающих на субстрате, используемом в качестве пищи (например, личинки Diptera). При этом строение, характерное для личинки, сохраняется в течение всего личиночного периода: превращение совершается не постепенно, а необходимые для метаморфоза изменения отодвигаются ко времени последней личиночной линьки. В этот период совершаются преобразования организма личинки, которые начинают препятствовать физиологическим функциям, особенно питанию и движению. Это сказывается в том, что личинка после последней линьки переходит в состояние покоя – стадия куколки. Куколка составляет наиболее характерную стадию голометаболического превращения.

Таким образом, постэмбриональное развитие организмов некоторых крупных таксонов, в частности насекомых, характеризуется значительным разнообразием, которое определяется биологическими особенностями представителей конкретной группы животных.

Онтогенез с утратой личиночных и конечных стадий. Гетерохрония

Многообразие животного мира не сводится к таксономическому разнообразию. Каждая особь своеобразна и неповторима. Каждый организм состоит из систем признаков разного уровня сложности, последовательно или параллельно развивающихся в онтогенезе. Все системы признаков выстраиваются в иерархию, которая в систематическом плане соответствует иерархии таксонов. Одни признаки характерны для большого массива организмов, характеризуя, например, тип. Другие признаки характерны для объединения меньшего размера – классов, отрядов, семейств и родов. На каждом таком систематическом уровне определяющие этот уровень признаки, с одной стороны, постоянны и неизменны, а с другой – в разной степени изменчивы. Наиболее вероятным механизмом морфологической изменчивости организмов являются *гетерохронии* – изменения относительного времени проявления и темпов развития признаков или онтогенетических процессов, приводящие к изменениям в дефинитивной морфологии, присутствующей у предковых форм.

Гетерохронии считаются важным эволюционным механизмом, так как небольшие генетические изменения, вызывающие относительные

сдвиги во временных параметрах онтогенеза, могут приводить к скоординированным изменениям в морфологии, физиологии и поведении животных. Гетерохронии позволяют тонко «настраивать» онтогенез некоторых организмов под конкретные условия обитания (изменение источников питания организмов, способов дыхания и передвижения и других).

Выделяют различные пути гетерохроний: утрата личиночных стадий или прямое развитие, пedomорфоз (неотения и прогенез).

Онтогенез с утратой личиночных стадий или прямое развитие

На рост и развитие организмов в разные периоды онтогенеза сильное влияние оказывают факторы среды, которые могут приводить к смене условий существования и образа жизни животного в течение его индивидуального развития. Например, переход от свободно-плавающего к прикрепленному образу жизни, от водного к наземному или воздушному способу жизни. Переход морских организмов к жизни в пресной воде и на суше часто вызывает утрату личиночных стадий развития и / или стадий бесполого размножения (пресноводные гидры, олигохеты, наземные и вторично-водные брюхоногие моллюски). Например, у виноградной улитки (*Helix pomatia*) из яйца выходит улитка, похожая на взрослую особь, но в яйце она проходит стадию, напоминающую велигер морских форм.

Если образ жизни ранних постэмбриональных стадий и взрослой формы сходен, из яйца выходит личинка-нимфа, похожая на взрослый организм. Например, развитие Oligochaeta протекает без метаморфоза (с утратой личиночных стадий). Из яйцевого кокона выходят маленькие особи, похожие на взрослых. При этом прямое развитие с утратой личиночных стадий у Oligochaeta связано с переходом к жизни на суше или к обитанию в пресных часто пересыхающих водоёмах. Онтогенез дождевых червей (*Lumbricina*) сопровождается отсутствием бесполого размножения. Следовательно, резкое изменение условий обитания может приводить к изменению индивидуального развития организмов.

Онтогенез с утратой конечных стадий и размножением на ранних этапах онтогенеза

Известно, что онтогенез ранних амфибий был сложным и разнообразным, но выделяют две стратегии жизненного цикла в зависимости от условий обитания. Первая – наиболее распространённая – это небольшие изменения онтогенеза за счёт незначительных перестроек нуклеотидной последовательности ДНК (делеций, инсерций и других), что коррелирует с изменением окружающей среды, обеспечивая тонкую онтогенетическую настройку. Например, онтогенетическое преобразование, обеспечившее способность взрослых амфибий существовать без воды.

Вторая – эволюционные изменения развития организмов в ответ на экологические изменения приводят к существенным изменениям онтогенеза. Так, эволюционно значимым является появление в жизненном цикле разделения личиночного и взрослого периода онтогенеза у одной группы ранних амфибий Branchiosaurids, которая сопровождалась такими изменениями, как задержка в развитии костей черепа, что необходимо было для питания личинок. У другой группы Branchiosaurids полностью исчезла стадия метаморфоза и возникло прямое развитие. В зависимости от условий обитания у третьей группы Branchiosaurids отмечалась утрата конечной стадии онтогенеза и приобретение способности к размножению на стадии личинки, что привело к появлению неотенических популяций или видов. При этом стадия личинки, метаморфоз, неотения и другие являются проявлениями адаптивной стратегии к конкретным условиям обитания в онтогенезе организмов.

Онтогенез животных с утратой конечных стадий и размножением на ранних стадиях онтогенеза проявляется в виде пedomорфоза (неотении и прогенеза).

Пedomорфоз – эволюционно закреплённое естественным отбором явление сохранения у взрослых половозрелых особей ювенильных или личиночных признаков предковых форм. Признаки могут комбинироваться у взрослых особей в разных сочетаниях, что обеспечивает многообразие таксономических групп. Основой пedomорфоза являются сдвиги в темпах полового и соматического развития. Замедление скорости соматического развития или ускорение полового развития приводят к тому, что организм достигает половой зрелости при сохранении ювенильных или личиночных морфологических признаков. При этом достижение половой зрелости сопровождается резким замедлением дальнейшей дифференцировки и ювенилизированная морфология фиксируется у пedomорфного организма в качестве дефинитивной.

Различают две формы пedomорфоза: *неотению* (замедление соматического развития по отношению к проявлению репродуктивной активности) и *прогенез* (ускорение полового развития по отношению к соматическому развитию). При этом сохранение ювенильной формы тела сопровождается полноценным развитием половых клеток и гонад.

Явление пedomорфоза известно у земноводных, членистоногих, большинства брюхоногих моллюсков, иглокожих, пресноводных гидр, оболочников, олигохет, а также у многих растений.

Согласно гипотезе, предложенной M. V. Mina и J. J. Dgebuadze, гетерохронии (пedomорфоз), ответственные за возникновение морфологических различий у *Labeobarbus (Barbus) intermedius*, вероятно, являются следствием изменений в системе гормональной регуляции развития.

Известно, что индукция многих онтогенетических процессов, их скорость, сроки и продолжительность у костистых рыб и амфибий зависят в основном от гормонов щитовидной железы (тиреоидные). Показано, что тиреоидные гормоны принимают участие в регуляции метаморфных преобразований черепа у *Pleuronectes platessa* (камбала) и других.

Модельным объектом для изучения пedomорфоза являются саламандры, поскольку многие их виды являются пedomорфными. Всего у саламандр выделяют около 10 семейств, 59 родов и 500 видов. Жизненный цикл этих животных включает следующие этапы: яйцо (водная среда) – личинка (водный образ жизни) – взрослые животные (наземный образ жизни). У пedomорфных видов хвостатых земноводных личинки не завершают метаморфоз, но становятся половозрелыми, сохраняя морфологические признаки личинок и водный образ жизни.

Выделяют следующие пedomорфные семейства саламандр – Amphiumidae, Proteidae, Sirenidae, Ambystomatidae, Dicamptodontidae и Plethodontidae. У пedomорфных семейств Ambystomatidae, Dicamptodontidae и Plethodontidae установлены ядерный ген *RAG-1* (recombination activating gene - 1) и сходная ядерная рибосомальная РНК-последовательность, аллоэнзимы (различные формы ферментов, синтез которых кодируется различными аллелями одного локуса), кроме этого у Plethodontidae обнаружена сходная с непedomорфными видами митохондриальная ДНК-последовательность. Ограниченная генетическая дивергенция пedomорфных видов указывает на их тесную связь между собой и с непedomорфными видами других семейств. В основе пedomорфоза у хвостатых земноводных, возможно, лежат структурные перестройки генома.

Рассмотрим классический пример формирования разных видов хвостатых земноводных путём блока метаморфоза, регулируемого осью гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа. В норме тиротропин-рилизинг фактор, образующийся в гипоталамусе, освобождается из него и, стимулируя секрецию тиреотропин-стимулирующего фактора гипофизом, который в свою очередь, способствует синтезу и секреции щитовидной железой тироксина и тиреоидина. *Тироксин* – малоактивная форма гормона и может под действием монодейодиназы конвертироваться в *тиреоидин* (активную форму гормона). В клетках щитовидной железы образуются оба гормона, и оба могут секретироваться и связываться с рецепторами на тканях-мишенях, способствуя нормальному протеканию процессов развития от личиночной стадии до взрослого организма.

Наследственное нарушение процессов синтеза и секреции тиротропин-рилизинг фактора сопровождается нарушением метаморфоза у хвостатых амфибий вида *Ambystoma gracile* и *A. tigrinum* (рис. 4). Нарушение в гипофизе процессов синтеза и секреции тиротропин-стимулирующего

фактора приводит к утрате способности проходить все стадии метаморфоза у *A. mexicanum*, которые остаются водными животными с наружными жабрами, плавательной перепонкой на хвосте и другими личиночными органами. Наследственно обусловленные нарушения синтеза и секреции тироксина и тиреоидина в клетках щитовидной железы, или отсутствие рецепторов на тканях-мишенях к данным гормонам, способствуют также блоку метаморфоза у *Siren*, *Nectunus* и *Eurycea neotenes*.

При этом искусственное введение гормонов (инъекция тиреоидина или тироксина) представителям вида *Eurycea neotenes* (высокая концентрация гормонов) вызывает метаморфоз во взрослую особь. Виды *Siren* и *Nectunus* не отвечают на любые концентрации тироксина и тиреоидина, введённого экспериментально, и остаются на стадии личинки. Кроме этого, известно, что постоянножаберные хвостатые земноводные (пещерный протей (*Proteus anguinus*), слепой тритон (*Typhlomolge rathbuni*) и другие) также являются половозрелыми личинками, которые ведут водный образ жизни.

В растительном мире пedomорфоз встречается у мохообразных, плауновидных, папоротников, голосеменных, покрытосеменных. Так, просто устроенное тело ряски семейства *Agaceae* возникло в результате остановки развития на одной из самых ранних стадий онтогенеза. Переход у некоторых растений от древовидных к травянистым формам является ещё одним примером выпадения конечных стадий развития. Неотенией также считается упрощение гаметофита у *Pteridophyta* и редукция спорофита у *Bryophyta* при сохранении в обоих случаях репродуктивных функций.

Как можно заметить, пedomорфоз является широко распространённым механизмом фенотипического изменения в группах организмов от растений до приматов. Для изменения скорости развития, инициирующего пedomорфоз, достаточно относительно небольших генетических изменений, не вызывающих нарушения генетического баланса. При этом приобретаемые в результате пedomорфоза морфологические признаки являются ювенилизированной предковой морфологией, и полученный вследствие неотении или прогенеза организм сохраняет общую функциональную интегрированность, приобретённую в ходе предшествующей эволюционной истории предковой формы. Эти особенности определяют высокий эволюционный потенциал пedomорфоза как механизма быстрого достижения комплексных эволюционных преобразований: небольшие генетические изменения при пedomорфозе сопровождаются крупными скоординированными и не нарушающими общей интегрированности организма изменениями его морфологии, физиологии, биохимии и поведения.



Рис. 4. Пedomорфные семейства саламандр: А – взрослая саламандра *Ambystoma maculatum* (фото В. Moon); В – взрослая саламандра *Pseudotriton ruber* (фото J. Wiens); С – личинка *Ambystoma tigrinum* (фото Т. Leenders); D – взрослая особь пedomорфного семейства Proteidae, *Necturus lewisi* (фото J. Dermid); E – взрослая особь пedomорфного семейства Amphiumidae, *Amphiuma means* (фото W. Van Devender); F – взрослая особь пedomорфного семейства Sirenidae, *Siren intermedia* (фото J. Dermid) [16]

Таким образом, появление признаков, составляющих морфологические, физиологические и другие особенности нового таксона, происходит ещё у предковых таксонов, но не обязательно у взрослых особей. Комбинаторика этих признаков основана на различных гетерохрониях в онтогенезе, которые увеличивают эволюционную пластичность и приводят к стабильному сочетанию признаков, лежащих в основе морфологических особенностей нового таксона.

4. Нерегулярные типы полового размножения

В большинстве случаев основным типом полового размножения организмов, который сопровождается слиянием мужской и женской гамет, является *амфимиксис*. Однако у некоторых организмов развитие зародыша может происходить с участием гамет, без оплодотворения – *апомиксис*.

Различают следующие формы апомиксиса: *партеногенез*, *гиногенез*, *андрогенез*, *гетерогонию*.

Наибольшего распространения и разнообразия форм апомиксиса достигает у цветковых растений, так он встречается более чем в 100 родах из 43 семействах. При этом формы апомиксиса многообразны и различаются между собой по характеру развития зародышевого мешка, зародыша и эндосперма. Различают *автономный апомиксис*, при котором зародыш развивается без опыления или раздражения рыльца, и в разной степени *индуцированный*, когда для развития зародыша требуется опыление или даже прорастание пыльцы на рыльце, а иногда и оплодотворение центрального ядра зародышевого мешка.

Самой распространённой формой апомиксиса у цветковых растений является *редуцированный партеногенез* (зародыш гаплоидный), например, у свёклы, хлопчатника, льна, табака, ячменя, пшеницы и других. *Нередуцированный партеногенез* (зародыш диплоидный) встречается у мятлика и других злаков, лютиков, манжеток, зверобоев, ястребинок, одуванчиков и других. При нерегулярном апомиксисе материнская клетка мегаспоры претерпевает мейоз и возникает гаплоидный зародышевый мешок. Новый зародыш может образовываться из неоплодотворённой яйцеклетки (*гаплоидный партеногенез*) или других клеток зародышевого мешка – синергид и антипод (*гаплоидная апогамия*). Иногда спермий проникает в яйцеклетку, но с её ядром не сливается и элиминируется, стимулируя его деление (*гиногенез*). При этих формах нерегулярного апомиксиса возникают гаплоиды с редуцированным числом хромосом и признаками материнского растения. Партеногенез у растений часто сопровождается *псевдогамией* (один из спермиев гибнет и в оплодотворении не участвует, а другой сливается с центральным ядром зародышевого мешка и участвует в образовании эндосперма).

Если ядро яйцеклетки погибает, зародыш может образоваться из ядра спермия и цитоплазмы яйцеклетки (*андрогенез*). Андрогенные зиготы обладают низкой жизнеспособностью и имеют гаплоидное число хромосом и признаки отцовского растения (например, у табака).

С партеногенезом могут сочетаться другие формы апомиксиса, например, *адвентивная эмбриония* (зародыш развивается из внезародышевого мешка и клеток семяпочки). При этих формах апомиксиса часто развивается несколько зародышей в одном семени (например, у цитрусовых и некоторых других цветковых растений).

У некоторых животных, например коловраток, дафний, тлей, пчёл, апомиксис проявляется в форме партеногенеза.

Партеногенез – одна из форм полового размножения организмов, при котором развитие зародыша происходит из неоплодотворённой яйцеклетки.

Различают *соматический* (диплоидный, амейотический) и *генеративный* (гаплоидный, мейотический) *партеногенез*. При соматическом партеногенезе яйцеклетка не претерпевает редукционного деления, а если и претерпевает, то два гаплоидных ядра сливаясь, восстанавливают диплоидный набор хромосом. Например, у ос, муравьёв диплоидный набор в соматических клетках восстанавливается за счёт эндомиоза. Амейотический партеногенез также описан у дождевых червей, различных жуков, рыб, земноводных и пресмыкающихся, при этом наследственный материал исключительно материнский.

При генеративном партеногенезе зародыш развивается из гаплоидной яйцеклетки. Например, у медоносной пчелы трутни развиваются из неоплодотворённых гаплоидных яиц путём партеногенеза. Мейотический диплоидный партеногенез с блоком второго деления встречается у некоторых видов дрозофил, рыб, птиц, при этом образуются особи одного пола, например у дрозофил – самки, а у птиц – самцы. Это связано с механизмом определения пола половыми хромосомами, у дрозофил гомогаметный женский пол, а у птиц – мужской.

Партеногенез может быть *факультативным* – яйца могут развиваться как после оплодотворения, так и без него (пчелы, муравьи, коловратки – из оплодотворённых яиц развиваются самки, а из неоплодотворённых – самцы) и *облигатным* (обязательный) – яйца развиваются без оплодотворения (кавказская скальная ящерица).

В зависимости от пола потомства различают следующие типы партеногенеза:

- *амфитокия* (из неоплодотворённых яиц развиваются и самки, и самцы, например, у тлей поколение полоносок);

- *аррентокия* (из неоплодотворённых яиц развиваются только самцы, например, трутни у пчёл);

– *телитокия* (из неоплодотворённых яиц развиваются только самки, например, у неполноциклов тлей и тлей-основательниц, дающих начало партеногенетическим самкам-переселенцам, а из позвоночных – у некоторых ящериц).

У животных в природе, также как и у растений, встречается *гиногенез* (развитие зародыша происходит из женского ядра, например, у серебристого карася, тритонов, круглых червей, живородящих рыбок *Moliensia*). *Андрогенез* встречается только в эксперименте при воздействии на неоплодотворённые яйца низкой температуры и других физических и химических факторов. Так, низкие концентрации соляной кислоты стимулируют у тутового шелкопряда мейотический партеногенез, который завершается развитием только самцов, гомозиготных по всем генам.

Гетерогония (циклический партеногенез) – закономерная смена отличающихся друг от друга, но обязательно половых поколений (раздельнополого и гермафродитного, раздельнополого и партеногенетического, гермафродитного и партеногенетического) у коловраток, многих ракообразных, плоских и круглых червей, насекомых. Количество циклов гетерогонии в течение года может варьировать в зависимости от условий среды жизни (времени года, температуры, питания). Так, амиктическая самка у коловраток – особь женского пола, развившаяся из оплодотворённых осенью зимующих яиц. Амиктическая самка откладывает яйца, созревающие без редукции хромосом и без оплодотворения. Амиктические самки дают поколения диплоидов. Миктическая самка у коловраток – осеннее поколение самок, образующих яйца, которые могут развиваться как партеногенетически, так и после оплодотворения. Из партеногенетически развивающихся яиц вырастают лишь самцы, спаривающиеся с миктической самкой родительского поколения. Оплодотворённые яйца диплоидны и развиваются лишь после периода зимнего покоя. Весной из них развиваются амиктические самки. У дафний в летние месяцы размножение партеногенетическое, а осенью – с оплодотворением. Смена форм размножения обусловлена понижением температуры, температура 24°C – размножение партеногенетическое, а при 16°C отмечается появление самцов и оплодотворённых яиц; 8°C количество самцов ещё больше возрастает. В пересыхающих водоёмах дафнии также переходят к размножению с оплодотворением.

В случаях гетерогонии, например, у *Rhabdias buffonis* (паразит лёгких лягушек) есть два поколения: паразитическое и свободноживущее. Паразитическое поколение развивается только от протеандрических самок. Эти самки сначала образуют сперматозоиды, а затем яйца, после чего оплодотворённые яйца попадают из лёгких в кишечник лягушки, а оттуда во внешнюю среду. В почве развивается свободная генерация,

состоящая из самцов и самок. Самки этой генерации не столь плодовиты, продуцируют немного яиц, из которых выходят личинки. Последние вместе с пищей и частицами почвы заглатываются лягушками, и в их легких вновь воспроизводится паразитическое поколение.

Таким образом, появление нерегулярных типов размножения в онтогенезе некоторых организмов связано с возможностью более быстрого получения большого количества особей путём бесполого размножения, но полностью половое размножение не утрачивается. Нерегулярные типы размножения возникли в процессе эволюции раздельнополых и гермафродитных организмов как приспособление в условиях редких контактов разнополых особей и возможности резкого увеличения численности потомства.

Педогенез (одна из форм партеногенеза) – способ размножения, присущий ряду беспозвоночных, при котором у личинок развиваются неоплодотворённые яйцеклетки, дающие начало новому поколению. Педогенез открыт в 1862 году Н. Вагнером у двукрылых насекомых рода *Miastor* семейства галлиц *Cecidomyiidae*. Термин «педогенез» предложен К. М. Бэром (1865). При педогенезе дочерние личинки, образующиеся в теле материнской личинки, сначала питаются её тканями как эндопаразиты, затем разрывают кутикулу съеденной материнской личинки и переходят к свободному образу жизни. Иногда вслед за несколькими поколениями партеногенетических личинок появляются личинки, заканчивающие метаморфоз и дающие взрослых самцов и самок, которые размножаются половым путём. Педогенез является приспособлением, компенсирующим невысокую плодовитость взрослых форм. Так, для жуков семейства *Micromalthidae* характерны и живородящие и яйцекладущие педогенетические личинки. Педогенез известен также и у ряда морских ветвистоусых ракообразных (род *Podon* и другие). Ещё одним примером педогенеза является развитие зародышей в спороцистах и редиях первого порядка у дигенетических сосальщиков, или трематод семейства *Diplostomatidae*.

В заключение данной лекции можно сделать вывод о том, что онтогенез присущ всем живым организмам, в том числе и одноклеточным. Закономерные, последовательные или внезапно возникающие преобразования на разных стадиях онтогенеза определяют рост, развитие, размножение и существование организма от зарождения до конца жизни. Каждая стадия онтогенеза у разных организмов имеет характерные для них особенности и продолжительность. А разнообразие онтогенезов эволюционно сформировалось в связи с приспособлениями организмов для переживания изменяющихся условий среды и адаптации к конкретному местобитанию.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте характеристику понятию «онтогенез». Оцените биологическое значение онтогенеза.
2. Перечислите сходства и различия онтогенеза и жизненного цикла на разных уровнях организации живых организмов.
3. Охарактеризуйте типы онтогенезов живых организмов.
4. В чём состоит биологическое значение личиночной стадии в онтогенезе?
5. Проанализируйте, с чем связано появление метаморфозов в онтогенезе?
6. Объясните, с чем связана потеря личиночных стадий в онтогенезе?
7. Охарактеризуйте онтогенез с чередованием полового и бесполого размножения без изменения ядерных фаз.
8. В чём состоит биологическое значение гетерогонии и партеногенеза?
9. Объясните, как происходит размножение у особей на ранних стадиях онтогенеза.
10. Объясните, в чём заключается целостность онтогенеза?
11. Охарактеризуйте дискретность и необратимость онтогенеза.
12. Охарактеризуйте рост и его значение в онтогенезе живых организмов.
13. Объясните, как факторы внешней среды могут влиять на онтогенез живых организмов?
14. Какие факторы среды в основном оказывают влияние на развитие организма?
15. Каково эволюционное значение появления нерегулярных типов полового размножения?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Газарян К. Г. Биология индивидуального развития животных / К. Г. Газарян, Л. В. Белоусов. – М. : Высшая школа, 1983. – 287 с.
2. Гилберт С. Биология развития : в 2 т. / С. Гилберт. – М. : Мир, 1993. – Т. 1. – 228 с.
3. Заморский А. Д. Жизненные циклы растений [Электронный ресурс] / А. Д. Заморский. – М. : Знание, 1986. – 64 с. – Режим доступа : <http://animalkingdom.su/books/item/>
4. Чепурнова Л. В. Биология индивидуального развития / Л. В. Чепурнова. – Кишинев СЕР USM, 2009. – 99 с.
5. Биология размножения и развития: курс лекций / сост. О. А. Абросимова ; под ред. В. Ю. Горбуновой. – Уфа : Издательство БГПУ, 2006. – 140 с.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

6. Биология: в 2 кн. : учеб. для медиц. спец. вузов / В. Н. Ярыгин, В. И. Васильева, И. Н. Волков и др. – 5-е изд., доп. и испр. – М. : Высш. шк., 2003. – Кн. 1. – 432 с.

7. Жизнь животных. Беспозвоночные [Электронный ресурс] / под ред. Л. А. Зенкевича. – М. : Просвещение, 1968. – Т. 1. – 576 с. – Режим доступа : <http://animalkingdom.su/books/item/>
8. Райский А. К. О пedomорфном формообразовании у морских пауков (Pisnogonida), связанном с вселением в арктический бассейн / А. К. Райский // Российский журнал биологических инвазий. – 2010. – № 2. – С. 56–65.
9. Christenhusz M. J. M. & Chase, Mark W. (2014). Trends and concepts in fern classification [Electronic resource] / M. J. M. Christenhusz, M. Chase // *Annals of Botany*. – 2014. – Vol. 113, № 9. – P. 571–594. – Way of access : <http://nickrentlab.siu.edu/PLB304/Lecture06Pterid/Ferns.html>
10. Gilbert S. The position of the problem of ontogenesis / S. Gilbert // *Parrhesia*. – 2009. – № 7. – P. 4–16.
11. Mina M. V. Ichthyologic studies carried out by freshwater biology group of JERBE, in ecological and faunistic studies in Ethiopia / M. V. Mina, Y. Y. Dgebuadze // *Proc. Jubilee Meeting «Joint Ethio Russian Biological Expedition: 20 Years of Scientific Cooperation»*. – Moscow, 2008. – P. 30–40.
12. Myers P. The Animal Diversity Web [Electronic resource] / P. Myers, R. Espinosa, C. S. Parr et al. – 2014. – Way of access : [http:// animaldiversity.org](http://animaldiversity.org).
13. Schoch R. R. Heterochrony: the interplay between development and ecology exemplified by a Paleozoic amphibian clade / R. R. Schoch // *Paleobiology*. – 2010. – Vol. 36, № 2. – P. 318–334.
14. Smith A. R. A classification for extant ferns [Electronic resource] / A. R. Smith; K. M. Pryer, E. Schuettpelz et al. // *Taxon*. – 2006. – Vol. 55, № 3. – P. 705–731. – Way of access : <http://www.microsnsk.ru>
15. Sorren L. Phylogenesis, ontogenesis and evolution / L. Sorren // *Bolletino di zoologia*. – 2013. – Vol. 54. – P. 10–34.
16. Wiens J. J. Ontogeny discombobulates phylogeny paedomorphosis and higher-level Salamander relationships / J. J. Wiens, R. Bonett, P. T. Chippindale // *Syst. Biol.* – 2005. – Vol. 54, № 1. – P. 91–110.

ЛЕКЦИЯ 2

ОСОБЕННОСТИ ОНТОГЕНЕЗА ОРГАНИЗМОВ РАЗНЫХ ТАКСОНОМИЧЕСКИХ ГРУПП

ПЛАН

1. Особенности онтогенеза одноклеточных организмов.
 - 1.1. Онтогенез одноклеточных прокариот.
 - 1.2. Онтогенез одноклеточных эукариот.
2. Появление многоклеточных организмов и особенности их онтогенеза.
3. Особенности онтогенеза грибов и растений.

В живой природе наблюдается поразительное разнообразие форм живых организмов. Неравноценен по содержанию и онтогенез разных представителей прокариот, грибов, растений и животных. Это разнообразие является следствием разной генетической информации, содержащейся в геномах и реализующейся в данных условиях в виде специфического набора биохимических процессов в клетках организмов разных таксономических групп.

1. Особенности онтогенеза одноклеточных организмов

Одноклеточные представляют собой гетерогенную, сборную группу организмов: прокариоты (архебактерии, эубактерии, представители синезелёных водорослей и актиномицетов) и эукариоты (простейшие, одноклеточные водоросли и одноклеточные грибы). Несмотря на разнообразие организмов этой группы, они представлены единственной клеткой, обладающей всеми свойствами организма.

1.1. Онтогенез одноклеточных прокариот

Прокариот принято делить на эубактерии (*Eubacteria*) и архебактерии (*Archaeobacteria* или *Archaea*). Преимущественно прокариоты являются одноклеточными. Жизненные циклы большинства прокариот и способ размножения зависят от факторов окружающей среды (питательных веществ, температуры, влажности и других)

При благоприятных условиях среды для одноклеточных прокариот в большинстве случаев характерен вегетативный жизненный цикл (рис. 5 А), а размножение происходит *бинарным делением* (вегетативное размножение). При этом количество бактерий может удваиваться каждые 30–60 минут.

У прокариот митоз как форма деления клеток отсутствует. Размножение происходит за счёт особого механизма деления клеток, при котором не образуется митотический аппарат – нет клеточных центров, веретена деления, не происходит спирализация хромосом. У них осуществляется репликация кольцевой ДНК и за счёт формирования мезосомы клетка делится на две, в каждой из которых оказывается одна из дочерних молекул ДНК.

Жизненный цикл прокариотической клетки может быть представлен в виде двух не имеющих границ и последовательно сменяющих друг друга фаз: «рост» и «деление». При этом под ростом понимается согласованное увеличение количества всех химических компонентов, из которых построена клетка, что приводит к увеличению её массы и размеров. Достижение определённых (критических) размеров является сигналом для клеточного деления.

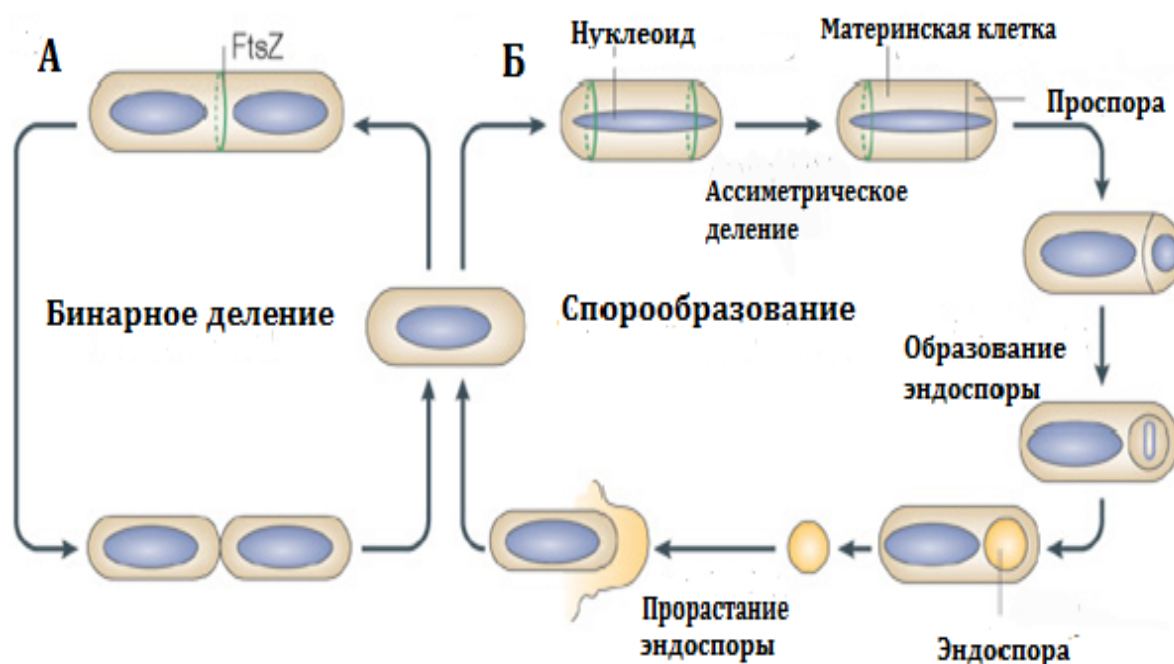


Рис. 5. Альтернативные стратегии в жизненном цикле одноклеточных прокариот на примере *Bacillus subtilis*: А. Вегетативное размножение (бинарное деление, при благоприятных условиях среды); Б. Спорообразование, при неблагоприятных условиях среды [13]

Бинарное деление (рис. 5 А) является консервативным процессом у прокариот и встречается как среди грамотрицательных (например, *Escherichia coli*, *Caulobacter crescentus*), так и среди грамположительных бактерий (например, *Bacillus subtilis* и другие). Пусковым стимулом деления клетки является увеличение её размеров (приблизительно в два раза) и изменение формы (удлиняется).

Клеточное деление состоит из двух взаимосвязанных этапов: удвоения и разделения наследственного материала и последующего разделения цитоплазмы. Поскольку в прокариотической клетке наследственный материал не ограничен ядерной мембраной, расхождение реплицированных хромосом в дочерние клетки и разделение их цитоплазм представляет собой единый процесс.

Ключевым моментом в процессе клеточного деления является репликация (удвоение) наследственного материала. Основные её механизмы сходны у про- и эукариотических клеток. В результате репликации в клетке образуются две идентичные копии кольцевой хромосомы, каждая из которых прикреплена к определенному участку на внутренней поверхности цитоплазматической мембраны. При этом обособление двух дочерних кольцевых хромосом происходит постепенно одновременно с синтезом ДНК. По завершении репликации происходит окончательное разделение хромосом, их дальнейшее расхождение и цитотомия, ведущая к разделению цитоплазм дочерних клеток.

Расхождение прокариотических хромосом характеризуется пространственной точностью: реплицированные бактериальные хромосомы перемещаются ровно на четверть длины клетки в двух противоположных направлениях. Считается, что данный процесс обеспечивается интенсивным синтезом компонентов цитоплазматической мембраны между точками прикрепления реплицированных хромосом, что приводит к их постепенному расхождению. Однако в последнее время показано, что в этом процессе принимают участие и несколько групп специальных белков (табл. 1). Например, MukB (МАРК (microtubule associated proteins)-upstream protein kinase) играет роль своеобразного «троса», тянущего за собой бактериальную хромосому при сборке бактериальной мембраны. ДНК-связывающие белки, например SMC (structural maintenance of chromosomes proteins) у *B. subtilis* участвует в поддержании структуры и в расхождении нуклеоидов. Кроме этого, актин-подобные белки MreB (bacterial murein cluster e proteins), являясь клеточными компонентами, также участвуют в расхождении хромосом прокариот.

Разделение цитоплазмы (цитотомия) является конечным этапом деления прокариотической клетки. При этом в образовании межклеточной перегородки – «септы» или Z-кольца – основную роль играет «избыточный» синтез компонентов цитоплазматической мембраны между точками прикрепления хромосом, что ведёт к её инвагинации внутрь цитоплазмы в направлении, поперечном плоскости деления. Достаточно часто образование инвагинаций сопровождается формированием в этом месте мезосом различного вида. Помимо этого, в формировании септ принимают участие фибриллярные белки семейства Fts (filamentous

temperature sensitive), в частности FtsZ (гомолог структурного элемента цитоскелета эукариот – тубулина). В период роста прокариотической клетки они диффузно распределены в цитоплазме (5–20 тысяч мономеров на клетку). Во время деления FtsZ концентрируется в зоне образования септы, где, при взаимодействии с ГТФ, образует длинные нитчатые протофиламенты, собирающиеся в единое сократимое кольцо.

Таблица 1

Белки, необходимые для клеточного деления у некоторых представителей одноклеточных прокариот

<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. crescentus</i>	<i>S. coelicolor</i>
Белки, которые поддерживают структуру нуклеоида			
MukB	SMC	SMC	SMC
Белки, участвующие в разделении нуклеоида			
Не определены	Soi/Spo0J	ParA/B	ParA/B
MreB	MreB	MreB	MreB-гомолог
FtsK	SpoIIIE	FtsK	FtsK/SpoIIIE-гомолог
Белки-регуляторы клеточного цикла			
Не определены	Не определены	CtrA, GcrA	Не определены
Белки-регуляторы клеточного деления			
FtsZ	FtsZ	FtsZ	FtsZ
Белки, участвующие в окклюзии нуклеоида			
Не определены	Noc	w	w
Белки, предотвращающие полярное образование Z-кольца			
MinCD	MinCD	Не определены	minD-подобный гомолог
MinE	Не определены	Не определены	Не определены
Не определены	DivIVA	Не определены	DivIVA
Белки, дестабилизирующие Z-кольцо			
Не определены	EzrA	Не определены	Не определены
Белки, дестабилизирующие Z-кольцо, как часть SOS-ответа			
SulA	Не определены	Не определены	Не определены
DpiA	YneA	Не определены	Не определены
Другие белки, которые связаны с Z-кольцом			
FtsA	FtsA	FtsA	Не определены
FtsI	Pbp2b	FtsI	FtsI-подобный гомолог
FtsQ	DivIB	FtsQ	FtsQ
FtsL	FtsL	Не определены	FtsL-гомолог
FtsW	FtsW	FtsW	FtsW-гомолог

Далее, у грамположительных эубактерий пространство между инвагинациями мембраны заполняется вновь синтезируемыми пептидогликанами с формированием вырастающей внутрь «перегородки деления». А у грамотрицательных эубактерий образуется перетяжка, с вовлечением в этот процесс наружной мембраны клеточной стенки. Этот процесс продолжается до тех пор, пока материнская клетка разделится на равные части, образуя две генетически идентичные дочерние клетки.

Молекулярные механизмы клеточного деления достаточно подробно описаны для некоторых представителей эубактерий. Так, например, у *B. subtilis*, белок Noc (nucleoid occlusion protein) предотвращает образование септы до расхождения реплицированных хромосом, а белки Min-системы (so-called minicell mutants) (MinCD и DivIVA (division site selection protein)) – предотвращают образование септы у полюсов клетки. Кроме этого, белки, такие как EzrA, обеспечивают стабильность FtsZ, ускоряют образование септы. Белки, такие как YneA у *B. subtilis* и SulaA (suppressors of sensitivity to UV irradiation in *lon* strains) у *E. coli* блокируют образование кольца сжатия в области борозды деления, предотвращая клеточное деление при повреждении ДНК, до тех пор, пока не будут осуществлены репарация ДНК, дупликация хромосомы и нормальная сегрегация нуклеоида. Следовательно, одноклеточные прокариоты имеют стабилизирующие и дестабилизирующие факторы, регулирующие клеточное деление.

Например, полярная локализация белковых комплексов MinCD и DivIVA у *B. subtilis* или MinCD и MinE у *E. coli* предотвращает деление клеток в области полюсов. При этом MinD взаимодействует с белками DivIVA или MinE, поддерживая полярную локализацию белка MinC, который предотвращает образование септы. У *E. coli* белок MinD перемещается из одного полюса в другой, а у *B. subtilis* находится в одном полюсе в течение всего клеточного цикла. Следует отметить, что ген *minD* не является консервативным для всех прокариот, и у многих его не обнаруживают, например у *C. crescentus*. Ген *ftsZ*, несмотря на консервативность, также не обнаружен у некоторых прокариот. Другими словами, механизм бинарного деления не является абсолютно эволюционно консервативным и имеет ряд модификаций, которые обеспечивают возможность реализации жизненного цикла в зависимости от условий обитания индивидуального организма.

Ещё одним способом вегетативного размножения бактерий является почкование, которое осуществляется путём образования на материнской клетке почки, из которой развивается дочерняя клетка. Например, для бактерий, принадлежащих к роду *Nuphotonas*, характерен своеобразный цикл развития. Прикреплённая к субстрату материнская клетка образует

нитевидный вырост, куда переходит один из удвоившихся нуклеоидов. Вырост, удлиняясь, формирует гифоподобную структуру, на конце которой появляется почка. В процессе созревания почки образуется жгутик. Дочерняя клетка (созревшая почка) отделяется от материнской и в течение некоторого времени подвижна. Затем она прикрепляется к субстрату или другим клеткам, теряет жгутик и формирует вырост и почку. Нитевидные выросты клетки могут ветвиться, и на концах каждой ветви формируются почки. В некоторых случаях созревшие почки не отделяются от материнской клетки и в свою очередь формируют скопление гиф и клеток.

Установлено, что в результате между двумя подобными клетками (старой родительской и новой дочерней) обнаруживаются как физиологические, так и морфологические отличия. В частности, дочерние клетки лучше приспособляются к меняющимся условиям, а у родительских можно наблюдать процессы, характерные для старения. Так, у представителей рода *Rhodomicrobium* родительская клетка обладает ограниченным репродуктивным потенциалом и способна отпочковывать не более 4 дочерних клеток.

Множественное деление клетки происходит в результате многократного деления ядра с последующей изоляцией участков протопласта вокруг ядер и образованием большого количества дочерних клеток. Так, например, *Bdellovibrio* является облигатным паразитом, способным к передвижению за счёт жгутика. Он попадает в клетку-хозяин через внешнюю мембрану. Внутриклеточно *Bdellovibrio* увеличивается в размерах, уменьшая объём цитоплазмы клетки-хозяина, что является пусковым сигналом для его размножения (асимметрическое многократное деление). Затем клетка-хозяин подвергается лизису и из неё выходит активное поколение, способное к самостоятельному передвижению.

Основными факторами, приводящими к повторному или множественному делению клетки, является избыточное питание, вызывающее гипертрофированный рост клетки, а также изменение физико-химических условий существования.

Множественное деление описано и у Cyanophyta (род *Dermocarpa*). Оно начинается с предварительной множественной репликации хромосомы и существенного увеличения размеров самой клетки, которая затем претерпевает ряд быстрых последовательных бинарных делений, происходящих внутри материнской клетки, ограниченной от внешней среды дополнительным фибриллярным слоем (F-слой) клеточной стенки. Результатом этого процесса является образование множества мелких клеток – эндоспор, получивших название «беоцитов», число которых колеблется от 4 до 1000. Окончательное освобождение беоцитов происходит путём разрыва фибриллярного слоя родительской клеточной стенки.

У многих прокариот адаптация к условиям окружающей среды реализуется путём превращения функционально-активных («вегетативных») клеток в своеобразные, специфичные для каждого вида и морфологически дифференцированные «покоящиеся» формы, которые характеризуются выраженным угнетением метаболической активности. При этом происходят также существенные изменения в клеточном строении (компактизация цитоплазмы и наследственного материала при одновременном укреплении поверхностных структур), что обеспечивает устойчивость к действию экстремальных по интенсивности физических, химических и биологических факторов.

У грамположительных одноклеточных прокариот неблагоприятные условия способствуют переходу к бесполому размножению с образованием эндоспор. К спорообразующим относится большое число эубактерий из 15 родов. У аэробных микроорганизмов процесс спорообразования лучше всего изучен для представителей рода *Bacillus*, у анаэробов – для рода *Clostridium*.

Эндоспоры представляют собой тип покоящихся клеток эубактерий, формирующихся внутри цитоплазмы родительской клетки и обладающих специфическими структурами: внутренней и наружной мембранами, кортексом и многослойными белковыми покровами (рис. 5 Б).

Переход к процессу спорообразования индуцируется дефицитом питательных веществ, накоплением в среде продуктов метаболизма, действующих по принципу кворум-зависимых регуляторных факторов. В упрощённом виде у *B. subtilis* спорообразование регулируется системой сигнального олигопептида, фосфатазы и белковых факторов споруляции. При достижении высокой плотности популяции, олигопептид в большом количестве поступает в клетки, инактивирует фосфатазу, таким образом, активирует белковые факторы спорообразования и запускает программу спорообразования.

Последующий процесс можно рассматривать как неравное бинарное деление, при котором одна из образующихся клеток формирует спорангий, а вторая превращается в покоящуюся эндоспору. Спорообразованию всегда предшествует репликация ДНК. Одна дочерняя хромосома компактизируется и в составе «ядерного тяжа» переходит в ту часть клетки, где в последующем и будет формироваться спора. Компактизированный материал теряет свою метаболическую активность на ранних стадиях спорообразования, а сам процесс формирования споры контролируется геномом спорангия (задействованы около 100 генов).

Помимо разделения генетического материала, в клетке активно идут процессы дегидратации (в споре остается 15 % воды); ДНК переходит из В-формы в А-форму, что существенно повышает устойчивость к УФ

лучам; белки распадаются до специфичного для спор и отсутствующего у вегетативных клеток вещества – дипиколиновой (пиридин-2,6-дикарбоновой) кислоты. В ходе её образования происходит также интенсивное поглощение клеткой ионов кальция, образующего с кислотой хелатное соединение, составляющее 10–15 % сухого вещества зрелых спор.

Далее начинается процесс обособления протопласта: цитоплазматическая мембрана впячивается вовнутрь как при делении, но потом протопласт окружается цитоплазматической мембраной родительской клетки вторым слоем. Между внутренней и внешней мембраной начинает формироваться кортекс – многослойный пептидогликановый компонент, отличающийся высокой частотой формирования поперечных сшивок. Вслед за этим поверх наружной мембраны синтезируются дополнительные многослойные «споровые покровы», состоящие из белков, липидов и гликолипидов. Белки эндоспор богаты цистеином и гидрофобными аминокислотами, что обеспечивает их дополнительную устойчивость, в частности радиорезистентность. Далее у некоторых бактерий формируется еще одна структура – «экзоспориум», окружающий спору в виде «свободного чехла» и имеющий характерное для каждого вида тонкое многослойное строение.

После завершения процесса спорообразования происходит лизис спорангия, в результате чего спора высвобождается в окружающую среду. Споры могут длительно сохраняться в окружающей среде. Они резистентны к нагреванию (некоторые споры выдерживают даже кипячение в течение нескольких часов), радиации, высыханию, действию растворителей и воздействию химических веществ, вызывающих гибель вегетативных клеток. Благодаря этим свойствам споры могут длительно сохраняться и обеспечивать сохранение вида в неблагоприятных условиях. Предположительно в сухой почве некоторое количество спор может сохраняться до 1000 лет, но уже через 50 лет хранения 90 % спор теряет жизнеспособность.

Экзоспоры, например, у одноклеточных представителей синезелёных водорослей порядка *Chamaesiphonaceae* образуются как вырост протопласта на вершине клетки; по мере его роста в длину появляются перетяжки, отделяющие шаровидные споры. У метанокисляющих бактерий *Methylosinus trichosporium* экзоспоры могут быть одиночными или формировать цепочки и обладают свойствами, сходными с эндоспорами.

При наступлении благоприятных условий происходит прорастание споры. Этот процесс включает три стадии: активацию, инициацию и вырастание и приводит к переходу покоящейся формы в состояние обычной вегетативной клетки, которая вступает в вегетативный жизненный цикл.

У *B. subtilis* обнаружены мутантные формы с «диспорическим фенотипом». В этих клетках происходит биполярное деление, и образо-

ванные две копии ДНК, расходятся по полярным полюсам проспор, что приводит к отсутствию генетического материала в материнской клетке и «аресту» спорообразования.

Прокариоты (например, представители порядков Bacillales, Pseudomonadales (виды *Azotobacter*; *Azomonas*), Spirochaetales, Rickettsiales) в неблагоприятных условиях (недостаток питательных веществ или экзогенного субстрата и другие факторы, например, при добавлении в суспензию клеток *Bacillus cereus* солей марганца) способны образовывать особые покоящиеся формы клеток – *акинеты* и *цисты*.

У одноклеточных прокариот возможна также морфологическая дифференциация вегетативных клеток в особые формы, специализированные на выполнении какой-либо определённой функции. В большинстве случаев, у прокариот такая дифференциация обратима, т. е. клетки способны вновь возвращаться к вегетативному жизненному циклу. Но в некоторых случаях переход в специализированную форму исключает возможность последующего деления и заканчивается гибелью клетки, как это имеет место в случае высокодифференцированных эукариотических клеток.

Половое размножение у одноклеточных прокариот отсутствует, но, тем не менее, у них также возможна генетическая рекомбинация, которая осуществляется за счёт конъюгации, трансформации и трансдукции.

При конъюгации две клетки обмениваются частью генетического материала. Одна из клеток является донором (F⁺), а другая – клеткой-реципиентом (F⁻). Тип клетки определяется наличием в цитоплазме F-плазмиды (половой фактор). В случае, если F-плазида не встроена в бактериальную хромосому (чаще всего), при конъюгации из клетки-донора в клетку-реципиент передаётся только копия F-плазмиды (её репликация происходит одновременно). Если же F-плазида встроена в бактериальную хромосому (редкое рекомбинационное событие), из клетки-донора в реципиентную клетку переносится копия F-плазмиды и часть (сегмент) бактериальной хромосомы донора, непосредственно прилегающая к плазмиде. Размер переносимого фрагмента хромосомы донора будет зависеть от длительности конъюгации. Образующаяся «зигота» (мерозигота) не содержит в равной мере наследственного материала двух конъюгантов (гаплонтов). Тем не менее, между фрагментом хромосомы донора и гомологичным участком хромосомы реципиента возможна рекомбинация, что способствует повышению уровня генетической гетерогенности прокариот.

При трансформации (в естественных условиях при гибели клетки-донора) фрагменты ДНК бактериальной хромосомы проникают в клетку-реципиент при определённом её состоянии (компетентность). При этом клетка-реципиент становится мерозиготой, способной к рекомбинации.

При трансдукции сегмент наследственной структуры клетки-донора переносится в клетку-реципиент с помощью бактериофага. Фаговые частицы, размножившиеся в клетке-реципиенте (хозяине), могут иметь небольшие встроены в геном сегменты её наследственного материала и при заражении других бактерий приносят в них участок хромосомы донора с соответствующими генами.

У прокариот обнаружен аналог апоптоза, который осуществляется при гибели части бактерий в условиях остановки роста бактериальной популяции (при недостатке питательного субстрата или под влиянием стрессорных факторов). Например, при голодании популяция *E. coli* разделяется на две субпопуляции, одна из которых погибает и подвергается автолизу, а другая – использует продукты автолиза в качестве питательного субстрата и продолжает расти. Механизм программируемой клеточной гибели прокариот основан на формировании зависимости: синтез стабильного цитотоксического белка и его нестабильного супрессора. В условиях голодания прекращается синтез обоих белков. В результате нестабильный супрессор разрушается, а цитотоксический белок вызывает гибель и автолиз клеток. Кроме этого клеточная гибель прокариот необходима для процессов их развития и морфогенеза. Например, при условии гибели значительной части клеточной популяции образуется плодовое тело и начинается споруляция у *Mucosoccus xanthus*. Другим примером может служить процесс спорообразования у *Bacillus subtilis*: материнская вегетативная клетка погибает и активно лизируется при высвобождении споры.

Следовательно, у прокариот сформировались и эволюционно закрепились адаптивные и репродуктивные стратегии, которые сходны с эукариотами (вегетативное размножение, способы переживания неблагоприятных условий, аналоги полового процесса и гибели клеток) и повышают уровень наследственной изменчивости.

1.2. Онтогенез одноклеточных эукариот

Выделяют несколько гипотез происхождения эукариот, одна из которых симбиотическая. Сторонники этой гипотезы считают, что двумембранные органеллы, имеющие ДНК и способные к удвоению делением (ядро, пластиды и митохондрии), являются потомками паразитических или мутуалистичных видов прокариот, утративших способность к существованию вне клетки-хозяина. Так, симбиоз нескольких видов прокариот привёл к образованию эукариотических клеток. Эукариотам свойственно усложнение генома (наличие ядра с хромосомами (вследствие объединения ДНК и ядерных белков – гистонов) и сформированной ядерной

оболочкой). Для них характерны митоз и мейоз. В отличие от бактерий, для которых половой процесс необязателен, половое размножение, способствующее комбинативной изменчивости, у эукариот становится основным способом воспроизведения себе подобных. Ещё одним свойством эукариот является усложнение их строения. Всё вышеперечисленное обусловило широкие адаптивные возможности и дальнейшую эволюцию эукариот.

У одноклеточных эукариот жизненные циклы более разнообразны по сравнению с прокариотами. В этой группе кроме вегетативного и бесполого размножения наблюдаются разные варианты полового процесса.

Выделяют следующие *формы вегетативного размножения у одноклеточных эукариотических организмов*: бинарное деление, эндогония, шизогония (множественное деление), почкование.

Бинарное деление одноклеточных эукариот включает митоз микронуклеуса; амитоз макронуклеуса; распределение дочерних ядер по цитоплазме; завершение формирования двух генетически равноценных дочерних клеток путём разделения цитоплазмы углубляющейся перетяжкой. Регуляция клеточного цикла одноклеточных эукариот осуществляется при помощи циклинов и циклин-зависимых протеинкиназ. В зависимости от плоскости деления выделяют три типа: *простое*, например *Amoeba* (в любой плоскости); *поперечное*, например *Paramecium* (деление пополам по «экватору» клетки; перпендикулярно передне-задней оси) и *продольное*, например *Euglena* (в продольной плоскости; начинается в передней части клетки, на которой расположен жгутик и стигма с образования V-образной бифуркации, постепенно движущейся к задней части клетки).

Эндогония (внутриклеточное почкование) характерна, например, для рода *Toxoplasma*. В процессе эндогонии две дочерние особи формируются внутри материнской клетки путём митотического деления. Освобождение дочерних клеток происходит при разрыве клеточной мембраны материнской клетки.

Шизогония встречается, например, у споровиков рода *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* и другие) и фораминифер. Во время шизогонии сначала многократно митозом делится ядро «зиготы», затем вокруг каждого из дочерних ядер обособляется цитоплазма и формируются несколько самостоятельных клеток. Так, например, у паразитических споровиков клетки, сформированные путём шизогонии, называются *спорозоиты* (червеобразные одноядерные клетки; 5–8 мкм). Именно они проникают в организм-хозяин, в клетки-мишени, где утрачивают свою форму (становятся округлыми и называются тканевыми шизонтами). *Тканевые шизонты* питаются, увеличиваются в размерах, их ядра

многократно делятся митотически, вокруг них обособляется цитоплазма (шизогония) и образуется большое количество *тканевых мерозоитов* (амёбовидно меняющие форму, одноядерные представители бесполого размножения шизонтов). Последние внедряются в эритроциты, поглощая гемоглобин, а непереваренные его остатки превращаются в зернистый черный пигмент – меланин. Тканевые мерозоиты дают начало *гамонтам*: *макрогамонтам* (предшественники женских половых клеток) и *микрогамонтам* (предшественники мужских гамет). Дальнейшее развитие гамонтов осуществляется лишь в том случае, если кровь с ними попадает в кишечник малярийного комара (*Anopheles*). Там макрогамонты превращаются (мейоз) в крупные макрогаметы. В микрогамонтах происходит деление ядра (мейоз) на 5–6 ядер, вокруг каждого из которых обособляется тонкий слой цитоплазмы. Сформировавшиеся подвижные, червеобразные клетки – *микрогаметы* – отрываются от гамонта. Затем происходит копуляция и образование подвижной «зиготы» (*оокинеты*), которая внедряется в стенку кишечника комара и превращается в ооцисту. Ядро ооцисты многократно делится (митозом) и распадается на большое количество (до 10000) *спорозоитов* (шизогония). При этом оболочка ооцисты лопается и спорозоиты попадают в полость тела комара, наполненную гемолимфой. Из полости тела спорозоиты активно проникают в клетки слюнных желез насекомого, а затем в просвет протока желез. При укусе комаром спорозоиты попадают в кровь.

Почкование (например, *Saccharomyces cerevisiae* и другие) заключается в том, что на материнской клетке формируется небольшое выпячивание, в которое мигрирует одно из дочерних ядер, образованное в результате митоза. После этого почка (дочерняя клетка) начинает расти. Примерно через 2 часа молодая клетка отделяется от материнской, оставляя на месте своего образования рубец. Одна материнская клетка при этом может неоднократно отпочковывать дочерние клетки. В течение жизни материнская клетка почкуется 25–30 раз. При этом было показано, что примерно после 10 акта почкования в материнской клетке начинают накапливаться повреждённые (карбонилированные) белки. Т. е. клетка стареет («*сегрегационное старение*»). Накопленные клеткой почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* карбонилированные белки не наследуются дочерней клеткой при цитокинезе. В дочерние клетки не переходят также экстрахромосомные рибосомальные кольцевые ДНК, являющиеся одной из причин *репликативного старения* дрожжей. Материнские клетки, отпочковавшие за свою жизнь более 10-ти дочерних клеток, несут примерно в 4 раза больше карбонилированных белков, чем их дочерние клетки. Основная часть карбонилированных белков «депонируется» в цитоплазме клетки, а небольшое их количество располагается в мито-

хондриях. Асимметричное распределение поврежденных структур зависит от активности гена деацетилазы *sir2*. В удержании окислительно поврежденных белков у дрожжей также принимает участие белок теплового шока Hsp104p (фактор агрегации белков), совместно с актиновым цитоскелетом. Материнская клетка не только «удерживает» повреждения, но и способствует активации защитных механизмов (активация белка Sir2; актин-зависимая сегрегация цитозольной каталазы Ctl1p и другие) в дочерней клетке. В дочерней клетке почкующихся дрожжей происходит резкое снижение уровня активных форм кислорода непосредственно по завершению цитокинеза. Sir2 активно «омолаживает» потомство как путем предотвращения наследования дочерними клетками окисленных макромолекул стареющей клетки-предшественника, так и путем снижения уровня активных форм кислорода в самой дочерней клетке.

Известно, что материнские клетки делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, несмотря на морфологическую симметричность деления, также сегрегируют повреждённые белки и подвергаются старению, увеличиваясь в размерах через несколько циклов деления.

Бесполое размножение одноклеточных эукариот (как и многоклеточных эукариот) – это спорообразование. Пусковым фактором спорообразования являются неблагоприятные условия среды или стресс-факторы (голодание, изменение температуры среды, химические вещества и другие). Так, например, *Saccharomyces cerevisiae* (диплоидные a/α клетки) в условиях голодания переходят к спорообразованию. При этом ядро клетки делится мейотически и образуются 4 гаплоидные споры (2 - a и 2 - α типа). После чего a и α споры делятся, образуя материнские и дочерние клетки (почкование). Дочерние гаплоидные клетки разного типа спаривания могут сливаться, восстанавливая диплоидный набор хромосом, a/α . В редких случаях гаплоидные клетки одного типа также могут случайно спариваться, образуя аномальные диплоидные клетки a/a или α/α , которые размножаются только почкованием.

Всем одноклеточным эукариотическим организмам, помимо вегетативного и бесполого, свойственно также половое размножение.

Так, для некоторых одноклеточных эукариот (представители зелёных водорослей порядка Polybipharidales (*Dunaliella*), жгутиковые (*Dinoflagellata* или *Dinophyta*), представители низших грибов (например, класса *Archimycetes*) и др.) характерным типом полового размножения является хологамия (гологамия), при котором происходит слияние целых морфологически сходных, подвижных гаплоидных одноклеточных организмов. В результате образуется диплоидная зигота, которая делится мейозом и приводит к образованию 4 гаплоидных дочерних клеток.

У некоторых простейших (например, *Rhizopoda*, *Radiolaria*) наблюдается *изогамия*, при которой сливающиеся гаметы не различаются морфологически, но имеют различные биохимические и физиологические свойства.

У представителей рода *Paramecium* половое размножение происходит путём *конъюгации* (рис. 6). Две *P. caudatum* (*конъюганты*) сближаются и тесно прикладываются друг к другу вентральными сторонами. У некоторых видов на месте соприкосновения пелликула обеих особей растворяется и между конъюгантами образуется соединительный цитоплазматический мостик. У других видов во время конъюгации целостность пелликулы не

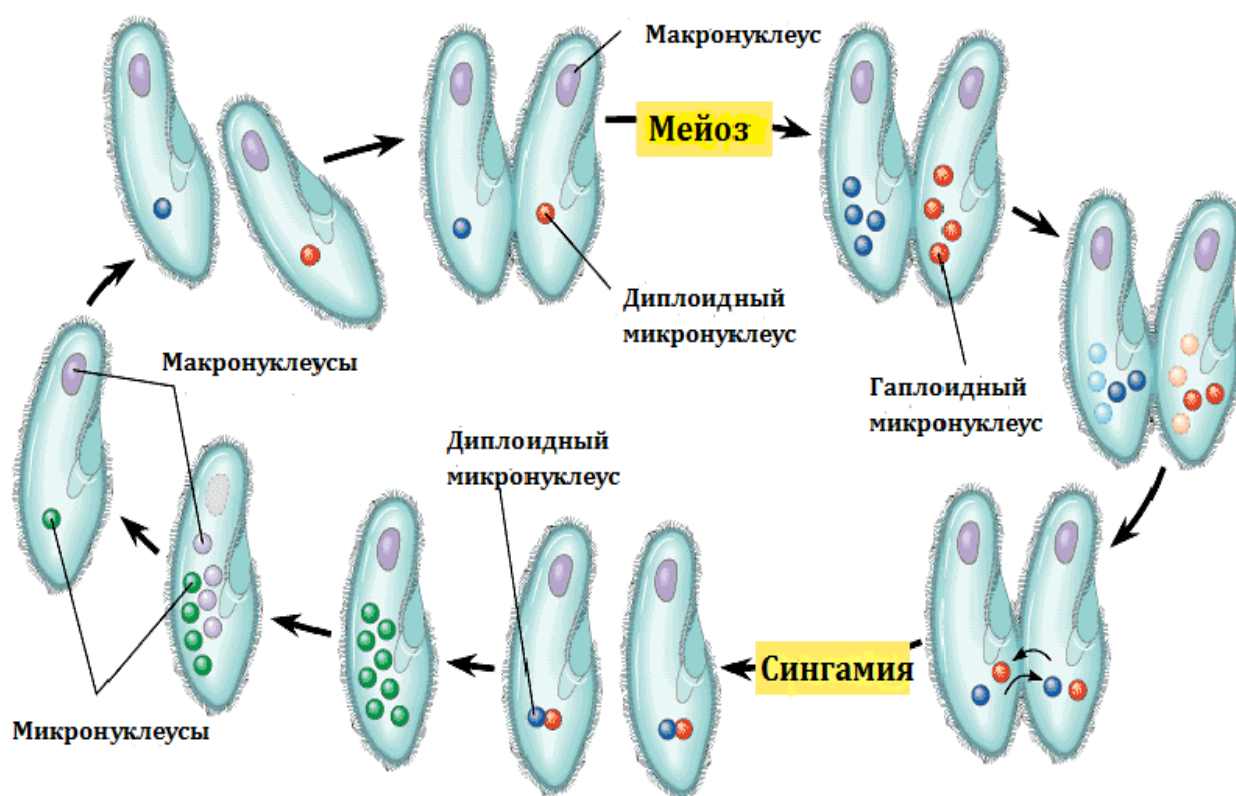


Рис. 6. Конъюгация *Paramecium caudatum* [20]

нарушается. Затем макронуклеусы конъюгирующих *P. caudatum* резорбируются в цитоплазме, а микронуклеусы делятся мейозом с образованием 4 гаплоидных ядер; из них 3 разрушаются, а оставшееся ядро делится митозом и образует два гаплоидных пронуклеуса, один из которых женский (стационарный), а другой – мужской (мигрирующий). Конъюганты обмениваются мужскими пронуклеусами через цитоплазматический мостик. Затем в каждой инфузории «свой» женский и «чужой» мужской пронуклеусы сливаются (*сингамия*), образуя диплоидное ядро (восстановление диплоидного набора хромосом) – *синкарион*. В это время инфузории отделяются друг от друга.

При расхождении конъюгирующих партнеров (*эксконъюгантов*) происходит сложный, специфический для каждого вида инфузорий процесс реконструкции нормального ядерного аппарата. Сущность его сводится к тому, что синкарион митотически делится один, два или три раза и часть ядер становится микронуклеусами, другая часть преобразуется в макронуклеусы. Процесс преобразования выражается в повышении содержания ДНК за счёт многократной репликации (*полиплоидия*).

В сформированном макронуклеусе появляются многочисленные ядрышки, которые в микронуклеусах и синкарионе отсутствуют. После завершения реконструкции ядерного аппарата инфузории вновь приступают к вегетативному размножению. Конъюгация является аналогом полового размножения многоклеточных организмов и сопровождается рекомбинацией генетического материала двух генетически различных организмов. Голодание, действие некоторых солей ускоряет конъюгацию, а обилие и разнообразие питательных веществ её задерживает.

У одноклеточных, в частности инфузорий, обнаружены и другие формы реорганизации ядерного аппарата, связанные с резорбцией старого и образованием нового макронуклеуса: *аутогамия* (автогамия), *цитогамия*, *эндомиксис* и *гемиксис*.

Аутогамия или «самооплодотворение» была обнаружена у *P. aurelia*. Сигналом для аутогамии является голодание. При аутогамии события, происходящие с микронуклеусом, аналогичны таковым при конъюгации. Отличием является то, что при аутогамии не происходит временного объединения двух особей и все процессы протекают в пределах одной особи. Возникшие в результате делений (мейоз с последующей резорбцией трёх и митоз оставшегося ядра) микронуклеуса два гаплоидных пронуклеуса («стационарный» и «мигрирующий») сливаются (*кариогамия*) и образуется *синкарион*. Далее весь процесс восстановления ядерного аппарата проходит также, как и при конъюгации. Таким образом, аутогамия – процесс «самооплодотворения» одноклеточных эукариот, способствующий выживанию вида при недостатке питательных веществ. Для большинства видов инфузорий он приводит к необходимой в момент голодания реорганизации ядерного аппарата, обновлению макронуклеуса, повышению наследственной изменчивости, но, в отличие от конъюгации, без значительных затрат энергетических ресурсов. Инфузории деградируют и погибают как при отсутствии аутогамии, так и при отсутствии конъюгации.

Цитогамия и *аутогамия* сходные процессы. Отличием является только то, что при цитогамии происходит временное соединение особей, а во время аутогамии этого не происходит. Цитогамия может быть индуцирована путём воздействия на конъюгирующие клетки гиперосмотическим шоком. После аутогамии и цитогамии особи всегда гомози-

готны. Это объясняется тем, что после мейоза микронуклеусы имеют гаплоидный набор хромосом и один комплект генов. При последующем митозе они удваиваются, и затем, после кариогамии (восстановление диплоидного набора хромосом), каждый ген уже представлен двумя (но одинаковыми) аллелями. Гетерозиготное состояние у *P. aurelia* может возникать лишь при конъюгации.

У *Paraclevelandia simplex* (*Heterotricha*) наблюдается эндомиксис при инцистировании. При этом макронуклеус делится на две части, одна часть вскоре дегенерирует, а вторая сохраняется. Одновременно микронуклеус делится митотически. Один микронуклеус сливается с одной частью макронуклеуса, давая начало новому макронуклеусу. Следовательно, при эндомиксисе новый макронуклеус формируется за счёт слияния части макронуклеуса с одним из микронуклеусов и восстанавливается нормальное ядерное соотношение.

Среди инфузорий распространено явление выбрасывания (экструзия) части хроматина из макронуклеуса в цитоплазму. Это происходит практически при каждом делении макронуклеуса: на перетяжке делящегося макронуклеуса образуется остаточное тело, которое затем резорбируется в цитоплазме, например, у многих *Hymanostomata*. У других видов экструзия хроматина осуществляется путём отпочковывания крупных фрагментов от обоих дочерних макронуклеусов после деления. Этот тип распространён при делении в цистах размножения у *Colopida* и других. Вопрос о роли экструзии хроматина пока не выяснен. Предполагают, что этот процесс обеспечивает регуляцию плоидности (путём элиминации лишних геномов) или регуляцию хромосомного баланса (путём выбрасывания «лишних» хромосом) в макронуклеусе. Экструзия хроматина часто встречается после усиленного синтеза ДНК в макронуклеусе (более чем одна репликация, например, при первых делениях макронуклеуса *Tetrahymena* после ультрафиолетового облучения), а также в макронуклеусе со спонтанно высоким содержанием ДНК. Однако экструзия хроматина может быть связана с выбрасыванием сверхреплицированных копий ДНК не только геномных, но и свободных. Пока остаётся не выясненным, какие именно последовательности ДНК элиминируются.

У *Nassulopsis lagenula* обнаружена регенерация выброшенного из макронуклеуса хроматинового тела в новый макронуклеус одной из двух дочерних особей; старый макронуклеус этой особи резорбируется. Это явление называется *парагемиксисом*.

У представителей родов *Paramecium*, *Epistylis*, *Balanntidium*, *Euplotes* и других обнаружен процесс – *гемиксис*, при котором от макронуклеуса могут отпочковываться фрагменты разного размера, часть из них регенерируют в отдельный макронуклеус, а часть резорбируется, при этом

микронуклеус не делится. Затем оставшийся макронуклеус и микронуклеус участвуют в делении клетки. Diller классифицировал гемиксис на 4 типа: 1) тип А (деление макронуклеуса на 2 и более частей происходит в цитоплазме); тип В (экструзия 1–20 и более хроматиновых тел из макронуклеуса); 3) тип С (одновременное деление макронуклеуса на 2 и более частей и экструзия хроматиновых тел в цитоплазму); 4) тип D (при неблагоприятных условиях; микронуклеус подвергается фрагментации в хроматиновые тела и деградирует перед делением макронуклеуса). Механизмы данного процесса полностью ещё не описаны.

Одноклеточные эукариоты, например, *Chlamydomonas reinhardtii* имеют сложный жизненный цикл, который зависит от внешних условий. Так, при благоприятных условиях эти водоросли быстро размножаются с помощью двужгутиковых зооспор (бесполое размножение), которые освобождаются при разрыве оболочки материнской клетки. Неблагоприятные условия (похолодание, пересыхание водоёмов, недостаток питательных веществ) вызывают экспрессию специфического набора ядерных генов, ответственных за образование у *C. reinhardtii* двужгутиковых половых клеток – гамет двух типов спаривания. Агглютинация жгутиков *C. reinhardtii* делает возможным установление контакта между особыми участками на клеточных мембранах гамет. После агглютинации жгутиков *плюс – особи* инициируют слияние, образуя «трубку оплодотворения», которая контактирует и сливается со специализированным участком на поверхности *минус – особи*. Далее происходит объединение цитоплазмы клеток и слияние их ядер с образованием диплоидной зиготы (*конъюгация*). Зигота покрывается плотной клеточной стенкой, что позволяет ей переживать неблагоприятные (зимние) условия. Весной или при наступлении благоприятных для жизни условий зигота претерпевает мейоз, вследствие которого образуются 4 клетки (молодые особи), которые выходят из материнской оболочки (половое размножение).

Для одноклеточных эукариот характерны основные элементы процессов развития, которые свойственны более сложно организованным организмам. Так, у одноклеточных эукариот появляется морфогенез, контролируемый ядром, использование клеточной поверхности как посредника для кооперации отдельных клеток и половое размножение.

«Сегрегационное» старение играет важную роль в выживании популяции одноклеточных, в частности дрожжей. Образование белковых агрегатов в стареющих клетках приводит к активации Ras2 и АФК-зависимого апоптоза. В индукции апоптоза важную роль также играют внешние факторы – ультрафиолет, осмотический шок, феромоны, этанол, вирусы. Роль апоптоза в регуляции численности и качественного состава популяции одноклеточных эукариот более универсальна и заключается

в удалении избыточных (при ограниченных пищевых ресурсах) или повреждённых клеток. Это пример «кондиционного» клеточного старения, при этом в неблагоприятных условиях часть популяции одноклеточных «жертвует» собой ради выживания остальных.

Клеточная гибель путём апоптоза (фрагментация ДНК и последующий распад клетки на апоптозные тельца) встречается у представителей одноклеточных эукариот, принадлежащих к различным таксонам, что может указывать на очень древнее происхождение и относительную консервативность данного процесса. Предполагается, что отдельные механизмы и компоненты апоптоза возникли постепенно в процессе эволюции. Одной из основных функций апоптоза одноклеточных эукариот является уничтожение мутантных или инфицированных клеток. Следовательно, одними из самых ранних эволюционных приобретений считаются ингибиторы апоптоза, которые встречаются практически у всех эукариот. Вероятно, ингибиторы имеют вирусное происхождение, а их изначальная функция сводилась к предотвращению апоптоза и продлению жизни инфицированной клетки. Ещё одним общим для подавляющего большинства эукариот эволюционным приобретением является митохондриальный путь активации апоптоза. Механизмы программируемой клеточной гибели могут быть сопряжены с процессами дифференцировки и морфогенеза. Например, избирательная гибель ядра у конъюгирующих инфузорий или массовая гибель эпимастигот (имеют короткий жгутик; существуют в организме переносчика, например, мух рода *Glossina* и клопов рода *Triatoma*) с появлением трипомастигот (имеют удлинённую форму, длинный жгутик, подвижна; паразитирует в организме позвоночных-хозяев) в ходе жизненного цикла *Trypanosoma cruzi*.

2. Появление многоклеточных организмов и особенности их онтогенеза

В жизненном цикле большинства прокариот преобладает одноклеточная стадия, но для некоторых характерна колониальность или истинная многоклеточность (представители Cyanophyta; актиномицеты), или способность к образованию при определённых условиях многоклеточных агрегатов (плодовых тел) (*Мухососсис хантус* и др.). Многие бактерии формируют большие взаимосвязанные структуры – биоплёнки. Тем не менее, вопрос о том, свойственна ли прокариотам истинная многоклеточность, длительное время оставался дискуссионным в научной литературе. Ведь для того, чтобы считаться многоклеточным организм должен соответствовать ряду критериев: клетки такого организма соединены посредством механизмов клеточной адгезии; клетки взаимодействуют, и благодаря этому реагируют на изменение условий как единый организм;

клетки взаимозависимы; клетки в пределах одного организма специализированы к выполнению разных функций, и чаще всего эта специализация необратима. Из прокариот таким критериям вполне соответствуют, например, гормогониевые синезелёные водоросли с гетероцитными талломами, актиномицеты, а также многоклеточные магнитобактерии (*magnetotactic multicellular prokaryotes*).

Размножаются многоклеточные прокариоты вегетативным и бесполом путём, для них также выявлены все варианты аналогов полового процесса прокариот.

Вегетативное размножение многоклеточных представителей прокариот осуществляется преимущественно фрагментами колоний (для колониальных форм; *Gloeocapsa*) или их почкованием (сферические ностоки); фрагментацией нитей с образованием гормогониев (фрагменты, способные к активному движению и участвующие в размножении и расселении видов; например, большинство представителей синезелёных водорослей порядков *Oscillatoriales*, *Nostocales*, *Stigonematales*), акинетами (формируются у ряда представителей ностоковых синезелёных водорослей (*Gloeotrichia echinulata*, *Anabaena spp.*, *Aphanizomenon spp.*)); делением организма пополам (*Magnetoglobus multicellularis*).

Фрагментация колоний происходит путём их распада, отделения периферических клеток или их групп. Причиной размножения колоний может быть её усиленный рост или воздействие внешних факторов. Отделившаяся часть колонии жизнеспособна, так как каждая клетка колонии способна к бинарному делению.

Фрагментация нитей с образованием гормогониев (например, у представителей синезелёных водорослей) происходит при отмирании некоторых клеток трихома (чаще всего разделение гетероцитного нитчатого таллома проходит по гетероцистам). Каждый гормогоний состоит из 2–3 или большего количества клеток, которые могут перемещаться в воде или по субстрату. Каждый гормогоний может дать начало новой особи. Группа клеток, похожая на гормогоний, покрытая оболочкой – гормоспора или гормоциста – также выполняет функцию размножения и перенесения неблагоприятных условий. У некоторых синезелёных водорослей от слоевища отделяются одноклеточные фрагменты: гонидии, кокки или планококки.

При наступлении неблагоприятных условий (высушивание, холод, дефицит питательных веществ, недостатке фосфатов, отсутствие света и другие) прокариоты (например, планктонные нитчатые *Cyanophyta*) образуют *акинеты* – крупные толстостенные покоящиеся клетки, которые служат именно для переживания неблагоприятных условий. Акинеты в течение нескольких лет могут сохраняться даже при отсутствии кислорода. В акинету превращается вся вегетативная клетка, которая начинает этот

процесс с увеличения своих размеров и накопления в цитоплазме гранул запасных веществ (гликогеновых, полифосфатных, цианофициновых), а также карбоксисом при одновременном уменьшении количества хлорофилла и фикобилиновых пигментов; в них исчезают газовые вакуоли, увеличивается плотность цитоплазмы, количество рибосом и количество ДНК. В них также исчезают полифосфатные гранулы, инактивируется фотосистема II, снижается уровень супероксиддисмутазы, меняется состав клеточной стенки. Пептидогликановый слой клеточной стенки утолщается, окружающий слизистый чехол уплотняется за счет полисахаридных фибрилл. Под действием силы тяжести акинеты опускаются на дно водоемов и перезимовывают, а весной прорастают, после чего молодые, имеющие газовые везикулы вегетативные клетки всплывают к поверхности воды. В тех случаях, когда в нити образуется не одна, а несколько акинет, они выполняют функцию размножения.

Бесполое размножение многоклеточных прокариот происходит при помощи спор: например, экзоспоры образуют колониальные представители хлорококковых и некоторые ностоковые синезелёные водоросли, большинство актиномицетов; для актинопланов характерно образование зооспор.

Экзоспоры (табл. 2) фототрофных бактерий и многих актиномицетов формируются в результате отпочковывания от одного из полюсов материнской клетки, которая погибает после их созревания. Они не имеют каких-либо особенных поверхностных структур, однако клеточная стенка значительно плотнее и толще аналогичной структуры вегетативной клетки.

Таблица 2

Строение покоящихся форм прокариот

Структурные элементы	Покоящиеся формы прокариот				
	микоспоры	цисты	акинеты	эндоспоры	экзоспоры
Нуклеоид	+	+	+	+	+
Цитоплазма	+	+	+	+	+
Цитоплазматическая мембрана	+	+	+	+	+
Клеточная стенка	+	+	+	—	+
Капсула	+	—	—	—	—
Гранулы запасных веществ	—	+	+	—	—
Внутренняя мембрана (интина)	—	+	—	+	+
Внешняя мембрана (экзина)	—	+	—	+	+
Тилакоиды	—	—	+	—	—
Чехол	—	—	+	—	—
Кортекс	—	—	—	+	—
Покровы споры, состоящие из нескольких слоев	—	—	—	+	+
Экзоспориум	—	—	—	+	—

На сегодняшний день достаточно подробно описан механизм споруляции у актиномицетов рода *Streptomyces*. Переход к образованию спор у этих организмов связан с ограничением питательных ресурсов вследствие увеличения плотности вегетативных клеток в колонии. Эти факторы стимулируют формирование воздушного мицелия. Воздушные гифы представляют собой репродуктивные структуры, трансформирующиеся в пигментированные цепочки спор, которые созревают и, разделяясь, освобождаются. Споруляция на воздушных гифах ограничена апикальными зонами (спорогенными клетками), для которых характерен высокий уровень репликации ДНК. Спорогенная клетка разделяется на проспоры путём образования септ. Параллельно происходит сегрегация реплицированных хромосом таким образом, чтобы каждая проспора получила одну копию генома. По завершении формирования септ проспоры приобретают округлую или овальную форму, синтезируют толстую оболочку и серый пигмент (созревание спор). Установлены две группы генов, контролирующие морфогенез стрептомицетов. Гены *bld* (*bald*) необходимы для формирования воздушных гиф. Мутантные по этим генам клоны характеризуются гладкими и блестящими колониями. Гены *whi* (*white*) необходимы для формирования спор в воздушном мицелии. Мутанты по этим генам образуют воздушные гифы, но не способны синтезировать специфический для спор серый пигмент, а потому характеризуются белым цветом колоний.

Миксоспоры у представителей миксобактерий формируются в «плодовом теле» псевдоплазмодия: клетки переходят в покоящееся состояние, их клеточная стенка утолщается и окружается капсулой.

Цисты – другой распространенный тип покоящихся клеток, образуемый представителями синезелёных водорослей (виды *Nostoc* и *Stigonema*). При истощении пищевых ресурсов в цисту превращается вся вегетативная клетка, а не только какая-то её часть, что сопровождается изменением её морфологии. Происходящие изменения включают потерю жгутиков (при наличии их у исходной клетки), накопление в цитоплазме гранул поли-β-гидроксимасляной кислоты и образование дополнительных клеточных покровов: внешних (экзина) и внутренних (интина) по отношению к клеточной стенке (табл. 2). В цистах возрастает, приблизительно в 2 раза, содержание липидов по сравнению с вегетативными клетками. Между цитоплазматической мембраной и клеточной стенкой (аналогично в эндоспорах) формируются внутренний покров – интина (продолжение цитоплазмы; эластична; состоит из целлюлозы и пектиновых веществ, не содержит спорополленин; легко разрушается химическими реагентами; участвует в прорастании спор, цист и формировании клеточной стенки новой вегетативной клетки). Поверх клеточной стенки

формируется наружный покров – экзина (наружная защитная оболочка, содержит споролленины, которые обеспечивают её устойчивость к внешним воздействиям). Цисты устойчивы к высушиванию, механическим нагрузкам и облучению, но не к действию высоких температур. Они располагаются в нити одиночно, парами или цепочками, в них отсутствуют газовые вакуоли и гранулярные запасные вещества. По своему положению в нитях цисты бывают терминальными или интеркалярными. Их стенка утолщена, особенно на концах клетки.

У представителей *Cyanophyta* все клетки таллома могут быть одинаковы (гомоцитные талломы) или могут состоять из вегетативных клеток, гетероцист и акинет (например, *Anabaena*, *Nostoc*) – гетероцитные талломы.

Гетероцисты – это специализированные клетки, образующиеся путём «дифференцировки» вегетативных клеток. При этом в гетероцисты превращаются не любые вегетативные клетки, а лишь некоторые, расположенные на определённом расстоянии друг от друга. Сравнительно недавно было высказано предположение, что уже существующие в талломе гетероцисты *Anabaena* выделяют ингибитор, подавляющий дифференцировку новых близлежащих вегетативных клеток в гетероцисты. Последние же образуются из вегетативных клеток, расположенных вне ингибирующих зон.

Относительно функции гетероцист высказываются разные предположения. Основная функция гетероцист заключается в фиксации атмосферного азота в аэробных условиях. Внутри гетероцист создаются условия с малым содержанием кислорода за счёт толстых клеточных стенок и мощных слизистых чехлов, которые уменьшают диффузию атмосферных газов в клетку. Клеточные стенки гетероцист состоят из слоев как вегетативные клетки, но снаружи от них развиваются ещё три специальных слоя (оболочки гетероцист). Признаком зрелых гетероцист является гомогенность клеточного содержимого, что обусловлено отсутствием гранулярных включений, характерных для вегетативных клеток (волютина, цианофициновых зёрен). Единственные гранулярные структуры гетероцист – это рибосомы.

Дифференцировка гетероцист сопровождается реорганизацией мембранной системы клетки: тилакоиды разрушаются и формируются новые плотно упакованные мембраны. Преобразование мембранной системы сопряжено с изменениями в пигментном составе: в гетероцистах обнаруживаются хлорофилл и каротиноиды, но почти нет фикоцианина, аллофикоцианина и фикоэритрина. ДНК в вегетативных клетках обычно сконцентрированы в нуклеоплазме, а в гетероцистах рассеяны по всей цитоплазме. Образование гетероцист, как и процесс фиксации атмосферного азота, ингибируется присутствием в питательной среде связанного азота, особенно

аммонийного. Дифференцировка гетероцист начинается с образования самого наружного фиброзного слоя её оболочки снаружи от клеточной стенки дифференцирующейся вегетативной клетки. Образование фиброзного слоя и следующего гомогенного слоя сопровождается разрушением гранулярных цитоплазматических включений и тилакоидов. На заключительной стадии развития гетероцист откладывается самый внутренний пластинчатый слой оболочки гетероцисты, особенно толстый вокруг порового канала, и формируется развитая мембранная система путем соединения мелких пузырьков, возникающих на местах предшествующих тилакоидов. Газовые вакуоли, если они были в вегетативных клетках, при дифференцировке их в гетероцисты также утрачиваются. В гетероцистах редуцируется фотосистема II, поэтому при фотолизе воды кислород не образуется. Функционирующая фотосистема I, и энергия света запасается в форме АТФ, которая затем используется при восстановлении азота.

Следовательно, многие многоклеточные прокариоты также способны некоторое время сохраняться при неблагоприятных условиях существования и без каких-либо явных признаков структурной дифференцировки. В этом случае в них происходят существенные физиологические перестройки, заключающиеся в резком угнетении активности метаболических процессов, снижении содержания АТФ и абсолютного значения мембранного потенциала. В результате такие микроорганизмы переходят в состояние, аналогичное анабиозу.

*Таким образом, физиологическое разнообразие прокариот сформировано на основе ограниченного количества их морфологических форм. Однако у них наблюдается начало формирования морфологической дифференцировки (например, зубактерии, в отличие от архебактерий, которым характерно отсутствие сложных морфологических форм и клеточной дифференцировки). Чаще всего проявления морфологической дифференцировки зубактерий направлены на повышение их выживаемости. Это выражается как в формировании специальных клеток, обладающих повышенной устойчивостью к перенесению неблагоприятных условий (эндоспоры, цисты) или выполняющих специализированную функцию (фиксация атмосферного азота гетероцистами), так и в формировании структур, обеспечивающих эффективное размножение вида (гормогонии и беоциты *Cyanophyta*). В основе морфологической дифференцировки лежат определенные биохимические процессы, которые, в свою очередь, являются выражением генетической информации клетки, реализующейся в процессе её развития или же в зависимости от действия различных внешних факторов.*

Есть мнение, что многоклеточные эукариоты произошли от колониальных одноклеточных вследствие дифференциации их клеток. Многокле-

точность является одним из направлений в эволюции органического мира, направленным на увеличение размеров вегетативного тела. Она у различных групп водорослей и грибов возникала независимо в разных систематических группах: например, многоклеточные зелёные, бурые и красные водоросли произошли от различных колониальных (нитчатых) форм. Среди животных все многоклеточные организмы, которые в эмбриональном развитии имеют два (экто-и энтодерма) или три (ещё и мезодерма) зародышевых слоя клеток характеризуются монофилетическим происхождением (т. е. от общих предков). Однако истинные пути возникновения разных типов многоклеточных животных до сих пор не установлены.

Первым этапом на пути возникновения многоклеточности, по-видимому, было объединение одноклеточных организмов в *колонии*. Колония клеток может существовать как единое тело, но все составляющие её клетки одинаковы по выполняемым функциям и каждая из них может стать родоначальницей новой колонии клеток. Колониальные формы встречаются у эукариот. Например, некоторые вольвоксовые (*Gonium*,

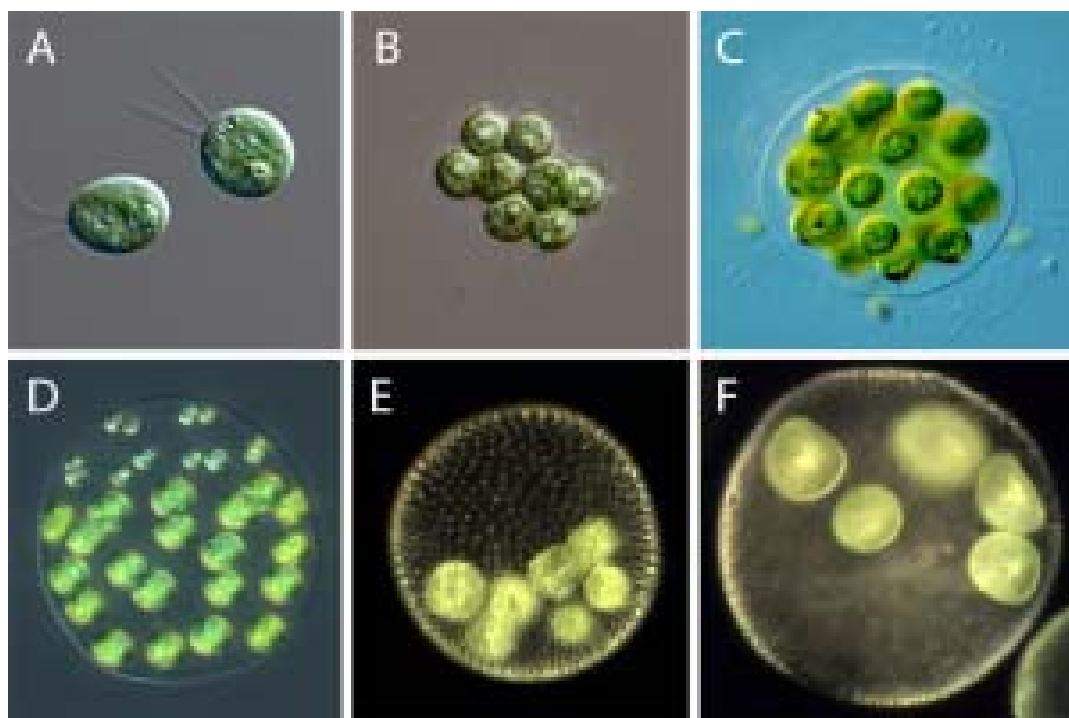


Рис. 7. Представители порядка Volvocales: все, кроме *Chlamydomonas*, являются представителями семейства Volvocaceae; А – *Chlamydomonas reinhardtii*; В – *Gonium pectorale* с 8 *Chlamydomonas*-подобными клетками; С – *Eudorina elegans*; D – *Pleodorina starrii*; Е – *Volvox carteri*; F – *Volvox barberi* [16]

Pandorina, *Eudorina*) – это колониальные организмы (поскольку каждая клетка в них способна к независимому существованию и воспроизведению вида) (рис. 7). Так, у видов *Gonium* все клетки ценобия в одинаковой

степени проявляют способность к размножению и морфологически неотличимы друг от друга, а в колониях *Pandorina morum* Bory уже наблюдается полярность: передние клетки, имеющие жгутик, обладают более крупными стигмами, чем задние, но все они способны к размножению. В ценобиях *Eudorina* передние 4 клетки частично (*E. elegans*) или полностью (*E. illinoisensis*) утратили способность к образованию дочерних ценобиев.

Наиболее высокая степень дифференциации и координации наблюдается у *Volvox*. Между его клетками существует плазматическая связь, и выделяют два чётко обособленных и независимых типа клеток (вегетативные и генеративные). Вегетативные клетки (их большинство) сходны по строению с клетками хламидомонады, участвуют в процессе фотосинтеза, и не принимают участия в размножении. Между вегетативными клетками располагаются крупные генеративные клетки, участвующие только в размножении.

Представители *Volvox* размножаются вегетативным и половым путём. При вегетативном размножении специализированные клетки – *партеногонидии* (расположены в разных участках колонии) делятся несколько раз, в результате чего образуется дочерняя колония, которая высвобождается после гибели материнской колонии.

Половое размножение происходит при участии отдельных генеративных клеток колонии – оогониев и антеридиев (*гетерогамия*). Клетка, образующая оогоний увеличивается в размерах, теряет реснички, приобретает более тёмную окраску, в ней запасаются питательные вещества. Зрелый оогоний состоит из сферической оболочки, внутри которой лежит неподвижная гамета (оосфера). Количество оосфер у разных видов *Volvox* составляет от 30 до 400 на колонию. Антерозоиды развиваются целыми колониями. Дифференцирующаяся в антеридий клетка делится, как и при образовании дочерних колоний. Общее число антерозоидов в одном антеридии достигает, например, у *V. globator* 128, а у *V. aureus* – 32. Каждый из них снабжён красным глазком, двумя жгутиками на переднем заостренном конце и пульсирующей вакуолью. Кроме этого, колонии *V. aureus* – раздельнополы (на женской колонии образуются *оосферы*; на мужской колонии – *антерозоиды*). У *V. globator* гаметы обоих полов развиваются на одной колонии. Оболочка антеридия ослизняется, и колония антерозоидов целиком выходит в воду, где некоторое время она свободно плавает. Общее число антерозоидов, созревших одновременно, у одной особи вольвокса может быть очень большим (от 65 до более 500). Затем колонии антерозоидов распадаются и одиночные антерозоиды сливаются с оосферами другой колонии, давая начало зиготам (ооспорам). Зиготы могут долго оставаться в анабиотическом состоянии, переживая

длительный период высыхания. При нормальных условиях из зиготы образуется одна ооспора, которая после многократных делений превращается в новую колонию. Дифференциация клеток с репродуктивной функцией происходит во время деления ооспоры. При этом начало дифференциации органов бесполого размножения – *партеногонидиев* – наблюдается на стадии 16–32-клеточной колонии, а *антеридиев* и *оогониев* – на стадии 32–64 клеточной колонии. Важно отметить, что обособление линии репродуктивных клеток от соматических произошло в эволюции рано (одно из первых проявлений дифференцировки в процессе нормального развития).

На примере Volvocaceae наблюдается постепенное усложнение ценобиов путём функциональной и морфологической дифференциации клеток, из которых они состоят, благодаря этому достигается высокая степень единства и координации. Возникновение колоний одноклеточных и многоклеточных водорослей сопровождалось параллельными процессами морфофункциональной дифференциации специализированных клеток, выполняющих репродуктивную функцию. У колониальных (монадных, коккоидных) и многоклеточных (гетеротрихальных, паренхиматозных) водорослей проявляется тенденция к «эмбрионизации» (развитие внутри материнской колонии) молодого поколения (автоколонии вольвоксовых, эмбрионизированные гаметофиты харовых, фукусовых, спорофиты красных водорослей).

Механизмы регуляции образования многоклеточного организма из одноклеточных хорошо изучены у слизевика *Dictyostelium*. Так, вегетативная стадия его развития представлена одиночными гаплоидными миксамёбами. При недостатке питания возникают центры агрегации миксамёб и формируется мигрирующий псевдоплазмодий, заключенный в слизистый чехол. В первые 4–5 часов голодания не происходит никаких направленных движений миксамёб, после чего клетки перемещаются к центру агрегации посредством хемотаксиса, который обусловлен циклическим аденозин-3',5'-монофосфатом (цАМФ). Затем клетки на несколько минут теряют чувствительность к цАМФ, в результате возникает волна цАМФ, распространяющаяся по всей популяции клеток. С прохождением каждой волны клетки приближаются к центру. Отдельные миксамёбы в обычных условиях не способны формировать агрегаты (не «прилипают» друг к другу). Однако после 5 часов голодания на их клеточной поверхности появляется целый набор белков (дискоидинов), которые вызывают слипание клеток между собой.

Когда миграция заканчивается, расположенные впереди клетки, составляющие 15–20 % всей клеточной популяции, перемещаются, образуя ножку спороношения, тогда как клетки, ранее располагавшиеся

сзади, перемещаются вверх. Клетки ножки погибают, а клетки, которые поднялись выше ножки, образуют споры, дающие начало новым миксамёбам. Дифференцировка отдельных амёб в клетки ножки (соматические) или в споры (репродуктивные элементы) явление сложное. Оно отражает одну из основных особенностей эмбриогенеза: выбор клетками «пути развития». Дифференцировка происходит за счёт фактора, индуцирующего дифференцировку (differentiation-inducing factor, или DIF), синтез которого регулируется генетически. Существуют мутантные линии *Dictyostelium*, которые образуют только клетки-предшественники спор и не образуют клеток ножки. У *Dictyostelium* отдельные клетки объединяются для образования единой структуры, состоящей из дифференцированных клеток разного типа, – процесс, сходный с образованием тканей у более сложно организованных существ.

Подобные особенности смены этапов одноклеточного и многоклеточно состояний и их регуляция химическим градиентом впервые обнаруживается у одноклеточных и сохраняются в более сложных процессах морфогенеза, гистогенеза, регенерации и других, происходящих в онтогенезе высокоорганизованных организмов.

Формы размножения многоклеточных эукариот наибольшего разнообразия достигают у водорослей.

Вегетативное размножение у водорослей осуществляется: разделением колоний на две дочерние (представители золотистых водорослей *Synura* Ehr.), распадом нитей на фрагменты (встречается во всех группах водорослей, особенно у *Zygnematales*). У многоклеточных форм зелёных, бурых и красных водорослей вегетативное размножение мало чем отличается от вегетативного размножения высших растений и осуществляется побегами, столонами (*Laminaria longipes* Bory и *Ecklonia stolonifera*), выводковыми почками (у представителей бурых водорослей – *Sphacelaria* Lyngb. и красных – *Florideophyceae*), параспорами, клубеньками (зеленые водоросли порядка *Ulotrichales*) и акинетами.

Бесполое размножение у водорослей осуществляется с помощью специализированных клеток – спор. Основная функция спор в жизненном цикле – расселение вида. Они образуются в спорангиях или в вегетативных клетках, чему предшествует деление ядра (в зависимости от особенностей цикла развития мейоз или митоз). Споры различаются по способу образования, стадии развития на которой они выходят из оболочки материнской клетки и строения (табл. 3).

Таблица 3

**Виды спор у многоклеточных
эукариотических водорослей**

Споры			
Подвижные	Представители	Неподвижные	Представители
Зооспоры (гаплоидные; возникают в результате мейотического деления специализированных клеток зооспорангиев; могут иметь 1 или несколько жгутиков).	Зелёные и бурые водоросли.	Апланоспоры (гаплоидные; покрываются оболочкой внутри материнской клетки). Если приобретают форму материнской клетки, находясь внутри неё – это автоспоры . Апланоспоры с утолщённой оболочкой, способные длительное время находиться в состоянии покоя называются гипноспорами .	Хлорококковые из зелёных и желто-зелёные.
		Гемизооспоры (гаплоидные; зооспоры без жгутика, но имеют сократительные вакуоли и стигму).	Зелёные водоросли.
		Параспоры (диплоидные).	Красные водоросли.
По количеству спор в спорангии			
Моно- (образуют 1 клетку, не имеют жгутика и обочки) и тетраспоры (образуют в спорангии 4 клетки).		Многие красные и диктиотовые из бурых водорослей.	
Би- (содержимое спорангия делится на 2 части) и полиспоры (деление спорангия на большое количество частей).		Красные водоросли.	

Жизненные циклы многоклеточных эукариотических организмов сложны и разнообразны; проходят с половым размножением, различаются соотношением диплоидной и гаплоидной стадий онтогенеза (табл. 4) и зависят от факторов внешней среды.

Таблица 4

Жизненные циклы многоклеточных эукариот

Тип жизненного цикла	Характеристика	Представители
Гаплонтный (гаплофазный) с зиготической редукцией	<p>Оплодотворение \Rightarrow Зигота (диплоидная стадия) \downarrow Мейоз (редукционное деление) Гаметы (гаплоидная стадия) \downarrow Митоз (гаметангии) Развивающаяся особь гаплоидная (доминирующая фаза)</p>	Многие зелёные водоросли; большинство грибов <i>Chytridiomycetes</i> , <i>Oomycetes</i> , <i>Zygomycetes</i> , некоторые <i>Ascomycetes</i> .
Диплонтный (диплофазный) с гаметической редукцией	<p>Оплодотворение \Rightarrow Зигота (диплоидная стадия) \downarrow Митоз (доминирующая фаза) Гаметангии или репродуктивные органы \downarrow Мейоз Гаметы (гаплоидная стадия) \downarrow Митоз</p>	Диатомовые, фукусомые некоторые зелёные водоросли, среди трибоцифиевых – у <i>Vaucheria</i> ; некоторые грибы; голосеменные и покрытосеменные растения; кишечно-полостные; моллюски; плоские и круглые черви, членистоногие; все позвоночные животные.
Гаплодиплонтный (гаплодиплофазный) со спорической редукцией (с чередованием поколений – диплоидного спорофита и гаплоидного гаметофита)	<p>Оплодотворение \Rightarrow Зигота (диплоидная стадия) \downarrow Митоз (многоклеточная фаза) Спорангии \downarrow Мейоз Споры (гаплоидная стадия) \downarrow Митоз (многоклеточная фаза) Гаметангии или репродуктивные органы \downarrow Митоз Гаметы (гаплоидная стадия) \downarrow Митоз</p>	Некоторые зелёные водоросли, многие бурые водоросли и большинство красных; некоторые грибы плауны, мхи, хвощи, папоротники.
Гаплодиплонтный с соматической редукцией	<p>Оплодотворение \Rightarrow Зигота (диплоидная стадия) \downarrow Митоз (многоклеточная фаза) Мейоз (в вегетативных клетках диплоидного таллома) Гаметы (гаплоидная стадия) \downarrow Митоз</p>	Батрахоспермовые из красных и прازیоловые из зелёных водорослей.

Половое размножение многоклеточных эукариот заключается в слиянии двух гаплоидных клеток, в результате чего образуется диплоидная зигота, вырастающая в новую особь или дающая зооспоры. Образование гаплоидных клеток (*гамет*), в большинстве случаев связано с редукционным делением – *мейозом* на какой-либо стадии жизненного

цикла организма. Половое размножение с участием гамет приводит к восстановлению удвоенного (относительно гамет) набора хромосом. Это позволяет объединять генетический материал двух родительских организмов и получать потомков с комбинацией свойств (за счёт случайного расположения и расхождения к полюсам деления гомологичных хромосом при мейозе, кроссинговера и слияния гамет), отличной от родительских форм. Однако у разных видов эукариотических организмов половое размножение имеет свои особенности. Так, например, половое размножение может проходить без участия гамет (*конъюгация*) и без оплодотворения (виды апомиксиса). Типы полового размножения многоклеточных эукариот будут представлены в табл. 6.

У многоклеточных организмов периодизация онтогенеза отличается (табл. 5). При этом у разных видов может отличаться относительная продолжительность различных периодов, вплоть до отсутствия некоторых. Так, у млекопитающих наиболее продолжительным является период, когда организм находится во взрослом состоянии. У многих насекомых наоборот, стадия взрослого организма самая короткая. Иногда насекомое во взрослом состоянии живёт всего несколько часов (например, подёнки отряд Ephemeroptera).

Таблица 5

Периоды онтогенеза многоклеточных животных

Многоклеточные организмы	Периоды онтогенеза					
	Предзародышевый (слияние гамет)	Эмбриональный	Постэмбриональный			Старение и гибель
			Личиночная стадия	Период до момента приобретения организмом способности размножения	Период половой зрелости	
Кишечнополостные (чередование полового и бесполого размножения (почкование) – <i>метагенез</i>)	+	+	+	+	+	+
Ленточные черви (чередование полового и бесполого размножения)	+	+	–	+	+	+
Моллюски	+	+	+	+	+	+
Членистоногие	+	+	+	+(в том числе метаморфоз)	+	+
Рыбы	+	+	–	+	+	+
Земноводные	+	+	+	+	+	+
Пресмыкающиеся (появление амниотического яйца)	+	+	–	+	+	+
Птицы	+	+	–	+	+	+
Млекопитающие	+	+	–	+	+	+

Таким образом, с переходом к многоклеточности онтогенез усложняется по форме и удлиняется во времени, но в ходе эволюции онтогенеза наблюдаются случаи заметного упрощения развития, связанного с возникновением более совершенных способов реализации наследственной информации. А переход от метаморфоза к прямому развитию – один из важнейших итогов последних этапов эволюции жизни.

3. Особенности онтогенеза растений и грибов

Развитие каждого растительного организма, также как и животного, проходит ряд этапов. У различных видов растений и грибов онтогенез неодинаков по продолжительности, темпам и характеру дифференцировок. *Дифференцировка* – процесс возникновения и развития структурных и функциональных различий между первоначально однородными эмбриональными клетками, из которых образуются специализированные клетки, ткани и органы многоклеточного организма. У животных дифференцировками богат эмбриональный период, у растений – пост-эмбриональный.

У растений выделяют следующие последовательные возрастные и структурнофизиологические этапы: эмбриональный, ювенильный (вегетативный), зрелости, размножения (генеративный), старение. В ходе онтогенеза происходит структурная и функциональная специализация клеток, тканей и органов растения, усложняются взаимодействия между частями, возникают необратимые возрастные изменения всего организма как целостной живой системы (за счёт фитогормонов; обмена метаболитами между разными органами). Прохождение каждой из указанных стадий онтогенеза связано с формированием определённых признаков и свойств растений. Каждый следующий этап онтогенеза не может пройти ранее предыдущего, на каждом из них идёт образование определённых морфологических структур, новых по сравнению с предыдущим этапом.

В ходе жизненного цикла растений происходит смена нескольких жизненных форм. У многолетних растений в онтогенезе чередуются малые и большие жизненные циклы, отличающиеся по продолжительности, морфологии и функционально. У некоторых растений между различными стадиями онтогенеза существует разрыв, измеряемый годами. Закладка метамерных органов у растений происходит в течение всего онтогенеза.

У растений выделяют следующие особенности онтогенеза:

1. Высокая лабильность онтогенеза и зависимость от условий среды, которая связана с особенностями развития регуляторных систем (генетический аппарат, клеточные мембраны, ферментные системы, неорганические ионы, фитогормоны и межклеточные связи).

2. В онтогенезе растений реализуются разнообразные приспособительные реакции (период покоя, фотопериодизм, термопериодизм и др.), что связано с их прикреплённым образом жизни.

3. У большинства видов растений при реализации программы онтогенеза периоды интенсивного роста и развития чередуются с периодами затухания этих процессов.

4. У растений, особенно цветковых, развита стратегия патиентности (выносливость к экстремальным условиям среды), и эксплерентности (способность к быстрому заселению свободного «местообитания»).

В ходе эволюции у разных групп растений сформировались разные стратегии развития и взаимодействия гаплоидного и диплоидного поколений – гаметофита и спорофита (подробно представлено в лекции 1), поэтому в растительном мире существует значительное разнообразие морфологии этих поколений. У многих водорослей оба поколения развиты одинаково, внешне довольно сходны и живут самостоятельно, у большинства высших растений – отличаются или зависят одно от другого. Так, у мхов гаметофит морфологически более дифференцирован и развит, а спорофит «паразитирует» на гаметофите. У папоротников оба поколения живут и питаются самостоятельно, но спорофит значительно превосходит гаметофит по размерам и развитию вегетативных органов. Для семенных растений характерна редукция гаметофита и прогрессирующее развитие спорофита. У цветковых растений чередование поколений почти не выражено из-за значительной редукции гаметофитов: мужского – до двухклеточного пыльцевого зерна, женского – до восьмиядерного зародышевого мешка.

Основные отличия семенных растений:

1. Образуют семена (распространение). Голосеменные – не образуют плодов. Покрытосеменные – образуют семена, заключённые в плоды.

2. В жизненном цикле доминирует спорофит (диплоидный). Гаметофиты развиваются и проходят полный цикл своего развития на спорофите.

3. Половой процесс не связан с капельножидкой средой. В связи с этим мужские половые клетки – спермии – неподвижны, они достигают женских половых клеток – яйцеклеток – при помощи специального образования (пыльцевой трубки).

4. Все семенные растения – *разноспоровые*.

5. У семенных растений единственная зрелая *мегаспора* остаётся постоянно заключённой внутри мегаспорангия и здесь же, внутри мегаспорангия, происходит развитие женского гаметофита и процесс оплодотворения.

6. Мегаспорангий (нуцеллус) у семенных растений окружен особым защитным покровом, называемым *интегументом*. Внутри семязачатка происходит процесс оплодотворения и развитие зародыша. Это обеспечивает независимость оплодотворения от воды, его автономность.

7. При развитии зародыша семязачаток трансформируется в семя. У подавляющего большинства семенных растений зрелое, готовое к прорастанию семя формируется на материнском растении.

8. Большинство семенных растений (кроме саговниковых) имеет длительный период покоя. Это даёт возможность пережить неблагоприятное время года, а также способствует более далекому расселению.

9. Семена, в отличие от спор, имеют не только сформированный зародыш будущего спорофита, но и запасные питательные вещества, необходимые на первых этапах его развития. Плотные оболочки предохраняют семя от неблагоприятных природных факторов, губительных для большинства спор.

Таким образом, семенные растения приобрели преимущества в борьбе за существование, что и определило их расцвет при иссушении климата. В настоящее время это господствующая группа растений.

Рассмотрим жизненный цикл голосеменных растений на примере сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*). *Спорофит* – это дерево. *Спорообразование*: на одном и том же растении образуются шишки двух видов, резко различающиеся между собой (мужские, расположенные группами, и женские – одиночные). Пыльца из мужских шишек (*микроспорангиев*) переносится на семязачатки и улавливается каплей густой жидкости, заполняющей пространство между нуцеллусом и интегументом и выступающей через микропиле (пыльцевход). Подсыхая, она втягивает пыльцу внутрь семязачатка на нуцеллус. После опыления микропиле зарастает. Чешуйки женской шишки смыкаются. Мужской гаметофит продолжает свое развитие на мегаспорангии. Экзина лопается, и клетка трубки образует пыльцевую трубку, которая внедряется в ткань нуцеллуса и растёт в направлении архегония. Генеративная клетка делится и образует две клетки: клетку-ножку и спермагенную клетку. Они переходят в пыльцевую трубку, которая и доставляет их к архегонию. Непосредственно перед оплодотворением из спермагенной клетки образуются два спермия – мужские гаметы без жгутиков. Пыльцевая трубка через шейку архегония достигает яйцеклетки. Тургор ее повышается, кончик лопается, и содержимое выбрасывается в цитоплазму яйцеклетки. Один из спермиев сливается с ядром яйцеклетки, а второй отмирает. Из диплоидной зиготы образуется зародыш. Рост зародыша осуществляется за счёт запасных продуктов женского гаметофита. Сформировавшийся зародыш состоит из корешка, стебелька, нескольких семядолей (5–12) и почечки. Интегумент

образует спермодерму. Так семязачаток превращается в семя. Оно находится на семенной чешуйке и имеет (у сосны обыкновенной) крыло-видный придаток, способствующий распространению семян ветром. Созревание семян наступает осенью, на второй год после опыления. Отделившись от материнского растения, семя может длительное время находиться в состоянии покоя и прорастает лишь с наступлением благоприятных условий.

У цветковых растений жизненный цикл состоит из следующих этапов: опыление, оплодотворение, зигота, развитие зародыша, семени и плода, вегетативная стадия, генеративная стадия. Пыльцевое зерно попадает на рыльце пестика (специализированного органа – цветка) и прорастает, образуя пыльцевую трубку, которая через столбик пестика достигает семязачатка (имеет 1 гаплоидное ядро яйцеклетки и ещё 7), расположенного в завязи. После этого из пыльцевой трубки выходит 2 спермия. Происходит *двойное оплодотворение*, при котором одна из двух образующихся в мужском гаметофите (пыльцевое зерно) гамет (спермиев) сливается с яйцеклеткой (образуется зигота, которая развивается в зародыш), а другой – с двумя свободными или слившимися центральными ядрами женского гаметофита (образуется первичное ядро эндосперма с тройным набором хромосом – *триплоид*). Последующие этапы жизненного цикла и онтогенеза цветковых растений, а также механизмы их регуляции будут подробно представлены в лекции 8.

Общими чертами онтогенеза многоклеточных растений и животных являются запрограммированность онтогенеза, направленность его дифференцировок, последовательность смены программ развития под влиянием факторов среды, в том числе и эпигенетических факторов.

Жизненные циклы (ядерные циклы) грибов также весьма разнообразны. Многие грибы содержат более одного ядра в клетках, которые разделены неполными перегородками, что позволяет ядрам мигрировать из одной клетки в другую. Гифы одной или разных колоний могут сливаться, в результате чего также возможен обмен ядрами разных штаммов. Т. е. у грибов наблюдается явление разноядерности (*гетерокариоза*), при котором в одной клетке длительное время сохраняются гетероаллельные по некоторым генам ядра. Гетерокариоз гаплоидным грибам заменяет гетерозиготность. Однако у гетерозиготных диплоидов соотношение аллельных генов жёстко детерминировано и равно 1:1 (кроме полиплоидов), при гетерокариозе число ядер в клетке непостоянно и соотношение аллелей может изменяться, в частности при изменении условий обитания (*значением гетерокариоза является быстрая адаптация к меняющимся условиям среды*).

Бесполоый цикл. Характерен для несовершенных, или метаспоровых грибов (например, родов *Fusarium*, *Cladosporium*, *Verticillium*). Деление их ядер исключительно митотическое (митотические грибы), а генетическая рекомбинация происходит в парасексуальном процессе. Пloidность их ядер может варьировать в пределах одного мицелия из-за особенностей парасексуального процесса.

Гаплоидный цикл. В вегетативном мицелии гаплоидные ядра (мультикарион) делятся митотически. Диплоидная зигота (зигоспора) (особенно после периода покоя) делится мейозом (зиготический мейоз) (например, зигомицеты), сопровождающимся многочисленными митозами, в результате чего в спорангии образуются гаплоидные споры, которые дают начало многоядерному гаплоидному мицелию.

Гаплоидный цикл с ограниченным дикарионом. После слияния гаметангиев или гамет происходит синхронное деление ядер, полученных от двух родителей (стадия дикариона). Затем ядра сливаются и мейотически делятся без периода покоя. Мейоспоры дают начало новым мицелиям (например, аскомицеты). У грибов с гаплоидным ядром отсутствует пул скрытой изменчивости, так как все рецессивные мутации проявляются фенотипически.

Гаплодикариотический цикл. Сходен с предыдущим, но стадия дикариона длительная, часто доминирующая в цикле (например, большинство базидиомицетов).

Дикариотический цикл характерен для головнёвых грибов (Ustilaginales). Дикариотический мицелий распространяется по межклеточникам тканей заражённых растений. При этом одно- или четырёхклеточная базидия вырастает из покоящейся клетки (диплоидной телиоспоры). В базидии осуществляется мейоз и образуются гаплоидные базидиоспоры. Они прорастают немедленно путём почкования в одноядерные споридии (имеют различные аллели по обоим локусам спаривания как при тетрапольярном гетероталлизме), способные сливаться и формировать патогенный дикариотический мицелий (только на растении-хозяине).

Гаплодиплоидный цикл. Изоморфная смена генераций у грибов (встречается редко, например, некоторые водные хитридиомицеты (*Allomyces*)). Проходит с чередованием диплоидных и гаплоидных фаз и наличием гаплоидного и диплоидного поколений.

Диплоидный цикл. Ядра зиготы митотически делятся, вследствие чего образуется вегетативный диплоидный мицелий. Мейоз происходит при формировании гаметангиев или гамет (гаметический) (например, оомицеты (*Phytophthora infestans*), некоторые аскомицеты (*Saccharomyces cerevisiae* и др.)). У этих грибов, как и у высших эукариот, возможно скрытое сохранение рецессивных мутаций в гетерозиготных ядрах

и их проявление в потомстве после половой или парасексуальной рекомбинации.

Особенности митоза у грибов: 1) у большинства грибов ядерная оболочка сохраняется во всех фазах митоза (закрытый митоз); 2) центриоли имеются только у небольшой группы грибов, имеющих жгутиковые стадии, а у большинства грибов их заменяют просто устроенные белковые структуры – полярные тельца веретена, являющиеся организаторами микротрубочек и обозначающие полюса при митозе; 3) мелкие хромосомы и быстрое чередование фаз; 4) несинхронная телофаза часто является причиной того, что в дочерние ядра иногда переходит неравное число хромосом (явление гетероплоидии); 5) у большинства грибов митоз не сопряжён с цитокинезом.

Иногда гаплоидные ядра в многоядерном вегетативном мицелии грибов сливаются, вследствие чего образуются диплоидные ядра. Если в гетерокариотических клетках сливаются ядра, гетероаллельные по какому-либо локусу, возникает гетерозиготное диплоидное ядро, которое может дать начало гетерозиготному клону. В диплоидных ядрах гомологичные хромосомы могут случайно обмениваться идентичными участками, подобно тому, как происходит при мейозе (*митотический кроссинговер*). Рекомбинацию без полового процесса называют парасексуальной (*парасексуальный процесс*). Кроме того, в процессе митозов диплоидные ядра могут возвращаться в гаплоидное состояние вследствие постепенной потери одного набора хромосом (*гаплоидизация*). Такие ядра дают начало гаплоидным гифам.

Вегетативное размножение грибов осуществляется посредством фрагментов гиф (например, при отмирании части мицелия) или отдельными клетками (артроспоры; хламидоспоры).

Бесполое размножение грибов может осуществляться подвижными или неподвижными спорами. Зооспоры образуют небольшое количество грибов (у водных грибов, например, *Pythium maritimum*). Большинство грибов размножаются неподвижными спорами, что подтверждает факт их очень давнего выхода на сушу. Споры могут формироваться эндогенно в спорангиях (спорангиоспоры) или экзогенно (конидии) (например, несовершенные грибы, базидиомицеты, некоторые зигомицеты).

Способы полового размножения разных групп грибов представлены в табл. 6.

По генетической и физиологической регуляции выделяют несколько типов полового размножения: *гинандромиксис* (характерно наличие двух аллелей спаривания у двудомных оомицетов, при этом оогонии и антеридии образуются на разных мицелиях); *димиксис*, или гетероталлизм (характерно наличие двух аллелей спаривания у потомков двух генети-

чески различных спор); *диафоротмиксис* (характерно наличие многих аллелей спаривания, случайно встречающихся у разных штаммов, образуют подобно высшим эукариотам панмиксные гибридные популяции).

Таблица 6

Типы полового размножения многоклеточных эукариот

Тип полового размножения	Многоклеточные эукариоты						
	Грибы	Растения				Животные	
		Водоросли	Папоротники, хвощи, мхи, плауны	Голосеменные	Покрывосеменные	Беспозвоночные	Позвоночные
Слияние двух недифференцированных на гаметы вегетативных клеток							
Соматогамия (слияние 2-х соматических клеток мицелия, иногда происходит путём слияния ядер внутри клетки)	Ascomycetes, многие Basidiomycetes и другие	–	–			–	
Конъюгация (сливаются вегетативные неподвижные клетки нитей таллома)	–	некоторые зелёные (Spirogyra) и диатомовые (представители колониальных)	–			–	
Гаметангиогамия (слияние 2-х многоядерных специализированных участков мицелия – гаметангиев)	Ascomycetes подкласса Euascomycetidae, Loculoascomycetidae, Zygomycetes	–	–			–	
Зигогамия (слияние 2-х разнополых или специализированных участков мицелия или 2-х вегетативных клеток полового поколения)	класс Zygomycetes (Mucor rhizopus), Ascomycetes	некоторые зелёные и диатомовые (колониальные)	–			–	
Слияние специализированных гамет – гаметогамия							
Изогамия (слияние морфологически одинаковых по размеру и форме подвижных гамет, образуемых в гаметангиях)	представители Chytridiomycetes	многие (динофитовые, золотистые, желтозелёные, бурые и зелёные)	–			–	
Гетерогамия или анизогамия (слияние подвижных гамет одинаковой формы, но разного размера – женская гамета крупнее мужской)	представители Chytridiomycetes	многие водоросли (динофитовые, желтозелёные, бурые и зелёные водоросли)	–			–	
Оогамия (слияние крупной неподвижной женской гаметы (яйцеклетки) с мелким подвижным сперматозоидом или антерозоидом; или с неподвижным спермием)	представители Oomycetes (например, Phytophthora infestans) и др.	у желтозелёных, диатомовых, бурых, зелёных; красных и харовых	у всех			у всех	

Таким образом, у многих живых организмов происходит чередование гаплоидной и диплоидной стадий, при котором гаметный способ размножения сменяется споровым. У многоклеточных животных гаплоидная стадия сохраняется только на стадии гамет, споры отсутствуют, а чередование поколений связано с особенностями размножения разных поколений. Продолжительность онтогенеза у разных организмов неодинакова и видоспецифична, а ограничение продолжительности жизни путем естественной смерти, даже при наличии благоприятных внешних условий представляет собой важный результат эволюции, позволяющий осуществлять смену поколений.

На протяжении длительного периода первые эукариотические организмы были гаплоидными и размножались бесполом путём (митозом), после чего последовал переход на гаплодиплоидную форму жизненного цикла, что привело к возникновению мейоза и полового способа размножения. Переключение с гаплоидной фазы жизненного цикла эукариот на диплоидную способствовало переходу на спорофитную фазу жизненного цикла, возникновению многоклеточных организмов, процессу дифференцировки клеток и формированию в последующие периоды огромного разнообразия форм живых организмов.

Удлинение диплофазы в ходе эволюции объясняется преимуществами диплоидного состояния перед гаплоидным. Благодаря гетерозиготности в диплоидном состоянии «укрываются» от естественного отбора, сохраняются и накапливаются разнообразные (рецессивные) аллели. Это повышает объём генетической информации в генофондах популяций и видов, приводит к образованию резерва наследственной изменчивости, от которого зависят эволюционные перспективы и увеличение продолжительности онтогенеза, усложнение процессов соматической дифференцировки.

Сложные жизненные циклы (сопровождаются закономерным чередованием разных поколений или сложными преобразованиями организма во время развития) в основном встречаются у эволюционно более древних групп организмов, так как взаимоотношения гаплоидной и диплоидной фаз (поколений) является основной стратегией адаптации к постоянно изменяющимся условиям окружающей среды, что позволяет переживать неблагоприятные периоды в активном состоянии. Поэтому чередование поколений выступает как приспособление организмов к размножению в условиях, когда разные фазы имеют ограниченные возможности для воспроизведения потомства.

Важнейшим итогом эволюционной стандартизации жизненных циклов организмов является приобретение относительной внутренней стабильности и меньшей зависимости от условий окружающей среды. При

этом жизненные циклы жёстко не фиксированы, и генотип определяет пределы, в которых возможна индивидуальная изменчивость: любой цикл пластичен и зависит от взаимодействия наследственности организма со средой его обитания.

Вопросы для самоконтроля

1. Охарактеризуйте особенности онтогенеза одноклеточных прокариот и эукариот.
2. Объясните, в чём биологическое значение чередования половых и бесполовых стадий в онтогенезе живых организмов?
3. Охарактеризуйте парасексуальный процесс у грибов.
4. В чём заключаются особенности онтогенеза у многоклеточных позвоночных животных?
5. У каких организмов появляется впервые дифференцировка клеток и с чем она связана?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Ботаника: Водоросли и грибы : учебник для студ. высш. учеб. заведений: в 4 т. / Г. А. Белякова, Ю. Т. Дьяков, К. Л. Тарасов. – М. : Издательский центр «Академия», 2006. – Т. 1. – 320 с.
2. Ботаника: курс альгологии и микологии : учебник / под ред. Ю. Т. Дьякова. – М. : Изд-во МГУ, 2007. – 559 с.
3. Ботаника: низшие растения (Thallobionta, Atracheophyta, Cryptogamen): учебно-методическое пособие / Т. В. Догадина, О. С. Горбулин, А. Б. Громова. – Х. : ХНУ имени В. Н. Каразина, 2014. – 150 с.
4. Водоросли : справочник / С. П. Вассер, Н. В. Кондратьева, Н. П. Масюк и др. – К. : Наук. думка, 1989. – 608 с.
5. Гилберт С. Биология развития : в 2 т. / С. Гилберт. – М. : Мир, 1993. – Т. 1. – 228 с.
6. Довгаль И. В. Онтогенез одноклеточных эукариот и возникновение Metazoa / И. В. Довгаль. – М. : ИБР РАН. – 2009. – С. 16–17.
7. Дьяков Ю. Т. Введение в генетику грибов / Ю. Т. Дьяков, А. В. Шнырева, А. Ю. Сергеева. – М. : Академия, 2005. – 304 с.
8. Крюков В. И. Генетика. Цитологические основы наследственности. Размножение клеток и организмов: учебное пособие для вузов / В. И. Крюков. – Орёл : Изд-во Орёл ГАУ, 2006. – 157 с.
9. Масюк Н. П. Эволюционные аспекты морфологии эукариотических водорослей / Н. П. Масюк. – К. : Наукова думка, 1993. – 231 с.
10. Общая и экспериментальная альгология / Т. В. Догадина, В. П. Комаристая, О. С. Горбулин и др. – Х. : ХНУ имени В. Н. Каразина, 2013. – 148 с.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

11. Исаева В. В. Разнообразие онтогенезов у животных с бесполом размножением и пластичность раннего развития / В. В. Исаева // Онтогенез. – 2010. – Т. 41, № 5. – С. 95–177.
12. Яблоков А. В. Эволюционное учение [Электронный ресурс] / А. В. Яблоков, А. Г. Юсуфов. – М.: Высшая шк., 2006. – 310 с. – Режим доступа: <http://evolution.powernet.ru/library/micro/05.html>
13. Angert E. R. Alternatives to binary fission in bacteria / E. R. Angert // Nature Reviews Microbiology. – 2005. – Vol. 3. – P. 214–224.
14. Flores E. Gene transfer to Cyanobacteria in the laboratory and in nature / E. Flores, A.-M. Muro-Pastor, J. C. Meeks / In The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics and Evolution // Horizon Scientific Press, 2008. – 408 p.
15. Larsson J. Streptomyces sporulation. Genes and regulators involved in bacterial cell differentiation / J. Larsson. – Thesis Lund University. – Media-Tryck, Lund, Sweden, 2010. – 67 p.
16. Leliaert F. Phylogeny and molecular evolution of the green algae [Electronic resource] / F. Leliaert, D. R. Smith, H. Moreau et al. // Critical reviews in plant science. – 2012. – Vol. 31. – P. 1–46. – Way of access: <http://frederikleliaert.files.wordpress.com>
17. Litcanu G. Singular perturbation analysis of cAMP signalling in *Dictyostelium discoideum* aggregates / G. Litcanu, J. J. L. Velazquez / J. Math. Biol. – 2006. – Vol. 52. – P. 682–718.
18. McKenney P. T. The *Bacillus subtilis* endospore: assembly and functions of the multilayered coat / P. T. McKenney, A. Driks, P. Eichenberger // Nature Reviews Microbiology. – 2013. – Vol. 11. – P. 33–44.
19. Michod R. E. Evolution in individuality during the transition from unicellular to multicellular life / R. E. Michod // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2007. – Vol. 104, Suppl. 1. – P. 8613–8618.
20. Russel E. The biology classics: Paramecium – reproduction [Electronic resource] E. Russel. – Way of access: <https://www.ebiomedia.com/the-biology-classics-paramecium-reproduction.html>
21. Sogin M. L. Evolution of the protists and protistan parasites from the perspective of molecular systematic [Electronic resource] / M. L. Sogin, J. D. Silberman // Int. J. Parasitol. – 1998. – Vol. 28. – P. 11–20. – Way of access: <https://www.eplantscience.com/developmentalbiology.net>
22. Veiga H. Bacterial cell division: what it takes to divide a prokaryotic cell. Bacterial cell division / H. Veiga, M. G. Pinho // BQ – 2012. – № 9 – P. 18–26.

ЛЕКЦИЯ 3

ГЛАВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ ОНТОГЕНЕЗА

ПЛАН

1. Соотношение филогенеза и онтогенеза.
2. Филэмбриогенезы.
3. Направления эволюции онтогенеза: целостность, автономизация, эмбрионизация и фетализация.

Изучив особенности онтогенеза организмов, необходимо рассмотреть также и основные эволюционные направления онтогенеза, показать неразрывную связь исторического развития вида – *филогенеза* – с индивидуальным развитием организма – *онтогенезом*. Эволюционные изменения ведут не только к появлению новых и вымиранию существующих видов, прогрессу и регрессу, но и к перестройке онтогенетического развития индивидуума.

1. Соотношение филогенеза и онтогенеза

Онтогенез возникает в процессе эволюции одновременно с возникновением первых дискретных живых существ с возникновением кода наследственной информации. Без возникновения онтогенеза эволюция жизни остановилась бы на примитивной стадии, однородного сгустка.

Филогенез – историческое развитие как отдельных видов и систематических групп организмов, так и органического мира в целом немыслим без изменения отдельных особей в онтогенезе, поскольку филогенез – это цепь генетически связанных между собой онтогенезов или циклов индивидуального развития особей. Онтогенез – не только результат филогенеза, но и его необходимая предпосылка. В ходе онтогенеза осуществляются перестройки, ведущие к преобразованию филогенеза.

Взаимоотношения онтогенеза и филогенеза (индивидуального и исторического развития), установленные в 1864 году немецким зоологом Ф. Мюллером и в 1866 году немецким биологом Э. Геккелем лежат в основе *биогенетического закона*: онтогенез всякого организма есть краткое и сжатое повторение (рекапитуляция) филогенеза данного вида.

Принцип рекапитуляции: онтогенез представляет собой повторение морфологических признаков (закладка у зародышей наземных позвоночных жаберных щелей, хорды), биохимической организации и физиологии (выделение ранними зародышами человека аммиака, позже – мочевины,

затем аллантаина, а на заключительных этапах эмбриогенеза – мочевой кислоты) предковых форм. У растений рекапитуляция проявляется более слабо из-за ограниченности эмбриональных дифференцировок. Например, семядоли у двудольных растений дают начало цельным листьям, а затем появляются так называемые настоящие листья.

Факты, отражающие биогенетический закон:

1. Повторение в онтогенезе общего пути филогенеза от простого к сложному. Например, в филогенезе и онтогенезе развитие начинается с одной клетки и завершается сложнодифференцированными многоклеточными организмами.

2. Повторение в онтогенезе потомков особенностей индивидуального развития предков. Например, у всех позвоночных, включая высших их представителей, закладывается хорда, которая далее замещается позвоночником. В ходе эмбрионального развития птиц и млекопитающих, включая человека, появляются жаберные щели в глотке и соответствующие им перегородки, что объясняется их происхождением от рыбообразных предков, дышащих жабрами. Строение сердца зародыша человека в ранний период формирования напоминает строение этого органа у рыб: оно с одним предсердием и одним желудочком.

3. Наличие эмбриональных структур, соответствующих существовавшим органам предкового вида, не являются полностью бесполезными, а имеют определённые функции у зародышей. Например, скрытые в дёснах зубы у зародышей беззубых китов (*Balaenoptera physalus*) не прорезаются, а рассасываются ещё в период эмбрионального развития и необходимы для дальнейшей закладки и формирования в ротовой полости взрослых животных специального цедильного аппарата, состоящего из длинного ряда роговых пластин – китового уса. Но это не опровергает того положения, что такие эмбриональные зубы соответствуют зубам предков, у которых они служили для захвата пищи.

4. В процессе онтогенеза организм может приобретать признаки, которых не имели его предки (или, наоборот, утрачивать). Вследствие этого биогенетический закон дополнил А. Н. Северцов: онтогенез не только повторяет филогенез, но и является источником новых направлений филогенеза (за счёт возникновения мутаций). А. Н. Северцов и И. И. Шмальгаузен показали, что нет ни одной стадии в развитии, на которой зародыш бы полностью повторял строение какого-либо предка по филогенезу.

В биогенетическом законе содержится целостная теория эволюции онтогенеза, подразумевающая два положения: а) рекапитуляция только у зародышей признаков их взрослых общих предков (*палингенез*), тогда как взрослая стадия организмов непрерывно совершенствуется, и в ряду

поколений упрощается путь реализации ранее приобретённых признаков, приводя к преобразованию онтогенетической «записи» каждого такого приобретения; б) промежуточные стадии имеют собственную адаптивную эволюцию, искажающую онтогенетическую «запись» преобразований взрослой стадии (*ценогенез* – полезные приспособления, которые развиваются на определённых стадиях онтогенеза, но позже исчезают).

Слабыми местами этой теории остаются в основном два момента: а) представление о неодинаковом механизме эволюции взрослой и промежуточных стадий (первая изменяется надставками, вторые – непосредственно) и б) отнесение к ценогенезам изменений, не обязательно связанных с приспособлениями ранних стадий (гетерохронии, гетеротопии и их последствия).

Эволюция онтогенеза отражает приобретение фенотипом новых адаптивных реакций и последующую стабилизационную перестройку их механизмов, захватывающую все более ранние стадии в онтогенетических циклах потомков. На взрослых организмах в норме у Metazoa лежит функция полового размножения, создающего генотипическое разнообразие, т. е. материал эволюционного процесса. От их успеха в борьбе за существование зависит, какого сорта гаметы послужат для создания следующего поколения популяции и с каким фенотипическим материалом будет в дальнейшем иметь дело отбор, который, по-сути, вместе с фенотипами элиминирует и целые онтогенезы. Это значит, что какие бы удачные адаптации не создавались в промежуточных фазах развития, они не дадут организму преимуществ, если в итоге онтогенез не обеспечивает воспроизведения нужного фенотипа. Взрослая стадия «диктует» условия всему онтогенезу.

Современные взгляды на роль онтогенеза в эволюции объединяют две несовместимые концепции. С одной стороны, описывают онтогенез как регулируемый процесс, устойчиво направленный на достижение конечного результата и стремящийся исправить все промежуточные отклонения на пути к нему. Эти отклонения не должны непосредственно влиять на облик взрослого организма, изменения которого зависят от формообразовательных нарушений, связанных с концом развития, где саморегуляция уже не эффективна. И в то же самое время господствует убеждение, что изменения ранних стадий могут служить материалом для глубокого преобразования онтогенеза, вызывая его отклонение (*девиацию*) в новом направлении и радикально меняя облик взрослой формы. Обе концепции существуют давно. Первооснову для первой концепции создали два эмпирических обобщения Бэра (1828 г.). Одно из них касается уменьшения эмбриональной изменчивости в последовательных стадиях (свидетельствует о присутствии высшего целенаправленного контроля,

регулирующего развитие). Второе составляет известный *закон Бэра, или закон зародышевого сходства* – зародыши различных позвоночных животных на ранних этапах эмбрионального развития сходны (рис. 8).

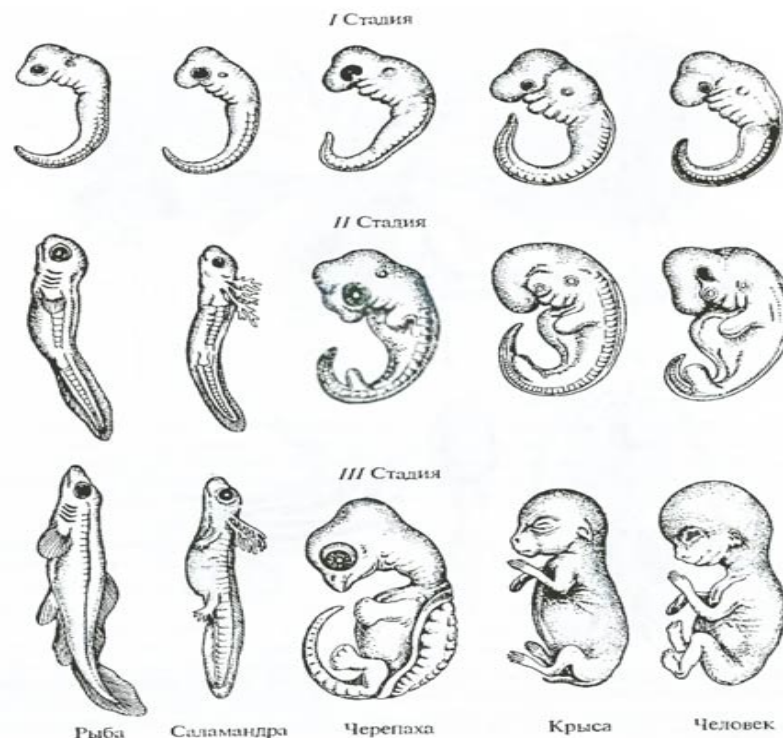


Рис. 8. Сходство зародышей живых организмов [11]

В рамках эволюционной теории это явление зародышевого сходства означает, что естественный отбор способствует изменению постэмбриональных стадий онтогенеза организмов. В дальнейшем эти представления были проверены экспериментально и показали высокую способность морфогенетических процессов к саморегуляции (например, хорда у позвоночных служит индуктором формообразования развивающегося зародыша), в результате чего взрослый организм оказывается более устойчивым, чем способы его формирования, как в онтогенезе, так и при регенерации – «правило Ру» или принцип «эквивинальности». Данное правило приводит к заключению о том, что эволюция взрослых организмов не может происходить путем изменения их ранних стадий.

В ходе эволюции организмов усложнение их организации сопровождается усложнением взаимоотношений между ними и средой. При этом прогрессивное эволюционное развитие идёт за счёт ароморфозов, идиоадаптаций и дегенераций.

Ароморфоз – морфофизиологический прогресс, приспособительное изменение общего значения, повышающее уровень организации и жизнеспособность особей, популяций, видов. Ароморфоз означает усложнение

организации, которое сохраняется при дальнейшей эволюции и приводит к возникновению новых крупных систематических групп. Например, ароморфозы у растений: возникновение автотрофного питания, появление семенного размножения, образование цветков, защита семян околоплодником, двойное оплодотворение и другие. Возникновение у животных скелета, свободных конечностей, теплокровности, четырехкамерного сердца, живорождение потомства и вскармливание его молоком – также крупнейшие ароморфозы, так как они дали возможность освоить животным новые среды обитания и источники питания. Ароморфозами также являются возникновение многоклеточной организации живых организмов, появление раздельнополости и гетерогамии, возникновение билатеральной организации. В результате ароморфозов в процессе эволюции могут возникать новые типы животных, отделы растений, их классы.

Идиоадаптация – приспособление организмов к конкретной среде обитания; эволюция, направленная в сторону специализации и адаптации к конкретной экологической обстановке; изменения, которые имеют частный характер. Идиоадаптации представлены хорошо выраженными морфологическими приспособлениями и приводят к повышению многообразия жизненных форм. Например, у обитающих в песчаных пустынях ящериц круглоголовок развиты маскирующая окраска тела, высокорасположенные ноздри и гребневидные чешуйки на пальцах. Появление ротовых аппаратов различных типов строения у насекомых, позволяющие использовать разные источники питания.

Дегенерация – морфофизиологический регресс, приспособительные изменения, связанные с упрощением организации живых организмов, в том числе утратой органов и их систем. Нередко дегенерации подвергаются лишь отдельные органы, причём однородные причины вызывают дегенерацию однородных органов у животных самых различных классов. Например, при переходе от активного образа жизни к более пассивному. Так, малая подвижность и пассивный тип питания двустворчатых моллюсков (класс Bivalvia), неподвижно-прикреплённые формы червей и ракообразных, привели к исчезновению органов движения, органов чувств. Жизнь в постоянной темноте сопровождается дегенерацией глаз у самых различных животных: подземных (кроты семейства Talpidae), пещерных (протеи семейства Proteidae), глубоководных (двустворчатые моллюски класса Bivalvia). Отсутствие кишечника и других органов пищеварения у солитёра (*Taenia solium*), также явление дегенеративное, которое возникло как приспособление к паразитизму и к питанию веществами, почти не нуждающимися в пищеварительной обработке. У некоторых растений переход к паразитизму сопровождается снижением активности аппарата фотосинтеза, редукцией листьев до чешуи, преобразованием корней в при-

соски. Но одновременно развивается сложная система приспособлений к хозяину (химическая сигнализация при поиске растения-хозяина, химический механизм внедрения в ткани хозяина и другие). Следовательно, дегенерации подвергаются органы, которые перестают служить, став излишними или будучи заменены более совершенными.

Генетической основой всех эволюционных изменений, ведущих к биологическому прогрессу и регрессу организации живых организмов, являются мутации. Если мутации не устраняются естественным отбором, они довольно быстро распространяются в популяции.

2. Филэмбриогенезы

А. Н. Северцов (1910, 1922 гг.), основываясь на *правиле Э. Менерета* (*время закладки органа у двух форм может оказаться одинаковым, несмотря на различия в степени его филетического развития*), показал, что следствием поздних изменений органов является искажение рекапитуляции даже в пределах отдельных органогенезов. Сдвигаясь на другие стадии, закладки органов и они сами изменяются по различным параметрам (размеры, гистологическая структура, форма, соотношения с другими частями). А. Н. Северцовым было продемонстрировано распространение этих изменений в направлении ранних стадий филогенеза как для ускорения, так и для замедления развития организма. Был сделан также вывод о наибольшей полноте рекапитуляции в самых поздних стадиях развития, ещё не претерпевающих вторичные изменения. А также было показано, что ускорение (эмбрионизация) развития взрослых черт связано не с позднейшими надставками (как гласит обычная интерпретация биогенетического закона), а с их собственным дефинитивным существованием (предположения Ф. Мюллера) и является признаком прогрессивной эволюции взрослого организма.

Северцов, 1922, 1939 гг.; Лебедин, 1936 г.; Franz, 1927 г.; de Beer, 1930 г.; Remane, 1956 г.; Rensch, 1960 г. считали, что эволюция онтогенеза может идти разными путями, и выдвигали различные классификации этих путей, или модусов. Так, А. Н. Северцовым были выдвинуты представления о *филэмбриогенезах* – отклонениях от онтогенеза, характерного для предков, проявляющихся в эмбриогенезе, но имеющих адаптивное значение у взрослых форм.

В зависимости от того, на каких этапах эмбриогенеза и морфогенеза конкретных структур возникают изменения развития, имеющие значение филэмбриогенезов, различают три их типа, различающихся по времени их появления в морфогенезе и роли в эволюционном процессе.

Архаллакисы – эволюционные изменения, обнаруживающиеся на уровне закладки органов и выражающиеся в нарушении их расчленения,

ранних дифференцировок или в появлении принципиально новых закладок. Примером архаллаксиса является развитие волос у млекопитающих, закладка которых наступает на очень ранних стадиях развития и с самого начала отличается от закладок других придатков кожи позвоночных. По типу архаллаксиса возникают хорда у примитивных бесчерепных, хрящевой позвоночник у хрящевых рыб, развиваются нефроны вторичной почки у пресмыкающихся, увеличение числа позвонков у змей, лучей плавников у некоторых видов рыб, числа зубов, рудименты; у растений превращение двудольного зародыша в однодольный. Возникновение архаллаксисов связано с мутациями генов под влиянием изменения условий среды, отвечающих за развитие какого-то признака или органа, на ранних стадиях эмбрионального развития в начале морфогенетических процессов, что приводит к изменениям в строении органа или гибели организма.

Основными механизмами архаллаксисов являются:

- изменение начальной массы зачатков органов;
- изменение начальных процессов дифференцировки зачатков органов;
- гетеротопии (изменения места закладки органа или смещение его относительно главных осей тела). Так, сердце птиц и млекопитающих смещается в грудную полость;
- гетерохронии (изменение времени закладки органов). Например, закладка сердца у высших позвоночных происходит раньше, чем у низших животных.

Девииции – эволюционные изменения, возникающие в процессе морфогенеза органа. Примером может являться развитие сердца в онтогенезе млекопитающих, у которых оно рекапитулирует стадию трубки, двухкамерное и трёхкамерное строение, но стадия формирования неполной перегородки, характерная для пресмыкающихся, вытесняется развитием перегородки, построенной и расположенной иначе, и характерной только для млекопитающих. У растений к девиациям относят: видоизменения побегов (клубни и луковицы), корней и нижней части стебля (корнеплоды: морковь, свекла, репа, брюква), что связано с выполнением дополнительной функции накопления запасных питательных веществ. В начале онтогенеза происходит экспрессия генов, отвечающих за развитие органов, характерное для многих организмов, а в середине морфогенеза происходит экспрессия генов, претерпевших мутацию, закрепившуюся отбором. Это приводит к частичной рекапитуляции и появлению нового признака.

Анаболии – эволюционные изменения, возникающие на поздних стадиях развития после того, как орган практически завершил своё

развитие; выражаются в добавлении дополнительных стадий, изменяющих конечный результат. К анаболиям относят такие явления, как приобретение специфической формы тела камбалой (*Pleuronectes platessa*) лишь после того, как из икринки выходит малёк. У морского петуха (*Chelidonichthys lastoviza*) грудные плавники вначале развиваются, как и у других близких видов рыб, затем происходит анаболия – передние три луча разрастаются и отрастают как пальцеобразные придатки, не вызывая существенных изменений в других частях тела. А также к анаболиям относят появление изгибов позвоночника, сращение швов в мозговом черепе, окончательное перераспределение кровеносных сосудов в организме млекопитающих и человека. Анаболии встречаются и у растений. Так, например, полагают, что крыловидные выросты у семян многих растений образовались как анаболии, связанные с возобновлением роста тканей завязи или чашелистиков на конечных стадиях формирования семян. У растений анаболиями также является разнообразие формы листьев. Возможно, что плодовые тела у грибов появляются в эволюции как анаболии развития для лучшего распространения спор. В развитии анаболии первоначально экспрессируются гены, отвечающие за рекапитуляцию ранних стадий развития органа, а в конце эмбриогенеза включаются гены, в которых произошла мутация, что дополняет формообразовательный процесс дальнейшей дифференцировкой (проявление биогенетического закона).

Различные органы у одного и того же организма могут развиваться и изменяться всеми тремя путями и могут приводить как к возникновению нового признака, так и к утрате старого признака. С генетической точки зрения в основе всех типов филэмбриогенезов лежат мутации. Если мутации затрагивают структурные гены, определяющие развитие сложных органов, то отклонение в их развитии пойдет по типу архаллаксиса. Если мутации затрагивают гены, ответственные за морфогенез на средних и поздних стадиях, происходят изменения типа девиации и анаболии.

В одной и той же филогенетической группе эволюция в разных системах органов может происходить за счёт разных филэмбриогенезов. Так, в онтогенезе млекопитающих прослеживаются все этапы развития осевого скелета в подтипе позвоночных (анаболии), в развитии сердца рекапитулируют лишь ранние стадии (девиация), а в развитии придатков кожи рекапитуляции вообще отсутствуют (архаллаксис).

В эволюции онтогенеза наиболее часто встречаются анаболии как филэмбриогенезы, незначительно изменяющие целостный процесс развития. Девиации как нарушения морфогенетического процесса в эмбриогенезе часто отменяются естественным отбором и встречаются значительно

реже. Наиболее редко в эволюции проявляются архаллакисы в связи с тем, что они изменяют весь ход эмбриогенеза, и если такие изменения затрагивают зачатки жизненно важных органов или органов, имеющих значение эмбриональных организационных центров, то часто они оказываются несовместимыми с жизнью.

Таким образом, в основе всех эволюционных изменений лежат мутации определённых генов или их рекомбинация, которые приводят к возникновению либо утрате морфологических, биохимических и других признаков на разных стадиях онтогенеза организмов под влиянием изменения условий среды.

3. Направления эволюции онтогенеза: целостность, автономизация, эмбрионизация и фетализация

Целостность онтогенеза основана на взаимодействии онтогенетических дифференцировок, которые взаимосвязаны друг с другом. Образование гастрюлы у позвоночных приводит к формированию экто- и энтодермы, их активное взаимодействие дает начало нервной трубке и хорде, которые являются индукторами при закладке других органов. Нарушение одного из звеньев дифференцировки приводит к нарушениям онтогенеза. Естественный отбор способствует развитию фенотипов с более целостным онтогенезом – большей взаимозависимостью этапов развития. В целом эволюция жизни сопровождалась постепенным усилением целостности и устойчивости онтогенеза. Если организм в ходе онтогенеза сохраняет свою целостность, то и в процессе эволюции он также должен сохраняться как единое согласованное целое. Для углубления представлений о целостности онтогенеза в индивидуальном и историческом развитии значимо рассмотрение роли корреляций и координаций в формообразовательных процессах (учение И. И. Шмальгаузена).

Корреляции – наличие функциональной и структурной взаимосвязи между частями развивающегося организма, при котором изменения в одних органах приводят к изменениям в других, то есть в процессе онтогенеза они сменяют друг друга.

Геномные корреляции обеспечивают целостность генетической конституции (генотипа) развивающегося организма. Ведущими механизмами геномных корреляций являются генный баланс генотипа, сцепленное наследование генов, различные формы взаимодействий генов, а также плейотропность. Например, генные системы, регулирующие процессы пролиферации и избирательной гибели клеток на различных этапах органогенеза, приводят к аллометрическому росту некоторых органов. Так, большинство болотных птиц семейства Ciconiiformes имеют удлиненный клюв, шею и задние конечности. У жирафа (*Giraffa camelopardalis*)

в результате аллометрического роста органов возникает длинная шея и ноги. Примером геномных корреляций могут быть отличающиеся друг от друга пропорции тела у мужчин и женщин. Некоторые геномные корреляции обуславливают сцепленное развитие многих признаков или множественное действие одного гена, не имеющих приспособительного значения. Например, развитие короткого клюва у голубей (турман) сопровождается развитием оперения на ногах; сочетание безрогости и короткошерстности у коз; мутация *vestigial-strap* у *D. melanogaster* сопровождается одновременной редукцией крыльев и жужжалец.

Морфогенетические корреляции возникают при взаимодействии клеток или между органами, пространственно связанными между собой. Они основаны либо на эмбриональной индукции, либо на общности эмбриональных закладок органов. Проявляются на ранних стадиях онтогенеза, когда отсутствуют функциональные связи между формирующимися органами. Например, зачаток хорды обуславливает развитие нервной трубки на спинной стороне зародыша и дифференцировку скелетогенной ткани внутренних частей сомита (склеротома) в хрящ или кость, а глазной бокал (вырост переднего мозга) – формирование хрусталика при морфогенезе глаза. Примером развития ряда структур из одного общего зачатка является формирование у млекопитающих и человека из закладок 1-й и 2-й пар жаберных дуг первичных челюстей, подъязычной кости, части хрящей гортани, шиловидного отростка черепа и трех слуховых косточек.

Эргонтические корреляции – зависимость между функциями органов – играют важную роль в развитии полноценного организма, дополняя формообразовательные процессы, основанные на геномных и морфогенетических корреляциях. При эргонтических корреляциях устанавливаются функциональные связи между уже сформированными (дефинитивными) структурами. Например: нормальное развитие нервных центров и нервов положительно сказывается на развитии периферических органов, а удаление периферических органов вызывают инволюцию или увеличение размеров соответствующих нервных центров.

У растений выделяют обычно генетические и физиологические корреляции. Корреляции в онтогенезе растений, как и у животных, регулируют процессы морфогенеза, способствуют стабилизации развития.

Наличие разных форм корреляций, действующих взаимосвязанно, имеет большое значение для обеспечения онтогенетических дифференцировок и нормального протекания формообразовательных процессов в онтогенезе. Мутации, приводящие к задержке развития индуктора или преждевременному развитию реагирующей ткани, нарушая сложившиеся морфогенетические корреляции, отражаются на ходе дифференцировки органа.

В ходе эволюции полезные корреляции сохраняются отбором и в процессе филогенеза возникают устойчивые взаимоотношения между органами или частями организма – *координации*.

Топографические координации – сопряженное изменение между структурами, связанными друг с другом пространственно (соотношение размеров и расположения органов в полости тела). Для всех живых организмов характерен своеобразный общий план строения, выражающийся в определённом взаимном расположении основных органов и систем. Например, у всех представителей типа Chordata на спинной стороне тела расположена нервная трубка, под ней лежат хорда, пищеварительная трубка и брюшной кровеносный сосуд, а по бокам тела – производные мезодермы.

Динамические координации – изменение в процессе филогенеза функционально связанных между собой органов и их систем (связи между рецепторами и соответствующими центрами нервной системы). Определяются наследственным изменением эргонических корреляций, регулирующих соотношения этих органов в онтогенезе. Так, динамические координации между органами кровеносной и дыхательной системами (животные, дышащие легкими, имеют трёх- или четырехкамерное сердце и два круга кровообращения); степень развитости нервных центров всегда соответствует интенсивности функционирования иннервируемых органов.

Биологические координации – эволюционные изменения в органах, не связанных между собой ни по функциям, ни по месту положения. При этом функции органов определяются условиями внешней среды (питание, способ передвижения, водная или воздушная среда), в которой обитает данный организм. Так, у большинства эндопаразитов сильно развиты половая система и органы прикрепления к телу хозяина, но при этом недоразвиты органы чувств и опорно-двигательный аппарат; млекопитающие, обитающие на деревьях, обычно имеют стереоскопическое зрение и сильно развитый мозжечок. Биологические координации разнообразны, и с изменением условий среды одни из них разрушаются, а другие складываются заново.

Все типы координаций характеризуются высокой степенью устойчивости. Так, хордовые животные сохранили неизменное строение до настоящего времени, на протяжении более 500 млн лет. Феномен паразитизма возник значительно раньше появления хордовых, и поэтому комплекс адаптаций к паразитическому образу жизни является еще более древним.

Высокая устойчивость филогенетических координаций обеспечивается целостностью онтогенеза каждой конкретной особи. Между филогенетическими координациями и онтогенетическими корреляциями имеется связь. Корреляции существуют и воспроизводятся в поколениях

благодаря тому, что на протяжении предшествующей эволюции органов они преобразовывались скоординированно. С другой стороны, филогенетические координатии в последующей эволюции организмов будут реализовываться благодаря онтогенетическим корреляциям в ходе онтогенеза конкретных особей. *Таким образом, в виде соотношения корреляций и координатий проявляется единство онто- и филогенеза как целостного процесса исторического развития живого.*

Кроме филогенетических координатий, подкрепляемых в каждом поколении онтогенетическими корреляциями, целостность развивающегося организма отражают и такие соотносительные преобразования органов, как *субституция, гетеробатмия, параллелизмы*.

Субституция – эволюционное преобразование, при котором один орган замещается другим, выполняющим обычно ту же функцию с большей интенсивностью. Так, хорда замещается позвоночником и превращается в рудиментарное образование, а первичные хрящевые челюсти позвоночных заменяются вторичными костными. Выделяют гомотопную (новый орган возникает на месте старого) и гетеротопную (замещающий орган находится на новом месте) субституции.

Гетеробатмия – это эволюционное преобразование, при котором в одной группе организмов обнаруживается разный уровень специализации разных частей одного и того органа, разных органов одной и той же системы или разных частей организма. Пример: головной мозг человека за короткое время антропогенеза претерпел морфофизиологические изменения, в то время как пищеварительная система соответствует уровню развития других приматов. Гетеробатмия внутри одной и той же системы органов в разных филогенетических группах обуславливает феномен компенсации функций, благодаря которому одни и те же экологические задачи решаются разными способами. Так, грызуны и копытные млекопитающие питаются одинаковой растительной пищей, но у первых наиболее выраженные адаптации к растительности проявляются в строении зубов и морфофизиологии слюнных желез, в то время как вторые, на фоне примитивной зубной системы, имеют высокоспециализированные желудок и кишечник.

Параллелизмы – независимое развитие сходных признаков в эволюции близкородственных групп организмов:

1) параллельное развитие признаков аномальных для человека и нормальных для животных (например, двурога матка – норма для хищников и парнокопытных);

2) параллельное развитие генетически детерминированных аномальных признаков для человека и животных (например, расщелина верхней губы у человека и мыши, циклопия, ахондроплазия);

3) параллельное развитие заболеваний ненаследственного (приобретенные в онтогенезе; хотя, возможно, и вследствие мутаций, соматических) характера у животных и человека (например, рак щитовидной железы у человека и собак, нефробластома у человека и поросят).

Автономизация онтогенеза – процесс приобретения всё большей устойчивости онтогенеза от случайных изменений среды, самонастраивающийся онтогенез.

В процессе эволюции онтогенез постепенно «освобождается» от влияния случайных и кратковременных изменений среды и становится всё более автономным. Повышение устойчивости индивидуального развития делает его независимым от разрушающих влияний внешней среды. Это связано с возникновением в ходе эволюции разнообразных внутренних регуляторных механизмов.

Автономизация онтогенеза проявляется в сохранении постоянной температуры тела у теплокровных животных при широких колебаниях температуры окружающего воздуха. А также обеспечивает поддержание физиологического гомеостаза на всех стадиях и этапах онтогенеза теплокровных животных. Автономизация присутствует и в развитии растений. У птицемлечника (*Ornithogalum woronowii*) и безвременника (*Cotchicum laetum*) закладка зачатков цветов в естественных условиях обычно наступает при температуре почвы 20–25°C. Однако у них этот процесс может протекать и при значительных двусторонних отклонениях температуры от оптимума.

Результаты автономизации онтогенеза закрепляются отбором и в последующем выступают как развитие по наследственной программе. Внешняя среда вносит свои коррективы в индивидуальное развитие, но их характер всегда определяется наследственной программой, её нормой реакции. Известно, что водный лютик (*Ranunculus delphinifolius*) и стрелолист (*Sagittaria sagittifo*) формируют различные листья под водой и в воздушной среде. Ранее Ж. Ламарк использовал этот пример для доказательства изначально адекватного изменения организмов под влиянием условий внешней среды. Однако впоследствии выяснилось, что фактором, определяющим развитие «подводных» листьев, является не водная среда, а затемнение: «пусковым механизмом», определяющим реализацию того или иного варианта в пределах наследственно обусловленной нормы реакций, была закреплена интенсивность света (погруженные в воду листья всегда менее освещены). Поэтому если *R. delphinifolius* будет развиваться на суше в полутемном помещении, то листья у него будут такими же, какими бывают под водой.

Часто для реализации в онтогенезе наследственной программы требуется наличие лишь минимума внешних условий. Так, развитие зародыша

у птиц происходит даже при наличии температуры ниже оптимума. Образование хлорофилла у растений идёт даже при коротких световых вспышках. У многих растений индукция цветения наступает при действии минимума благоприятных условий (фотопериод, низкие температуры, минеральное питание).

Индивидуальное развитие, зависимое от минимума интенсивности внешнего фактора, дающего толчок к разворачиванию формообразования, называется *авторегуляторным развитием*.

При авторегуляторном развитии роль большинства изменений внешних условий сводится к «пуску» внутренних механизмов морфогенеза. Это происходит в тех случаях, когда отбор эволюционно-длительное время направлен на установление связи развития организма с частыми колебаниями физических условий среды. С появлением авторегуляции устойчивость онтогенеза в целом возрастает, и он может протекать даже при относительно неблагоприятных условиях. Примером может служить процесс развития лёгочных альвеол у позвоночных (подтип Vertebrata). У аксолотля альвеолы развиваются после растяжения лёгочных мешочков воздухом, после начала дыхания воздухом. У личинок лягушек до начала воздушного дыхания имеет место первичная фрагментация ткани лёгкого на альвеолы. У более приспособленных к наземным условиям жаб до периода воздушного дыхания альвеолярная структура развивается ещё сильнее, чем у лягушек. У рептилий и млекопитающих лёгочные структуры формируются на более ранних стадиях эмбриогенеза задолго до их функционирования.

Существуют принципиальные различия в онтогенетическом развитии организмов. Например: онтогенез членистоногих (тип Arthropoda), моллюсков (тип Mollusca), кольчатых червей (тип Annelida) идёт по детерминированному типу, при этом судьба каждой клетки, начиная с ранних бластомеров, жёстко предопределена структурными генами. Регуляторный онтогенез у хордовых (тип Chordata) такого предопределения не имеет и развитие на каждом этапе регулируется небольшим числом регуляторных генов. Лабильность отдельно взятого звена в цепи сложных процессов онтогенеза не приводит к преобразованию или заметному нарушению деятельности всей системы в целом. Так, при нарушении каких-либо процессов на всех стадиях онтогенеза срабатывают альтернативные пути, ведущие к устранению отрицательных последствий, в этом заключается значение регуляции в онтогенезе.

Таким образом, в процессе эволюции регуляторные механизмы онтогенеза меняются и совершенствуются. На высших ступенях эволюционной лестницы онтогенез достигает максимальной устойчивости и это является важным приспособлением к нивелировке влияний случайных

и кратковременных изменений факторов среды. Однако не исключена возможность возникновения в онтогенезе изменений, способных перестроить наследственную программу, являясь основой перестройки филогенетического развития.

Эмбрионизация онтогенеза – возникновение в процессе эволюции способности к прохождению значительной части стадий зародышевого развития под защитой материнского тела или специальных оболочек.

Эмбрионизация онтогенеза приводит к усилению роли внутренней среды в развитии зародыша и к независимости его от внешней среды. При усилении эмбрионизации отбор идет на уменьшение числа яиц и зародышей и повышение выживаемости зародышей. Полная эмбрионизация имеет место у пресмыкающихся и птиц в связи с переходом их к наземному существованию. Особое изменение эмбрионального периода произошло у плацентарных млекопитающих (табл. 7).

Таблица 7

**Изменения, связанные с эмбрионизацией
онтогенеза организмов**

Признаки эмбрионизации	Животные	Растения
Защита зародыша	Формирование яйцевых оболочек, снабжение яиц запасами пищи, замена мелких яиц крупными.	Формирование семенной кожуры, снабжение вегетативного зачатка и зародыша питанием, замена мелких семян крупными.
Забота о потомстве	Насиживание яиц, вынашивание детенышей, строительство гнезд, передача индивидуального опыта потомству и т. д.	Защита семени завязью, развитие вегетативного зачатка в материнском организме.
Упрощение циклов развития	Переход от развития с метаморфозом к прямому развитию, неотения.	Ускорение жизненного цикла, неотения.
Усиление роли внутренней среды	Возникновение плацентарности, амниона, аллантоиса, живорождения.	Развитие зиготы в зародышевом мешке.

Фетализация – способ эволюционных изменений организмов, характеризующийся замедлением темпов онтогенеза отдельных органов или их систем и, в результате этого, сохранением у взрослого организма эмбрионального состояния соответствующих признаков.

Например, сохранение эмбриональной скелетной ткани (хряща) в скелете земноводных, хрящевых рыб и круглоротых; преобладание мозговой коробки над челюстным отделом в голове человека. Фетализация может затрагивать кроме морфологических, физиологических и поведенческие особенности организмов. Так, для домашних животных характерно сохранение во взрослом состоянии определённой инфантильности поведения или «фетализированного поведения». Благодаря этому одомашненные виды признают «авторитет» человека.

В некоторых группах организмов можно выделить *адультизацию* – возникновение дефинитивных черт на ранних стадиях онтогенеза. Примером такого явления может служить опережающее формирование к моменту родов ушной кости и всей слуховой системы по сравнению с остальными органами чувств у ластоногих.

Признаки ранних стадий могут переходить во взрослое состояние лишь за счёт фетализации – постепенного выпадения дефинитивных стадий в ряду поколений – представляющей эволюцию взрослой стадии. Таким образом фетализация позволяет избавиться от специализированных особенностей взрослой формы, оказавшихся невыгодными для организма при изменении внешней среды.

Следовательно, одним из важнейших результатов эволюции онтогенеза является усиление эмбрионизации и автономизации, которые привели к большей защите и интенсификации процессов размножения, стабилизации развития и возникновению сложных механизмов регуляции онтогенеза у более высокоорганизованных организмов.

Вопросы для самоконтроля

1. Как Вы считаете, за счёт чего поддерживается целостность онтогенеза организмов?
2. Охарактеризуйте основные законы онтогенеза.
3. Какие типы филэмбриогенезов Вы знаете? В чём состоит их биологическое значение?
4. Каковы современные представления биогенетического закона?
5. Каковы основные направления эволюции онтогенеза животных и растений?
6. Что такое эмбрионизация и в чём состоит её биологическое значение?
7. Приведите примеры корреляций и координаций. Как они обеспечивают целостность онтогенеза?
8. Дайте характеристику автономизации онтогенеза.
9. Охарактеризуйте процесс фетализации онтогенеза.
10. Какие изменения связаны с эмбрионизацией онтогенеза организмов?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Белоусов Л. В. Основы общей эмбриологии / Л. В. Белоусов. – М. : Изд-во Московского государственного университета, 2005. – 368 с.
2. Биология размножения и развития: курс лекций / сост. О. А. Абросимова; под ред. В. Ю. Горбуновой. – Уфа: Издательство БГПУ, 2006. – 140 с.
3. Довгаль И. В. Эволюционные перестройки онтогенеза и возникновение многоклеточности / И. В. Довгаль // Известия РАН Серия биологическая. – 2010. – № 2. – С. 159–166.
4. Дондуа А. К. Биология развития: в 2 т. : Начала сравнительной эмбриологии / А. К. Дондуа. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 1. – 295 с.
5. Голиченков В. А. Эмбриология / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. – М. : «Академия», 2004. – 224 с.
6. Иванова-Казас О. М. Эволюционная эмбриология животных / О. М. Иванова-Казас. – СПб. : Наука, 1995. – 565 с.
7. Чепурнова Л. В. Биология индивидуального развития / Л. В. Чепурнова. – Кишинёв СЕР USM, 2009. – 99 с.
8. Ярыгин В. Н. Биология / В. Н. Ярыгин, В. И. Васильева, И. Н. Волков и др. – М. : Высшая школа, 2003. – Кн. 1. – 432 с.
9. Ярыгин В. Н. Биология / В. Н. Ярыгин, В. И. Васильева, И. Н. Волков и др. – М. : Высшая школа, 2003. – Кн. 2. – 334 с.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

10. Газарян К. Г. Биология индивидуального развития животных / К. Г. Газарян, Л. В. Белоусов. – М. : Высшая школа, 1983. – 288 с.
11. Яблоков А. В. Эволюционное учение [Электронный ресурс] / А. В. Яблоков, А. Г. Юсуфов. – М. : Высшая школа, 2006. – 310 с. – Режим доступа : <http://www.alleng.ru/d/bio/bio031.htm>
12. Desnitski A. G. Cellular mechanisms of evolution of ontogenesis in *Volvox* / A. G. Desnitski // Arch. Protistenkd. – 1992. – Vol. 141. – P. 171–178.
13. Gilbert S. The position of the problem of ontogenesis / S. Gilbert // PARRHESIA. – 2009. – № 7. – P. 4–16.
14. Soren L. Phylogenesis, ontogenesis and evolution / L. Soren // Boll. Zool. – 1992. – Vol. – 1992. – P. 161–168.

ЛЕКЦИЯ 4

КЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ОНТОГЕНЕЗЕ ОРГАНИЗМОВ

ПЛАН

1. Характеристика дозародышевого и эмбрионального периодов онтогенеза.
2. Клеточные процессы и взаимодействия в эмбриогенезе: пролиферация, сгущение, миграция, адгезия, сортировка, избирательная гибель.

В связи с важностью эмбрионизации в процессе эволюции онтогенеза необходимым является охарактеризовать клеточные механизмы, сигнальные пути, регулирующие онтогенез в дозародышевый, эмбриональный и последующие периоды онтогенеза.

1. Характеристика дозародышевого и эмбрионального периодов онтогенеза

Дозародышевый или *предзиготный период* – период образования и созревания половых клеток родителей – *гаметогенез*. В предзиготный период развития в яйцеклетке накапливается рибосомальная и информационная РНК, участки цитоплазмы приобретают различия по химическому составу, образуется ряд структур, яйцеклетка (яйцо) приобретает полярность: анимальный (наличие редуционных телец) и вегетативный полюса.

У кишечнополостных (например, *Hydra* и других) нет постоянных семенников и яичников. Их половые клетки могут возникать из интерстициальных клеток, а также из зимогенных клеток гастродермиса. У полипа *Clava squamata* все половые клетки концентрируются в гонофорах. Если отрезать зону гонофора «с гроздьями» половых клеток под гипостомом, то при регенерации нового гипостома со щупальцами восстанавливается весь половой аппарат за счёт присутствующих в теле полипа интерстициальных клеток. Женские половые клетки у актинии *Bunodactis stella* образуются заново в каждый период половой активности непосредственно из эпителиальных клеток гастродермиса (септ). При этом в оогенезе отсутствует стадия оогониальных делений, а зародыши и молодые животные не содержат клеток, которые можно было бы считать половыми. У некоторых червей (класса Turbellaria, Polychaeta, Olygochaeta) возможна регенерация гонад из участков тела, в которых отсутствуют половые элементы.

Так, половые клетки обособляются от соматических в разные сроки эмбрионального периода связано с развитием половых желез у разных видов животных. Зачаток половых желез у большинства животных возникает вместе с перитонеальными стенками целомических мешков. У животных с ранним обособлением первичных половых клеток зачаток половых желез образуется ещё до возникновения мезодермы. При этом перитонеальные клетки, покрывая слоем половые клетки, также принимают участие в развитии половой железы, являясь источником образования фолликулярных клеток. Поэтому у аскарид (семейства *Ascarididae*), сагитт (*Sagitta*), типа щетинкочелюстных (*Chaetognatha*), циклопа семейства веслоногих рачков (*Cyclopidae*), некоторых насекомых обособление полового зачатка происходит в ранний эмбриональный период. А у всех позвоночных и большинства беспозвоночных животных половой зачаток развивается на более поздних стадиях эмбрионального периода.

Кроме того, обособление половых клеток от соматических у разных групп организмов также происходит по-разному. У позвоночных животных *первичные гоноциты* являются единственными предшественниками зрелых половых клеток или гамет. У низкоорганизованных многоклеточных животных клетки-предшественники гамет представлены тотипотентными резервными стволовыми клетками (*археоциты* у губок). Гоноциты после обособления от соматических клеток мигрируют к месту закладки гонад. Выделяют два способа миграции гоноцитов: 1) миграционный путь проходит по вентральной стороне зародыша, когда обособление гоноцитов связано с энтодермой; 2) миграция происходит через миотомы в боковую пластинку, а затем в зачаток гонады, при обособлении половых клеток в недифференцированной энтомезодерме.

На примере рыб изучена *пассивная и активная миграция гоноцитов*. Пассивное перемещение гоноцитов происходит в результате морфогенетических движений зародышевых пластов, в составе которых эти клетки находятся. Так, Г. М. Персов обнаруживал экстрарегиональную локализацию гоноцитов рыб – в составе клеток почечных канальцев – куда они попадают в период гастрюляции. При активной миграции гоноциты часто приобретают амeboидную форму.

У млекопитающих первичные половые клетки обособляются в эмбриогенезе относительно поздно (гаструла). Они имеют внегонадное происхождение и являются потомками тотипотентных эмбриональных стволовых клеток. Половой зачаток, содержащий первичные половые клетки – *гонобласт* – образуется бластомерами, имеющими в цитоплазме зародышевую или половую плазму. Из зародышевых структур они перемещаются в стенку желточного мешка. В определённом участке энтодермы желточного мешка, вблизи места отхождения аллантоиса первич-

ные половые клетки концентрируются перед тем, как начать движение в половые железы. Миграция гонцитов млекопитающих происходит, в основном, по интерстициальному типу, через мезенхиму различных внезародышевых и зародышевых образований путем контактного ориентирования. Тонковолокнистый слой на поверхности гонцитов специфически взаимодействует с макромолекулами межклеточного матрикса (с фибронектином, ламинином, коллагеном IV типа), которые, в свою очередь, взаимодействуют с белками клеточных оболочек (интегринами), определяющими маршруты движения клеток в эмбриогенезе (например, такой функцией обладает фибронектин). Предположительно, определённая роль в миграциях гонцитов принадлежит хемотаксису. При этом молекулы-аттрактанты, образуемые клетками половых валиков, определяют направление движения гонцитов. В ткани закладок гонциты из кровотока попадают путём *diapedеза*, то есть через сосудистую стенку без нарушения её целостности. Гонциты достигают закладок гонад и «обосновываются» там (осуществляют *хоуминг*), между клетками целомического эпителия. Гонциты, не достигнувшие половых желез, погибают путём апоптоза.

Таким образом, обособление линии клеток зародышевого пути у животных происходит уже на начальных этапах эмбриогенеза, однако до сих пор до конца не изучена природа факторов, детерминирующих «судьбу» половых клеток. Предполагается, что морфогенетические детерминанты представлены специфическими рибонуклеопротеидами; в роли детерминант могут выступать также и белки, которые накапливаются на вегетативном полюсе цитоплазмы (зародышевой плазмы) клеток. Однако некоторые исследователи не согласны с тем, что зародышевая плазма детерминирует развитие ядер половых клеток, а полагают, что она «защищает» их от вступления на путь соматической дифференцировки.

В сравнении с линиями соматических клеток (эпителиальные, нервные, мышечные) гаметы характеризуются рядом отличий. Важнейшее из них – гаплоидный набор хромосом в ядрах, что обеспечивает воспроизведение в зиготе типичного для организмов данного вида диплоидного набора хромосом. Кроме того, гаметы зачастую отличаются необычным для других клеток значением *ядерно-цитоплазматического отношения*. Так, например, у яйцеклеток большинства классов животных оно снижено благодаря увеличенному объёму цитоплазмы, в которой размещён питательный материал (желток) для развития зародыша. У сперматозоидов, наоборот, благодаря малому количеству цитоплазмы ядерно-цитоплазматическое отношение высокое. Это соответствует главной функциональной задаче мужской гаметы – транспортировке наследственного материала к яйцеклетке.

По ряду признаков женские и мужские гаметы отличаются друг от друга, что связано с различными функциями яйцеклетки и сперматозоида в процессе размножения. Яйцеклетки имеют оболочки, которые выполняют защитную функцию, обеспечивают требуемый уровень обмена веществ, препятствуют проникновению в яйцеклетку более одного сперматозоида, у плацентарных животных способствуют внедрению (имплантации) зародыша в стенку матки, поддерживают форму зародыша.

Для многих животных характерна *моноспермия*, а полиспермные зародыши погибают. А. С. Гинзбург (1967 г.) в экспериментальных условиях показал полиспермное оплодотворение у осетровых рыб семейства *Acipenseridae*. При этом он наблюдал одновременное проникновение через разные микропилярные каналы нескольких (до 4-х) сперматозоидов. Ядра проникших сперматозоидов соединяются с женским пронуклеосом. При первом делении дробления в полиспермных яйцах возникают многополюсные митозы, и анимальная область яйца разделяется одновременно на 3, 4 и большее число бластомеров. При выращивании 200 зародышей, развивавшихся из полиспермных яиц осетра *Acipenser sturio* и севрюги *Acipenser stellatus*, было установлено патологическое развитие. Однако для некоторых насекомых (Insecta) и паукообразных (Arachnida), брюхоногих моллюсков (Gastropoda), акулообразных (Elasmobranchii) и химеровых (Chimaeridae) рыб, хвостатых амфибий (Caudata), рептилий (Reptilia) и птиц (Aves) полиспермия является нормальным явлением. *Полиспермия* наблюдается как в яйцеклетках, оболочки которых легко преодолеваются сперматозоидами, так и в яйцеклетках с оболочками, не проницаемыми для сперматозоидов и снабженными микропилярными каналами (например, у насекомых). *Моноспермия* обнаруживается у животных, яйцеклетки которых проницаемы для сперматозоидов в любой точке её поверхности, например у иглокожих (Echinodermata), млекопитающих (Mammalia) и других.

Для яйцеклетки характерна *плазматическая сегрегация*. После оплодотворения (например, у асцидий класса Urochordata уже через 5 мин) в ещё не дробящемся яйце происходит закономерное перераспределение цитоплазмы. В дальнейшем цитоплазма разного состава также закономерно распределяется по клеткам тканей разных зачатков. По-видимому, на ранних стадиях способность бластомеров развиваться в определенном направлении зависит от наследования ими веществ, концентрирующихся в разных участках цитоплазмы яйцеклетки.

Созревание гамет (ооцитов и сперматоцитов) отличается от процесса дифференцировки соматических клеток, прежде всего, высокими требованиями к наличию сохранной ДНК. Гаметогенез сопровождается своеобразным «омоложением» созревающих клеток (особенно сперматогенез).

Однако в половых железах происходит жёсткая селекция клеток. В семенниках созревание гамет контролируют сустентоциты (клетки Сертоли), в яичниках – клетки фолликулярного эпителия. В ходе оогенеза на каждый зрелый ооцит приходится три клетки, погибающие путём апоптоза (*полярные тельца*). С возрастом ресурсы предшественников половых клеток с сохранным генотипом истощаются и гаметогенез прекращается.

Особенности оплодотворения, сходные для всех животных

1. Контакт сперматозоида с яйцеклеткой одного и того же вида и их взаимное узнавание. Дистантные взаимодействия (видоспецифическое привлечение сперматозоидов – хемотаксис, реотаксис).

2. Регуляция проникновения сперматозоида в яйцеклетку (только один сперматозоид должен оплодотворить яйцеклетку). В процессе эволюции животные выработали различные способы защиты от полиспермии. Так, у морских ежей класса Echinoidea и амфибий *Xenopus* существует два механизма: быстрый блок полиспермии (путём деполяризации мембраны яйцеклетки после прикрепления к ней сперматозоида) и медленный блок полиспермии (экзоцитозом кортикальных гранул, образованием гиалинового слоя, увеличением поверхности мембраны яйцеклетки). У млекопитающих незначительное число сперматозоидов способно достигнуть до претерпевающей овуляцию яйцеклетки, поэтому у млекопитающих не происходит быстрой деполяризации плазматической мембраны. Но ферменты, высвобождающиеся при кортикальной реакции, у млекопитающих изменяют структуру прозрачной оболочки яйцеклетки, обеспечивая медленный блок полиспермии. Данный процесс сопровождается изменением свойств рецепторов прозрачной оболочки, с которыми связываются сперматозоиды – *реакция прозрачной оболочки*. Предполагают, что кортикальные гранулы в яйцеклетках млекопитающих содержат фермент, который отщепляет остатки сахара на *zona pellucida* 3. Это способствует отделению прикрепившихся к *zona pellucida* (прозрачной оболочке) сперматозоидов и предотвращению прикрепления к ней новых сперматозоидов.

3. Объединение генетического материала сперматозоида и яйцеклетки (исключение составляют типы апомиксиса: партеногенез, гиногенез, андрогенез, гетерогония).

4. Сперматозоид запускает программу развития, заложенную в яйцеклетке. Связывание сперматозоида с поверхностью яйцеклетки индуцирует повышение её метаболической активности, синтез ДНК и последующее дробление.

Яйцеклетку можно активировать и искусственно, с помощью неспецифических физических и химических воздействий. Например, для

яйцеклетки лягушки эффективным стимулом может быть укол иглой, для яйцеклетки мыши присутствие в среде 7 % этанола.

У млекопитающих различают первичные, вторичные и третичные эффекты активации. Первичный эффект основан на вытеснении Ca^{2+} из плазматической мембраны яйцеклетки. Вторичный эффект: резкое и кратковременное повышение концентрации Ca^{2+} в цитоплазме, которое распространяется от места внедрения сперматозоида по всей яйцеклетке в виде кольцевой волны. Одновременно происходит экзоцитоз новых кортикальных гранул. Вслед за пиком концентрации ионов Ca^{2+} более медленно повышается pH. Третичный эффект: инактивация цитостатического фактора – белка CSF (cytostatic factor), который задерживает ооциты на стадии метафазы II мейоза и поддерживает такое состояние ооцитов до активации.

У большинства животных сперматозоид является сигнальным лигандом, который связывается с белковым рецептором плазматической мембраны, запуская активацию яйцеклетки (рис. 9). Активированный рецептор активирует G-белок (ГТФ-связывающий мембранный белок, который опосредует передачу в клетку внеклеточного сигнала). G-белок, в свою очередь, активирует фермент фосфоинозитид-специфическую фосфолипазу C.

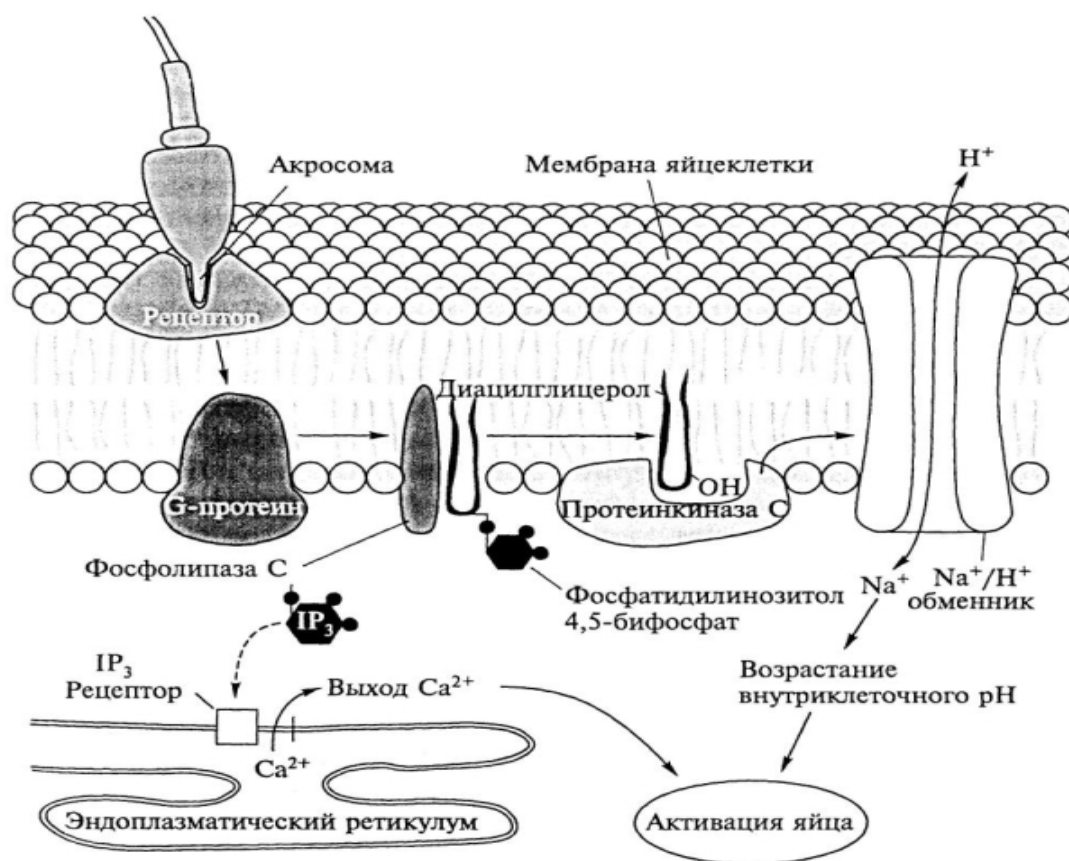


Рис. 9. Реакция активации яйцеклетки [19]

В мембране яйцеклетки содержится инозитолфосфолипиды – субстрат для фосфолипазы С. Гидролиз инозитолфосфолипидов – составляющая механизма передачи сигнала. Активированная фосфолипаза С менее чем за секунду гидролизует фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат (PIP₂) на диацилглицерол (DAG) и на инозитолфосфат (IP₃). IP₃ инициирует высвобождение Ca²⁺ из внутриклеточного «депо» в цитоплазму, связываясь с рецепторами на цитоплазматической поверхности Са-запасающих органелл (ЭПС; митохондрии). Выход Ca²⁺ приводит к экзоцитозу кортикальных гранул, обеспечивая блок полиспермии. Другим Са-зависимым эффектом является активация НАД⁺-киназы, что приводит к стимуляции биосинтеза липидов и, как следствие, к образованию компонентов цитоплазматической мембраны, необходимых в процессе дробления.

На поздних стадиях активации яйцеклетки важную роль выполняет протеинкиназа С, которая активируется DAG. Протеинкиназа С активирует (в основном посредством фосфорилирования) Na⁺/H⁺-ионообменник плазматической мембраны яйцеклетки (мембранный транспортный белок, откачивающий ионы H⁺ из клетки). Это приводит к повышению уровня pH в яйцеклетке, усиливая синтез белков и ДНК, в том числе гистонов и циклинов за счёт того, что ранее запасённые в яйцеклетке молекулы мРНК становятся доступными для синтеза, активируются рибосомы, ускоряя трансляцию мРНК. Данные реакции активации яйцеклетки необходимы для её созревания, снятия блока мейоза.

Виды оплодотворения:

- наружное;
- внутреннее;
- кожное осеменение (пиявки – подкласс Hirudinea), при котором сперматозоиды во время спаривания прикрепляются к гиподерме тела на спинной стороне, затем проникают между клетками гиподермы в полость тела и в матку сквозь её стенки;
- у представителей семейства углозубов Hynobiidae, отряда хвостатые земноводные Caudata, рода *Salamandrella* самка откладывает икру в слизистом «мешке», на который самец кладёт сперматофор – капсулу со сперматозоидами, окруженную слизистой оболочкой. В месте соприкосновения оболочки растворяется и сперматозоиды, проникая в «мешок», оплодотворяют яйца. У тритонов рода *Onychodactylus* самец откладывает сперматофор, а самка захватывает его краями клоаки. В клоаке оболочка растворяется и сперматозоиды, проникая в нижние участки яйцеводов, оплодотворяют находящиеся там яйцеклетки. У некоторых саламандр, например у *Aneides lugubris*, самец, обвиваясь вокруг самки, прижимает отверстие своей клоаки к клоаке самки, выдавливая в неё сперматофор.

Сперматозоиды также используют представители других таксонов: членистоногие (тип *Arthropoda*), головоногие моллюски (класс *Cephalopoda*), некоторые группы брюхоногих моллюсков (класс *Gastropoda*) и кольчатых червей (тип *Annelida*) и другие. Механизмы, с помощью которых сперматозоид попадает в женские половые протоки, различаются в разных группах. У большинства членистоногих (*Arthropoda*) перенесение осуществляется с помощью конечностей. Сперматозоиды головоногих моллюсков (класс *Cephalopoda*) переносятся из мантийной полости самца в мантийную полость самки с помощью специализированного щупальца – гектокотилия;

- при *гермафродитизме* (когда у одного и того же индивидуума имеются и яичники и семенники) в редких случаях происходит самооплодотворение (например, у паразитических ленточных червей класса *Cestoda*). В большинстве случаев происходит оплодотворение одной особью другой (например, у дождевых червей семейства *Lumbricidae*). У некоторых гермафродитов развитие и функционирование семенников и яичников происходит в разное время, так что один и тот же индивидуум при копуляции оказывается то самцом, то самкой.

Следовательно, в дозародышевом периоде происходит подготовка половых клеток к оплодотворению и переход в следующий – эмбриональный – период онтогенеза.

Эмбриональный или *зародышевый период онтогенеза* начинается с момента оплодотворения и отличается выраженностью процессов преобразования зиготы в организм, способный к более или менее самостоятельному существованию. Его основными этапами являются дробление, гаструляция, первичный (нейруляция) и вторичный (частных органов, характерных для конкретного вида животных) органогенез.

Длительность эмбрионального периода у различных животных различна и зависит в основном от степени обеспечения развивающегося зародыша питательным материалом, а также от темпа развития. Так, у животных, которые откладывают яйца, с незначительным запасом желтка, эмбриональное развитие длится недолго. При этом для дальнейшего развития молодой особи необходимы многочисленные преобразования в постэмбриональном периоде. Тогда как у животных, обладающих крупными яйцами с большим количеством желтка и у живородящих животных, у которых питание развивающихся зародышей обеспечивается материнским организмом, эмбриональное развитие длится дольше. И эмбриональный период у них завершается в основном вылуплением или рождением зрелого детёныша, не требующего преобразований в постэмбриональном периоде.

У млекопитающих наблюдаются различные степени усложнения эмбрионального периода. Так, низшие млекопитающие Metatheri семейства Tachyglossidae и Ornithorhynchidae откладывают яйца, окружённые кожистой оболочкой, которые затем они вынашивают в сумке (ехидны *Tachyglossus aculeatus*) или насиживают (утконос *Ornithorhynchus anatinus*). Зародышевое развитие у них длится недолго. Сумчатые млекопитающие – живородящи, однако у них настоящая плацента не развивается, и питание зародыша не столь обеспечено, как у высших млекопитающих. У сумчатых млекопитающих Marsupialia (обыкновенный опоссум *Didelphis marsupialis*, сумчатая мышь *Planigale subtilissima*, большой серый кенгуру *Macropus giganteus*, коала *Phascolarctos cinereus* и другие) эмбриональный период развития очень короткий, детёныши рождаются незрелыми, беспомощными (слепыми, с плохо развитыми конечностями и т. д.), и долгое время донашиваются в сумке. У плацентарных млекопитающих Placentalia стенка аллантаиса связывается с серозной оболочкой и васкуляризирует её, а на хорионе развиваются многочисленные ворсинки, врастающие в слизистую оболочку матки и образующие вместе орган питания и дыхания зародыша – *плаценту*, которая у различных млекопитающих имеет различное строение. При таких более совершенных формах питания становится возможным более длительное эмбриональное развитие. В этом случае рождающийся детеныш имеет нередко относительно весьма крупные размеры и является иногда уже весьма развитым (копытные животные отряда Perissodactyla и Artiodactyla), хотя у млекопитающих всегда ещё в течение некоторого времени детёныш вскармливается молоком.

Эмбриональный период начинается с дробления зиготы. При этом для правильной организации микрофиламентов и для возникновения первой борозды дробления необходимы взаимодействия ядра и цитоплазмы после оплодотворения. В процессе дробления зигота многократно митотически делится, что приводит к образованию многочисленных клеток меньших размеров и округлой формы – *бластомеров*, и зародыш становится многоклеточным. Размеры бластомеров в ходе каждого деления уменьшаются. Возможно, это связано с изменением степени обводнения цитоплазмы, или расходуются клеточные включения.

Дробление – строго координированный процесс, находящийся под генетическим контролем. Дробление является результатом двух процессов – кариокинеза (митотическое деление ядра) и цитокинеза (деление клетки). При этом в ядре каждого бластомера сохраняется диплоидный набор хромосом, что необходимо для дальнейшего нормального развития организма. Деление цитоплазмы яйца при дроблении осуществляется путём выпадения пресинтетической фазы (G₁-периода интерфазы), а также постсинтетической, или G₂-периода, что характерно для всех животных

кроме млекопитающих. Дробление способствует снижению ядерно-цитоплазматического отношения. Так, перед оплодотворением в яйце морского ежа (класс Echinoidea) отношение объёма ядра к объёму цитоплазмы составляет 1:550, а к концу дробления, на стадии бластулы – 1:6. Изменение скорости, с которой происходит снижение объёма цитоплазмы по сравнению с объёмом ядра, у многих типов зародышей является решающим фактором, определяющим время активации некоторых генов.

Клетки при дроблении ещё малодифференцированы и сравнительно однородны. Факторы, регулирующие дробление, локализованы в цитоплазме: фактор, стимулирующий созревание (maturation promoting factor, MPF), цитостатический фактор (cytostatic factor, CSF) и ионы Ca^{2+} . Так, активность MPF в бластомерах лягушки на ранних стадиях дробления наивысшая в М-фазе и не выявляется в S-фазе. Действие MPF осуществляется путём изменения структуры ядерной оболочки. CSF стабилизирует фактор созревания, задерживая клетки в состоянии митоза, а ионы Ca^{2+} инактивируют цитостатический фактор, стимулируя переход к S-фазе за счёт инактивации MPF.

Особенности дробления у млекопитающих:

- наличие в клеточных циклах всех периодов (G_1 , S, G_2 и M);
- тип дробления – чередующийся (rotational): первое деление нормальное меридиальное, а при втором делении – один бластомер делится меридиально, а второй – экваториально;
- отсутствие синхронного периода дробления, в отличие от земноводных, у которых первые 12 делений синхронные. Из-за этого не происходит равномерного числа бластомеров и зародыши часто содержат нечётное число бластомеров.

У млекопитающих предреминация участков цитоплазмы яйцеклетки, по-видимому, отсутствует. Но последствия ооплазматической сегрегации проявляются, хотя не столь заметно, как у зародышей других видов животных.

Известно, что при дроблении возникает ассиметричность плазматической мембраны в месте проникновения сперматозоида (в любом месте яйцеклетки богато микроворсинками), после чего образуется конус оплодотворения, микроворсинки исчезают, а компоненты мембраны сперматозоида остаются, не диффундируя. Это отражается на нескольких делениях при дроблении. Первые два бластомера имеют одинаковый размер, но разную цитоплазму. Это приводит к тому, что во второе деление дробления один бластомер вступает на 20–60 минут раньше другого. Кроме того, синтез рибосомальной РНК в ядрышках первых бластомеров происходит в разное время и продолжительность S-периода

клеточного цикла также неодинакова. Мембранные антигены сперматозоида у потомков одного из двух бластомеров сохраняются в их плазматической мембране до трёхклеточной стадии. Экспериментально (микроинъекции коллоидных частиц золота) показано, что цитоплазма яйцеклетки между двумя бластомерами разделяется, не перемешиваясь. Предполагают, что первым в деление вступает тот бластомер, в плазматической мембране которого находятся антигены, а в цитоплазме – структурные компоненты хвоста сперматозоида.

В первые деления дробления (например, у *Mus musculus* – двухклеточная стадия) зародыш полностью зависит от ооплазматических запасов белков и мРНК. В конце двухбластомерной стадии в некоторых ядрах появляются ядрышки и активируются рибосомальные гены зародыша, которые необходимы для поддержания жизнедеятельности клеток. А ядра, находясь под влиянием цитоплазматических факторов яйцеклетки, выполняют функции органоидов, обеспечивая упорядоченность процессов дробления. После восьмиклеточной стадии (например, у млекопитающих) бластомеры формируют морулу за счёт процессов их компактизации (бластомеры максимально сближаются и площадь контакта между ними увеличивается) и поляризации (бластомеры приобретают полярность, которая выражается в наличии микроворсинок только на наружной части их мембран, не контактирующих с другими бластомерами и ассиметричное расположение внутриклеточных компонентов). *Компактизация является самым важным отличием дробления зародышей млекопитающих от других типов дробления.* После компактизации тесный контакт бластомеров стабилизируется межклеточными контактами.

Во время 6-го – 7-го делений морула преобразуется в *бластоцисту* – стадию, необходимую для имплантации (характерна для всех млекопитающих). При преобразовании морулы в бластоцисту происходит первый процесс дифференцировки. Большая часть потомков наружных клеток морулы становятся клетками трофобласта, или трофэктодермы, (необходимы для образования хориона, плаценты) (рис. 10). Потомки внутренних клеток (аполярных) образуют внутреннюю клеточную массу (необходимы для развития зародыша и вместе с трофэктодермой участвуют в формировании зародышевых оболочек).

Следовательно, морула представляет собой шаровидное скопление бластомеров, лишённое полости, а *бластоциста* – полое шаровидное образование, состоящее из трофэктодермы, полости (бластоцели) и скопления клеток внутренней клеточной массы на одном из полюсов внутренней стенки трофэктодермы.

Процесс образования полости – *бластоцели* – называется *кавитацией*. Триплоидные зародыши кавитируют раньше, чем диплоидные. У гапло-

идных партеногенетических зародышей компактизация и кавитация осуществляется при значительно большем количестве бластомеров, чем у диплоидов.

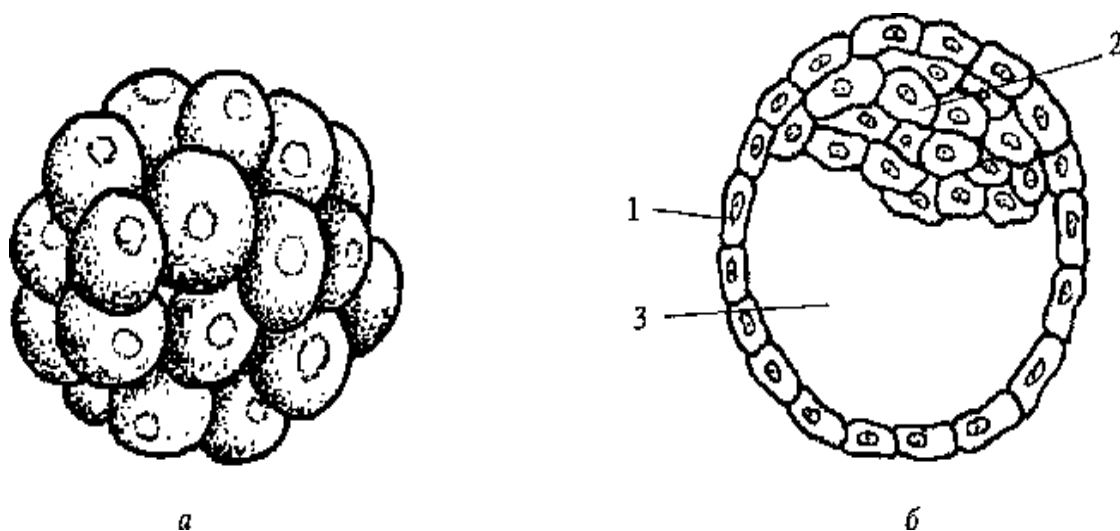


Рис. 10. Развитие плодного яйца млекопитающих. Стадии морулы (а) и бластоцисты (б): 1 – трофэктодерма; 2 – внутренняя клеточная масса; 3 – полость бластоцисты [19]

Функции бластоцели:

- даёт возможность клеткам при гастрюляции мигрировать внутрь зародыша;
- предотвращает взаимодействие между клетками, которые находятся выше и ниже её;
- создает отсек внутренней среды;
- клетки стенок бластоцели образуют между собой плотные контакты, обладающие избирательной проницаемостью для ионов.

На наружной (обращённой во внешнюю среду) мембране клеток расположены ионные каналы для Na^+ , Cl^- и других ионов, обеспечивающие их перенос «по» или «против» градиента концентрации. В результате Na^+ и Cl^- перекачиваются в бластоцель, где возникает их избыток, что создаёт в бластоцели повышенное осмотическое давление и обеспечивает перенос воды, увеличивая в ней тургорное давление. Это давление растягивает поверхность зародыша, что важно для его последующего развития. Избыток натрия в бластоцели регулирует скорость клеточных циклов и стимулирует экспрессию генов в клетках бластулы.

В регуляции доимплантационного развития млекопитающих можно выделить четыре составляющих. Во-первых, межклеточные взаимодействия, являющиеся одним из основных механизмов дифференцировки и поддержания дифференцированного состояния клеток; во-вторых,

ядерно-цитоплазматические взаимодействия; в-третьих, «ауторегуляторные» функции цитоплазмы, под которыми подразумеваются как посттранскрипционный и посттрансляционный контроль продуктов экспрессии генов, так и материнская регуляция; в-четвёртых, геномный импринтинг.

Гаструляция – интегрированный процесс миграции клеток и тканей, приводящий к резкому перераспределению клеток бластулы. Во время гаструляции клетки занимают новое положение и приобретают новое микроокружение. В этот период устанавливается план строения многослойного тела животного. Клетки, которые в будущем образуют энтодермальные и мезодермальные органы, попадают внутрь зародыша, тогда как клетки, из которых возникнут кожа и нервная система, распространяются по его поверхности. В период гаструляции формируются зародышевые листки. В этот период создаются условия для взаимодействия между ними. Движения гаструляции охватывают весь зародыш, и миграции клеток в одной его части должны быть очень точно координированы с происходящими одновременно движениями в другой.

Таким образом, в основе процессов дробления и гаструляции лежат клеточные взаимодействия, которые сохраняются и на последующих стадиях онтогенеза.

2. Клеточные процессы и взаимодействия в эмбриогенезе: пролиферация, сгущение, миграция, адгезия, ортировка, избирательная гибель

Деление клеток (размножение, пролиферация) играет важную роль в процессах онтогенеза. Во-первых, благодаря делению из зиготы – одноклеточной стадии развития, возникает многоклеточный организм. Во-вторых, пролиферация клеток, происходящая после стадии дробления, обеспечивает рост организма. В-третьих, избирательному размножению клеток принадлежит заметная роль в обеспечении морфогенетических процессов. В-четвёртых, в постнатальном периоде онтогенеза благодаря клеточному делению осуществляется обновление многих тканей (физиологическая или гомеостатическая регенерация), а также заживление ран, восстановление утраченных органов (репаративная регенерация).

Для успешной имплантации зародыша необходимо пороговое количество бластомеров внутренней клеточной массы бластоцисты. Так, формирование полноценной бластулы мыши (*Mus musculus*), т. е. образование бластоцеля – требует наличия не менее 22–25 бластомеров в моруле. Во время гаструляции и последующих стадий онтогенеза наблюдается избирательность пролиферации, при этом клетки активно делятся преимущественно в определённых областях развивающегося организма. В сфор-

мировавшемся организме некоторые клетки перестают делиться, а другие продолжают активное деление. Клетки некоторых органов взрослого организма в обычных условиях почти не делятся, но при наличии стимула в виде воздействия гормональных или внутритканевых факторов часть из них может вступить в деление. Особое значение играет неравномерность размножения клеток в ходе органогенеза и гистогенеза. Стимулами, побуждающими клетки к делению, являются факторы роста (рис. 11), гистогормоны, гормоны.

Однако фактор роста, активирующий митоз клеток одного типа, может действовать как ингибитор пролиферации клеток другого типа. Так, например, фактор роста эпидермиса (epidermal growth factor, EGF) может подавлять пролиферацию клеток кишечного эпителия крыс. Большинство факторов роста оказывает митогенное действие, связываясь с рецепторами мембраны клетки, что приводит к активации фермента, ассоциированного с этими рецепторами и запускающего сигналинг и каскад митогенактивирующих протеинкиназ, которые запускают экспрессию определённых генов (рис. 11). Например, гены, кодирующие группу белков – циклин-зависимых киназ (cyclin-dependent kinases, Cdk), *регулирующих* смену фаз клеточного цикла.

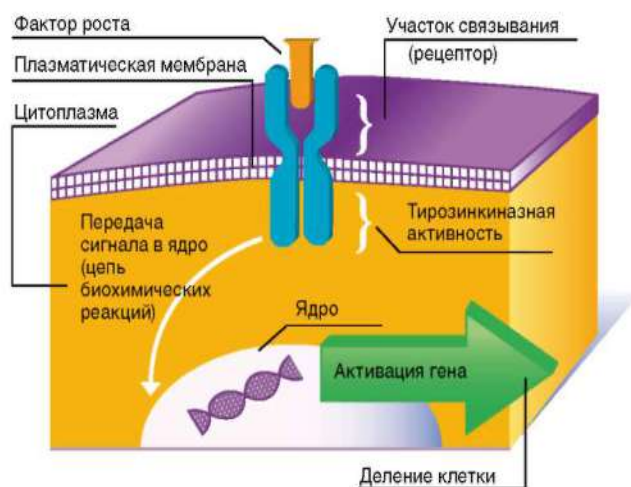


Рис. 11. Схема действия факторов роста, приводящая к делению клеток [2]

Наряду с факторами роста описан целый ряд полипептидных ингибиторов пролиферации клеток. Например, рост-ингибирующими факторами являются цитокины типа TGF- β (tumor growth factor), повреждения ДНК и другие внутриклеточные нарушения. Действие цитокинов основано на активации группы белков-ингибиторов Cdk семейства INK4a/ARF (Inhibitor of Kinase 4/Alternative Reading Frame): Ink4 (Cdk inhibitor protein) и Cip/Kip (Cdk interacting protein/Kinase inhibitory protein), что приводит к остановке клеточного цикла в чекпойнтах (checkpoints, сверочных

точках). В зависимости от типа рост-ингибирующего воздействия и молекул, вовлечённых в его распознавание, наблюдается остановка клеточного цикла в G1, S, G2 фазах или в митозе. Так, семейства Cip/Kip (p21WAF1/CIP1, p27KIP1 и p57KIP2) ингибируют различные комплексы Cdk2, ответственные за вход и продвижение по S фазе. В меньшей степени они подавляют активность комплексов циклин В/ Cdk2, ответственных за вход в митоз (рис. 12). С другой стороны, они не ингибируют, а даже активируют комплексы циклин D/Cdk4, оперирующие в ранней G1 фазе. Представители семейства Ink4 (p16INK4a, p15INK4b, p18INK4c, p19INK4d) непосредственно взаимодействуют с Cdk4. При этом, связывая Cdk4, находящиеся в составе активных комплексов с циклином D и белками Cip/Kip, они вытесняют белки Cip/Kip, направляя их на связывание с Cdk2. Поэтому повышение активности белков Ink4, в частности опухолевого супрессора p16Ink4a, вызывает как прямое ингибирование активности комплексов циклин D/Cdk4, так и не прямое блокирование комплексов циклин E/Cdk2 и циклин A/Cdk2.

Выход покоящейся клетки из фазы G₀ и вступление её в митотический цикл инициируется различными внешними стимулами, в первую очередь различными секретлируемыми цитокинами, принадлежащими к группе факторов роста. Кроме этого, для деления большинства типов нормальных клеток необходимо также и взаимодействие специфических рецепторов клетки – интегринов, с определёнными белками внеклеточного матрикса (фибронектином, коллагеном и другие). Связывание рецепторов с ростовыми факторами и белками внеклеточного матрикса – индуцирует аутофосфорилирование внутриклеточных доменов рецепторов и дальнейшее их взаимодействие со многими сигнальными белками. Следствием этого является стимуляция пересекающихся сигнальных путей и активация так называемых MAP (Mitogen Activated Protein) киназных каскадов. Конечные продукты этих каскадов – серин-треониновые киназы ERK1/2 (extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2), JNK (c-Jun N-terminal kinases) и p38 – транслоцируются из цитоплазмы в ядро, где они фосфорилируют множество субстратов, что, в конце концов, и приводит к активации циклин-зависимых киназ, инициирующих вход в S-фазу.

Регуляция пролиферации может осуществляться и другими способами, например, при помощи контактного торможения при установлении межклеточных контактов. Многие клетки способны делиться только будучи прикреплёнными к внешним (по отношению к ним) структурам. Например, для эпителиоцитов такой структурой является базальная мембрана, а для фибробластов – коллагеновые волокна межклеточного вещества. Если клетка устанавливает контакт не с внеклеточным матриксом, а с другими клетками, то при определенной плотности клеток наблюдается

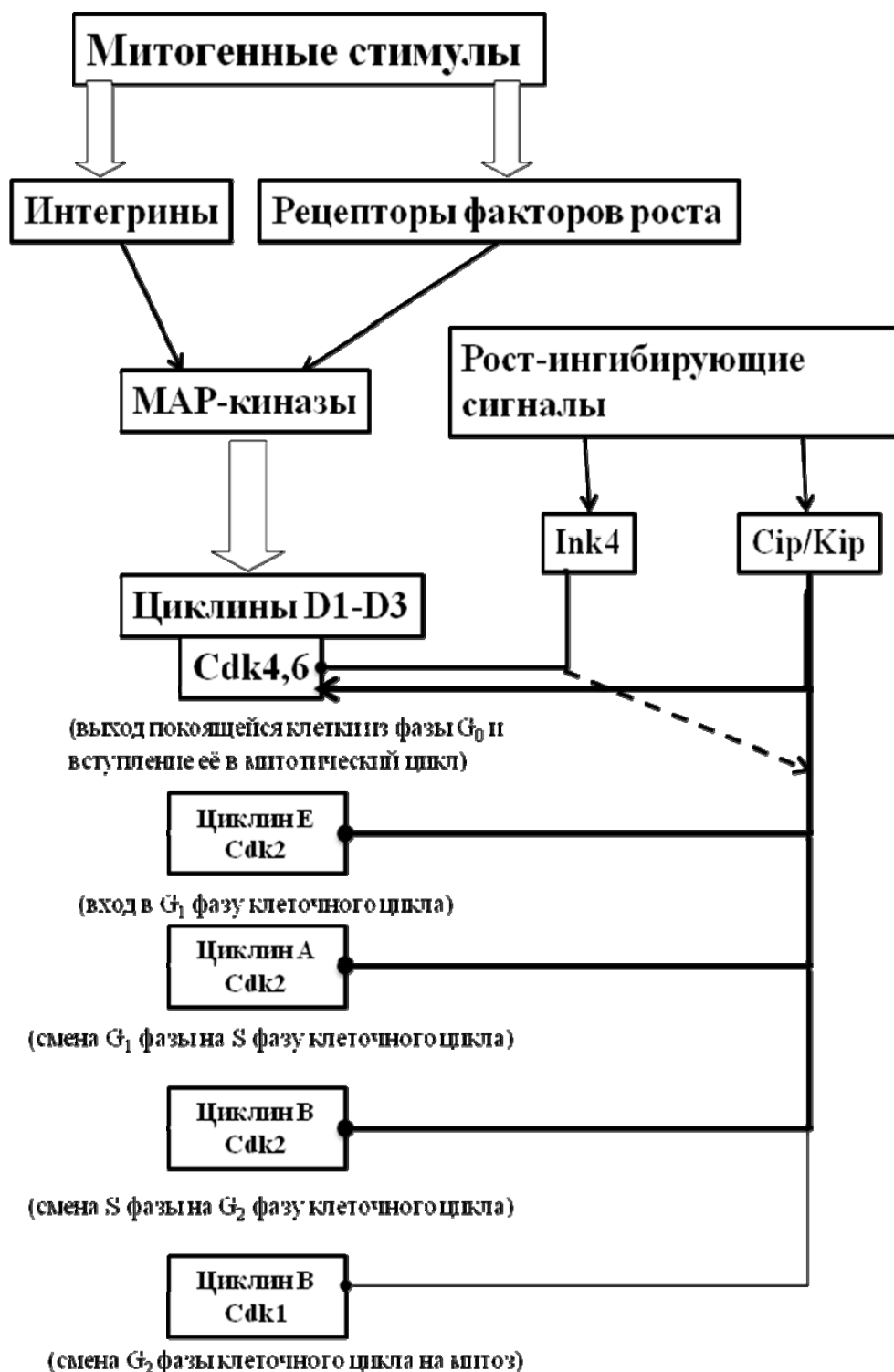


Рис. 12. Общие принципы регуляции клеточного цикла в нормальной клетке млекопитающих животных

прекращение делений – «контактное торможение». При регенерации клетки активно делятся лишь до достижения оптимального их количества, после чего пролиферация ингибируется. Считают, что делящимся клеткам свойственен *генетически запрограммированный лимит делений*, при приближении к которому в клетках наступают глубокие изменения, вызывающие клеточную гибель.

Таким образом, деление клеток – чрезвычайно важный процесс в онтогенетическом развитии целостного организма. Оно протекает с разной интенсивностью в разное время и в разных структурах организма, подчиняясь регулирующим влияниям на различных уровнях: генетическом, тканевом и других.

Миграция клеток имеет большое значение, начиная с процесса гастрюляции. Так, в процессе гастрюляции клетки мезенхимного типа мигрируют одиночно или группами, а эпителия – пластом. Клетки нервного гребня, мигрируя, образуют два потока: один – поверхностный, клетки которого включаются в эпидермис, где дифференцируются в пигментные клетки; второй поток мигрирует в брюшном направлении, образуя чувствительные спинномозговые ганглии, симпатические нервные узлы, парасимпатические ганглии. В ходе органогенеза этот механизм важен при формировании крупных пищеварительных желез, производных нервного гребня.

Не менее значима роль миграции клеток и в постэмбриональном развитии. Так, амeboидное движение макрофагов обеспечивает реализацию реакций иммунитета; перемещение сперматозоидов необходимо для оплодотворения; миграции клеток эпидермиса приводят к закрытию раневой поверхности при повреждениях кожи и т. д.

Миграция клеток осуществляется на основе дистантных и контактных взаимодействий. К дистантным относится, например, перемещение по градиенту концентрации – *хемотаксис*. Основой миграции клеток многоклеточных животных как в эмбриогенезе, так и в постнатальном развитии являются контактные взаимодействия, прежде всего, между межклеточным матриксом и мигрирующими клетками.

Компоненты межклеточного матрикса (коллаген, фибронектин, ламинин, гликозаминогликаны и другие вещества) оказывают стимулирующий эффект на перемещение клеток. Известно, например, что коллаген II типа, откладывающийся преимущественно на выпуклых поверхностях нейральных пластов, задерживает на себе клетки нервного гребня и, повышая их концентрацию, способствует дифференцировке.

Взаимосвязь мигрирующих клеток с компонентами межклеточного матрикса осуществляется особым видом клеточных рецепторов – белками-интегринами (рис. 13). Точки прикрепления псевдоподий к внеклеточному матриксу называют фокальными контактами (макромолекулярные динамические комплексы, включающие до 100 различных белков) в них сосредоточены интегрины. Зафиксировавшись на субстрате, клетка за счет сокращения микрофиламентов и микротрубочек цитоскелета подтягивается в точку прикрепления. Затем она теряет фокальные контакты, формирует новые псевдоподии, на которых снова устанавливаются фокальные контакты и т. д.

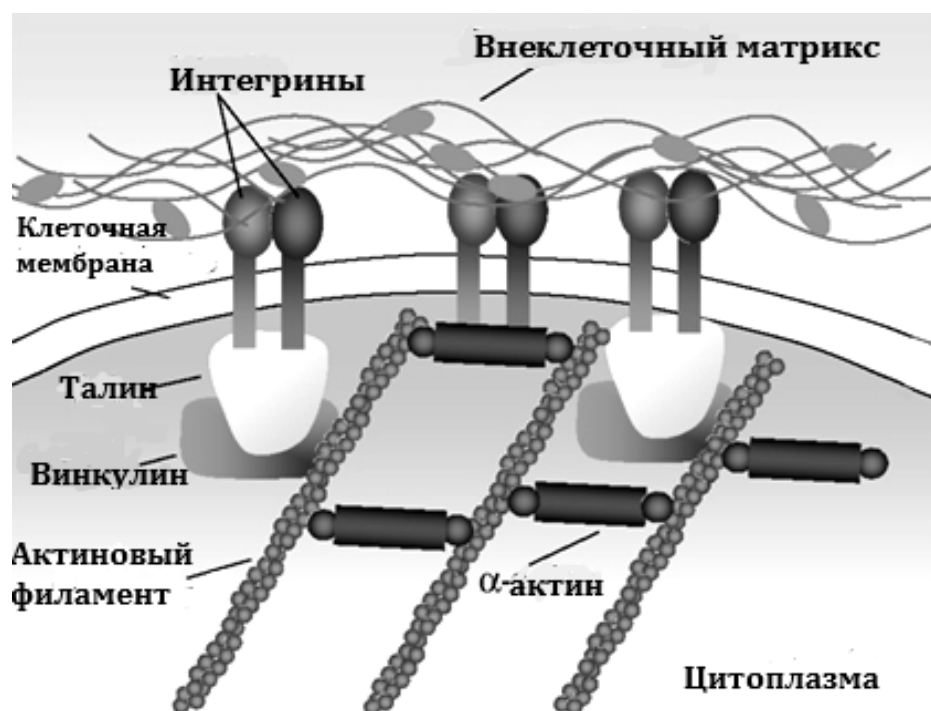


Рис. 13. Взаимодействие клетки с компонентами внеклеточного матрикса [18]

Направление миграции может быть задано неоднородностью компонентов матрикса, кривизной его поверхности или микрорельефом, которые служат опознавательными знаками для выбора направления перемещения и сосредоточения определённых типов клеток в участках закладки будущих органов или регенерации. Если необходимые элементы матрикса распределены не равномерно, а в виде островков или узких «дорожек», то клетки смогут прикрепляться и перемещаться лишь в границах соответствующих участков. Это наблюдается в организме в условиях эмбриогенеза или при регенерации, когда клетки направленно мигрируют вдоль линейных участков на поверхности внеклеточного матрикса в соответствии с наличием в этих участках белковых компонентов, необходимых для адгезии клеток данного типа. Есть предположение, что в этих реакциях участвуют так называемые, *рецепторы растяжения* клеточной мембраны. Они, возможно, реагируют на кривизну или микронеровности поверхности субстрата, вызывая реорганизацию актинового цитоскелета и неравномерное перераспределение сил натяжения в клетке. В результате клетки начинают вытягиваться и ориентироваться в определенном направлении. Активация рецепторов растяжения включает внутриклеточную сигнализацию, которая вызывает фосфорилирование некоторых белков и изменение генной экспрессии. Одними из вероятных кандидатов на роль рецепторов растяжения являются ионные переносчики Cl^- в клеточной мембране, поскольку в среде с дефицитом Cl^- способность клеток вытягиваться резко ослаблена.

Помимо доставки клеточного материала в нужную область зародыша, миграция также обеспечивает определённый характер расположения клеток в зачатке формирующейся структуры, вследствие чего последний приобретает форму. Так, например, в зачатке головного мозга клетки перемещаются из зоны размножения, прилежащей к полости невроцеля, к наружной стороне нервной трубки и образуют ряд выпячиваний, так называемых мозговых пузырей. Миграция клеток из зоны размножения обеспечивает также упорядоченное расположение слоёв коры переднего мозга. Сначала мигрируют и занимают нужную позицию клетки самого нижнего уровня. Клетки каждого последующего слоя, чтобы достичь своего места локализации, должны преодолеть уже сформированные клеточные уровни. Один из регуляторов процесса миграции и позиционирования нервных стволовых клеток, формирования коры и других структур головного мозга в периоды фетального и раннего постнатального развития – белок (гликопротеин) – рилин (RELN), кодируемый геном *Reeler* (*Reln*). Недостаток белка ведет к нарушениям миграции нейронов, вызывая инверсию слоёв коры головного мозга, при этом более молодые нейроны не в состоянии преодолеть слои уже «осевших» на своем уровне клеток.

Нарушение миграции клеток в ходе эмбриогенеза приводит к недоразвитию органов или к их *гетеротопиям* – изменениям нормальной локализации органа. Следовательно, миграция клеток находится под генетическим контролем и является одним из важнейших механизмов развития, определяющим правильность формирования структуры, формы органов, их локализацию, обеспечивающим процессы регенерации, и другие.

При формировании ткани и в ходе её функционирования важную роль играют процессы межклеточной коммуникации – *узнавание* и *адгезия*. *Узнавание* – специфическое взаимодействие одной клетки с другой клеткой или внеклеточным матриксом. В результате узнавания развиваются следующие процессы: 1 – прекращение миграции клеток; 2 – адгезия клеток; 3 – образование адгезивных и специализированных межклеточных контактов; 4 – морфогенез; 5 – взаимодействие клеток между собой и с клетками других структур.

В процессе развития клетки «узнают» друг друга и сортируются в зависимости от свойств, т. е. образуют скопления и пласты избирательно, только с определёнными клетками. Если специальные гликопротеины плазматических мембран узнавших друг друга клеток остаются в связанном состоянии, то это поддерживает слипание клеток – *клеточную адгезию*. Этот механизм крайне важен при формировании зародышевых листков в ходе гаструляции, при образовании структур в органогенезе, при осуществлении регенеративных процессов и иммунных реакций в постнатальном развитии.

Избирательная сортировка и адгезия клеток обеспечивается наличием на их мембранах молекул межклеточной адгезии (САМ, от англ. cell-adhesion molecules), которые связаны с плазматической мембраной клетки и обеспечивают механическое взаимодействие клеток друг с другом. Часто они пронизывают мембрану и присоединяются к цитоскелету. Во многих случаях отдельная молекула способна взаимодействовать не с одним, а с несколькими веществами, для чего служат разные участки связывания. Обычно белки межклеточной адгезии расположены кластерами и образуют участки многоточечного связывания. К молекулам адгезии относят 4 семейства белков: *кадгерины, селектины, интегрины и иммуноглобулины*.

Опосредуемая ими адгезия может осуществляться на основе двух механизмов: *гомофильного* – молекулы адгезии одной клетки связываются с молекулами того же типа соседней клетки, и *гетерофильного* – две клетки имеют на своей поверхности разные типы молекул адгезии, которые связываются между собой. Особенности функционирования различных семейств представлены в табл. 8. На этапах раннего эмбрионального развития основная роль в обеспечении механизма избирательной сортировки и адгезии клеток принадлежит гликопротеинам плазматической мембраны – кадгеринам.

Таблица 8

Функции молекул адгезии в онтогенезе организмов

Семейства молекул адгезии	Функции молекул
Кадгерины	Объединяют клетки в ткани и поддерживают целостность ткани. Для них характерны гомофильные взаимодействия.
Селектины	Осуществляют связь между клетками крови и эндотелием сосудов, функционируют в различных межклеточных адгезионных взаимодействиях в сосудистом русле. Имеют лектиноподобный домен, который «распознаёт» специфические углеводы на поверхности других клеток и связывается с ними.
Интегрины	Участвуют в межклеточных взаимодействиях и во взаимодействиях с межклеточным матриксом. В основном взаимодействия гетерофильные, так, интегрины одной клетки часто взаимодействуют с молекулами адгезии иммуноглобулинов другой клетки.
Иммуноглобулины	Участвуют в эмбриогенезе, заживлении ран, иммунном ответе. Все белки этой группы делят на две группы: образующие гомофильные и гетерофильные (например, с интегринами) связи. К ним относятся, например, молекулы адгезии (N-CAM), которые секретируются нервными клетками.

Внутриклеточные домены кадгеринов связаны с цитоплазматическими белками *катенинами*, а те, в свою очередь, – с цитоскелетом клетки – актиновыми филаментами (рис. 14). Кадгерины являются Ca^{2+} -зависимыми. В отсутствие кальция кадгерины претерпевают значительную конформационную перестройку и в результате быстро разрушаются ферментами.

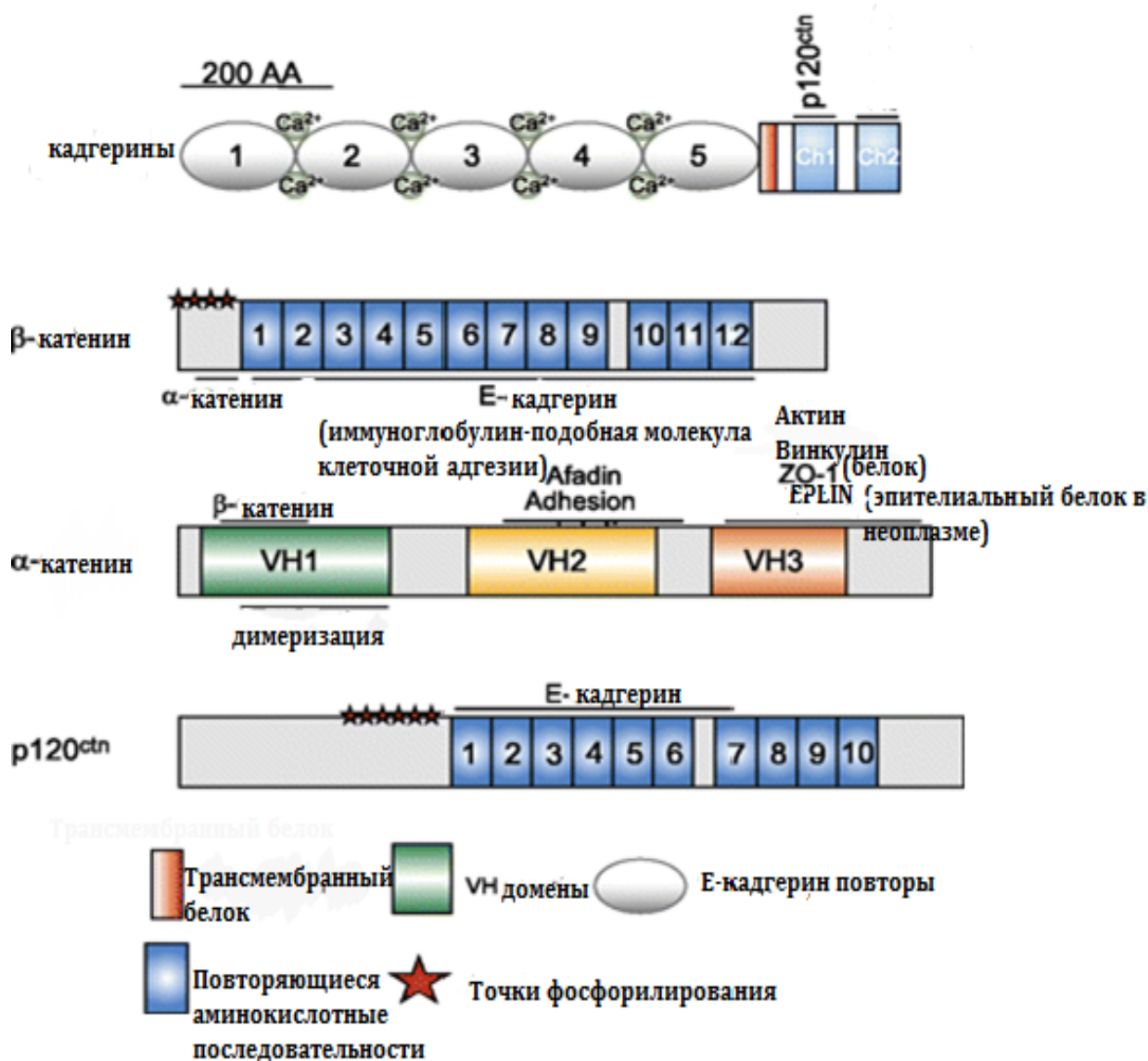


Рис. 14. Схема взаимодействия молекулы кадгерина с тремя ассоциированными катенинами: β-катенином, α-катенином и p120-ctn [14]

Взаимодействие молекул адгезии описано на примере раннего эмбриогенеза млекопитающих. В начале дробления бластомеры располагаются рыхло. Затем происходит компактизация клеток – бластомеры прижимаются друг к другу, плотно упаковываются и связываются межклеточными соединениями. Так, антитела к E-кадгерину блокируют компактизацию бластомеров, участвуют в формировании плотных

контактов между клетками трофобласта в бластоцисте плацентарных млекопитающих. Помимо Е-кадгерина, важную роль в имплантации зародыша принимает участие Р-кадгерин. Молекулы указанных субклассов локализованы на поверхности клеток трофобласта и матки, обеспечивая прилипание зародыша к эпителию матки на начальном этапе этого процесса.

Кадгерины не менее значимы и на более поздних стадиях развития позвоночных, так как их появление и исчезновение коррелирует с важными морфогенетическими событиями, при которых ткани отграничиваются друг от друга. Так, клетки покровной эктодермы содержат Е-кадгерин. По мере формирования нервной трубки и отделения её от покровной эктодермы в клетках развивающегося нервного эпителия исчезает Е-кадгерин и появляется N-кадгерин (N-CAM). Интересно, что при миграции клеток нервного гребня из нервной трубки они теряют N-кадгерин (N-CAM), но вновь начинают вырабатывать его позднее, когда, объединяясь, формируют нервный узел.

Механизм избирательной сортировки и адгезии лежит в основе и многих других процессов органогенеза, в частности, формирования мышечных волокон при слиянии миобластов, установления контактов между аксонами клеток сетчатки и нейронами других отделов зрительного анализатора и т. д. Нарушение механизма избирательной клеточной сортировки и адгезии в ходе органогенеза приводит к формированию таких пороков развития, как несращение нервной трубки (*spina bifida*), несмыкание верхнечелюстных костей и их нёбных отростков (расщелина твёрдого нёба).

В постнатальном онтогенезе при нарушении синтеза молекул адгезии может наблюдаться торможение контактного ингибирования пролиферации клеток, приводящее к образованию опухолей. Утрата клетками молекул адгезии сопровождается стойкой дестабилизацией межклеточных контактов и последующим метастазированием.

Таким образом, сортировка клеток и их избирательная адгезия наряду с другими клеточными процессами играют важную роль, начиная с самых ранних этапов онтогенеза, обеспечивая нормальное развитие и функционирование организма.

Развитие многоклеточного организма, формирование тканей и их функционирование предполагают наличие баланса между клеточной пролиферацией, клеточной дифференцировкой и гибелью клеток. Клетки гибнут в различных ситуациях, как нормальных, так и патологических.

В настоящее время различают два принципиально различных типа клеточной гибели: *апоптоз* и *некроз*.

Некроз представляет собой патологическую форму гибели клеток в результате их острого повреждения. Он характеризуется разрывом цитоплазматической и внутриклеточных мембран, что приводит к разрушению органелл, высвобождению лизосомальных ферментов и выходу содержимого цитоплазмы в межклеточное пространство, при этом развивается воспалительный процесс. Причиной гибели при некрозе в основном считают резкое падение содержания АТФ в клетках до такого уровня, который не совместим с жизнью. «Энергетическая катастрофа» может быть вызвана, например, токсинами или физическими повреждениями.

Морфологическими признаками некроза являются: 1) набухание клеток и их мембранных органелл; 2) неспецифическая компактизация хроматина; 3) вакуолизация цитоплазмы; 4) нарушение целостности плазматической мембраны; 5) выход содержимого клеток во внеклеточное пространство. В результате в многоклеточном организме при некрозе развивается воспалительная реакция.

К программируемой клеточной гибели относят несколько типов: *программируемый некроз, апоптоз и аутофагическую гибель*.

Понятие *программированный некроз* сформировалось на основании данных о том, что существует сигнальный путь инициации некроза в ответ на связывание рецепторами таких молекул, как TNF (англ. tumor necrosis factor или фактор некроза опухоли, ФНО), на фоне подавления апоптоза.

Индуктировать программу некроза можно:

1) путём активации программы апоптоза при связывании, например, лиганда Fas (англ. free antigen soluble ligand) или TRAIL (англ. TNF-related apoptosis-inducing ligand) со специфическими рецепторами;

2) гиперэкспрессией проапоптотического белка Bax (англ. Bcl-2-associated X protein) одновременно с ингибированием активности каспаз или гиперэкспрессией антиапоптотических белков.

Если в пролиферирующих клетках подавлены механизмы апоптоза, например, инактивированы каспазы, то гибель пролиферирующих клеток осуществляется по механизму программированного некроза.

Программированный некроз можно ингибировать, если на клетку подействовать антиоксидантами или подавить активность протеинкиназы RIP (receptor-interacting protein kinase), которая является мишенью для каспаз, участвующих в гибели клеток путём апоптоза. Таким образом, инициация апоптоза подавляет развитие некроза в клетках.

Массовая гибель клеток в раннем онтогенезе является запрограммированной и осуществляется путём *апоптоза*. В постэмбриональный период клетки, выполнившие свои функции, также погибают апоптозом.

В эмбриогенезе апоптоз является одним из основных механизмов органогенеза и метаморфоза, способствует достижению характерных для определённого биологического вида черт его морфофункциональной организации. В постнатальном развитии апоптоз обеспечивает гибель клеток на терминальных стадиях дифференцировки (например, эритроцитов), стареющих и поврежденных клеток, уничтожение аутореактивных (действующих против собственных клеток) клонов лимфоцитов и т. д. Помимо этого, на протяжении всего развития механизм программированной клеточной гибели обеспечивает регуляцию численности клеток, а именно – установление нужного равновесия между процессами пролиферации и гибели клеток, что, в одних ситуациях, обеспечивает стабильное состояние организма, в других – рост или атрофию тканей и органов.

Программа апоптотической гибели состоит из следующих основных этапов: 1) индукция, или запуск программы апоптоза; 2) активация проапоптотических белков; 3) каскад каспаз, расщепляющих белки-мишени; 4) разрушение внутриклеточных органелл или их перестройка; 5) фрагментация клетки на апоптотические тельца; 6) подготовка клетки и её фрагментов к фагоцитозу макрофагами или соседними клетками.

В запуске апоптоза принимают участие различные органеллы, но прежде всего – плазматическая мембрана и митохондрии. Индукция апоптоза и активация проапоптотических белков ведёт к активации каспаз (цистеиновых протеаз) – инициаторных и эффекторных, которые функционируют как протеолитические каскады. Это приводит к разрушению структурных белков, белков-регуляторов клеточного цикла и других. Активированные каспазой ферменты (например, эндонуклеазы, гельзолин и другие) участвуют в разрушении ядерной ламины, нарушении целостности ДНК, компактизации хроматина, разрушении аппарата Гольджи, митохондрий, элементов цитоскелета и других органелл.

Помимо каспазного механизма, имеется некаспазный механизм апоптотической гибели. При этом происходит выход из митохондрий и миграция в ядро флавопротеина AIF (apoptosis inducing factor) и эндонуклеазы G, вызывающих распад ядерной ДНК на крупные фрагменты. Конденсация хроматина и экспозиция фосфатидилсерина во внешнем монослое плазматической мембраны соответствуют признакам апоптоза.

Морфологические преобразования в процессе апоптоза выражаются в разной степени распада внутриклеточных компонентов. Конечными этапами апоптоза является уплотнение цитоплазмы, фрагментация ядер и самих клеток с образованием апоптотических телец, в которых могут быть фрагменты ядер, элементы аппарата Гольджи, митохондрий и т. д. Апоптотические клетки и тельца экспонируют на поверхности сигнальные и адгезивные молекулы, которые узнаются соседними клетками или

макрофагами и способствуют фагоцитозу. К таким молекулам относятся фосфатидилсерин, лизофосфолипиды, витронектин, тромбоспондин и другие. Процессу фагоцитоза способствует также инактивация на поверхности умирающих клеток молекул типа CD31 (англ. cluster of differentiation), необходимых для распознавания не подлежащих поглощению жизнеспособных клеток.

Выделяют два вида механизма апоптоза: *апоптоз «изнутри»* и *апоптоз «по команде»*. В первом случае задача процесса – убрать поврежденные клетки. Апоптоз запускается сигналами, возникающими внутри самой клетки при неудовлетворительном её состоянии – повреждении хромосом, внутриклеточных мембран и т. д. Второй вариант апоптоза наблюдается, например, при разделении пальцев на руках или ногах зародыша, разделении локтевой и лучевой костей предплечья, формировании суставов, имплантации зародыша, образовании полостей сосудов, резорбции личиночных органов животных при метаморфозе (например, жаберных лепестков, хвоста и кишечника у головастика и другие процессы развития), которые с позиции целого организма оказываются ненужными или вредными. В этом случае клетка получает из внеклеточной среды сигнал «погибнуть», который передаётся через мембранные или цитоплазматические рецепторы. Иногда сигналом для начала апоптоза может быть и отсутствие необходимого сигнала. В результате контакта сигнальных молекул с наружной частью белка-рецептора, который претерпевает структурные изменения, приводя к запуску реакций клеточной гибели. Механизмы апоптоза многообразны и представляют собой сложнейшие молекулярные каскады.

Реализуемые в организме схемы осуществления апоптоза различаются в основном своими начальными стадиями. Большинство из них осуществляется с участием белка p53 и лишь небольшая часть, например запускаемая рецепторами TNF, реализуется без его участия. Белок p53 в норме присутствует во всех типах клеток, локализуется в ядре, где функционирует как транскрипционный фактор. В его молекуле у человека – 392 аминокислотных остатка, образующих шесть различных по размеру и функции доменов. Центральный и самый большой домен (включающий около 200 остатков) отвечает за узнавание энхансеров генов-мишеней и связывание с ними. После связывания энхансеров генов-мишеней и центрального домена белка p53 изменяется активность нескольких групп генов, продукты которых принимают участие в реализации апоптоза. Это гены, кодирующие белки, стабилизирующие мембраны митохондрий (например, *bcl2* (*B-cell lymphoma 2*) и другие) и повышающие их проницаемость (например, *bax* (*bcl-2 associated X protein*) и другие).

Белки семейства Bcl-2 проявляют широкий спектр активности от ингибирования апоптоза до его индукции. Семейство белков Bcl-2 включает в себя субсемейства, которые различаются по структуре и функциям:

- субсемейство белков Bcl-2 (Bcl-2, Bcl-xl (B-cell lymphoma – extra large), Bcl-w (Bcl-2-like protein) и другие) – ингибиторы апоптоза;
- субсемейство белков Bax и BH3 (Bax-like BH3 protein) – промоторы апоптоза.

Известно, что апоптоз ассоциируется с различными изменениями в митохондриях, включая высвобождение цитохрома С в цитоплазму. Белки Bcl-2 участвуют в формировании каналов в мембране клетки, через которые цитохром С поступает в цитоплазму. Изменение соотношения этих белков в цитоплазме клетки вызывает повышение проницаемости мембран митохондрий, вследствие чего её покидают белки, активирующие каспазный каскад. Так, например, белок Bcl-2 и Bcl-XL ингибируют выброс цитохрома С, а Bax – стимулирует. Но белок Bcl-2 может ингибировать способность белка Bax к формированию каналов в мембране. Кроме того, белки Bcl-2 и Bcl-XL могут связывать цитохром С и вытеснять его из апоптосомы, предотвращая активацию каспаз.

Включение апоптозного пути через рецепторы без вовлечения белка p53 активирует каскад каспаз – сериновые или цистеиновые цитоплазматические протеазы. В своих белках-мишенях каспазы разрывают пептидные связи, которые образованы с участием остатка аспарагиновой кислоты. Считают, что эти ферменты находятся в цитоплазме практически всех клеток, и до инициации реакций клеточной гибели они присутствуют в виде неактивных предшественников – прокаспаз, которые активируются путем ряда модификаций. Каспазы способны в определённой последовательности активировать друг друга, образуя своего рода каскад, который вызывает протеолиз цитоплазматических и ядерных белков и приводит к развитию морфологических проявлений апоптоза.

Нарушение механизма апоптоза приводит к формированию аномалий развития, таких как синдактилия (сращение пальцев), гипертрихоз (повышенное оволосение), полидактилия (многопалость). Так, к настоящему времени установлено, что активность гена, кодирующего белок Bcl-2 (один из основных регуляторов апоптоза), требуется для поддержания жизнеспособности лимфоцитов, меланоцитов, клеток эпителия кишечника и клеток почек во время развития эмбриона. Продукт гена *bcl-x* необходим для ингибирования смерти клеток в эмбриогенезе, особенно в нервной системе. Экспрессия гена *bax* требуется для апоптоза тимоцитов и поддержания жизнеспособности мужских половых клеток в ходе гаметогенеза. Мутации гена *p53* обнаруживаются примерно в половине опухолей, независимо от их происхождения или типа.

Митотическая катастрофа – это реализация апоптотической программы собственно в процессе митоза. При этом сегрегация хромосом отсутствует и клетка блокируется в одной из фаз митоза. В митотической клетке нарушены организация веретена и выстраивание хромосом, как при колхицино-подобном митозе. Далее происходит активация каспаз и последующие деструктивные события по типу апоптотических. Завершается апоптоз образованием апоптотических телец и фагоцитозом.

Митотическая катастрофа может приводить к гибели клеток, перешедших после аномального митоза в следующую G_1 -фазу без нормальной сегрегации хромосом и образования дочерних клеток, т. е. постмитотическая гибель полиплоидных клеток. Данный способ митотической катастрофы может называться апоптозом клетки, прошедшей *полиплоидизирующий митоз*.

Причиной митотической катастрофы считают нарушение процессов контроля в клетках при повреждении ДНК или нарушении сборки веретена деления. Ключевым моментом в блокировании клеточного цикла и в индукции в этих клетках апоптоза является экспрессия гена *p53*, который служит фактором транскрипции для *p21* – ингибитора G_1 – фазы клеточного цикла и для ряда проапоптотических белков.

Митотическая катастрофа отличается от апоптоза одноядерных клеток тем, что нарушение её программы может существенно влиять на хромосомный состав клеток. Если в тетраплоидной клетке, возникшей в результате нарушения сегрегации хромосом, неактивны механизмы, ведущие к апоптозу или действующие в контрольной точке проверки клеточного цикла G_1 – фазы, то такая клетка может пройти очередной клеточный цикл и митоз.

В качестве ещё одного типа программированной гибели клеток выделяют *аутофагическую гибель клеток*, при которой в клетке запускается деградация органелл и цитоплазматического материала.

Стимулами к запуску процессов аутофагии в клетках многоклеточных животных являются: 1) отсутствие факторов роста или нехватка питательных веществ; 2) наличие в цитоплазме повреждённых органелл, например, митохондрий, пероксисом и т. д.; 3) в клеточных культурах возникновение монослоя приводит к контактному торможению пролиферации клеток.

При недостатке питательных соединений клетка начинает утилизировать часть своих цитозольных белков и органелл с помощью аутофагии. Аутофагическая гибель отличается следующими признаками: 1) частичная конденсация хроматина; 2) иногда пикноз ядра; 3) отсутствие фрагментации ядра и клетки на поздних стадиях гибели; 4) отсутствие деградации ДНК до нуклеасомного уровня; 5) увеличение числа аутофагосом

и аутофаголизосом; 6) увеличение лизосомной активности; 7) увеличение протяженности аппарата Гольджи, и иногда, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума; 8) длительная сохранность микротрубочек и промежуточных филаментов; 9) иногда возрастание проницаемости митохондрий; 10) отсутствие активации каспаз. Следует отметить, что апоптоз может запускаться в разных фазах клеточного цикла, а аутофагическая гибель развивается преимущественно в непролиферирующих клетках (G_0 -фаза и терминальная дифференцировка).

Аутофагия осуществляется при помощи лизосомной деградации, необходимой для поддержания тканевого гомеостаза. Она является одним из основных механизмов для ликвидации повреждённых органелл, долгоживущих и аномальных белков и излишних объёмов цитоплазмы, устранения стареющих постмитотических клеток (например, нейроны, кардиомиоциты).

Выделяют три различных типа аутофагии:

1. *Макроаутофагия*. Обеспечивает поглощение элементов цитоплазмы и целых органелл аутофагосомами, имеющими двойную мембранную структуру, или первичными аутофаговыми вакуолями (AV-I). После слияния с лизосомами аутофагосомы формируют одномембранную структуру – аутолизосому или позднюю аутофаговую вакуоль (AV-II), содержимое которых деградируется, и получившиеся элементы возвращаются в цитоплазму для метаболических реакций. Основным регулятором макроаутофагии является киназа mTOR (англ. mammalian target of rapamycin), запускающая образование аутофагосом. Её ингибирование, например, при помощи рапамицина или при отсутствии питательных веществ запускает макроаутофагию.

2. *Микроаутофагия*. Обеспечивает поглощение органелл непосредственно в лизосомных мембранах. Этот механизм также является путём деградации органелл и долгоживущих белков, но, в отличие от макроаутофагии, он не отвечает за адаптацию к недостатку питательных веществ. Одной из конкретных форм микроаутофагии является избирательная деградация пероксисом в дрожжевых клетках (microperoxophagy) как механизм адаптации к оксидативному стрессу.

3. *Шаперон-ассоциированная аутофагия*. Несмотря на то, что данный способ чувствителен к недостатку питательных веществ, при нём не происходит тотального поглощения органелл или избирательного распознавания субстрата. Белки, участвующие в шаперон-ассоциированной аутофагии, содержат конкретные пентапептидные мотивы, распознаваемые лизосомами (консенсус последовательность KFERQ (*one-letter code for the amino acid sequence Lys (K) -Phe (F) – Glu (E) – Arg (R) – Gln (Q)*)), которые узнаются комплексом белков-шаперонов (в том числе белком теплового

шока 73 кДа – белок, Hsc73 (*heat shock proteins*)) и направляются к лизосомной мембране, где они взаимодействуют с белками, связанными с мембраной лизосом (LAMP)2A (*lysosome-associated protein 2A*). Затем субстратные белки разворачиваются и транспортируются в люмен лизосом для деградации. Некоторые посттрансляционные изменения субстратов (например, окисление или денатурация) могут сделать пентапептидные мотивы более доступными для шаперонов, повышая уровень их лизосомального поглощения.

Таким образом, избирательная клеточная гибель является естественным, эволюционно обусловленным и генетически контролируемым механизмом развития, активно реализуемым организмом на различных стадиях онтогенеза для решения широкого спектра задач. Регуляция ранних стадий онтогенеза осуществляется за счет клеточных взаимодействий, которые сохраняются на последующих стадиях онтогенеза.

Вопросы для самоконтроля

1. Объясните, как осуществляется пролиферация клеток, механизмы регуляции данного процесса?
2. В чём заключается механизм клеточной адгезии и его значение в онтогенезе?
3. Каково значение избирательной гибели клеток в онтогенезе?
4. Дайте характеристику эмбрионального периода онтогенеза.
5. Каковы регуляторные механизмы клеточного цикла?
6. Какие процессы участвуют в регуляции процесса оплодотворения?
7. Как осуществляется клеточная миграция?
8. В чём состоит роль сигнальных путей в онтогенезе?
9. Каким образом осуществляется регуляция дозародышевого периода?
10. В чём состоит механизм клеточного узнавания и его значение в онтогенезе?
11. Какие типы молекул адгезии Вы знаете и их функции в онтогенезе?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Белоусов Л. В. Основы общей эмбриологии / Л. В. Белоусов. – М. : Изд-во Московского государственного университета, 2005. – 368 с.
2. Биология: учебник : в 2 т. [Электронный ресурс] / под ред. В. Н. Ярыгина. – М. : Высшая школа, 2011. – Т. 1. – 736 с. – Режим доступа : http://vmede.org/sait/content/Biologiya_yarigin_t1_2011
3. Газарян К. Г. Биология индивидуального развития животных / К. Г. Газарян. – М. : Высшая школа, 1983. – 287 с.
4. Голиченков В. А. Эмбриология / В. А. Голиченков, Е. А. Иванов, Е. Н. Никерясова. – М. : «Академия», 2004. – 224 с.

5. Дондуа А. К. Биология развития: в 2 т. Начала сравнительной эмбриологии / А. К. Дондуа. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – Т. 1. – 295 с.
6. Иванова-Казас О. М. Эволюционная эмбриология животных / О. М. Иванова-Казас. – СПб. : Наука, 1995. – 565 с.
7. Методы исследования программируемой клеточной гибели : учебно-методическое пособие для магистров по курсу «Теория апоптоза» / Ю. В. Скибо, З. И. Абрамова. – Казань : ФГАОУ ВПО КФУ, 2011. – 61 с.
8. Рэфф Р. Эмбрионы, гены, эволюция / Р. Рэфф, Т. Кофман. – М. : Мир, 1986. – 402 с.
9. Токин Б. П. Общая эмбриология / Б. П. Токин. – М. : Высшая школа, 1987. – 480 с.
10. Чепурнова Л. В. Биология индивидуального развития / Л. В. Чепурнова. – Кишинёв СЕР USM, 2009. – 99 с.
11. Яблоков А. В. Эволюционное учение / А. В. Яблоков, А. Г. Юсуфов. – М. : Высшая школа, 2006. – 310 с.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

12. Evan G. I, Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer [Electronic resource] / G. I. Evan, K. H. Vousden // Nature. – 2001. – Vol. 411. – P. 342–348. – Way of access : <http://www.nedug.ru/lib/lit/oncol/03jan1/9/onco.htm>
13. Gilbert S. The position of the problem of ontogenesis / S. Gilbert // Parrhesia. – 2009. – № 7. – P. 4–16.
14. Neissen C. M. Tissue organization by cadherin adhesion molecules: dynamic molecular and cellular mechanisms of morphogenetic regulation [Electronic resource] / C. M. Neissen, D. Leckband, A. S. Yap // Physiological Reviews. – 2011. – Vol. 91. – P. 691–731. – Way of access : <http://physrev.physiology.org>
15. Neumann C. Morphogens and pattern formation / C. Neumann, S. Cohen // BioEssays. – 1997. – Vol. 19. – P. 721–772.
16. Nusslein-Folhard C. Gradient that organizes embryo development / C. Nusslein-Folhard // Scientific American. – 1996. – P. 38–43.
17. Pires-daSilva A. The evolution of signaling pathways in animal development / A. Pires-daSilva, R. J. Sommer // Nature Reviews, Genetics. – 2003. – Vol. 4. – P. 39–49.
18. Rao S. S. Adhesion molecule-modified biomaterials for neural tissue engineering [Electronic resource] / S. S. Rao, J. O. Winter // Front. Neuroeng. – 2009. – Way of access : <http://www.mun.ca/biology>
19. Sherr C. J. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression [Electronic resource] / C. J. Sherr, J. M. Roberts // Gen. Dev. – 1999. – Vol. 13. – P. 1501–1512. – Way of access : <http://embriologiya-chel.ru>

ЛЕКЦИЯ 5

РЕГУЛЯЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ

ПЛАН

1. Дифференциальная активность генов – основа клеточной дифференцировки.
2. Роль ядра в дифференциальной активности генов.
3. Детерминация, предшествующая дифференцировке клеток.
4. Ооплазматическая сегрегация.
5. Позиционная информация.
6. Проявление в онтогенезе факторов, влияющих на дифференциальную экспрессию генов.
7. Регуляция дифференциальной экспрессии генов и клеточной дифференцировки на уровне транскрипции, трансляции и пост-трансляционная эпигенетическая регуляция.

Все клеточные механизмы в онтогенезе организмов находятся под генетическим контролем. Возникновение из однородных клеток в течение онтогенеза большого разнообразия клеточных форм, отличающихся по строению и функции, представляет собой процесс дифференциации, который происходит за счёт дифференциальной активности генов.

1. Дифференциальная активность генов – основа клеточной дифференцировки

Дифференцировка – образование в процессе развития из однородных клеток разнообразных по морфологическим признакам и функциям клеток, тканей и органов. Дифференцировка является одной из основ онтогенетического развития организма. Появляющиеся в процессе дифференциации различия сохраняются клетками при размножении, т. е. оказываются наследственно закреплёнными. Осуществляется дифференцировка в период интерфазы и является реализацией ядерной и цитоплазматической генетической информации. Основана дифференцировка на разновременном вступлении генов в детерминацию онтогенеза, на дифференциальной транскрипции генов, функционирующих в разные фазы онтогенеза и кодирующих разнообразные РНК молекулы, которые участвуют в синтезе специфических для клеток данной ткани белков и обеспечивают протекание в клетках определённых биохимических реакций, специфичность их строения и функции. Например, в клетках эпидермиса синтезируется кератин, в эритроблестах – гемоглобин, в клетках кишечника – пищева-

рительные ферменты, в клетках хрусталика – кристаллины, в клетках сетчатки – опсины и другие.

В ходе дифференцировки клеток изменяется:

- форма клеток;
- строение клеточных мембран;
- набор органоидов.

В процессе развития организмов специализация клеток – результат дифференциальной (или избирательной) экспрессии генов, т. е. специализация клеток является результатом действия соответствующих групп генов, характерных для каждого типа клеток. Эта точка зрения ведёт начало от Т. Моргана, который, опираясь на хромосомную теорию наследственности, предположил, что дифференцировка клеток в процессе онтогенеза является результатом последовательных реципрокных (взаимных) влияний цитоплазмы и меняющихся продуктов активности генов. При этом различные типы клеток используют разные гены из одинакового набора, присутствующего в каждой клетке. Это означает, что в конкретных клетках активны не все гены, а только часть из них, причем экспрессия тех или иных генов происходит избирательно в зависимости от типа клеток, этапа онтогенеза и других факторов.

Для раннего развития характерно возникновение функциональных различий между клетками и появление пространственно разграниченных специфичных групп дифференцированных типов клеток там, где они прежде отсутствовали. Эти процессы зависят от становления мозаичного характера генетической активности в ядрах дифференцирующихся клеток.

Развитие всех живых организмов характеризуется сменой активности различных генов и их постепенным включением в работу. Направленность реализации генетической информации связана с дифференциальным вступлением генов в детерминацию развития организмов, т. е. с попеременной транскрипцией разных генов. Хотя в дифференцированных клетках весь генный набор сохранён, не все гены равно функциональны, т. е. не одинаково транскрибируются. На каждом этапе онтогенеза активны только те гены, функция которых осуществляется именно на этом этапе. Первоначально включённые гены, контролирующие основные процессы клеточного метаболизма, активны на протяжении всей жизни особи. Действие других генов может инактивироваться после выполнения ими своей функции. Так, гены, контролирующие образование зачаточных жаберных щелей и других подобных органов, функционируют в онтогенезе плацентарных млекопитающих лишь ограниченное время. Также, смена функционирования генов гемоглобина у млекопитающих в онтогенезе регулируется дифференциальной активностью или экспрессией генов.

Следовательно, дифференцировка клеток в онтогенезе организмов выражается в изменении их строения и функциональных свойств и связана с дифференциальной активностью генов ядра и цитоплазмы, что, в свою очередь, регулируется факторами внутренней и внешней среды (индукторы, репрессоры и регуляторы транскрипции).

2. Роль ядра в дифференциальной активности генов

Ещё в 1892 году И. Дриш и другие эмбриологи показали, что перемещение ядра из одних клеток в другие на стадии дробления не вызывает нарушений в развитии организма. Поскольку ядра, определяющие в норме развитие энтодермальных клеток, могут также индуцировать развитие мезодермы и наоборот, то очевидно, что эти ядра должны содержать все гены, необходимые для развития как энтодермы, так и мезодермы. Следовательно, каждое ядро на стадии дробления содержит все гены зиготы. Однако в настоящее время доказано, что никогда в ядре не функционирует весь геном. Взаимодействие между компонентами цитоплазмы и ядром приводит к дерепрессии определённых генов. Их продукты определяют дальнейшее углубление различий между разными частями зародыша (дифференцировку). Возникающие различия вызывают новые взаимодействия между соседними клеточными группами, которые вызывают дереессию новых генов, вследствие чего меняется спектр активных генов и, следовательно, генетическая программа на последующий отрезок процесса развития. Таким образом, в ходе индивидуального развития первоначально репрессированный геном зиготы подвергается постепенной дерепрессии, причём в разных частях зародыша дерепрессиируются разные группы генов. Набор активно функционирующих генов определяет своеобразие спектра белков, которые синтезируются клетками, выполняющими различные функции. Гены, транскрибировавшиеся в эмбриональном периоде, к моменту рождения или непосредственно после него репрессиируются, в то же время активируются гены, определяющие специфические функции клеток во взрослом организме. Нередко вещества, продуцируемые определённым типом клеток в разные периоды онтогенеза, несколько различаются по своим свойствам. Изменение свойств диктуется изменением условий существования организма, например, в эмбриональном и пост-эмбриональном периодах развития. Эти различия объясняются сменой функционирования близких, но не идентичных по заключённой в них информации генов. Такие гены в ряде случаев образуют группы, получившие название *мультигенных* (группа генов, очень близких по нуклеотидным последовательностям, со сходными фенотипическими функциями) *семейств*.

Классическим примером является смена синтеза гемоглобина в онтогенезе человека. В онтогенезе человека синтезируется 3 типа гемоглобина (молекула, состоящая из небелковой части или гема и глобина, в состав которого входит 4 цепи: 2 α - и 2 β -подобных). В эмбриогенезе синтезируется эмбриональный гемоглобин или гемоглобин G, который состоит из 2 ζ и 2 ε цепей. В плодный или фетальный период синтезируется фетальный гемоглобин F (2 α и 2 γ), а после рождения гемоглобин (Hb) A (2 α и 2 β) и A₂ (2 α и 2 δ). Образование каждого вида цепей контролируют «собственные» гены, при этом гены для α - и β -подобных цепей сцеплены и локализованы в одной хромосоме. По мере развития плода гены для ζ и ε -цепей гемоглобина репрессируются, а гены, регулирующие синтез α -, β -, γ -цепей активируются. Для постэмбрионального периода онтогенеза характерна репрессия гена, контролирующего синтез γ -цепи, а гены, регулирующие синтез α -, β -цепей, остаются в активном состоянии. Кроме этого, ген, контролирующий синтез δ -цепи (содержится в гемоглобине A₂) в эмбриональный и фетальный период подавлен, а в постэмбриональном периоде сначала активируется, потом репрессируется. Смена синтеза гемоглобина необходима, так как эмбриональный и фетальный гемоглобины обладают большим сродством к кислороду.

Переключение генов в мультигенных семействах происходит не только в соответствии со стадией индивидуального развития, но и с типом и местом локализации клеток в организме. Регуляция активности гена зависит от места, в котором созревают предшественники эритроцитов, то есть от позиционной информации. Эмбриональный гемоглобин образуется мегалобластами в стенке желточного мешка. На 6-й неделе эмбрионального развития происходит смена экспрессируемых генов за счёт изменения локализации синтеза гемоглобина, при этом синтез гемоглобина происходит в предшественниках эритроцитов или в эритроблестах печени и селезёнки плода. Позднее главным местом образования гемоглобина становится костный мозг, где вскоре после рождения начинается синтез взрослого A ($\alpha_2\beta_2$) и детского A₂ ($\alpha_2\delta_2$) гемоглобинов. Однако экспрессия гена δ у взрослого человека полностью не прекращается, и около 1 % β -цепей замещено на гемоглобин δ (детский гемоглобин). Следовательно, смена синтезируемого гемоглобина у эмбриона, плода и после рождения связана с изменениями конкретного клеточного микроокружения (разные сигнальные молекулы и другие) и условий существования организма (у человека гемоглобин плода имеет более высокое сродство к кислороду, чем гемоглобин взрослого, что облегчает перенос кислорода через плаценту).

Возможны нарушения регуляции действия генов, которые выражаются в снижении уровня синтеза тех или иных цепей гемоглобина, что

приводит к снижению уровня гемоглобина или к анемии (талассемия). Если нарушен синтез ζ - и ε -цепей, эмбрион погибает в ранний период онтогенеза. Если не экспрессируется ген для α -подобных цепей гемоглобина, то наблюдается патология α^0 – талассемия. При этом развитие эмбриона проходит нормально, но развитие плода нарушается, что приводит к мертворождению, либо к выкидышу. Возможен вариант α^+ -талассемии, когда α -цепи синтезируются, но не в достаточном количестве. В этом случае может наблюдаться анемия у плода, которая будет продолжаться после рождения. Если не экспрессируется ген для β -цепей гемоглобина, наблюдается β^0 -талассемия. Развитие эмбриона и плода происходит нормально, но после рождения это приводит к гибели новорожденного. При β^+ -талассемии наблюдается анемия при развитии плода, которая продолжится и после рождения. Известен случай β^0 -талассемии (связана с подавлением экспрессии гена, контролирующего синтез β -цепи и активации экспрессии гена, контролирующего синтез γ -цепей гемоглобина), при котором не будет наблюдаться анемии, за счёт того, что γ -цепь гемоглобина имеет высокое сродство к кислороду, что приводит к компенсации нормального фенотипа.

Приобретение клетками новых признаков и утрата старых в ряду клеточных поколений представляет собой результат эпигенетической изменчивости, соматических мутаций и других факторов.

Поскольку онтогенез, понимаемый как от зарождения организма до гибели, формировался исторически, а изменение клеток в процессе онтогенеза является проявлением их наследственности, то дифференцировка должна отражать эти исторические черты. Наиболее приемлема для объяснения данного процесса – теория Т. Моргана, согласно которой сначала ядро воздействует на цитоплазму и программирует белковый синтез, а затем цитоплазма оказывает влияние на ядро, избирательно блокируя ряд генов, которые до этого функционировали. Цитоплазма, получившая определённую информацию, репрессирует все гены, которые не должны работать в данный момент, или же действует только на гены, которые регулируют активность генотипа в целом.

Для недифференцированного состояния клетки характерны крупное ядро и высокое ядерно-цитоплазматическое отношение (V ядра / V цитоплазмы), диспергированный хроматин и хорошо выраженное ядрышко, многочисленные рибосомы и интенсивный синтез РНК, высокая митотическая активность и неспецифический метаболизм. В течение дифференцировки все эти признаки изменяются, характеризуя приобретение клеткой специализации.

Следовательно, дифференцированные клетки одной ткани содержат генетическую информацию, которая определяет характерные особен-

ности других тканей, при этом специфические особенности онтогенеза контролируются клеточным ядром. В процессе развития эмбриональные клетки приобретают определённые различия, которые они должны сохранить даже после исчезновения воздействия, вызвавшего такую диверсификацию клеток. Для этого необходимо, чтобы клетки обладали памятью, обеспечивающей их детерминацию в направлении определённой специализации задолго до появления внешних признаков дифференцировки. Механизмы клеточной памяти могут быть либо цитоплазматическими, определяемыми как воздействие молекул цитоплазмы на ядро с целью поддержания собственного синтеза, либо ядерными, основанными на модификации хроматина.

3. Детерминация, предшествующая дифференцировки клеток

Возникает вопрос: каков механизм поддержания стабильности дифференцированного состояния; почему клетки, детерминированные в определённом направлении, сколько бы раз они ни делились, сохраняют свою специфичность? Вейсман полагал, что в основе детерминации лежат неравнонаследственные деления. Носителем полной генетической информации, т. е. детерминантов (генов) всех признаков взрослого организма, является оплодотворённая яйцеклетка. Тканевые клетки получают набор генов, соответствующих их структуре и функциям. Это означает, что в нервных клетках нет генов гемоглобина, а в клетках печени – генов, кодирующих белки мышц. В качестве подтверждения своей гипотезы Вейсман использовал данные по диминуции хроматина – это процесс, при котором тканевые клетки освобождаются от лишнего генетического материала. Эта гипотеза оказалась ошибочной. Диминуционные деления (их обычно одно или два) происходят в раннем эмбриогенезе (3–7 делений дробления), т. е. тогда, когда тканеспецифические гены ещё не начинают функционировать. Таким образом, *диминуция* – это первый акт детерминации, разделяющий зародышевые половые и соматические клетки. Все типы тканевых клеток развиваются после диминуционных делений. У видов, у которых диминуция отсутствует, кариотипы всех тканевых клеток одинаковы; цитофотометрия свидетельствует о том, что клетки различной дифференцировки по содержанию ДНК не различаются; данные молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот указывают на идентичность спектра нуклеотидных последовательностей в клетках тканей.

Ещё одним предположением было то, что в процессе дифференцировки отдельные гены избирательно повреждаются и никогда не функционируют в организме. Так, в клетках кишечного эпителия гены гемоглобина не работают не потому, что они там отсутствуют, а вслед-

ствие повреждения их структуры или выпадения незначительных по размерам последовательностей, регулирующих транскрипцию. Экспериментальные данные, опровергнувшие и эту точку зрения о механизме дифференциации, были получены в 1961 году. Так, неоплодотворённые яйцеклетки облучали большой дозой ультрафиолета, которая инактивировала ядра, но практически не повреждала цитоплазму. С помощью микрохирургической техники в такие энуклеированные яйцеклетки пересаживали ядра из дифференцированных клеток – эпителия кишечника головастика. В некоторых случаях удалось получить полностью нормальных плодовитых взрослых особей. Если для опыта брали ядра одной особи, то все развившиеся животные представляли собой клон, т. е. были сходны между собой как однояйцевые близнецы человека. Следовательно, перенесение ядра тканевой клетки в неоплодотворённое яйцо, в некоторых случаях, может запускать процессы дифференцировки и детерминации.

Предполагают, что в основе запуска процессов дифференцировки и детерминации находится постоянное воспроизведение в ряду поколений соматических клеток такой надмолекулярной организации хромосом, которая позволяет функционировать в каждом типе клеток строго определённым набором генов.

Экспериментальные исследования ранних стадий развития амфибий также показали однородность ядер, образующихся при дроблении. Например, Шпеман (1928 г.) перетягивал после оплодотворения яйцеклетку так, что только в одной половине оказывалось ядро, и именно в этой половине наблюдался процесс дробления, другая же, безъядерная половина, не дробилась. В случае если между обеими частями яйцеклетки оставался узкий мостик цитоплазмы, и после 4-го деления, когда было уже 16 ядер, одно из них попало в безъядерную часть, она начинала дробиться, и из неё образовывалась полноценная личинка.

Сходные опыты на яйцеклетках стрекоз показали, что ядро зиготы в процессе первых делений не утрачивает способности давать начало целому организму. При использовании ядер из клеток поздней бластулы наблюдалось нормальное развитие большинства яйцеклеток и в значительном проценте случаев – образование полноценных личинок.

Ряду авторов удалось получить развитие нормальных взрослых особей из энуклеированных яйцеклеток амфибий *Xenopus*, в которые были пересажены ядра из клеток нейрулы, глазного бокала, кишечника головастика и почки. Однако во всех опытах наблюдалась определённая доля яйцеклеток, которые после пересадки ядер развивались только до стадии бластулы, или же из них развивались аномальные личинки. Для анализа причин этого явления из одной бластулы были пересажены ядра в ряд яйцеклеток, среди которых одни дали полноценное развитие личинок,

другие – аномальное, а третьи развивались только до стадии бластулы. Пересаживая от них ядра, можно было убедиться, что способность ядер обеспечивать развитие яйцеклетки до определённой стадии сохраняется и при серийных пересадках, т. е. этот признак связан с генетическими факторами. В дальнейшем оказалось, что ядра клеток, обеспечивающие развитие только до стадии бластулы, отличаются значительными хромосомными нарушениями, что вызывало эмбриональную гибель и формирование аномальных личинок.

В целом, описанные выше опыты показали, что ядра соматических клеток обладают не только всей полнотой генетической информации, свойственной данному организму, но и потенциальной способностью обеспечивать нормальный онтогенез организма за счёт различной экспрессии генов. По мере развития деблокирование генетической информации ядер оказывается всё более и более трудным, но возможным в любом ядре, содержащем полное количество ДНК (например, при мутациях, политеении и других процессах).

Механизм становления детерминации пока неизвестен, однако ясно, что у многих животных первичная детерминация связана с химической неоднородностью различных участков яйцеклетки (было доказано на примере амфибий). Как было описано выше, каждый многоклеточный организм развивается из одной клетки – зиготы. При первых делениях зиготы образуются одинаковые клетки, между которыми с каждым последующим делением увеличиваются различия. Причиной этого является то, что разные клетки зародыша оказываются в разных условиях. Во-первых, зигота сама по себе несимметрична, и плотность различных веществ в разных её участках отличается. Поэтому при делении зиготы клетки, получившие разные участки цитоплазмы, будут немного отличаться друг от друга. Во-вторых, на клетки в разных участках зародыша по-разному влияют определённые физические параметры, например, сила тяжести: клетку в нижней части зародыша она будет «тянуть» в ту сторону, где нет других клеток, а клетку в верхней – наоборот, туда, где находятся другие клетки. В-третьих, постепенно сами клетки начинают влиять друг на друга, синтезируя и секретируя вещества белковой или другой природы, они изменяют метаболизм соседних клеток или их микроокружение. Это приводит к запуску или выключению в клетках микроокружения экспрессии определённых генов, определяя дальнейшую «судьбу» клеток. Таким образом, детерминация ядер, оказавшихся в ходе дробления в районе вегетативного полюса, будет иной, чем у тех, которые попадут в цитоплазму анимального полюса. Так, бластомеры анимального и вегетативного полюсов наследуют различные цитоплазматические детерминанты. Бластомеры вегетативного полюса индуцируют анимальные

бластомеры к развитию по мезодермальному пути, в отсутствие такого воздействия анимальные бластомеры дают начало эктодерме.

Итак, с каждым делением клетки всё сильнее отличаются друг от друга и от зиготы, от которой они произошли. Постепенно клетки образуют три слоя – наружный (*эктодерму*), срединный (*мезодерму*) и внутренний (*энтодерму*). Клетки трёх слоёв, в свою очередь, начинают отличаться друг от друга под влиянием микроокружения и различных физических факторов, что приводит к образованию всех тканей и органов организма. В итоге, из совершенно недифференцированной зиготы получаются терминально дифференцированные (специализированные) клетки.

Однако у терминально дифференцированных клеток есть один большой недостаток: они не могут делиться. А поскольку все они рано или поздно стареют, то, если в организме не будет пула недифференцированных клеток, организм очень быстро «износится» и погибнет. Таким ресурсом недифференцированных клеток являются стволовые клетки. Ещё в 1908 году гистолог профессор А. А. Максимов описал основные этапы гистогенеза соединительных тканей и крови в эмбриональном и постнатальном периодах различных животных. Выводы, сформулированные профессором Максимовым, свидетельствовали в пользу того, что все клетки крови развиваются из одного предшественника, который имел вид лимфоцита. Впервые им было сформулировано это положение в статье «Лимфоцит как общая стволовая клетка разнообразных элементов крови в эмбриональном развитии и постфетальной жизни млекопитающих», опубликованной на немецком языке в 1909 году. В этой работе профессор А. А. Максимов впервые использовал термин «стволовая клетка».

В настоящее время известно, что *стволовые клетки* (гемопоезические, мезенхимальные, тканеспецифические стволовые клетки и другие) во взрослом организме поддерживают клеточный и тканевой гомеостаз. «Депозит» стволовых клеток существует во всех тканях организма, даже в нервной ткани и в сердце. Чем чаще обновляется ткань, тем больше у неё стволовых клеток, например, стволовых клеток кожи больше, чем в нервной ткани. Стволовые клетки способны к неограниченному количеству делений, но делятся они очень редко. В случае если ткань повреждена и нуждается в срочном восстановлении, они начинают делиться активней. Однако в процессе постепенной дифференцировки в стволовых клетках происходят изменения, которые способствуют снижению их «потентности». Так, тотипотентные стволовые клетки превращаются в плюрипотентные, а затем – в мультипотентные, олигопотентные (дающие начало только небольшому количеству типов клеток) и унипотентные (дающие начало только одному типу) клеток. До недавнего времени считали, что дедифференцировка специализированных зрелых

клеток невозможна. Но Дж. Гёрдону (John Bertrand Gurdon) из кембриджского Гёрдоновского института и С. Яманака (Shinya Yamanaka), сотруднику Института сердечно-сосудистых заболеваний Глэдстона в Сан-Франциско и профессору Университета Киото, 8 октября 2012 года была присуждена Нобелевская премия за «открытие возможности перепрограммирования дифференцированных клеток в плюрипотентные».

Ещё в 1962 году Дж. Гёрдон пытался найти ответ на вопрос, несёт ли ядро дифференцированной клетки достаточно информации, чтобы дать начало новому организму. Ранние экспериментальные работы Гёрдона основывались на пересадке в яйцеклетку с разрушенным ядром шпорцевой лягушки (*Xenopus laevis*) ядра дифференцированной клетки (клетки эпителия кишечника) головастика того же вида (рис. 15). Потребовалось довольно много экспериментов, но, в результате, исследователю удалось получить из такой «химерной» яйцеклетки нормально сформированного головастика.

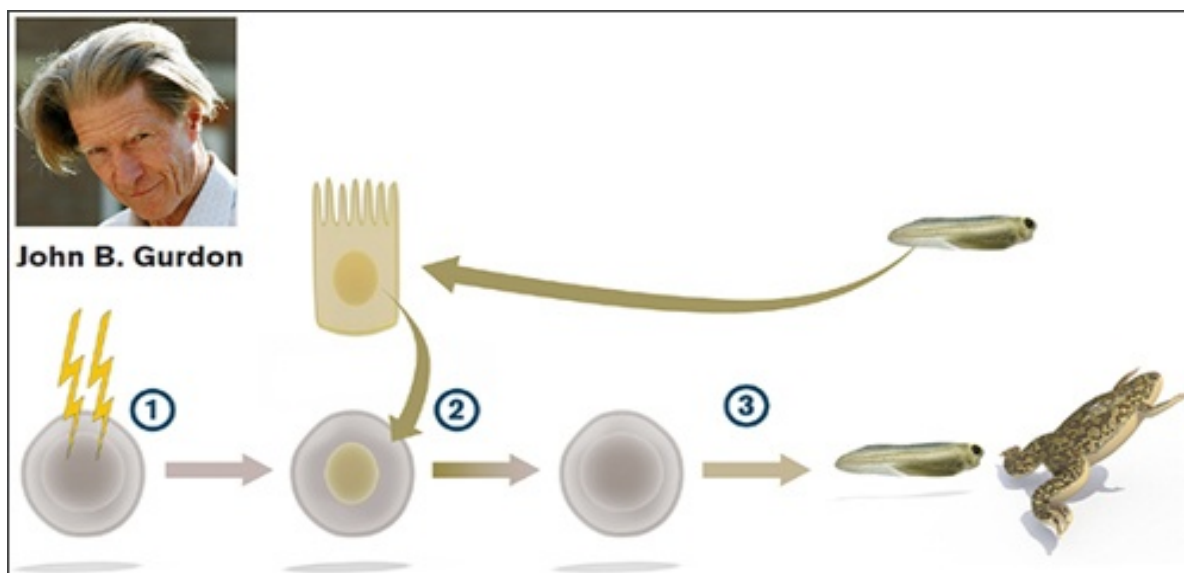


Рис. 15. Схема экспериментов Дж. Гёрдона. Он разрушил ультрафиолетом ядро в икринке шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (1), пересадил в неё ядро, взятое из дифференцированной клетки кишечника головастика того же вида (2), в результате чего из икринки развился головастик, а затем и взрослая лягушка (3) [9, 10]

Открытие Дж. Гёрдона перевернуло все предыдущие представления о дифференцировке и «стволовости» и вызвало целый ряд многочисленных исследований по клонированию. В 1963 году известный британский биолог Дж. Холдейн одним из первых употребил слово «клон» в применении к головастику вида *Xenopus*, сформировавшемуся из яйцеклетки с перенесенным ядром соматической клетки. В 1987 году учёные в Пушинском научном центре осуществили первое клонирование

млекопитающего – мыши. Для этого из яйцеклетки мыши удаляли ядро, а затем вводили в яйцеклетку ядро из эмбриональной мышечной клетки. При этом, также как и в опытах Гёрдона, был использован генетический материал соматической клетки, но недифференцированной (неспециализированной), а эмбриональной. А в 1996 году шотландскими учёными под руководством доктора наук Я. Вилмута (Jan Wilmut) удалось клонировать шотландскую черномордую овцу (семейство Bovidae), используя в качестве донора генетического материала эпителиальные клетки молочной железы. Зародыш имплантировали в матку суррогатной матери, которая и вынашивала ягнёнка. В этом случае принципиальный интерес представляет тот факт, что использовалась в качестве донора специализированная соматическая клетка. Эти эксперименты доказали, что можно получать генетические копии (клоны) млекопитающих, используя их соматические клетки. Таким образом, был сделан вывод о том, что дифференцировка клеток может быть обратимой, так как ядро дифференцированной клетки, помещенное в подходящие условия, способно дать начало новому организму.

В 2005 году К. Эгган и его сотрудники разработали метод генетического перепрограммирования соматических клеток путём слияния фибробластов (активно делящихся клеток соединительной ткани) с эмбриональными стволовыми клетками человека. В результате были получены гибридные тетраплоидные клетки, обладающие двумя парами хромосомных наборов. Примерно в каждой тысячной из таких химерных клеток (содержащих наборы хромосом от разных клеток) гены фибробластов «вернулись» в эмбриональное состояние и со стартовой позиции запустили процесс клеточной специализации. Экспериментаторы наблюдали превращение этих «избранных» гибридов в клетки нервной и мышечной ткани, а также в клетки волосных фолликулов.

Со времён экспериментов Дж. Гёрдона наука далеко шагнула вперёд и были разработаны тонкие методики, позволяющие перенести в клетку какой-либо ген и таким образом вызвать в этой клетке экспрессию белка, кодируемого данным геном. Одним из главных «транспортных средств», используемых для переноса генов в клетку, являются вирусы, в частности ретровирусы, или ретровирусные векторы. Ретровирусы относятся к группе вирусов, РНК-геном которых в инфицированных клетках конвертируется в ДНК. В геноме ретровируса «освобождают место», вырезая ретриктазами опасный генетический материал, и на это место «встраивают» гены, кодирующие синтез необходимых белков. Ретровирус заражает клетку, но вместо своей вирусной ДНК вставляет путём трансдукции в геном клетки «встроенные» гены (рис. 16). Гены начинают экспрессироваться, а их продукты – влиять на различные физиологические процессы

в клетке, а также на экспрессию других генов, и таким образом изменяют «судьбу» клетки.



Рис. 16. Схема переноса генов с использованием ретровирусных векторов и получение рекомбинантных клеток [16]:

- 1 – клонирование гена в ДНК ретровирусного вектора (transfer vector plasmids) с помощью стандартных генно-инженерных методов и получение рекомбинантного вируса;
- 2 – рекомбинантный вирус взаимодействует с рецепторами на поверхности клеток реципиента;
- 3 – после связывания рецепторов в клетку проникает вирусный РНК-геном и фермент обратная транскриптаза (ревертаза);
- 4 – ревертаза синтезирует ДНК – копию ретровирусного генома;
- 5 – клетка синтезирует копию ДНК вируса, которая транспортируется в ядро клетки;
- 6 – копия ДНК вируса в ядре клетки-реципиента интегрируется (встраивается) в хромосому клетки (провирус). С этого момента экспрессия вирусных генов идентична экспрессии генов клетки-реципиента;
- 7 – рекомбинантные гены транскрибируются в мРНК;
- 8 – начинается процесс трансляции, и образуются рекомбинантные белки;
- 9 – упаковка новых вирусных рекомбинантных белков, образование вирионов;
- 10 – образовавшиеся вирионы выходят из клетки-реципиента;
- 11 – цикл начинается заново с другими клетками-реципиентами

В 2006 году, спустя 40 лет после работы Дж. Гёрдона, С. Яманака с сотрудниками без пересадки ядра осуществили дедифференцировку и превратили дифференцированный мышинный фибробласт в плюри-

потентную стволовую клетку; назвали они их индуцированными плюрипотентными стволовыми клетками. В своих работах учёные сравнивали экспрессию генов в дифференцированных и эмбриональных стволовых клетках. Они выделили несколько десятков генов, повышенная активность которых была характерна именно для стволовых клеток. Эти гены они в разных сочетаниях «встраивали» при использовании ретровирусов в дифференцированные клетки путём молекулярного клонирования, чтобы заставить эти клетки дедифференцироваться. И после долгих экспериментов (рис. 17) удалось показать, что для перепрограммирования дифференцированной клетки в плюрипотентную стволовую достаточно повышения экспрессии всего четырёх генов: *Oct3/4*, *Sox2*, *Klf4* и *c-Myc*.

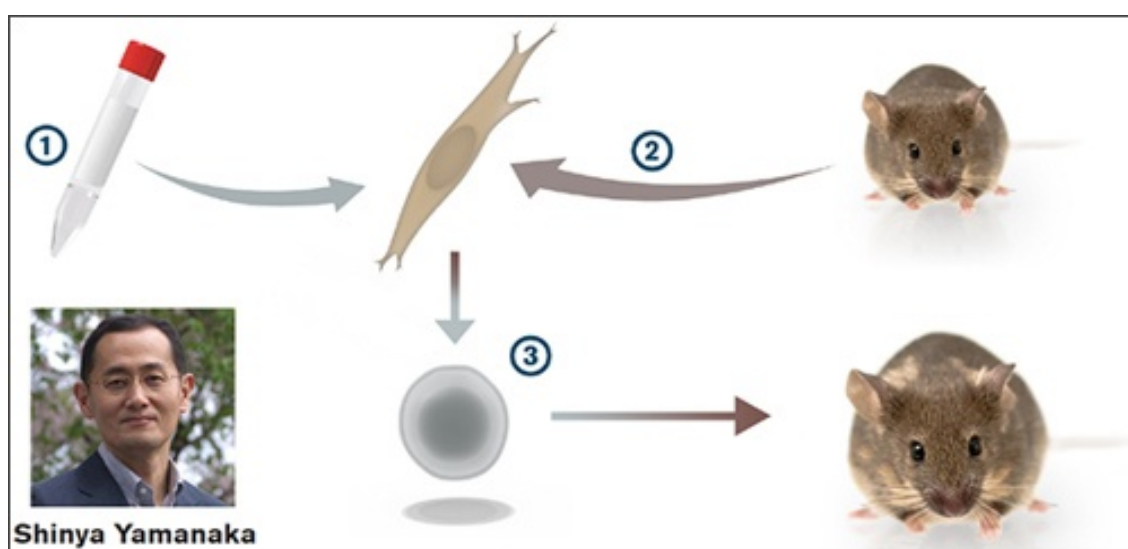


Рис. 17. Схема экспериментов С. Яманака. Гены 4-х белков (1) «встраивают» в дифференцированный фибробласт, полученный от мыши (2). Этот фибробласт превращается в плюрипотентную стволовую клетку (3), из которой можно потом получить взрослый мышинный организм [15]

Кроме того, С. Яманака показал, что полученные плюрипотентные стволовые клетки могут обратно дифференцироваться в клетки различных тканей, например, нервной или ткани кишечника и другие. После такого открытия были разработаны методики по превращению одного типа дифференцированных клеток в другой, минуя стадию стволовых клеток. И только в 2009 году китайские учёные (Zhao X. Y., Li W. и другие) получили взрослый организм мыши из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток.

По данным 2014 года, учёными Обоката Х., Вакаяма Т., Сасаи Я. (Obokata H., Wakayama T., Sasai Y.) и другими был установлен феномен клеточного репрограммирования – STAP (stimulus-triggered acquisition of pluripotency), который не требует переноса ядер и генов и введения

транскрипционных факторов. Данный эффект репрограммирования клеток в культуре происходит при сильном внешнем стимуле, например резкое снижение pH, в культуре зрелых лимфоцитов млекопитающих является стрессором для репрограммирования их в плюрипотентные клетки. В STAP клетках было обнаружено существенное снижение уровня метилирования ДНК в регуляторных областях маркерных генов, ответственных за проявление плюрипотентности. Таким образом, «судьба» клеток, в частности млекопитающих, зависит не только от ядерной и цитоплазматической генетической информации, но и от эпигенетических факторов, которые могут изменяться под влиянием стрессорных сигналов окружающей среды.

Следовательно, процессы клеточной дифференцировки и детерминации лежат в основе онтогенеза всех живых организмов и определяются дифференциальной активностью генов, но данные процессы являются обратимыми (клонирование, дедифференцировка, репрограммирование) при изменении клеточного микроокружения, вызванного эпигенетическими факторами и стрессорными сигналами среды.

4. Ооплазматическая сегрегация

Зрелая яйцеклетка, которую Т. Морган справедливо считал самой дифференцированной клеткой в организме, представляет собой мозаичную, высокогетерогенную систему. Одним из процессов, приводящим к гетерогенности яйцеклетки, является *ооплазматическая сегрегация* – неравномерное распределение биологически активных молекул (локальных детерминант) в цитоплазме яйцеклетки в результате её активации.

Формирование сегрегации цитоплазмы подробно изучено в созревающем яйце плодовых мушек (*Drosophila*) и амфибий (*Xenopus*). Неоднородность цитоплазмы яйцеклетки возникает вследствие неравного положения её полюсов среди клеток материнского организма. Так, у дрозофилы к переднему полюсу яйцеклетки примыкают фолликулярные и питающие клетки, которые продуцируют мРНК для белка Bicoid. Эта мРНК транспортируется в яйцеклетку, и ещё до оплодотворения и устанавливается градиент её концентрации с максимумом на переднем конце яйцеклетки, что обуславливает дальнейшее развитие передне-задней оси развивающегося организма и головных структур зародыша. Будущий задний полюс соседствует с фолликулярными клетками, которые доставляют в эту область яйца мРНК, считанную с гена *nanos (nos)*, детерминирующую образование заднего конца зародыша (рис. 18). Таким образом, в неоплодотворённой яйцеклетке *Drosophila* формируется

переднее-задняя ось будущего организма, обусловленная накоплением морфогенов. Проникновение сперматозоида в яйцеклетку в момент оплодотворения и последующее движение его пронуклеуса приводит к усилению ооплазматической сегрегации. В яйце наблюдаются сложные перемещения цитоплазмы и её функциональная перестройка. В результате она становится ещё более неоднородной.

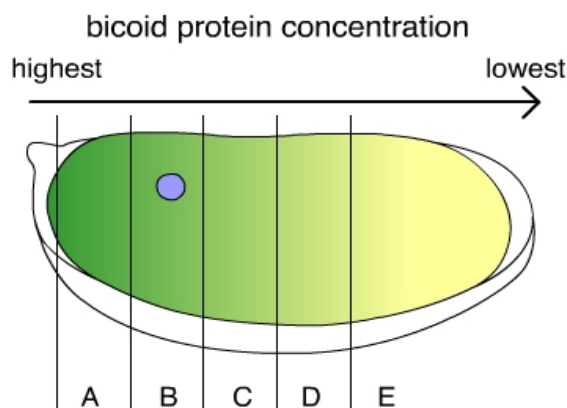


Рис. 18. Распределение морфогена (белка Bicoid) по продольной оси яйца дрозофилы [8]

У асцидий *Styelapartita* (рис. 19) цитоплазма центральной части яйцеклетки серого цвета (2) и окружена кортикальным слоем, клетки которых содержат жёлтые липидные включения (1). Сразу после оплодотворения цитоплазма яйца перемещается, и кортикальный её слой формирует жёлтый серп (4), расположенный между экватором и вегетативным полюсом.

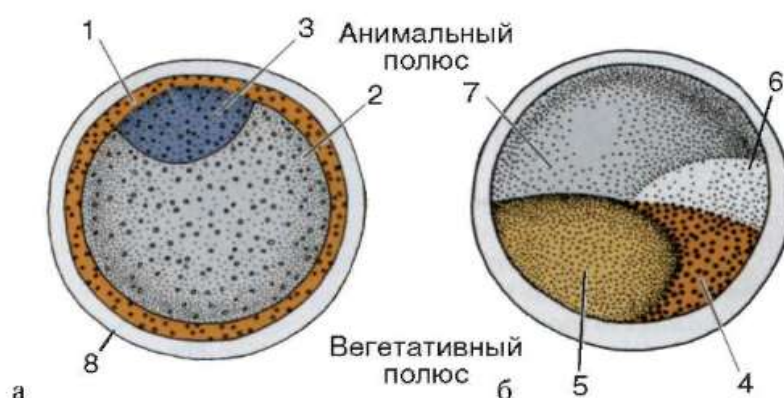


Рис. 19. Сегрегация цитоплазмы в яйце асцидии *Styelapartita*: а – до оплодотворения; б – после оплодотворения; 1 – кортикальная цитоплазма с жёлтыми липидными включениями; 2 – цитоплазма, содержащая большое количество желтка; 3 – светлая цитоплазма с ядром ооцита; 4 – жёлтый серп; 5 – цитоплазма с желтком; 6 – серый серп; 7 – анимальная светлая цитоплазма; 8 – хорион [1]

Перемещения цитоплазмы вследствие оплодотворения хорошо заметны и в яйцеклетке амфибий *Xenopus*. В ней слой тёмного пигмента меланина первоначально покрывает всё анимальное полушарие, а после проникновения сперматозоида поверхностный (кортикальный) слой цитоплазмы поворачивается примерно на 30° относительно внутренней массы желтка в направлении, которое зависит от места проникновения сперматозоида и формирования серого серпа. Перемещение цитоплазмы вследствие проникновения сперматозоида в яйцеклетку формируют оси зародыша. Это также является механизмом, приводящим к избирательной трансляции запасённых в яйцеклетке мРНК. В оогенезе амфибий на вегетативном полюсе яйца запасаются мРНК для белка Wnt11 (Wingless binding protein). В области серого серпа происходит полиаденилирование молекул мРНК Wnt11, что приводит к их активации и последующей трансляции. В результате только в этой области яйца образуется соответствующий белок – один из основных дорсализующих факторов. мРНК Wnt11 в вегетативном полюсе остаётся репрессированной. Следовательно, поворот цитоплазмы является механизмом, запускающим трансляцию мРНК Wnt11. Кроме ооплазматической сегрегации, гетерогенность яйцеклетки определяется также неоднородностью организации её плазмалеммы. Так, для овулировавших яйцеклеток млекопитающих характерна своеобразная организация цитоскелета, что приводит к мозаичной организации плазматической мембраны. Основная часть мембраны яйцеклетки образует микроворсинки, и лишь примерно от одной десятой до одной пятой общей поверхности яйцеклетки мыши представлено районом, в котором нет микроворсинок. Под плазмалеммой в этой области яйцеклетки располагается густая сеть микрофиламентов, а глубже находится мейотическое веретено метафазы II. У других млекопитающих район, не имеющий микроворсинок, также соответствует той области цитоплазмы, где располагается мейотическое веретено. При оплодотворении сперматозоид контактирует с мембраной яйцеклетки в месте, богатом микроворсинками. После этого генетический материал сперматозоида попадает в цитоплазму яйцеклетки, а часть его мембраны встраивается в месте его проникновения в мембрану яйцеклетки. Так возникает разнородность плазматической мембраны, которая отражается на нескольких делениях дробления. Во время интерфазы синтез рРНК в ядрышках этих бластомеров происходит в разное время, продолжительность фазы репликации ДНК у них также неодинакова. Один из бластомеров содержит в плазмалемме антигены, а в цитоплазме – структурные компоненты хвоста спермия. Предполагается, что именно этот бластомер вступает во второе деление дробления на 20–60 минут раньше других. Мембранные антигены сперматозоида сохраняются в плазмалеммах «потомков» этого бластомера

еще на протяжении нескольких делений. Потомки бластомера, который на двухклеточной стадии делится первым, с большей вероятностью дадут начало развитию внутренней клеточной массы бластоцисты, тогда как потомки запаздывающего при делении бластомера с большей вероятностью станут источником для формирования внезародышевых частей эмбриона. Таким образом, гетерогенность яйцеклетки не только определяет последующую дифференцировку клеток зародыша, но и обеспечивает развитие зародыша как единой системы.

Формирование практически каждой клетки взрослого организма детерминируется цитоплазматической сегрегацией специфических факторов уже во время первого деления дробления. Дробление, при котором судьба бластомеров жёстко предопределена, называется детерминированным, или мозаичным. Если судьба бластомеров может меняться, дробление называется регулятивным, или недетерминированным. Детерминированное дробление характерно для многих животных – гребневиков *Stenophora*, моллюсков *Mollusca*, круглых *Nematoda* и кольчатых червей *Annelida*, асцидий *Ascidacea* и других. Так, у мелкой свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* во взрослом состоянии ровно 959 соматических клеток. При этом каждый бластомер *C. elegans* делится строго определённым образом и даёт определенный набор клеток-потомков. При удалении бластомера все его потомки отсутствуют, а на других клетках это никак не отражается: они образуются в тех же местах и в те же сроки, что и в норме. При регулятивном дроблении (*Echinodermata*, *Chordata*) утрата части зародыша восстанавливается за счёт окружающих клеток, и зародыш обладает всеми нормальными частями, но имеет меньший размер. У класса насекомых (*Insecta*) реализованы оба типа развития и промежуточные формы между ними: регулятивный механизм свойственен стрекозам (отряд *Odonata*) и прямокрылым (отряд *Orthoptera*), мозаичный – мухам (отряд *Diptera*) и бабочкам (отряд *Lepidoptera*).

Таким образом, развитие живых организмов детерминируется в раннем эмбриональном периоде за счёт цитоплазматической сегрегации в яйцеклетке, однако у зародышей с жёстко детерминированными клетками сохраняется ограниченная возможность переопределения клеточной «судьбы» вследствие индуктивных межклеточных взаимодействий.

5. Позиционная информация

Концепция *позиционной информации* базируется на том, что клетка оценивает свое местоположение в координатной системе зачатка органа, а затем дифференцируется в соответствии с этим положением. По мнению английского биолога Л. Вольперта, положение клетки определяется

концентрацией *морфогенов*, расположенных вдоль оси зародыша по определённому градиенту, а формирование *морфогенетических полей*, предетерминировано геномом. Так, полярные градиенты морфогенов в яйцеклетке дрозофилы формируются благодаря активности «генов с материнским эффектом» фолликулярных и питающих клеток. Градиенты обычно снижаются от переднего полюса к заднему концу зародыша и определяются гетерогенностью внешней среды, например поступлением питательных веществ, концентрацией кислорода или силой тяжести. Любое из условий или их совокупность могут вызвать первичный физиологический градиент в яйцеклетке, после которого возможно возникновение вторичного градиента под некоторым углом к первому. Система из двух или более градиентов создаёт определённую координатную систему. При достаточно сильных потоках вещества и энергии системы могут самопроизвольно и устойчиво развиваться и дифференцироваться. Кроме этого, для дифференцировки клетки необходимо наличие межклеточных контактов за счет лиганд-рецепторного взаимодействия активируется *внутриклеточный сигнальный путь*. Так, одни клетки (развивающегося) многоклеточного организма могут влиять на «судьбу» других (соседних) клеток, секретируя во внеклеточное пространство растворимые (паракринные) молекулы, убывающие от своего источника по градиенту концентрации. В результате достигается изменение экспрессии определённых генов и реакция клеток-мишеней: синтезируются требуемые белки, изменяется интенсивность энергетического обмена, запускаются клеточная пролиферация, апоптоз, дифференцировка и реализуется морфогенетический процесс. Позиционная информация является более общим понятием, который предполагает процесс сохранения цитоплазмы яйца, расположение бластомеров и индукционные взаимодействия, которые оказывают влияние на экспрессию генов и проявляются в онтогенезе на всех стадиях. У амфибий и других животных на стадии поздней бластулы можно совершенно точно указать презумптивные зачатки – области, из которых разовьются определённые органы. Первоначальное воздействие морфогенетического поля приводит к осуществлению какого-либо морфогенетического процесса (например, образованию определённой закладки), следствием чего становится изменение поля, а это, в свою очередь, приводит к дальнейшему формообразованию. По мере развития образуются всё новые и новые морфогенетические поля, управляющие развитием различных органов. Каждое из полей конкретных органов развивается независимо от других. В основе координированного развития лежат межклеточные и межзачатковые взаимодействия. Если презумптивные клетки из морфогенетического поля ноги *Drosophila* перенести в морфогенетическое поле антенны

(апикальной части предполагаемой антенны), они способны воспринимать позиционную информацию по месту своей новой локализации, хотя и сохраняют свое исходное предопределение (формируют только коготок).

6. Проявление в онтогенезе факторов, влияющих на дифференциальную экспрессию генов

В оогенезе некоторых организмов дифференцировка цитоплазмы яйца обусловлена амплификацией и рекомбинацией генов, функционированием хромосом типа ламповых щёток, информосом. Хромосомы типа ламповых щёток имеют отчетливо выраженное хромомерное строение. Из хромомеров в виде петель вытянуты ДНК перпендикулярно оси хромосомы. Поскольку хромосомы типа ламповых щёток находятся на стадии диплотены профазы I мейоза и состоят из четырех хроматид, каждый участок таких хромосом представлен четырьмя хромомерами и четырьмя петлями (участками хромомера с интенсивной транскрипцией). Большая часть молекул иРНК, синтезированных на хромосомах типа ламповых щёток, не связана с рибосомами и используется во время раннего эмбриогенеза.

Селективная амплификация (умножение числа копий) генов рРНК. Одна из стратегий для транскрипции огромного количества определённой РНК заключается в образовании большого количества копий соответствующего гена (например, амплификация генов рибосомной РНК у насекомых и амфибий, а также генов хориона – оболочки яйца – у дрозофилы и некоторых других насекомых). Особенно это характерно для амфибий, ооциты которых содержат приблизительно в 200 000 раз больше рибосом, чем соматические клетки. Чтобы заполнить такой огромный объём клетки рибосомами, количество ДНК увеличивается путём репликации настолько, что, например, у *X. laevis* по окончании амплификации содержание ДНК почти равно количеству ДНК, заключённому в диплоидном наборе хромосом. Известно, что зиготы, в которых отсутствуют ядрышковые организаторы – центр синтеза рРНК, развитие организма продолжается за счёт использования запасённых рибосом до стадии самостоятельно питающегося головастика. Поэтому рибосому можно рассматривать как продукт дифференцированной клетки ооцита (например, у амфибий). В ооцитах амфибий синтез рРНК происходит в течение продолжительной профазы первого деления мейоза, а именно на длительной стадии диплотены после конъюгации гомологичных бихроматидных хромосом.

Механизм амплификации генов рРНК хорошо изучен на *X. laevis*. В диплоидной клетке *X. laevis* имеются две гомологичные области генов рРНК. Каждая область содержит примерно 450 копий единиц транскрипции, и внутри каждой области эти копии разделены нетранскрибиру-

емыми спейсерами. Все наборы генов рРНК на хромосоме идентичны, а нетранскрибируемые спейсеры даже на одной хромосоме разные по длине на разных участках. Однако в ооците генов рРНК в 1500 раз больше, чем в соматической клетке. Если каждое ядрышко содержит 450 копий генов, то общее число генов для предшественников рРНК в ооците амфибий составляет $6,8 \times 10^5$. Наиболее интересный механизм амплификации связан с тем, что в каждом отдельном внутриядерном тельце Кахала или коилин-содержащем тельце (обеспечивают процессинг мРНК, содержат сплайсомные белки, коилин, РНК-полимеразу II и многие транскрипционные факторы) участки нетранскрибируемых спейсеров имеют одинаковую длину. Однако гетерогенность по длине спейсеров наблюдается среди хромосомных кластеров генов в одних и тех же клетках, поэтому внутриядерные коилин-содержащие тельца не являются простыми копиями всего хромосомного ядрышка. Одна из моделей, при помощи которой можно объяснить образование сотен транскрипционных единиц рибосомных генов, разделённых идентичными нетранскрибируемыми спейсерами, – модель «катящегося кольца». При этом кольцо должно содержать одну единицу транскрипции рРНК и один нетранскрибируемый спейсер. С помощью этого механизма могут быть созданы внутриядерные коилин-содержащие тельца с одинаковыми по длине участками нетранскрибируемых спейсеров между генами. Аналогичный механизм репликации характерен для многих вирусов.

Репликация в одном направлении кольцевой замкнутой двухнитевой молекулы ДНК по механизму «катящегося кольца» начинается с расщепления фосфодиэфирной связи в одной из нитей. При этом в ооците один участок ДНК с набором рибосомных генов сворачивается в кольцо, после чего происходит разрыв одной цепи ДНК (ник), с которого начинается синтез ДНК в обоих направлениях. Удлинение 3'-конца и вытеснение 5'-конца цепи образует репликативную вилку, а кольцевая нить представляет собой бесконечную матрицу. Вытесненная цепь может затем реплицироваться в направлении от 5'- к 3'-концу. Когда синтезированный участок становится длиннее матрицы и содержит гомологическую последовательность более длины одного генома, то образовавшаяся молекула подвергается расщеплению эндонуклеазами. «Замкнутые кольца» являются типичными для экстрахромосомных ядрышек, а структуры типа «лариатов» (лассо), по-видимому, представляют собой промежуточные продукты «катящегося кольца». Механизм «катящегося кольца» позволяет получать большое число генов, кодирующих синтез рРНК, расположенных в tandemной последовательности, что даёт возможность на матрице ДНК с единичной последовательностью синтезировать одновременно много рРНК. Подобный механизм необходим ооцитам для того, чтобы образовывать

большое количество рибосом для быстрого синтеза клеточных белков в процессе ускоренного роста эмбриона на ранних стадиях развития.

Известно, что некоторые мРНК блокируются на уровне трансляции, будучи в составе рибонуклеопротеиновых частиц – информосом. Вследствие этого происходит задержка трансляции, например в оогенезе, или в клетках хрусталика глаза.

На стадии эмбрионального развития организмов на дифференциальную активность генов влияет *эмбриональная индукция* – взаимодействие элементов развивающегося зародыша, при котором воздействие одного из них индуцирует развитие другого, запуская цепь морфогенетических процессов. Индукционные взаимодействия опосредуются сигнальными молекулами (факторами роста) или их аналогами, которые в организме на разных стадиях онтогенеза участвуют в регуляции роста и дифференцировки клеток. Элемент, оказывающий воздействие, – *индуктор*, а способность воспринимать индукционное воздействие и отвечать на него определяется как *компетенция*. Элемент организма, способный реагировать на индукционное воздействие изменением своего развития, называется компетентной тканью, которая предопределяет развитие организма. Далее детерминированное состояние реализуется в процессе дифференцировки клеток за счет дифференциальной экспрессии генов. Для эффективного ответа на индуцирующее влияние необходимо наличие в компетентной ткани определённого, минимального числа клеток, так называемого «порога массы». Одиночные клетки не воспринимают действие индуктора. Если же их число превышает «порог массы» и клетки обладают минимальной организацией, то количество образуемых структур из возможного спектра для данной конкретной индукции зависит от объёма реагирующей ткани, чем больше в ней клеток, тем активнее ее реакция. При этом для оказания индуцирующего воздействия достаточно лишь одной клетки индуктора.

- Гомотипическая индукция заключается в том, что индуктор побуждает окружающий материал к развитию в том же направлении, как и природа индуктора.

- Гетеротипическая индукция, при которой одна структура зародыша индуцирует формирование иной структуры (хордомезодерма индуцирует появление нервной трубки и всех остальных частей зародыша).

В 50–60-е гг. голландский эмбриолог П. Ньюкоп продемонстрировал, что первым индуцирующим событием в развитии зародыша является не воздействие хордомезодермы на дорзальную эктодерму на стадии ранней гастролы, а осуществляемая на стадии бластулы индукция энтодермой (клетками, расположенными на вегетативном полюсе зародыша) преобразования смежных клеток в хордомезодермальную

закладку и индукция определённой клеточной группы к развитию в направлении *мезодермы* – дорзальной и вентральной, то есть происходит организация дорзо-вентральной регионализации и лево-правой асимметрии процессов развития. Запускает индукцию поворот яйцеклетки при оплодотворении.

В индукции может наблюдаться «кумулятивный» эффект, т. е. в индукции той или иной структуры может участвовать не одна, а несколько тканей. Рассогласования во времени созревания индуктора и компетентной ткани нарушают ход соответствующих морфогенетических процессов.

Следует отметить, что в зародыше имеются эквипотенциальные области, имеющие одинаковые возможности развития. На определённой онтогенетической стадии развивающиеся части зародыша обладают слабой компетенцией (способностью к выбору пути развития при определенных внешних воздействиях), а их детерминация лабильна и не носит необратимого характера. Поэтому возможно изменить «судьбу» части зародыша в результате изменения условий её развития – *трансдетерминация*.

Эквифинальность развития – достижение нормального конечного результата разными путями. Например, после диссоциации и перемешивания бластомеров морского ежа формировались нормальные личинки, однако образование структур происходило иными путями: кишечник формировался не путём инвагинации, а вследствие расхождения клеток из плотной массы, при этом скелет возникает раньше, чем покровы.

Эмбриональная регуляция – признак эволюционного прогресса, так как обеспечивает возможность получения нормального конечного результата развития даже при его нарушениях, а также определяет резерв изменчивости, который может стать источником эволюционных преобразований. В ходе онтогенеза способность к эмбриональной регуляции снижается, но не исчезает совсем, так как известно, что у взрослого организма существует, например, способность к регенерации.

В постнатальный период дифференциальная активность генов может быть прослежена непосредственно по изменению некоторых особенностей хромосом, особенностям хромосомного фенотипа. Примером служат пuffy в гигантских политенных хромосомах. Морфологически пuffy представляют собой «вздутия» определённых районов хромосом, обусловленные декомпактизацией отдельных дисков и интенсивным синтезом в них РНК. Пuffy содержат высокоактивные в функциональном отношении тканеспецифичные и стадийспецифичные гены. В различные периоды жизни личинки повышенную активность обнаруживают различные участки хромосом. Установлена роль гормонов (в частности экдизона – гормона окукливания – в индукции пuffy), а также роль белков,

образующихся на матрицах иРНК, транскрибированных с ДНК в ранних пуфах, в индукции поздних пуфов.

Стероидные гормоны, к ним и относится экдизон, активируют гены не во всех клетках, а только в клетках-мишенях, содержащих специальные рецепторные белки, с которыми специфически связываются молекулы гормона. Это связывание происходит в цитоплазме, а затем образовавшийся комплекс проникает в ядро, где взаимодействует с определёнными негистоновыми белками хромосом. В отсутствие гормонов эти белки блокируют либо промоторные, либо иные, пока неизвестные, регуляторные участки определённых генов. Комплекс «гормон-рецептор» снимает блокирующее действие негистонового белка-репрессора, следствием чего является транскрипция данного гена, созревание иРНК, транспорт её в цитоплазму и синтез белка. При этом стероидные гормоны и белки не единственные факторы, ответственные за переключение генов в онтогенезе, а следовательно, и за смену фаз онтогенеза организма, но механизм их действия изучен наиболее полно.

Таким образом, в каждый отдельный период жизни в клетке функционирует только часть её генетического аппарата, а остальная часть находится в репрессивном состоянии. После определённого отрезка времени начинает функционировать другая группа генов, которая, вероятно, одновременно репрессирует остальной генетический материал. Репрессия большей части генетического материала и функционирование только небольшой части генов могут в самой общей форме объяснить, как при наличии одинаковых по количеству и структуре молекул ДНК образуются клетки с резкими различиями в белковом синтезе.

7. Регуляция дифференциальной экспрессии генов и клеточной дифференцировки на уровне транскрипции, трансляции и посттрансляционной эпигенетической регуляции

Уровни регуляции дифференциальной экспрессии генов соответствуют этапам реализации информации в направлении ген → полипептид → признак и включают не только внутриклеточные процессы, но тканевые и организменные. В дифференцированных клетках весь генный набор сохранён, но не все гены функциональны и по-разному используются в процессах транскрипции. Процессы развития связаны со взаимодействием цитоплазмы и ядра, при которых возникают вещества цитоплазмы, которые выполняют роль индукторов, репрессоров и регуляторов транскрипции генов.

Установлено, что регуляция транскрипции у эукариот является комбинационной, т. е. активность каждого гена регулируется большим спектром генов-регуляторов. У многих эукариотических генов, кодиру-

ющих белки и транскрибируемых РНК-полимеразой II, в ДНК имеется несколько областей, которые узнаются разными белками-регуляторами. Одной из них является область, расположенная вблизи промотора. Она включает около 100 пар нуклеотидов, в том числе ТАТА-блок, располагающийся на расстоянии 25 пар нуклеотидов от точки начала транскрипции. Для успешного присоединения РНК-полимеразы II к промотору необходимо предварительное соединение с ТАТА-блоком фактора транскрипции и образование стабильного транскрипционного комплекса ДНК с белком. Именно такой комплекс узнаётся РНК-полимеразой II. Последовательности нуклеотидов, примыкающие к ТАТА-блоку, формируют требуемый для транскрипции элемент, расположенный перед промотором. Другая область, играющая важную роль в регуляции активности эукариотических генов, располагается на большом расстоянии от промотора (до нескольких тысяч пар нуклеотидов) – энхансер эукариотических генов содержит серию коротких нуклеотидных последовательностей, которые связываются с соответствующими регуляторными белками. Взаимодействие этих белков с ДНК вызывает включение или выключение генов. Особенностью регуляции экспрессии эукариотических генов является также существование белков-регуляторов, способных контролировать транскрипцию многих генов, кодирующих, возможно, другие белки-регуляторы, которые, в свою очередь, обладают координирующим влиянием на активность многих генов, и их действие характеризуется плейотропным эффектом. В геноме эукариот имеется много избыточной ДНК, а в каждой клетке организма транскрибируется всего 7–10 % генов, предположение о том, что у них преобладает позитивный генетический контроль, при котором активация небольшой части генома оказывается более экономичной, чем репрессия основной массы генов.

Особенность регуляции генной активности у эукариот связана с образованием стойкого комплекса ДНК с белками – хроматина. Ведущая роль в компактизации ДНК принадлежит гистонам, которые участвуют и в процессах регуляции генной активности. Условием для осуществления транскрипции у эукариот является предварительная декомпактизация хроматина на соответствующем участке, где ослабляется связь с нуклеосомными гистонами. При этом нуклеосомная организация хроматина не утрачивается даже в ходе транскрипции, однако становится возможным контакт ДНК и негистоновых белков и происходит дерепрессия гена.

Также в основе регуляции дифференциальной активности генов на уровне транскрипции лежат *обратимые эпигенетические изменения* отдельных участков хроматина с сохранением непрерывной структуры: конденсация и деконденсация хроматина, метилирование ДНК (например, на стадии зиготы ДНК у всех млекопитающих тотально деметилирована,

а на последующих стадиях онтогенеза происходит её метелирование) и необратимые изменения участков хроматина.

Отличительной особенностью регуляции экспрессии генов эукариот является возможность её осуществления не только на стадии транскрипции, но и на других этапах реализации наследственной информации. Регуляция на стадии транскрипции является наиболее экономичной, но недостаточно быстро реагирующей на изменение ситуации. Так, возникшая в клетке потребность в каком-либо белке не может быть быстро удовлетворена путём включения транскрипции соответствующего гена. Синтезированный транскрипт должен подвергнуться процессингу, затем зрелая мРНК должна выйти из ядра в цитоплазму и, образуя комплекс с рибосомами, подвергнуться трансляции и посттрансляционным изменениям, что приводит к формированию активного белка. В том случае, когда клетке нужно прекратить синтез какого-то продукта, после выключения транскрипции соответствующего гена в цитоплазму некоторое время, пока не деградируют под действием ферментов, будут продолжать поступать созревающие молекулы мРНК, участвующие в синтезе пептидных цепей. Для эффективной регуляции экспрессии генов эукариот должны существовать механизмы, работающие не только на стадии транскрипции, но и других стадиях реализации генетической информации.

Связанная с экзон-интронной организацией генов необходимость процессинга, в том числе сплайсинга, делает возможным регуляцию этих процессов в ядре. Это создаёт возможность, используя один и тот же первичный транскрипт, обеспечивать образование матриц для разных пептидов, вырезая из них разные последовательности или изменяя последовательности на 5'- и 3'-концах мРНК.

Транспорт зрелых мРНК из ядра в цитоплазму также регулируется. Так, лишь небольшая часть РНК, транскрибируемых с генов, после сплайсинга покидает ядро, а остальные молекулы РНК деградируют. Регуляция трансляции осуществляется на стадии инициации путём воздействия на один из факторов, катализирующих присоединение тРНК к малой субъединице рибосомы. Прокариотическая малая субъединица рибосомы имеет сродство к короткой полипуриновой последовательности мРНК (например, GAGG), находящейся за несколько нуклеотидов перед инициаторным кодоном AUG (реже GUG). Рибосомная 30S частица фиксирует эту предынициаторную последовательность, а антикодон инициаторной тРНК взаимодействует с инициаторным кодоном. У эукариот рибосомная 40S частица, несущая ряд факторов инициации и метионил-тРНК, связывается преимущественно с 5'-концом цепи мРНК (как правило, кэпированным). После этого рибосома «скользит» по цепи мРНК в направлении к 3'-концу без трансляции (при этом расходуется АТФ), пока не достигнет триплета AUG, который соединяется

с антикодоном тРНК. В обоих случаях устанавливается стартовая точка трансляции (точка отсчёта триплетов). Далее фиксированная на инициаторном кодоне малая рибосомная субъединица присоединяет к себе большую рибосомную субъединицу, что сопровождается гидролизом ГТФ и устранением с рибосомной субъединицы фактора кодоновой инициации, и на инициаторном кодоне находится полная (70S или 80S) рибосома, восприимчивая к аминоацил-тРНК, соответствующая следующим нуклеотидным триплетам мРНК.

Регуляция процесса реализации наследственной информации может осуществляться и на стадии посттрансляционных эпигенетических изменений. Синтезированный полипептид подвергается дальнейшим химическим превращениям. Основным механизмом регуляции экспрессии генов на этом этапе является ковалентная модификация белковых факторов трансляции путём их обратимого фосфорилирования – дефосфорилирования, метилирования – деметилирования, ацетилирования – деацетилирования.

Таким образом, клеточная дифференцировка у всех живых организмов определяется экспрессией генов, которая отличается в разных типах клеток. Дифференцированные клетки каждого типа обладают собственной им морфологией и поддерживают свой собственный набор синтезируемых белков, так как мРНК у разных типов клеток также различны. Наличие сложных транскрипционных, посттранскрипционных и других механизмов регуляции обеспечивает реализацию дифференциальной экспрессии генов и дифференцировку клеток.

Вопросы для самоконтроля

1. Объясните значение ооплазматической сегрегации в онтогенезе живых организмов.
2. Объясните, что такое позиционная информация и её роль в онтогенезе?
3. В чём заключается понятие эмбриональной индукции и её значение в дифференциальной экспрессии генов?
4. Объясните, какие основные этапы выделяют в регуляции активности генов в онтогенезе?
5. В чём заключается роль детерминации в дифференцировке клеток?
6. Почему механизм детерминации является основой развития организма?
7. Какова роль ядра и цитоплазмы в дифференциальной активности генов в онтогенезе?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Биология: учебник : в 2 т. [Электронный ресурс] / под ред. В. Н. Ярыгина. – М. : Высшая школа, 2011. – Т. 1. – 736 с. – Режим доступа : http://vmede.org/sait/content/Biologiya_yarigin_t1_2011

2. Гилберт С. Биология развития : в 3 т. / С. Гилберт. – М. : «Мир», 1995. – Т. 3. – 352 с.
3. Корочкин Л. И. Биология индивидуального развития / Л. И. Корочкин. – М. : Высшая школа, 2002. – 264 с.
4. Серов О. Л. Генетика развития: курс лекций для студентов 3 курса / О. Л. Серов. – Изд-во ФЕН НГУ, 1998. – 115 с.
5. Фаллер Д. М. Молекулярная биология клетки / Д. М. Фаллер, Д. Шилдс. – М. : «Бином», 2003. – 268 с.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

6. Супотницкий М. В. Генотерапевтические векторные системы на основе вирусов [Электронный ресурс] / М. В. Супотницкий // Биопрепараты. – 2011. – № 3. – С. 15–26. – Режим доступа : <http://supotnitskiy.ru/stat/stat89.htm>
7. Davidson E. H. Genomic regulatory systems / E. H. Davidson // Development and evolution. Acad. Press, 2001. – 261 p.
8. Driever W. Autonomous determination of anterior structures in the early Drosophila embryo by the bicoid morphogen [Electronic resource] / W. Driever, V. Siegel, C. Nüsslein-Volhard // Development. – 1990. – Vol. 109, № 4. – P. 811–820. – Way of access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
9. Gurdon J. B. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles / J. B. Gurdon // J. Embryol. Exp. Morphol. – 1962. – Vol. 10. – P. 622–640.
10. Gurdon J. Nuclear reprogramming in eggs [Electronic resource] / J. Gurdon // Nature Medicine. – 2009. – Vol. 15. – P. 1141–1144. – Way of access : <http://www.nature.com>
11. Gurdon J. B. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles [Electronic resource] / J. B. Gurdon // J. of Embryology and Experimental Morphology. – 1962. – Way of access : <http://www.nobelprize.org>
12. Nusslein-Folhard C. Gradient that organizes embryo development / C. Nusslein-Folhard // Scientific American. – 1996. – P. 38–43.
13. Obokata H. Stimulus-triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency / H. Obokata, T. Wakayama, Y. Sassai et al. // Nature. – 2014. – Vol. 30, № 505. – P. 641–647.
14. Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors / K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki et al. // Cell. – 2007. – Vol. 131, Issue 5. – P. 861–872.
15. Takahashi K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [Electronic resource] / K. Takahashi, S. Yamanaka // Cell. – 2006. – Way of access : <http://www.nobelprize.org>
16. Young L. S. Viral gene therapy strategies: from basic science to clinical application / L. S. Young, P. F. Searle, D. Onion et al. // J. Pathol. – 2006. – Vol. 208. – P. 299–318.

ЛЕКЦИЯ 6

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ОНТОГЕНЕЗА

ПЛАН

1. Особенности взаимодействия генов в онтогенезе организмов.
2. Гены, регулирующие онтогенез организмов.
3. Генные сети.

В зиготе заложена программа развития, которая реализуется в процессе онтогенеза вследствие взаимодействия ядра и цитоплазмы, разных частей зародыша; молекулярно-генетических факторов, с одной стороны, и внешней средой, с другой. Реализация программ морфогенеза происходит под воздействием комплекса генетических и негенетических факторов. В предыдущей лекции рассмотрена дифференциальная активность генов в онтогенезе и механизмы её регуляции. Данная лекция является продолжением лекции 5 и включает материал о взаимодействиях генов в онтогенезе, так как в реализации генетической программы онтогенеза участвует значительное число генов, которое может достигать нескольких тысяч.

1. Особенности взаимодействия генов в онтогенезе организмов

Развитие многоклеточных организмов состоит из 3-х взаимосвязанных процессов, протекающих одновременно:

- 1) роста (накопление клеточной массы), происходящего путем митоза;
- 2) дифференцировки генетически идентичных клеток в различающиеся по своим свойствам ткани;
- 3) формирования из генетически и анатомически одинаковых наборов тканей различных органов.

Механизмы онтогенеза на разных уровнях являются *универсальными и консервативными*. В основе их регуляции находятся взаимодействия между генами организма, их *системное*, а не автономное функционирование (рис. 20). Система генов, регулирующих развитие того или иного признака (или морфогенетического процесса) организована по *иерархическому принципу* и в каждом регуляторном генетическом «каскаде» существуют две группы генов «*гены-господа*» и «*гены-рабы*».

«Гены-господа» – в случае их активации «разрешают» реализацию определенного морфогенетического процесса и включают комплекс подчиненных «генов-рабов», что, в конечном итоге, и приводит к форми-

рованию определенной структуры. Гены, управляющие переключением: главные гены, «гены-господа». К ним относятся *гены-регуляторы*, продукты которых влияют на экспрессию других генов в онтогенезе организмов, и *гомеозисные гены*, продуктами которых являются *морфогены*. Гены, обеспечивающие переход от одного состояния (узла) к другому – это исполняющие гены, «гены-рабы», продуктами которых являются ферменты, структурные белки (рис. 20).



Рис. 20. Схема генетического контроля онтогенеза на разных его этапах

Экспрессия всех генов контролируется разнообразными эффекторами. Часть из них закодирована в генотипе, часть – поступает в клетки извне или образуется в ходе метаболических реакций. Синтез эффекторов контролируется в том числе и условиями внешней среды, например, белки «теплового шока», регулирующие процессы транскрипции, синтезируются у дрозофилы при температуре выше 35°C, при воздействии

антибиотика антимицина А, гидроксилamina, колхицина, хлорида аммония и других веществ.

3. Генетические и молекулярно-генетические системы, управляющие развитием, *консервативны* и присущи как примитивным, так и высоко-развитым организмам. Например, мышинный ген *small eyes* способен заменить ген *eyeless (ey)* дрозофилы и «запустить» процесс развития глаза в ходе метаморфоза развивающейся мухи. Специфичность развивающегося органа (возникает глаз дрозофилы, а не мыши) обусловлена особенностями функционирования *регуляторных и структурных генов конкретного «каскада»*, которые обеспечивают морфогенез данного органа, так как именно они регулируют синтез продуктов, обеспечивая специфические межклеточные взаимодействия, и определяют становление конкретной формы организма в онтогенезе или изменяют метаболические процессы в онтогенезе.

4. Весь процесс индивидуального развития осуществляется на основе двух типов воздействия генов друг на друга: *активирующие* и *тормозящие* воздействия.

Выделяют две «модели» генетических закономерностей онтогенеза

1. Т. Морган полагал, что, несмотря на одинаковый набор генов во всех клетках многоклеточного организма, в онтогенезе в клетках, расположенных в разных частях развивающегося зародыша, и на разных стадиях его развития функционируют разные гены, поэтому они и приобретают сначала химическое, а затем и морфологическое своеобразие. Активация разных генов в разных клетках обусловлена различиями в химическом составе цитоплазмы в разных частях зародыша, сложившимися ещё в ходе оогенеза. Следовательно, процесс индивидуального развития начинается не в момент дробления или даже оплодотворения яйца, а в период его созревания, оогенеза. А клеточная специализация является, по Моргану, следствием дифференциальной активности генов или дифференциальной транскрипции.

2. Р. Гольдшмидт придерживался другой точки зрения. Он предположил, что во всех клетках одинаково работают все гены, но их продукты попадают в разную клеточную плазму (элемент сходства с Т. Морганом). В одной плазме способны функционировать продукты одних генов, в другой – других. В этом случае специализация клеток осуществляется на уровне дифференциального функционирования генопродуктов, можно сказать – на посттранскрипционном уровне, на уровне дифференциальной трансляции, а иногда и на уровне посттрансляционных модификаций, то есть изменений, происходящих с белком после его синтеза.

Следует отметить, что бельгийский эмбриолог Г. Дени обнаружил, что на разных стадиях эмбриогенеза и в разных участках эмбрионов

амфибий синтезируются различные фракции РНК, подтвердив гипотезу Т. Моргана. Однако в исследованиях Э. Дэвидсона (США) были найдены «гольдшмидтовские» варианты генетической регуляции развития: в разных частях эмбриона синтезировались одинаковые мРНК, которые по-разному транслировались в разных клетках.

Эксперименты на семявыносящих луковицах самцов плодовых мушек показали, что когда клетка только начинает специализироваться, в ней работает большая часть генома, но тканеспецифические гены еще не активны. По мере дифференцировки и роста клетки количество активно работающих генов уменьшается, но зато начинают функционировать тканеспецифические гены, транскрипционная активность которых постепенно возрастает. Таким образом, получается, что, как это часто бывает, правы оба – и Т. Морган, и Р. Гольдшмидт, но каждая «модель» может быть реализована или на разных стадиях онтогенеза, или в разных клеточных типах.

Число генов в геномах многоклеточных организмов хотя и увеличивается в эволюционном ряду от низших к высшим, но всё же не настолько, чтобы объяснить все эволюционные усложнения организации.

Вероятнее, что многие гены высших животных гомологичны генам низших и могут контролировать сходные функции, приобретая одновременно и новые. Такие гены называются ортологичными. Гомологичные гены в геноме животных одного и того же вида называются паралогичными. Главный путь усложнения геномов – усложнение регуляторных механизмов экспрессии генов.

В состав генотипа входит большое количество генов, функционирующих и взаимодействующих как целостная система. Г. Мендель в своих опытах обнаружил только одну форму взаимодействия между аллельными генами – полное доминирование одной аллели и полную рецессивность другой. Генотип организма нельзя рассматривать как простую сумму независимых генов, каждый из которых функционирует вне связи с другими. Фенотипическое проявление того или иного признака является результатом взаимодействия многих генов.

Различают две основных группы взаимодействия генов: взаимодействие между аллельными генами и взаимодействие между неаллельными генами. Однако следует понимать, что это не физическое взаимодействие самих генов, а взаимодействие первичных и вторичных продуктов, которые обуславливают тот или иной признак.

Взаимодействие аллельных генов. Гены, которые занимают идентичные (гомологические) локусы в гомологичных хромосомах, называются аллельными. У каждого диплоидного организма есть по два аллельных гена. Выделяют следующие формы взаимодействия между аллельными

генами: полное доминирование, неполное доминирование, кодоминирование и сверхдоминирование.

Основная форма взаимодействия – *полное доминирование*, суть которого заключается в том, что в гетерозиготном организме проявление одной из аллелей доминирует над проявлением другой. При полном доминировании расщепления по генотипу в скрещивании гетерозигот 1:2:1 не совпадает с расщеплением по фенотипу – 3:1. *Неполное доминирование* – форма взаимодействия, при которой у гетерозиготного организма (Aa) доминантный ген (A) не полностью подавляет рецессивный ген (a), вследствие чего проявляется промежуточный между родительскими признак. При этом расщепление по генотипу и фенотипу совпадает и составляет 1:2:1. При *кодоминировании* в гетерозиготных организмах каждый из аллельных генов вызывает формирование зависимого от него продукта, то есть обнаруживаются продукты обеих аллелей. Например, система групп крови АВО, когда эритроциты человека несут на поверхности антигены, контролируемые двумя аллелями, представленными в генотипе данного индивида. *Сверхдоминирование* – форма взаимодействия, при которой доминантный фенотип при гетерозиготности проявляется сильнее, чем при гомозиготности. Примером сверхдоминирования у человека является серповидноклеточная анемия. Нормальный гемоглобин обозначается HbA, аномальный – HbS. Возможно наличие трёх вариантов генотипов: *HbA/HbA*, *HbA/HbS*, *HbS/HbS*. При этом большинство людей с генотипом *HbS/HbS* погибают до достижения половозрелости. Однако наличие аллеля *HbS* часто встречается в популяциях Африки, в которых распространена особая форма малярии, вызываемая паразитом *Plasmodium falciparum*. У гетерозигот *HbA/HbS* наблюдаются небольшие отклонения в форме эритроцитов, что делает невозможным проникновение в эритроциты протозойного малярийного паразита, в отличие от гомозигот *HbA/HbA*. Гетерозиготные люди переносят заболевание малярией или в очень легкой форме, или вообще не заболевают. Такая комбинация аллелей была выгодна для выживания вида. Поэтому в районах распространения малярии указанной формы она обладает селективным преимуществом по сравнению с обоими гомозиготами, у которых смертность от анемии (*HbS/HbS*) или от малярии (*HbA/HbA*) выше, чем у гетерозигот.

Генотип диплоидного организма представляет собой сложную систему взаимодействия не только аллельных, но и неаллельных генов, которые проявляются на фенотипическом уровне, по изменению проявления того или иного признака.

Выделяют четыре основных типа взаимодействий неаллельных генов: комплементарность, эпистаз, полимерия и модифицирующее действие (плейотропия).

Комплементарность – это тип взаимодействия неаллельных генов, при котором один доминантный ген дополняет действие другого неаллельного доминантного гена, и они вместе определяют новый признак. Причём новый признак развивается только в присутствии обоих неаллельных генов. Числовые соотношения при комплементарном взаимодействии могут быть также 9:7; 9:6:1. Примером комплементарного взаимодействия генов у человека может быть синтез защитного белка – интерферона. Его образование в организме связано с комплементарным взаимодействием двух неаллельных генов, расположенных в разных хромосомах. Ещё одним примером комплементарного взаимодействия неаллельных генов является синтез пигмента ксантоматина (пигмент оммохромового ряда) из триптофана у шелкопряда. Так, у шелкопряда рецессивные мутации двух неаллельных генов, которые в гомозиготном состоянии (генотипы $aa; BB$ или $AA; bb$) проявляются в отсутствии окраски у насекомых, поскольку мутации в любом из генов A или B блокируют синтез пигмента, а промежуточные соединения L-кинурунин и 3-оксикинурунин не имеют окраски. У гибридов первого поколения ($Aa; Bb$) синтез пигмента восстанавливается в результате комплементарного взаимодействия генов A и B , а во втором поколении наблюдается расщепление 9:7.

Эпистаз – это взаимодействие неаллельных генов, при котором один ген подавляет действие другого неаллельного гена. Угнетение могут вызывать как доминантные, так и рецессивные гены ($A > B$, $a > B$, $B > A$, $B > A$), и в зависимости от этого различают *эпистаз доминантный и рецессивный*. Подавляющий ген получил название *ингибитора* или *супрессора*. Гены-ингибиторы в основном не детерминируют развитие определённого признака, а лишь подавляют действие другого гена. Ген, эффект которого подавляется, получил название *гипостатического*. При эпистатическом взаимодействии генов расщепление по фенотипу в скрещивании дигетерозигот составляет 13:3; 12:3:1 или 9:3:4. Например, серая окраска шерсти у мышей контролируется двумя генами (C и B). Ген C детерминирует синтез пигмента. При этом гомозиготы (CC) и гетерозиготы (Cc) имеют окрашенную шерсть (цвет будет зависеть от аллельного состояния локуса B). Рецессивная аллель гена c в гомозиготе приводит к блокировке синтеза пигментов; у таких особей развивается альбинизм. Другой ген (B) обеспечивает цвет пигмента, накапливающегося в волосе (B – коричневый, b – чёрный). Скрещивания дигетерозигот ($Cc; Bb \times Cc; Bb$) приводит к расщеплению гибридов в соотношении 9 коричневых: 3 чёрных: 4 альбиноса. *Плейотропное действие генов* – это зависимость нескольких признаков от одного гена, то есть множественное действие одного гена. У дрозофилы ген белого цвета глаз *white* одновременно влияет на цвет тела,

пигментацию полового аппарата самцов (обесцвеченный у мутантов), снижает плодовитость, уменьшает продолжительность жизни. У человека известна наследственная болезнь – синдром Марфана. Ген, отвечающий за эту болезнь, вызывает нарушение развития соединительной ткани и одновременно влияет на развитие нескольких признаков: нарушение строения хрусталика глаза, аномалии в сердечно-сосудистой системе.

Плейотропное действие гена может быть первичным и вторичным. При первичной плейотропии ген проявляет свой множественный эффект. Например, при болезни Хартнапа мутация гена приводит к нарушению всасывания аминокислоты триптофана в кишечнике и его реабсорбции в почечных канальцах. При этом поражаются одновременно мембраны эпителиальных клеток кишечника и почечных канальцев с расстройствами пищеварительной и выделительной систем. При вторичной плейотропии есть одно первичное фенотипическое проявление гена, вслед за которым развивается ступенчатый процесс вторичных изменений, приводящих к множественным эффектам. Так, при серповидно-клеточной анемии у гомозигот наблюдается несколько патологических признаков: анемия, увеличение селезёнки, поражение кожи, сердца, почек и мозга. Поэтому гомозиготы с геном серповидно-клеточной анемии умирают в раннем возрасте. Первопричиной, непосредственным фенотипическим проявлением дефектного гена является аномальный гемоглобин и эритроциты серповидной формы. Вследствие этого происходят последовательно другие патологические процессы: слипание и разрушение эритроцитов, анемия, дефекты в почках, сердце, мозге – эти патологические признаки вторичны. При плейотропии, ген, воздействуя на какой-то один основной признак, может также менять, модифицировать проявление других генов, в связи с чем было введено понятие о генах-модификаторах, которые усиливают или ослабляют развитие признаков, кодируемых «основным» геном.

Реализация взаимодействий между генами опосредована (практически всегда) взаимодействиями белковых (РНК) продуктов этих генов. В цитоплазме происходит взаимодействие между белками (ферментами), синтез которых определяются аллельными и неаллельными генами, или между веществами, которые образуются под влиянием этих ферментов. В основе взаимодействий между белками (ферментами) лежат следующие механизмы:

1) для проявления определённого признака необходимо взаимодействие двух ферментов (или других продуктов активности гена), синтез которых определяется двумя аллельными или неаллельными генами;

2) фермент, который был синтезирован с участием одного гена, полностью подавляет или инактивирует действие фермента, который был образован с участием другого, аллельного и неаллельного гена;

3) два фермента, образование которых контролируется двумя неаллельными или аллельными генами, влияют на один признак или на один процесс так, что их совместное действие приводит к возникновению нового и / или усилению / ослаблению проявления данного признака.

В онтогенезе существует явление – перекрывание программ развития, которое подразумевает, что в самую начальную фазу клеточной дифференцировки включаются с разной степенью эффективности несколько разных программ развития, ещё не дающих однозначного решения конечной клеточной «судьбы». Например, в дифференцирующемся в катехоламинэргическом направлении нейробласте происходит не только синтез иРНК для образования компонентов катехоламинэргической системы, но и существенно более слабый синтез иРНК для компонентов холинэргической системы. Если в определённый момент развития сменить иннервируемую данной клеткой катехоламинэргическую мишень на холинэргическую, то активируется синтез «холинэргических» РНК, а продукция «катехоламинэргических» начнёт тормозиться. В результате произойдет изменение пути развития клетки – трансдетерминация. Несмотря на возможность изменений, в ходе эмбриогенеза реализуются строго упорядоченные морфогенетические процессы, и с очень высокой пространственной точностью формируется организм конкретного вида, обладающий определённой структурой. Очевидно, что реализация морфогенеза не определяется только функционированием генетического материала.

Автономия частей генома при единстве целого проявляется в раннем эмбриогенезе. Генетические системы, которые регулируют созревание индуцирующих свойств компетентной ткани реагировать на воздействие индуктора, функционируют в автономном режиме независимо от того, находится ли данная развивающаяся эмбриональная закладка в составе целого зародыша или вне его. Целостность развивающейся системы обеспечивается за счёт того, что в норме сроки созревания двух взаимодействующих тканей строго «синхронизированы», в результате чего достигается нормальное течение онтогенетического процесса. Мутации, вызывающие рассогласование времени созревания взаимодействующих систем в развитии, нарушают целостность и гармонию морфогенетических событий и ведут к появлению различного рода дефектов развития.

Таким образом, ведущая роль в формировании фенотипа организмов принадлежит наследственной информации, основанной на взаимодействии генов в онтогенезе. При этом простые признаки развиваются как результат определенного типа взаимодействия соответствующих аллельных генов. Формирование сложных признаков осуществляется в результате разнообразных взаимодействий неаллельных генов непосредственно

в генотипе либо контролируемых ими продуктов. Однако реализация наследственной программы, заключенной в генотипе особи (даже в формировании элементарных признаков организма – полипептидов), зависит от условий среды, в которых осуществляется этот процесс: клеточного содержимого (исключая ДНК), характера прямых межклеточных взаимодействий, биологически активных веществ (гормоны и т. д.), а также от совокупности внешних по отношению к организму факторов. Факторы внешней по отношению к генотипу среды могут способствовать или препятствовать фенотипическому проявлению генетической информации, усиливать или ослаблять его степень.

2. Гены, регулирующие онтогенез организмов

Выделяют 3 группы генов (по фенотипическому эффекту), участвующих в развитие организмов (на примере *Drosophila melanogaster*):

1. Гены с материнским эффектом или материнские гены, которые контролируют формирование полярности яйца (позиционной информации) и становление его пространственных координат.

2. Гены сегментации, которые определяют число и полярность сегментов эмбриона путем прочитывания позиционной информации и перевода ее в специфический паттерн сегментации.

3. Гомеозисные гены, которые определяют сущность сегментов, характер и направление их дифференцировки.

Согласно *Lewin* (1994), гены с материнским эффектом делятся на 2 класса в зависимости от места их экспрессии:

1. Гены, которые экспрессируются в соматических клетках материнского организма, но имеют эффект на развитие яйца – материнские соматические гены («maternal somatic genes»). Экспрессируются в фолликулярных клетках (типичные соматические клетки) и принимают участие в формировании дорзально-вентральной оси эмбриона.

2. Гены, которые экспрессируются в клетках зародышевого пути – материнские гены зародышевого пути («maternal germline genes»). Данная группа генов активна в ооците или питающих клетках (клетки, имеющие общее происхождение из презумптивного зачатка половых клеток) и ответственна за формирование передне-задней оси эмбриона. Продукты генов с материнским эффектом (данных генов у дрозофилы около 30) депонируются в яйце и определяют пространственные оси эмбриона, продольную (заднее-переднюю) и дорсо-вентральную. Ген *bcd* экспрессируется в ходе оогенеза в питающих клетках после этого его первичные транскрипты поступают в передний полюс яйца, в зону контакта питающих клеток и созревающего ооцита. Такой контакт питающих

клеток с передним полюсом яйца предопределяет направление транспорта первичных транскриптов гена *bcd* непосредственно в передний полюс. Так в только что отложенном яйце дрозофилы транскрипты гена *bcd* находятся в переднем полюсе. Через 2 часа после оплодотворения белок Bicoid (Bcd) создаёт градиент в передне-заднем направлении. Это подтверждает тот факт, что мутантные яйца по гену *diccephalic* (*dic*) имеют два микропиля, один в переднем конце, а другой в заднем, то есть наблюдается дупликация передних структур. При мутации по гену *dic* питающие клетки разделяются на две группы и располагаются у обоих полюсов созревающего ооцита, тем самым создаются условия для транспорта транскриптов гена *bcd* в оба полюса яйца.

При нормальном развитии мРНК гена *bcd* «заякоривается» на эндоплазматическом ретикулуме только в переднем полюсе. Предполагается, что такое локальное «заякоривание» осуществляется благодаря специфическому связыванию с белком, кодируемым геном *swallow* (*swa*). Кроме этого, гены *exuperantia* (*exu*), *staufer* (*stau*) также участвуют в распределении транскриптов гена *bcd* в цитоплазме яйца дрозофилы.

Трансляция иРНК гена *bcd* начинается вскоре после оплодотворения, и одновременно формируется градиент концентрации белка Bcd в передне-заднем направлении. На параметры градиента влияет число копий гена *bcd*, увеличение числа копий повышает градиент и расширяет зону формирования передних сегментов, и наоборот, снижение числа копий ослабляет его, что сопровождается увеличением зоны задних (постериорных) сегментов в переднем направлении. Таким образом, белок Bicoid ведёт себя как морфоген, который в зависимости от его концентрации определяет формирование морфологических структур вдоль передне-задней оси.

Важным свойством белка Bcd является его способность связываться с ДНК. При этом белок распознаёт специфические нуклеотидные последовательности ДНК и связывается с ними. Такая способность к связыванию обеспечивается тем, что ген *bcd* содержит гомеобокс-содержащую последовательность, сходную с таковой гена *paired* (*prd*) (группа генов сегментации). Продукты других генов с материнским эффектом также распределяются специфическим образом. Обычно это ДНК-связывающие белки, которые в качестве факторов транскрипции стимулируют или блокируют экспрессию других генов.

За формирование заднего полюса эмбриона ответственна большая группа генов (не менее 10), однако продукты лишь некоторых из них обладают морфогенными свойствами. Так, ген *nanos* (*nos*) отвечает за формирование задней координаты яйца, он экспрессируется в питающих клетках, после чего его иРНК транспортируется в задний полюс яйца, проходя через всю цитоплазму в передне-заднем направлении. Транс-

крипты концентрируются в заднем полюсе на ранних стадиях развития. Трансляция начинается вскоре после оплодотворения, а синтезируемый белок накапливается в задней части эмбриона. В «заякоривании» продуктов гена *nos* на заднем полюсе яйца принимает участие продукт гена *pumilio* (*pum*).

После становления пространственной организации, регулируемой генами с материнским эффектом, продукты их активности в ходе оогенеза образуют градиенты с морфогенетически активными белками. После чего происходит оплодотворение и дробление зародыша. Образование бластодермы связано с включения зиготических генов или генов сегментации. Начинается последовательное формирование сегментарного плана строения тела дрозофилы, личинки и взрослые особи (имаго), которые состоят из передних головных, трёх грудных и восьми брюшных сегментов.

В результате взаимодействия перекрывающихся градиентов морфогенетически активных белков, являющихся продуктами генов *bcd* и *nos*, активируются гены группы *gap*, разделяющие зародыш на широкие домены. К настоящему времени описано 6 генов из группы *gap*, к числу главных следует отнести гены *hunchback* (*hb*), *Krüppel* (*Kr*) и *knirps* (*kni*). Каждый из них экспрессируется в определённых сегментах эмбриона. Экспрессия гена *hb* происходит в двух областях: в задней четверти яйца, а также в пространстве от переднего полюса почти до середины яйца. Ген *Kr* экспрессируется в широкой зоне, составляющей середину эмбриона. Продукт гена *kni* выявляется как спереди, так и сзади от этой зоны.

Белок гена *bcd*, действуя как позитивный регулятор экспрессии гена *hb*, способствует накоплению продукта последнего у головного конца эмбриона, а белок гена *nanos*, вероятно, ингибирует активность продукта гена *hb*. Кроме того, блокируя экспрессию гена *Kr* в передней и задней областях эмбриона, белковые продукты генов *bcd* и *nos* способствуют накоплению мРНК гена *Kr* в центральной части эмбриона. Поначалу размытые границы транскрипционных областей генов группы *gap* с течением времени сужаются, так как белок *Krüppel* ингибирует транскрипцию гена *hb*, а белковые продукты генов *hb* и *kni* – транскрипцию гена *Kr*. Таким образом, области стабильной экспрессии генов *gap* сначала дифференциально регулируются материнскими детерминантами, а затем взаимной репрессией последних и собственно генов группы *gap*. Продукты активации генов *gap* запускают функционирование группы генов *pair-rule*, состоящей из 8 генов и обуславливающей подразделение зародыша на более мелкие домены, состоящие из двух так называемых парасегментов. Причём в одном из парасегментов гены из группы *pair-rule* активны, а вдругом – нет. Из группы генов *pair-rule* у дрозофилы в первую очередь экспрессируются гены *runt* (*run*) и *hairy* (*h*), во вторую –

fushi tarazu (редуктор числа сегментов) (*ftz*) и *even-skipped* (редуктор чётных сегментов) (*eve*). Периодическая смена уровней экспрессии генов группы *pair-rule* приводит к локальной экспрессии генов самой многочисленной группы – сегментной полярности. Под действием их продуктов зародыш становится разделённым по всей продольной оси на окончательные сегменты. Следовательно, за количество сформированных сегментов ответственна иерархическая последовательность экспрессии основных групп генов сегментации.

У млекопитающих есть, по крайней мере, три гомолога гена *hedgehog* из группы генов сегментной полярности: *sonic hedgehog* (*shh*), *desert hedgehog* (*dhh*) и *indian hedgehog* (*ihh*). Они отвечают за контроль лево-правой асимметрии, детерминацию полярности в клетках центральной нервной системы, сомитов и конечностей, а также за формирование скелета. Так, белковый продукт гена *shh* играет важнейшую роль в развитии вентральной нервной трубки зародыша человека. Ген *dhh* контролирует вступление половых клеток в клеточное деление, его экспрессия отмечается в клетках Сертоли семенников после активации гена *SRY* (*sex determining region on Y chromosome*).

Гомеозисные гены – группа регуляторных генов, контролирующих в процессе эмбрионального развития сегментацию тела у животных и человека. Гомеозисные гены определяются по наличию характерной последовательности ДНК длиной в 180 пар нуклеотидов (гомеобокса), кодирующей относительно консервативный участок белка длиной 61 пар нуклеотидов (гомеодомен). Белки, кодируемые гомеозисными генами, являются транскрипционными факторами, которые обладают морфогенетическим действием и участвуют в процессах клеточной дифференцировки.

Ортологичные гомеозисные гены у всех животных обозначаются сейчас как гены семейства *Нох*. Они, как правило, организованы в кластеры, и их экспрессия совпадает с порядком расположения генов в кластере. Гены семейства *Нох* являются регуляторами индивидуального развития животных, управляющие дифференцировкой частей их тела. Так, гены гомеозисных кластеров мыши и человека контролируют метамерию заднего отдела головного мозга и формирование спинного мозга. У большинства животных *Нох*-генов несколько, и они имеют два свойства. Во-первых, мутации *Нох*-генов вызывают превращение одних частей тела в другие. Например, у насекомых мутации *Нох*-генов могут вызывать превращение брюшных сегментов в грудные или усиков в лапки. Во-вторых, *Нох*-гены эволюционно консервативны. Например, у насекомых (*Drosophila melanogaster*) и у позвоночных (*Mus musculus*, *Homo sapiens*) их нуклеотидные последовательности очень близки. Гомеобокс-содержащие гены найдены также у растений.

Термин «гомеозис» предложил У. Бэтсон в 1894 году. Под гомеозисом он понимал превращение одной части организма в другую. Э. Льюис в 1948 году начал систематическое изучение гомеозисных генов, управляющих развитием имагинальных дисков личинки *D. melanogaster* в органы имаго. Э. Льюис обнаружил коллинеарность в пространстве между порядком расположения генов комплекса *Bithorax-Complex* (*BX-C*) в хромосоме и порядком расположения имагинальных дисков, за развитие которых они отвечают, вдоль передне-задней оси тела. К. Нюсляйн-Фольхард и Э. Вишаус классифицировали 15 генов, определяющих строение тела и образование сегментов у *D. melanogaster*. Исследователи за это открытие, касающееся генетического контроля на ранних стадиях эмбрионального развития, в 1995 году получили Нобелевскую премию.

Нох-гены располагаются на одной или нескольких (до четырёх) хромосомах, обычно тесными группами (кластерами), внутри которых сохраняется более или менее строгий порядок: «передние», «центральные» и «задние» (в соответствии с расположением самих генов в хромосоме и расположением областей их экспрессии в теле). У более примитивных представителей многоклеточных, таких как гребневики (*Ctenophora*) и кишечнополостные (*Cnidaria*), этих эмбриональных регуляторных генов только четыре, а у млекопитающих около 48.

Семейство *Нох*-генов подразделяется на 14 классов. Считается, что эти 14 классов возникали путем дупликации (удвоения) одного или немногих исходных генов. «Дубликаты» затем мутировали и обретали новые функции. У примитивных кишечнополостных и гребневиков имеется всего 4 класса *Нох*-генов, у двусторонне-симметричных животных их должно быть около 8, а у млекопитающих присутствуют все 14 классов. В настоящее время расшифрованы ДНК-последовательности *Нох*-генов у кольчатых, плоских и круглых червей, иглокожих, членистоногих, оболочников, ланцетников.

Нох-гены не экспрессируются строго один за другим в прилежащих участках тела. Например, *Нох*-гены у *D. melanogaster* располагаются в хромосоме в таком порядке, как происходит дифференцировка основных частей тела двусторонне-симметричного (билатерального) животного. Сначала у раннего эмбриона начинают работать гены, отвечающие за строение органов на голове, затем на груди, а затем и хвостовой части.

Кластеры гомеозисных генов (*НохА*, *НохВ*, *НохС* и *НохD*) присутствуют в организмах у млекопитающих и человека. Паттерн экспрессии генов членов всех четырёх кластеров *Нох* показал, что домены экспрессии генов пространственно ограничены в различных областях эмбриона. Поэтому важной особенностью кластеров *Нох*-генов является то, что области активности этих генов в основном расположены линейно вдоль

тела животного в том же порядке, в каком физически расположены сами гены в хромосоме – принцип колинеарности. Это свойство является консервативным как у членистоногих *Arthropoda*, так и у позвоночных *Vertebrata* и позволяет предположить, что регуляторный механизм управления пространственно ограниченных доменов экспрессии *Нох* является важным моментом в организации кластеров этих генов. Однако есть организмы, у которых принцип колинеарности не соблюдается. Например, у иглокожих (*Echinodermata*) первые три *Нох*-гена располагаются прямо перед последним (14-м), а начинается кластер с 5-го гена. У круглых червей (*Nematoda*) и оболочников (*Tunicata*) *Нох*-гены вообще не образуют кластеров, и их порядок в хромосомах не соблюдается вовсе.

Часто отмечается транскрипция сразу с нескольких *Нох*-генов в одном и том же участке зародыша – перекрывание экспрессии, и при этом в задних районах *Нох*-гены более активны, чем в передних. Считается, что *Нох*-гены отвечают за правильное формирование частей тела у живых организмов в эмбриональном периоде.

Гомеозисные гены начинают функционировать на ранних этапах развития зародыша и могут оставаться активными в некоторых отделах взрослого организма. У *D. melanogaster* гомеозисные гены представлены двумя кластерами: *Bithorax-Complex* (*BX-C*) и *Antennapedia-Complex* (*ANT-C*). В них входят 8 гомеозисных генов *D. melanogaster*, которые контролируют формирование тела как эмбриональной, так и взрослой форм: *labial* (*lab*), *proboscipedia* (*pb*), *Deformed* (*Dfd*), *Sex combs reduced* (*Scr*), *Antennapedia* (*Antp*), *Ultrabithorax* (*Ubx*), *abdominal A* (*abd-A*), *Abdominal B* (*Abd-B*). Следует отметить, что гомеозисная мутация гена *Ubx* *D. melanogaster* проявляется в подавлении активности гена *Ubx*, что приводит к образованию второй пары крыльев вместо жужжалец. Эктопическая активность гомеозисного гена *Antp* в головном отделе (в норме он активен во втором торакальном сегменте) приводит к формированию ноги вместо антенны. В случае мутации (*loss of function*) в гене *Antennapedia* во втором торакальном сегменте вместо ноги образуется антенна, благодаря «передней» группе *Нох*-генов. Таким образом, гомеозисные гены определяют морфологию частей тела, которые разовьются на каждом сегменте, то есть специфицируют сегменты тела.

Принцип работы всех *Нох*-генов одинаков. Все они являются транскрипционными факторами (регуляторами транскрипции), то есть их функция состоит во «включении» или «выключении» других генов, что запускает каскад реакций, приводящий к появлению в клетке нужных белков.

В регуляции экспрессии гомеозисных генов принимает участие ретиноевая кислота. Первоначально экспрессию кластера гомеозисных

генов иницируют гены сегментации: *gap* и *pair-rule*. Дальнейшую экспрессию гомеозисных генов у *D. melanogaster*, например, регулируют по принципу обратной отрицательной связи гены *Polycomb (Pc)* – их белковые продукты, локально изменяют конформацию хроматина, подавляют экспрессию гомеозисных генов и дают возможность осуществлять экспрессию этих генов лишь в отдельных участках развивающегося организма. За регуляцию активности гомеозисных генов по принципу обратной положительной обратной отвечают белки семейства *Trithorax*, поддерживающие участки хроматина в активном состоянии и позволяющие, тем самым, экспрессироваться генам, кодирующим транскрипционный фактор GAGA (GAF) у *D. melanogaster*. Транскрипционный фактор GAGA (GAF), в свою очередь, необходим для экспрессии ряда генов, контролирующих развитие *D. melanogaster* (*engrailed (en)*, *Ubx*, *Kr*, *eve*, *ftz*), генов белков теплового шока (*hsp70*, *hsp26*), а также для экспрессии некоторых генов «домашнего хозяйства» (например, *actin 5C*). Функционирующие гомеозисные гены действуют через свои белковые продукты – транскрипционные факторы – как репрессоры или индукторы других генов. Так, гомеозисные гены (*lab*, *dfd*) регулируют свою экспрессию по принципу обратной положительной связи собственными белковыми продуктами – транскрипционными факторами. Кроме этого, между *Hox*-генами расположены участки ДНК, прежде считавшиеся бессмысленными. В действительности, как оказалось, с них считываются короткие молекулы регуляторных микроРНК, которые либо усиливают или ослабляют экспрессию самих *Hox*-генов, либо влияют на работу транскрипционных факторов. В экспериментах показано, что эти микроРНК могут регулировать как соседний, так и отдалённый *Hox*-ген.

Существует также большая группа генов, которая обеспечивает генную регуляцию посредством проведения индукционных трансмембранных сигналов из одних клеток в другие, где находятся «гены-мишени». Эта группа генов играет ведущую роль в процессах морфогенеза позвоночных и беспозвоночных и представлена несколькими группами эволюционно консервативных генов, кодирующих следующие белки: FGF-FGFR (factor growth fibroblasts; лиганд фактора роста фибробластов и его рецептор), Delta-Notch (лиганд-белок Delta и его рецептор-морфоген Notch), Wnt-Frizzled (сложное семейство белков-лигандов, wingless – у насекомых, а Wnt – у позвоночных и их рецептор Frizzled), Hedgehog-Patched (семейство белков-лигандов Hedgehog – у насекомых и Sonic hedgehog, Indian hedgehog – у позвоночных, и их рецептор Patched), семейство белков BMP (bone morphogenetic protein; морфогенетический белок костного мозга) и его рецептор, TGF β (transforming growth factor; трансформирующий фактор фибробластов), Nodal (белки позвоночных) и Decapentaplegic (белки насекомых). Как правило, любая трансмембран-

ная сигнальная система может включать около десятка и более генов. При этом общий принцип их организации заключается в следующем: индукционный сигнал (секреторный фактор-лиганд) одной клетки связывается с рецептором на поверхности клеточной мембраны клетки-мишени, активированный комплекс лиганд-рецептор (например, с помощью протеинкиназ) транспортируется либо непосредственно в ядро, где активирует или репрессирует «гены-мишени», либо вступает в промежуточные взаимодействия с белками или небелковыми компонентами, и затем сигнал достигает «генов-мишеней». Конечным результатом является то, что в большинстве случаев транссигнальные системы регулируют экспрессию нескольких «генов-мишеней».

Таким образом, в генотипе всех организмов гены (эволюционно консервативные и специфические) взаимодействуют между собой, обеспечивая целостность, развитие, жизнедеятельность организма, состоящего из специализированных дифференцированных клеток, а также фенотипические проявления признаков на тканевом и более высоких уровнях организации живого. Сочетание генов в организме обуславливает многообразие индивидуальных отличий особей одного вида.

3. Генные сети

Известно, что гены функционируют в ансамбле, формируя генные сети, благодаря слаженной работе которых и осуществляется регуляция разных процессов в онтогенезе организма. Понятие генные сети в 60-е гг. было введено Кауфманом и Ратнером. Предполагают, что все происходящие в организме процессы осуществляются за счёт координированной экспрессии различных групп генов. Каждая такая группа составляет основу конкретной генной сети, отвечающей за выполнение определённой функции клетки, органа, организма. Под генной сетью понимают совокупность координировано экспрессирующихся генов, их белковых продуктов и взаимосвязей между ними. Важным моментом в функционировании генной сети является её связь с внешней средой, в том числе и с другими генными сетями. Поэтому в любой генной сети имеются компоненты, обеспечивающие восприятие, передачу внешних сигналов и способность продуцировать такие сигналы.

Генная сеть представляет собой группу координированно работающих и взаимодействующих между собой генов, контролирующих формирование фенотипических признаков организмов на основе информации, закодированной в геномах.

Характерной особенностью организации генных сетей является их способность к саморегуляции за счёт замкнутых регуляторных механизмов с отрицательными и положительными обратными связями. Молекулярной

основой таких регуляторных механизмов являются сайты – мишени на ДНК, РНК, белках, с которыми могут взаимодействовать различные молекулярные компоненты генных сетей и внешние регуляторные факторы.

Выделяют следующие типы генных сетей:

- 1) генные сети, обеспечивающие осуществление циклических процессов, например, клеточного цикла, цикла сокращения сердечной мышцы и другие;
- 2) генные сети, обеспечивающие процессы роста и дифференцировки клеток, морфогенеза тканей и органов, роста и развития организмов;
- 3) генные сети, обеспечивающие гомеостаз биохимических и физиологических параметров организма;
- 4) генные сети, обеспечивающие реакции организмов на изменение состояния внешней среды, например, стрессовый ответ.

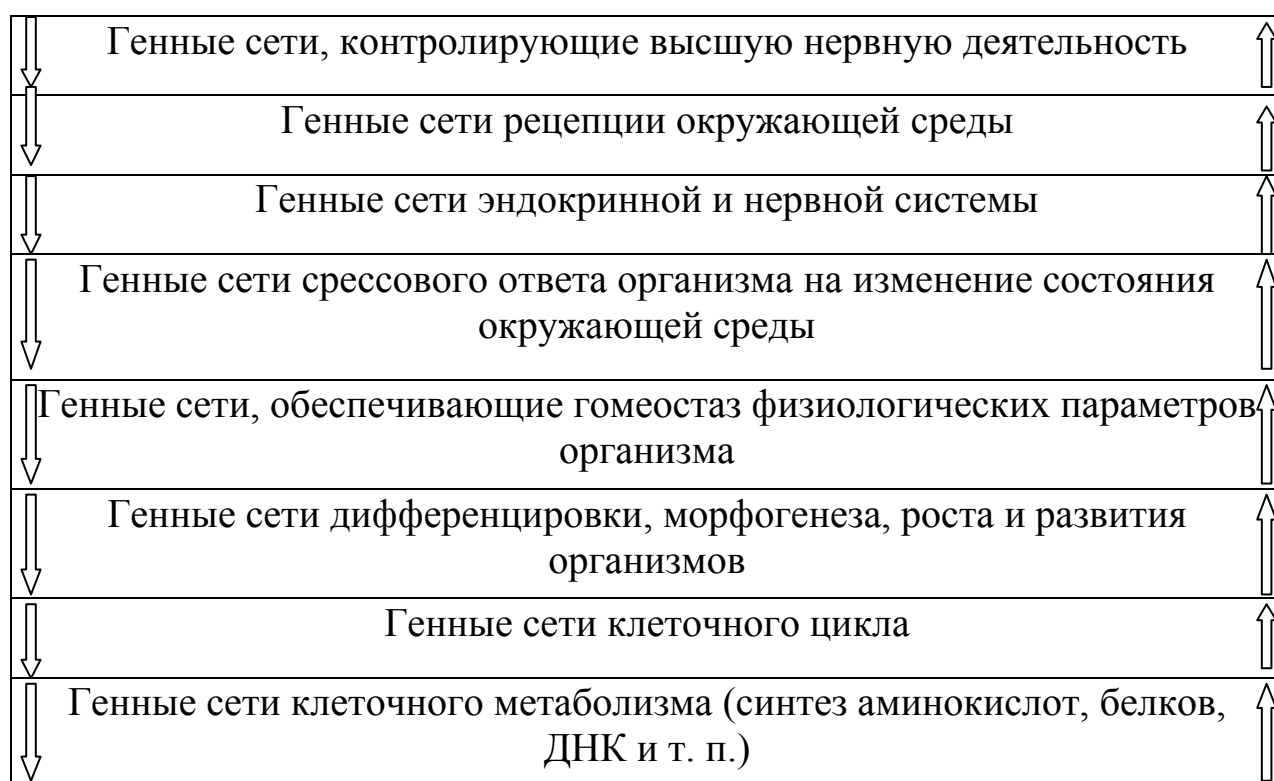


Рис. 21. Иерархическая интеграция локальных генных сетей в глобальную генную сеть организма

Генные сети, управляющие жизнедеятельностью организма, организованы по иерархическому принципу. На рис. 21 схематически представлена иерархия локальных генных сетей, обеспечивающих выполнение различных функций в организме. Самый низкий уровень этой иерархии соответствует генным сетям базального метаболизма клетки. Их функция зависит от стадии клеточного цикла и может быть подавлена или активирована в зависимости от регуляторных воздействий, поступающих

от генных сетей вышележащих уровней. Эти воздействия могут изменять интенсивность и направленность как метаболических процессов, так и процессов клеточного деления. Наиболее высокие уровни организации соответствуют генным сетям рецепции сигналов окружающей среды и генным сетям, обеспечивающим фундаментальные функции. На рис. 21 видно, что в иерархически организованной генной сети управляющие сигналы могут идти в обратном направлении. При этом сигналы могут иметь как активирующее, так и подавляющее действие.

Принципы организации генных сетей:

- 1) наличие в каждой локальной генной сети «центральных» генов, обеспечивающих координацию функций остальных генов этой сети;
- 2) наличие в каждой генной сети регуляторных контуров типа положительной и отрицательной обратных связей, обеспечивающих её авторегуляцию;
- 3) существование большого разнообразия молекулярных механизмов, обеспечивающих функционирование обратных связей, в том числе за счет изменения интенсивности процессов транскрипции, сплайсинга, трансляции, фосфорилирования и других;
- 4) иерархическая организация локальных генных сетей и их интеграция в глобальную генную сеть организма.

Следовательно, генные сети регулируют все процессы, протекающие в организме на разных стадиях онтогенеза за счёт многоуровневых иерархических генных связей. Однако не следует забывать, что во взаимодействии компартментов организма ключевую роль играют молекулярные сигналы нейроэндокринной системы, которые с одной стороны, способствуют дифференциальной экспрессии генов, а с другой стороны, подавляют её, что обеспечивает иерархическое взаимодействие генов и генных сетей в организме.

Вопросы для самоконтроля

1. Объясните, в чём состоит роль гомеостатических генов в развитии беспозвоночных животных?
2. Каково биологическое значение генных сетей?
3. Какие гены принимают участие в сегментации тела у беспозвоночных животных?
4. В чём состоит смысл каскадной индукции регуляции онтогенеза?
5. Какова роль гомеостатических генов в онтогенезе животных и растений?
6. За что отвечают гены с материнским эффектом и их значение в онтогенезе?
7. Охарактеризуйте классификацию генных сетей.
8. Как связаны между собой генные сети разных тканей организма?
9. Для чего необходима иерархическая соподчиненность одних генов другим?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Альбертис Б. Молекулярная биология / Б. Альбертис, Д. Брей, Д. Льюис. – М. : Мир, 1996. – 517 с.
2. Гёрдон Дж. Регуляция функции генов в развитии животных / Дж. Гёрдон. – М. : Мир, 1977. – 271 с.
3. Гилберт С. Биология индивидуального развития / С. Гилберт. – М. : Мир, 1993. – 406 с.
4. Дондуа А. К. Биология развития / А. К. Дондуа. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – 237 с.
5. Исаева В. В. Клетки в морфогенезе / В. В. Исаева. – М. : Наука, 1994. – 224 с.
6. Корочкин Л. И. Взаимодействие генов в развитии / Л. И. Корочкин // Онтогенез. – 1981. – Т. 15. – С. 965–988.
7. Нейфах А. А. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития / А. А. Нейфах, М. Я. Тимофеева. – М. : Наука, 1978. – 334 с.
8. Lemons D. Genomic Evolution of Hox Gene Clusters / D. Lemons, W. McGinnis // Science. – 2006. – Vol. 313. – P. 1912–1922.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

9. Рэфф Р. Эмбрионы, гены, эволюция / Р. Рэфф, Т. Кофман. – М. : Мир, 1986. – 402 с.
10. Холланд П. Гены *HOX*, эволюция развития и происхождение позвоночных / П. Холланд, Х. Гарсия-Фернандес // Онтогенез. – Т. 27, № 4. – 1996. – С. 245–256.
11. Barabasi A. Network biology understanding the cell functional organization / A. Barabasi, Z. N. Oltvai // Nature Reviews Genetics. – Vol. 5. – P. 101–113.
12. Davidson E. H. Genomic regulatory systems / E. H. Davidson // Development and evolution. Acad. Press. – 2001. – 261 p.
13. Davidson E. H. Gene regulatory networks / E. H. Davidson, M. Levin // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2005. – Vol. 102, № 14. – P. 4935.
14. Duboule D. Colinearity and functional hierarchy among genes of the homeotic complexes / D. Duboule, G. Morata // Trends in Genetics. – 1994. – Vol. 10. – P. 358–364.
15. Geard N. A gene network model for developing cell lineages / N. Geard, J. Wiles // Artif. Life. – 2005. – Vol. 11, № 3. – P. 249–267.
16. Lohmann I. The Drosophila Hox gene Deformed sculpts head morphology via direct regulation of the apoptosis activator reaper / I. Lohmann, N. McGinnis, M. Bodmer et al. // Cell. – 2002. – Vol. 110. – P. 457–466.
17. Nusslein-Folhard C. Gradient that organizes embryo development / C. Nusslein-Folhard // Scientific American. – 1996. – P. 38–43.
18. Pearson J. C. Modulating *Hox* gene functions during animal body patterning / J. C. Pearson, D. Lemons, W. McGinnis // Nature Reviews Genetics. – 2005. – Vol. 6. – P. 893–904.

ЛЕКЦИЯ 7

ГОРМОНАЛЬНАЯ И НЕРВНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА (НА ПРИМЕРЕ ЖИВОТНЫХ)

ПЛАН

1. Роль гормонов в регуляции онтогенеза.
2. Роль нервной системы в регуляции онтогенеза.
3. Сигнальные пути в онтогенезе.

Регуляция жизненных функций организмов животных в целом, а также отдельных его органов, согласование их деятельности, поддержание определенного физиологического состояния и гомеостаза осуществляется нервной, эндокринной и иммунной системами, которые тесно взаимосвязаны.

1. Роль гормонов в регуляции онтогенеза

Все процессы жизнедеятельности организма строго согласованы между собой по скорости, времени и месту протекания. В организме это согласование осуществляют внутриклеточные и межклеточные механизмы регуляции, важнейшую роль в которых играют *гормоны и нейро-медиаторы*.

Гормоны – биологически активные вещества, которые образуются и выделяются специализированными эндокринными клетками, тканями и органами во внутреннюю среду (кровь, лимфу) для регуляции обмена веществ и физиологических функций организма, гуморального обеспечения координации и интеграции процессов жизнедеятельности.

Эндокринные железы развиты у большинства типов животных, их работа сочетается или благодаря нервной регуляции, или при помощи гормонов, которые вырабатываются одними железами внутренней секреции, но могут влиять на работу других (так, у млекопитающих эту функцию выполняют гормоны гипофиза). В свою очередь, гормоны, вырабатываемые железами внутренней секреции, влияют на работу нервной системы.

К эндокринным железам у плацентарных млекопитающих (Placentalia) и человека относят гипофиз, щитовидную железу, околощитовидные железы, корковое и мозговое вещество надпочечников, островковый аппарат поджелудочной железы, половые железы, тимус и эпифиз. Эндокринной активностью обладает также плацента. Кроме того, эндокринные клетки могут присутствовать в некоторых других органах и тканях, в частности в пищеварительном тракте, почках, сердечной мышце, вегетативных ганглиях, данные клетки образуют диффузную эндокринную систему.

Гормоны контролируют все процессы онтогенеза: дифференциальную активность генов, рост, дифференцировку клеток, органогенез, морфогенез, метаморфоз у насекомых и амфибий, формирование пола и наступление половой зрелости, метаболизм, размножение, иммунитет, сезонные циклы, адаптацию к меняющимся условиям среды, поддержание постоянства внутренней среды организма, поведение и многие другие процессы.

Гормоны позвоночных, влияющие на онтогенез, можно подразделить на две группы в зависимости от их источника.

1. Гормоны, синтезируемые в *материнском организме*, среди которых существенна группа гормонов, регулирующих репродуктивную функцию (процессы гаметогенеза, овуляции и раннего эмбриогенеза). У млекопитающих, ввиду внутриутробного характера развития, эти гормоны, проникая через плаценту, могут оказывать воздействие не только на процессы гаметогенеза, но и на зародышевое развитие.

2. Гормоны, вырабатываемые *эндокринной системой* развивающегося организма и регулирующие рост, дифференцировку и специфическую физиолого-биохимическую деятельность клеток на конечных этапах их дифференцировки.

По химической природе все гормоны подразделяют на три группы:

1) производные аминокислот – тиреоидные гормоны, адреналин, гормоны эпифиза;

2) пептидные гормоны, простые (протеины) и сложные (гликопротеиды) белки – гипоталамические нейропептиды, гормоны гипофиза, островкового аппарата поджелудочной железы, околощитовидных желез;

3) стероидные гормоны: образующиеся из холестерина гормоны коры надпочечников, половых желез, кальцитриол.

Свойства гормонов

1. Образуются в специализированных железистых клетках.
2. Выделяются в циркулирующие жидкости организма.
3. Оказывают дистантное действие.
4. Вызывают специфическую активность в низких концентрациях.

Физиологическое действие гормонов разнообразно, но, в общем, его можно классифицировать на четыре типа:

- 1) метаболическое, вызывающее изменение обмена веществ;
- 2) морфогенетическое, заключающееся в стимуляции формообразовательных процессов, дифференцировки тканей и органов, роста и метаморфоза;

3) корригирующее, изменяющее интенсивность функций всего организма и его органов, которые могут совершаться на определённом уровне и без наличия гормонов;

4) стимулирующее или тормозящее действие на секрецию других гормонов (например, тропные гормоны гипофиза).

Нервным центром регуляции эндокринных функций является *гипоталамус (hypothalamus)*. Этот участок промежуточного мозга является также центром симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы. Он контролирует и интегрирует все висцеральные функции организма и объединяет эндокринные механизмы регуляции с нервными. Нервные клетки гипоталамуса, синтезирующие и выделяющие в кровь гормоны, называются нейросекреторными клетками. Эти клетки получают афферентные нервные импульсы из других частей нервной системы, а их аксоны оканчиваются на кровеносных сосудах, образуя аксо-вазальные синапсы, через которые и выделяются гормоны.

В гипоталамусе условно выделяют передний, средний и задний отделы.

В *переднем гипоталамусе* располагаются парные супраоптические и паравентрикулярные ядра, образованные крупными холинергическими нейросекреторными клетками. В нейронах этих ядер продуцируются белковые нейрогормоны – *вазопрессин*, или антидиуретический гормон (АДГ), и *окситоцин*. У человека выработка антидиуретического гормона совершается преимущественно в супраоптическом ядре, тогда как продукция окситоцина преобладает в паравентрикулярных ядрах. Вазопрессин вызывает усиление тонуса гладкомышечных клеток артериол, приводящее к повышению артериального давления. Воздействуя на почки, АДГ обеспечивает обратное всасывание жидкости, отфильтрованной в первичную мочу из крови. Кроме этого, вазопрессин выполняет медиаторную функцию в некоторых синапсах гипоталамических нейронов. Окситоцин вызывает сокращения мышечной оболочки матки во время родов, а также сокращение миоэпителиальных клеток молочной железы.

В *среднем гипоталамусе* располагаются нейросекреторные ядра, содержащие мелкие адренергические нейроны, которые вырабатывают аденогипофизотропные нейрогормоны – *либерины* и *статины*. С помощью этих олигопептидных гормонов гипоталамус контролирует гормонообразовательную деятельность аденогипофиза. Либерины стимулируют выделение и продукцию гормонов передней и средней долей гипофиза. Статины угнетают функции аденогипофиза.

На нейросекреторную деятельность гипоталамуса оказывают влияние высшие отделы головного мозга, особенно лимбическая система,

миндалевидные ядра, гиппокамп и эпифиз, а также некоторые гормоны тканей-мишеней, например гормоны гипофиза (за счёт обратной отрицательной связи), эндорфины и энкефалины.

Центральным органом эндокринной системы является *гипофиз* (у человека располагается в основании головного мозга в гипофизарной ямке турецкого седла клиновидной кости черепа). Он регулирует активность ряда желез внутренней секреции, влияя на рост и развитие организма, обмен веществ и репродуктивную функцию.

Гипофиз (*hypophysis cerebri*, *glandula pituitaris*) состоит из трёх частей, различных по происхождению, строению и функции: *аденогипофиза* или *передняя доля* (*pars anterior*), *промежуточная* или *средняя доля* (*pars intermedia*) (хорошо развита у большинства животных, её клетки синтезируют свои специфические гормоны – меланоцитстимулирующий и липотропный) и *нейрогипофиза* или *задняя доля* (*pars posterior*). Клетки аденогипофиза вырабатывают: соматотропный гормон (СТГ, регулирует процесс роста организма), лактотропный гормон или пролактин (ЛТГ, стимулирует развитие молочных желез и лактацию), фолликулостимулирующий (ФСГ, стимулирует рост фолликулов яичника и сперматогенез), лютеинизирующий (ЛГ, способствует секреции женских и мужских половых гормонов и формированию желтого тела), тиреотропный гормон (ТТГ, стимулирует активность щитовидной железы), аденокортикотропный гормон (АКТГ, стимулирует активность коры надпочечников).

К нейрогипофизарным гормонам у млекопитающих относятся: вазопрессин и окситоцин. У представителей других классов позвоночных задней долей гипофиза секретируются другие гормоны, незначительно отличающиеся по химической структуре и биологическим свойствам от вазопрессина и окситоцина (вазотоцин, мезотоцин, глумитоцин, изотоцин, валитоцин и аспаротоцин).

Гипоталамус и гипофиз в своей деятельности тесно связаны между собой, образуя единую *гипоталамо-гипофизарную систему* (рис. 22). Контроль гипоталамуса над внутренними органами возможен благодаря тому, что он регулирует функции *гипофиза*, который управляет деятельностью всех остальных желез внутренней секреции.

В функции гипоталамо-гипофизарной системы заложен *принцип обратной связи*. Когда какие-нибудь железы внутренней секреции начинают выделять мало или, наоборот, избыток гормонов, гипоталамус улавливает отклонение в их концентрации в крови от необходимого на данный момент уровня. Затем, возбуждая или тормозя нейросекреторные клетки гипофиза и через него соответствующую железу внутренней секреции, гипоталамус переводит её функцию на нужный уровень. Воздействия гипоталамуса осуществляются двумя путями. Нейрогормоны

гипоталамуса по специальным капиллярам попадают прямо в переднюю долю гипофиза, а воздействие на его заднюю долю осуществляется по специальным нервным волокнам. Гипоталамо-гипофизарная система является типичным примером тесного объединения нервного и гуморального способов регуляции функций нашего организма.

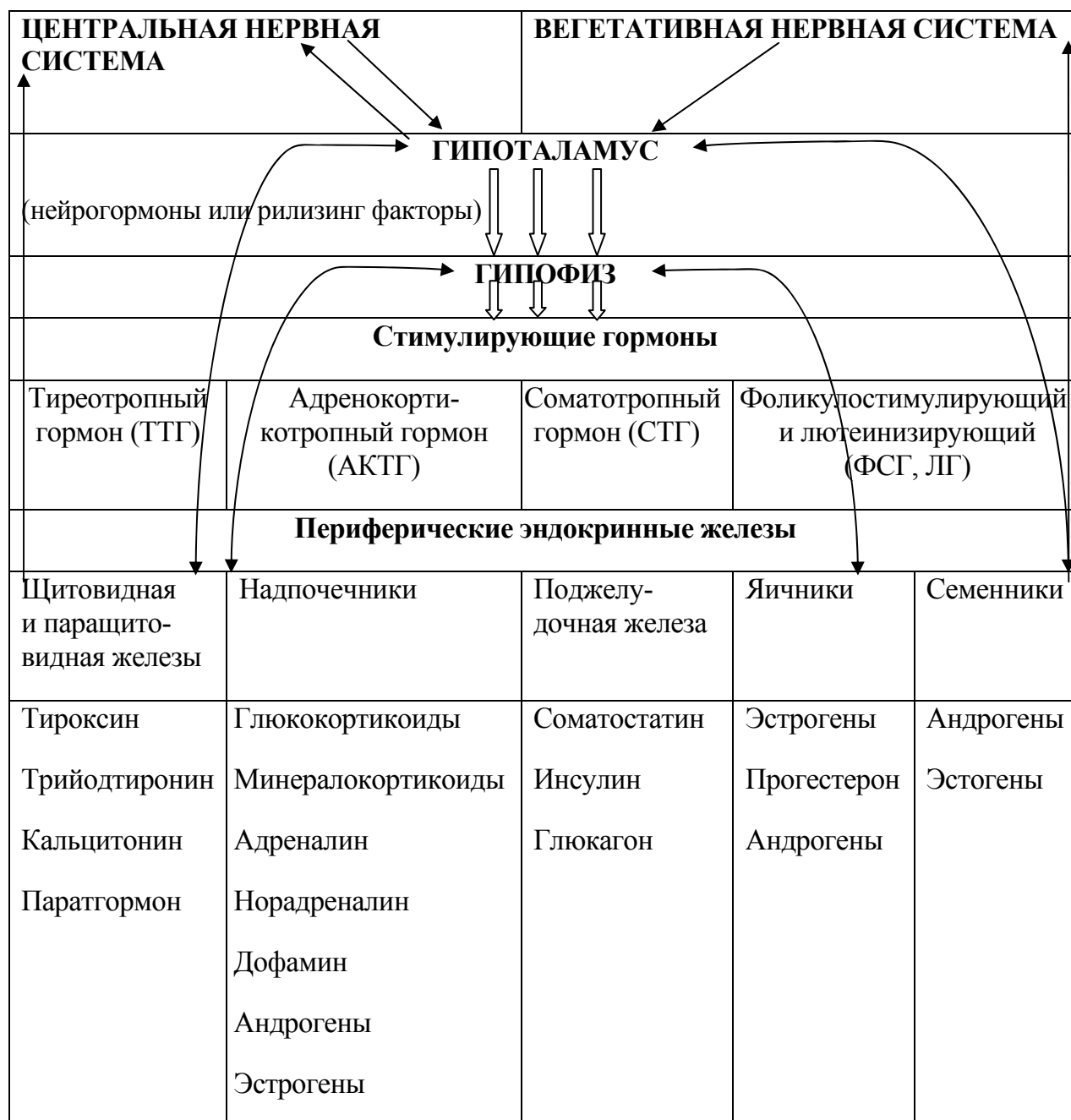


Рис. 22. Гипоталамо-гипофизарная система эндокринной регуляции млекопитающих животных и человека

Синтез гормонов эндокринными клетками осуществляется под генетическим контролем, и его интенсивность зависит не только от регуляторных сигналов звена управления, но и от величины секреции. Известный принцип торможения синтеза конечным продуктом обусловли-

вадет подавление образования гормонов при сниженном их удалении из клеток, и, напротив, активация секреции усиливает синтез гормонов. Таким образом, звенья синтеза и секреции гормонов взаимосвязаны. После выделения из желез в кровь гормоны разносятся по всему организму, вступают в контакт с соответствующими клетками-мишенями и регулируют активность генов в этих клетках.

Звено депонирования также связано с синтезом и секрецией гормонов, поскольку гормоны обычно депонируются в тех же тканях, где образуются. Депонирование гормонов эндокринной тканью может осуществляться в специализированных гранулах (например, депонирование катехоламинов в клетках мозгового вещества надпочечников), в «ампуло-видных» образованиях, открывающихся непосредственно на поверхность клеток в перичеселлюлярное пространство под эндотелием капилляров надпочечника (например, депонирование минералокортикостероидов, стероидных гормонов в корковом слое надпочечников), в специализированных структурах железы (например, депонирование тироксина в комплексе с белком тиреоглобулином в коллоиде фолликула щитовидной железы). Гормоны, как правило, депонируются в виде связанных форм с белками, макроэргическими фосфатами, нуклеопротеидами или металлами. Однако некоторые гормоны (например, катехоламины) могут депонироваться и в несекреторных тканях, клетками которых они захватываются из крови.

Транспорт гормонов осуществляется жидкостями внутренней среды организма. При этом гормоны обычно связываются со специфическими рецепторами плазматической мембраны эритроцитов или белками плазмы крови (белками глобулиновой фракции (тиреоглобулин), а также с альбуминами плазмы крови). Активность таких связанных с белком форм гормонов крайне низкая, поскольку они плохо проходят через гистогематические барьеры и не могут взаимодействовать со специфическими для них клеточными рецепторами. Освобождение активных форм в кровь происходит после гидролиза белка-переносчика протеолитическими ферментами. Свободные формы гормонов, наоборот, являются активными, поскольку проходят через барьеры, взаимодействуют с мембранными рецепторами и вызывают физиологические эффекты. Физико-химическая связь гормонов с клетками крови и белками плазмы рассматривается как одна из форм их депонирования во внутренней среде. Это связано с тем, что удаление связанных гормонов во внешнюю среду через органы выделения затруднено, а при необходимости, гормоны могут освобождаться из связанных форм, переходить в свободную активную форму и вызывать регуляторные эффекты без дополнительной активации их синтеза и секреции.

Гормоны служат химическими посредниками, переносящими соответствующую информацию (сигнал) в определённое место – к клеткам соответствующей ткани-мишени, что обеспечивается наличием у этих клеток высокоспецифических рецепторов – особых белков, с которыми связывается гормон (у каждого гормона свой рецептор). Ответ клеток на действие гормонов различной химической природы осуществляется по-разному. Например, тиреоидные и стероидные гормоны проникают внутрь клетки и связываются со специфическими внутриклеточными или ядерными рецепторами с образованием гормон-рецепторного комплекса. Этот комплекс взаимодействует непосредственно с геном, контролирующим синтез того или иного белка. Гормоны с другой химической природой взаимодействуют со специфическими рецепторами, находящимися на цитоплазматической мембране. После этого включается цепь реакций, приводящих к повышению внутри клетки концентрации так называемого вторичного посредника (например, ионов кальция или циклического аденозинмонофосфата), что, в свою очередь, сопровождается изменением активности определённых ферментов. Так, например, гормон (адреналин и пептидные гормоны) соединяется с рецептором на внешней стороне клеточной мембраны и при участии N-белка активирует фермент аденилатциклазу (рис. 23), которая локализована на внутренней стороне мембраны. При этом аденилатциклаза катализирует синтез цАМФ из комплекса Mg^{2+} -АТФ, а образовавшийся цАМФ связывается с ферментом протеинкиназой, в результате чего фермент диссоциирует на регуляторную (Р) и каталитическую (К) субъединицы.

К-субъединица фосфорилирует определённые белки, в том числе ферменты, увеличивая или снижая их активность, что приводит к изменению соответствующих функций клетки. При этом фосфорилирование белков хроматина К-субъединицы или связывание цАМФ с белками Р-субъединицы приводит к изменению матричной активности хроматина и пролиферативного статуса клетки, вызывая биологические эффекты в клетках-мишенях. На этапе активации аденилатциклазы гормональный сигнал усиливается в 100–1000 раз, а при активации протеинкиназы ещё в 100 раз, т. е. одна молекула гормона может вызвать фосфорилирование 10⁵ молекул белка (например, каскадного усиления). Действие цАМФ в клетке прекращается при гидролизе его фосфодиэстеразой и дефосфорилировании белков фосфопроteinфосфатазой (рис. 23).

Катаболизм гормонов заключается в процессах разрушения образовавшихся соединений, что важно для уменьшения числа информационных молекул и ослабления их регуляторного эффекта. Например, катаболизм гормонов может осуществляться под влиянием ферментов как в самих эндокринных тканях, печени, почках, так и в тканях-эффекторах. Ката-

болические превращения гормонов приводят к образованию новых информационных молекул с отличающимися от основного гормона свойствами, метаболическими и физиологическими эффектами. Образование новых информационных молекул в тканях-эффекторах обеспечивает в них реализацию новых биохимических и физиологических эффектов.

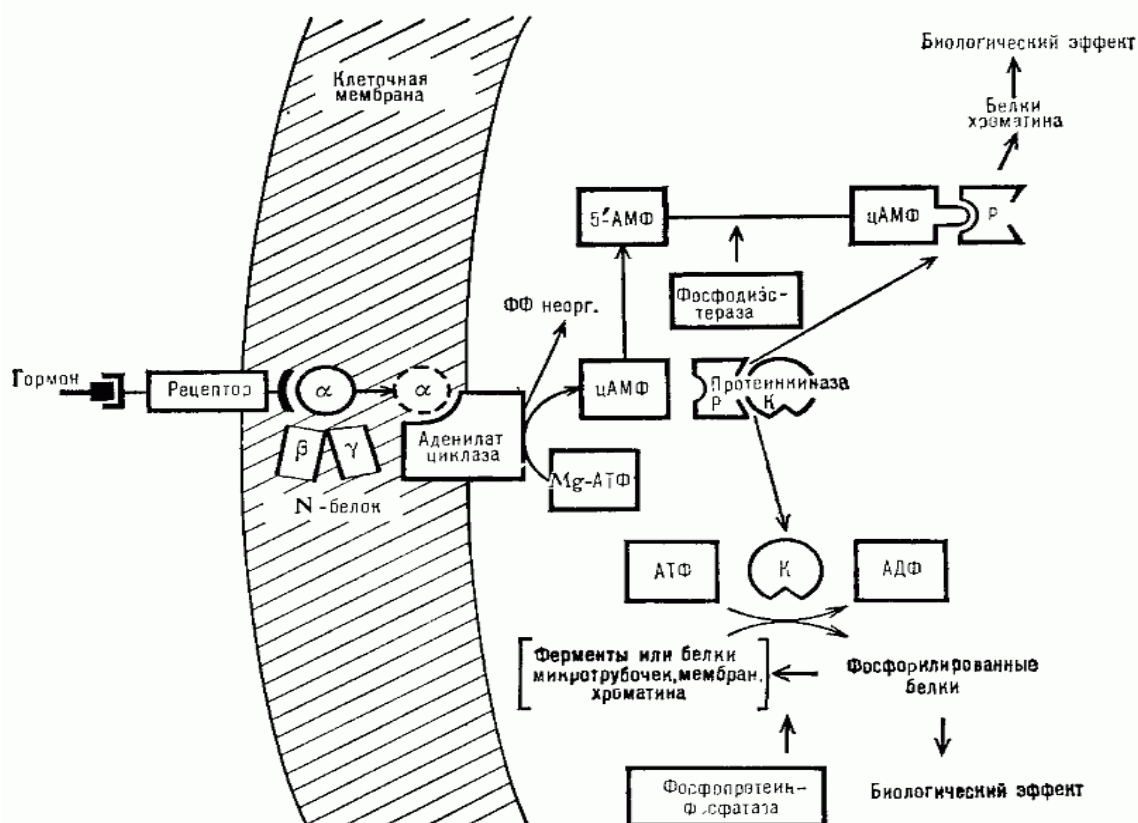


Рис. 23. Схема механизма действия гормонов у животных с участием цАМФ [5]

Действие гормонов на обмен веществ осуществляется через ферментные системы. Они могут стимулировать синтез ферментов и модифицировать структуру коферментов, активизировать одни ферменты системы и блокировать другие, один и тот же гормон может действовать одновременно на многие ферменты. Прямое действие гормонов на клетки осуществляется, главным образом, через ферментные системы и через изменение проницаемости клеточных мембран. Функциональная активность эндокринной железы может регулироваться «субстратом», на который направлено действие гормона. Так, например, высокий уровень глюкозы в крови стимулирует секрецию инсулина из β -клеток панкреатических островков Лангерганса, который снижает концентрацию глюкозы в крови, активируя её транспорт в мышцы и печень.

Существует и ряд других регуляторных веществ, которые иногда также относят к гормонам. Это так называемые *гормоны местного*

действия, или тканевые гормоны. Их вырабатывают паракринные клетки. Эти соединения обеспечивают быструю регуляцию тканевых процессов. Так как тканевые гормоны могут достигать своих органов-мишеней *диффузией*, без переноса кровью. К этой группе относятся, например, некоторые *биогенные амины* (гистамин, серотонин, дофамин, гамма-аминомасляная кислота), *простагландины*, *вазоактивные кинины* и другие.

У беспозвоночных настоящие эндокринные железы достоверно установлены только у ракообразных (Crustacea) и насекомых (Insecta), однако у всех групп беспозвоночных, за исключением губок (Porifera) и кишечнополостных (Coelenterata), имеется *нейросекреция*. Нейросекреторные клетки кишечнополостных Coelenterata класса Hydrozoa и Scyphozoa, класс гребневики (Ctenophora) присутствуют только в определённом участке нервной системы, а у членистоногих (Arthropoda), ракообразных (Crustacea), многоножек (Myriapoda), насекомых (Insecta), моллюсков (Mollusca) – во многих нервных образованиях. Вырабатываемые этими клетками нейросекреты у беспозвоночных выполняют не только функцию медиаторов передачи нервных импульсов, но оказывают дистантное действие в организме подобно гормонам млекопитающих. Так, у ресничных червей (Turbellaria) нейросекреторные клетки церебрального ганглия влияют на регенерацию глаз и развитие половых органов. У дождевых червей (*Lumbricus terrestris*) в надглоточном, подглоточном узлах и в узлах брюшной цепочки присутствует два типа нейросекреторных клеток: А и В. Нейросекреты клеток А регулируют процессы размножения, тормозя развитие половых желёз, а нейросекреты клеток В регулируют процессы роста и регенерации ампутированных задних сегментов.

У ракообразных местом образования гормонов служат группы нейросекреторных клеток оптических ганглиев глазных стебельков так называемые Х-органы (регулируют процессы линьки), а также у них есть настоящие железы внутренней секреции – Y-органы (андрогенные железы) и яичники.

У насекомых гормоны образуются в нейросекреторных нейронах «головного мозга», подглоточного ганглия и узлов брюшной нервной цепочки, а также в эндокринных железах, к которым относятся: прилежащие тела, проторакальные, вентральные и перикардальные железы. Нейросекреты по аксонам поступают и накапливаются в определенных депо, откуда поступают в гемолимфу. Гормоны насекомых регулируют обмен веществ, линьку, метаморфоз, развитие яичников и придаточных желёз полового аппарата, влияют на движения кишки, мальпигиевых сосудов и яйцеводов, а также на перемещение пигмента в клетках гиподермы. У насекомых есть два основных гормона (ювенильный гормон и экдизон).

Ювенильный гормон вырабатывается прилежащими телами и регулирует обмен веществ, развитие и рост личиночных органов, тормозит метаморфоз, то есть является антагонистом гормона экдизона. *Экдизон* вырабатывается проторакальными железами и стимулирует процессы линьки и метаморфоз, регулирует яйцепродукцию взрослого насекомого и адаптацию к новым условиям обитания. Снижение титра ювенильного гормона у насекомых приводит к наступлению стадии куколки. Кроме того, увеличение титра экдизона может приводить к образованию пухов в хромосомах (способствовать активации транскрипции генов). Это приводит к синтезу ферментов, растворяющих старую кутикулу, а затем – к активации ферментов (например, диоксифенилаланиндекарбоксилазы), необходимых для синтеза веществ, ответственных за склеротинизацию и затверждение новой кутикулы насекомых. В целом, сбалансированное действие экдизона и ювенильного гормона регулирует последовательное развитие насекомых.

Несколько типов нейросекреторных нейронов находятся в подглоточном ганглии насекомых. На примере бабочек (*Lepidoptera*) показано, что эти клетки вырабатывают гормон, обуславливающий наступление эмбриональной диапаузы (период покоя в развитии животных для переживания неблагоприятного сезона).

Таким образом, гормоны регулируют жизненноважные процессы в онтогенезе многих беспозвоночных и всех позвоночных животных.

2. Нервная регуляция онтогенеза

Для координирования деятельности всех органов и систем многоклеточного организма и обеспечения его приспособления к изменяющимся условиям окружающей среды в ходе эволюции животных и человека сформировался аппарат центрального управления – *нервная система*, которая обеспечивает быстрый и относительно кратковременный способ регуляции, в отличие от эндокринной, которая оказывает медленный, но длительный эффект. Нервная система осуществляет регуляцию посредством нервных клеток, передающих с помощью своих отростков нервные импульсы, способствующие выделению нейромедиаторов.

Нейромедиаторы – вещества, которые выделяются из пресинаптических нервных окончаний в синаптическую щель и вызывают биологический эффект, связываясь с рецепторами постсинаптической мембраны.

Нервная система участвует в регуляции жизненных функций организма за счёт передачи информации по *рефлекторной дуге*, которая позволяет быстро воспринимать изменения условий окружающей среды или внутренней среды организма и реагировать на них. Информация в виде нервных импульсов передается по определённым путям, которые

получили название рефлекторных дуг. По ним нервные импульсы передаются от рецепторов или специализированных органов чувств к определённым участкам нервной системы, где происходят их анализ и формирование реакции. От этих участков импульсы направляются в рабочие органы. Нервные импульсы имеют электрическую природу, но в местах контакта двух соседних нейронов (в синапсах) импульсы передаются химическим путем с помощью соединений-медиаторов, например, ацетилхолина. Функциональная единица нервной системы – нейроны. Они восприимчивы к раздражению, т. е. способны возбуждаться, проводить и передавать возбуждение к другим клеткам.

Особенности проведения нервных импульсов:

- передаются на любые расстояния, не затухая;
- проходят только в одном направлении;
- синапс отфильтровывает слабые фоновые сигналы, не имеющие значение для нервной системы.

Различные группы животных имеют различные типы нервной системы (диффузная – у кишечнополостных (Coelenterata); стволовая (ортогон) – в плоских червей (Plathelminthes); типа брюшной нервной цепочки – у кольчатых червей (Nemathelminthes) и членистоногих (Arthropoda); узлового типа – у моллюсков (Mollusca); трубчатого типа – у хордовых животных (Chordata), но принцип их работы сходен.

Наиболее важную интегрирующую функцию выполняет центральная нервная система, особенно кора головного мозга (впервые появляется у рептилий, и связано это с усложнением поведенческих реакций, извилины впервые появляются у птиц, и их количество увеличивается у млекопитающих, человека). Существенное значение имеет также вегетативная нервная система, в частности её симпатический отдел – система ганглиев (скоплений нервных клеток), расположенных по бокам позвоночника, в брыжейке и других частях тела. Чувствительные нервные волокна охватывают сетью все внутренние органы, кровеносные сосуды, обеспечивая рефлекторную взаимосвязь между ними.

Нервная и гормональная системы регуляции, хотя и имеют различный эволюционный возраст, в организме современных многоклеточных животных и человека представляют собой одно целое. Местом их объединения служит головной мозг, где расположен гипоталамус, который находится под непрерывным контролем со стороны нервных структур головного мозга. В гипоталамических синапсах чаще всего выделяются медиаторы – дофамин, норадреналин и серотонин, каждый из которых специфически воздействует на клетки гипоталамуса, активизируя деятельность одних и тормозя активность других клеток. Здесь работают законы

сложнейших нейронных сетей, с суммацией и усилением противоположно направленных воздействий. Большинство нервных и гуморальных путей регуляции сходятся на уровне гипоталамуса и, благодаря этому, в организме образуется единая нейроэндокринная регуляторная система. К клеткам гипоталамуса подходят аксоны нейронов, расположенных в коре больших полушарий и подкорковых образованиях. Эти аксоны секретируют различные нейромедиаторы, оказывающие на секреторную активность гипоталамуса как активирующее, так и тормозное влияние. Нервные импульсы поступают из головного мозга в гипоталамус, где они «превращаются» в эндокринные стимулы, которые могут быть усилены или ослаблены в зависимости от гуморальных сигналов, которые передаются от тканей-мишеней.

Таким образом, нервная и гормональная регуляторные системы дополняют друг друга, образуют функционально единый механизм, что обеспечивает высокую эффективность нейрогуморальной регуляции, ставит её во главе систем, согласующих все процессы жизнедеятельности в многоклеточном организме, обеспечивая высокую эффективность механизма биологической координации.

3. Сигнальные пути в онтогенезе

В онтогенезе различных представителей позвоночных и беспозвоночных животных межклеточные, нейро-гормональные взаимодействия координируются набором *сигнальных путей*. Большую часть межклеточных сигналов передает небольшое число в разной степени изученных основных сигнальных каскадов генов, связанных с активностью определенных сигнальных молекул (лигандов, рецепторов и других). Среди них сигнальные пути Hh (Hedgehog); Wnt (wingless); Notch; ростовых факторов: TGF- β (transforming growth factor), EGFR (epidermal growth factor receptor), JAK/STAT (Janus kinase/signal transducers); ядерных рецепторов гормонов. Прототипы разных многокомпонентных сигнальных систем с высокой степенью гомологии молекулярных механизмов передачи сигнала можно найти даже у прокариот и низших эукариот. При переходе к многоклеточности сигнальные белки претерпевают структурные изменения, образуют белковые комплексы; повышается эффективность сигнальной трансдукции. В геномах разных видов гены, контролирующие развитие, эволюционно консервативны и имеют сходные функции. Например, сигнальная система Hh, в которой секретируемыми лигандами являются белки семейства Hedgehog, обнаружена у *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Gallus gallus*, *Rana*, *Paracentrotus lividus*, Hirudinea и Insecta. Wnt-путь также широко распространен среди животных. Белки Wnt

составляют одно из наибольших семейств сигнальных молекул у человека, мыши, лягушки, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*.

Наряду с жёстким консерватизмом *генные сигнальные системы* обладают высокой степенью гибкости в ответах на межклеточные сигналы. Каждая из них неоднократно включается в разных тканях в течение развития индивидуумов, регулируя пространственное и временное разделение экспрессии генов, определяющих различные «судьбы» клеток. Передача сигналов может идти по короткой или длинной цепи, через активацию другого каскада, быть прямой или непрямой.

Результаты сигнальной индукции существенно зависят от взаимодействия между каскадами. Разные сигнальные системы связываются между собой через боковые передающие цепочки, возникающие на многих ступенях трансдукции, активируя друг друга промежуточными продуктами. На сегодняшний день известно немало фактов взаимного влияния сигнальных путей. Так, у дрозофилы во время развития крыла взаимодействуют Hh (Hedgehog) и EGFR (epidermal growth factor receptor)-каскады, в специализации клеток ног участвуют RAS/MAPK (Ras-mitogen-activated protein kinase) и EGFR-пути, с развитием RAS почечных канальцев связаны сигнальные системы EGFR и Wnt/Wg (wingless). Пока нет ясного понимания конкретных молекулярных механизмов этих взаимодействий. Однако возможность возникновения сети сигнальных путей может определяться некоторыми свойствами передающих сигналы белков. Так, одни и те же лиганды способны связываться с разными рецепторами и активировать альтернативные пути развития клеток. Такие неоднозначные действия могут быть следствием альтернативного сплайсинга транскриптов соответствующих генов и образования независимых изоформ лигандов и рецепторов с измененными внеклеточными доменами. В свою очередь, один и тот же рецептор в разных тканях может активировать разные внутриклеточные передатчики. В регуляции экспрессии генов-мишеней могут одновременно участвовать несколько сигнальных путей, образуя общий сигнальный белок или действуя совместно на разные модули энхансеров генов, причем одинаковые сигналы могут вызывать разные паттерны экспрессии. Активная конформация транскрипционных факторов может формироваться одновременно с протеинкиназами разных сигнальных систем. Специфичность ответа может зависеть от компартиментализации сигнала на клеточной поверхности. Общим в деятельности сигнальных каскадов, различающихся наборами генов и биохимическими механизмами, является передача сигнала от клеточной поверхности в ядро, активация соответствующих генов-мишеней через регуляцию сигнал-зависимых транскрипционных факторов.

Функции сигналов выполняют молекулы лигандов – гормоны, факторы роста или морфогены, секретируемые клетками в межклеточное пространство. Специфичность проведения сигнала зависит от компетентности воспринимающих клеток, от их способности распознавать индукцию определенными рецепторами.

Белковые молекулы разных рецепторов состоят из трех основных доменов: внешнего N-концевого, трансмембранного и цитоплазматического С-концевого. Рецепторы пронизывают мембраны воспринимающих клеток один или несколько раз, выступая с обеих сторон над её поверхностью. Обычно активация сигнального пути начинается с прямого контакта внеклеточного лиганда, поступившего в межклеточный матрикс после протеолиза, с внешним участком трансмембранного рецептора на поверхности клетки. Взаимодействие с лигандом меняет конформацию рецепторного белка, что делает его уязвимым для многих протеолитических ферментов. Ферменты расщепляют молекулу рецептора, и внутренний домен освобождается от клеточной мембраны. Активизированная внутриклеточная часть рецептора поступает в цитоплазму и включается в модификацию цитоплазматических переносчиков сигнала, подвергаясь димеризации. В результате димеризации активируются цитоплазматические домены, которые самофосфорилируются по многим аминокислотам, что приводит к активации транскрипционных факторов, связыванию их с ядерными рецепторами и изменению экспрессии генов-мишеней. Модификация конформации и активности рецептора и других молекул, передающих сигнал на разных ступенях каскадов, обычно происходит путём протеолиза, димеризации, олигомеризации, фосфорилирования, дефосфорилирования или других реакций. Фосфорилирование по остаткам серина, треонина и тирозина – наиболее частая посттрансляционная модификация сигнальных белков.

У млекопитающих, например, изменение тирозинкиназной активности белков сигнальных каскадов факторов роста (фибробластов – FGF, фактора роста тромбоцитов – PDGF, эпидермального фактора роста – EGF) играет важную роль в индукции дифференцировки, пролиферации, роста разных типов клеток. Фосфорилирование данных транскрипционных факторов катализируется протеинтирозинкиназами или тирозинкиназами, часто ассоциированными с С-концевыми цитоплазматическими доменами рецепторов факторов роста. Для проведения сигнала также необходимо фосфорилирование транскрипционных факторов STAT (signal transduction and activator of transcription) и G-белков (семейство белков, относящихся к ГТФамам).

Таким образом, сигнальные пути лежат в основе механизмов межклеточных взаимодействий, нервной и гормональной регуляции онтогенеза животных организмов.

Вопросы для самоконтроля

1. Какую роль выполняют гормоны в онтогенезе организмов?
2. Чем отличается механизм нервной регуляции развития от гормональной регуляции?
3. За счёт чего происходит гормональная регуляция гаметогенеза у многоклеточных организмов?
4. Какова роль гипоталамуса в онтогенезе позвоночных организмов?
5. Назовите основные компоненты гипоталамо-гипофизарной системы. Как осуществляется взаимодействие между ними?
6. Какую роль в онтогенезе организмов выполняет нервная система?
7. Каким образом гормоны регулируют дифференциальную экспрессию генов? Приведите примеры.

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Бакл Дж. Гормоны животных / Дж. Бакл. – М. : «Мир», 1986. – 126 с.
2. Дондуа А. К. Биология развития / А. К. Дондуа. – СПб. : Изд-во СПбГУ, 2005. – 237 с.
3. Угрюмов М. В. Нейроэндокринная регуляция в онтогенезе (структурно-функциональные основы) / М. В. Угрюмов. – М. : Наука, 1989. – 248 с.
4. Смиттен Я. А. Симпато-адреналовая система в фило- и онтогенезе / Я. А. Смиттен. – М. : «Мир», 1972. – 175 с.
5. Яковлев А. В. Аденилатциклазная и гуанилатциклазная системы внутриклеточных вторичных посредников : учеб. пособие [Электронный ресурс] / А. В. Яковлев, О. В. Яковлева, Г. Ф. Ситдикова. – Казань : Изд-во КГУ, 2009. – 48 с. – Режим доступа : <http://bse.sci-lib.com>

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

6. Gilbert S. The position of the problem of ontogenesis / S. Gilbert // Parrhesia. – 2009. – № 7. – P. 4–16.
7. Alamo D. Spitz/EGFr signalling via the Ras/MAPK pathway mediates the induction of bract cells in *Drosophila* legs / D. Alamo, J. Terriente, F. J. Diaz-Benjumea // Development. – 2002. – Vol. 129. – P. 1975–1982.
8. Cadigan K. M. Wnt signaling: a common theme in animal development / K. M. Cadigan, R. Nusse // Genes Dev. – 1997. – Vol. 11. – P. 3286–3305.
9. Massague J. Controlling TGF-signaling / J. Massague, Y. Chen // Genes Dev. – 2000. – Vol. 14. – P. 627–644.
10. Pires-daSilva A. The evolution of signaling pathways in animal development / A. Pires-daSilva, R. J. Sommer // Nature Reviews, Genetics. – 2003. – Vol. 4. – P. 39–49.
11. Sorren L. Phylogenesis, ontogenesis and evolution / L. Sorren // Bolletino di zoologia. – 2013. – Vol. 54. – P. 10–34.

ЛЕКЦИЯ 8

РЕГУЛЯЦИЯ ОНТОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

ПЛАН

1. Универсальность и отличия развития растений и животных.
2. Этапы онтогенеза растений и их регуляция.
3. Роль фитогормонов в развитии растений.

В вышеизложенных лекциях рассматривались преимущественно механизмы регуляции онтогенеза животных и человека, но в развитии животных и растений наблюдаются универсальность и отличия.

1. Универсальность и отличия развития растений и животных

Единство живой природы проявляется в сходстве процессов развития животных и растений.

В основе развития растительного организма лежат те же закономерности, что и в развитии животных (универсальность).

- В основе формирования «тела» организма – митоз, а в основе репродукции и рекомбинации мейоз.

- Многократное деление всего лишь одной клетки приводит к формированию организма, обладающего системами органов и тканей, составленных из клеток, не похожих друг на друга.

- Выявлены консервативные семейства генов.

- Сходство регуляторных систем на клеточном и молекулярном уровнях (например, регуляция клеточных делений, механизмы контроля клеточного цикла с участием циклинов и циклин-зависимых киназ).

- Клетки в многоклеточном организме находятся в тесном контакте и постоянно обмениваются между собой продуктами жизнедеятельности.

- Дифференциальная активность генома – основа клеточной дифференцировки.

- Регуляторные транскрипционные факторы на 70 % гомологичны у растений и животных (гомеозисные гены, определяющие рост и дифференцировку организма, транскрипционные факторы с гомеодоменом и другие).

- Сходство функций транскрипционных факторов, вовлеченных в регуляцию пролиферации клеток.

Отличия механизмов онтогенеза растений от животных касаются особенностей их роста и развития.

- Одни и те же стадии клеточного цикла у животных и растений регулируются разными группами циклинов.

- У растений к гомеозисным замещениям органов приводят мутации не по гомеобокс-содержащим генам, а по генам, содержащим MADS-бокс. Термин «MADS-бокс» образован начальными буквами 4 генов: *MCM1* дрожжей (ген *Minichromosome maintenance protein 1 Saccharomyces cerevisiae*), *AG* арабидопсиса (ген *AGAMOUS Arabidopsis*), *DEF* львиного зева (ген *DEFICIENCE Antirrhinum*) и *SRF* млекопитающих (ген *serum response factor*). У растений к генам, содержащим MADS-бокс, относятся, в частности, *AG* (*AGAMOUS*), *DEF* (*DEFICIENCE*), *API* (*APETALA1*) и *AP3* (*APETALA3*), *TFL1* (*TERMINAL FLOWER*), *PI* (*PISTILLATA*). Гены этого типа регулируют флоригенез и определяют судьбу клеток в семяпочке; их экспрессия выявлена в зародыше, корнях и листьях. К MADS-бокс-генам относится большинство гомеозисных генов растений, в частности гены идентичности органов цветка. Предполагается, что возникновение новых органов в процессе прогрессивной эволюции растений, например семяпочек и семян, сопровождалось появлением новых подсемейств именно MADS-бокс-генов.

- Растения, в отличие от большинства животных организмов, способны размножаться неполовым, вегетативным путём.

- У растений очень высока скорость и способность к регенерации при повреждении за счёт клеток меристематических тканей и путем дедифференцировки клеток в меристематические, образования каллусных тканей, формирования новых очагов деления и роста.

- У растений процессы дифференцировки клеток происходят в течение всей их жизни в отличие от животных, у которых дифференцировка клеток в основном происходит на стадии формирования зародыша, а затем соматические клетки только воспроизводят себе подобные (исключением являются ствольные клетки).

- Процессы роста и развития у растений, в отличие от животных, имеют большую зависимость от условий и факторов окружающей среды (фотопериод, температура, освещённость, содержание минеральных веществ в почве и другие). Например, высокое содержание азота в почве обеспечивает быстрый рост растения, но сильно задерживает его развитие, снижением способности к половому размножению.

В развитии растений наблюдаются универсальные для эукариот принципы регуляции, но эволюционно сформировались и уникальные особенности онтогенеза.

2. Этапы онтогенеза растений и их регуляция

У растительных организмов выделяют следующие этапы онтогенеза:

- *эмбриональный* (зародышевый или латентный период) – от момента оплодотворения и образования зиготы до прорастания зародыша семени (у голосеменных *Gymnospermae* и покрытосеменных *Angiospermae*). У папоротников (*Polypodiophyta*) эмбриональный период характеризуется возникновением зиготы (при слиянии яйцеклеток из архегония и сперматозоидов из антеридия заростка), из которой формируется зародыш спорофита (состоит из гаустории – ножки, которой он врастает в ткани заростка (гаметофит) и потребляет из него питательные вещества, зародышевого корешка; почки; первого листа зародыша – «семядоли»). У хвощей (*Equisetophyta*) и мхов (*Bryophyta*) слияние гамет происходит при наличии капельно-жидкой воды, и дальнейшее развитие зиготы происходит внутри архегония;

- *ювенильный* (вегетативный, период проростка) – от прорастания семени до образования репродуктивных органов (*Gymnospermae* и *Angiospermae*), у *Polypodiophyta*, *Equisetophyta*, *Bryophyta* данный период характеризуется постепенным развитием из «зародыша» во взрослое растение – спорофит. Этот период подразделяется на два подпериода: *имматурный период* характеризуется усиленным образованием и ростом вегетативных органов; *виргинильный период* – растение готово к репродукции потомства, но ещё не размножается половым путём;

- *генеративный*: растения приобретают способность к половому размножению (в этот период выделяют следующие состояния растений: молодое генеративное, средне-возрастное генеративное и старое генеративное), происходит закладка и формирование репродуктивных органов и плода (генеративный орган растения, который необходим для защиты и распространения незрелых семян) (*Gymnospermae* и *Angiospermae*). Формирование плода является конечным этапом развития цветка. У *Polypodiophyta*, *Equisetophyta*, *Bryophyta* генеративный период характеризуется формированием спорангия и образованием в его спорогенной ткани гаплоидных спор (в результате спорового мейоза). Споры прорастают, и образуется гаметофит, на котором формируются органы размножения (архегонии и антеридии с гаметами);

- *сенильный* (постгенеративный или старческий период) – последний период онтогенеза, в течение которого растения не образуют генеративных органов, замедляется вегетативный рост и вегетативное размножение, партикуляция подземных органов, отсутствуют почки возобновления, и растения постепенно отмирают.

Индивидуальное развитие растений у каждого вида имеет различную продолжительность. Одни виды заканчивают свой жизненный цикл за

один вегетационный период (однолетние), другие образуют семена только на второй год жизни (двулетние), третьи зацветают и начинают плодоносить на 3–5-й год жизни (многолетние). Так, у однолетних растений отдела *Angiospermae* этап старости наступает в конце вегетационного периода (осенью). У многолетних цветковых растений этап старости наступает не одновременно для всего растения (у них постепенно стареют и отмирают побеги, начиная с нижних). У некоторых деревьев (дуба черешчатого (*Quercus robur*), бука лесного (*Fagus sylvatica*), клена полевого (*Acer campestre*) и других) описано *квазисенильное* возрастное состояние (термин предложен Т. А. Работновым). Это угнетённые, низкорослые растения, которые со временем приобретают черты старого вегетативного растения, не пройдя генеративную фазу. Квазисенильное состояние обнаружено у имматурных и виргинильных растений. Характерными чертами растений этого состояния служит задержка развития, угнетение процесса фотосинтеза, минимальные ежегодные приросты, преобладание в кроне сухих ветвей, но наряду с этим наличие жизнеспособных почек и активной корневой системы. Переход растений в квазисенильное состояние связан с влиянием неблагоприятных условий среды и конкуренции за ареал обитания (например, сильно затенённые молодые растения характеризуются задержкой роста). При этом в растениях происходят изменения физиологических и биохимических параметров (до конца не изучено, какие именно изменения и их механизм), что приводит к накоплению метаболитов (фенольные соединения), угнетающих рост растений. Однако следует отметить, что при улучшении условий среды до необходимой для нормального роста, квазисенильные растения способны к активному росту, развитию и формированию плодоносящего растения. Таким образом, квазисенильное состояние эволюционно появилось как способность адаптироваться и переживать, не погибая, неблагоприятные изменения среды.

На примере цветковых растений (*Angiospermae*) рассмотрим некоторые особенности онтогенеза.

Эмбриональный период этих растений начинается с оплодотворения яйцеклетки и длится до прорастания семени. Этот этап можно разделить на два периода: а) эмбриогенез – период, в котором эмбрионы находятся на материнском растении; б) покой – период от конца формирования семени и до его прорастания.

Все процессы эмбриогенеза происходят в семязачатке. Семя служит функциональной единицей размножения цветковых растений и представляет собой созревший семязачаток, содержащий из зародыша и запаса питательных веществ. Зигота делится на две неравные клетки – крупную базальную и более мелкую – апикальную. Из базальной клетки

формируется цепочка клеток, которая называется суспензором, служащая для закрепления зародыша в полости зародышевого мешка и для переноса к нему питательных веществ. Клетка суспензора, примыкающая к зародышу, морфологически выделяется и называется *гипофизой*. Путём серии поперечных и продольных делений гипофиза даёт начало клеткам, из которых формируются корневой чехлик, эпидерма, кора и другие ткани корня. Из апикальной клетки двухклеточного зародыша путем последовательных делений образуется *квадрант*, а затем *октант стадии проэмбрио*. Зародыши двудольных и однодольных растений могут оставаться сходными по форме вплоть до стадии, когда основное тело зародыша становится шаровидным. Затем в результате развития двух семядолей зародыш двудольных приобретает двулопастную форму, тогда как зародыш однодольных становится более или менее цилиндрическим вследствие вытягивания единственной семядоли. Закладка семядолей и расположенного между ними апекса побега происходит в течение *сердцевидной стадии* развития. В пластидах начинают формироваться стопки тиллакоидов. В этот период развития образуется поверхностный ряд клеток – протодерма, а затем формируются эпидермальные ткани растения. На *стадии торпедо* появляются клетки, из которых формируются корень и гипокотиль. Под протодермой возникают клетки почвенной меристемы, которые дадут основу клеткам коры корня, гипокотилия и эндодермы. В центре зародыша образуется ядро из вытянутых клеток прокамбия, являющихся основой проводящих тканей центрального цилиндра и перицикла. Процесс формирования зародыша характеризуется последовательными изменениями скорости и направления деления клеток, дифференциацией клеток и тканей, формированием органов и накоплением питательных веществ.

У цветковых растений, например, выделяют специфические для эмбриогенеза группы генов:

- 1) гены раннего эмбриогенеза;
- 2) гены, экспрессирующиеся на этапе «созревания» зародыша;
- 3) гены, экспрессирующиеся в позднем эмбриогенезе и захватывающие прорастание семени;
- 4) гены «домашнего хозяйства», которые постоянно функционируют во всех клетках в течение всего онтогенеза растительного организма.

В течение эмбриогенеза закладываются *три основных элемента*, на базе которых в дальнейшем будет строиться растительный организм:

- 1) апикально-базальная ось симметрии – основа разметки общего плана строения растения;

- 2) радиальная ось симметрии – основа для развития растения в радиальном направлении;
- 3) первичные меристемы – основа для формирования органов в течение последующих этапов онтогенеза растения.

Созревание зародыша и семени завершается тем, что ткани начинают терять воду, уменьшается их метаболическая активность и наступает период покоя. Различают покой физиологический и вынужденный. Причиной вынужденного покоя являются факторы внешней среды, которые препятствуют прорастанию семян. Физиологический покой определяется балансом эндогенных ингибиторов (ауксины) и активаторов (гиббереллины, цитокинины) роста. Для выхода семян из покоя необходимы определенные влажность, температурный и световой режимы.

Вегетативный этап развития Angiospermae включает юношеский, имматурный и виргинильный периоды и характеризуется прорастанием семени или органов вегетативного размножения (клубней, луковиц); формирование вегетативных органов (листьев, стеблей, корней); образованием и дифференцировкой клеток, тканей и органов растений; их рост и увеличение в размерах.

Рассмотрим один из механизмов регуляции вегетативного этапа развития арабидопсиса (*Arabidopsis*) на примере инициации листовых примордиев в периферической зоне апикальной меристемы. Ключевую роль в инициации листовых примордиев у *Arabidopsis* играет баланс между процессами пролиферации и дифференциации клеток. Клетки, вовлечённые в инициацию листового примордия, отличаются от остальных по спектру экспрессирующихся в них генов, которые обуславливают переход клеток апикальной меристемы побега в детерминированное состояние.

Регуляция клеточных делений и дифференцировки является важной составляющей процессов роста и развития растений. Хотя в ходе развития способность к клеточным делениям сохраняется почти у всех живых зрелых тканей растений, активная пролиферация клеток характерна преимущественно для образовательных тканей – *меристем*. Поддержание активных клеточных делений, сохранение запаса недифференцированных клеток в меристемах регулируется меристем-специфичными генами. Среди них ключевыми генами являются *SHOOTMERISTEMLESS (STM)* и *WUSCHEL (WUS)*, кодирующие гомеодомен-содержащие транскрипционные факторы, относящиеся к группам KNOX (KNOTTED1-like homeobox) и WOX (*WUSCHEL* related homeobox) соответственно. Ген *STM* экспрессируется в клетках апикальной меристемы и препятствует их дифференцировке, а экспрессия гена *WUS* наблюдается в группе клеток центральной

зоны меристемы, «побуждающих» к активным делениям прилежащие клетки меристемы. Активность гена *WUS* необходима для поддержания запаса стволовых клеток в центральной зоне меристемы побега.

Ген *STM* относится к гомеодомен-содержащим транскрипционным факторам семейства TALE (Three Amino Acid Loop Extension). В отличие от типичного гомеодомена, состоящего из 60 аминокислот, гомеодомены транскрипционных факторов семейства TALE содержат 3 дополнительные аминокислоты. У растений семейство TALE представлено, главным образом, двумя классами генов *KNOX*: *KNOXI* и *KNOXII*. Помимо консервативного ДНК-связывающего гомеодомена, продукты генов *KNOX* содержат *KNOX* домен, необходимый для белок-белковых взаимодействий. Также в структуре транскрипционных факторов *KNOX* выделяют домены, обогащённые аминокислотными последовательностями Gly (глицин)–Ser (серин)–Glu (глутамин) и Glu (глутамин)–Leu (лейцин)–Lys (лизин).

В геноме *Arabidopsis* выявлено несколько генов *KNOX*, получивших название *KNAT* (*Knotted-like of Arabidopsis thaliana*). Эти гены арабидопсиса, в свою очередь, подразделяются на два класса: I и II. При этом гены I класса (*STM*, *KNAT1/BP (BREVIPEDICELLUS)*, *KNAT2* и *KNAT6*) экспрессируются преимущественно в меристемах, а гены II класса (*KNAT3*, *KNAT4*, *KNAT5*) имеют более широкую область экспрессии. В частности, известно, что гены *KNAT3*, *KNAT4*, *KNAT5* экспрессируются в корнях *Arabidopsis*.

Для нормального развития листа необходимо подавление экспрессии меристем-специфичных генов в области листового примордия. За подавление экспрессии генов *KNAT1*, *KNAT2*, *KNAT6* ответственны белки *AS1* и *AS2* (*ASYMMETRIC LEAVES 1,2*), контролирующие переход клеток в дифференцированное состояние. В то же время, для правильного функционирования меристемы необходимо подавление активности генов *AS1* и *AS2* в клетках меристемы. Кроме того, основную роль в пролиферации клеток листового примордия играет экспрессия гена *ANT* (*AINTEGUMENTA*). Прекращение экспрессии генов *KNOX* и начало экспрессии гена *ANT* – ранние маркёры клеток, вышедших из ниши клеток апикальной меристемы для образования латеральных органов побега.

Подавление экспрессии генов *KNOX I* класса в листовом примордии характерно для *Arabidopsis*, имеющего простые листья. Однако у растений со сложными листьями, например у томата, экспрессия генов *KNOX I* класса наблюдается и в области листовых примордиев. Так, ген *LeT6* томата, гомолог гена *STM Arabidopsis*, экспрессируется как в листовом примордии, так и в апикальной меристеме.

Репрессия генов *KNOX* при инициации листа осуществляется за счёт следующих механизмов:

- прямой репрессии транскрипции генов *KNOX* с помощью системы AS1-AS2-HIRA (ASYMMETRIC LEAVES 1,2-Chromatin Histone Regulator A), которая включает взаимодействующие транскрипционные факторы AS, а также фактор ремоделинга хроматина HIRA (Chromatin Histone Regulator A). Мутанты *Arabidopsis* с полной потерей функции гена *HIRA* погибают на ранних стадиях эмбриогенеза, что свидетельствует о важности этого гена и белка в развитии растений;

- возникновения участков высокой концентрации ауксинов на периферии апикальной меристемы, что приводит к снижению или полному подавлению экспрессии генов *KNOX*, *AS1*, *AS2*, *ANT*.

Важную роль в репрессии транскрипции генов *KNOX* на ранних стадиях развития листа играют эпигенетические механизмы, за счёт которых неактивное состояние генов *KNOX* может передаваться от материнских клеток к дочерним через митотические деления. Таким образом, изменение морфологии органов растений в вегетативный период обусловлено изменением экспрессии гомеозисных генов.

Известно, что транскрипционные факторы семейства TALE (Three Amino Acids Loop Extension), к которым относятся белки *KNOX* растений, широко распространены и у животных. У животных транскрипционные факторы TALE представлены четырьмя основными группами: PBC/PBX (pre-B-cell leukemia homeobox), MEIS (myeloid ecotropic viral integration 1), TGIF (transforming growth β -induced factor). У грибов также обнаружены белки семейства TALE (в частности, белки M-ATYP (mating type protein), определяющие тип спаривания у дрожжей). Белков, родственных транскрипционным факторам *WOX* растений, у других представителей эукариот не обнаружено.

Интересно отметить, что белки животных группы MEIS и белки растений группы *KNOX*, кроме консервативных гомеодоменов, содержат схожие по аминокислотным последовательностям домены MEIS и *KNOX*. Сходство аминокислотных последовательностей этих доменов позволило предположить, что они произошли от общего домена, присутствующего у общего предка растений и животных. Этот гипотетический предковый домен был назван MEINOX.

Гены *MEIS* у животных играют важную роль в развитии нервной системы, их активность регулирует дифференцировку и стимулирует пролиферацию клеток нервного гребня в ходе эмбриогенеза. Кроме того, гены *MEIS* важны при формировании проксимально-дистальной оси конечностей. Предполагают, что мишенями действия транскрипционных факторов MEIS могут быть гены циклинов, циклин-зависимых киназ, антиапоптотических белков, а также различных регуляторов морфогенеза.

Гены *MEIS* также являются протоонкогенами, их активность наблюдается при развитии лейкемии, нейробластомы. Ген *MEIS1* был впервые идентифицирован как сайт интеграции вируса лейкемии мышей. В опухолевых клетках наблюдалось усиление экспрессии гена *MEIS1*, вызванное интеграцией вируса. В клетках нейробластомы также была выявлена экспрессия гена *MEIS2* и других белков-представителей семейства TALE: PBX1, PBX2, TGIF1, TGIF2.

Таким образом, сходство структуры транскрипционных факторов *MEIS* и *KNOX* позволяет предположить, что эти гены могут выполнять схожие функции, универсальные у растений и у животных. Действительно, транскрипционные факторы *KNOX* и *MEIS* вовлечены в общие процессы, характерные для растений и животных: в регуляцию пролиферации и дифференцировки клеток. Активность генов *MEIS* у животных также наблюдается в раковых опухолях. У растений при опухолеобразовании также обнаружено изменение активности *KNOX* генов.

Генеративный этап развития цветковых растений охватывает период от закладки и формирования органов размножения (цветов) до образования семян, плодов и органов вегетативного размножения. Переход к цветению представляет собой запуск одной из наиболее важных генетических программ развития цветковых растений, определяющей успешное репродуктивное размножение.

Цветок представляет собой видоизмененный одноосный побег с ограниченным ростом, предназначенный для полового (генеративного) размножения. Развитие цветка проходит через несколько стадий, которые в случае *Arabidopsis* состоят в следующем:

- формирование вегетативной апикальной меристемы побега;
- превращение вегетативной апикальной меристемы в генеративную (меристему соцветия);
- формирование меристем отдельных цветков (флоральных меристем);
- закладка отдельных органов цветка.

Процесс цветения включает несколько этапов:

1. Индукция цветения внешними или внутренними стимулами.
2. Транспорт флорального стимула.
3. Эвокация цветения – необратимые процессы, происходящие в апикальной меристеме побега, которые приводят к формированию репродуктивных органов.
4. Формирование цветковых меристем.
5. Закладка, рост и развитие органов цветка (собственно цветение).
6. Формирование женского (зародышевый мешок с яйцеклеткой) и мужского (пыльца) гаметофитов.

Процессы развития цветка регулируются тремя группами генов:

- гены, которые определяют время индукции цветения; их активность контролируется сигналами внешней и внутренней среды;
- гены, называемые генами идентичности меристем, отвечают за формирование флоральной меристемы и количество закладывающихся в ней цветков. Например, гены *CLAVATA*, *SUPERMAN* и *FLORAL ORGAN NUMBER* регулируют количество закладывающихся в цветке зачатков, а также детерминированность флоральной меристемы;
- гены идентичности органов цветка отвечают за формирование органов цветка.

Выделяют четыре типа сигнальных путей, инициирующих цветение:

1. *Фотопериодический путь инициации цветения.* Важнейшим фактором, который влияет на переход растительного организма к генеративному этапу развития, является фотопериод – относительная продолжительность светлого и тёмного времени суток. Главную роль в восприятии фотопериодического стимула играют фоторецепторы синего и красного света соответственно, криптохромы и фитохромы, которые регулируют активность соответствующих генов, приводя к цветению.

2. *Холодовой путь инициации цветения.* Снижение температуры окружающей среды вызывает активацию экспрессии генов *VRN1*, *VRN2*, *VRN3* (*Vernalization1, 2, 3*), кодирующих ДНК-связывающий белок Myb-подобный (*myeloblastosis*) и белок группы Polycomb, обладающий гистон-метилтрансферазной активностью, а также гены автономного пути *FCA* (*FLOWERING CONTROL of Arabidopsis*), *FY* (*FLOWERING LOCUS Y*), *FLD* (*FLOWERING LOCUS D*), *FLK* (*FLOWERING LOCUS K*), *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) и другие приводят к компактизации хроматина, метилированию гистонов гена *LFY* (*LEAFY*), вследствие чего данный ген не экспрессируется. Эпигенетическое выключение гена *LFY* ингибирует экспрессию генов *SOC1* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1*), *FT*, *FD*, активирующих экспрессию гена *LFY*.

Раннее цветение обеспечивается также мутациями в генах *ELF1, 2, 3* (*EARLY FLOWERING*), *EMF 1, 2* (*EMBRYONIC FLOWER*), а также *TFL* (*TERMINAL FLOWER*).

3. *Автономный генетически-детерминированный путь инициации.* Так, одним из основных инициаторов запуска автономного пути инициации цветения является ген *FLC*. Этот ген содержит MADS-домен. Ген *FLC* имеет крупный интрон, который является *cis*-регуляторным элементом. Основная функция этого гена – репрессия цветения, он является основным антагонистом генов, контролирующих переход к цветению. В регуляции экспрессии гена *FLC* участвуют несколько генов и используются различные механизмы. Так, гены *FCA*, *FLK*, *FPA*

(regulates flowering time in *Arabidopsis*) и *FY* регулируют экспрессию гена *FLC* через РНК – процессинг, а гены *FLD* и *FVE* (flowers vernalization-regulatory gene) – через формирование гистон-деацетилазного комплекса. Экспрессия гена *FLC* – это дозозависимый процесс, регулируемый длиной дня и гиббереллинами.

Таким образом, продолжительная вегетативная стадия развития обеспечивается у растений за счет активного подавления генеративных программ. Внешние факторы – длинный световой день, кратковременные воздействия низкой температуры и гормоны – способны ослаблять это подавление, тем самым способствуя более раннему цветению.

4. *Гиббереллиновый путь*. Гиббереллины индуцируют цветение, повышая уровень транскрипции гена *LFY*, который действует на этапе детерминации флоральной меристемы.

Возраст растения – еще один важнейший фактор инициации цветения. Растения на ювенильной стадии развития в условиях индуктивного фотопериода и после воздействия холода не зацветают. У *A. thaliana* найден способ оценки состояния онтогенеза, связанный с функционированием микроРНК *miR156*, мишенями которой являются регуляторные гены *SPL* – важнейшие регуляторы MADS-бокс-содержащих генов *APETALA1*, *SOC1*, *FUL* (*FRUITFULL*), которые активируют транскрипцию *LFY*. В ювенильных проростках наблюдается высокое содержание *miR156*, что приводит к снижению уровня экспрессии гена *SPL* (*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN LIKE*), а с возрастом содержание *miR156* начинает снижаться, а *SPL* – повышается. Это приводит к активации экспрессии *APETALA1*, *SOC1*, *FUL* и их мишени – гена *LFY*, в результате растения зацветают. Кроме микроРНК существуют и другие пути оценки возраста, однако их молекулярные механизмы изучены недостаточно.

Сенильный период включает период от полного прекращения плодоношения до естественного отмирания растений. Старение выражается в прогрессирующем нарушении синтеза макромолекул и систем регуляции организма, накоплении токсичных и инертных в химическом отношении продуктов, постепенном угасании отдельных физиологических функций. *Старение контролируется геномом, фитогормонами, фотопериодом и температурным режимом*. Активируется синтез гормона этилена, который ускоряет процессы старения; тормозят старение гормоны цитокинины. Гены, экспрессия которых индуцируется при старении, называют *SAGs* (senescence associated genes). Продуктами этих генов являются гидролитические ферменты – протеазы, рибонуклеазы, липазы. К этим генам также относятся те, которые кодируют ферменты, участвующие в синтезе гормона этилена. Гены, экспрессия которых снижается при старении, называют *SDGs* (senescence down-regulated genes). К ним

относятся, например, гены, кодирующие белки, участвующие в фотосинтетических процессах. В то время когда нарушается функционирование одних органелл (хлоропластов), другие (ядро) остаются структурно и функционально активными до самых последних стадий онтогенеза.

Таким образом, переход от одного периода развития к другому у растений, как и у животных, связан дифференциальной экспрессией генов (некоторые гомеозисные гены сходны у растений и животных), которая регулируется специфическими сигналами, возникающими под влиянием условий среды.

3. Роль фитогормонов в развитии растений

Фитогормоны являются органическими веществами небольшой молекулярной массы, которые образуются в малых количествах в одних частях многоклеточных растений и действуют на другие их части как регуляторы и координаторы роста и развития. К ним относятся ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота (ингибитор) и этилен. Фитогормоны осуществляют биохимическую регуляцию – важнейшую систему регуляции онтогенеза у многоклеточных растений. Фитогормоны контролируют все этапы онтогенеза растений. Деление и растяжение клеток, лежащие в основе всех процессов роста и морфогенеза, находятся у растений под контролем ауксинов и цитокининов, поэтому полное отсутствие этих фитогормонов для растений летально. Синтезируются фитогормоны в активно делящихся клетках меристемы растения (верхушка побега, кончик корня, молодые листья, семена), транспортируются в другие органы и ткани. В отличие от животных гормонов, фитогормоны менее специфичны и часто действуют в том же участке растения, где образуются. Наибольший эффект фитогормонов проявляется при их сочетанном действии. Например, ауксин, индолилуксусная кислота, стимулирует образование корней, но в сочетании с гиббереллином содействует росту корней в длину, а в сочетании с цитокинином – стимулирует закладку и рост боковых почек. Этилен контролирует развитие проростка на ранних стадиях, участвует в защите растений от биотического и абиотического стресса, контролирует старение и программируемую клеточную гибель, регулирует созревание плодов, опадение листьев, плодов и цветков. Так, например, биосинтез этилена усиливается в ответ на разные виды стресса, регулируют данный процесс этилен-зависимые транскрипционные факторы.

Общая форма растения определяется ауксинами, цитокининами и гиббереллинами. Ауксины вершины побега подавляют рост боковых почек (апикальное доминирование), тогда как цитокинины это доминирование преодолевают, вызывая ветвление. Гиббереллины усиливают рост

растения, активируя апикальные и интеркалярные (вставочные) меристемы. Ауксины способствуют образованию корней и определяют адаптивные изгибы растения в соответствии с направлением света или вектора силы тяжести (фото- и геотропизм). Формирование аппарата фотосинтеза и транспирация растений регулируются гормонами-антагонистами – цитокининами и абсцизовой кислотой: цитокинины вызывают дифференцировку хлоропластов и открывание устьиц, тогда как абсцизовая кислота подавляет оба эти процесса. Опухоли растений, вызванные некоторыми патогенными микроорганизмами (*Agrobacterium tumefaciens*), обусловлены аномально высокими концентрациями ауксинов и цитокининов, продуцируемыми патогенами. Из всех фитогормонов, только для ауксина характерно выраженное полярное передвижение по тканям растительного организма, градиенты которого создают позиционную информацию, действуют как мощнейший морфогенетический фактор и являются главным элементом, обеспечивающим формирование осей симметрии у высших растений. Процесс активного полярного транспорта ауксина контролирует формирование побегов и почек, филлотаксис и опадение листьев, цветение и тропизмы, формирование сосудистой системы и боковых корней, эмбриогенез и паттерн сосудов листа.

Механизм действия фитогормонов сходен с механизмом действия гормонов животных, хотя значительно менее изучен. Чувствительные клетки воспринимают гормон благодаря специфическим рецепторам, расположенным, главным образом, на плазматической мембране. После взаимодействия с гормоном рецепторы меняют конформацию и передают сигнал внутрь клетки. Как и у животных, у растений передатчиками сигнала являются вторичные посредники – каскады протеинкиназ / протеинфосфатаз, фосфоинозитол, диацилглицерол, фосфатидные и жирные кислоты, ионы Ca^{2+} , циклические нуклеотиды, оксид азота, перекись водорода. Гормональный сигнал, проходя по определённом пути вплоть до эффекторных структур, обычно усиливается во много раз. Конечной мишенью фитогормонов в клетке являются гены, причём в зависимости от типа фитогормона и типа ткани, активируется или репрессируется тот или иной набор компетентных генов. При воздействии фитогормонов на гены-мишени происходит образование или исчезновение соответствующих белков-ферментов. Изменения активности компетентных генов вызывает включение или выключение метаболической программы, контролируемой фитогормоном. Например, сигнальные системы, регулирующие флоральный морфогенез и проявление пола растения, характеризуются иерархичностью и множественностью внутренних сигналов (белков и фитогормонов), которые обеспечивают иерархичность экспрессии генов в процессе формирования цветка. В формировании андрогенетического пола принимают участие почти все фитогормоны, развитие лепестков

находится под преимущественным контролем гиббериллинов, ауксинов (в частности, индолилуксусная кислота) и жасмоновой кислоты (относится к классу фитогормонов – жасмонатов), а развитие гинцея регулируется индолилуксусной кислотой. Именно соотношение и концентрации фитогормонов изменяются под влиянием внешних факторов. Специфичность действия фитогормонов и белков-переключателей состоит в их временной и пространственной концентрации. Гомеозисные гены, контролирующие архитектуру цветка, являются мишенями фитогормонального сигналинга, в частности гиббериллинов. При этом такие гомеозисные гены, как *AG* (*AGAMOUS*), контролирующие формирование тычинок и плодолистиков, могут модулировать выработку фитогормонов, формируя обратных регуляторных связей. Установлено, что фитогормоны управляют флоральным развитием через сложные взаимосвязи и перекрестную регуляцию. Так, совместное действие индолилуксусной и жасмоновой кислот регулируют элонгацию флоральных органов. У *Arabidopsis* был обнаружен белок DELLA, который способствует взаимодействию гиббериллинов с другими фитогормонами. Белок DELLA является негативным регулятором сигналинга гибберилинов и находится под контролем жасмоновой кислоты, абсцизовой кислоты, этилена и индолилуксусной кислоты. Следовательно, регуляция развития флоральных органов в ходе сигналинга гибберилинов модулируется многими фитогормонами, запускающими дифференциальную активность, ответственных за данный процесс генов.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод: у растений, как и животных, основу перехода от одной стадии онтогенеза к другой составляют усложнения дифференциальной активности генов, регулируемые внешними факторами посредством разнообразных групп фитогормонов и сложных внутриклеточных каскадов сигнальной трансдукции. Развитие растений согласовано с действием факторов внешней среды гораздо в большей степени, чем развитие животных, что связано с особенностями прикрепленного образа жизни. Наряду с различиями в особенностях регуляторных механизмов, животные и растения имеют консервативные семейства генов, которые, возникнув на заре эволюции многоклеточных, сохраняют консерватизм в силу эффективности механизмов развития, которые ими определяются.

Вопросы для самоконтроля

1. Перечислите, какие гомеозисные гены регулируют онтогенез растений и животных. В чём их сходство?
2. В чём состоит значение фитогормонов в развитии растений?
3. Какие факторы регулируют процесс морфогенеза у растений?
4. В чём заключается универсальность и отличия регуляторных механизмов развития растений и животных?

5. Охарактеризуйте основные периоды онтогенеза у цветковых растений.
6. Какое влияние оказывают факторы среды на онтогенез растений?
7. С какими процессами связано старение растений?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Биология развития растений : учебник: в 2 т. / С. С. Медведев, Е. И. Шарова. – СПб., 2011. – Т. 1. : Биология развития растений. Начала биологии развития растений. Фитогормоны. – 2011. – 252 с.
2. Генетика развития растений: для биологических специальностей университетов / Л. А. Лутова, Т. А. Ежова, И. Е. Додуева и др. ; под ред. С. Г. Инге-Вечтомов. – 2-е изд. доп. и перераб. – СПб. : Изд-во Н-Л, 2010. – 432 с.
3. Додуева И. Е. CLE-пептиды – универсальные регуляторы развития меристем / И. Е. Додуева, Е. В. Юрлова, М. А. Осипова и др. // Физиол. растений. – 2012. – Т. 59. – С. 1–15.
4. Лутова Л. А. Морфогенез растений и экспрессия основных регуляторных генов на примере развития цветка / Л. А. Лутова // Экологическая генетика. – 2005. – Т. 3, № 4. – С. 26–37.
5. Лутова Л. А. Современные аспекты генетики развития растений / Л. А. Лутова // Вавиловский Журнал Генетики и Селекции. – 2013. – Т. 17, № 4/2. – С. 1003–1016.
6. Полевой В. В. Фитогормоны / В. В. Полевой. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1982. – 248 с.
7. Leyser O. Mechanisms in plant development / O. Leyser, S. Day. – Blackwell Publishing, 2003. – 241 p.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

8. Ежова Т. А. *Arabidopsis thaliana* – модельный объект генетики растений / Т. А. Ежова, О. В. Лебедева, О. А. Огаркова. – М. : МАКС Пресс, 2003. – 218 с.
9. Burglin T. R. The PBC domain contains a MEINOX domain: coevolution of *Hox* and *TALE* homeobox genes / T. R. Burglin // Develop. Genes Evol. – 1998. – Vol. 208. – P. 113–116.
10. Hay A. KNOX family TALE / A. Hay, M. A. Tsiantis // Curr. Opin. Plant Biol. – 2009. – Vol. 12, № 5. – P. 593–598.
11. Jasinski S. KNOX action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities / S. Jasinski, P. Piazza, J. Craft et al. // Curr. Biol. – 2005. – Vol. 6. – P. 1560–1565.
12. Rhoades M. Prediction of plant microRNA target / M. Rhoades // Cell. – 2002. – Vol. 110. – P. 513–520.
13. Sablowski R. Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? / R. Sablowski // Trends Cell Biol. – 2004. – Vol. 14. – P. 605–611.
14. Shiu S.-H. Transcription factor families have much higher expansion rates in plants than in animals / S.-H. Shiu, M.-C. Shih, W.-H. Li // Plant Physiol. – 2005. – Vol. 139. – P. 18–26.

ЛЕКЦИЯ 9

СТАРЕНИЕ – ЭТАП ОНТОГЕНЕЗА

ПЛАН

1. Понятие «старение».
2. Основные теории старения.
3. Изменение органов и систем органов в процессе старения на примере млекопитающих.
4. Генетические механизмы старения.
5. Апоптоз и механизмы его реализации в процессе старения.
6. Роль стволовых клеток в онтогенезе.

1. Понятие «старение»

Старение – биологический процесс, сопровождающийся закономерно возникающими в организме возрастными изменениями, характер которых генетически запрограммирован. Возникновение возрастных изменений в организме приводит к недостаточности физиологических функций и гибели клеток, ограничению адаптационных и гомеостатических возможностей организма, снижению его надежности и развитию возрастной патологии.

Заключительный период онтогенеза, закономерно наступающий в результате старения, называется *старостью*.

Онтогенетическое старение выражается в циклическом снижении потенциала жизнеспособности частей организма, что неизбежно приводит к естественной гибели индивидуума.

Старение связано с изменениями, происходящими на всех уровнях организации живой материи – молекулярном, субклеточном, клеточном, системном, целостного организма, а закономерные возрастные изменения организма называются *гомеорезом*. Определение гомеореза позволяет прогнозировать темп старения – естественный, ускоренный или замедленный. Старение представляет собой результат взаимодействия ряда факторов (генетические, экологические, а также образа жизни, болезней и других). У любого живого организма имеется биологический резерв, однако его реализация может нарушаться воздействием на организм различных неблагоприятных факторов, которые приводят к изменению экспрессии и структуры генов, сопровождаясь нарушением синтеза белков и снижением функций организма.

Ведущими механизмами старения являются:

а) на молекулярном уровне: необратимые изменения ДНК, накапливающиеся в ходе онтогенеза, изменения в системе передачи генетической информации, изменения в синтезе РНК и белков разных классов, нарушения процессов преобразования, транспорта и использования энергии, снижение активности систем антиоксидантов, падение интенсивности синтеза гормонов и медиаторов;

б) на клеточном и субклеточном уровнях: деградация и гибель части клеток, снижение митотической активности клеток, уменьшение количества митохондрий, разрушение лизосом, изменение свойств (в том числе электрических) плазмалеммы, обезвоживание коллоидов цитоплазмы, накопление токсических продуктов обмена веществ (например, пигмента липофусцина);

в) на органном и организменном уровнях: ослабление функции основных систем организма (нервной, эндокринной, иммунной, сердечно-сосудистой, пищеварительной и других), снижение нервного и гуморального контроля за их деятельностью, изменение чувствительности к действию гормонов.

Существуют две точки зрения относительно причин старения:

1) старение – генетически запрограммированный процесс, результат закономерной реализации программы, заложенной в генетическом аппарате. Действие факторов окружающей и внутренней среды незначительно влияет на темп старения;

2) старение – результат разрушения организма вследствие повреждающих сдвигов, возникающих в ходе онтогенеза. Это многопричинный процесс, вызываемый различными факторами, действие которых повторяется и накапливается в течение всей жизни.

Выделяют *«физиологическое»* и *«стрессорное» старение* (было предложено А. А. Загурским). «Физиологическое» старение представляет собой биологический процесс постепенных возрастных изменений многоклеточных организмов, начинающийся до наступления старости и неизбежно приводящий к постепенно нарастающему ограничению адаптационных возможностей и, как следствие, к увеличению вероятности гибели. Возрастные изменения, происходящие в разных органах и системах, являются необратимыми, хотя развиваются с неодинаковой скоростью, неравномерно у разных видов. Кроме этого, предполагают, что с периода полового созревания в организме развивается состояние, аналогичное стрессовой реакции. Это состояние определяется как *«эндогенная стрессовая реакция»* («стрессорное» старение), развитие которой в онтогенезе

и переход её в стадию истощения является одним из возможных механизмов старения.

По-видимому, старение возникло у многоклеточных организмов как результат дифференцировки и прекращения деления клеток, что имело эволюционные преимущества и было подхвачено отбором вместе со своим косвенным результатом – старением и гибелью. А в генотипе оказалась записанная программа развития, а также механизмы старения, тесно связанные с реализацией программы развития.

Старение является необходимым элементом морфогенетического и постморфогенетического периода развития организмов. При исследовании старения различных биологических объектов установили, что имеются универсальные механизмы старения, общие для всех многоклеточных, и специфические, характерные для отдельных видов. Так, к универсальным механизмам старения относят: остановку митоза, запрограммированную гибель клеток, изменение процессов транскрипции и трансляции (в том числе и вследствие возраст-специфических особенностей нервно-эндокринной регуляции), посттранскрипционные и посттрансляционные модификации ДНК и белков, определённая скорость мутаций и другие. Данные механизмы старения попали под действие естественного отбора и закрепились в геноме многоклеточных организмов. Генетический контроль механизмов старения необходим для нормального развития, роста и функционирования зрелого организма; затем его влияние совместно с действием стохастических процессов приводит к структурным и функциональным нарушениям, которые вызывают гибель организма. Следовательно, старение представляет собой неизбежный процесс онтогенеза всех многоклеточных организмов.

2. Основные теории старения

В настоящее время существует более 300 различных теорий, которые пытались объяснить разнообразные изменения, происходящие на разных уровнях – от целостного организма, его систем и органов до уровня клеток и молекул. В таблице (табл. 9) представлен перечень основных теорий старения, которые можно разделить на стохастические теории и теории программированного старения. В обзоре современных теорий старения Yin, Chen (2005) приведена классификация, согласно которой все теории сгруппированы на основании уровня интеграции: организменном, органном, клеточном и молекулярном (табл. 10).

Известно, что механизмы старения достаточно сложны и многообразны. Сегодня существует множество теорий и гипотез старения, среди них есть альтернативные, которые отчасти противоречат друг другу, а отчасти – дополняют, но единой теории старения пока не существует.

Таблица 9
Теории стохастического и программированного старения

Теории	Основные положения	Современное состояние
Стохастические теории		
Теория соматических мутаций	Соматические мутации нарушают генетическую информацию и функции клеток.	Современные данные поддерживают теорию.
Катастрофа ошибок	Ошибки процессов транскрипции и / или трансляции снижают эффективность функций клеток.	Оригинальная теория опровергнута.
Повреждения ДНК, репарация ДНК	Поврежденная ДНК постоянно репарируется различными механизмами. Эффективность репарации снижается с возрастом.	Современные данные поддерживают теорию.
Повреждения белков	Конформационные повреждения белков (химические перекрестные сшивки, например, молекул коллагена) приводят к нарушению функций клеток и тканей.	Современные данные поддерживают теорию.
Износ	Накопление повреждений в ходе онтогенеза снижает функциональные возможности органов организма.	Возможен.
Теории программированного старения		
Генетические теории старения	Старение происходит в результате изменениями экспрессии генов.	Современные данные поддерживают теорию.
Гены смерти	Существуют гены клеточной гибели.	Современные данные поддерживают теорию.
Избирательная гибель	Гибель клетки обусловлена наличием специфических мембранных рецепторов.	Современные данные поддерживают теорию.
Укорочение теломер	Укорочение теломер с возрастом приводит к нестабильности хромосом и гибели клеток.	Современные данные поддерживают теорию.
Нарушения дифференцировки	Ошибки в механизмах активации – репрессии генов, приводящие к синтезу избыточных, ненужных белков.	Возможно.
Накопление «загрязнений»	Накопление отходов метаболизма снижает жизнеспособность клеток.	Подтверждается в ряде случаев.

Продолжение табл. 9

Нейроэндокринные теории	Недостаточность нервной и гормональной систем в поддержании гомеостаза. Потеря гомеостаза приводит к старению и смерти.	Подтверждается только в отношении женской репродуктивной системы.
Иммунологическая теория	Определённые аллели могут изменять продолжительность жизни путем изменения функции органов иммунной системы.	Современные данные поддерживают теорию.
Метаболические теории	Долголетие обратно пропорционально скорости метаболизма.	Отвергнуты.
Свободнорадикальная теория	Долголетие обратно пропорционально степени повреждения свободными радикалами и прямо пропорционально эффективности антиоксидантных систем.	Современные данные поддерживают теорию.
Часы старения	Старение и смерть являются результатом детерминированного биологического плана.	Современные данные поддерживают теорию.
Эволюционная теория	Действие отбора ослабевает с возрастом. В результате вредные для организма аллели, если их вредное действие проявляется только в конце жизни, не выбраковываются отбором и могут накапливаться. Кроме того, как только давление отбора ослабевает, скорость обновления белков падает, что и приводит к увеличению концентрации повреждений.	Подтверждается в ряде случаев.

Таблица 10

Классификация важнейших теорий старения по уровню интеграции (Yin, Chen (2005))

Уровень интеграции	Теория	Авторы
Организменный	Теория изнашивания	Sacher, 1966
	Теория катастрофы ошибок	Orgel, 1963
	Теория стессового повреждения	Selye, 1970
	Теория аутоинтоксикации	Мечников, 1904
Органный	Эволюционная теория	Williams, 1957
	Теория проагмированного старения	Schulz-Aellen, 1997
	Эндокринная теория	Korenchevsky, 1961
	Иммунологическая теория	Walford, 1969
Клеточный	Теория клеточных мембран	Zg-Nagy, 1978
	Теория соматических мутаций	Szillard, 1959
	Митохондриальная теория	Miquel, 1980
	Митохондриально-лизосомальная теория	Brunk, Terman, 2002
Молекулярный	Теория накопления повреждений ДНК	Vilenchik, 1970
	Теория следовых элементов	Eichhorn, 1979
	Свободнорадикальная теория	Harman, 1956
	Теория попережных спивок	Bjorksten, 1968
	Теория окислительного стресса	Sohan, Allen, 1990, Yu, Yang, 1996
	Теория неэнзиматический гликозилизации	Cerami, 1985
	Теория карбонильной интоксикации	Yin, Brunk, 1995
	Теория катастрофы загрязнения	Terman, 2001
	Теория генных мутаций	Medawar, 1952
	Теория укорочения теломер или теория пролиферативного лимита клетки	Hayflic, 1961, Оловников, 1971
Прочие подходы	Старение как энтропия	Bortz, 1976
	Математические теории старения	Sohan, Allen, 1990, Zg-Nagy, 1991, Kowald, Kirkwud, 1994

3. Изменение органов и систем органов в процессе старения на примере млекопитающих

Процесс старения охватывает все уровни структурной организации организма: от молекулярного до органного. При этом суммарный результат многочисленных проявлений старения на уровне целостного организма заключается в нарастающем с возрастом снижении жизнеспособности особи, уменьшении эффективности приспособительных, гомеостатических механизмов. Возрастные изменения в процессе старения происходят во всех органах многоклеточных организмов.

Рассмотрим кратко изменения органов и функциональных систем на примере млекопитающих, которые становятся заметными и нарастают по завершении активного репродуктивного периода онтогенеза.

Так, с возрастом наблюдаются закономерные изменения в стенках сосудов: в них откладываются липиды, прежде всего холестерин, что наряду с другими структурными превращениями снижает эластичность и искажает ответы на различные стимулы, регулирующие кровообращение. Типично разрастание в стенках сосудов и сердца соединительной ткани, замещающей рабочую мышечную ткань. В результате снижается эффективность работы сердца, нарушается кровоснабжение тканей и органов.

В основе функциональных расстройств дыхательной системы лежит разрушение межальвеолярных перегородок, что сокращает дыхательные поверхности: разрастание в легких соединительной ткани, что снижает эффективность аэрогематического обмена кислорода. В итоге, с возрастом падает жизненная ёмкость легких.

Снижается эффективность функционирования пищеварительных желез; появляются нарушения моторной функции кишечника.

С возрастом также у млекопитающих наблюдается ухудшение функции мочевыделения, что объясняется гибелью значительного количества нефронов.

Характерной особенностью для стареющего организма является перестройка костей и мышечная атрофия.

Изменения нервной системы в процессе старения включают нарастающую гибель нейронов, но сохранившиеся нейроны увеличивают свои размеры, образуют дополнительные разветвления окончаний отростков в тканях-мишенях, что имеет приспособительное, заместительное значение. Изменения в нейроэндокринной функции играют важную роль в старении за счёт снижения уровня синтеза и секреции гормонов и нейромедиаторов, изменения количества рецепторов, их плотности и аффинности, снижения чувствительности рецепторов, изменения в биохимических характеристиках гормон/рецепторного сайта. Одна из черт процесса старения заключается в снижении надежности

механизмов регуляции, направленных на поддержание постоянства жизненно важных параметров внутренней среды организма – гомеостаза, что, возможно, связано с функциональными изменениями в гипоталамусе, участвующем в регуляции важнейших вегетативных функций. В целом, процесс старения гипоталамических структур характеризуется неравномерностью и разнонаправленностью, что типично и для других областей нервной системы.

В пострепродуктивный период наблюдаются нарушения гаметогенеза и процессов синтеза и секреции половых гормонов. Известно, что железы внутренней секреции (например, гипофиз и другие) с возрастом медленно и неравномерно снижают функциональную активность.

С возрастом заметно изменяются функции иммунной системы. Так, наблюдается ослабление реакций гуморального клеточного иммунитета. Возрастные изменения иммунной системы включают в себя изменение клеточного состава костного мозга, снижение образования наивных иммунокомпетентных клеток, изменение субпопуляционного состава иммунокомпетентных клеток в крови и лимфоидных органах, снижение способности клеток иммунной системы реагировать на активаторные стимулы, накопление Т-лимфоцитов с фенотипом клеток иммунологической памяти. В диафизах трубчатых костей костный мозг замещается жировой тканью, превращаясь в жёлтый костный мозг. С возрастом у млекопитающих начинает уменьшаться количество лимфоидной ткани в тимусе, разрастаются соединительнотканые перегородки между его дольками, появляется жировая ткань. В стареющем организме клетки иммунной системы, например, В-лимфоциты, ошибочно вырабатывают антитела против «собственных» клеток и белков, что приводит к нарастанию аутоиммунных реакций.

Изменения в процессе старения органов кроветворной системы заключаются в снижении продукции эритроцитов и лимфоцитов. С возрастом способность костного мозга к восстановлению массы эритроцитов падает почти в 6 раз. Выделяют два механизма возраст-зависимого изменения эритропоэза:

1) изменения внутриэритроидных прогениторов или ГСК и /или внутрилокального микроокружения;

2) изменения в гуморальном контроле, что частично связано с изменением в секреции гормона эритропоэтина и увеличением гипоксии, резистентностью эритроидных прогениторов к эритропоэтину, с гликозилированием эритропоэтина и другим изменениями эндокринной функции (изменение уровня тестостерона, гормона роста или воспаление).

Следовательно, процесс старения распространяется практически на все структуры и функции организма.

В дифференцированных клетках млекопитающих старение сопровождается в целом снижением *транскрипционной активности*. В сравнении с активным репродуктивным периодом жизни в стареющем организме наблюдается исчезновение в клетках определенных типов и(м)РНК, но в это же время регистрируется появление некоторых типов и(м)РНК, не образующихся ранее. Таким образом, речь идёт о частичной смене биологической информации, используемой клеткой в разном возрасте (феномен дифференциальной активности генов).

С возрастом происходит снижение скорости процессов транскрипции и трансляции за счёт химических модификаций хроматина, посттранскрипционных изменений молекул РНК и посттрансляционных модификаций белков. Установлено, что с возрастом в многоклеточных организмах интенсивность белкового синтеза, в целом, снижается. В процессе старения наблюдаются отклонения (нередко разнонаправленные) состава и функциональной активности разных групп ферментов, сходных по функции. Вместе с тем, активность ферментов антиоксидантных систем изменяется в стареющем организме однонаправлено, снижаясь.

Изменения ультраструктуры клеток в процессе старения затрагивают практически все органеллы, особенно в постмитотических высокоспециализированных клетках: нейронах, кардиомиоцитах и других. Использование клетками кислорода приводит к образованию свободных радикалов (O_2^- , OH^- , H_2O_2), которые в силу чрезвычайной реакционной способности могут вызывать быстрые разрушения биологических структур. В процессе старения действенность механизмов, нейтрализующих свободные радикалы и пероксиды, снижается. Кроме этого, в 1961 году Л. Хейфлик ввёл понятие предел клеточных делений (лимит Хейфлика) – граница количества делений соматических клеток, достигая которой клетки проявляют признаки старения и погибают. *Таким образом, старение затрагивает все уровни организации организма, при этом в основе этих нарушений лежат генетические механизмы.*

4. Генетические механизмы старения

Основу генетических механизмов старения составляют следующие изменения:

- появление в ДНК одонитчатых разрывов;
- накопление хромосомных перестроек;
- нарушение репарации ДНК;
- изменение ацетилирования, метилирования гистонов;
- повреждение регуляторных и структурных генов и т. д.

Несомненно, возрастные повреждения структуры и функции генома клеток играют пусковую роль в старении.

Возрастные молекулярно-генетические изменения при старении:

- 1) нарушение метилирования ДНК;
- 2) изменение прочностей связей между ДНК и белками хроматина, изменения фракций гистонов и кислых белков у старых организмов;
- 3) изменение активности различных фракций нуклеаз ядер и цитоплазмы клеток старых животных, способность этих ферментов повреждать геном;
- 4) потеря ядрышек (которая наблюдается, например, в клетках печени нерестящейся горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*).

Механизмы старения, такие как остановка митоза, запрограммированная гибель клеток, нервно-эндокринная регуляция включения и выключения генов, определенная скорость мутации и т. д., попадают под действие естественного отбора и закрепляются в геноме. Генетическая компонента механизмов старения необходима для нормального развития, роста и функционирования зрелого организма; затем её влияние совместно с действием стохастических процессов приводит к структурным и функциональным нарушениям, которые вызывают гибель. Механизмы запрограммированного старения могут развиваться или по пути включения на определенном этапе онтогенеза «генов-убийц», или по пути выключения генов, ответственных за поддержание клеточного гомеостаза (репарации ДНК и других). Известно, что включить группу генов случайно практически невозможно, а выключить может стохастический компонент старения. В последние годы существенный прогресс в исследовании генетики старения связан с работами на беспозвоночных (нематодах и плодовых мушках). Существование популяций *C. elegans* с разной длительностью жизни убедительно демонстрирует, что темп старения находится под генетическим контролем. У них был идентифицирован ген *age-1*, модификация или супрессия продукта которого приводила к увеличению продолжительности жизни. *Age-1* определяет активацию спермы, он рецессивен и плотно сцеплен с геном *fer-15*, влияющим на репродукцию. Разделить эти два гена с помощью кроссинговера не удалось, поэтому предположили, что *age-1* и *fer-15* являются частями одного гена, при этом одной из функций продукта дикого типа гена *age-1* может быть усиление репродуктивных свойств, а другой – снижение продолжительности жизни, и следовательно, *age-1* может быть одним из регуляторов процесса старения, по крайней мере для этого вида. Мутации в ряде других генов – «часовых генов» (*clk-1*, 2 и 3) также влияют на продолжительность жизни *C. elegans*. Группа генов *C. elegans*, имеющих отношение к контролю продолжительности жизни (*age-1*, *daf-2*, *daf-23*, *spe-26*, *clk-1*), является частью общего генетического пути и контролируется геном *age-1*. В течение последних лет ведется

интенсивный поиск кандидатов на роль генов смерти и долголетия у человека.

Schachter S. с коллегами предложили классификацию таких генов:

- 1) гены, гомологичные генам, определяющим долгожительство у животных других видов;
- 2) гены, участвующие в поддержании клеточного равновесия тканей и репарации;
- 3) гены, ответственные за развитие основных заболеваний, связанных со старением.

Следовательно, старение организма находится под интегрированным генетическим контролем, под контролем гормональной, нервной системы и внешней среды, которые способствуют активности или подавлению соответствующих генов на определённом этапе онтогенеза организма.

5. Апоптоз и механизмы его реализации в процессе старения

Если у одноклеточных организмов репарация повреждений ДНК позволяет им выжить при изменении условий окружающей среды, то у *Metazoa* оптимальная стратегия в отношении клеток, несущих повреждения ДНК, не столь однозначна, поскольку некоторые мутации в генах, регулирующих клеточную пролиферацию, адгезию и апоптоз, могут приводить к развитию злокачественных новообразований, ведущих к гибели организма. Поэтому для организма в целом «безопаснее» иметь механизмы элиминации таких генетически поврежденных клеток, чем риск возникновения очагов неконтролируемого автономного роста. Выбор конкретной «стратегии» организма (репарации ДНК, блокады пролиферации или апоптоза) зависит от типа клеток, их локализации, микроокружения, характера повреждающего фактора и степени повреждения. Эффективный ответ на повреждение ДНК является ключевым звеном для выживания многоклеточного организма. *Апоптоз* является важнейшим механизмом контроля состава клеточной популяции в многоклеточном организме. Основой его функции является уравнивание процессов пролиферации и элиминации клеток, селекции разновидностей и качества клеток внутри организма, в том числе удаление клеток с генетическими дефектами. В «нормальной» ткани механизмы апоптоза находятся под генетическим контролем.

Апоптоз играет важную роль на всех этапах развития организма и принимает участие в следующих процессах:

- в запрограммированном разрушении клеток во время эмбриогенеза (включая имплантацию, органогенез);

- в гормонзависимой инволюции органов у взрослых (например, отторжение эндометрия во время менструального цикла и других);
- в удалении некоторых клеток при пролиферации клеточной популяции;
- в гибели отдельных клеток в опухолях;
- в гибели клеток иммунной системы;
- в гибели клеток, вызванной действием цитотоксических Т-клеток;
- в повреждении клеток при некоторых вирусных заболеваниях;
- в гибели клеток при действии различных повреждающих факторов, которые способны вызвать некроз, но действуют в небольших дозах (например, при действии высокой температуры, ионизирующего излучения, противоопухолевых препаратов).

Апоптоз является молекулярным механизмом, обеспечивающим старение и смерть, что, возможно, не очень полезно для индивидуума, но чрезвычайно важно для стабильности популяции.

Ещё в 1982 году С. Р. Уманский высказал предположение, что старение может быть следствием плеiotропного действия генов, ответственных за реализацию апоптоза; активность этих генов приводит к постепенному снижению критических популяций клеток, что, ведет к проявлению старения.

Иная точка зрения о роли апоптоза в старении основывается на том, что снижение жизнеспособности организмов является результатом самодеструкции клеток, индуцируемой различными факторами окружающей среды. Считается, что участие апоптоза в процессе старения может реализоваться двумя способами:

1) элиминация посредством апоптоза поврежденных стареющих клеток, которые впоследствии могут быть заменены путем клеточной пролиферации, что обеспечивает сохранение тканевого гомеостаза;

2) элиминация постмитотических клеток, которые не могут быть возобновлены (например, кардиомиоциты, нейроны), что приводит к развитию патологии.

Запуск механизма апоптоза при действии на клетку активных форм кислорода связан с высвобождением цитохрома *c* из межмембранного пространства митохондрий, которое приводит к активации цистеин-аспаратной протеазы (каспазы 9), для этого необходимо присутствие белка Араf-1. Механизм выхода цитохрома связан с образованием каналов во внешней мембране или с набуханием матрикса и разрывом внешней мембраны. Увеличение содержания свободных радикалов приводит к освобождению кардиолипина из внутренней мембраны митохондрий.

Комплекс цитохрома *c* с кардиолипином, в отличие от самого цитохрома *c*, обладает активностью пероксидазы и способствуют образованию свободных радикалов в присутствии пероксида водорода. В живой клетке образование радикалов липидов этим комплексом может запускать (триггер или индуктор) апоптоз.

Эксперименты с переживающими клетками в культуре ткани показали, что теломеры нормальной длины вызывают сайленсинг (от англ. – *silence* «молчание»), то есть репрессию ряда прилежащих генов. При укорочении теломер эти гены активируются. В числе этих генов есть ген *p53*, ответственный за синтез белка – *p53*, основная функция которого – блокирование митоза клеток на уровне «чек-пойнтов» митоза G1 и G2 (инактивация циклинов), а также индукция процесса апоптоза клетки. Данные свойства белка *p53* позволяют считать его ответственным и за супрессию процесса малигнизации клетки, так как при нерепарированном изменении генома клетки наличие этого белка является сигналом появления клона мутировавших клеток и инициацией апоптоза, то есть клетка с изменённым геномом самоуничтожается. Схематически эти процессы представлены на рис. 24.



Рис. 24. Механизм старения и гибели клетки: А – этап блокирования митоза; Б – этап индукции апоптоза клетки [12, 17]

Многочисленные эксперименты показали, что в клетках в процессе их малигнизации происходит активация гена, кодирующего белок – теломеразную обратную транскриптазу (TERT, telomerase reverse transcriptase), который в нормальных клетках, как уже указывалось выше, находится в неактивном состоянии. Иначе говоря, в клетке, воспринявшей сигнал малигнизации, происходит, с одной стороны, блокирование генов-

репрессоров опухолевого процесса (например, гена *p53*), а с другой – активация гена *TERT*, ответственного за синтез теломеразы.

Опосредованная p53 остановка пролиферации в стадии G1 или G2 клеточного цикла необратима. Следовательно, апоптоз клеток многоклеточных животных имеет консервативное сходство как по морфологическим, так и по биохимическим проявлениям. При этом организм уничтожает стареющие и повреждённые клетки, сохраняя свою целостность на всех стадиях онтогенеза.

6. Роль стволовых клеток в онтогенезе

В организме многоклеточных есть эндогенная система регенерации и восстановления функций повреждённых тканей – это *пул стволовых клеток*, которые могут находиться практически в каждом типе ткани. Известно, что развитие многоклеточных организмов начинается с одной стволовой клетки. Поэтому участие стволовых клеток в регенеративных процессах в онтогенезе многоклеточных организмов закрепилось эволюционно. Стволовые клетки имеют неограниченный потенциал деления, который используется организмом для регенерации и восстановления клеток, тканей и органов при повреждении или других внешних воздействиях. Следовательно, ключевой ролью стволовых клеток в онтогенезе является поддержание тканевого и клеточного гомеостаза.

Изучение биологии стволовых клеток позволяет понять, как многоклеточный организм, содержащий большое количество дифференцированных клеток со специализированными функциями развивается из одной клетки (зиготы) и как клетки заменяют поврежденные клетки на всех стадиях онтогенеза. Стволовые клетки на всех стадиях онтогенеза организма обладают двумя основными свойствами: способность к самообновлению за счёт асимметричного митоза и способность дифференцироваться в различные клеточные линии организма.

В настоящее время выделяют два основных типа стволовых клеток: эмбриональные и взрослые (фетальные стволовые клетки, стволовые клетки пуповинной кордовой крови, гемапоэтические и мезенхимальные стволовые клетки, а также тканеспецифические стволовые клетки). Эмбриональные стволовые клетки являются тотипотентными и плюрипотентными. Соответственно, они могут дифференцироваться во все три эмбриональных зародышевых листка. Эмбриональные стволовые клетки находятся во *внутренней клеточной массе бластоцисты*, при этом каждая клетка этой стадии дробления эмбриона находится в недифференцированном состоянии. Первая клеточная дифференцировка, например, у человека осуществляется на 5–6 сутки развития, когда внешний слой клеток бластоцисты (*трофобластодерма*), коммитированный стать частью

плаценты, отделяется от внутренней клеточной массы. При этом трофо-эктодерма служит (питающим) слоем для клеток внутренней клеточной массы и блокирует их неконтролируемую пролиферацию.

Ключевыми маркерами плюрипотентных клеток эмбриона, например млекопитающих, являются транскрипционные факторы Oct4, Sox2, Nanog. Дифференцировка внутренней клеточной массы в процессе онтогенеза сопровождается снижением экспрессии фактора транскрипции Oct4. В процессе развития зародыша ген *Nanog* включается позже, чем *Oct4* и непосредственно регулирует экспрессию генов *Oct4* и *Sox2*.

Каждый клеточный тип характеризуется определённым эпигенетическим статусом генома, который программирует экспрессию генов. В процессе гаметогенеза, эмбрионального развития и тканеспецифической дифференцировки геном подвергается изменению паттерна метилирования ДНК и модификаций гистонов, что приводит к ослаблению или усилению «заархивированности» ДНК в хроматине. Гистоны в эмбриональных стволовых клетках модифицированы так, чтобы поддерживать хроматин в деконденсированном («расслабленном» или «открытом») состоянии, что даёт возможность реализовывать одну из программ развития. Так, на стадии дробления отмечается практически полное деметилирование ДНК и гистонов, в результате чего происходит активация подавляющего большинства, если не всех генов. Предполагается, что подобные преобразования необходимы для обеспечения тотипотентности зиготы.

На последующих этапах развития организмов наблюдается метилирование участков ДНК, которое носит тканеспецифичный характер. Например, у *Mammalia* в период имплантации, когда наблюдается обособление зародышевых листков, запускается процесс установления тканеспецифичного метилирования. При этом уровень метилирования ДНК в клетках трофобласта возрастает незначительно, в то время как ДНК клеток-производных внутренней клеточной массы, дающих начало эмбриональным структурам, подвергается существенному метилированию. Возрастающая плотность метилирования коррелирует с последующим сужением спектра возможных путей дифференцировки клеток. «Рисунок» (паттерн) метилирования оказывается специфическим для данного типа клеток и способствует поддержанию устойчивости дифференцировки этих клеток.

Известно, что в геноме беспозвоночных (например, *D. melanogaster*) и позвоночных (например, *Mammalia*) закодированы белки семейства ДНК – метилтрансфераз. Метилирование ДНК можно обнаружить на всех этапах развития живых организмов. Метилирование ДНК преобладает во время раннего эмбрионального развития многоклеточных и уменьшается

на более поздних этапах. Так, в геноме *D. melanogaster* обнаружен метилированный цитозин, доля которого у взрослых мух составляет 0,05–0,1 %. У млекопитающих данный показатель составляет 2–10 %. Высококонсервативная ДНК-метилтрансфераза второго типа – Dnmt2 (фермент, обнаруженный у *D. melanogaster*) обладает слабой, по сравнению с другими ДНК-метилтрансферазами, активностью и метилирует цитозин в большей степени по сайтам CpT и CpA, чем CpG (Dnmt3 млекопитающих тоже может метилировать цитозин по сайтам CpT и CpA, хотя в большей степени предпочитает сайт CpG). Установлено, что dDnmt2 – полипептид, экспрессирующийся в организме *D. melanogaster*, гомологичен карбоксильному концу, каталитической области ДНК-метилтрансферазы позвоночных, и бактериальному ферменту Dcm (ДНК-цитозин-метилтрансфераза). Следует отметить, что у человека за процесс метилирования ДНК отвечают ферменты ДНК-метилтрансферазы (DNMT1, DNMT3a, DNMT3b). DNMT3a и DNMT3b – это метилтрансферазы, которые предположительно осуществляют формирование «рисунка» метилирования ДНК на ранних стадиях развития. DNMT1 является ферментом, поддерживающим метилирование ДНК на более поздних стадиях развития организма и, в частности, отвечающим за присоединение метильной группы на дочерней (синтезируемой) цепи биспирали при репликации ДНК.

Известно, что многие белки (актин, миозин, рибосомальные белки и другие) как у беспозвоночных, так и позвоночных подвергаются метилированию посттрансляционно по остаткам лизина, аргинина и гистидина (N-метилирование), а также по остаткам глутаминовой и аспарагиновой кислот (O-метилирование). В качестве метилирующего агента обычно выступает S-аденозилметионин. Хроматин также модифицируется путём добавления посттрансляционных модификаций в гистонах, таких как присоединение метил-, ацетил-, фосфорил- и АДФ-рибозидных групп.

Следовательно, в процессе дифференцировки клеток на всех стадиях онтогенеза происходят модификации ДНК и белков (гистонов и других), что обеспечивает дифференциальную экспрессию генов и переход многоклеточного организма на следующий онтогенетический уровень.

Плюрипотентные стволовые клетки внутренней клеточной массы могут оставаться в виде резерва в дифференцированных тканях взрослого организма и продолжать пролиферировать неопределённое время для поддержания потенциала формирования клеточных типов организма в последующие периоды онтогенеза. Однако кроме «резерва» эмбриональных стволовых клеток в тканях взрослого организма находятся и другие типы взрослых стволовых клеток.

Взрослые стволовые клетки в основном *мультипотентные*, и потенциал их дифференцировки более ограничен по сравнению с эмбриональными стволовыми клетками, они находятся в зрелых тканях плода и в последующий постнатальный период независимо от возраста. Помимо мультипотентных стволовых клеток, во многих тканях взрослого организма обнаружены *олиго- и унипотентные тканеспецифические стволовые клетки*, участвующие в образовании клеток одного типа, как, например, стволовые клетки тучных клеток или стволовые клетки кератиноцитов и другие. Тканеспецифические стволовые клетки сохраняются практически во всех взрослых тканях / органах организма.

Так, например, источником гемапоэтических стволовых клеток, дающих начало всем клеткам крови и поддерживающих их гомеостаз, является *костный мозг*. *Гемапоэтические стволовые клетки* имеют характерные морфологические особенности и антигенные маркёры на клеточной поверхности. *Мезенхимальные стволовые клетки* имеют способность к самообновлению и потенциал для мультилинейной дифференцировки. Мезенхимальные стволовые клетки имеют фибробластоподобную морфологию, высокую адгезивную способность к субстрату и соответствующие для данного типа стволовых клеток антигенные маркёры на клеточной поверхности. Мезенхимальные стволовые клетки в основном способны дифференцироваться в хондрогенном, остеогенном и адипогенном направлениях. Однако относительно недавно было установлено, что данный тип стволовых клеток в соответствующем микроокружении способен дифференцироваться в культуре в гепатоциты, панкреатические клетки, мышечные и эндотелиальные клетки и даже в нейроны и клетки глии.

Взрослые стволовые клетки представляют собой пул недифференцированных клеток, находящиеся в окружении миллионов дифференцированных клеток «глубоко» в тканях многоклеточных организмов. Стволовые клетки – не автономная единица организма, они находятся в определенном анатомо-физиологическом и биохимическом *микроокружении* – «*нише*», которая создаёт благоприятные условия за счет межклеточных контактов, соответствующего сигналинга посредством факторов роста и других сигнальных молекул, а также за счет взаимодействия стволовых клеток с внеклеточным матриксом. Считают, что трёхмерное микроокружение играет ключевую роль в регуляции и поддержании их «стволовости». Самообновление или развитие в коммитированные клетки осуществляется для замены клеток в норме, при старении и повреждении за счёт экспрессии соответствующих генов в организме на разных онтогенетических уровнях. Микроокружение сохраняет пул стволовых клеток от истощения, регулируя переход клетки

из детерминированного состояния в дифференцировку, так как стволовые клетки и микроокружение составляют динамическую систему, определяющую регенерационные способности тканей организма. Некоторые исследователи считают, что терминальная дифференцировка стволовых клеток в клетки со специализированными функциями зависит от микроокружения ткани, в которую они мигрируют. Так, взрослые стволовые клетки, имплантированные в тотально дифференцированное клеточное микроокружение (экто-, эндо- или мезодермального происхождения), могут дифференцироваться в типы клеток, аналогичные тем, которые содержатся в новом микроокружении. В костном мозге для направленной дифференцировки мезенхимальных и гемопоэтических клеток используется одно и то же микроокружение, а направление дифференцировки определяют внеклеточные и межклеточные сигналы, которые различны для разных типов клеток. Микроокружение гемопоэтических стволовых клеток является моделью, в которой сосуществуют субпопуляции покоящихся и активных стволовых клеток в одной и той же ткани. Способность сохранять стволовые клетки в состоянии покоя (ниша остеобластов) для их самообновления и активные стволовые клетки (сосудистая ниша) для пролиферации и / или восстановления поврежденной ткани, пример поддержания динамического равновесия между процессами самообновления и дифференцировки.

Гемопоэтические и мезенхимальные стволовые клетки, находящиеся в костном мозге, могут мигрировать в периферическую кровь и перемещаться к тканям-мишеням. Мобилизация и хоминг (или хоумингом – форма поведения клеток, которые возвращаются в «исходное местообитание», например, стволовые клетки, вышедшие из костного мозга, могут снова возвращаться в него) основаны на взаимодействии между хемокинов, рецепторов к хемокинам, внеклеточного сигналинга, молекул адгезии, цитокинов, факторов роста, регуляторных кофакторов и протеаз. Взаимодействие между SDF-1/CXCL12 (Stromal cell-derived factor-1/chemokine (C-X-C motif) ligand 12) на стромальных клетках многих тканей организма, например, стромальные клетки костного мозга, и рецептором CXCR4 ((C-X-C motif) Chemokine receptor type 4) является важным в удержании гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге. Плейотропные эффекты взаимодействий SDF-1/CXCR4 сделали этот уникальный сигналинг инициатором не только для оптимального восстановления гемопоэза, но и для процессов восстановления, регенерации других поврежденных негемопоэтических тканей.

Согласно современным представлениям, популяция мезенхимальных стволовых клеток *in vitro* является гетерогенной и представлена стволовыми и прогениторными клетками различной степени зрелости.

Так как кроме вышеперечисленных клеток в костном мозге была идентифицирована гетерогенная популяция негематopoэтических стволовых клеток: эндотелиальные стволовые клетки, мультипотентные взрослые прогениторные клетки, плюрипотентные стволовые клетки, а также тканеспецифические или коммитированные стволовые клетки. Некоторые исследователи предполагают, что все стволовые клетки костного мозга являются разными субпопуляциями тканеспецифических стволовых клеток. Данные клетки накапливаются в костном мозге в течение онтогенеза и становятся мобильной популяцией клеток, которая способна к миграции из костного мозга в периферическую кровь после повреждения тканей под действием хемокинов для регенерации поврежденных органов. Циркулирующие стволовые клетки могут трансдифференцироваться, изменяя свой фенотип в зависимости от их микроокружения. Тем не менее, несмотря на присутствие в организме разнообразных типов стволовых клеток как в костном мозге, так и в других тканях, и их участие в регенерации и восстановлении тканей, организм подвержен необратимому процессу – старению, который затрагивает все ткани и системы.

В настоящее время существует несколько точек зрения о влиянии возраста донора на характеристики стволовых и прогениторных клеток:

1. С возрастом количество стволовых клеток уменьшается (Choi, 2009; Pelicci, 2004; Beausejour, 2006). Пул «взрослых» стволовых клеток в организме может сокращаться под воздействием генетических, факторов внешней среды, питания, образа жизни. После исчерпания резервов стволовых пространств интенсивность и скорость старения соматических дифференцированных клеток многоклеточного организма значительно ускоряется.

2. При старении происходит снижение репликативной и пролиферативной активности стволовых клеток (Caplan, 1991, 2006; da Silva Meirelles, 2006). Гены, вовлеченные в поддержание стволовости, целостность генома и регуляция транскрипции претерпевают в мезенхимальных стволовых клетках возрастную репрессию, способствуя репликативному старению стволовых клеток *in vitro*.

Мезенхимальные стволовые клетки стареющего организма имеют отличные от клеток молодого организма паттерны генной экспрессии и отличаются по морфологии в культуре; происходит переключение на адипогенную дифференцировку, изменяется эпигенетический паттерн и метаболизм клеток.

3. Старение клеток микроокружения приводит к аресту клеточного цикла и переходу стволовых клеток в G₀ период (Stadnikov, 2006; Prezioso, 2011). Стволовые клетки не имеют внутренней причины старения и выполняют свою функцию по самообновлению организма до конца

жизни, противодействуя старению, но влияние возрастного изменения микроокружения стволовых клеток в стареющем организме изменяет их свойства и функции. На тканевом уровне старение может быть обусловлено распадом межклеточных взаимодействий, так апоптоз одних клеток приводит к гибели других клеток и нарастающему снижению синтеза цитокинов, при помощи которых данные клетки поддерживали друг друга. Стареющие соматические клетки секретируют факторы, включая протеолитические ферменты, воспалительные цитокины, факторы роста, приводя к старению, что может изменить микроокружение внутри ткани и привести к опухолеобразованию.

Следовательно, существующие точки зрения онтогенетического изменения пула стволовых клеток пока не позволяют воссоздать полную картину того, что конкретно происходит с данными клетками на поздних стадиях онтогенеза.

Вопросы для самоконтроля

1. В чём заключаются генетические механизмы старения?
2. Охарактеризуйте физиологические механизмы старения.
3. Какова роль апоптоза в процессах старения?
4. В чём сходства процессов старения у разных видов многоклеточных организмов?
5. Какие современные способы продления жизни?
6. Какие механизмы способствуют переходу организма к завершающему этапу онтогенеза – старению?
7. Какова роль нервной и эндокринной системы в процессе старения?

Рекомендуемая литература

Основная литература:

1. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения : в 2 т. / В. Н. Анисимов. – 2-е изд., доп. и перераб. – СПб. : Наука, 2008. – Т. 1. – 481 с.
2. Анисимов В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения : в 2 т. / В. Н. Анисимов. – 2-е изд., доп. и перераб. – СПб. : Наука, 2008. – Т. 2. – 434 с.
3. Божков А. И. Внешние повреждающие воздействия как факторы ускорения и замедления старения / А. И. Божков // Проблемы старения и долголетия. – 2013. – Т. 22 – С. 15.
4. Галицкий В. А. Эпигенетическая природа старения / В. А. Галицкий // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 5. – С. 388–397.
5. Лишевская В. Ю. Апоптоз и старение / В. Ю. Лишевская, К. Н. Игрунова, Н. Н. Бенковская // Проблемы старения и долголетия. – 2013. – Т. 22, № 1. – С. 3–17.

6. Москалёв А. А. Роль стволовой ниши в процессах старения организма / А. А. Москалёв // Рос. хим. журнал. – 2009. – Т. 3, № 3. – С. 83–87.
7. Москалёв А. А. Старение и гены / А. А. Москалёв. – СПб. : Наука, 2008. – 358 с.
8. Петренко А. Ю. Стволовые клетки. Свойства и перспективы клинического применения / А. Ю. Петренко, Ю. А. Хунов, Э. Н. Иванов. – Луганск : Пресс-экспресс, 2011. – 368 с.
9. Assumda F. Z. Age-related changes in rat bone-marrow mesenchymal stem cell plasticity / F. Z. Assumda, P. B. Chase // Cell Biology. – 2011. – Vol. 12. – P. 1–11.
10. Silva H. Aging and stem cell / H. Silva, I. Conboy // Stem book. – 2008. – № 15. – P. 1–24.
11. Weiss L. Haemopoiesis in mammalian bone marrow / L. Weiss // Ciba Found Symp. – 1981. – Vol. 84. – P. 5–21.

Дополнительная литература и интернет-ресурсы:

12. Билибин В. В. Генетические механизмы старения клеток: учебные материалы [Электронный ресурс] / В. В. Билибин – 2008. – Режим доступа : http://web-local.rudn.ru/web-local/uem/autor/bilibin/bil_kl.htm
13. Kolios G. Introduction to stem cells and regenerative medicine / G. Kolios, Y. Moodley // Respiration. – 2013. – Vol. 85, № 1. – P. 3–10.
14. Ramakrishna V. Stem cells and regenerative medicine – a review / V. Ramakrishna, P. B. Janardhan, L. Sudarsanareddy // Annual Review & Research in Biology. – 2011. – Vol. 1, № 4. – P. 79–110.
15. Stadnikov A. A. Stem cells and reparative regeneration in mammalian postnatal ontogenesis / A. A. Stadnikov, N. N. Shevliuk // Morfologiya. – 2006. – Vol. 130, 36. – P. 84–88.
16. Wilson A. Age-related molecular genetic changes of murine bone marrow mesenchymal stem cells / A. Wilson, L. A. Shehadeh, H. Yu, K. A. Webster // BMC Genomics. – 2010. – Vol. 11. – P. 229.
17. Zhao T. p53 and stem cells: new developments and new concerns [Electronic resource] / T. Zhao, Y. Xu // Trend in Cell Biology. – 2010. – Vol. 20, № 3. – P. 170–175. – Way of access : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение можно сделать вывод о том, что для каждой особи – от одноклеточных форм до высших многоклеточных организмов – характерен свой «путь» индивидуального развития или онтогенеза, отличающийся различной скоростью прохождения его основных этапов, возможным выпадением отдельных возрастных состояний, наступлением вторичного покоя и т. д. При этом онтогенез всех живых организмов представлен совокупностью процессов, которые происходят на разных его стадиях – это образование организма из зиготы или путём деления материнской клетки, стадия интенсивного роста, репродуктивная стадия, процесс старения (у многоклеточных организмов), гибель или переход к новому делению. Следовательно, онтогенез представляет собой непрерывный процесс развёртывания и реализации наследственной информации, заложенной в зародышевых клетках или при передачи генетической информации от материнской дочерним клеткам (прокариоты, одноклеточные эукариоты). Количественные и качественные изменения, происходящие в живых организмах в течение всей жизни, происходят при постоянном взаимодействии генотипа и условий внешней среды. Организм развивается в результате обмена веществ, который сопровождается ростом и дифференцировкой клеток, тканей и органов.

В противоположность онтогенезу – индивидуальной характеристике – видовой категорией является филогенез, под которым со времён Э. Геккеля, впервые обосновавшего этот термин, понимают историю возникновения и развития вида (животных или растений). Между онтогенезом и филогенезом существует тесная связь, которая отражена в биогенетическом законе (Э. Геккель, Ф. Мюллер). Поскольку онтогенез индивидуума определяется определёнными характеристиками филогенетического развития вида, к которому принадлежит данный индивидуум, то можно сказать, что онтогенез является основой филогенеза, с одной стороны, и результатом филогенеза – с другой.

Онтогенез растений существенно отличается от онтогенеза животных постоянным возникновением новых серий метамеров и их систем, благодаря чему морфогенез органов, как правило, к онтогенезу растений не имеет такого прямого отношения, как у животных. Тем не менее, модусы эволюции онтогенеза растений могут быть те же, что и у животных, по крайней мере, частично, а именно девиации и анаболии. Возникнув на средних или поздних стадиях онтогенеза, девиации у растений имеют тенденцию «спускаться» к его началу, захватывая и эмбриональные стадии.

У многоклеточных эукариот в их разнообразных по морфологическим признакам и функциям клетках разных тканей и органов сохранен весь генный набор, однако не все гены включены в работу. Ход онтогенеза эукариот находится под контролем многоступенчатой каскадной регуляции включения-выключения (экспрессии) работы отдельных генов. В определении времени, места и уровня экспрессии генов важнейшую роль играют взаимодействия продуктов многих генов, работающих в разных клеточных системах. Так, известно, что ключевые регуляторные гены эмбриогенеза, обнаруженные у *D. melanogaster*, являются универсальными регуляторами эмбриогенеза многих животных, в том числе и млекопитающих. Регуляторами дифференциальной активности генов являются различия в структуре цитоплазмы, клеточная индукция и гормоны или фитогормоны и другие факторы. Кроме того, большую роль в регуляции экспрессии генов играют эпигенетические механизмы. У эукариот выявлены гены, проявляющие активность во всех клетках организма. Эти гены ответственны за образование структур, общих для всех клеток. Тем не менее, имеются и гены, действие которых проявляется только в специализированных тканях. У эукариот возможно одновременное подавление активности генов во всём ядре, или в целой хромосоме, или в большом её участке. Предполагают, что такая репрессия генов осуществляется в значительной мере основными белками – гистонами. Установлена регуляция развития эукариот путём изменения транскрипции, ведущая роль в которой отводится хроматину, почти все гетерохроматиновые области не участвуют в синтезе РНК. В некоторых случаях необходима амплификация генов – приспособление для транскрипции повышенного количества определённой РНК и, наконец, имеет место селективная транскрипция генов. Градиенты морфогенов в яйце, а возможно, и в зародышах на всех стадиях развития, определяются градиентом трансляции их мРНК. Регуляция трансляции во времени и пространстве каждой мРНК происходит индивидуально. Нарушение интенсивности трансляции определённых мРНК может приводить к дефектам развития и к малигнизации дифференцированных тканей. Таким образом, дифференциальную активность генов можно регулировать на уровне транскрипции и трансляции, а также на уровне посттрансляционных модификаций белков.

Развитие многоклеточных организмов проходит через серии стадий, контролируемых последовательностью морфогенетических полей. Сначала развиваются эмбриональные ткани под контролем первичных эмбриональных полей. Затем, либо в «мозаичном», либо в «регуляторном» развитии различные области зародыша подпадают под влияние вторичных полей: у животных – полей конечностей, глаз, ушей и других, а у растений –

полей листьев, лепестков, тычинок и так далее. После чего в тканях развивающегося организма появляются вспомогательные морфогенетические поля, которые контролируют морфогенез структур в пределах органа. Так, у растений, например, образование в листе пластинок, прилистников, черенков, а у животных, например, появление в глазу роговицы, радужной оболочки, хрусталика. На последующих этапах развития появляются ещё более узкие морфогенетические поля, например, контролирующие дифференциацию сосудов в пластинках листа – у растений или дифференциацию клеток слизистой оболочки ротовой полости – у животных.

У растений и животных существуют универсальные механизмы регуляции ключевых составляющих развития – пролиферации и дифференцировки клеток. Важную роль в этих процессах играют транскрипционные факторы, содержащие гомеодомен. У растений гомеодомен-содержащие транскрипционные факторы групп WOX и KNOX участвуют в поддержании активности меристем. Исследования последних лет показали важную роль этих транскрипционных факторов в контроле метаболизма фитогормонов, в частности, цитокининов. Вопрос о том, каким образом транскрипционные факторы WOX и KNOX регулируют процессы пролиферации клеток и блокируют их дифференцировку, до конца не изучен. Транскрипционные факторы KNOX демонстрируют структурное сходство с транскрипционными факторами MEIS у животных, активность которых наблюдается в раковых опухолях. У растений при опухолеобразовании также обнаружено изменение активности гомеозисных генов KNOX. Это свидетельствует о существовании общих механизмов регуляции пролиферации клеток у растений и животных с участием транскрипционных факторов MEIS и KNOX, которые, вероятно, сложились на ранних этапах эволюции эукариот у общего предка растений и животных.

Все организмы – как одноклеточные, так и многоклеточные, с возрастом замедляют свой рост, в основе которого лежит митоз, и стареют. Жизнь одноклеточного организма продолжается от митоза до митоза. За этот период одноклеточный организм растёт, стареет и «умирает». Но для него процесс смерти и процесс размножения совпадают, так как после митоза у одноклеточных организмов потенциал роста восстанавливается, а у многоклеточных – нет. Многочисленные «теории» старения многоклеточного организма представляют собой характеристики метаболических процессов и морфологических изменений, которые в совокупности отражают процессы инволюции в стареющем организме, но ни одна из них в полной мере не объясняет процессы, происходящие на всех стадиях онтогенеза, в целом, от эмбриогенеза до его конечной фазы – старения.

В данном учебном пособии раскрываются некоторые особенности онтогенеза организмов разных таксономических групп и основных закономерностей роста и развития организмов, в том числе и на конкретных примерах. Эти сведения необходимы для понимания основных изменений, происходящих в клетке, ткани и организме, в целом, на разных стадиях индивидуального развития. Рассматриваются морфофункциональные изменения, происходящие как у одноклеточных, так и у многоклеточных (растений, животных, человека) на протяжении их онтогенеза. Описывается процесс старения как заключительный этап онтогенеза всего живого. Но до сих пор остаются до конца не изученными огромное количество вопросов, связанных с механизмами онтогенеза организмов, такие как природа и генетические механизмы развития большинства форм организмов, причины и механизмы старения и другие, о чём свидетельствует огромное разнообразие публикаций в современной периодике, посвященных этой тематике.

Навчальне видання

Колот Наталя Володимирівна
Волкова Наталя Євгенівна
Воробйова Людмила Іванівна

МЕХАНІЗМИ ОНТОГЕНЕЗУ
КУРС ЛЕКЦІЙ

Для студентів біологічних спеціальностей

(Рос. мовою)

Коректор *О. В. Токар*
Комп'ютерне верстання *В. В. Савінкова*
Макет обкладинки *І. М. Дончик*

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 12,13. Тираж 100 пр. Зам. № 132/14.

Видавець і виготовлювач
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,
61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 3367 від 13.01.2009

Видавництво ХНУ імені В. Н. Каразіна
Тел. 705-24-32