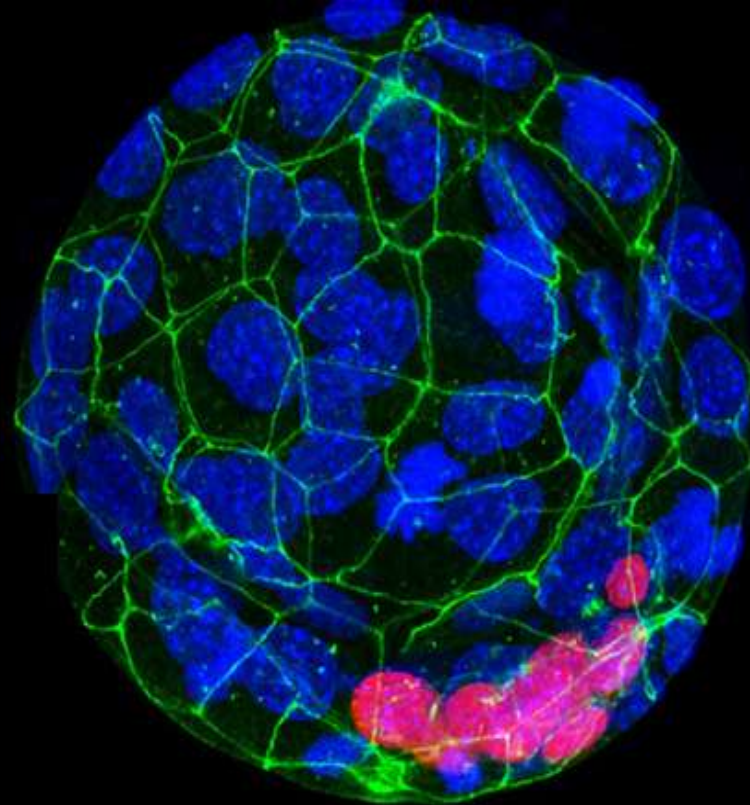
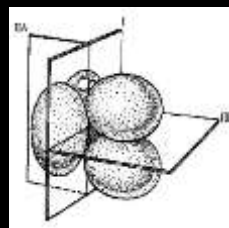
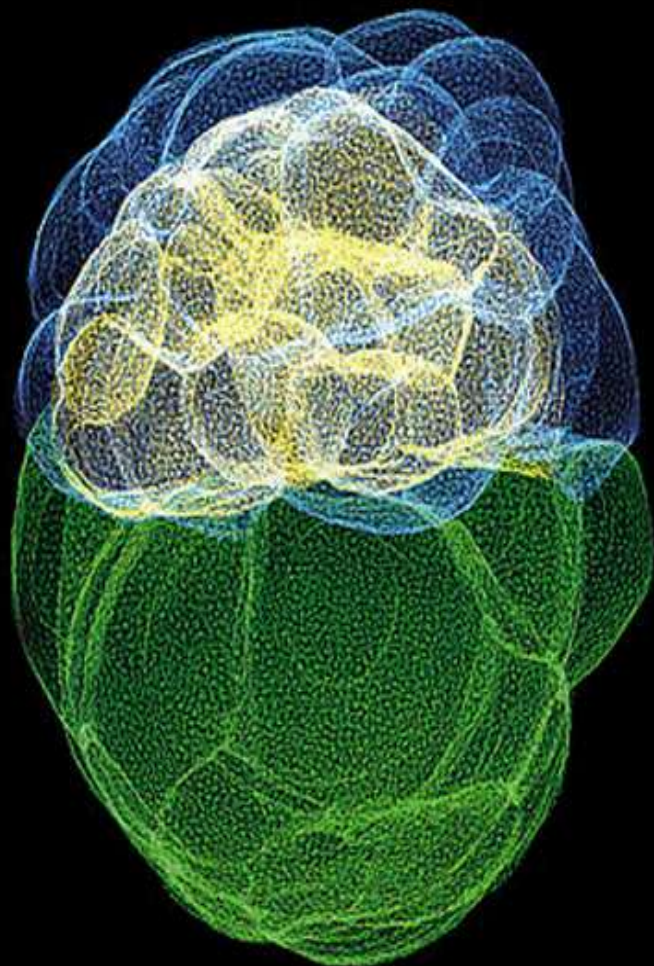


8 февраля 2012

Конференц-зал ИЦиГ СО РАН

Публичная лекция

Елена Кизилова



Как стать многоклеточным?

*Индивидуальный выбор
млекопитающих*

03.00.30 - Биология развития, эмбриология

Общая характеристика процесса дробления. Особенности деления клеток в период дробления (отсутствие роста клеток, продолжительность митотического цикла). Правила клеточного деления Гертвига-Сакса.

Типы дробления, их зависимость от количества желтка и его распределения в цитоплазме (полное равномерное и неравномерное, частичное, дискоидальное, поверхностное) и от свойств цитоплазмы (радиальное, спиральное, двусимметричное). Зависимость типов дробления от свойств цитоплазмы и клеточных контактов. Митотический аппарат. Роль центриолей, микрофиламентов и микротрубочек в кинетике карио- и цитотомии. Продолжительность клеточного цикла в период синхронных делений дробления.

Строение бластулы у животных с разным типом дробления. Особенности оплодотворения, дробления и образования бластулы у млекопитающих. Получение аллофенных животных: слияние морул, инъекции в бластоцисту. Опыты с тератокарциномой.

Роль материнского и зародышевого генома в процессах дробления. Структура клеточного цикла в период синхронных делений дробления и десинхронизация. Синтез ДНК, РНК и белков в период ранних стадий эмбриогенеза. Роль материнского генома в развитии и включение генов зародыша. Мутации с материнским эффектом.

Мозаичные и регуляторные яйца, относительность этой классификации. Опыты по разделению и слиянию бластомеров. Возникновение разнокачественности бластомеров у разных групп животных. Эквипотенциальность ядер. Опыты по пересадкам и дезактивации ядер на разных стадиях развития. Возникновение разно- и однояйцевых близнецов. Естественная полиэмбриония.

03.03.04 - Клеточная биология, цитология, гистология

Билет № 16

1. Ткани как системы клеток и их производных. Неклеточные структуры - симпласты и межклеточное вещество синцитии. Понятие о клеточных популяциях.

Билет № 25

1. Зигота – одноклеточный зародыш, ее геном, активация внутриклеточных процессов. Дробление. Закладка зародышевых листков.

03.02.07 - Генетика

Билет № 2

3. Онтогенез как реализация наследственно детерминированной программы развития.

Билет № 3

3. Действие генов в раннем эмбриогенезе. Позиционная информация, морфогены.

Билет № 17

3. Химерные (аллофенные) животные.

03.01.09 - Биоинформатика

Билет №6

•Индивидуальное развитие организмов. Дифференцировка и специализация клеток. Биогенетический закон.



В чём биологический смысл дробления?

- Как изучают дробление? Каков основной эмпирический и теоретический инструментарий у исследователя, который занимается ранним развитием?
- Что происходит с яйцом и эмбрионом у млекопитающих?
- Что представляют собой отдельные процессы и механизмы, задействованные в дроблении млекопитающих? Как они регулируются?
- В каких биологических дисциплинах знание о дроблении может быть актуализировано, каким образом и для решения каких научных задач?
- Как знание о дроблении может быть утилитарно использовано?
Что за польза от него человечеству в целом?

Дробление – серия относительно быстрых, последовательных и пространственно-упорядоченных делений бластомеров.

Деления дробления не сопровождаются увеличением объёма бластомеров и суммарного объёма эмбриона.

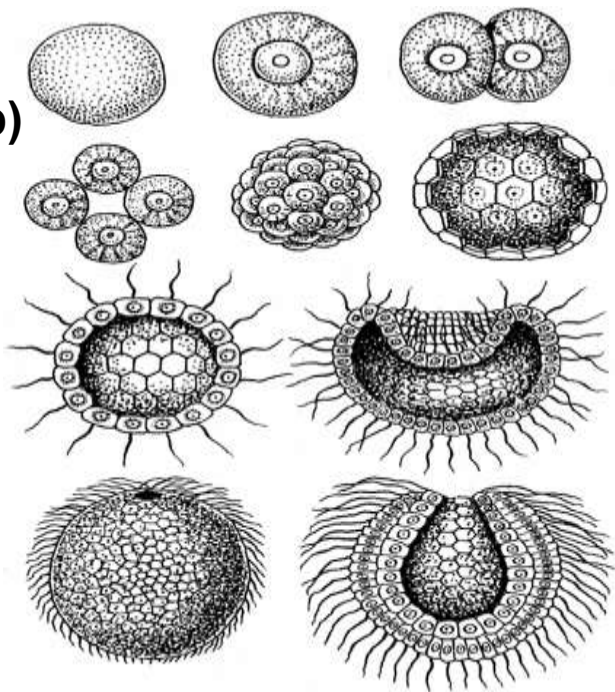
В результате дробления возникает бластула.

В чём общебиологический смысл дробления?

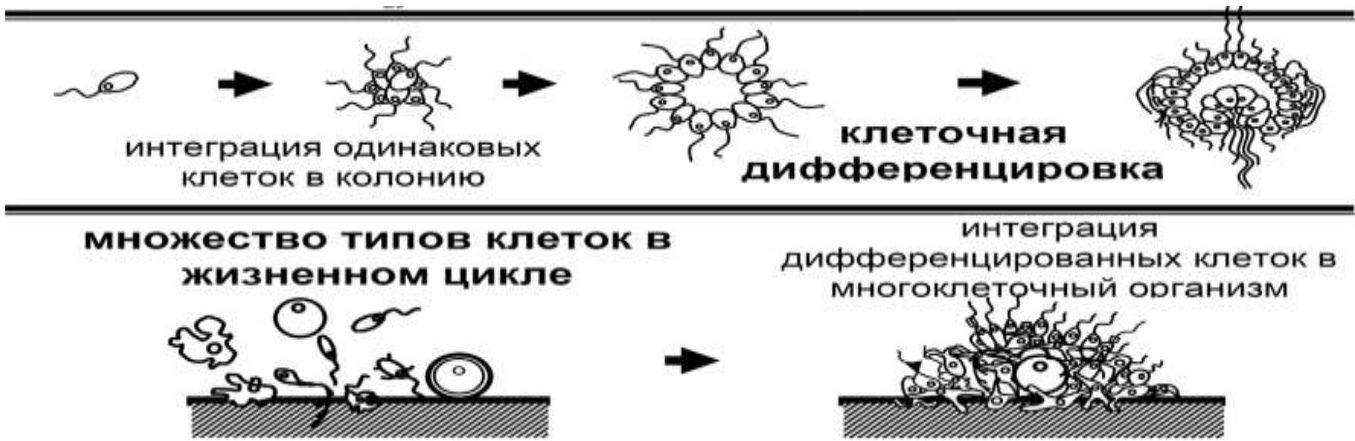
**В процессе дробления
из одноклеточной ЗИГОТЫ
возникает многоклеточный объект –
эмбрион**

возникновение Многоклеточности

**Гастрея
(по Геккелю)**

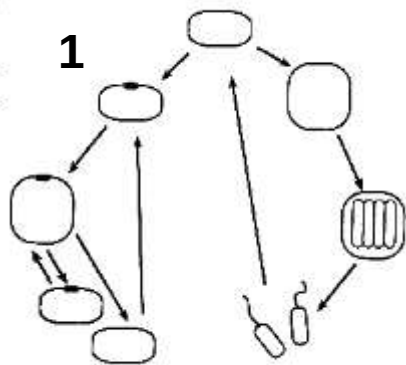


**Фагоцителла/
паренхимелла
(по Мечникову
и Иванову)**



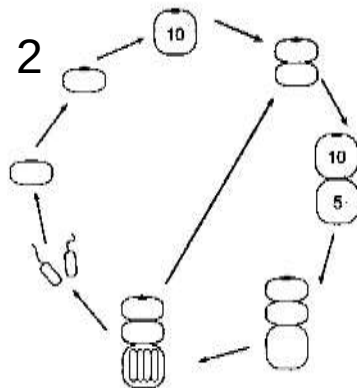
**Эволюционный переход от пространственной ко временной дифференцировке
(по Захваткину, Иванову и Алёшину)**

ВОЗНИКНОВЕНИЕ МНОГОКЛЕТОЧНОСТИ

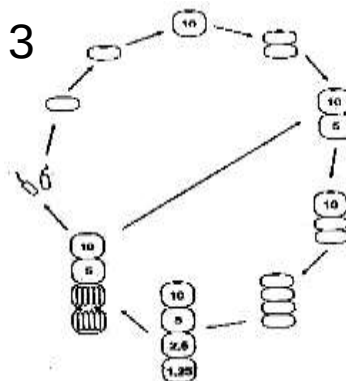


1. Исходное состояние:

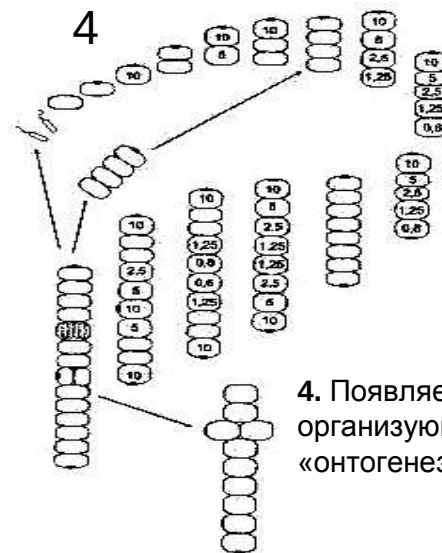
- Protozoon, эукариот, $2n$
- полярность: «глазок» ---- в-во X
- $[X]=1$, подавление образования «глазка»
- $[X]<4$, мейоз, изогамия
- $[X]=10$, $[X]>5$, митоз
- разные скорости диффузии X
- мутагенез
- адгезия клеток
- расхождение дочерних клеток и т.д.



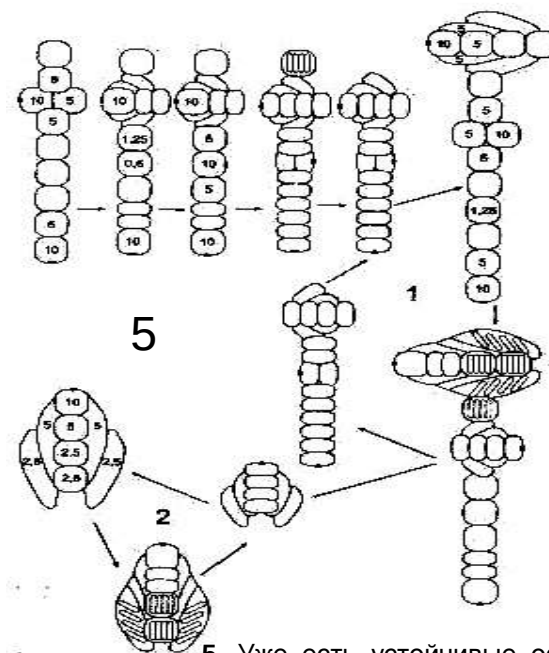
2. Появление соматического и герминального компартмента, а также «намёка» на онтогенез



3. Увеличение числа клеток



4. Появляется ещё одна организующая ось, «онтогенез» усложняется



5. Уже есть устойчивые оси, достаточно сложный «онтогенез» и специализация соматического компартмента

Одна из моделей самоорганизации (по Маркову, 2010)

ВОЗНИКНОВЕНИЕ МНОГОКЛЕТОЧНОСТИ

Chlamydomonas reinhardtii



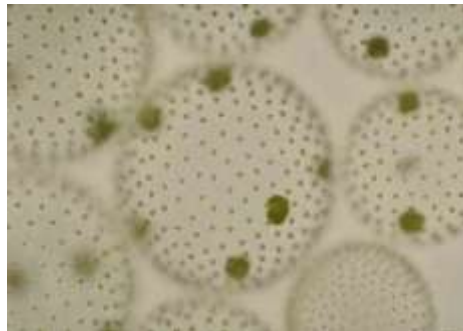
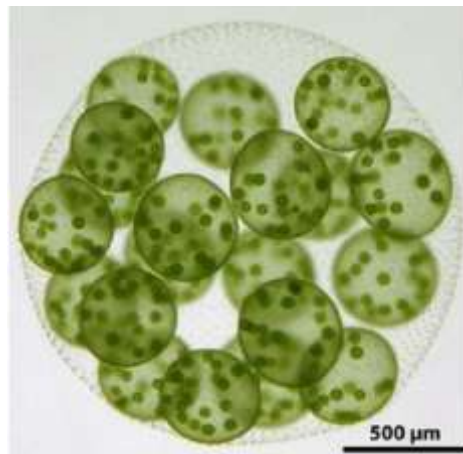
разница в 200 млн лет
сиквенс 138 млн пар
оснований генома *Volvox*

**14.516
генов**

VS

**14.566
генов**

Volvox carteri



- 1. У вольвокса увеличилось разнообразие
 - генов, кодирующих два главных семейства белков экстрацеллюлярного матрикса – ферофоринов (pherophorin) и VMPs.
 - число белков циклинов D-типа, регулирующих клеточное деление
- 2. Вольвокс адаптировал некоторые из своих генов для выполнения новых функций. Например, белки семейства ферофоринов эволюционировали в триггеры гаметогенеза.

Simon E. Prochnik et al., Genomic Analysis of Organismal Complexity in the Multicellular Green Alga Volvox carteri //
Science 9 July **2010**: Vol. 329 no. 5988 pp. 223-226.

ВОЗНИКНОВЕНИЕ МНОГОКЛЕТОЧНОСТИ

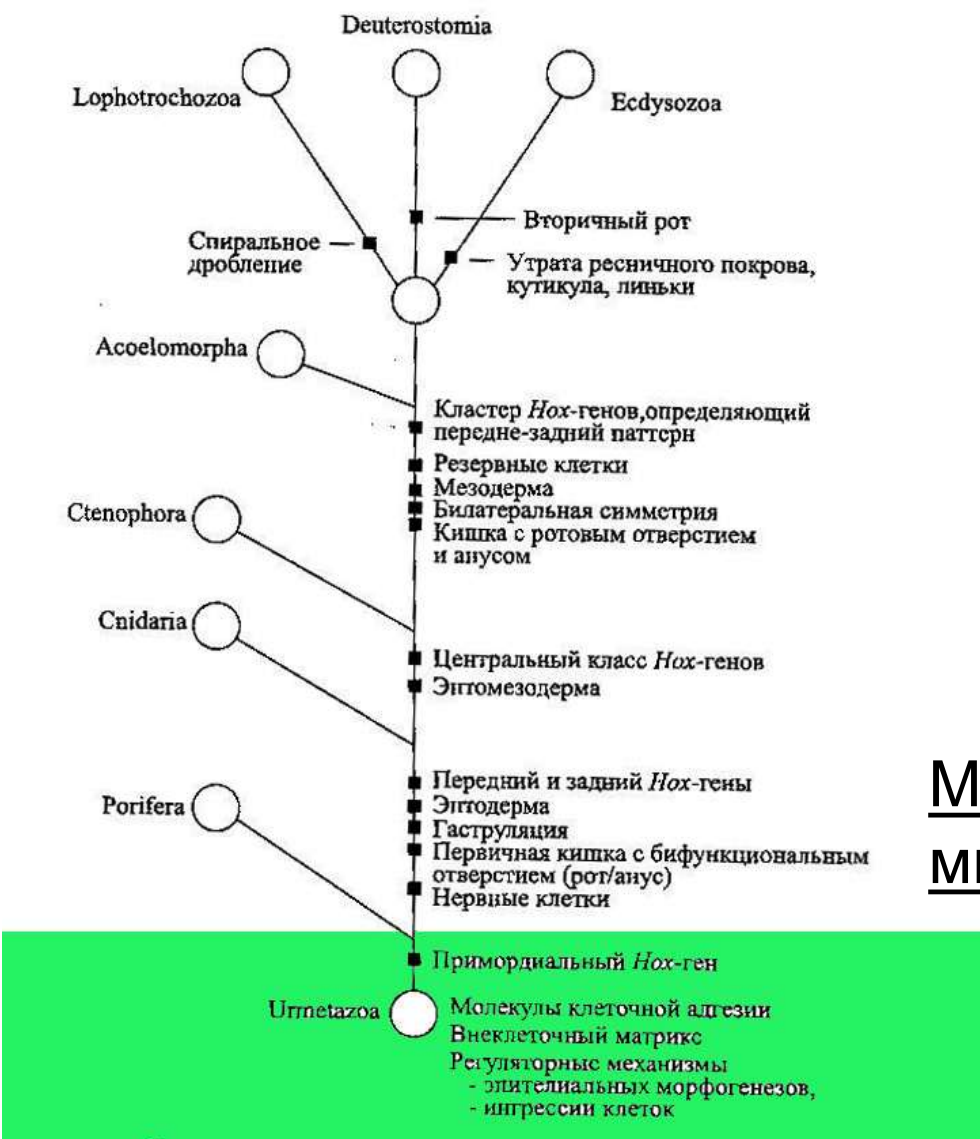


Схема эволюционных изменений индивидуального развития Metazoa, имевших филогенетические последствия.
(по Дондуа, 2002)

Синцитии и симпласты

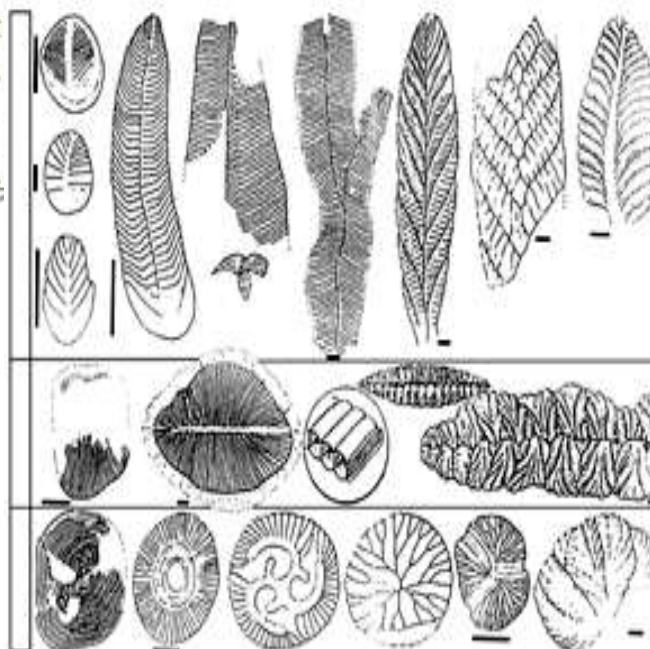
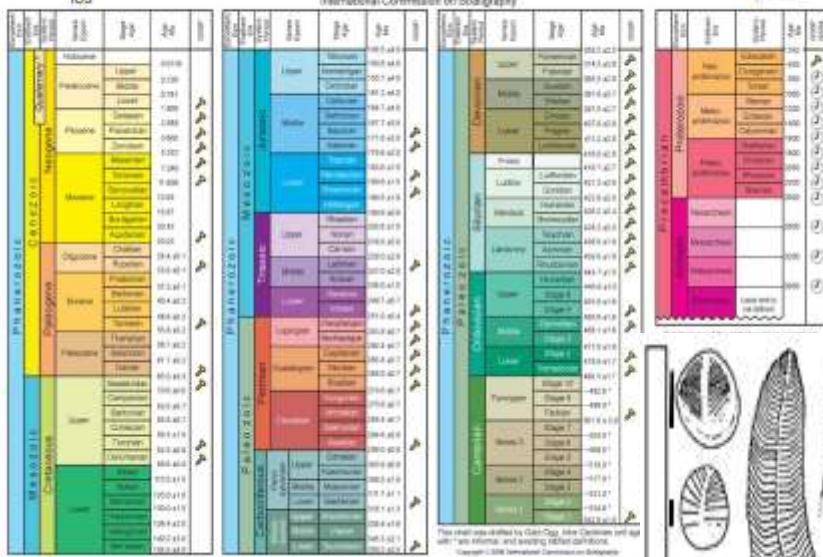
Колониальные одноклеточные формы с признаками слабой пространственной и функциональной дифференциации

Талломные формы (низшие водоросли, лишайники)

Микро- и макромицеты

Многотканевость или многослойность

? 1,5-1,7 млрд лет назад



Вендская фауна

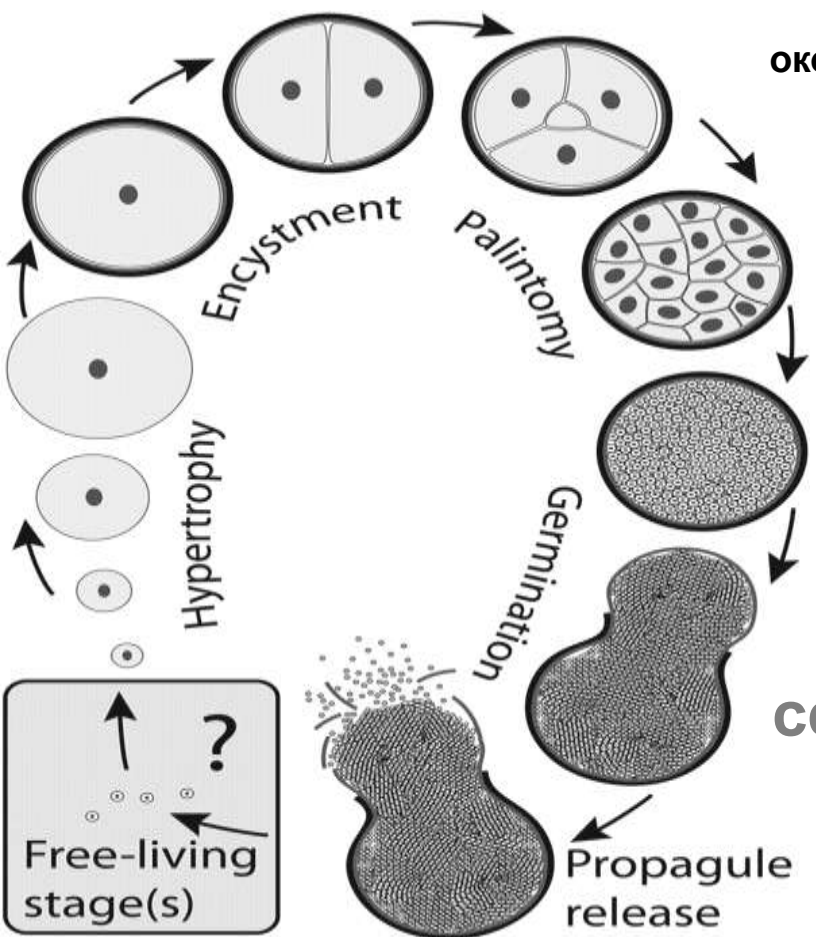
(650-570 млн)

обнаружена в Австралии
(район Эдиакары),
в России (Кольский п-ов,
Архангельск, Якутия)
и в Китае (Душаньтоу)

Гипотеза «кислородного контроля»
Гипотеза «ледяной купели»

Палеонтологическая летопись свидетельствует о том, что многоклеточные организмы возникали в ходе эволюции от одноклеточных эукариот **независимо не менее 17 раз**. Из ныне существующих многоклеточных животных губки ведут свою родословную от одного предка, тогда как все другие формы — от какого-то другого. В процессе исторического развития на планете **возникло не менее 35 типов многоклеточных организмов. Из них до сих пор существует 26**, которые представлены более чем 2 млн. видов.

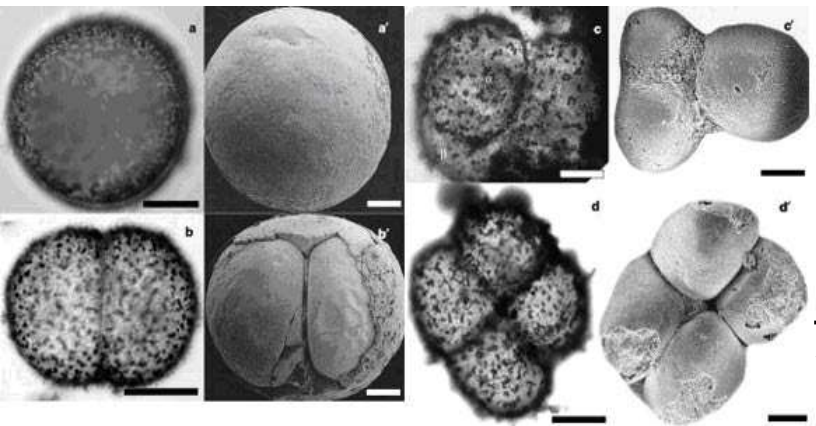
ВОЗНИКНОВЕНИЕ МНОГОКЛЕТОЧНОСТИ



около 580 млн лет назад

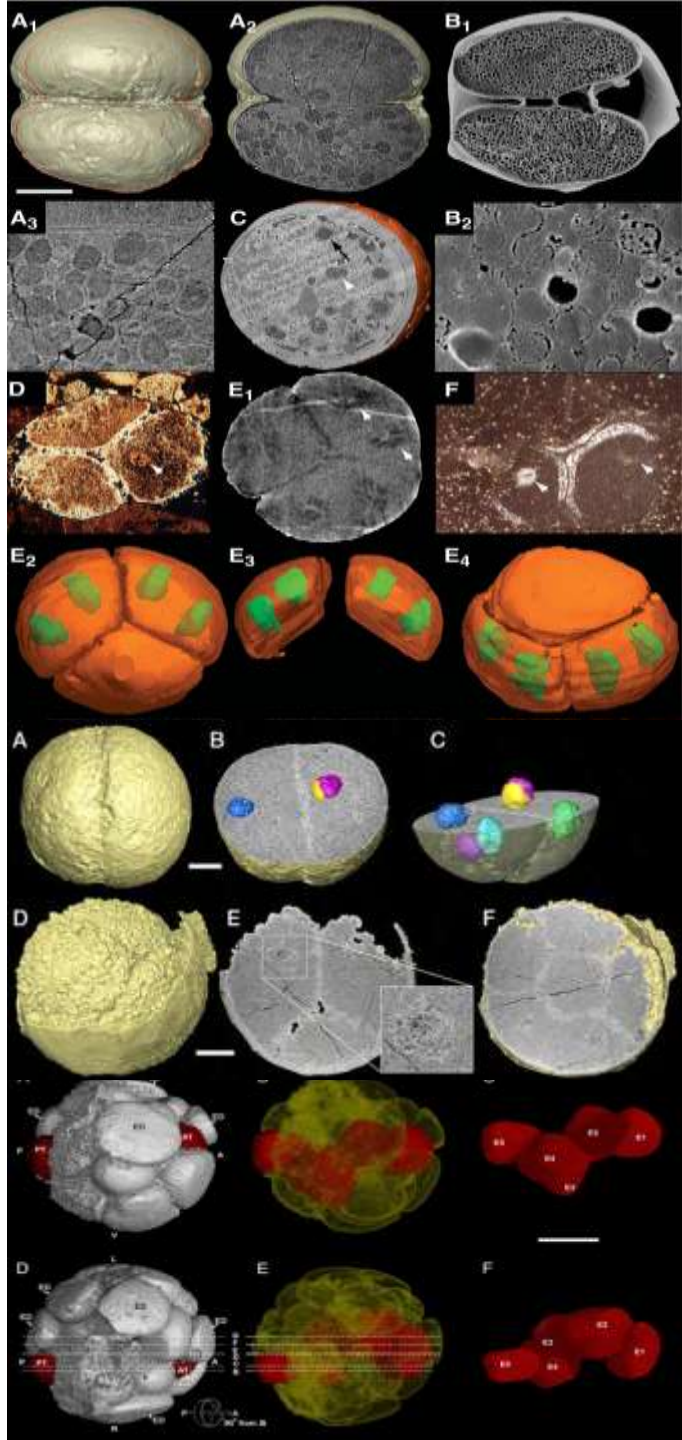
Доушаньютоу

?
эмбрионы
или
серобактерии

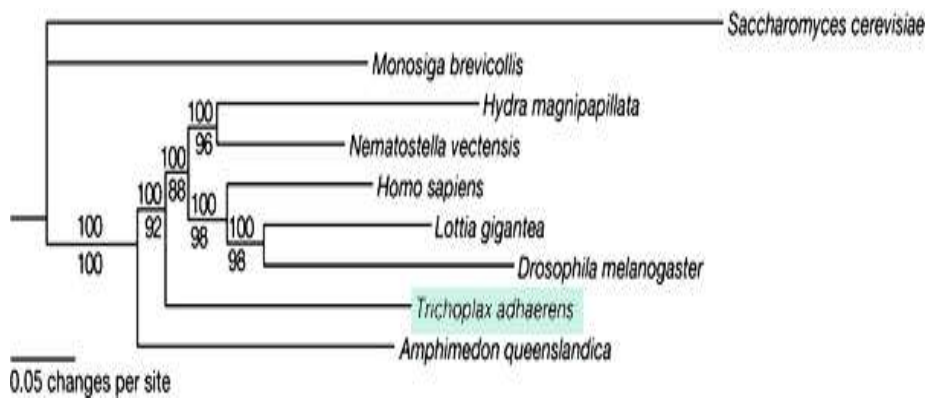
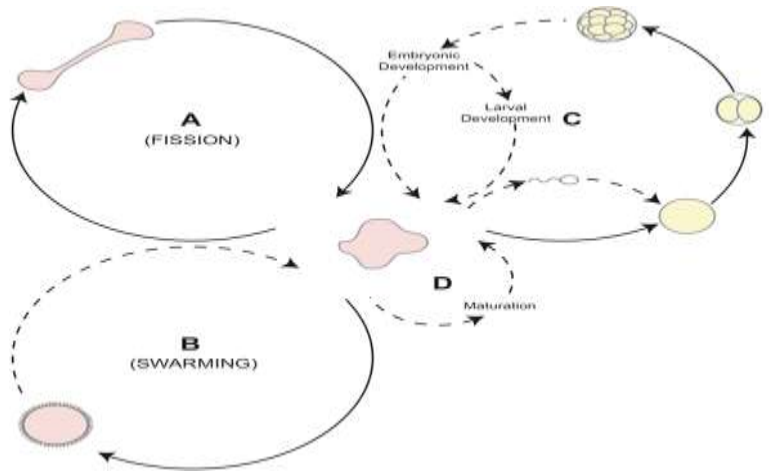
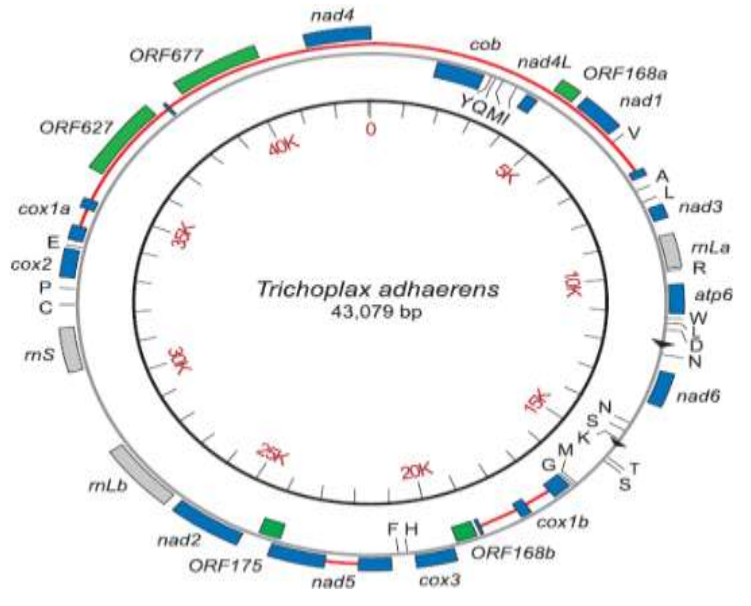
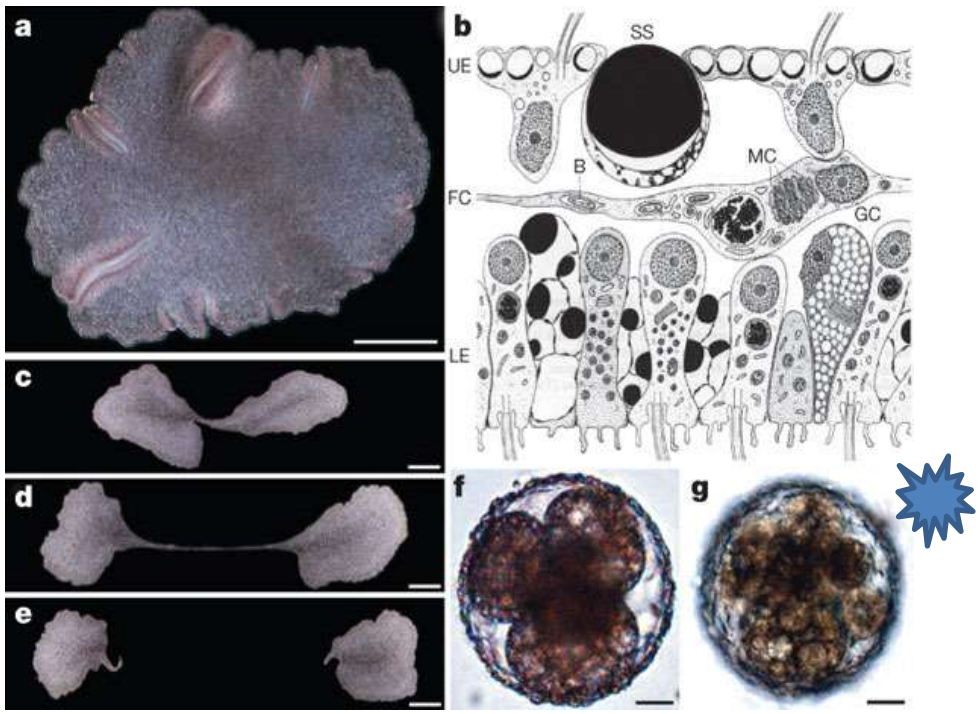


Chen et al. PNAS.
2009. V. 106. № 45.
P. 19056–19060

Huldtgren et al., 2011
Science. Vol. 334. P.
1696–1699.



Trichoplax adhaerens



Dellaporta et al., 2006 Mitochondrial genome of Trichoplax adhaerens supports Placozoa as the basal lower metazoan phylum // PNAS. 2006.

Srivastava et al. 2008 The Trichoplax genome and the nature of placozoans // Nature. V. 454. P. 955–960

Многоклеточность – это не только и не столько тривиальное увеличение числа клеток и числа типов клеток, слагающих организм.

- Разделение однородной группы клеток на **соматический и генеративный** компартменты
- Морфо-функциональная неоднородность** соматического компартмента
- **Клеточные ансамбли** – устойчивые скопления клеток в виде *паренхимы* и/или *напряжённого эпителиального пласта*
- Пространственное определение и закрепление клеточной неоднородности через установление **полярности и осей**
- Возникновение **симметрии** или нарушение симметрии, или *понижение рода симметрии* (шар – тор – двойной тор - ...)

1. Переход от одноклеточных ко многоклеточным организмам, возможно, не потребовал такого большого количества новых механизмов, как было принято считать ранее.

2. Простая живая система может содержать в самой себе «скрытые» возможности самопроизвольного усложнения

В чём заключаются особенности дробления у млекопитающих?

Правило Пфлюгера: веретено всегда тянется в направлении наименьшего сопротивления

Весь процесс дробления у млекопитающих – это нечто особенное

неактуально

Правило Сакса: бластомеры обычно делятся на равные части, и плоскость каждого нового деления пересекает плоскость предшествующего деления под прямым углом

в самом начале

Правило Гертвига: ядро и веретено деления обычно располагаются в центре цитоплазмы

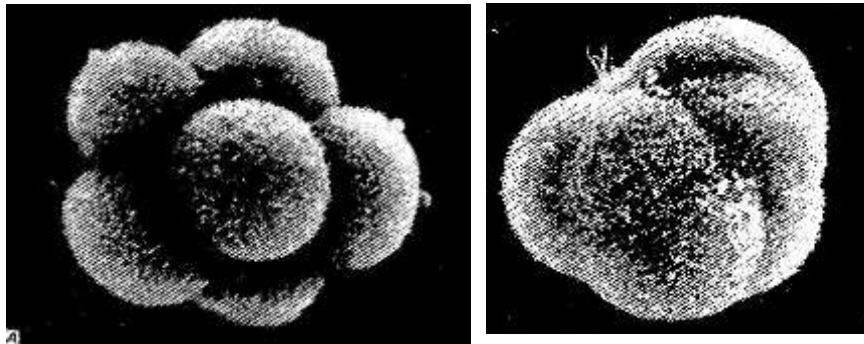
да

Правило Бальфура: скорость глобластического дробления обратно пропорциональна количеству желтка

нет

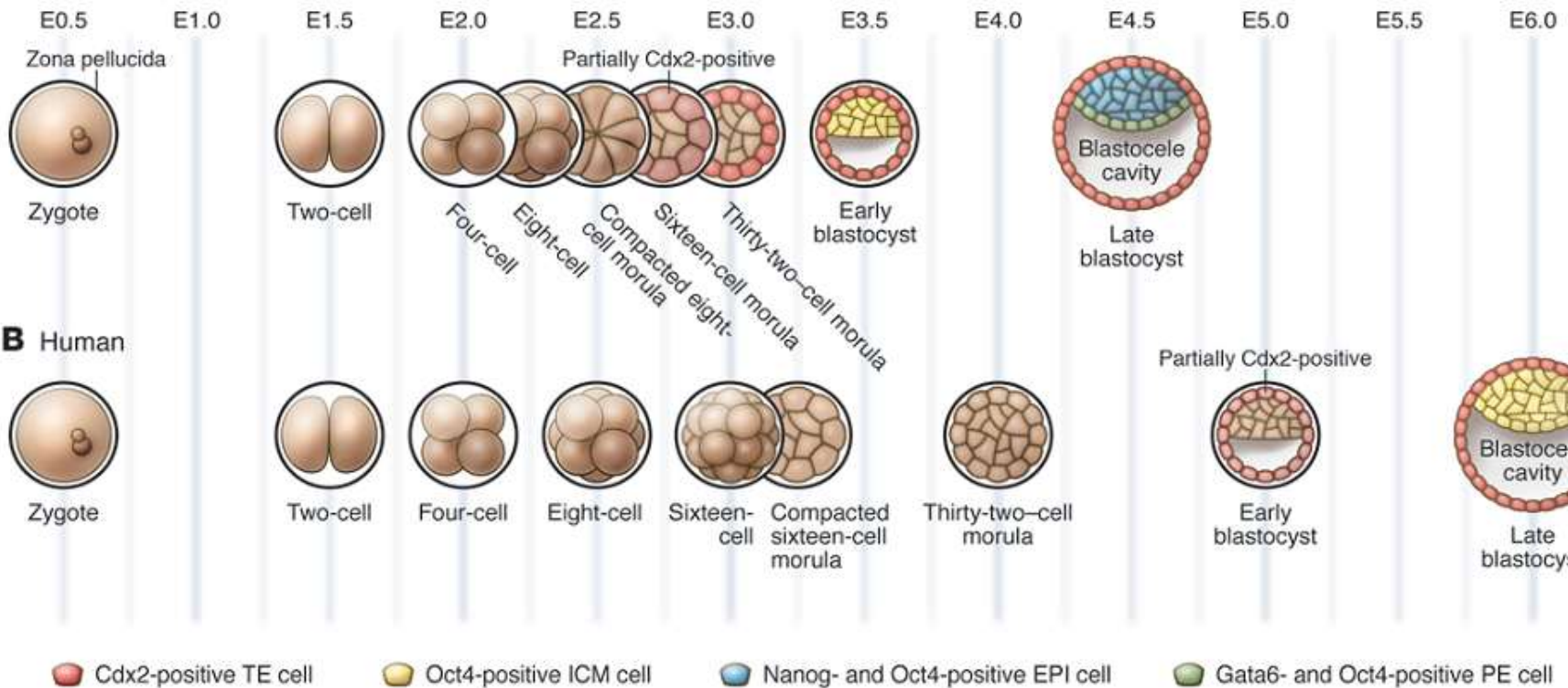
Правило увеличения
ядерно-цитоплазматического отношения

особенности дробления у млекопитающих

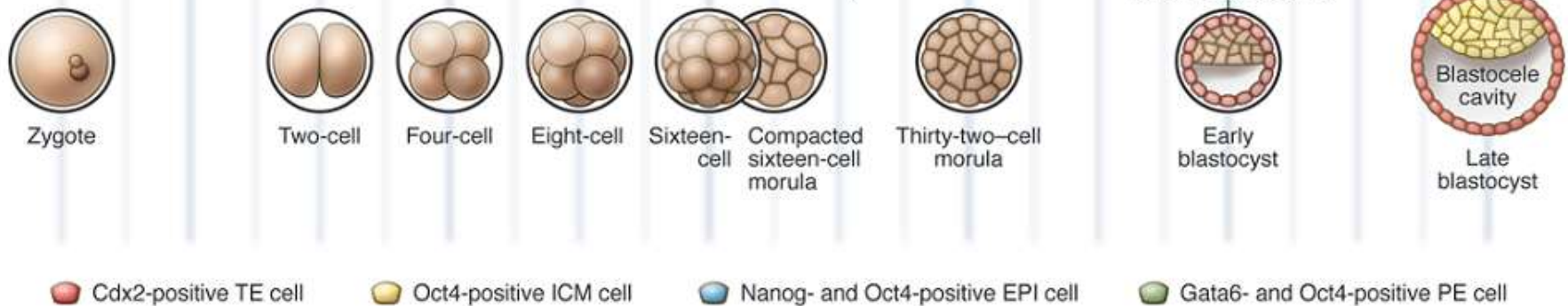


Стадия первичной
эпителизации бластомеров

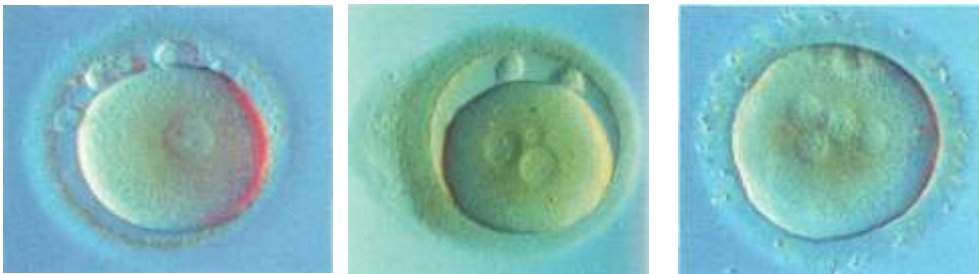
A Mouse



B Human



Дробление нарушено, развитие невозможно



1n

3n

4n

сбой системы естественной
блокады полиспермии при ЭКО

2n - партеногены
2n - андрогены
2n - гиногены

эксперимент

По Eakin and Behringer, 2003
с изменениями

Два типа 2n↔4n агрегационных химер

2n ↔ 4n
Развитие возможно



Агрегация **тетраплоидного**
эмбриона с **диплоидными** ES-
клетками или клетками ВКМ

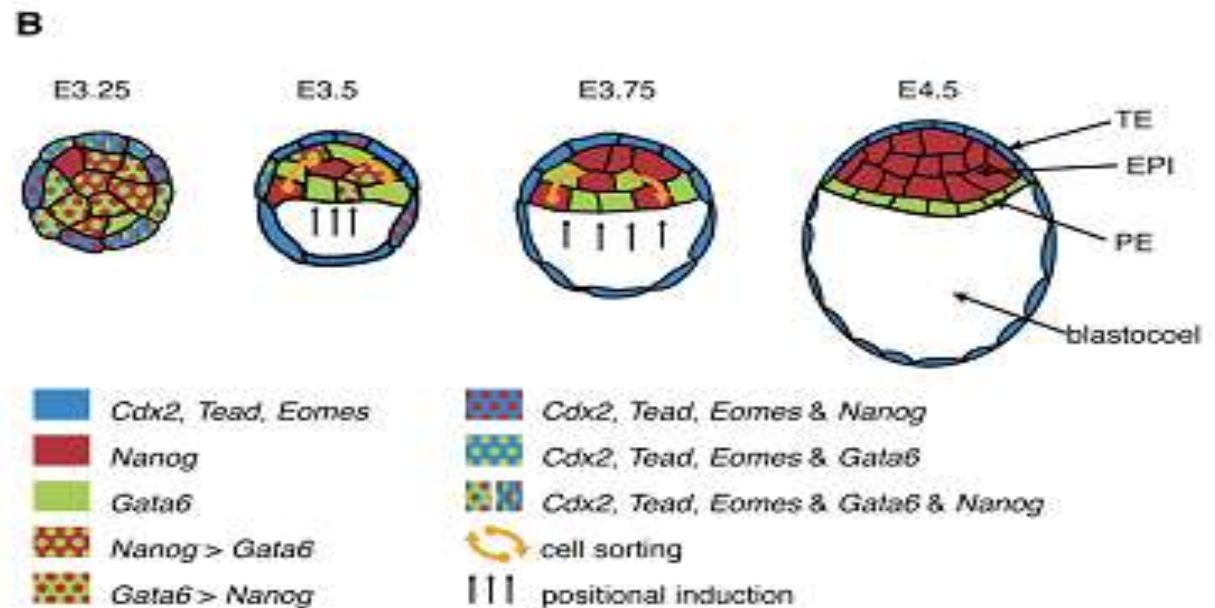
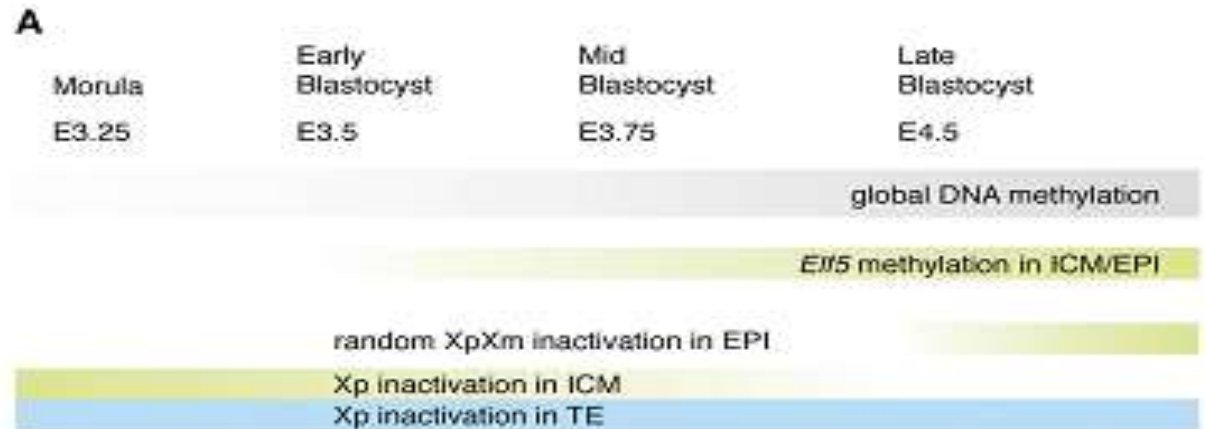
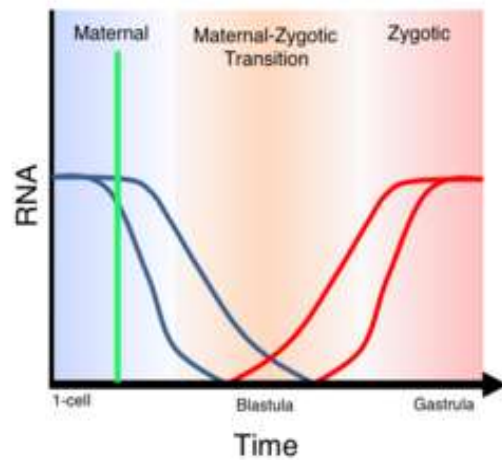


Агрегация **диплоидного**
эмбриона с **тетраплоидными**
гибридными ES-клетками
(были получены в лаборатории
Генетики развития ИЦиГ СО РАН)



■ - клетки-потомки
тетраплоидного партнера ■ - клетки-потомки
диплоидного партнера ■ - смесь клеток
обоих партнеров

Совокупность молекулярно-генетических процессов



**«Развитие млекопитающих высоко-регулятивно»
Так ли это?**

1. Ранняя и быстрая потеря плюрипотентности у отдельных бластомеров

2. Группы бластомеров (диады, триады и тетрады) не развиваются

3. Раннее и быстрое отделение основных клеточных линий

4. Морула и бластоциста, разделённые пополам, чаще всего не развиваются



Скорее «нет»

Ооплазматическая сегрегация отсутствует (?)

Динамическая сегрегация бластомеров отсутствует (?)

Монозиготические близнецы

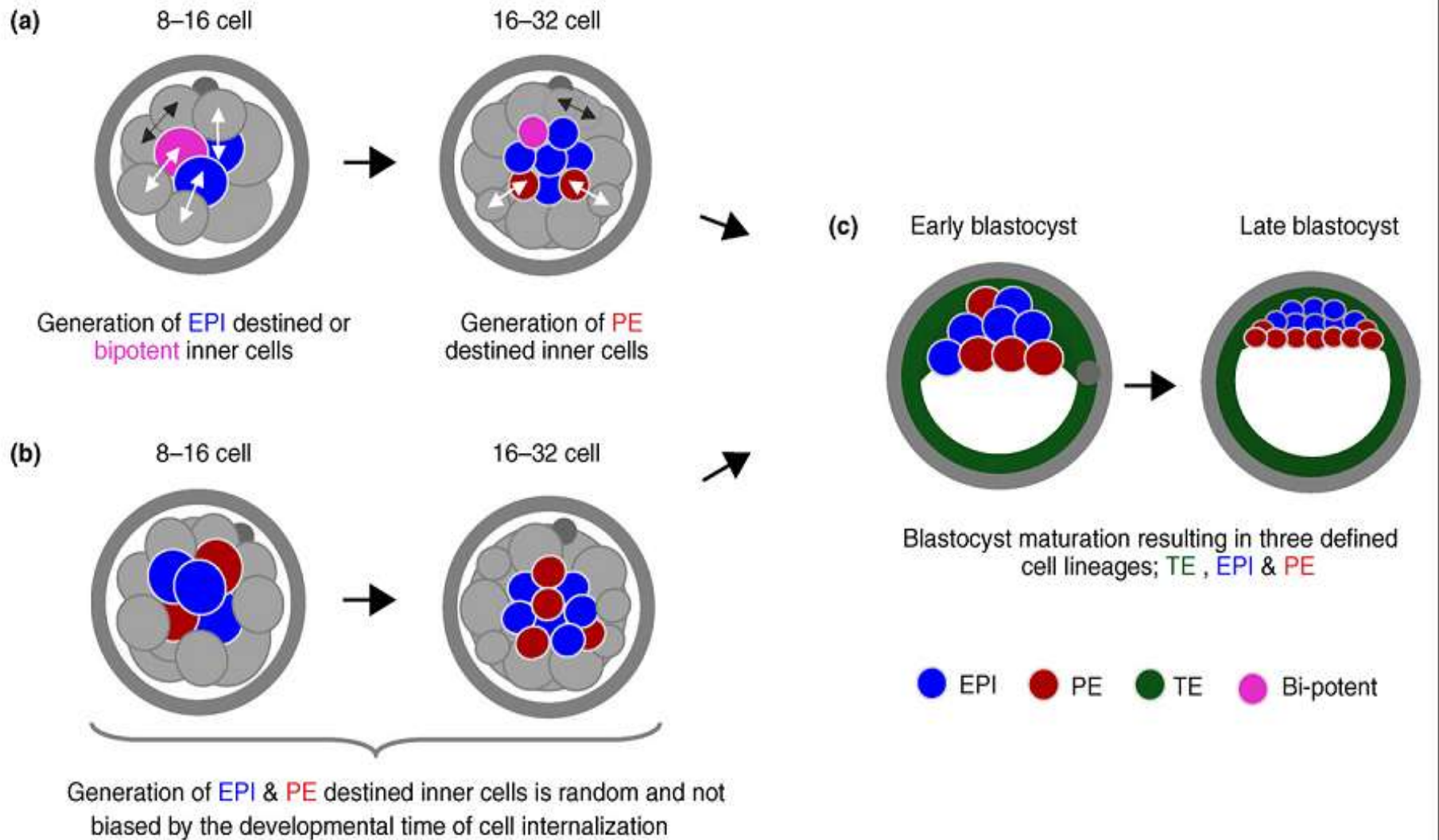
Химеры

Тератогенез



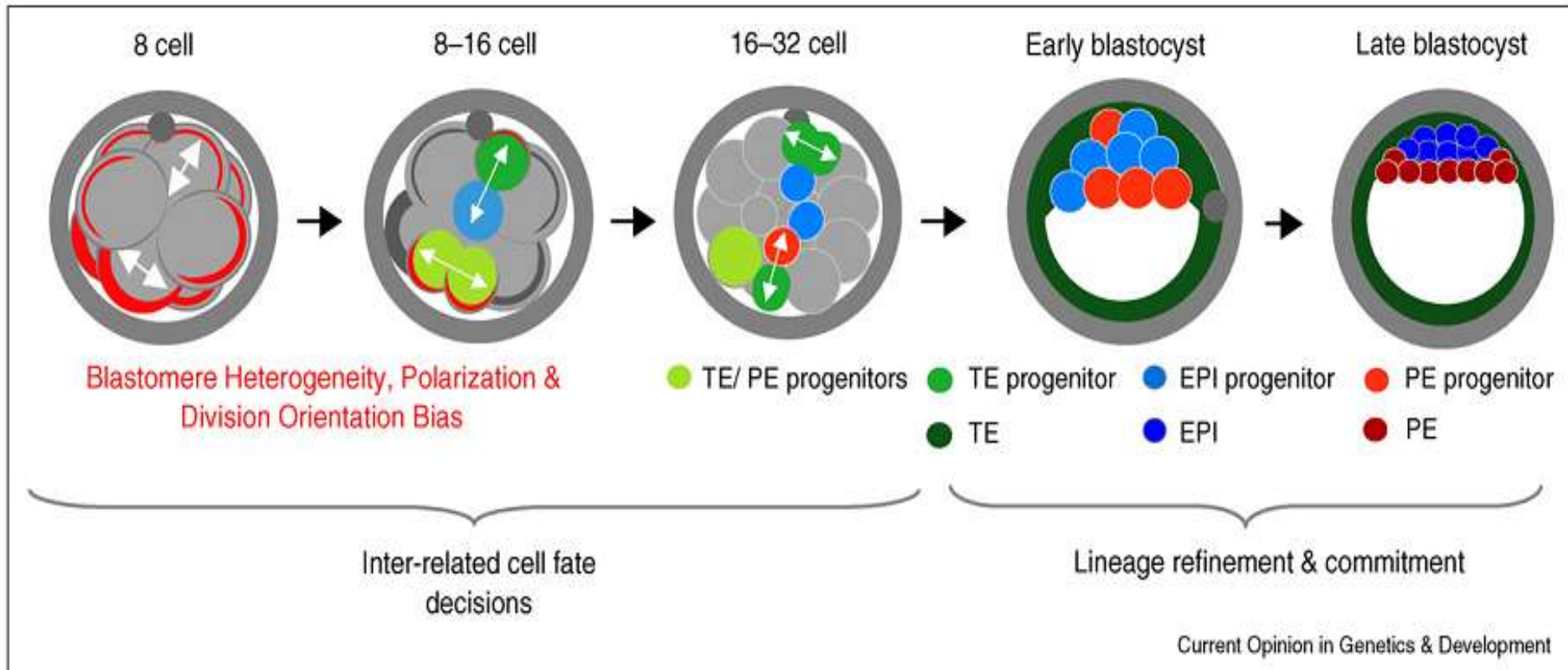
Скорее «да»

Становление пространственной неоднородности



Current Opinion in Genetics & Development

особенности дробления у млекопитающих



http://php.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=Movie_-_Model_Embryo_to_128_Cell_Stage

Это электронная симуляция дробления у мыши
Модель

Simulation includes trophoctoderm formation in “position-based” model, blastocoel growth and endoderm (primitive endoderm) formation by differential adhesion and directional signal mechanisms.



a multi-step
processes with
deterministic
causation ...
can be so
complicated as
to be practically
unpredictable ”



‘Stochastic’
does not mean
‘disorganized’,
‘unpredictable’
or ‘unbiased’ ”

Stochasticity versus determinism in development: a false dichotomy?

Gene expression noise can suggest a role for stochasticity during development. But Magdalena Zernicka-Goetz and Sui Huang argue that care should be taken in data interpretation and language use before labelling developmental events as ‘random’.

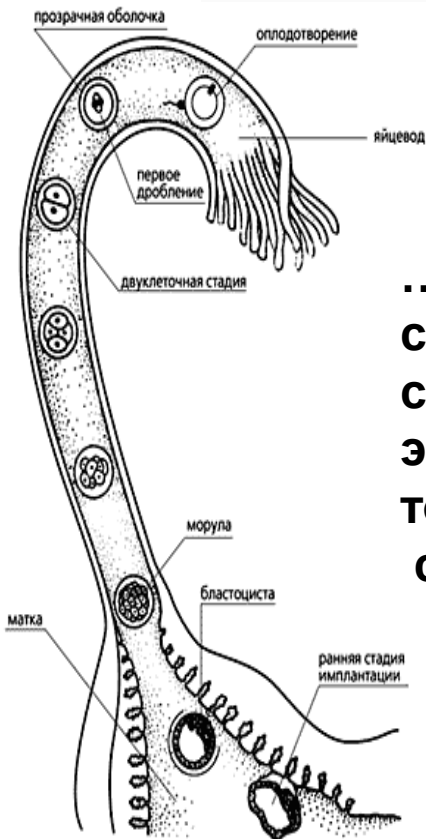
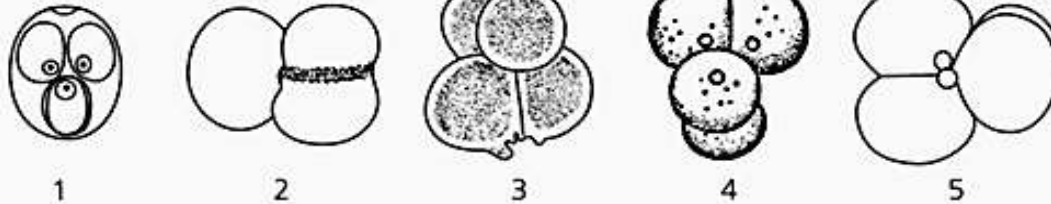
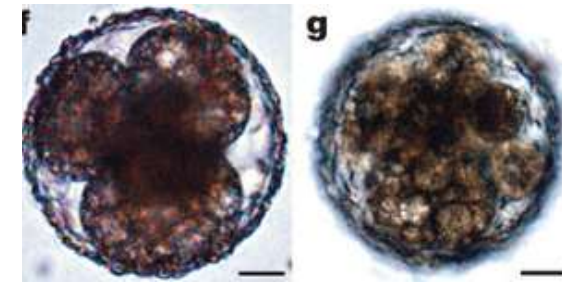
Many biologists divide animals into two groups with different developmental principles: either developmental events are ‘tightly regulated’ by molecular determinants, as in flies, or they exhibit flexibility that is attributed to randomness (stochasticity¹), as in mammals. Recently there has been renewed interest in ‘gene expression noise’, and it is now cited in support of a stochastic view of mammalian development. However, can we really distinguish lawful regulatory action, which is ultimately necessary for ordered development, from lawless stochastic processes,

trophectoderm (TE) cell. Like many binary cell fate decisions, it is controlled by a pair of mutually repressive transcription factors: CDX2 promotes a TE fate and OCT4 promotes an ICM fate⁶. The metastable ‘undecided’ state of bipotent precursors is maintained by balanced expression of these factors. Small perturbations can tilt the balance⁷, and an imbalance can self-amplify by feedback loops until the stable expression pattern of a committed fate is reached. Dynamical systems theory of such regulatory circuits accommodates a stochastic component.

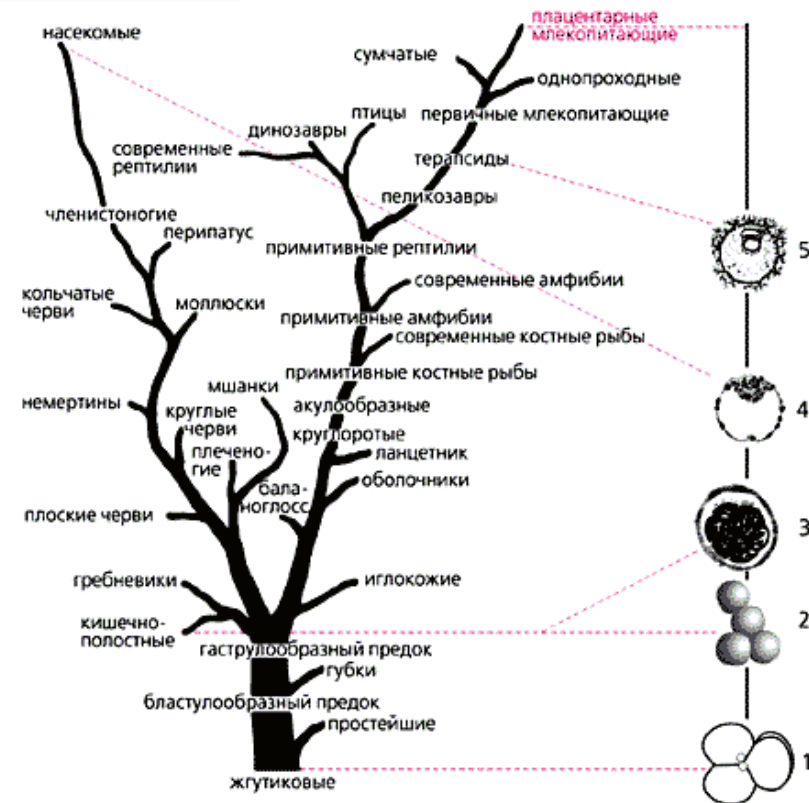
особенности дробления у млекопитающих

Trichoplax adhaerens

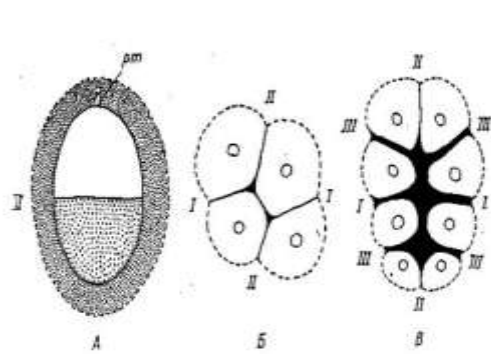
Палинтомический крест...



.... как нечто,
связанное
с глубокой
эмбрионизацией,
то есть – фактически –
с паразитизмом

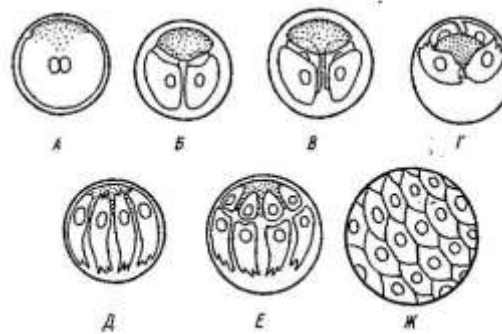


Эквивифинальность развития при обилии частных вариаций самого процесса

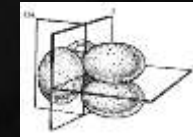
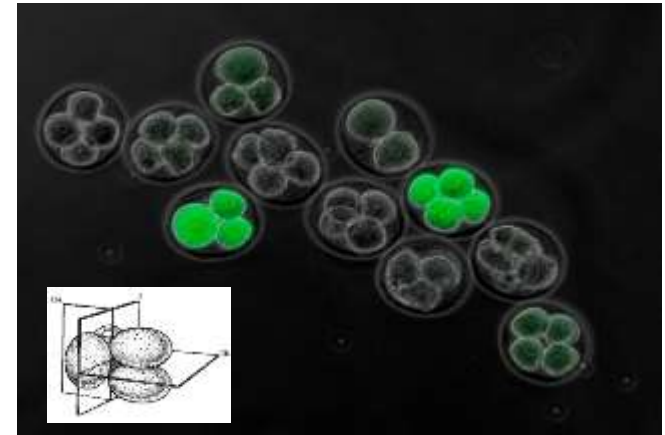


Начальные стадии дробления Оvipара (по Ивановой-Канзас)

А – бластоциста до начала дробления, Б и В – стадии 4 и 8 бластомеров. I-III – плоскости 1, 2 и 3-го деления, рт – редукционное тело.

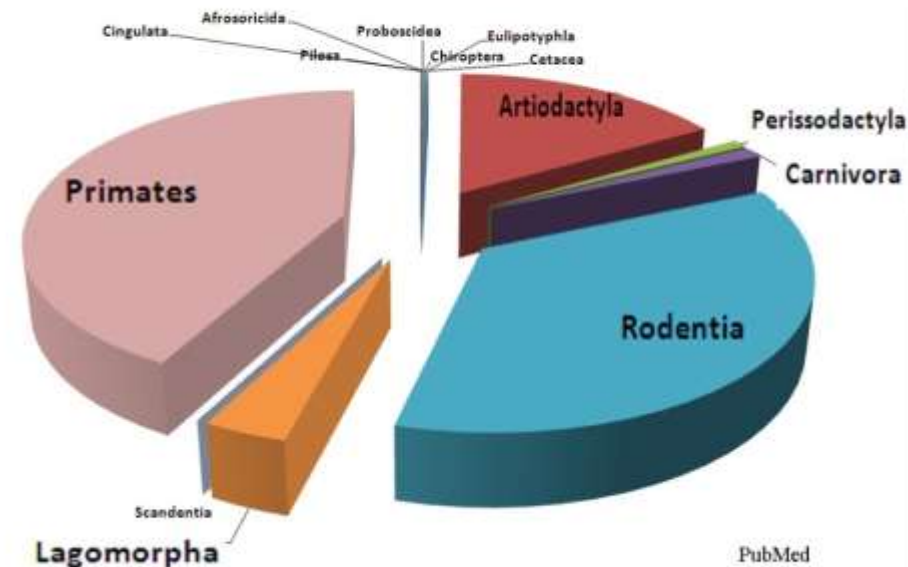


Дробление сумчатой мыши *Antechinus* (по Ивановой-Канзас)



- выброс желтка у непарнокопытных;
- неравномерное дробление у овцы;
- облигатная полиэмбриония у броненосцев;
- розеткообразные плоские 8-кл эмбрионы у крыс;
- элонгация бластоцисты у парнокопытных и у хищных;
- эмбриональная диапауза у хищных, копытных, ластоногих и др.;
- гастроуляция под блестящей оболочкой у зайцеобразных и кунцеобразных
- и т.д.

Изученность ранних стадий развития в основных отрядах млекопитающих



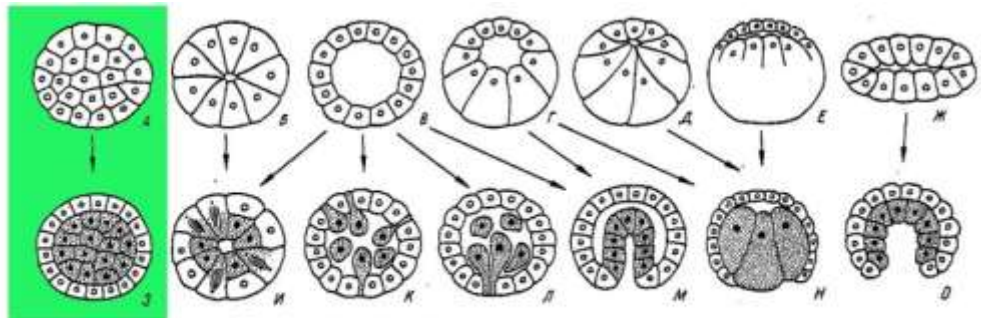
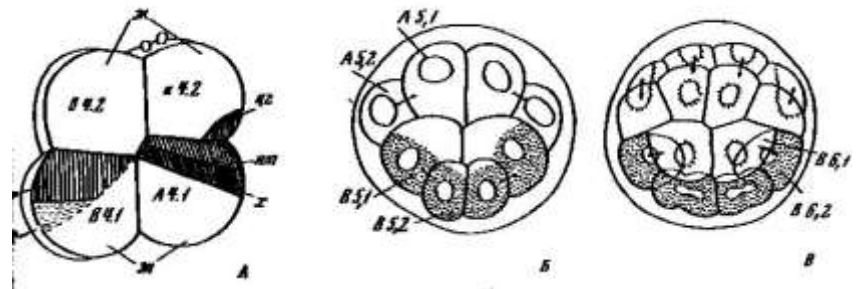
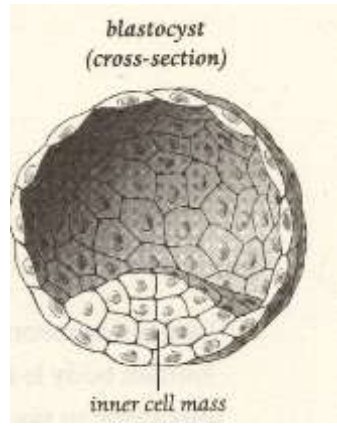
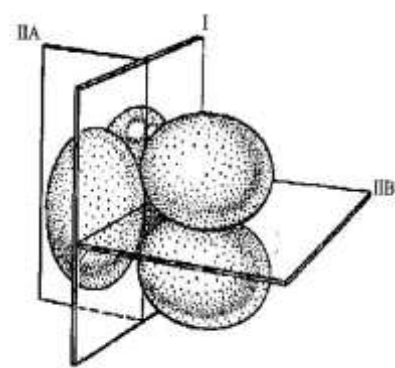
26 013 публикаций

PubMed
1990-2012
cleavage, blastocyst

Эволюционный парадокс

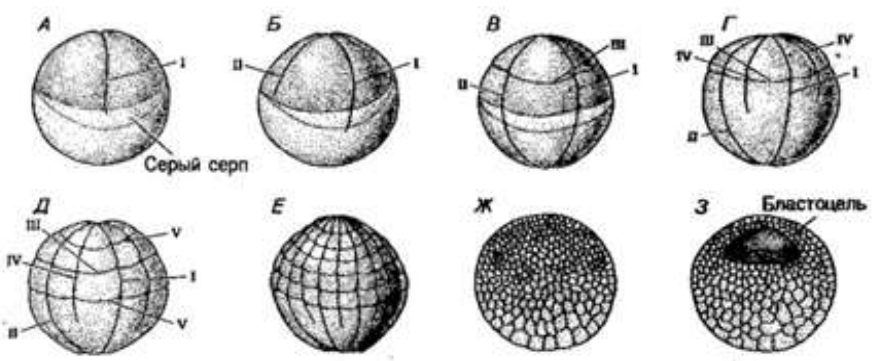
особенности дробления у млекопитающих

Классификация типов дробления			
Тип дробления	Тип яиц по количеству и распределению желтка	Симметрия дробления	Типичные представители
Голоблестчатое (полное дробление)	Изоситальные (однотелитальные) (однородные желточные включения равномерно распределены равномерно)	Радialное	Иглоколки, ланцетник
	Протоситальные асимметричные	Спиральное	Большинство моллюсков, плоских, круглых и кольчатых червей
Мероблестчатое (частичное дробление)	Мезотелитальные (умеренно телоситальные)	Билатеральное	Асцидии
		Асимметричное	Млекопитающие
	Телоситальные (плотное скопление желтка у одного полюса яйца)	Радialное	Амфибии
	Центротелитальные (желток сосредоточен в центре яйца)	Билатеральное	Головоногие моллюски
		Дискотелальное (билатеральное)	Рыбы, рептилии, птицы
		Поворотное	Большинство членистоногих

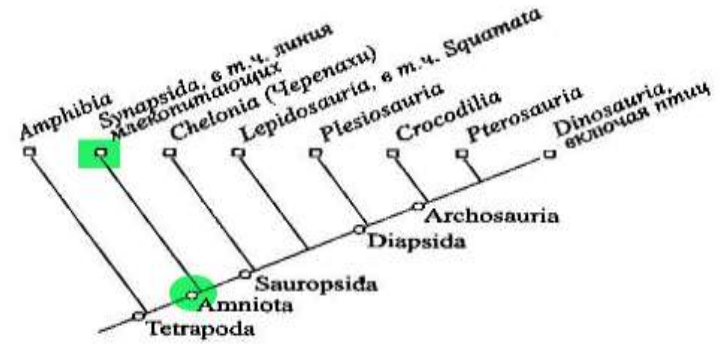


Типы бластул при полном дроблении и связанные с ними типы гаструляции (схема).
А – равномерная морула, В – стерробластула, В – равномерная цитобластула, Г – неравномерная цитобластула, Д – неравномерная стерробластула, Е – дискобластула, Ж – плакула, З – морула, И – морула, К – клеточная дилатация, Л – мультиполлярная морула, М – мультиполлярная морула, Н – мультиполлярная морула, О – мультиполлярная морула. Эпигастрия отмечена пунктиром.
(по Ивановой-Кантас)

асцидия



лягушка

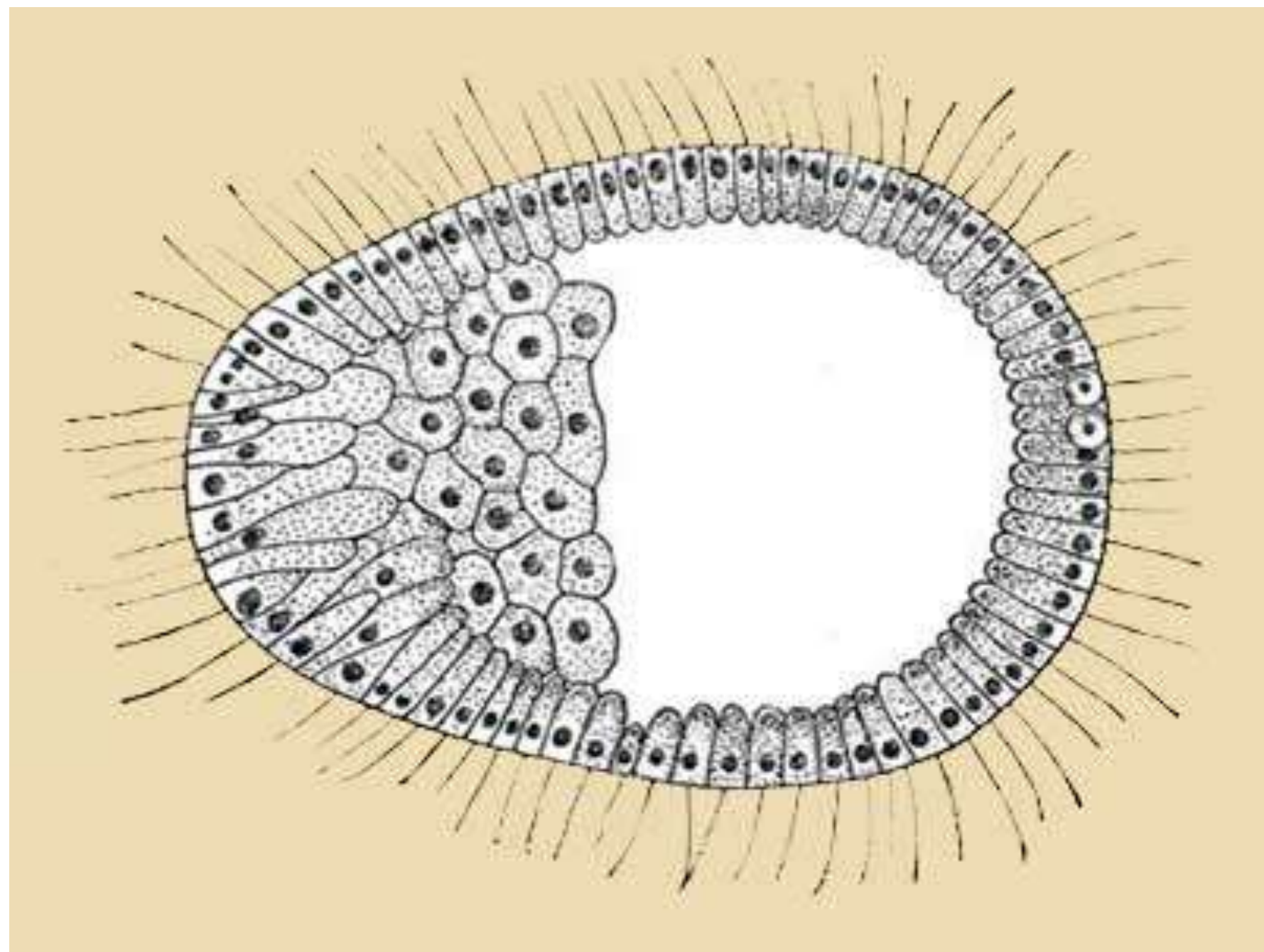


Кладогрaмма Amniota, основанная на признаках современных и ископаемых видов (по: Wilkins, 2002).

Многоклеточность – это не только и не столько тривиальное увеличение числа клеток и числа типов клеток, составляющих организм.

ЭТО

- Разделение однородной группы клеток на **соматический и генеративный** компартменты
- **Морфо-функциональная неоднородность** соматического компартмента
- ***Клеточные ансамбли** – устойчивые скопления клеток в виде паренхимы и/или напряжённого эпителиального пласта*
- Пространственное определение и закрепление клеточной неоднородности через установление **полярности и осей**
- Возникновение **симметрии**
или нарушение симметрии, или *понижение рода симметрии*
(шар – тор – двойной тор - ...)





гребневик