

## ПРОГРАММА КУРСА «БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ» (3-ий курс)

### ПРЕДМЕТ И МЕТОДЫ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ

Эмбриология как наука о процессах и причинных механизмах индивидуального развития. Дифференциация клеток, тканей и зародыша в целом - центральная проблема биологии развития. Описательная, эволюционная и экспериментальная эмбриология. Фундаментальные составляющие процесса индивидуального развития: клеточная репродукция, клеточная дифференциация и морфогенез. Молекулярно-генетические основы роста, дифференциации и морфогенеза - фундаментальные проблемы биологии развития. Специфика индивидуального развития: структурная и функциональная интеграция молекулярных, клеточных и тканевых процессов в пространстве и времени. Ациклический характер онтогенеза. Универсальность и эволюционный консерватизм молекулярно-генетических систем управления развитием.

Основные методологические подходы в биологии развития: утрата функции (loss of function), приобретение функции (gain of function), прослеживание судьбы (tracing, cell lineage). Экстирпация частей или их умерщвление, трансплантация, эксплантация, диссоциация-реагрегация. Методы маркировки клеток. Ингибиторный анализ. Методы воздействия на генетический аппарат: подавление экспрессии генов, получение и исследование мутантных форм. Методы гибридизации нуклеиновых кислот.

### ТЕОРИИ РАЗВИТИЯ

Эпигенез и преформизм. Наивный преформизм - овизм (Бонне), анималькулизм (Левенгук). Теория вложения. Кризис преформизма в связи с разработкой проблем сравнительной эмбриологии, регенерации, экспериментальной тератологии и генетики. Эпигенетические теории развития. Каспар Фридрих Вольф: исследование эмбрионального развития птиц. Понятие о «существенной силе». Блюменбах: «движущая сила развития».

**Принципы анализа движущих сил эмбриогенеза.** Финалистический (целевой) подход (Аристотель). Типологический подход Бэра: закон эмбриональной дивергенции, закон зародышевого сходства. Исторический подход. Филогенез и онтогенез. Каузально аналитический подход. Исследование непосредственных материальных причин развития: роль ядра, цитоплазмы, межклеточных взаимодействий, различных физических и химических факторов.

### **Эволюционная эмбриология.**

Сравнительно-эмбриологические исследования. Становление эволюционной эмбриологии, исследования А.О.Ковалевского и И.И.Мечникова. Биогенетический закон Мюллера - Геккеля. Теория происхождения многоклеточных животных. Теория филэмбриогенезов А.Н.Северцова. Ограниченность классической эволюционной эмбриологии.

**Экспериментальная эмбриология.** Роль цитоплазмы в детерминации свойств и клеток зародыша. Представление о зиготе как специализированной клетке с особым пространственным распределением веществ, детерминирующих развитие зачатков (Гис, 1874). Теория зародышевой плазмы Августа Вейсмана. Представление об идиоплазме и неравномерном распределении ядерных детерминант по хромосомам при дроблении яйца. Соматические и половые клетки. Принципи-

альная невозможность наследования признаков, приобретенных соматическими клетками. Мозаичность развивающегося зародыша. Исследования Вильгельма Ру. Ганс Дриш и доказательства равнонаследственности делений дробления. Представление об эмбриональной регуляции.

## ТЕОРИЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ КАК ОСНОВЫ ПРОЦЕССОВ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Современные представления о роли наследственного аппарата в процессах дифференциации. Дифференциация и необратимые изменения генома: элиминация хромосом у *Diptera*, диминуция хроматина у аскарид, амплификация генов, рекомбинация ДНК. Свидетельства неизменности генома в ходе детерминации и дифференциации зачатков. Онтогенетическая и экспериментальная трансдифференциация (регенерация хрусталика). Клонирование животных и растений: Опыты на амфибиях - исследования Бриггса и Кинга на *Rana pipiens* и Гердона на *Xenopus laevis*, клонирование растительных организмов и млекопитающих.

Избирательная экспрессия генов во времени и пространстве - основа индивидуального развития. Представления Моргана о последовательном включении генов. Генные каскады. Современные представления о сложных регуляторных сетях взаимодействия генов как предпосылке самоорганизации (синергетики). Факторы регуляции активности генома: внутренние (цитоплазматические детерминанты яйца), внешние (сигнальные молекулы). Транскрипционные факторы: индуцируемые, конститутивные, комплексные. Сигналинг. Факторы роста, гормоны. Рецепторы внешних сигналов - мембранные рецепторы, цитоплазматические или ядерные рецепторы.

Многоступенчатый характер регуляции экспрессии генов (транскрипционный, посттранскрипционный, посттрансляционный уровни регуляции). Эухроматин. Гетерохроматин. Механизмы «глушения» (silencing mechanisms). PcG белки (Polycomb Group). Метилирование генов.

## ГАМЕТОГЕНЕЗ

Эпигенетический и преформационный способ формирования линии половых клеток на примере кишечнополостных, нематод, насекомых и позвоночных. Молекулярные маркеры линии половых клеток. Механизмы миграция ППК. Факторы подавления дифференцировки ППК на этапе миграции и поддержание самообновления стволовой популяции в гонаде.

Видоизменение ядерного аппарата гамет, связанное с редукцией числа хромосом и рекомбинацией. Мейоз. Кроссинговер. Нарушения мейоза и хромосомные aberrации.

**Сперматогенез.** Периодизация сперматогенеза. Сперматогонии. Первичные и вторичные сперматоциты. Спермиогенез. Цитологические характеристики спермиев. Разнообразие форм спермиев (типичные и атипические спермии). Канальцево-цистный и канальцевый сперматогенез. Функции вспомогательных клеток семенника: клетки Сертоли, клетки Лейдига. Гемато-тестикулярный барьер.

**Оогенез.** Стратегия репродукции: внешние и внутренние источники энергии, необходимые для обеспечения эмбрионального развития. Сравнительно-

морфологические особенности яиц (полярность, симметрия, ооплазматическая локализация, яйцевые оболочки). Алецитальный, изолецитальный, телolecитальный и центролецитальный типы яиц. Периодизация оогенеза (миграция ППК и заселение гонады, размножение, созревание и рост, блок мейоза, овуляция). Типы оогенеза: диффузный, солитарный, полигеномный, гипертранскрипционный. Функции «трофоцитов»: синтез рРНК, иРНК, синтез нежелтковых белков. Транспорт веществ из трофоцитов. Структура и функции хромосом типа ламповых щеток. Синтез иРНК. Способы интенсификация запаса рРНК: (амплификация рибосомного гена, трансосомы). Вителлогенез, его особенности у позвоночных, насекомых и аннелид.

**Проморфология яйца.** Формирование осей яйца на примере Дрозофилы. Три группы генов материнского эффекта («передние», «задние», «терминальные» гены). Гены «передней» группы: *bicoid (bcd)*. Белок Bicoid как морфоген, образующий переднезадний градиент. Гены «задней» группы: *nanos* и другие гены, обеспечивающие транспорт и фиксацию иРНК *nanos* на будущем заднем конце яйца. Транскрипционный фактор Nanos как негативный регулятор развития головных структур (репрессор гена *hunchback*). Гены «терминальной» группы. Выработка трофоцитами *torso*-иРНК. Функция белка *Torso*. Экспрессия гена *torso-like* фолликулярными клетками на полюсах яйца. Функция генов *tailless* и *huckebein*. Дифференциация акрона и тельсона. Дифференциация дорсо-вентральной оси. Ген *dorsal*. Взаимодействие белкового фактора Gurken с рецептором клеток фолликулярного эпителия Torpedo. Супрессия генов фолликулярного эпителия, контролирующих синтез белков комплекса активации сериновых протеаз перивителлинового пространства яйца. Активация рецептора Toll на вентральной стороне зародыша. Фосфорилирование комплекса Dorsal/Cactus и высвобождение транскрипционного фактора Dorsal. Включение вентрализирующих и дорсализующих программ.

## ОПЛОДОТВОРЕНИЕ

Биологическая сущность процесса оплодотворения. Последовательные стадии процесса оплодотворения: привлечение и активация спермия, видоспецифическое связывание и слияние гамет, кариогамия, активация яйца. Факторы активации сперматозоидов: ионный баланс, осмолярность, активирующие спермии пептиды (SAP, сперакт, резакт). Капацитация спермиев млекопитающих: функции галактозилтрансферазы и поли-N-ацетиллактозамина.

Акрсомная реакция спермиев морского ежа. Образование акросомной нити. Биндин и его рецепторы. Роль ионного баланса в акросомной реакции. Акрсомная реакция спермиев млекопитающих. Роль *zona pellucida* яйца в закоривании сперматозоида. Роль G-белка и фосфолипазы C в акросомной реакции. Слияние плазматических мембран гамет: фузогенные белки. Активация ооцита. Деполяризация яйца и быстрый блок полиспермии. Механизмы высвобождения ионов кальция. Экзоцитоз кортикальных гранул. Факторы медленного блока полиспермии. Условия возобновления синтеза ДНК и стимуляции белкового синтеза. Формирование мужского пронуклеуса.

## ДРОБЛЕНИЕ И БЛАСТУЛА

Биологические функции процесса дробления (становление многоклеточности, нормализация ядерно-цитоплазматического отношения, ооплазматическая сегрегация). Типы дробления: голобластическое, меробластическое, абластиче-

ское/поверхностное; радиальное, спиральное, билатеральное, ротационное и неупорядоченное, или анархическое; синхронное и асинхронное дробление. Факторы, определяющие пространственную организацию делений дробления. Желток. Роль микротрубочек и микрофиламентов в процессах дробления. Кариокинез и цитокинез. Дробление как палинтомиический процесс. Палинтомия и монотомия. Особенности клеточного цикла в период дробления. Циклины, MPF. Разнообразие форм бластул: целобластула, морула, стерробластула, дискобластула, перибластула.

Ядерно-цитоплазматическое отношение. Точка перехода на стадии средней бластулы (МВТ- point).

## ГАСТРУЛЯЦИЯ

Представление о гастрюляции как о морфогенетических перемещениях клеток и клеточных пластов, в результате которых формируется общий план строения зародыша и происходит пространственное обособление зачатков. Типы морфогенетических движений (инвагинация, инволюция, ингрессия, деламинация, эпиболия, конвергентное вытяжение, реаранжировка клеток). Зародышевые листки. Проспективные карты зачатков, методы определения судьбы клеток.

## ООПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ СЕГРЕГАЦИЯ

Цитоплазматическая локализация. Понятие об автономной детерминации. Клеточные клоны, клеточные родословные. Экспериментальные доказательства цитоплазматической локализации: опыты по изоляции или удалению бластомеров, по удалению полярной лопасти. Клеточные линии у червей, моллюсков, круглых червей, асцидий.

## ЭМБРИОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

Явление эмбриональной регуляции как свидетельство равнонаследственных делений дробления и неизменности генома в эмбриогенезе. Облигатная и факультативная полиэмбриония. Примеры полиэмбрионии у насекомых и млекопитающих. Однояйцевые близнецы. Регулятивность в развитии млекопитающих. Конструирование зародышей мыши из клеток ВКМ.

## ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ

История открытия. Сущность явления. Исследование межклеточных взаимодействий в раннем развитии амфибий. «Организатор» Шпемана. Спецификация мезодермы в раннем эмбриогенезе амфибий. Центр Ньюкупа. Роль белков *Disheveled*, *VegT*. Особенности детерминация мезодермы и энтодермы у *Danio*. Специфическая экспрессия генов в области организатора. Гены, контролирующие образование ядерных факторов организатора: *goosecoid*, *Siamois*. Гены, контролирующие синтез секретируемых факторов организатора: *chordin*, *noggin*, *follistatin* и др. белки - антагонисты BMP. Факторы вентрализации и дорсализации (BMP,  $\beta$ -катенин). Нейральная индукции: «ингибирование ингибитора». «Организаторы» у зародышей позвоночных.

Роль факторов роста в процессах эмбриональной индукции (FGF, TGF- $\beta$ ). Эволюционный консерватизм путей проведения сигнала на примере Wnt/ $\beta$ -катенинового сигналинга и детерминации эпидермиса и нервной ткани. «Вто-

ричная» эмбриональная индукция. Формирование дорсовентрального паттерна нервной трубки (роль гена *Sonic hedgehog*). Эпителио-мезенхимные взаимодействия, региональные различия индукционных потенциалов мезенхимы.

Межклеточная индукция. Индукция матки у нематоды *Caenorhabditis elegans*. Контактная индукция эпидермальной дифференциации на основе взаимодействия белков Delta и Notch у Дрозофилы. Индуктивные взаимодействия у зародышей моллюсков и морского ежа.

### МОРФОГЕНЕЗ

**Теория позиционной информации** Пространственная организация развития. Моделирование морфогенеза. Модель французского флага Вольперта. Морфогены. Интеркалярная регенерация. Клеточная и субстратная адгезия. Молекулы клеточной адгезии. МКА как фактор эпителиального морфогенеза.

**Сегментация тела насекомых** на примере Дрозофилы. Иерархия генов, контролирующая сегментацию тела: гены материнского эффекта, гены сегментации и гомеозисные гены. Гены сегментации: гены пробела (*gap genes*) - *hunchback*, *Krüppel*, *knirps*, *tailless*. Гены парности (*pair-rule genes*): первичные (*hairy*, *even-skipped*), вторичные (*fushi tarazu*, *paired*, *odd-skipped*). Структура промотора гена *even-skipped*, обеспечивающая точную пространственную локализацию экспрессии этого гена. Зависимость экспрессии генов полярности *engrailed* и *wingless* от экспрессии генов парности. Гомеозисные гены. Антеннапедиа-комплекс и биторакс-комплекс. Колинеарность экспрессии. Структура гомеозисных генов: гомеобокс и гомеодомен.

**Разметка тела зародыша по переднезадней оси.** Гипотеза Нох-кода.

**Развитие конечности у высших позвоночных.** Поле конечности. Спецификация положения полей передних и задних конечностей. Роль генов *FGF-10*, *FGF-8*, *Tbx5* и *Tbx4*. Детерминация дорсо-вентральной оси: роль генов *Wnt7a*. Детерминация области апикального эктодермального гребня. Роль АЭГ: мутации; опыты по удалению и трансплантации дополнительного АЭГ. Детерминация проксимо-дистальной оси (транзитная зона или зона «прогресса», модель двойных градиентов). Детерминация переднезадней оси. Зона поляризующей активности. Роль генов *Shh*, *BMP*. Возможные функции ретиноевой кислоты в регионализации зачатка конечности. Роль кластерных *HoxA* и *HoxD* генов в формировании паттерна конечности. Роль апоптоза в развитии конечности.

**Формирование лево-правой асимметрии** в развитии позвоночных. *Situs inversus*. Становление лево-правой асимметрии у *Xenopus*. Лево-правая асимметрия у куриного эмбриона, зародышей рыб и млекопитающих. Роль генов *Shh*, *BMP*, *Nodal*, *Lefty* и *Pitx2*.

### РЕГЕНЕРАЦИЯ.

Общая характеристика. Классификация. Клеточные процессы и морфогенез. Эпителизация (механизм эпителизации, роль раневого эпидермиса). Клеточные

источники на примере регенерации планарий, конечности и глаза Хвостатых амфибий. Регенерационная бластема. «Позиционная память» регенерационной бластемы. Роль нервной системы. Эксперименты с ретиноевой кислотой и их интерпретация; регенерационные территории и роль гомеозисных генов.

#### БЕСПОЛОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ

Общая характеристика. Биологические функции (увеличение численности, средство расселения, переживание неблагоприятных условий, регуляция размеров). Классификация, полифилетическое происхождение.

#### ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛА

Формы репродукции животных. Половая репродукция - главное направление эволюции. Изогамия и гетерогамия. Гонохоризм и гермафродитизм. Виды гермафродитизма (синхронный, последовательный: протогинный и протандрический). Первичная и вторичная детерминация пола.

**Разнообразие механизмов детерминации пола.** Гетерохромосомный тип детерминации пола. Половые хромосомы. Гаплодиплоидный механизм детерминации пола. Зависимое от факторов среды (фенотипическое) определение пола (эхиуриды, аннелиды, рыбы, рептилии).

Принципиальная схема молекулярно-генетических механизмов гетерохромосомного определения пола у Дрозофилы (гены, репрезентирующие X хромосому и автосомы; генный каскад *sex-lethal*, *transformer*, *doublesex*; роль альтернативного сплайсинга), *Caenorhabditis elegans* (роль гена *sex-1*, генный каскад *xol-1*, *sdc*, *her-1*, *tra2*, *fem*, *tra1*) и млекопитающих (функция генов *SRY* и *DAX1*, *Sox9*, *β-catenin*, детерминация пола гонады, роль гормональных факторов).

#### РАННИЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ МОДЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ

##### Развитие Spiralia

Ооплазматическая сегрегация. Полярная лопасть. Особенности спирального типа дробления. Гомоквадрантное и гетероквадрантное дробление. Дексиотропность и леотропность. МАРК и становление дорсо-вентральной оси. Гастрюляция и формирование трохофорной личинки. Метатрохофора. Нектохета.

##### Развитие нематод

Гонада и механизмы поддержания популяции стволовых половых клеток или перехода к мейозу. Ооплазматическая сегрегация по типу «вскипание цитоплазмы». Дробление. Линии клеток. Механизмы сегрегации линий соматических и половых клеток. Материнские и зиготические факторы. Гастрюляция.

##### Развитие Дрозофилы

Строение яйца. Становление осей. Дробление. Синцитиальная и клеточная blastoderma. Формирование зародышевой полоски. Презумптивная карта зачатков. Гастрюляция. Бластокинез. Сегментация. Имагинальные диски. Метаморфоз.

##### Развитие иглокожих (морской еж, морская звезда)

Овуляции, оплодотворение, дробление, судьба бластомеров (16-64 -клеточные стадии). Опыты Герстадиуса на дробящихся яйцах морского ежа. Начальные этапы реализации молекулярной программы развития: генетическая регуляторная сеть становления линии скелетогенной мезенхимы, материнские факторы, индукция энтодермы. МВТ, выселение первичной мезенхимы. Гастрюляция (3 этапа формирования архентерона; начало инвагинации и модель биметаллической пластинки, конвергентное вытяжение архентерона, псевдоподиальная активность вторичной мезенхимы), образование рта, отделение целомической мезодермы. Судьба зачатков, личинки иглокожих

### **Развитие асцидий**

Жизненный цикл. Строение яйца и яйцевые оболочки. Ооплазматическая сегрегация, миоплазма. Дробление. Становление клеточных линий: роль материнских факторов и факторов роста фибробластов. Дифференциация мышц хвоста личинки асцидий. Гастрюляция. Личиночный морфогенез, метаморфоз.

### **Развитие *Danio rerio* (Данио, zebrafish)**

Данио как модельный объект биологии развития. Меробластическое дробление. МВТ, образование желточного синцития, обособление кроющего слоя бластодермы и глубоких клеток. Карта зачатков на стадии средней бластулы; начало гастрюляции - эпиболия бластодермы, обособление зародышевых листков; клеточные движения (формирование зародышевого кольца и зародышевого щитка путем радиальных и медиолатеральных интеркаляций, образование гипобласта путем инволюции и/или ингрессии, обособление хордомезодермы и энтодермы); нейральный киль и закладка ЦНС; формирование осевого комплекса зачатков. Желточный мешок.

### **Развитие зародыша лягушки.**

Строение яйца. Оплодотворение и возникновение билатеральной симметрии (дорсализация); оси симметрии, кортикальная ротация. Дробление (цитологическая характеристика), бластула, МВТ. Гастрюляция. Карта презумптивных зачатков, клеточные механизмы погружения и прогрессивной сегрегации зародышевых листков и осевых структур, формирование личинки. Молекулярные аспекты развития (см. выше).

### **Развитие зародыша курицы**

Строение ооцита, оплодотворение, формирование яйцевых оболочек. Дробление и образование бластодермы и подзародышевой полости, возникновение передне-задней и дорсо-вентральной осей симметрии, Келлеров серп, герминативный серп, образование гипобласта (инвазия клеток задней маргинальной зоны бластодермы, миграция и объединение с полиинвагинационными островками). Клеточные перемещения и формирование зародышевого щитка, первичной полоски и первичной бороздки. Карта презумптивных зачатков и ее динамика при формировании полоски. Гастрюляция, фазы гастрюляции: 1) ингрессия и обособление кишечной энтодермы и мезодермы, 2) инволюция материала хорды и перемещение Гензеновского узелка. Нейруляция, формирование осевого комплекса зачатков, формирование складок, обособляющих зародыш от желтка, эпиболия. Провизорные органы: строение и функции амниона, хориона, аллантаоиса, желточного мешка. Экзоцелом. Хорио-аллантаоис.

### **Развитие млекопитающих**

Общая характеристика раннего развития. Особенности оогенеза (происхождение ППК, миграция, заселение гонад, развитие фолликулов, созревание, рост и явление импринтинга, овуляция, гормональный контроль). Особенности дробления, первичная дифференцировка клеток и формирование бластоцисты. Начало гаструляции (выселение клеток гипобласта, образование амниотической полости и сегрегация эпибласта зародыша), имплантация (строение стенки матки, адгезия и инвазия зародышей, функции трофэктодермы). Молекулярные механизмы сегрегации зародышевых и внезародышевых клеточных линий. Cdx2, Nanog, Oct4. Обособление зародышевых листков и формирование осевого комплекса зачатков, перспективная карта зачатков, морфогенетические перемещения клеток в области первичной полоски и узелка, 2 фазы гаструляции. Внезародышевые органы.

### **ОРГАНОГЕНЕЗ ПОЗВОНОЧНЫХ**

**Нейруляция** (механизм первичной и вторичной нейруляции, последовательные стадии, индукционные взаимодействия, дифференцировка нервной трубки). Нервный гребень (происхождение и судьба клеток нервного гребня, основные домены нервного гребня и их производные).

**Развитие глаза позвоночных** (морфология, детерминация и индукция).

### **Эпидермис и его производные у позвоночных.**

**Дифференциация мезодермы** (5 основных областей мезодермы и их морфофункциональное значение: хордомезодерма, дорсальная мезодерма сомитов, промежуточная мезодерма, мезодерма боковых пластинок, головная мезенхима). Факторы спецификации различных типов мезодермы. Сомитогенез, Notch сигналинг, эпителио-мезенхимные превращения при дифференцировке сомита.

**Развитие сердца**, его билатеральное происхождение. Ангиогенез и развитие сосудов.

### **Развитие мочеполовой системы**

**Производные энтодермы** (глотка и дифференцировка пищеварительной и дыхательной трубок, судьба жаберных карманов у высших позвоночных)

**Провизорные органы.** Многообразие форм и многократное возникновение провизорных органов в процессе эволюции. Биологическая роль провизорных органов. Провизорные внезародышевые органы Amniota, их формирование, морфология и функции

### **Экологические и эволюционные аспекты развития**

Влияние различных факторов на развитие.

Дупликация генов, изменения в регуляторных зонах, консервативность генетических регуляторных сетей.



Рекомендуемые материалы и литература:

Презентации и конспекты курса

Учебники:

А. К. Дондуа «БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ»(в двух томах), 2005 г.

С. Гилберт «Биология развития»

S. Gilbert. Developmental biology, 10th ed., 2013