

Б.Албертс
Д.Брей
Дж.Льюис
М.Рэфф
К.Робертс
Дж.Уотсон

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

В ПЯТИ ТОМАХ

4

Перевод с английского
канд. биол. наук В. П. Коржа,
Т. Д. Кузьминой
и канд. биол. наук Н. В. Сониной

под редакцией
чл.-корр. АН СССР Г. П. Георгиева



Москва

«Мир»

1987

ББК 28.070
М75
УДК 576.3/.7

Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К.,
Уотсон Дж.

М75 **Молекулярная биология клетки: В 5-и томах. Т. 4. Пер.**
с англ. – М.: Мир, 1987. 197 с., ил.

Энциклопедически полная монография, написанная учеными США и Англии, среди которых лауреат Нобелевской премии Дж. Уотсон, уже известная советским читателям по книге «Молекулярная биология гена» (М.: Мир, 1978). Четвертый том посвящен половым клеткам и оплодотворению, клеточным механизмам развития и поддержанию нормальной организации тканей.

Предназначена для биологов всех специальностей, преподавателей и студентов университетов, медицинских, педагогических и сельскохозяйственных институтов.

М $\frac{2001040000-069}{041(01)-87}$ Подл. изд. 85

ББК 28.070

Редакция литературы по биологии

© 1983 by Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis,
Martin Raff, Keith Roberts and James D. Watson

© перевод на русский язык, «Мир», 1987

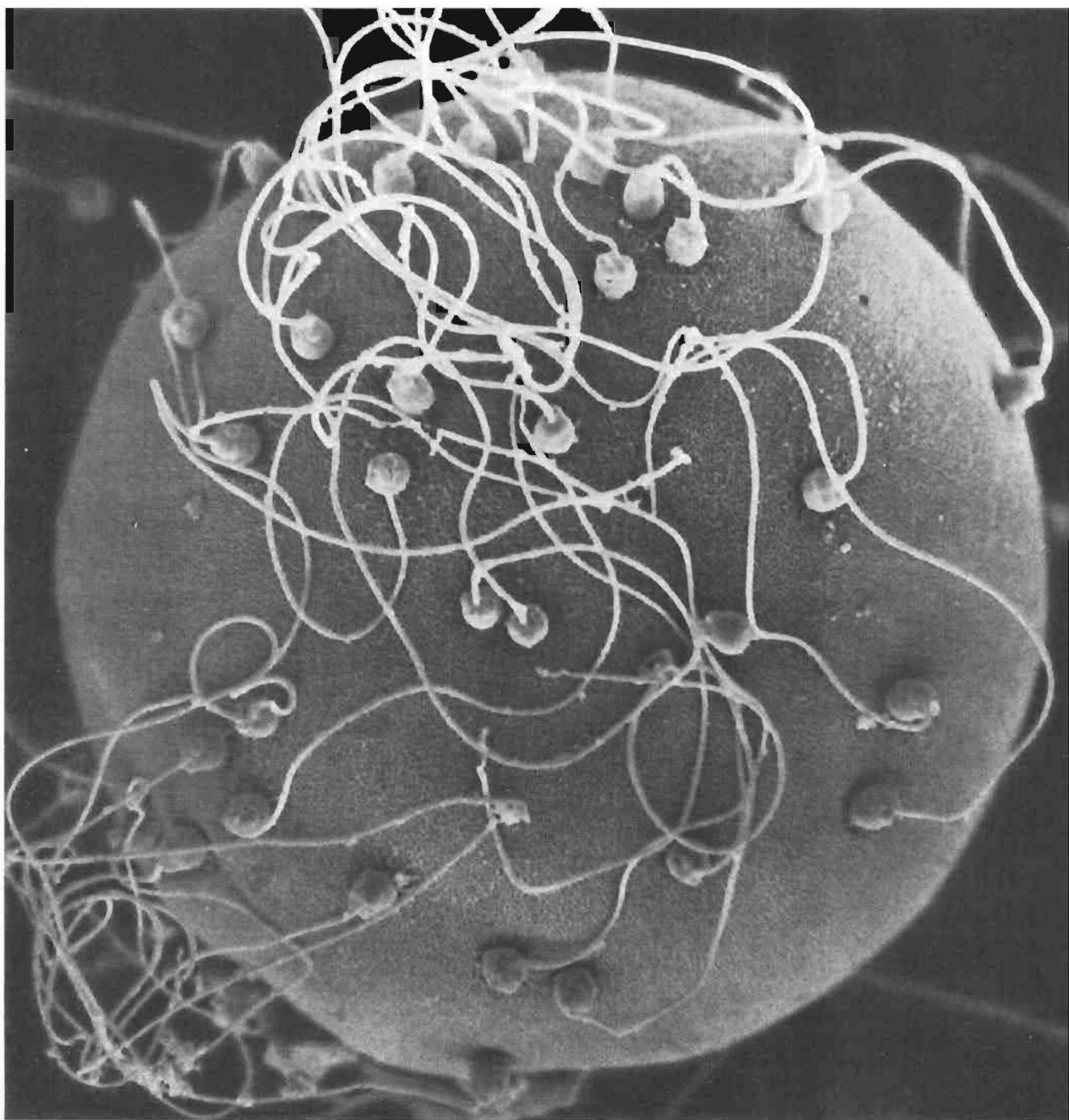


От клеток к многоклеточным организмам

14 Половые клетки
и оплодотворение

15 Клеточные механизмы
развития

16 Поддержание нормальной
организации тканей



Яйцеклетка двустворчатого моллюска с множеством спермиев, прикрепившихся к ее поверхности. Микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. (С любезного разрешения David Epel.)

Размножение возможно и без полового процесса. Например, амебы размножаются простым митотическим делением; гидра производит потомков, отпочковывая их от средней части своего тела (рис. 14-1); актинии и некоторые морские черви делятся на две половинки, каждая из которых регенерирует недостающую часть организма. Такого рода бесполое размножение – процесс весьма несложный, но он не ведет к образованию новых форм: все потомство генетически идентично родительскому организму. В отличие от этого при половом размножении происходит смешивание геномов двух разных особей данного вида, и образующиеся в результате потомки обычно генетически отличаются друг от друга и от обоих родителей. Половое размножение, приводящее к генетическому разнообразию, по-видимому, имеет большие преимущества, так как оно свойственно подавляющему большинству растений и животных. Даже у многих прокариот и одноклеточных эукариот выработалась способность к размножению половым путем. В этой главе мы познакомимся с клеточным аппаратом полового размножения; но прежде чем переходить к подробностям, мы рассмотрим причины возникновения этого аппарата и генетические последствия его функционирования.

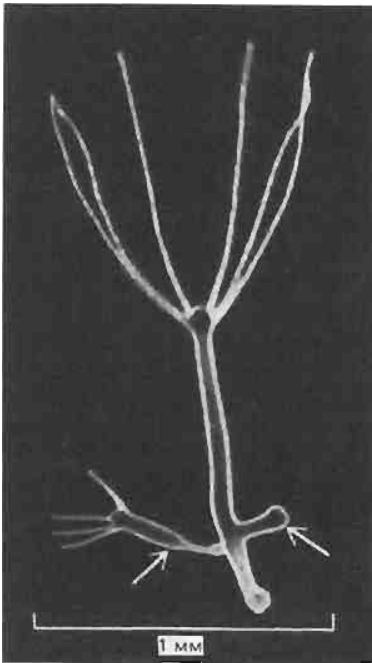


Рис. 14-1. Гидра, от которой отпочковываются две новые особи (указаны стрелками). Потомки генетически идентичны родительскому организму; они в конце концов отделяются и переходят к независимому существованию.

14.1. Преимущества полового процесса [1]

Цикл полового размножения включает чередование гаплоидных поколений клеток, каждая из которых имеет одиночный набор хромосом, с диплоидными поколениями, где клетки обладают двойным хромосомным набором. Смешивание геномов происходит благодаря слиянию двух гаплоидных клеток, из которых образуется одна диплоидная. В свою очередь новые гаплоидные клетки образуются из диплоидных в результате деления особого типа, называемого мейозом, при котором гены двойного набора заново перераспределяются между одиночными наборами (рис. 14-2). Генетическая рекомбинация хромосом в процессе мейоза приводит к тому, что каждая клетка нового гаплоидного поколения получает новое сочетание генов, происходящих частично от одной родительской клетки предыдущего гаплоидного поколения и частично от другой. Таким образом, благодаря циклам, включающим гаплоидную фазу, слияние клеток, диплоидную фазу и мейоз, распадаются старые комбинации генов и создаются новые.

14.1.1. У многоклеточных животных диплоидная фаза бывает сложной и продолжительной, а гаплоидная – простой и кратковременной

В ходе полового цикла клетки размножаются путем обычного митотического деления – чаще всего во время диплоидной фазы. Некоторые простые организмы, например дрожжи, составляют исключение: путем митоза у них размножаются только гаплоидные клетки, диплоидная же клетка, образовавшись, сразу переходит к мейозу. У таких относительно примитивных растений, как мхи и папоротники, достаточно развиты обе фазы – и гаплоид-

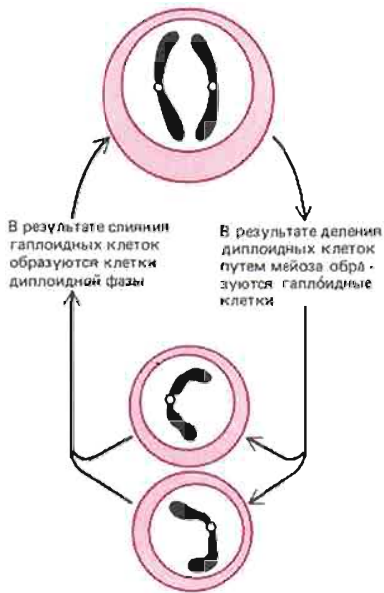


Рис. 14-2. Жизненный цикл организма, размножающегося половым способом, включает чередование диплоидного поколения клеток с гаплоидным.

ная, и диплоидная; у цветковых же растений гаплоидная фаза очень короткая и простая, тогда как диплоидная представлена длительным периодом развития и роста. Почти у всех многоклеточных животных, в том числе у всех позвоночных, гаплоидная фаза еще короче. Практически весь свой жизненный цикл они проводят в диплоидном состоянии; гаплоидные клетки живут очень недолго, они совсем не делятся и специально приспособлены для полового слияния (рис. 14-3). Как мы увидим, преобладание диплоидной фазы в жизненном цикле создало ряд важных условий, благоприятных для эволюции.

Гаплоидные клетки, приспособленные для полового слияния, называются **гаметами**. В типичном случае образуются гаметы двух типов: крупные неподвижные **яйцеклетки** (или **яйца**) и мелкие, способные передвигаться **спермии** (или **сперматозоиды**) (рис. 14-4). Во время диплоидной фазы, начинающейся сразу после слияния гамет, клетки размножаются и специализируются, образуя сложный многоклеточный организм. У большинства животных (но не растений) полезно различать клетки **зачаткового пути**, от которых берет начало следующее поколение гамет, и **соматические** клетки, образующие весь остальной организм и не оставляющие потомства. В некотором смысле соматические клетки нужны только для того, чтобы способствовать выживанию и размножению клеток зачаткового пути.

14.1.2. Половое размножение делает организмы конкурентоспособными в условиях непредсказуемой изменчивости окружающей среды

Аппарат полового размножения сложен, и средства, затрачиваемые на него, очень велики. Какие же преимущества он дает, и почему он выработался в процессе эволюции? При половом размножении родительские особи производят потомков, которые будут отличаться от них самих непредсказуемым образом, причем среди новых случайных сочетаний генов по меньшей мере

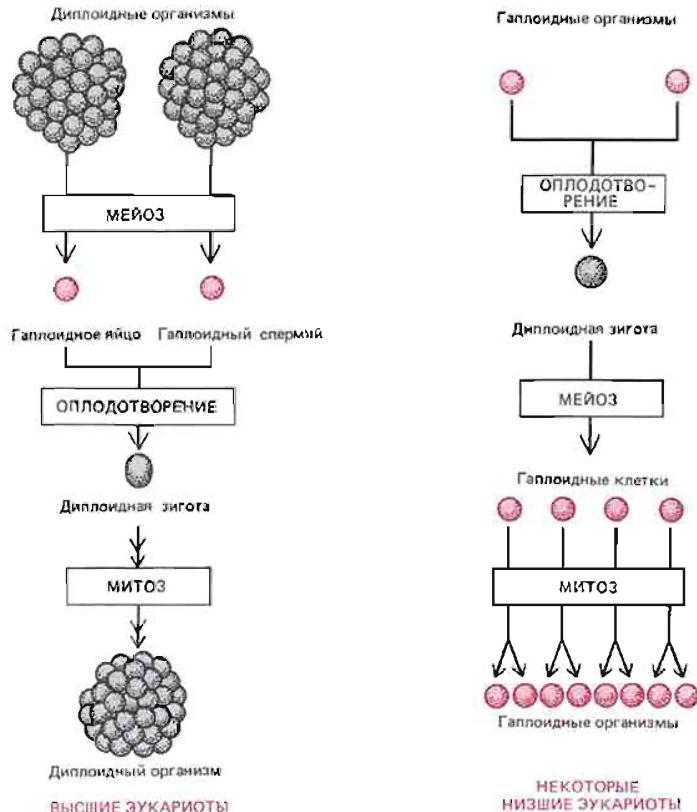
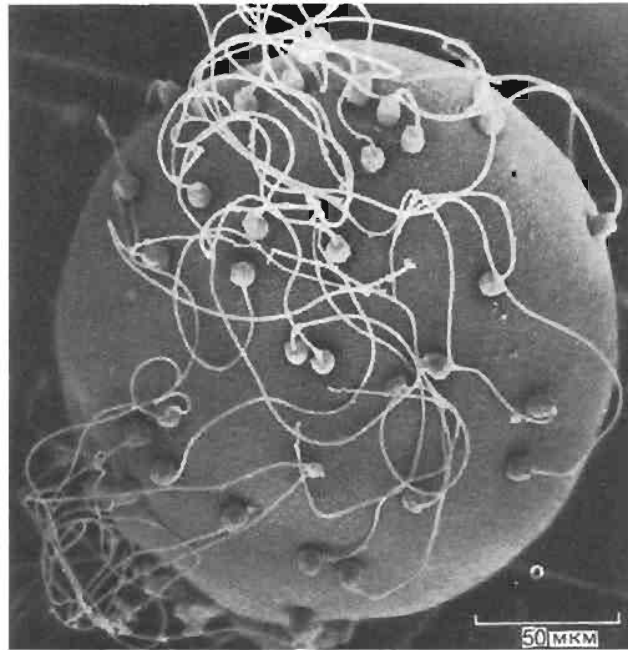


Рис. 14-3. Эта схема показывает, как размножаются в диплоидной фазе клетки высших эукариот, образуя многоклеточный организм, в котором гаплоидными становятся только гаметы. Напротив, у некоторых низших эукариот размножаются именно гаплоидные клетки, а единственной диплоидной клеткой является зигота, которая существует очень недолго после оплодотворения. Гаплоидные клетки выделены цветом.

Рис. 14-4. Яйцеклетка двустворчатого моллюска с многочисленными спермиями, прикрепившимися к ее поверхности. Микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. (С любезного разрешения David Epel.)



половина может оказаться хуже родительских генотипов. Но если это так, то почему половое размножение должно быть выгоднее бесполого, при котором потомки будут сохранять все родительские гены? Хотя для специалистов по генетике популяций этот вопрос все еще до конца не ясен, основной вывод, по-видимому, состоит в том, что перетасовка генов в процессе полового размножения способствует выживанию вида в условиях непредсказуемых изменений среды. Если родительская особь производит много потомков с самыми разнообразными комбинациями генов, имеется больше шансов на то, что хотя бы один потомок окажется хорошо приспособленным для будущих жизненных обстоятельств, какими бы они ни были.

Однако здесь не место для детального обсуждения преимуществ полового процесса. Вместо этого мы хотим сосредоточить внимание на несколько ином вопросе: допустим, какой-то вид размножается половым путем – каковы будут последствия этого для его дальнейшей длительной эволюции? Почему почти все наиболее сложные организмы в своем историческом развитии отдавали предпочтение половому размножению, а не бесполому?

14.1.3. В большой популяции половое размножение способствует закреплению благоприятных аллелей

Ход эволюции в значительной мере зависит от мутаций, которые изменяют существующие гены, образуя вместо них новые *аллели* (варианты) этих генов. Предположим, что у двух особей в некоторой популяции возникли благоприятные мутации, затрагивающие разные *генетические локусы*, а значит, и разные функции. У бесполого вида каждая из этих особей даст начало клону мутантных потомков, и два новых клона будут конкурировать до тех пор, пока один из них не одержит верх. Один из благоприятных аллелей, появившихся благодаря мутациям, будет, таким образом, распространяться, тогда как другой в конце концов исчезнет. Обе мутации одновременно не могут быть полезны для представителей данного вида, если они не возникнут последовательно в одной и той же клеточной линии; а поскольку благоприятные мутации редки, пройдет, как правило, много времени, прежде чем это случится. Напротив, у вида, размножающегося половым способом, новые полезные аллели, появившиеся благодаря мутациям в разных локусах у разных особей,

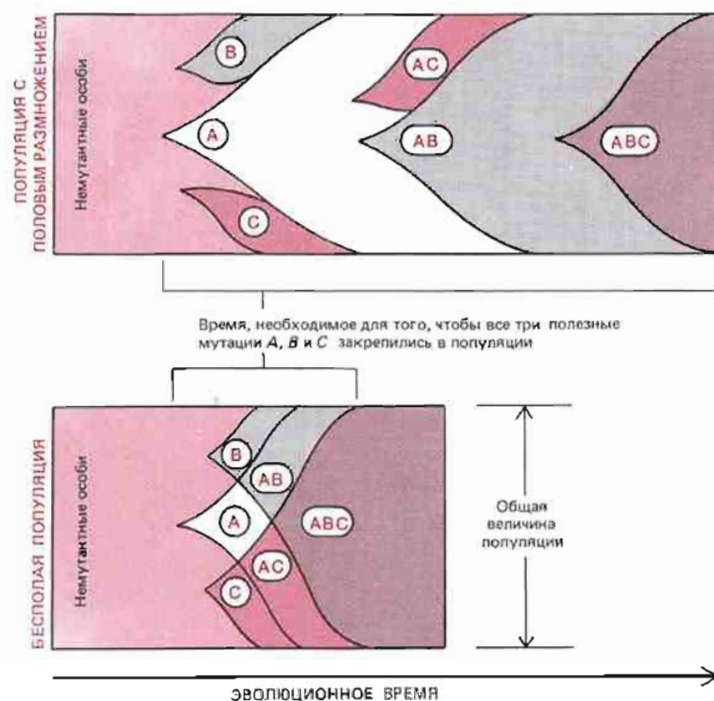


Рис. 14-5. Эта схема показывает, каким образом половое размножение способствует распространению в популяции полезных мутаций. A, B и C – три благоприятные мутации, возникшие в трех различных локусах; мутация A обеспечивает наибольшую приспособленность, но при этом лучше всего приспособлены особи, несущие одновременно все три мутации A, B и C. В бесполой популяции мутации A, B и C возникают вначале лишь у отдельных особей, и эти особи конкурируют друг с другом, а также с исходными немутантными организмами; A побеждает и закрепляется в популяции, тогда как B и C элиминируются. Особи AB не появляются до тех пор, пока у потомков A не произойдет мутация B, а особи ABC – до тех пор, пока не проявится мутация C у особи AB. В популяции с половым размножением мутации A, B и C, как и раньше, возникают независимо у различных особей, но благодаря генетической рекомбинации могут быстро образовываться гаметы AB, AC и ABC. Таким образом, в популяции одновременно распространяются все три благоприятные мутации, и она быстро приобретает генотип ABC.

могут объединяться в одном геноме в результате скрещивания и рекомбинации. Таким образом, новые благоприятные аллели, вместо того чтобы конкурировать между собой, смогут одновременно распространяться в популяции (рис. 14-5). Однако детальные расчеты показывают, что это преимущество будет значительным лишь в очень большой популяции (численностью более миллиона особей).

Однако для эволюции сложного организма требуется нечто большее, чем улучшение уже имеющихся генов: нужны новые гены для осуществления новых функций.

14.1.4. Новые гены появляются в результате дупликаций и дивергенции

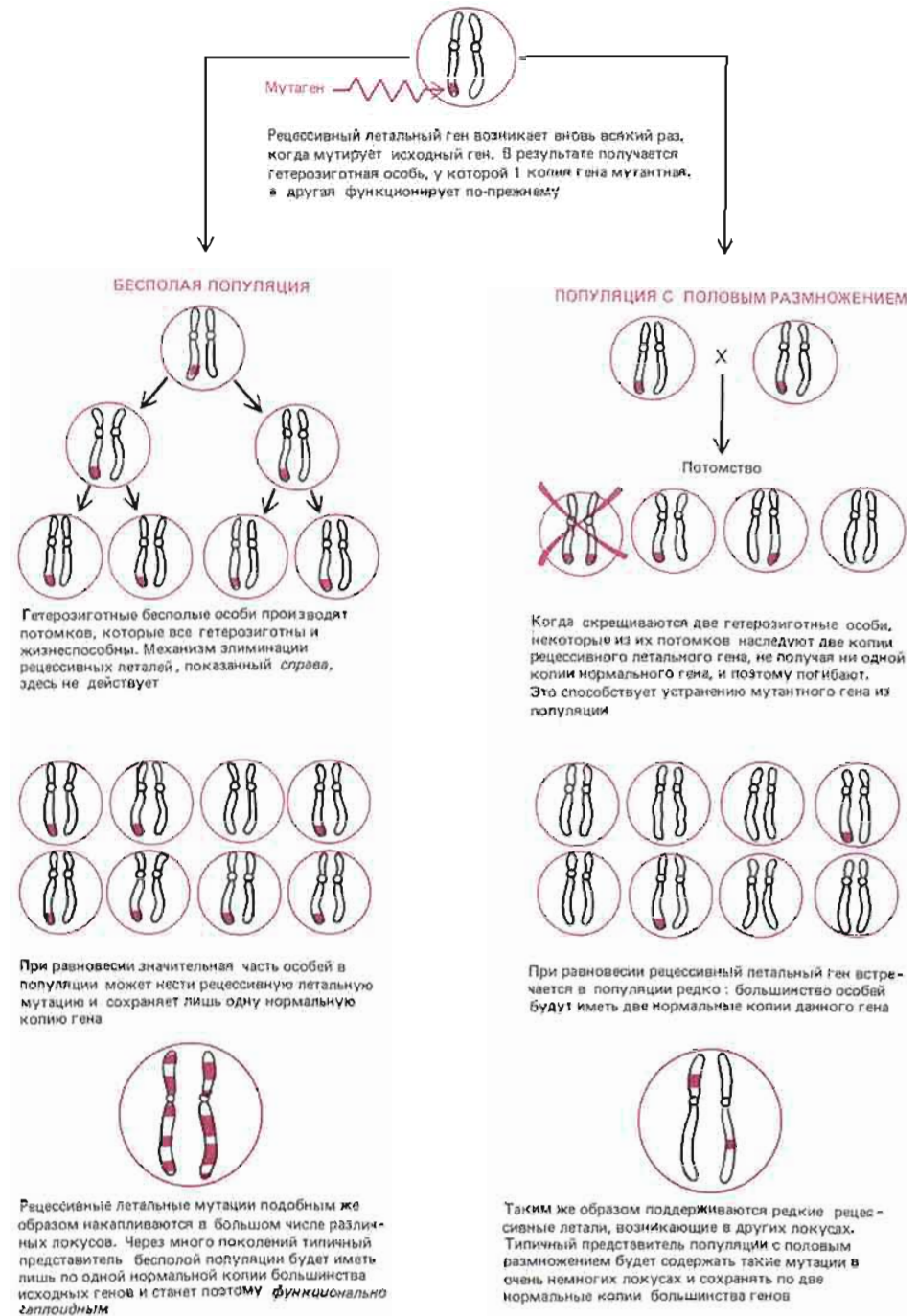
Многие белки многоклеточного животного могут быть сгруппированы в семейства – коллагены, глобины, актины, сериновые протеазы и т.п. Белки одного семейства близки как по своей функции, так и по аминокислотной последовательности. Вряд ли можно сомневаться в том, что гены белков каждого такого семейства произошли от единственного предкового гена в результате процессов *дупликации* и *дивергенции* (разд. 3.3.6). Разные члены одного семейства белков часто бывают характерны для различных тканей тела, где они выполняют аналогичные, но несколько различающиеся функции. Создание новых генов благодаря дивергенции и специализации имеющихся генов играло, очевидно, решающую роль в эволюции сложных многоклеточных организмов. Однако мы увидим, что в деталях последовательность событий у диплоидных и гаплоидных видов существенно различна. Диплоидные организмы обладают важным преимуществом: у них имеется добавочная копия каждого гена, и эта копия может мутировать и служить исходным материалом для создания чего-то нового. Гаплоидные виды не могут так же легко вступать на путь, ведущий к увеличению и усложнению генома. Чтобы механизм этих процессов стал ясен, нам нужно будет несколько подробнее рассмотреть связь между половым размножением и диплоидией.

14.1.5. Половое размножение сохраняет диплоидность у диплоидных видов [2]

У диплоидного организма имеются две копии каждого гена; однако для выживания и нормальной жизнедеятельности в большинстве случаев бывает достаточно одной копии. Мутация, нарушающая функцию жизненно важного гена, для гаплоидного организма летальна, но она может оказаться безвредной для диплоида, если затронута лишь одна из двух копий гена. Чаще всего в геномах диплоидных организмов содержится много таких *рецессивных леталей*. Однако половое размножение накладывает ограничение на их количество. Если обе родительские особи несут рецессивную летальную мутацию в одном и том же гене, их потомок может унаследовать две мутантные копии этого гена и не получить ни одной нормальной; такой организм погибнет, и вместе с ним будут утрачены мутантные копии гена. Чем больше распространены в популяции мутантный ген, тем быстрее он будет элиминироваться. В результате устанавливается равновесие между скоростью элиминации мутантного аллеля и скоростью его образования за счет новых мутаций. При равновесии мутантный аллель встречается в популяции достаточно редко (хотя и значительно чаще, чем это было бы у гаплоидного организма): подавляющее большинство особей будут действительно диплоидными по данному локусу – у них будут две функционирующие копии гена. Сходным образом обстоит дело и с теми рецессивными мутациями, которые просто вредны, но не летальны.

Для сравнения рассмотрим популяцию, первоначально состоящую из диплоидных особей, которые размножаются бесполом способом. Здесь будет отсутствовать отбор, направленный на удаление рецессивных летальных или вредных мутаций, затрагивающих лишь одну из двух копий гена: у гетерозиготных особей не может появиться нежизнеспособных гомозиготных потомков, так как нет половой рекомбинации. Поэтому рецессивные вредные мутации будут на протяжении многих поколений накапливаться в геноме – до тех пор, пока его диплоидность не сменится состоянием, в котором общее количество ДНК остается прежним, но сохраняется лишь одна функционирующая копия каждого из первоначальных необходимых генов. Организм становится «функционально гаплоидным». Таким образом, без полового размножения диплоидный вид не будет оставаться диплоидным, тогда как при половом размножении диплоидность будет сохраняться (рис. 14-6).

Рис. 14-6. Из этой схемы видно, каким образом при половом размножении диплоидные организмы сохраняют диплоидность в ходе эволюции. Для простоты рассматриваются только летальные рецессивные мутации. Аналогичным образом обстоит дело и с вредными рецессивными мутациями.



14.1.6. Диплоидный вид обладает лишней копией каждого гена, способной мутировать и выполнять после этого новую функцию [2]

Мы уже говорили о рецессивных вредных мутациях – наиболее распространенном типе мутаций. Обратимся теперь к рассмотрению мутации, которая модифицирует имеющийся ген таким образом, что он приобретает новую полезную функцию. Как правило, мутация в то же время повреждает ген, так

что его первоначальная функция утрачивается. Такое повреждение влечет за собой гибель гаплоидного организма, если эта функция была жизненно необходимой. Однако в диплоидном организме подобного рода мутация в одной из двух копий гена не просто терпима – она приносит пользу. Гетерозиготная особь будет извлекать выгоду как из старой, так и из новой функции гена. Гомозиготы, имеющие две копии старого аллеля или две копии нового, окажутся менее приспособленными. В подобных случаях, когда имеется преимущество гетерозигот, мутантный ген быстро распространяется в диплоидной популяции с половым размножением – до тех пор, пока не будет достигнуто равновесие, при котором и старые, и новые аллели представлены с высокой частотой и доля гетерозиготных особей велика. (Это явление, называемое *балансированным полиморфизмом*, убедительно продемонстрировано и в эксперименте.) Однако кое-чем приходится расплачиваться: при скрещивании двух гетерозигот значительная часть потомков, в соответствии с обычными законами Менделя, окажется гомозиготной и поэтому хуже приспособленной. Но такое положение не будет сохраняться вечно – из него есть выход.

14.1.7. Диплоидный вид может быстро обогащать свой геном, приобретая новые гены [3]

Время от времени у всех организмов происходит спонтанное удвоение генов: хромосома, содержащая одну копию гена G , в результате ошибки в репликации ДНК дает начало хромосоме, в которую входят уже две копии этого гена, расположенные одна за другой. Такие дубликации сами по себе не дают никаких преимуществ и встречаются, как правило, у очень немногих особей. Предположим, однако, что дубликация произошла в локусе, содержащем полезный мутантный аллель G^* , который с высокой частотой присутствует в популяции в связи с отбором в пользу гетерозигот и сосуществует в геноме с исходным аллелем G (рис. 14-7). Тогда велика вероятность того, что в диплоидной клетке, содержащей хромосому GG (несущую дубликацию), ее гомолог будет содержать аллель G^* , так что получится генотип GG/G^* . Затем в результате генетической рекомбинации в мейозе (см. ниже) могут образоваться гаметы с генотипом GG^* . В этих гаметах исходный ген G и мутантный G^* , расположенные один за другим, не будут уже двумя аллелями, конкурирующими за один и тот же локус; теперь это два отдельных гена, каждый из которых занимает собственный локус. Такая комбинация выгодна, и она станет быстро распространяться, пока наконец вся популяция не будет состоять из гомозигот GG^*/GG^* (см. рис. 14-7). Преимущество особей с таким генотипом состоит не только в обладании обоими генами – старым G и новым G^* , но и в том, что они могут передавать это преимущество всем своим потомкам.

Таким образом, у диплоидного вида с половым размножением могут возникать новые гены в результате мутаций в добавочных копиях имеющихся генов; эти новые гены могут распространяться в популяции благодаря отбору в пользу гетерозигот, причем не будут потеряны и исходные гены; и наконец, новые гены могут дополнительно включаться в геном в результате процессов дубликации генов и генетической рекомбинации. Такая последовательность событий возможна только у диплоидных видов. Обогащение генома у гаплоидного вида связано с большими трудностями. Если в процессе приобретения нового гена вид должен сохранить и старый ген, то ему придется ждать возникновения нужной мутации у одной из очень немногих особей, у которых уже произошла дубликация соответствующего локуса. А поскольку и мутации, и дубликации в определенном локусе происходят очень редко, гаплоидному виду приходится дожидаться совпадения этих событий поистине очень долго (рис. 14-8). Детальные расчеты показывают, что в типичном случае диплоидный организм способен расширять свой геном и добавлять к нему новые гены с новыми функциями в сотни или даже тысячи раз быстрее, чем это происходит у гаплоидного организма.

Рис. 14-7. Возникновение нового гена (G^*) по схеме «мутация → распространение → дупликация» в процессе полового размножения диплоидного организма.

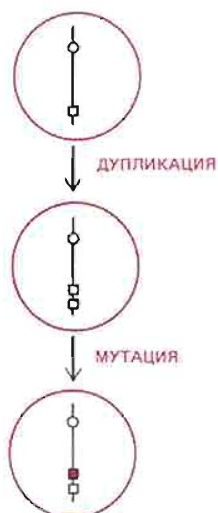
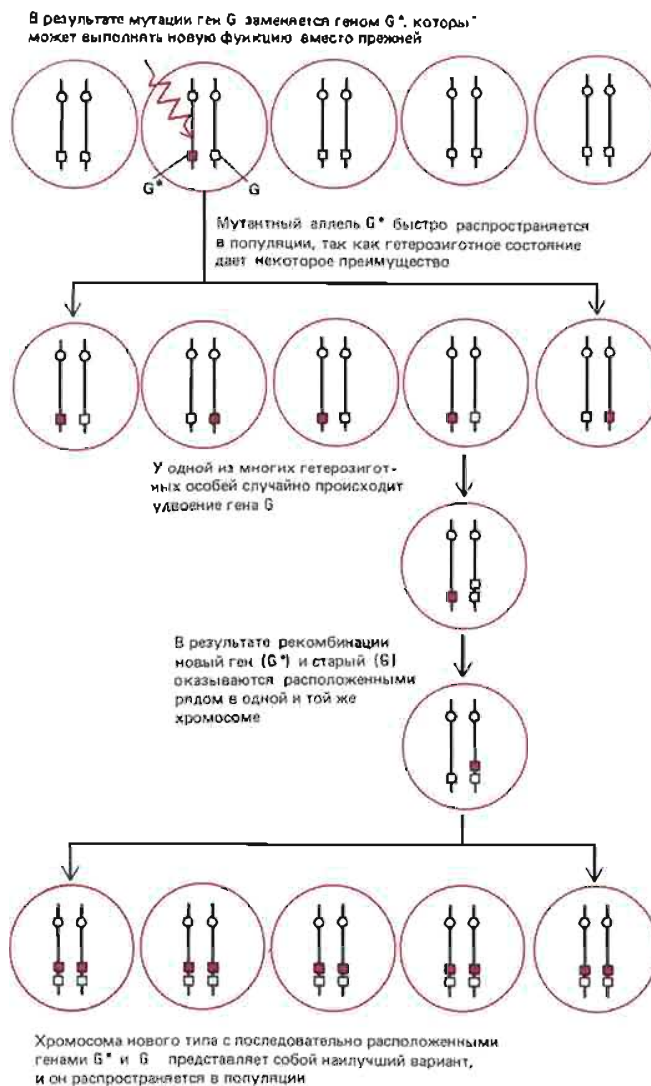


Рис. 14-8. Образование нового гена у гаплоидного организма. Такая последовательность событий кажется гораздо более простой, чем та, которая показана на рис. 14-7, но она протекает значительно медленнее.

Итак, благодаря половому размножению сохраняется диплоидность, которая в свою очередь обеспечивает особо благоприятные условия для создания более крупного, более сложного и более гибкого генома.

Теперь можно перейти к детальному описанию клеточных механизмов полового процесса. В последующих разделах сначала будет рассмотрен мейоз, в котором осуществляется генетическая рекомбинация и из диплоидных клеток образуются гаплоидные гаметы; затем мы обратимся к самим гаметам и, наконец, познакомимся с процессом оплодотворения, при котором гаметы сливаются, образуя новый диплоидный организм.

Заключение

При половом размножении происходит циклическое чередование диплоидного и гаплоидного состояний: диплоидная клетка делится путем мейоза, порождая гаплоидные клетки, а гаплоидные клетки попарно сливаются при оплодотворении и образуют новые диплоидные клетки. Во время этого процесса происходит перемешивание и рекомбинация геномов, в результате чего появляются особи с новыми наборами генов. Высшие растения и животные большую часть жизненного цикла проводят в диплоидной фазе, а гаплоидная фаза у них

очень коротка. Вероятно, процесс эволюции благоприятствовал половому размножению, так как случайная генетическая рекомбинация увеличивала шансы организмов на то, что хотя бы некоторые из их потомков выживут в непредсказуемо изменчивом окружающем мире. В то же время половой процесс может облегчать распространение полезных мутаций в большой популяции. Половой процесс необходим также для поддержания диплоидности и таким образом способствует созданию условий для быстрой выработки новых генов у высших растений и животных.

14.2. Мейоз [4]

Понимание того факта, что половые клетки гаплоидны и поэтому должны формироваться с помощью особого механизма клеточного деления, пришло в результате наблюдений, которые к тому же едва ли не впервые навели на мысль, что хромосомы содержат генетическую информацию. В 1883 г. при цитологическом изучении развития червя *Parascaris equorum* было обнаружено, что ядра яйца и спермия содержат лишь по две хромосомы, в то время как в оплодотворенном яйце их уже четыре. Хромосомная теория наследственности могла, таким образом, объяснить давний парадокс, состоящий в том, что роль отца и матери в определении признаков потомства часто кажется одинаковой, несмотря на огромную разницу в размерах яйцеклетки и сперматозоида.

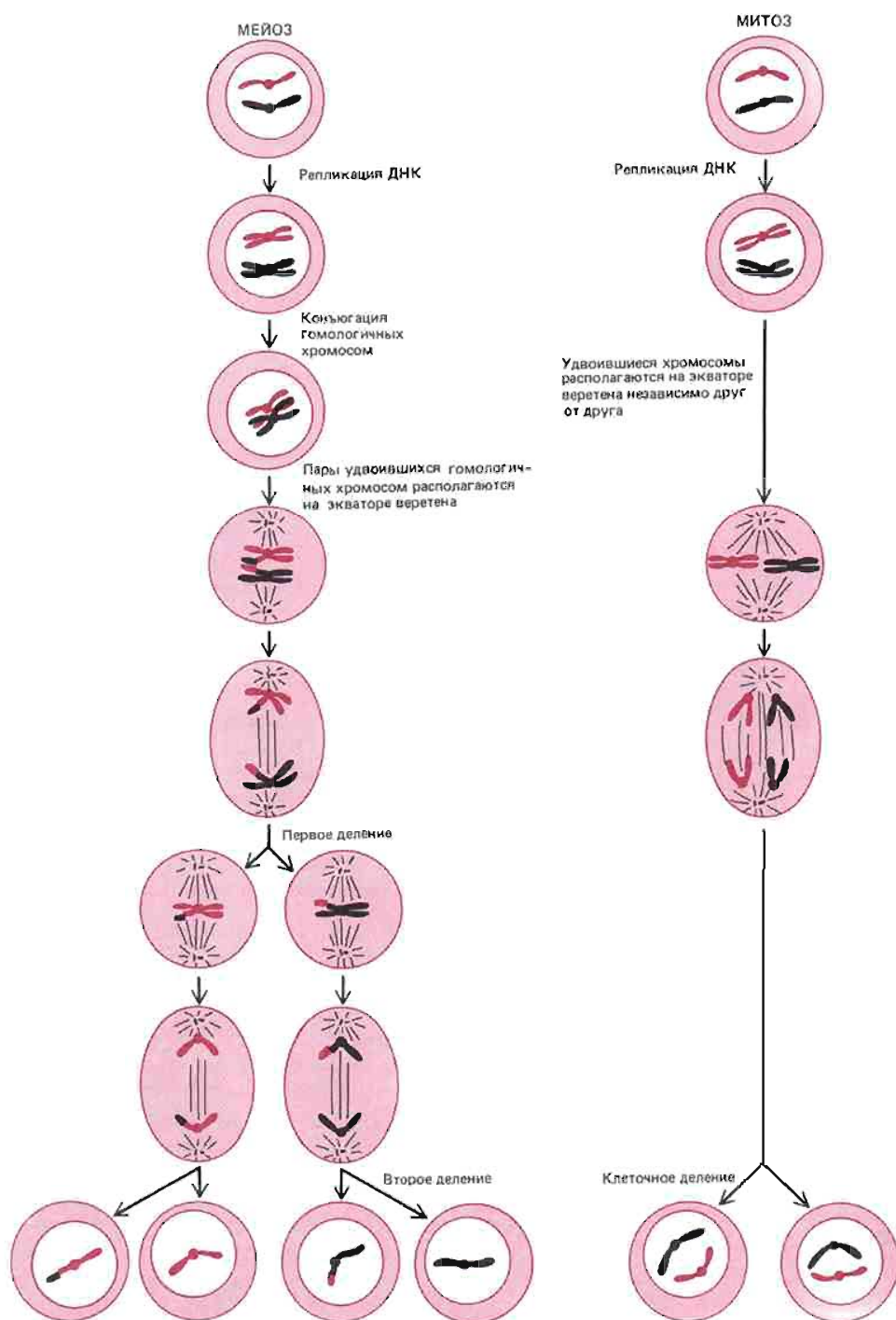
Еще один важный смысл упомянутого открытия состоял в том, что половые клетки должны формироваться в результате ядерного деления особого типа, при котором весь набор хромосом делится точно пополам. Во время мейоза, когда происходит такое уменьшение числа хромосом, поведение последних оказалось более сложным, чем предполагали раньше. Поэтому только к началу 30-х годов в итоге огромного числа тщательных исследований, объединивших цитологию и генетику, были твердо установлены важнейшие особенности мейотического деления.

14.2.1. При мейозе происходит не одно, а два деления ядра

Диплоидные ядра содержат по две копии каждой хромосомы (это не относится лишь к половым хромосомам), одна из которых происходит от мужского родителя, а другая — от женского. Эти две копии называются **гомологами**. Перед обычным **митотическим** делением каждый из пары гомологов удваивается, и две образовавшиеся копии остаются соединенными вместе (их называют **сестринскими хроматидами**). Сестринские хроматиды выстраиваются в экваториальной плоскости веретена таким образом, что их кинетохорные волокна направлены к противоположным полюсам. В результате сестринские хроматиды в анафазе отделяются друг от друга и каждая дочерняя клетка наследует по одной копии каждого гомолога (см. рис. 11-41). Но гаплоидные гаметы, образовавшиеся при делении диплоидной клетки путем мейоза, должны содержать лишь по одному гомологу каждой пары. В связи с этим к аппарату клеточного деления здесь предъявляется дополнительное требование: гомологи должны иметь возможность «узнавать» друг друга и соединяться в пары, перед тем как они выстроятся на экваторе веретена. Такое спаривание, или **конъюгация**, гомологичных хромосом материнского и отцовского происхождения происходит только в мейозе.

При наличии механизма конъюгации гомологичных хромосом мейоз мог бы в принципе осуществляться путем видоизменения одного митотического цикла, если бы в нем выпала фаза удвоения хромосом (S) и гомологи спаривались перед фазой М. Тогда в результате следующего клеточного деления могли бы непосредственно образоваться две гаплоидные клетки. Однако на самом деле процесс мейоза более сложен. Перед конъюгацией каждый из гомологов подвергается удвоению, образуя пару тесно связанных сестринских

Рис. 14-9. Сравнение мейоза с обычным митозом (схема). Для простоты показана только одна пара гомологичных хромосом. Спаривание гомологичных хромосом происходит только в мейозе; поскольку перед спариванием каждая хромосома удваивается и состоит из двух сестринских хроматид, для образования гаплоидных гамет необходимы два клеточных деления. Поэтому из любой диплоидной клетки, вступающей в мейоз, образуются четыре гаплоидные клетки.



хроматид. Мейоз отличается от митоза тем, что сестринские хроматиды ведут себя как одно целое, как будто не было дупликации хромосом. Сначала каждый гомолог действует так, как если бы он был одиночным, и отыскивает себе гомологичного партнера для конъюгации. Затем образующаяся пара, или *бивалент*, располагается на экваторе веретена. В анафазе гомологичные хромосомы расходятся к противоположным полюсам, причем в каждом из них две сестринские хроматиды остаются соединенными. Таким образом, при первом делении мей-

ока каждая дочерняя клетка наследует две копии одного из двух гомологов и поэтому содержит диплоидное количество ДНК. Однако она отличается от обычных диплоидных клеток в двух отношениях: 1) обе копии ДНК каждой хромосомы происходят лишь от одной из двух гомологичных хромосом, имевшихся в исходной клетке (либо от отцовского, либо от материнского гомолога), и 2) эти две копии клетка получает в виде тесно связанных сестринских хроматид, составляющих единую хромосому (рис. 14-9).

Теперь образование гаплоидных ядер гамет может очень просто происходить в результате **второго деления мейоза**, при котором хромосомы выстраиваются на экваторе нового веретена и без дальнейшей репликации ДНК сестринские хроматиды отделяются друг от друга, как при обычном митозе, образуя клетки с гаплоидным набором ДНК. Таким образом, мейоз состоит из двух клеточных делений, следующих за единственной фазой удвоения хромосом, так что из каждой клетки, вступающей в мейоз, получаются в итоге четыре гаплоидные клетки.

14.2.2. Перекомбинирование генов усиливается благодаря кроссинговеру между гомологичными несестринскими хроматидами [5]

Как мы уже видели, гены могут перемешиваться благодаря слиянию гамет двух различных особей. Однако генетические изменения осуществляются не только этим путем. Никакие два потомка одних и тех же родителей (если это не идентичные близнецы) не будут абсолютно одинаковыми. Дело в том, что задолго до слияния двух гамет, во время мейоза, осуществляются два различных вида пересортировки генов.

Один вид пересортировки — это результат случайного распределения разных материнских и отцовских гомологов между дочерними клетками при 1-м делении мейоза; каждая гамета получает свою, отличную от других выборку материнских и отцовских хромосом (рис. 14-10, А). Из одного только этого факта следует, что клетки любой особи могут в принципе образовать 2^n генетически различающихся гамет, где n — гаплоидное число хромосом. Например, у человека каждый индивидуум способен образовать по меньшей мере $2^{23} = 8,4 \cdot 10^6$ генетически различных гамет. Однако на самом деле число возможных гамет неизмеримо больше из-за **кроссинговера** (перекреста) — процесса, происходящего во время длительной профазы 1-го деления мейоза, когда гомологичные хромосомы обмениваются участками. У человека в каждой паре гомологичных хромосом кроссинговер происходит в среднем в двух-трех точках. Как показано на рис. 14-10, Б, такой процесс «перетасовывает» гены любой хромосомы в гаметах.

При кроссинговере происходит разрыв двойной спирали ДНК в одной материнской и одной отцовской хроматиде, а затем получившиеся отрезки воссоединяются «наперекрест» (процесс **генетической рекомбинации**). То, что известно о деталях молекулярного механизма этого процесса, в общих чертах представлено в главе 5. Рекомбинация происходит в профазе 1-го деления мейоза, когда две сестринские хроматиды так тесно сближены друг с другом, что их невозможно увидеть в отдельности (см. ниже). Гораздо позже в этой

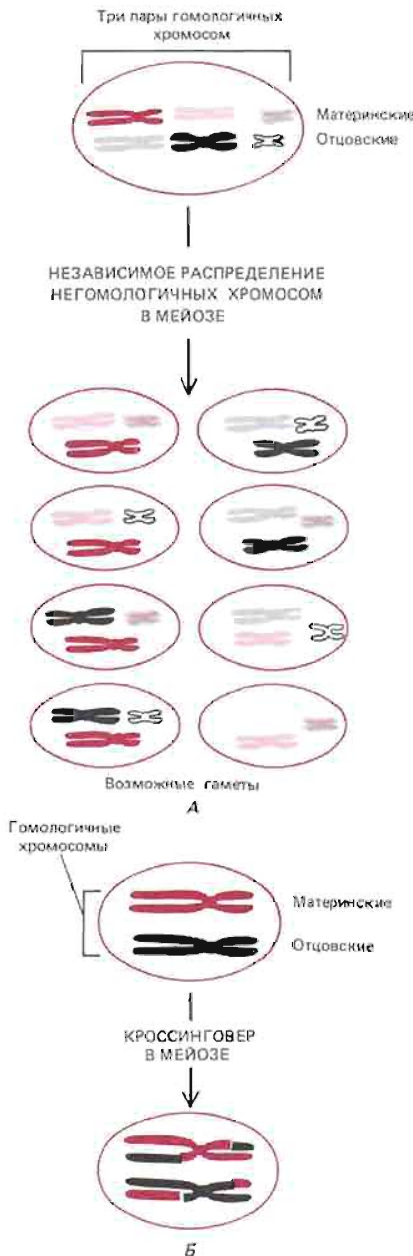


Рис. 14-10. Схема, иллюстрирующая два основных механизма перераспределения генетического материала во время мейоза. Оба механизма увеличивают наследственную изменчивость организмов, размножающихся половым путем. А. У организма с n хромосомами в результате независимого расхождения отцовских и материнских гомологов в первом делении мейоза может получиться 2^n различных гаплоидных гамет. В данном случае $n = 3$ и может быть 8 различных типов гамет. Б. В профазе I мейоза происходит кроссинговер — гомологичные хромосомы обмениваются участками, что ведет к перераспределению генов внутри отдельных хромосом.

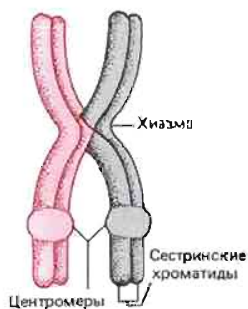


Рис. 14-11. Схематическое изображение спаренных гомологичных хромосом при переходе к метафазе I мейоза. В предшествующей профазе произошел один кроссинговер, и в результате образовалась одна хиазма. Обратите внимание, что четыре хроматиды сгруппированы в две пары сестринских нитей, причем в каждой паре они тесно сближены не только в области центромеры, но и по всей длине. Поэтому всю такую группу хроматид часто называют *бивалентом*.

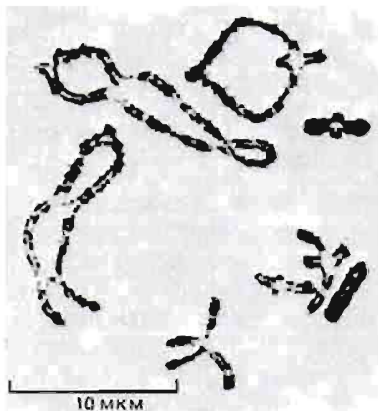
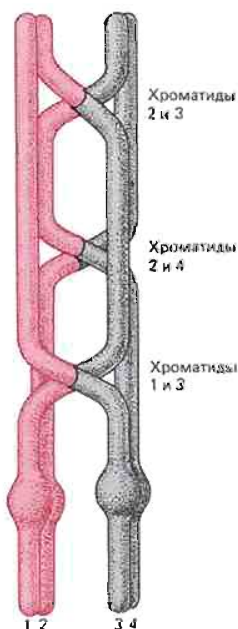


Рис. 14-12. Световая микрофотография бивалентов с многочисленными хиазмами на стадии диплотены. Изображенные здесь крупные хромосомы прямокрылого — особенно удобный объект для цитологических исследований. (С любезного разрешения Bernard John.)



растянутой профазе становятся ясно различимы две отдельные хроматиды каждой хромосомы. В это время видно, что они связаны своими центромерами, и для каждой из четырех хроматид в любой структуре можно установить принадлежность тому или другому гомологу. Два гомолога остаются связанными в тех точках, где произошел кроссинговер между отцовской и материнской хроматидами. Видно, что в каждой такой точке, которую называют хиазмой, две из четырех хроматид перекрещиваются (рис. 14-11). Таким образом, хиазмы — это морфологический результат произошедшего кроссинговера, который сам был недоступен для наблюдения.

На этой стадии мейоза гомологи в каждой паре (или биваленте) остаются связанными друг с другом по меньшей мере одной хиазмой. Во многих бивалентах бывает большее число хиазм, так как возможны множественные перекресты между гомологами (рис. 14-12 и 14-13).

14.2.3. В конъюгации хромосом участвует синаптонемальный комплекс [6]

В профазе 1-го деления мейоза во время конъюгации (синапсиса) и разделения хромосом в них происходят сложнейшие морфологические изменения. В соответствии с этими изменениями профаза делится на пять последовательных стадий — *лептотену*, *зиготену*, *пахитену*, *диплотену* и *диакинез*. Самое поразительное явление — это инициация тесного сближения хромосом в зиготене, когда между хромосомами начинает формироваться специализированная структура, называемая *синаптонемальным комплексом*. Момент полной конъюгации хромосом считают началом пахитены, которая обычно продолжается несколько дней; после разделения хромосом наступает стадия диплотены, когда впервые становятся видны хиазмы.

Для генетической рекомбинации необходимо тесное сближение рекомбинирующих хромосом. Синаптонемальный комплекс, который формируется перед самой пахитеной и распадается сразу после нее (рис. 14-14), удерживает гомологичные хромосомы рядом, скрепляя их по всей длине, и полагают, что он необходим для осуществления кроссинговера. Синаптонемальный комплекс представляет собой длинное белковое образование, напоминающее веревочную лестницу, к противоположным сторонам которого плотно прилегают два гомолога, так что получается длинная и узкая пара хромосом (бивалент, рис. 14-15). Сестринские хроматиды каждого гомолога остаются тесно сближенными, а их ДНК образует многочисленные петли по ту же сторону от белковой «лестницы». Таким образом, хотя гомологичные хромосомы в синаптонемальном комплексе сближены по всей длине, материнские

Рис. 14-13. Схематическое изображение хромосом, сходных с представленными на рис. 14-11, но образующих три хиазмы — результат трех отдельных перекрестов. Обратите внимание, что каждая из двух хроматид одной хромосомы может перекрещиваться с любой хроматидой другой хромосомы бивалента. Например, в данном случае хроматида 3 обменивалась участками одновременно с двумя хроматидами — 1 и 2.

Рис. 14-14. Последовательность событий при синапсисе и разъединении хромосом в профазе I мейоза. Полностью сформированный синаптонемальный комплекс существует на протяжении всей стадии пахитены.

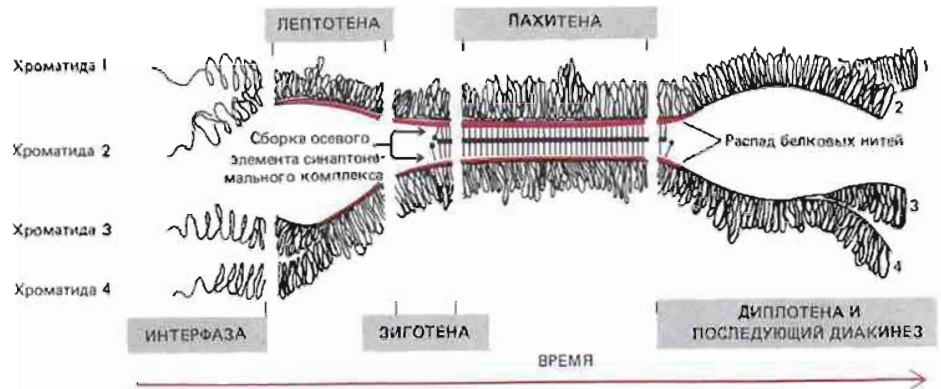


Рис. 14-15. Схематическое изображение типичного синаптонемального комплекса. Здесь представлен лишь небольшой участок этого длинного, похожего на лестницу образования. Показаны боковые и осевые элементы комплекса и рекомбинационный узелок (объяснение см. в тексте).

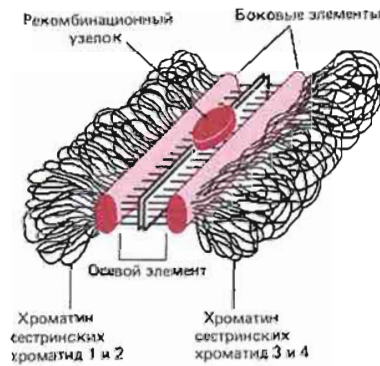
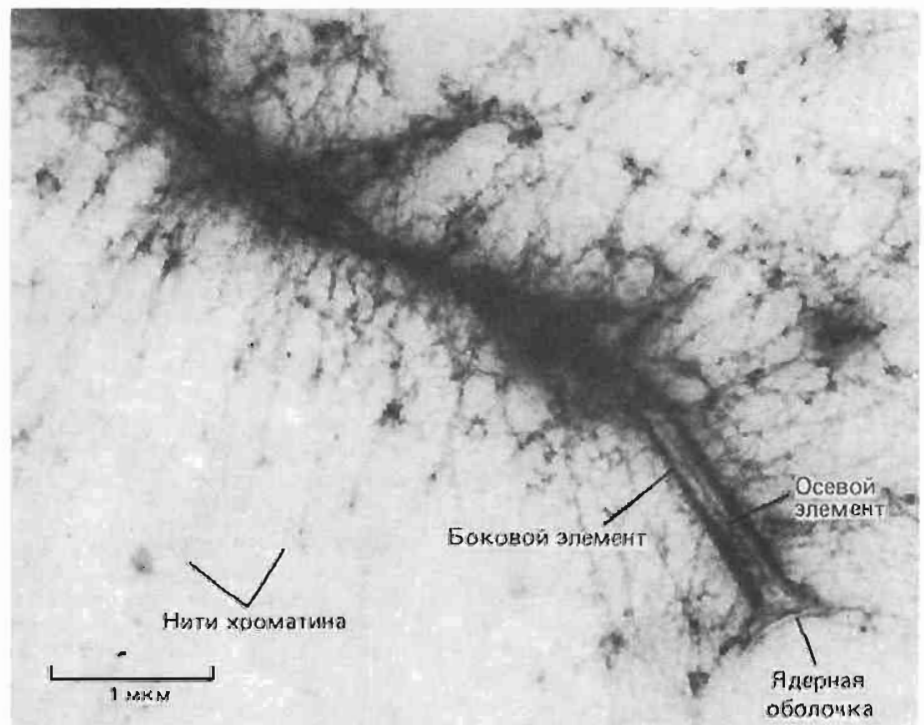


Рис. 14-16. Электронная микрофотография части бивалента из сперматозоида сирийского хомячка на стадии пахитены. Тотальный препарат был окрашен и специально обработан для выявления синаптонемального комплекса и связанного с ним хроматина, который расправлен в одной плоскости. Нити хроматина в виде спавшихся петель расходятся от двух боковых элементов синаптонемального комплекса. Каждый боковой элемент представляет собой белковую нить одного гомолога; синаптонемальный комплекс формируется в результате параллельного соединения двух боковых элементов с третьим – линейным осевым элементом – при помощи тонких поперечных нитей. Синаптонемальный комплекс закручен вокруг оси бивалента, однако ближе к своему концу, примыкающему к ядерной оболочке, он выпрямляется и утолщается. (M. J. Moses, A. J. Solari, J. Ultrastruct. Res., 54, 109, 1976.)



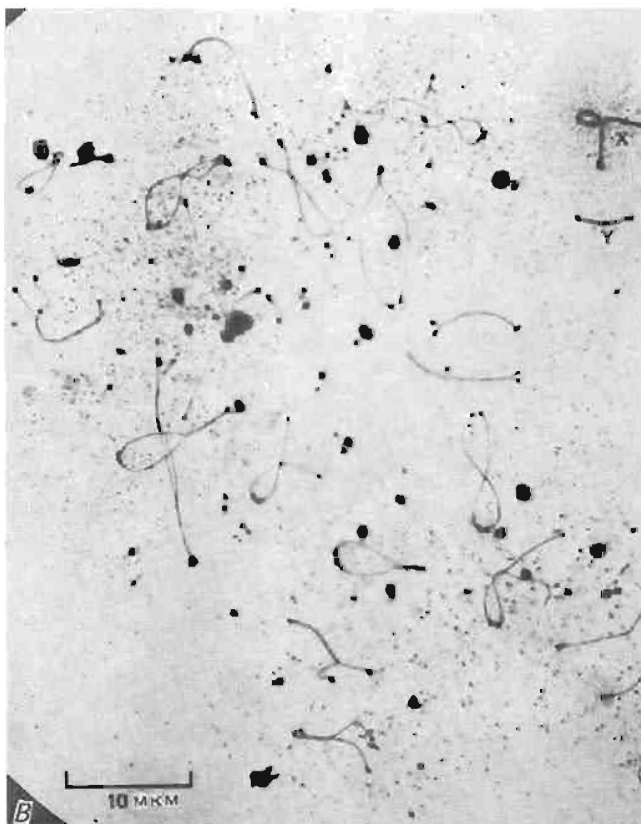
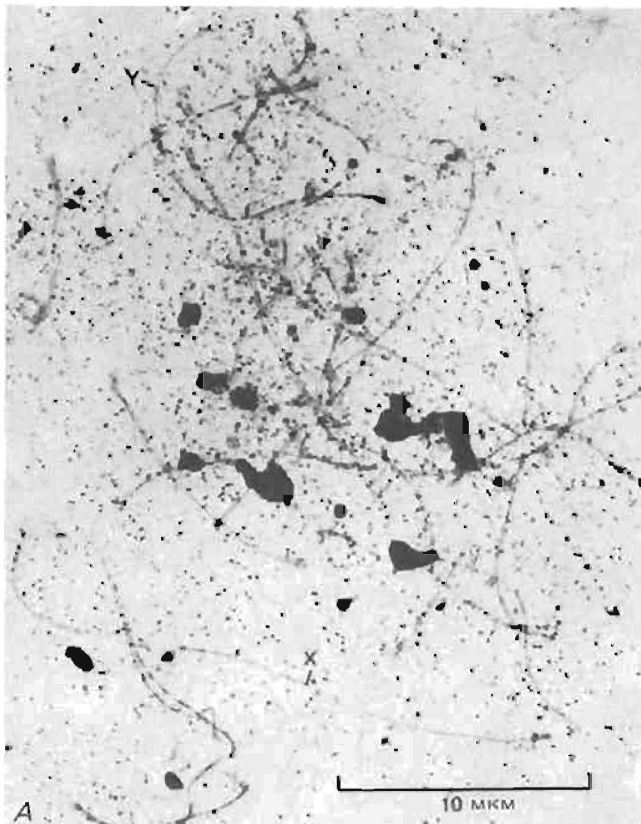


Рис. 14-17. Электронные микрофотографии полных наборов синаптонемальных комплексов в окрашенных серебром тотальных давленных препаратах сперматоцитов мыши. (Фото любезно предоставлены Montrose J. Moses.)

А. Зиготена. Перед конъюгацией хромосом их образующиеся белковые нити отделены друг от друга; затем они сближаются и, когда в одном или нескольких местах инициации синapsиса между хромосомами установится надлежащее расстояние, формируется синаптонемальный комплекс, часто начиная с конца хромосомы. На примере половых хромосом (X и Y) видно, что для спаривания хромосом нередко приходится преодолевать огромные расстояния внутри ядра. Темные тельца – ядрышки.

Б. Пахитена. Синapsис завершается, когда синаптонемальные комплексы связывают попарно все гомологичные аутосомы. X- и Y-хромосомы конъюгируют не полностью. Происходит кроссинговер между тяжами хроматина (хроматидами), которые на таких препаратах неразличимы.

В. Диплотена. Перед самым разрушением белковых нитей последние отделяются друг от друга, что означает окончание синapsиса. На препарате они еще кое-где связаны сохранившимися отрезками синаптонемального комплекса; как полагают, это те места, в которых произошел кроссинговер. Позже, когда хроматин конденсируется и становятся различимыми хроматиды, на места кроссинговера указывают хиазмы.

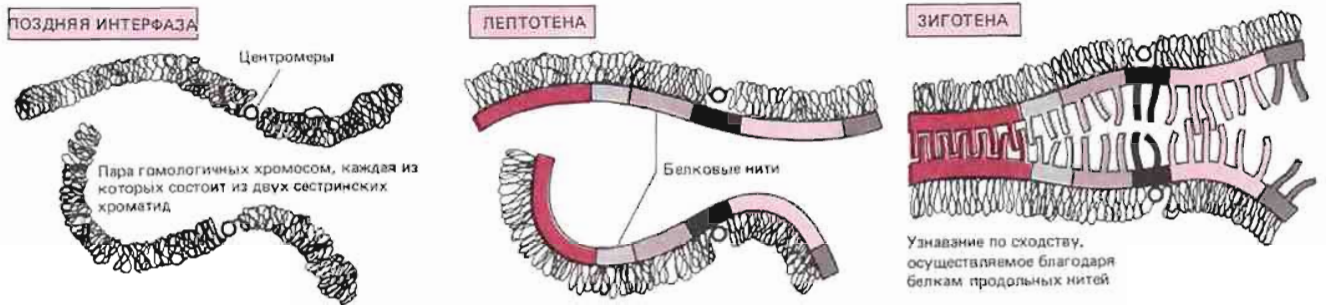


Рис. 14-18. Схема механизма, предложенного для объяснения точного спаривания соответственных участков гомологичных хромосом в зиготене. Предполагается, что белковые нити лептотенных хромосом приобретают определенные локальные свойства, обусловленные какими-то характерными особенностями структуры хроматина в различных участках хромосомы.

Рис. 14-19. Схема образования синаптонемального комплекса между нормальной хромосомой и ее гомологом, имеющим перевернутый участок. Подобные структуры указывают на то, что гомологичные хромосомы конъюгируют благодаря локальному сходству определенных участков.

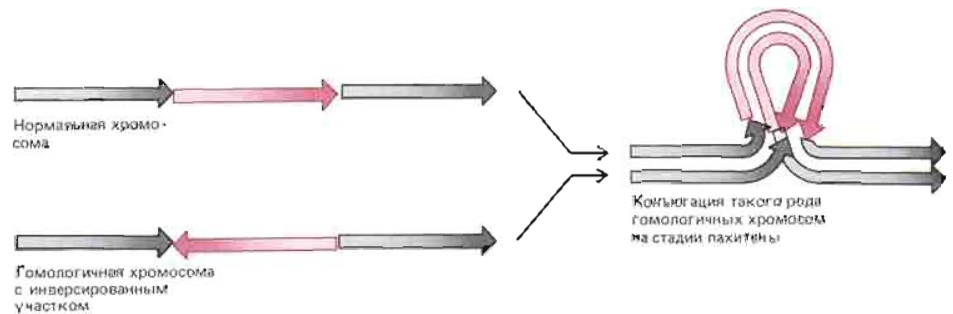
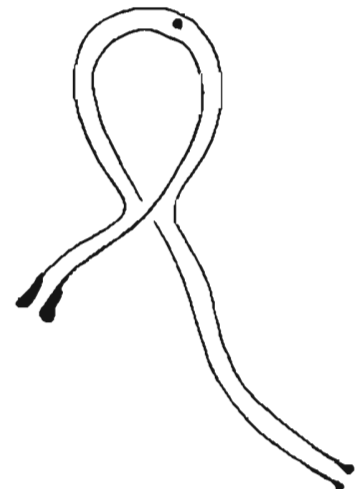
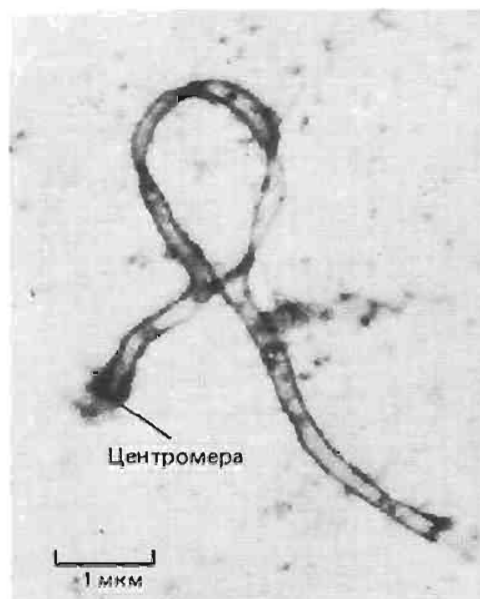
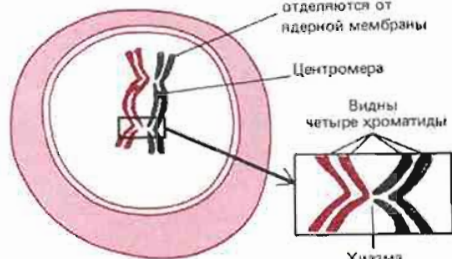
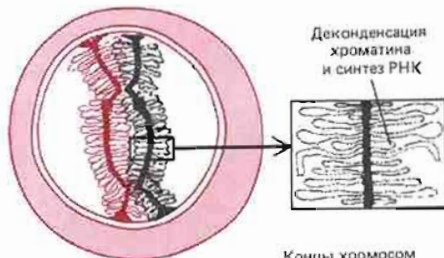
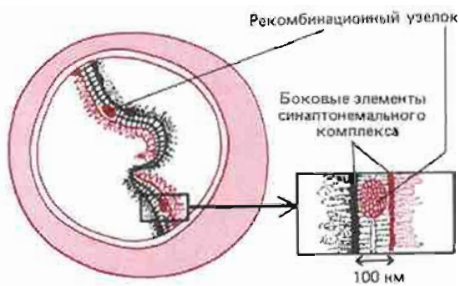
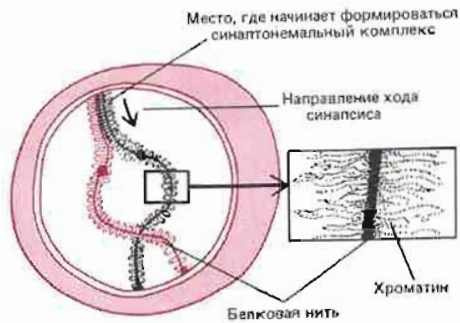
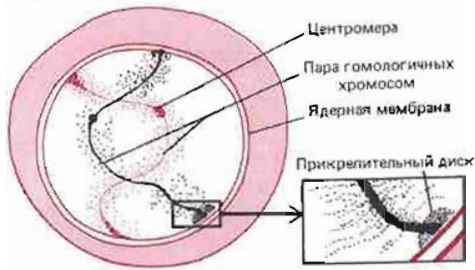


Рис. 14-20. Тесная конъюгация двух гомологичных хромосом мыши, одна из которых содержит инверсию, на стадии пахитены. В петле виден рекомбинационный узелок. Электронная микрофотография; справа — поясняющая схема. (P. A. Roogman et al., Chromosoma, 83, 419, 1981.)



4. ПЯТЬ СТАДИЙ ПРОФАЗЫ I МЕЙОЗА



ЛЕПТОТЕНА. Профаза I начинается со стадии лептотены, когда видно, что каждая хромосома, изменив свою интерфазную конформацию, переходит в конденсированную форму, образуя длинное, тонкое волокно с белковой осевой нитью. Каждая хромосома обоими концами прикреплена к ядерной мембране с помощью специализированной структуры, называемой *прикрепительным диском*. Хотя каждая хромосома уже реплицировалась и состоит из *двух сестринских хроматид*, эти хроматиды очень тесно сближены, и поэтому каждая хромосома кажется *одиночной* (отдельные хроматиды не различимы вплоть до поздней профазы — до стадии диплотены или диакинеза).

ЗИГОТЕНА. Моментом перехода лептотены в зиготену считают начало синapsиса — тесной конъюгации двух гомологов. На начальном этапе необходимо, чтобы гомологи распознали друг друга на расстоянии. Конъюгация часто начинается с того, что гомологичные концы двух хромосом сближаются на ядерной мембране, а затем процесс соединения гомологов распространяется вдоль хромосом от обоих концов. В других случаях синapsис может начинаться во внутренних участках хромосом и продолжаться по направлению к их концам; с тем же конечным результатом. Как полагают, каждый ген приходит в соприкосновение с гомологичным ему геном другой хромосомы. Когда гомологи конъюгируют, их белковые нити сближаются, образуя *два боковых элемента* синаптомембранного комплекса. Каждую пару хромосом, образовавшуюся в профазе I мейоза, обычно называют *бивалентом*; но, поскольку каждая гомологичная хромосома пары состоит из двух тесно обжатых сестринских хроматид, для каждой пары хромосом больше подходит другое употребительное название — *тетрада*.

ПАХИТЕНА. Как только завершается синapsис по всей длине хромосом, клетки вступают в стадию пахитены, на которой они могут оставаться несколько суток. На этой стадии в продольной щели синаптомембранного комплекса появляются крупные *рекombинационные узелки*, которым приписывают важную роль в обмене участками между хромосомами. Такие обмены приводят к перекрестам между двумя не-сестринскими хроматидами: в таких обменах участвует по одной хроматиде каждой из двух спаренных хромосом. В пахитене перекресты еще не видны, но позднее все они проявляются в виде хиазм.

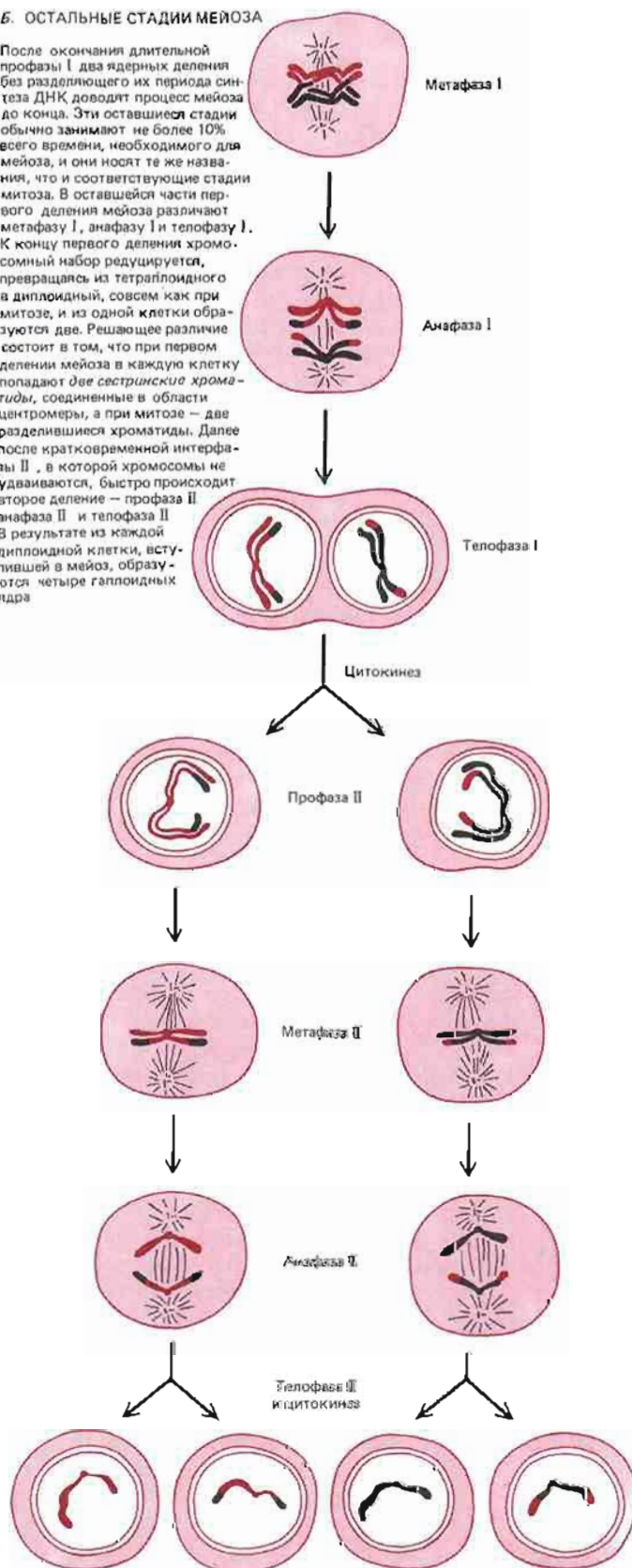
ДИПЛОТЕНА. Стадия диплотены в профазе I мейоза начинается с разделения конъюгировавших хромосом. Синаптомембранный комплекс распадается, что позволяет двум гомологичным хромосомам бивалента несколько отодвинуться друг от друга. Однако они все еще связаны одной или несколькими хиазмами, т. е. местами, где произошел кроссинговер. В ооцитах (развивающихся яйцеклетках) диплотена может растянуться на месяцы или годы, так как именно на этой стадии хромосомы деконденсируются и синтезируют РНК, обеспечивая яйцеклетку резервными веществами. В особых случаях диплотенные хромосомы становятся исключительно активными в отношении синтеза РНК; такие хромосомы *типа ламповых щеток* находят у амфибий и некоторых других организмов.

ДИАКИНЕЗ. Диплотена незаметно переходит в диакинез — стадию, предшествующую метафазе, когда прекращается синтез РНК и хромосомы конденсируются, утолщаются и отделяются от ядерной мембраны. Теперь ясно видно, что каждый бивалент содержит четыре отдельные хроматиды, причем каждая пара сестринских хроматид соединена центромерой, тогда как несестринские хроматиды, претерпевшие кроссинговер, связаны хиазмами.

Рис. 14-21. Схемы, показывающие видимые изменения двух гомологичных хромосом на протяжении мейоза. Представлен ход событий в клетках млекопитающих, хотя весьма сходную картину можно наблюдать и в клетках многих других организмов. На предыдущей странице показаны пять стадий профазы I мейоза (А); остальные стадии мейоза (Б) изображены справа.

Б. ОСТАЛЬНЫЕ СТАДИИ МЕЙОЗА

После окончания длительной профазы I два ядерных деления без разделяющего их периода синтеза ДНК доводит процесс мейоза до конца. Эти оставшиеся стадии обычно занимают не более 10% всего времени, необходимого для мейоза, и они носят те же названия, что и соответствующие стадии митоза. В оставшейся части первого деления мейоза различают метафазу I, анафазу I и телофазу I. К концу первого деления хромосомный набор редуцируется, превращаясь из тетраплоидного в диплоидный, совсем как при митозе, и из одной клетки образуются две. Решающее различие состоит в том, что при первом делении мейоза в каждую клетку попадают две сестринские хроматиды, соединенные в области центромеры, а при митозе — две разделившиеся хроматиды. Далее после кратковременной интерфазы II, в которой хромосомы не удваиваются, быстро происходит второе деление — профазы II, анафазы II и телофазы II. В результате из каждой диплоидной клетки, вступившей в мейоз, образуются четыре гаплоидных ядра.



и отцовские хроматиды, которые впоследствии будут обмениваться участками, остаются по разные стороны от «лестницы» (рис. 14-16), причем разделяющее их расстояние превышает 100 нм.

Как показывают цитологические исследования, конъюгации хромосом предшествует формирование белковой нити вдоль каждого из гомологов. По мере осуществления конъюгации эти нити, по-видимому, сближаются, превращаясь в боковые элементы синаптонемального комплекса и образуя две стороны белковой «лестницы». И первоначальные нити, и эти боковые элементы содержат белок, который очень хорошо окрашивается серебром, что позволяет видеть эти структуры как с помощью светового микроскопа, так и на электронных микрофотографиях (рис. 14-17).

Мы не знаем, что заставляет гомологичные участки хромосом точно ориентироваться друг против друга на стадии зиготены. Поскольку в синаптонемальном комплексе хроматин одного гомолога расположен довольно далеко от хроматина другого, было высказано предположение, что специфичность спаривания определяется белковыми нитями. Согласно одной из гипотез, белки этих нитей могут сначала принимать конформацию, в точности соответствующую структуре хроматина вдоль каждой хромосомы. Если нити после этого соединяются между собой по принципу «подобное с подобным», то их спаривание может косвенным образом связывать гомологичные области прикрепленных к ним хромосом, локальные структуры которых точно соответствуют друг другу (рис. 14-18). Какой-то механизм такого рода локального соответствия необходим для объяснения того факта, что наличие в одной из двух гомологичных хромосом инверсированного участка обычно (хотя и не всегда) приводит к местному нарушению нормального синапсиса во время зиготены, так что гомологичные гены могут конъюгировать даже в области инверсии (рис. 14-19 и 14-20). Отдельные стадии мейоза показаны на рис. 14-21, где дается и подробное описание соответствующих процессов.

14.2.4. Как полагают, обмены между хроматидами происходят при участии рекомбинационных узелков [7]

Синаптонемальный комплекс обеспечивает структурную основу, необходимую для рекомбинационных событий, но сам он, вероятно, непосредственно в них не участвует. Как полагают, важную роль в этих событиях играют рекомбинационные узелки, которые могут быть сферическими, эллипсоидальными или стержневидными белковыми комплексами величиной около 90 нм (для сравнения заметим, что крупная молекула глобулярного белка массой 400 000 дальтон имеет диаметр порядка 10 нм). Рекомбинационные узелки «сидят» на некоторых расстояниях друг от друга на «лестнице» синаптонемального комплекса, между двумя гомологичными хроматидами (см. рис. 14-15). Предполагается, что это места расположения крупных мультиферментных «рекомбинационных аппаратов», которые подтягивают друг к другу локальные участки ДНК материнской и отцовской хроматид через область синаптонемального комплекса шириной 100 нм.

О такой функции рекомбинационных узелков говорят некоторые косвенные данные:

1. Общее число узелков примерно равно общему числу хиазм, наблюдаемых позже в профазе.
2. Узелки распределены вдоль синаптонемального комплекса таким же образом, как и перекресты; например, подобно перекрестам, узелки отсутствуют в тех областях, где синаптонемальный комплекс соединяет отрезки гетерохроматина. Кроме того, генетические и цитологические исследования показывают, что произошедший кроссинговер препятствует осуществлению другого кроссинговера в близлежащем участке хромосомы. Точно так же и узелки, как правило, не располагаются очень близко друг к другу.

3. Некоторые мутации у *Drosophila* приводят к аномальному распределению перекрестов по длине хромосом и к резко пониженной частоте рекомбинаций; при этом у мух оказывается меньше рекомбинационных узелков и их размещение вдоль хромосомы изменено так же, как и распределение перекрестов. Такая корреляция служит веским доводом в пользу того, что каждый кроссинговер определяется локализацией одного узелка.
4. Как полагают, при генетической рекомбинации в области каждого кроссинговера происходит синтез некоторого количества ДНК. Метод радиоавтографии в сочетании с электронной микроскопией позволяет показать, что радиоактивные предшественники включаются в пахитенную ДНК главным образом в области рекомбинационных узелков или поблизости от них.

Поскольку рекомбинационных узелков бывает примерно столько же, сколько происходит перекрестов, можно думать, что эти узелки очень эффективно вызывают рекомбинацию между хроматидами двух гомологичных хромосом. К сожалению, о структуре рекомбинационных узелков и механизме их действия пока ничего не известно.

14.2.5. Хиазмы играют важную роль в расхождении хромосом во время мейоза

Кроссинговер не только способствует перетасовке генов, но, по-видимому, играет также важнейшую роль при расхождении двух гомологов в дочерние ядра. Дело в том, что именно хиазмы удерживают вместе материнские и отцовские гомологи до анафазы I, выполняя здесь ту же функцию, что и центромеры в обычном митозе. У мутантных организмов с недостаточностью кроссинговеров в мейозе у отдельных пар хромосом отсутствуют хиазмы в метафазе I, и такие хромосомы не способны нормально расойдаться. В результате значительная доля образующихся гамет содержит слишком много или слишком мало хромосом.

В настоящее время ясно, что существуют по меньшей мере два важных различия между механизмами расхождения хромосом в обычном митозе и при делении I мейоза:

1) если при митозе нити веретена, прикрепленные к кинетохорам двух сестринских хроматид, отходят в противоположных направлениях, то в метафазе I мейоза эти нити у обеих сестринских хроматид отходят в одном и том же направлении (рис. 14-22);

2) при митозе расхождение хроматид к полюсам инициируется отделением друг от друга сестринских кинетохоров (так начинается анафаза; разд. 11.5.8), тогда как в анафазе I мейоза это движение, по-видимому, начинается в результате исчезновения сил, которые удерживают плечи сестринских хроматид в тесно сближенном состоянии, что в свою очередь ведет к распаду хиазм, связывающих материнские и отцовские гомологичные хромосомы. Это не только позволяет объяснить тот факт, что у многих организмов хиазмы необходимы для нормального расположения хромосом в метафазе I, но и дает ответ на вопрос, почему у хромосом, образующихся в анафазе I, плечи сестринских хроматид обыкновенно не слипаются, что придает им необычный «развернутый» вид и делает их похожими на митотические хромосомы (рис. 14-22).

Рис. 14-22. Сравнение механизмов упорядоченного расположения хромосом в метафазе и их расхождения в анафазе при первом и втором делениях мейоза. Во втором делении используются те же механизмы, что и в обычном митозе (см. гл. 11).

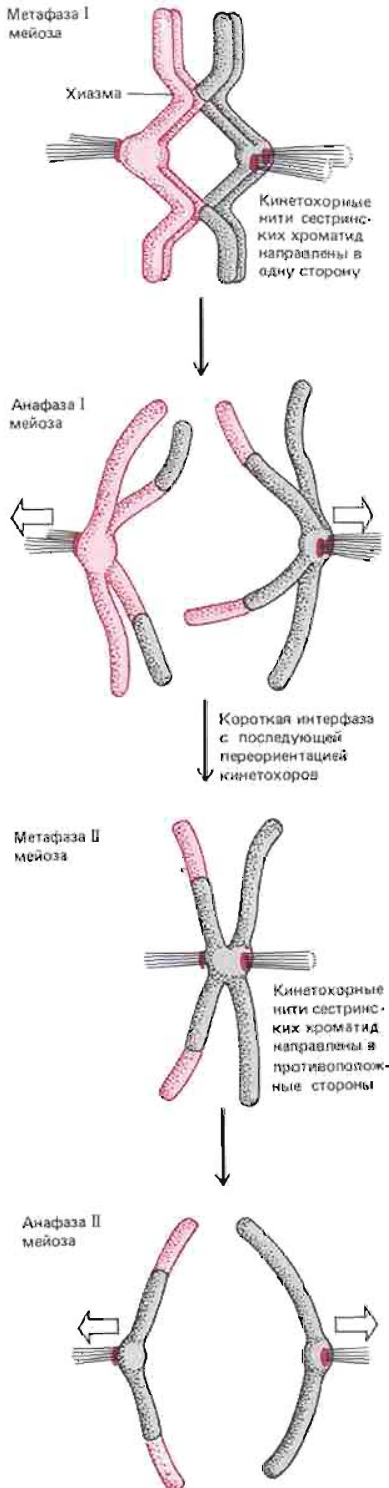




Рис. 14-23. Сравнение длительности различных стадий мейоза, представленных на рис. 14-21. Показаны примерные временные интервалы для самца млекопитающего (мышь) и растения (лилия). Эти интервалы различны для женских и мужских гамет (яиц и спермиев) одного и того же вида и для одинаковых гамет разных видов. Например, мейоз у мужчины длится 24 дня, а у самца мыши – 12 дней. Однако во всех случаях профазы I мейоза намного продолжительнее, чем все остальные стадии, вместе взятые.

14.2.6. Расхождение половых хромосом тоже обеспечивается их конъюгацией [8]

Мы объяснили, каким образом конъюгация гомологичных хромосом обуславливает их расхождение в две дочерние клетки. Но как обстоит дело с половыми хромосомами, которые у самцов млекопитающих не гомологичны? У самок имеются две X-хромосомы, которые конъюгируют и расходятся так же, как другие гомологи. Однако самцы обладают одной X- и одной Y-хромосомой, и эти хромосомы должны конъюгировать во время первой метафазы, чтобы сперматозонды содержали либо X-, либо Y-хромосому, но исключалось наличие или отсутствие в них сразу обеих половых хромосом. Требуемая конъюгация становится возможной благодаря наличию небольшого участка, где имеется гомология между половыми хромосомами X и Y; эта гомология позволяет им спариваться во время первой профазы мейоза. Таким образом гарантируется правильное расхождение X- и Y-хромосом в анафазе и образование спермиев только двух типов: одни содержат Y-хромосому и дают начало эмбриону мужского пола, а другие – X-хромосому и дают начало эмбриону женского пола.

14.2.7. Второе деление мейоза сходно с обычным митозом

Мейоз состоит из двух последовательных клеточных делений, первое из которых длится почти столько же, сколько весь мейоз, и гораздо сложнее второго (рис. 14-23). Первое деление отличается рядом уникальных особенностей. Например, репликация ДНК во время фазы S, как правило, занимает значительно больше времени, чем при митозе. Кроме того, клетки могут пребывать в стадии мейотической профазы I несколько дней, месяцев и даже лет, в зависимости от вида организма и типа образующихся гамет. Ядерная оболочка остается все это время интактной и исчезает лишь тогда, когда начинается формирование нитей веретена, т. е. когда профазы I переходит в метафазу I.

После окончания первого деления мейоза у двух дочерних ядер вновь образуются оболочки и начинается короткая интерфаза. В это время хромосомы несколько деспирализуются, однако вскоре они опять конденсируются и начинается профазы II. Поскольку в этот период синтеза ДНК не происходит, создается впечатление, что у некоторых организмов хромосомы переходят непосредственно от одного деления к другому. Профаза II у всех организмов короткая: ядерная оболочка разрушается, когда формируется новое веретено, после чего, быстро сменяя друг друга, следуют метафаза II, анафаза II и телофаза II. Так же как и при митозе, у сестринских хроматид образуются кинетохорные нити, отходящие от центромеры в противоположных направлениях. В метафазной пластинке две сестринские хроматиды удерживаются вместе до анафазы, когда они разделяются благодаря внезапному расхождению их кинетохоров. Таким образом, второе деление мейоза сходно с обычным митозом. Единственное существенное отличие состоит в том, что здесь имеется по одной копии каждой хромосомы, а не по две, как в митозе.

Мейоз заканчивается формированием ядерных оболочек вокруг четырех гаплоидных ядер, образовавшихся в телофазе II (см. рис. 14-21, Б). Как мы увидим, у позвоночных к концу мейоза яйцеклетка уже полностью сформирована (а в некоторых случаях и оплодотворена), тогда как спермий еще только начинает свое развитие.

Закключение

При мейозе в результате двух последовательных клеточных делений из одной диплоидной клетки образуются четыре гаплоидные. У животных начальные фазы формирования яйцеклетки и сперматозоида сходны. В обоих случаях в мейозе доминирует профазы I, которая может занимать 90% всего времени

мейоза. В этот период каждая хромосома состоит из двух тесно сближенных сестринских хроматид. Кроссинговер (перекрест) между хромосомами осуществляется на стадии пахитены в профазе I, когда конъюгация каждой пары гомологичных хромосом закрепляется синاپтонемальным комплексом. Как полагают, каждый перекрест происходит при участии крупного рекомбинационного узелка и приводит к образованию хиазмы, сохраняющейся вплоть до анафазы I. В результате первого деления мейоза в каждую дочернюю клетку попадает по одной хромосоме из каждой пары гомологов, состоящих в это время из соединенных сестринских хроматид. Затем без репликации ДНК быстро протекает второе деление, при котором каждая сестринская хроматида попадает в отдельную гаплоидную клетку.

14.3. Гаметы

У эмбрионов всех позвоночных на ранней стадии развития определенные клетки обособляются как предшественники будущих гамет. Такие первичные половые клетки мигрируют в развивающиеся гонады (яичники у самок, семенники у самцов), где после периода митотического размножения претерпевают мейоз и дифференцируются в зрелые гаметы. Слиянием яйцеклетки и спермия после спаривания открывается новый цикл.

Пока не ясно, по какой именно причине определенные клетки у зародыша млекопитающего превращаются в половые клетки, но известно, что по крайней мере у одного организма определяющим фактором служит какой-то компонент (или компоненты) цитоплазмы яйца: у *Drosophila* специфическая область цитоплазмы — *полярная плазма*, расположенная на заднем полюсе яйца, — содержит мелкие гранулы, богатые РНК (*полярные гранулы*); клетки, образующиеся в этой части яйца и содержащие полярные гранулы, становятся первичными половыми клетками и в конечном счете мигрируют в гонады, где из них развиваются ооциты или сперматоциты. Если полярную плазму ввести в передний полюс яйца, то клетки, которые должны были стать соматическими, превратятся в половые (см. рис. 15-41).

14.3.1. У высших животных яйцеклетка — это единственная клетка, из которой может развиваться новый организм

По крайней мере в одном отношении яйцеклетки — самые удивительные из всех животных клеток: будучи активированы, они могут дать начало целому новому организму, причем иногда для этого достаточно нескольких дней или недель. У высших животных это исключительная привилегия яйцеклеток; слияние со спермием при оплодотворении запускает программу развития, постепенное развертывание которой приводит к образованию новой особи.

У большинства животных, не относящихся к млекопитающим, ранний этап развития яйцеклетки сводится главным образом к быстрому клеточному делению, или *дроблению*, при котором общая масса эмбриона остается, как правило, неизменной. Для такого начала размеры исходного яйца вполне достаточны, и в процессе его дробления образующиеся клетки постепенно становятся все меньше, пока не достигнут обычной величины зрелой соматической клетки. Хотя на ранних стадиях дробления синтезируются огромные количества ДНК и белков, в это время нет необходимости в синтезе РНК (в транскрипции генов): дробление протекает нормально и в присутствии ядов, ингибирующих синтез РНК, и оно может продолжаться (хотя уже аномальным образом) даже после удаления ядра активированной яйцеклетки. Это объясняется тем, что еще до оплодотворения в яйцеклетках накапливаются огромные резервы информационных РНК, рибосом, транспортных РНК и всех предшественников, необходимых для синтеза макромолекул. Особенно большие запасы питательных веществ требуются тем яйцеклеткам, которые проходят длительный период эмбрионального развития вне родитель-



Рис. 14-24. Два различных яйца в натуральную величину.



Рис. 14-25. Относительные размеры различных яйцеклеток по сравнению с величиной типичной соматической клетки.

ского организма, не имея внешнего источника питания; в связи с этим яйца амфибий значительно крупнее, чем, например, яйцеклетки млекопитающих. Пресноводные и морские беспозвоночные, развивающиеся из небольших яйцеклеток вне родительского организма (такие, как морские ежи и др.), обычно быстро превращаются в способных к самостоятельному питанию личинок.

14.3.2. Яйцеклетки представляют собой высокоспециализированные клетки с уникальными особенностями [9]

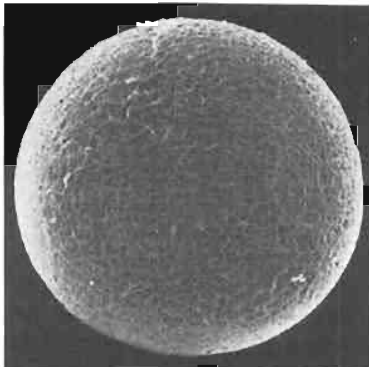
Из всех клеток животного яйцеклетка обладает наиболее широкими потенциями к дальнейшему развитию: в организме из нее может образоваться клетка любого типа. Тем не менее яйцеклетку отнюдь нельзя считать недифференцированной клеткой. Она в высшей степени специализирована для выполнения одной-единственной функции — построения нового индивидуума; в связи с этим ей присущи многие уникальные особенности.

Наиболее очевидная отличительная черта яйцеклетки — это ее большие размеры. Типичная яйцеклетка имеет сферическую или овальную форму, а диаметр ее составляет у человека и морского ежа от 60 до 150 мкм, у лягушек и рыб от 1 до 2 мм, а у птиц и рептилий измеряется сантиметрами (напомним, что величина типичной соматической клетки всего лишь около 20 мкм) (рис. 14-24 и 14-25). Столь же внушительными могут быть размеры ядра; например, в яйце лягушки величиной 1500 мкм диаметр ядра составляет около 400 мкм.

Крупные размеры яйцеклетки обусловлены, в частности, потребностью в питательных веществах, о которой упоминалось выше. Эту потребность удовлетворяет в основном желток — материал, богатый белками. Он обычно содержится в дискретных образованиях, называемых *желточными гранулами*. В яйцеклетках, развитие которых протекает вне материнского организма и приводит к формированию крупных животных, желток может занимать более 95% всего объема, тогда как у млекопитающих, чьи эмбрионы получают большую часть питательных веществ от матери, объем желтка составляет менее 5% объема яйцеклетки.

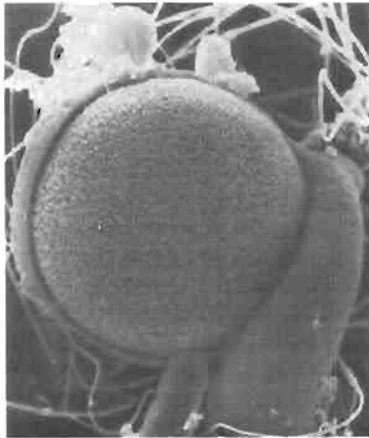
Другой важной специфической структурой яйцеклетки является наружная **яйцевая оболочка** — покров из особого неклеточного вещества, состоящего в основном из гликопротеиновых молекул, часть которых секретирует сама яйцеклетка, а другую часть — окружающие клетки. У всех видов оболочка имеет внутренний слой, непосредственно прилегающий к плазматической мембране яйцеклетки и называемый у млекопитающих *зоной pellucida* (рис. 14-26), а у других позвоночных и беспозвоночных — **вителлиновым слоем**. Этот слой защищает яйцеклетку от механических повреждений; в некоторых яйцеклетках он действует также как видоспецифический барьер для спермиев, позволяющий проникать внутрь только спермиям того же вида или очень близких видов. Часто соседние клетки выделяют добавочные оболочки, покрывающие вителлиновый слой. Например, когда яйца лягушки проходят из яичника по яйцеводу (трубка, по которой яйца выводятся наружу), их оболочка приобретает несколько дополнительных слоев из студнеобразного вещества, выделяемого эпителиальными клетками яйцевода. Аналогичным образом у куриного яйца при прохождении его по яйцеводу (после оплодотворения) появляются «белок» и твердая скорлупа, тогда как яйца насекомых покрываются тонкой прочной оболочкой, получившей название *хориона* и выделяемой особыми клетками, окружающими каждое яйцо.

Многие яйцеклетки (в том числе и яйцеклетки млекопитающих) содержат специализированные секреторные пузырьки, находящиеся под самой плазматической мембраной в наружном, или *кортикальном*, слое цитоплазмы (рис. 14-27). При активации яйцеклетки спермием эти *кортикальные гранулы* высвобождают свое содержимое путем экзоцитоза; воздействие этого содержимого на яйцевую оболочку изменяет ее таким образом, что через нее уже не могут проникнуть внутрь яйцеклетки другие спермии.



А

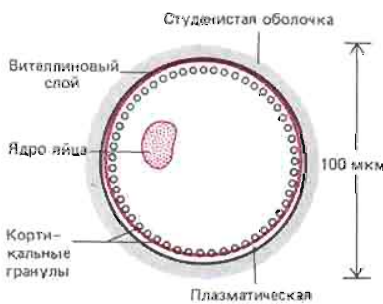
20 мкм



Б

20 мкм

Рис. 14-26. Микрофотографии яйцеклетки хомячка, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа. Хорошо видна зона pellucida; на фото Б эта оболочка (к которой прикрепилось много спермиев) частично отогнута, чтобы можно было видеть лежащую под ней плазматическую мембрану яйцеклетки с многочисленными микроворсинками. (M. Phillips, J. Ultrastruct. Res., 72, 1-12, 1980.)



В то время как кортикальные гранулы обычно равномерно распределены во всем кортексе яйцеклетки, другие компоненты цитоплазмы могут располагаться крайне асимметрично. Например, в яйце лягушки большая часть желтка находится на одном (*вегетативном*) полюсе, тогда как ядро располагается ближе к противоположному (*анимальному*) полюсу. Полярность эмбриона часто определяется полярностью яйцеклетки (см. рис. 15-3).

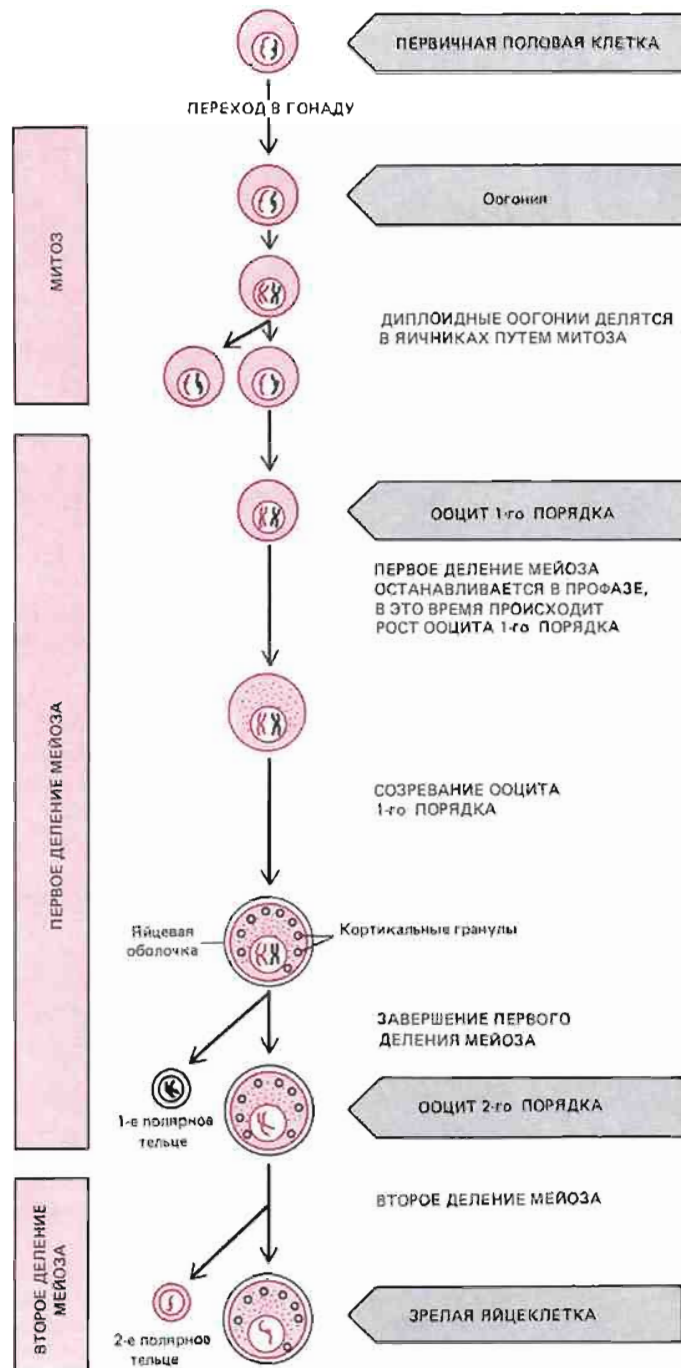
14.3.3. Яйцеклетка проходит в своем развитии несколько стадий [9]

Хотя детали развития яйцеклетки (*оогенеза*) различаются у разных видов, основные стадии сходны (рис. 14-28). Первичные половые клетки митотируют в формирующуюся гонаду и превращаются в *оогонии*; после периода митотического размножения оогонии дифференцируются в *ооциты первого порядка*, которые приступают к первому делению мейоза. Происходит репликация ДНК, и каждая хромосома состоит после этого из двух хроматид; гомологичные хромосомы конъюгируют по всей своей длине, и между хроматидами спаренных хромосом осуществляется кроссинговер. На этой стадии профза фаза приостанавливается на то или иное время, которое может составлять от нескольких дней до многих лет в зависимости от вида организма. В этой фазе ооциты первого порядка приобретают наружные оболочки и кортикальные гранулы, накапливают рибосомы, информационную РНК, желток, гликоген и липиды и готовятся к разворачиванию программы развития. Во многих ооцитах такая активность отражается на видимой структуре все еще спаренных хромосом: они деспирализуются и образуют боковые петли, приобретая характерный вид «ламповых щеток», свойственный хромосомам, активно осуществляющим синтез РНК (см. разд. 8.4.15).

Следующая фаза развития, называемая *созреванием* яйцеклетки, начинается лишь с наступлением половой зрелости. Под влиянием гормонов (см. ниже) происходит первое деление мейоза: хромосомы снова конденсируются, ядерная оболочка исчезает (этот момент обыкновенно принимают за начало созревания), и реплицированные гомологичные хромосомы расходятся в дочерние ядра, каждое из которых содержит теперь половину исходного числа хромосом (однако эти хромосомы отличаются от обычных тем, что состоят из двух сестринских хроматид). Но цитоплазма делится очень несимметрично, так что получаются два *ооцита второго порядка*, резко различающихся по величине: один представлен маленьким *полярным тельцем*, а другой — большой клеткой, в которой заложены все возможности для развития. И наконец, происходит второе деление мейоза: две сестринские хроматиды каждой хромосомы, полученной при первом делении, отделяются друг от друга в результате процесса, сходного с анафазой митоза, с той разницей, что теперь имеется лишь половина обычного диплоидного числа хромосом. После расхождения хромосом цитоплазма большого ооцита второго порядка вновь делится асимметрично, что ведет к образованию зрелой яйцеклетки и еще одного маленького полярного тельца; при этом обе клетки получают гаплоидное число одиночных хромосом. Благодаря двум несимметричным делениям цитоплазмы ооциты сохраняют большую величину, хотя они и претерпели два деления мейоза. Все полярные тельца очень малы, и они постепенно дегенерируют. На какой-то стадии описанного процесса, различной у разных видов, яйцеклетка освобождается из яичника (происходит *овуляция*).

Рис. 14-27. Схематический разрез яйца морского ежа; видно расположение кортикальных гранул. Обратите внимание на то, что вителлиновый слой покрыт студенистой оболочкой.

Рис. 14-28. Различные стадии оогенеза. Из первичных половых клеток, мигрирующих в яичник на ранней стадии эмбриогенеза, развиваются оогонии. После ряда митотических делений оогонии приступают к первому делению мейоза, и на этой стадии их называют уже ооцитами первого порядка. У млекопитающих ооциты первого порядка формируются очень рано и остаются на стадии профазы I до тех пор, пока самка не достигнет половой зрелости. После этого под влиянием гормонов периодически созревает небольшое число ооцитов, которые завершают первое деление мейоза и превращаются в ооциты второго порядка; последние претерпевают второе деление мейоза и становятся зрелыми яйцеклетками. Стадия, на которой яйцеклетка выходит из яичника и оплодотворяется, у разных животных различна.



14.3.4. Многие яйцеклетки достигают крупных размеров благодаря специальным механизмам [9, 10]

Небольшой соматической клетке диаметром 10 мкм обычно требуется около суток, для того чтобы удвоить массу при подготовке к делению. Той же клетке при таких же механизмах и скоростях синтеза макромолекул понадобилось бы очень много времени, чтобы достичь в тысячу раз большей массы, характерной для яйцеклетки млекопитающего (диаметр 100 мкм) или в миллион

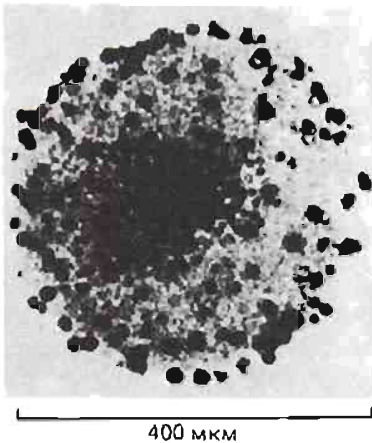


Рис. 14-29. Микрофотография изолированного ядра из яйца лягушки. Ядро окрашено крезильовым фиолетовым, чтобы можно было видеть множество ядрышек — результат чудовищной амплификации генов рибосомной РНК. (D. D. Brown, I. Dawid, Science, 160, 273–275, 1968.)

раз большей массы яйца насекомого (диаметр 1000 мкм). Между тем некоторые насекомые живут всего лишь несколько дней и ухитряются производить яйца величиной даже больше 1000 мкм. Ясно, что их яйцеклетки должны обладать особыми механизмами для достижения крупных размеров.

Одним из факторов, способствующих такому росту, является то, что у яйцеклеток многих животных завершение мейоза откладывается почти до самого конца созревания, так что эти яйцеклетки содержат удвоенный диплоидный набор хромосом в течение большей части периода их роста. Таким образом, они содержат больше ДНК для транскрипции, чем имеет средняя соматическая клетка в фазе G_1 клеточного цикла. Кроме того, сохраняя и отцовскую, и материнскую копии каждого гена, яйцеклетки избегают того риска, который создают рецессивные летальные мутации в одном из двух родительских хромосомных наборов; если бы яйцеклетке приходилось проводить долгое время в гаплоидном состоянии лишь с одной копией каждого гена, риск был бы очень велик, так как у большинства организмов имеются рецессивные летали.

В некоторых яйцеклетках процесс накопления дополнительной ДНК идет еще дальше, приводя к образованию добавочных копий определенных генов. В главе 8 мы уже видели, что для образования достаточного числа рибосом, на которых происходит синтез белков, соматическим клеткам большинства организмов требуется от 10 до 500 копий генов рибосомной РНК. Поскольку яйцеклетки нуждаются в еще большем количестве рибосом для белкового синтеза на ранних стадиях эмбриогенеза, в яйцах некоторых амфибий гены рРНК амплифицируются, образуя 1–2 млн. копий (рис. 14-29).

Рост многих яиц в какой-то степени зависит от биосинтетической активности других клеток яичника. Эту функцию в оогенезе в зависимости от вида организма выполняют клетки двух различных типов. У некоторых беспозвоночных имеются **клетки-кормилицы**; они обычно не просто окружают яйцеклетку, а соединены с ней цитоплазматическими мостиками, по которым макромолекулы могут прямо переходить в ее цитоплазму. Клетки-кормилицы синтезируют для яйцеклеток беспозвоночного животного такие компоненты (рибосомы, мРНК, белки и т. п.), которые у позвоночных яйцеклетка производила бы для себя сама. Но каким образом происходит перенос таких молекул в яйцеклетку? Одним из способов может быть электрофорез: удалось продемонстрировать передвижение молекул из клеток-кормилиц в ооцит, обусловленное разностью потенциалов между этими клетками.

У некоторых видов клетки-кормилицы происходят из той же оогонии, из которой образуется соединенный с ними ооцит. Например, у эмбриона *Drosophila* оогония претерпевает четыре митотических деления, в результате которых образуются 16 клеток. Одна из этих клеток становится яйцом, а другие превращаются в клетки-кормилицы и остаются соединенными друг с другом и с яйцом цитоплазматическими мостиками (рис. 14-30). В клетках-кормилицах происходит многократная репликация ДНК без деления самой клетки, поэтому каждая клетка постепенно достигает очень больших размеров, а количество ДНК в ней в тысячу раз превосходит обычную величину (такая ДНК находится в *полиплетных хромосомах*; см. разд. 8.1.12). Все 15 клеток-кормилиц, содержащих сотни или тысячи эквивалентов генома, синтезируют вещества, необходимые для одной-единственной яйцеклетки.

Еще один вид клеток, которые помогают обеспечить питание развивающихся ооцитов, — это **фолликулярные клетки**, имеющиеся у большинства позвоночных. Они расположены вокруг ооцита в виде эпителиального слоя (рис. 14-31) и связаны с ним щелевыми контактами, через которые могут проходить малые молекулы, но не макромолекулы (разд. 12.2.3). Хотя подобные клетки не могли бы через эти контакты снабжать ооцит готовыми макромолекулами, возможно, что они помогают обеспечить его малыми молекулами-предшественниками, из которых образуются макромолекулы.

Питанию ооцитов могут также способствовать клетки, находящиеся вне яичника. Например, один из важных компонентов крупной яйцеклетки — жел-

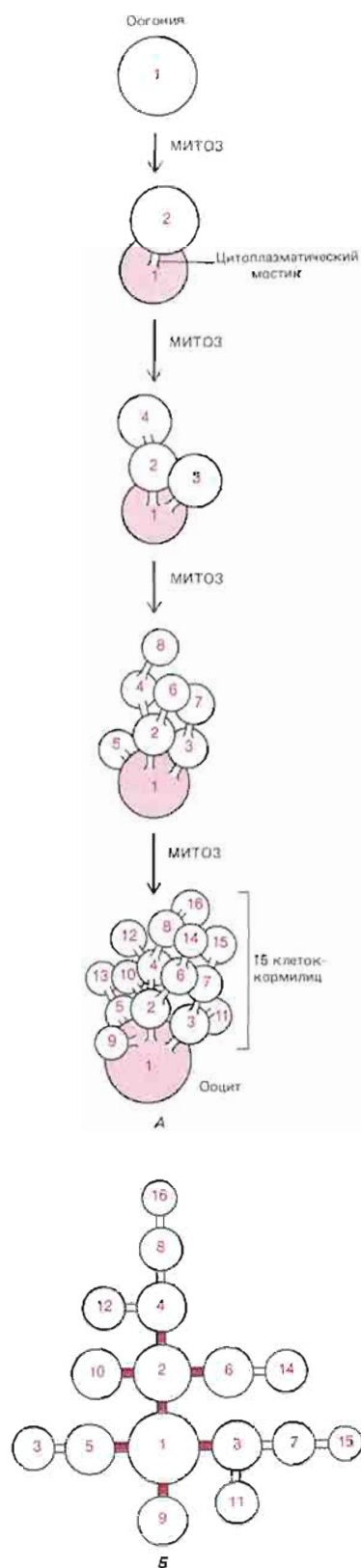


Рис. 14-30. Эта схема показывает, как из одной оогонии *Drosophila* образуется 15 клеток-кормилиц и один большой ооцит; все они связаны между собой цитоплазматическими мостиками (А). При каждом митозе все клетки однократно делятся: при первом митозе из клетки 1 образуются клетки 1 и 2; при втором митозе из клетки 1 образуются клетки 1 и 3, а из клетки 2 — клетки 2 и 4 и т.д. В яйцеклетку превращается только клетка 1 или 2; возможно, это связано с тем, что только эти клетки соединены межклеточными мостиками с четырьмя другими (Б). Во время созревания яйца клетки-кормилицы становятся чрезвычайно крупными, они образуют большие количества рибосом и макромолекул и «накачивают» их внутрь ооцита по цитоплазматическим мостикам.

ток — обычно синтезируется не в яичнике. У кур, амфибий и насекомых белковые вещества желтка образуются в клетках печени (или их функциональных аналогах), которые выделяют эти вещества в кровь. Ооциты, находящиеся в яичниках, извлекают эти будущие белковые компоненты желтка из внеклеточной жидкости путем эндоцитоза при участии специфических рецепторов (см. рис. 6-74).

14.3.5. Созревание яйцеклетки и овуляцию индуцируют гормоны [9, 11]

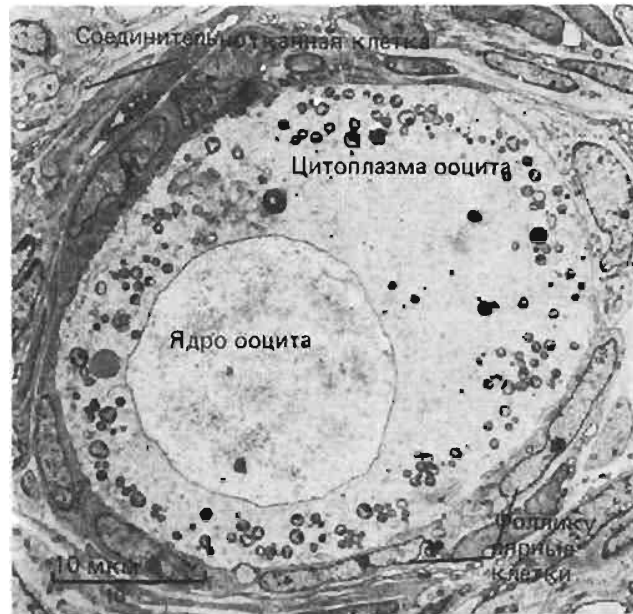
Вклад окружающих яйцо клеток в его развитие не ограничивается питанием: и у беспозвоночных, и у позвоночных эти клетки реагируют на полипептидные гормоны (гонадотропины), образующиеся в других частях организма; таким образом, созревание ооцита и (у большинства видов) овуляция находятся под контролем этих гормонов.

Гормональный контроль созревания яйцеклетки и овуляции особенно хорошо изучен у морских звезд и амфибий. У этих животных гонадотропные гормоны стимулируют определенные клетки яичника, побуждая их выделять вторичный медиатор, который в свою очередь воздействует на ооциты и индуцирует процесс их созревания. У морских звезд таким медиатором служит *1-метиладенин*, а у амфибий — стероидный гормон *прогестерон*. Вторичный медиатор связывается рецепторами клеточной поверхности на плазматической мембране ооцита и стимулирует созревание последнего, возможно, путем повышения концентрации свободных ионов Ca^{2+} в ооците в результате освобождения их из внутриклеточного «хранилища». О такой роли Ca^{2+} в созревании яйцеклетки свидетельствуют следующие эксперименты: 1) введение ионов Ca^{2+} в цитозоль яйцеклетки индуцирует ее созревание в отсутствие гормонов, тогда как введение связывающих кальций соединений (например, ЭГТА) предотвращает созревание даже в присутствии гормонов; 2) если в яйцо морской звезды или амфибии ввести связывающий Ca^{2+} белок экворин (который излучает свет при связывании ионов кальция), то присоединение медиатора, индуцирующего созревание, к поверхностным рецепторам яйца будет сопровождаться кратковременной вспышкой света.

У человека развитие ооцитов и процессы их созревания и овуляции при воздействии гонадотропинов значительно более сложны и гораздо меньше изучены. Ооциты первого порядка у новорожденной девочки остановлены в профазе I мейоза, и большая их часть окружена одним слоем фолликулярных клеток; такой ооцит вместе с этими клетками представляет собой примордиальный фолликул (рис. 14-31).

За некоторое время до рождения небольшая доля примордиальных фолликулов последовательно начинает расти, превращаясь в развивающиеся фолликулы: их клетки увеличиваются и размножаются, образуя вокруг ооцита первого порядка многослойную оболочку; сам ооцит растет, и у него

Рис. 14-31. Примордиальный фолликул кролика, состоящий из центрального ооцита, который окружен одним слоем уплотненных фолликулярных клеток (электронная микрофотография). Фолликул в свою очередь окружен соединительной тканью яичника. Обратите внимание, что на этой стадии развития ооцит первого порядка не имеет зона pellucida и кортикальных гранул. (J. Van Blerkom, P. Motta, Cellular Basis of Mammalian Reproduction, Baltimore: Urban a. Schwarzenberg, 1979.)



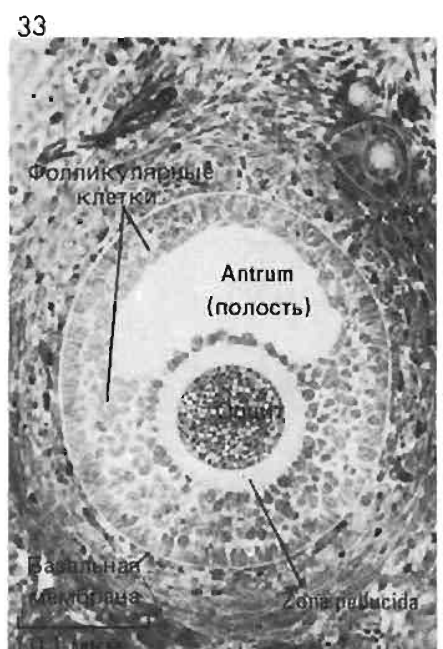
формируются зона pellucida и кортикальные гранулы (рис. 14-32). Развивающиеся фолликулы длительное время растут, и в некоторых из них образуется наполненная жидкостью полость, или antrum; при этом они превращаются в антральные фолликулы (рис. 14-33). Перед наступлением половой зрелости все примордиальные фолликулы, которые начали расти, дегенерируют в яичнике на разных стадиях развития.

Чем индуцируется первоначальный рост отдельных примордиальных фолликулов, неизвестно, но полагают, что гормональная стимуляция не имеет к этому отношения. С другой стороны, продолжение развития таких фолликулов, вероятно, зависит от гонадотропных гормонов гипофиза [в основном от фолликулостимулирующего гормона (ФСГ)] и от эстрогенов, секретируемых

Рис. 14-32. Микрофотография созревающего фолликула в яичнике крольчихи. Ооцит первого порядка уже имеет кортикальные гранулы (на этом фото они плохо видны), а также узкую зону pellucida и окружен слоями фолликулярных клеток. Самые внутреннее фолликулярные клетки имеют отростки, которые проходят сквозь зону pellucida и образуют щелевые контакты с ооцитом. Весь фолликул окружен базальной мембраной. (J. Van Blerkom, P. Motta, Cellular Basis of Mammalian Reproduction, Baltimore: Urban a. Schwarzenberg, 1979.)



Рис. 14-33. Микрофотография антрального фолликула в яичнике крольчихи. Обратите внимание на небольшой примордиальный фолликул в верхнем правом углу. (J. Van Blerkom, P. Motta, Cellular Basis of Mammalian Reproduction, Baltimore, Urban a. Schwarzenberg, 1979.)



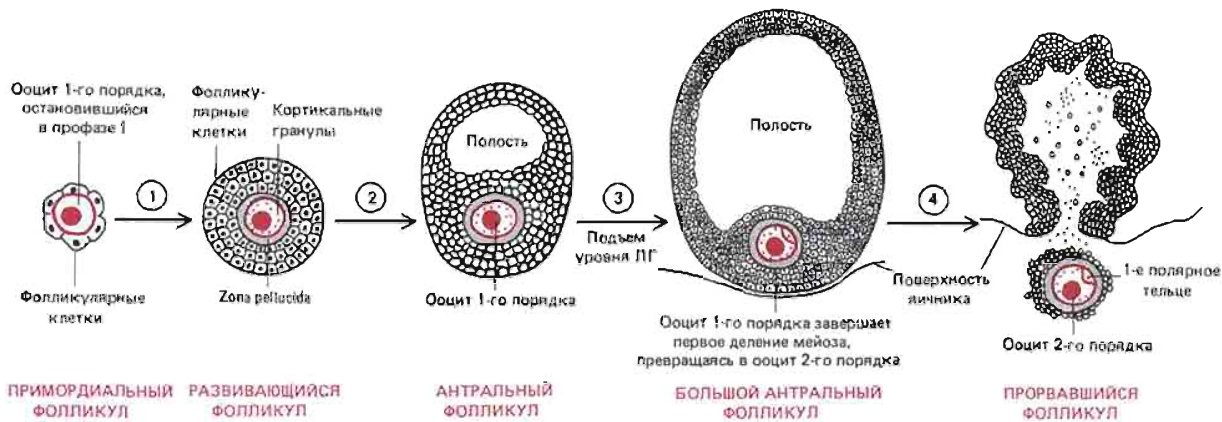


Рис. 14-34. Здесь схематически показаны стадии развития ооцита у человека. 1. До рождения небольшая доля примордиальных фолликулов последовательно начинает расти, и эти фолликулы называют теперь развивающимися. 2. После какого-то периода непрерывного роста некоторые из развивающихся фолликулов накапливают жидкость, превращаясь в антральные фолликулы. 3. С наступлением половой зрелости раз в месяц воля выделяемого гипофизом лютеинизирующего гормона (ЛГ) побуждает один антральный фолликул к созреванию: ооцит первого порядка, находящийся в этом фолликуле, завершает первое деление мейоза, образуя полярное тельце и превращаясь в ооцит второго порядка. 4. Ооцит второго порядка вместе с полярным тельцем и частью окружающих фолликулярных клеток освобождается в тот момент, когда фолликул разрывается на поверхности яичника. Ооцит второго порядка претерпевает второе деление мейоза только в том случае, если он будет оплодотворен.

самими фолликулярными клетками. После полового созревания раз в месяц (примерно в середине менструального цикла) резкий подъем уровня другого гонадотропина – *лютеинизирующего гормона (ЛГ)*, выделяемого гипофизом, стимулирует завершение развития одного (и только одного!) антрального фолликула: заключенный в нем ооцит первого порядка созревает, заканчивая первое деление мейоза; при этом стимулированный фолликул быстро увеличивается в размерах и разрывается на поверхности яичника, освобождая находящийся внутри него ооцит – теперь уже второго порядка (рис. 14-34). У большинства млекопитающих инициация второго деления мейоза у ооцитов второго порядка происходит лишь тогда, когда он будет оплодотворен спермием.

Каким образом подъем уровня ЛГ, происходящий в середине менструального цикла, инициирует созревание ооцита? Фолликулярные клетки антральных фолликулов соединены друг с другом и с ооцитом щелевыми контактами, и один из эффектов ЛГ состоит в том, что такая связь фолликулярных клеток с ооцитом разрывается. Было высказано предположение, что фолликулярные клетки обычно предотвращают созревание ооцита в развивающемся антральном фолликуле с помощью ингибирующего вещества, которое поступает из них в ооцит через щелевые контакты: резкий подъем уровня ЛГ стимулирует созревание яйцеклетки, отделяя ооцит от окружающих его клеток, в результате чего количество ингибитора в ооците падает.

Одна из загадочных особенностей созревания ооцита у приматов состоит в том, что *только один* из многочисленных антральных фолликулов, имеющих в яичниках к моменту ежемесячного выброса ЛГ, стимулируется к созреванию и освобождает ооцит: остальные обречены на дегенерацию. Вероятно, тотчас же после активации фолликула вступает в действие некий механизм обратной связи, благодаря которому никакой другой фолликул не может созреть в том же цикле.

14.3.6. Оогенез – процесс удивительно экономный [12]

У человеческого плода женского пола в первые месяцы внутриутробного развития в яичниках переходит около 1700 первичных половых клеток. На протяжении нескольких месяцев эти оогонии размножаются, образуя около 7 млн. клеток; затем их размножение прекращается, и они вступают в профазу I мейоза. Однако большинство оогоний оказывается не в состоянии превратиться в ооциты первого порядка и дегенерирует в яичнике. Кроме того, дегенерирует также большое число ооцитов, уже начавших развиваться, так что к моменту рождения в яичниках остается лишь около двух миллионов ооцитов первого порядка. Такая гибель ооцитов, задерживающихся в профазе мейоза, продолжается на протяжении всего репродуктивного периода жизни

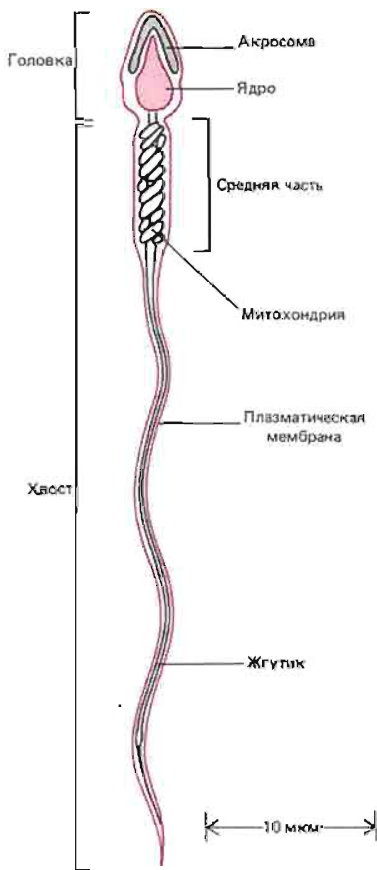
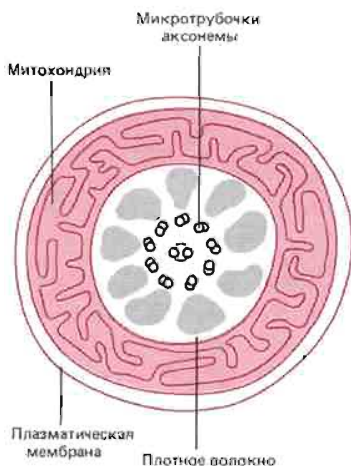


Рис. 14-35. Сперматозоид человека, схематически представленный в продольном разрезе.



женщины: количество примордиальных фолликулов постепенно начинает увеличиваться, но больше 99,9% их не завершают своего развития и дегенерируют. Ко времени полового созревания в яичниках имеется лишь около 300 000 первичных ооцитов, а к менопаузе их остается лишь считанное число.

После наступления половой зрелости ежемесячно стимулируется созревание – завершение развития и овуляция – одного фолликула. Это означает, что в течение примерно 40-летнего репродуктивного периода у женщины выделится лишь 400–500 яйцеклеток. Все оставшиеся дегенерируют. До сих пор остается загадкой, почему огромное большинство яйцеклеток формируется лишь для того, чтобы погибнуть в яичниках.

Зрелые яйцеклетки, освобождающиеся из яичника (при овуляции) к концу репродуктивного периода, проводят в остановленной профазе I от 40 до 50 лет. Дефекты, возникающие за это время в яйцеклетке, могли бы быть причиной высокой частоты генетических аномалий среди детей, рожденных немолодыми женщинами. Например, у женщин старше 40 лет рождается 1% детей с синдромом Дауна – результатом наличия лишней копии 21-й хромосомы из-за нерасхождения соответствующих гомологов при делении ядра созревающего ооцита в мейозе I.

14.3.7. Спермии отлично приспособлены для внесения своей ДНК в яйцеклетку [13]

Если яйцеклетка – самая крупная клетка организма, то спермий (или сперматозоид) обычно меньше всех других клеток. Он выполняет две основные функции: вводит в яйцеклетку гаплоидный набор хромосом для половой рекомбинации и запускает программу развития яйцеклетки. Обладающий компактной, обтекаемой формой сперматозоид снабжен мощным жгутиком, благодаря которому он движется в водной среде (рис. 14-35). Но, несмотря на все это, подавляющее большинство этих клеток не выполняет своей миссии: из сотен миллионов спермиев, выделяемых самцом, лишь немногим удастся оплодотворить яйцеклетку.

Большинство спермиев – это клетки, «избавленные от всего лишнего», не обремененные такими цитоплазматическими органеллами, как рибосомы, эндоплазматический ретикулум или аппарат Гольджи, присутствия которых не требуется для передачи ДНК яйцеклетке. С другой стороны, спермии содержат много митохондрий, расположенных в тех местах, где они могут наиболее эффективно снабжать энергией жгутик. Спермий обычно состоит из двух морфологически и функционально различающихся частей, заключенных в единую плазматическую мембрану: из головки, содержащей необычайно сильно уплотненное гаплоидное ядро, и хвоста, который продвигает всю клетку по направлению к яйцу и способствует прохождению головки через яйцевую оболочку. ДНК в ядре неактивна и исключительно плотно упакована, так что объем ее доведен до минимума. Хромосомы многих сперматозоидов обходятся даже без гистонов, свойственных соматическим клеткам, – вместо этого здесь имеются простые белки, обладающие большим положительным зарядом.

В головке спермия, вплотную к передней части ядерной мембраны, располагается специализированный секреторный пузырек, называемый акросомой

Рис. 14-36. Средняя часть сперматозоида млекопитающего в поперечном разрезе (по данным электронной микроскопии). Жгутик состоит из аксонемы и девяти окружающих ее плотных волокон. Аксонема построена из двух одиночных микротрубочек, окруженных девятью двойными микротрубочками. Обратите внимание, что плотные волокна как бы обернуты митохондрией, так что расположение последней отлично обеспечивает доставку АТФ, необходимого для движения жгутика.

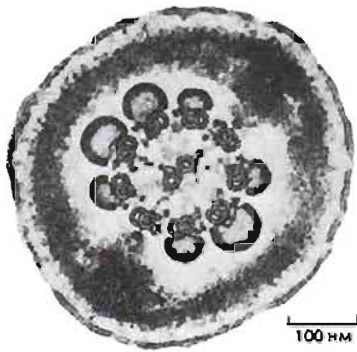


Рис. 14-37. Поперечный срез жгутика сперматозоида морской свинки (электронная микрофотография). Обратите внимание на то, что в представленном здесь участке жгутика два из девяти плотных волокон оканчиваются и сливаются с внешней волокнистой оболочкой. (С любезного разрешения Daniel S. Friend.)

(рис. 14-35). Этот пузырек содержит гидролитические ферменты, позволяющие спермию проникнуть сквозь наружные яйцевые оболочки. Когда его головка приходит в контакт с яйцеклеткой, содержимое акросомы высвобождается путем экзоцитоза (так называемая *акросомальная реакция*). У беспозвоночных в ходе этой реакции выводятся наружу специфические белки, прочно прикрепляющие спермий к яйцевой оболочке.

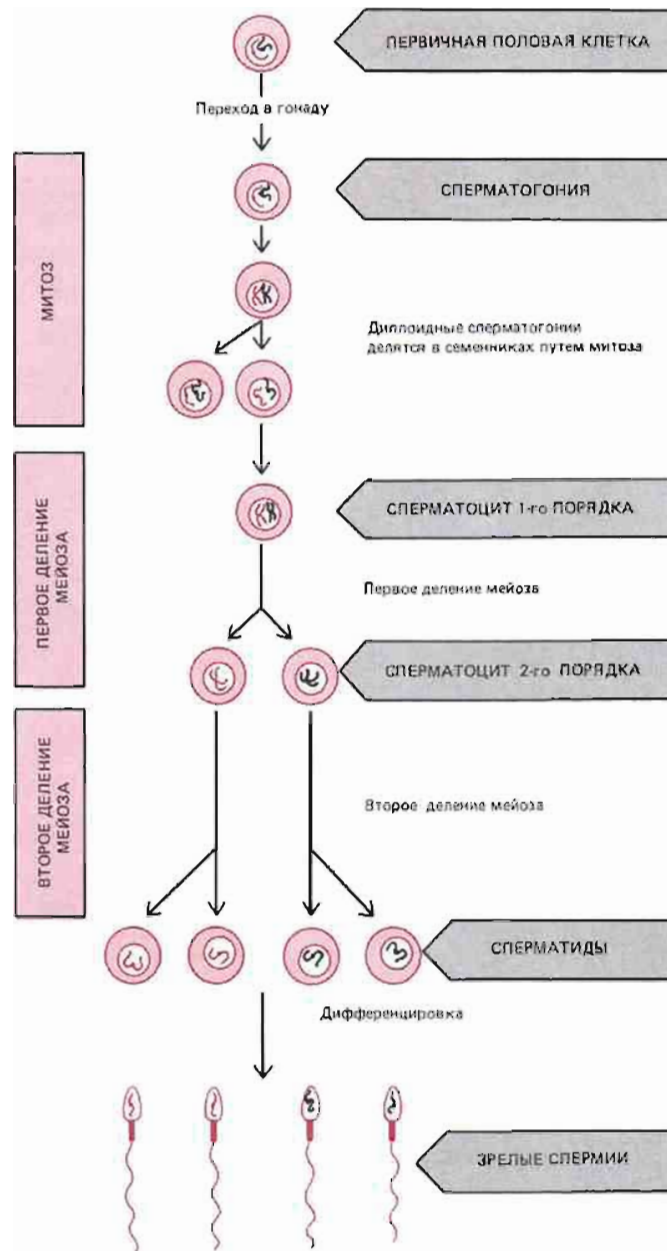
Подвижный хвост спермия представляет собой длинный жгутик, аксонема которого начинается от базального тельца, расположенного сразу за ядром. Ранее (разд. 10.2.2) уже говорилось, что аксонема состоит из двух одиночных центральных микротрубочек, окруженных девятью равноотстоящими друг от друга дублетами микротрубочек. У некоторых животных (в том числе у млекопитающих) жгутик спермия отличается от других жгутиков тем, что вокруг его аксонемы лежат еще девять внешних плотных волокон, так что вместо обычной схемы $9 + 2$ мы имеем здесь схему $9 + 9 + 2$ (рис. 14-36 и 14-37). Эти плотные волокна жестки и не способны сокращаться; не известно, способны ли они энергичным изгибам жгутика, которые вызываются скольжением соседних дублетов микротрубочек относительно друг друга (разд. 10.2.5). Энергию для движения жгутика доставляет гидролиз АТФ, синтезируемого высокоспециализированными митохондриями, которые находятся именно там, где они больше всего нужны, — в передней части хвоста (называемой *средней частью* сперматозоида) (рис. 14-35 и 14-36).

14.3.8. У многих млекопитающих спермии образуются постоянно [14]

Между процессами образования яйцеклеток (оогенез) и спермиев (сперматогенез) существует ряд важных различий. Например, мы уже говорили о том, какое множество первичных половых клеток образуется в яичниках еще на ранней стадии эмбриогенеза только для того, чтобы впоследствии получилось ограничиваемое число ооцитов, из которых лишь время от времени в результате завершения мейоза будут формироваться единичные зрелые яйцеклетки. С другой стороны, сперматогенез начинается только после полового созревания и затем непрерывно продолжается в эпителиальной выстилке очень длинных, сильно извитых трубочек, называемых *семенными канальцами*, которые находятся в семенниках. Незрелые половые клетки, называемые *сперматогониями*, располагаются на самой периферии канальца, у базальной мембраны, где они все время делятся путем митоза. Некоторые из дочерних клеток перестают делиться и дифференцируются в *сперматоциты первого порядка*. Эти клетки вступают в профазу I мейоза, в которой происходит кроссинговер между их спаренными гомологичными хромосомами, а затем заканчивают первое деление, образуя по два сперматоцита второго порядка; у человека каждый из них содержит 22 дублированные аутосомы и одну дублированную хромосому X или Y. Каждая хромосома по-прежнему состоит из двух сестринских хроматид, и когда оба сперматоцита второго порядка претерпевают второе деление мейоза, образуются четыре *сперматиды* с гаплоидным числом одиночных хромосом. Затем такие гаплоидные сперматиды в результате морфологической дифференцировки превращаются в зрелые спермии, которые выходят в просвет семенного канальца (рис. 14-38 и 14-39), а позднее — в придаток семенника, где накапливаются и где продолжается их созревание.

Одна из загадочных и уникальных особенностей спермиев состоит в том, что в процессе их развития митотические и мейотические деления не сопровождаются полным, доведенным до конца делением цитоплазмы (цитокinesis); поэтому все дочерние клетки, за исключением наименее дифференцированных сперматогоний, соединены цитоплазматическими мостиками (рис. 14-40). Такие мостики остаются до самого конца дифференцировки спермиев, т.е. до того момента, когда отдельные сперматозоиды переходят в просвет канальцев. Это означает, что все потомки одной сперматогонии сохраняют цито-

Рис. 14-38. Различные стадии сперматогенеза. Сперматогонии развиваются из первичных половых клеток, мигрирующих в семенники на ранней стадии эмбрионального развития. Когда животное достигает половой зрелости, сперматогонии делятся путем митоза, непрерывно восполняя убыль этих клеток, а некоторые приступают к мейозу, превращаясь в сперматозиды первого порядка, а затем продолжают первое деление мейоза и становятся сперматозитами второго порядка. После завершения второго деления мейоза они превращаются в гаплоидные сперматиды, дифференцирующиеся в зрелые спермии. Обратите внимание, что сперматогенез отличается от оогенеза (рис. 14-28) в двух отношениях: 1) после полового созревания в мейоз непрерывно вступают новые клетки и 2) из каждой приступившей к мейозу клетки образуется не одна гамета, а четыре.



плазматическую связь между собой в течение всего периода дифференцировки. (Группа клеток, связанных подобным образом, называется *синцитием*.) Это позволяет понять, почему в любом данном участке семенного канальца зрелые спермии появляются синхронно. Но какова функция синцитиальной организации?

14.3.9. Ядра спермиев гаплоидны, однако процессом дифференцировки этих клеток управляет диплоидный геном [15]

В отличие от яйцеклеток у сперматозоидов большая часть дифференцировки осуществляется после того, как они завершают мейоз и становятся гаплоидными. Цитоплазматические мостики между ними представляют собой

Рис. 14-39. Семенной каналец млекопитающего в поперечном разрезе (схематическое изображение). Делящиеся сперматогонии находятся вблизи базальной мембраны. Некоторые из этих клеток перестают делиться путем митоза и приступают к мейозу, превращаясь в сперматоциты первого порядка. В конце концов зрелые спермии выходят в просвет каналаца. У человека мейоз занимает около 24 дней, а всё развитие четырех зрелых спермиев из сперматогонии – около 9 недель.

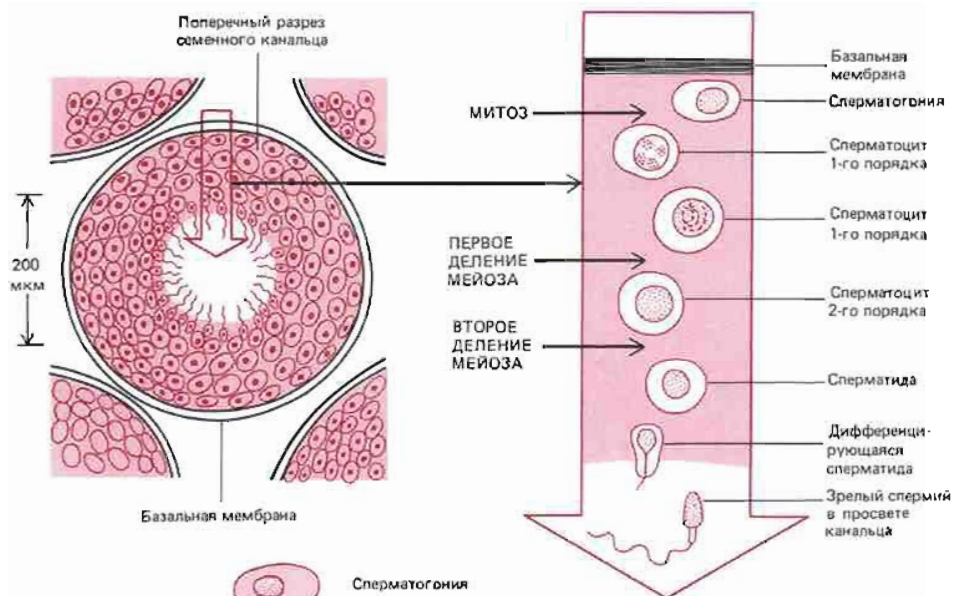
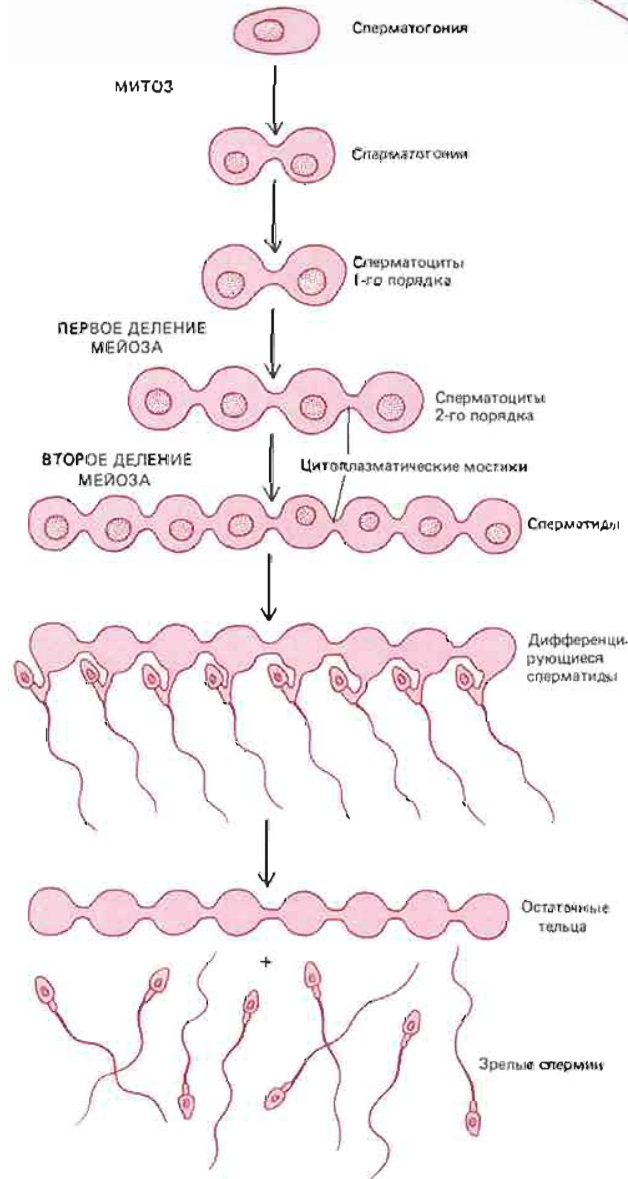


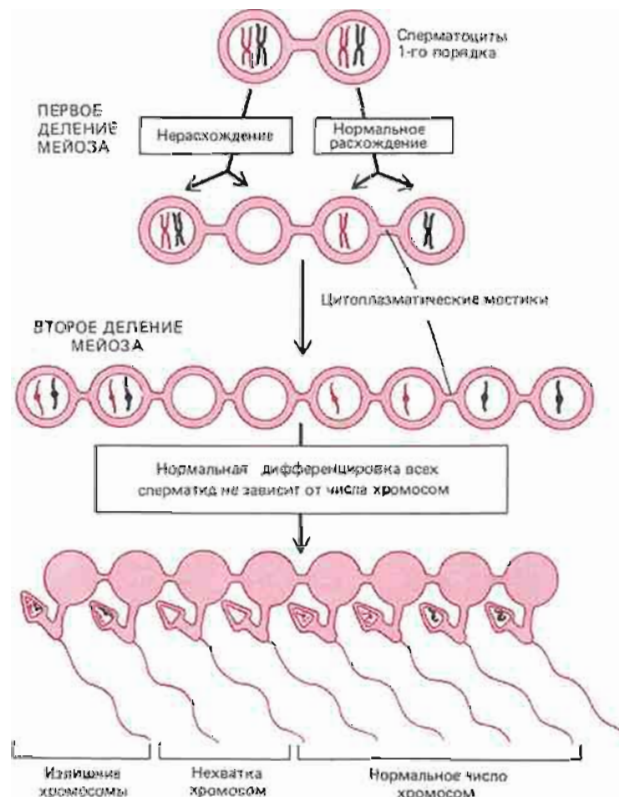
Рис. 14-40. Эта схема показывает, каким образом потомки одной сперматогонии на протяжении всего периода их дифференцировки в зрелые спермии остаются связанными друг с другом цитоплазматическими мостиками. Для простоты показаны только две соединенные сперматогонии, из которых в конечном счете образуются восемь связанных между собой гаплоидных сперматид. На самом деле число связанных клеток, проходящих два деления мейоза и совместно дифференцирующихся, значительно больше, чем здесь показано.



механизм, благодаря которому каждый развивающийся гаплоидный спермий, имея со своими соседями общую цитоплазму, может получать весь набор продуктов полного диплоидного генома. Это может быть необходимо по двум причинам. Во-первых, в исходном диплоидном геноме, как правило, содержится некоторое число дефектных аллелей – рецессивных летальных мутаций; гаплоидная клетка, получившая один из этих дефектных аллелей, весьма вероятно, погибнет, если она не будет обеспечена продуктами нормального аллеля, закодированными в других ядрах, которые его содержат. Во-вторых, часто генетический материал не поровну распределяется между ядрами образующихся при мейозе спермиев. Например, у человека одни спермии получают при мейозе X-хромосому, а другие – Y-хромосому. Поскольку X-хромосома содержит много весьма важных генов, отсутствующих в Y-хромосоме, можно думать, что если бы не цитоплазматические мостики между развивающимися спермиями, то те из них, которые получили Y-хромосому, не выжили бы, и в результате в следующем поколении не было бы ни одного мужчины.

И в самом деле, имеются прямые экспериментальные данные о том, что дифференцировкой спермиев управляют продукты диплоидного генома. Часть таких данных была получена при исследовании мутантов *Drosophila*, у которых в процессе мейоза хромосомы неравномерно распределяются между дочерними клетками; в результате одни сперматозоиды содержат слишком мало хромосом, другие – слишком много, а у некоторых их вообще нет. Поразительно то, что дифференцировка всех этих клеток, даже тех, в которых вовсе нет хромосом, протекает нормально (рис. 14-41). Этот факт можно объяснить на основе упомянутого выше предположения: продукты недостающих хромосом могли бы доставляться путем диффузии по цитоплазматическим мостикам, связывающим соседние клетки. Не исключено и иное объяснение: в диплоидных сперматогониях или сперматоцитах первого порядка

Рис. 14-41. Схема сперматогенеза у мутантов *Drosophila*, у которых хромосомы в мейозе часто неравномерно распределяются между дочерними клетками, так что в некоторые клетки попадет слишком много хромосом, а в другие – слишком мало или даже ни одной. Причиной совершенно нормального развития всех спермиев, даже тех, у которых нет хромосом, может быть то, что продукты недостающих хромосом поступают из соседних клеток через цитоплазматические мостики. Для простоты показана только одна пара хромосом.



могут заранее, еще до мейоза, создаваться «инструкции» для дифференцировки спермиев (предположительно в виде долгоживущих мРНК), так что нет необходимости в функционировании гаплоидного генома в период самой дифференцировки. Независимо от того, какое из этих объяснений верно, очевидно, что при дифференцировке спермиев используются продукты обоих хромосомных наборов, хотя собственное ядро клетки при этом гаплоидно.

Заключение

Яйцеклетка запрограммирована на образование нового отдельного организма после ее активации спермием. Многие яйцеклетки вырастают до огромных размеров благодаря поступлению в них макромолекул (например, желточного белка), синтезируемых в других местах, а также благодаря содействию окружающих клеток в питании яйца. Яйцеклетки развиваются из первичных половых клеток, которые на ранней стадии развития организма мигрируют в яичник и превращаются там в оогонии. После периода митотического размножения оогонии становятся ооцитами первого порядка, которые, вступив в первое деление мейоза, задерживаются в профазе I на время, измеряемое сутками или годами в зависимости от вида организма. В период этой задержки ооцит накапливает рибосомы и макромолекулы. Дальнейшее развитие (созревание яйцеклетки) зависит от полипептидных гормонов (гонадотропинов), которые, воздействуя на окружающие каждый ооцит вспомогательные клетки, побуждают их индуцировать созревание небольшой части ооцитов. Эти индуцированные ооциты первого порядка завершают первое деление мейоза, образуя маленькое полярное тельце и крупный ооцит второго порядка; позже этот последний проходит второе деление мейоза и образует второе маленькое полярное тельце и большую зрелую яйцеклетку. Стадия, на которой развивающийся ооцит выходит из яичника и становится готовым к оплодотворению, у разных животных различна.

Спермий (сперматозоид) в высокой степени специализирован для функции внесения своей ДНК в яйцо. Это маленькая и компактная клетка с необычайно сильно сконденсированным ядром и длинным жгутиком. Сперматогенез отличается от оогенеза в нескольких важных отношениях. Во-первых, в то время как у многих организмов весь пул ооцитов образуется еще на ранней стадии эмбрионального развития самки, у самцов после наступления половой зрелости в мейоз непрерывно вступают все новые и новые половые клетки. Во-вторых, если из каждого ооцита первого порядка образуется лишь одна зрелая яйцеклетка (а три остальных гаплоидных ядра, образовавшихся в мейозе, дегенерируют), то каждый сперматозоид первого порядка дает начало четырем зрелым спермиям. В-третьих, поскольку при митотическом делении зрелых сперматогоний в мейозе всех сперматозоитов цитокinesis не доводится до конца, потомки одной сперматогонии развиваются в виде синцития, сохраняя непрерывность цитоплазмы на протяжении всего развития. В связи с этим дифференцировка спермиев может контролироваться продуктами хромосом от обоих родителей, хотя спермий в отличие от яйцеклетки проходит конечные этапы развития в гаплоидном состоянии.

14.4. Оплодотворение [16]

После своего выхода из гонады как яйцеклетка, так и спермий обречены на гибель в считанные часы, если они не отыщут друг друга и не сольются в процессе оплодотворения. Оплодотворение спасает эти клетки от гибели: яйцеклетка активируется и приступает к осуществлению программы развития, а ядра двух гамет сливаются, завершая тем самым половой процесс. Большая часть того, что нам известно об оплодотворении, — это результат исследований на морских беспозвоночных, в особенности на морских ежах (рис. 14-42). В то время как у млекопитающих оплодотворение происходит в половых пу-

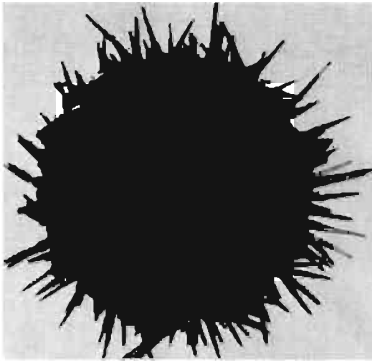


Рис. 14-42. Фотография морского ежа (почти в натуральную величину). (С любезного разрешения David Epel.)

тах самки после спаривания, у морских ежей оно осуществляется в морской воде, куда выводятся и сперматозоиды, и яйца. Это делает процесс гораздо более доступным для изучения. Кроме того, поскольку такое *наружное оплодотворение* – дело случая, эти водные организмы производят огромное число гамет. У самки типичного морского ежа в организме содержится несколько миллионов яиц, а у самца – несколько миллиардов спермиев, что дает возможность получать гаметы морского ежа в очень больших количествах в виде чистых популяций, где все клетки находятся на одинаковой стадии развития. При смешении гамет различные этапы взаимодействия спермиев с яйцеклетками начинаются синхронно с точностью до секунд.

Несмотря на огромную эволюционную дистанцию, которая отделяет млекопитающих от морских ежей, процесс оплодотворения у тех и у других, судя по некоторым данным, весьма сходен.

14.4.1. Для того чтобы спермий мог оплодотворить яйцеклетку, он должен быть активирован [17]

Яйцеклетка и спермий специализированы для слияния, однако здесь важно то, что они сливаются только между собой, но не с другими клетками организма. Обе клетки используют специальные механизмы, обеспечивающие спе-

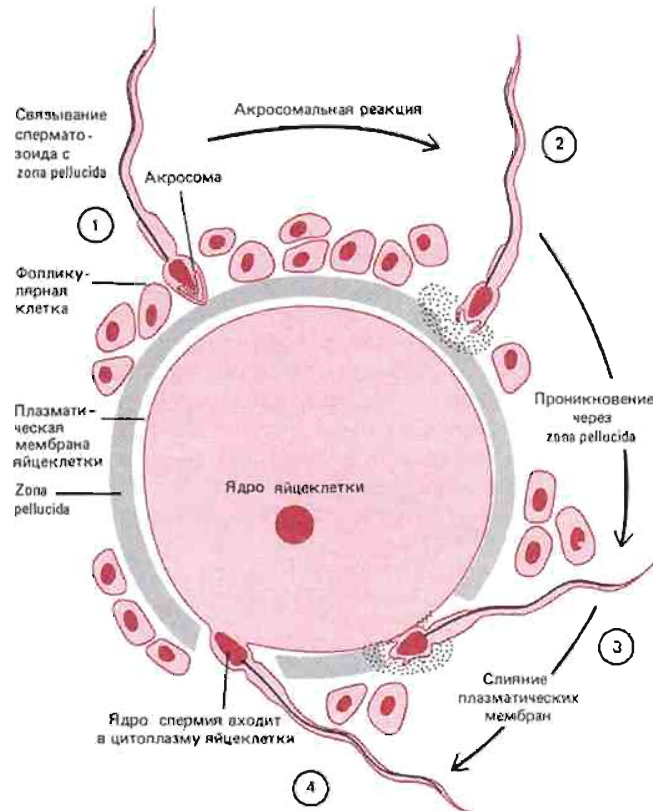


Рис. 14-43. Ход акросомальной реакции при оплодотворении яйцеклетки млекопитающего. Полагают, что как за связывание спермия, так и за индукцию акросомальной реакции ответственен один и тот же гликопротеин zona pellucida. Обратите внимание на то, что спермий млекопитающего подходит к плазматической мембране яйцеклетки по касательной, так что слияние мембран происходит не на верхушке головки сперматозоида, а на ее боковой поверхности.



Рис. 14-44. Спермий морской свинки, входящий в яйцеклетку после слияния плазматических мембран обеих гамет. (Электронная микрофотография, любезно предоставленная Daniel S. Friend.)

Рис. 14-45. На этой схеме показаны подробности акросомальной реакции у морского ежа. При соприкосновении спермия со студенистой оболочкой яйца содержимое акросомы высвобождается путем экзоцитоза (1), после чего следует бурная полимеризация актина, в результате которой образуется длинный акросомальный отросток, проникающий в студенистую оболочку (2). Вышедшие из акросомы белки (показаны черными точками) прилипают к поверхности акросомального отростка и служат как для связывания спермия с вителлиновым слоем, так и для разрушения этого слоя (3). Когда бывшая акросома (мембрана которой образует теперь верхушку акросомального отростка) приходит в контакт с плазматической мембраной яйца, две мембраны сливаются, происходит распад актиновых нитей и спермий проникает в яйцо (4).

цифичность слияния. Спермий может слиться только с яйцеклеткой, так как ее поверхность (плазматическая мембрана) покрыта оболочкой из особого не-клеточного вещества – вителлиновым слоем, или *zona pellucida*, – через которую могут проходить лишь спермии того же вида. Сперматозоиды млекопитающих не способны оплодотворить яйцеклетку, пока они не подвергнутся процессу, называемому **капаситацией**, который индуцируется выделениями женского полового тракта. Механизм капаситации не ясен; возможно, она связана с изменением в липидном составе плазматической мембраны спермия. Капаситированный спермий специфически связывается одним из главных гликопротеинов *zona pellucida*, который, как полагают, инициирует у спермия **акросомальную реакцию**. При этой реакции содержимое акросомы выводится в окружающее пространство. Среди высвобождающихся молекул имеются гидролитические ферменты, которые облегчают проникновение спермия через *zona pellucida*, так что он получает доступ к плазматической мембране яйцеклетки, с которой может слиться (рис. 14-43 и 14-44).

У беспозвоночных, например у морских ежей, акросомальная реакция тоже играет важную роль в оплодотворении, и о ее механизмах у этих животных известно значительно больше. В то время как у млекопитающих с яйцеклеткой раньше всего сливается экваториальная (расположенная за акросомой) поверхность головки спермия (рис. 14-43), у морских беспозвоночных первой сливается с яйцом мембрана акросомы. Эта мембрана, которая обычно находится внутри головки, оказывается на ее поверхности лишь тогда, когда она сливается с наружной мембраной во время акросомальной реакции. Такое слияние мембран обычно сопровождается образованием длинного содержащего актин **акросомального отростка**, который вытягивается из переднего конца спермия. Как показано на рис. 14-45, кончик этого отростка покрывается компонентами бывшей мембраны акросомы, а также содержимым акросомы, включающим как специфические белки, обеспечивающие связывание верхушки отростка с вителлиновым слоем (см. ниже), так и гидролитические ферменты, с помощью которых спермий прокладывает себе путь через этот слой к плазматической мембране яйцеклетки. При контакте мембрана на кончике акросомального отростка сливается с мембраной яйцеклетки, что позволяет ядру сперматозоида войти в яйцеклетку (рис. 14-46).

У спермиев морского ежа акросомальную реакцию вызывает полисахаридный компонент (полимер сульфатированной фруктозы) студенистой оболочки яйца: если выделить это вещество из яиц и добавить его к сперматозоидам того же вида, оно за несколько секунд инициирует обычную акросомальную реакцию. По-видимому, этот полисахарид вызывает приток ионов Ca^{2+} в головку спермия, что ведет к высвобождению содержимого акросомы

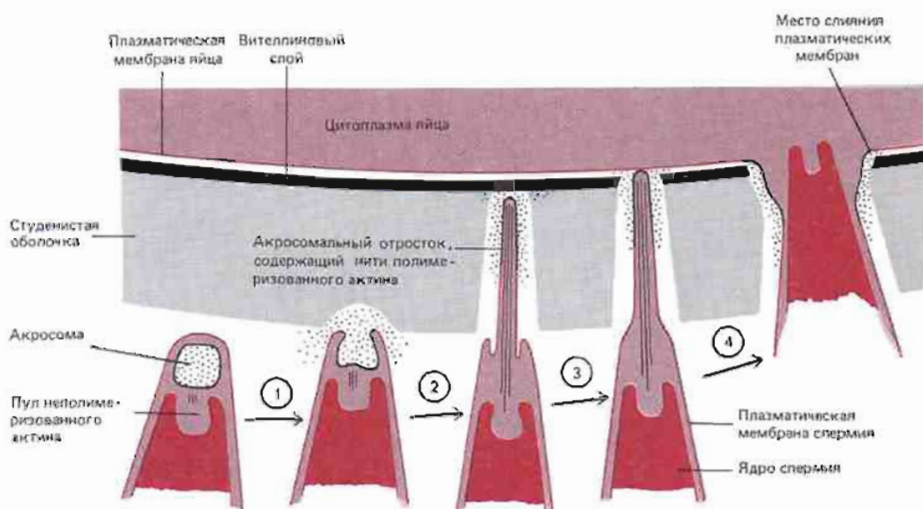
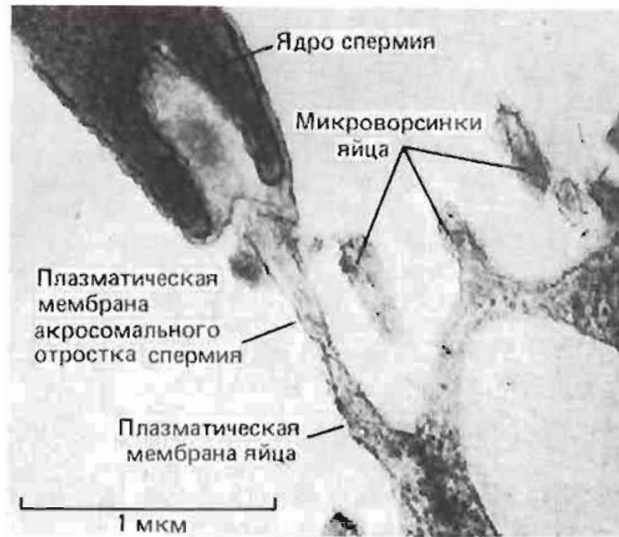


Рис. 14-46. Один из моментов в процессе оплодотворения яйца морского ежа спермием (электронная микрофотография). Мембрана на верхушке акросомального отростка слилась с плазматической мембраной яйца на кончике одной из микроворсинок его поверхности. Неоплодотворенное яйцо морского ежа покрыто более чем 100 000 микроворсинками. (С любезного разрешения Frank Collins.)

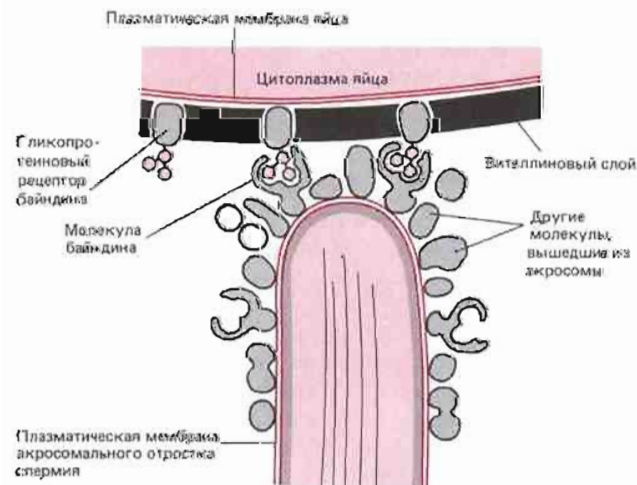


путем экзоцитоза. В то же время приток Ca^{2+} индуцирует отток H^+ в обмен на Na^+ . Обусловленное этим повышение pH в головке спермия приводит к формированию *акросомального отростка* в результате «взрывной» полимеризации актина. Было высказано предположение, что при повышении внутриклеточного pH неполимеризованный актин в цитоплазме спермия отделяется от особых белков, в норме связывающих актин и блокирующих его полимеризацию (см. разд. 10.3.2).

14.4.2. Связывание спермия с яйцеклеткой осуществляется при помощи видоспецифических белков [18]

Видоспецифичность оплодотворения часто определяется специфичностью связывания спермия с самым внутренним слоем яйцевой оболочки. Например, несмотря на то что у спермиев морского ежа акросомальная реакция обычно возникает и в присутствии яйцеклеток других видов, они не могут связываться с такими яйцеклетками и поэтому не могут их оплодотворять. Однако удаление яйцевой оболочки часто устраняет препятствие для оплодотворения между разными видами; например, яйцеклетку хомячка, у которой с помощью специфических ферментов удалена *zona pellucida*, могут оплодо-

Рис. 14-47. Молекулы байндина, покрывающие поверхность акросомального отростка сперматозоида морского ежа (сильно схематизировано). Как полагают, эти молекулы связываются специфической олигосахаридной цепью рецептора-гликопротеина, имеющегося в вителлиновом слое яйца.



творять спермии человека. Не удивительно, что такие гибриды ("humsters") не развиваются.

Из спермы морского ежа было выделено вещество, ответственное за видоспецифическое связывание сперматозоидов с вителлиновым слоем. Это белок с мол. массой около 30 000, получивший название *байндина* (bindin), который содержится в акросоме. После своего высвобождения при акросомальной реакции он покрывает поверхность акросомального отростка и способствует прикреплению спермия к яйцу. Изолированные молекулы байндина связываются с вителлиновым слоем яиц морского ежа только того же вида. Оказалось, что вителлиновый слой яиц морского ежа содержит видоспецифические гликопротеины, с которыми взаимодействует байндин в процессе связывания. Есть данные о том, что байндин действует подобно лектину, узнающему специфические углеводные детерминанты в молекулах гликопротеинов (рис. 14-47).

Спермии млекопитающих содержат в своих плазматических мембранах молекулы, которые непосредственно связываются со специфическим гликопротеином в зона pellucida яйцеклетки; можно показать, что здесь (в отличие от ситуации у морских ежей) тот же гликопротеин яйцеклетки вызывает у спермия акросомальную реакцию.

14.4.3. Активация яйцеклетки опосредуется изменениями внутриклеточных концентраций ионов [16, 19]

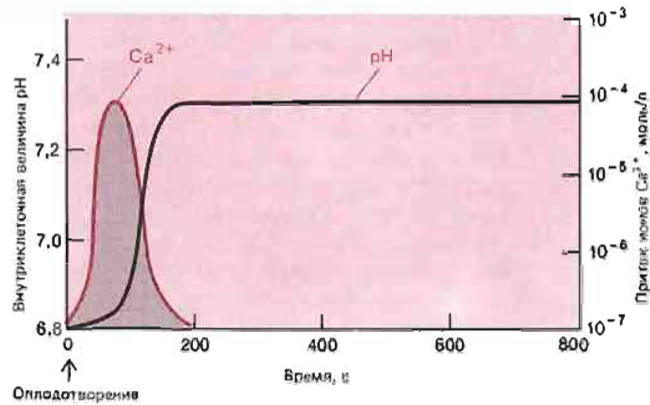
Как только активированный спермий морского ежа прикрепляется к яйцу, акросомальный отросток быстро прокладывает себе путь через вителлиновый слой. Мембрана на кончике отростка сливается с плазматической мембраной яйца, и ядро спермия переходит в яйцо. Уже в первые полчаса ядра спермия и яйцеклетки (называемые *пронуклеусами*) сливаются, воссоздавая диплоидное ядро. Оплодотворенную яйцеклетку называют *зиготой*.

Помимо внесения своей ДНК сперматозоид запускает программу развития, заложенную в яйце. Перед оплодотворением яйцеклетка метаболически неактивна: она не синтезирует ДНК, а РНК и белки образуются в ней очень медленно. Яйцеклетка, вышедшая из яичника и лишенная теперь поддержки окружающих ее клеток, погибает в считанные часы, если не будет спасена спермием.

Связывание спермия с поверхностью яйцеклетки индуцирует повышение ее метаболической активности, синтез ДНК и последующее дробление. Хотя механизм активации не известен, ясно, что спермий служит лишь устройством для запуска заложенной в яйцеклетке программы. Сам он для этого не столь нужен: яйцеклетку можно активировать с помощью множества неспецифических химических или физических воздействий. Например, для яйца лягушки эффективным стимулом может быть укол иглой. (Развитие яйцеклетки, активированной в отсутствие спермия, называется *партеногенезом*; ряд организмов, в том числе некоторые позвоночные, обычно размножаются путем *партеногенеза*.) Начальные стадии активации яйцеклетки не могут зависеть от образования каких-либо новых белков, так как они протекают совершенно нормально в присутствии ядов, ингибирующих белковый синтез.

У морских ежей все ранние стадии активации яйца связаны с изменением концентраций содержащихся в нем ионов. Уже в первые секунды или минуты после внесения спермы в суспензию яйцеклеток в них происходят три различных ионных сдвига: 1) увеличение проницаемости плазматической мембраны для Na^{2+} вызывает деполяризацию мембраны в течение нескольких секунд; 2) массовое высвобождение ионов Ca^{2+} из неизвестного внутриклеточного хранилища ведет к заметному повышению их концентрации в цитозоле в течение 20–30 с; 3) не более чем через 60 с начинается выведение ионов H^{+} , сопряженное с поглощением ионов Na^{+} , что приводит к значительному повышению внутриклеточного pH (рис. 14-48). Как будет описано ниже, эти ионные сдвиги обуславливают два физиологических эффекта: во-первых, бла-

Рис. 14-48. Два ионных сдвига, ответственные за активацию яйца морского ежа после оплодотворения. Примерно через 20 с после оплодотворения начинается высвобождение ионов Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ в цитозоль; их концентрация через 2,5 мин опять возвращается к исходному уровню. Приблизительно через 60 с включается механизм выведения ионов H^+ , сопряженного с притоком Na^+ , что ведет уже к длительному повышению внутриклеточного pH.



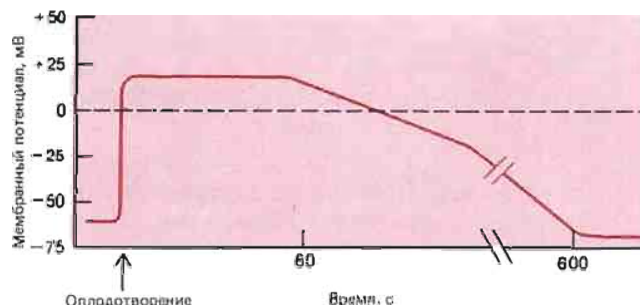
годаря им яйцо становится недоступным для проникновения других спермиев и, во-вторых, с их помощью осуществляются первые этапы в разворачивании программы развития.

14.4.4. Быстрая деполяризация мембраны яйца препятствует слиянию с ним других спермиев, т.е. предотвращает полиспермию [20]

Хотя к яйцеклетке может прикрепиться большое число сперматозоидов, только один из них обычно сливается с ее плазматической мембраной и вносит в клетку свое ядро. Если с яйцеклеткой сольются два или несколько спермиев (это называют *полиспермией*), то будут формироваться добавочные митотические веретена, что приведет к аномальному расхождению хромосом при дроблении; в таких случаях образуются недиплоидные клетки и развитие вскоре прекращается. Это означает, что после оплодотворения яйцеклетка должна очень быстро создать препятствие для проникновения дополнительных спермиев. Механизм такой быстрой блокады полиспермии не у всех видов одинаков. У рыб в оболочках яиц имеется узкий канал, называемый *микropиле*, через который спермии могли бы проходить лишь один за другим; прохождение одного спермия стимулирует яйцо, вследствие чего содержимое кортикальных гранул высвобождается и закупоривает отверстие, преграждая вход другим спермиям.

Однако у большинства организмов яйцеклетки не имеют микropиле и могут сливаться со спермием в любом участке своей поверхности. У яйцеклеток некоторых животных (таких, как морские ежи и амфибии) полиспермию предотвращает быстрая деполяризация плазматической мембраны после слияния с первым сперматозоидом. Мембранный потенциал яйца морского ежа составляет примерно -60 мВ. Через несколько секунд после контакта со спермием мембранный потенциал резко падает и меняет знак, доходя приблизительно до $+20$ мВ, а затем спустя около минуты начинает постепенно возвращаться к исходному уровню (рис. 14-49). Если предотвратить деполяризацию мембраны (в основном обусловленную притоком ионов Na^+ в яйце-

Рис. 14-49. Изменение мембранного потенциала яйца морского ежа после оплодотворения. Быстрая деполяризация каким-то образом препятствует слиянию с яйцеклеткой других спермиев, что обеспечивает раннюю блокаду полиспермии.



клетку после контакта со спермием), проводя оплодотворение в среде с высокой концентрацией Na^+ , то частота случаев полиспермии возрастает. Кроме того, если неоплодотворенную яйцеклетку искусственно деполяризовать, пропуская через нее ток с помощью микроэлектродов, то сперматозоиды будут способны прикрепляться к яйцеклетке, но не смогут сливаться с ней; если же теперь реполяризовать мембрану, прикрепившиеся спермии сольются с яйцеклеткой и проникнут в нее. Хотя молекулярный механизм этого явления неизвестен, кажется вероятным, что деполяризация мембраны, обычно происходящая при оплодотворении, изменяет конформацию какого-то важного белка плазматической мембраны яйца таким образом, что мембрана спермия уже не может слиться с ней.

Мембранный потенциал яйцеклетки уже через несколько минут после оплодотворения возвращается к норме; поэтому нужен еще какой-то механизм, который действовал бы как барьер для полиспермии в течение более долгого времени. В большинстве яйцеклеток (в том числе и в яйцеклетке человека) этот барьер создают вещества, освобождаемые из кортикальных гранул.

14.4.5. За позднюю блокаду полиспермии ответственна кортикальная реакция [21]

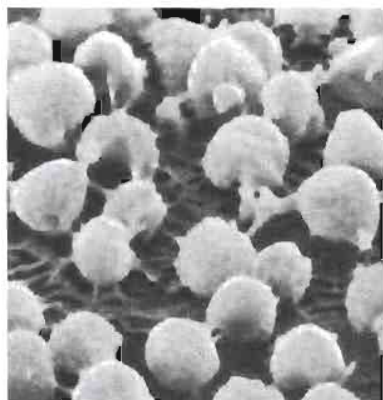


Рис. 14-50. Кортикальные гранулы, прикрепленные к изолированной мембране яйцеклетки морского ежа (микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа). При добавлении к такому препарату ионов Ca^{2+} кортикальные гранулы сливаются с плазматической мембраной и высвобождают свое содержимое путем экзоцитоза. Поскольку в каждой клетке имеется около 18 000 кортикальных гранул, в результате кортикальной реакции поверхность яйца меньше чем за минуту увеличивается более чем вдвое; дополнительный мембранный материал используется для удлинения микроворсинок на поверхности всего яйца. (V. D. Vacquier, Dev. Biol., 43, 62-74, 1975.)

Кортикальные гранулы яйца морского ежа сливаются с плазматической мембраной и высвобождают свое содержимое не более чем через 30 с после контакта яйца со спермием. Подобно акросомальной реакции спермия (и большинству других секреторных процессов, имеющих особый пусковой механизм), кортикальная реакция непосредственно запускается сильным повышением концентрации свободных ионов Ca^{2+} в цитозоле. У активированного яйца морского ежа через 20–30 с после присоединения спермия концентрация Ca^{2+} увеличивается примерно в сто раз, а затем спустя одну-две минуты снова снижается до обычного уровня (см. рис. 14-48).

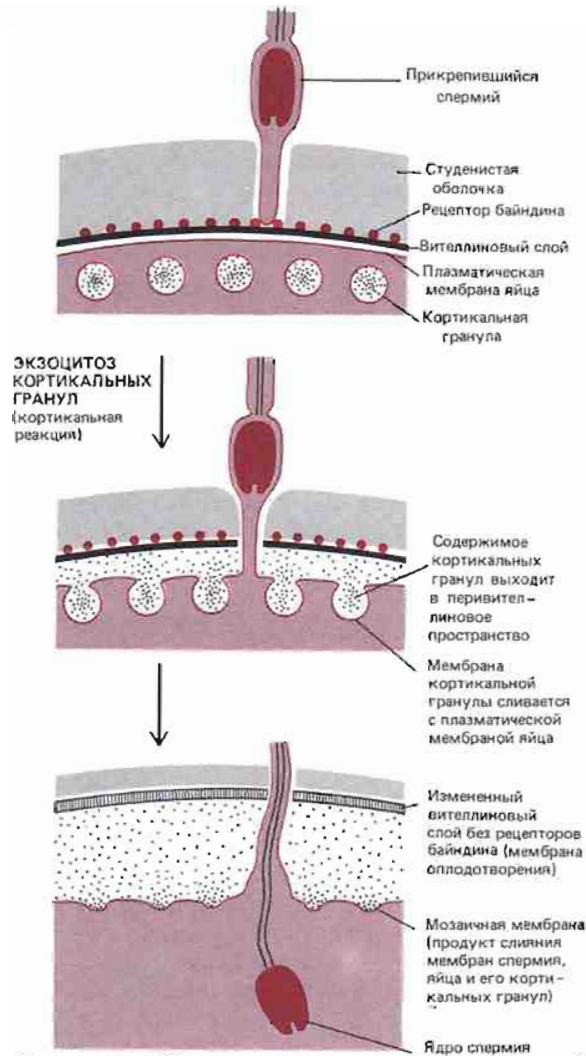
Роль ионов Ca^{2+} в запуске кортикальной реакции можно прямо продемонстрировать в опыте с изолированными плазматическими мембранами яиц морского ежа; к внутренней поверхности таких мембран еще прикреплены кортикальные гранулы (рис. 14-50), и если добавить к этому препарату небольшое количество Ca^{2+} , то через несколько секунд происходит экзоцитоз.

Протеазы и другие ферменты, высвобождаемые при кортикальной реакции, изменяют структуру яйцевой оболочки таким образом, что проникновение в яйцо лишней сперматозоидов становится невозможным. В яйцах морского ежа кортикальная реакция приводит по меньшей мере к двум независимым последствиям: 1) протеолитические ферменты, вышедшие из кортикальных гранул, быстро разрушают гликопротеины, которые служат рецепторами байндина при связывании спермиев, и 2) освобождаемое содержимое кортикальных гранул вызывает отделение вителлинового слоя, ранее примыкавшего к плазматической мембране, от поверхности яйца, и в то же время благодаря ферментам образуются поперечные швы между белками этого слоя, что делает его более жестким. В результате указанных событий формируется оболочка оплодотворения, непроницаемая для спермиев (рис. 14-51). У млекопитающих кортикальная реакция яйца аналогичным образом предотвращает полиспермию: обусловленное ею изменение структуры гликопротеинов в zona pellucida (см. разд. 14.4.2) приводит к тому, что они оказываются не в состоянии связывать спермии и вызывать у них акросомальную реакцию.

14.4.6. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} инициирует развитие яйцеклетки [16, 22]

Хотя деполяризация мембраны представляет собой первое обнаружимое изменение после оплодотворения, не она активирует в яйцеклетке процессы

Рис. 14-51. Эта схема показывает, каким образом кортикальная реакция яйца морского ежа предотвращает проникновение в него дополнительных спермиев. Высвобождаемое содержимое кортикальных гранул вызывает расширение щели под вителлиновым слоем и изменяет этот слой так, что в нем исчезают рецепторы байндина и он уплотняется, превращаясь в «оболочку оплодотворения», через которую не могут проникнуть спермии.



биосинтеза. Искусственная деполяризация мембраны не приводит к активации яйцеклетки; и наоборот, устранение деполяризации мембраны во время оплодотворения не подавляет активацию. Судя по всему, деполяризация нужна лишь для предотвращения полиспермии.

Есть много данных в пользу того, что программу развития яйцеклетки запускает кратковременное повышение концентрации Ca^{2+} в цитозоле (которое распространяется от места внедрения спермия по всей яйцеклетке в виде кольцевой волны). Концентрацию Ca^{2+} в цитозоле можно искусственно повысить либо путем прямой инъекции этих ионов в яйцеклетку, либо с помощью ионофоров, переносящих Ca^{2+} , таких, например, как A23187 (см. разд. 6.4.14). Таким способом удается активировать яйцеклетки всех до сих пор исследованных животных, в том числе млекопитающих. Если же, напротив, предотвратить повышение концентрации Ca^{2+} , введя связывающее кальций вещество ЭГТА, активации при оплодотворении не происходит. Ионы Ca^{2+} действуют в клетке по меньшей мере одним способом — они присоединяются к Ca^{2+} -связывающему белку кальмодулину, который в свою очередь активирует много разнообразных белков клетки (разд. 13.4.5). Кальмодулин был найден в больших количествах во всех исследованных яйцеклетках.

Поскольку концентрация ионов Ca^{2+} в цитозоле после оплодотворения повышается лишь ненадолго (на 2–3 мин), ясно, что это не может непосред-

ственно приводить к событиям, происходящим на более поздних стадиях активации яйцеклетки. У морских ежей к таким событиям относятся повышение интенсивности синтеза белков, начинающееся через 8 мин после оплодотворения, и инициация синтеза ДНК спустя примерно 40 мин. Подъем концентрации Ca^{2+} служит лишь первичным пусковым механизмом для всей последовательности процессов; значит, должно произойти какое-то более долговременное изменение, пока уровень Ca^{2+} еще высок.

14.4.7. У некоторых организмов поздние биосинтетические процессы, связанные с активацией яйцеклетки, индуцируются повышением внутриклеточного pH [23]

У морских ежей кратковременное повышение концентрации Ca^{2+} активирует специфические транспортные белки в плазматической мембране яйца (возможно, при участии кальмодулина), которые используют энергию, запасенную в виде трансмембранного градиента ионов Na^+ , для откачивания ионов H^+ из клетки (см. разд. 6.4.10). Отток ионов H^+ приводит к тому, что внутриклеточная величина pH возрастает с 6,6 до 7,2 и в дальнейшем поддерживается на этом уровне (см. рис. 14-48). Есть данные в пользу того, что именно это повышение pH индуцирует в оплодотворенных яйцах морского ежа позднюю биосинтетическую активность. Во-первых, если повысить pH в неоплодотворенных яйцах, инкубируя их в среде, содержащей аммиак (рис. 14-52), то процессы синтеза белков и репликации ДНК заметно усиливаются даже без повышения внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca^{2+} . Во-вторых, если сразу после оплодотворения поместить яйца в морскую воду, не содержащую ионов Na^+ (так что не будет градиента Na^+ для откачивания ионов H^+), внутриклеточный уровень pH не повышается и поздние события, связанные с активацией яйца, не наступают. Такие яйца еще можно спасти, добавив к среде аммиака: тогда pH в клетке возрастает и даже при отсутствии внеклеточного Na^+ индуцируется синтез белков и ДНК.

Для заметного усиления белкового синтеза в оплодотворенных яйцах не нужен синтез новой РНК, так как оно происходит и в присутствии антибиотика активомидина D, ингибирующего синтез РНК. В обычных условиях синтез белков усиливается в результате по меньшей мере двух независимых изменений: 1) ранее запасенные в яйце молекулы мРНК обнажаются, и их информация становится доступной для использования; 2) происходит активация рибосом, что позволяет им быстрее транслировать мРНК. В отличие от этого ускорение белкового синтеза в оплодотворенных яйцах, обработанных аммиаком, является следствием одной лишь усиленной мобилизации существующих молекул мРНК. Поэтому можно думать, что если мобилизация мРНК – результат повышения внутриклеточного pH, то движение рибосом вдоль цепей мРНК ускорится под влиянием какого-то другого фактора.

14.4.8. Яйцеклетки млекопитающих могут быть оплодотворены *in vitro* [24]

Хотя оплодотворение – событие весьма незаурядное, происходящее в ходе развития каждой особи лишь однажды – в самом начале, важнейшую роль в его механизме играют такие же ионные потоки, какие обычно используются для регуляции внутренних процессов в соматических клетках (см. гл. 13). Последовательность некоторых событий при активации яйца морского ежа после оплодотворения приведена в табл. 14-1. Такая последовательность свойственна не всем животным. Например, у некоторых других беспозвоночных и части позвоночных активация яйца не сопровождается повышением внутриклеточного pH. Однако общие принципы всюду одни и те же.

Изучать яйцеклетки млекопитающих неизмеримо труднее, чем яйца морских ежей. В распоряжении исследователя имеются миллионы яиц морского ежа, тогда как при работе с яйцеклетками млекопитающих ему приходится

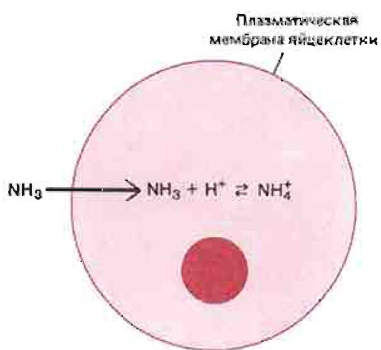


Рис. 14-52. Повышение внутреннего pH при инкубации клеток (например, яйцеклеток) в среде с аммиаком. Аммиак диффундирует через плазматическую мембрану и взаимодействует в цитозоле с ионами H^+ , образуя NH_4^+ , в результате чего внутриклеточная концентрация ионов H^+ падает и pH возрастает.

Таблица 14-1. Последовательность событий после оплодотворения яиц морского ежа

Событие	Время после оплодотворения	Внутриклеточное промежуточное звено
1. Деполяризация плазматической мембраны	0–3 с	Индукированное спермием повышение проницаемости плазматической мембраны для ионов Na^+ (и до некоторой степени для Ca^{2+})
2. Повышение внутриклеточной концентрации свободных ионов Ca^{2+}	20–140 с	Высвобождение связанных ионов Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ
3. Экзоцитоз кортикальных гранул	30–60 с	Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+}
4. Усиление синтеза белков	8 мин	Повышение внутриклеточного pH
5. Слияние ядер спермия и яйца	30 мин	
6. Начало репликации ДНК	40–45 мин	Повышение внутриклеточного pH

довольствоваться лишь десятками или сотнями их. Тем не менее сейчас есть возможность оплодотворять эти яйцеклетки *in vitro* и изучать некоторые из событий, происходящих при их активации. Если у морских ежей и амфибий оплодотворение сопровождается быстрой деполяризацией плазматической мембраны, предотвращающей полиспермию, то у хомячка оплодотворение яйцеклетки вызывает ряд последовательных сдвигов в сторону гиперполяризации, которые, по-видимому, не препятствуют проникновению в яйцеклетку других спермиев. С другой стороны, высвобождение ионов Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ в цитозоль, вероятно, активирует яйцеклетки млекопитающего, подобно тому как это происходит у морских ежей. Оплодотворенные яйцеклетки млекопитающих, пересаженные в матку, могут развиваться в нормальных особей; благодаря такой методике бесплодные женщины получали иногда возможность рожать нормальных детей.

Эмбриогенез, в ходе которого внешне мало дифференцированная оплодотворенная яйцеклетка развивается в столь сложную систему, как, например, организм человека, возможно, представляет собой самое поразительное явление во всей биологии. Предмет следующей главы – все то, что известно об этом процессе развития на клеточном уровне.

Заключение

В процессе оплодотворения спермии сливаются с яйцеклетками. Контакт с оболочкой яйцеклетки индуцирует у спермия акросомальную реакцию; некоторые из высвобождающихся белков облегчают прохождение спермия через яйцевую оболочку, что делает возможным слияние плазматических мембран спермия и яйцеклетки. У многих яйцеклеток слияние с другими, излишними сперматозоидами предотвращается благодаря двум процессам: 1) быстрая деполяризация плазматической мембраны яйцеклетки препятствует слиянию с ней других спермиев и служит, таким образом, ранним кратковременным барьером для полиспермии; 2) приток в цитозоль ионов Ca^{2+} вызывает высвобождение из кортикальных гранул их содержимого; эта кортикальная реакция перестраивает яйцевую оболочку так, что связывание спермиев или их проникновение в яйцеклетку становится невозможным; это обеспечивает более продолжительную блокаду полиспермии. Кроме того, приток в цитозоль яйцеклетки ионов Ca^{2+} вызванный контактом со спермием, активирует яйцеклетку к разворачиванию программы развития.

Литература

Общая

- Austin C.R., Short R.V., eds. Germ Cells and Fertilization. Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1972.
- Browder L. Developmental Biology, Chapters 5, 6 and 8, Philadelphia, Saunders, 1980.
- Karp G., Berrill N.J. Development, 2nd ed., Chapters 4 and 5, New York, McGraw-Hill, 1981.
- Epel D. The program of fertilization, Sci. Am., 237(11), 128-138, 1977.

Цитированная

- Williams G.C. Sex and Evolution, Princeton, N.J., Princeton University Press, 1975.
- Maynard Smith J. Evolution of Sex, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1978.
- Ayala F., Kiger J. Modern Genetics, Reading, Ma, Addison-Wesley, 1980.
- Lewis J., Wolpert L. Diploidy, evolution and sex, J. Theor. Biol., 78, 425-438, 1979.
- Whitehouse H.L. Towards an Understanding of the Mechanism of Heredity, 3rd ed., London, St. Martins, 1973.
- Wolfe S.L. Biology of the Cell, 2nd ed., pp. 432-470, Belmont, Ca, Wadsworth, 1981.
- Lewin B. Gene Expression, Vol. 2, Eucaryotic Chromosomes, 2nd ed., pp. 102-141, New York, Wiley, 1980.
- John B., Lewis K.R. The Meiotic Mechanism, Oxford Biology Readers (J.J. Heard, ed.), Oxford, Eng., Oxford University Press, 1976.
- Goodenough U. Genetics, New York, Holt, Rinehart and Winston, 1978.
- Moses M.J. Synaptonemal complex, Annu. Rev. Genet., 2, 363-412, 1968.
- Moses M.J. The synaptonemal complex and meiosis. In: Molecular Human Cytogenetics ICN-UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, Vol. 7 (R.S. Sparkes, D.E. Cummings, C.F. Fox, eds.), pp. 101-125, New York, Academic Press, 1977.
- Carpenter A.T.C. Recombination nodules and synaptonemal complex in recombination-defective females of *Drosophila melanogaster*, Chromosoma, 75, 259-292, 1979.
- Solari A.J. The behavior of the XY pair in mammals, Int. Rev. Cytol., 38, 273-317, 1974.
- Karp G., Berrill N.J. Development, 2nd ed., pp. 116-138, New York, McGraw-Hill, 1981.
- Browder L. Developmental Biology, pp. 173-231, Philadelphia, Saunders, 1980.
- Grant P. Biology of Developing Systems, pp. 265-282, New York, Holt, Rinehart and Winston, 1978.
- Hart N.H., Hopper A.F. Foundations of Animal Development, pp. 37-58, Oxford, Eng., Oxford University Press, 1979.
- Woodruff R.I., Telfer W.H. Electrophoresis of proteins in intercellular bridges, Nature, 286, 84-86, 1980.
- Masui Y., Clarke H.J. Oocyte maturation, Int. Rev. Cytol., 57, 185-282, 1979.
- Peters H., McNatty K.P. The Ovary: A Correlation of Structure and Function in Mammals, pp. 11-22, 60-84, Berkeley, Ca, University of California Press, 1980.
- Richards J.S. Hormonal control of ovarian follicular development, Recent Prog. Horm. Res., 35, 343-373, 1979.
- Peters H., McNatty K.P. The Ovary: A Correlation of Structure and Function in Mammals, pp. 98-106, Berkeley, Ca., University of California Press, 1980.
- Bloom W., Fawcett D.W. A Textbook of Histology, 10th ed., pp. 805-815, Philadelphia, Saunders, 1975.
- Fawcett D.W. The mammalian spermatozoon, Dev. Biol., 44, 394-436, 1975.
- Bloom W., Fawcett D.W. A Textbook of Histology, 10th ed., pp. 819-830, Philadelphia, Saunders, 1975.
- Browder L. Developmental Biology, pp. 146-172, Philadelphia, Saunders, 1980.
- Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal, Physiol. Rev., 52, 198-236, 1972.
- Karp G., Berrill N.J. Development, 2nd ed., pp. 100-116, New York, McGraw-Hill, 1981.
- Menesi V., Geremia R., D'Agostino A., Boltani C. Biochemistry of male germ cell differentiation in mammals: RNA synthesis in meiotic and postmeiotic cells. In: Current Topics in Developmental Biology, Vol. 12 (A.A. Moscona, A. Monroy, eds.), pp. 11-36, New York, Academic Press, 1978.
- Lindsley D.L., Tokuyasu K.T. Spermatogenesis. In: The Genetics and Biology of

- Drosophila*, Vol. 2nd (M. Ashburner, T.R.F. Wright, eds.), pp. 225-294, New York, Academic Press, 1980.
16. *Epel D.* Fertilization, *Endeavour* (New Series), 4, 26-31, 1980.
Epel D., Vacquier V.D. Membrane fusion events during invertebrate fertilization. In: *Membrane Fusion, Cell Surface Reviews*, Vol. 5 (G. Poste, G.L. Nicolson, eds.), pp. 1-63, Amsterdam, Elsevier, 1978.
Shapiro B.M., Schackmann R.W., Gabel C.A. Molecular approaches to the study of fertilization, *Annu. Rev. Biochem.*, 50, 815-843, 1981.
 17. *Shapiro B.M., Eddy E.M.* When sperm meet egg: biochemical mechanisms of gamete interaction, *Int. Rev. Cytol.*, 66, 257-302, 1980.
Bedford J.M., Cooper G.W. Membrane fusion events in the fertilization of vertebrate eggs. In: *Membrane Fusion, Cell Surface Reviews*, Vol. 5, (G. Poste, G.L. Nicolson, eds.), pp. 65-127, Amsterdam, Elsevier, 1978.
 18. *Meiz C.B.* Sperm and egg receptors involved in fertilization, *Curr. Top. Dev. Biol.*, 12, 107-147, 1978.
Vacquier V.D. The adhesion of sperm to sea urchin eggs. In: *The Cell Surface: Mediator of Developmental Processes* (S. Subtelny, N.K. Wessels, eds.), pp. 151-168, New York, Academic Press, 1980.
Beil J.D., Wassarman P.M. Mammalian sperm-egg interaction: identification of a glycoprotein in mouse egg zona pellucida possessing receptor activity for sperm, *Cell*, 20, 873-882, 1980.
 19. *Epel D.* Mechanisms of activation of sperm and egg during fertilization of sea urchin gametes. In: *Current Topics in Developmental Biology*, Vol. 12 (A.A. Moscona, A. Monroy, eds.), pp. 186-246, New York, Academic Press, 1978.
 20. *Hagiwara S., Laffe L.A.* Electrical properties of egg cell membranes, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.*, 8, 385-416, 1979.
 21. *Schuel H.* Secretory functions of egg cortical granules in fertilization and development: a critical review, *Gamete Research*, 1, 294-382, 1978.
Vacquier V.D. Dynamic changes of the egg cortex: a review, *Dev. Biol.*, 84, 1-26, 1981.
 22. *Ridgway E.B., Gilkey J.C., Jaffe L.F.* Free calcium increases explosively in activating medaka eggs, *Proc. Natl. Akad. Sci. USA*, 74, 623-627, 1977.
 23. *Johnson J.D., Epel D., Paul M.* Intracellular pH and activation of sea urchin eggs after fertilization, *Nature*, 262, 661-664, 1976.
Winkler M.M., Steinhardt R.A., Grainger J.L., Minning L. Dual ionic controls for the activation of protein synthesis at fertilization, *Nature*, 287, 558-560, 1980.
 24. *Gwatkin R.B.L.* Fertilization. In: *The Cell Surface in Animal Embryogenesis and Development, Cell Surface Reviews*, Vol. 1 (G. Poste, G.L. Nicolson, eds.), pp. 1-54, Amsterdam, Elsevier, 1977.
Yanagimachi R. Sperm-egg association in mammals. In: *Current Topics in Developmental Biology*, Vol. 12 (A.A. Moscona, A. Monroy, eds.), pp. 83-106, New York, Academic Press, 1978.
Grobstein C. External human fertilization, *Sci. Am.*, 240(6), 57-67, 1979.
Lopata A. Successes and failures in human in vitro fertilization, *Nature*, 288, 642-643, 1980.



Пятнадцатидневный эмбрион мыши

Клеточные механизмы развития

Организм любого многоклеточного животного можно рассматривать как клон клеток, образовавшихся из одной клетки – оплодотворенного яйца. Поэтому клетки тела, как правило, генетически идентичны, но различаются по фенотипу: одни становятся мышечными клетками, другие – нейронами, третьи – клетками крови и т.д. В организме клетки разного типа размещены строго упорядоченным образом, и благодаря этому тело обладает характерной формой. Все признаки организма определяются последовательностью нуклеотидов в геномной ДНК, которая воспроизводится в каждой клетке. Все клетки получают одни и те же генетические «инструкции», но интерпретируют их с должным учетом времени и обстоятельств – так, чтобы каждая клетка выполняла свою специфическую функцию в многоклеточном сообществе.

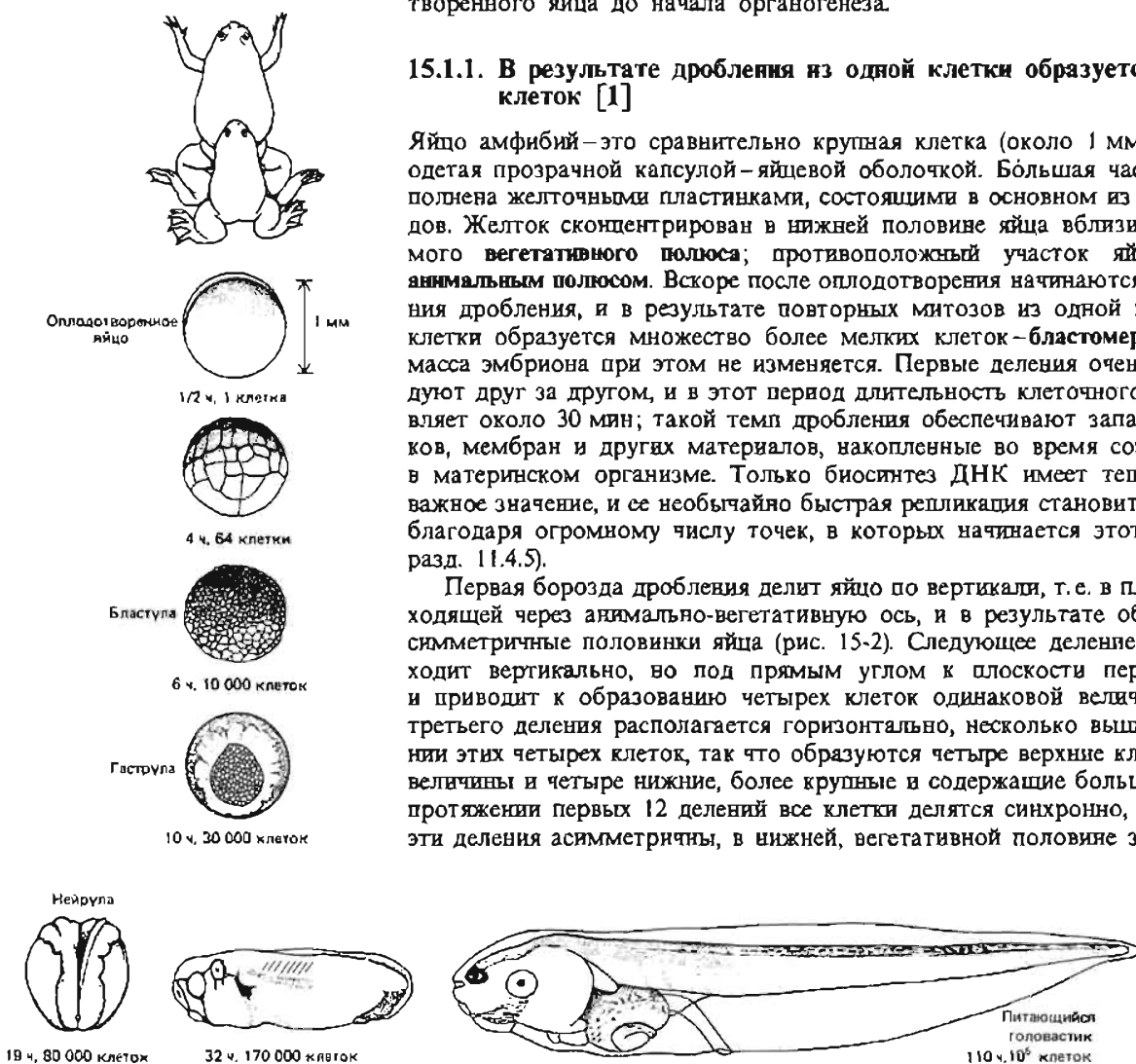
Многоклеточные организмы часто бывают очень сложными, но их построение осуществляется при помощи весьма ограниченного набора различных форм клеточной активности. Клетки растут и делятся. Они отмирают. Они соединяются механически. Они создают силы, позволяющие им передвигаться и изменять свою форму. Они дифференцируются, т.е. начинают или прекращают синтез определенных веществ, кодируемых геномом. Они выделяют в окружающую среду или образуют на своей поверхности вещества, влияющие на активность соседних клеток. В этой главе мы попытаемся объяснить, каким образом реализация различных форм клеточной активности в нужное время и в нужном месте приводит к образованию целостного организма.

Вместо того чтобы детально проследить от начала до конца развитие какого-то одного организма, мы будем рассматривать различные аспекты клеточного поведения, связанного с развитием, обсуждая общие принципы на примере тех животных, у которых они проявляются наиболее четко. Мы покажем, какие движения клеток и какие силы участвуют в формировании эмбриона, как под контролем собственных генов данных клеток и межклеточных взаимодействий разворачивается пространственная картина дифференцировки и как некоторые клетки мигрируют внутри эмбриона по определенным путям к местам своего назначения. Все эти вопросы будут рассмотрены на примере развития амфибий, морских ежей, мышей, мух, птиц, тараканов и круглых червей.

Мы начнем с анализа движений и сил, определяющих форму эмбриона у амфибий и морских ежей. Проблема клеточной дифференцировки и экспрессии различных генов в зависимости от места клеток в организме будет рассмотрена сначала на примере мыши, затем дрозофилы и, наконец, на примере развития конечностей у тараканов и птиц. Для сравнения будет описан онтогенез червя *Caenorhabditis elegans*, для которого в отличие от насекомых и позвоночных характерна чрезвычайная точность и предопределенность всех процессов развития, что позволяет с полной достоверностью предсказать судьбу каждой отдельной клетки. И наконец, мы вкратце рассмотрим миграцию клеток в зародышах позвоночных. Этот последний раздел может послужить как бы предисловием к обсуждению специальных проблем развития нервной системы (гл. 18).

15.1. Дробление и образование бластулы

Рис. 15-1. Схема развития *Xenopus laevis* от оплодотворенного яйца до самостоятельно питающегося головастика. Вверху — спаривание взрослых самца и самки. Далее представлены последовательные стадии развития (вид сбоку; только 10-часовая стадия изображена снизу, а 19-часовая — сверху). Все стадии (кроме взрослых особей) изображены в одном масштабе. [P. D. Nieuwkoop, J. Faber, Normal Table of *Xenopus laevis* (Daudin). Amsterdam: North-Holland, 1956.]



В этом и следующих разделах речь пойдет о том, как возникает пространственная организация раннего эмбриона и какие физические силы участвуют в его формировании. В качестве примера мы в основном будем обращаться к шпорцевой лягушке *Xenopus laevis* (рис. 15-1), раннее развитие которой было исследовано особенно подробно. Подобно эмбрионам других амфибий, зародыши *Xenopus* относительно устойчивы к внешним воздействиям и поэтому служат удобным объектом для экспериментов.

Развитие позвоночных (и многих других животных) можно подразделить на три фазы. Первая фаза — это *дробление* оплодотворенного яйца на множество более мелких клеток. Эти клетки формируют слой наподобие эпителия, который претерпевает сложные движения *гастрюляции*, приводящие к образованию полости первичной кишки. Затем следует фаза *органогенеза*, когда образуются различные органы и части тела (конечности, глаза, сердце и т. д.). На третьей фазе развития органы, сформировавшиеся в виде небольших структур, растут, пока не достигнут размеров, характерных для взрослого животного. Эти фазы не имеют четких границ и могут в значительной мере перекрываться. Механику развития *Xenopus* мы проследим от стадии оплодотворенного яйца до начала органогенеза.

15.1.1. В результате дробления из одной клетки образуется множество клеток [1]

Яйцо амфибий — это сравнительно крупная клетка (около 1 мм в диаметре), одетая прозрачной капсулой — яйцевой оболочкой. Большая часть клетки заполнена желточными пластинками, состоящими в основном из белка и липидов. Желток сконцентрирован в нижней половине яйца вблизи так называемого **вегетативного полюса**; противоположный участок яйца называют **анимальным полюсом**. Вскоре после оплодотворения начинаются первые деления дробления, и в результате повторных митозов из одной крупной яйцеклетки образуется множество более мелких клеток — **бластомеров**, но общая масса эмбриона при этом не изменяется. Первые деления очень быстро следуют друг за другом, и в этот период длительность клеточного цикла составляет около 30 мин; такой темп дробления обеспечивают запасы РНК, белков, мембран и других материалов, накопленные во время созревания яйца в материнском организме. Только биосинтез ДНК имеет теперь жизненно важное значение, и ее необычайно быстрая репликация становится возможной благодаря огромному числу точек, в которых начинается этот процесс (см. разд. 11.4.5).

Первая борозда дробления делит яйцо по вертикали, т. е. в плоскости, проходящей через анимально-вегетативную ось, и в результате образуются две симметричные половинки яйца (рис. 15-2). Следующее деление вновь происходит вертикально, но под прямым углом к плоскости первого деления и приводит к образованию четырех клеток одинаковой величины. Борозда третьего деления располагается горизонтально, несколько выше средней линии этих четырех клеток, так что образуются четыре верхние клетки меньшей величины и четыре нижние, более крупные и содержащие больше желтка. На протяжении первых 12 делений все клетки делятся синхронно, но, поскольку эти деления асимметричны, в нижней, вегетативной половине зародыша кле-

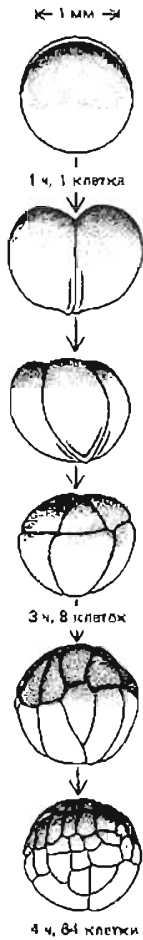
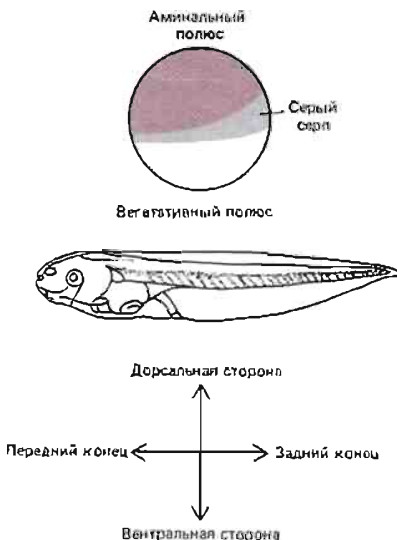


Рис. 15-2. Стадии дробления яйца *Xenopus* (вид сбоку).



ток оказывается меньше, но они крупнее и наполнены желтком. После 12 циклов синхронность деления внезапно нарушается.

У других животных взаимная ориентация плоскостей последовательных делений может быть иной. В яйцах с очень большим количеством желтка, как, например, у птиц, борозды деления не в состоянии разбить желток на части, и поэтому все ядра сосредоточены на анимальном полюсе; в результате зародыш развивается только из «шапочки» клеток, лежащих поверх желтка.

15.1.2. Полярность эмбриона определяется полярностью яйца [1, 2]

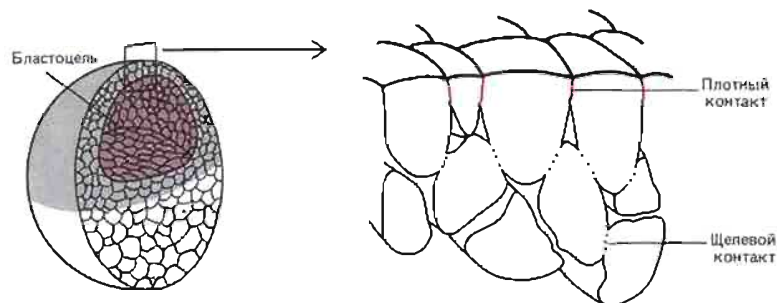
По мере развития животного из оплодотворенной яйцеклетки у него должны определиться передний и задний концы тела, брюшная и спинная стороны и срединная плоскость симметрии, разделяющая тело на правую и левую половины. Развитие зародыша удобно описывать, пользуясь системой трех осей: **передне-задней** (от головы к хвосту), **дорсовентральной** (от спины к животу) и **медиолатеральной** (от плоскости симметрии влево и вправо). Такая полярность зародыша закладывается на очень раннем этапе развития. Хотя яйцо амфибии внешне обладает сферической симметрией, в отношении химизма такой симметрии не существует. В результате дробления яйца клетки на его анимальном полюсе получаются не такими, как на вегетативном: богатые желтком клетки вегетативного полюса участвуют в образовании первичной кишки, а из клеток вегетативного полюса формируется большая часть остальных тканей зародыша. В яйцеклетках некоторых амфибий вскоре после оплодотворения можно заметить одно проявление асимметрии — слабо пигментированную полосу, называемую *серым серпом*. Эта полоска образуется на стороне яйца, противоположной месту проникновения спермия. Появление серого серпа отражает перестройку цитоскелета под влиянием центриоли, вносимой в яйцо спермием (см. гл. 10). Эти две формы асимметрии яйца определяют направление передне-задней и дорсовентральной осей зародыша (рис. 15-3). Обычно плоскость первого деления проходит через середину серого серпа и два первых бластомера представляют правую и левую стороны тела.

15.1.3. Бластула состоит из эпителия, окружающего полость [3]

Уже в самом начале развития эмбриона его клетки связаны между собой не только механически, но и с помощью щелевых контактов, через которые могут проходить ионы и другие низкомолекулярные вещества (разд. 12.2.3). Значение щелевых контактов еще не вполне ясно, но между клетками эмбриона формируются также контакты иных типов, функция которых более очевидна. В самых периферических участках зародыша между бластомерами образуются плотные контакты (разд. 12.2.2); они изолируют внутреннюю часть эмбриона от окружающей среды. Примерно на стадии 16 бластомеров промежутки между клетками в глубине зародыша расширяются и образуют единую полость — **бластоцель**; это результат переноса ионов натрия во внутренние межклеточные пространства через мембраны клеток: осмотическое давление внутри зародыша повышается и сюда начинает поступать вода. Клетки, окружающие бластоцель, образуют эпителий, и эту стадию развития называют **бластулой** (рис. 15-4). У амфибий эпителий бластулы состоит из нескольких слоев клеток, но у некоторых других животных он бывает однослойным. Его клетки, подобно клеткам всех эпителиев, обладают полярностью, и их различные поверхности (наружная, внутренняя и боковая) различаются по хими-

Рис. 15-3. Черты асимметрии у яйца *Xenopus* (вид сверху). Они определяют расположение осей тела у будущего головастика.

Рис. 15-4. Бластула. На этой стадии развития эмбриона клетки образуют эпителиальный слой, окружающий полость, заполненную жидкостью, — бластоцель. Щелевые контакты обеспечивают электрическое сопряжение клеток, а плотные контакты около наружной поверхности изолируют внутреннее пространство эмбриона от окружающей среды.



ческому составу и функция (разд. 12.2.2). То, что клетки бластулы организованы как эпителиальный слой, жизненно важно для координации их дальнейшего поведения.

Заключение

Яйцеклетки большинства животных отличаются крупными размерами и содержат запас питательных веществ и других компонентов, синтезированных под контролем материнского генома. В процессе дробления оплодотворенная яйцеклетка делится на множество более мелких клеток, но не растет. У амфибий между клетками наружных слоев эмбриона образуются плотные контакты, изолирующие внутренность его от внешней среды. В глубинные межклеточные пространства накапливается жидкость, и в результате образуется бластоцель — полость, окруженная эпителием. На этой стадии развития зародыш называют бластулой.

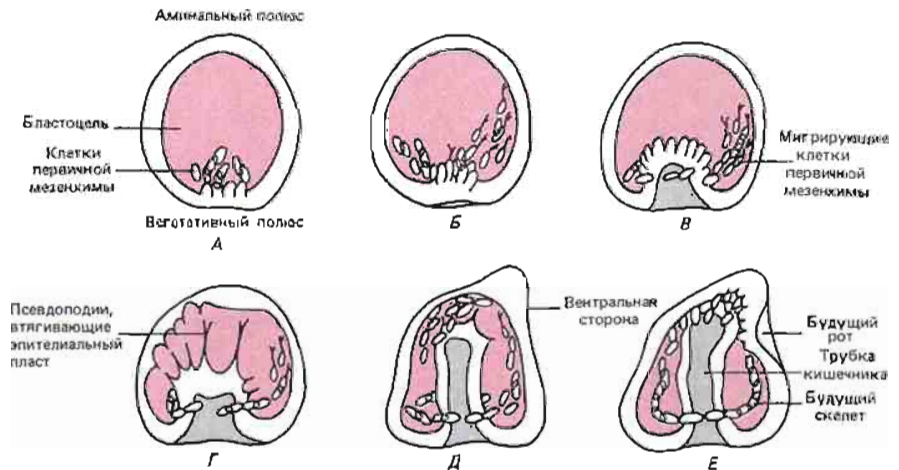
15.2. Гастрюляция, нейруляция и образование сомитов [4]

После того как клетки бластулы сформировали эпителиальный слой, наступает время для координированных движений **гастрюляции**. Эта радикальная перестройка ведет к превращению полого клеточного шарика в многослойную структуру, обладающую центральной осью и двусторонней симметрией; в результате сложного процесса инвагинации (впячивания) значительный участок эпителия перемещается с наружной поверхности внутрь зародыша. Последующее развитие будет уже определяться взаимодействиями внутреннего, наружного и среднего слоев, создающихся при гастрюляции. Гастрюляция в той или иной форме происходит почти у всех многоклеточных животных. Так как с геометрической точки зрения гастрюляция у амфибий выглядит «искаженной», мы сначала рассмотрим этот процесс у морского ежа — близкого родственника позвоночных; основные принципы в обоих случаях одни и те же.

15.2.1. После гастрюляции полый клеточный шар преобразуется в трехслойную структуру [5]

Эмбрион морского ежа прозрачен, и поэтому развитие его, внешнее и внутреннее, можно исследовать прижизненно; в то же время на этом объекте удобно изучать активность отдельных клеток. Исходным пунктом для гастрюляции является бластула, устроенная довольно просто: около тысячи клеток расположены одним слоем вокруг сферической полости. Всю эту структуру покрывает еще тонкий слой внеклеточного матрикса. Гастрюляция начинается с того, что на вегетативном полюсе от эпителия отделяется несколько десятков так называемых *клеток первичной мезенхимы* (рис. 15-5, А). Эти клетки выходят в полость бластулы и движутся вдоль ее стенки, подтягиваясь на выпускаемых ими длинных тонких отростках (*псевдоподиях*) с «липкими» конца-

Рис. 15-5. Гастрuliaция у морского ежа. Схематическое изображение событий, которые происходят вблизи вертикальной плоскости, проведенной через центр эмбриона. **А.** На вегетативном полюсе бластулы от эпителия отделяются клетки первичной мезенхимы. **Б.** Затем эти клетки «ползут» вверх по внутренней поверхности стенки бластулы. **В.** В это время эпителий вегетативного полюса начинает впячиваться внутрь. **Г и Д.** Клетки инвагинирующего эпителиального слоя выпускают псевдоподии и с их помощью подтягиваются в глубь бластоцеля, образуя полость первичной кишки. **Е.** Конеч кишечной трубки вступает в контакт со стенкой бластулы; в этом месте впоследствии образуется ротовое отверстие. (L. Wolpert, T. Gustafson. *Endeavour*, 26, 85–90, 1967.)



ми (рис. 15-6). Когда кончик псевдоподии вступает в контакт с поверхностью, к которой он может прочно прикрепиться, псевдоподия сокращается и тянет за собой клетку. Образовавшиеся псевдоподии, по-видимому, втягиваются обратно, а вместо них возникают новые в других местах, так что клетка может перемещаться то в одном, то в другом направлении. В конце концов, однако, клетки занимают вполне определенное положение и начинают формировать скелет (рис. 15-5, Е). Чем контролируется размещение клеток? Возможно, что различные участки внутренней выстилки бластоцеля обладают различной адгезивностью («липкостью») и поэтому клетки больше скапливаются там, где их псевдоподии в среднем прилипают прочнее. Принципиальная возможность такого механизма была подтверждена экспериментами на культурах *in vitro*, где изучали перемещение фибробластов по субстрату с градиентом адгезивности (ацетатцеллюлозной пленке, покрытой слоем палладия изменяющейся толщины). В этих условиях блуждающие фибробласты проявляли тенденцию скапливаться на том конце градиента, где адгезивность была наибольшей.

После того как клетки первичной мезенхимы отправились в путь, начинает инвагинировать – впячиваться внутрь – эпителий вегетативного полюса, образуя таким образом первичную кишку (рис. 15-5, В). Сначала изменяется форма эпителиальных клеток на этом участке: внутренний конец клетки, обращенный к бластоцели, становится шире, чем наружный, и в результате клеточный слой прогибается внутрь бластоцеля (рис. 15-7). Однако таким путем процесс инвагинации не может пойти особенно далеко; поэтому гастрuliaция доводится до конца при участии особых клеток, находящихся в закруленном своде впячивания. Подобно клеткам первичной мезенхимы, они выпускают в бластоцель длинные псевдоподии, но сами в отличие от этих

Рис. 15-6. Клетки первичной мезенхимы ползут по внутренней поверхности стенки бластулы, выпуская сократимые псевдоподии с «липкими» кончиками. (L. Wolpert, T. Gustafson. *Endeavour*, 26, 85–90, 1967.)

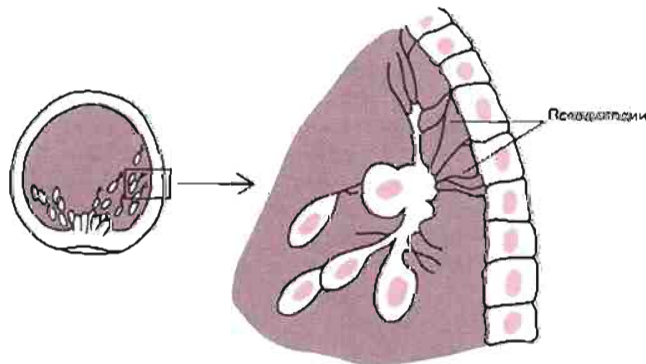
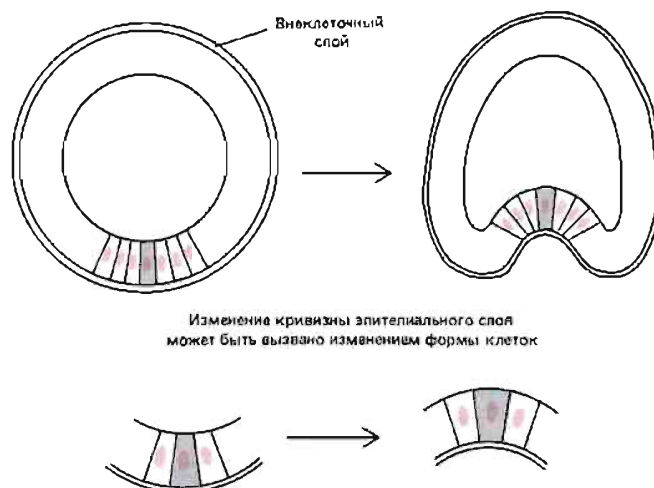


Рис. 15-7. Эта схема иллюстрирует возможный механизм начального впячивания эпителия на вегетативном полюсе. Детали этого процесса на молекулярном уровне рассмотрены в разд. 15.2.8.



клеток от эпителиального слоя пока не отделяются. Их псевдоподии вступают в контакт со стенками полости, прилипают к ним и укорачиваются, втягивая таким образом клеточный слой внутрь бластоцеля, где из этого слоя образуется трубка первичной кишки (рис. 15-5, Г и Д). Движение заканчивается, когда слепой конец кишки достигает эпителия вблизи противоположного конца зародыша (рис. 15-5, Е). В месте контакта двух эпителиальных слоев в результате их слияния образуется отверстие – будущий рот. Поскольку клетки, которые своими псевдоподиями втягивали кишку внутрь зародыша, выполнили свою задачу, они отделяются от эпителия и переходят в полость в качестве так называемой *вторичной мезенхимы* (первичную и вторичную мезенхиму различают только у морского ежа – это подразделение не является всеобщей особенностью гастрюляции).

В результате гастрюляции полая сферическая бластула превращается в трехслойную структуру: внутренний слой, т.е. трубку первичной кишки, называют *энтодермой*, наружный слой, который так и остался снаружи, – *эктодермой*, а промежуточный рыхлый слой ткани, состоящий из клеток первичной или вторичной мезенхимы, – *мезодермой*. Это три первичных *зародышевых листка*, характерные для всех высших животных. Организация трехслойного эмбриона в общих чертах соответствует организации взрослого животного с кишечником внутри, эпидермисом снаружи и соединительной тканью в промежутке. В первом приближении можно сказать, что эти три типа тканей взрослого организма происходят соответственно из энтодермы, эктодермы и мезодермы, хотя есть и исключения (разд. 15.2.7).

15.2.2. В основе морфогенетических движений лежит способность клеток вытягиваться, прикрепляться и сокращаться [6]

Движения гастрюляции осуществляются благодаря клеточной активности трех типов: вытягиванию, прикреплению и сокращению. В основе почти всех видов морфогенетических движений отдельных клеток и групп клеток лежат эти же типы активности в различных сочетаниях, а также рост и деление клеток. На примере впячивания энтодермы в бластоцель можно видеть, что активность небольшого числа эпителиальных клеток, выпускающих «липкие» отростки, способна обеспечить силу, достаточную для перемещения всего клеточного пласта. Сходные явления можно наблюдать и в культурах различных тканей. Например, если передний край нарастающего в чашке Петри эпителия отделить от поверхности субстрата, произойдет сокращение всего клеточного слоя. Из этого видно, что к субстрату прикреплены только клетки переднего края, и именно они тянут остальной пласт. Начало впячивания

энтодермы у морского ежа представляет собой пример иного типа — оно показывает, как в результате изменения формы клеток могут сгибаться и деформироваться эпителии. Хотя геометрия этой деформации может быть различной, ее механизм и здесь основан на вытягивании, прикреплении и сокращении клеток. С этим мы еще встретимся при рассмотрении нейруляции.

15.2.3. Гастрuliaция у амфибий [7]

Следить за гастрuliaцией у амфибий труднее, чем у морских ежей, по трем причинам: 1) эмбрион амфибии непрозрачен, 2) эпителиальный пласт образован несколькими слоями клеток и 3) движению инвагинирующих клеточных слоев мешает присутствие клеток, нагруженных желтком, что усложняет геометрию гастрuliaции. Впячивание энтодермы начинается не на вегетативном полюсе, а несколько в стороне от него. Сначала на поверхности эмбриона образуется небольшое углубление, называемое **бластопором**; оно постепенно расширяется в форме дуги (рис. 15-8), пока не образует полную окружность около пробки, состоящей из клеток с очень большим количеством желтка. Клеточные слои, подворачиваясь, уходят с поверхности вокруг губы бластопора и движутся в глубь зародыша. В то же время эпителий в области анимального полюса активно расширяется, занимая место клеточных пластов, ушедших внутрь. В конце концов эпителий анимального полушария покрывает всю наружную поверхность зародыша, а окружность бластопора сжимается почти до точки. На этом гастрuliaция заканчивается.

В основе процесса инвагинации у амфибий, по-видимому, лежат те же механизмы, что и у морского ежа. Он начинается с изменения формы клеток в области бластопора. У амфибий имеются так называемые *бутылковидные клетки*, узкие шейки которых примыкают к наружному эпителию, а более широкие тела клеток направлены внутрь (рис. 15-9). Вероятно, эти клетки действуют наподобие клиньев, заставляя эпителиальный слой прогибаться внутрь, так что на поверхности появляется заметное углубление. После его образования клетки получают возможность перемещаться внутрь в виде слоя, формирующего кишку. Очевидно, у амфибий, как и у морского ежа, этот слой вытягивают псевдоподии клеток будущей мезодермы, которые медленно ползут по внутренней поверхности стенки бластоцеля и тянут клетки энтодермы

Рис. 15-8. Гастрuliaция у *Xenopus*. Зародыш представлен со стороны вегетативного полюса; соответствующие разрезы (внизу) проходят в плоскости, показанной прерывистой линией. Направление движения клеток указано стрелками. (R. E. Keller, J. Exp. Zool., 216, 81-101, 1981.)

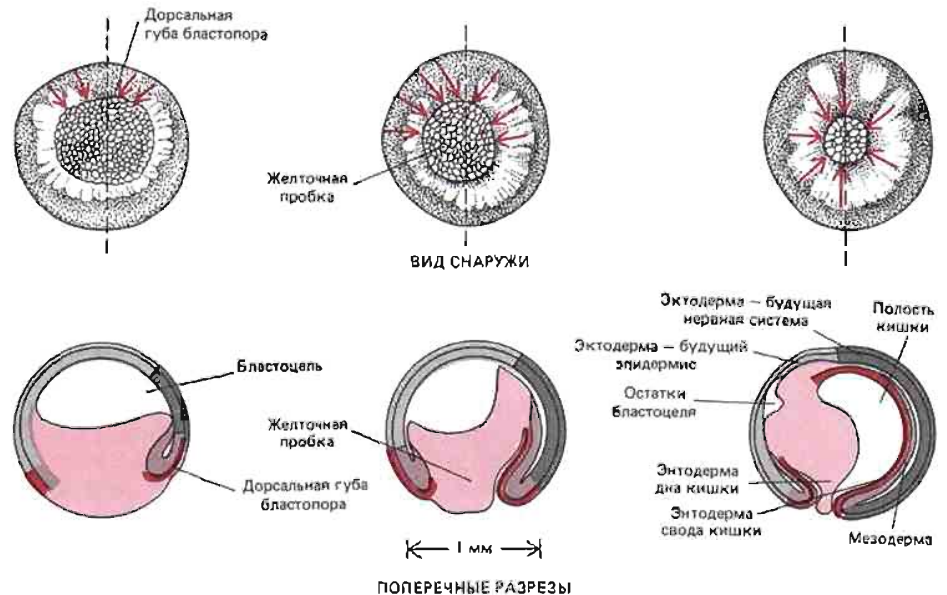
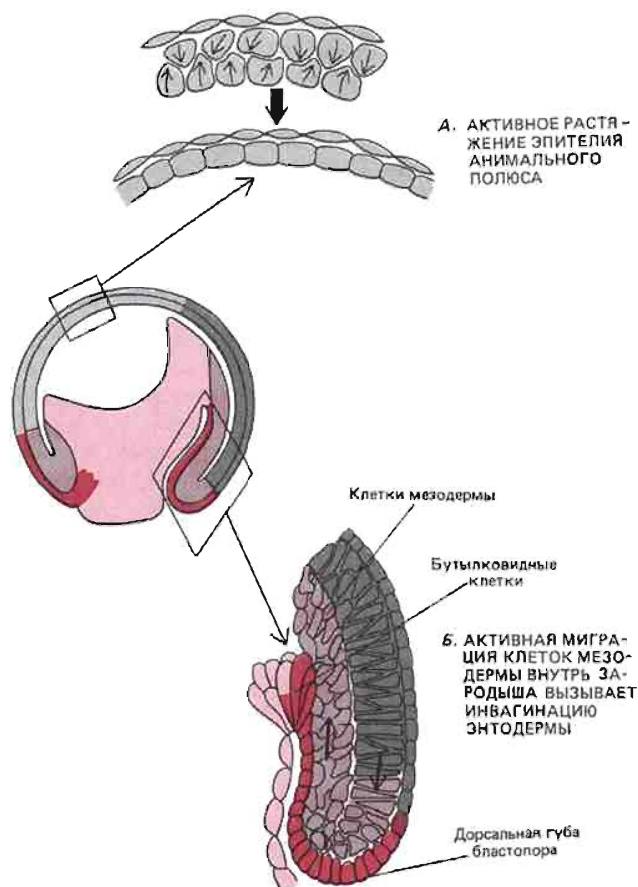


Рис. 15-9. Некоторые детали поведения клеток во время гаструляции у *Xenopus*. А. Эпителий анимального полюса активно растягивается во все стороны и становится при этом тоньше.

Б. Инвагинация дорсальной губы blastopora, по-видимому, инициируется бутылковидными клетками. Клетки огибают губу blastopora и уходят внутрь эмбриона. (R. E. Keller. J. Exp. Zool., 216, 81–101, 1981.)

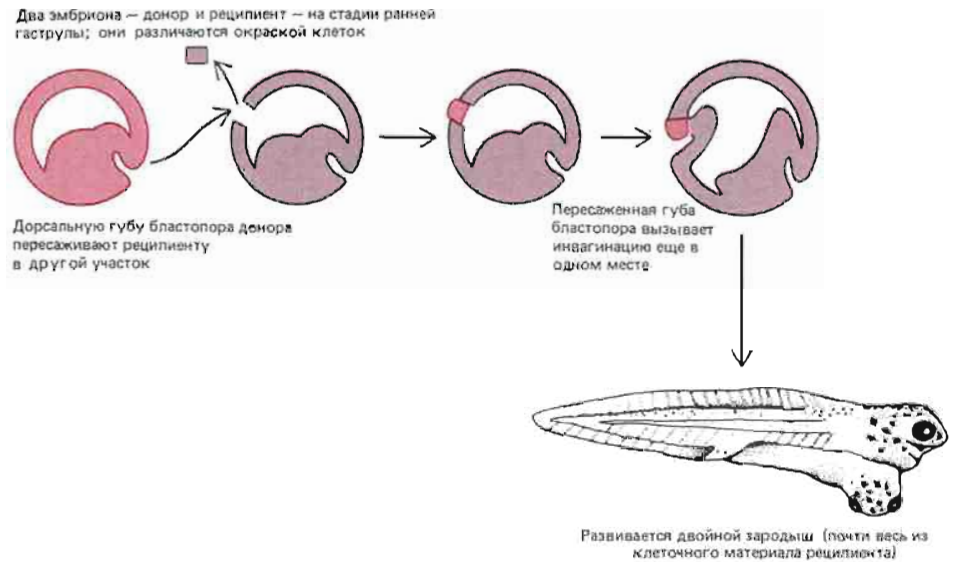


за собой. В результате получается та же трехслойная структура: наружный слой становится эктодермой, внутренняя трубка энтодермы образует зачаток кишки, а в промежутке между ними располагается мезодерма. Рот здесь тоже образуется как отверстие на переднем конце зародыша, где мезодерма отсутствует и поэтому эктодерма может вступить в прямой контакт с энтодермой.

15.2.4. Движения клеточных слоев организует участок, примыкающий к blastopore [8]

Все эти движения хотя и сложны, но упорядочены, и это позволяет еще до гаструляции построить на поверхности эмбриона карту презумптивных зачатков, которая показывает, из каких клеток предстоит сформироваться различным частям взрослого организма. Но как запускается и организуется весь сложный комплекс движений гаструляции? Мы уже упоминали о том, что у некоторых амфибий на одной стороне неоплодотворенного яйца имеется пигментированная полоска, называемая серым серпом. Она соответствует месту начала гаструляции: именно здесь будет позднее расположена дорсальная губа blastopora. Если в начале гаструляции вырезать из нормального зародыша дорсальную губу и пересадить ее другому зародышу в какое-то иное место, то у эмбриона-реципиента гаструляция начнется и в области собственной дорсальной губы blastopora, и там, куда трансплантировали губу донора (рис. 15-10). В результате этой второй гаструляции происходит образование второго набора всех структур тела, и таким образом получается двойной зародыш (наподобие сиамских близнецов). Если для опыта с пересадкой использовать виды с разной пигментацией клеток, ткани реципиента можно отличить от имплантированной ткани. С помощью такого метода удалось по-

Рис. 15-10. Схема эксперимента, который показывает, что дорсальная губа blastopora инициирует и контролирует движения гаструляции и в случае ее пересадки организует второй набор структур тела. В данном случае показаны результаты опыта на зародышах тритона, но такие же результаты получены и на *Xenopus*. (L. Saxén, S. Toivonen. Primary Embryonic Induction, London, Logos Press, 1962.)



казать, что пересаженная губа blastopora вовлекает в контролируемый ею процесс инвагинации энтодермы и мезодермы также и клетки реципиента. Пока не ясно, что имеет здесь большее значение — механическое сцепление эпителия реципиента с трансплантатом или же химическое воздействие трансплантата на клетки реципиента. Так как дорсальная губа blastopora играет ключевую роль в запуске гаструляции, а тем самым и в последующем построении всего тела, этот участок зародыша получил название *организатора*.

15.2.5. Из энтодермы образуются кишка и такие ее производные, как легкие и печень

Теперь нам нужно будет вкратце описать дальнейшую судьбу зародышевых листков — энтодермы, мезодермы и эктодермы, из которых состоит эмбрион после окончания гаструляции. Энтодерма образует трубку — зачаток пищеварительного тракта; она тянется от рта до ануса. Из этой трубки образуются не только глотка, пищевод, желудок и кишечник, но также многие железы: слюнные железы, печень, поджелудочная железа; трахея и легкие тоже образуются из выростов стенки пищеварительного тракта, который вначале устроен весьма просто. Все эти выросты увеличиваются и превращаются в системы разветвленных трубочек, впадающих в кишку или гортань. Если говорить точнее, энтодерма формирует только внутренние эпителиальные компоненты этих структур. Из энтодермы образуется выстилка кишки, а мышечные или соединительнотканые элементы кишечной стенки происходят из другого источника: наряду с многими другими тканями они формируются из мезодермы.

15.2.6. Из мезодермы образуются соединительные ткани и мышцы, а также сердечно-сосудистая и мочеполовая системы [9]

Уже на очень ранней стадии развития в мезодермальном слое выделяются две части — для правой и для левой половины тела. Один из участков мезодермы в этот период специализируется, располагаясь вдоль центральной оси тела, и детерминирует деление тела на правую и левую половины. Это нотохорд — тонкий клеточный тяж диаметром 80 мкм; над ним расположена эктодерма, под ним — энтодерма, а по бокам — мезодерма (см. рис. 15-13). В клетках нотохорда появляются вакуоли, эти клетки набухают, и в результате зародыш выпрямляется и удлиняется. У наиболее примитивных хордовых,

у которых нет позвоночника, нотохорд сохраняется в качестве несовершенной опорной структуры. У позвоночных нотохорд выполняет лишь роль основы, вокруг которой собираются мезодермальные клетки и образуют позвоночник. Таким образом, нотохорд является предшественником позвоночного столба не только в процессе эволюции, но и в онтогенезе.

Из мезодермы в основном образуются соединительные ткани – сначала *мезенхима*, клетки которой образуют рыхлую сеть, заполняющую промежутки между другими тканями, а затем кость, хрящ, мышцы и фиброзные ткани, в том числе внутренний слой кожи (дерма). Кроме того, к структурам мезодермального происхождения относятся клетки крови, большая часть протоков мочеполовой системы и вся сердечно-сосудистая система.

15.2.7. Из эктодермы образуются эпидермис и нервная система

В конце гаструляции зародыш покрыт слоем эктодермы, из которой позже образуется наружный, эпидермальный слой кожи. Но этим будущее эктодермы не исчерпывается: из эктодермальной закладки формируется также вся нервная система. Процесс образования этой закладки называют *нейруляцией*, и он начинается с утолщения широкого дорсального участка эктодермы, который затем сворачивается в трубку и отделяется от остальной части клеточного слоя внутрь. Область эктодермы, претерпевающая это превращение, вероятно, определяется взаимодействием с мезодермой, которая после гаструляции оказывается под эктодермой; точнее, с эктодермой взаимодействуют нотохорд и прилегающая к нему мезодерма (см. разд. 15.7.1). Из эктодермы образуется *нервная трубка* – зачаток головного и спинного мозга. Вдоль линии, по которой нервная трубка отделяется от будущего эпидермиса, от него обособляется еще некоторое число эктодермальных клеток; позже эти клетки поодиночке мигрируют через мезодерму. Это клетки *нервного гребня*, из которых образуются практически все периферические компоненты нервной системы (в том числе сенсорные и симпатические ганглии и шванновские клетки, образующие миелиновую оболочку периферических нервов), а также клетки надпочечников, секретирующие адреналин, и пигментные клетки кожи. В голове многие клетки нервного гребня дифференцируются в хрящ, кость и иные формы соединительной ткани, которые в других частях тела образуются из мезодермы. Это один из немногих случаев, не укладывающихся в общее представление о соответствии трех зародышевых листков трем «концентрическим слоям» взрослого организма.

Органы чувств, передающие нервной системе информацию о зрительных, звуковых, обонятельных и иных стимулах, тоже развиваются из эктодермальных закладок – одни из нервной трубки, другие из нервного гребня, третьи из наружного слоя эктодермы. Например, сетчатка образуется как вырост мозга и, следовательно, является дериватом нервной трубки, тогда как обонятельные клетки дифференцируются прямо из эктодермального эпителия носовой полости.

15.2.8. Нервная трубка образуется в результате координированных изменений формы клеток [10]

Очень интересно наблюдать за образованием нервной трубки (рис. 15-11). Поверхность гаструлы кажется вначале более или менее однородной, но некоторые изменения здесь уже происходят: эктодерма около средней линии начинает утолщаться, образуя *нервную пластинку*. Боковые края нервной пластинки начинают собираться в валики; эти *нервные валики* постепенно сближаются, а в самой пластинке вдоль средней линии образуется желоб; в конце концов валики сходятся над ним и сливаются, образуя полую нервную трубку, накрытую сверху сплошным слоем эктодермы. Как и в случае гаструляции, все эти процессы обусловлены вытягиванием, адгезией и сокращением отдельных клеток эпителиального слоя.

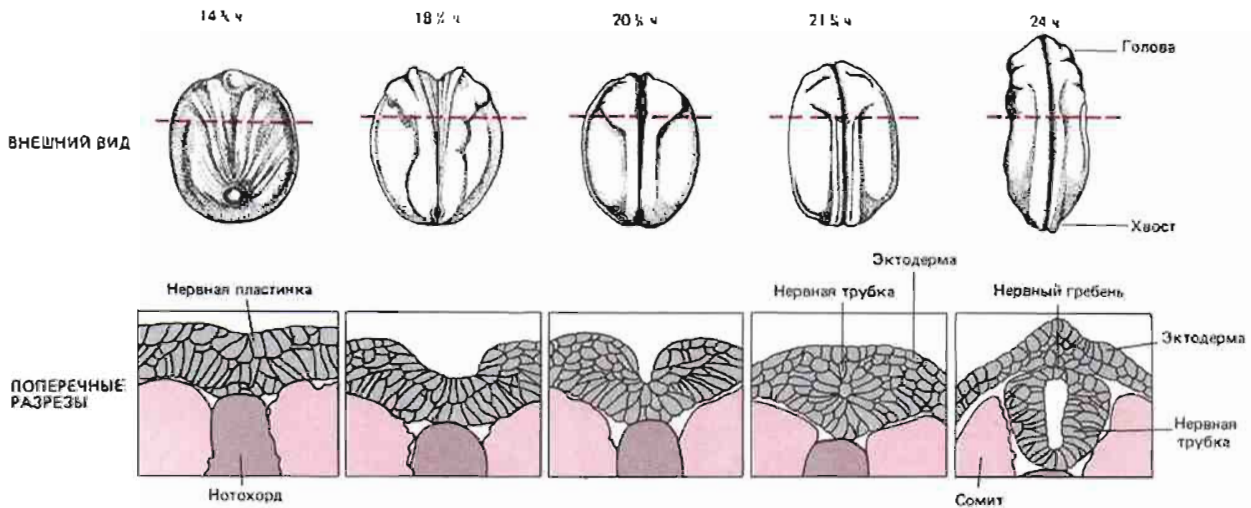


Рис. 15-11. Образование нервной трубки у *Xenopus*. Вверху—вид дорсальной стороны зародыша; внизу—разрезы в плоскости, указанной прерывистой линией. (Т. Е. Schroeder. J. Embryol. Exp. Morphol., 23, 427–462, 1970.)

У *Xenopus* эктодерма состоит из двух слоев клеток, а у многих других животных она однослойная. Однако утолщение нервной пластинки в обоих случаях связано с изменением формы клеток, а не числа их слоев. Клетки нервной пластинки связаны между собой прочными латеральными соединениями. Вначале клетки удлиняются в направлении, перпендикулярном клеточному слою. Такое изменение формы клеток связано с удлинением микротрубочек и необходимо для продолжения нейруляции: при воздействии колхицина — вещества, вызывающего разрушение микротрубочек, — подъем нервных валиков не происходит вовсе или они снова исчезают. Удлинившиеся клетки приобретают затем клиновидную форму с узкими концами, направленными к верхней (апикальной) поверхности клеточного слоя. Так как клетки прочно соединены друг с другом боковыми поверхностями, а ширины их у основания остается прежней, клеточный пласт в целом прогибается (рис. 15-12). Сужение клеток на верхушке происходит в результате сокращения пучков актиновых филаментов, которые проходят под апикальной поверхностью клеток (разд. 12.2.1). По мере сужения верхних концов клеток мембраны их образуют здесь складки (рис. 15-12). Такое изменение мембран может служить признаком быстрого изменения формы клеток вследствие их сокращения в тех случаях, когда прочные боковые контакты мешают избыточному материалу мембраны перетекать вниз по боковым поверхностям клеток.

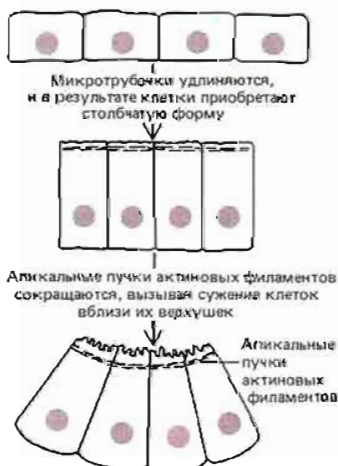


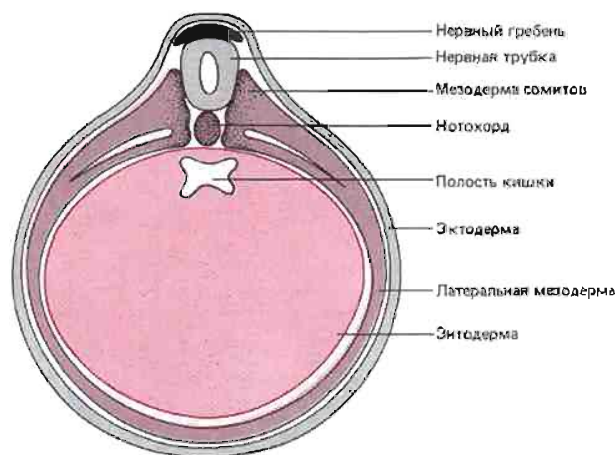
Рис. 15-12. На этой схеме показано, как микротрубочки и актиновые филаменты изменяют форму клеток, вызывая таким образом изгиб эпителиального слоя.

15.2.9. По обеим сторонам от продольной оси тела мезодерма подразделяется на сомиты [11]

По бокам от вновь образованной нервной трубки лежат обширные участки мезодермы (рис. 15-13). Из утолщенной медиальной области этой мезодермы образуются позвонки, ребра, скелетные мышцы, а также соединительнотканый слой кожи. Вначале мезодерма на каждой стороне представляется единой массой ткани, но вскоре она делится на «блоки», называемые **сомитами**, из которых образуются повторяющиеся сегментарные структуры тела позвоночного животного (рис. 15-14). Каждый сомит соответствует одному сегменту.

Сомиты обособляются не все сразу, а последовательно один за другим по направлению от головы к хвосту. Сегментация сопровождается изменением взаимных связей между клетками мезодермы. В ранней, несегментированной мезодерме сохраняется электрическое сопряжение клеток через щелевые контакты, но по мере образования сомитов оно исчезает. Очевидно, сначала изменяется характер взаимосвязи между клетками, а затем они собираются в компактные группы и образуют сомиты.

Рис. 15-13. Схематический поперечный разрез через туловищную область эмбриона лягушки после замыкания нервной трубки.



Может показаться, что образование сомитов определяется стимулом, распространяющимся по мезодерме от головы к хвосту во время сегментации. Но это не так. Если, разрезав зародыша пополам, отделить сегментированный передний конец тела от несегментированного заднего, на заднем конце образование сомитов все равно будет происходить в те же сроки, что и при сохранении контакта между обеими частями. Поэтому можно предположить, что оно контролируется внутренними часами, определяющими время готовности клеток к формированию сомитов.

15.2.10. План строения тела позвоночного животного складывается в миниатюре на ранней стадии и сохраняется в период роста эмбриона

Длина зародыша на стадии образования сомитов не превышает нескольких миллиметров, и он обычно состоит из 10^5 клеток. До сих пор мы имели в виду *Xenopus*, но форма и размеры зародыша примерно те же у саламандры, рыбы, курицы или человека (рис. 15-15). На более поздних стадиях эмбрионы будут сильно различаться по величине и форме, но сейчас еще хорошо видно, что план строения у них один и тот же. Детали будут добавляться позже по мере роста зародыша. А пока центральная нервная система представлена нервной трубкой с утолщенным концом, из которого впоследствии разовьется головной мозг; кишечник и его производные заложены в виде энтодермальной трубки; сегментам туловища соответствуют сомиты. Некоторые типы соединительной ткани и сердечно-сосудистая система представлены более периферийной несегментированной мезодермой, а эпидермальный слой кожи – эктодермой. В ходе последующего развития линейные размеры всех этих компонентов могут увеличиваться в 100 и более раз, а суммарный объем и число клеток – в миллионы раз, но общий план строения тела остается прежним.

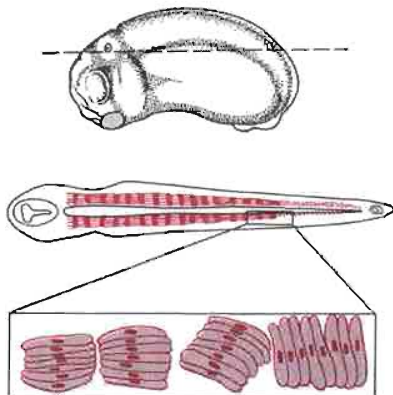
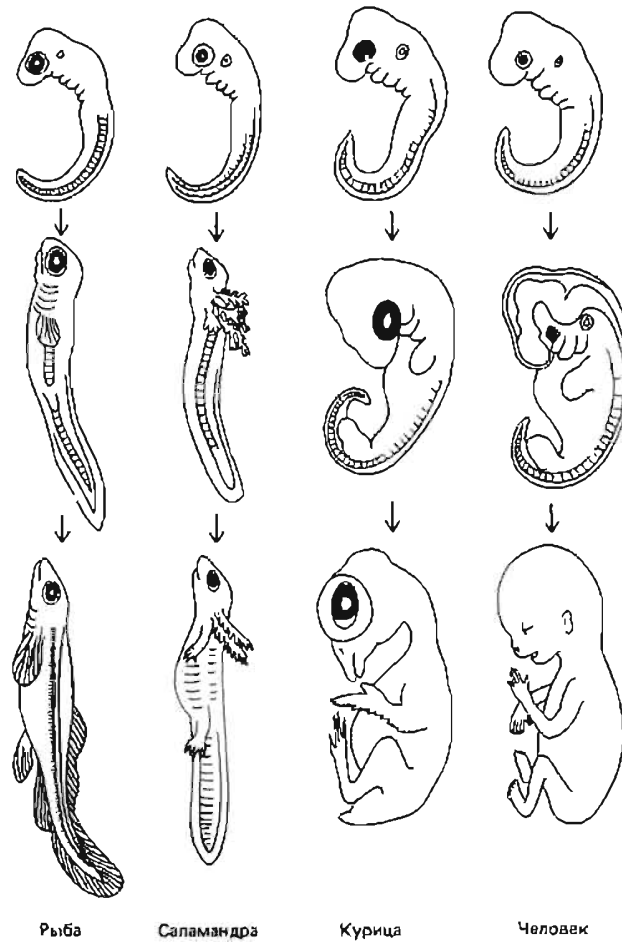


Рис. 15-14. Образование сомитов у *Xenopus*. Вверху – внешний вид зародыша сбоку; прерывистой линией указана плоскость горизонтального среза, который представлен в середине. Внизу – схема перегруппировки клеток мезодермы при формировании сомитов (при большом увеличении).

Заключение

В процессе гаструляции часть эпителия бластулы инвагинирует. К началу инвагинации приводят изменения формы определенных клеток бластулы, заставляющие эпителий прогибаться внутрь. На последующих стадиях инвагинации главной движущей силой, вероятно, служит тяга, приложенная к эпителиальному пласту со стороны клеток будущей мезодермы. В результате гаструляции зародыш преобразуется в трехслойную структуру с внутренней эпителиальной трубкой (энтодермой), наружным эпителиальным покровом (эктодермой) и промежуточным слоем клеток, отделившихся от листа первоначального эпителия (мезодермой). Из энтодермы в дальнейшем сформируется

Рис. 15-15. Сравнение эмбриогенеза рыб, амфибий, птиц и млекопитающих. Ранние стадии развития (вверху) очень сходны; поздние стадии (внизу) различаются значительно сильнее. Самые ранние стадии изображены примерно в одинаковом масштабе, а более поздние стадии – в различном. (E. Haeckel. The Evolution of Man, London, 1979.)



выстилка кишки и ее производных, из эктодермы – главным образом эпидермис и нервная система, а из мезодермы – большая часть мышц и соединительной ткани, сердечно-сосудистая система и мочеполовой тракт. Упорядоченность движений гаструляции дает возможность построить карту презумптивных зачатков, которая позволяет еще до гаструляции предсказать, какие части тела сформируются из отдельных областей зародыша.

В результате гаструляции сближаются и взаимодействуют между собой группы клеток, находившиеся ранее далеко друг от друга. Например, дорсальная мезодерма вызывает утолщение эктодермы, лежащей теперь над нею; утолщенный участок погружается в глубину, отделяется и образует нервную трубку и нервный гребень. Этот процесс тоже обусловлен изменениями формы эпителиальных клеток, и в нем участвуют микротрубочки и актиновые филаменты. В срединной области дорсальной мезодермы расположен тяж из специализированных клеток, называемый нотохордом; он образует центральную ось зародыша. Удлиненные массы мезодермы, лежащие по бокам от нотохорда, сегментируются, образуя сомиты. При образовании сомитов изменяются межклеточные контакты и происходит перегруппировка клеток по заложенной в них автономной программе; этот процесс идет последовательно в направлении от головного конца к хвостовому.

15.3. Ранние этапы образования упорядоченной структуры (на примере мышцы) [12]

Теперь мы переходим к проблеме структурообразования и обсудим вопрос о том, как контролируется поведение клеток в зависимости от их расположения в организме и как взаимодействуют и дифференцируются клетки отдельных участков эмбриона. Вместо введения мы кратко рассмотрим раннее развитие мышцы.

15.3.1. В развитии млекопитающих появляются добавочные сложности

Эволюция осуществляется по большей части путем мелких усовершенствований – изменяются обычно лишь пропорции тела, а не фундаментальные принципы его построения. Это дает нам возможность рассматривать общие черты развития всех позвоночных, не обсуждая каждую их группу в отдельности. Мы уже видели, что эмбрионы различных животных гораздо более сходны между собой, чем взрослые формы (рис. 15-15): дифференциальный рост отдельных структур, приводящий, например, к развитию длинного клюва у птиц или крупного мозга у человека, встречается сравнительно редко. Черты сходства, ставшие совершенно незаметными у взрослых животных, могут быть ясно видны на ранних стадиях. Например, в жаберных дугах эмбриона млекопитающего легко опознаются зачатки рыбьих жабр; но позже эти зачатки сливаются, и из них вместо органов водного дыхания образуются совсем другие структуры. Причины консервативности эволюции ранних зародышей понятны. То, что образовалось на ранней стадии, используется затем в качестве каркаса, на котором основывается дальнейшее развитие; даже небольшое изменение исходной структуры может нарушить многие последующие процессы, определяемые этими исходными структурами. Вероятно, мутации, затрагивающие раннее развитие, должны в большинстве случаев отменяться естественным отбором и сохраняются очень редко.

Поэтому, как правило, ранние стадии развития различных позвоночных поразительно сходны. Правда, и здесь не обошлось без исключений, и самое заметное из них можно обнаружить, сравнивая амфибий с млекопитающими. У млекопитающих развитие *начинается* почти так же, как у амфибий, и стадии, следующие за гастрულიей, – первые этапы органогенеза – тоже очень сходны. Однако между этими двумя периодами развитие млекопитающего делает большой «крюк», чтобы обеспечить создание сложных структур (прежде всего амниона и плаценты), которые замыкаются вокруг собственно зародыша, защищают его и обеспечивают обмен метаболитами с материнским организмом. Эти структуры, как и остальные органы, образуются из оплодотворенного яйца, но их называют *внезародышевыми*, так как они при рождении отбрасываются и не участвуют непосредственно в построении взрослого организма. Из-за этих легко повреждающихся, но жизненно важных внезародышевых структур и из-за того, что эмбрион развивается в матке, с ним редко можно бывает производить хирургические манипуляции *in situ*. Зародыши млекопитающих стали доступны для экспериментального исследования лишь недавно, когда были разработаны методы выращивания их вне материнского организма.

15.3.2. Этапы, предшествующие гастрულიи

Плацента позволяет зародышам млекопитающих получать питательные вещества от организма матери, и поэтому яйцо может не содержать больших запасов этих веществ в виде желтка. В связи с этим диаметр яйца мыши составляет всего лишь около 80 мкм, а по объему оно примерно в 2000 раз меньше типичного яйца амфибий. Вначале это яйцо покрыто прозрачной оболочкой – *zona pellucida*. Оплодотворенное яйцо дробится внутри этой оболоч-

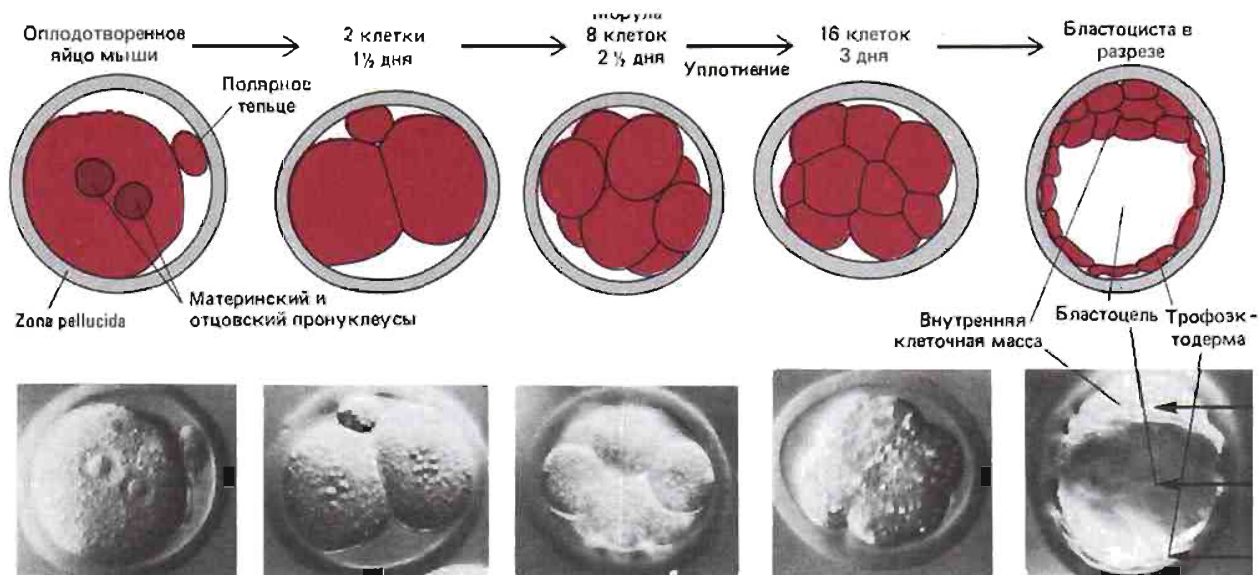
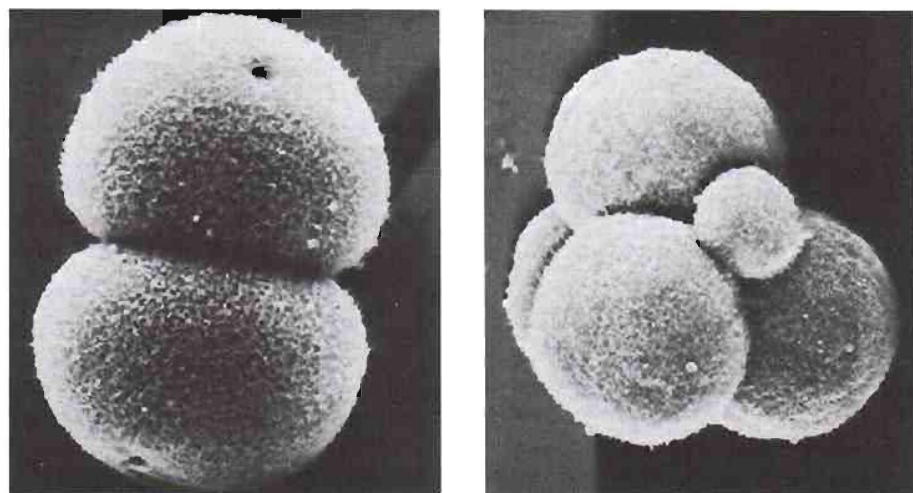


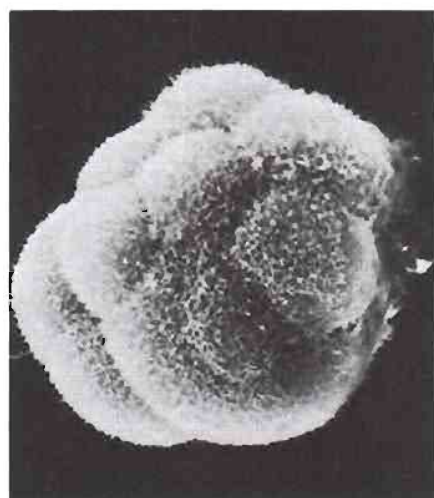
Рис. 15-16. Ранние стадии развития мыши. (С любезного разрешения Patricia Calarco, из G. Martin. Science, 209, 768-776, 1980.)



А

Б

Рис. 15-17. Мышиный эмбрион на ранних стадиях развития. Микрофотографии, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа. Zona pellucida удалена. А. Стадия двух клеток. Б. Стадия четырех клеток. Видны четыре бластомера и полярное тельце. В. Стадия морулы (8-16 клеток; происходит уплотнение зародыша). Г. Бластоциста. (С любезного разрешения Patricia Calarco; Г из P. Calarco, C.J. Epstein. Develop. Biol. 32, 208-213, 1973.)



В



Г

ки, и из него образуется **морула** – группа клеток, напоминающая ягоду малины (рис. 15-16). При переходе от 8-клеточной стадии к 16-клеточной поверхность морулы становится более гладкой, а форма – более округлой, так как в результате изменения взаимной адгезивности клеток они укладываются более компактно (рис. 15-17). Между клетками наружного слоя образуются плотные контакты, и внутренние участки морулы изолируются таким образом от внешней среды. Затем внутренние межклеточные пространства расширяются, и в результате возникает **бластоцель** – полость, заполненная жидкостью; морула превращается в **бластоцисту**. Клетки, окружающие бластоцель, образуют на этой стадии сферический пузырек, на одном из полюсов которого имеется более массивное скопление клеток. Наружный тонкий слой клеток называют **трофобластодермой**, а скопление клеток внутри трофобластодермы на одном из полюсов бластоцисты – **внутренней клеточной массой** (рис. 15-16).

Собственно зародыш формируется только из внутренней клеточной массы. Трофобластодерма служит предшественником плаценты и образуется раньше других внезародышевых структур. После исчезновения *zona pellucida* клетки трофобластодермы вступают в тесный контакт со стенкой матки, в которую имплантируется эмбрион. В это же время внутренняя клеточная масса начинает расти, и часть ее дифференцируется, образуя прежде всего две внезародышевые структуры – **амнион** и **желточный мешок**. После образования этих структур из остатка внутренней клеточной массы формируется собственно зародыш. Здесь происходят процессы **гастрюляции**, **нейруляции** и т. д., гомологичные соответствующим этапам развития других позвоночных, хотя в ряде случаев эта гомология внешне далеко не очевидна из-за различий в пространственных отношениях.

15.3.3. Органогенез и рост в период внутриутробного развития [13]

У мыши первая фаза развития – до окончания **гастрюляции** – занимает около 7 дней (с момента оплодотворения). Период органогенеза, когда формируются все важнейшие органы (рис. 15-18), длится с 7-го по 14-й день развития. Рост продолжается и после рождения. Детеныш рождается через 19 или 20

Рис. 15-18. Сагиттальный разрез зародыша мыши в возрасте 13,5 дней. (R. Rugh. Vertebrate Embryology, New York, Harcourt Brace World, 1964.)

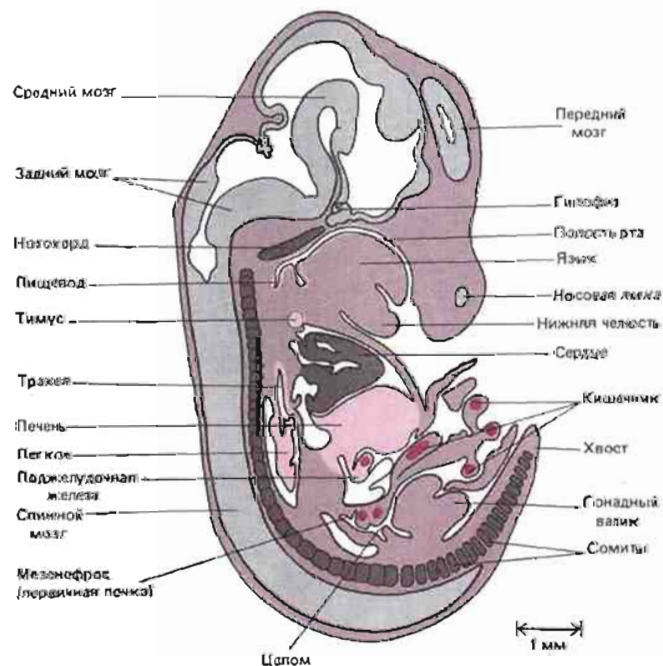
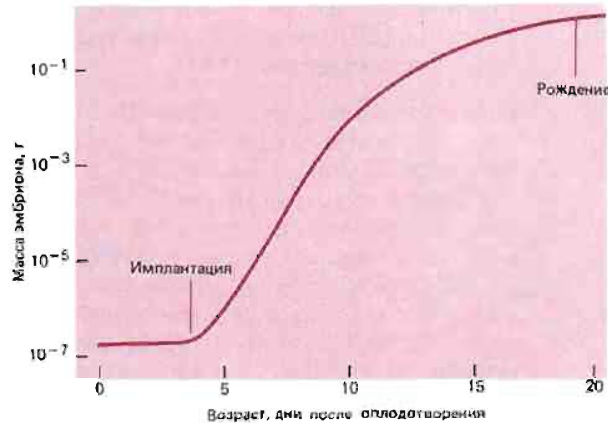


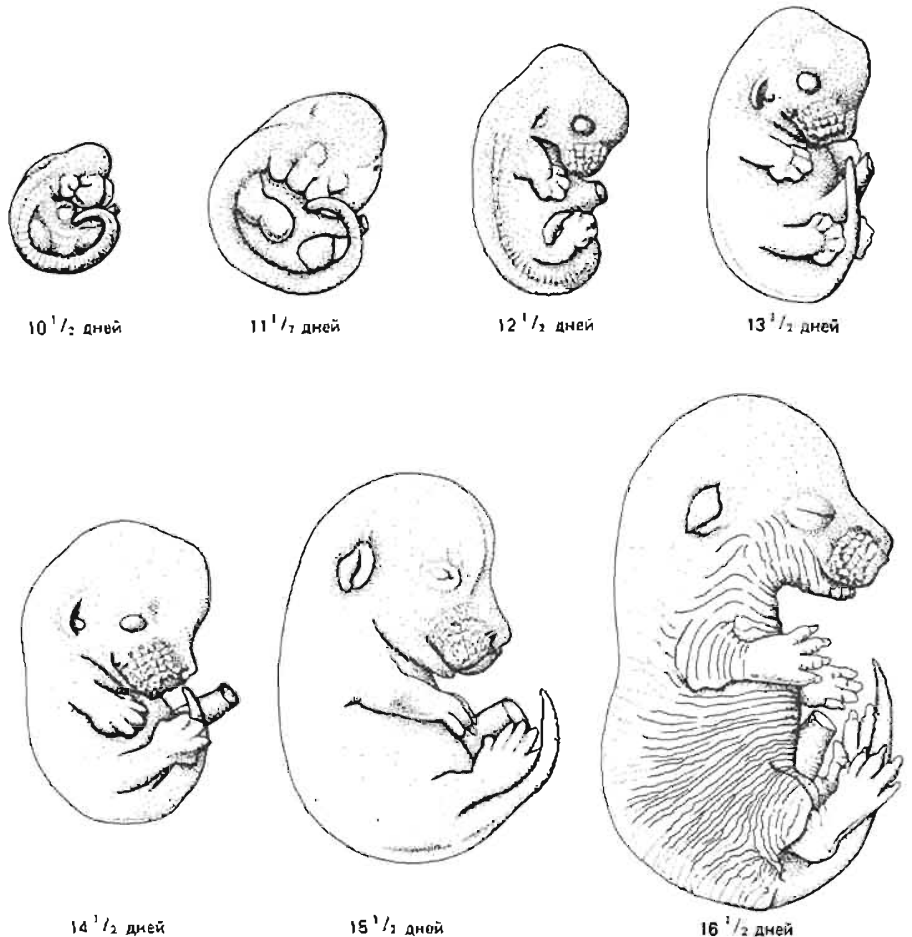
Рис. 15-19. Кривая увеличения массы мышинного зародыша как функция времени, прошедшего с момента оплодотворения. Рост начинается только после имплантации зародыша в стенку матки. (R. Rugh. *Mouse: Its Reproduction and Development*, Minneapolis, Burgess, 1968.)



дней после оплодотворения яйца. У человека первая и вторая фазы развития длятся в 3–4 раза дольше, чем у мыши, а период внутриутробного роста намного более продолжителен.

На рис. 15-19 показано увеличение массы мышинного эмбриона в период от зачатия до рождения, а на рис. 15-20 — изменение его внешней формы по мере роста и развития. Обрисовав таким образом вкратце процесс развития млекопитающего, мы перейдем теперь к рассмотрению некоторых результатов, полученных в экспериментах на эмбрионах мыши.

Рис. 15-20. Внешний вид зародыша мыши в возрасте от 10,5 до 16,5 дней. (R. Rugh. *Vertebrate Embryology: The Dynamics of Development*, New York, Harcourt Brace World, 1964.)



Эмбрион мыши от
белых родителей на
8-клеточной стадии



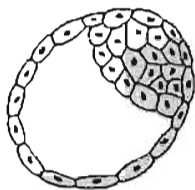
Удаляют zona pellucida
каждого яйца с
помощью протеазы



Эмбрионы сближают и инкубируют
при 37° С, и они сливаются



Развитие гибридных эмбрионов
продолжается in vitro до стадии
бластоцисты

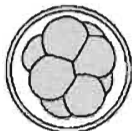


Бластоцисту переносят в псевдобеременную
самку, играющую роль приемной матери



У мышонка четверо родителей
(помимо приемной матери)

Эмбрион мыши от
черных родителей на
8-клеточной стадии



15.3.4. Изучение химер показывает, что все клетки очень раннего эмбриона млекопитающего функционально эквивалентны [14]

Вплоть до 8-клеточной стадии клетки мышинного эмбриона выглядят одинаково. После этой стадии можно выявить некоторые биохимические различия (например, в синтезе белков) между клетками трофобластической и клетками внутренней клеточной массы. Как возникают эти различия? Можно ли объяснить их химическими особенностями отдельных участков цитоплазмы или мембраны, унаследованных клетками от неоплодотворенного яйца? У некоторых низших животных известны такого рода локальные детерминанты в яйце (разд. 15.5.2), но у млекопитающих они, по-видимому, отсутствуют. Если бы они играли здесь какую-то роль, можно было бы вызывать резкое нарушение дальнейшего развития, изменяя расположение клеток у раннего эмбриона или их число. Однако эксперименты показывают, что на ранних стадиях зародыш млекопитающего обладает поразительной способностью к регуляции развития и что каждая его клетка может в дальнейшем образовывать любую часть более позднего эмбриона или даже взрослого организма.

Один из примеров равноценности клеток раннего зародыша у млекопитающих – образование идентичных близнецов. Это явление показывает, что из одного оплодотворенного яйца могут развиваться два нормальных индивидуума, каждый из которых будет сформирован только из какой-то части нормального зародыша. В эксперименте можно взять двухклеточного эмбриона мыши, разрушить одну из клеток иглой и поместить оставшуюся половинку в матку приемной матери для дальнейшего развития. В значительном числе случаев мы получим вполне нормальных мышей.

Возможна и обратная перестройка: если взять двух эмбрионов на 8-клеточной стадии и объединить их в одну гигантскую морулу, то из нее может развиваться мышь нормальной величины (рис. 15-21). Это животное примечательно тем, что у него четверо родителей, и их родительские права можно доказать с помощью генетических маркеров. Например, если одна пара родителей принадлежит к линии с белой окраской шерсти, а другая пара – к линии с черной окраской, то потомство будет пегим: в окраске мышат будут чередоваться белый и черный цвета в соответствии с распределением двух групп клеток различного генотипа (рис. 15-21). Таких животных, образованных агрегатами генетически различных клеток, называют химерами. Химер можно также получать, инъецируя клетки ранних эмбрионов в бластоцисту с иным генотипом. Введенные чужеродные клетки включаются в состав внутренней клеточной массы эмбриона-реципиента, и в результате образуется химерное животное. Химеру можно получить даже после инъекции одной клетки; это позволяет выяснить, насколько та или иная клетка сохраняет потенциал к развитию. Из результатов подобных экспериментов следует важный вывод: клетки очень ранних зародышей млекопитающих (вплоть до 8-клеточной стадии) идентичны и обладают неограниченными потенциями, т.е. *тотипотентны*.

15.3.5. Судьба клетки определяется ее положением в моруле [15]

Если на 8-клеточной стадии потенции всех клеток мышинного эмбриона одинаковы, то что же заставляет эти клетки идти в дальнейшем разными путями – почему из одних получается трофобластическая, а из других – внутренняя клеточная масса? Одно из возможных объяснений состоит в том, что они занимают различное положение и поэтому подвергаются воздействию неодинаковых условий.

Эту гипотезу можно проверить с помощью метода химер. Если меченого зародыша окружить со всех сторон немечеными зародышами, образуется гигантская химерная морула в 15 раз больше нормальной. Клетки меченого за-

Рис. 15-21. Метод получения химерных мышей путем объединения двух морул с различным генотипом.

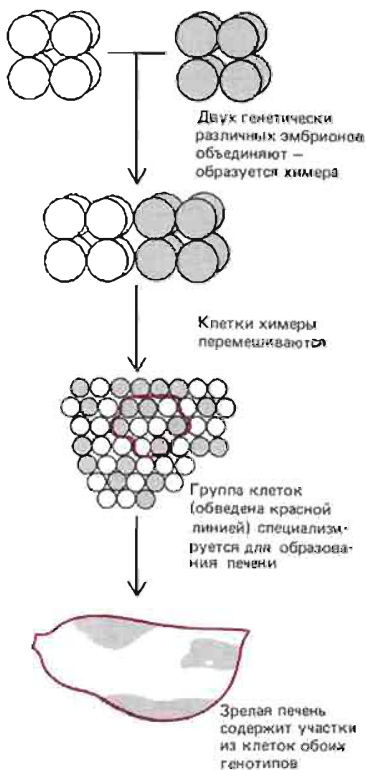


Рис. 15-22. Схема эксперимента, показывающего, что определенные органы или ткани возникают не из единичной клетки, а из группы клеток.

родыша преимущественно включаются в состав внутренней клеточной массы этой гигантской химеры и приобретают соответствующие характерные свойства. И наоборот, если меченые клетки расположить вокруг немеченого зародыша, они чаще будут включаться в состав трофобластодермы. Этот эксперимент показывает, что приобретение клетками определенных признаков зависит от их положения.

15.3.6. Обычно отдельные ткани и органы образуются из целой группы клеток-предшественниц, а не из одной клетки [16]

Дифференцированное состояние клеток во взрослом организме, как правило, наследуется. При делении клеток хряща их потомки остаются хрящевыми клетками; точно так же потомки костных клеток остаются костными клетками, клетки печени порождают себе подобных и т. д. (см. гл. 16). А что если мы будем прокручивать фильм развития в обратную сторону и попытаемся проследить происхождение различных типов дифференцированных клеток, имеющих во взрослом организме? Сможем ли мы — подобно тому, как для группы мутантов находят общего предка, у которого возникла мутация, — обнаружить у истоков каждого типа клеток одну-единственную родоначальную клетку?

Ответить на этот вопрос можно, если создать химеру из двух генетически различных эмбрионов и изучить состав различных дифференцированных тканей, которые у нее образуются (рис. 15-22). Если все клетки одного типа происходят от одной клетки-предшественницы, они все должны оказаться генетически идентичными; если же они различаются между собой по генотипу, — значит, они образовались из нескольких клеток-предшественниц. Как выяснилось, ткани и органы химерных особей редко бывают генетически однородными, т. е. редко образуются из клеток какого-то одного из исходных зародышей. Обычно для органов или тканей химер характерен смешанный клеточный состав. Соотношение клеток с различными генотипами у разных химер варьирует, так как клетки обоих генотипов перемешиваются и распределяются в зародыше случайным образом.

Если какую-то часть тела образует потомство многих родоначальных клеток, которые были случайной смесью двух генотипов, то эта часть тела почти всегда будет содержать клетки обоих генотипов. Если же родоначальных клеток было очень немного, сохраняется значительная вероятность того, что они все будут обладать одним генотипом и данная часть тела не будет химерной. Статистический анализ экспериментальных данных показывает, что в образовании практически всех органов и тканей тела должно участвовать намного больше двух родоначальных клеток.

15.3.7. При развитии зародыша в неподходящих условиях может образоваться тератома [17]

Половые клетки и ранние эмбрионы представляют собой сложные и чувствительные системы, которым в ходе развития предстоит грандиозные преобразования. С одной стороны, они весьма уязвимы и легко подвержены разрушению; с другой стороны, развитие их может выйти из-под контроля, и это служит источником опасности. При нормальном ходе событий дробление и органогенез не начинаются до тех пор, пока яйцо не будет оплодотворено спермием, после чего зародыш развивается в особых условиях, создаваемых маткой. Однако нормальный ход событий может быть нарушен. Например, можно искусственно вызвать дробление неоплодотворенного яйца без участия спермия (см. гл. 14). Развитие такого партеногенетического зародыша в матке может продолжаться довольно долго — иногда до стадии образования почек конечностей. У млекопитающих это, видимо, предел возможного — дальше эмбрион дегенерирует. И несмотря на большой интерес и усилия экспериментаторов, у млекопитающих до сих пор не зарегистрировано досто-

верных случаев рождения потомков без оплодотворения. Причины неудач в этой области пока неясны, тем более что в других группах позвоночных (например, у ящериц) партеногенез встречается в естественных условиях и приводит к развитию жизнеспособных взрослых особей.

У млекопитающих известны случаи спонтанной активации яиц после овуляции. У некоторых животных, например у мышей линии LT, это довольно распространенное явление, но образующиеся зародыши дегенерируют *in utero*. Иногда, однако, ооцит может начать развиваться еще до выхода из яичника. Из таких ооцитов в яичнике образуется почти нормальная бластоциста, но в этом необычном для нее месте она не дегенерирует и клетки партеногенетического зародыша начинают беспорядочно и бесконтрольно размножаться. В результате такого роста образуется *тератома* – причудливая масса клеток, в которой представлено множество разновидностей дифференцированной ткани (зубы, кость, железистый эпителий и т. д.) вперемешку с недифференцированными стволовыми клетками; эти стволовые клетки продолжают делиться и дополнительно образуют те же ткани.

Тератомы могут спонтанно возникать из половых клеток и в семенниках самцов; это часто происходит у мышей линии I29. Образование тератом можно вызвать искусственно, если трансплантировать взрослым особям эмбриональные мужские гонады, содержащие первичные половые клетки. Кроме того, тератомы образуются после трансплантации вполне нормальных ранних зародышей в почку или яичник взрослого животного.

Тератомы, возникающие во всех этих случаях, весьма сходны, и все они могут быть использованы для получения перевиваемых злокачественных опухолей *тератокарцином*. Тератокарцинома способна расти без ограничения до тех пор, пока не вызовет гибель организма-хозяина. Рост тератокарциномы можно поддерживать неопределенно долго, либо перевивая опухоль последовательно от одного хозяина другому, либо поддерживая ее клетки в культуре *in vitro*. Эта опухоль всегда содержит некоторое количество недифференцированных стволовых клеток и разнообразные дифференцированные клетки, образующиеся из стволовых.

15.3.8. Взаимодействие клеток тератокарциномы с нормальными клетками может привести к тому, что из химерного эмбриона разовьется нормальная мышь [17, 18]

Стволовые клетки тератокарциномы напоминают клетки раннего зародыша. Если поместить эти клетки в обычную для эмбриональных клеток среду, они будут вести себя соответствующим образом. Для этого используется следующий метод: извлекают нормальную бластоцисту и в ее бластоцель инъецируют клетки тератокарциномы, которые по некоторым генетическим маркерам отличаются от собственных клеток бластоцисты-реципиента (рис. 15-23). Инъецированные клетки включаются в состав внутренней клеточной массы бластоцисты, и в результате нередко образуется химерная мышь. Почти во всех органах и тканях таких мышей часть дифференцированных клеток происходит из клеток тератокарциномы, которые совместно с клетками нормального происхождения участвуют в построении здорового организма. Следовательно, стволовые клетки из тератокарциномы тоже тотипотентны, а их злокачественность носит обратимый характер.

Заключение

В ходе раннего развития млекопитающих формируется комплекс внезародышевых структур, которые окружают собственно зародыш и обеспечивают обмен метаболитами с материнским организмом. После того как в результате дробления неоплодотворенного яйца образуется 8-клеточная морула, зародыш становится более компактным и внутри него возникает центральная полость, заполненная жидкостью; таким образом морула превращается в бластоцисту.

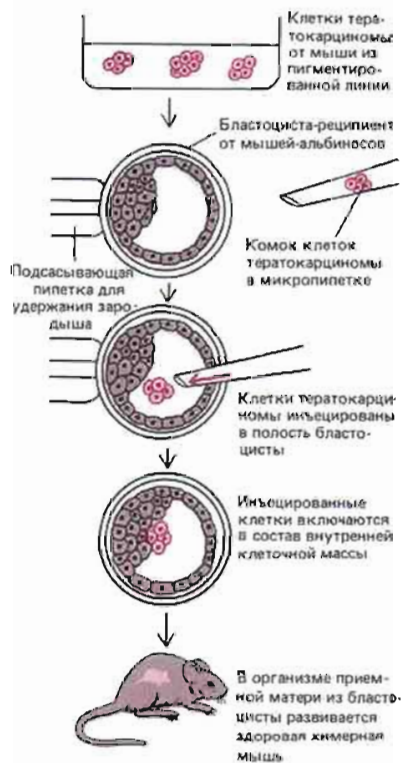


Рис. 15-23. Эксперимент, который показывает, что в результате объединения клеток тератокарциномы с клетками нормальной бластоцисты может получиться нормальная химерная мышь.

Периферические клетки бластоцисты образуют трофобластодерму, из которой позднее развиваются плацента и другие внезародышевые структуры; из внутренней клеточной массы развивается собственно зародыш, который, как и у амфибий, проходит стадии гаструляции, нейруляции и т. д. До 8-клеточной стадии потенции всех клеток к развитию идентичны; в это время можно объединить клетки двух эмбрионов и получить в результате вполне нормальную химерную мышь. У такой химеры клетки перемешаны случайным образом, поэтому большинство тканей и органов тоже химерны. Это указывает на то, что каждый тип тканей или органов первоначально образуется не из одной клетки-предшественницы, а из группы таких клеток.

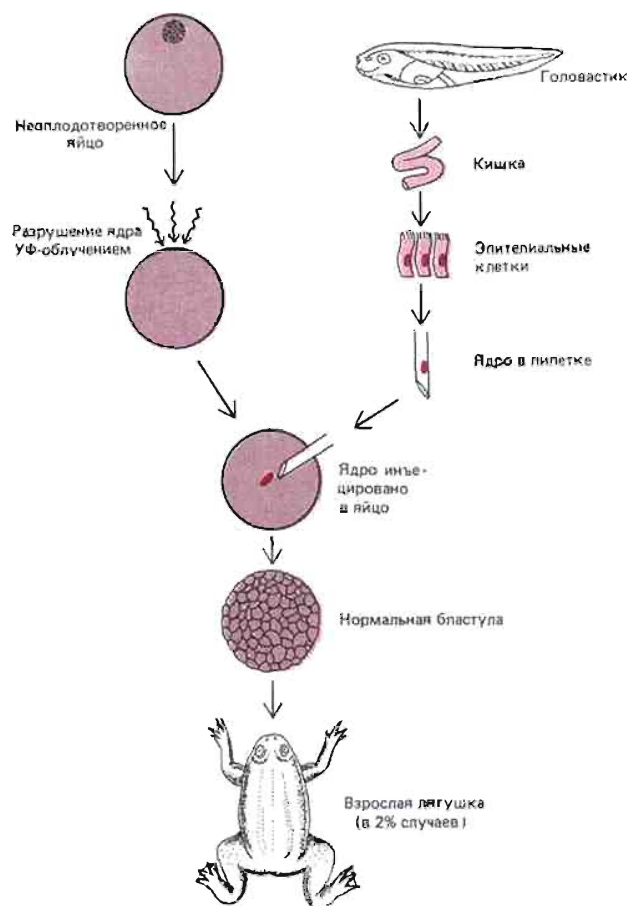
В случае активации яиц млекопитающего к развитию в необычных условиях могут образовываться опухоли, называемые тератомами, из которых в свою очередь можно получить злокачественные клеточные линии тератокарцином. Если поместить клетки тератокарциномы внутрь нормальной бластоцисты, они возвращаются в нормальное состояние и могут участвовать в формировании здорового химерного организма. Этот пример превосходно иллюстрирует общий принцип, согласно которому развитие клеток на ранних стадиях эмбриогенеза направляется и регулируется их окружением.

15.4. Детерминация и дифференцировка [19]

Из оплодотворенного яйца может развиваться самец или самка, мышь или человек. Результат развития определяется геномом. Но каким образом? Посмотрим сначала, что представляет собой конечная структура, и попробуем описать ее в понятиях, которые можно было бы связать с событиями на молекулярном уровне. Тело животного построено из сравнительно небольшого числа легко различимых типов клеток – примерно из двух сотен типов согласно традиционной гистологической классификации (см. гл. 16). Эти клетки расположены в трехмерном пространстве сложным, но вполне определенным образом. Различия между типами клеток столь ясны главным образом потому, что в дополнение к многочисленным белкам, необходимым любой клетке организма, клетки каждого типа синтезируют свой собственный набор специализированных белков. В клетках эпидермиса, например, образуется кератин, в эритроцитах – гемоглобин, в клетках кишечника – пищеварительные ферменты, в клетках хрусталика – кристаллины, и т. д. Поскольку типы клеток различаются тем, что они содержат разные наборы генных продуктов, может возникнуть вопрос: не объясняется ли это просто тем, что клетки обладают разными наборами генов? Клетки хрусталика могли бы, например, утратить гены кератина, гемоглобина и т. д., но сохранить гены кристаллинов; или же в них могло бы избирательно увеличиваться число копий кристаллиновых генов путем амплификации. Однако целый ряд данных показывает, что это не так (см. гл. 8): клетки почти всех типов содержат один и тот же полный геном, который был первоначально в оплодотворенном яйце. По-видимому, клетки различаются не потому, что они содержат разные гены, а потому, что они экспрессируют разные гены. Активность генов подвержена регуляции: они могут включаться и выключаться (разд. 8.4).

Наиболее убедительные данные о том, что несмотря на видимое изменение клеток при их дифференцировке, сам геном остается у них неизменным, были получены в опытах с пересадкой ядер в яйца амфибий (рис. 15-24). Размеры этих яиц позволяют инъецировать в них с помощью стеклянной микропипетки ядра, взятые из других клеток. Ядро самого яйца предварительно разрушают, облучая ультрафиолетом. Укол микропипеткой побуждает яйцо к началу развития. Таким образом можно проверить, содержит ли ядро дифференцированной соматической клетки полный геном, равноценный геному оплодотворенного яйца и способный обеспечить нормальное развитие зародыша. Ответ оказался утвердительным; например, после замены собственного ядра яйцеклетки ядром дифференцированной клетки кишечного эпите-

Рис. 15-24. Представленный на этой схеме эксперимент показывает, что ядро дифференцированной клетки из кишки головастика содержит полный набор генов, необходимых для развития нормальной лягушки. (J. B. Gurdon. *Gene Expression during Cell Differentiation*, Oxford, Eng., Oxford University Press, 1973.)



для головастика из такой яйцеклетки удавалось вырастить нормальную лягушку, способную производить потомство. Такие эксперименты связаны с техническими трудностями, и было бы желательно повторить их на разных видах животных и использовать при этом более широкий круг дифференцированных клеток. Но уже, по-видимому, ясно, что сохранение полного генома в ходе развития является правилом.

Из этого правила известно несколько исключений. Например, у некоторых беспозвоночных часть хромосом, имеющихся в половых клетках, в соматических клетках утрачивается уже на раннем этапе развития. У некоторых других животных (в том числе у *Xenopus laevis*) в ооцитах происходит избирательная репликация генов рибосомной РНК, а у личинок некоторых насекомых имеет место неравномерная политенизация хромосом, так что определенные гены амплифицируются больше других (см. гл. 8). У млекопитающих синтез иммуноглобулинов в лимфоцитах происходит после сплайсинга фрагментов ДНК, которые вначале расположены в геноме этих специализированных клеток в разных местах (см. гл. 17). Возможно, что применение мощных методов анализа, основанных на клонировании генов, позволит выявить новые примеры локальных транспозиций и перестроек участков ДНК в клетках определенных типов.

15.4.1. У высших эукариот поведение клеток зависит не только от их генома и окружающей среды, но и от их предыстории

Эксперименты с пересадкой ядер показывают, что возникновение различий в процессе дифференцировки клеток обусловлено, как правило, не изменения-

ми в геноме, а изменением состава молекул, связанных с геномом. Нужно особо подчеркнуть этот общий принцип, так как у дифференцировки имеется ряд черт, которые можно было бы принять за следствие генетических мутаций. В частности, как мы уже говорили, состояние дифференцировки наследуется: потомки дифференцированных клеток обычно сохраняют все свойства, характерные для родительских клеток.

Различия между клетками определяются разными влияниями, которым клетки подверглись в эмбрионе; сохранение этих различий обусловлено способностью клеток каким-то образом закреплять эффекты этих прошлых воздействий и передавать их своим потомкам. Даже простейшая из бактерий в ответ на изменение окружающей среды способна быстро изменить свою химическую активность. Клетки высших животных устроены значительно сложнее; их поведение определяется не только геномом и тем окружением, в котором они находятся *сейчас*, но также их прошлой историей.

15.4.2. Будущая специализация клеток определяется задолго до появления внешних признаков дифференцировки [20]

Клеточная память играет ключевую роль в развитии и поддержании сложной дифференцировки, характерной для многоклеточных организмов. Механизмы этой памяти большей частью не известны, но они основаны, вероятно, на функционировании каких-то положительных обратных связей во внутриклеточной системе, регулирующей активность генов. В главе 8 уже приводились доводы в пользу этого предположения и был подробно рассмотрен ряд возможных механизмов.

Наиболее известный факт, говорящий о существовании клеточной памяти,—это стойкое сохранение дифференцированного состояния клеток во взрослом организме (см. гл. 16). Благодаря клеточной памяти неделящиеся клетки (например, нейроны) сохраняют свои характерные особенности, а делящиеся передают их потомкам. Однако дифференцировка, проявляющаяся внешне,—это обычно лишь последний этап длительного процесса. Благодаря клеточной памяти стимулы, направляющие клетку на тот или иной путь дифференцировки, могут оказывать свое действие значительно раньше. Например, в сомитах некоторые клетки на очень раннем этапе специализируются как предшественники мышечных клеток, а затем мигрируют из сомитов в те участки, где будут формироваться конечности (подробнее см. в разд. 15.9.3). Эти предшественники еще не содержат больших количеств специализированных сократительных белков, характерных для зрелых мышечных волокон; они даже внешне не отличаются от других клеток зачатка конечности, которые происходят не из сомитов. Только через несколько дней они приобретают внешние признаки дифференцировки и начинают интенсивно синтезировать специфические мышечные белки. Остальные клетки будущей конечности, расположенные здесь же, дифференцируются в элементы соединительной ткани. Следовательно, выбор программы развития в мышечную клетку или же в соединительнотканную клетку произошел задолго до того, как это проявилось во внешней дифференцировке. Вероятно, эта программа была записана в клетках в виде менее явных химических изменений.

Клетки, которые уже выбрали программу развития, называют **детерминированными**. В эмбриологии «детерминация» — настолько важное и в то же время тонкое понятие, что мы должны дать ему более строгое определение. Мы скажем так: клетка *детерминирована* в том случае, если в ней произошло стойкое внутреннее изменение, которое делает клетку и ее потомков отличными от других клеток эмбриона и предопределяет развитие по специализированному пути. Полезно будет подробнее рассмотреть некоторые выражения из этого определения:

1. Изменение делает клетку и ее потомков отличными от других клеток: при детерминации возникают отличия, которые *наследуются* в ряду клеточных поколений.

2. Изменение предопределяет развитие данного клеточного клона по специализированному пути: здесь подразумевается именно выбор определенного пути развития. Если клетка просто немного обогнала другие клетки в процессе созревания, это еще не значит, что она детерминирована.
3. Изменение должно быть внутренним – это не просто изменение окружающих клетку условий. В частности, клетку нельзя считать детерминированной только потому, что она заняла в организме определенное положение, обычно позволяющее предсказать ее будущую специализацию.
4. Изменение должно быть стойким: здесь существенно участие элемента памяти. Клетку нельзя считать детерминированной, если после устранения внешнего фактора, вызвавшего возникновение отличий, сами отличия тоже исчезают.

Иногда детерминацию определяют как *необратимое* изменение. Мы не сторонники такого максимализма и поэтому предпочитаем говорить лишь о наследуемости изменений, поскольку в некоторых случаях (см. разд. 15.4.6) клеточную память удастся преодолеть, и тогда состояние детерминации может измениться.

Дифференцировкой обычно называют явно выраженную специализацию, когда отличие данных клеток от других становится очевидным. Иногда, однако, термины «дифференцировка» и «детерминация» употребляют без четкого их разграничения.

15.4.3. Время детерминации клеток можно определять в экспериментах с пересадками [21]

Чтобы установить факт детерминации какой-либо клетки или группы клеток, нужно показать, что у нее имеется отличительный признак, сохраняющийся не только в тех условиях, в которых он возник. С этой целью обычно используют метод трансплантации, при котором клетки переносят в необычные для них условия. Следует заметить, что результаты определения времени детерминации в различных опытах могут оказаться несколько разными, так как они могут зависеть от выбора условий, в которые переносят клетки.

Можно привести простой пример опыта по проверке детерминации из практики исследований на зародышах амфибий. Как уже говорилось, для бластулы или ранней гаструлы нетрудно построить карту презумптивных зачатков, на которой будет указано, какие органы взрослого организма разовьются из тех или иных частей зародыша. Можно легко проследить, что при нормальном ходе развития из клеток одного участка образуется эпидермис, а из клеток другого – мозг. Но когда клетки этих двух участков *детерминируются* для соответствующей дифференцировки? Для того чтобы получить ответ, нужно поменять местами два кусочка эмбриональной ткани, вырезанные из разных участков, например так, чтобы часть будущего (презумптивного) эпидермиса оказалась на месте будущего мозга и наоборот. Если к моменту трансплантации клетки уже детерминированы, они будут развиваться автономно в соответствии со своим происхождением, т.е. клетки из области презумптивного эпидермиса, будучи перенесены в мозг, образуют эпидермис, а клетки из области будущего мозга после переноса в область эпидермиса образуют нервную ткань. Между тем такой опыт показывает, что на стадии ранней гаструлы клетки еще «не помнят» своего происхождения и дифференцируются в соответствии со своим новым положением. В них еще не произошло внутренней детерминации, определяющей выбор между путями развития мозга и эпидермиса, хотя в нормальном эмбрионе, из которого были взяты эти клетки, их судьба была предопределена их локализацией. Но если провести такой же эксперимент несколько позже (например, на стадии поздней гаструлы), клетки презумптивного мозга в области эпидермиса будут дифференцироваться в нервную ткань, а клетки презумптивного эпидермиса, пересаженные в область мозга, – в эпидермис. Из этого видно, что где-то ме-

жду стадиями ранней и поздней гаструлы в обеих группах клеток произошло какое-то стойкое внутреннее изменение и они стали уже *детерминированными*.

15.4.4. Генетический контроль развития лучше всего изучен у дрозофилы [22]

Объяснив, что такое детерминация, мы теперь подробно рассмотрим, как она происходит у одного конкретного организма – плодовой мушки *Drosophila*, которая служит особенно удобным объектом для генетических исследований. Эксперименты, проведенные на дрозофиле, позволили сделать ряд важных выводов относительно того, как гены определяют различия между клетками отдельных частей тела.

Дрозофила проходит в своем развитии личиночную стадию (рис. 15-25). Взрослая особь, или *имаго*, – это не просто выросшая и достигшая зрелости личинка: у нее совершенно иное строение тела. Организм взрослой мухи в основном образуется из определенных групп клеток, называемых *имагинальными клетками*, которые расположены в теле личинки обособленно и внешне не дифференцированы. Личинку можно рассматривать как подвижного, активно ищущего корм аналога внезародышевых структур млекопитающих или как капсулу, предназначенную для хранения и питания имагинальных клеток, из которых позже образуется большая часть тела взрослого насекомого. Имагинальные клетки для построения головы, груди и половых органов образуют структуры, называемые *имагинальными дисками*; имагинальные клетки брюшка собраны в группы, именуемые *абдоминальными гистобластными гнездами*.

Имагинальные диски (рис. 15-26) были объектом многих экспериментальных исследований. Известно 19 дисков, один из которых расположен на

Рис. 15-25. Схема развития дрозофилы от яйца до взрослой мухи.

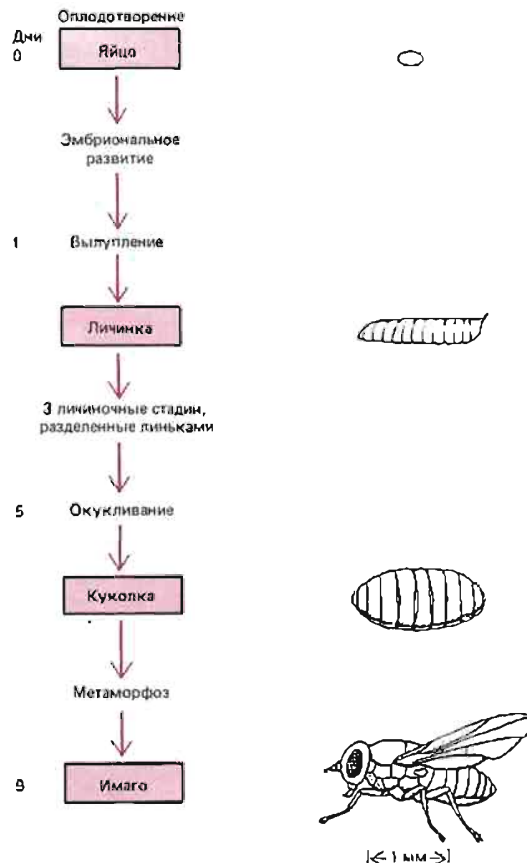
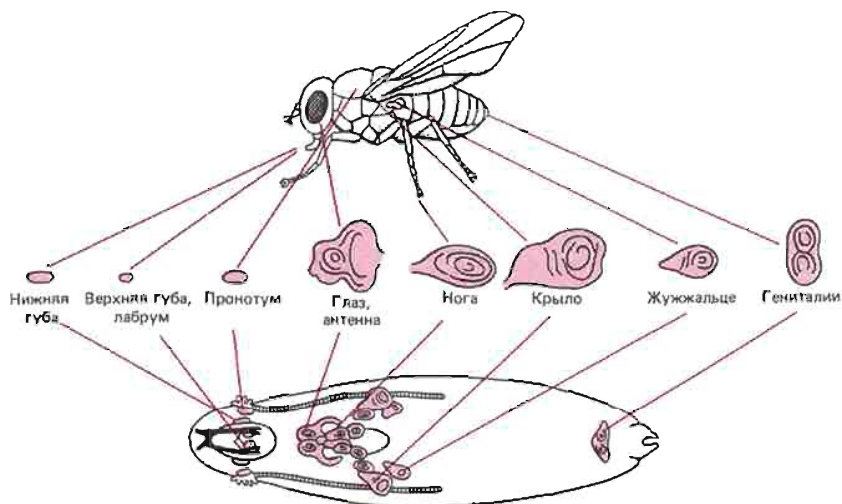


Рис. 15-26. Имагинальные диски в личинке дрозофилы (изображены схематично) и образующиеся из них структуры взрослого организма. Из трех дисков ноги указан только один. [J. W. Friston et al. Problems in Biology: RNA in Development (E. W. Hanley, ed.), p. 382. Salt Lake City, University of Utah Press, 1969.]



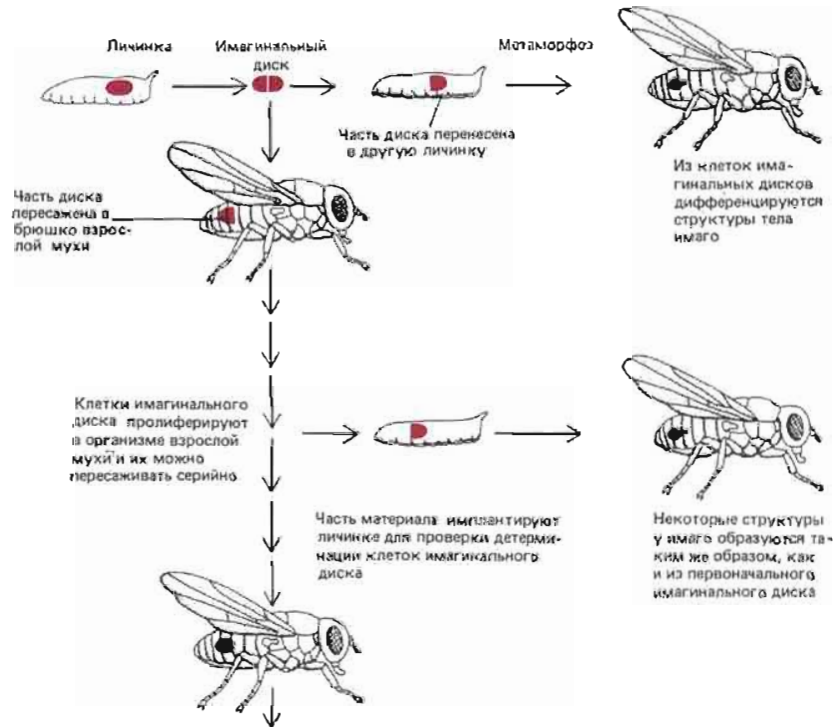
средней линии тела, а остальные 18 лежат попарно по бокам личинки. Диски представляют собой эпителиальные мешочки в форме смятых и расплюснутых шариков; при метаморфозе они дифференцируются, образуя эпидермис (гиподерму), а также некоторые ткани внутренних органов взрослой мухи. Из одной пары дисков развиваются глаза и антенны, из другой — крылья и часть груди, из третьей — первая пара ног и т.д. Внешне клетки разных имагинальных дисков различить невозможно, и возникает вопрос: детерминированы ли они уже на стадии личинки к реализации в будущем определенных программ развития?

15.4.5. Состояние детерминации имагинальных дисков наследуется [23]

Один из подходов к изучению детерминации состоит в пересадке одного имагинального диска личинки на место другого. В надлежашее время происходит метаморфоз, и оказывается, что пересаженный диск и на новом месте дифференцируется в ту структуру, которая соответствует его первоначальному положению. На дрозофиле могут проводиться и другие эксперименты по изучению детерминации, в которых наследуемость детерминированного состояния выявляется еще более наглядно; они показывают, что детерминированное состояние может быть не просто кратким периодом развития по пути, ведущему в тупик конечной дифференцировки.

По мере роста личинки происходит несколько линек, во время которых она сбрасывает старую кутикулу и образует новую, более просторную. При этом растут и ее имагинальные диски, а их клетки размножаются, но остаются недифференцированными. В конце концов изменение состава циркулирующих гормонов приводит к тому, что личинка окукливается, претерпевает метаморфоз и превращается во взрослую муху. Те же гормональные сдвиги запускают окончательную дифференцировку клеток имагинальных дисков. Эта дифференцировка, когда она закончилась, уже необратима, и теперь не требуется поддержания вызвавшего ее гормонального фона. Поэтому гормональный фон во взрослом организме сходен с существовавшим у молодой личинки. В частности, при таких условиях клетки имагинальных дисков могут пролиферировать, не дифференцируясь. Это можно показать, пересадив имагинальный диск (или его часть) из личинки в брюшко взрослой мухи. Здесь его клетки будут расти и размножаться, и их можно поддерживать в таких условиях значительно дольше, чем живет муха, если производить серийные трансплантации от одной мухи (когда она состарится) другой, более молодой. Таким образом брюшко взрослой мухи может использоваться как естественная культуральная камера.

Рис. 15-27. Метод, позволяющий изучать состояние детерминации клеток в имажинальных дисках. Клетки имплантируют в личинку накануне метаморфоза, и в результате дифференцировки этих клеток образуются определенные структуры взрослого организма, находящиеся в теле мухи-реципиента, которые не интегрированы с ее организмом. Клетки можно тестировать сразу же после извлечения дисков или после имплантации в брюшко взрослой мухи, где они способны размножаться неопределенно долго (при серийных пересадках) не дифференцируясь. В обоих случаях клетки после имплантации в личинку, как правило, дифференцируются и образуют структуры, соответствующие назначению исходного диска.



В любое время из брюшка мухи можно извлечь часть клеток имажинального диска и исследовать их состояние детерминации. Для этого такие клетки имплантируют личинке, и после ее метаморфоза из дифференцирующихся клеток имажинального диска образуются структуры, которые легко опознать как части тела взрослой мухи (рис. 15-27). Если такая клеточная культура получена из диска крыла, соответственно образуются структуры крыла, из клеток глазо-антеннального диска образуются структуры глаза и антенны и т.д. Отсюда ясно, что состояние детерминации клеток имажинальных дисков наследуется в ряду клеточных поколений неопределенно долго. Из этого правила, однако, есть исключения, которые не менее поучительны, чем само правило.

15.4.6. Иногда группы клеток претерпевают трансдетерминацию [23, 24]

Рис. 15-28. Схема эксперимента, показывающего, что трансдетерминация происходит не в отдельной клетке, а в группе клеток.

В условиях культуры клетки имажинальных дисков иногда дифференцируются в структуры, отличные от тех, которые должны были образоваться из данного диска, и в этом случае говорят, что клетки диска *трансдетерминировались*. Такая трансдетерминация представляет собой переход из одного наследуемого состояния в другое и поэтому сходна с результатом генетической мутации.

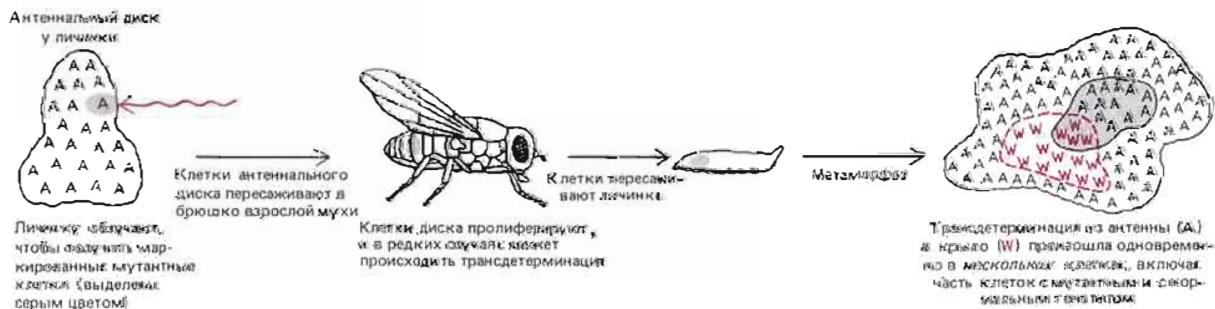


Рис. 15-29. Относительная частота трансдeterminация различных имажинальных дисков. Длинными стрелками показаны более вероятные направления трансдeterminации, короткими – более редкие случаи, а пунктирными стрелками – очень редкие или сомнительные возможности трансдeterminации. [E. Hadorn. The Genetics and Biology of *Drosophila*, vol. 2C (M. Ashburner and T. F. Wright, eds.), p. 555–617, London, Academic Press, 1978.]



Однако ряд признаков указывает на то, что здесь мы имеем дело с явлением иного рода. Например, трансдeterminация происходит гораздо чаще, чем обычно возникают спонтанные мутации, и на ее частоту не влияют химические мутагены, вызывающие изменения в нуклеотидных последовательностях ДНК. Но самые веские данные в пользу немутационной природы трансдeterminации были получены в экспериментах, показавших, что трансдeterminацию претерпевают не отдельные клетки, а группы клеток.

Логика аргументации здесь почти та же, что была при выяснении вопроса о происхождении тканей или органов у химерного млекопитающего – образуются они из одной детерминированной клетки или из группы таких клеток? В опытах на дрозофиле с помощью рентгеновского излучения вызывают образование мутантных клеток в имажинальных дисках. Потомство мутантной клетки образует генетически маркированный клон, который легко отличить от окружающих клеток. Оказалось, что в случае последующей трансдeterminации иногда образуется ткань, содержащая клетки двух генотипов – мутантного и нормального (рис. 15-28). Из этого можно сделать вывод, что переключение состояния детерминации первоначально происходит в нескольких клетках, а не в одной.

Трансдeterminированные клетки могут возвращаться в состояние исходной детерминации или же переходить в какое-то третье состояние. Некоторые переходы наблюдаются чаще других. Например, клетки антеннального диска чаще всего трансдeterminируются в клетки крыла, а клетки крылового диска – в клетки антенн или мезоторакса (того сегмента тела, к которому прикреплены крылья) или, реже, в клетки ноги и т. д. На рис. 15-29 указаны возможные переходы и их частота. По-видимому, у дрозофилы существует ограниченное число стандартных дискретных состояний детерминации, и клеткам приходится выбирать одно из них.

Все эти данные указывают на то, что существуют особые гены, определяющие свойства клеток имажинальных дисков, но ничего не говорят о локализации этих генов в хромосомах и о механизме их действия. Но поскольку генетика дрозофилы хорошо изучена, удалось все же локализовать некоторые из этих генов и приступить к экспериментальному анализу их функций.

15.4.7. У гомеозисных мутантов выявляются функции генов, контролирующих детерминацию клеток [25]

У некоторых мутантов *Drosophila* можно наблюдать интересные аномалии строения тела. Иногда на голове в том месте, где должны быть глаза, вырастают крылья (мутация *ophthalmoptera*) или на месте антенн образуются ноги (мутация *Antennapedia*) (рис. 15-30). Мутации, превращающие определенные части тела в структуры, которые в норме должны находиться в других местах, называются **гомеозисными**. Поскольку аномальные структуры развиваются из имажинальных дисков, очевидно, что в результате этих мутаций клетки определенных дисков должны приобретать особенности, свойственные в норме клеткам других дисков. Внешне такая аномалия сходна с последствиями трансдeterminации клеток данного диска. Поэтому можно думать, что гомеозисные мутации возникают в результате изменения генов, участвующих в процессах детерминации и трансдeterminации. При

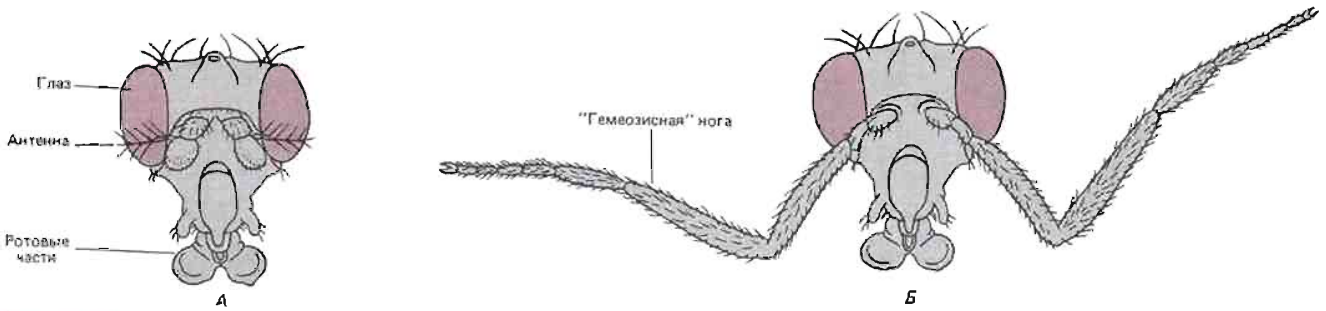


Рис. 15-30. Голова нормальной взрослой дрозофилы (А) и мухи с гомеозисной мутацией *Antennapedia* (Б). Здесь изображена крайняя форма такой мутации; обычно в структуры ноги превращается только часть антенны (см. рис. 15-44). (Б – по фотографии, предоставленной Peter Lawrence.)

трансдетерминации переключение с одной программы развития на другую могло бы происходить, например, в случае прекращения транскрипции контролирующего гена, а при гомеозисной мутации могла бы измениться структура ДНК этого гена, что привело бы к нарушению его транскрипции или же функции его белкового продукта.

Для некоторых случаев изменения свойств имагинальных дисков в результате трансдетерминации известны фенотипически сходные гомеозисные мутации.

15.4.8. Комплекс *bithorax* контролирует возникновение различий между сегментами груди и брюшка [26]

Изучение гомеозисных мутантов позволило идентифицировать у дрозофилы более 30 различных контролирующих генов. Оказалось, что некоторые локусы гомеозисных мутаций расположены в геноме друг за другом, образуя очень тесно сцепленные группы. Самая обширная из этих групп получила название комплекса *bithorax*. Она содержит не менее восьми генов, которые играют важную роль, контролируя возникновение отличий между грудными и брюшными сегментами тела. Например, мутация одного из этих генов, *bithoraxoid*, приводит к тому, что на первом сегменте брюшка, в норме не имеющем придатков, образуется пара ног, и он становится похожим на метаторакс (т.е. задний сегмент груди). Однако роль комплекса *bithorax* полнее всего раскрывается при изучении личиночной стадии развития.

У личинки *Drosophila*, так же как и у взрослой мухи, тело состоит из ряда сегментов – головы, трех грудных сегментов (про-, мезо- и метаторакс) и восьми сегментов брюшка (рис. 15-31). Гены комплекса *bithorax* влияют не только на имагинальные диски, но и на сегменты личинки. Например, у мутанта *bithoraxoid* первый сегмент брюшка и на личиночной стадии внешне сходен с метатораксом, так же как и у взрослой мухи.

Некоторые гомеозисные мутации из этой группы еще более резко нарушают развитие организма и поэтому летальны; их проявления никогда не приходится наблюдать у взрослых мух, так как мутанты погибают раньше. Летальные мутации этого типа могут передаваться потомству только в том случае, если они рецессивны. Тогда гетерозиготы, имеющие один мутантный ген и один нормальный, жизнеспособны, и путем скрещивания пары гетерозигот можно получить и гомозигот с двумя мутантными генами. Такие потомки гибнут на очень ранних стадиях личиночного развития, но все же у них успевает выявиться мутантный фенотип. Можно, например, наблюдать проявление делеции всего комплекса *bithorax*.

При такой делеции тело личинки состоит из головы, проторакса и мезоторакса (среднегрудного сегмента), за которым вновь следует еще один мезоторакс, и еще один, и еще – всего 10 мезоторакальных сегментов. Иными словами, при отсутствии всех генов комплекса *bithorax* все сегменты, расположенные за протораксом, приобретают сходные черты – черты мезоторакса. Частичные делеции комплекса вызывают менее обширные аномалии; например, метаторакс (заднегрудной сегмент) и сегменты, лежащие вперей него, могут выглядеть нормально, а сегменты, расположенные сзади, превращают-



Рис. 15-31. Нормальная личинка дрозофилы первого возраста (со спинной стороны). (B.T. Wakimoto, T.C. Kaufman. *Develop. Biol.*, 81, 51–64, 1981.)

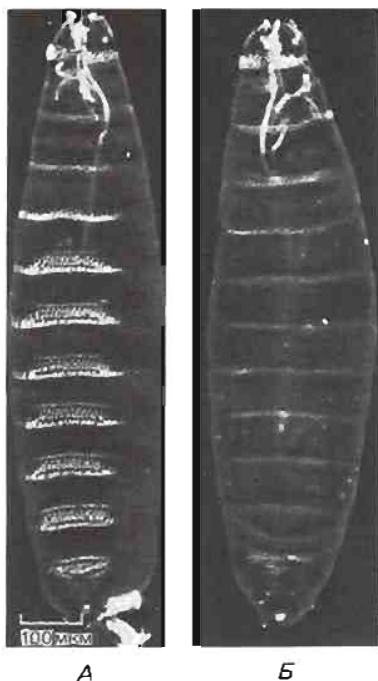


Рис. 15-32. Нормальный зародыш дрозофилы (А) и мутантный зародыш (Б), у которого утрачена большая часть генов комплекса *bithorax* (точный генотип мутанта — *Drbx¹⁰⁰D1P9/D1P9*). Число сегментов у мутанта не изменилось, но сегменты, лежащие каудальнее от метоторакса, сходны с метотораксом. (С любезного разрешения Gary Struhl.)

ся в повторения метоторакса (рис. 15-32). Эти наблюдения подтверждают первоначальное предположение о том, что комплекс *bithorax* играет важную роль в контроле формирования различий между сегментами груди и брюшка; при отсутствии комплекса эти различия не возникают.

15.4.9. Тело личинки формируется путем видоизменения основного структурного плана повторяющихся сегментов [27]

Важно не только уяснить себе функции, действительно выполняемые комплексом *bithorax*, но и понять, что от него не зависит. Например, этот комплекс не влияет на число сегментов, а также не определяет основных черт внутреннего строения типичного сегмента. У личинки, в геноме которой нет комплекса *bithorax*, образуется нормальное число сегментов и каждый сегмент обладает сравнительно упорядоченным строением, характерным для головы, проторакса или мезоторакса. Должен существовать механизм, который обеспечивает определенное число повторов основной структурной единицы («прототипа»). Функция комплекса *bithorax* состоит в видоизменении таких повторяющихся единиц, придающем каждому сегменту свойственные только ему характерные черты.

Поэтому у дрозофилы должны существовать и другие гены, которые, с одной стороны, определяют основной план строения сегмента-прототипа, а с другой — задают общее число сегментов. Мутация гена, контролирующего структуру прототипа, должна на все сегменты повлиять сходным образом. В результате изучения мутаций, затрагивающих ранние стадии развития, была выявлена такого рода группа мутантных генов, относящихся по меньшей мере к шести различным локусам. Например, у личинки с мутацией *gooseberry* сходным образом изменена задняя часть каждого сегмента. Известны шесть мутаций, проявление которых состоит в нехватке какой-либо структуры в каждом втором сегменте. И наконец, известны три мутации, при которых общее число сегментов уменьшается в результате выпадения нескольких смежных сегментов. Например, у мутантов *knirps* отсутствуют шесть средних сегментов брюшка, так что личинка состоит из головы, трех сегментов груди, а затем первого и восьмого сегментов брюшка.

Таким образом, личинка насекомого, по-видимому, формируется путем повторения основной единицы — сегмента-прототипа, подвергающегося в каждом случае определенным видоизменениям. По этому принципу устроены и многие другие организмы или их части. Например, у позвоночных имеются сомиты, зубы и сегменты конечностей (плечо, предплечье и т.д.). Но механизмы, лежащие в основе генетического контроля построения этих органов у позвоночных, все еще неизвестны; мы начинаем понимать их только у дрозофилы.

15.4.10. Для маркировки мутантных клеточных клонов можно использовать митотическую рекомбинацию [28]

Как мы уже видели раньше, при анализе процесса развития полезно иметь возможность создавать в организме клоны мутантных клеток. При работе с дрозофилой для этого используют явление митотической рекомбинации.

Нормальная соматическая клетка содержит два гомологичных набора хромосом (см. гл. 14); в каждой паре гомологов одна хромосома происходит

от отца, а другая – от матери. При нормальном митотическом делении материнская и отцовская хромосомы не обмениваются генетическим материалом, и поэтому каждая из дочерних клеток получает от родителей полный интактный набор отцовских генов и такой же набор материнских. В норме обмен генами между материнским и отцовским гомологами происходит только в половых клетках при кроссинговере во время мейоза. Иногда, однако, кроссинговер между гомологами происходит и при делении обычных соматических клеток. Это называют **митотической рекомбинацией**. Если материнская и отцовская хромосомы обмениваются идентичными участками, т.е. если клетка по этим участкам гомозиготна, то такой обмен остается незамеченным. Но если обмениваться будут участки, по которым клетка гетерозиготна, то может возникнуть выраженный фенотипический эффект. В результате рекомбинации могут, например, появиться дочерние клетки, имеющие различную пигментацию, и тогда при дальнейшем размножении эти клетки образуют участки ткани разного цвета. Механизм этого иллюстрируют схемы на рис. 15-33, где показано, как после единичного акта митотической рекомбинации на фоне нормальных клеток может появиться **двойное пятно**, образованное двумя клонами клеток с различными генетическими маркерами.

У дрозофилы есть две особенности, облегчающие маркировку клеточных клонов с помощью митотической рекомбинации. Во-первых, этот процесс можно вызывать искусственно, подвергая личинок рентгеновскому облучению (по-видимому, митотическая рекомбинация является побочным следствием повреждения хромосом). Во-вторых, громадное число изученных мутаций позволяет специально подобрать подходящий генотип гетерозиготной мухи, и в частности гены, по которым эта муха гетерозиготна. Таким образом, можно в определенное время вызвать появление в организме легко идентифицируемых клонов гомозиготных клеток практически любого желаемого типа, не прибегая к каким-либо хирургическим манипуляциям.

Размеры меченого клона определяются числом клеточных делений после возникновения клона. Обычно большие клоны образуются после облучения на ранних стадиях эмбрионального развития, а клоны меньшей величины – при более позднем облучении. Проводя облучение в разные сроки и определяя величину образующихся клонов у взрослой мухи, можно получить график роста зачатков различных частей взрослого организма на разных стадиях развития.

Если цель состоит просто в создании клона легко отличимых клеток, можно использовать множество генетических маркеров. Например, митотическая рекомбинация у мухи, гетерозиготной по рецессивной мутации *yellow* (обозначается y , а соответствующий аллель дикого типа – y^+), приводит к образованию пары мутантных клонов с генотипами y/y и y^+/y^+ на фоне гетерозиготной ткани y/y^+ . Так как мутация *yellow* рецессивна, мутантный фенотип проявится только у клона y/y , который образует пятно желтого цвета на коричневом фоне клеток y/y^+ и y^+/y^+ . Аналогичным образом при использовании рецессивной мутации *multiple wing hairs* (*mwh*) один из рекомбинантных клонов будет опознаваться (если его клетки окажутся в крыле) в виде скопления аномальных клеток mwh/mwh , каждая из которых вместо одного волоска на кутикуле крыла образует несколько волосков (рис. 15-34). Искусственное получение митотических рекомбинаций с помощью рентгеновских лучей при использовании таких маркеров может служить мощным инструментом для анализа клональной структуры организма.

15.4.11. Поликлональные участки разделены четкими границами

Широкое плоское крыло дрозофилы, представляющее собой эпителиальную структуру, – очень удобный объект для анализа отношений между клонами. Если маркированные клоны были получены путем рентгеновского облучения, образуемые ими пятна обычно располагаются случайным образом и имеют, как правило, довольно неправильные очертания. Сравнение расположения

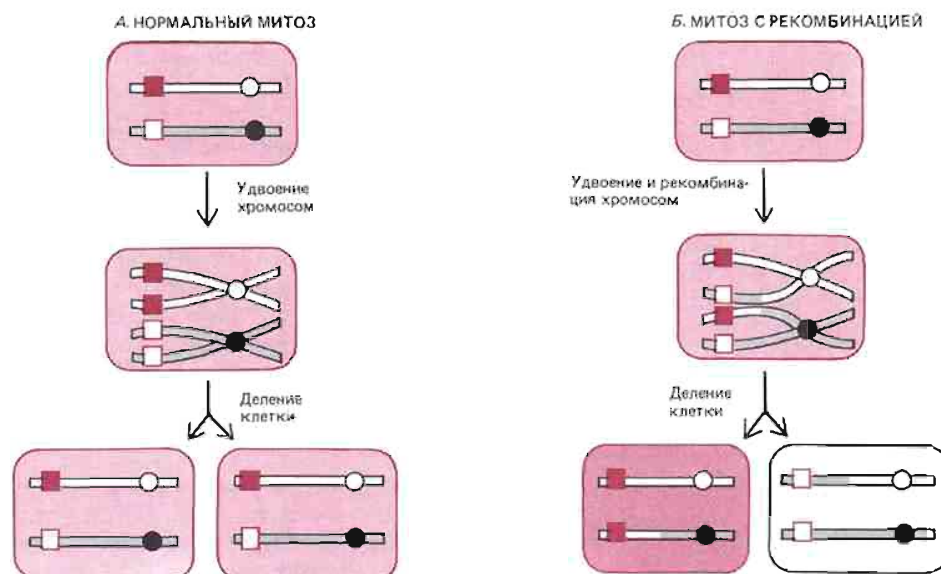


Рис. 15-33. Сравнение митотической рекомбинации и нормального митоза. Отцовские хромосомы представлены серыми, материнские – белыми. Предположим, что геном содержит locus, определяющий пигментацию, с двумя аллелями: R (красный квадратик) и r (белый квадратик), поэтому гомозиготные клетки R/R изображены темно-розовыми, гетерозиготные R/r – светло-розовыми и гомозиготные r/r – белыми. А. В нормальном цикле деления материнская хромосома гетерозиготной клетки удваивается, образуя две хроматиды, соединенные в области центромеры; обе хроматиды несут аллель R . Подобным же образом удваивается отцовская хромосома, образуя тоже две хроматиды, соединенные в области центромеры и несущие аллель r . В митозе две хроматиды каждой пары расходятся, и каждая из дочерних клеток получает случайным образом ту или иную из двух идентичных хроматид как первой, так и второй пары; поэтому каждая дочерняя клетка наследует гетерозиготный генотип R/r .

Б. В аномальном цикле деления, где после репликации хромосом происходит митотическая рекомбинация, две хроматиды в каждой паре различны: одна из них несет аллель R , а другая обменялась участком с одной из хроматид второй хромосомы и несет аллель r . В этом случае каждая из дочерних клеток унаследует в результате случайного распределения по одной из двух материнских и двух отцовских хроматид. Таким образом, в результате митотической рекомбинации одна дочерняя клетка унаследует обе копии аллеля R , а другая – обе копии аллеля r , так что из гетерозиготной клетки R/r (светлоокрашенной) получатся две дочерние клетки с различным генотипом – одна гомозигота R/R (темноокрашенная) и одна гомозигота r/r (белая). Затем обе дочерние гомозиготы воспроизводятся обычным образом, и их потомки образуют двойное пятно, состоящее из клона красных клеток R/R и клона белых клеток r/r , на фоне розовых клеток R/r , которые не претерпели митотической рекомбинации.

Митотическая рекомбинация определяется случайными столкновениями двух гомологичных хромосом и поэтому происходит редко; в митотическом цикле не предусмотрено закономерного спаривания хромосом (как в мейозе) для повышения частоты рекомбинации.

клонов у разных особей показывает, что потомки одной клетки могут распределяться в пространстве по-разному – их расположение не детерминировано. Однако клоны вблизи центральной оси крыла как бы разделены невидимой границей между передней и задней частями крыла, проходящей у всех мух одинаковым образом. Клоны могут быть расположены с той или другой стороны от этой границы, но никогда ее не пересекают; в тех местах, где клоны примыкают к этой границе, края соответствующих пятен бывают необычно четкими и прямыми (рис. 15-35). Каждый участок, отделенный такого рода

Рис. 15-34. Митотическую рекомбинацию можно использовать для создания в крыле дрозофилы клона мутантных клеток с маркером множественных волосков крыла (*mwh*).

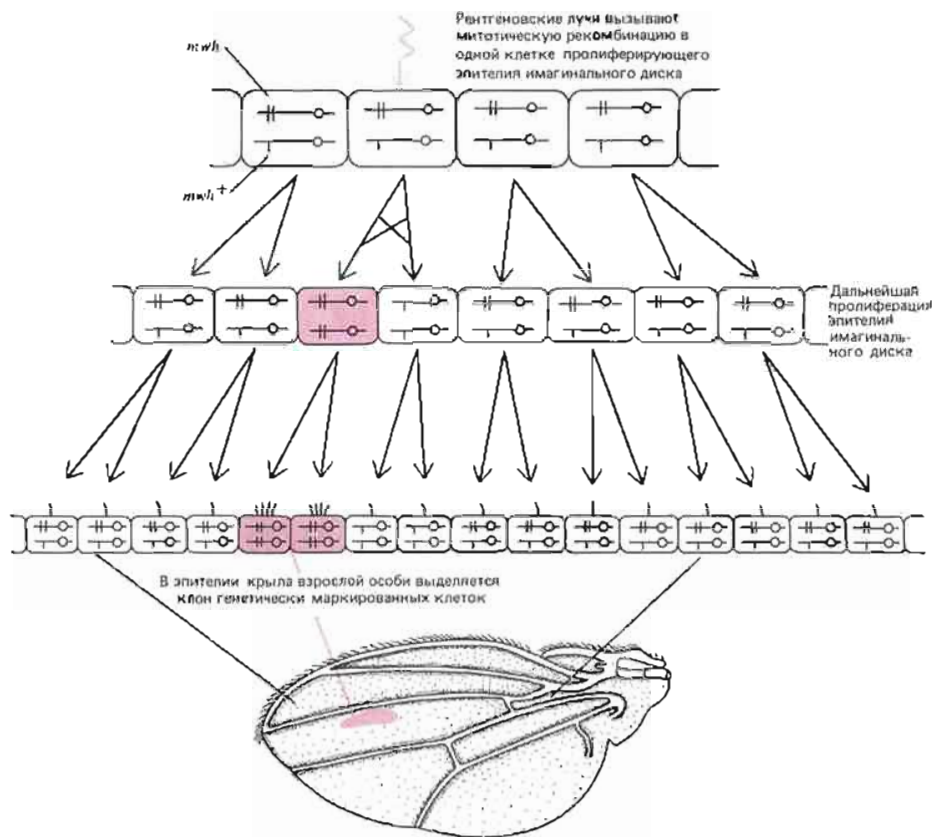
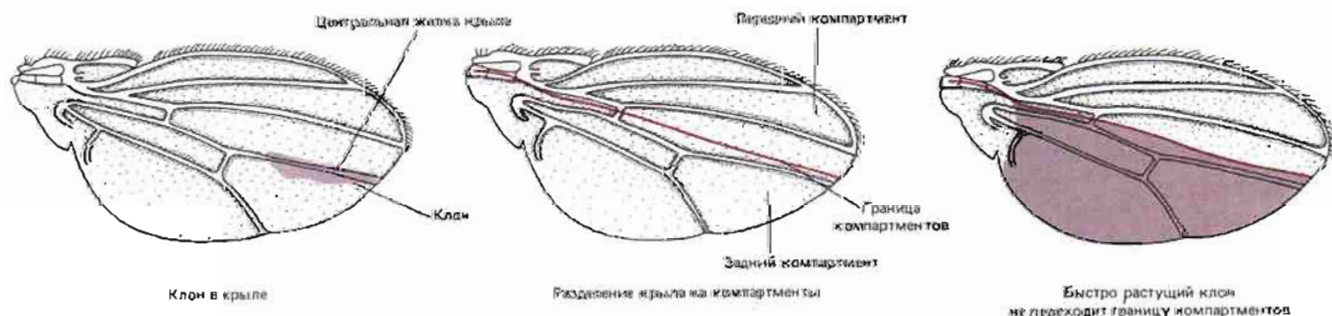


Рис. 15-35. Форма пятен, образуемых маркированными клонами в крыле дрозофилы, позволяет выявить существование границы компартментов. У такой границы край каждого пятна получается прямым. Даже если клон растет быстрее остального крыла и поэтому занимает очень большое пространство, он все равно не переходит границу компартментов (крайний рисунок справа). Обратите внимание, что эта граница не совпадает с центральной жилкой крыла. (F. H. C. Crick, P. A. Lawrence. Science, 189, 340–347, 1975.)

границей (компаратмент), является поликлоном, т.е. состоит из нескольких полных клонов.

Границы компартментов лучше всего выявляются с помощью следующего генетического приема. У мутантов *Minute* дрозофилы пролиферация клеток происходит очень медленно. Мутация *Minute* доминантная, и поэтому гетерозиготные клетки с генотипом M/M^+ пролиферируют медленнее, чем гомозиготные с генотипом M^+/M^+ . Путем скрещивания можно получить мух, у которых locus *Minute* тесно сцеплен с locus рецессивной маркерной мутации *multiple wing hairs* (*mwh*). Гетерозиготы $M\ mwh^+/M^+ mwh$ имеют нормальные волоски на крыльях и растут медленно. С помощью рентгеновских лучей у этих мух можно получить рекомбинантные клоны с генотипом $M^+ mwh/M^+ mwh$. Эти клоны будут расти гораздо быстрее окружающей ткани, что можно легко увидеть благодаря аномальным волоскам на крыльях. И даже если такие клоны были индуцированы на сравнительно поздней стадии развития, все же оказывается, что клетки $M^+ mwh/M^+ mwh$ занимают



значительную часть крыла (рис. 15-35). Однако граница, проходящая по середине крыла, строго соблюдается: каждый клон лежит полностью в пределах передней или же задней половины крыла, и разделяющая линия остается прямой и четкой. Нельзя ли объяснить такое поведение клеток наличием в имажинальном диске складки или иного механического барьера, ограничивающего рост клона? При тщательном микроскопическом исследовании не было получено никаких данных в пользу этого предположения. Граница компартментов не совпадает, например, ни с центральной жилкой крыла, ни с какой-либо иной ясно видимой структурой. Создается впечатление, что уже на ранней стадии развития клеток имажинального диска возникает какое-то различие в их внутренних свойствах: клетки подразделяются на две категории и размножение каждой из них строго ограничивается пределами передней или задней половины крыла. Иными словами, клетки очень рано детерминируются как будущие элементы той или другой части этого органа.

15.4.12. В клетках различных компартментов активны разные группы генов [29]

Как же различия в свойствах клеток могут приводить к образованию в крыле столь четкой разграничительной линии? Возможно, что клетки, детерминированные одинаковым образом, слипаются между собой сильнее, чем с клетками, детерминированными по-иному. В этом случае резкая граница была бы результатом своего рода «поверхностного натяжения», подобно поверхности раздела между водой и маслом. Эту гипотезу подкрепляют результаты опытов с перемешиванием различных групп клеток имажинальных дисков в культуре: в таких опытах можно было наблюдать самосортировку и преимущественное слипание клеток из одной и той же группы.

Другие, еще более веские данные в пользу различий в клеточной детерминации были получены в генетических исследованиях. Оказалось, например, что мутация *engrailed* затрагивает только клетки, образующие заднюю половину имажинального диска (это касается крыловых дисков и некоторых других), превращая их в клетки «переднего» типа; в результате этого задняя половина крыла, например, развивается почти как зеркальное отражение передней половины. Другая мутация, *bithorax* (принадлежащая, между прочим, к рассмотренному ранее комплексу *bithorax*), превращает переднюю половину жужжальца (небольшого шишкообразного балансира, играющего важную роль в стабилизации полета и находящегося позади крыла) в переднюю половину крыла (рис. 13-36). Проявления гомеозисных мутаций подобного типа указывают на то, что в норме в клетках передней и задней частей имажинальных дисков активны разные группы генов.

Рис. 15-36. Жужжальце мутанта *bithorax* (Б) в сопоставлении с нормальным крылом и нормальным жужжальцем (А). Передний компартмент мутантного жужжальца превратился в передний компартмент крыла (А — с любезного разрешения Peter Lawrence; Б — из F. H. C. Crick, P. A. Lawrence. Science, 189, 340–347, 1975.)



А

Передняя половина жужжальца, трансформированная в переднюю половину крыла



Б

15.4.13. Детерминация осуществляется «комбинаторным» способом [29]

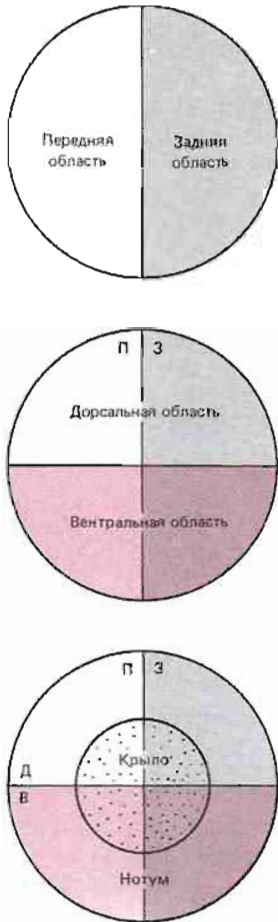


Рис. 15-37. Три двоичных выбора, соответствующие трем пересекающимся границам компартментов, могут совместно определять восемь различных компартментов.

Описанные выше наблюдения послужили стимулом для поиска других границ компартментов, и такие границы были найдены. Например, в имагинальном диске крыла (из которого образуется не только крыло, но и близлежащий участок груди – нотум, или спинка) идентифицированы по меньшей мере три границы, в результате пересечения которых образуется не менее восьми отдельных компартментов (рис. 15-37). Подобные системы компартментов были обнаружены в глазо-антеннальном участке, в ноге и в других местах.

Анализ клонов позволяет устанавливать не только существование компартмента, но и время его детерминации. Если мутантный клон возник в результате рентгеновского облучения уже детерминированных клеток, его пролиферация ограничивается пределами того или другого компартмента. Если же клон образовался до детерминации, мутантные клеточки могут оказаться в обоих компартментах – граница между ними не соблюдается. Таким образом было показано, что раньше всего возникает граница между передней и задней частями крыла, тогда как подразделение на дорсальную и вентральную части и на проксимальную и дистальную области (крыло/нотум) происходит позднее. Создается впечатление, что состояние детерминации клеток в любой из частей тела мухи определяется последовательным рядом выборов между альтернативными путями развития, соответствующими различным дискам и различным компартментам внутри дисков. Гомеозисные мутации затрагивают контролирующие гены, которые регистрируют тот или иной выбор, а затем реализуют соответствующий путь.

В результате детерминации клетки данного компартмента приобретают «адрес», представленный определенным сочетанием активностей контролирующих генов. Изменение активности одного из таких генов может изменить адрес какого-то из компартментов, и тогда пролиферация его клеток приведет к образованию совершенно иного участка тела. Комбинаторный метод детерминации позволяет использовать контролирующие гены очень экономно; например, один и тот же генетический материал может определять различия между передней и задней частями в нескольких разных имагинальных дисках. Так, мутация *engrailed* превращает не только заднюю половину крыла в переднюю часть ноги, но и заднюю часть ноги в переднюю половину крыла. Как мы уже видели, тот же принцип использован у личинок: один и тот же набор генов действует во многих последовательных сегментах, формируя их по одной и той же общей схеме; эти гены определяют отличие передней части сегмента от задней и т.п., тогда как другой набор генов контролирует различия между разными сегментами. Совместное действие нескольких групп генов позволяет определить подробный «адрес» каждой клетки.

В принципе, если имеется n контролирующих генов, каждый из которых может быть активным или неактивным, то их можно использовать в разных комбинациях для определения 2^n различных состояний клеток («адресов»), точно так же как сочетанием всего лишь четырех слов, выбранных из четырех пар альтернатив – передний/задний, проксимальный/дистальный, дорсальный/вентральный и крыло/нога, – мы можем определить любой из 2^4 различных компартментов.

15.4.14. У дрозофилы пределы пролиферации клеток не определяются числом делений: быстро растущие клоны способны заполнить свой компартмент почти полностью, но не могут увеличить его размеры [29, 30]

Мы уже видели, как можно, облучая гетерозиготных мух *Minute* (M/M^+), создать клоны M^+/M^+ , которые делятся быстрее окружающих клеток. Такие быстро растущие клоны достигают большой величины и могут заполнить почти весь свой компартмент. И тем не менее размеры и строение такого компартмента не отличаются от нормы; например, величина и форма правого

и левого крыльев почти одинаковы даже в том случае, если только одно из них содержит клон M^+/M^+ . Когда при образовании структур взрослого организма на фоне медленно растущей ткани образуются несоразмерно большие участки быстро растущих клеток, эти клетки совершают больше делений, чем если бы все клетки делились с одинаковой скоростью. Напротив, медленно растущие клетки в этом случае делятся меньше, чем в случае конкуренции за пространство с такими же медленно растущими клетками. Число делений для клеток обоих типов аномально; очевидно, пролиферация клеток просто продолжается до тех пор, пока весь компартмент не достигнет нормальной величины, — клетки не отсчитывают определенного числа делений, после которого их пролиферация прекращается. Из этого следует, что размеры компартмента у дрозофилы определяются не детерминированным числом делений, а каким-то пространственным сигналом, извещающим клетки о том, что структура, в пределах которой они растут, достигла нормальных размеров. Вероятно, такой сигнал возникает в результате межклеточных взаимодействий и зависит от расстояний, разделяющих клетки.

15.4.15. У позвоночных детерминация клеток сходна с их детерминацией у дрозофилы [31]

Вероятно, исследования на дрозофиле могут пролить свет и на молекулярные механизмы развития других животных. Если эти исследования приведут к успеху, будем ли мы понимать только развитие мухи или же выявленные принципы окажутся универсальными — применимыми, в частности, и к позвоночным? Тех, кто надеется на открытие универсальных принципов, должно несколько обескуражить то обстоятельство, что у позвоночных практически не известно четких примеров гомеозисных мутаций или границ между компартментами. Но это может и не означать, что их нет вообще. Возможно, что у дрозофилы они просто легче выявляются.

Можно думать, что у позвоночных детерминация клеток все же, по существу, аналогична их детерминации у дрозофилы. У позвоночных явление, кое в чем сходные с детерминацией имажинальных дисков у дрозофилы, можно продемонстрировать в опытах с пересадкой ранних эмбриональных зачатков. Сомиты раннего куриного эмбриона можно задолго до начала их дифференцировки трансплантировать из одного положения в другое. Сомиты шеи и груды на этой стадии практически неразличимы, однако после пересадки грудных сомитов в область шеи они образуют грудные позвонки с ребрами, а шейные сомиты после пересадки в область будущей грудной клетки образуют типичные шейные позвонки.

Обычно у позвоночных трудно разделить во времени процессы детерминации и дифференцировки, как это удастся в опытах с имажинальными дисками дрозофилы при выдерживании их в брюшке взрослой мухи. Однако и у позвоночных встречаются клетки, которые в течение всей жизни животного остаются детерминированными, но не дифференцированными. Таковы, в частности, стволовые клетки, например клетки костного мозга или базального слоя эпидермиса: в результате их пролиферации непрерывно образуются клетки, которые затем и внешне дифференцируются определенным образом, например превращаются в зрелые элементы эпидермиса или в клетки крови (см. гл. 16).

Эксперименты на позвоночных позволили нам многое узнать о клеточных взаимодействиях в процессе развития, но наши знания в области генетики развития позвоночных все еще совершенно недостаточны. И то, что мы выясним в опытах на дрозофиле, несомненно, будет иметь значение далеко за пределами биологии плодовой мушки.

Заключение

По-видимому, клетки организма содержат одинаковые геномы и начинают различаться только вследствие разной экспрессии генов. Часто такие измене-

ния в экспрессии генов наследуются, и в этом смысле клетки обладают памятью: состояние клетки в данный момент зависит не только от ее генома, но также от ее истории и от нынешнего клеточного окружения. Задолго до своей внешней дифференцировки клетки приобретают наследственную специализацию, определяющую путь их дальнейшего развития.

У дрозофилы эпидермис взрослой мухи в основном образуется из имажинальных дисков личинки. Клетки различных имажинальных дисков детерминированы по-разному, и это состояние детерминации предопределяет образование из них определенных структур, например крыла или антенны. На протяжении многих циклов деления клетки остаются детерминированными, но не дифференцируются; в некоторых случаях возможна трансдетерминация какой-либо группы клеток. Гомеозисные мутации – результат изменения генов, контролирующих возникновение различий между дисками; изучение таких мутаций у личинок показало, что организм, по-видимому, формируется из гомологичных сегментов, представляющих собой видоизмененные повторения исходного сегмента-прототипа. Гомеозисные мутации позволили выявить гены, управляющие видоизменением сегментов; общий план построения сегмента и число сегментов контролируются другими генами.

Принципы детерминации клеток у дрозофилы изучали с помощью мутантных клонов, возникающих в результате митотической рекомбинации после рентгеновского облучения. Форма пятен, образуемых такими клонами, свидетельствует о том, что крыло и другие органы состоят из ряда участков («компартментов»), построенных из клеток в различных состояниях детерминации. Клетки каждого компартмента имеют как бы «адрес», представленный определенной комбинацией активных контролирующих генов. Клетки разных компартментов не перемешиваются.

Генетика развития позвоночных изучена по сравнению с генетикой дрозофилы недостаточно, но можно думать, что и у позвоночных нередко используются те же принципы управления развитием.

15.5. Пространственные структуры

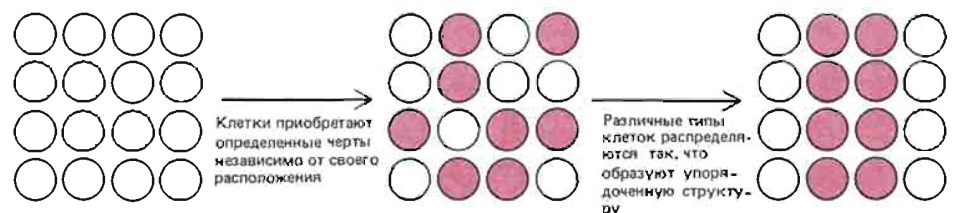
15.5.1. Клетки приобретают различные черты в соответствии с их расположением [32]

До сих пор мы рассматривали детерминацию с точки зрения отдельной клетки и ее внутреннего состояния, почти не затрагивая центрального вопроса

Рис. 15-38. Два альтернативных способа создания упорядоченной пространственной структуры, образованной клетками различных типов. А. Обычный ход событий. Б. Последовательность событий, которая при нормальном развитии встречается редко.



А



Б

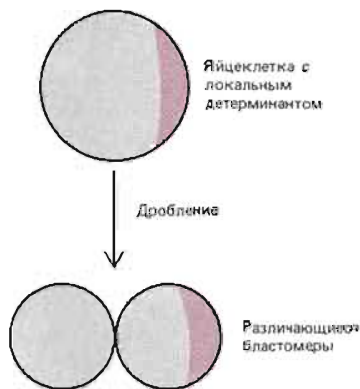


Рис. 15-39. Если локальные цитоплазматические детерминанты яйца распределяются при дроблении асимметрично, то образуются бластомеры, изначально отличающиеся друг от друга.

структурообразования: как возникает пространственно организованное сообщество клеток, обладающих различными свойствами? Существуют ли сигналы, сообщающие клетке, где она находится? Какова природа этих сигналов и как они интерпретируются?

Теоретически возможны два крайних случая. С одной стороны, соседние клетки могут быть вначале идентичными, а различия между ними будут возникать в зависимости от их расположения (рис. 15-38, А). С другой стороны, высокоупорядоченная структура может создаваться из хаотичной смеси различных дифференцированных клеток (рис. 15-38, Б); в этом случае либо происходит сортировка клеток согласно их свойствам, либо клетки, оказавшиеся не на своем месте, гибнут, а остальные выживают и размножаются. Фактически почти во всех случаях первое из этих предположений ближе к истине: детерминация клеток происходит в соответствии с их расположением, и при нормальном ходе развития вряд ли бывают случаи, когда упорядоченные структуры образуются из беспорядочной вначале смеси различных клеток.

Прежде чем обсуждать общие механизмы, благодаря которым в первоначальном поле однотипных клеток возникают местные различия, мы рассмотрим феномен асимметричного деления клеток, наблюдаемый у многих видов на ранних стадиях дробления, где важную роль играют локальные детерминанты клеточных свойств, находящиеся в цитоплазме яйца (рис. 15-39). Это наиболее прямой способ пространственно упорядоченной детерминации различий между клетками.

15.5.2. В цитоплазме яиц иногда можно бывает обнаружить локальные детерминанты [33]

Мы уже говорили о том, что у амфибий полярность зародыша определяется полярностью самого яйца. Ооцит уже обладает пространственной структурой: определенные компоненты сосредоточены в определенных ее участках. При дроблении асимметричного яйца образующиеся клетки не одинаковы, так как в них попадают неравные количества таких локализованных материалов. Значение локальных детерминантов яйца у разных видов различно. Один крайний случай – яйца млекопитающих, у которых такие детерминанты, по-видимому, не играют никакой роли и все клетки ранней морулы тотипотентны. Другой крайний случай – так называемые мозаичные яйца моллюсков, асцидий и некоторых других животных, у которых в результате дробления яйца образуются бластомеры, с самого начала обладающие разными потенциями к развитию. Есть данные, что эти столь ранние различия обусловлены переходом в бластомеры разных детерминантов цитоплазмы яйца. Например, если дробящееся яйцо асцидии *Styela* подвергнуть центрифугированию и его содержимое перераспределится, то дифференцировка зародыша будет нарушена таким образом, как если бы переместившиеся участки цитоплазмы содержали контролирующие факторы. Наиболее четкие данные, однако, касаются детерминации первичных половых клеток – предшественников яиц и спермиев.

15.5.3. В яйце дрозофилы детерминант первичных половых клеток находится у одного из полюсов [34]

Предшественники половых клеток имеют в организме особый статус, и детерминация их часто происходит на очень ранней стадии развития. Было показано, что у дрозофилы детерминант этих клеток локализован в специализированном участке цитоплазмы на одном из полюсов яйца.

Подобно яйцам большинства насекомых, яйцо дрозофилы дробится особым образом, проходя стадию синцития, когда несколько тысяч ядер лежат в единой неразделившейся цитоплазме (рис. 15-40). Цитоплазма на заднем конце яйца получила название *полярной плазмы*, и ее легко отличить по наличию мелких (0,5–1,0 мкм) *полярных гранул*, состоящих частично из РНК.

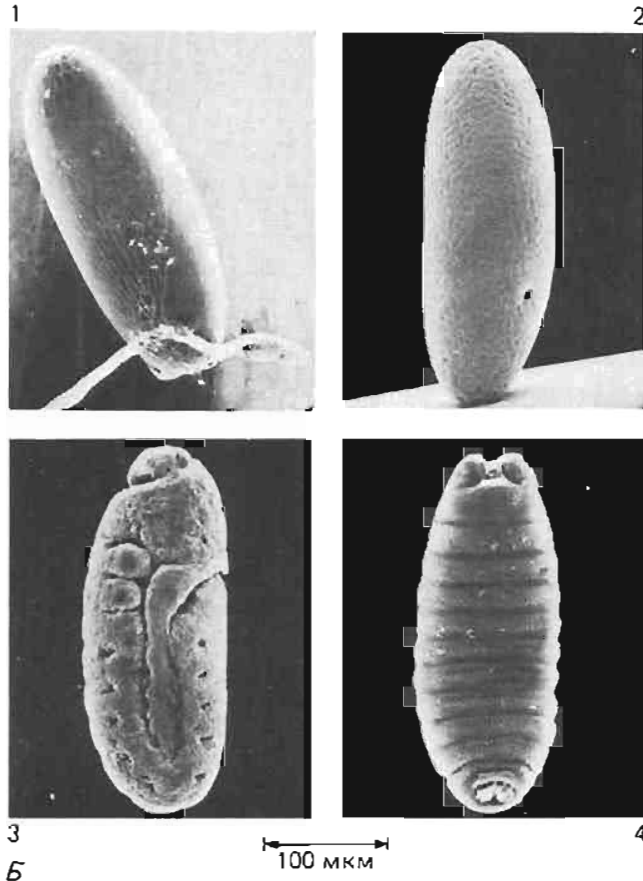


А

Рис. 15-40. Развитие яйца дрозофилы.

А. Развитие начинается серией митозов без деления цитоплазмы. Позже ядра перемещаются на периферию яйца и вокруг них образуются отдельные клетки, образующие бластодерму. [Н. А. Schneiderman. In: Insect Development (P. A. Lawrence ed.), 3-34, Oxford, Eng., Blackwell, 1976.]

Б. Микрофотографии ранних стадий развития, полученные с помощью сканирующего электронного микроскопа. 1 — яйцо, одетое наружной оболочкой, или хорионом; 2 — зародыш на стадии сивития (яйцевые оболочки удалены); 3 — в результате сложных впячиваний бластодермы зародыш начинает сегментироваться; 4 — зародыш на поздней стадии развития незадолго до вылупления личинки первого возраста. (С любезного разрешения Rudi Turner и Anthony Mahowald.)



Часть полярной плазмы включается в клетки, образующиеся на заднем конце яйца. Их называют *полярными клетками*; они отличаются от остальных более крупными размерами и тем, что их цитоплазма содержит полярные гранулы. Это первичные половые клетки, которые позже мигрируют в гонады и в конце концов дают начало ооцитам или спермиям.

Если перед дроблением облучить задний полюс яйца ультрафиолетом, из таких яиц развиваются стерильные особи, не имеющие половых клеток. Очевидно, это результат инактивации полярной плазмы: стерильность можно предотвратить, если после облучения в яйцо инъектировать полярную плазму из необлученного яйца. Дополнительные эксперименты с микроинъекцией позволяют еще более четко продемонстрировать роль полярной плазмы в детерминации первичных половых клеток (рис. 15-41). Из заднего конца яйца-донора извлекают полярную плазму и инъектируют ее в передний конец другого яйца, где в норме образуются только соматические клетки. Это приводит к образованию клеток, по виду сходных с полярными. Эти клетки переносят из второго зародыша в третий, с иным генотипом. Некоторые из потомков мухи, развившейся из этого третьего эмбриона, имеют генотип

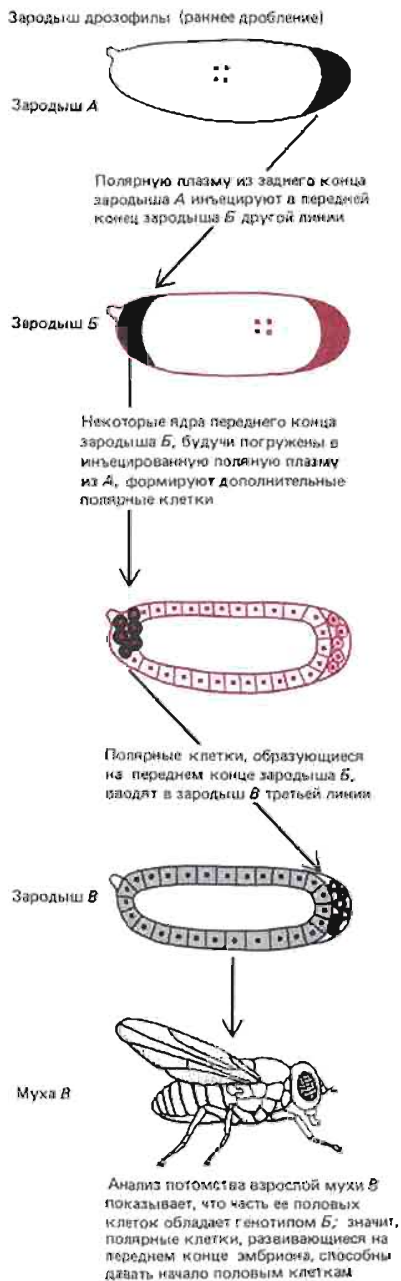


Рис. 15-41. Схема эксперимента, показывающего, что полярная плазма в яйце дрозофилы служит локальным детерминантом первичных половых клеток.

инъецированных клеток, а не собственных половых клеток родительской особи. Таким образом, инъеция полярной плазмы в передний конец яйца приводит к превращению ядер будущих соматических клеток в ядра первичных половых клеток, способных образовать в ходе развития жизнеспособные ооциты и спермии. Судя по некоторым данным, возможно, что сходным образом детерминируются предшественники половых клеток и у амфибий.

15.5.4. Свойства клеток контролируются пространственными сигналами [32]

Локализация детерминантов в яйце не может быть достаточно точной, и поэтому она способна определить лишь небольшое число ранних различий в эмбрионе, а у некоторых животных (например, млекопитающих) нет даже этого. По мере размножения клеток организму рано или поздно понадобятся иные средства для создания упорядоченных структур из ранее однотипных клеток. Для такой дифференцировки необходимо, чтобы клетки в разных участках испытывали различные внешние воздействия, которые будут играть роль сигналов, доставляющих клеткам информацию об их месте в организме.

Наиболее простым механизмом создания пространственной структуры могло бы быть воздействие пространственного сигнала, изменяющегося от точки к точке, например градиента концентрации какого-либо вещества. Предположим, что мы имеем клеточное поле, в котором где-то расположен источник определенного вещества, способного к диффузии. Таким источником могла бы быть группа уже специализированных клеток, выделяющих это вещество. Допустим, что оно диффундирует через ткань и при этом медленно распадается. Тогда его концентрация, высокая вблизи источника, по мере удаления от него будет снижаться (рис. 15-42), и в клеточном поле образуется концентрационный градиент. Тогда клетки в различных участках поля будут испытывать влияние различных концентраций данного вещества, и в результате могут появиться различия в их собственных свойствах. Такого рода гипотетическое вещество, по концентрации которого клетки могут определять свое положение в поле, получило название морфогена.

15.5.5. В первоначально однородной клеточной популяции постепенно возникают резкие различия [35]

В случае плавного градиента концентрации морфогена можно ожидать, что и свойства клеток будут изменяться от одного участка к другому постепенно. Такие нерезкие различия действительно встречаются в некоторых тканях. Но часто наибольший интерес представляет возникновение резких, качественных различий — таких, например, как различие между клетками хряща и мышц, между которыми нет переходных форм. При детерминации также происходит как бы выбор одного из дискретных вариантов дальнейшего развития. И если пространственный сигнал изменяется плавно, то как в первоначально однородной популяции клеток возникают столь резкие различия?

Достоверного ответа на этот вопрос пока нет. Существует целый ряд дискретных самоподдерживающихся альтернативных состояний, в одно из которых клетка может в конце концов перейти. Если множество одинаковых клеток находится в одинаковом окружении, то все они, вероятно, придут в одно и то же конечное дифференцированное состояние. Если же на них будет воздействовать пространственный градиент какого-то внешнего фактора, часть клеток может начать дифференцироваться в одном направлении, а другая часть — в другом. В отношении любого существенного (для дифференцировки) средового фактора клетки обладают некоторой пороговой чувствительностью и после надпорогового воздействия направляются по одному пути развития, а в случае подпорогового воздействия — по другому. Могло бы даже существовать несколько пороговых уровней для одного внешнего фактора, так что один такой фактор мог бы определять несколько выборов

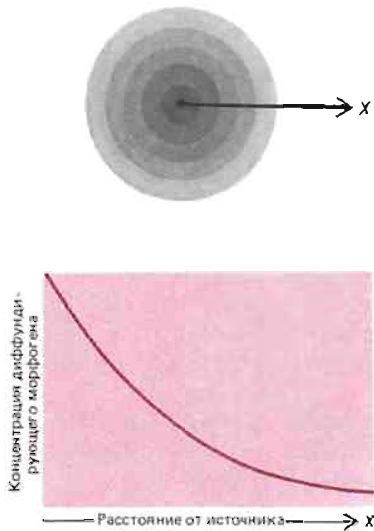


Рис. 15-42. Если какое-то вещество образуется в определенной точке и по мере диффузии из этой точки расщепляется, то создается градиент концентрации с максимумом в исходной точке. Это вещество может служить морфогеном, локальная концентрация которого контролирует поведение клеток в соответствии с расстоянием от его источника.

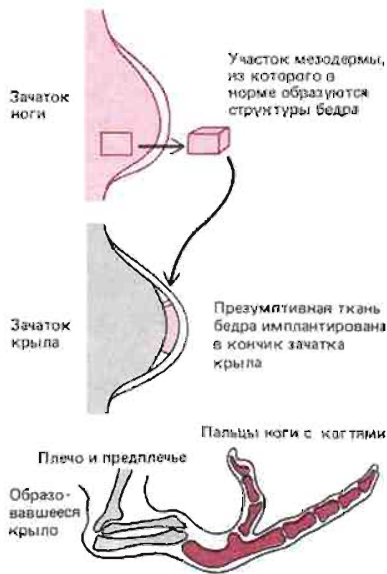


Рис. 15-43. Ткань будущего бедра после пересадки на кончик почки крыла (у куриного эмбриона) образует пальцы. (J. W. Saunders et al. Develop. Biol., 1, 281-301, 1959.)

в процессе детерминации. Если под влиянием какого-то фактора клетка определенно вступила на путь, ведущий к какому-то стабильному состоянию, она будет развиваться в выбранном направлении даже в отсутствие этого фактора. На этом пути временные, зависевшие от положения клетки воздействия могут вызывать эффекты, «запоминающиеся» как дискретные выборы, и таким образом определять пространственную картину детерминации.

Можно сказать, что внешние воздействия доставляют клетке **позиционную информацию**. Последующий выбор состояния клетки представлен позиционной информацией, которая была ею приобретена и записана. Такую запись, воплощенную в виде определенного свойства клетки, можно назвать «позиционным значением» клетки.

15.5.6. Позиционная информация накапливается постепенно [36]

Понятия «позиционная информация» и «позиционное значение» помогают сделать более ясным анализ структурообразования во многих системах. Некоторые важные общие принципы хорошо иллюстрируют простой эксперимент на развивающихся конечностях куриного эмбриона. Нога и крыло у него закладываются примерно в одно время и вначале выглядят как небольшие выступы на боковой поверхности тела, похожие на язычки. Внешне клетки этих зачатков одинаковы; они еще не дифференцировались, и нет никаких намеков на то, каким будет здесь строение скелета. Если из основания зачатка ноги, из области будущего бедра, вырезать небольшой участок недифференцированной ткани и пересадить его на верхушку зачатка крыла, то из трансплантата образуется не соответствующая часть крыла и даже не часть бедра, а палец ноги (рис. 15-43). Этот эксперимент прежде всего показывает, что клетки зачатка ноги внутренне отличны от клеток зачатка крыла: содержащаяся в них позиционная информация предопределяет образование ноги, хотя нога и крыло в конечном итоге будут состоять из дифференцированных клеток одних и тех же нескольких типов. Во-вторых, из этого эксперимента видно, что пересаженные клетки, будучи уже детерминированы для образования ноги, все еще способны отвечать на сигналы, указывающие их положение вдоль оси конечности, и поэтому из них формируется палец ноги, а не бедро. Таким образом, можно заключить, что детальная позиционная информация у позвоночных приобретается клетками не сразу — она накапливается как ряд элементов, записанных в клеточной памяти в разное время. Здесь, как и в случае детерминации компартментов в имажинальных дисках насекомых, конечное состояние клетки определяется рядом последовательных выборов.

15.5.7. Незквивалентность: клетки, приобретающие одинаковое окончательное состояние дифференцировки, могут обладать различной позиционной информацией [32, 37]

В построении конечностей и многих других органов (зубов, позвонков) участвует сравнительно небольшое число различных типов дифференцированных клеток. Например, в случае конечностей это будут в основном клетки мышц, хряща, кости и рыхлой соединительной ткани. Однако пространственное распределение этих немногих видов клеток весьма сложно. Передние конечности отличаются от задних не тем, что они состоят из других тканей, а тем, что те же ткани по-иному расположены в пространстве. Как показывают эксперименты с пересадками, внутренние различия между конечностями, связанные с особенностями их строения у взрослого организма, закладываются задолго до начала дифференцировки. Хотя клеткам, образующим зачатки той и другой пары конечностей, предстоят одни и те же пути тканеспецифической дифференцировки, эти клетки **неэквивалентны**: они обладают различными позиционными значениями. Как мы уже видели (разд. 15.4.15), так же обстоит дело с сомитами. Различия между передней и задней конечностями или между разными сомитами определяются не теми сигналами, от которых зависит превращение одних клеток в хрящевые элементы, других — в костные,

третьих – в мышечные и т. д. В первую очередь клетки получают информацию о том, как они расположены в теле по отношению к передне-задней оси, а детали образующейся позже структуры зависят от интерпретации клетками этой информации и ее использования в сочетании с последующими позиционными сигналами.

Вероятно, клетки даже после дифференцировки могут сохранять свое позиционное значение. В таком случае одинаково дифференцированные клетки (например, хрящевые) могут быть неэквивалентными. Это означает, что клетки тела значительно более разнообразны, чем обычно считают гистологи. Если бы мы могли достаточно детально проанализировать молекулярный состав клеток и исследовать в них состояние активности всех контролирующих генов, нам пришлось бы выделить, учитывая химические особенности, намного больше различных видов клеток, чем те две сотни (или около того), которые различают сейчас в организме позвоночного животного.

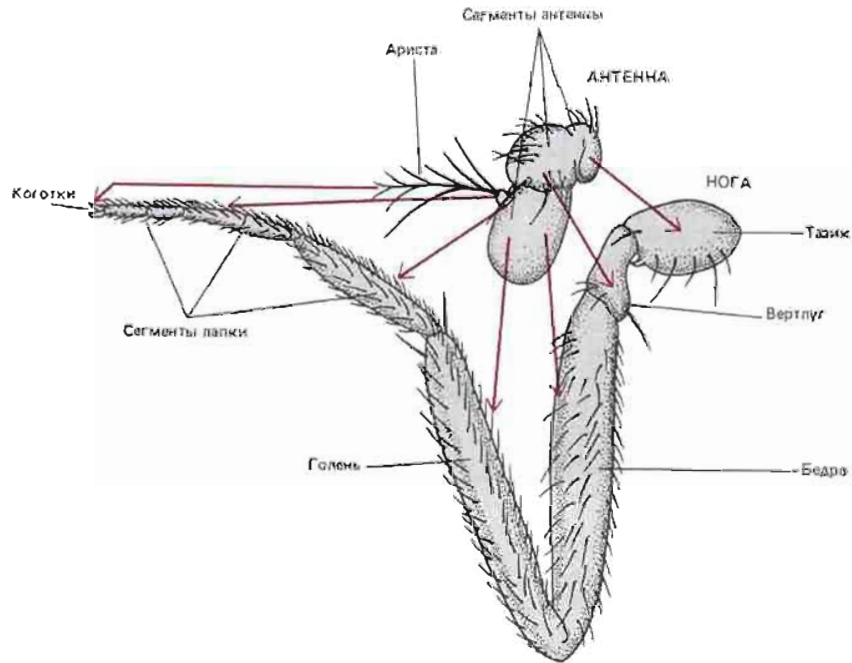
Уже есть некоторые данные о такого рода тонких различиях между одинаково дифференцированными клетками разных частей тела. Например, хрящевые клетки, образующие зачатки различных костей, растут с разной скоростью; они сохраняют эти особенности даже в условиях культуры тканей в изоляции друг от друга и от остальных частей зародыша. (Это было показано на зачатках большеберцовой и малоберцовой костей куриного эмбриона: эти зачатки вначале одинаковы по величине, но из них развиваются кости, очень сильно различающиеся по размерам.) Такая неэквивалентность обнаружена также у клеток кожи и нервной системы, но эти примеры будут рассмотрены позже (разд. 15.7.2 и гл. 18).

15.5.8. Клетки различных полей могут получать одинаковую позиционную информацию, но интерпретировать ее по-разному [32, 38]

Результаты опыта, представленного на рис. 15-43, подчеркивают еще одну особенность накопления сложной позиционной информации – опыты показывают, что в ноге и в крыле действуют одни и те же сигналы, доставляющие клетке информацию о ее положении на продольной оси конечности. Клетки из зачатка ноги, пересаженные на кончик зачатка крыла, способны правильно «прочитать» указания о том, что они расположены дистально и поэтому должны образовать пальцы; но они истолковывают эту позиционную информацию по-своему и вместо пальцев передней конечности образуют пальцы ноги. Позиционная информация, зафиксированная клеточной памятью, может быть повторно использована в различных клеточных полях и при этом может вызывать образование разных структур из клеток различных полей: в разных полях клетки различаются своей предысторией и поэтому по-разному реагируют на одни и те же позиционные сигналы.

Этот принцип отчетливо проявляется у дрозофилы. Группа клеток имажинального диска, трансформированная в результате гомеозисной мутации, ведет себя аналогично группе клеток из зачатка конечности куриного эмбриона, пересаженных в несвойственное им место. Примером может служить гомеозисная мутация *Antennapedia*. У мутантов происходит лишь частичное превращение антенны в ногу, так что сходство с ногой приобретает не вся антенна, а только часть ее ткани. Трансформированная ткань может быть расположена по-разному. Если она находится на конце антенны, из нее образуются структуры, характерные для кончика ноги; такое же соответствие наблюдается и при изменении других участков, вплоть до основания (рис. 15-44). Таким образом, сигналы, указывающие положение клеток в придатке, по-видимому, одинаково эффективны как по отношению к клеткам антенны, так и по отношению к клеткам ноги, но клетки каждого из этих типов интерпретируют сигнал по-своему.

Рис. 15-44. У мутанта *Antennapedia* части антенны трансформированы в части ноги. Трансформированные клетки образуют те участки ноги, которые соответствуют положению этих клеток в антенне (это соответствие показано красными стрелками). (J. H. Postlethwait, H. A. Schneiderman. *Develop. Biol.*, 25, 606–640, 1971.)



15.5.9. Эмбриональные поля очень малы, поэтому основные черты строения взрослого животного должны детерминироваться на ранней стадии [39]

Независимо от природы механизмов, доставляющих позиционную информацию, зона их действия довольно мала: обычно они эффективны лишь в пределах сравнительно небольших полей — около 1 мм в длину (≈ 100 клеточных диаметров) и менее. Отсюда ясно, что существует предел количеству деталей, которые могут быть заложены на столь ограниченном пространстве. Именно поэтому конечное позиционное значение клетки приходится фиксировать в виде последовательных элементов позиционной информации, которые записываются на разных стадиях развития. В связи с этим механизм детерминации, основанный на клеточной памяти, совершенно необходим для развития крупных, сложно устроенных животных. Различие между головой и хвостом должно закладываться еще тогда, когда длина соответствующих зачатков не превышает примерно 1 мм. К тому времени, когда длина животного достигнет сантиметра или метра, события, в результате которых возникло это различие, будут уже «древней историей»; и для того, чтобы такое различие все еще сохранялось, клетки должны иметь хорошую память.

Итак, основной план строения тела определяется очень рано, а дальнейшие детали, все более и более тонкие, добавляются позже, по мере того как зачатки отдельных органов достигают размеров, подходящих для записи дополнительной позиционной информации.

Заключение

В цитоплазме яиц многих животных содержатся локальные детерминанты, которые наследуются на ранних этапах дробления различными бластомерами и определяют путь их развития. Однако на более поздних стадиях различия между клетками обычно возникают в результате внешних воздействий, которые могут быть разными в зависимости от положения клеток в зародыше. В простейшем случае изменение свойств клеток могло бы происходить под влиянием градиента концентрации какого-либо диффундирующего вещества и зависело бы от расстояния между клеткой и источником этого вещества.

Резкие различия между клетками могли бы быть обусловлены порогами реакции клеток на подобные химические факторы. Полную позиционную информацию клетки могут приобретать путем накопления ее элементов, полученных в разное время. Например, на ранних стадиях развития позвоночных клетки участков, соответствующих передним и задним конечностям, приобретают различное позиционное значение и поэтому становятся неэквивалентными задолго до окончательной детерминации всей схемы их дифференцировки. Детальная схема клеточной дифференцировки определяется постепенно, по мере получения клетками дополнительной информации об их положении внутри органа. В гомологичных органах, таких как нога и крыло цыпленка или нога и антенна мухи, используется, вероятно, одна и та же система снабжения клеток позиционной информацией. Благодаря существованию клеточной памяти клетки в различных эмбриональных полях интерпретируют одну и ту же позиционную информацию по-разному в зависимости от своей предыстории.

Обычно поля, в пределах которых действуют позиционные сигналы, невелики, и поэтому общий план строения взрослого организма определяется на ранних стадиях развития, когда эмбрион очень мал; дальнейшие подробности детерминируются позже. Различия в программах развития и роста клеток в разных участках и специфические схемы их дифференцировки зависят от различий в позиционной информации, полученной теми или иными клетками.

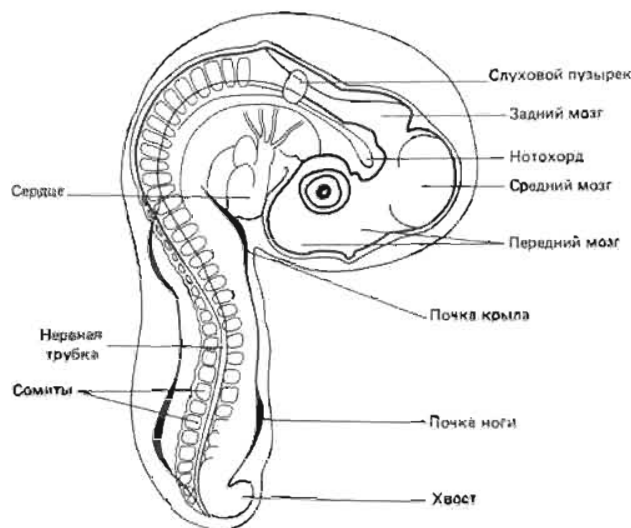
15.6. Позиционная информация и развитие конечностей

Перейдем теперь к детальному анализу некоторых возможных механизмов, благодаря которым клетки получают позиционную информацию, на примере развития конечностей. Сначала мы рассмотрим этот процесс у куриного эмбриона, а затем коснемся регенерации конечностей у таракана.

15.6.1. Развитие конечностей у куриного эмбриона можно анализировать в трехмерной системе координат [32, 40]

Структура зачатка (почки) каждой из конечностей куриного эмбриона (рис. 15-45) вначале весьма проста: тонкий эпителиальный чехол из эктодермы заполнен мезенхимой — тканью, состоящей из внешне однотипных недифференцированных клеток мезодермального происхождения (рис. 15-46). Из мезенхимы позднее образуются мускулатура, скелет, сухожилия, дерма и другие виды соединительной ткани. На ранних стадиях развития главной

Рис. 15-45. Куриный эмбрион после трех дней инкубации. Показано расположение ранних зачатков (почек) конечностей. (W. H. Freeman, B. Bracegirdle. An Atlas in Embryology, London, Heinemann, 1967.)



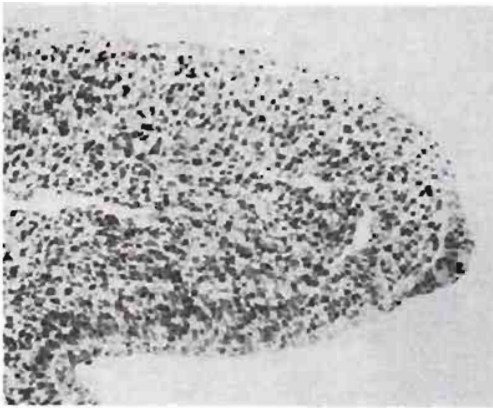


Рис. 15-46. Зачаток крыла у куриного эмбриона после 3,5 дней инкубации; срез проходит в плоскости, включающей проксимально-дистальную и дорсовентральную оси зачатка (т.е. под прямым углом к телу эмбриона).

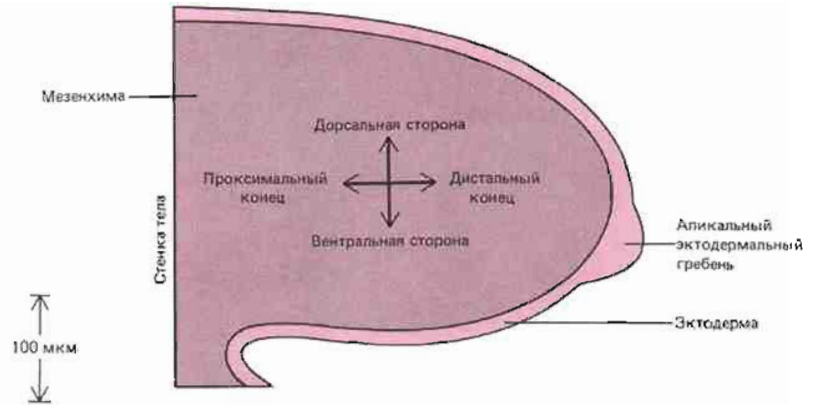


Рис. 15-47. Зачаток ноги куриного эмбриона после 4 дней инкубации (микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа). Зачаток показан со стороны его кончика; ясно виден апикальный эктодермальный гребень. Почти так же выглядит на этой стадии зачаток крыла. (С любезного разрешения J.R. Hinchcliff и D.S. Dawd, из J.R. Hinchcliff, D.R. Johnson. *The Development of the Vertebrate Limb*. Oxford, Eng., Oxford University Press, 1980.)

деталью зачатка является утолщение эктодермы — **апикальный эктодермальный гребень**, опоясывающий кончик зачатка (рис. 15-47). Три дня спустя специфическая окраска на хрящевую ткань позволяет выявить неясные контуры скелета, а еще через три дня скелет становится совершенно отчетливым (рис. 15-48). Как образуется это сложное и высокоупорядоченное сообщество клеток?

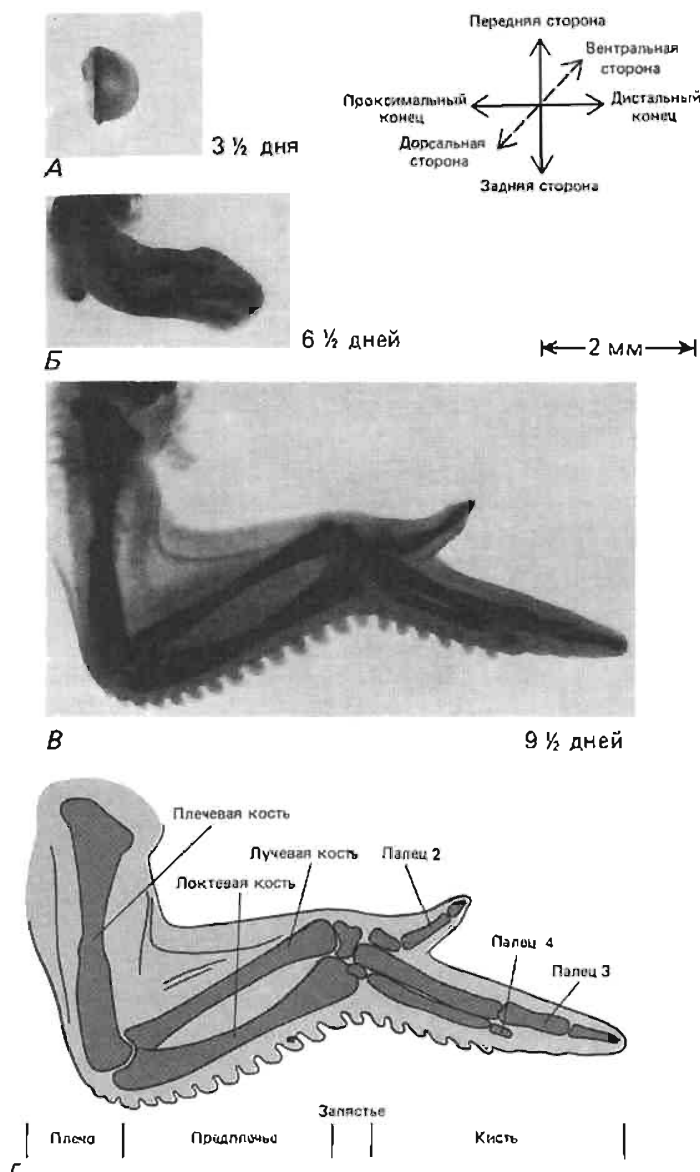
Конечность удобно описывать, пользуясь тремя осями: проксимодистальной (направление от основания к кончику), передне-задней (от «большого пальца» к «мизинцу») и дорсовентральной (под прямым углом к двум первым). По-видимому, для каждой оси существует отдельный механизм, который определяет соответствующую позиционную информацию. Таким образом, клеткам мезенхимы можно приписать позиционные значения в трехмерной системе координат, и от этих значений, как полагают, зависит выбор дифференцированного состояния клеток в каждом участке; тем самым определяется строение скелета и других тканей. Мы будем рассматривать в основном передне-заднюю и проксимодистальную оси, так как касающийся их материал лучше всего изучен.

15.6.2. Клетки поляризующей области контролируют структурообразование вдоль передне-задней оси в близлежащих участках мезенхимы [41]

В экспериментах с пересадками удалось выявить небольшую группу клеток мезенхимы, расположенную у заднего края почки конечности и оказывающую особенно сильное воздействие на соседние ткани. Это воздействие наиболее четко проявляется при пересадке клеток заднего края в переднюю область почки другого крыла (рис. 15-49). Под влиянием трансплантата почка-реципиент уже в первые сутки начинает разрастаться вширь. Из нее в конце концов образуется крыло, которое не только больше нормального, но и резко изменено: в нем удвоен скелет, т.е. имеется второй набор структурных элементов, в котором последовательность от «большого пальца» к «мизинцу» зеркально симметрична первому, нормальному набору относительно срединной линии зачатка. Это особенно хорошо видно на скелете пальцев, так как каждый палец ясно отличается от других.

Второй набор элементов скелета формируется не из тканей трансплантата, а почти всецело из тканей почки-реципиента. Это было доказано путем пересадки меченых клеток, отличавшихся от клеток реципиента. Если перед трансплантацией подвергнуть зародыша-донора рентгеновскому облучению, трансплантируемые клетки повреждаются и теряют способность делиться, хотя они несколько увеличиваются по сравнению с нормальными клетками. Облучение, однако, не мешает клеткам вызывать удвоение конечности реципиента, и они достаточно хорошо различимы в виде небольшой группы аномально

Рис. 15-48. Нормальное крыло развивающегося куриного эмбриона с дорсальной стороны после 3,5 (А), 6,5 (Б) и 9,5 (В) дней инкубации. Г – рисунок, посвящающий фото В.



крупных клеток, почти не включающихся в состав структур, образование которых они индуцируют. Все это позволяет предположить, что участок ткани, пересаженный из заднего края зачатка-донора, детерминирует формирование в зачатке-реципиенте новых структур, расположенных в определенном порядке в передне-заднем направлении. Удваиваются не только элементы скелета, но и все другие ткани зачатка конечности. Область, из которой брали трансплантат, получила название **поляризующей области** или **зоны поляризующей активности**.

15.6.3. Позиционную информацию для передне-задней оси, возможно, доставляет градиент величины сигнала, исходящего от клеток поляризующей области [42]

По-видимому, получаемая клетками информация об их расположении вдоль передне-задней оси зачатка определяется расстоянием, отделяющим клетки от поляризующей области. В нормальном крыле (где три «пальца» соответ-

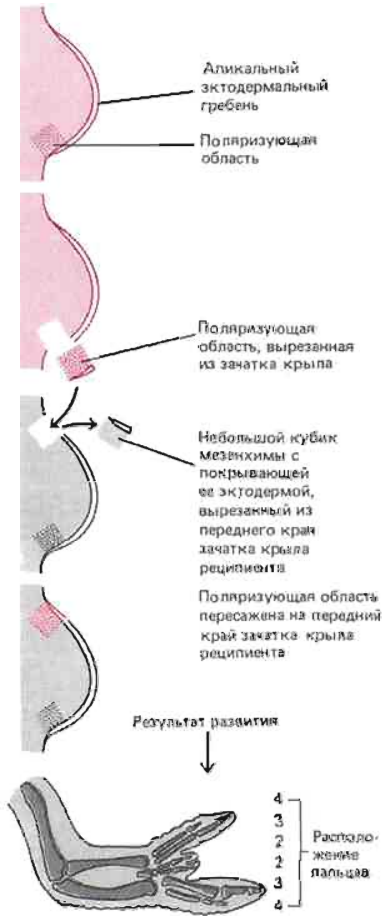


Рис. 15-49. Трансплантат из поляризующей области вызывает зеркальное удвоение структур крыла у реципиента.

ствуют трем средним пальцам пятипалой руки и поэтому могут быть обозначены цифрами 2, 3 и 4) палец 4 образуется вблизи поляризующей области, палец 3 – несколько дальше, а палец 2 – еще дальше. После пересадки дополнительных поляризующих участков в различные места вдоль апикального гребня наблюдается такое расположение пальцев, какого можно ожидать, если оно определяется удаленностью элементов скелета от поляризующей ткани. Например, при трансплантации этого участка на расстояние 1 мм от поляризующей области реципиента пальцы формируются по схеме 4-3-2-2-3-4 (рис. 15-50). Если приблизить трансплантат к этой области, пальцы образуются по схеме 4-3-2-3-4 или даже 4-3-3-4. При пересадке поляризующей области в середину апикального гребня происходит взаимодействие поляризующих областей донора и реципиента и пальцы располагаются по схеме 4-3-3-4 или даже 4-3-4; при этом нормальная последовательность пальцев развивается из участка, расположенного спереди от трансплантата. Все это показывает, что поляризующая область может передавать сигнал вдоль передне-задней оси зачатка в обоих направлениях. Сразу возникает мысль, что эта область воздействует при помощи выделяемого ею вещества, диффузия кото-

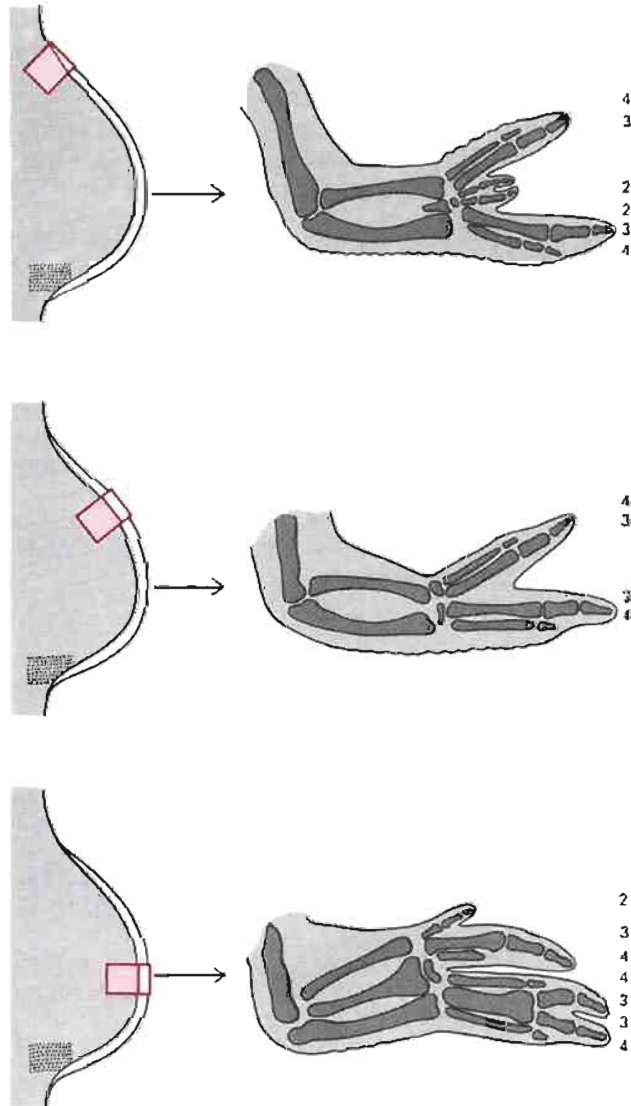


Рис. 15-50. Характер структур, образующихся из клеток зачатка крыла у реципиента зависит от места трансплантации поляризующей области.

рого в зачатке приводит к образованию градиента концентрации. Как мы уже говорили (разд. 15.5.4), концентрация таких веществ могла бы указывать клетке на ее расстояние от поляризующей области. Например, формирование пальца 4 вблизи поляризующей области могло бы определяться максимальной концентрацией сигнального вещества, палец 2 в наибольшем удалении – минимальной концентрацией, а палец 3 посередине – промежуточной концентрацией. Градуальный характер сигнала, исходящего от клеток поляризующей области, можно продемонстрировать, просто пересаживая из нее то или иное число клеток. При пересадке в среднем 30 клеток образуется дополнительный палец 2, при пересадке 80 клеток – палец 3 и при пересадке 130 клеток – палец 4.

Для подтверждения этой гипотезы требуется химическая идентификация предполагаемого сигнального вещества (морфогена), но до сих пор эта задача остается нерешенной. Данные о химической природе сигнала все еще недостаточны, можно упомянуть лишь один важный факт: действие пересаженных клеток поляризующей области недавно удалось воспроизвести путем имплантации инертного носителя, пропитанного ретиноевой кислотой. Механизм передачи эффекта этих клеток окружающим клеткам зачатка неизвестен. Для такой передачи могли бы использоваться щелевые контакты; такие контакты между клетками мезенхимы были действительно обнаружены, но нет никаких данных в пользу того, что именно они служат для этой цели.

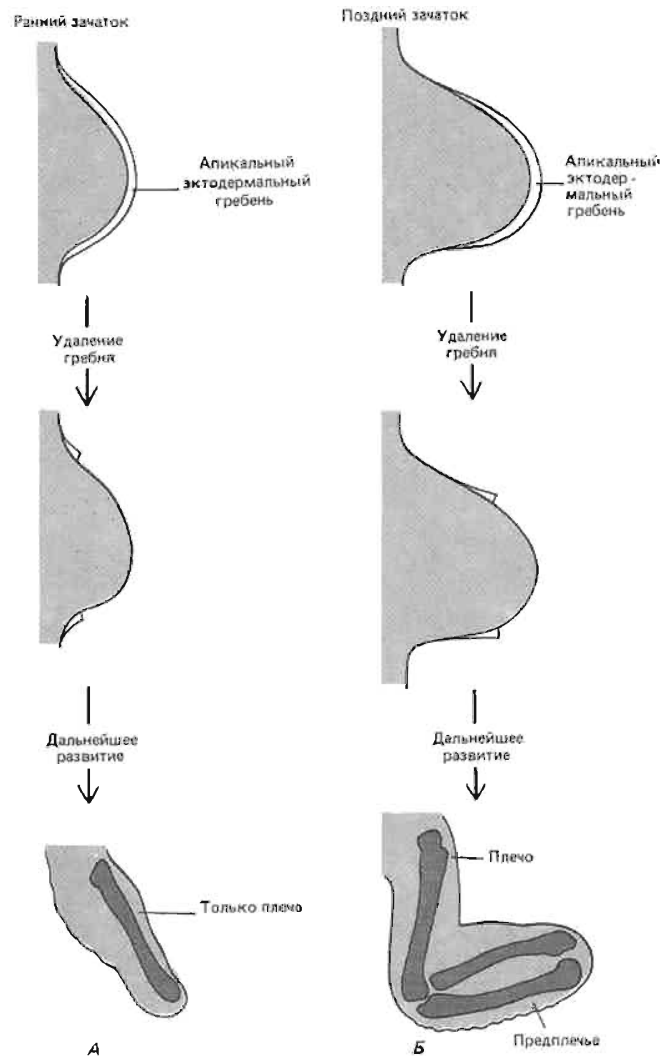
15.6.4. Клетки поляризующей области, взятые из эмбриона рептилии или млекопитающего, вызывают дифференцировку конечности у куриного зародыша [43]

Поляризующая область имеется не только в зачатке крыла, но и в зачатке ноги. Будучи пересажена в другой зачаток ноги, она вызывает образование добавочных пальцев ноги, а после пересадки в зачаток крыла – добавочных «пальцев» крыла. Это тоже подтверждает, что позиционную информацию в обоих случаях доставляет одна и та же система (разд. 15.5.8). Более того, зачаток крыла у куриного эмбриона реагирует на поляризующее действие небольших кусочков ткани из заднего края зачатка конечности фазана, мыши, человека и даже черепахи. Эти наблюдения показывают, что в зародышах всех этих видов из поляризующей области исходит один и тот же сигнал, но его интерпретация определяется геномом и историей клеток данного зачатка. Независимо от источника имплантированной поляризующей ткани мезенхима крыла у куриного эмбриона формирует добавочные пальцы, свойственные именно куриному крылу.

15.6.5. Определенные элементы конечности последовательно закладываются вдоль проксимодистальной оси [44]

По мере роста и удлинения зачатка конечности в нем происходит дифференцировка клеток, и начинается она с самого проксимального (ближайшего к телу) участка, когда на конце зачатка клетки еще остаются недифференцированными. Из первых дифференцированных клеток формируются наиболее проксимальные структуры конечности; остальные ее части закладываются последовательно в результате пролиферации более дистальных клеток. Закладка этих структур зависит от упомянутого выше гребня апикальной эктодермы (рис. 15-51). При удалении гребня те дистальные структуры, которые еще не были заложены, не формируются. Если гребень удалить на ранней стадии развития зачатка, образуется крыло, состоящее только из плеча; та же операция, произведенная несколько позже, приводит к образованию крыла с плечом и предплечьем, но без кисти (рис. 15-51) и т. д.

Рис. 15-51. После удаления апикального эктодермального гребня подлежащая мезенхима теряет способность формировать дистальные участки конечности. Если операция произведена на ранней стадии, образуется только плечо (А), а если на более поздней, то формируются плечо и предплечье (Б).

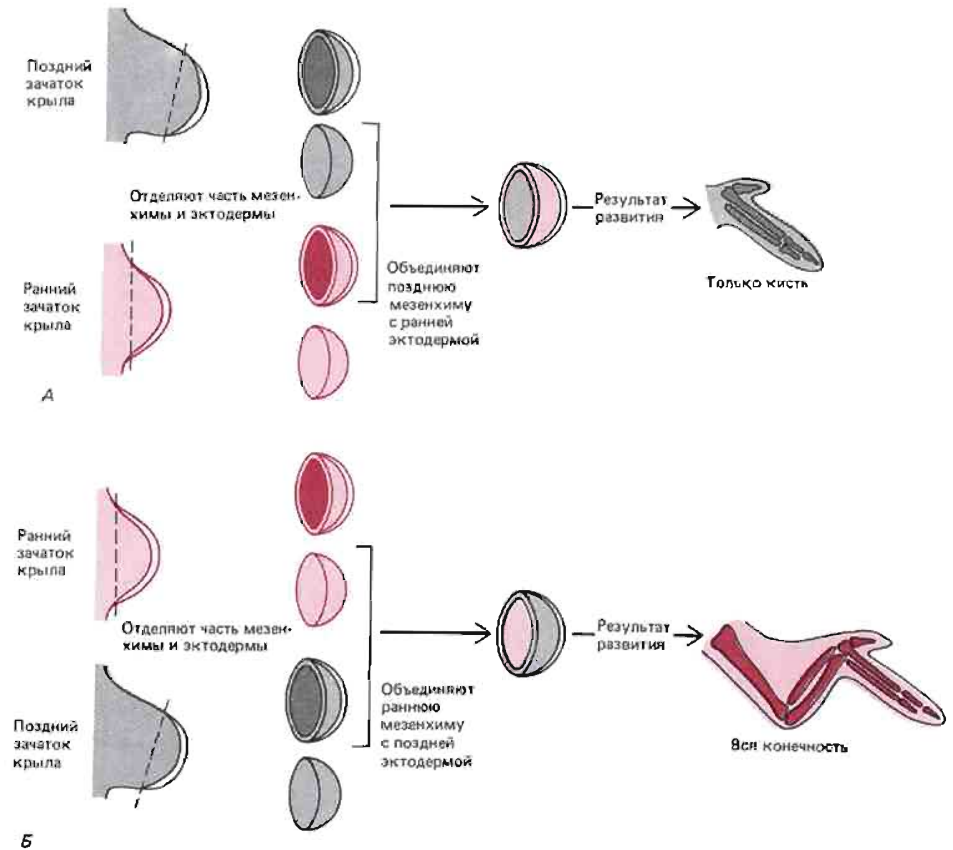


15.6.6. Апикальный эктодермальный гребень определяет ту область мезенхимы, из которой образуются последовательные дистальные части конечности, но не доставляет мезенхиме информации о том, какие именно части должны из нее формироваться [45]

Удаление апикального гребня подавляет закладку структур вдоль проксимодистальной оси. Значение гребня для роста конечности подтверждается еще тем фактом, что пересадка добавочного гребня на дорсальную поверхность зачатка конечности ведет к образованию вторичного выроста с правильной последовательностью элементов вдоль проксимодистальной оси. Гребень определяет место этого выроста и поддерживает здесь зону **прогрессивного развития** – популяцию недифференцированных клеток мезенхимы, из которых последовательно образуются зачатки отдельных частей конечности. Но определяет ли сам гребень и то, какие именно части будут формироваться? Дает ли он вначале инструкцию о построении плеча, а под конец – кисти?

Чтобы выяснить это, можно отделить мезенхимную ткань от эктодермальной оболочки, ограниченной гребнем, и рекомбинировать затем компоненты, взятые из зачатков разного возраста (рис. 15-52). Если мезенхиму позднего зачатка покрыть чехлом из эктодермы раннего зачатка, из такой

Рис. 15-52. В опытах с замещением эктодермы позднего зачатка крыла эктодермой раннего зачатка (А) или с обратным замещением (Б) было показано, что возраст эктодермы не имеет существенного значения. Характер развивающихся структур определяется возрастом мезенхимы.

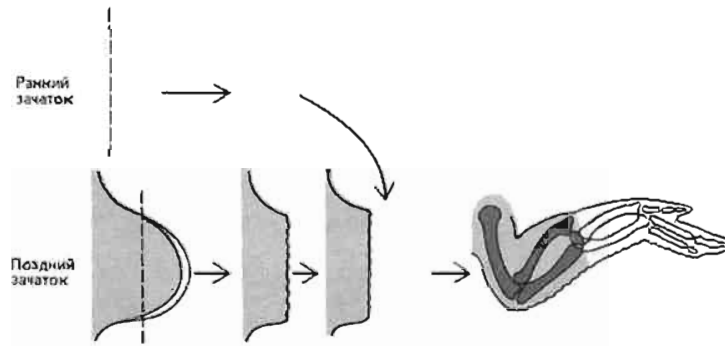


мезенхимы образуется нормальный набор элементов конечности. Если, наоборот, эктодермальный чехол позднего зачатка заполнить мезенхимой раннего зачатка, в этом случае тоже образуется крыло с полным набором элементов, расположенных вдоль проксимодистальной оси в правильной последовательности. Короче говоря, возраст эктодермы не влияет на характер структур, закладываемых в мезенхиме. Значит, гребень не диктует мезенхиме, какие части крыла должны формироваться в тот или иной момент: он лишь определяет местоположение зоны прогрессивного развития и побуждает мезенхиму к развитию по ее собственной программе.

15.6.7. Позиционные значения вдоль проксимодистальной оси определяются длительностью пребывания клеток в зоне прогрессивного развития [46]

Описанные выше эксперименты показывают, что свойства каждого из отделов, закладываемых один за другим вдоль проксимодистальной оси конечности, должны определяться каким-то механизмом, присущим самой мезенхиме. Но как работает этот механизм? Все отделы конечности состоят из потомков тех клеток, что находились ранее вблизи апикального гребня в зоне прогрессивного развития на кончике зачатка. Разница состоит лишь в том, что закладки проксимальных элементов образовались из клеток этой зоны раньше, чем закладки дистальных элементов. Поэтому природа образующихся элементов могла бы определяться длительностью пребывания клеток (или их предшественников) в зоне прогрессивного развития: в зависимости от этого они могли бы приобретать проксимальное или дистальное позиционное значение и соответственно формировать проксимальные или дистальные части конечности.

Рис. 15-53. При пересадке кончика раннего зачатка крыла на место кончика позднего зачатка образуется составное крыло с двумя предплечьями, расположенными одно за другим вдоль проксимодистальной оси; культя реципиента и трансплантат ведут себя примерно так, как если бы они развивались по отдельности в нормальных условиях.

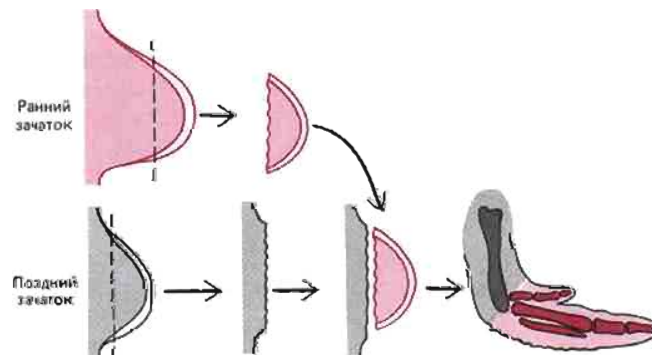


Согласно такому предположению, части, уже заложенные в культé, не определяют того, какая часть будет формироваться следующей, поэтому при трансплантации зоны прогрессивного развития она ведет себя совершенно независимо. Если эту зону из раннего зачатка пересадить на место такой же зоны позднего зачатка, образуется крыло с повторяющимися участками. Например, из культи позднего зачатка могут образоваться плечо и предплечье, а далее из ткани раннего зачатка, трансплантированной на такую культю, вновь образуются плечо с предплечьем и лишь затем — кисть (рис. 15-53). Наоборот, при пересадке зоны прогрессивного развития из позднего зачатка на место такой же зоны раннего зачатка некоторые части крыла не образуются вовсе: плечо в таком крыле, например, может быть непосредственно соединено с кистью (рис. 15-54).

По-видимому, зона прогрессивного развития каким-то образом координирует формирование структуры конечности с ее ростом: позиционные значения клеток этой зоны по мере их пролиферации изменяются. Оба процесса могли бы быть хорошо согласованы, если бы клетки измеряли время своего пребывания в зоне прогрессивного развития числом циклов деления и фиксировали таким образом свое позиционное значение. Оказалось, что у куриного эмбриона для закладки всех элементов крыла вдоль проксимодистальной оси требуется около семи клеточных циклов. Если приравнять запястье и множество костей кисти к двум сегментам, число клеточных циклов будет равно числу сегментов крыла. Таким образом, на «часах клеточных делений», определяющих позиционную информацию, каждый сегмент будет как бы соответствовать одному мгновению. Периодичность структуры конечности с ее чередованием костей и суставов могла бы тогда отражать действие *циклического* механизма, определяющего время.

Необходимо, однако, подчеркнуть, что в зачатке конечности клетки делятся асинхронно; находясь в зоне прогрессивного развития, соседние клетки отсчитывают неравное число мгновений. Только *среднее* число делений, отсчитываемых клетками какого-то участка, может быть плавной функцией его положения на продольной оси конечности. Поэтому правильная структура

Рис. 15-54. Операция, противоположная предыдущей (см. рис. 15-53). После замены кончика позднего зачатка крыла кончиком раннего зачатка в образующемся крыле к плечу прямо примыкает кисть (без предплечья): как и в предыдущем случае, каждый из компонентов сложного зачатка крыла развивается более или менее автономно.



может быть обеспечена только при взаимодействии еще не дифференцированных клеток на близких расстояниях, которое будет сглаживать локальные различия.

15.6.8. В мезенхиме ранних зачатков конечностей у куриного эмбриона соседние клетки взаимодействуют между собой, и это сглаживает различия в их индивидуальных позиционных значениях [47]

Действительно ли клетки измеряют время путем подсчета числа клеточных циклов — это все еще остается предметом гипотез. Что касается «сглаживающих» межклеточных взаимодействий в мезенхиме, то о них уже есть фактические данные. Были проведены эксперименты, сходные с представленными на рис. 15-53 и 15-54, с тем отличием, что пересадки производились между зачатками примерно на одной и той же ранней стадии развития. В одном из таких опытов сначала удаляли два ранних зачатка конечности на ранних стадиях развития (один отделяли около основания, другой — на более дистальном уровне), а затем маленький дистальный участок, отделенный от второго зачатка, трансплантировали на короткую проксимальную культю первого. С помощью такой операции можно, например, получить аномально короткий составной зачаток, не содержащий клеток, из которых в норме развивается предплечье. В результате образуется конечность, отличающаяся от нормальной, но не так сильно, как если бы каждая из частей составного зачатка вела себя автономно. По-видимому, при сближении мезенхимных клеток, расположенных на разных уровнях проксимодистальной оси, между ними происходит взаимодействие, сглаживающее разрыв в их позиционных значениях, и в результате появляются недостающие промежуточные значения.

Такого рода регуляция наблюдается у куриных эмбрионов только на ранних стадиях развития конечности, задолго до начала дифференцировки какой-либо из тканей зачатка. На несколько более поздних стадиях после пересадки отдельных фрагментов зачатка конечности таких взаимодействий не происходит; каждая часть зачатка ведет себя автономно в соответствии со своей индивидуальной предысторией. Однако у некоторых животных способность к подобной регуляции сохраняется всю жизнь, и они могут восстанавливать утраченные части тела. Примеры этого будут рассмотрены ниже.

15.6.9. У некоторых животных возможна регенерация конечностей [48]

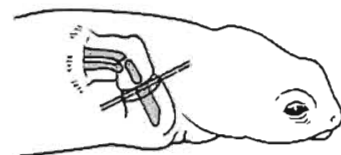
Как правило, нельзя ожидать, что животное сможет восстановить утраченную часть тела, если эта часть велика. Обычно после ампутации создаются условия, совершенно отличные от тех, в которых первоначально развивался удаленный орган. Но в некоторых случаях регенерация все же происходит. Хорошо изучена, например, регенерация конечностей у амфибий. Если у тритона или аксолотля удалить ногу (на любом расстоянии от основания), происходит восстановление утраченной части. На конце культи образуется бугорок из внешне не дифференцированных клеток мезенхимы, покрытый эпидермисом, — так называемая **регенерационная бластема**. В результате роста и дифференцировки бластемы из нее образуются именно те части конечности, которые должны быть расположены дистально от места ампутации. После удаления кисти образуется кисть, после удаления предплечья и кисти — недостающие предплечье и кисть. Бластема формируется из клеток, лежавших около поверхности разреза, и характер регенерируемых частей определяется внутренними свойствами этих клеток. Бластема может образоваться, как в обычном случае, на конце проксимальной культи, а в условиях эксперимента — и на конце перевернутого дистального участка ампутированной конечности (рис. 15-55). Из клеток бластемы в обоих случаях образуются только те участки конечности, которые в норме расположены *дистально* по отношению



Конечность ампутируют



Культи вставляют в разрез на спине и оставляют до приживания



Плечо разрезают



На обеих поверхностях образуется регенерационная бластема; из клеток бластемы в обоих случаях формируются те части конечности, которые в норме расположены дистально от места разреза

Рис. 15-55. Как показывает этот эксперимент, проведенный на саламандре, характер структур, образующихся из регенерационной бластемы, определяется тем, на каком уровне была отсечена конечность, а не тем, какие из структур в ней сохранились. Предплечье и кисть образуются как из дистального, так и из проксимального отдела исходной конечности.

к уровню разреза; во втором случае при этом создается зеркальный дубликат того, что уже имеется.

Обработка бластемы ретиноевой кислотой или родственными ей веществами может приводить к поразительному искажению описанной картины: в этом случае часто образуются *добавочные* структурные элементы. Например, после ампутации на уровне запястья можно получить конечность, содержащую помимо сохранившихся плеча и предплечья еще регенерированные плечо, предплечье и кисть. По-видимому, ретиноевая кислота каким-то образом изменяет в регенерационной бластеме амфибий проксимодистальный компонент позиционного значения клеток, в то время как в почке конечности куриного эмбриона ее воздействие затрагивает только передне-задний компонент! Эти эффекты указывают на какие-то важные, но еще не раскрытые биохимические механизмы структурообразования; кроме того, они подчеркивают неясность вопроса о том, в какой мере регенерация конечностей у амфибий основана на тех же принципах и на использовании той же системы позиционных сигналов, что и первоначальное развитие конечности. Однако бластема регенерирующей конечности у амфибий очень похожа на соответствующий эмбриональный зачаток, и в ней тоже, по-видимому, важную роль играют взаимодействия между мезенхимой и эктодермой (т.е. эпидермисом).

15.6.10. У таракана происходит вставочная (интеркалярная) регенерация ноги [49]

У таких насекомых, как тараканы, тоже возможна регенерация конечностей, и изучать ее в некоторых отношениях проще. Очевидно, у этих животных система позиционных сигналов, способных контролировать развитие конечности, сохраняется и после формирования этого органа. Дифференцированные клетки могут реагировать на эти сигналы, и в случае нарушения структуры конечности происходит ее восстановление. Поэтому деятельность структурообразующей системы можно изучать с помощью операций, производимых спустя долгое время после завершения эмбрионального развития. Исследуя регенерацию ноги у молодых особей, удалось выявить ряд простых принципов, возможно, имеющих более общее значение.

Мы опишем эксперименты, в которых изучалось поведение слоя эпидермальных клеток и кутикулы, покрывающей тело таракана и образующей наружную поверхность конечностей. Рост наружного покрова связан с последовательными линьками, когда молодая особь сбрасывает старую кутикулу, вместо которой образуется новая, более просторная. Материал для построения кутикулы выделяют лежащие под ней клетки эпидермиса (гиподермы), образующие один клеточный слой. Позиционные значения этих клеток определяют структуру образуемой ими кутикулы, и если эти значения в результате экспериментального воздействия изменяются, то такой результат можно выявить, исследовав новую кутикулу после линьки. Регенерацию можно наблюдать только у молодых особей, так как взрослые насекомые не растут и не линяют.

Нога таракана состоит из нескольких сегментов, расположенных (от основания к кончику) в следующем порядке: тазик, вертлуг, бедро, голень, лапка. Лапка в свою очередь состоит из нескольких более мелких члеников и оканчивается парой коготков (рис. 15-56). Если удалить две ноги, перерезав их голени на разных уровнях, можно трансплантировать дистальную часть одной ноги на проксимальную культю другой. В результате получается «составная» нога без средней части голени. Тем не менее после линьки насекомого образуется внешне нормальная конечность: утраченная средняя часть голени регенерирует (рис. 15-57, А). Операцию можно видоизменить так, что результат ее будет еще более удивительным. Голень одной ноги перерезают около проксимального конца, а голень другой ноги — около дистального конца. Длинную отрезанную часть одной ноги присоединяют к большой культю второй, вследствие чего образуется удлинённая конечность с удвоенной сред-

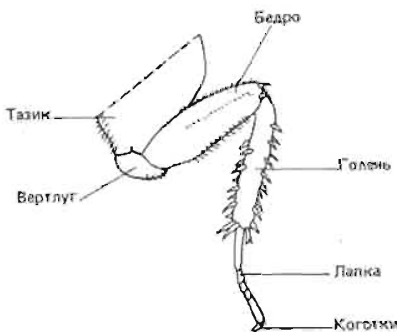
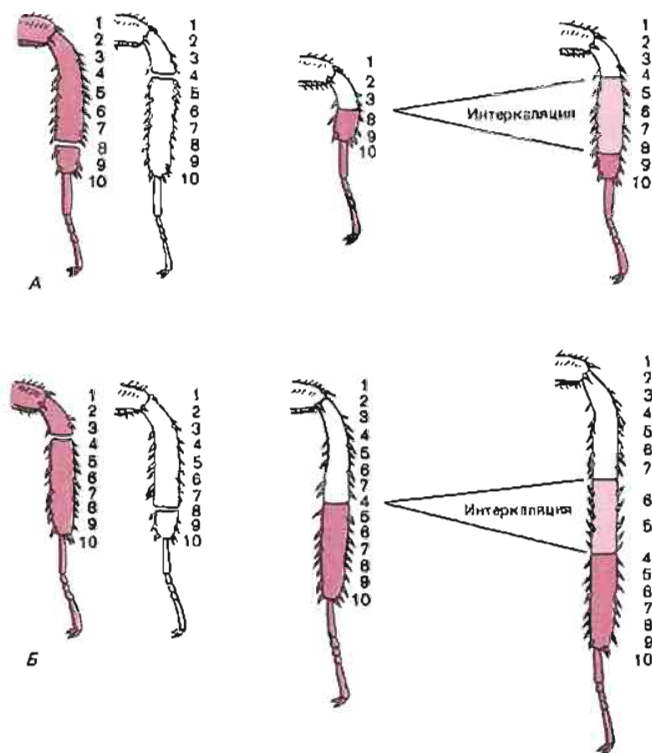


Рис. 15-56. Нога таракана. При каждой из последовательных линек нога растет, но ее строение не изменяется.

Рис. 15-57. После соединения совпадающих участков голени происходит интеркаляция новой ткани (показана светлой окраской), заполняющей разрыв в ряду позиционных значений (числа от 1 до 10). В первом случае (А) в результате интеркаляции восстанавливается недостающий участок, а во втором (Б) образуется третья средняя часть голени между двумя уже имеющимися. Направление щетинок указывает на полярность интеркалирующей ткани. В обоих случаях восстанавливается непрерывность ряда позиционных значений.



ней частью (рис. 15-57, Б). После линьки оказывается, что длина этой ноги не только не приблизилась к норме, но стала еще больше: между двумя имевшимися средними частями голени образовалась еще третья средняя часть! Как показано на рис. 15-57, Б, щетинки на этом третьем, вставочном участке направлены противоположно по отношению к щетинкам на остальных участках голени.

Производилось много различных операций такого типа. Их результаты можно обобщить в виде простого правила, основанного на предположении, что клетки на любом уровне вдоль проксимодистальной оси данного отрезка отличаются от клеток других уровней. Их свойства удобно характеризовать числом — «позиционным значением», которое плавно изменяется от максимума на одном конце до минимума на другом. При описанных выше операциях рядом оказывались эпидермальные клетки, резко различающиеся по своим позиционным значениям. Поэтому в месте соединения двух отрезков начиналась пролиферация клеток, и при этом новые клетки приобретали позиционные значения, плавно, без скачков заполнявшие разрыв между позиционными значениями клеток, сближенных при операции (рис. 15-57). Такой результат можно обобщить как **правило интеркаляции**: разрывы в плавном ряду позиционных значений вызывают местное размножение клеток, и вновь образующиеся клетки приобретают промежуточные позиционные значения, восстанавливая таким образом непрерывность. Проллиферация прекращается только после заполнения промежутка клетками, обладающими всеми утраченными позиционными значениями; при этом восстанавливается нормальное распределение клеток в пространстве. Весь этот процесс получил название **интеркалярной (или вставочной) регенерации**.

15.6.11. В последовательных сегментах ноги таракана повторяется один и тот же набор позиционных значений [49]

Вместо того чтобы соединять отрезки одного сегмента ноги, можно сращивать между собой части разных сегментов. Можно, например, одну ногу ампутировать у таракана на уровне голени, а другую – на уровне бедра, а затем отделенную дистальную часть бедра пересадить на проксимальную культю голени – получится «гибридный» сегмент конечности, который состоит частично из бедра и частично из голени. Последовательные уровни нормального бедра мы можем обозначить символами $B_1, B_2, \dots, B_{10}$ (считая от проксимального конца к дистальному), а соответствующие уровни нормальной голени – $G_1, G_2, \dots, G_{10}$. При отсечении обеих ног на одинаковых уровнях разных сегментов, например ноги-реципиента между B_5 и B_6 , а ноги-донора между G_5 и G_6 , «гибридный» сегмент образовавшейся составной ноги будет иметь структуру $B_1B_2B_3B_4B_5/G_6G_7G_8G_9G_{10}$ и интеркаляции новой ткани в месте соединения не произойдет. Если же конечности были отсечены на разных уровнях и получился «гибридный» сегмент со структурой $B_1B_2B_3/G_8G_9G_{10}$, то будет происходить интеркаляция: недостающие средние уровни 4-3-6-7 регенерируют из клеток голени или бедра или из тех и других, образуя сегмент со структурой $B_1B_2B_3B_4B_5B_6/G_8G_9G_{10}$. Хотя такой новый сегмент тоже образован из клеток голени и бедра, здесь уже представлены все позиционные значения от 1 до 10. Таким образом, правило интеркаляции действует и в «гибридной» структуре, причем здесь не учитывается принадлежность клеток определенному сегменту, т.е. буква в символе, а учитывается только цифра, отражающая позиционное значение клетки внутри сегмента. Из этого можно заключить, что в разных сегментах для организации эпидермальных клеток используется одна и та же система позиционных значений. Здесь мы находим близкую аналогию с куриным эмбрионом, у которого одинаковая система обеспечивает позиционную информацию в ноге и в крыле, и с личинкой дрозофилы, где одни и те же гены повторно используются для определения основного структурного плана каждого сегмента тела.

15.6.12. Регенерация участков окружности следует тому же правилу, что и интеркаляция вдоль проксимодистальной оси [49]

Правило интеркаляции верно описывает характер регенерации вдоль проксимодистальной оси ноги таракана, но действительно ли оно и при регенерации удаленных участков окружности какого-либо сегмента ноги? На ноге имеются маркеры (щетинки, гребни, окраска), которые позволяют различать определенные участки и помогают интерпретировать результаты опытов. Если вы-

Рис. 15-58. В ряду позиционных значений по окружности ноги можно создать разрыв, вырезав длинную узкую полосу кутикулы. Дефект восполняется за счет интеркаляции новой ткани (показано розовым цветом), и непрерывность ряда восстанавливается.

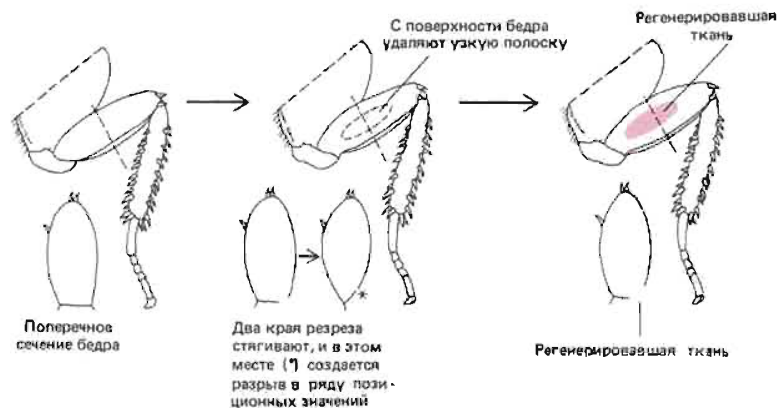
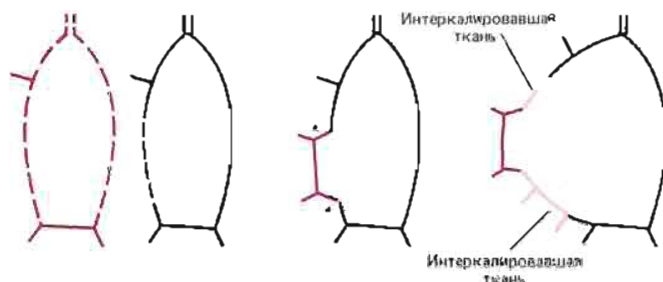


Рис. 15-59. Поперечные срезы бедра, показывающие результат удаления продольной полоски и трансплантации на ее место полоски (показана красным цветом) из иного участка бедра другой ноги. При тесном сближении различных участков, в норме отделенных друг от друга, в ряду позиционных значений возникают два разрыва; в обоих этих местах происходит интеркаляция новой ткани (показана розовым цветом), заполняющей эти разрывы.



резать, например, длинную узкую полоску эпидермиса и кутикулы, создав таким образом небольшой разрыв в ряду позиционных значений по окружности сегмента, то после линьки окажется, что недостающий участок восстановился (рис. 15-58). Если сразу же после удаления такой полоски поместить на этот участок полоску из того же участка другой ноги, вместо регенерации происходит просто заживление. Если же трансплантат был взят с какого-то иного участка другой конечности, не соответствующего удаленному, в «кольце» позиционных значений возникают два разрыва (рис. 15-59); в этом случае после линьки можно видеть, что периметр поперечного сечения ноги увеличился: в двух местах соприкосновения краёв трансплантата с собственной тканью ноги вновь образовалась недостающая ткань, которая в норме находилась бы на месте трансплантата (рис. 15-59). Иными словами, здесь проявляются те же отношения, что и вдоль проксимодистальной оси. Клетки ведут себя так, как если бы для каждой точки существовало определенное позиционное значение, и реагируют на перестройку, следуя тому же правилу: разрывы в ряду этих позиционных значений вызывают местное разрастание эпидермиса, и новообразующиеся клетки приобретают промежуточные позиционные значения, восстанавливающие непрерывность.

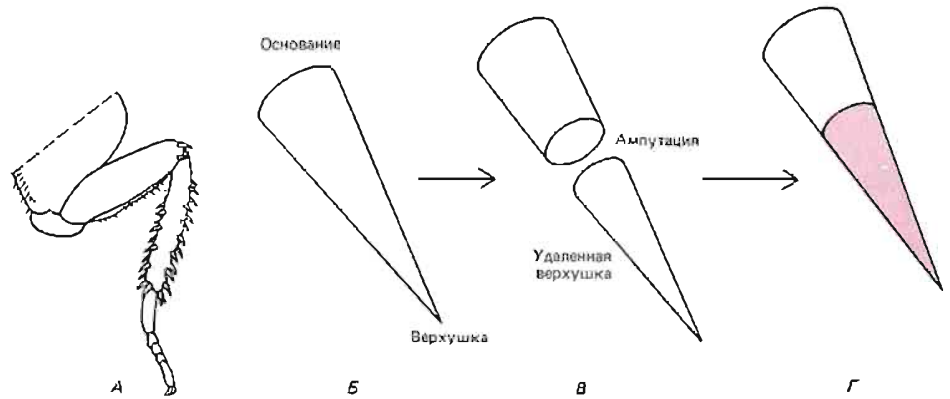
15.6.13. Интеркаляция эпидермиса реализуется в двух измерениях [50]

Из всего сказанного выше следует, что, поскольку клетки эпидермиса данного сегмента ноги образуют двумерный слой, свернутый в цилиндр, позиционные значения этих клеток сами должны быть двумерными. Поэтому каждая точка в эпидермисе характеризуется своим уникальным позиционным значением. Действительно, позиционные значения нельзя рассматривать в каждом из двух измерений в отдельности: как правило, искажение данной структуры в одном измерении ведет к искажению также и в другом. Удалось разработать простой набор правил, позволяющий весьма успешно описывать интеркаляцию и связанные с ней процессы регенерации в двух измерениях. Эти правила позволяют верно предсказывать многие явления, в том числе такие необычные, как, например, образование добавочных конечностей в результате определенных типов трансплантаций. Среди этих правил – уже известное нам правило интеркаляции, которое справедливо как для одномерных, так и для двумерных структур. Главное в этом правиле – требование непрерывности, т.е. то, что соседние клетки должны обладать очень близкими позиционными значениями.

15.6.14. Регенерация двумерных участков подчиняется правилу интеркаляции [49, 50]

Предположим, что на боковой поверхности ноги таракана удален двумерный участок. В таких случаях происходит регенерация недостающего фрагмента: эпидермальные клетки, расположенные по периметру ранки, перемещаются к ее центру, и в результате их пролиферации удаленный участок восстанавливается. Именно такую последовательность событий предсказывает правило

Рис. 15-60. Эпителий ноги таракана (А) можно представить как поверхность конуса (Б): эти две структуры топологически эквивалентны. Эпителий образует одну непрерывную поверхность. Кончик ноги – всего лишь одна из точек этой поверхности. Ампутация части ноги (В) – это удаление участка эпителия, включающего кончик. Замещение утраченного участка (Г) происходит за счет интеркаляции новой ткани (показана розовым цветом), так же как и после удаления полоски кутикулы с боковой поверхности бедра (см. рис. 15-58). В обоих случаях позиционные значения клеток, лежащих по периметру разреза, определяют, какие вставки необходимы для восстановления непрерывности.



интеркаляции. Клетки, надвигаясь на ранку с ее краев, встречаются с клетками, находившимися в других участках ее периметра, и в результате возникают разрывы в поле плавно изменяющихся позиционных значений. Согласно правилу интеркаляции, появление таких разрывов стимулирует пролиферацию клеток, и новые клетки приобретают промежуточные позиционные значения, восстанавливая таким образом непрерывность. Требование непрерывности в двумерном пространстве, как и в одномерном, является достаточным для того, чтобы гарантировать регенерацию всех удаленных участков.

Совершенно аналогичным образом можно показать, что правило интеркаляции позволяет объяснить и регенерацию ампутированных конечностей (рис. 15-60). После такой ампутации по периметру раны начинается рост клеток, и они покрывают поверхность разреза, так же как это происходит после удаления участка на боковой поверхности ноги. Здесь тоже эпидермальные клетки восстанавливают все, что находилось внутри периметра раны, – просто в данном случае это «все» включает и кончик конечности, поэтому регенерирующий эпителий образует удлиненный выступ. Однако в регенерации ампутированной конечности есть важный новый момент: клетки здесь обнаруживают способность восстанавливать не только части того сегмента, из которого они происходят, но и другие, более дистально расположенные сегменты, полностью утраченные в результате ампутации. Однако мы не знаем, почему в этом случае клетки способны приобретать свойства клеток из других сегментов, тогда как в опытах с перекрестной трансплантацией, описанных ранее (разд. 15.6.11), эта способность не проявляется.

15.6.15. Возможно, что правило интеркаляции применимо и ко многим другим системам

Правило интеркаляции явилось своего рода триумфом концепции позиционных значений. Оно позволяет верно предсказывать удивительно широкий круг явлений, связанных с регенерацией, не только у тараканов, но также у амфибий, мух и ракообразных. Но какие механизмы лежат в основе этого правила на клеточном уровне и как с ним можно связать процессы морфогенеза в эмбриональном развитии?

Правило интеркаляции в том виде, как оно представлено здесь, содержит два важных положения, которые можно назвать *правилом роста* и *правилом непрерывности*. Согласно первому из них, разрывы в ряду позиционных значений вызывают локальный рост. Согласно второму, новообразующиеся клетки приобретают промежуточные позиционные значения, восстанавливающие непрерывность ряда. Можно было бы ожидать, что правило непрерывности окажется применимым почти к любой системе, в которой позиционные значения клеток изменяются плавно и поддерживаются столь же плавно изменяющимися взаимодействиями между соседними клетками. С другой сто-

роны, это правило вряд ли может быть применимо к системам, в которых поведение каждой клетки определяется ее предисторией, зафиксированной в клеточной памяти, и не может меняться в зависимости от обстоятельств данного момента. Например, как мы уже отмечали, в почке конечности куриного эмбриона на ранних стадиях развития соседние клетки могут взаимодействовать таким образом, что это ведет к заполнению разрывов в позиционных значениях (разд. 15.6.8), как бы следуя правилу интеркаляции. На более поздних стадиях эта способность теряется – клетки ведут себя независимо друг от друга и созданные в эксперименте разрывы сохраняются.

Правило роста, согласно которому разрывы в ряду позиционных значений вызывают местную пролиферацию клеток, можно рассматривать как следствие более общего правила: появление чрезмерно крутых градиентов позиционных значений всегда вызывает локальный рост. Это последнее правило позволило бы понять, почему при интеркалярной регенерации рост после достижения надлежащих конечных размеров прекращается. Оно могло бы также быть основой простого механизма регуляции роста при нормальном развитии: из этого правила следует, что структура с определенной «картой» позиционных значений, заложенная первоначально в малом масштабе, должна расти до тех пор, пока градиенты позиционных значений в ней не станут достаточно пологими – такими, как во взрослом организме. Это позволило бы, например, объяснить, как контролируются размеры компартментов у дрозофилы (см. разд. 15.4.14).

Заключение

У куриного эмбриона клетки мезенхимы в зачатке конечности получают трехмерную позиционную информацию при участии различных механизмов. По-видимому, вдоль передне-задней оси морфогенез контролируется сигналом, сила которого зависит от расстояния до поляризующего участка, расположенного на заднем краю зачатка конечности; пересадка второго поляризующего участка в переднюю область приводит к зеркальному удвоению структур, дифференцирующихся в передне-заднем направлении. Вдоль проксимодистальной оси структуры закладываются под влиянием апикального эктодермального гребня: после его удаления дистальные части конечности не образуются. Свойства клеток на различных уровнях вдоль проксимодистальной оси (способность их формировать определенные элементы скелета), по-видимому, зависят от того, сколько времени эти клетки провели в «зоне прогрессивного развития» вблизи апикального гребня до появления видимых признаков дифференцировки. Очевидно, на ранних стадиях развития в мезенхиме происходят также межклеточные взаимодействия, сглаживающие возможные разрывы в плавных градиентах позиционных значений.

У некоторых амфибий (тритона) и насекомых (таракана) возможна регенерация конечностей. Утраченная часть восстанавливается в результате пролиферации клеток, находившихся в области разреза; образующаяся структура определяется позиционными значениями этих клеток. Если в результате трансплантации приходят в соприкосновение участки, которые в норме отделены друг от друга, происходит вставочная (интеркалярная) регенерация. Это можно наиболее четко продемонстрировать в экспериментах с ногой таракана. Такого рода процесс подчиняется «правилу интеркаляции»: разрывы в ряду позиционных значений вызывают местную пролиферацию клеток, и вновь образовавшиеся клетки приобретают промежуточные позиционные значения, восстанавливающие непрерывность ряда. В эпидермисе ноги таракана клетки обладают двумерными позиционными значениями. Правило интеркаляции применимо и в двух измерениях; оно позволяет верно предсказывать результаты регенерации ампутированной конечности. Это правило, вероятно, приложимо ко многим различным системам, в которых позиционные значения и регуляция роста клеток зависят не только от клеточной памяти, но и от продолжающихся взаимодействий между клетками.

15.7. Индукционные взаимодействия при развитии эпителиев

Многие органы состоят из двух или большего числа различных клеточных популяций, которые возникли независимо друг от друга, а позже объединились и стали взаимодействовать между собой. Дифференцировка клеток в одной ткани может определяться влиянием другой ткани, тесно контактирующей с первой, и такое явление называют **индукцией**. Подобного рода взаимодействия играют особенно важную роль в развитии эпителиев у позвоночных животных.

15.7.1. Мезодерма индуцирует образование различных частей нервной трубки из эктодермы [51]

Как показали эксперименты на амфибиях, проведенные в первые десятилетия 20-го века, образование нервных структур из эктодермы (разд. 15.2.7) обусловлено индуцирующим воздействием подстилающей мезодермы. Если на стадии гаструлы из участка, расположенного под будущей нервной трубкой одного зародыша, взять кусочек мезодермы и имплантировать его под эктодерму другого зародыша на брюшной стороне, то эктодерма здесь начнет утолщаться и сворачиваться, образуя в этом необычном месте отрезок нервной трубки. При этом особенности данного отрезка будут зависеть от происхождения трансплантированной мезодермы. Если мезодерма была взята из переднего участка, из эктодермы образуется часть головного мозга; мезодерма из заднего участка вызовет образование отрезка спинного мозга. Это позволяет предполагать, что клетки эктодермы приобретают определенные позиционные значения в зависимости от позиционных значений подстилающих клеток мезодермы.

На более поздних стадиях развития дифференцировка многих эпителиальных структур тоже в основном контролируется подстилающей мезенхимой. Именно таким образом из компонентов эпителия и мезенхимы образуются кожа и кишка со всеми их специализированными элементами и производными. Мы рассмотрим сначала образование производных кожи.

15.7.2. Характер и распределение производных эпидермиса контролируются дермой [52]

Кожа состоит из двух слоев – эпидермиса (эпителий, образующийся из эктодермы) и дермы (соединительная ткань, образуемая главным образом мезодермой). Из эпидермиса формируются кератинизированные придатки кожи (волосы, перья, чешуя и когти), а также многие железы. Для разных участков тела характерны различные виды кератинизированных производных: на спине и крыльях у цыпленка образуются перья, а на ногах чешуйки. При этом на спине основания перьев располагаются в виде упорядоченной гексагональной структуры и образуют ясно выраженные цепочки (рис. 15-61).

Если у куриного эмбриона взять эпидермис с ноги, где он позже образует чешуйки, и объединить с дермой спины – области, где в норме вырастают перья, то из него вместо чешуек будут формироваться перья (рис. 15-62). Вообще дерма контролирует не только тип производных эпидермиса, но и их точное расположение. Здесь мы опять встречаемся с проявлением неэквивалентности (разд. 15.5.7): дерма разных участков тела внешне одинакова, но различается по своей способности индуцировать определенную дифференцировку лежащего над ней эпидермиса.

По-видимому, сигнал из дермы, вызывающий образование перьев из эпидермиса у цыпленка, сходен с сигналом, вызывающим образование волос у мыши. Если объединить дерму с того участка мышинного эмбриона, где должны будут расти вибриссы, с эмбриональным эпидермисом цыпленка, то этот эпидермис начинает формировать зачатки перьев, расположенные наподобие вибрисс мыши.

Рис. 15-61. Расположение будущих перьев на спине куриного эмбриона после 9 дней инкубации. Обратите внимание, что зачатки перьев в каждой пепочке разделены одинаковыми промежутками. (С любезного разрешения A. Mauger, P. Sengal.)

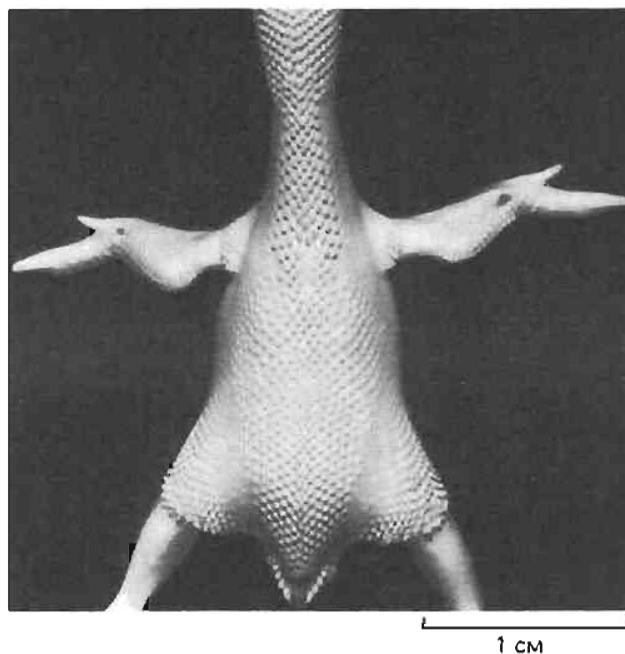
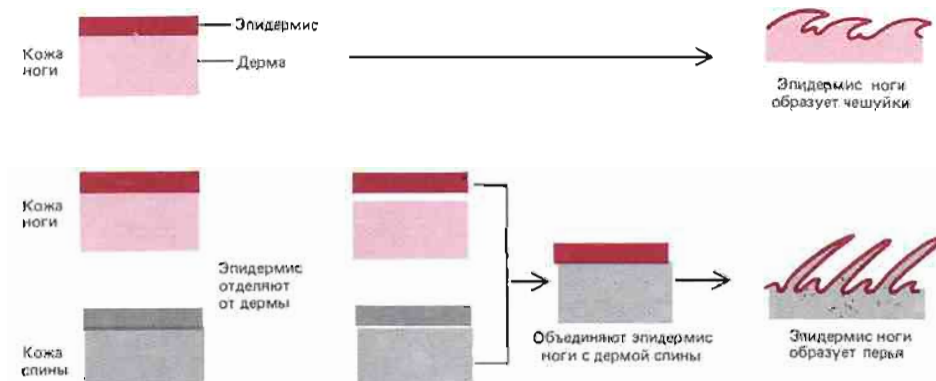


Рис. 15-62. Схема опытов, показывающих, что природа производных эпидермиса определяется дермой.

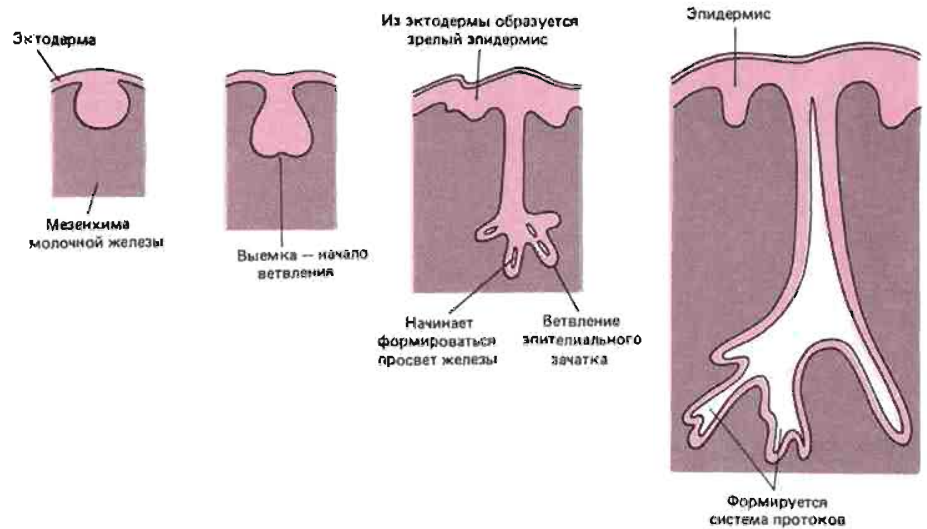


15.7.3. Эпителий погружается в мезенхиму и образует внутри нее протоки желез [53]

Большая часть желез формируется путем врастания эпителия в подстилающую мезенхиму. Каждый тип желез характеризуется определенной геометрической формой и химизмом секреции. Например, молочная железа возникает в виде эктодермального зачатка, который погружается в мезенхиму и неоднократно разветвляется, образуя «дерево» протоков (рис. 15-63); на концах протоков появляются особые эпителиальные клетки, которые после соответствующей гормональной стимуляции начнут выделять молоко,—единственные клетки тела, способные выполнять эту функцию.

Для развития железы необходимы индуцирующие сигналы от клеток мезенхимы, однако интерпретация этих сигналов зависит также от природы реагирующего эпителия. На ранних стадиях образования различных желез можно разделять будущие эпителиальные и мезенхимные элементы этих желез и снова объединять их в различных комбинациях *in vitro*. Такой подход позволяет изучать межклеточные взаимодействия, контролирующие развитие

Рис. 15-63. Развитие молочной железы у желяского эмбриона мыши.



желез. При объединении эпителия молочной железы с мезенхимой слюнной железы образующиеся протоки ветвятся по типу слюнной железы. Однако если такую железу подвергнуть гормональному воздействию (путем имплантации беременной самке), то эпителиальные клетки, выстилающие концы протоков, начинают вырабатывать молоко, т.е. секрет, соответствующий их происхождению. По-видимому, в данном случае мезенхима контролирует геометрическую форму железы, а химия секрета к этому моменту уже predetermined характером клеток, образующих ранний эпителиальный зачаток. В иных случаях дело может обстоять иначе.

Заключение

Многие органы образуются в результате взаимодействий между двумя или несколькими группами клеток разного происхождения при их контакте. В таких случаях одна группа клеток может вызвать у другой специфическую морфогенетическую реакцию. Так, например, мезодерма побуждает лежащую над ней эктодерму к образованию нервной трубки и контролирует более детальную региональную специализацию. В коже дерма индуцирует образование производных эпидермиса и определяет их природу и пространственную организацию. При развитии молочных и слюнных желез мезенхима контролирует вращение эпителия и ветвление эпителиальных выростов, но химизм секреции на этом этапе может быть уже predetermined состоянием эпидермиса.

15.8. Исследование судьбы отдельных клеток в процессе развития нематоды [54]

Мы рассмотрели многие механизмы, с которыми связано развитие животного, и познакомились с тем, как клетки пролиферируют, движутся, взаимодействуют и дифференцируются при построении той или иной упорядоченной структуры. До сих пор приводимые нами примеры касались развития сравнительно сложных организмов, состоящих из многих миллионов клеток. Судьбу каждой клетки в отдельности у таких организмов проследить невозможно. Однако это удалось сделать при изучении нематоды *Caenorhabditis elegans*.

C. elegans — крошечный червь с очень несложным анатомическим строением, удобный объект для генетических исследований. К тому же у него есть еще одна черта, которая делает его особенно подходящим для детального анализа судьбы отдельных клеток. Большинство животных, развитие которых мы рассматривали до сих пор, трудно использовать для этой цели не только

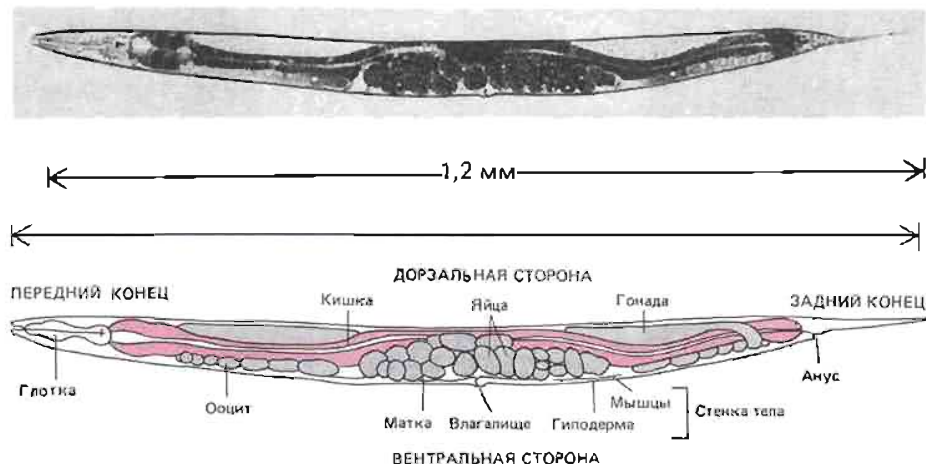
из-за их крупных размеров и сложного строения, но и потому, что их клетки в процессе развития организма перемещаются довольно беспорядочно; на определенных стадиях они могут случайным образом перемещиваться, и поэтому расположение потомков данной клетки у разных особей различно (см. разд. 15.3.6 и 15.4.11). Например, у одной особи две соседние клетки могут быть «родными сестрами», а у другой в аналогичном участке – «четвероюродными сестрами»: существует некоторая неопределенность в соотношении между происхождением клеток и их локализацией. В отличие от этого у нематод и некоторых других животных (например, моллюсков и кольчатых червей) деление клеток и их перемещение очень строго упорядочены и родственные отношения между клетками, образующими различные части тела, у разных особей почти одинаковы. Именно это прежде всего и позволяет проследивать у *C. elegans* судьбу отдельных клеток на всем пути развития от яйца до взрослой особи.

15.8.1. В анатомическом и генетическом отношении нематода *Caenorhabditis elegans* устроена очень просто

Длина взрослой особи *C. elegans* около 1 мм, и в ее организме можно насчитать всего лишь около тысячи соматических и двух тысяч половых клеток (рис. 15-64). С помощью электронной микроскопии серийных срезов удалось полностью, клетка за клеткой, реконструировать анатомию животного. Общий план строения тела этого примитивного червя в основных чертах тот же, что и у большинства высших животных. Удлиненное тело с билатеральной симметрией развивается из трех зародышевых листков. На переднем конце находится глотка, через которую в кишечник засасываются бактерии, а около заднего конца – анус. Наружная стенка тела состоит из двух слоев – защитной гиподермы («кожи») и подстилающего ее мышечного слоя. Внутри тела находится простая длинная трубка – кишечник, образованный клетками энтодермы. Между кишечником и стенкой тела расположена вторая трубка – гонада. Эта трубка построена из соматических клеток, а внутри содержит клетки зачаткового пути. Взрослые особи *C. elegans* представлены двумя формами – гермафродитами и самцами. Таким образом, животное может размножаться путем самооплодотворения гермафродитной формы или путем перекрестного оплодотворения гермафродита самцом, что значительно облегчает проведение на этом объекте генетических исследований.

Сравнительной простоте анатомии *C. elegans* соответствует такая же простота генетического аппарата. В шести парах гомологичных хромосом содержится, по-видимому, всего лишь около 3000 жизненно важных генов. В гаплоидном геноме животного примерно в 20 раз больше ДНК, чем у *E. coli*,

Рис. 15-64. Взрослая гермафродитная особь *Caenorhabditis elegans* (вид сбоку). (J. E. Sulston, H. R. Horvitz, Develop. Biol., 56, 110–156, 1977.)



и примерно в 35 раз меньше, чем у человека. К настоящему времени в результате изучения мутаций идентифицировано около 350 генов. Сюда относятся гены, влияющие на внешние признаки (например, форму тела или поведение), гены, кодирующие известные белки (например, ацетилхолинэстеразу или миозин), и гены, участвующие в процессах развития.

15.8.2. Для развития нематод характерно удивительное постоянство [55]

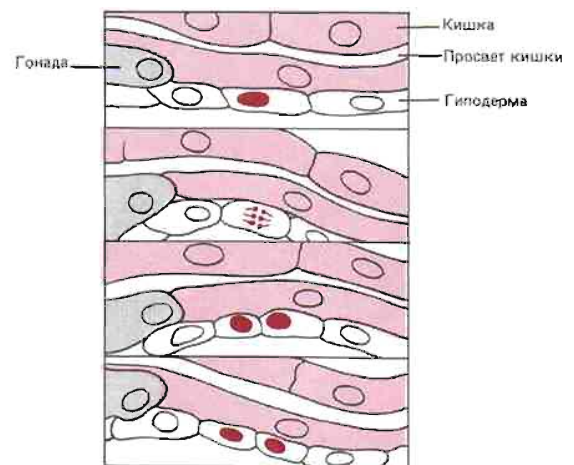
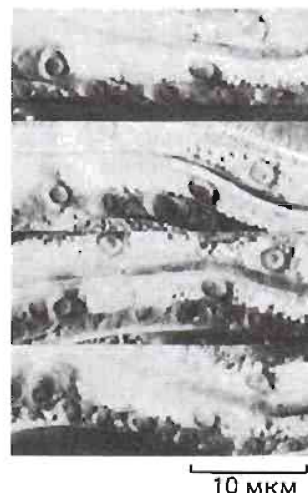
Развитие *C. elegans* начинается с одной клетки – оплодотворенного яйца. В ходе эмбриогенеза ряд последовательных делений приводит к тому, что под оболочкой яйца образуется крошечный червь, состоящий примерно из 550 клеток. После вылупления червя клетки продолжают делиться, и в ходе дальнейшего роста и созревания организм проходит четыре последовательные личиночные стадии, разделенные линьками. В результате последней линьки образуется взрослая особь, которая начинает производить собственные яйца. Полный цикл развития от яйца до яйца занимает всего лишь около трех дней.

Тело червя прозрачно, поэтому у него можно прижизненно наблюдать деление, миграцию и дифференцировку клеток (рис. 15-65). Пользуясь таким простым методом, можно описать генеалогические отношения и поведение всех клеток, начиная со стадии одноклеточного яйца и кончая взрослым животным. Как на эмбриональных, так и на постэмбриональных стадиях развития поведение большинства клеток оказалось идентичным у всех исследованных особей.

Эти описательные исследования показали, что соматические структуры животного образуются по одной неизменной генеалогической схеме. Это означает, что каждая данная клетка-предшественница у всех особей делится, так же как и все ее потомки, одинаковым образом, так что судьбу любой клетки можно предсказать, зная ее положение на родословном древе (рис. 15-66). (Единственное исключение составляют несколько клеток, для которых предусмотрены два возможных варианта.) Деление будущих половых клеток, в отличие от соматических, не запрограммировано столь жестко: после вылупления червя из яйца две такие клетки претерпевают ряд делений, число которых варьирует, и дальнейшая судьба их потомков определяется положением, которое они будут занимать в гонаде.

Изучение генеалогии клеток у раннего эмбриона показывает, что у *C. elegans*, как и у других животных, большинство структур тела возникает в виде клонов, изначально состоящих более чем из одной клетки. Таковы гипо-

Рис. 15-65. Участок среднеventральной области живой личинки *C. elegans*, сфотографированный последовательно четыре раза с интервалом в несколько минут. Видна делящаяся клетка гиподермы. (С любезного разрешения John Sulston, Judith Kimble.)



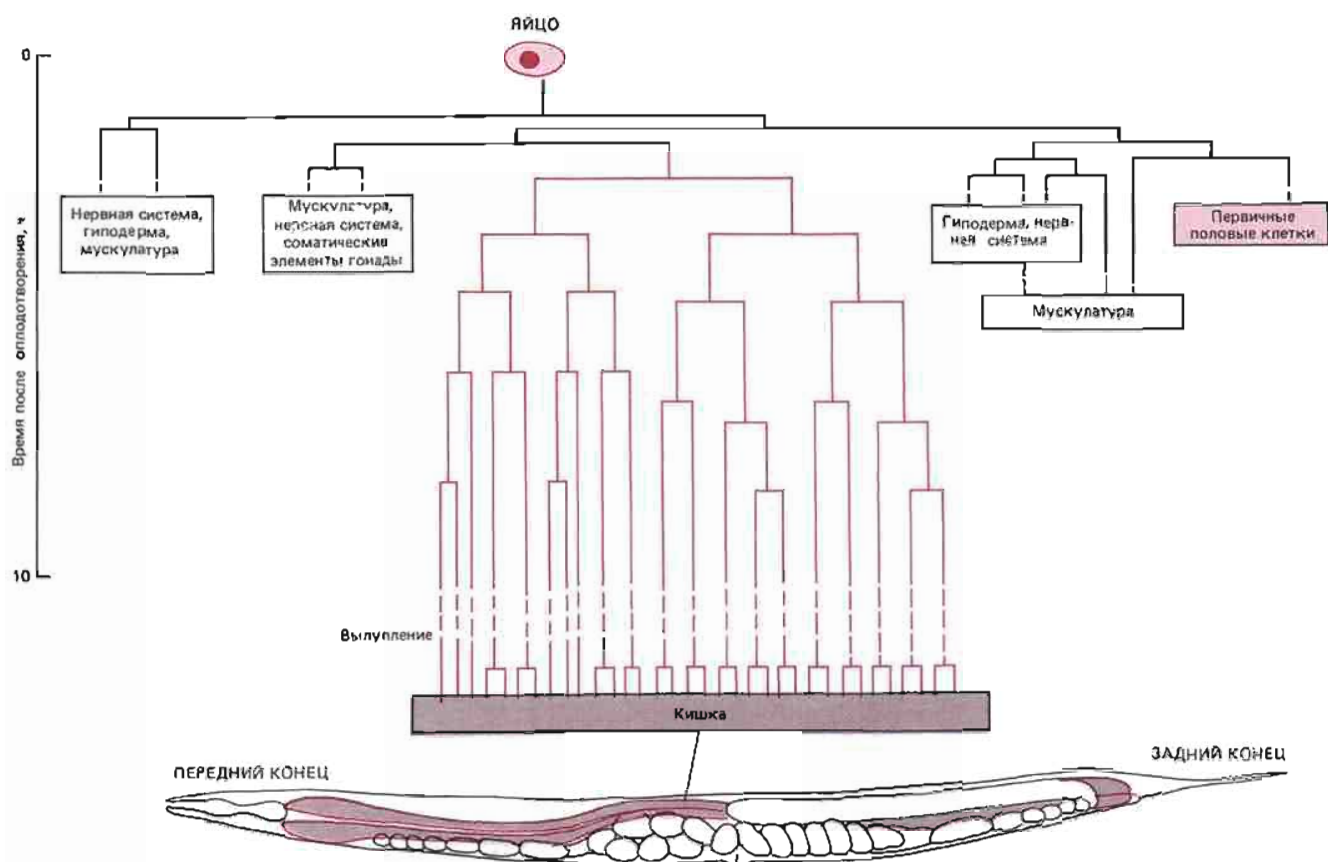


Рис. 15-66. Родословная клеток, формирующих кишечник *C. elegans*. Яйцо (вверху) изображено в том же масштабе, что и взрослая особь (внизу).

дерма, нервная система, мускулатура и соматический компонент гонады: каждый из этих видов ткани образован из нескольких клеток разного происхождения (рис. 15-66). Более того, в отдельных случаях мышечная и нервная клетки могут быть сестрами, образовавшимися в результате последнего из делений. Однако некоторые компоненты тела составляют исключение из правила — они полностью образуются из одного клеточного клона. Таковы, в частности, клетки кишечника и половые клетки: это два клона, каждый из которых происходит от одной родоначальной клетки (рис. 15-66).

15.8.3. Клеточная дифференцировка возможна и без цитокинеза [56]

Клетки в зародыше нематоды по мере пролиферации начинают синтезировать различные специализированные генные продукты, т. е. дифференцируются. Даже если подавить деление клеток (точнее, цитокинез), синтез специализированных белков может начинаться в надлежащее время. Более того, при этом в одной клетке могут экспрессироваться гены, активность которых в норме характерна для разных типов дифференцированных клеток.

Это явление можно продемонстрировать, блокируя деление клеток на ранних стадиях развития эмбриона с помощью химических агентов. После обработки 2–4-клеточных зародышей смесью колхицина и цитохалазина В разделение цитоплазмы тотчас же прекращается, тогда как синтез ДНК продолжается, и вскоре каждый из бластомеров становится высокополиплоидным. Примерно в то время, когда в нормальных условиях начинается клеточная дифференцировка, определенный бластомер — предшественник клеток определенного специализированного типа — начинает синтезировать продукты, характерные для клеток данного типа. Если блокировать дробление на

двуклеточной стадии, одна из двух клеток – предшественница клеток кишечника и некоторых других – начнет проявлять признаки дифференцировки по «кишечному» типу. Если же дробление затормозит на 4-клеточной стадии, только один из четырех бластомеров будет синтезировать белки, характерные для клеток кишечника.

Вместо химической обработки зародышей можно использовать мутации, блокирующие деление клеток в процессе развития. В условиях такой блокады у клеток-предшественниц тоже выявляются признаки дифференцировки; при этом у одной клетки может появиться целый набор свойств, в норме характерных для разных специализированных потомков этой клетки.

Результаты этих экспериментов указывают на то, что в ходе дифференцировки у нематод цитокинез, по-видимому, используется для распределения различных специализированных признаков по отдельным клеткам. Была выдвинута привлекательная гипотеза, согласно которой молекулы, ответственные за детерминацию, переходят при делении только в одну из дочерних клеток. Такие молекулы наделяют способностью экспрессировать определенный набор генов именно эту клетку. Мы уже рассматривали данные в пользу того, что у некоторых организмов имеются локальные внутриклеточные детерминанты (разд. 15.5.2). У *C. elegans* существование таких детерминантов пока не доказано.

15.8.4. С помощью лазерной микрохирургии можно исследовать влияние локальных межклеточных взаимодействий на поведение клеток [54, 57]

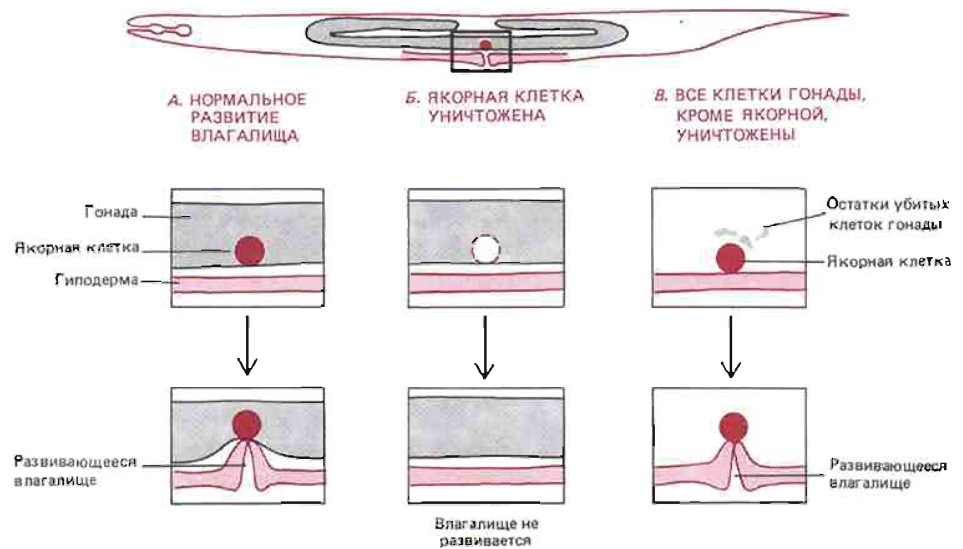
Развитие клетки контролируется факторами, унаследованными от материнской клетки, и внешними сигналами, исходящими от соседних клеток. Если жестко фиксированный ход развития *C. elegans* обусловлен столь же жестко запрограммированными межклеточными взаимодействиями, то можно, уничтожив отдельные соседние клетки, попытаться изменить нормальное окружение данной клетки и тем самым ее дальнейшую судьбу. Для этого используют узкий луч лазера диаметром около 0,5 мкм (средний диаметр клеточных ядер у *C. elegans* равен около 2 мкм). После воздействия повторных импульсов такого луча на ядро клетка погибает, тогда как другие клетки животного не подвергаются заметному повреждению.

Если разрушение определенной клетки будет определенным образом изменять судьбу какой-либо из соседних клеток, это позволит заключить, что уничтоженная клетка у интактного животного участвует в определении ее последующей судьбы в процессе развития. Проведенные эксперименты показали, что ход развития в основном зависит от родословной отдельных клеток, а не от межклеточных взаимодействий, в которых они участвуют: обычно клетка продолжает идти по тому же пути дифференцировки даже после уничтожения соседних клеток. Однако есть и исключения, которые показывают, что межклеточные сигналы тоже могут играть важную роль. Примером может служить развитие полового отверстия.

15.8.5. Развитие полового отверстия происходит под контролем «якорной» клетки [54, 57]

Яйца у *C. elegans* откладываются через влагалище – отверстие в гиподерме (коже) на брюшной стороне тела гермафродитной особи (рис. 15-64). Оно образуется из определенных клеток гиподермы, лежащих под трубкой из соматических клеток, которая служит стенкой гонады. Одна из клеток гонады, так называемая *якорная клетка*, прикрепляет, или «заякоривает», расположенную над ней гонаду (матку) к развивающемуся влагалищу, чтобы мог образоваться путь, по которому яйца будут выходить из матки во внешнюю среду. Опыты с разрушением этой клетки лучом лазера показывают, что именно она индуцирует образование влагалища из близлежащих клеток гиподермы.

Рис. 15-67. Схема экспериментов, показавших, что для развития влагалища необходимо индуктивное влияние якорной клетки.



После уничтожения якорной клетки из этих клеток в результате их деления вместо влагалища образуется участок обычной гиподермы. Если же уничтожить все клетки гонады, за исключением якорной, формируется нормальное влагалище (рис. 15-67).

Таким образом, якорная клетка служит источником сигнала, необходимого для построения влагалища. Однако дополнительные эксперименты показали, что одного лишь «запускающего» сигнала недостаточно. Если уничтожить якорную клетку за несколько часов до начала деления будущих клеток влагалища, развитие последнего вообще не начинается, но если уничтожить ее несколько позже, непосредственно перед началом деления этих клеток, то, хотя и образуется нормальное количество клеток для построения влагалища, они не способны объединиться и правильно сформировать этот орган. Таким образом, для полного развития влагалища требуется постоянное присутствие якорной клетки. Это могло бы означать, что один сигнал якорной клетки необходим для активации деления клеток будущего влагалища, а другой – для их координированной «сборки» в надлежащую структуру. Возможно, однако, что якорная клетка все время выделяет одно и то же индуцирующее вещество, которое по мере созревания клеток-мишеней последовательно вызывает у них ряд различных реакций.

15.8.6. Клетки дистального конца гонады стимулируют непрерывную пролиферацию близлежащих первичных половых клеток [54, 58]

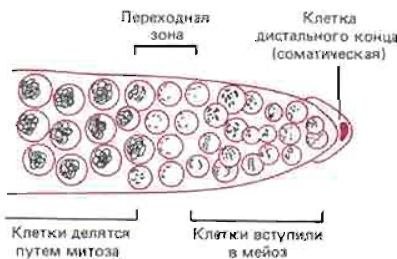


Рис. 15-68. Нормальное распределение будущих половых клеток в гонаде *C. elegans*.

К моменту вылупления личинки в ее организме имеются две первичные половые клетки, из которых в дальнейшем образуется около 2000 клеток, заполняющих гонаду взрослой особи. Вблизи дистального конца гонады продолжается образование первичных половых клеток путем митотических делений, в то время как в остальной части гонады они вступают в мейоз (рис. 15-68). Проллиферирующие клетки дистального конца, подобно сперматогониям у самцов млекопитающих, играют роль стволовых клеток, восполняющих убыль гамет, по мере того как те созревают и используются для размножения.

В самом кончике гонады у личинок и взрослых особей имеются одна или две соматические клетки, которые не делятся (число их зависит от пола животного). Такие клетки были названы клетками дистального конца. Если их уничтожить, то вскоре все стволовые клетки зачаткового пути вступают

Рис. 15-69. Последствия, к которым приводит разрушение клетки дистального конца гонады. На фотографиях показана гонада, извлеченная из тела червя и окрашенная по Фёлгсону. Эта реакция специфична в отношении ДНК, и поэтому с ее помощью выявляют митотические и мейотические хромосомы. На верхнем фото – нормальная гонада; внизу – гонада через 24 ч после разрушения клетки дистального конца. (J. E. Kimble, J. G. White. *Develop. Biol.*, 81, 208–219, 1981.)



в мейоз (рис. 15-69). Очевидно, клетки дистального конца необходимы для поддержания митотической пролиферации в прилегающем участке гонады и препятствуют вступлению находящихся в этом участке клеток в мейоз и превращению их в гаметы. Можно не разрушать клетку дистального конца, а перенести ее в другое место. Если сделать это на достаточно раннем этапе формирования гонады, то в том участке, куда эта клетка была перенесена, образуется популяция стволовых клеток зачаткового пути. Следовательно, клетка дистального конца определяет полярность гонады – расположение в ней первичных половых клеток и созревающих гамет. В этом можно видеть аналогию с ролью аликального эктодермального гребня в почке конечности куриного эмбриона, где этот гребень контролирует локализацию и поддержание зоны прогрессивного развития.

15.8.7. Судьбу клеток могут контролировать ингибиторные взаимодействия внутри групп эквивалентности [54, 57, 59]

В некоторых случаях клетки способны переходить с обычного пути своего развития на путь, характерный для соседней клетки, которая была удалена. Это позволяет предполагать, что вначале две соседние клетки эквивалентны и различие между ними возникает лишь в результате какого-то взаимодействия между ними. Такого рода замещение недостающих клеток можно наблюдать только внутри определенных ограниченных клеточных групп, которые получили название **групп эквивалентности**. Каждая такая группа необходима для формирования в организме животного определенной специализированной структуры. На рис. 15-70 схематически показаны три такие группы в гиподерме нематоды – две достоверно установленные и одна предполагаемая.

Равноценность клеток в пределах одной группы эквивалентности наиболее наглядно продемонстрирована в экспериментах со среднецентральной группой клеток гиподермы гермафродитных особей. Эта группа содержит шесть клеток-предшественниц (D, ..., I на рис. 15-70), которые расположены в районе будущего влагалища. Три клетки – F, G и H – в нормальных условиях несколько раз делятся и формируют собственно влагалище, а три остальные после одного деления образуют шесть клеток мезодермы. Развитие влагалища стимулируется якорной клеткой (разд. 15.8.5); если эту клетку уничтожить, все шесть клеток группы эквивалентности делятся один раз и формируют 12

Рис. 15-70. Группы эквивалентности в вентральной гиподерме.



клеток гиподермы. А если (сохранив якорную клетку) уничтожить клетки F, G и H, клетки D, E и I сворачивают с пути нормального развития и вместо гиподермы из них образуются клетки влагалища. Таким образом, все шесть клеток эквивалентны, так как способны участвовать в построении как гиподермы, так и влагалища.

Природа взаимодействия клеток в группе эквивалентности наиболее четко выявляется на примере преанальной группы в гиподерме самца. Клетки этой группы должны участвовать в образовании хвостовых структур, необходимых для спаривания. Разрушая значительные участки вокруг этой группы, можно показать, что ее клетки не испытывают воздействия со стороны клеток, к ней не относящихся (точнее, ни одна из клеток, расположенных вблизи преанальной группы эквивалентности, не влияет на эту группу столь же определенным образом, как якорная клетка — на средневентральную группу). Преанальная группа состоит из трех клеток (J, K и L на рис. 15-70), для каждой из которых характерны определенные пути развития — J, K и L соответственно. Однако после уничтожения клетки K клетка J прекращает развитие по пути J и начинает следовать по пути K. Более того, если была уничтожена клетка L, по ее пути L начинает развиваться клетка K, а клетка J следует по пути развития K. Обратных замещений не происходит; клетка L никогда не замещает клетку K, а клетка K не способна замещать клетку J. Таким образом, порядок, в котором клетки могут замещаться, отражает их иерархию. Эта иерархия сохраняется и после уничтожения клеток K и L: в этом случае клетка J всегда замещает клетку L.

Судя по этим результатам, присутствие клетки L должно нормализующе влиять на судьбу клеток J и K, а присутствие клетки K — на судьбу клетки J (рис. 15-71). Природа этого влияния неизвестна. Одно из возможных объяснений состоит в том, что клетки L и K выделяют какое-то ингибирующее вещество, которое в норме не позволяет их соседям следовать по тому же пути развития. Возможно также, что судьба клеток определяется их положением: само присутствие клетки в определенном месте мешает соседней клетке занять это место и тем самым направляет ее развитие по иному пути.

Идею о существовании групп эквивалентности подкрепляют и генетические данные. Существуют мутации, которые изменяют судьбу клеток в одной из групп эквивалентности, но не влияют на клетки вне этой группы. Например, в результате мутации *multivulva* все шесть клеток средневентральной группы эквивалентности приобретают свойства предшественников влагалища. В результате у мутантной особи образуется до 48 клеток влагалища вместо 22. Эти клетки не способны объединяться в одно крупное влагалище, поэтому они инвагинируют небольшими группами и образуют несколько мини-влагалищ. У мутанта разрушение якорной клетки не приводит к утрате этими клетками способности к формированию влагалища, и все шесть клеток ведут себя так, как если бы они находились в активном состоянии, индуцированном якорной клеткой.

Группа эквивалентности состоит из нескольких соседних клеток-предшественниц, которые, согласно простейшей гипотезе, вначале находятся в одном и том же состоянии детерминации. Группу эквивалентности можно, пожалуй, рассматривать как фундаментальную «сборочную единицу», аналогичную группе родоначальных клеток компартмента у дрозофилы. По-видимому, детерминация клеток у животного, развивающегося по инвариантной программе, может быть в значительной части основана на тех же принципах, что и у животных с более гибкой программой развития, у которых происхождение, положение и характер клетки связаны между собой не так жестко.



Рис. 15-71. Схема экспериментов на преанальной группе эквивалентности, в которых было показано, что межклеточные взаимодействия влияют на дальнейшую судьбу клеток.

Заключение

Нематоды, так же как и некоторые другие беспозвоночные, отличаются от насекомых и позвоночных особой жесткостью программы развития: в ней предусмотрена настолько точная схема клеточных делений, что соматическая клетка, находящаяся в определенном участке организма, имеет одинаковую родословную у всех особей. Развитие нематоды *C. elegans* в нормальных условиях и после некоторых экспериментальных вмешательств было подробно изучено вплоть до уровня отдельных клеток. Дифференцировка может продолжаться даже после блокады клеточного деления, и при этом в пределах одной клетки могут экспрессироваться специализированные гены, характерные в норме для различных типов дифференцированных клеток.

Большая часть соматических клеток развивается автономно, но в некоторых случаях важную роль играют взаимодействия с другими клетками. Например, якорная клетка индуцирует развитие клеток влагалища, а клетка дистального конца гонады стимулирует пролиферацию стволовых клеток зачаткового пути. Кроме того, было показано, что некоторые структуры образуются из «групп эквивалентности», каждая из которых включает ряд близлежащих клеток-предшественниц. По-видимому, клетки в такой группе первоначально находятся в одном и том же состоянии детерминации, поскольку одна клетка способна заменить другую в пределах группы; позже эти клетки в результате взаимодействий между ними начинают различаться. Возможно, что группа эквивалентности у нематоды аналогична группе родоначальных клеток определенного компартмента у дрозофилы.

15.9. Мигрирующие клетки

Мы должны рассмотреть еще одно явление, играющее важную роль в процессах эмбрионального развития,—миграцию клеток. Миграция клеток очень характерна для развития центральной нервной системы (которое будет рассмотрено в гл. 18). Однако мигрировать способны не только нейроны; миграция клеток имеет существенное значение и при развитии других систем органов.

15.9.1. Возможно, что смещению клеток, находящихся в нужном месте, противодействует их избирательное слипание [60]

Перемещение отдельных клеток можно наблюдать довольно часто. Например, в химерном эмбрионе мыши клетки двух исходных морул перемещаются, и в результате ткани взрослого животного представляют собой хаотическую мозаику клеток с различными генотипами. После рентгеновского облучения эмбрионов дрозофилы границы отдельных клеточных клонов тоже оказываются довольно неправильными. Однако случайные перемещения клеток после детерминации привели бы к нарушению нормального пространственного распределения клеток различного типа. Поэтому после приобретения клетками особенностей, соответствующих их расположению, клетки должны оставаться в надлежащем участке. Вероятно, границы компартментов у дрозофилы закрепляются в результате избирательного слипания клеток; сходные клетки слипаются сильнее, чем разнородные. В опытах *in vitro* удалось получить данные в пользу того, что этот же принцип действует и у позвоночных. Можно, например, разделить и перемешать эмбриональные клетки печени и сердца, после чего они образуют плотный комок; в этом случае часто наблюдается самосортировка клеток, как если бы клетки каждого типа обладали большим сродством к себе подобным, нежели к клеткам других типов (см. разд. 12.1.4). Понятно, что такое избирательное сродство должно препятствовать перемещению клеток из того места, где они образовались.

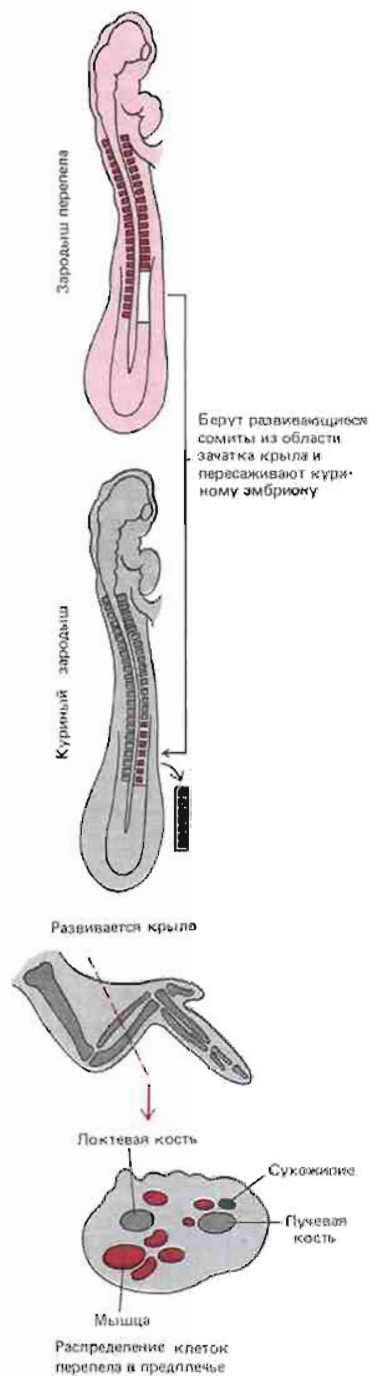


Рис. 15-72. Если у куриного эмбриона после двух дней инкубации заменить клетки сомитов такими же клетками перепела и сделать спустя неделю срез крыла, то окажется, что мышечные клетки крыла образовались из трансплантированных сомитов перепела.

Однако в зародыше имеются и такие клетки, которые совершают не только локальные, но и весьма отдаленные миграции из мест своего возникновения.

15.9.2. Будущие половые клетки покидают желточный мешок и обосновываются в гонадных валиках [61]

Детерминация будущих половых клеток происходит на очень ранней стадии развития (см. разд. 14.3 и 15.5.3). У позвоночных эти клетки затем мигрируют из области кишечника или желточного мешка, где они образовались, в эпителий гонадных валиков, которые возникают значительно позже. У амфибий такие клетки активно движутся через ткани и проделывают длинный путь от кишки до гонадных валиков: подобно клеткам первичной мезенхимы у морского ежа, эти клетки, по-видимому, выпускают отростки, которые, укорачиваясь, подтягивают клетку вперед. С другой стороны, у куриного эмбриона эти клетки значительную часть своего пути проделывают пассивно, перемещаясь с кровью. Но каковы бы ни были средства передвижения первичных половых клеток, интересно было бы знать, почему они обосновываются именно в гонадных валиках. Возможно, что валики выделяют какое-то вещество, привлекающее первичные половые клетки путем хемотаксиса. Однако у куриного зародыша эти клетки обосновываются вначале не только в гонадных валиках, но и в некоторых других местах (даже в голове); специфичность окончательной локализации будущих гамет в этом случае может быть частично обусловлена гибелью клеток, оказавшихся в неподходящем месте. Но независимо от того, действует ли здесь хемотаксис или случайность, первичные половые клетки должны по крайней мере опознавать гонадные валики как участок, предназначенный им для заселения и дальнейшего существования.

15.9.3. У куриного эмбриона мышечные клетки появляются в почке конечности в результате миграции из сомитов [62]

Как мы уже упоминали, детерминация будущих мышечных клеток конечности происходит на очень ранней стадии, и они мигрируют в место закладки конечности из сомитов. Такая миграция была продемонстрирована в опытах с пересадкой куриным зародышам эмбриональных клеток перепела.

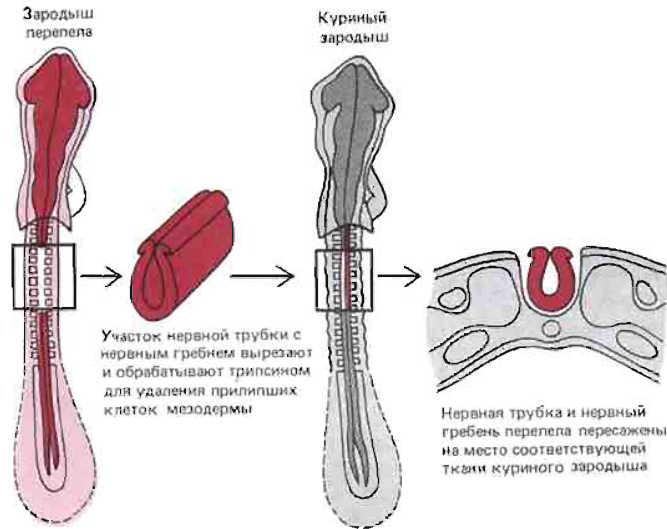
Хотя перепел во многом сходен с курицей, его клетки легко отличить на гистологических препаратах, так как они содержат крупную, сильно окрашивающуюся глыбку гетерохроматина, связанного с ядрышком. Такой ядрышковый маркер позволяет легко опознать пересаженные клетки, куда бы они ни перешли внутри эмбриона. Если у куриного зародыша еще до закладки крыльев заместить ткань определенной группы сомитов такой же тканью от перепела (рис. 15-72), то все мышечные клетки в крыльях (и только они) будут происходить от перепела. Очевидно, будущие мышечные клетки мигрируют в область закладки крыла и остаются здесь до тех пор, пока для них не наступит время дифференцировки. Эти клетки — предшественники мышечной ткани — детерминированы, но еще не дифференцировались и поэтому внешне практически неотличимы от остальных мезенхимных клеток раннего зачатка конечности.

Как же будущие мышечные клетки попадают в места дифференцировки мышечной ткани? По-видимому, окончательное распределение мигрирующих мышечных клеток контролируется клетками окружающей соединительной ткани, которая по своему происхождению не связана с сомитами.

15.9.4. Клетки, мигрирующие из нервного гребня, участвуют в образовании многих тканей [63]

Участок эпителия, где замыкается нервная трубка (см. разд. 15.2.7), служит источником мигрирующих клеток, играющих важную роль в эмбриогенезе,

Рис. 15-73. На этой схеме показано, как клетки нервного гребня у куриного эмбриона можно заменить соответствующими клетками перепела. Справа – поперечный разрез спинного участка эмбриона-реципиента с пересаженной тканью перепела. (N. Le Douarin, Nature, 286, 663–669, 1980.)



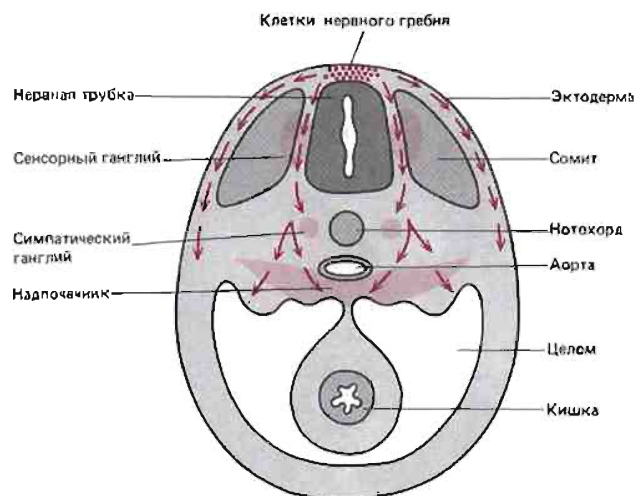
клеток нервного гребня. Они отделяются от эпителия и мигрируют сквозь ткани зародыша по определенным путям; из них формируются разнообразные клетки и ткани, в том числе периферические нейроны, шванновские клетки, пигментные клетки и некоторые виды соединительной ткани головы. В связи с этим тотчас же возникает ряд вопросов. Чем определяется маршрут миграции тех или иных клеток нервного гребня? Являются ли клетки нервного гребня до начала миграции полностью однородными или же к этому времени они претерпели различную детерминацию? Какое влияние оказывают на клетку условия в том месте, куда она в конце концов попадает?

Большая часть производных нервного гребня была выявлена еще в ранних экспериментах, в которых гребень просто удаляли и отмечали возникавшие после этого дефекты. Позднее удалось проследить судьбу клеток нервного гребня у цыпленка более прямым путем – эти клетки метили до начала их миграции. Использовали два типа меченых клеток: клетки куриного эмбриона, меченные радиоактивным тимидином, и клетки из эмбриона перепела. Меченые клетки нервного гребня обоих типов трансплантировали в тот или иной участок на место собственной ткани нервного гребня зародыша-реципиента (рис. 15-73). Спустя несколько дней пересаженные клетки можно было идентифицировать в различных местах. Такие эксперименты показали, что к производным нервного гребня относятся также клетки, вырабатывающие гормон кальцитонин, и клетки каротидных телец (внутренних рецепторов, воспринимающих pH крови и содержание в ней кислорода). Удалось также кое-что выяснить относительно факторов, влияющих на миграцию и дифференцировку клеток нервного гребня.

15.9.5. Маршруты миграции определяются соединительной тканью реципиента [63, 64]

На каждой стороне тела клетки выходят из нервного гребня по двум главным путям: один из них пролегает непосредственно под эктодермой, а другой ведет в глубь тела через сомиты (рис. 15-74). Из клеток, мигрирующих под самой эктодермой, образуются пигментные клетки кожи, а из тех, что избрали более глубинный путь, – различные нервные ткани и пигментные клетки внутренних органов. Место назначения клетки определяется ее положением на продольной оси тела; это было ясно продемонстрировано для клеток нервного гребня, движущихся глубинными путями и образующих периферические нейроны вегетативной нервной системы. Эти нейроны объединяются в ганглии, например сенсорные ганглии, ресничный ганглий около глаза, це-

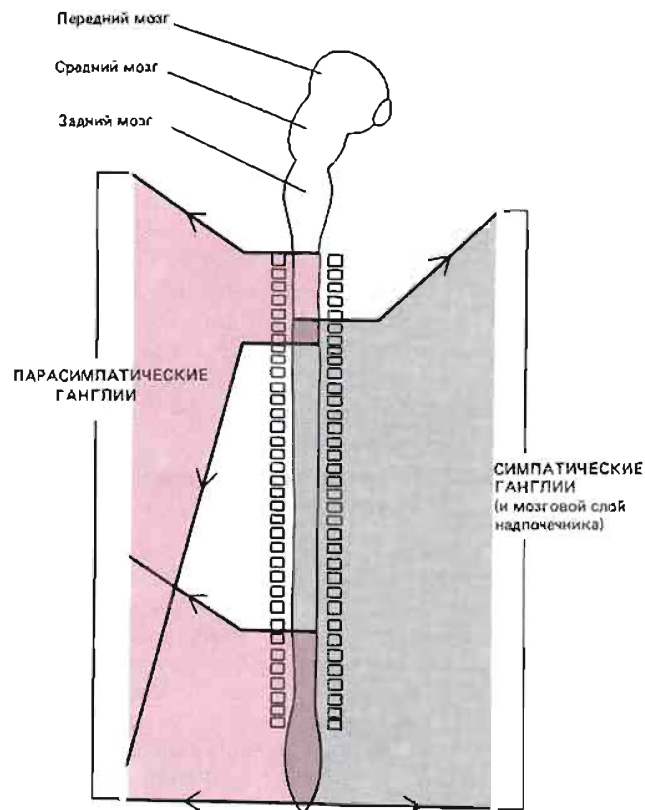
Рис. 15-74. Главные пути миграции клеток нервного гребня у куриного эмбриона (схематический поперечный разрез средней части тела). Из клеток, передвигающихся непосредственно под эктодермой (поверхностным путем), образуются пигментные клетки кожи; клетки, движущиеся по глубинному пути через сомиты, дают начало сенсорным и симпатическим ганглиям, и частично надпочечникам. На этом уровне клетки нервного гребня не участвуют в образовании парасимпатических ганглиев.



почку симпатических ганглиев вблизи позвоночника и парасимпатические ганглии в стенке кишечника.

Как показано на рис. 15-75, различные участки нервного гребня служат источником клеток, образующих различные ганглии. Предназначение клеток из разных участков гребня определяется не их изначальными свойствами, а просто разницей в расположении до миграции. Если взять клетки из переднего участка, в норме предназначенные для построения парасимпатических ганглиев, и пересадить несколько дальше назад, из них образуются симпатические ганглии; и наоборот, после перемещения клеток этого заднего участка вперед из них вместо симпатических возникнут парасимпатические ганглии.

Рис. 15-75. Образование различных групп вегетативных нейронов из клеток нервного гребня, лежащих над различными участками будущего спинного мозга (на схеме не показаны нервный гребень и автономные нейроны в области головы). Из клеток нервного гребня образуются: на уровне сомитов 1–5 парасимпатические ганглии (симпатические здесь не образуются); на уровне сомитов 6 и 7 – как симпатические, так и парасимпатические; на уровне сомитов 8–28 только симпатические ганглии (а также мозговое вещество надпочечников); на уровне сомитов 29 и далее – и симпатические, и парасимпатические. Для большей ясности парасимпатические ганглии показаны на схеме только слева, а симпатические – только справа. На самом деле клетки нервного гребня участвуют в образовании ганглиев на обеих сторонах тела.



Таким образом, клетки мигрируют по путям, определяемым соединительной тканью реципиента, и обосновываются там, куда приводят эти пути: клетки не проявляют никакой тенденции отыскивать путь, соответствующий тому участку гребня, откуда они были первоначально взяты.

Чем определяются пути миграции клеток нервного гребня? Существует несколько возможностей. Маловероятно, чтобы клетки гребня направлялись к месту назначения просто под влиянием какого-то диффундирующего аттрактанта, исходящего из этого места: слишком уж длинны и извилисты пути миграции. Например, передние участки гребня – источник клеток парасимпатических ганглиев – расположены дальше от этих ганглиев, чем грудные участки, не имеющие отношения к их формированию. Пути миграции могли бы скорее определяться местными особенностями соединительной ткани, сквозь которую мигрируют клетки. Широкое распространение получила гипотеза о том, что эти пути намечены распределением фибронектина и гликозаминогликанов во внеклеточном матриксе. Направление движения клеток могло бы также зависеть от ориентации коллагеновых волокон. Однако действует ли такая система *in vivo*, остается неясным, хотя известно, что в культуре *in vitro* направление движения клеток может действительно определяться подобного рода особенностями субстрата (см. разд. 10.7.5).

15.9.6. Дифференцировку клеток нервного гребня определяет местное окружение [63, 65]

Каков бы ни был механизм, направляющий миграцию, клетки из различных частей нервного гребня в конце концов попадают в разные участки тела, где соответственно по-разному дифференцируются. Например, большинство клеток, превращающихся в нейроны симпатических ганглиев, начинает синтезировать нейромедиатор норадреналин, а большинство клеток парасимпатических ганглиев – ацетилхолин. До миграции клетки нервного гребня внутренние еще не детерминированы как предшественники симпатических или парасимпатических нейронов. Если пересадить ткань из переднего участка нервного гребня, из которого в норме образуются симпатические ганглии, в грудной отдел, то трансплантированные клетки будут дифференцироваться в соответствии со своим новым положением и вместо норадреналина будут синтезировать ацетилхолин.

Более того, клетки нервного гребня сохраняют способность реагировать на локальное окружение даже на очень поздних стадиях развития. В условиях изоляции в культуре отдельные клетки симпатических ганглиев новорожденного мышонка созревают в нейроны, синтезирующие норадреналин. Если же они растут по соседству с некоторыми типами клеток из других тканей (например, мышечными), они дифференцируются в нейроны, синтезирующие ацетилхолин. При изменении условий культуры отдельные нейроны могут переключаться с одного фенотипа на другой, и в этом переходе есть фаза, когда клетка синтезирует одновременно оба нейромедиатора. Влияние других клеток на выбор нейронами нейромедиатора может осуществляться и без прямого межклеточного контакта. Синтез ацетилхолина в изолированных клетках ганглиев можно вызвать и просто с помощью среды, в которой росли клетки других тканей. Это позволяет предполагать, что такое переключение происходит под влиянием какого-то растворимого вещества, выделяемого в среду тканью-индуктором.

15.9.7. При исследовании развития нервной системы возникает ряд особых проблем

Рассмотрение судьбы клеток нервного гребня подвело нас к теме, которая в целом в этой главе еще не обсуждалась, – к проблеме развития нервной системы. До сих пор все интересовавшие нас вопросы можно было обобщить следующим образом: как возникают в организме различные типы клеток

и как они попадают в нужные места? Нервная система ставит перед нами еще одну проблему: как образуются правильные соединения между нервными клетками? В большинстве других областей эмбриологии можно рассматривать клетки как точечные объекты, каждый из которых занимает определенное положение и обладает определенными внутренними свойствами. Но существование нейрона в том и состоит, что он не является точечным объектом: он необычайно вытянут и снабжен длинным аксоном и дендритами, соединяющими его с другими клетками. Функция нейронов состоит в регулировании и интеграции различных видов активности организма, и эта функция определяется их соединением. Если соединения ошибочны, работа нервной системы будет нарушена. Мы уже можем объяснить, как образуются нейроны различных типов и как их тела укладываются в регулярную структуру; для этого мы привлекаем те же принципы, которые применимы и к остальным системам тела. Тем не менее упорядоченный рост аксонов и дендритов и образование правильной системы синапсов представляют собой явления иного порядка. Передний конец растущего аксона или дендрита ползет примерно так же, как и мигрирующая клетка: его можно назвать мигрирующим органом неподвижной клетки. И движения такого мигрирующего органа регулируются частично теми же факторами, что и движения мигрирующей клетки (контактными воздействиями и др.), но, когда мы рассматриваем его взаимоотношения с телом клетки и с другими нервными волокнами и его способность образовывать синапсы, перед нами встают новые проблемы, требующие нового подхода. Поэтому мы не будем здесь углубляться в вопросы построения нервной системы — высшего продукта индивидуального развития, — мы вернемся к этим вопросам в главе 18.

Заключение

Клетки некоторых типов, для того чтобы достичь места своего назначения, преодолевают большие расстояния, мигрируя через другие ткани зародыша. Один из примеров — первичные половые клетки; их окончательная локализация в организме частично определяется гибелью тех клеток, которые осели в неподходящих местах. Из мигрирующих предшественников образуются также мышечные клетки конечностей у позвоночных. Еще один важный пример — клетки нервного гребня. Они служат предшественниками клеток многих типов, в том числе меланоцитов, периферических нейронов и глии, а также соединительной ткани головы. Клетки нервного гребня, находившиеся в разных участках продольной оси тела, мигрируют по разным маршрутам, направление которых определяется, вероятно, механическими контактами или же химическими факторами внеклеточного матрикса и клеточных поверхностей. До начала миграции клетки нервного гребня детерминированы не полностью; например, клетки, из которых в норме образуются парасимпатические нейроны, после пересадки в другой участок нервного гребня дают начало симпатическим нейронам. Можно показать, что дифференцировка этих мигрирующих клеток определяется окружением, в котором они обосновались. Элементы миграционного поведения характерны для всех нейронов, и эта особенность играет важную роль в развитии нервной системы.

Литература

Общая

- Browder L. Developmental Biology, Philadelphia, Saunders, 1980.
 Ham R. G., Veomett M. J. Mechanisms of Development, St. Louis, Mosby, 1979.
 Karp G., Berrill N. J. Development, 2nd ed., New York, McGraw-Hill, 1981.
 Spemann H. Embryonic Development and Induction, New Haven, Yale University Press, 1938. (Reprinted, New York, Hafner, 1967.)
 Weiss P. A. Principles of Development, New York, Holt, 1939.
 Wessells N. K. Tissue Interactions and Development, Menlo Park, Ca., Benjamin-Cummings, 1977.

Цитированная

1. Browder L. Developmental Biology, pp. 322–351, Philadelphia, Saunders, 1980.
Gerhart J. C. Mechanisms regulating pattern formation in the amphibian egg and early embryo. In: Biological Regulation and Development (R. F. Goldberger, ed.), Vol. 2, pp. 133–316, New York, Plenum, 1980.
Hara K., Tydeman P., Kirschner M. A cytoplasmic clock with the same period as the division cycle in *Xenopus* eggs, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 462–466, 1980.
2. Gerhart J., Ubbels G., Black S., Hara K., Kirschner M. A reinvestigation of the role of the grey crescent in axis formation in *Xenopus laevis*, Nature, 292, 511–516, 1981.
Maller J., Poccia D., Nishioka D., Kidd P., Gerhart P., Hartman H. Spindle formation and cleavage in *Xenopus* eggs injected with centriole-containing fractions from sperm, Exp. Cell Res., 99, 285–294, 1976.
3. Furshpan E. J., Potter D. D. Low-resistance junctions between cells in embryos and tissue culture, Curr. Top. Dev. Biol., 3, 95–128, 1968.
Slack C., Warner A. E. Intracellular and intercellular potentials in the early amphibian embryo, J. Physiol., 232, 313–330, 1973.
Kalt M. R. The relationship between cleavage and blastocoel formation in *Xenopus laevis*. II. Electron microscopic observations. J. Embryol. Exper. Morphol., 26, 51–66, 1971.
4. Karp G., Berril N. J. Development, 2nd ed., pp. 322–431, New York, McGraw-Hill, 1981.
Browder L. Developmental Biology, pp. 452–506, Philadelphia, Saunders, 1980.
5. Gustafson T., Wolpert L. Cellular movement and contact in sea urchin morphogenesis, Biol. Rev., 42, 422–498, 1967.
6. Trinkaus J. P. Cells into Organs: The Forces That Shape Embryo. Englewood Cliffs, N. J., Prentice-Hall, 1969. [Имеется перевод: Тринкаус Дж. П. От клеток к органам. – М.: Мир, 1972.]
7. Keller R. E. An experimental analysis of the role of bottle cells and the deep marginal zone in the gastrulation of *Xenopus laevis*, J. Exp. Zool., 216, 81–101, 1981.
8. Spemann H. Embryonic Development and Induction, New Haven, Yale University Press, 1938. (Reprinted, New York, Hafner, 1962).
9. Kirchin I. C. The effects of notochordectomy in *Amblystoma mexicanum*, J. Exp. Zool., 112, 393–411, 1949.
10. Burnside B. Microtubules and microfilaments in amphibian neurulation, Am. Zool., 13, 989–1006, 1973.
Karfunkel P. The mechanisms of neural tube formation, Int. Rev. Cytol., 38, 245–271, 1974.
11. Blackshaw S. E., Warner A. E. Low resistance junctions between mesoderm cells during development of trunk muscles, J. Physiol., 255, 209–230, 1976.
Pearson M., Elsdale T. Somitogenesis in amphibian embryos. I. Experimental evidence for an interaction between two temporal factors in the specification of somite pattern, J. Embryol. Exp. Morphol., 51, 27–50, 1979.
12. Austin C. R., Short R. V., eds. Reproduction in Mammals, Book 2, Embryonic and Fetal Development. Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1972.
Johnson M. H., ed. Development in Mammals, 3 vols. Amsterdam, Elsevier, 1977.
13. Langman J. Medical Embryology, 4th ed. Baltimore, Williams and Wilkins, 1981.
Ruth R. The Mouse: Its Reproduction and Development, Minneapolis, Burgess, 1968.
14. Tarkowski A. K. Experiments on the development of isolated blastomeres of mouse eggs, Nature, 184, 1286–1287, 1959.
McLaren A. Mammalian Chimaeras, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1976. [Имеется перевод: Мак-Ларен Э. Химеры млекопитающих. – М.: Мир, 1979.]
Kelly S. J. Studies of the developmental potential of 4- and 8-cell stage mouse blastomeres, J. Exp. Zool., 200, 365–376, 1977.
15. Hillman N., Sherman M. I., Graham C. The effect of spatial arrangement on cell determination during mouse development, J. Embryol. Exp. Morphol., 28, 263–278, 1972.
16. McLaren A. Mammalian Chimaeras, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1976. [Имеется перевод: Мак-Ларен Э. Химеры млекопитающих. – М.: Мир, 1979.]
Gardner R. L. The relationship between cell lineage and differentiation in the early mouse embryo. In: Genetic Mosaics and Cell Differentiation (W. J. Gehring, ed.), pp. 205–241. New York, Springer-Verlag, 1978.
Nesbitt M. N., Gartler S. M., The applications of genetic mosaicism to developmental problems, Annu. Rev. Genet., 5, 143–162, 1971.

17. Tarkowski A. K. Induced parthenogenesis in the mouse. In: The Developmental Biology of Reproduction (C. L. Markert, J. Papaconstantinou, eds.), Society for Developmental Biology Symposium, No. 33, pp. 107-129, New York, Academic Press, 1975.
Kaufman M. H., Barton S. C., Surani M. A. H. Normal postimplantation development of mouse parthenogenetic embryos to the forelimb bud stage, *Nature*, **265**, 53-55, 1977.
Ilmensee K., Stevens L. C. Teratomas and chimeras, *Sci. Am.*, **240** (4), 120-132, 1979.
Martin C. R. Teratocarcinomas and mammalian embryogenesis, *Science*, **209**, 768-776, 1980.
18. Mintz B., Ilmensee K. Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 3585, 3589, 1975.
Papaioannou V. E., Gardner R. L., McBurney M. V., Babinet C., Evans M. J. Participation of cultured teratocarcinoma cells in mouse embryogenesis, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **44**, 93-104, 1978.
19. Gurdon J. B. The Control of Gene Expression in Animal Development, Cambridge, Harvard University Press, 1974. [Имеется перевод: Гердон Дж. Регуляция генов в развитии животных. - М.: Мир, 1977.]
Gurdon J. B. Transplanted nuclei and cell differentiation, *Sci. Am.*, **219** (6), 24-35, 1968.
Browder L. Developmental Biology, pp. 34-57, Philadelphia, Saunders, 1980.
20. Weiss P. A. Principles of Development, pp. 289-437, New York, Holt, 1939.
21. Spemann H. Über die Determination der ersten Organanlagen des Amphibienembryo, I-IV, *Arch. Entw. Mech. Org.*, **43**, 448-555, 1918.
22. Schneiderman H. A. New ways to probe pattern formation and determination in insects. In: Insect Development (P. A. Lawrence, ed.), Royal Entomological Society of London Symposium, No. 8, pp. 3-34, Oxford, Eng., Blackwell, 1976.
23. Hadorn E. Transdetermination in cells, *Sci. Am.*, **219** (5), 110-123, 1968.
Gehring W., Nöthiger R. The imaginal discs of *Drosophila*. In: Developmental Systems: Insects (S. Counce, C. H. Waddington, eds.), Vol. 2, pp. 211-290, New York, Academic Press, 1973.
24. Gehring W. Clonal analysis of determination dynamics in cultures of imaginal discs in *Drosophila melanogaster*, *Dev. Biol.*, **16**, 438-457, 1967.
Kauffman S. A. Control circuits for determination and transdetermination, *Science*, **181**, 310-317, 1973.
25. Gehring W., Nöthiger R. The imaginal discs of *Drosophila*. In: Developmental Systems: Insects (S. Counce, C. H. Waddington, eds.), Vol. 2, pp. 211-290, New York, Academic Press, 1973.
Morata G., Lawrence P. A. Homoeotic genes, compartments and cell determination in *Drosophila*, *Nature*, **265**, 211-216, 1977.
Postlethwait J. H., Schneiderman H. A. Developmental genetics of *Drosophila* imaginal discs, *Annu. Rev. Genet.*, **7**, 381-433, 1973.
26. Lewis E. B. A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*, *Nature*, **276**, 565-570, 1978.
Struhl G. A gene product required for correct initiation of segmental determination in *Drosophila*, *Nature*, **293**, 36-41, 1981.
27. Nüsslein-Volhard C., Wieschaus E. Mutations affecting segment number and polarity of *Drosophila*, *Nature*, **287**, 795-801, 1980.
28. Stern C. Genetic Mosaics and Other Essays, Cambridge, Harvard University Press, 1968.
Nöthiger R. Clonal analysis in imaginal discs. In: Insect Development (P. A. Lawrence, ed.), Royal Entomological Society of London Symposium, No. 8, pp. 109-117, Oxford, Eng., Blackwell, 1976.
Gehring W. J. ed. Genetic Mosaics and Cell Differentiation, New York, Springer-Verlag, 1979.
29. Morata G., Lawrence P. A. Homoeotic genes, compartments and cell determination in *Drosophila*, *Nature*, **265**, 211-216, 1977.
Garcia-Bellido A., Lawrence P. A., Morata G. Compartments in animal development, *Sci. Am.*, **241** (1), 102-111, 1979.
Crick F. H. C., Lawrence P. A. Compartments and polyclones in insect development, *Science*, **189**, 340-347, 1975.
30. Simpson P., Morata G. Differential mitotic rates and patterns of growth in compartments in the *Drosophila* wing, *Dev. Biol.*, **85**, 299-308, 1981.
31. Kieny M., Mauger A., Sengel P. Early regionalisation of the somitic mesoderm as studied by the development of the axial skeleton of the chick embryo, *Dev. Biol.*, **28**, 142-161, 1972.
32. Wolpert L. Positional information and pattern formation, *Curr. Top. Dev. Biol.*, **6**, 183-224, 1971.

- Wolpert L. Pattern formation in biological development, *Sci. Am.*, 239(4), 154-164, 1978.
33. Browder L. *Developmental Biology* pp. 370-405, Philadelphia, Saunders, 1980.
 34. Illemensee K., Mahowald A. P. Transplantation of posterior polar plasma in *Drosophila*: Induction of germ cells at the anterior pole of the egg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 1016-1020, 1974.
 35. Lewis J., Slack J. M. W., Wolpert L. Threshold in development, *J. Theor. Biol.*, 65, 579-590, 1977.
 36. Saunders J. W., Jr., Gasseling M. T., Cairns J. M. The differentiation of prospective thigh mesoderm grafted beneath the apical ectodermal ridge of the wing bud in the chick embryo, *Dev. Biol.*, 1, 281-301, 1959.
 37. Lewis J. H., Wolpert L. The principle of non-equivalence in development, *J. Theor. Biol.*, 62, 479-490, 1976.
 38. Postlethwait J. H., Schneidman H. A. Pattern formation and determination in the antenna of the homeotic mutant *Antennapedia* of *Drosophila melanogaster*, *Dev. Biol.*, 25, 606-640, 1971.
 39. Crick F. Diffusion in embryogenesis, *Nature*, 225, 420-422, 1970.
 40. Ede D. S., Hinchliffe J. R., Balls M., eds. *Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis*, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1977.
 41. Saunders J. W., Jr., Gasseling M. T. Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb symmetry. In: *Epithelial-Mesenchymal Interactions* (R. Fleischmajer, R. E. Billingham, eds.), pp. 78-97, Baltimore, Williams & Wilkins, 1968.
 - Smith J. C. Evidence for a positional memory in the development of the chick wing bud, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 52, 105-113, 1979.
 42. Tickle C., Summerbell D., Wolpert L. Positional signalling and specification of digits in chick limb morphogenesis, *Nature*, 254, 199-203, 1975.
 - Tickle C. The number of polarizing region cells required to specify additional digits in the developing chick wing, *Nature*, 289, 295-298, 1981.
 - Tickle C., Alberts B., Wolpert L., Lee J. Local application of retinoic acid to the limb bud mimics the action of the polarizing region, *Nature*, 296, 564-566, 1982.
 43. Tickle C., Shellwell G., Crawley A., Wolpert L. Positional signalling by mouse limb polarizing region in the chick wing bud, *Nature*, 259, 396-397, 1976.
 - Fallon J. F., Crosby G. M. Polarizing zone activity in limb buds of amniotes. In: *Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis* (D. A. Ede, J. R. Hinchliffe, M. Balls, eds.), pp. 55-69, Cambridge Eng., Cambridge University Press, 1977.
 44. Saunders J. W. The proximo-distal sequence of origin of the parts of the chick wing and the role of the ectoderm, *J. Exp. Zool.*, 108, 363-403, 1948.
 45. Rubin L., Saunders J. W., Jr. Ectodermal-mesodermal interactions in the growth of limb buds in the chick embryo: constancy and temporal limits of the ectodermal induction, *Dev. Biol.*, 28, 94-112, 1972.
 46. Summerbell D., Lewis J. H., Wolpert L. Positional information in chick limb morphogenesis, *Nature*, 244, 492-496, 1973.
 - Lewis J. H. Fate maps and the pattern of cell division: a calculation for the chick wing-bud, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 33, 419-434, 1975.
 47. Kieny M. Proximo-distal pattern formation in avian limb development. In: *Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis* (D. A. Ede, J. R. Hinchliffe, M. Balls, eds.), pp. 87-104, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1977.
 - Symmerbell D. Regulation of deficiencies along the proximal distal axis of the chick wing bud: a quantitative analysis, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 41, 137-159, 1977.
 48. Wallace H. *Vertebrate Limb Regeneration*, New York, Wiley, 1981. Goss R. T. *Principles of Regeneration*, New York, Academic Press, 1968.
 - Butler E. G. Regeneration of the urodele forelimb after reversal of its proximo-distal axis, *J. Morphol.*, 96, 265-282, 1955.
 - Maden M. Vitamin A and pattern formation in the regenerating limb, *Nature*, 295, 672-675, 1982.
 49. Bohn H. Tissue interactions in the regenerating cockroach leg. In: *Insect development* (P. A. Lawrence, ed.), Royal Entomological Society of London Symposium No. 8, pp. 170-185, Oxford, Eng., Oxford University Press, 1976.
 - Bryant P. J., Bryant S. V., French V. Biological regeneration and pattern formation. *Sci. Am.*, 237(1), 66-81, 1977.
 - Bryant S. V., French V., Bryant P. J. Distal regeneration and symmetry, *Science*, 212, 993-1002, 1981.
 - Mittenthal J. E. Intercalary regeneration in epithelium-specific crayfish: distal segment, *Dev. Biol.*, 88, 1-14, 1981.
 50. Lewis J. Simpler rules for epimorphic regeneration: the polar-coordinate model without polar coordinates, *J. Theor. Biol.*, 88, 371-392, 1981.

51. Spemann H. Embryonic Development and Induction, pp. 260–296, New Haven, Yale University Press, 1938. (Reprinted, New York, Hafner, 1962).
- Jacobson A. G. Inductive processes in embryonic development, *Science*, **152**, 25–34, 1966.
52. Sengel P. Morphogenesis of Skin, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1975.
- Sengel P. Feather pattern development. In: Cell Patterning, Ciba Foundation Symposium 29 (new series), pp. 51–70, Amsterdam, Elsevier, 1975.
53. Wessells N. K. Tissue Interactions and Development, Menlo Park, Ca., Benjamin-Cummings, 1977.
- Sakakura T., Nishizuka Y., Dawe C. J. Mesenchyme-dependent morphogenesis and epithelium-specific cytodifferentiation in mouse mammary gland, *Science*, **194**, 1439–1441, 1976.
54. Kimble J. E. Strategies for control of pattern formation in *Caenorhabditis elegans*, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, **295**, 539–551, 1981.
55. Sulston J. E., Horvitz H. R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **56**, 110–156, 1977.
56. Laufer J. S., von Ehrenstein G. Nematode development after removal of egg cytoplasm: absence of localized unbound determinants, *Science*, **211**, 402–405, 1981.
- Laufer J., Bazzicalupo P., Wood W. B. Segregation of developmental potential in early embryos of *Caenorhabditis elegans*, *Cell*, **19**, 569–577, 1980.
57. Sulston J. E., White J. G. Regulation and cell autonomy during postembryonic development of *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **78**, 577–597, 1980.
- Kimble J. Alterations in cell lineage following laser ablation of cells in the somatic gonad of *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **87**, 286–300, 1981.
58. Kimble J. E., White J. G. On the control of germ cell development in *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **82**, 208–219, 1981.
59. Sulston J. E., Horvitz H. R. Abnormal cell lineages in mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*, *Dev. Biol.*, **82**, 41–55, 1981.
60. McLaren A. Mammalian Chimaeras, pp. 104–117, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1976. [Имеется перевод: Мак-Ларен Э. Химеры млекопитающих.—М.: Мир, 1979.]
- Townes P. L., Holtfreter J. Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells, *J. Exp. Zool.*, **128**, 53–120, 1955.
- Steinberg M. S. Does differential adhesion govern self-assembly processes in histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of a hierarchy among populations of embryonic cells, *J. Exp. Zool.*, **173**, 395–434, 1970.
61. Niivkoop P. D., Sutasurya L. A. Primordial Germ Cells in the Chordates, pp. 113–127, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1979.
- Ham R. G., Veomett M. J. Mechanisms of Development, pp. 573–579, St. Louis, Mosby, 1979.
- Heasman J., Hynes R. O., Swan A. P., Thomas V., Wylie C. C. Primordial germ cells of *Xenopus* embryos: neural role of fibronectin in their adhesion during migration, *Cell*, **27**, 437–447, 1981.
- Meyer D. B. The migration of primordial germ cells in the chick embryo, *Dev. Biol.*, **10**, 154–190, 1964.
- Saunders J. W., Jr. Death of embryonic systems, *Science*, **154**, 604–612, 1966.
62. Chevallier A., Kieny M., Mauger A. Limb-somite relationship: origin of the limb musculature, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **41**, 245–258, 1977.
- Christ B., Jacob H. J., Jacob M. Experimental analysis of the origin of the wing musculature in avian embryos, *Anat. Embryol.*, **150**, 171–186, 1977.
63. Le Douarin N. M. The ontogeny of the neural crest in avian embryo chimaeras, *Nature*, **286**, 663–669, 1980.
64. Noden D. M. Interactions directing migration and cytodifferentiation of avian neural crest cells. In: The Specificity of Embryological Interactions, Receptors and Recognition, Series B, Vol. 4 (D. Garrod, ed.), pp. 3–49, London, Chapman and Hall, 1978.
- Erickson C. A., Tosney K. W., Weston J. A. Analysis of migratory behavior of neural crest and fibroblastic cells in the chick, *Dev. Biol.*, **77**, 142–156, 1980.
- Tosney K. W. The segregation and early migration of cranial neural crest cells in the avian embryo, *Dev. Biol.*, **89**, 13–24, 1982.
- Greenberg J. H., Seppä S., Seppä H., Hewitt A. T. Role of collagen and fibronectin in neural crest cell adhesion and migration, *Dev. Biol.*, **87**, 259–266, 1981.
65. Patterson P. H. Environmental determination of autonomic neurotransmitter functions, *Annu. Rev. Neurosci.*, **1**, 1–17, 1978.
- Patterson P. H., Potter D. D., Farshpan E. J. The chemical differentiation of nerve cells, *Sci. Am.*, **239**(1), 50–59, 1978.

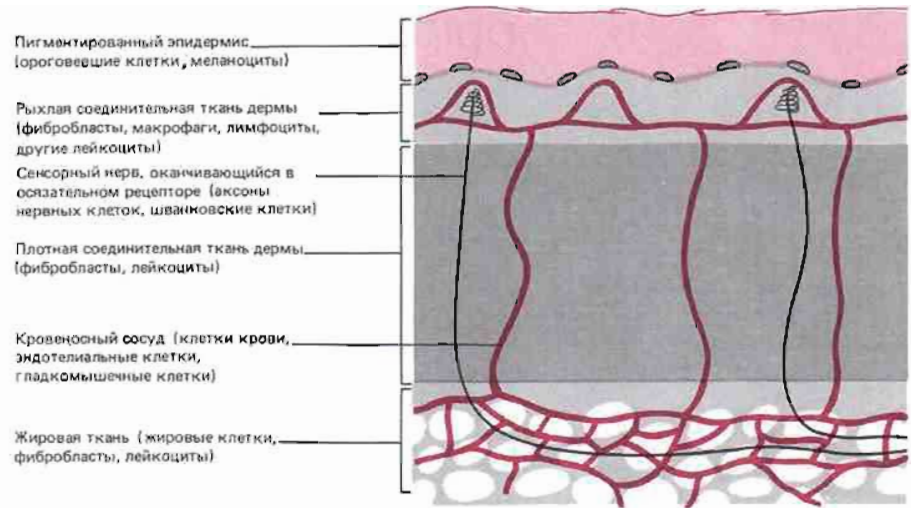
За несколько дней или недель из одной оплодотворенной яйцеклетки развивается сложный многоклеточный организм, состоящий из дифференцированных клеток, взаимное расположение которых строго детерминировано. Как правило, эта организация создается сначала в малом масштабе, а потом происходит рост. Во время эмбрионального развития детерминируются различные типы клеток, каждый в соответствующем месте. В последующем периоде роста клетки размножаются, но, за некоторыми исключениями, их специализация остается более или менее постоянной. Организм может расти в течение всей жизни, как у большинства ракообразных и рыб, а может прекратить рост, достигнув определенных размеров, как у птиц и млекопитающих. У некоторых животных с фиксированными размерами тела, например у мух и нематод, пролиферация соматических клеток прекращается, как только будет достигнуто взрослое состояние. Во многих других случаях, в частности у высших позвоночных, клетки продолжают делиться и во взрослом организме для замещения отмирающих клеток.

Когда у позвоночных клетки таких тканей, как кожа, кровь или легкие, изнашиваются и гибнут, их место занимают новые клетки соответствующего типа. Таким образом, взрослый организм можно уподобить стабильной экосистеме, в которой одно поколение особей сменяется другим, но в целом организация системы остается неизменной. Эта глава посвящена проблемам сохранения и обновления тканей у высших позвоночных – в ней мы в какой-то мере познакомимся с поразительным разнообразием структур, функций и жизненных циклов специализированных клеток у этих животных.

16.1. Поддержание дифференцированного состояния [1]

Хотя ткани организма во многих отношениях сильно различаются между собой, всем им нужны определенные элементарные условия. Прежде всего они нуждаются в механической опоре, которую очень часто обеспечивает внеклеточный матрикс. Такого рода соединительнотканная опорная структура имеется, например, в мышцах, железах, костном мозге и под эпителиями, например под эпидермисом кожи (рис. 16-1). Эту структуру создают главным образом фибробласты, находящиеся в матриксе. Кроме того, почти все ткани нуждаются в кровоснабжении, для того чтобы получать питательные вещества и освобождаться от шлаков, поэтому они пронизаны кровеносными сосудами, которые выстланы *эндотелиальными клетками*. Точно так же большинство тканей иннервировано, т.е. содержит аксоны *нервных клеток (нейронов)*, одетые оболочкой из *шванновских клеток*. В тканях часто присутствуют *макрофаги*, которые могут быть нужны для ликвидации остатков отмерших клеток и удаления излишнего матрикса, а также *лимфоциты* и другие лейкоциты, призванные бороться с инфекцией. Иногда в ткани могут находиться *меланоциты*, обеспечивающие пигментацию. Большая часть этих различных клеток, играющих подсобную роль по отношению к функции данной ткани, образуется вне этой ткани и проникает в нее в процессе ее развития

Рис. 16-1. Схема строения кожи. Указаны некоторые виды клеток, имеющиеся в этой ткани.



(эндотелиальные клетки, нейроны, шванновские клетки и меланоциты) или на протяжении всей жизни (макрофаги и лейкоциты). Среди всех этих элементов обслуживающего аппарата располагаются главные специализированные клетки данной ткани, например в мышце — сократимые, в железе — секреторные, в костном мозге — кроветворные.

Таким образом, почти каждая ткань — это сложная смесь клеток многих типов, которые, находясь в одних и тех же условиях, тем не менее сохраняют свои различия. Это возможно в основном благодаря *клеточной памяти* (разд 15.4.2), позволяющей дифференцированным клеткам автономно поддерживать присущий им характер специализации и передавать его дочерним клеткам. Эксперименты, проведенные на тканевых культурах, непосредственно демонстрируют важнейшее свойство таких клеток: лишенные своего обычного окружения, эти клетки и их потомки продолжают следовать заложенным в них изначальным инструкциям.

16.1.1. Дифференцированные клетки обычно сохраняют свои специфические признаки даже в условиях изоляции. Пример: пигментный эпителий сетчатки [2]

Дифференцированный статус клетки наследуется. Это можно четко показать, например, в экспериментах с культурами эпителиальных клеток, образующих пигментный слой сетчатки (рис. 16-2). Поскольку специализация этих клеток проявляется в выработке ими темно-коричневых гранул меланина, следить за состоянием их дифференцировки нетрудно. Клетки пигментного эпителия можно выделить из сетчатки куриного эмбриона и выращивать в культуре, где они размножаются и образуют клоны. Одиночные клетки, взятые из этих клонов, неизменно дают субклоны, состоящие из подобных же клеток пигментного эпителия. Таким способом дифференцированное состояние можно поддерживать более чем в 50 клеточных поколениях.

Однако поведение клеток в какой-то мере зависит и от окружающих условий. Поэтому исследователям приходится тщательно подбирать состав культуральной среды, в которой пигментные клетки могут выживать. В некоторых средах или при слишком высокой плотности культуры клетки выживают, но не синтезируют или почти не синтезируют пигмента. Но даже лишенные возможности проявить свою специализацию, эти клетки остаются *детерминированными* как пигментные: оказавшись снова в более подходящих условиях, они вновь начинают вырабатывать пигмент. Никакие изменения

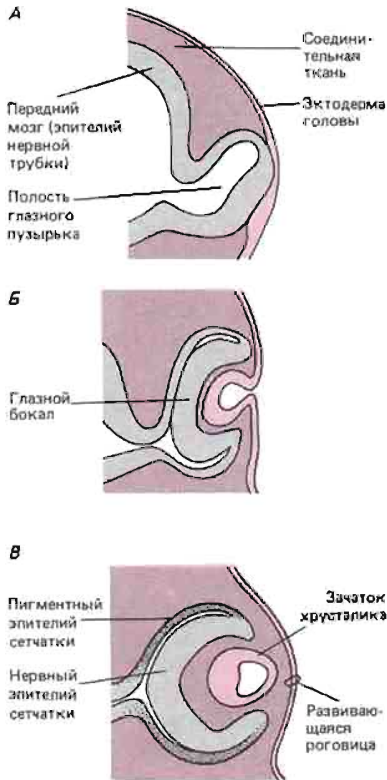


Рис. 16-2. Развитие глаза у позвоночного. А. Сетчатка глаза развивается из глазного пузырька – эпителиального выпячивания переднего мозга. Б. Этот эпителий контактирует с эктодермой, покрывающей голову снаружи, и индуцирует ее инвагинацию с последующим образованием хрусталика. В. Одновременно стенка глазного пузырька, обращенная к эпидермису, вдавливается кзади, и пузырек приобретает форму бокала. Ближайший к хрусталику слой глазного бокала дифференцируется в нервный слой сетчатки, включающий собственно фоторецепторы и нейроны, которые передают сенсорные импульсы в мозг (см. рис. 16-8). Другой слой дифференцируется в пигментный эпителий сетчатки. Его клетки, плотно заполненные гранулами меланина, образуют для фоторецепторной системы затемненное укрытие, которое уменьшает количество рассеянного света, подобно черной окраске внутренности фотоаппарата. Кроме того, пигментные клетки связаны друг с другом плотными контактами и помогают изолировать нервный слой сетчатки от жидкости, пропитывающей соединительную ткань вокруг глазного яблока.

культуральной среды и условий роста не могут изменить дифференцированный статус этих клеток – превратить их, например, в клетки крови, печени или сердца.

16.1.2. Внеклеточный матрикс, секретируемый клеткой, помогает поддерживать ее дифференцированное состояние [3]

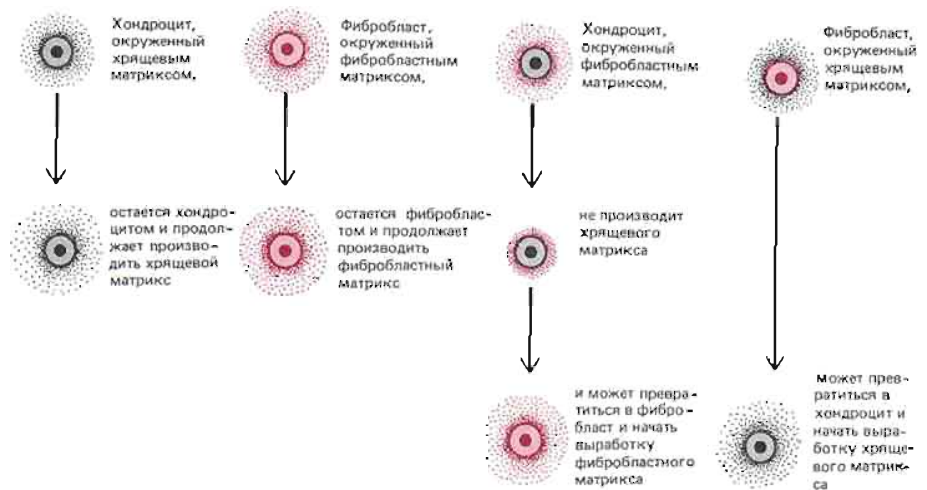
Эксперименты, аналогичные проведенным с пигментным эпителием сетчатки, проводились и с клетками других типов, и у некоторых из этих клеток репертуар поведения в культуре оказался более разнообразным. Особенно интересны хрящевые клетки и их взаимодействия с окружающим внеклеточным матриксом.

В ранних исследованиях обнаружилось большое сходство с пигментным эпителием сетчатки. Дифференцированные хрящевые клетки – хондроциты – растут в подходящей культуральной среде, образуя клоны дифференцированных хондроцитов, которые легко распознать, так как они синтезируют большие количества очень характерного хрящевого матрикса. Хрящевой фенотип сохраняется и при многократном субклонировании клеток, если они растут в благоприятных условиях. Даже клетки, выращиваемые в течение многих поколений на не вполне подходящей среде, на которой они не могут синтезировать хрящевой матрикс, вновь обретают эту способность к синтезу, если их поместить в благоприятную для этого («пермиссивную») среду.

Однако если культура ведется при низкой плотности клеток в другой, не совсем стандартной среде на протяжении нескольких недель, в ней неуклонно возрастает доля клеток, подвергающихся фундаментальному изменению: вместо коллагена типа II, характерного для хряща, они начинают синтезировать коллаген типа I, характерный для фибробластов. Эти два типа коллагена (их можно различить с помощью флуоресцентных антител) являются продуктами разных генов. По-видимому, в таком опыте часть хондроцитов превращается в фибробласты. За один месяц почти все клетки, растущие в культуре с низкой плотностью, переключаются на синтез коллагена I. Это переключение, видимо, происходит внезапно, так как лишь в очень немногих клетках можно наблюдать одновременный синтез обоих коллагенов.

Механизм, управляющий переключением, точно не известен. Некоторые данные наводят на мысль, что он может быть связан с формой клетки. Если клетки выращивать на субстратах с различными адгезионными свойствами («липкостью»), развитие того или иного фенотипа будет зависеть от степени расплывания клеток на субстрате. Судя по другим данным, на переключе-

Рис. 16-3. Предполагаемое влияние внеклеточного матрикса на дифференцировку фибробластов и хондроцитов. Данные о возможности превращения фибробластов в хондроциты были получены при исследовании роста хряща *in vivo*; оказалось, что в этом процессе используются клетки перихондрия, напоминающие фибробласты (см. разд. 16.7.1).



ние могут влиять макромолекулы внеклеточного матрикса, секретируемые хондроцитами и фибробластами. Хондроциты растут в виде клонов, образуя отдельные колонии на поверхности культуральной чашки. В центре колонии хондроциты стремятся окружить себя хрящевым матриксом, а на периферии этого вещества меньше. Периферическим клеткам свойственно более раннее переключение на синтез коллагена типа I, а центральным – более позднее. Поэтому было высказано предположение, что матрикс, образуемый хондроцитами, помогает поддерживать фенотип хондроцита.

По-видимому, в пользу этой гипотезы говорят и другие данные. Если в культуру хондроцитов добавить протеогликаны, характерные для хрящевого матрикса, в хондроцитах усиливается синтез матрикса этого типа. Можно думать, что внеклеточный материал действует как звено положительной обратной связи, благодаря которой синтез хрящевого матрикса становится самоподдерживающимся процессом. Гиалуроновая кислота тоже влияет на дифференцировку хондроцитов, но противоположным образом. Фибробласты секретируют большое количество гиалуроновой кислоты, а хондроциты – сравнительно малое. Свободная гиалуроновая кислота, добавленная в культуру хондроцитов, сильно подавляет синтез хрящевого матрикса.

В нормальных условиях у взрослого животного хондроциты и фибробласты, по-видимому, представляют собой стабильно дифференцированные клетки разного типа. Описанные выше опыты позволяют предположить, что внеклеточный материал, секретируемый клетками, воздействуют на сами клетки и тем самым помогает им сохранять специфический дифференцированный статус (рис. 16-3).

16.1.3. Межклеточные взаимодействия могут изменять состояние дифференцировки клеток [4]

Поскольку внеклеточный материал влияет на дифференцировку, на нее должны влиять и окружающие клетки, секретирующие этот материал. Между хондроцитами, видимо, существует кооперативное взаимодействие, т.е. они побуждают друг друга к синтезу хрящевого матрикса; фибробласты же действуют как антагонисты, подавляя дифференцировку хондроцитов. Поэтому нельзя считать, что дифференцированное состояние клетки поддерживается полностью автономно.

Таким образом, даже во взрослом организме клетка может измениться при изменении окружающих условий. Однако эти перемены свойств редко бывают очень значительными. Большинство из них можно считать модуляциями дифференцированного статуса, т.е. обратимыми взаимопревращениями

сходных клеточных фенотипов. Эти модуляции могут зависеть от близких взаимодействий, вроде тех, которые определяют поведение клеток в процессе развития эмбриона, или же от других сигналов, таких как гормоны, выделяемые в кровоток. Например, печеночные клетки снижают или повышают синтез определенных ферментов (путем изменения уровня соответствующих мРНК) в зависимости от концентрации стероидного гормона гидрокортизона. Но коренные преобразования клеток – скажем, превращение печеночной клетки в нервную – вообще невозможны.

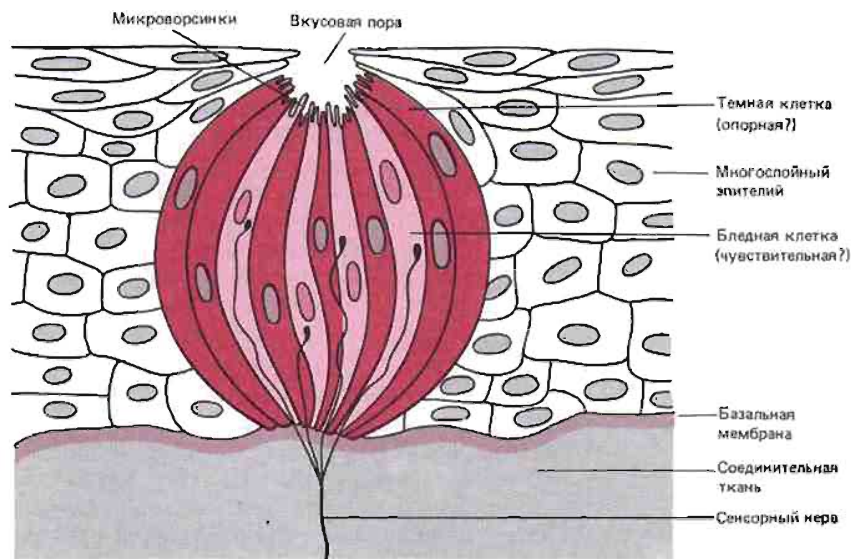
Модуляцию под влиянием соседних клеток можно проиллюстрировать на примере кожи. У эмбриона развитие *эпидермиса* (эктодермы) регулируется лежащей под ним эмбриональной *дермой* (разд. 15.7.2). Но, может быть, это взаимодействие – переходящее, чисто эмбриональное явление, которое оставляет лишь след в памяти клеток взрослого организма? Или же оно продолжается в течение всей жизни? Чтобы ответить на этот вопрос, нужно провести со зрелыми тканями опыты, подобные тем, которые проводились на эмбрионах. Например, можно объединить эпидермальный слой кожи с одного участка тела, скажем с уха, и дермальный слой другого участка, такого как подошва ноги, где кожа заметно отличается по своему строению. Оказывается, и здесь, так же как у эмбриона, дерма определяет поведение эпидермальных клеток: при контакте с дермой стопы эпидермис, взятый с уха, становится толстым и грубым, как эпидермис подошвы. Таким образом, местная специализация эпидермиса регулируется с помощью локальных сигналов, идущих от дермы, и эта связь постоянно действует во взрослом организме.

Следует подчеркнуть, что такие модуляции дифференцированного состояния имеют ограниченное значение: сохранение свойств эпидермиса не полностью зависит от сигналов окружения. Например, эпидермис языка, смещенный при пересадке с дермой уха, сохраняет свойства эпидермиса языка. Кроме того, хотя с переменой места эпидермальные клетки могут изменять свою специализацию, они остаются эпидермальными даже в совершенно чужеродном окружении. Когда суспензию эпидермальных клеток, приготовленную из хвоста крысы, инъецируют под капсулу почки той же крысы, клетки растут там и образуют эпидермальные пузырьки с волосатыми фолликулами и сальными железами, так же как на поверхности тела.

16.1.4. Некоторые структуры поддерживаются благодаря постоянному взаимодействию их частей. Пример: вкусовые почки и их нервы [5]

Вкусовые почки служат одним из наиболее выразительных примеров состояния дифференцировки, зависящего от постоянного взаимодействия между клетками. Эти крохотные структуры, с помощью которых мы ощущаем сладкое, кислое, соленое и горькое, образуются главным образом в эпителии верхней стороны языка. Каждая почка состоит приблизительно из 50 клеток, которые по форме легко отличить от окружающих эпителиальных клеток (рис. 16-4). Удлиненные клетки вкусовой почки, расположенные наподобие дощечек в бочонке, проходят через всю толщу эпителия, образуя маленькое отверстие (вкусовую пору), выходящее наружу. Как полагают, именно через эту пору должны проникать внутрь молекулы вещества, вызывающего вкусовое ощущение. Во вкусовой почке можно различить клетки двух типов – бледные и темные. Эти клетки неизвестным пока образом действуют как вкусовые рецепторы. Сенсорные импульсы передаются в мозг по нервным волокнам, пронизывающим вкусовую почку и оканчивающимся на ее клетках. Если нерв перерезать, вкусовые почки полностью исчезают. Регенерация нервных волокон приводит к тому, что дифференцированное состояние эпителиальных клеток изменяется и из них формируются новые вкусовые почки. Можно индуцировать образование вкусовых почек даже на таком участке эпителия, где их

Рис. 16-4. Схематическое изображение вкусовой почки.



в норме не бывает, например на нижней поверхности языка. Для этого данный участок эпителия нужно выращивать *in vitro* вместе с соответствующим сенсорным ганглием, который будет его иннервировать.

16.1.5. Факторы, влияющие на метилирование ДНК, могут вызывать радикальные изменения в дифференцировке [6]

Известны и другие примеры глубоких изменений дифференцированного состояния. Например, если у взрослого тритона удалить хрусталик глаза, то некоторая часть клеток пигментного эпителия радужки изменяет свои свойства и превращается в хрусталик. Такого рода изменение называют *передифференцировкой* или *метаплазией*. Однако подобные случаи являются исключением. Обычно нормальные клетки не переходят из одного полностью дифференцированного состояния в другое, резко отличающееся от него, хотя у опухолевых клеток такие переходы иногда наблюдаются.

Поразительная устойчивость дифференцированного состояния большинства клеток не казалась бы столь загадочной, если бы такие клетки действительно утрачивали гены, не подлежащие экспрессии. Но, как уже говорилось выше, это не так: большая часть дифференцированных клеток сохраняет полный геном. Мы смогли бы лучше понять механизм, в норме препятствующий метаплазии, если бы удалось найти какое-то необычное воздействие, которое приводило бы к изменению дифференцированного состояния. Уже известно несколько таких воздействий, эффективных в отношении клеток определенного типа.

В частности, ряд проведенных недавно экспериментов с клеточными культурами показывает, что метаплазию могут вызывать вещества, препятствующие метилированию ДНК. Эти данные подкрепляют мысль о роли метилирования ДНК в поддержании стабильного (активного или репрессированного) состояния определенных генов (предполагаемый механизм обсуждается в разд. 8.5.6). Для простой проверки этой гипотезы нужно в эксперименте изменить состояние метилирования ДНК и затем искать какие-либо изменения в дифференцировке клеток. Клетки выращивают в течение одного или нескольких митотических циклов в присутствии 5-азацитина — синтетического аналога цитидина, который включается в ДНК вместо некоторых цитидиновых остатков. 5-азацитин не только не способен метилироваться сам, но и действует как мощный ингибитор метилирующего фермента. Это нарушает цепочку событий, в результате которых специфическая картина метилирова-

ния ДНК каждого гена передается от одного клеточного поколения другому. Если в таких экспериментах использовать линии клеток типа фибробластов, то можно заставить их дифференцироваться в различные виды клеток, в том числе в клетки скелетной мускулатуры, которые в нормальных условиях никогда из них не образуются. Было показано, что обработка 5-азацитидином гибридных клеток, содержащих неактивную X-хромосому из клеток жей-шины, иногда приводит к реактивации и экспрессии некоторых генов этой хромосомы. Эти и другие данные указывают на важную роль метилирования ДНК в поддержании дифференцированного состояния.

Заключение

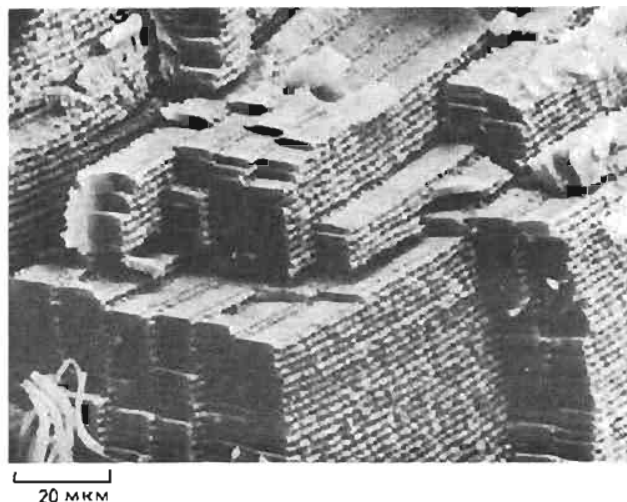
В период эмбрионального развития клетки организма необратимо дифференцируются. Например, клетки пигментного эпителия сетчатки при выращивании in vitro сохраняют свою специализацию на протяжении 50 поколений. Хотя дифференцированные состояния, как правило, устойчивы и необратимы, некоторые виды клеток подвержены в известных пределах изменениям. Установлено, например, что хондроциты могут превращаться в фибробласты. По-видимому, тип внеклеточного матрикса, синтезируемого этими клетками, определяется тем внеклеточным матриксом, который их окружает; поэтому в нормальных условиях выработка клетками хрящевого или фибробластного матрикса является самоподдерживающимся процессом. Небольшие обратимые изменения (модуляции) дифференцированного состояния возможны и в клетках многих других типов, и этот факт отражает важное значение постоянного межклеточного взаимодействия. Вкусовые почки служат ярким примером того, как состояние дифференцировки может зависеть от постоянного взаимодействия между клетками: специализированные клетки вкусовых почек полностью исчезают после перерезки нерва и вновь появляются при восстановлении иннервации. В ряде случаев можно искусственно вызывать глубокие изменения клеточной дифференцировки, воздействуя определенными веществами.

16.2. Ткани с перманентными клетками

Не все популяции дифференцированных клеток организма подвержены обновлению. Клетки некоторых типов, образовавшиеся в нужном количестве у эмбриона, сохраняются в течение всей взрослой жизни; они никогда не делятся и в случае их утраты не могут быть заменены. В этом смысле перманентными являются почти все разновидности нервных клеток. Сюда можно отнести и некоторые другие клетки, в том числе у млекопитающих – клетки сердечной мышцы и хрусталика.

Все эти клетки живут чрезвычайно долго и, естественно, находятся в таких местах, где они в норме защищены от повреждающих воздействий; однако в остальном они очень сильно различаются между собой. Нелегко найти какую-либо единую причину того, что эти клетки должны быть перманентными, тогда как множество других клеточных популяций подлежит обновлению. В случае сердечной мышцы вообще трудно представить себе смысл перманентности клеток. Что касается нейронов (которые будут подробно обсуждаться в гл. 18), то кажется понятным, почему интенсивное обновление этих клеток во взрослом организме нецелесообразно: было бы очень трудно в точности восстанавливать сложную систему нервных связей, созданную в период развития при совершенно иных условиях. Кроме того, следы памяти, записанные в виде небольших изменений структуры или связей определенных нейронов, вероятно, стиралась бы при замене прежних клеток новыми. С другой стороны, в хрусталике глаза перманентность клеток – это, по-видимому, простое и неизбежное следствие характера роста этой ткани.

Рис. 16-5. Волокна хрусталика взрослого человека (микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа). Волокна плотно упакованы и напоминают штабеля досок на лесоскладе. Каждое волокно — это одна омертвевшая удлиненная клетка. Длина отдельных волокон достигает 12 мм.
(R. G. Kessel, R. H. Kardon. *Tissues and Organs: A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy*, San Francisco, Freeman, 1979.)



16.2.1. Клетки, расположенные в центре хрусталика, образовались еще в эмбриональном периоде [7]

Очень немногое во взрослом организме состоит из тех самых молекул, которые были синтезированы у эмбриона. К тем редким структурам, в которых не происходит обновления клеток и даже их внутреннего содержимого, относится хрусталик глаза.

Хрусталик развивается из эктодермы в месте ее контакта с развивающимся глазным пузырем. Здесь эктодерма утолщается и образует впячивание, ко-

Рис. 16-6. Развитие хрусталика у человека (схематизировано).

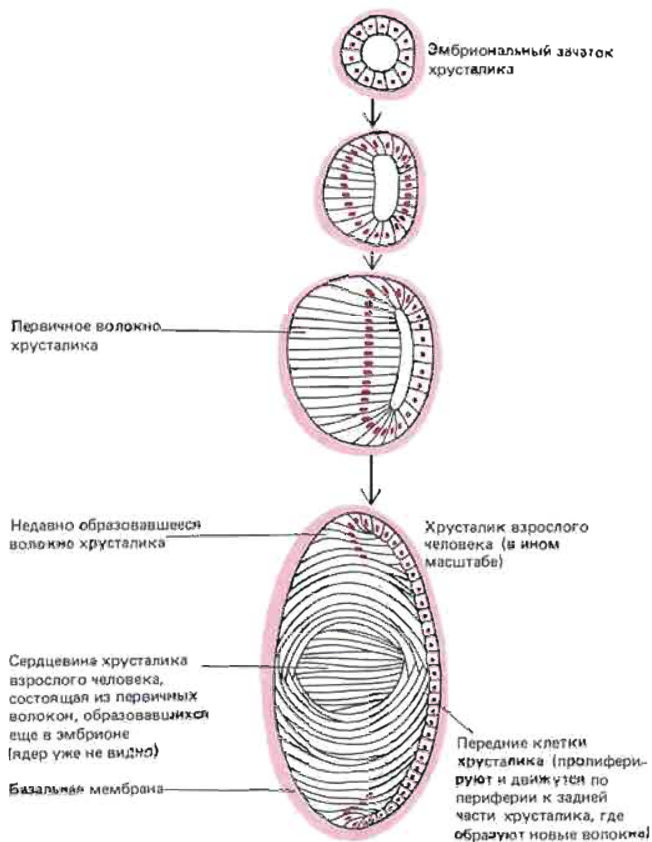
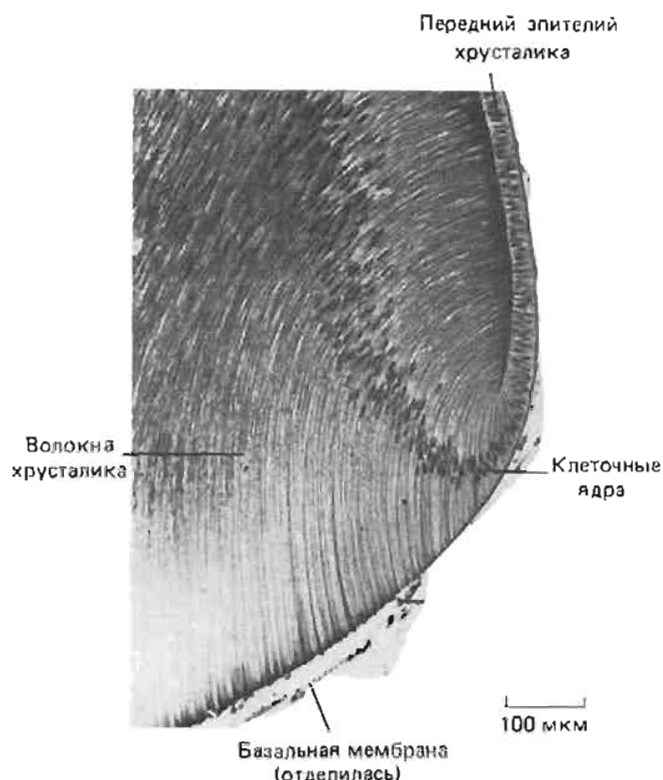


Рис. 16-7. Световая микрофотография краевого участка зрелого хрусталика. Показано соединение тонкого эпителия, покрывающего переднюю сторону хрусталика, с дифференцированными волокнами. Непрерывный рост переднего эпителия приводит к оттеснению все большего числа клеток назад через краевую зону; там они становятся волокнами. (С любезного разрешения Peter Gould.)



торое в конце концов отшнуровывается, становясь зачатком хрусталика (рис. 16-2). Таким образом, хрусталик закладывается в виде сферического хрусталикового пузырька из одного слоя эпителиальных клеток, окружающих центральную полость. Вскоре часть этого эпителия, расположенная сзади, т.е. обращенная к сетчатке, претерпевает резкое изменение. Ее клетки начинают синтезировать специфические белки хрусталика — кристаллины — и заполняются ими. При этом клетки необычайно удлинняются, дифференцируясь в волокна хрусталика. В конце концов их ядра распадаются и синтез белков прекращается. Таким путем часть эпителия хрусталикового пузырька, обращенная к сетчатке, развивается в плотное преломляющее тело, которое состоит из большого числа высоких призматических клеток, лишенных признаков жизни и уложенных стопками (рис. 16-5). Центральная полость пузырька исчезает (рис. 16-6), в то время как передняя часть эпителия пузырька, обращенная к внешнему миру, сохраняется в виде тонкого слоя низких кубических клеток (рис. 16-7). Рост хрусталика зависит от пролиферации этих клеток в передней части, откуда они выталкиваются к периферии хрусталика и на его заднюю поверхность. Во время этого передвижения они перестают делиться, начинают синтезировать кристаллины и дифференцируются в волокна хрусталика. Таким путем на протяжении всей жизни в хрусталике появляются дополнительные волокна, хотя скорость их образования постепенно снижается.

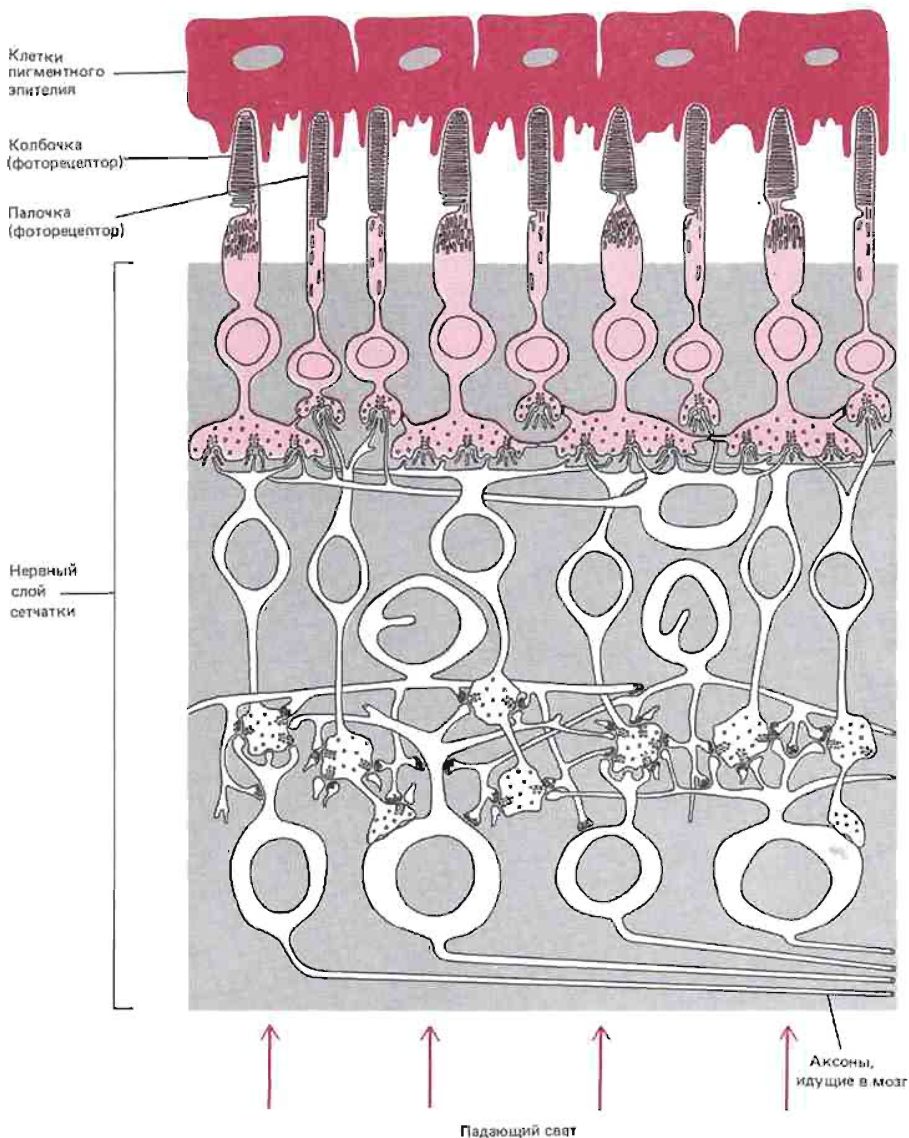
Кристаллины в волокнах хрусталика, образовавшихся в ранний период, отличаются от кристаллинов более поздних волокон, подобно тому как гемоглобины эритроцитов плода отличаются от гемоглобинов взрослого организма. Однако эритроциты заменяются новыми, а волокна хрусталика — нет. Поэтому в сердцевине хрусталика у взрослых находятся волокна, заложенные еще у эмбриона и содержащие кристаллины определенных типов, синтезированные в том раннем периоде. Различия в показателе преломления между ранними эмбриональными типами кристаллинов и более поздними типами помогают избежать хрусталик от оптических aberrаций, свойственных простым линзам, сделанным из однородного материала, например из стекла.

16.2.2. Большинство пермавентных клеток обновляет свои составные части. Пример: фоторецепторные клетки сетчатки [8]

Таких неизменяемых клеток, как волокна хрусталика, мало. Как правило, даже клетки, не делящиеся в течение всей жизни организма, обновляют свои компоненты. Клетки сердечной мышцы и нейроны, хотя они и не делятся, обладают способностью не только синтезировать новые РНК и белки, но и изменять свои размеры и структуру в течение жизни. Например, клетки сердечной мышцы становятся больше, если возрастает нагрузка на них, а у нервных клеток могут регенерировать перерезанные аксоны и дендриты (см. гл. 18).

Процесс обновления клеточных компонентов можно особенно ярко проиллюстрировать на примере высокоспециализированных нервных клеток, образующих фоторецепторы сетчатки. Нервная зона сетчатки состоит из нескольких клеточных слоев, расположенных, казалось бы, весьма странным образом: нейроны, передающие зрительные сигналы в мозг, лежат ближе все-

Рис. 16-8. Схема строения сетчатки. Пространство между нейронами и фоторецепторами в нервном слое сетчатки (на рисунке светлосерое) занято популяцией специализированных опорных клеток, которые здесь не показаны. [Из J. E. Dowling, B. B. Boycott. *Proc. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 80-111, 1966, с изменениями.]



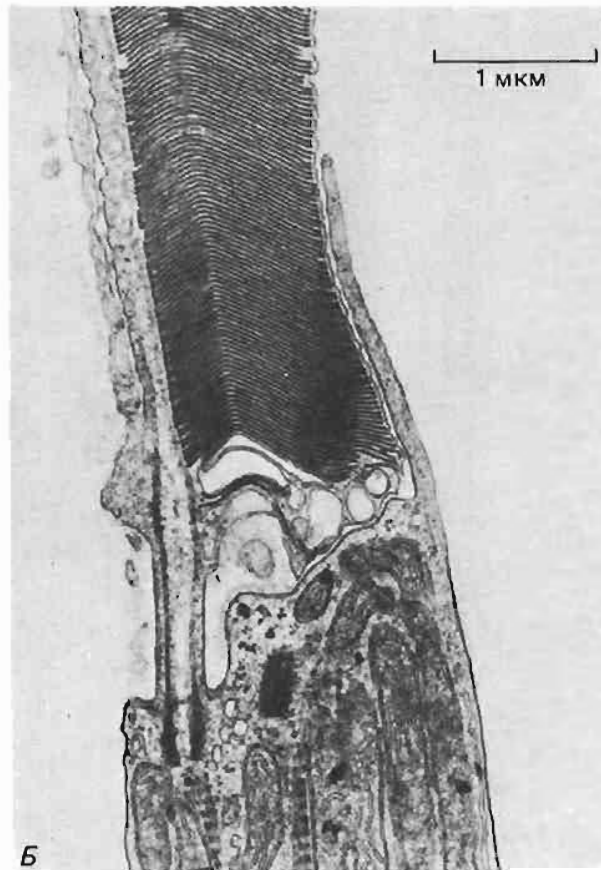
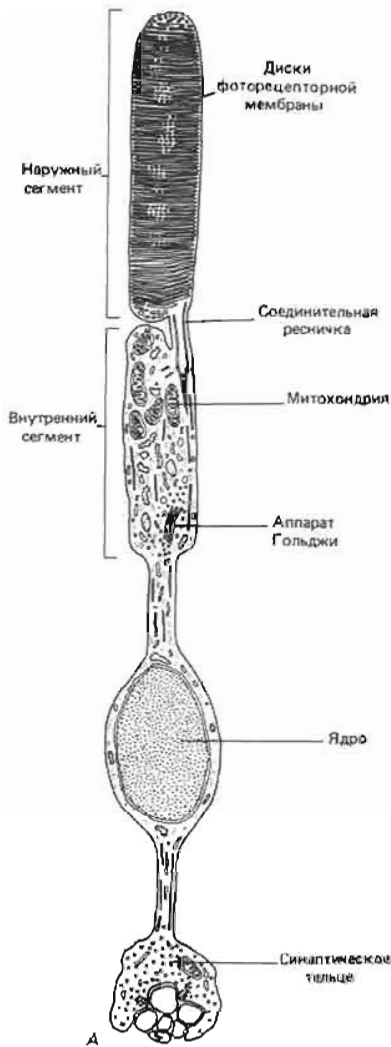
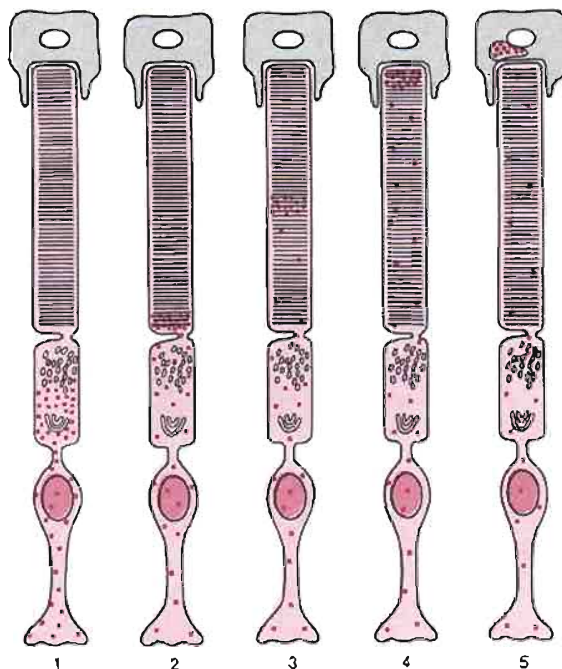


Рис. 16-9. А. Схематическое изображение палочки. В действительности число фоторецепторных дисков в наружном сегменте достигает примерно тысячи. (T.L. Lentz, Cell Fine Structure, Philadelphia, Saunders, 1971.) Б. Электронная микрофотография участка палочки. Можно видеть основание наружного сегмента и видоизмененную ресничку, которая связывает наружный сегмент с внутренним. (M.J. Hogan, J.A. Alvarado, J.E. Weddell. Histology of the Human Eye: An Atlas and Textbook, Philadelphia, Saunders, 1971.)

го к внешнему миру, так что свет, фокусируемый хрусталиком, должен пройти через них по пути к фоторецепторным клеткам (рис. 16-8). Последние лежат так, что концы их, воспринимающие свет, — *наружные сегменты* — частично погружены в пигментный эпителий. В соответствии со своей формой фоторецепторы делятся на *палочки* и *колбочки*. Они содержат различные светочувствительные комплексы белка со зрительным пигментом. Палочки особенно чувствительны при малой освещенности, тогда как колбочки, представленные тремя разновидностями — каждая для своего участка спектра, служат для восприятия цвета. Наружный сегмент фоторецептора каждого типа — это, по-видимому, видоизмененная ресничка: в нем мы находим характерное для ресничек расположение микротрубочек в участке, связывающем наружный сегмент с остальной клеткой (рис. 16-9). Основная же часть наружного сегмента почти целиком заполнена плотно уложенными мембранами, в которые погружены светочувствительные белки, связанные со зрительным пигментом. Противоположные концы фоторецепторных клеток образуют синаптические контакты со вставочными нейронами сетчатки.

Рис. 16-10. Обновление мембранного белка в палочке сетчатки. После кратковременного введения ^3H -лейцина с помощью радиоавтографии можно следить за перемещением его в клетке. Красные точки – места, где есть радиоактивность. Метод выявляет только лейцин, включившийся в полипептиды; не включившаяся метка отмывается во время приготовления препарата. Включенный лейцин сначала виден по соседству с аппаратом Гольджи (1); отсюда он переходит к основанию наружного сегмента и попадает внутрь только что синтезированного диска фоторецепторной мембраны (2). Новые диски образуются со скоростью 3–4 диска в час (у млекопитающих) и отгесняют более старые диски в сторону пигментного эпителия (3–5).



Фоторецепторы – это перманентные клетки, не способные делиться. Но молекулы светочувствительного белка не перманентны. Они все время обновляются, и это можно обнаружить по непрерывному включению в них радиоактивных аминокислот. В палочках (любопытно, что этого нет в колбочках) такое обновление идет как на конвейере. В опытах с кратковременным внесением радиоактивных аминокислот можно проследить, как через всю клетку продвигается эшелон меченых белковых молекул (рис. 16-10). После обычных этапов включения аминокислот в белок и упаковки продукта в аппарате Гольджи, происходящих во внутреннем сегменте клетки, радиоактивный материал появляется сначала у основания стопки мембран в наружном сегменте. Отсюда он постепенно перемещается к кончику сегмента, в то время как в основание стопки поступает новый материал. Наконец, после того как меченые белки вместе со слоями мембраны, в которую они погружены, дойдут до вершины стопки (у крысы приблизительно через 10 дней), они фагоцитируются и перевариваются клетками пигментного эпителия.

Дальнейшие сведения о фоторецепторах и их функции в нервной системе читатель найдет в главе 18.

Заключение

Нейроны, клетки сердечной мышцы и волокна хрусталика в течение всей жизни организма не делятся и не заменяются новыми. В зрелых волокнах хрусталика клеточные ядра уже дегенерировали и белковый синтез прекратился, так что во внутренней центральной области хрусталика находятся белки, синтезированные еще в раннем эмбриогенезе. Но в большинстве других перманентных клеток метаболическая активность продолжается и идет непрерывное обновление клеточных компонентов. Это четко показано на палочках сетчатки, где новые слои фоточувствительной мембраны синтезируются около ядра, непрерывно перемещаются к верхушке клетки и затем постепенно поглощаются и перевариваются клетками пигментного эпителия сетчатки.

16.3. Обновление путем простого удвоения [9]

У позвоночных большая часть дифференцированных клеток не перманентны – они все время обновляются. В течение жизни взрослого организма новые дифференцированные клетки создаются одним из двух способов: 1) при простом удвоении существующих дифференцированных клеток образуются две дочерние клетки того же типа; 2) новые клетки могут образовываться из недифференцированных *стволовых клеток*, и этот способ, как мы увидим дальше, связан с изменением клеточного фенотипа.

Скорость обновления варьирует от ткани к ткани. Время оборота клеток может измеряться сутками, как в эпителиальной выстилке тонкого кишечника (она обновляется за счет деления стволовых клеток), а может длиться год и более, как в поджелудочной железе (где происходит простое удвоение клеток). Во многих тканях, в нормальных условиях обновляющихся очень медленно, при необходимости возможна стимуляция более быстрого образования новых клеток. Обновление путем простого удвоения дифференцированных клеток мы рассмотрим на примере печени и эндотелиальных клеток, выстилающих кровеносные сосуды. В норме в обеих этих тканях клетки обновляются медленно, но повреждение их ведет к быстрому образованию новых клеток.

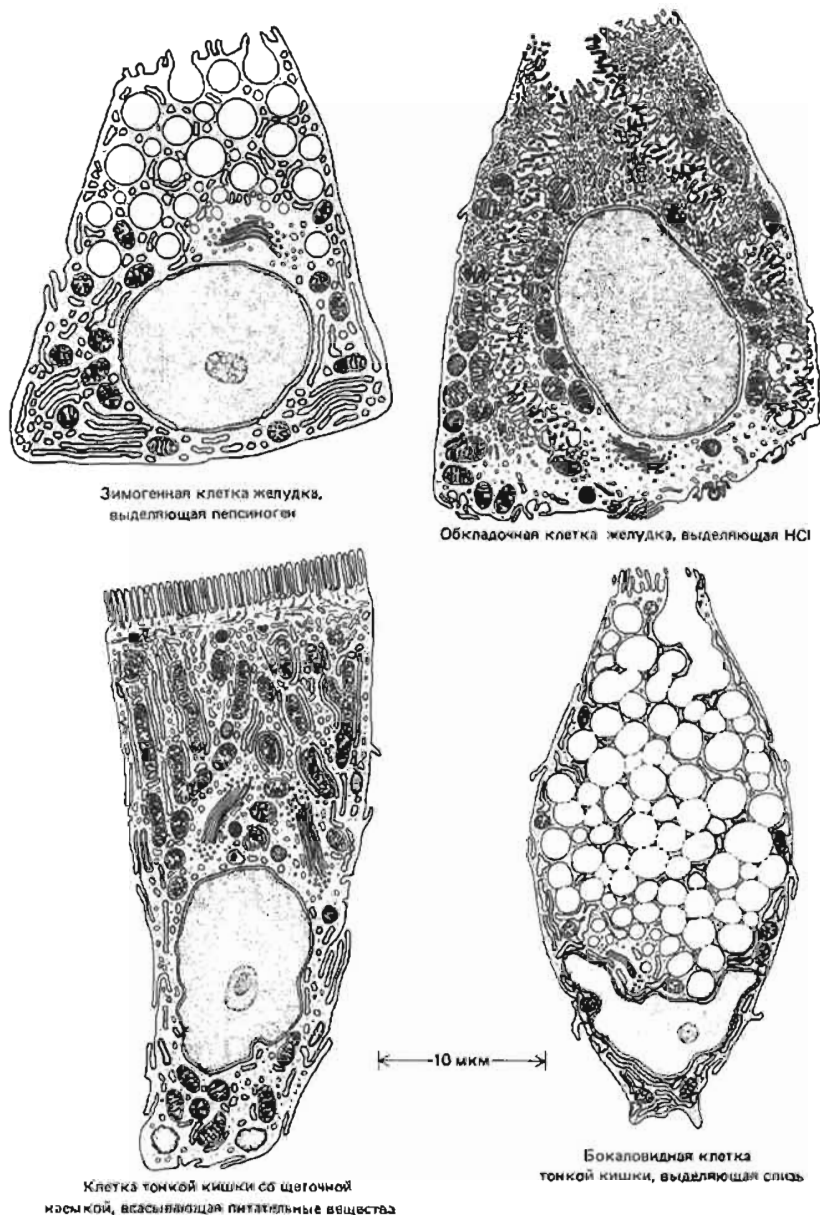
16.3.1. Печень – промежуточное звено между пищеварительным трактом и кровью [10]

Переваривание пищи – процесс сложный. Определенные клетки, выстилающие пищеварительный тракт, выделяют различные вещества, такие как соляная кислота и ферменты, расщепляющие компоненты пищи на более простые соединения. Другие клетки всасывают продукты переваривания из просвета кишечника и переносят их в кровь для использования другими клетками организма. Все эти процессы регулируются в соответствии с составом поступившей пищи и с концентрацией метаболитов в циркулирующей крови. Этот комплекс задач выполняется с помощью своего рода разделения труда (рис. 16-11): одни группы клеток секретируют HCl или ферменты, другие всасывают питательные вещества, третьи вырабатывают пептидные гормоны (например, гастрин), регулирующие пищеварительную и метаболическую активность, и т. д. Некоторые из этих клеток расположены в стенке кишечника вперемешку, другие собраны в крупные железы, которые соединены с кишечником и развиваются у эмбриона как выпячивания кишечного эпителия.

Печень – самая крупная железа, сообщающаяся с кишечником. У эмбриона она развивается в том месте, где одна из главных вен проходит рядом со стенкой первичной кишки. Этот орган и во взрослом состоянии сохраняет необычайно тесную связь с кровью. Печеночные клетки (*гепатоциты*), происходящие из эпителия первичной кишки, образуют складчатые слои (*трабекулы*), примыкающие к заполненным кровью пространствам – *синусоидам* (рис. 16-12). Кровь отделена от поверхности гепатоцитов одним слоем уплотненных эндотелиальных клеток, покрывающим каждую трабекулу (рис. 16-13). Такая структура облегчает выполнение важнейших функций печени, в основе которых лежит обмен метаболитами между печеночными клетками и кровью.

Печень – главный орган, в котором питательные вещества, всосавшиеся из кишечника, преобразуются для использования другими тканями организма. Гепатоциты ответственны за синтез, расщепление и хранение множества различных веществ. В то же время гепатоциты сохраняют связь с просветом кишечника через систему мельчайших канальцев и более крупных протоков (рис. 16-13). Через эти протоки гепатоциты выделяют в кишечник эмульгирующее вещество – *желчь*, которая облегчает всасывание жиров. Внутри популяции гепатоцитов (в отличие от остальных частей пищеварительного тракта), по-видимому, нет заметного «разделения труда»: все гепатоциты

Рис. 16-11. Некоторые виды специализированных клеток, встречающихся в эпителиальной выстилке желудочно-кишечного тракта. На срезах эпителия часто видны рядом клетки разного типа (см. рис. 16-20,Б). (T.L. Lentz, Cell Fine Structure, Philadelphia: Saunders, 1971.)



способны выполнять один и тот же широкий круг метаболических и секреторных функций.

По своему «образу жизни» гепатоциты тоже значительно отличаются от клеток, выстилающих просвет самого кишечника. Последние находятся в очень тяжелых условиях; они не могут жить долго, соприкасаясь с механически и химически агрессивным содержимым кишечника и должны быстро и непрерывно заменяться новыми клетками. Гепатоциты же избавлены от прямого контакта с содержимым кишки, и поэтому обычно нет необходимости в их быстрой замене. В нормальных условиях они обновляются с небольшой, но строго контролируемой скоростью.

Рис. 16-12. Микрофотография участка печени, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. Видны складчатые слои гепатоцитов (трабекулы) и множество узких каналов (синусоидов), по которым протекает кровь. Более широкие каналы – это сосуды, которые распределяют и собирают кровь, протекающую через синусоиды. (R. G. Kessel, R. H. Kardon. *Tissues and Organs: A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy*, San Francisco: Freeman, 1979.)

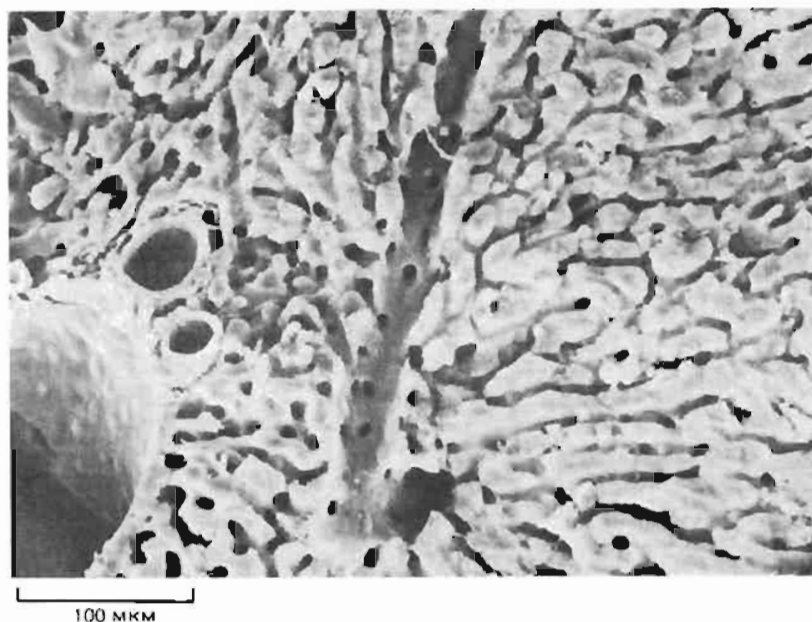
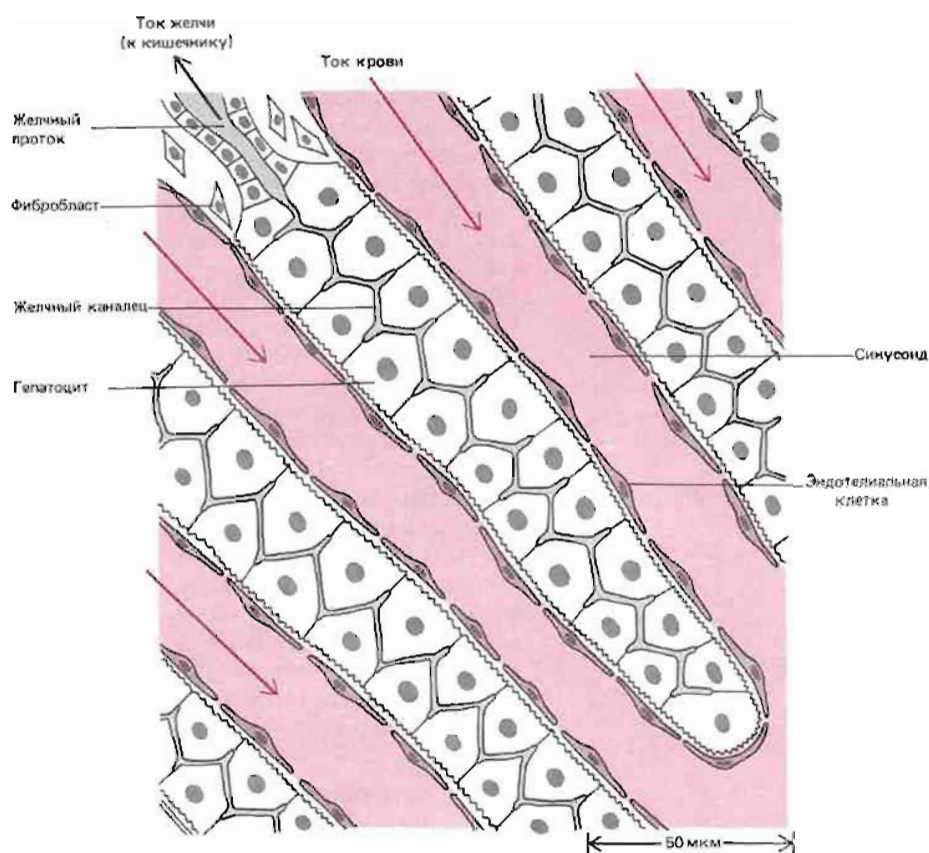


Рис. 16-13. Схематическое изображение тонкой структуры печени. Гепатоциты отделены от кровяного русла лишь одним тонким слоем эндотелиальных клеток. Небольшие отверстия в этом слое позволяют гепатоцитам обмениваться с кровью молекулами и мелкими частицами, но гепатоциты защищены при этом от прямого контакта с движущимися клетками крови. Помимо обмена веществами с кровью гепатоциты образуют систему очень узких желчных канальцев, в которые они секретируют желчь, выходящую далее через желчные протоки в кишечник. В действительности структура печени не так регулярна, как на этой схеме.



16.3.2. Утрата печеночных клеток стимулирует их пролиферацию [11]

Даже в медленно обновляющейся ткани небольшой, но постоянный дисбаланс между образованием и утратой клеток привел бы к катастрофическим последствиям. Если у человека каждую неделю будут делиться 2% печеночных клеток, а теряться будет только 1% клеток, то печень начнет расти и через 8 лет ее вес превысит вес всего остального тела. Должен существовать какой-то гомеостатический механизм, приводящий скорость размножения клеток в соответствие с массой ткани. Необходимость в подобном контроле особенно велика у такого органа, как печень, клетки которой могут время от времени разрушаться под действием ядов (например, алкоголя).

Существование гомеостатического контроля клеточной пролиферации в печени было четко продемонстрировано в опытах, в которых значительную часть гепатоцитов удаляли хирургическим путем или же вызывали их гибель, вводя животному четыреххлористый углерод. Примерно через сутки после такого повреждения в популяции оставшихся гепатоцитов возникает волна клеточных делений, и утраченная ткань очень быстро замещается. Например, если удалить у крысы две трети печени, то оставшаяся часть регенерирует до нормальных размеров приблизительно за неделю. В подобных случаях сигнал для регенерации печени можно обнаружить в крови: если у двух крыс хирургическим путем создать перекрестное кровообращение и у одной из них удалить две трети печени, то митотическая активность будет индуцирована и в неповрежденной печени второй крысы. Что это за фактор в крови и как он действует, пока неизвестно. Сходные явления регенерации наблюдаются в почках, имеющих, по-видимому, аналогичную систему управления ростом.

16.3.3. Регенерация может препятствовать некоординированный рост компонентов смешанной ткани [12]

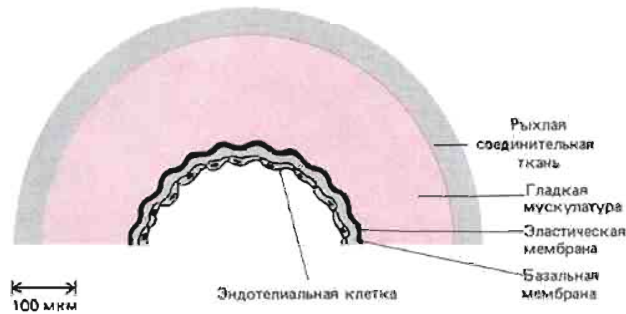
Подобно большинству тканей, печень – это смесь клеток различных типов. Кроме гепатоцитов и эндотелиальных клеток, выстилающих синусоиды, в печени имеются специализированные макрофаги (*купферовы клетки*), которые поглощают твердые частицы из кровотока и разрушают «изношенные» эритроциты; есть также небольшое число фибробластов, образующих рыхлый соединительнотканый остов (рис. 16-13). Клетки всех этих типов способны к делению. Для того чтобы произошла полноценная регенерация, их размножение должно быть соответствующим образом скоординировано. В ходе эмбрионального развития создается сбалансированная и хорошо организованная смесь клеток, а при регенерации во взрослом организме этого может не произойти. Например, если многократно повреждать печень четыреххлористым углеродом или алкоголем с такими короткими интервалами, что гепатоциты не будут успевать полностью восстанавливаться, преимущество могут получить фибробласты; в этом случае печень будет необратимо «забита» излишней соединительной тканью, и для роста гепатоцитов останется очень мало места, даже после устранения токсического агента. Такое состояние, называемое *циррозом*, часто встречается у хронических алкоголиков.

Аналогичным образом в мозгу могут размножаться глиальные клетки, образуя особого рода рубцовую ткань, блокирующую рост новых разветвленных аксонов после повреждения. Регенерация скелетных мышц тоже зачастую бывает серьезно затруднена из-за слишком быстрого роста соединительнотканного компонента, в результате чего на месте мышечных волокон появляется рубцовая ткань.

16.3.4. Эндотелиальные клетки – важнейший компонент всех кровеносных сосудов [13]

В отличие от приведенных выше примеров некоординированного роста фибробластов и глиальных клеток эндотелиальные клетки, выстилающие крове-

Рис. 16-14. Участок стенки малой артерии (схематический поперечный разрез). Эндотелиальные клетки, несмотря на их неприметность, являются главным компонентом стенки. Сравните со строением капилляра (рис. 16-16).



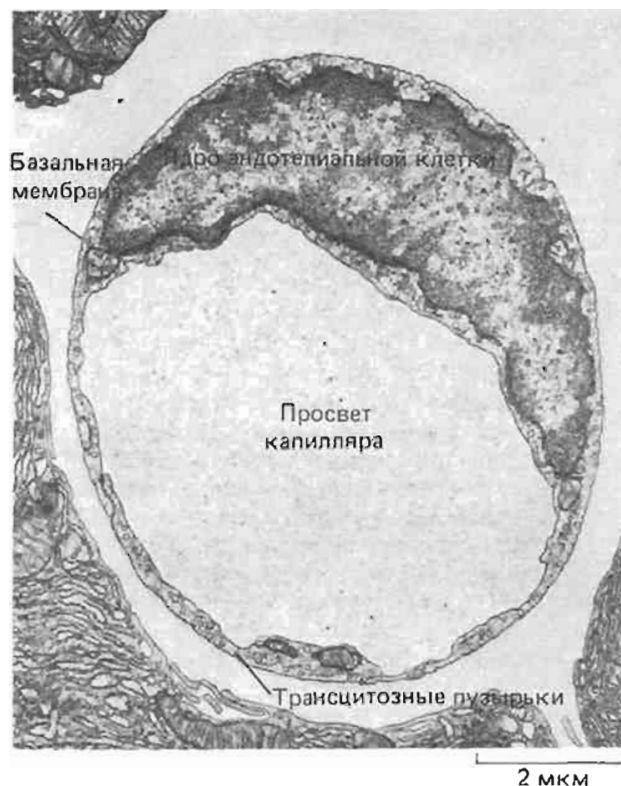
носные сосуды, обладают удивительной способностью изменять свою численность и расположение в соответствии с локальными требованиями. Почти все ткани нуждаются в кровоснабжении, а оно в свою очередь зависит от эндотелиальных клеток. Эти клетки создают способную к гибкой адаптации систему жизнеобеспечения с разветвлениями во всех областях тела. Если бы не эта способность эндотелиальных клеток расширять и восстанавливать сеть кровеносных сосудов, рост тканей и процессы заживления были бы невозможны.

Самые крупные кровеносные сосуды — это артерии и вены, имеющие толстую прочную стенку из соединительной ткани и гладкой мускулатуры (рис. 16-14). Эта стенка выстлана чрезвычайно тонким одноклеточным слоем эндотелиальных клеток, который отделен от окружающих слоев базальной мембраной. Толщина соединительнотканного слоя стенки варьирует в зависимости от диаметра и функции сосуда, но эндотелиальная выстилка имеется всегда (рис. 16-15). Стенки тончайших разветвлений сосудистого дерева — капилляров и синусоидов — состоят только из эндотелиальных клеток и базальной мембраны (рис. 16-16). Таким образом, эндотелиальные клетки выстилают всю сосудистую систему — от сердца до мельчайших капилляров — и управляют переходом веществ из тканей в кровь и обратно. Более того, изучение эмбрионов показало, что сами артерии и вены развиваются из простых малых сосудов, построенных исключительно из эндотелиальных клеток и базальной мембраны. Эндотелиальные клетки — это первопроходцы, вокруг которых позднее в случае надобности образуются толстые слои соединительной ткани и гладкой мускулатуры.

Рис. 16-15. Перерезанная артериола (микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа). Можно видеть внутреннюю выстилку из эндотелиальных клеток, вокруг них — слой гладкой мускулатуры и волокнистой соединительной ткани. Небольшое сокращение мышечного слоя собирает в складки эндотелиальную выстилку сосуда. При фиксации препарата эндотелий, сжавшись, несколько отошел от остальных слоев, и здесь образовалась узкая щель. (R. G. Kessel, R. H. Kardon, *Tissues and Organs: A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy*, San Francisco: Freeman, 1979.)



Рис. 16-16. Поперечный срез узкого капилляра из поджелудочной железы (электронная микрофотография). Стенка образована одной эндотелиальной клеткой. Обратите внимание на мелкие (80 нм) «транзитозные» пузырьки. Предполагается, что они обеспечивают перенос веществ через стенку такого капилляра: растворимые вещества захватываются в пузырьки на поверхности клетки, обращенной в просвет сосуда, и выводятся путем экзоцитоза на наружной поверхности (или наоборот). (R. P. Bolender, *J. Cell Biol.*, 61, 269–287, 1974.)



16.3.5. Новые эндотелиальные клетки образуются путем простого деления существующих эндотелиальных клеток [14]

Во всей сосудистой системе взрослого организма эндотелиальные клетки сохраняют способность к делению и передвижению. Если, например, участок стенки аорты будет поврежден и лишится своей эндотелиальной выстилки, в окружающем эндотелии образуются новые клетки, которые перемещаются так, чтобы покрыть поврежденное место. Новые клетки способны даже покрывать внутреннюю поверхность пластиковых трубок, используемых хирургами для замещения поврежденных частей кровеносных сосудов.

Пролиферацию эндотелиальных клеток можно продемонстрировать путем метки клеток в фазе S [^3H]-тимидином. В нормальных сосудах доля эндотелиальных клеток, включающих метку, особенно высока в местах разветвления артерий, где турбулентность потока крови ускоряет износ эндотелиальных клеток и тем самым, по-видимому, стимулирует их обновление. В целом, однако, эндотелиальные клетки обновляются довольно медленно: ежедневно заменяется примерно одна клетка из сотни.

Эндотелиальные клетки не только восстанавливают выстилку существующих кровеносных сосудов, но и создают новые сосуды. Это обязательно должно происходить у зародыша, чтобы сосудистая сеть не отставала от роста тела, и в тех тканях взрослого организма (кость, стенка матки), которые подвергаются циклическим перестройкам, а также при заживлении повреждений.

16.3.6. Новые капилляры образуются как ответвления существующих сосудов [15]

Новые сосуды сначала возникают как капилляры, которые ответвляются от уже имеющихся мелких сосудов. Этот процесс ангиогенеза был продемон-

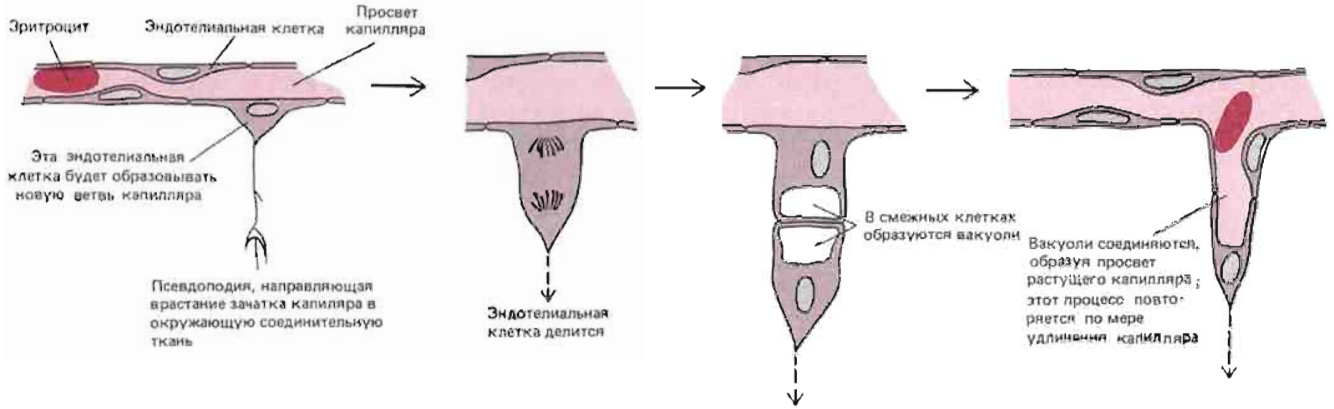
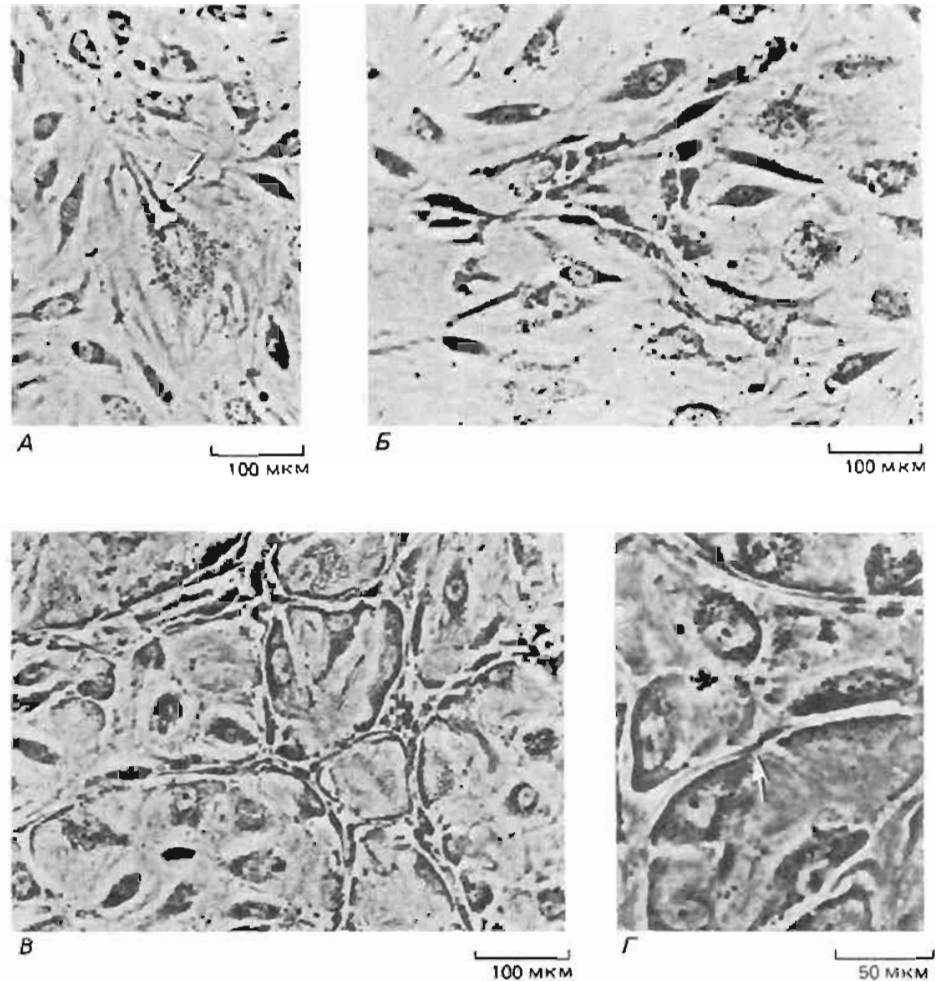


Рис. 16-17. Новый кровеносный капилляр образуется путем «отпочковывания» эндотелиальной клетки от стенки существующего малого сосуда. Эта схема основана на наблюдениях над клетками в прозрачном хвосте живого головастика. (C. C. Speidel. *Am. J. Anat.*, 52, 1-79, 1933.)

Рис. 16-18. В эндотелиальных клетках, растущих *in vitro*, спонтанно возникают вакуоли, которые соединяются, образуя сеть капиллярных трубочек. На фото А, Б и В представлены последовательные стадии этого процесса. Стрелкой на фото А указана вакуоль, появившаяся сначала в одной эндотелиальной клетке. Г — область контакта двух эндотелиальных клеток при большем увеличении (стрелкой отмечено место соединения капиллярных каналов, сформированных двумя клетками). Культуры произошли от групп из двух-четырех эндотелиальных клеток, взятых из коротких отрезков капилляра. Эти клетки садятся на поверхность культуральной чашки, покрытую коллагеном, и формируют небольшую распластывающую колонию, которая постепенно увеличивается по мере пролиферации клеток. Колония распространяется по чашке, и в конце концов (примерно через 20 дней) в центральных участках начинают формироваться капиллярные трубки: вскоре появляются и ответвления, а еще через 5-10 дней уже можно видеть обширную сеть трубок. Цейтраферная съемка показывает, что образовавшиеся капиллярные трубки подвергаются перестройке: возникают новые ответвления, в то время как старые втягиваются в родительский сосуд. (J. Folkman, C. Haudenschild. *Nature*, 288, 551-556, 1980.)



стрирован у кроликов. В ухе кролика прокалывали небольшое отверстие и с обеих сторон укрепляли покровные стекла, так что получалась узкая камера с прозрачными стенками, в которой могли расти клетки, окружающие рану. Удобно также наблюдать ангиогенез в таких прозрачных структурах, как роговица глаза. Раздражение роговицы вызывает рост новых кровеносных сосудов от ее ободка, имеющего обильное кровоснабжение, по направлению к центру, где в норме сосудов почти нет. Таким образом, происходит васкуляризация роговицы в результате прорастания эндотелиальных клеток в ее плотную, богатую коллагеном ткань.

Такого рода наблюдения показывают, что эндотелиальные клетки, которые в будущем сформируют новый капилляр, отростают от стенки существующего капилляра или небольшой вены, выпуская сначала псевдоподии (рис. 16-17); затем образуется толстый отросток, который позже становится полым и превращается в трубку. Этот отросток продолжает удлиняться до тех пор, пока не встретит другой капилляр, с которым он соединяется, создавая путь для циркуляции крови. Как показали опыты на тканевых культурах, эндотелиальные клетки спонтанно образуют капиллярные трубочки даже в условиях изоляции от клеток каких-либо других типов (рис. 16-18). Первый признак образования такой трубочки в культуре – это появление в клетке удлиненной вакуоли, которая вначале полностью окружена цитоплазмой. Такие же вакуоли возникают в соседних клетках, и в конце концов клетки выстраивают свои вакуоли концом к концу так, что эти вакуоли сливаются в один непрерывный канал. Капилляры, образующиеся в чистой культуре эндотелиальных клеток, не содержат крови, и по ним не протекает никакая жидкость. Очевидно, что ток и давление крови не нужны для образования капиллярной сети.

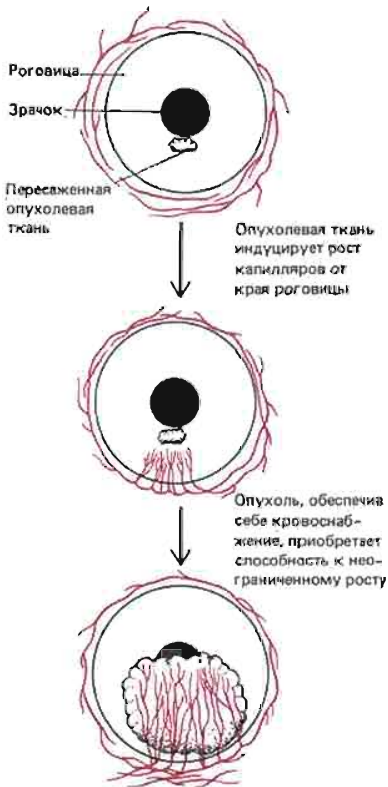


Рис. 16-19. Опухолевая ткань, пересаженная в роговицу, выделяет фактор, вызывающий прорастание в опухоль капилляров. Капилляры обеспечивают опухоль питательными веществами из общего кровотока, и это позволяет ей расти. Процесс образования капилляров называется ангиогенезом.

16.3.7. Рост капиллярной сети регулируют факторы, выделяемые окружающими тканями [16]

В живом организме эндотелиальные клетки образуют новые капилляры только там, где в них есть надобность. При заживлении раны в участке, примыкающем к поврежденной ткани, индуцируется кратковременная «вспышка» роста капилляров. Местное раздражение и местная инфекция также вызывают пролиферацию новых капилляров. Судя по некоторым данным, макрофаги, скапливающиеся в очагах повреждения или инфекции, выделяют фактор, побуждающий эндотелиальные клетки к образованию новых капиллярных веточек. Когда процесс заживления заканчивается, многие из вновь образованных капилляров претерпевают обратное развитие и постепенно исчезают.

Тот факт, что ткани могут подавать сигнал к ангиогенезу, вероятно, наиболее убедительно продемонстрирован при исследовании роста опухолей. Опухоль, растущая в виде плотной массы, остается очень небольшой, пока не будет обеспечена капиллярами. Без снабжения внутренней части кровью она может существовать только за счет диффузии питательных веществ с периферии, и поэтому не может увеличиться больше чем до нескольких миллиметров в диаметре. Но если опухолевые клетки способны индуцировать образование капиллярной сети, которая проросла бы в опухолевую массу, то это ограничение снимается. Есть убедительные данные, что опухоль, способные к неограниченному росту, выделяют вещество, называемое *опухолевым фактором ангиогенеза*, которое действует на эндотелиальные клетки именно таким образом. Маленький кусочек такой опухоли, пересаженный в роговицу, вызывает быстрый рост кровеносных сосудов в направлении от сосудистого края роговицы к имплантату (рис. 16-19). Возможно, что и нормальные клетки, испытывающие недостаток кислорода, могут стимулировать васкуляризацию ткани, выделяя такой же ангиогенный фактор.

Зависимость опухолевых клеток от эндотелиальных служит иллюстрацией к проблеме, которая будет еще раз обсуждаться в конце этой главы: эта зави-

симось показывает, что проблему рака нужно рассматривать не только в рамках поведения самих опухолевых клеток, но и с точки зрения их связи с другими клетками организма.

Заключение

У позвоночных большинство популяций дифференцированных клеток подвержено обновлению. В некоторых случаях дифференцированные клетки просто делятся, образуя дочерние клетки того же типа. Примером могут служить гепатоциты (клетки печени) или эндотелиальные клетки, выстилающие кровеносные сосуды. Скорость размножения таких клеток регулируется таким образом, чтобы поддерживалось нужное общее количество клеток. Так, если значительная часть печени разрушена, скорость деления оставшихся гепатоцитов возрастает для восполнения потери. Но восстановление часто оказывается неполноценным; например, когда в сильно поврежденной печени фибробласты начинают расти слишком быстро по сравнению с гепатоцитами, печеночная ткань замещается фиброзной.

Эндотелиальные клетки образуют одиночный слой, выстилающий все кровеносные сосуды и регулирующий обмен веществами между кровью и окружающими тканями. Новые кровеносные сосуды развиваются из стенок существующих мелких сосудов в виде выростов эндотелиальных клеток; эти клетки способны образовывать полые капиллярные трубочки даже при росте в культуре. В живом организме поврежденные ткани и некоторые опухоли обеспечивают себе кровоснабжение, выделяя вещества, которые стимулируют образование новых капиллярных веточек близлежащими эндотелиальными клетками. Рост опухолей, не способных вызвать такую реакцию эндотелиальных клеток, быстро прекращается.

16.4. Обновление за счет стволовых клеток.

Пример: эпидермис

Перейдем теперь от клеточных популяций, обновляющихся путем простого удвоения, к таким, которые обновляются за счет стволовых клеток. Эти популяции сильно различаются не только по свойствам клеток и скорости их замещения, но и по геометрии этого процесса. Например, в выстилке тонкого кишечника клетки образуют однослойный эпителий. Этот эпителий покрывает поверхность ворсинок, выступающих в просвет кишки, и он же выстилает глубокие крипты, уходящие в толщу подлежащей соединительной ткани (рис. 16-20). Стволовые клетки находятся в защищенном месте в глубине крипт. Дифференцированные клетки, образующиеся из стволовых, выносятся в результате скольжения эпителиального слоя вверх, пока не достигнут открытой поверхности ворсинок, с кончиков которых они в конце концов слущиваются. Примером совсем иного типа может служить кожа: эпидермис представляет собой многослойный эпителий, и дифференцирующиеся клетки перемещаются от места их образования в направлении, перпендикулярном плоскости клеточных слоев. В кроветворных тканях пространственная картина образования клеток выглядит хаотичной. Но прежде чем углубляться в дальнейшие подробности, посмотрим, что представляет собой стволовая клетка.

16.4.1. Стволовые клетки обладают способностью неограниченно делиться и давать дифференцированное потомство [17]

Для стволовой клетки определяющими будут следующие свойства:

1) она сама не является терминально дифференцированной (это означает, что она не прошла дифференцировку до конца);

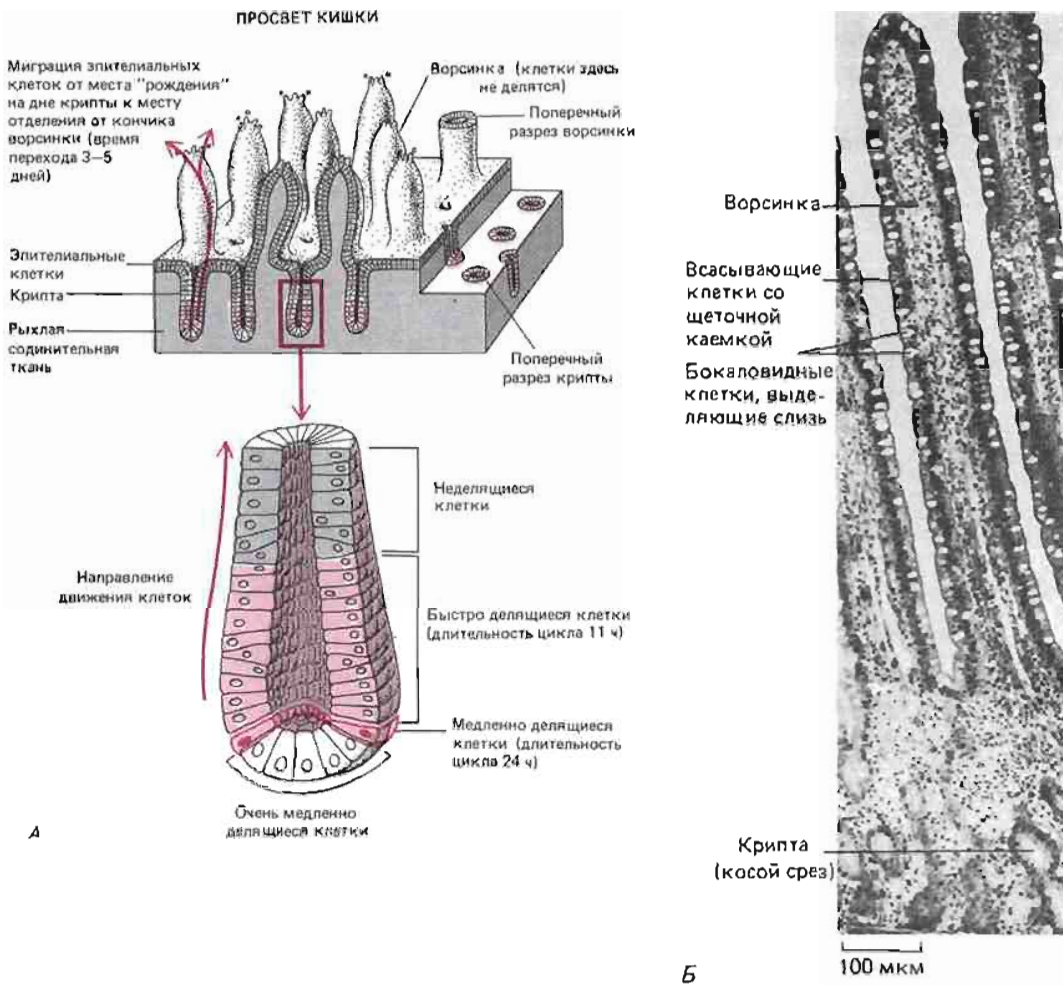


Рис. 16-20. А. Схема обновления клеточной популяции в выстилке тонкой кишки за счет пролиферации стволовых клеток. Б. Участок среза, на котором можно видеть ворсинки и крипты. Обратите внимание на светлые бокаловидные клетки (они выделяют слизь), разбросанные в эпителии ворсинок среди всасывающих клеток со щеточной каемкой. (С любезного разрешения Peter Gould.)

- 2) она способна к неограниченному делению;
- 3) при ее делении каждая дочерняя клетка стоит перед выбором – остаться стволовой клеткой, какой была родительская, или встать на путь, наоборот ведущий к полной дифференцировке (рис. 16-21).

Какие факторы определяют, будут ли стволовые клетки делиться или останутся в состоянии покоя? Что руководит дочерней клеткой, когда она выбирает между терминальной дифференцировкой и существованием в виде стволовой клетки? Какой круг возможностей имеется у дочерней клетки, когда она встает на путь, ведущий к терминальной дифференцировке? Это главные вопросы, которые будут рассматриваться в последующих разделах.

Стволовые клетки нужны в любом месте, где постоянно возникает потребность в новых дифференцированных клетках, а сами дифференцированные клетки делиться не могут. В ряде тканей конечное состояние дифференцировки явно несовместимо с клеточным делением. Например, ядра клеток могут

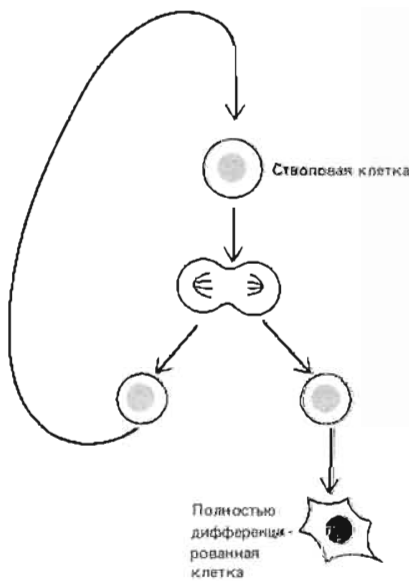


Рис. 16-21. Каждая дочерняя клетка, образующаяся при делении стволовой клетки, может остаться также стволовой клеткой, а может пойти по пути, ведущему к терминальной дифференцировке.

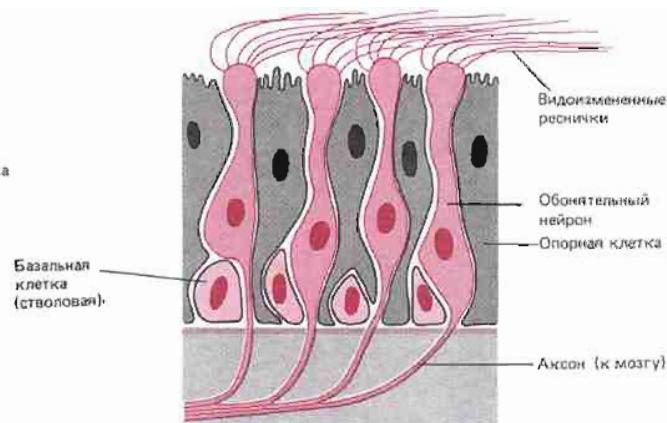
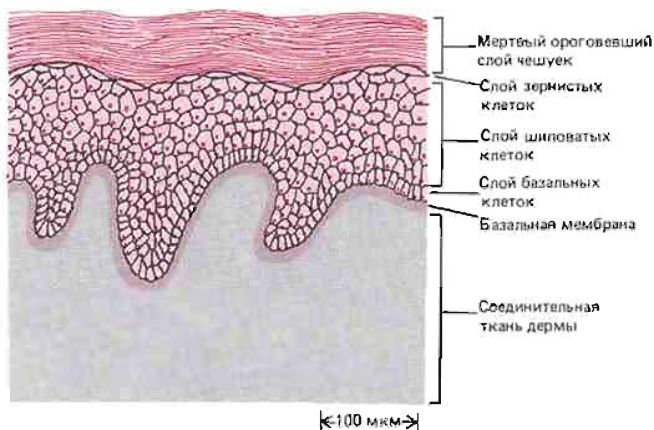


Рис. 16-22. Схема строения обонятельного эпителия, специализированного для восприятия запахов. Можно различить три типа клеток: опорные клетки, базальные клетки и обонятельные нейроны. Как показывают эксперименты с применением радиоавтографии, базальные клетки являются стволовыми. Из них образуются обонятельные нейроны. Это редкое исключение из правила, согласно которому нейроны представляют собой перманентные клетки. Каждый обонятельный нейрон служит около месяца (у млекопитающих), а затем заменяется новым. От округлой «головки» обонятельного нейрона отходят 6–8 видоизмененных ресничек; как полагают, они содержат рецепторы для пахучих веществ. Аксон, идущий от другого конца нейрона, передает информацию в мозг. Всякий раз, когда базальная клетка дифференцируется в обонятельный нейрон, от него отрастает новый аксон, который образует надлежащие связи в мозгу.

разрушаться, как это происходит в наружных слоях эпидермиса, или выталкиваться из клеток, как при созревании эритроцитов млекопитающих. Иногда осуществлению митоза и цитокинеза препятствует то, что цитоплазма плотно заполнена таким материалом, как, например, миофибриллы мышечных клеток. В других терминально дифференцированных клетках невозможность деления может быть обусловлена какими-то более тонкими биохимическими причинами. В любом таком случае обновление будет зависеть от стволовых клеток.

Стволовые клетки предназначены не для того, чтобы выполнять определенную специализированную функцию, а для того, чтобы производить клетки с такой функцией. Поэтому стволовым клеткам часто не свойствен какой-либо характерный внешний вид, и тогда их трудно опознать. Но это не означает, что все они одинаковы. Не будучи внешне дифференцированы, они тем не менее *детерминированы* (разд. 15.4.2): клетка-сателлит в скелетной мышце – как источник мышечных волокон, базальная клетка эпидермиса – как источник ороговевающих эпидермальных клеток, сперматогония – как источник спермиев, базальная клетка обонятельного эпителия – как источник обонятельных нейронов (рис. 16-22) и т.д. Те стволовые клетки, которые порождают только один вид дифференцированных клеток, называются *унипотентными*, а те, которые порождают несколько их видов, – *плюрипотентными*. Мы начнем с рассмотрения эпидермиса, так как его простая пространственная организация облегчает изучение биологии его стволовых клеток и судьбы их потомства.

Рис. 16-23. Строение эпидермиса средней толщины у млекопитающего (схема). Зернистые (гранулярные) клетки находятся между шиповатыми клетками и уплощенными чешуйками. Они проходят предпоследнюю стадию ороговения и содержат интенсивно окрашивающиеся гранулы малоизученного материала – *кератогиалина* (совершенно не похожего на кератин). Кроме клеток, которым предстоит ороговение, в глубоких слоях эпидермиса находится небольшое число клеток совсем иного типа: это макрофагоподобные клетки *Лангерганса*, происходящие из костного мозга; *меланоциты*, происходящие из нервного гребня; *клетки Меркеля*, связанные с нервными окончаниями в эпидермисе.



16.4.2. Эпидермис подразделен на пролиферативные единицы [18, 19]

Эпидермальный слой кожи и эпителиальная выстилка пищеварительного тракта – это две ткани, которые подвержены наиболее прямому повреждающим воздействиям со стороны внешнего мира. В обеих тканях зрелые дифференцированные клетки быстро снашиваются в самых уязвимых участках и так же быстро замещаются в результате пролиферации менее дифференцированных клеток, находящихся в более защищенных местах.

В эпидермисе имеется несколько слоев, которые выглядят по-разному (рис. 16-23). Внутренние слои состоят из метаболически активных клеток, прочно связанных друг с другом десмосомами, а наружные – из остатков мертвых клеток, заполненных фибриллярным белком кератином. Самый глу-

Рис. 16-24. Срез шиповатой клетки эпидермиса. Видны пучки кератиновых филаментов, пронизывающие цитоплазму и оканчивающиеся в десмосомах, соединяющих соседние клетки. (R. V. Kristic, *Ultrastructure of the Mammalian Cell: An Atlas*, Berlin, Springer, 1979.)

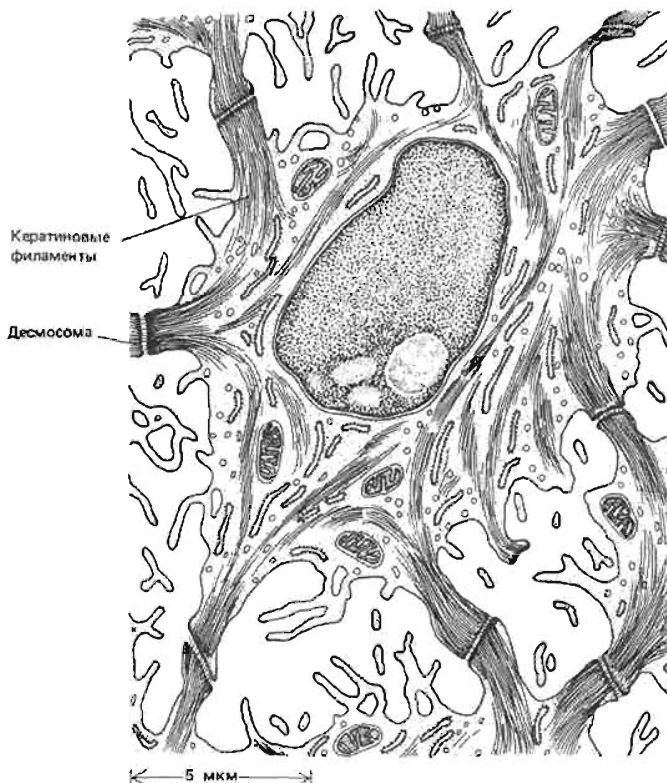
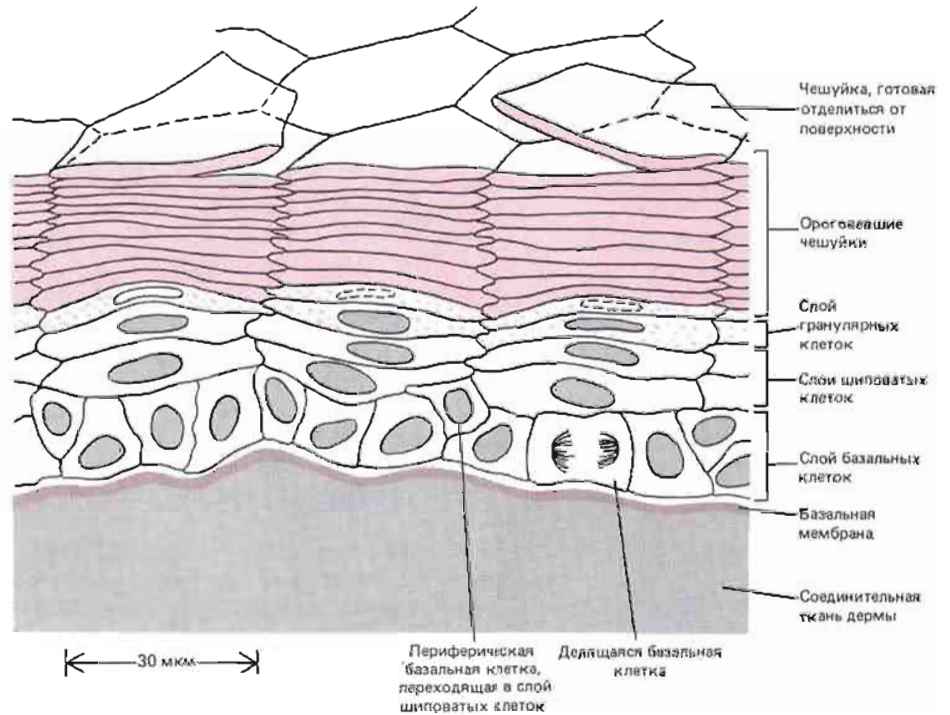


Рис. 16-25. Проллиферативные единицы, или колонки, в эпидермисе тонкой кожи уха мыши. Эта структура выявляется при набухании ороговевших чешуек в растворе, содержащем NaOH; как показывают исследования на морских свинках, такая организация в виде колонок свойственна лишь тем участкам, где толщина эпидермиса не превышает примерно 40 мкм.



бокий из внутренних слоев образован *базальными клетками*, прилегающими к базальной мембране, которая отделяет эпидермис от лежащей под ним дермы. В основном именно эти клетки делятся путем митоза. Над базальными клетками находится несколько слоев более крупных и плоских *шиповатых клеток*. Такое название они получили благодаря своему виду на препаратах для световой микроскопии: их бесчисленные десмосомы с отходящими от них толстыми пучками кератиновых волокон (которые называют также *тонофиламентами*) едва различимы и выглядят как крошечные шипы на поверхности клеток (их ультраструктура показана на рис. 16-24).

Еще ближе к поверхности лежат клетки, в которых все внутриклеточные органеллы исчезли, так что каждая клетка превратилась в плоскую *чешуйку*, не содержащую практически ничего, кроме кератина. Эти чешуйки настолько сильно уплощены, что их границы трудно различить на обычном гистологическом препарате. Но если погрузить препарат в раствор NaOH, можно вызвать некоторое набухание этих клеток. Тогда после надлежащей окраски можно увидеть в тех участках, где кожа тонкая, удивительно правильную геометрическую картину расположения клеток: чешуйки уложены здесь аккуратными гексагональными колонками, которые плотно соединены между собой регулярными зубчатыми (в поперечном разрезе) швами, как показано на рис. 16-25. Ширина колонок такова, что под каждой из них, в ее основании, находится около десятка базальных клеток. Эти клетки можно подразделить на центральные и периферические в соответствии с их положением в основании колонки. Периферические (но не центральные!) клетки иногда можно видеть в тот момент, когда они переходят из слоя базальных клеток наверх, в слой шиповатых клеток. Каждую колонку называют *пролиферативной единицей* эпидермиса. Хотя упорядоченная организация в виде правильных колонок обнаруживается только в некоторых участках кожи, она служит хорошей иллюстрацией общих принципов обновления эпидермальных клеток.

16.4.3. Дифференцирующиеся эпидермальные клетки по мере созревания последовательно синтезируют различные кератины [18, 20]

Перейдем теперь от описанной статичной картины к динамике. Центральная базальная клетка колонки делится, и некоторые из дочерних клеток, в свою очередь поделившись, сдвигаются к периферии основания. Периферические базальные клетки выталкиваются из базального слоя в слой шиповатых клеток – на первую ступень движущегося вверх «эскалатора». Шиповатые клетки уплощаются и в конце концов преобразуются в ороговевшие чешуйчатые клетки, теряющие свои ядра по мере приближения к поверхности. В конце концов ороговевшие чешуйки отслаиваются и разносятся токами воздуха, как пыль. У человека промежуток времени от момента рождения клетки в базальном слое эпидермиса до ее слущивания с поверхности занимает от двух до четырех недель в зависимости от участка тела.

Сопутствующие химические изменения можно изучить, анализируя тонкие слои эпидермиса, срезанные параллельно поверхности, или последовательные слои клеток, обдираемые при повторном наложении и снятии липкой ленты. Молекулы кератина можно экстрагировать и идентифицировать по их электрическому заряду, молекулярной массе, родству к специфическим антителам и набору малых пептидов, на которые расщепляются кератины при их неполном переваривании. Таким способом было показано, что кератины содержатся во всех слоях эпидермиса. Однако существует много различных видов кератина, кодируемых большим семейством генов. Это семейство возникло в процессе эволюции в результате дупликаций и мутаций какого-то одного предкового гена. В различных слоях эпидермиса синтезируются разные виды кератинов. Кератины шиповатых клеток отличаются, например, от кератинов, заполняющих мертвые ороговевшие чешуйчатые клетки. По мере того как стволовая клетка, находящаяся в основании колонки, превращается в чешуйку наверху, она последовательно экспрессирует различные группы из всего набора гомологичных кератиновых генов.

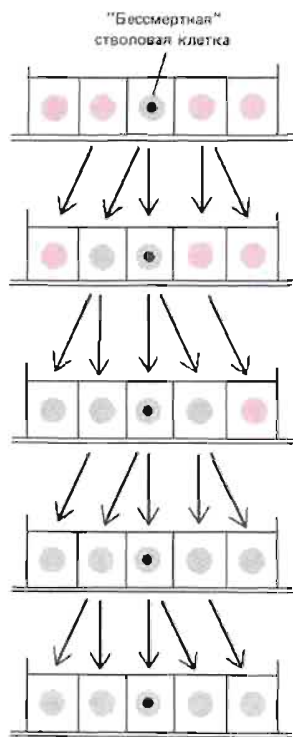


Рис. 16-26. Каждая пролиферативная единица должна всегда содержать по меньшей мере одну «бессмертную» стволовую клетку, потомки которой будут находиться в этой единице и в отдаленном будущем. Стрелками показано происхождение одних клеток от других. Бессмертная стволовая клетка в каждой клеточной генерации представлена здесь в центральном положении.

16.4.4. В каждой пролиферативной единице есть своя «бессмертная» стволовая клетка [19, 21]

В соответствии с представленной выше картиной в глубине каждой пролиферативной единицы эпидермиса лежит центральная базальная клетка, от которой происходят все клетки этой единицы. Линия потомков такой стволовой клетки не прерывается за все время жизни животного. Можно, допустив некоторую вольность языка, назвать эту стволовую клетку *бессмертной* (рис. 16-26). Каждый раз, когда стволовая клетка делится, одна из дочерних клеток наследует мантию бессмертия, в то время как другая рано или поздно (возможно, через несколько делений) переходит в колонку дифференцирующихся клеток и в конце концов слущивается с поверхности кожи. Что же тогда отличает «бессмертную» клетку от остальных? Сказанное выше не дает оснований полагать, что бессмертная стволовая клетка в чем-то внутренне отлична от соседних базальных клеток. Они тоже по своим свойствам могут быть стволовыми клетками и становятся смертными только потому, что их оттесняют с центральной позиции и сбрасывают в поток, уносящий их прочь. Короче говоря, слово «бессмертие» характеризует будущую судьбу стволовой клетки, а не ее внутреннюю природу. Однако где-то на пути своего развития каждая смертная дочерняя клетка, образовавшаяся при делении бессмертной стволовой клетки, должна пройти точку, после которой обратного пути нет: внутренний характер клетки настолько изменяется, что быть стволовой она уже не может, даже если ее снова поместить в центр основания колонки. Что это за точка?

16.4.5. Возможно, что «бессмертие» стволовой клетки сохраняется благодаря контакту с базальной мембраной [22]

В принципе деления бессмертной стволовой клетки могли бы всегда быть асимметричными, так что одна и только одна из дочерних клеток наследовала бы свойства, необходимые для бессмертия; в другой же клетке что-то изменялось бы уже в момент ее образования, и это заставляло бы ее дифференцироваться и обрекало в конце концов на гибель. В таком случае число бессмертных стволовых клеток никогда не могло бы увеличиться. Однако, если участок эпидермиса разрушен, можно видеть, что его непрерывность восстанавливают окружающие здоровые эпидермальные клетки, которые мигрируют и размножаются, чтобы закрыть брешь (см. разд. 11.1.6). При этом образуются новые пролиферативные единицы, и их центральные базальные клетки неизбежно должны были возникнуть в результате таких делений, когда две бессмертные клетки получают из одной.

Таким образом, при делении стволовой клетки судьба дочерних клеток должна зависеть не только от их внутренних свойств, но и от внешних факторов. Что же это за определяющие факторы? Согласно одной весьма привлекательной гипотезе, характер стволовой клетки сохраняется благодаря контакту с базальной мембраной, а изменения, приводящие к терминальной дифференцировке, начинаются, как только клетка теряет этот контакт. Эксперименты на тканевых культурах в какой-то степени подтверждают это предположение: эпидермальные клетки продолжают делиться, если они растут в контакте с подходящим субстратом (с подстилкой из фибробластов), но сразу начинают дифференцироваться при росте в суспензии. Эта гипотеза остается еще спорной и, вероятно, слишком упрощает дело; однако она позволяет изящно объяснить, каким образом нехватка стволовых клеток восполняется точно в таких размерах, чтобы вся поверхность тела была покрыта кожей.

16.4.6. Пролиферация базальных клеток регулируется в соответствии с толщиной эпидермиса [23]

В то время как контакт с базальной мембраной может определять выбор между выживанием клетки в качестве стволовой и ее гибелью в результате терминальной дифференцировки, другие факторы должны регулировать скорость образования новых эпидермальных клеток. Предполагается, что в этом участвуют различные гормоны и факторы роста (разд. 13.1.7). Например, если внешние слои эпидермиса соскоблить, то скорость деления базальных клеток увеличивается. Через некоторое время это приводит к восстановлению нормальной толщины эпидермиса, и скорость деления в базальном слое снова снижается до обычного уровня. Все происходит так, как будто делящиеся клетки базального слоя освобождаются от ингибирующего влияния наружных дифференцированных слоев после их удаления, а затем вновь начинают испытывать это влияние, как только эпидермис полностью восстанавливается. Согласно одной из гипотез, в эпидермисе синтезируется фактор, называемый эпидермальным *халоном* (или кейлоном), который подавляет митозы в базальных слоях настолько, чтобы скорость образования дифференцированных клеток соответствовала потребности. Последствия нарушенной регуляции размножения базальных клеток можно наблюдать при *исориазе*. При этом распространенном заболевании кожи скорость пролиферации базальных клеток значительно повышена, эпидермис становится утолщенным и клетки слущиваются с поверхности кожи уже через неделю после их образования в базальном слое, еще не успев подвергнуться полному ороговению.

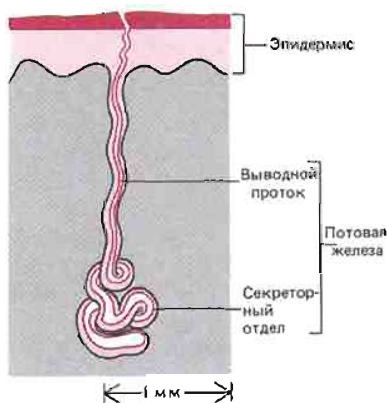


Рис. 16-27. Схема строения потовой железы.

16.4.7. Секреторные клетки кожи обособлены в железах, и их популяциям свойственна иная динамика [24]

Кожа служит не только защитным барьером — она выполняет и другие функции. В определенных специализированных участках, кроме описанных выше ороговевших клеток, из эпидермиса развиваются и клетки иных типов. В частности, секреторные клетки обособлены в глубоко лежащих железах, и обновление их происходит совершенно иначе, чем в участках ороговения.

Простейшим примером такой специализированной структуры может служить *потовая железа*. Она состоит из длинной трубки со слепым концом и образуется как впячивание эпидермиса. Пот выделяют клетки нижней части этой трубки, и он выходит на поверхность кожи через выводной проток (рис. 16-27). Клетки конечного секреторного участка образуют однослойный эпителий, окруженный небольшим числом сократимых *миоэпителиальных клеток* (см. рис. 16-29). Выводной проток выстлан двуслойным эпителием без миоэпителиального компонента. Различают две разновидности потовых желез, а несколько других типов желез являются, вероятно, эволюционными модификациями одного и того же прототипа. К этой же категории относятся железы, выделяющие слезы, ушную серу, слюну и молоко. Во всех железах есть различия между секреторными клетками и клетками, выстилающими протоки; по крайней мере в слюнных и молочных железах именно в протоках находятся стволовые клетки, предназначенные для обновления популяции секреторных клеток.

Молочная железа хорошо изучена в связи с гормональной регуляцией деления и дифференцировки ее клеток. Образование молока должно начинаться, когда рождается ребенок, и прекращаться, когда ребенка отнимают от груди. В молочной железе, в которой не образуется молоко и не происходит подготовки к его секреции, железистая ткань состоит из разветвленных систем выводных протоков, погруженных в соединительную ткань и выстланных в секреторных участках одним слоем сравнительно неактивных эпителиальных клеток, среди которых встречаются и миоэпителиальные. На первом этапе подготовки к интенсивной выработке молока гормоны, циркулирующие в крови в период беременности, стимулируют здесь клеточную пролиферацию; концевые отделы протоков растут и ветвятся, образуя небольшие расширения — *альвеолы* (рис. 16-28). Клетки, выстилающие альвеолы (рис. 16-29), являются секреторными, но они не начинают выделять молоко (рис. 16-30), пока не получают стимул в виде измененного набора гормонов в крови матери после рождения ребенка. Когда ребенка отнимают от груди и кормление прекращается, секреторные клетки дегенерируют, макрофаги уничтожают их остатки, большая часть альвеол исчезает и железа переходит в состояние покоя до тех пор, пока новая беременность не запустит опять весь цикл. Таким образом, молочная железа сильно отличается от эпидермиса способом регуляции и периодичностью обновления клеток, а также пространственной организацией этого процесса.

Заключение

Многие ткани, особенно те, которым свойственно быстрое обновление (например, выстилка кишечника, эпидермальный слой кожи, кровь), обновляются с помощью стволовых клеток. Стволовые клетки в соответствии с их определением обладают способностью неограниченно делиться, давая потомство, часть которого дифференцируется, а часть остается стволовыми клетками. Стволовые клетки эпидермиса лежат в базальном слое, контактируя с базальной мембраной. Потомки стволовых клеток дифференцируются, уходя из этого слоя, и по мере удаления от него последовательно синтезируют различные виды кератинов; затем ядра в этих клетках дегенерируют, и образуется наружный слой мертвых ороговевших клеток, которые в конце концов сливаются с поверхностью. На участках, где эпидермис тонок, он четко подразде-

Рис. 16-28. Схема формирования альвеол из протоков молочной железы во время беременности и лактации. Показан только один небольшой участок железы. В покое железа содержит небольшое количество неактивной железистой ткани, погруженной в массу жировой соединительной ткани (на рисунке – серый фон). Во время беременности происходит сильнейшая пролиферация железистой ткани за счет жировой с преимущественным развитием секреторных отделов железы и образованием альвеол.

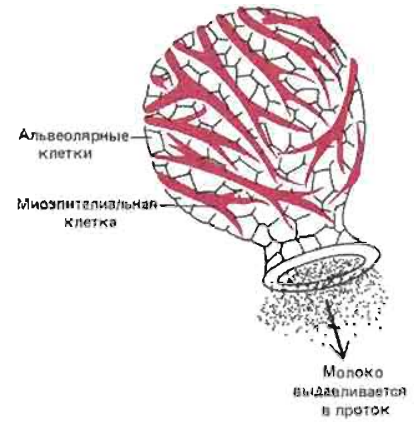
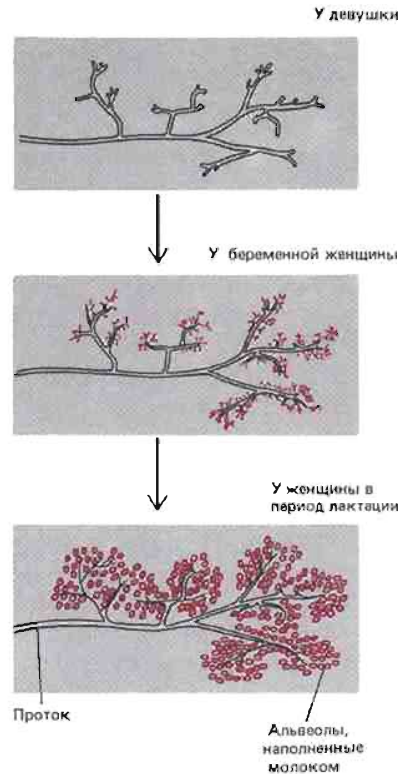
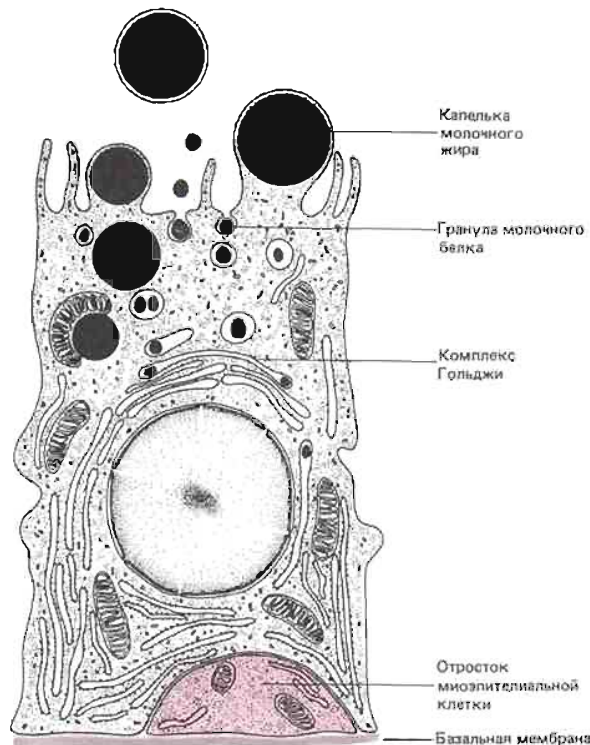


Рис. 16-29. Одна из секретирующих молоко альвеол молочной железы и охватывающая ее «корзинка» из миоэпителиальных клеток. Миоэпителиальные клетки сокращаются и выталкивают молоко из альвеол в ответ на воздействие гормона окситоцина, который рефлексивно выделяется у женщины при кормлении грудью.

Рис. 16-30. Схематическое изображение секретирующей молоко клетки в активной молочной железе. Клетки одного типа вырабатывают и молочные белки, и молочный жир. Белки выводятся из клеток путем обычного экзоцитоза, а жир выходит в виде капель, окруженных плазматической мембраной, отделившейся от клетки. (W. Bloom, D.W. Fawcett. A Textbook of Histology, 10th ed., Philadelphia: Saunders, 1975.)



ляется на пролиферативные единицы, или колонки, с «бессмертной» стволовой клеткой в основании каждой из них. Судьба потомков стволовой клетки зависит от внешних факторов, например от контакта с базальной мембраной. Скорость пролиферации стволовых клеток регулируется гомеостатически в соответствии с толщиной эпидермиса. В железах, связанных с эпидермисом, например в потовых и молочных железах, тоже имеются стволовые клетки, но обновление клеток организовано по-иному.

16.5. Обновление с помощью плюрипотентных стволовых клеток.

Пример: образование клеток крови [25]

Кровь содержит много типов клеток, выполняющих совершенно различные функции – от транспорта кислорода до выработки антител. Однако жизненный цикл всех клеток крови до некоторой степени сходен. Часть своей жизни все они проводят, находясь в других тканях, а часть – свободно циркулируя в кровотоке. У всех клеток крови время существования ограничено, и они непрерывно образуются в течение всей жизни животного. И наконец, что весьма примечательно, все они восходят к одному и тому же типу стволовых клеток. Эта *гематоэтическая, или кроветворная, стволовая клетка* является, таким образом, плюрипотентной, т. е. дает начало всему разнообразию типов терминально дифференцированных клеток крови.

Клетки крови (рис. 16-31) можно разделить на красные и белые. Красные кровяные клетки, или **эритроциты**, разносят по всему телу гемоглобин. Белые кровяные клетки, или **лейкоциты**, борются с инфекцией, а также поглощают и переваривают остатки разрушенных клеток и т. п., выходя для этого через стенки кровеносных сосудов в ткани. Кроме того, в крови содержатся **тромбоциты**, представляющие собой не обычные клетки, а мелкие клеточные фрагменты, или «мини-клетки», отделившиеся от крупных клеток, называемых мегакариоцитами. Тромбоциты управляют свертыванием крови и помогают восстанавливать поврежденные участки в стенках кровеносных сосудов.

В то время как каждый эритроцит похож на всякий другой эритроцит, а тромбоцит – на другой тромбоцит, лейкоциты делятся на ряд различных классов. На основе морфологических особенностей, видимых в световой микроскоп, их традиционно подразделяют на пять главных групп: **нейтрофилы** (их называют также *полиморфноядерными лейкоцитами*, так как ядра у них имеют неправильную, сильно расчлененную форму), **эозинофилы**, **базофилы**, **лимфоциты** и **моноциты** (табл. 16-1). Тонкая структура некоторых из них по-

Рис. 16-31. Клетки крови млекопитающего в малом кровеносном сосуде (микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа). Более крупные, почти шарообразные клетки с шероховатой поверхностью – это лейкоциты, а клетки меньшей величины, более гладкие и уплощенные – эритроциты. (R. G. Kessel, R. H. Kardon. A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy, San Francisco: Freeman, 1979.)

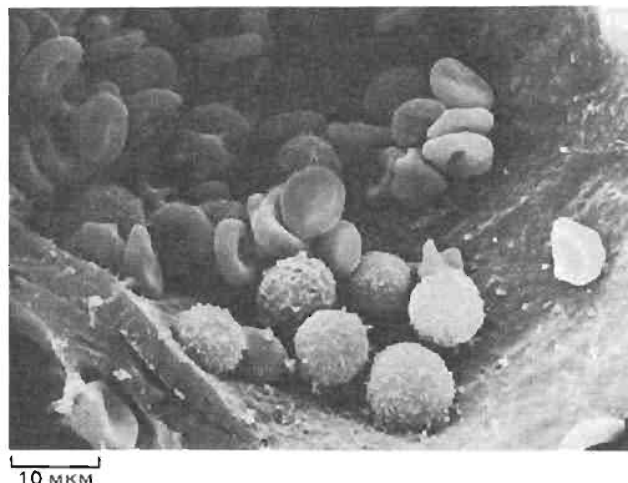


Таблица 16-1. Клетки крови

Тип клетки	Главные функции
Эритроциты	Транспортируют O_2 и CO_2
Лейкоциты	Разрушают внедрившиеся бактерии
Гранулоциты Нейтрофилы (полиморфно- ядерные лейкоциты) Эозинофилы	Разрушают более крупные паразитические организмы и модулируют аллергические воспалительные реакции
Базофилы	Выделяют гистамин и серотонин при определенных иммунных реакциях
Лимфоциты	Осуществляют иммунные ответы
Клетки-киллеры	Убивают клетки, инфицированные вирусом, и некоторые опухолевые клетки
Моноциты	Становятся макрофагами в тканях
Мегакариоциты, дающие начало тромбоцитам	Иницируют процесс свертывания крови

казана на рис. 16-32. Нейтрофилы, эозинофилы и базофилы объединяют под названием *гранулоцитов*: они содержат многочисленные лизосомы и секреторные пузырьки, или гранулы, и получили свои названия за различный характер окрашивания этих гранул. Различия в окрашивании отражают важные химические и функциональные особенности. Нейтрофилы, наиболее многочисленные из гранулоцитов, захватывают, убивают и переваривают бактерии. Лимфоциты составляют функционально разнородную группу клеток, участвующих в иммунных реакциях организма. Есть также *клетки-киллеры* («убийцы»), которые выглядят как лимфоциты и функционируют как вспомогательные клетки при иммунном ответе, но не являются частью собственно иммунной системы. Моноциты, выходя из кровяного русла, становятся *макрофагами*, способными уничтожить внедрившиеся микроорганизмы, инородные частицы и остатки разрушенных клеток путем фагоцитоза. Нейтрофилы и макрофаги—это главные «профессиональные фагоциты».

Различные клетки крови образуются в организме в разных количествах, и образование каждого их типа регулируется отдельно в соответствии с изменяющимися потребностями. Поэтому в гемопоэзе обязательно должны действовать какие-то сложные управляющие механизмы, пока еще недостаточно изученные. Этот процесс труднее исследовать, чем обновление клеток такой ткани, как эпидермальный слой кожи. Эпидермис обладает определенной пространственной организацией, которая позволяет без труда следить за процессом обновления и идентифицировать стволовые клетки. Не так обстоит дело с кровью. Изучение замены клеток крови требует более тонких экспериментальных методов, в том числе применения радиоактивных меток, введения клеток одного животного другому, а также изучения отдельных клеток и их потомства в культуре.

16.5.1. Новые клетки крови образуются в костном мозге [25]

Наиболее многочисленная категория клеток крови—эритроциты. Зрелый эритроцит плотно заполнен гемоглобином и практически не содержит обычных клеточных органелл. В эритроците взрослого млекопитающего нет даже ядра, эндоплазматического ретикулума, митохондрий и рибосом: они удаляются из клетки в процессе ее развития (рис. 16-33). Поэтому эритроцит не способен расти и делиться, и единственная возможность увеличить число эритроцитов

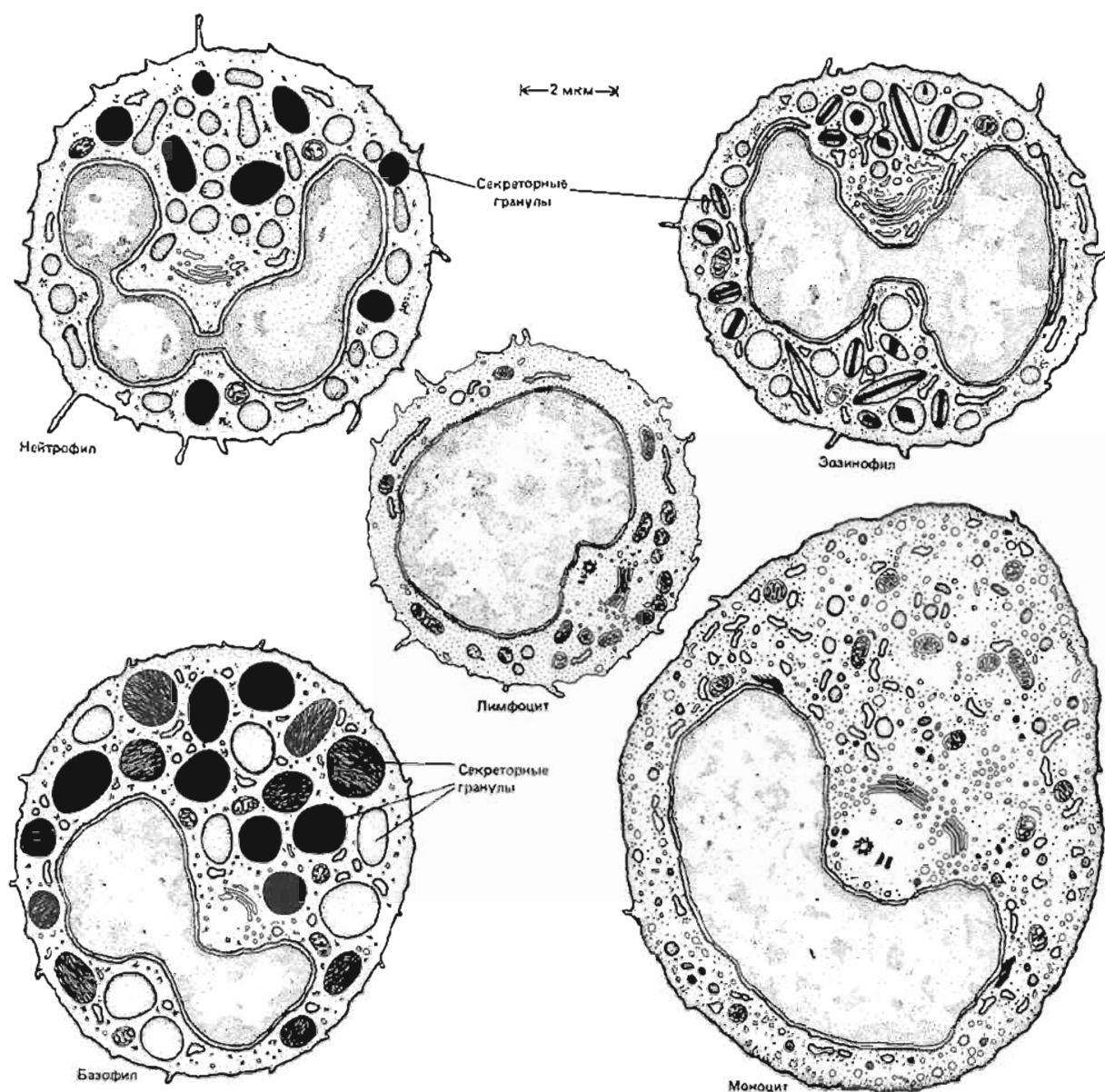


Рис. 16-32. Тонкие срезы лейкоцитов пяти основных типов, которые встречаются в циркулирующей крови. Показано разнообразие наблюдаемых структур. Все эти клетки развиваются из одинаковых плюрипотентных стволовых клеток. (Из T.L. Lentz. *Cell Fine Structure*, Philadelphia: Saunders, 1971, с небольшими изменениями.)

связана с пролиферацией стволовых клеток. К тому же время жизни эритроцитов невелико. Это можно продемонстрировать путем введения дозы радиоактивного железа, которое включается в белок эритроцитов, образующихся в данное время, и остается там до гибели клеток. Доля циркулирующих эритроцитов, содержащих радиоактивную метку, остается более или менее постоянной в течение нескольких месяцев после введения изотопа, а затем начинает снижаться, пока не упадет до нуля. Таким способом было установлено, что в среднем эритроцит человека циркулирует в крови около 120 дней. «Изношенные» эритроциты захватываются и разрушаются макрофагами в печени и селезенке.

Лейкоцитов (белых кровяных клеток) намного меньше, чем эритроцитов (их соотношение в кровотоке составляет примерно 1 : 1000), и разные виды их сильно различаются по скорости обновления. Большинство гранулоцитов циркулирует в крови всего несколько часов; затем они мигрируют в соедини-

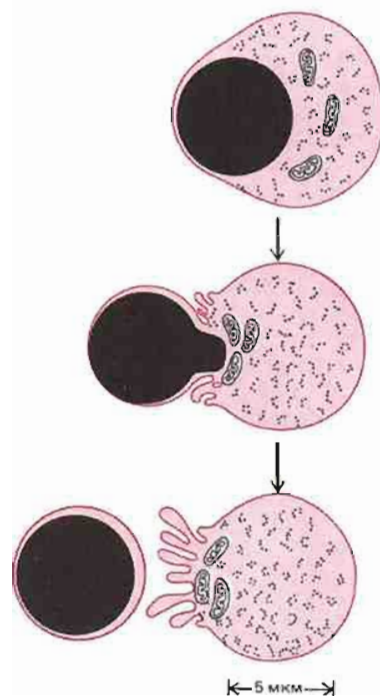
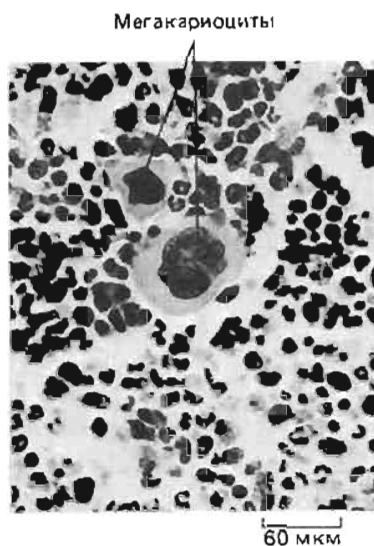


Рис. 16-33. Выталкивание ядра из незрелого эритроцита незадолго до выхода клетки из костного мозга в кровоток. Выброшенное ядро будет поглощено и переварено одним из макрофагов, находящихся в костном мозге. Оставшиеся в эритроците митохондрии и рибосомы будут утрачены через один или два дня.



тельную ткань, где находятся более длительное время. Например, нейтрофилы после выхода из кровяного русла живут несколько дней, а моноциты могут существовать в тканях в качестве макрофагов месяцами, а возможно, и годами. Этапы жизни лимфоцитов разного типа более сложны; они будут рассмотрены в главе 17. Некоторые лимфоциты выживают в течение нескольких лет, переходя из крови в ткани и обратно, в то время как большая часть их гибнет через несколько дней или недель после своего образования.

Клетки всех этих типов для замены погибших должны создаваться с надлежащими скоростями. Для поддержания постоянного количества эритроцитов нужно, чтобы их новообразование происходило с огромной скоростью (у человека более двух миллионов клеток в секунду). У млекопитающих новые эритроциты образуются главным образом в костном мозге, где можно обнаружить их предшественников, содержащих гемоглобин, но пока еще сохраняющих ядра. Эти предшественники, содержащие различное количество гемоглобина, представляют собой последовательные стадии развития зрелого безъядерного эритроцита. Довольно легко могут быть распознаны в костном мозге и незрелые предшественники трех типов гранулоцитов, а также мегакариоцитов. Мегакариоциты остаются в костном мозге и после созревания, составляя одну из самых заметных гистологических особенностей этой ткани (рис. 16-34): они необычайно велики (до 60 мкм в диаметре) и имеют высокополиплоидное ядро, а их цитоплазма разделена складчатыми слоями мембран (рис. 16-35). Тромбоциты образуются в виде пузырьков, которые в большом числе отделяются от периферических участков мегакариоцита.

Различные типы предшественников кровяных клеток в костном мозге перемешаны друг с другом, а также с жировыми клетками и фибробластами, образующими нежную опорную сеть коллагеновых волокон. Кроме того, вся ткань в изобилии пронизана тонкостенными кровеносными сосудами, в которые переходят новообразованные кровяные клетки (рис. 16-36).

16.5.2. Костный мозг содержит плюрипотентные стволовые клетки, которые могут создавать колонии кроветворных элементов [25, 26]

Неупорядоченное размещение различных клеток в костном мозге затрудняет идентификацию каких-либо предшественников зрелых кровяных клеток, кроме самых непосредственных. На очень ранних стадиях развития, когда видимая дифференцировка еще не началась, все клетки-предшественницы чрезвычайно сходны между собой по внешнему виду, а как выглядят первичные стволовые клетки, вообще остается предметом догадок. Результаты чисто описательных исследований сами по себе не позволяют даже утверждать, что эти стволовые клетки действительно находятся в костном мозге, и не дают ответа на вопрос, существует ли свой тип стволовой клетки для каждого типа клеток крови. Однако с помощью эксперимента на эти вопросы можно ответить. Большая часть наиболее важных данных получена в опытах на мышах.

Если животное подвергнуть рентгеновскому облучению в большой дозе, клеточное деление прекращается во всех тканях, в том числе и в кроветворных. Рентгеновские лучи вызывают поломки и другие нерепарируемые повреждения хромосом, и через несколько дней животное погибает из-за неспособности организма восполнять утрату клеток, в особенности клеток крови. Облученное животное можно, однако, спасти путем инъекции клеток, взятых из костного мозга здорового иммунологически совместимого донора. Среди этих клеток,

Рис. 16-34. Два мегакариоцита в костном мозге (световая микрофотография). Громадные размеры мегакариоцитов по сравнению с окружающими клетками костного мозга — результат высокой полиплоидности ядер. (С любезного разрешения Peter Gould.)

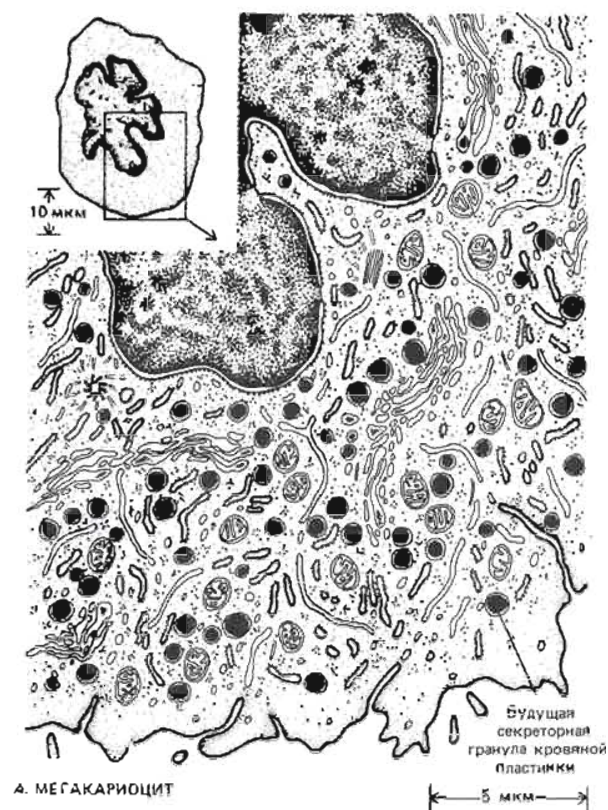


Рис. 16-35. А. Мегакариоцит (срез). Б. Отделившийся от мегакариоцита тромбоцит (объемное изображение, часть тромбоцита удалена). Обратите внимание на идущую по окружности связку микротрубочек, придающих тромбоциту его форму. (Из R. V. Kristić. *Ultrastructure of the Mammalian Cell: An Atlas*, Berlin, Springer, 1979.)

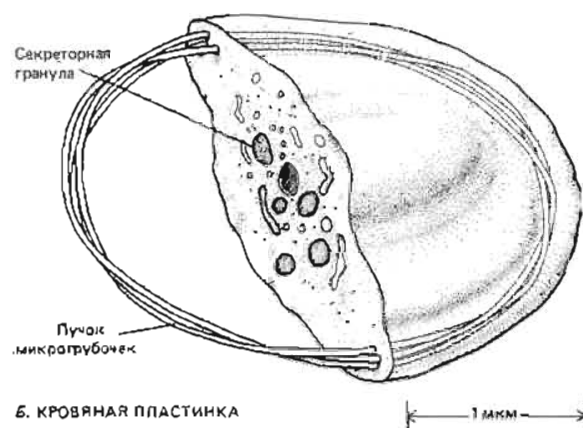


Рис. 16-36. Срез участка костного мозга. Эта ткань служит источником новых клеток крови у взрослых людей. Нелегко различить разные типы предшественников этих клеток в костном мозге, поэтому он выглядит менее упорядоченным, чем есть на самом деле. (Из L. Weiss, R. O. Greep. *Histology*, 4th ed., New York: McGraw-Hill, 1977, с небольшими изменениями.)

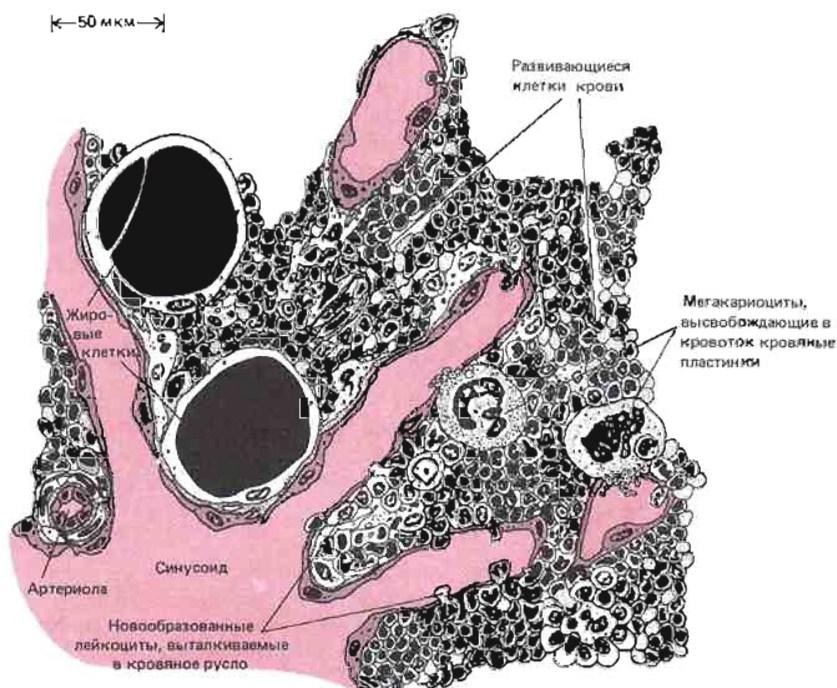




Рис. 16-37. Схема опыта, в котором селезенку сильно облученного животного заселяют кроветворными стволовыми клетками, взятыми от здорового донора.

очевидно, есть такие, которые способны образовать колонии в организме облученного реципиента и таким образом снабдить его кроветворной тканью.

Одной из тканей, в которой развиваются такие колонии, является селезенка, служащая у нормальных мышей важным дополнительным местом гемопоэза. Если исследовать селезенку облученной мыши через неделю или две после введения клеток от здорового донора, в ней можно увидеть множество обособленных узелков, каждый из которых содержит пролиферирующую кроветворную ткань (рис. 16-37). Раздельность узелков позволяет предполагать, что каждый из них, подобно колонии бактерий на культуральной чашке, образован клоном клеток, происходящих от одной исходной клетки, и это подтверждают эксперименты с использованием генетических маркеров. Клетку-родоначальницу такой колонии называют *колониобразующей единицей* (КОЕ). Некоторые, а может быть и все, КОЕ должны быть стволовыми клетками, поскольку некоторые из образуемых ими колоний неопределенно долго воспроизводят себя, продуцируя в то же самое время новые терминально дифференцированные кровяные клетки.

Такого рода эксперименты показывают, что кроветворные стволовые клетки присутствуют не только в костном мозге, но и в крови (хотя и в меньших количествах) и что эти клетки могут выходить из кровяного русла и размножаться в некоторых тканях, например в селезенке. Эта их способность создавать колонии играет важную роль в раннем развитии кроветворных тканей. Образование кровяных клеток происходит сначала во внезародышевой мезодерме, потом в печени и селезенке и, наконец, в костном мозге, где оно продолжается в течение всей жизни. Вероятно, при нормальном развитии селезенка, печень и костный мозг последовательно заселяются стволовыми клетками, возникающими где-то в других местах.

Для того чтобы показать, что по крайней мере некоторые КОЕ являются плюрипотентными стволовыми клетками, способными порождать дифференцированные клетки разных типов, достаточно исследовать состав отдельных хорошо развитых колоний в селезенке. Иногда в них можно обнаружить смесь созревающих эритроцитов, мегакариоцитов, гранулоцитов и макрофагов. С помощью несколько более сложных методов удается, кроме того, доказать, что лимфоциты, развивающиеся в основном в других частях организма, могут происходить из того же клона, что и иные клетки крови. (Есть данные о таком же происхождении *тучных клеток*, которые в норме не встречаются в крови, а находятся в соединительной ткани, где выделяют гепарин и гистамин при воспалительных реакциях.) В костном мозге имеются колониобразующие стволовые клетки (КОЕ), способные порождать все многообразие клеток крови (рис. 16-38). Перед их потомками последовательно встает выбор между несколькими альтернативными путями дифференцировки. Этот выбор может происходить случайным образом или же регулироваться, например, окружением стволовых клеток; вопрос о том, чем он определяется, до сих пор не разрешен, хотя и многократно обсуждался.

16.5.3. Число специализированных клеток крови увеличивается в результате делений, происходящих после соответствующей детерминации [27]

Когда клетка уже дифференцировалась как эритроцит, гранулоцит и т.п., обратный путь для нее закрыт: состояние дифференцировки необратимо. Следовательно, на какой-то стадии своего развития потомство плюрипотентной стволовой клетки должно окончательно вступить на определенный путь дифференцировки. На какой стадии это происходит? Простое исследование костного мозга под микроскопом ясно показывает, что это должно происходить задолго до последнего деления, при котором образуется зрелая дифференцированная клетка: можно распознать специализированные клетки-предшественники, уже проявляющие признаки начавшейся дифференцировки, но еще делящиеся. Поэтому можно думать, что после выбора определенного направ-

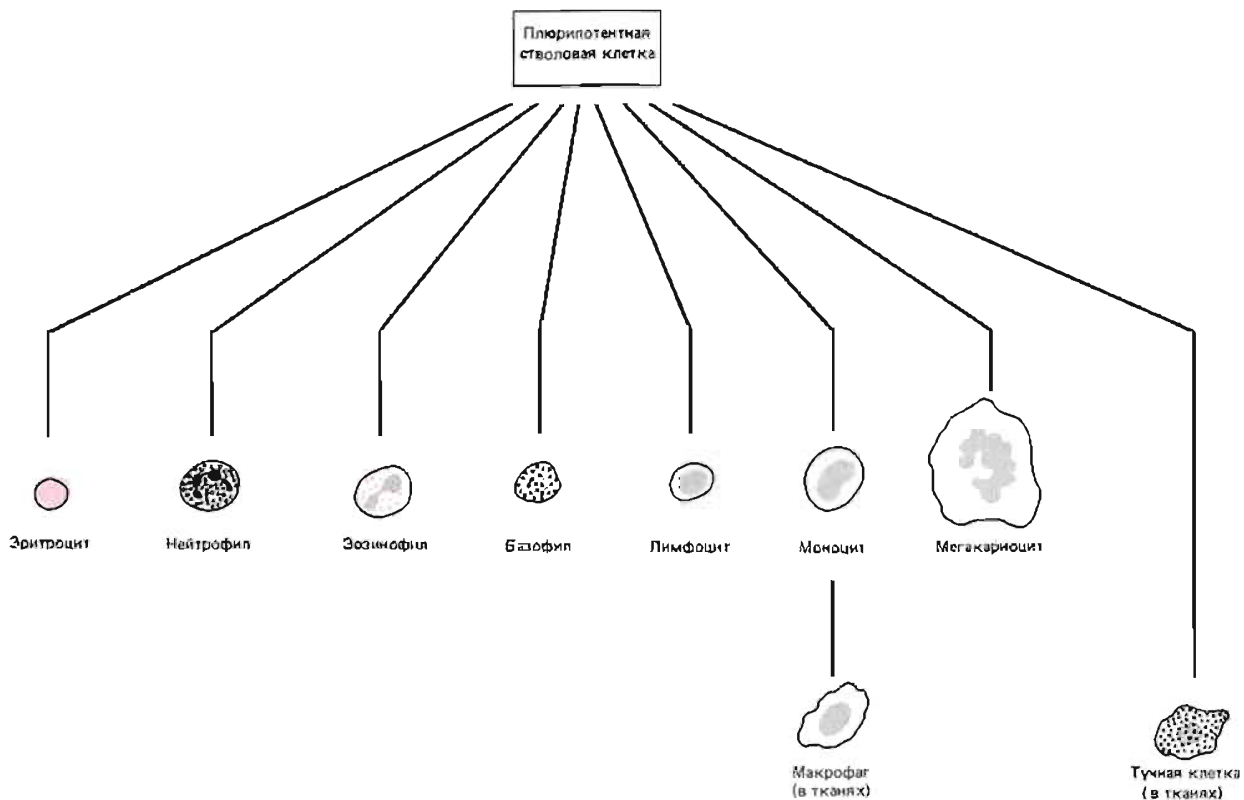


Рис. 16-38. Различные классы клеток, происходящих от плюрипотентной кроветворной стволовой клетки.

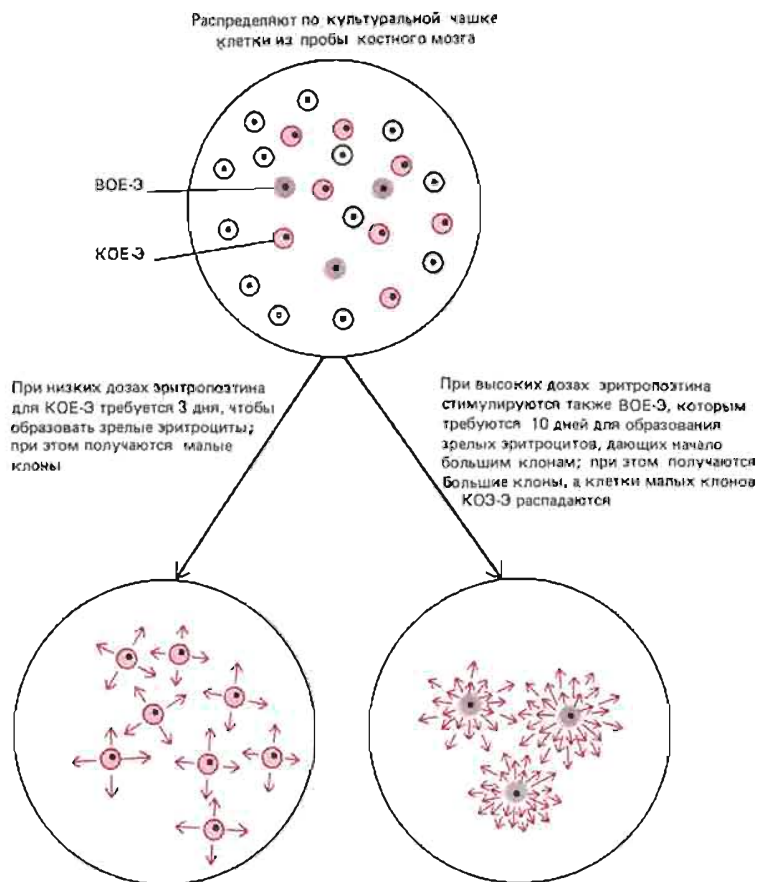
ления дифференцировки следует серия делений, увеличивающих число специализированных клеток данного типа. Таким образом, для образования очень больших количеств дифференцированных клеток крови нужно сравнительно небольшое число плюрипотентных стволовых клеток. Кроме того, оказывается, что деления, ведущие к увеличению числа клеток, находятся под контролем важных механизмов, регулирующих продукцию клеток каждого типа в соответствии с потребностью в них. Такие регуляторные механизмы особенно хорошо исследованы в случае образования эритроцитов.

16.5.4. Образование эритроцитов (эритропоэз) контролируется путем гормональной регуляции клеточных делений, происходящих после определения пути дифференцировки [25, 28]

Гормон **эритропоэтин** — это гликопротеин с мол. массой около 46 000, вырабатываемый главным образом в почках. Недостаток эритроцитов (например, после кровотечения) побуждает клетки почек к синтезу эритропоэтина и выделению его в кровь (и, наоборот, избыток эритроцитов снижает секрецию гормона). В свою очередь эритропоэтин стимулирует образование эритроцитов. Поскольку ускоренное поступление новых эритроцитов в кровь отмечается уже через один-два дня после повышения уровня эритропоэтина в крови, этот гормон должен воздействовать на очень близкие предшественники зрелых эритроцитов. Эти предшественники становятся чувствительными к эритропоэтину, когда они уже вступили на путь дифференцировки, ведущей к эритроциту. Поэтому их чувствительность может служить показателем того, насколько далеко эти клетки ушли по данному пути.

При росте диспергированных клеток костного мозга в культуре колонии эритроцитов образуются только в том случае, если в среду добавлен эритропоэтин. При умеренно низких концентрациях гормона через несколько дней появляются сравнительно мелкие колонии, содержащие самое большее около

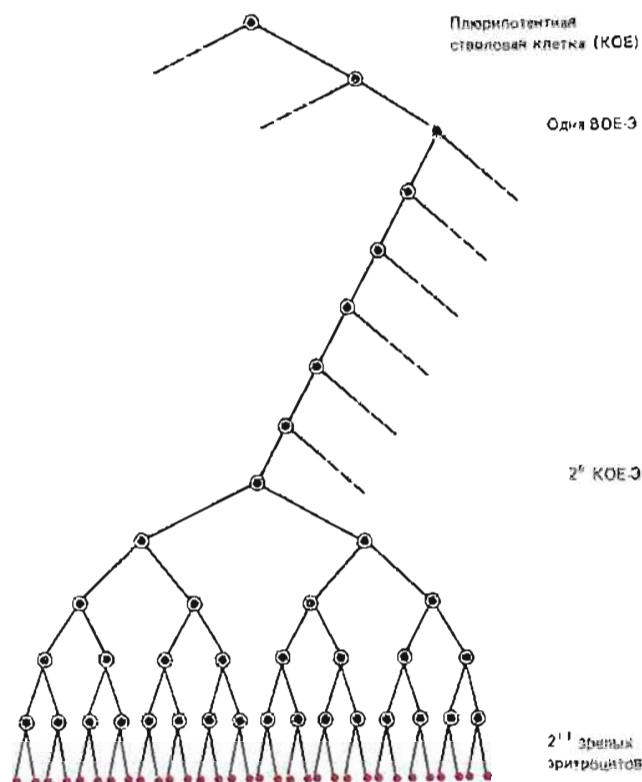
Рис. 16-39. Схема эксперимента с тканевыми культурами, демонстрирующего влияние эритропоэтина на дифференцировку клеток костного мозга в эритроциты. **ВОЕ-Э** и **КОЕ-Э** – это два типа предшественников эритроцитов. Различить их можно по реакции на гормон.



60 эритроцитов. Очевидно, каждая из этих колоний порождена клеткой-предшественницей (*колониобразующей единицей эритроидного ряда, КОЕ-Э*), которая обладала высокой чувствительностью к эритропоэтину; из таких клеток зрелые эритроциты получают через шесть или менее циклов деления. Число таких клеток-предшественниц в материале костного мозга, отбираемом для культуры, зависит от концентрации эритропоэтина, имевшейся у интактного животного перед взятием пробы. Если у животного был аномально повышенный уровень эритропоэтина в крови, то в его костном мозге находят необычно большое число КОЕ-Э, дающих эритроидные колонии в культуре. Поэтому можно думать, что КОЕ-Э костного мозга сами происходят от более раннего типа клеток-предшественниц, пролиферация которых также стимулируется эритропоэтином.

Этот вывод подтверждают дальнейшие исследования на тканевых культурах. Если концентрация эритропоэтина в культуральной среде в десять раз превышает концентрацию, оптимальную для образования мелких эритроцитарных колоний, то появляются колонии нового типа гораздо больших размеров, включающие до 5000 эритроцитов каждая (рис. 16-39). Для формирования этих колоний требуется семь-десять дней, а не два дня, как для мелких эритроцитарных колоний. Клетку-предшественницу, от которой они происходят, называют *взрывообразующей единицей эритроидного ряда (ВОЕ-Э)*. ВОЕ-Э отличаются от плюрипотентных стволовых клеток тем, что в ответ на воздействие эритропоэтина они пролиферируют, производя эритроциты. Отличие от КОЕ-Э состоит в том, что для стимуляции ВОЕ-Э нужен более высокий уровень гормона и от зрелых эритроцитов их отделяют 12 клеточных делений. Эти клетки отличаются от КОЕ-Э еще и по размерам, и их можно отделить от последних центрифугированием. Обнаружены также клетки, по

Рис. 16-40. Родословная, показывающая отношения между плюрипотентными стволовыми клетками (КОЕ), ВОЕ-Э, КОЕ-Э и зрелыми эритроцитами.



своим свойствам занимающие промежуточное положение между ВОЕ-Э и КОЕ-Э. Таким образом, ВОЕ-Э – это, по-видимому, клетка, определившая свой путь дифференцировки в эритроцит, и она является ранней предшественницей КОЕ-Э (рис. 16-40).

Клетки эритроидного ряда, путь дифференцировки которых определился, должны пройти несколько последовательных циклов деления, во время которых они становятся все более и более чувствительными к эритропоэтину. Синтез больших количеств мРНК, кодирующей гемоглобин, и самого гемоглобина начинается лишь тогда, когда клетка пройдет стадию КОЕ-Э. Большое число клеточных делений, происходящих в эритроидном ряду под действием эритропоэтина, служит мощным средством регулирования производства эритроцитов без нарушения образования других клеток крови.

16.5.5. Специфические гликопротеиновые гормоны контролируют выживание и судьбу различных классов коммитированных кроветворных клеток-предшественниц [29]

Накапливается все больше данных в пользу того, что помимо эритропоэтина существует ряд аналогичных гормонов, вырабатываемых в ответ на возникающую потребность в лейкоцитах различного типа. По-видимому, для каждого вида коммитированных клеток-предшественниц (т.е. клеток с уже определившимся направлением дифференцировки) нужен специфический гликопротеиновый фактор, без которого клетка погибнет; при наличии же такого фактора клетка будет размножаться и давать дифференцированное потомство.

Интересным примером может служить образование нейтрофильных гранулоцитов и макрофагов. Оба типа клеток происходят от одного предшественника, направление дифференцировки которого определено в том смысле, что, кроме этих двух типов, никакие другие клетки из него получиться не мо-

гут. Этот предшественник обладает лишь ограниченной способностью к делению, и выживание его зависит от особого фактора (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF). Это гликопротеин с мол. массой около 23 000, который секретируют многие виды клеток и концентрация которого в крови резко возрастает в ответ на инфекцию. Если клетки костного мозга культивировать в чашке, содержащей GM-CSF, то образуются колонии, содержащие примерно до 10 000 клеток и состоящие исключительно из гранулоцитов и макрофагов. Если (путем микроманипуляции под микроскопом) взять одну-единственную клетку-предшественницу и поместить ее в крошечную лунку с GM-CSF, то вырастает клон, который может состоять из гранулоцитов, макрофагов или их смеси. Чтобы выяснить, зависит ли такой выбор от самого GM-CSF, можно взять две недифференцированные клетки, полученные в результате деления одной клетки-предшественницы, и поместить одну из них в лунку с высокой концентрацией GM-CSF, а другую – в лунку с низкой концентрацией. Иногда обе сестринские клетки дают колонии одного и того же типа. Но если возникает различие, то образование колоний происходит предсказуемым образом: колония, вырастающая при высокой концентрации GM-CSF, состоит из гранулоцитов, а при низкой – из макрофагов. Это позволяет предположить, что в процессе развития общего предшественника гранулоцитов и макрофагов имеется стадия, на которой осуществляется выбор одного из двух направлений более узкой специализации, и этот выбор определяется концентрацией GM-CSF в окружающей среде. Дальнейшая разработка методов, позволяющих изучать одиночные кроветворные клетки в контролируемых условиях, вероятно, приведет к выяснению многих вопросов, оказавшихся трудноразрешимыми в экспериментах со смешанными популяциями клеток.

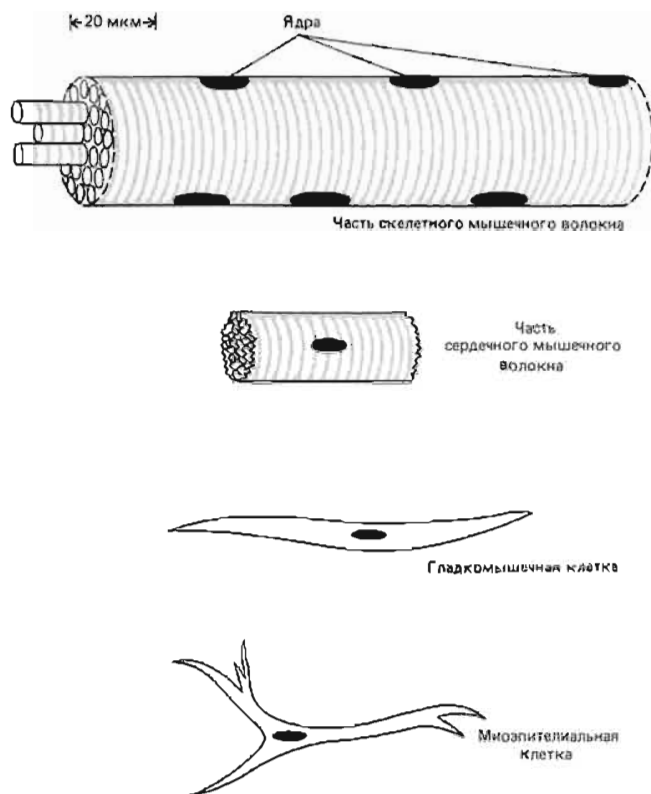
Заключение

Все многочисленные типы кровяных клеток ведут свое происхождение от одних и тех же плюрипотентных стволовых клеток и во взрослом организме образуются главным образом в костном мозге. В период эмбрионального развития эти стволовые клетки, циркулирующие в крови, способны оседать в костном мозге, селезенке или печени и основывать там новые колонии. Скорость образования зрелых клеток каждого типа регулируется главным образом в процессе ряда делений, которые проходят различно у предшественников клеток крови после того, как направление их дифференцировки определится, но до того, как они полностью дифференцируются. В эритроидном ряду коммитированные клетки (клетки с определившимся путем дифференцировки) в ходе последовательных делений приобретают все большую и большую чувствительность к эритропоэтину. Этот гормон выделяют почки при потребности в новых эритроцитах; он стимулирует образование эритроцитов, заставляя их коммитированных предшественников делиться и заканчивать свое созревание. Аналогичные факторы контролируют выживание и дальнейшее поведение различных коммитированных предшественников лейкоцитов.

16.6. Покоящиеся стволовые клетки в скелетных мышцах

«Мышечными» называют все типы клеток, функция которых состоит в сокращении, хотя в других отношениях эти клетки могут быть мало сходны между собой. Как говорилось в главе 10, сократительный аппарат, включающий актин и миозин и регулируемый ионами Ca^{2+} , – это фундаментальная особенность эукариотических клеток вообще; однако существует несколько различных путей особо мощного развития этого аппарата у специализированных клеток. У млекопитающих имеются четыре главных типа клеток, специально приспособленных для сокращения: клетки скелетных мышц, сердечной мыш-

Рис. 16-41. Четыре типа мышечных клеток у млекопитающих.



цы, гладкомышечные и миоэпителиальные клетки (рис. 16-41). Они различаются по функции, структуре и пути развития. Хотя все они, по-видимому, используют для создания механической силы актин и миозин, в клетках разного типа эти белки имеют несколько различную пространственную организацию и ассоциированы с разными наборами белков, регулирующих сокращение.

Клетки скелетных мышц, наиболее известные из сократимых клеток, ответственны практически за все произвольные движения. Эти клетки могут иметь огромные размеры (до полуметра в длину и до 100 мкм в диаметре у взрослого человека) и за свою форму получили также название *мышечных волокон*. Каждая такая клетка представляет собой синцитий, содержащий много ядер в общей цитоплазме. Клетки сердечной мышцы, гладкомышечные и миоэпителиальные клетки имеют более обычное строение – в них только по одному ядру. Клетки сердечной мышцы сходны с волокнами скелетной мускулатуры в том отношении, что нити актина и миозина в них образуют упорядоченные системы, придающие клеткам исчерченный вид. Гладкомышечные клетки получили свое название потому, что они, напротив, не выглядят исчерченными. Функция у гладкой мускулатуры весьма разнообразна – от проталкивания пищи по пищеварительному тракту до поднятия дыбом шерсти при холоде или страхе. Миоэпителиальные клетки в отличие от клеток трех других типов лежат в эпителии и происходят из эктодермы; они лишены исчерченности. Эти клетки образуют мускулатуру, расширяющую зрачок, в радужной оболочке глаза, а также используются для выдавливания слюны, пота и молока из соответствующих желез (см. рис. 16-29).

Четыре главных типа мышечных клеток можно далее подразделить на разные подтипы, каждый из которых имеет свои особенности. Но мы не будем продолжать сравнения и противопоставления, а сосредоточим свое внимание на клетках скелетных мышц с их интересным механизмом развития и необычным способом репарации повреждений.

16.6.1. Клетки скелетных мышц не делятся [30]

Для клеточного деления требуются точно скоординированные изменения и движения ядра и цитоплазмы. Если бы клетка скелетной мышцы могла делиться, этот процесс был бы необычайно сложен и труден, поскольку в ней не одно, а много ядер и, кроме того, ее цитоплазма заполнена высокоупорядоченными структурами из актина и миозина. В действительности клетки скелетных мышц не делятся. Каждое ядро содержит диплоидное количество ДНК и не способно к репликации ДНК. Вероятно, большинство клеток в скелетных мышцах сохраняется в течение всей жизни животного, но часть из них может быть каким-то образом разрушена. Поскольку клетки не делятся, мышца не способна возместить эту утрату путем простого удвоения оставшихся клеток. Новые клетки могут образоваться только в результате реактивации процесса, с которым связано развитие скелетных мышц в эмбриогенезе.

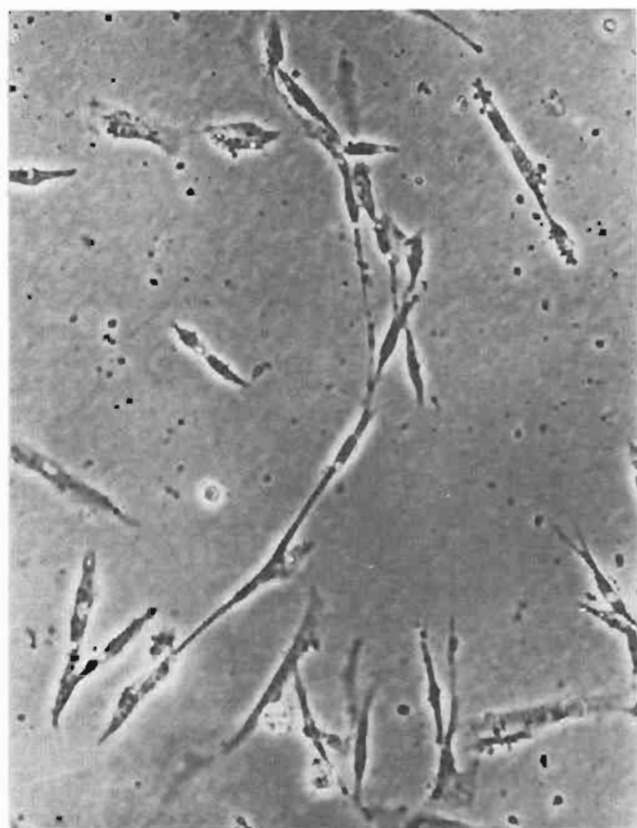
16.6.2. Новые клетки скелетных мышц образуются путем слияния миобластов [31]

В предыдущей главе было описано, каким образом определенные клетки, происходящие из сомитов на очень ранней стадии развития позвоночного, детерминируются как *миобласты*, т. е. как предшественники клеток скелетных мышц. Миобласты способны к делению, и они пролиферируют, оставаясь все это время внешне недифференцированными и почти неотличимыми от соседних мезенхимных клеток. Для образования многоядерных мышечных волокон миобласты на определенной стадии сливаются друг с другом, и при этом в них сразу начинается синтез специализированных белков, характерных для дифференцированных мышечных клеток (рис. 16-42). Слияние связано с какой-то формой специфического взаимного узнавания миобластов: они не сливаются с соседними немышечными клетками.

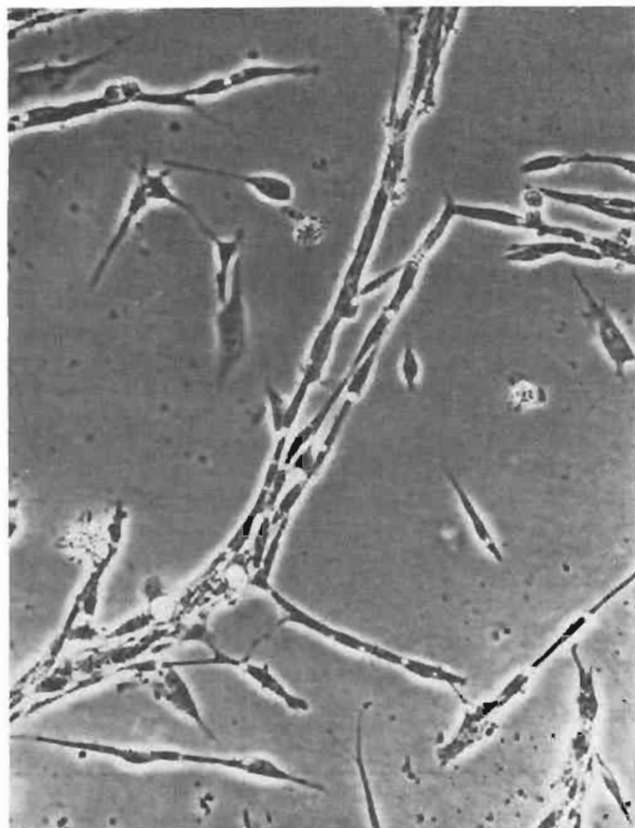
В культуре ткани миобласты удавалось поддерживать в пролиферирующем состоянии до двух лет. Все это время они сохраняли способность к слиянию и к дифференцировке в мышечные клетки при надлежащем изменении условий культивирования. Процесс слияния является кооперативным: сливающиеся миобласты так изменяют состав культуральной среды, что побуждают к слиянию другие миобласты. Подготовка отдельных миобластов к слиянию, по-видимому, сопряжена также с событиями клеточного цикла: слияние происходит только во время фазы G_1 .

16.6.3. Дифференцировка мышечных клеток требует координированных изменений экспрессии многих генов [32]

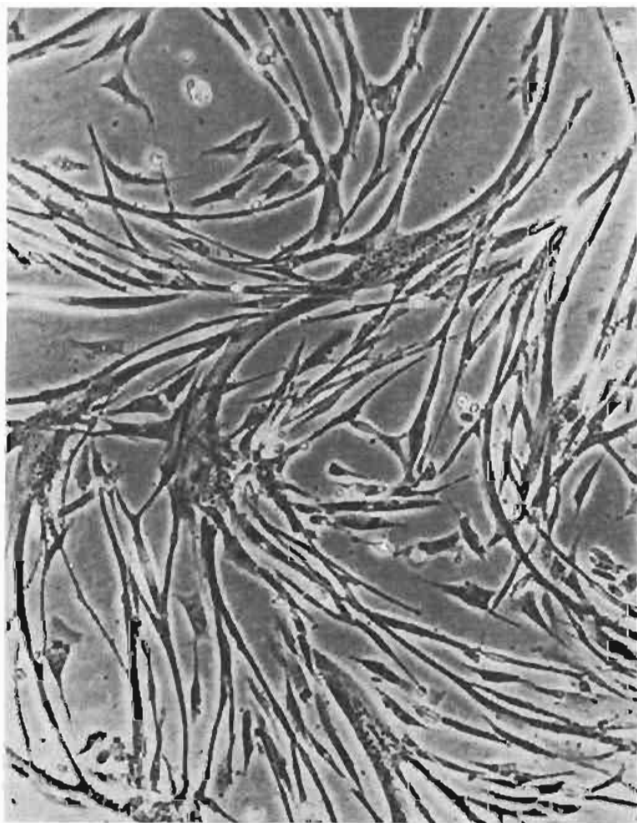
Поскольку все миобласты в культуре можно заставить синхронно дифференцироваться при соответствующем изменении культуральной среды, они представляют собой удобную систему для биохимического изучения регуляции генной экспрессии во время дифференцировки. Зрелое мышечное волокно отличается от других клеток наличием большого числа характерных белков, к которым относятся специфические виды актина, миозина, тропомиозина и тропонина (все это компоненты сократительного аппарата), креатинфосфокиназа (необходимая для специализированного метаболизма) и рецептор ацетилхолина (делающий мембрану чувствительной к нервным импульсам). В пролиферирующих миобластах эти белки отсутствуют или их очень мало. Например, в пролиферирующих миобластах птиц не выявляются субъединицы миозина, тропомиозина и тропонина, специфичные для мышц. Синтез этих белков впервые становится заметным, когда миобласты начинают сливаться, — примерно через 12 ч после помещения в культуральную среду, снижающую скорость пролиферации и способствующую дифференцировке. Синтез специфических мышечных белков возрастает вместе с повышением концентрации соответствующих мРНК: экспрессия генов в данном случае,



A 100 MKM



B 100 MKM



B 100 MKM



B 50 MKM

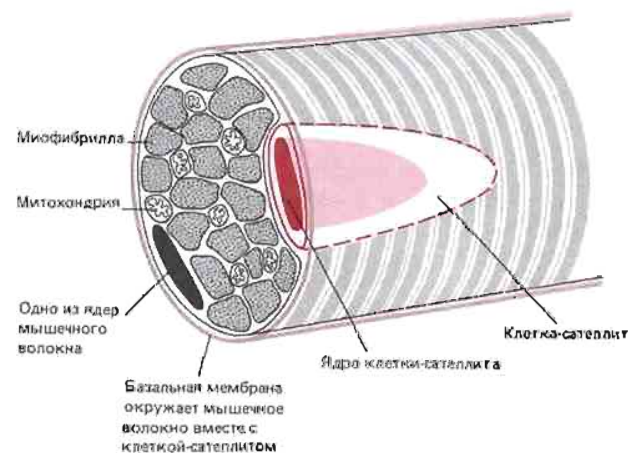
Рис. 16-42. Миобласты в культуре пролиферируют, выстраиваются в ряды, а затем сливаются, образуя многоядерные мышечные клетки. А, Б, В и Г – микрофотографии живой культуры (в фазово-контрастном микроскопе) на последовательных стадиях. Микрофотография Г сделана при большем увеличении: на ней видна поперечная исчерченность (указана длинной стрелкой), которая появляется, как только начинают развиваться сократительный аппарат. Видны скопления множества ядер в одной клетке (короткие стрелки). (С любезного разрешения Rosalind Zalin.)

по-видимому, регулируется на уровне транскрипции. За первые 40 ч после перемены среды скорость синтеза многих мышечных белков увеличивается по меньшей мере в 500 раз, достигая максимума – 40 000 молекул на клеточное ядро в минуту. Эта скорость одинакова (с точностью до 10%) для всех семи типов субъединиц (тяжелой цепи миозина, двух легких цепей миозина, двух субъединиц тропомиозина и двух субъединиц тропонина); ход нарастания во времени тоже практически одинаков. В целом так же обстоит дело и с другими специфическими белками мышц, хотя есть некоторые количественные различия. Кроме того, когда дифференцирующиеся миобласты начинают синтезировать тканеспецифические белки, скорость синтеза многих других белков, выявляемых методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле, также изменяется: одни синтезы прекращаются, другие достигают пика и затем снижаются, уровень третьих меняется скачком и т. д. Мы сейчас, по-видимому, далеки от понимания того, как эта сложная картина регулируется и координируется.

16.6.4. Некоторые миобласты сохраняются во взрослом организме в виде клеток-сателлитов [30, 33]

В связи с проблемой роста и обновления ткани важно то, что после слияния миобластов дальнейшее деление становится невозможным, хотя незрелые мышечные синцитии могут увеличиваться в размерах, присоединяя к себе все больше миобластов. Если бы у зародыша все миобласты слились друг с другом одновременно, тогда миобластов не осталось бы вовсе и вместе с тем не осталось бы возможности для увеличения числа клеток скелетных мышц по мере роста плода. На самом деле процесс слияния то затихает, то усиливается в течение долгого периода развития, и в результате митозов запас миобластов вновь пополняется, никогда полностью не исчерпываясь. Даже во взрослом организме остается небольшое число миобластов в виде маленьких, уплотненных и неактивных клеток, находящихся в тесном контакте со зрелыми мышечными волокнами (рис. 16-43). В случае повреждения мышцы в этих так называемых клетках-сателлитах пробуждается активность: они начинают пролиферировать и их потомки сливаются, образуя новые мышечные волокна. Клетки-сателлиты представляют собой самообновляющуюся популяцию и в то же время служат источником терминально дифференцированных клеток; иными словами, это стволовые клетки скелетных мышц.

Рис. 16-43. Клетка-сателлит (покоящийся миобласт) лежит у самой поверхности многоядерного мышечного волокна.



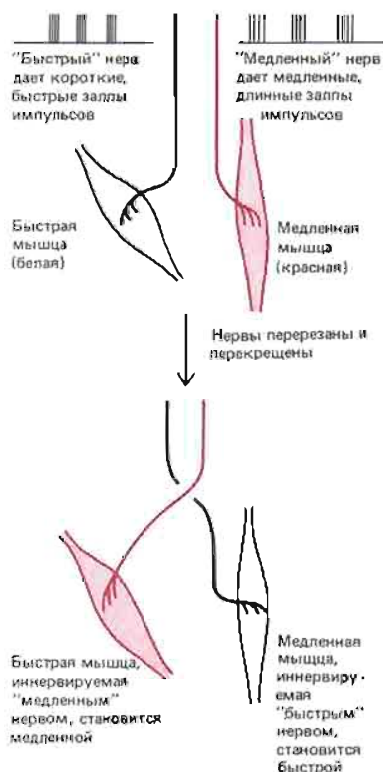


Рис. 16-44. Последствия иннервации «медленной» мышцы «быстрым» нервом и наоборот. Характер электростимуляции, производимой нервом, определяет тип дифференцировки иннервируемой мышцы.

16.6.5. Дифференцированное состояние волокон скелетных мышц можно изменить путем электростимуляции [34]

Терминально дифференцированные волокна скелетных мышц не вполне одинаковы. Но различия между ними, в противоположность различиям между клетками крови, не становятся необратимо детерминированными в процессе дифференцировки из общей стволовой клетки.

Легко различить два главных типа волокон. *Красные мышечные волокна*, как, например, в темном курином мясе, богаты белком, связывающим кислород, — миоглобином. *Белые мышечные волокна*, такие как в белом курином мясе, содержат гораздо меньше миоглобина. (Есть также промежуточные волокна, но основное внимание мы уделим красным и белым.) Различное содержание миоглобина — белка, родственного гемоглобину, — отражает различия в метаболизме клеток с неодинаковым потреблением кислорода: для красных волокон более характерно окислительное фосфорилирование, для белых — анаэробный гликолиз. Различные типы метаболизма в свою очередь связаны с разными типами сократительной активности. Красные волокна в ответ на стимуляцию сокращаются медленно, они менее подвержены утомлению и более эффективны при необходимости длительных усилий. Белые волокна дают быстрый ответ, легче утомляются и более эффективны при быстрых повторяющихся движениях. Красные и белые волокна содержат разные формы сократительных белков (таких, как миозин), кодируемых различными генами. В то время как большинство мышц содержит смесь волокон разного типа, некоторые мышцы оказываются в основном красными, т.е. медленными, а другие — в основном белыми, т.е. быстрыми.

Мышечные волокна приводятся в действие нервами, и описанная выше специализация была бы бесполезной, если бы каждому типу мышцы не соответствовал определенный характер импульсации в их двигательных нервах. Как же осуществляется это согласование, при котором аксоны, побуждающие мышцу к длительному сокращению, иннервируют красные волокна, а аксоны, передающие команды для быстрого ритмического сокращения, иннервируют белые волокна? Ответ можно получить в опытах с двумя соседними мышцами — медленной и быстрой — в конечности крысы (рис. 16-44). Нервы этих двух мышц перерезают и затем перекрещивают так, что каждый нерв врастает в мышцу не соответствующего ему типа и иннервирует ее. После этого свойства мышц изменяются: быстрая становится медленной, а медленная — быстрой. Очевидно, нервы диктуют мышцам выбор дифференцированного состояния. Какие бы другие различия ни существовали между этими двумя нервами, во всяком случае ясно, что они подают сигналы разного типа. «Медленный» нерв передает главным образом растянутые залпы импульсов, повторяющихся в каждом залпе с низкой частотой, а «быстрый» — короткие залпы с высокой частотой импульсов. Эти типы импульсации можно воспроизводить, перерезав нерв и стимулируя мышцу непосредственно через вживленные металлические электроды. Мышца, искусственно стимулируемая таким способом в течение нескольких недель, при подаче «медленных» сигналов становится медленной, а при подаче «быстрых» сигналов — быстрой. Таким образом, очевидно, что характер электрической стимуляции определяет картину экспрессии генов в мышечной клетке. Это еще один пример модуляции дифференцированного состояния: изменения в генной экспрессии незначительны и обратимы, и мышечное волокно остается мышечным волокном, хотя могут измениться его миозин, содержание миоглобина и набор ферментов метаболизма.

Заключение

Клетки скелетных мышц у позвоночных составляют один из четырех видов специализированных клеток, несущих функцию сокращения. Они ответственны за произвольные движения. Каждая клетка является синцитием и образуется

в результате слияния одноядерных миобластов. Миобласты могут делиться путем митоза, но многоядерные клетки скелетных мышц к этому не способны. Слияние миобластов обычно сопряжено с началом дифференцировки мышечной клетки. В ходе этого процесса координированно включаются много различных генов. Во взрослом организме часть миобластов продолжает существовать в состоянии покоя в виде клеток-сателлитов. В случае повреждения мышцы они играют роль стволовых клеток – начинают пролиферировать и сливаться, чтобы возместить утрату мышечных клеток. Состояние дифференцировки зрелых клеток в скелетной мышце видоизменяется в соответствии с характером электрических сигналов, которые они получают от нейронов.

16.7. Мягкие клетки и плотный матрикс: процессы роста, обновления и репарации в скелетной соединительной ткани [35]

Сочлененные твердые опорные элементы, к которым приложено воздействие скелетных мышц, состоят из костной ткани. Однако кость при всей ее твердости подвержена изменениям. Весь ее плотный межклеточный матрикс пронизан каналами и полостями, которые заняты живыми клетками. Эти клетки участвуют в непрекращающемся процессе перестройки. Клетки одного типа разрушают старый костный матрикс, а клетки другого типа образуют новый. Этот механизм обеспечивает обновление матрикса внутри кости.

Твердость матрикса такова, что кость может расти только путем аппозиции, т.е. наложения дополнительного матрикса и клеток на свободные поверхности плотной ткани. Это ограничение способа роста помогает сохранить структуру скелета неизменной в течение всей жизни взрослого организма. У эмбриона аппозиционный рост кости должен быть скоординирован с ростом других тканей так, чтобы организм мог увеличиваться в размерах без существенного искажения пропорций.

Рост большей части скелета, в особенности рост длинных костей конечностей и туловища, координируется с помощью сложной стратегии. У эмбриона из хряща образуется набор «масштабных моделей» костей. Каждая такая модель растет, и по мере образования нового хряща более старый хрящ замещается костью. Рост и разрушение хряща и отложение кости в период развития так тонко скоординированы, что у взрослого кость, даже достигнув полуметра в длину, имеет почти такую же форму, как изначальная хрящевая модель, длина которой не превышала нескольких миллиметров. Не углубляясь детально в геометрию этого процесса, мы остановимся на одинаковых у эмбриона и взрослого организма формах поведения клеток, лежащих в основе роста и обновления хряща и кости.

16.7.1. Хрящ способен к интерстициальному росту [35, 36]

«Сотрудничество» кости и хряща основывается на их контрастных свойствах. Обе ткани образуются из мезенхимных клеток, секретирующих большие количества внеклеточного матрикса, который содержит коллаген (см. разд. 12.3). Но костный матрикс тверд, а хрящевой податлив; поэтому хрящ в отличие от кости способен к интерстициальному росту: он может расти за счет того, что клетки, уже окруженные матриксом, продолжают секретировать его.

Хрящевые клетки, или хондроциты, отделены одна от другой. Каждая клетка занимает в матриксе небольшую полость, или лауну (рис. 16-45). Хрящ обычно не содержит кровеносных капилляров, а жизнедеятельность его клеток поддерживается благодаря диффузии питательных веществ и газов через матрикс от лежащих довольно далеко кровеносных сосудов и в обратном направлении. Большую часть массы хряща окружает *перихондрий* – плотный слой соединительной ткани, содержащей коллаген (рис. 16-45). Хрящ растет

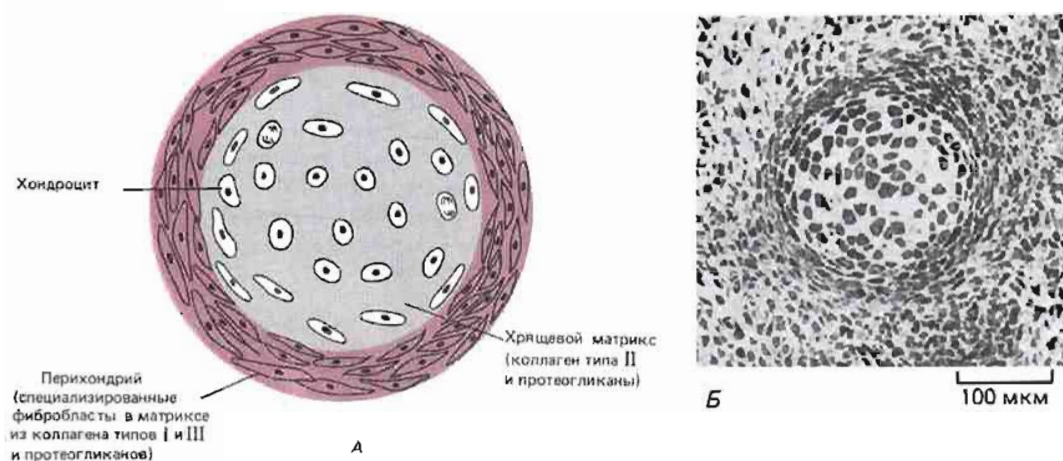


Рис. 16-45. А. Схематическое изображение среза, проходящего через хрящевую стержень. Показан окружающий хрящевую ткань фиброзный перихондрий. Каждый хондроцит заполняет лакуну в хрящевом матриксе. Б. Поперечный срез через хрящевую стержень у куриного эмбриона на ранней стадии развития. По мере роста ткани количество хрящевых матрикса, приходящегося на один хондроцит, будет сильно возрастать, и граница между хрящом и перихондрием обозначится более резко. (С любезного разрешения Peter Gould.)

изнутри по мере того, как хондроциты секретируют новый матрикс, а волокнистый перихондрий выступает в роли корсета, сдерживающего возможные изменения формы. В процессе роста хряща образуются и новые клетки: хондроцит, находящийся в матриксе в своей лакуне, разделившись, даст две клетки, и каждая из них будет затем секретировать новый матрикс, который вскоре образует слой, разделяющий пару сестринских клеток. Такие пары составляют характерную особенность микроскопической картины строения хряща. Каждый член пары может вновь разделиться, образуя так называемую «кизогенную» группу клеток, каждая из которых секретирует матрикс и таким образом постепенно отодвигается от своих сородичей (рис. 16-46).

Новые клетки могут также поступать в хрящ из перихондрия. Перихондриальные клетки, напоминающие фибробласты, делятся и подвергаются превращению, в результате которого они начинают образовывать вокруг себя хрящевой матрикс и быстро становятся полиправными хондроцитами. Этот процесс противоположен процессу, описанному в этой главе ранее (разд. 16.1.2), при котором хондроциты преобразуются в клетки, напоминающие фибробласты.

16.7.2. Osteoblastы секретируют костный матрикс, а osteoclastы разрушают его [35, 37]

Кость – ткань более сложная, чем хрящ. Костный матрикс секретируют **остеобласты**, которые лежат на поверхности существующего матрикса и наслаивают на него новый костный материал (рис. 16-47). Некоторые остеобласты остаются свободными на поверхности, в то время как другие постепенно погружаются в продукт своей собственной секреции. Этот свежизготовленный материал (состоящий главным образом из коллагена) называется *остеоидом*. Он быстро превращается в плотный костный матрикс в результате отложения кристаллов фосфата кальция (точнее, гидроксиапатита). Специфический костный белок *остеоонектин*, который прочно связывается с коллагеном и с гидроксиапатитом, по-видимому, определяет места роста кристаллов и прикрепления их к органическому матриксу. Оказавшись заключенной в твердый матрикс, исходная костеобразующая клетка, называемая теперь **остеоцитом**, уже не может больше делиться или секретировать в заметных количествах матрикс. Подобно хондроциту, остеоцит занимает небольшую полость, или лакуну, в матриксе, но в отличие от хондроцитов он не отделен от своих собратьев: от каждой лакуны отходят очень узкие каналы, которые содержат отростки лежащего в лакуне остеоцита, позволяющие ему устанавливать связи типа целевого контакта с соседними остеоцитами. Хотя сети остеоцитов

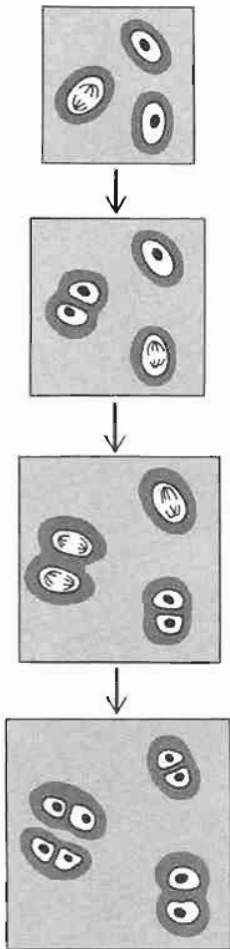


Рис. 16-46. Рост хряща. Ткань разрастается, по мере того как хондроциты делятся и производят больше матрикса. Новосинтезированный матрикс, непосредственно окружающий клетки, выделен более темным серым цветом. Хрящ растет также благодаря поступлению фибробластов из перихондрия и их превращению в хондроциты (см. рис. 16-45).

Рис. 16-47. Эта схема показывает, как остеобласты, выстилающие поверхность кости, секретируют органический матрикс кости (остеоид) и превращаются в остециты по мере погружения в этот матрикс. Образующийся матрикс вскоре обызвествляется.

сами не секретируют матрикс и не разрушают его, им, вероятно, принадлежит важная роль в регуляции активности тех клеток, которые это делают.

В то время как остеобласты откладывают костный матрикс, остеокласты разрушают его (рис. 16-48). Остеокласты — это крупные многоядерные клетки типа макрофагов. Подобно другим макрофагам, они развиваются из моноцитов, образующихся в кроветворной ткани костного мозга. Эти предшественники остеокластов выходят в кровяное русло и скапливаются в местах резорбции кости; там они сливаются друг с другом, образуя многоядерные остеокласты, которые внедряются в поверхностные слои костного матрикса и постепенно растворяют его.

В этом процессе много непонятного. Не известно, в частности, что определяет судьбу матрикса на данной костной поверхности — будет он достраиваться остеобластами или разрушаться остеокластами? Кости обладают поразительной способностью перестраивать свою структуру таким образом, чтобы приспособиться к испытываемым нагрузкам. Из этого следует, что локальные механические напряжения каким-то образом управляют образованием и разрушением матрикса. Согласно одной теории, эти напряжения влияют на клетки, создавая локальные электрические поля, к которым клетки чувствительны. В создании такого эффекта в матриксе могли бы участвовать коллагеновые волокна, поскольку они являются пьезоэлектриками, т.е. приобретают электрический заряд при механических воздействиях. Каков бы ни был этот механизм, весьма вероятно, что каким-то образом в нем участвуют и остециты: там, где они погибли (например, в результате прекращения кровоснабжения), костный матрикс быстро разрушается.

Остеокласты способны проделывать глубокие ходы в материале компактной кости (рис. 16-49), образуя полости, в которые затем проникают другие клетки. По оси такого туннеля прорастают кровеносные капилляры, а стенки его покрываются слоем остеобластов. Остеобласты откладывают концентрическими слоями новую кость, которая постепенно заполняет полость, оставляя лишь узкий канал вокруг нового кровеносного сосуда. Многие остеобласты оказываются замурованными в костный матрикс и образуют там концентрические кольца остеоцитов. В то время как одни туннели заполняются костью, другие заново прокладываются остеокластами в более старых концентрических системах. Результаты этой непрерывной перестройки хорошо видны на гистологических препаратах компактной кости (рис. 16-50).

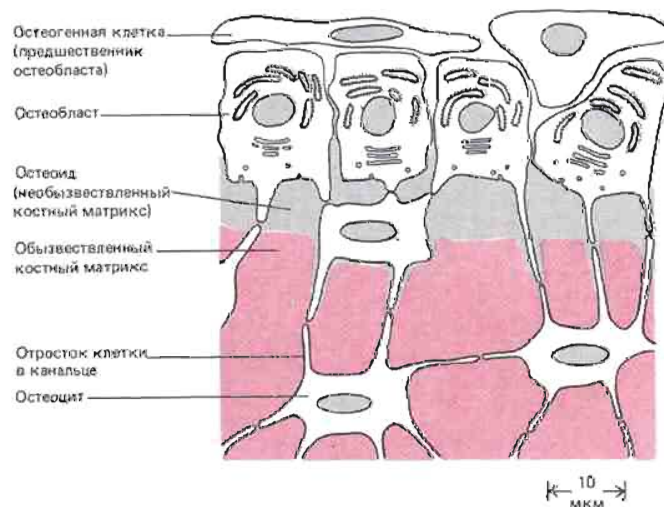


Рис. 16-48. Остеокласт — гигантская клетка, разрушающая костный матрикс. Здесь она показана в поперечном разрезе. (R. V. Kristić. *Ultrastructure of the Mammalian Cell: An Atlas*, Berlin, Springer, 1979.)

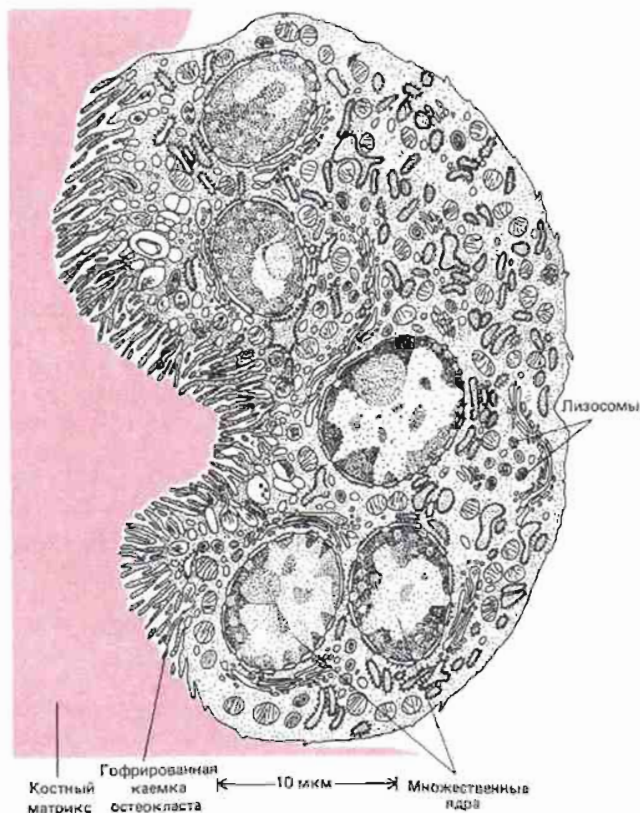


Рис. 16-49. Схема, иллюстрирующая процесс перестройки компактного вещества кости. Остеокласты, действуя небольшими группами, прокладывают туннели в старой кости, продвигаясь ежедневно приблизительно на 50 мкм. Вслед за ними в туннель входят остеобласты; они выстилают стенки туннеля и начинают образовывать новую кость, откладывая матрикс со скоростью 1–2 мкм в сутки. Одновременно по оси туннеля прорастают капилляры. Туннель будет постепенно заполняться концентрическими слоями новой кости — будет оставаться свободным лишь узкий центральный канал. Каждый такой канал не только обеспечивает доступ остеобластов и остеокластов, но содержит также один или несколько кровеносных сосудов, доставляющих питательные вещества, необходимые для жизни костных клеток. Обычно за год у здорового взрослого млекопитающего таким способом заменяется 5–10% кости.

(Z. F. G. Jaworski, B. Duck, G. Sekly. *J. Anat.*, 133, 397–405, 1981.)

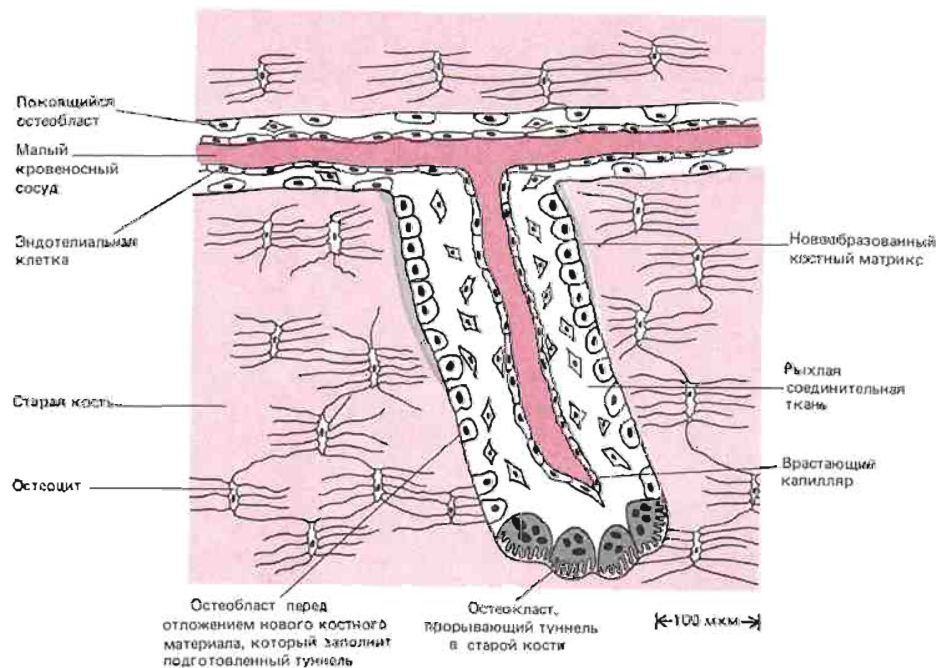
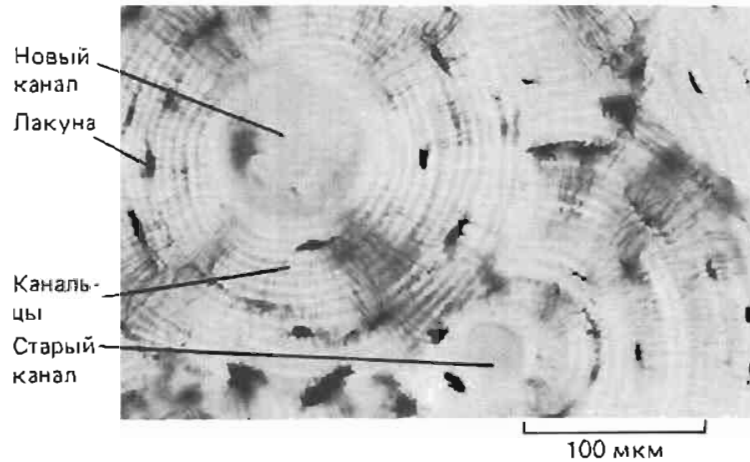


Рис. 16-50. Микрофотография поперечного среза длинной кости. Срез приготовлен методом шлифования. Плотный матрикс сохранился, но клетки разрушены; однако отчетливо видны лакуны и каналцы, которые были заполнены остеоидами и их отростками. Чередующиеся светлые и темные концентрические кольца соответствуют изменяющейся ориентации волокон коллагена в последовательных слоях костного матрикса, отложенного остеобластами, выстилавшими стенки в разные периоды жизни особи. (Такая картина получается при наблюдении образца между двумя частично скрещенными поляризованными фильтрами.) Обратите внимание на то, что часть более старой системы концентрических костных слоев (внизу справа, с узким центральным каналом) частично резорбирована и заменена более новой системой, в которой центральный канал все еще остается широким – по-видимому, потому, что он еще находится в процессе заполнения.



16.7.3. Остеокласты разрушают хрящ, чтобы проложить путь для роста кости [35]

Полагают, что замена хряща костью в процессе развития организма (рис. 16-51) тоже зависит от активности остеокластов. По мере созревания хряща некоторые участки его минерализуются, подобно кости, в результате отложения кристаллов фосфата кальция в его матриксе. В то же время хондроциты в таких участках набухают и гибнут, оставляя большие пустоты. Остеокласты и кровеносные сосуды заполняют эти пустоты и разрушают минерализованный хрящевой матрикс, а следующие за ними по пятам остеобласты начинают откладывать костный матрикс. Единственное, что остается от хряща в длинных костях у взрослого животного, – это тонкий слой, образующий гладкое покрытие в области суставов, где одна кость сочленяется с другой.

Некоторое число клеток, способных к образованию нового хряща, сохраняется в соединительной ткани, окружающей кость. В случае перелома кости клетки из прилегающей области проведут починку, воспроизведя «на скорую руку» первоначальный эмбриональный процесс: сначала откладывается хрящ,

Рис. 16-51. Схема развития кости из миниатюрной хрящевой модели. Необызвествленный хрящ показан светло-серым цветом, обызвествленный – темно-серым, кость – черным, кровеносные сосуды – красным цветом. Хрящ не превращается в кость, а постепенно заменяется ею в результате деятельности остеокластов и остеобластов, которые внедряются в хрящ вместе с кровеносными сосудами. Остеокласты разрушают хрящевой и костный матрикс, в то время как остеобласты секретируют костный матрикс. Процесс окостенения начинается у эмбриона и заканчивается к концу периода полового созревания. Обратите внимание на то, что не все кости развиваются таким путем. Например, плоские кости черепа формируются сразу как костные пластинки, без предварительной стадии хрящевой модели.



чтобы заполнить разрыв, а затем хрящ заменяется костью. Кость, как и весь организм в целом,—это динамичная система, поддерживающая свою структуру благодаря балансу между противоположными видами деятельности различных специализированных клеток.

Заключение

И хрящ, и кость состоят из клеток, погруженных в плотный матрикс. Хрящ с его податливым матриксом способен к интерстициальному росту, тогда как твердая кость может расти только в результате отложения нового материала на поверхности. Тем не менее кость подвергается непрерывной перестройке благодаря совместной деятельности остеокластов (специализированных макрофагов), разрушающих матрикс, и остеобластов, которые его создают. Некоторые остеобласты замуровываются в матрикс, становятся остеоцитами и участвуют в регуляции обновления костного матрикса. Большинство длинных костей развивается из миниатюрных хрящевых «моделей», которые по мере роста служат матрицами для отложения костного вещества в результате совместной активности остеобластов и остеокластов. Сходным образом происходит заживление перелома кости у взрослого организма: сначала разрыв заполняется хрящом, который позже замещается костью.

16.8. Территориальная стабильность во взрослом организме [38]

Мы рассмотрели, как клетки в тканях разного типа поддерживают свое дифференцированное состояние, как образуются новые клетки взамен утраченных, как перестраивается и обновляется внеклеточный матрикс. Но почему клетки различных типов постепенно не перемешиваются, почему не нарастает хаос? Почему структура в целом не искажается, не изменяет своих пропорций, по мере того как старые элементы заменяются новыми?

Конечно, с течением времени организм в какой-то степени все же деформируется: это одно из проявлений старения. Но поразительно то, что эти изменения так малы. Скелет, несмотря на постоянную перестройку, обеспечивает жесткую конструкцию, размеры которой почти не меняются. Это можно объяснить тем, что различные участки кости обновляются не все сразу, а мало-помалу, как при ремонте здания, в котором кирпичи заменяют по одному. Если же крупную часть удалить целиком, то структура оставшегося, несомненно, изменится. Например, после удаления всех зубов изменяется форма челюсти (рис. 16-52).

Рост и обновление многих мягких частей тела гомеостатически контролируется таким образом, чтобы каждая деталь точно соответствовала предназначенному для нее месту. Эпидермис разрастается так, чтобы покрыть всю поверхность тела, и когда эта цель достигнута, миграция клеток прекращается в результате *контактного ингибирования* (разд. 11.1.6); соединительная ткань разрастается ровно настолько, чтобы заполнить образовавшийся при ранении дефект, и так далее. Но необходимо нечто большее. При обновлении дифференцированных клеток различного типа должны поддерживаться не только нужные численные отношения между ними, но и их правильное относительное расположение. При обновлении тканей неизбежны перемещения клеток, и эти перемещения должны быть каким-то образом ограничены.

Ограничивающие факторы могут быть разными. Например, железы и другие скопления специализированных клеток часто находятся в плотных капсулах из соединительной ткани. Клетки некоторых типов погибают, если оказываются вне своего обычного окружения и лишаются специфических факторов роста, необходимых для их выживания (разд. 11.1.7). Наиболее важным механизмом, удерживающим различные клетки на своих местах, является избиратель-

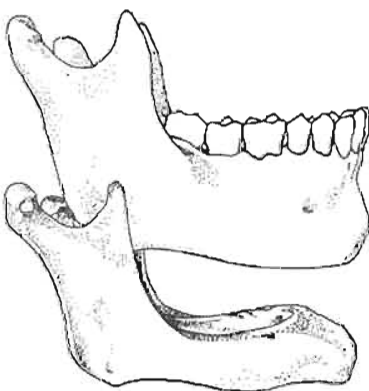


Рис. 16-52. Вверху изображена нормальная челюсть человека. Внизу показано, как изменяет кость свою форму после утраты зубов. (R. J. Gross, The Physiology of Growth, New York: Academic Press, 1978).

тельная адгезия: клетки одного и того же типа имеют тенденцию «слипаться» друг с другом (разд. 12.1.4), образуя либо плотные массы (как, например, в случае гладкой мускулатуры), либо эпителиальные слои (выстилка кишечника и т.п.).

16.8.1. Организация эпителиев способствует тому, чтобы клетки оставались в пределах своих территорий

Эпителиальные клетки удерживаются на своем месте благодаря прикреплению друг к другу и к базальной мембране. Базальная мембрана образует строго соблюдаемую границу между двумя компартментами – эпителием и подлежащими тканями. В нормальных условиях только немногие специализированные клетки, такие как лимфоциты, макрофаги и отростки нейронов, могут пересекать этот барьер.

Эпителиальный слой, будучи своего рода тюрьмой для своих собственных клеток и их потомства, может также служить для обособления других клеток. Например, слой эндотелиальных клеток, выстилающий кровеносные сосуды, удерживает клетки крови в кровяном русле. Аналогично этому эпителий, выстилающий кишечник, не дает соединительнотканым клеткам уходить из его стенки в просвет кишки. Большинство типов клеток в организме, в том числе многие очень быстро обновляющиеся клетки, организованы в эпителиальные слои. Таким образом, компартментализация организма, осуществляемая эпителиями, играет ключевую роль в сохранении обособленности клеток и удержании их на надлежащих местах.

16.8.2. Нормальным соматическим клеткам суждено погибнуть, чтобы половые клетки смогли выжить [39]

В начале этой главы была высказана мысль, что организм можно рассматривать как сообщество или экосистему, отдельными членами которой являются клетки; и далее нас в первую очередь интересовали проблемы, изучаемые также экологами: рождаемость, смертность, местообитания, территориальные ограничения, поддержание размеров популяции и т.п. – применительно к клеткам организма. Но при этом один экологический аспект явно отсутствовал: это вопрос о естественном отборе. Ничего не говорилось о конкуренции или мутациях соматических клеток. Причина этого в том, что здоровый организм представляет собой в этом отношении очень своеобразное сообщество – такое, в котором абсолютный альтруизм служит высшим законом поведения для всех групп индивидуумов, кроме одной. Все соматические клетки должны погибнуть, не оставив потомства, для того чтобы половые клетки имели шанс на выживание. В этом, однако, нет ничего загадочного. Хотя соматические клетки гибнут, они помогают сохранению генов, которые они несут сами, так как организм – это клон, и гены в соматических клетках те же, что и в половых клетках. Геном, порождающий «тупиковые» линии смертных дифференцированных клеток, успешно воспроизводится потому, что наряду с ними он порождает половые клетки, выживающие благодаря самопожертвованию их сородичей.

Вопрос об эволюционной выработке альтруистического поведения, приносящего пользу близким родственникам, широко обсуждался социобиологами. Примером может служить забота родителей о потомках, и еще более яркий пример – забота рабочих пчел о матках. Необычайно альтруистичное поведение общественных насекомых, таких как муравьи, пчелы и осы, можно объяснить генетическими особенностями их полового репродуктивного цикла: этот цикл организован таким образом, что сестринские особи имеют значительно более сходные геномы, чем сестры или братья (а также родители и их потомки) у большинства других видов. Поэтому альтруистический акт по отношению к сестринской особи у муравьев, пчел или ос больше способствует сохранению генов, ответственных за такое поведение, чем тот же альтруистический

акт у других животных. В сообществе клеток, составляющих организм многоклеточного растения или животного, геномы не просто сходны, а идентичны, и поэтому не удивительно, что альтруизм здесь доведен до крайней степени.

Конечно, отдельные клетки клона могут и не придерживаться стратегии специализации и альтруизма: тысячи генетически идентичных бактерий *E. coli*, происходящих от одной родительской клетки, конкурируют между собой, вместо того чтобы сотрудничать. Но если стратегия сотрудничества, предназначенная для распространения данного генома, уже возникла, тогда всякая мутация, приводящая к неальтруистичному поведению отдельных членов сообщества, становится особенно опасной. Эгоистичное поведение мутантной клетки в организме подвергает риску будущее всего многоклеточного коллектива. Иными словами, мутации и естественный отбор, действующие *внутри* популяции соматических клеток, могут привести к гибели. Насколько велика опасность в этом случае и какого рода защита от нее выработалась в процессе эволюции?

16.8.3. Раковые клетки нарушают правила альтруистичного социального поведения [40]

В течение жизни в человеческом организме происходит около 10^{16} клеточных делений. Время от времени возникают спонтанные мутации; для клеток человека их среднюю частоту оценить трудно, но, по-видимому, она составляет около 10^{-6} мутаций на один ген за один цикл деления. Таким образом, на протяжении жизни каждого индивида обычный ген, вероятно, может подвергнуться мутации примерно в 10^{10} отдельных случаях. Среди мутантных соматических клеток почти наверняка будет много таких, которые делятся, игнорируя нормальную регуляцию или быстрее, чем немутантные клетки того же типа. Поэтому проблема рака состоит не в том, почему он возникает, а в том, почему он возникает не так уж часто. Почему наш организм не переполнен непрерывно появляющимися мутантными клонами, имеющими селективное преимущество перед нормальными клетками?

Ответ на этот вопрос будет достаточно сложным. Предположим, например, что какая-то клетка в эпителии тонкой кишки подверглась мутации, ускоряющей ее деление. Последствия этого будут зависеть от местоположения клетки в момент возникновения мутации. Если, например, клетка находилась около дна крипты, то она и ее мутантные потомки будут обычным образом передвигаться на открытую поверхность ворсинки и в конце концов будут сброшены в просвет кишечника (см. рис. 16-20). Для образования клона, который сохранится в организме, нужно, чтобы мутация возникла в стволовой клетке. Однако даже это само по себе еще не создаст непосредственной угрозы. Каждая крипта представляет собой автономную пролиферирующую единицу, надежно изолированную от соседних крипт открытой поверхностью, где клетки окончательно дифференцируются и разрушаются. Поэтому мутантная стволовая клетка, которая просто размножается быстрее, чем нормальная, может заселить своими потомками собственную крипту и смежные с ней ворсинки, но эти потомки не смогут переходить из одной крипты в другую и, значит, будут не в состоянии распространиться во всем остальном кишечнике. Мутантные стволовые клетки кишечного эпителия станут опасными лишь в том случае, если они преодолеют территориальные барьеры, которые удерживают нормальные клетки в надлежащих местах. Иными словами, мутантные клетки должны быть способны к *инвазивному* росту или *метастазированию*. Каким-то образом они должны расти и распространяться в подлежащей соединительной ткани, вход в которую для нормальных эпителиальных клеток закрыт базальной мембраной и «правилами поведения». Или же мутантные клетки должны выслать колонистов, которые смогут пробираться по чужим территориям и продолжать пролиферацию в таких условиях, в которых нормальные клетки размножаться не будут. Клетки, которые

сверх меры размножаются, оставаясь на прежнем месте, образуют *доброкачественные опухоли*. Такую опухоль обычно можно полностью удалить хирургическим путем. В отличие от этого раковые опухоли *злокачественны* – не только размножение, но и расселение их клеток уже не находится под контролем нормальных регулирующих факторов. Чем шире такие клетки распространяются по организму, тем труднее удалять их путем хирургических операций.

Общепризнано, что раковые заболевания у человека, за исключением, возможно, тератом (разд. 15.3.7) и опухолей, вызываемых вирусами, возникают из клонов мутантных клеток. Однако организм устроен так, что, хотя мутирует много клеток, лишь немногие из них представляют опасность. Чтобы привести к раку, мутация должна возникнуть в клетке, расположенной соответствующим образом, и придать ей целый ряд новых свойств. Есть даже данные о том, что одной мутации, как правило, недостаточно: по-видимому, большинство опухолей возникает только после нескольких мутаций в одной и той же клеточной линии. Перед исследователями рака стоят очень трудные задачи: приходится анализировать множество различных способов, с помощью которых мутантные клетки нарушают правила альтруистичного поведения, колонизируя участки, в норме предназначенные для клеток других типов.

Заклучение

В зрелом возрасте организм позвоночного находится в состоянии динамического равновесия. Размножение клеток регулируется гомеостатически, и имеются различные механизмы, благодаря которым клетки не попадают в неподходящие для них места. Хотя в течение жизни животного в его соматических клетках происходит огромное число мутаций и при этом часто появляются клетки, вышедшие из-под контроля каких-либо регуляторных факторов, рак возникает сравнительно редко. По-видимому, в основном это объясняется тем, что для возникновения злокачественной опухоли требуется сочетание в одной клетке нескольких специфических мутаций, которые позволяли бы ей неограниченно размножаться и проникать в участки организма, в норме ей недоступные.

Приложение. Перечень клеток взрослого человеческого организма

Сколько различных типов клеток существует в организме взрослого человека? В большом руководстве по гистологии обычно упоминается около 200 типов, заслуживающих отдельного названия. Эти традиционные названия – в отличие, например, от названий спектральных цветов – не являются наименованиями отдельных частей некоего условно подразделенного континуума: большинство из них соответствует дискретным, четко различающимся категориям. Внутри той или иной категории часто наблюдаются некоторые вариации: волокна скелетных мышц, приводящих в движение глазное яблоко, гораздо меньше, чем волокна крупных мышц ноги; слуховые волосковые клетки в разных участках уха могут быть настроены на разную частоту звука и т. д. Однако не существует непрерывных переходов между разными типами клеток взрослого организма, например между мышечным волокном и слуховой волосковой клеткой.

Традиционная гистологическая классификация основана на форме и структуре клетки, определяемых под микроскопом, и на ее химической природе, очень грубо оцениваемой по связыванию различных красителей. Более тонкие методы позволяют выделить новые подклассы в рамках традиционной классификации. Например, в современной иммунологии установлено, что к прежней категории «лимфоцитов» относится более десяти совершенно разных

типов клеток (см. гл. 17). Точно так же фармакологические и физиологические исследования показали, что существует много различных разновидностей гладкомышечных клеток; например, в стенке матки эти клетки обладают высокой чувствительностью к эстрогену и на последних стадиях беременности – к окситоцину, в то время как аналогичные клетки в стенке кишечника этими свойствами не обладают. В таких случаях клеточные биологи уже ищут химическую основу различий между клетками. Другой важный тип различий между клетками обнаружен в эмбриологических экспериментах вроде тех, которые обсуждались в главе 15; они показали, что во многих случаях внешне сходные клетки из разных участков организма неэквивалентны – в том смысле, что между ними есть внутренние различия в возможностях дальнейшего развития и в способности воздействовать на другие клетки. Например, клетки соединительной ткани из различных участков дермы должны быть неэквивалентными, так как под их влиянием лежащие над ними эпидермальные клетки ведут себя по-разному (см. разд. 16.1.3). Внутри таких категорий, как «фибробласт», тоже, вероятно, содержится много типов клеток, химические различия между которыми пока не удастся обнаружить непосредственно.

Ввиду сказанного выше любая классификация клеток организма будет в какой-то степени произвольной в отношении детальности подразделения. В наш перечень включены те виды клеток взрослого человеческого организма, которые считаются различными во всяком большом современном руководстве по гистологии. Они сгруппированы в приблизительном соответствии со своей функцией. В некоторых случаях, когда ясно, что традиционная группа нуждается в дальнейшем разбиении, но подгруппы еще недостаточно хорошо охарактеризованы, они не указаны. В частности, мы не пытались как-либо подразделять класс нейронов центральной нервной системы. Когда отдельный вид клеток, как, например, ороговевающая эпидермальная клетка, последовательно получает различные наименования по мере своего созревания, мы приводим только два названия – одно для дифференцирующейся клетки и одно для стволовой клетки. С учетом сделанных оговорок 210 наименований клеток, содержащихся в перечне, составляют более или менее исчерпывающий список различных способов экспрессии генома в виде фенотипов нормальных клеток взрослого человека. Стоит отметить, что более 60% представленных типов относится к эпителиальным клеткам.

Ороговевающие эпителиальные клетки

Кератиноцит эпидермиса (= дифференцирующаяся эпидермальная клетка)

Базальная клетка эпидермиса (стволовая)

Кератиноцит ногтей

Базальная клетка ногтевого ложа (стволовая)

Клетки стержня волоса

клетка мозгового вещества

клетка коркового вещества

кутикулярная клетка

Клетки корневого влагалища волоса

кутикулярная

слоя Гексли

слоя Генле

наружная

Клетка волосяной матрицы (стволовая)

Клетки влажных многослойных барьерных эпителиев

Поверхностная эпителиальная клетка многослойного чешуйчатого эпителия языка, ротовой полости, пищевода, анального отверстия, дистальной части уретры, влагалища

Базальная клетка тех же видов эпителия (стволовая)

Клетка наружного эпителия роговицы

Клетка эпителия мочевыводящих путей (выстилающего мочевой пузырь и др.)

Эпителиальные клетки с экзокринной функцией

Клетки слюнной железы

слизистая клетка (секрет богат полисахаридами)

белковая клетка (секрет богат гликопротеиновыми ферментами)

Клетка железы фон Эбнера в языке (секрет служит для промывания вкусовых почек)

Клетка молочной железы, секретирующая молоко

Клетка слезной железы, секретирующая слезы

Клетка перутиной железы уха, секретирующая ушную серу

Клетка эккринной потовой железы, секретирующая гликопротеины (темная клетка)

Клетка эккринной потовой железы, секретирующая малые молекулы (светлая клетка)

Клетка апокринной потовой железы (выделяет пахучий секрет, чувствительна к половым гормонам)

Клетка железы Молле в веке (специализированная потовая железа)

Клетка сальной железы, секретирующая богатое липидами кожное сало

Клетка боуеновой железы в носу (секретирует жидкость, промывающую обонятельный эпителий)

Клетка бруннеровской железы в двенадцатиперстной кишке, секретирующая щелочной раствор слизи и ферментов

Клетка семенного пузырька, секретирующая компоненты семенной жидкости, включая фруктозу (как источник энергии для движения спермиев)

Клетка предстательной железы, секретирующая другие компоненты семенной жидкости

Клетка бульбоуретральной железы, секретирующая слизь

Клетка бартолиниевой железы, выделяющая жидкость для увлажнения влагалища

Клетка железы Литтле, секретирующая слизь

Клетка эндометрия, секретирующая главным образом углеводы

Изолированная бокаловидная клетка дыхательного и пищеварительного трактов, секретирующая слизь

Слизистая клетка выстилки желудка

Зимогенная клетка слизистой желудка (секретирует пепсиноген)

Обкладочная клетка слизистой желудка (секретирует HCl)

Ацинозная клетка поджелудочной железы (секретирует пищеварительные ферменты и бикарбонат)

Клетка Панета в тонком кишечнике (секретирует лизоцим)

Пневмоциты типа II в легком (секретируют сурфактант)

Клетка Клара в легком (функция неизвестна)

Клетки, секретирующие гормоны

Клетки передней доли гипофиза, выделяющие

гормон роста

фолликулостимулирующий гормон

лютеинизирующий гормон

пролактин

адренокортикотропный гормон

тиреотропный гормон

Клетка промежуточной доли гипофиза, выделяющая меланоцитстимулирующий гормон

- Клетки задней доли гипофиза, выделяющие
 - окситоцин
 - вазопрессин
- Клетки желудочно-кишечного тракта, секретирующие
 - серотонин
 - эндорфин
 - соматостатин
 - гастрин
 - секретин
 - холецистокинин
 - инсулин
 - глюкагон
- Клетки щитовидной железы, секретирующие
 - тиреоидный гормон
 - кальцитонин
- Клетки паращитовидной железы
 - секретирующие паратгормон
 - оксифильные клетки (функция неизвестна)
- Клетки надпочечников, секретирующие
 - адреналин
 - норадреналин
 - стероидные гормоны
 - минералокортикоиды
 - глюкокортикоиды
- Клетки половых желез, секретирующие
 - тестостерон (клетки Лейдига в семенниках)
 - эстроген (клетки theca interna яйцевого фолликула в яичниках)
 - прогестерон (клетки желтого тела)
- Клетки юкстагломерулярного аппарата почки
 - юкстагломерулярные клетки (секретируют ренин)
 - клетки macula densa
 - периполярные клетки
 - мезангиальные клетки
 } вероятно, близки по функции: возможно, участвуют в секреции эритропоэтина

Эпителиальные всасывающие клетки желудочно-кишечного тракта, экзокринных желез и мочеполовых путей

- клетка со щеточной каемкой из микроворсинок (в тонком кишечнике)
- исчерченная клетка протока экзокринной железы
- эпителиальная клетка желчного пузыря
- клетка со щеточной каемкой в проксимальном почечном канальце
- клетка дистального почечного канальца
- безресничная клетка семявыносящего протока
- клетки эпидидимиса
 - главная клетка
 - базальная клетка

Клетки, ответственные за процессы метаболизма и накопление резервных материалов

- гепатоцит (печеночная клетка)
- жировые клетки
 - клетка белого жира
 - клетка бурого жира
 - липоцит печени

Эпителиальные клетки, выполняющие главным образом барьерную функцию – выстилающие легкие, кишечник, экзокринные железы и мочеполовой тракт

Пневмоциты типа I (выстилающие воздушную полость легкого)
 Клетка протока поджелудочной железы (центроацинарная клетка)
 Неисчерченная клетка протока потовой железы, слюнной железы, молочной железы и т.д.
 Parietalная клетка почечного клубочка
 Подоцит почечного клубочка
 Клетка тонкой части петли Генле (в почках)
 Клетка собирательной трубочки (в почках)
 Клетки протока семенного пузырька, предстательной железы и т.д.

Эпителиальные клетки, выстилающие замкнутые внутренние полости

Клетки эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов
 фенестрированная
 непрерывная
 селезеночная
 Синовиальные клетки (выстилающие суставные полости и секретирующие главным образом гиалуроновую кислоту)
 Серозные клетки (выстилающие полости брюшины, плевры и перикарда)
 Чешуйчатые клетки, выстилающие перилимфатическое пространство уха
 Клетки, выстилающие эндолимфатическое пространство уха
 чешуйчатая клетка
 столбчатая клетка эндолимфатического мешочка
 с микроворсинками
 без микроворсинок
 «темная» клетка
 клетка вестибулярной мембраны (напоминающая клетку сосудистого сплетения)
 базальная клетка сосудистой полоски (stria vascularis)
 маргинальная клетка сосудистой полоски (stria vascularis)
 клетка Клаудиуса
 клетка Бётчера
 Клетка сосудистого сплетения (секретирующая цереброспинальную жидкость)
 Чешуйчатая клетка мягкой и паутинной оболочек
 Клетки ресничного эпителия глаза
 пигментированные
 непигментированные
 «Эндотелиальная» клетка роговицы

Ресничные клетки

Клетки дыхательных путей
 Клетки яйцевода и эндометрия (у женщин)
 Клетки rete testis и семявыносящего протока (у мужчин)
 Эпендимальные клетки, выстилающие полости мозга

Клетки, секретирующие внеклеточное вещество

Эпителиальные
 амелобласты (секретируют зубную эмаль)
 клетки *placitum semilunatum* вестибулярного аппарата (секретируют протеогликан)
 интердентальные клетки кортиева органа (секретируют вещество текториальной мембраны, лежащей над волосковыми клетками этого органа)

Неэпителиальные (соединительнотканые)

фибробласты (рыхлой соединительной ткани, роговицы, сухожилий, ретикулярной ткани костного мозга и др.)
 перидит кровеносного капилляра
 клетка nucleus pulposus межпозвоночного диска
 цементобласт/цементоцит (секретирует цемент корня зуба, сходный с веществом кости)
 одонтобласт/одонтоцит (секретирует дентин зуба)
 хондроциты
 гиалинового хряща
 волокнистого хряща
 эластического хряща
 остеобласт/остеоцит
 первичная остеогенная клетка (стволовая клетка остеобластов)
 гиалоцит стекловидного тела глаза
 звездчатая клетка перилимфатического пространства уха

Сократимые клетки

Клетки скелетных мышц
 красные (медленные)
 белые (быстрые)
 промежуточные
 мышечное веретено с ядерной сумкой
 мышечное веретено с ядерной цепочкой
 клетки-сателлиты (стволовые клетки)

Клетки сердечной мышцы

обычные
 узловые (пейсмейкерные)
 волокна Пуркинье

Клетки гладких мышц (разные)

Миоэпителиальные клетки
 радужной оболочки
 экзокринных желез

Клетки крови и иммунной системы

Эритроцит

Мегакариоцит

Макрофаги

моноцит
 макрофаги соединительной ткани (разные)
 клетка Лангерганса (в эпидермисе)
 остеокласт (в кости)
 дендритная клетка (в лимфоидных тканях)
 микроглиальная клетка (в центральной нервной системе)

Нейтрофил

Эозинофил

Базофил

Тучная клетка

Т-лимфоциты

Т-хелпер
 Т-супрессор
 Т-киллер

В-лимфоциты, продуцирующие

IgM
 IgG
 IgA
 IgE

Клетка-киллер

Стволовые клетки крови и иммунной системы (разные)

Сенсорные клетки

Фоторецепторы

палочки

колбочки

чувствительные к синему

чувствительные к зеленому

чувствительные к красному

Слуховые рецепторные клетки

внутренние волосковые клетки кортиева органа

наружные волосковые клетки кортиева органа

Рецепторы ускорения и силы тяжести

волосковые клетки вестибулярного аппарата

тип I

тип II

Вкусовые рецепторные клетки

клетка вкусовой луковицы, тип II

Обонятельные рецепторные клетки

обонятельный нейрон

базальная клетка обонятельного эпителия (стволовая)

Рецепторы pH крови

клетки каротидного тельца

тип I

тип II

Осязательные рецепторные клетки

клетка Меркеля в эпидермисе

первичные осязательные нейроны (разные)

Терморецепторные клетки

первичные терморецепторные нейроны

чувствительные к холоду

чувствительные к теплу

Болевые рецепторы

первичные нейроны, чувствительные к боли (разные)

Рецепторы положения и напряжения в скелетно-мышечной системе

первичные проприоцептивные нейроны (разные)

Вегетативные нейроны

Холинэргические (разные)

Адренэргические (разные)

Пептидэргические (разные)

Опорные клетки органов чувств и периферических нейронов

Опорные клетки кортиева органа

внутренняя столбчатая клетка

наружная столбчатая клетка

внутренняя фаланговая клетка

наружная фаланговая клетка

пограничная клетка

клетка Генсена

Опорная клетка вестибулярного аппарата

Опорная клетка вкусовой почки (клетка вкусовой почки, тип I)

Опорная клетка обонятельного эпителия

Шванновская клетка

Клетка-сателлит (инкапсулирующая тела периферических нейронов)
Глиальная клетка кишечника

Нейроны и глиальные клетки центральной нервной системы

Нейроны (огромное разнообразие типов, пока еще плохо классифицированных)
Глиальные клетки
астроциты (разные)
олигодендроцит

Клетки хрусталика

Эпителиальная клетка передней части хрусталика
Волокно хрусталика (клетка, содержащая кристаллины)

Пигментные клетки

Меланоцит
Эпителиальная клетка пигментного слоя сетчатки

Половые клетки

Оогония/ооцит
Сперматоцит
Сперматогония (стволовая клетка для сперматоцитов)

Питающие клетки

Клетка овариального фолликула
Клетка Сертоли (в семеннике)
Эпителиальная клетка тимуса

Литература

Общая

Bloom W., Fawcett D.W. A Textbook of Histology, 10th ed., Philadelphia, Saunders, 1975.
Clark W.E. Le Gros. The Tissues of the Body, 6th ed., Oxford, Eng., Clarendon Press, 1971.
Gross R.J. The Physiology of Growth, New York, Academic Press, 1978.
Ham A.W., Cormack D.H. Histology, 8th ed., New York, Harper and Row, 1979. [Имеется перевод: Хэм А., Кормак Д. Гистология.—М.: Мир, 1983.]
Weiss L., Greep R.O. Histology, 4th ed., New York, McGraw-Hill, 1977.

Цитированная

1. *Wessells N.K.* Tissue Interactions and Development, Menlo Park, Ca., Benjamin-Cummings, 1977.
2. *Cahn R.D., Cahn M.B.* Heritability of cellular differentiation: clonal growth and expression of differentiation in retinal pigment cells in vitro, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 55, 106–114, 1966.
3. *Coon H.G.* Clonal stability and phenotypic expression of chick cartilage cells in vitro, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 55, 66–73, 1966.
von der Mark K., Gauss V., von der Mark H., Müller P. Relationship between cell shape and type of collagen synthesized as chondrocytes lose their cartilage phenotype in culture, Nature, 267, 531–532, 1977.
Archer C.W., Rooney P., Wolpert L. Cell shape and cartilage differentiation of early chick limb bud cells in culture, Cell Differ., 11, 245–251, 1982.

- von der Mark K. Immunological studies on collagen type transition in chondrogenesis. *Curr. Top. Dev. Biol.*, **14**, 199-225, 1980.
- Lash J.W., Vasan N.S. Somite chondrogenesis in vitro. Stimulation by exogenous extracellular matrix components, *Dev. Biol.*, **66**, 151-171, 1978.
4. Billingham R.E., Siivers W.K. Studies on the conservation of epidermal specificities of skin and certain mucosae in adult mammals, *J. Exp. Med.*, **125**, 429-446, 1967.
 5. Zalewski A.A. Neuronal and tissue specifications involved in taste bud formation, *Ann N.Y., Acad. Sci.*, **228**, 344-349, 1974.
 6. Eguchi G. "Transdifferentiation" of vertebrate cells in cell culture. In: *Embryogenesis in Mammals*, Ciba Symp., **40**, 241-257, 1976.
 - Razin A., Riggs A.D. DNA methylation and gene function, *Science*, **210**, 604-610, 1980.
 - Jones P.A., Taylor S.M. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation, *Cell*, **20**, 85-93, 1980.
 - Felsenfeld G., McGhee J. Methylation and gene control, *Nature*, **296**, 602-603, 1982.
 7. Goss R.J. *The Physiology of Growth*, pp. 210-225, New York, Academic Press, 1978.
 - Clayton R.M. Divergence and convergence in lens cell differentiation: regulation of the formation and specific content of lens fibre cells. In: *Stem Cells and Tissue Homeostasis* (B. Lord, C. Potten, R. Cole, eds.), pp. 115-138, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1978.
 8. Young R.W. Visual cells, *Sci. Am.*, **223**(4), 80-91, 1970.
 - Bloom W., Fawcett D.W. *A Textbook of Histology*, 10th ed., pp. 917-963, Philadelphia, Saunders, 1975.
 9. Cameron I.L. Cell proliferation and renewal in the mammalian body. In: *Cellular and Molecular Renewal in the Mammalian Body* (I.L. Cameron, J.D. Thrasher, eds.), pp. 45-86, New York, Academic Press, 1971.
 10. Moog F. The lining of the small intestine, *Sci. Am.*, **245**(5), 154-176, 1981.
 - Bloom W., Fawcett D.W. *A Textbook of Histology*, 10th ed., pp. 688-716, Philadelphia, Saunders, 1975.
 11. Goss R.J. *The Physiology of Growth*, pp. 251-266, New York, Academic Press, 1978.
 - Holder N. Regeneration and compensatory growth, *Br. Med. Bull.*, **37**, 227-232, 1981.
 12. Anderson J.R., ed. *Muir's Textbook of Pathology*, 11th ed., pp. 683-692, London, Edward Arnold, 1980.
 13. Bloom W., Fawcett D.W. *A Textbook of Histology*, 10th ed., pp. 386-426, Philadelphia, Saunders, 1975.
 - Zweifach B.W. The microcirculation of the blood, *Sci. Am.*, **200**, 54-60, 1959.
 14. Goss R.J. *The Physiology of Growth*, pp. 120-137, New York, Academic Press, 1978.
 15. Folkman J., Haudenschild C. Angiogenesis in vitro, *Nature*, **288**, 551-556, 1980.
 16. Folkman J. The vascularization of tumors, *Sci. Am.*, **234**(5), 58-73, 1976.
 17. Cheng H., Leblond C.P. Origin, differentiation, and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. V. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types, *Am. J. Anat.*, **141**, 537-562, 1974.
 - Graziadei P.P.C., Monti Graziadei G.A. Continuous nerve cell renewal in the olfactory system. In: *Handbook of Sensory Physiology*, Vol. IX, Development of Sensory Systems (M. Jacobson, ed.), pp. 55-82, New York, Springer-Verlag, 1978.
 18. Sengel P. *Morphogenesis of Skin*, Cambridge, Eng., Cambridge University Press, 1975.
 19. MacKenzie J.C. Ordered structure of the stratum corneum of mammalian skin, *Nature*, **222**, 881-882, 1969.
 - Allen T.D., Potten C.S. Fine-structural identification and organization of the epidermal proliferative unit, *J. Cell Sci.*, **15**, 291-319, 1974.
 20. Fuchs E., Green H. Changes in keratin gene expression during terminal differentiation of the keratinocyte, *Cell*, **19**, 1033-1042, 1980.
 21. Potten C.S. The epidermal proliferative unit: the possible role of the central basal cell, *Cell Tissue Kinet.*, **7**, 77-88, 1974.
 22. Ham A.W., Cormack D.H. *Histology*, 8th ed., pp. 635-639, New York, Harper and Row, 1979.
 - Green H. Terminal differentiation of cultured human epidermal cells, *Cell*, **11**, 405-415, 1977.
 - Watt F.M., Green H. Stratification and terminal differentiation of cultured epidermal cells, *Nature*, **295**, 434-436, 1982.
 - Potten C.S., Schofield R., Lajtha L.G. A comparison of cell replacement in bone marrow, testis and three regions of surface epithelium, *Biochim. Biophys. Acta*, **560**, 281-299, 1979.
 23. Potten C.S., Allen T.D. The fine structure and cell kinetics of mouse epidermis after wounding, *J. Cell Sci.*, **17**, 413-447, 1975.

24. Bloom W., Fawcett D.W. A Textbook of Histology, 10th ed., pp. 588-592, 907-916, Philadelphia, Saunders, 1975.
 Patton S. Milk. Sci. Am., 221(1), 58-68, 1969.
 Vonderhaar B.K., Topper Y.J. A role of the cell cycle in hormone-dependent differentiation, J. Cell Biol., 63, 707-712, 1974.
 Cowie A.T., Forsyth I.A., Hart I.C. Hormonal Control of Lactation, New York, Springer-Verlag, 1980.
 Richards R.C., Benson G.K. Ultrastructural changes accompanying involution of the mammary gland in the albino rat, J. Endocrinol., 51, 127-135, 1971.
25. Wintrobe M.M. Blood, Pure and Eloquent, New York, McGraw-Hill, 1980.
 Ham A.W., Cormack D.H. Histology, 8th ed., pp. 295-322, New York, Harper and Row, 1979.
 Clarkson B., Marks P.A., Till J.E., eds. Differentiation of Normal and Neoplastic Hematopoietic Cells, Cold Spring Harbor, N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, 1978.
 Weiss L., Greep R.O. Histology, 4th ed., pp. 433-502, New York, McGraw-Hill, 1977.
26. Till J.E., McCulloch E.A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells, Radiat. Res., 14, 213-222, 1961.
 Wu A.M., Till J.E., Simonovitch L., McCulloch E.A. A cytological study of the capacity for differentiation of normal hemopoietic colony-forming cells, J. Cell Physiol., 69, 177-184, 1967.
 Lala P.K., Johnson G.R. Monoclonal origin of B lymphocyte colony-forming cells in spleen colonies formed by multipotential hemopoietic stem cells, J. Exp. Med., 148, 1468-1477, 1978.
 Harrison P.R. Stem cell regulation in erythropoiesis, Nature, 295, 454-455, 1982.
27. Till J.E., McCulloch E.A. Hemopoietic stem cell differentiation, Biochim. Biophys. Acta, 605, 431-459, 1980.
28. Goldwasser E. Erythropoietin and the differentiation of red blood cells, Fed. Proc., 34, 2285-2292, 1975.
 Adamson J.W., Brown J.E. Aspects of erythroid differentiation and proliferation. In: Molecular Control of Proliferation and Differentiation (J. Papaconstantinou, W.J. Rutter, eds.), Symp. Soc. Dev. Biol., 35, 161-179, 1978.
 Heath D.S., Axelrad A.A., McLeod D.L., Shreeve M.M., Separation of the erythropoietin-responsive progenitors BFU-E and CFU-E in mouse bone marrow by unit gravity sedimentation, Blood, 47, 777-792, 1976.
 Gregory C.J. Erythropoietin sensitivity as a differentiation marker in the hemopoietic system: studies of the three erythropoietic colony responses in culture, J. Cell Physiol., 89, 289-301, 1976.
29. Metcalf D. Clonal analysis of proliferation and differentiation of paired daughter cells: action of GM-CSF on granulocyte-macrophage precursors, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 5327-5330, 1980.
 Metcalf D. Hemopoietic colony stimulating factors. In: Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 57, Tissue Growth Factors (R. Baserga, ed.), pp. 343-384, New York, Springer-Verlag, 1981.
30. Goldspink G. Development of muscle. In: Differentiation and Growth of Cells in Vertebrate Tissues (G. Goldspink, ed.), pp. 69-99, London, Chapman and Hall, 1974.
 Stockdale F.E., Holtzer H. DNA synthesis and myogenesis, Exp. Cell Res., 24, 508-520, 1961.
31. Yaffe D. Cellular aspects of muscle differentiation in vitro, Curr. Top. Dev. Biol., 4, 37-77, 1969.
 Konigsberg I.R. Diffusion-mediated control of myoblast fusion, Dev. Biol., 26, 133-152, 1971.
 Zalin R. The cell cycle, myoblast differentiation, and prostaglandin as a developmental signal, Dev. Biol., 71, 274-288, 1979.
32. Merlie J.P., Buckingham M.E., Whalen R.G. Molecular aspects of myogenesis, Curr. Top. Dev. Biol., 11, 61-114, 1977.
 Devlin R.B., Emerson C.P., Jr. Coordinate regulation of contractile protein synthesis during myoblast differentiation, Cell, 13, 599-611, 1978.
 Bowman L.H., Emerson C.P. Formation and stability of cytoplasmic mRNAs during myoblast differentiation: pulse-chase and density labeling analyses, Dev. Biol., 80, 146-166, 1980.
33. Moss F.P., Leblond C.P. Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats, Anat. Res., 170, 421-435, 1971.

- Carlson B. M.* The regeneration of skeletal muscle. A review, *Am. J. Anat.*, 137, 119–149, 1973.
- Konigsberg U. R., Lipton B. H., Konigsberg I. R.* The regenerative response of single mature muscle fibers isolated in vitro, *Dev. Biol.*, 45, 260–275, 1975.
34. *Buller A. J., Eccles J. C., Eccles R. M.* Interaction between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses, *J. Physiol.*, 150, 417–439, 1960.
- Lomo T., Westgaard R. H., Dahl H. A.* Contractile properties of muscle: control by pattern of muscle activity in the rat, *Proc. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 187, 99–103, 1974.
- Rubinstein N. A., Kelly A. M.* Myogenic and neurogenic contributions to the development of fast and slow twitch muscles in rat, *Dev. Biol.*, 62, 473–485, 1978.
35. *Goss R. J.* The Physiology of Growth, pp. 64–89, New York, Academic Press, 1978.
- Han A. W., Cormack D. H.* Histology, 8th ed., pp. 367–462, New York, Harper and Row, 1979.
- Bloom W., Fawcett D. W.* A textbook of Histology, 10th ed., pp. 233–287, Philadelphia, Saunders, 1975.
36. *Skoog T., Ohlén L., Söhl S. A.* Perichondrial potential for cartilaginous regeneration, *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, 6, 123–125, 1972.
37. *Terminé J. E. et al.* Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen, *Cell*, 26, 99–105, 1981.
- Bassett C. A. L.* Electrical effects in bone, *Sci. Am.*, 213(4), 18–25, 1965.
- Brighton C. T., Black J., Pollack S. R., eds.* Electrical Properties of Bone and Cartilage: Experimental Effects and Clinical Applications, New York, Grune and Stratton, 1979.
- Jotereau F. V., Le Douarin N. M.* The developmental relationship between osteocytes and osteoclasts: a study using the quail-chick nuclear marker in endochondral ossification, *Dev. Biol.*, 63, 253–265, 1978.
38. *Sinclair D.* Human Growth after Birth, 3rd ed., pp. 161–233, Oxford, Eng., Oxford University Press, 1978.
39. *Krebs J., May R. M.* Social insects and the evolution of altruism, *Nature*, 260, 9–10, 1976.
40. *Cairns J.* Mutation selection and the natural history of cancer, *Nature*, 255, 197–200, 1975.
- Nicholson G. L.* Cancer metastasis, *Sci. Am.*, 240(3), 66–76, 1979.
- Cairns J.* Cancer: Science and Society, San Francisco, Freeman, 1978.

Оглавление

Часть III. От клеток к многоклеточным организмам

Глава 14. Половые клетки и оплодотворение 7

- 14.1. Преимущества полового процесса 7
 - 14.1.1. У многоклеточных животных диплоидная фаза бывает сложной и продолжительной, а гаплоидная — простой и кратковременной 7
 - 14.1.2. Половое размножение делает организмы конкурентоспособными в условиях непредсказуемой изменчивости окружающей среды 8
 - 14.1.3. В большой популяции половое размножение способствует закреплению благоприятных аллелей 9
 - 14.1.4. Новые гены появляются в результате дупликаций и дивергенции 10
 - 14.1.5. Половое размножение сохраняет диплоидность у диплоидных видов 11
 - 14.1.6. Диплоидный вид обладает лишней копией каждого гена, способной мутировать и выполнять после этого новую функцию 12
 - 14.1.7. Диплоидный вид может быстро обогащать свой геном, приобретая новые гены 13
- Заключение 14
- 14.2. Мейоз 15
 - 14.2.1. При мейозе происходит не одно, а два деления ядра 15
 - 14.2.2. Перекомбинирование генов усиливается благодаря кроссинговеру между гомологичными несестринскими хроматидами 17
 - 14.2.3. В конъюгации хромосом участвует синаптонемальный комплекс 18
 - 14.2.4. Как полагают, обмены между хроматидами происходят при участии рекомбинационных узелков 24
 - 14.2.5. Хиазмы играют важную роль в расхождении хромосом во время мейоза 25
 - 14.2.6. Расхождение половых хромосом тоже обеспечивается их конъюгацией 26
 - 14.2.7. Второе деление мейоза сходно с обычным митозом 26
- Заключение 26
- 14.3. Гаметы 27
 - 14.3.1. У высших животных яйцеклетка — это единственная клетка, из которой может развиваться новый организм 27
 - 14.3.2. Яйцеклетки представляют собой высокоспециализированные клетки с уникальными особенностями 28
 - 14.3.3. Яйцеклетка проходит в своем развитии несколько стадий 29

- 14.3.4. Многие яйцеклетки достигают крупных размеров благодаря специальным механизмам 30
- 14.3.5. Созревание яйцеклетки и овуляцию индуцируют гормоны 32
- 14.3.6. Оогенез — процесс удивительно неэкономный 34
- 14.3.7. Спермии отлично приспособлены для внесения своей ДНК в яйцеклетку 35
- 14.3.8. У многих млекопитающих спермии образуются постоянно 36
- 14.3.9. Ядра спермиев гаплоидны, однако процессом дифференцировки этих клеток управляет диплоидный геном 37
- Заключение 40

14.4. Оплодотворение 40

- 14.4.1. Для того чтобы спермий мог оплодотворить яйцеклетку, он должен быть активирован 41
- 14.4.2. Связывание спермия с яйцеклеткой осуществляется при помощи видоспецифических белков 43
- 14.4.3. Активация яйцеклетки опосредуется изменениями внутриклеточных концентраций ионов 44
- 14.4.4. Быстрая деполяризация мембраны яйца препятствует слиянию с ним других спермиев, т.е. предотвращает полиспермию 45
- 14.4.5. За позднюю блокаду полиспермии ответственна кортикальная реакция 46
- 14.4.6. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} инициирует развитие яйцеклетки 46
- 14.4.7. У некоторых организмов поздние биосинтетические процессы, связанные с активацией яйцеклетки, индуцируются повышением внутриклеточного pH 48
- 14.4.8. Яйцеклетки млекопитающих могут быть оплодотворены *in vitro* 48
- Заключение 49
- Литература 50

Глава 15. Клеточные механизмы развития 53

- 15.1. Дробление и образование бластулы 54
 - 15.1.1. В результате дробления из одной клетки образуется множество клеток 54
 - 15.1.2. Полярность эмбриона определяется полярностью яйца 55
 - 15.1.3. Бластула состоит из эпителия, окружающего полость 55
- Заключение 56
- 15.2. Гастрюляция, нейруляция и образование сомитов 56
 - 15.2.1. После гастрюляции полый клеточный шар преобразуется в трехслойную структуру 56
 - 15.2.2. В основе морфогенетических движений лежит спо-

- способность клеток вытягиваться, прикрепляться и сокращаться 58
- 15.2.3. Гастрюляция у амфибий 59
- 15.2.4. Движения клеточных слоев организует участок, прилегающий к бластопору 60
- 15.2.5. Из энтодермы образуются кишка и также ее производные, как легкие и печень 61
- 15.2.6. Из мезодермы образуются соединительные ткани и мышцы, а также сердечно-сосудистая и мочеполовая системы 61
- 15.2.7. Из эктодермы образуются эпидермис и нервная система 62
- 15.2.8. Нервная трубка образуется в результате координированных изменений формы клеток 62
- 15.2.9. По обеим сторонам от продольной оси тела мезодерма подразделяется на сомиты 63
- 15.2.10. План строения тела позвоночного животного складывается в миниатюре на ранней стадии и сохраняется в период роста эмбриона 64
Заключение 64
- 15.3. Ранние этапы образования упорядоченной структуры (на примере мышцы) 66
- 15.3.1. В развитии млекопитающих появляются добавочные сложности 66
- 15.3.2. Этапы, предшествующие гастрюляции 66
- 15.3.3. Органогенез и рост в период внутриутробного развития 68
- 15.3.4. Изучение химер показывает, что все клетки очень раннего эмбриона млекопитающего функционально эквивалентны 70
- 15.3.5. Судьба клетки определяется ее положением в моруле 70
- 15.3.6. Обычно отдельные ткани и органы образуются из целой группы клеток-предшественниц, а не из одной клетки 71
- 15.3.7. При развитии зародыша в неподходящих условиях может образоваться тератома 71
- 15.3.8. Взаимодействие клеток тератокарциномы с нормальными клетками может привести к тому, что из химерного эмбриона разовьется нормальная мышца 72
Заключение 72
- 15.4. Детерминация и дифференцировка 73
- 15.4.1. У высших эукариот поведение клеток зависит не только от их генома и окружающей среды, но и от их предистории 74
- 15.4.2. Будущая специализация клеток определяется задолго до появления внешних признаков дифференцировки 75
- 15.4.3. Время детерминации клеток можно определять в экспериментах с пересадками 76
- 15.4.4. Генетический контроль развития лучше всего изучен у дрозофилы 77
- 15.4.5. Состояние детерминации имажинальных дисков наследуется 78
- 15.4.6. Иногда группы клеток претерпевают трансдетерминацию 79
- 15.4.7. У гомеозисных мутантов выявляются функции генов, контролирующих детерминацию клеток 80
- 15.4.8. Комплекс *hithox* контролирует возникновение различий между сегментами груди и брюшка 81
- 15.4.9. Тело личинки формируется путем водонизменения основного структурного плана повторяющихся сегментов 82
- 15.4.10. Для маркировки мутантных клеточных клонов можно использовать митотическую рекомбинацию 82
- 15.4.11. Поликлональные участки разделены четкими границами 83
- 15.4.12. В клетках различных компартментов активны разные группы генов 86
- 15.4.13. Детерминация осуществляется «комбинаторным» способом 87
- 15.4.14. У дрозофилы пределы пролиферации клеток не определяются числом делений: быстро растущие клоны способны заполнять свой компартмент почти полностью, но не могут увеличивать его размеры 87
- 15.4.15. У позвоночных детерминация клеток сходна с их детерминацией у дрозофилы 88
Заключение 88
- 15.5. Пространственные структуры 89
- 15.5.1. Клетки приобретают различные черты в соответствии с их расположением 89
- 15.5.2. В цитоплазме яиц иногда можно бывает обнаружить локальные детерминанты 90
- 15.5.3. В яйце дрозофилы детерминанты первичных половых клеток находятся у одного из полюсов 90
- 15.5.4. Свойства клеток контролируются пространственными сигналами 92
- 15.5.5. В первоначально однородной клеточной популяции постепенно возникают резкие различия 92
- 15.5.6. Позиционная информация накапливается постепенно 93
- 15.5.7. Незквивалентность: клетки, приобретающие одинаковое окончательное состояние дифференцировки, могут обладать различной позиционной информацией 93
- 15.5.8. Клетки различных полей могут получать одинаковую позиционную информацию, но интерпретировать ее по-разному 94
- 15.5.9. Эмбриональные поля очень малы, поэтому основные черты строения взрослого животного должны детерминироваться на ранней стадии 95
Заключение 95
- 15.6. Позиционная информация и развитие конечностей 96
- 15.6.1. Развитие конечностей у куриного эмбриона можно анализировать в трехмерной системе координат 96
- 15.6.2. Клетки поляризующей области контролируют структурообразование вдоль передне-задней оси в близлежащих участках мезенхимы 97
- 15.6.3. Позиционную информацию для передне-задней оси, возможно, доставляет градиент величины сигнала, исходящего от клеток поляризующей области 98
- 15.6.4. Клетки поляризующей области, взятые из эмбриона рептилии или млекопитающего, вызывают дифференцировку конечности у куриного зародыша 100
- 15.6.5. Определенные элементы конечности последовательно закладываются вдоль проксимодистальной оси 100
- 15.6.6. Апоикальный эктодермальный гребень определяет ту область мезенхимы, из которой образуются последовательные дистальные части конечности, но не доставляет мезенхиме информации о том, какие именно части должны из нее формироваться 101
- 15.6.7. Позиционные значения вдоль проксимодистальной оси определяются длительностью пребывания клеток в зоне прогрессивного развития 102
- 15.6.8. В мезенхиме ранних зачатков конечностей у куриного эмбриона соседние клетки взаимодействуют

- между собой, и это сглаживает различия в их индивидуальных позиционных значениях 104
- 15.6.9. У некоторых животных возможна регенерация конечностей 104
- 15.6.10. У таракана происходит вставочная (интеркалярная) регенерация ноги 105
- 15.6.11. В последовательных сегментах ноги таракана повторяется один и тот же набор позиционных значений 107
- 15.6.12. Регенерация участков окружности следует тому же правилу, что и интеркаляция вдоль проксимодистальной оси 107
- 15.6.13. Интеркаляция эпидермиса реализуется в двух измерениях 108
- 15.6.14. Регенерация двумерных участков подчиняется правилу интеркаляции 108
- 15.6.15. Возможно, что правило интеркаляции применимо и ко многим другим системам 109
Заключение 110
- 15.7. Индукционные взаимодействия при развитии эпителиев 111
- 15.7.1. Мезодерма индуцирует образование различных частей нервной трубки из эктодермы 111
- 15.7.2. Характер и распределение производных эпидермиса контролируются дермой 111
- 15.7.3. Эпителий погружается в мезенхиму и образует внутри нее протоки желез 113
Заключение 113
- 15.8. Исследование судьбы отдельных клеток в процессе развития нематоды 113
- 15.8.1. В анатомическом и генетическом отношении нематода *Caenorhabditis elegans* устроена очень просто 114
- 15.8.2. Для развития нематод характерно удивительное постоянство 115
- 15.8.3. Клеточная дифференцировка возможна и без цитокинеза 116
- 15.8.4. С помощью лазерной микрохирургии можно исследовать влияние локальных межклеточных взаимодействий на поведение клеток 117
- 15.8.5. Развитие полового отверстия происходит под контролем «якорной» клетки 117
- 15.8.6. Клетки дистального конца гонады стимулируют непрерывную пролиферацию близлежащих первичных половых клеток 118
- 15.8.7. Судьбу клеток могут контролировать ингибиторные взаимодействия внутри групп эквивалентности 119
Заключение 119
- 15.9. Мигрирующие клетки 121
- 15.9.1. Возможно, что смещение клеток, находящихся в нужном месте, противодействует их избирательное слипание 121
- 15.9.2. Будущие половые клетки покидают желточный мешок и обосновываются в гонадных валиках 122
- 15.9.3. У куриного эмбриона мышечные клетки появляются в почке конечности в результате миграции из сомитов 122
- 15.9.4. Клетки, мигрирующие из нервного гребня, участвуют в образовании многих тканей 122
- 15.9.5. Маршруты миграции определяются соединительной тканью реципиента 123
- 15.9.6. Дифференцировку клеток нервного гребня определяет местное окружение 125
- 15.9.7. При исследовании развития нервной системы возникает ряд особых проблем 125
Заключение 126
Литература 126
- Глава 16. Поддержка нормальной организации тканей 131**
- 16.1. Поддержание дифференцированного состояния 131
- 16.1.1. Дифференцированные клетки обычно сохраняют свои специфические признаки даже в условиях изоляции. Пример: пигментный эпителий сетчатки 132
- 16.1.2. Внеклеточный матрикс, секретируемый клеткой, помогает поддерживать ее дифференцированное состояние 133
- 16.1.3. Межклеточные взаимодействия могут изменять состояние дифференцировки клеток 134
- 16.1.4. Некоторые структуры поддерживаются благодаря постоянному взаимодействию их частей. Пример: вкусовые почки в их нервы 135
- 16.1.5. Факторы, влияющие на метилирование ДНК, могут вызывать радикальные изменения в дифференцировке 136
Заключение 137
- 16.2. Ткани с перманентными клетками 137
- 16.2.1. Клетки, расположенные в центре хрусталика, образовались еще в эмбриональном периоде 138
- 16.2.2. Большинство перманентных клеток обновляет свои составные части. Пример: фоторецепторные клетки сетчатки 140
Заключение 142
- 16.3. Обновление путем простого удвоения 143
- 16.3.1. Печень – промежуточное звено между пищеварительным трактом и кровью 143
- 16.3.2. Утрата печеночных клеток стимулирует их пролиферацию 146
- 16.3.3. Регенерации может препятствовать неkoordinированный рост компонентов смешанной ткани 146
- 16.3.4. Эндотелиальные клетки – важнейший компонент всех кровеносных сосудов 146
- 16.3.5. Новые эндотелиальные клетки образуются путем простого деления существующих эндотелиальных клеток 148
- 16.3.6. Новые капилляры образуются как ответвления существующих сосудов 148
- 16.3.7. Рост капиллярной сети регулируют факторы, выделяемые окружающими тканями 150
Заключение 151
- 16.4. Обновление за счет стволовых клеток. Пример: эпидермис 151
- 16.4.1. Стволовые клетки обладают способностью неограниченно делиться и давать дифференцированное потомство 151
- 16.4.2. Эпидермис подразделен на пролиферативные единицы 154
- 16.4.3. Дифференцирующиеся эпидермальные клетки по мере созревания последовательно синтезируют различные кератины 156
- 16.4.4. В каждой пролиферативной единице есть своя «бессмертная» стволовая клетка 156
- 16.4.5. Возможно, что «бессмертие» стволовой клетки сохраняется благодаря контакту с базальной мембраной 157

- 16.4.6. Пролиферация базальных клеток регулируется в соответствии с толщиной эпидермиса 157
 - 16.4.7. Секреторные клетки кожи обособлены в железах, и их популяциям свойственна иная динамика 158
Заключение 158
 - 16.5. Обновление с помощью плюрипотентных стволовых клеток. Пример: образование клеток крови 160
 - 16.5.1. Новые клетки крови образуются в костном мозге 161
 - 16.5.2. Костный мозг содержит плюрипотентные стволовые клетки, которые могут создавать колонии кроветворных элементов 163
 - 16.5.3. Число специализированных клеток крови увеличивается в результате делений, происходящих после соответствующей детерминации 165
 - 16.5.4. Образование эритроцитов (эритропоэз) контролируется путем гормональной регуляции клеточных делений, происходящих после определения пути дифференцировки 166
 - 16.5.5. Специфические гликопротеиновые гормоны контролируют выживание и судьбу различных классов коммитированных кроветворных клеток-предшественниц 168
Заклучение 169
 - 16.6. Покоящиеся стволовые клетки в скелетных мышцах 169
 - 16.6.1. Клетки скелетных мышц не делятся 171
 - 16.6.2. Новые клетки скелетных мышц образуются путем слияния миобластов 171
 - 16.6.3. Дифференцировка мышечных клеток требует координированных изменений экспрессии многих генов 171
 - 16.6.4. Некоторые миобласты сохраняются во взрослом организме в виде клеток-сателлитов 173
 - 16.6.5. Дифференцированное состояние волокон скелетных мышц можно изменять путем электростимуляции 174
Заклучение 174
 - 16.7. Мягкие клетки и плотный матрикс: процессы роста, обновления и репарации в скелетной соединительной ткани 175
 - 16.7.1. Хрящ способен к интерстициальному росту 175
 - 16.7.2. Остеобласты секретируют костный матрикс, а остеокласты разрушают его 176
 - 16.7.3. Остеокласты разрушают хрящ, чтобы проложить путь для роста кости 179
Заклучение 180
 - 16.8. Территориальная стабильность во взрослом организме 180
 - 16.8.1. Организация эпителиев способствует тому, чтобы клетки оставались в пределах своих территорий 181
 - 16.8.2. Нормальным соматическим клеткам суждено погибнуть, чтобы половые клетки смогли выжить 181
 - 16.8.3. Раковые клетки нарушают правила альтруистичного социального поведения 182
Заклучение 183
- Приложение. Перечень клеток взрослого человеческого организма 183
- Литература 190

МОНОГРАФИЯ

Брюс Албертс,
Денис Брей,
Джулиан Льюис,
Мартин Рэфф,
Кейт Робертс,
Джеймс Уотсон

МОЛЕКУЛЯРНАЯ
БИОЛОГИЯ
КЛЕТКИ

Том 4

Спец. редактор канд. биол. наук П. Л. Иванов. Ст. научн. редактор Ю. И. Лашкевич.
Мл. научн. редактор Р. Ф. Куликова. Художник Е. И. Волков.
Художественный редактор Л. М. Кузнецова. Технический редактор М. А. Страшнова.
Корректор М. А. Смирнова.

ИБ № 5283

Слано в набор 17.02.86. Подписано к печати 29.01.87. Формат 84 × 108¹/₁₆. Бумага офсетная № 1.
Печать офсетная. Гарнитура таймс. Объем 6,25 бум. л. Усл. печ. л. 21. Усл. кр.-отт. 42,40. Уч.
изд. л. 20,63. Изд. № 4/4397. Тираж 13 500 экз. Зак. 210. Цена 1 р. 70 к.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР» 129820, ГСП, Москва, И-110, 1-й Рижский пер., 2

Можайский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по де-
лам издательств, полиграфии и книжной торговли.
г. Можайск, ул. Мира, 93.

Издательство «Мир» выпускает
в 1988 г.

БИОТЕХНОЛОГИЯ. Принципы и применение. Под ред. И. Хиггинса,
Д. Беста, Дж. Джонса
Пер с англ. – 30 л. – 2 р. 70 к.

Книга, написанная коллективом в основном английских авторов, представляет собой учебник биотехнологии для вузов.

Содержание: Что такое биотехнология? Применение биотехнологии для получения богатого энергией топлива, пищевых продуктов и напитков, биоматериалов, для концентрации и выделения металлов из растворов. Биологический катализ в химической промышленности. Окружающая среда и биотехнология (деградация токсичных отходов и воспроизводство ресурсов). Генетика и биотехнология. Использование биотехнологии в медицине и сельском хозяйстве. Технологические проблемы (принципы конструирования и эксплуатации технологических линий, классификация и оценка микробиологических и инженерных факторов).

Из отзыва акад. А. А. Баева: «Книга долго не устареет и будет очень полезной для преподавателей и студентов вузов, не говоря о тех, кто соприкасается с фундаментальными исследованиями и разработками в области биотехнологии».