Лекции Р.П.Костюченко

Биология развития

6-7. Гаметогенез. Оплодотворение. Дробление. Гаструляция.

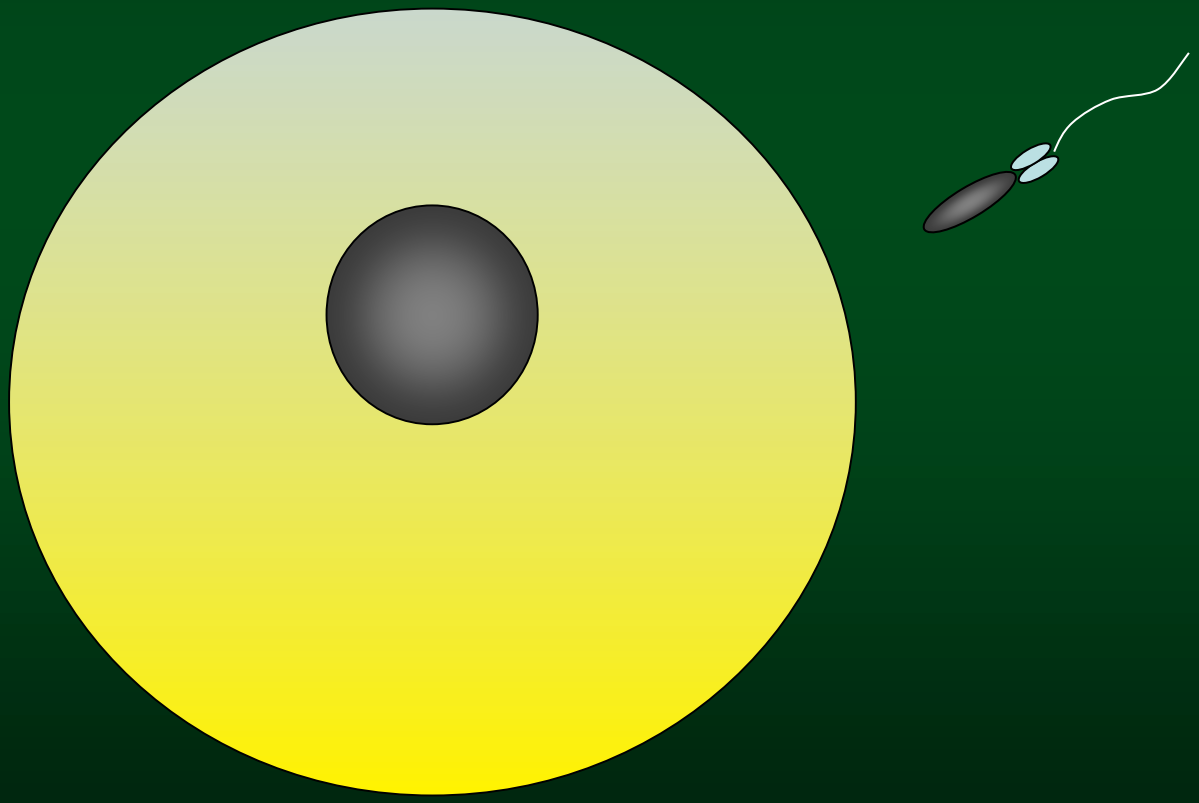
ГАМЕТОГЕНЕЗ

процесс формирования половых клеток, функция которых состоит в обеспечении репродукции животных

Зрелые половые клетки, или ***гаметы*** (от греч. γαμοζ--- свадьба, брак) - *специализированные гаплоидные клетки, утратившие способность к клеточным делениям*

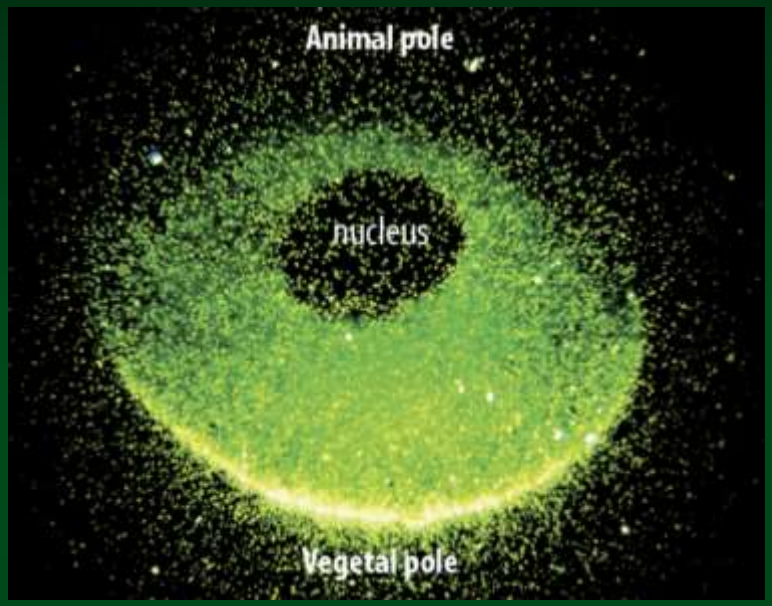
гаметы

- *Специализация гамет затрагивает как клеточное тело, так и ядерный аппарат*;
- *Специализация клеточного тела мужских и женских гамет резко различается*



оогенез

от греч. ωον --- яйцо; γενεσιζ --- творение, происхождение



- **запасы веществ: энергия зародыша до начала активного питания**
- **анизотропия яйцевой клетки, в т.ч., с образованием первичной полярности яйца**
- **запас органелл, белков, иРНК**
- **локализация факторов дифференциации**

специализированный цитоскелет

Таблица 19.2 Клеточные компоненты, запасенные в зрелом ооците *Xenopus laevis*

Компонент	Приблизительное превышение содержащегося в клетках личинки
Митохондрии	100 000
РНК-полимеразы	60 000–100 000
ДНК-полимеразы	100 000
Рибосомы	200 000
тРНК	10 000
Гистоны	15 000
Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты	2 500

Источник: Laskey 1979

сперматогенез

от греч.σπερμα --- семя

- максимальная компактизация ядерных структур
- развитие органелл движения
- развитие органелл, обеспечивающих встречу и соединение спермия с яйцеклеткой

гаметы

- *процесс дифференциации ядерного аппарата мужских и женских гамет универсален*

специализация поверхностного аппарата

- обеспечивает высокую точность распознавания родственных гамет противоположного пола.
- возможность видоспецифического слияния гамет

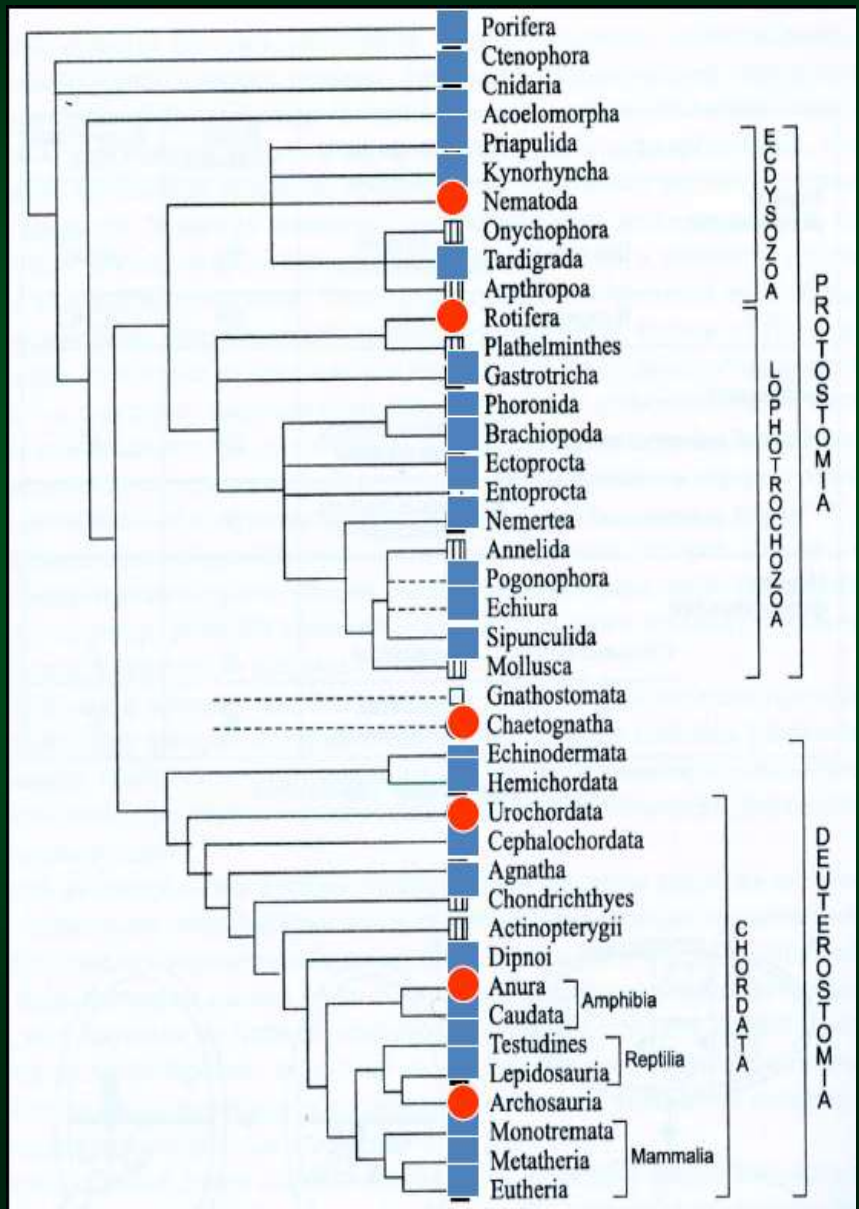
примордиальные (от лат. primordium --- начало, зарождение), или

первичные половые клетки (ППК)

обычно обособляются на ранних этапах эмбриогенеза в ходе сегрегации половой и соматической линий клеток

эпигенетический способ (индуктивный)

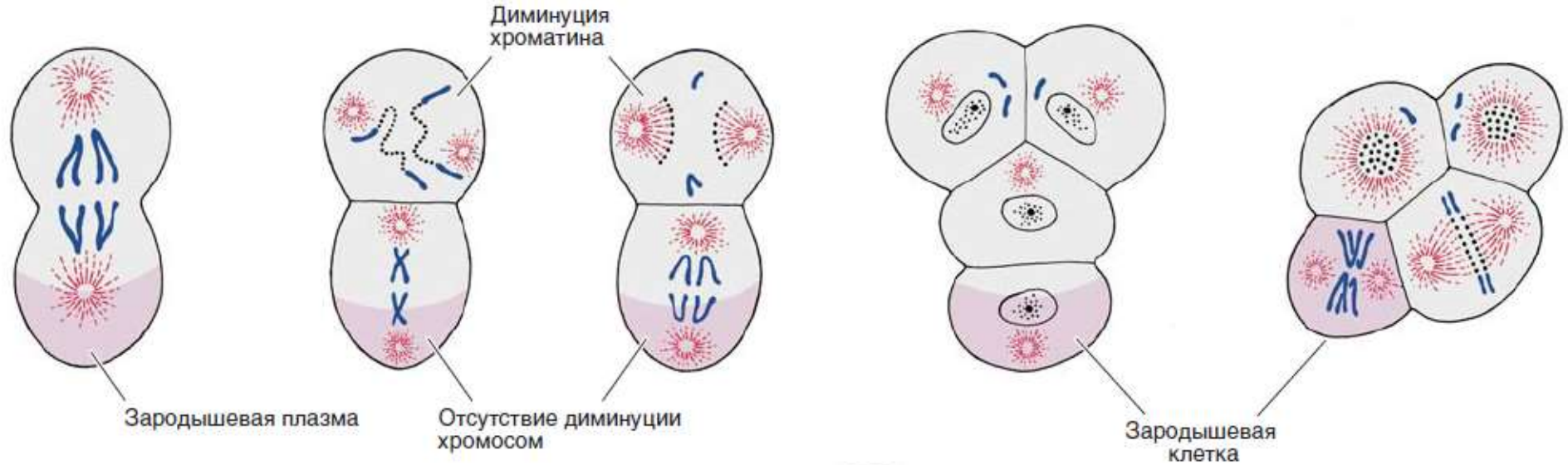
преформационный способ (наследственный)



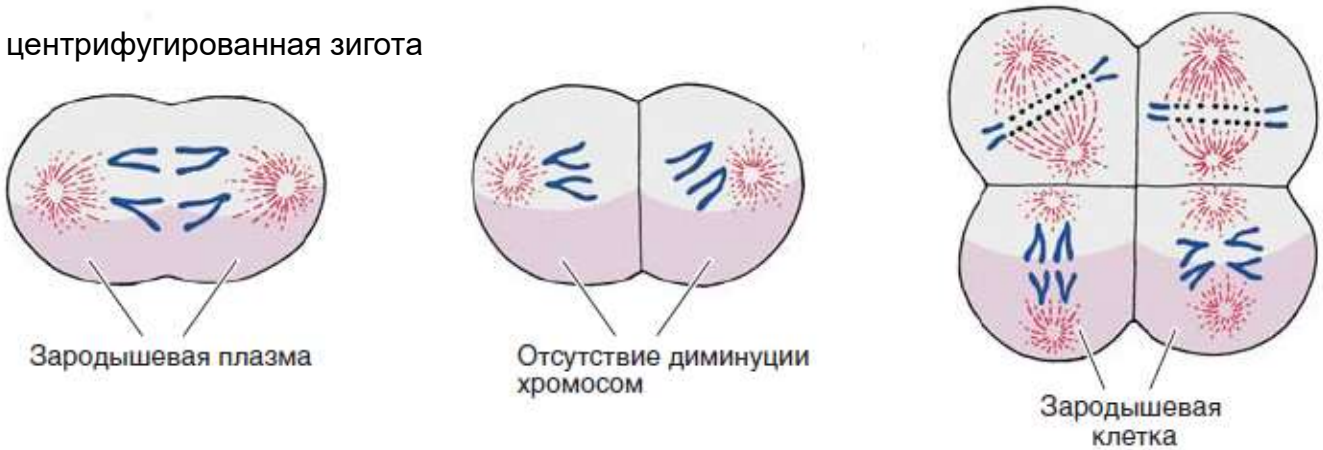
Extavour, Akam, 2003

преформационный способ:
Детерминация зародышевых клеток у нематод

Parascaris aequorum (*Ascaris megalocephala*)



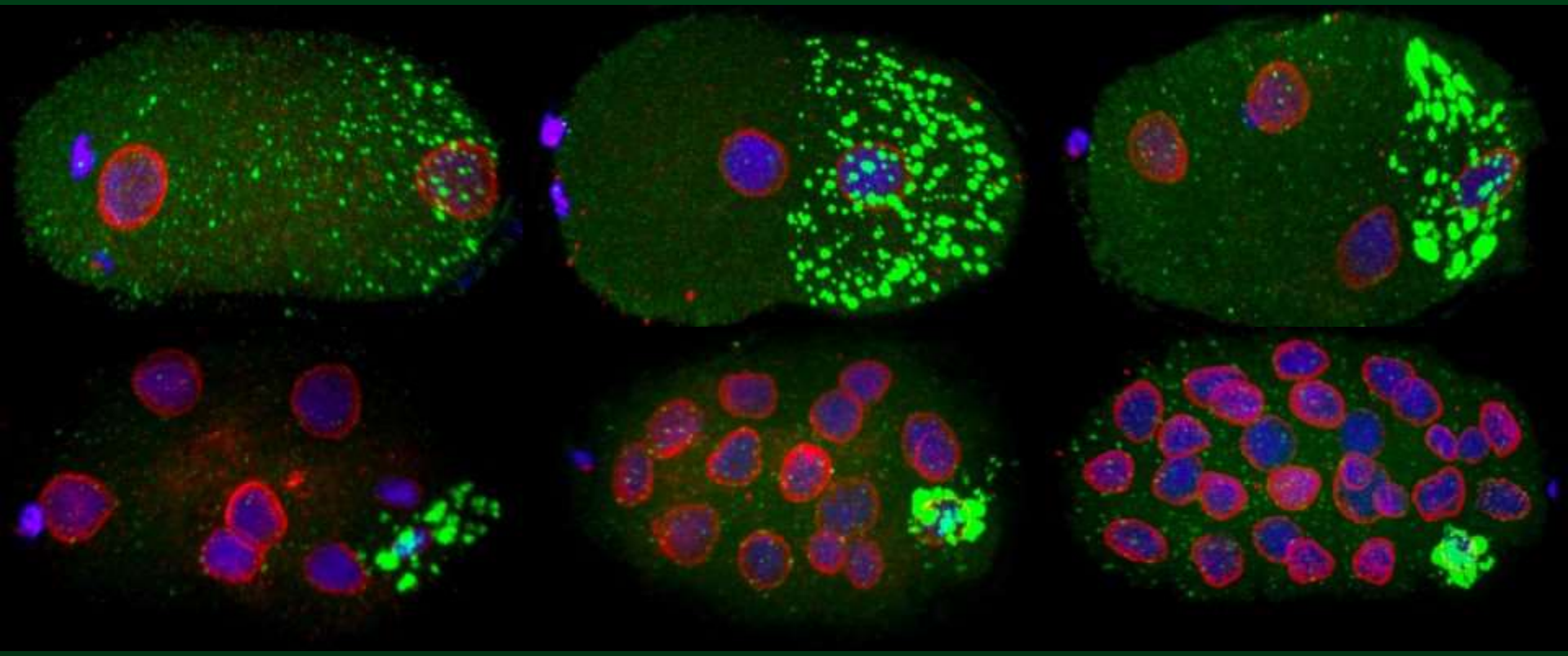
центрифугированная зигота



Теодор Бовери:
диминуции хроматина

преформационный способ:
Детерминация зародышевых клеток у нематод

C. elegans



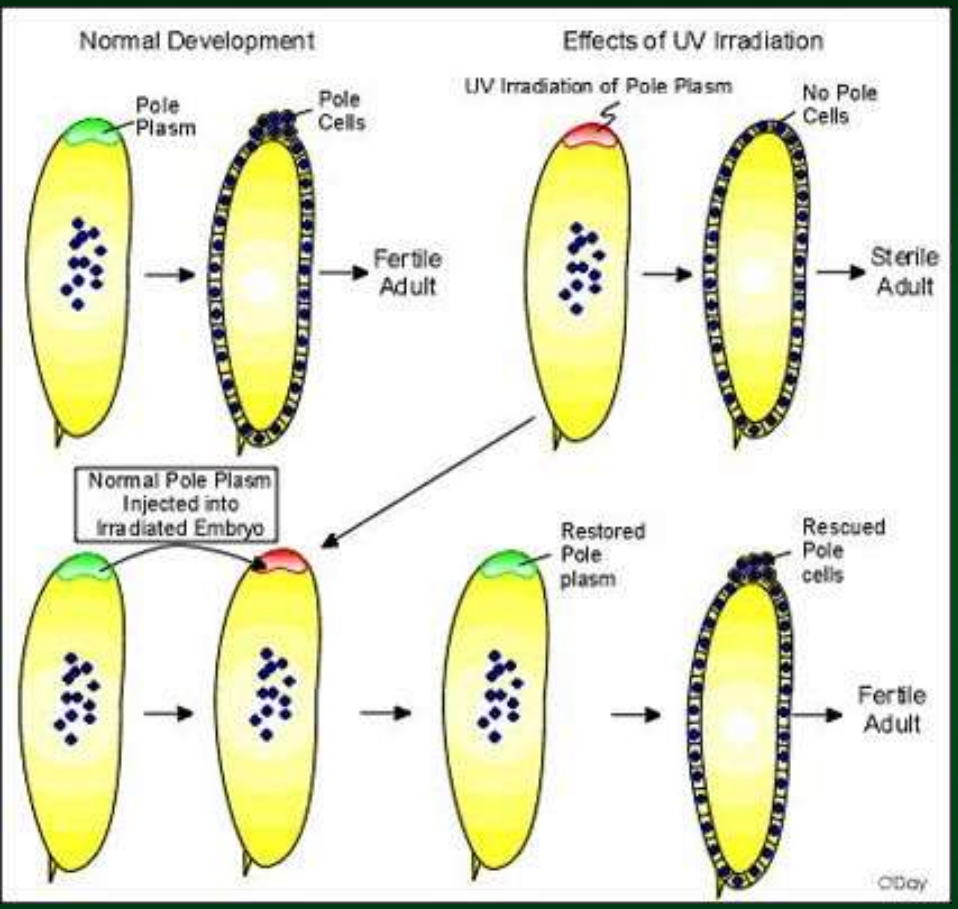
P granules

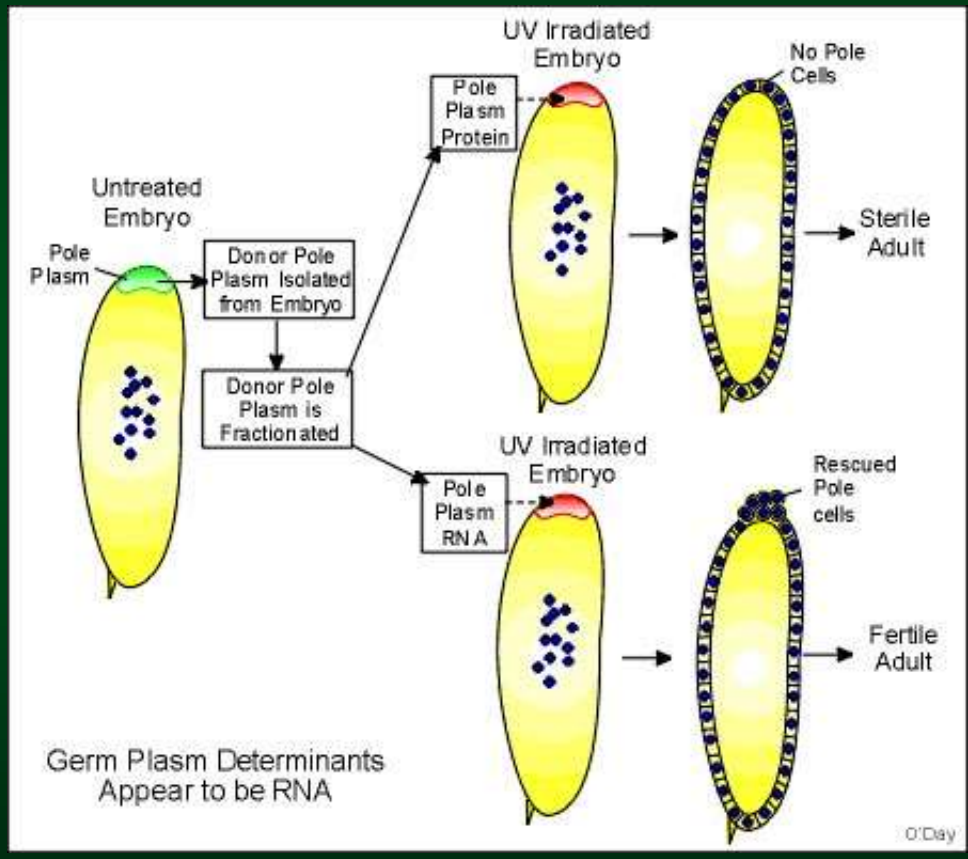
http://updikelab.mdibl.org/

преформационный способ:
Детерминация зародышевых клеток у насекомых

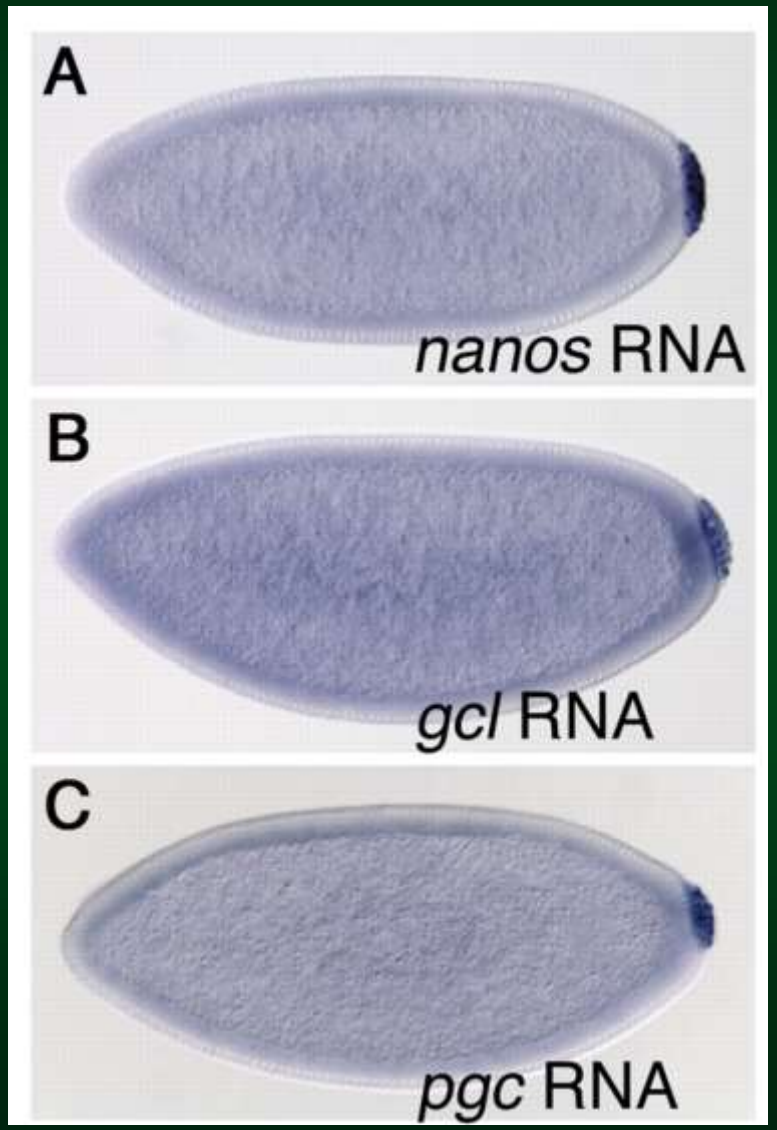
Drosophila melanogaster

полярная плазма





преформационный способ:
Детерминация зародышевых клеток у насекомых



Drosophila melanogaster

полярная плазма

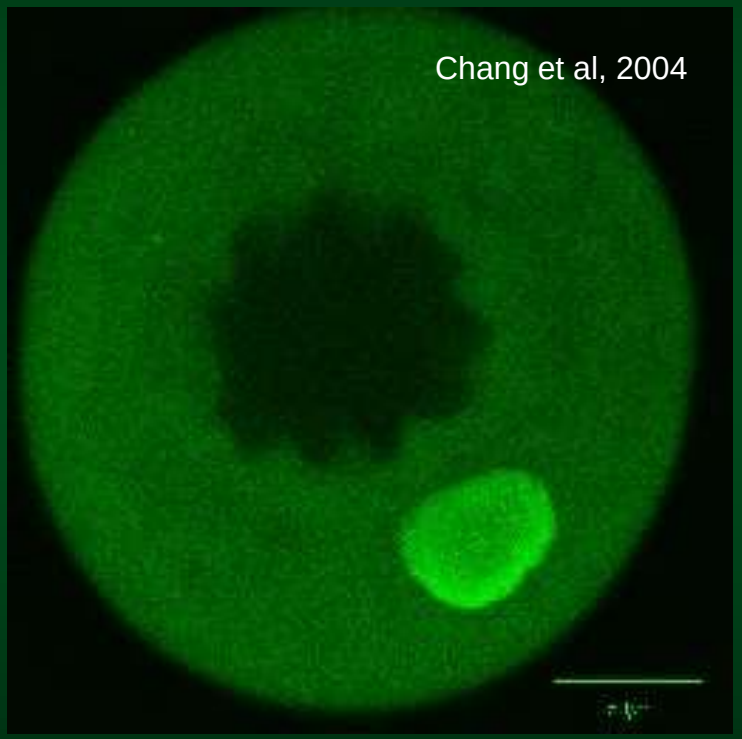
germ-cell-less
oskar
nanos
piwi
vasa
tudor
рибосомальная РНК митохондрий
компонент полярных гранул (PGC)

Hanyu-Nakamura K et al., 2004

преформационный способ:
Детерминация зародышевых клеток у Anura

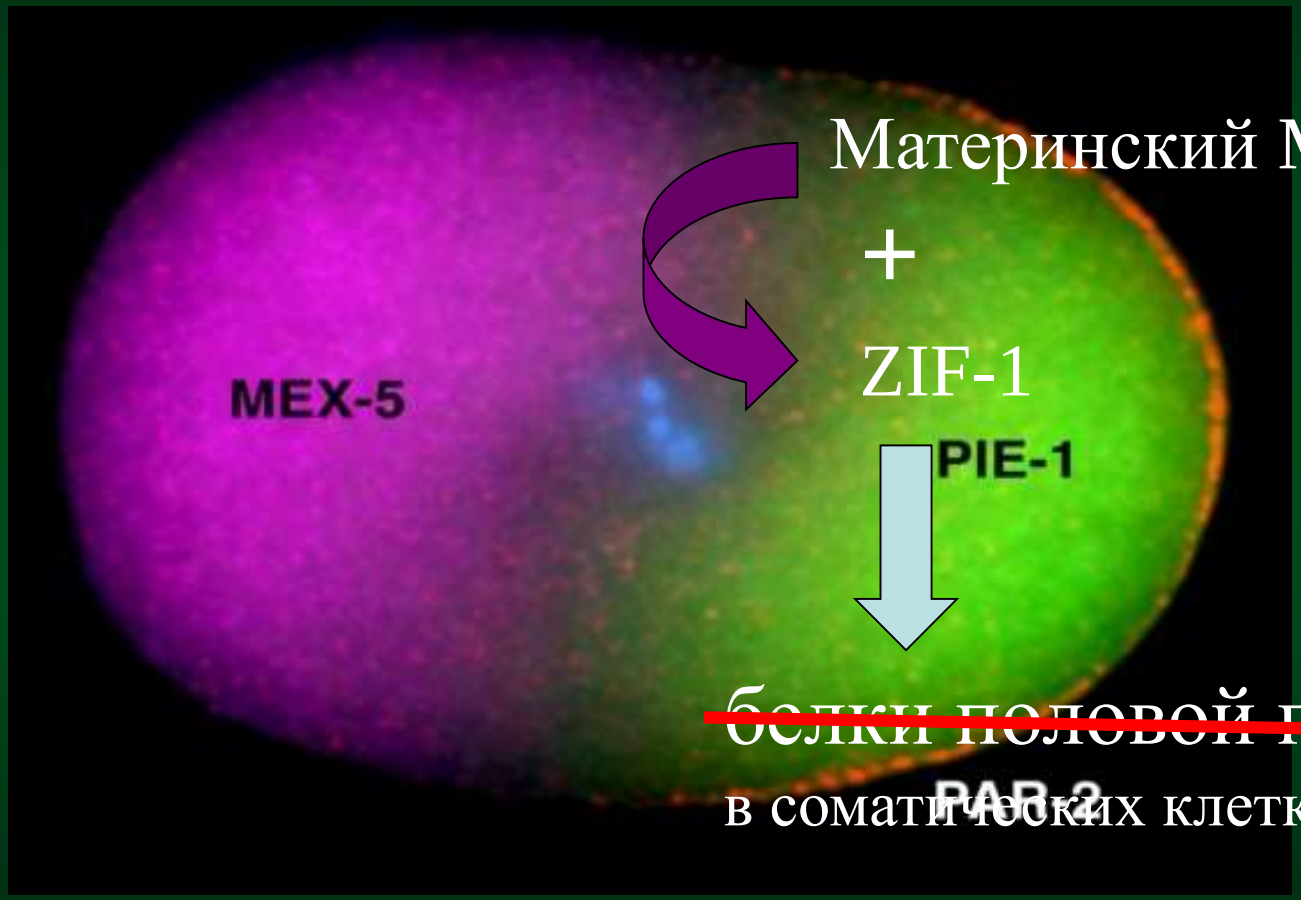
Xcat2 (гомолог *Nanos* у *Xenopus*)

Xenopus
Зародышевая плазма



24 hours after injection into Stage I or II oocytes, fluorescent Xcat2 RNA becomes localised in the Mitochondrial Cloud

Caenorhabditis elegans



Материнский MEX-5

+

ZIF-1

~~белки половой плазмы~~

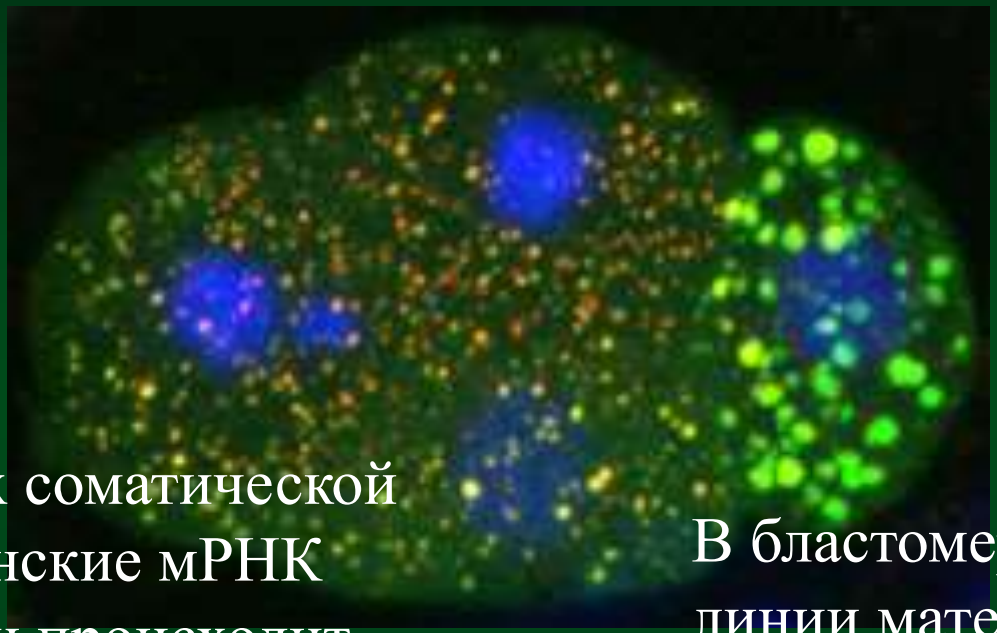
в соматических клетках

Priess Lab

Разделение на соматические и половые линии клеток

Caenorhabditis elegans

Разделение на соматические и половые линии клеток



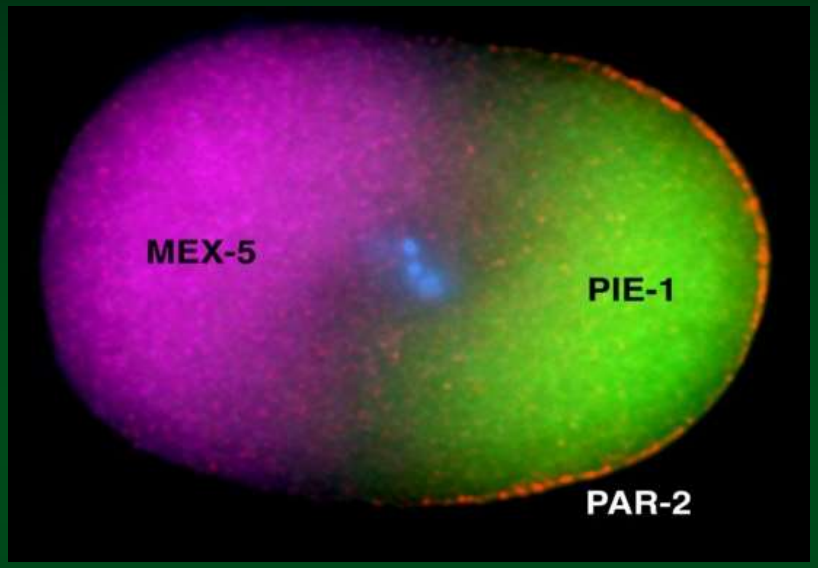
В бластомерах соматической линии материнские мРНК разрушаются и происходит активация зиготической экспрессии вскоре после разделения на соматическую и половую линии.

В бластомерах половой линии материнские мРНК сохраняются, а запуск зиготической транскрипции откладывается до конца гаструляции.

Seydoux lab

Caenorhabditis elegans

Разделение на соматические и половые линии клеток



PIE-1 – универсальный репрессор транскрипции – сегрегируется в линию половых бластомеров.

Caenorhabditis elegans

Разделение на соматические и половые линии клеток

PIE-1 белок в бластомере P репрессирует экспрессию гена *pes-10*

У Дрозофилы компонент полярных гранул (PGC) имеет функции аналогичные PIE-1

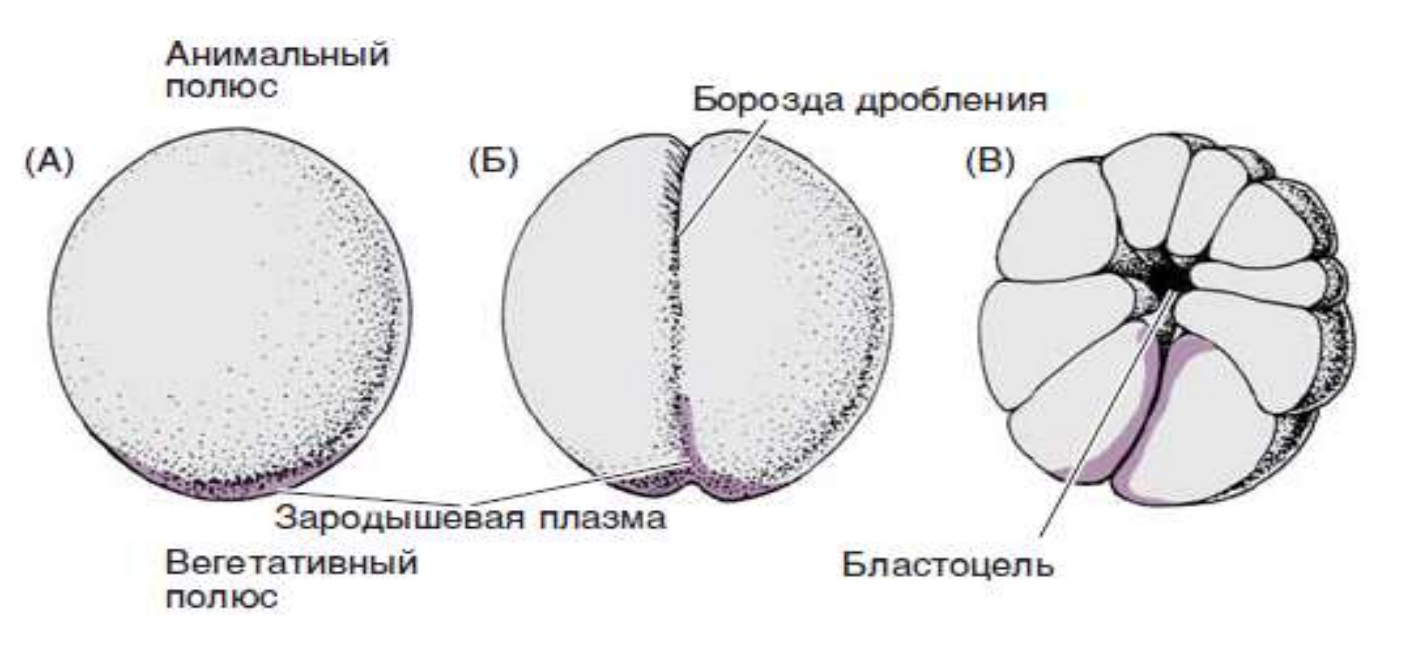
! Раннее обособление клеток половой линии не является универсальным правилом.
ППК могут возникать на поздних стадиях дробления и даже в период гаструляции.

позвоночные

ППК на стадии дробления были выявлены лишь у бесхвостых амфибий (образуются в тесной связи с энтодермой)

у хвостатых амфибий ППК, вероятно, образуются в период гаструляции благодаря индуцирующим воздействиям энтодермы, т.е. эпигенетически.

Миграция половых клеток



по Гилберт, 2010

Миграция половых клеток

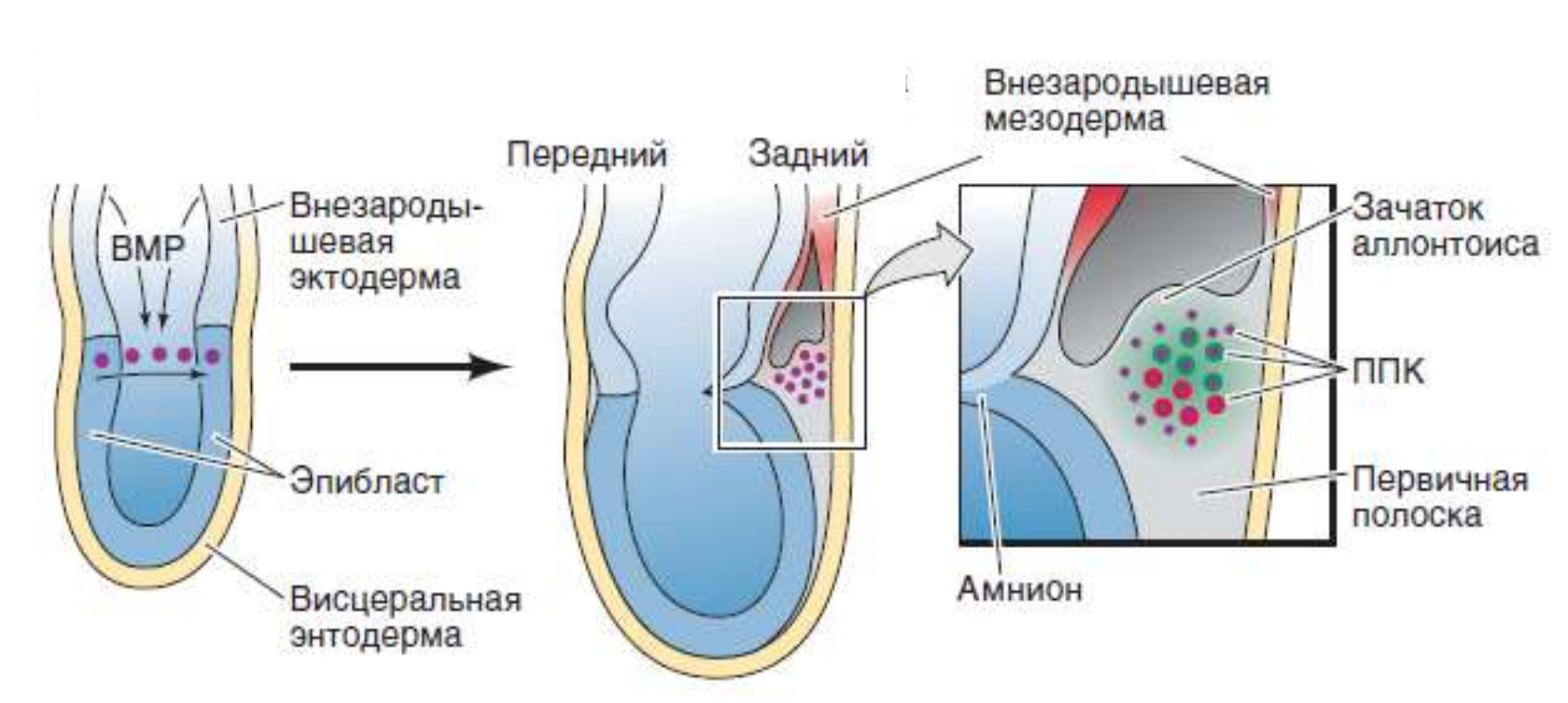
зародышевая плазма попадает только в одну из двух нагруженных желтком дочерних клеток

Первичные половые клетки и соматический клетки поблизости от дна бластоцеля в ранней гаструле. Миграция двух первичных половых клеток (стрелка) вдоль дорсального мезентерия, связывающего область кишки с мезодермой гонад

(A. Blackler, Heasman et al.)

Формирование половых клеток у млекопитающих

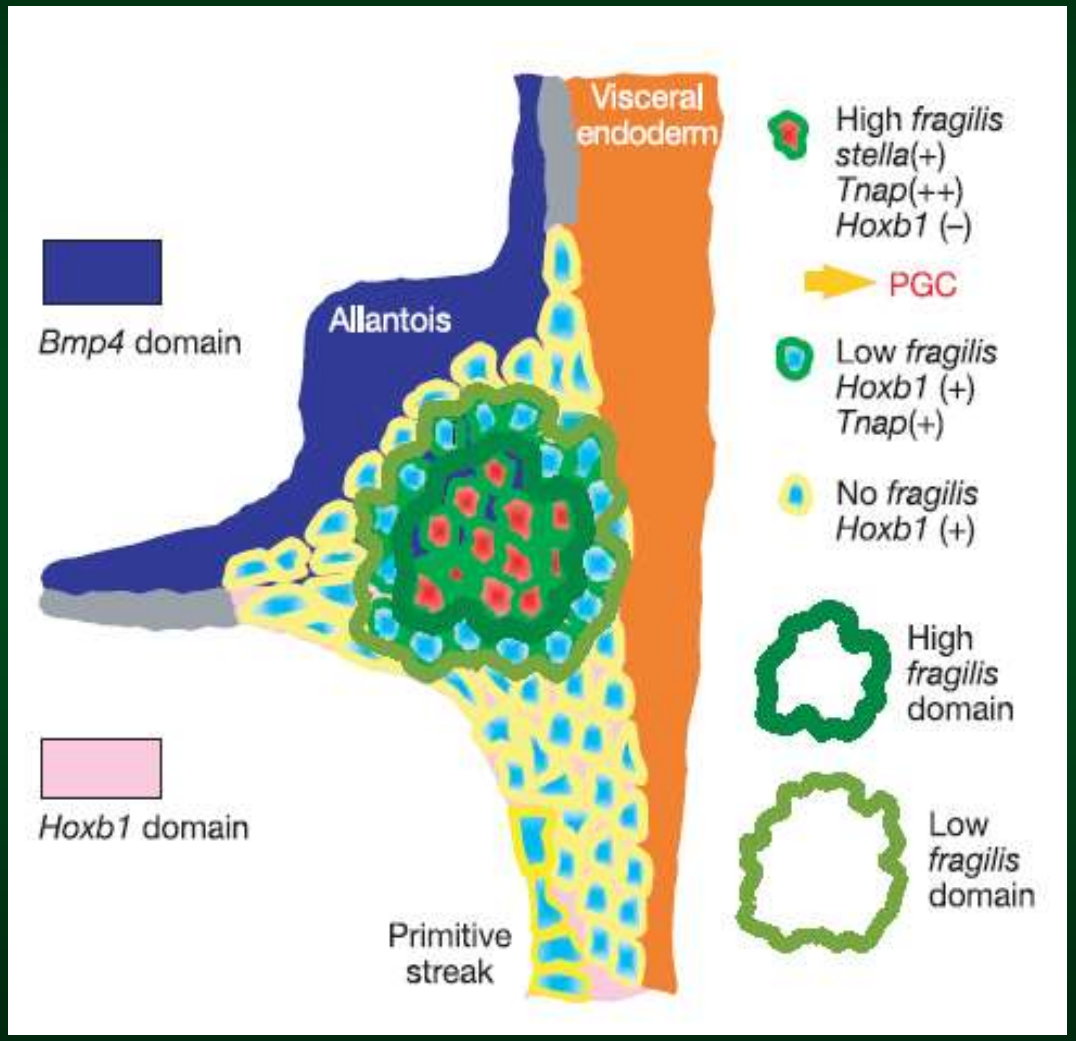
У мыши половые клетки возникают в эпибласте задней области зародыша в результате индуцирующего действия факторов BMP4 и BMP8b



по Гилберт, 2010

Формирование половых клеток у млекопитающих

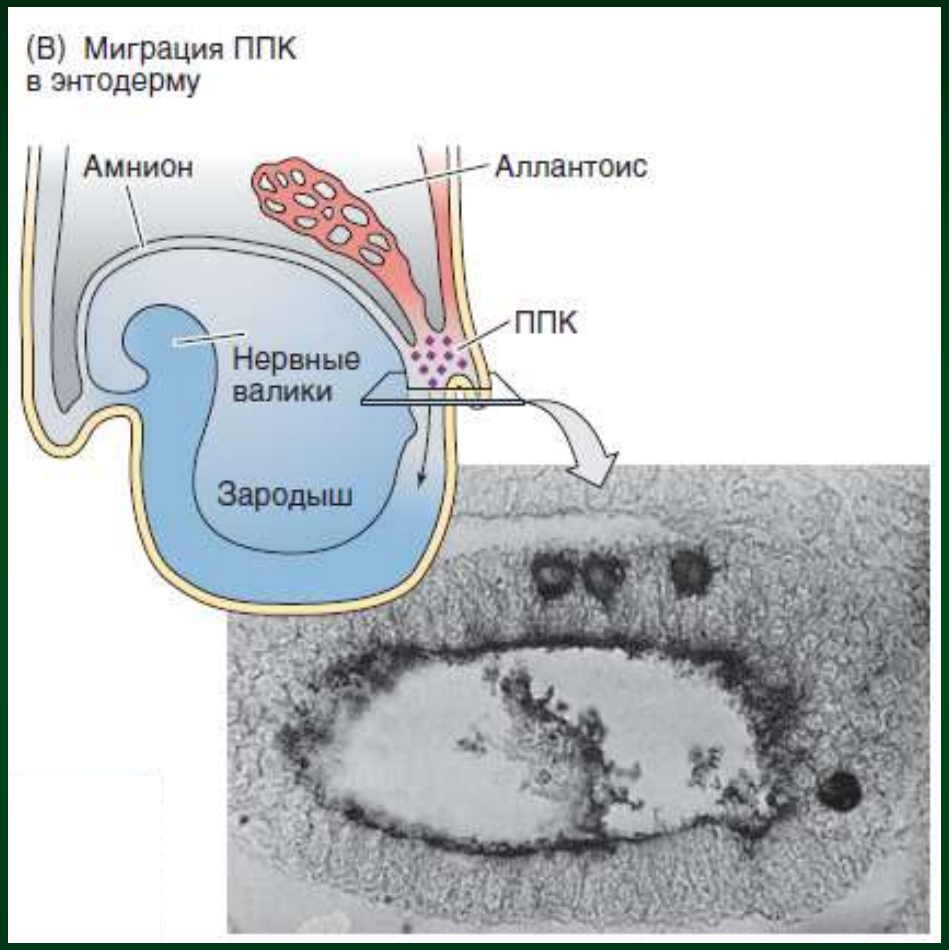
У мыши половые клетки возникают в эпибласте задней области зародыша в результате индуцирующего действия факторов BMP4 и BMP8b



Saitou et al., © 2002 Nature PublishingGroup

Миграция половых клеток

пассивная
активная



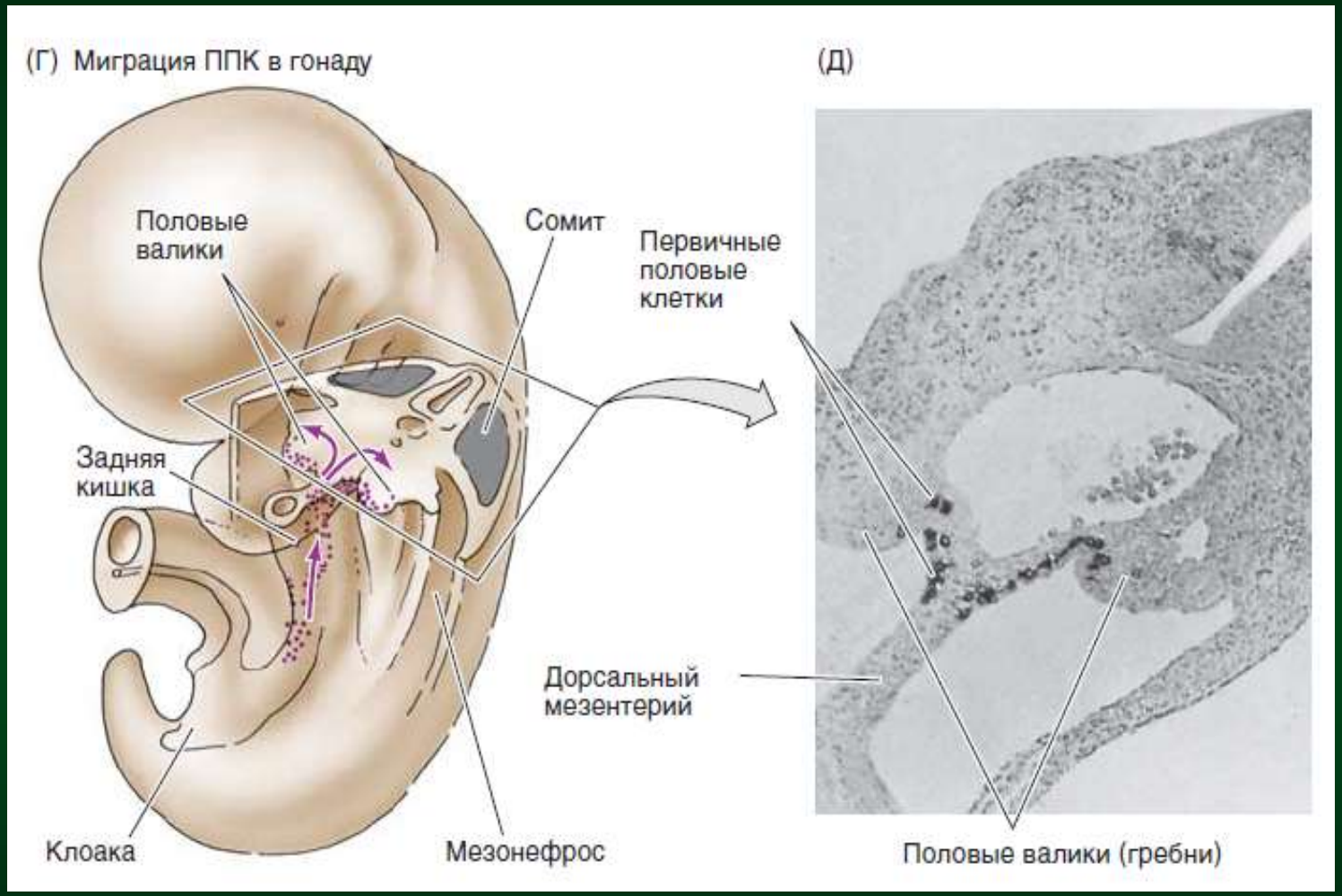
половые клетки млекопитающих мигрируют в энтодерму непосредственно из задней области первичной полоски, а клетки, попадающие в аллантоис, по-видимому, гибнут. Эти клетки, экспрессирующие *stella*, оказываются в задней кишке. Хотя они активно двигаются, они не могут выйти из кишки вплоть до 9-ого дня эмбрионального развития.

по Гилберт, 2010

Миграция половых клеток

пассивная
активная

направление движения на основе *контактного ориентирования*



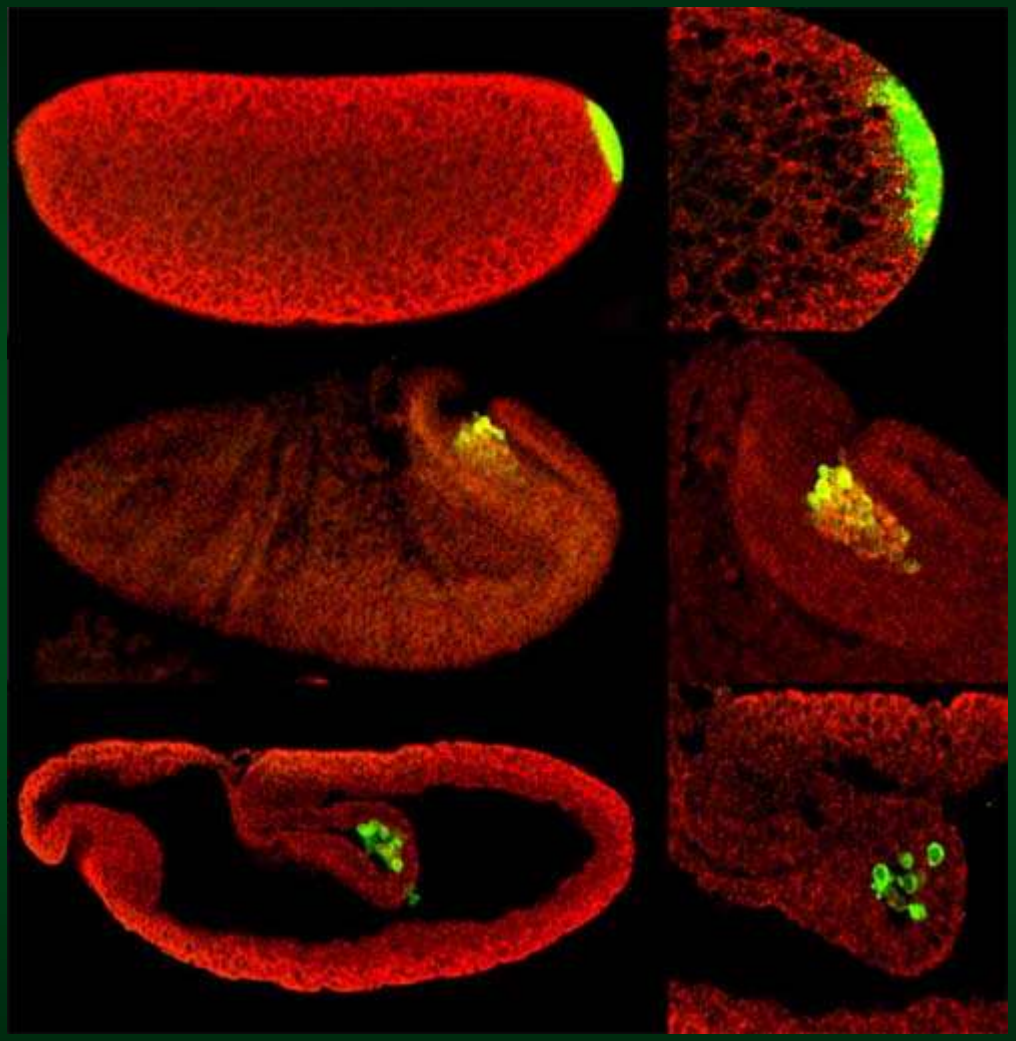
9-й день эмбрионального развития - ППК выходят из кишки, но еще не мигрируют к половым гребням. Однако на следующий день ППК начинают мигрировать в половые гребни На 11,5 день развития ППК проникают в развивающиеся гонады В процессе этой миграции они пролиферируют, и вместо исходной популяции в 10–100 клеток к 12-му дню в гонадах оказывается до 2500–5000 ППК

по Гилберт, 2010

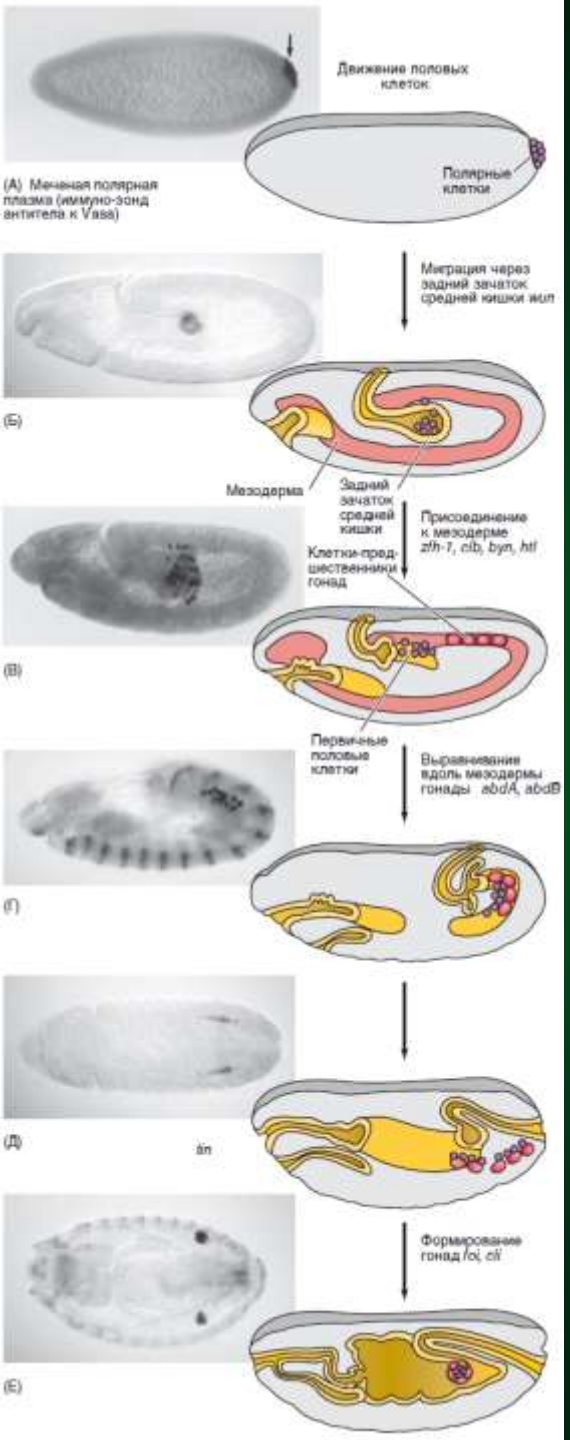
Миграция половых клеток

пассивная
активная

направление движения на основе *контактного ориентирования, градиента растворимого белка*



Миграция половых клеток

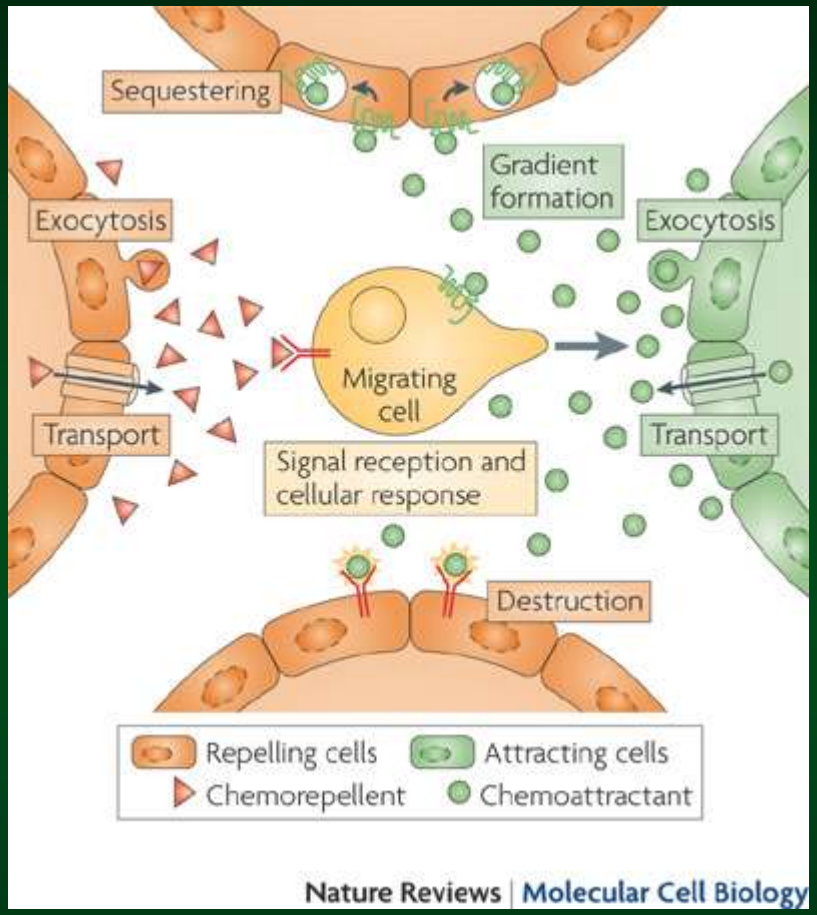


1 этап этой - пассивная миграция,
30-40 полярных клеток

2 этап
индукция активного амебоидного движения,
миграция в висцеральную мезодерму

3 этап
ППК разделяются на две группы

Richardson, Lehmann , 2010



4 этап
ППК мигрируют к гонадам, которые происходят из латеральной мезодермы парасегментов 10-12

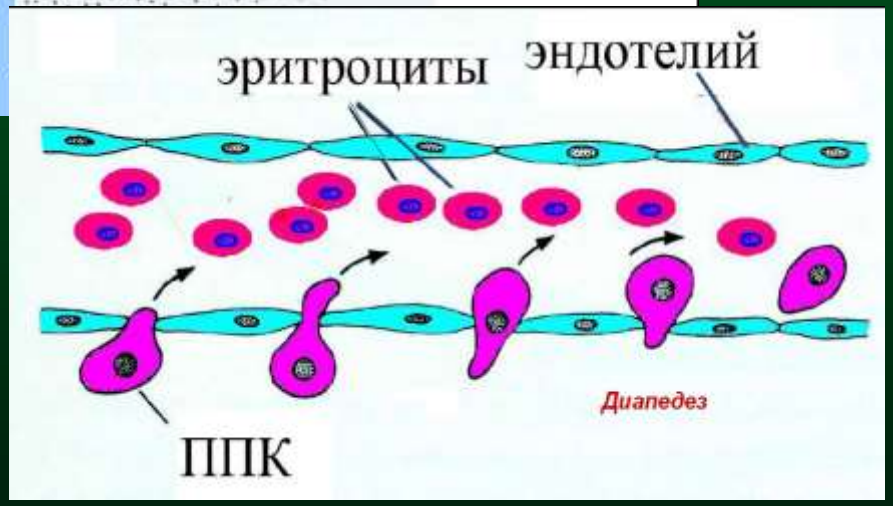
притяжения и отталкивания
белок wunen (в энтодерме)

белки columbus и Hedgehog (в мезодерме)

гонады обрастают половые клетки, способствуя их делению и созреванию в гаметы

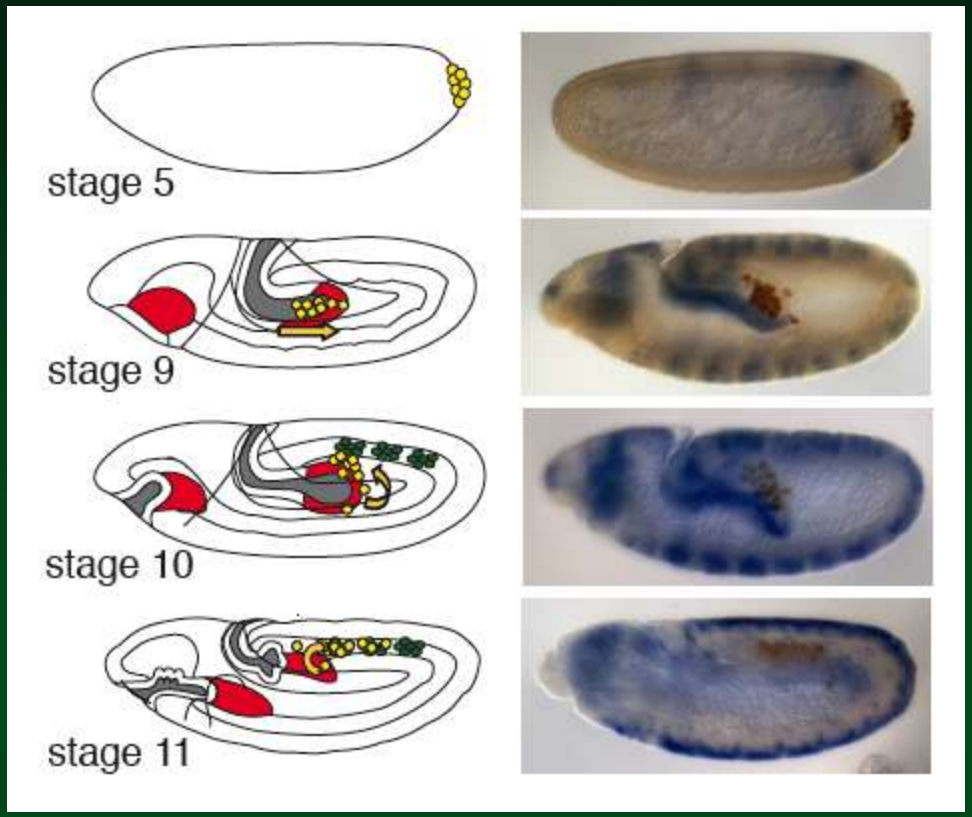
Richardson, Lehmann , 2010

Миграция половых клеток



ГАМЕТОГЕНЕЗ

тератомы



Dpp

вне гонады

bag-of marbles

женская гонада

оогенез

на этапе миграции происходит подавление дифференцировки ППК и перехода к оогенезу

а в гонаде – поддержание самообновления стволовой популяции

мужская гонада

лиганды BMP

белок Unpaired → Jak-STAT - поддержание популяции клеток

ПЕРИОДИЗАЦИЯ ГАМЕТОГЕНЕЗА

ПЕРИОД	ПОЛОВЫЕ ПРОДУКТЫ	ХРОМО-СОМЫ	КОЛ-ВО ДНК
ПЕРИОД РАЗМНОЖЕНИЯ ВНЕ ГОНАД	ПГК	2N	2C - 4C
В ГОНАДАХ	ГОНИИ	2N	2C - 4C
ПЕРИОД СОЗРЕВАНИЯ 1-ый мейотический раунд 1-ое деление	ПЕРВИЧНЫЕ «ЦИТЫ»	2N	4C
2-ой мейотический раунд 2-ое деление	ВТОРИЧНЫЕ «ЦИТЫ»	N	2C
ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ СПЕРМИОГЕНЕЗ	СПЕРМАТИДЫ, (ООТИДЫ)	N	C
ГАМЕТЫ	СПЕРМИИ, ЯЙЦА	N	C

Гонии

ППК, заселившие гонады, называют *гониями*

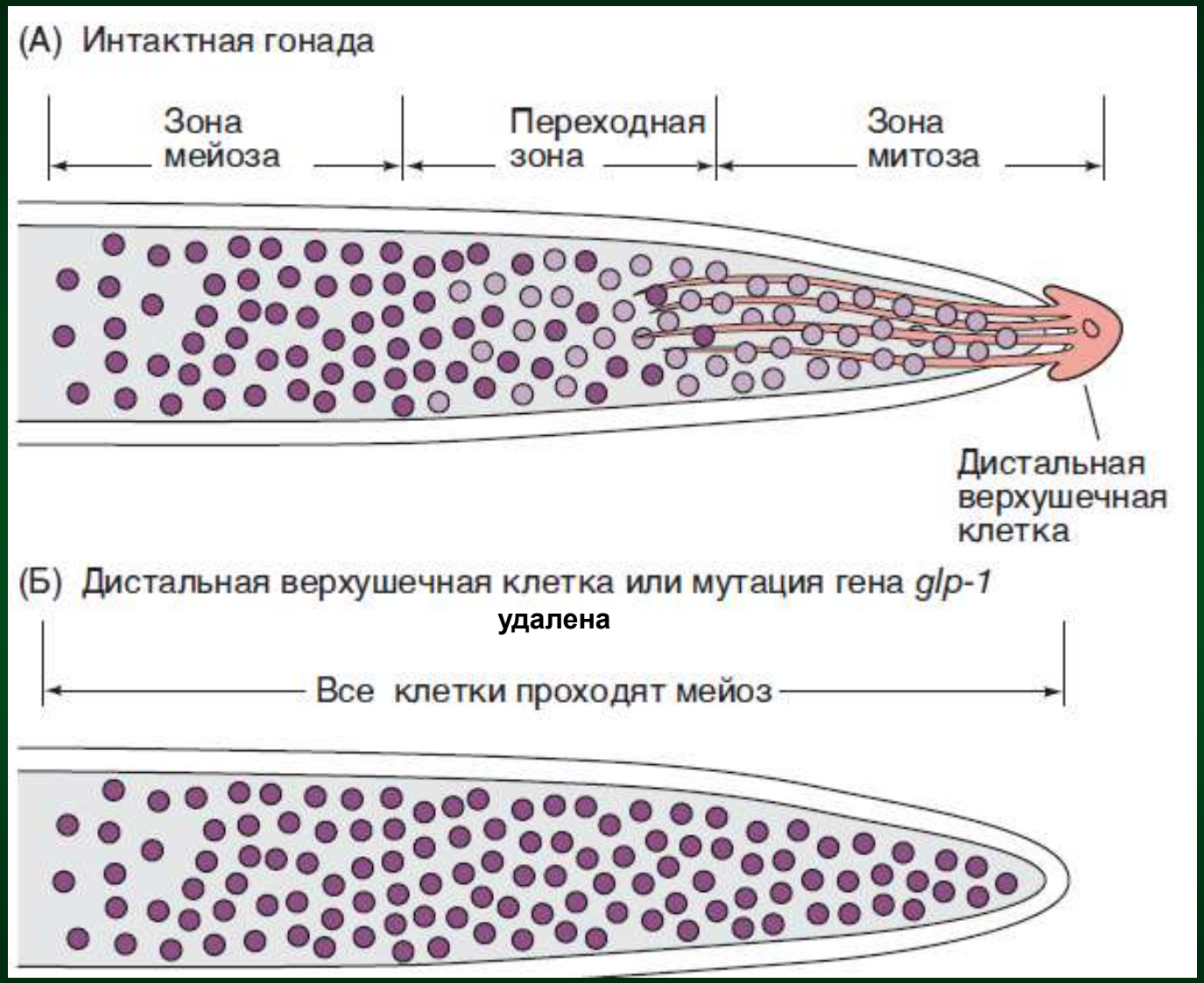
стволовые половые клетки (СПК)
обеспечивают непрерывность гаметогенеза в течение всего репродуктивного периода

1. тип СПК - *стереотипный*
асимметричное деление
одна из дочерних клеток остается стволовой
другая вступает на путь дифференциации
Дрозофила: *дочерняя СПК* (контакт с апикальными соматическими клетками терминальной нити) и *цистобласт*
ооцит и цистоциты
2. тип - *популяционный*
две равнозначные клетки, судьба которых предопределяется случайным образом в зависимости от местоположения клетки в яйцевой трубке

C. elegans

Гонии

ППК, заселившие гонады, называют *гониями*



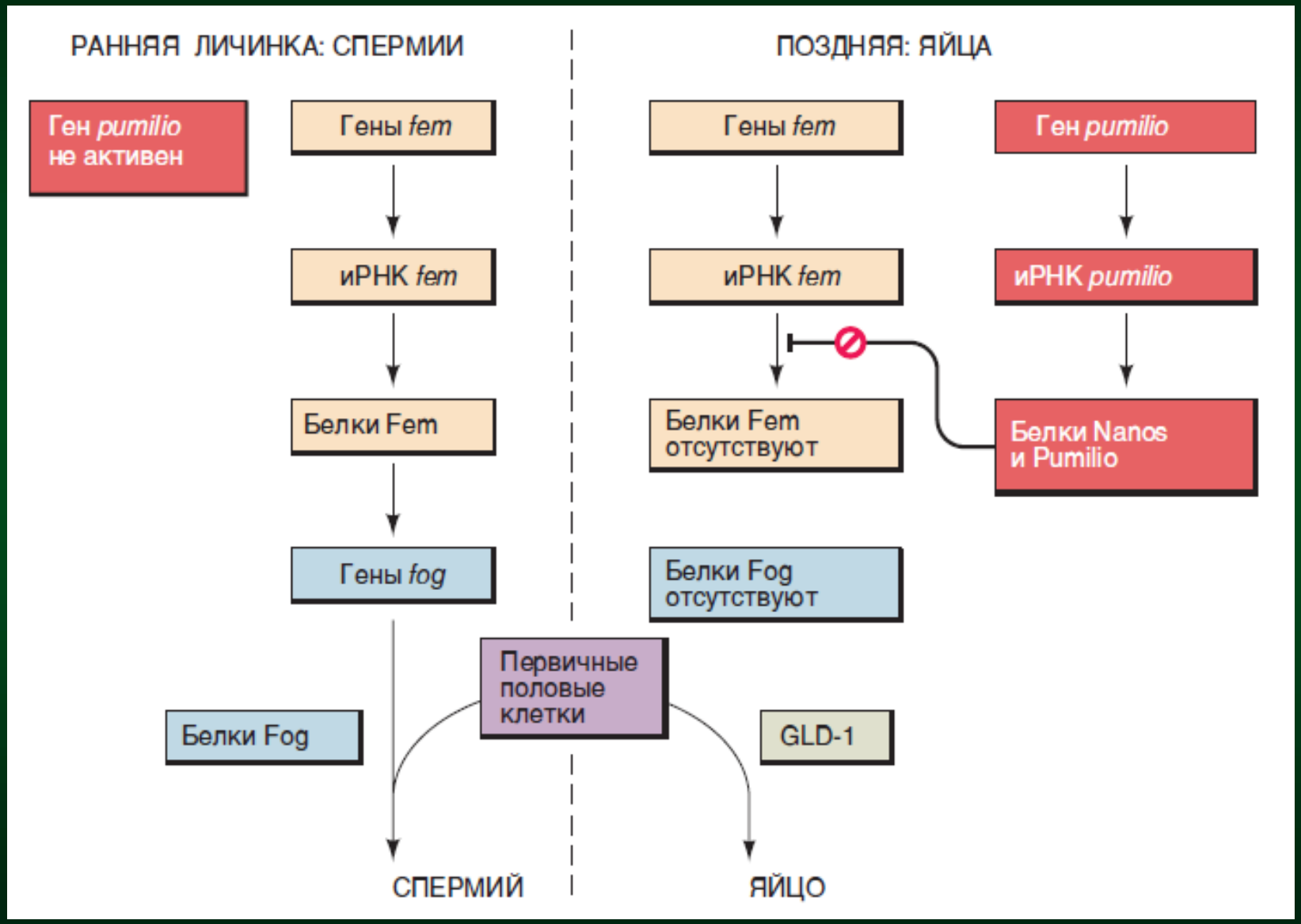
мембраны выростов дистальной верхушечной клетки гомолог Delta
СПК гомолог Notch (GLP-1)

Так, в семенной трубке *C. elegans* при рецессивной мутации *glp-1* вместо примерно полутора тысяч образует всего лишь около десятка спермиев

по Гилберт, 2010

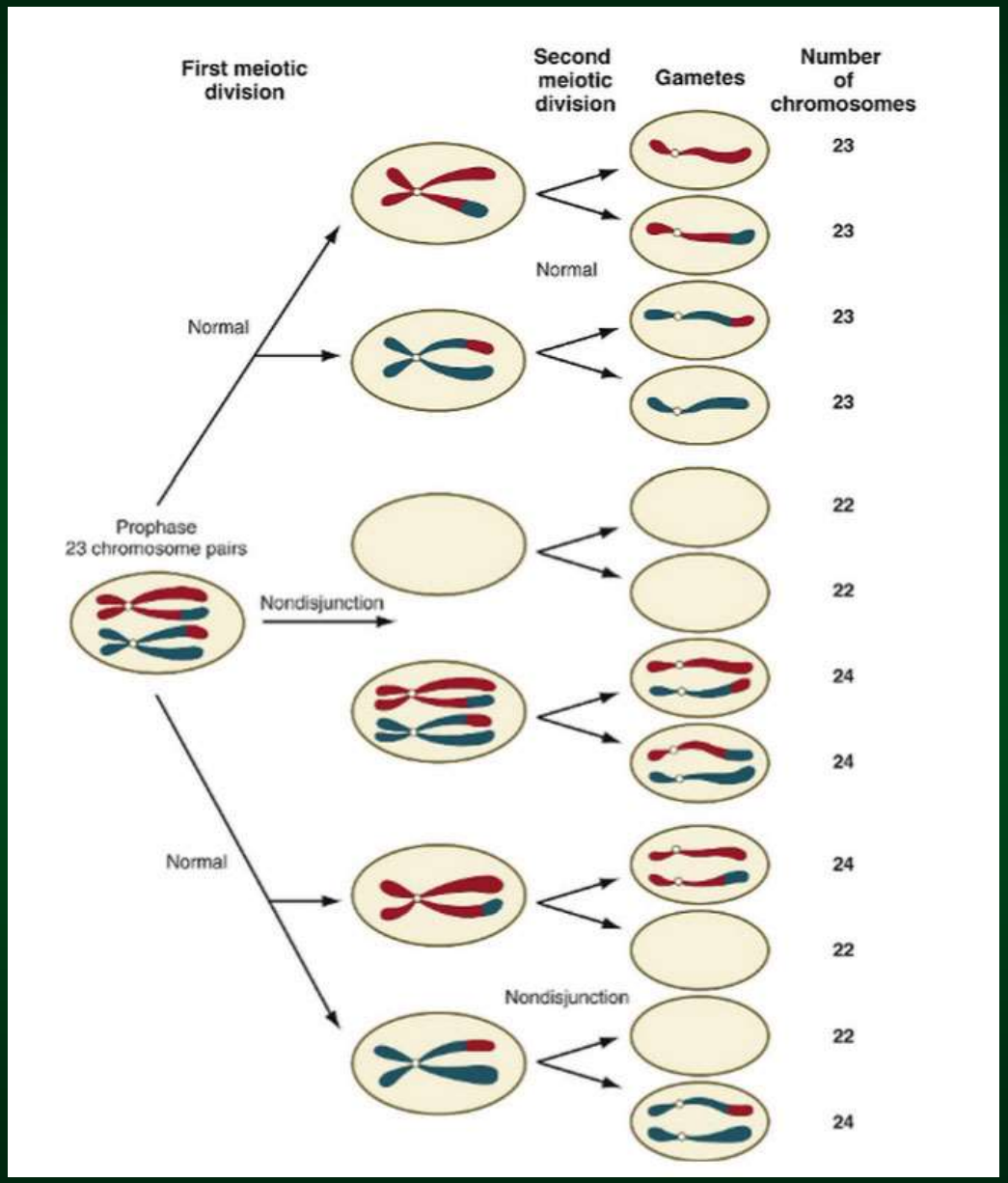
Гонии

часто половые клетки бипотенциальны
дифференцировка в зависимости от окружения в гонаде



по Гилберт, 2010

Нарушения мейоза и хромосомные аберрации



трисомия

моносомия

анеуплоидия

транслокации

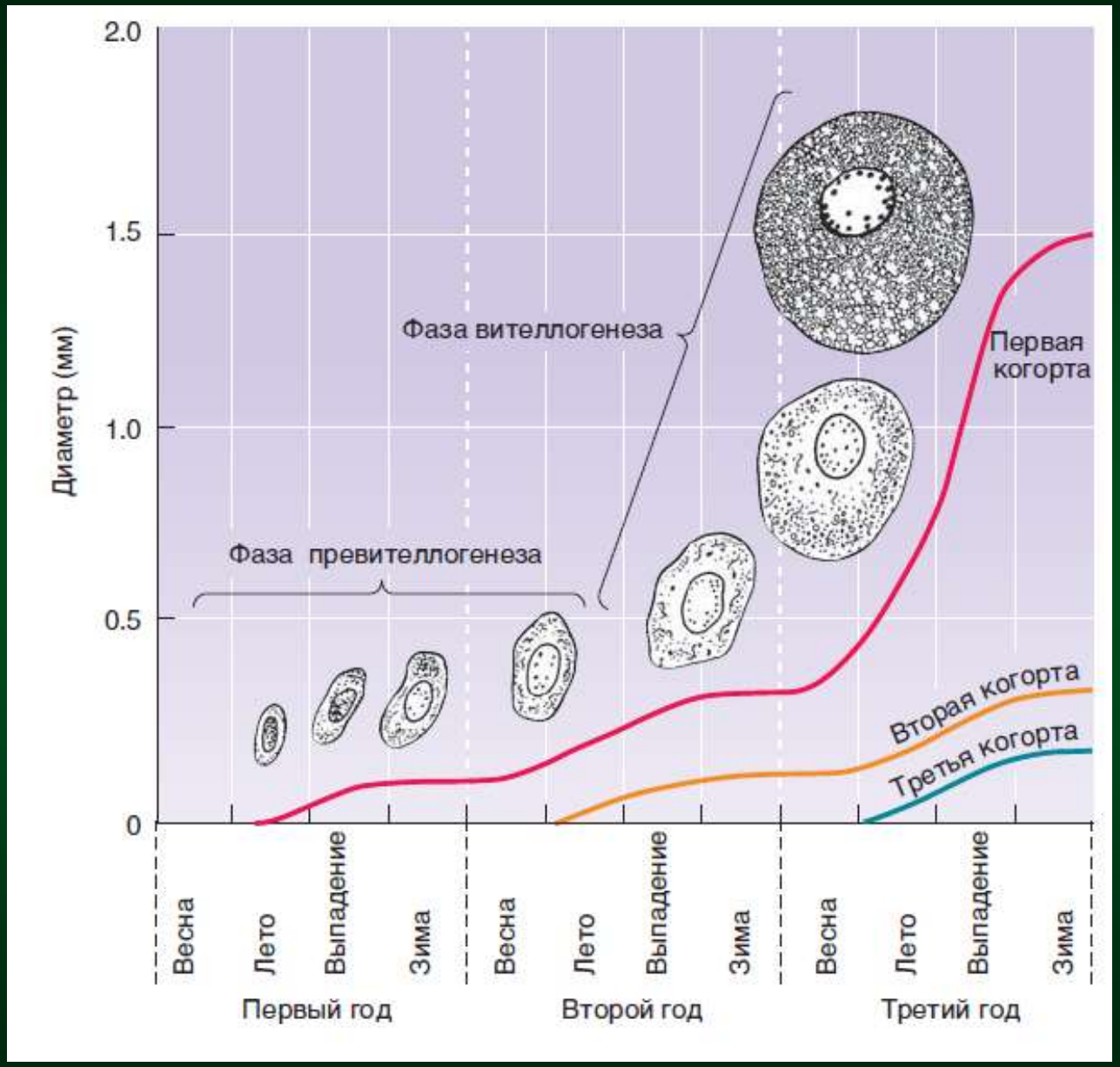
делеции

дупликации

инверсии

В случае одновременного оплодотворения двумя сперматозоидами или неотделения второго полярного тельца в мейозе – **полиплоидия**.

Оогенез

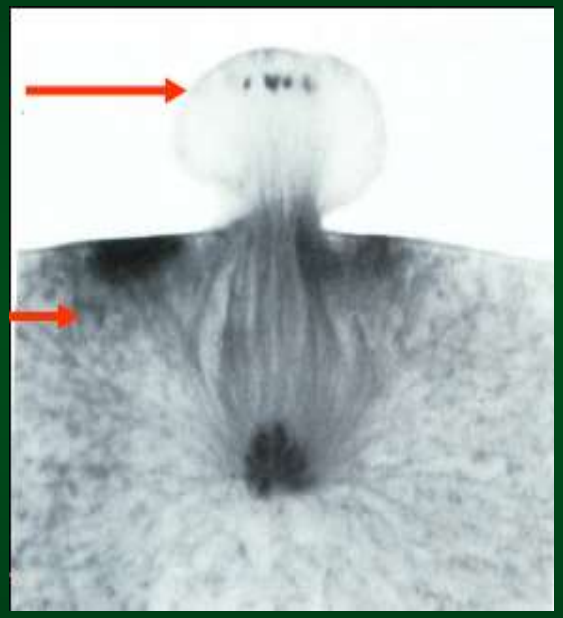

2.0
1.5
1.0
0.5
0
Диаметр (мм)
Фаза вителлогенеза
Фаза превителлогенеза
Первая когорта
Вторая когорта
Третья когорта
Весна
Лето
Выпадение
Зима
Весна
Лето
Выпадение
Зима
Весна
Лето
Выпадение
Зима
Первый год
Второй год
Третий год

Оогенез

1-е мейотическое деление: первичный ооцит превращается во вторичный ооцит + «редукционное», или «направительное», или «полярное» тельце

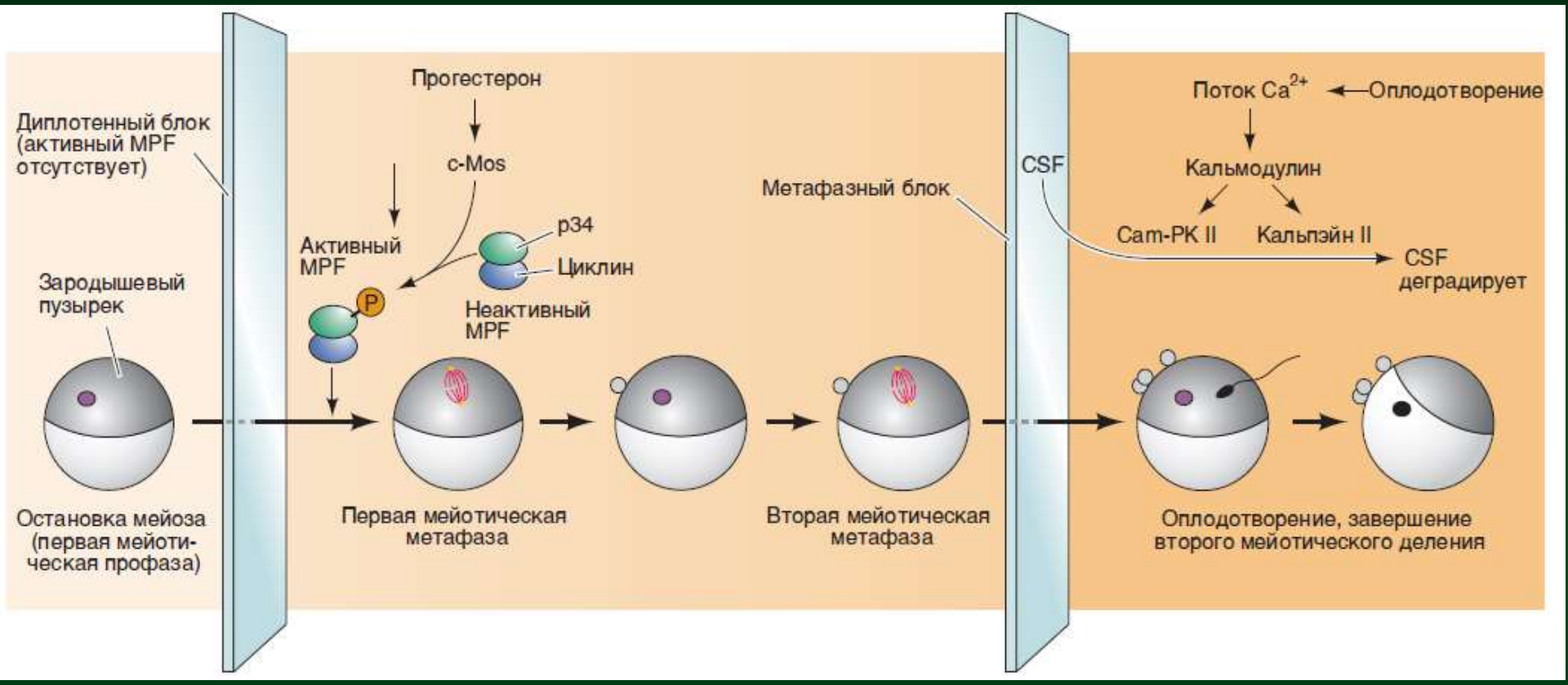
полярное тельце

веретено



Оогенез

овуляция - выделение зрелого яйца из яичника



лягушка

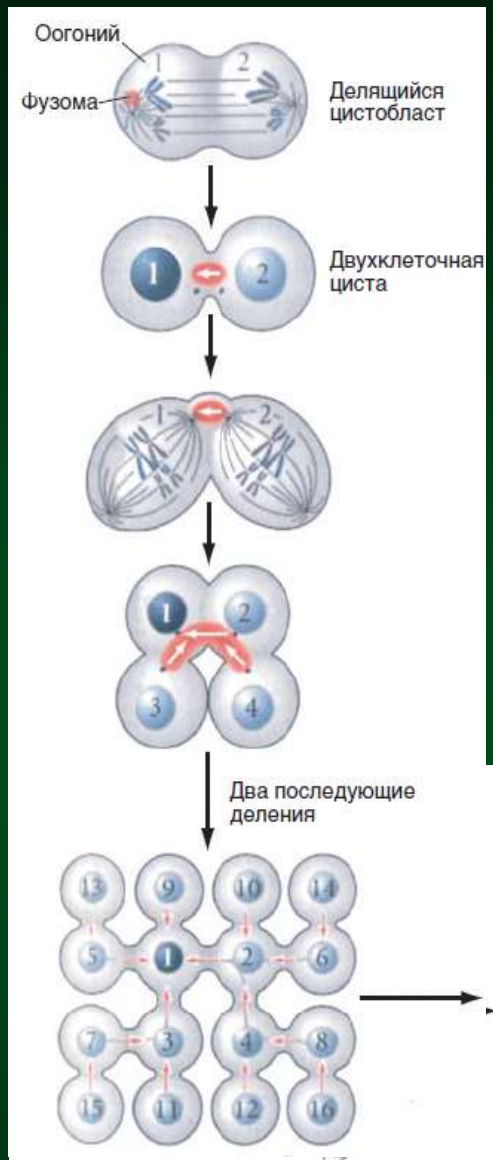
митозиндуцирующий фактор, или **MPF(mitosis-promoting factor),**
первоначально названный ”maturation-promoting factor”, или MPF.

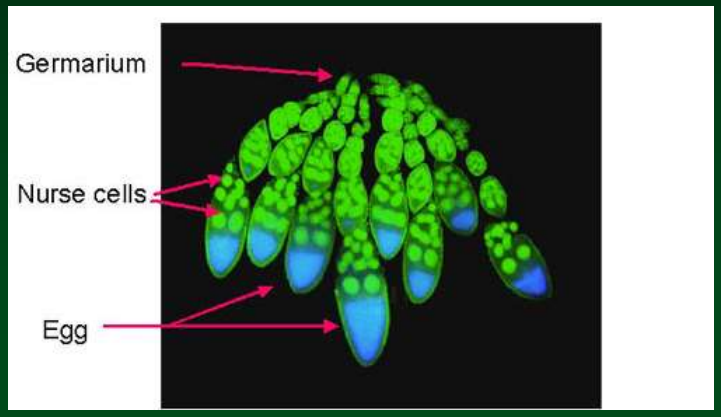
по Гилберт, 2010

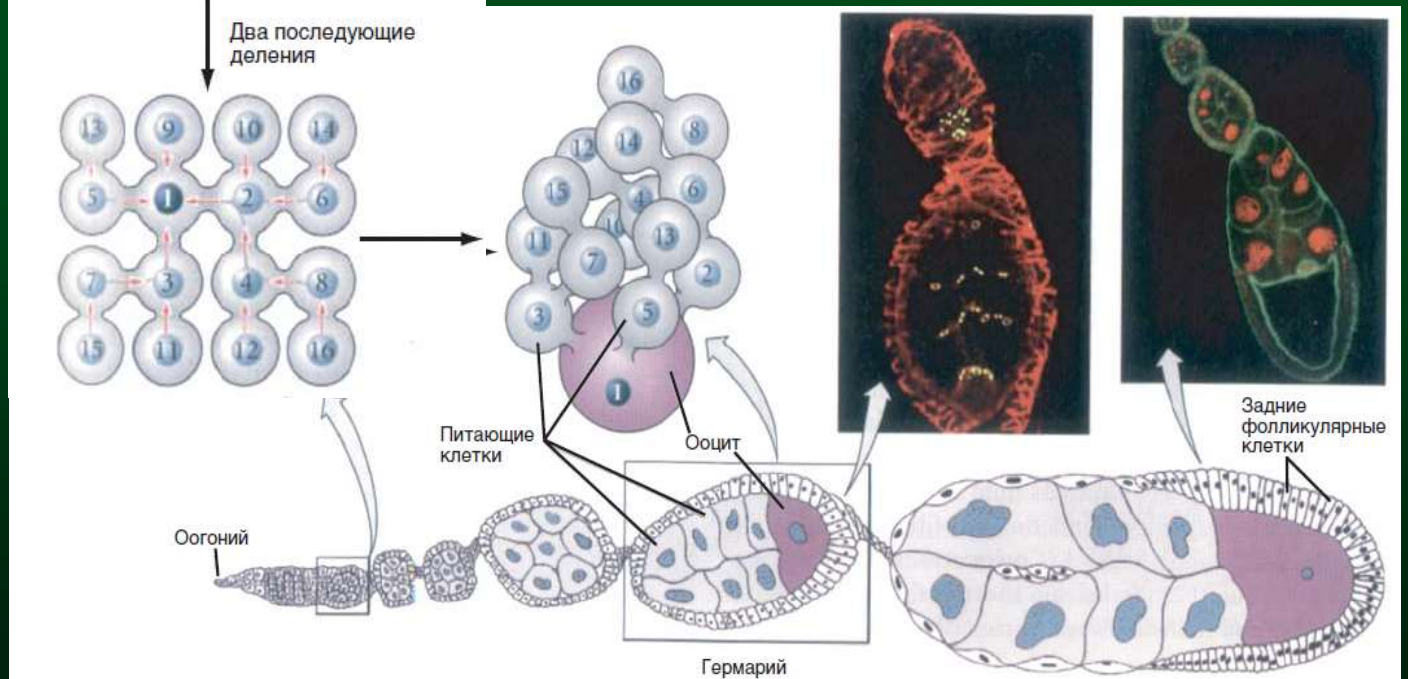
ТИПЫ ООГЕНЕЗА

- **ДИФФУЗНЫЙ:** представлен у низших многоклеточных. Амебовидные ооциты фагоцитируют питательные вещества в тканях матери.
- **СОЛИТАРНЫЙ:** процессы синтеза макромолекул происходят непосредственно в ооците (приапулиды, возможно, некоторые черви).
- **ПОЛИГЕНОМНЫЙ:** к формированию ооцита подключено большое число однотипных геномов вспомогательных клеток
- **ГИПЕРТРАНСКРИПЦИОННЫЙ:** обеспечивается максимальная интенсивность транскрипции генома самого ооцита

ПОЛИГЕНОМНЫЙ ТИП ООГЕНЕЗА

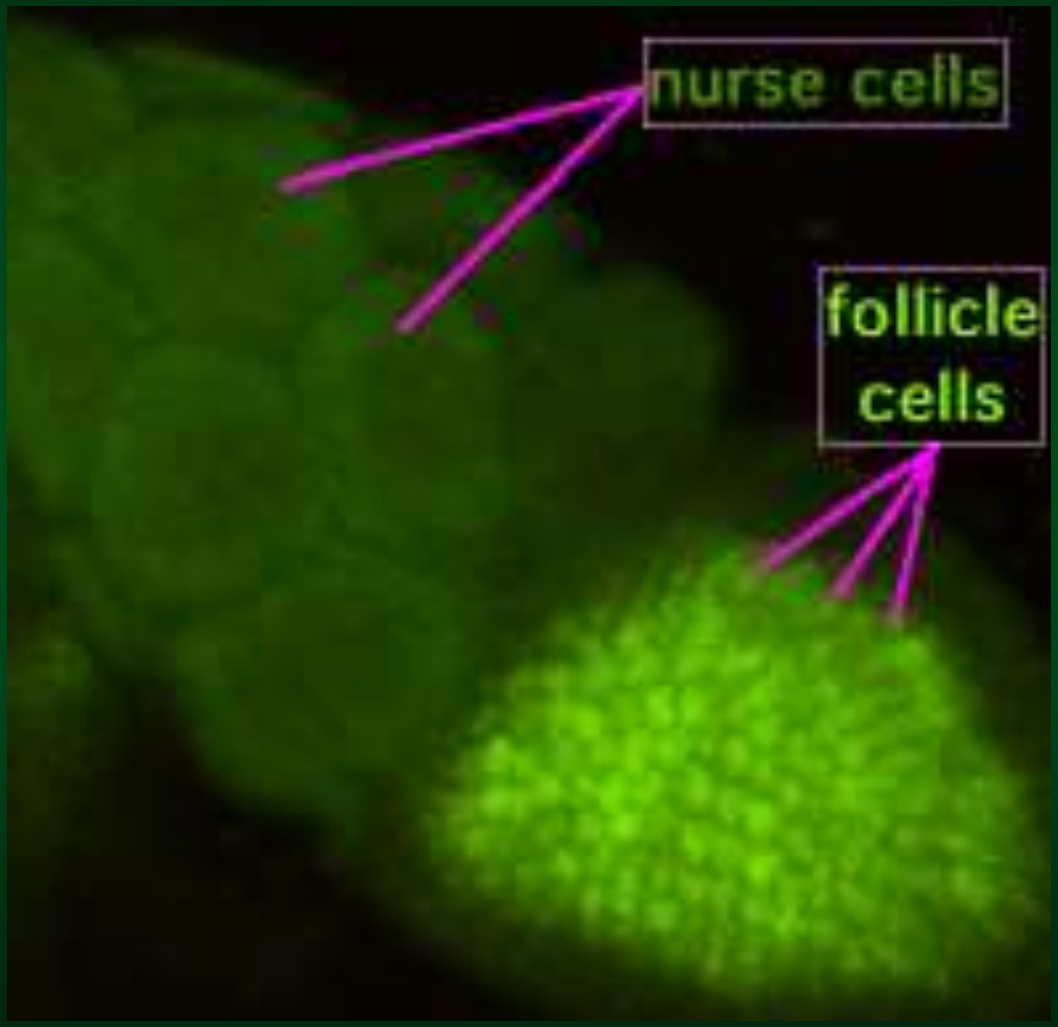




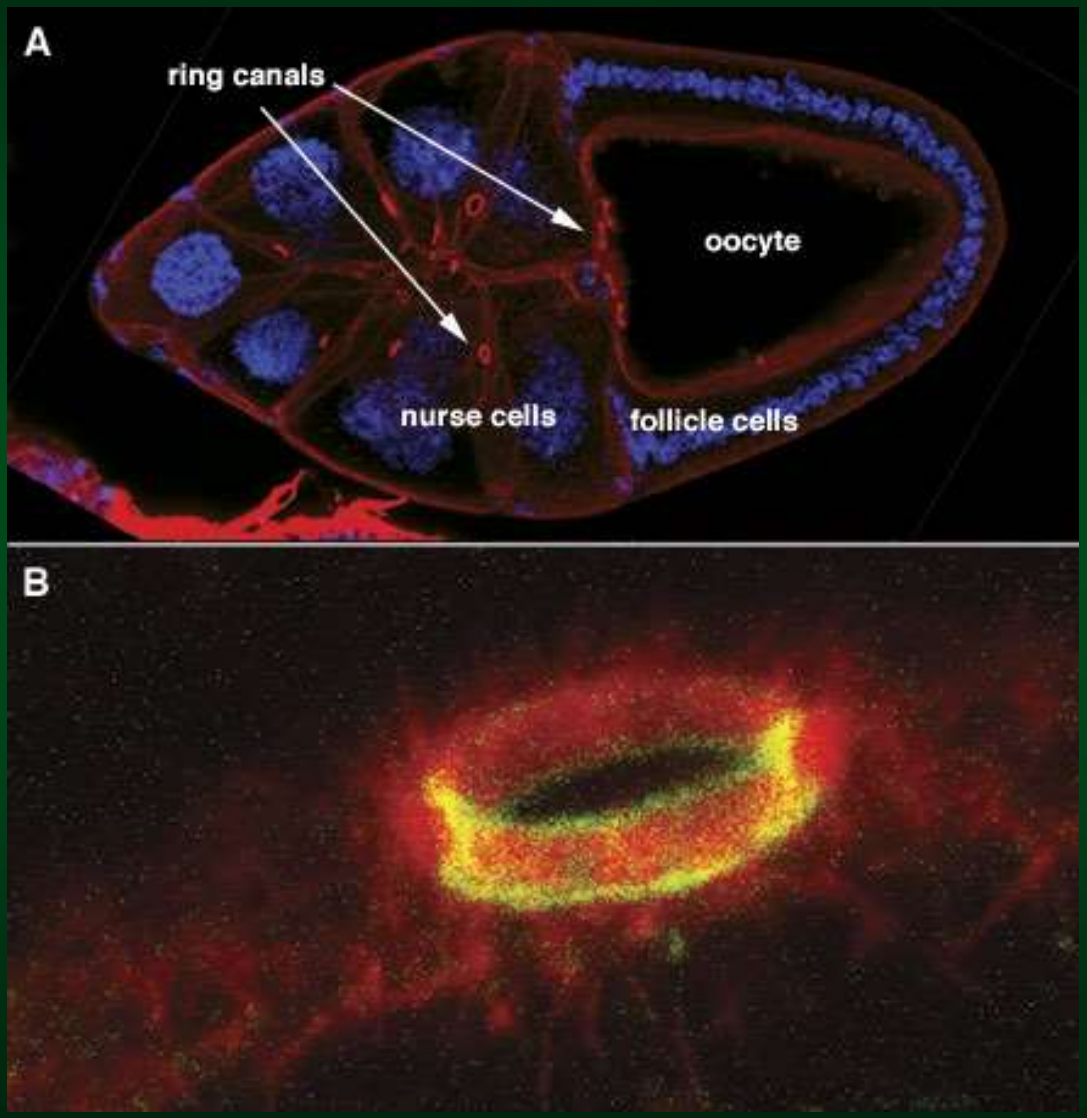


по Гилберт, 2010

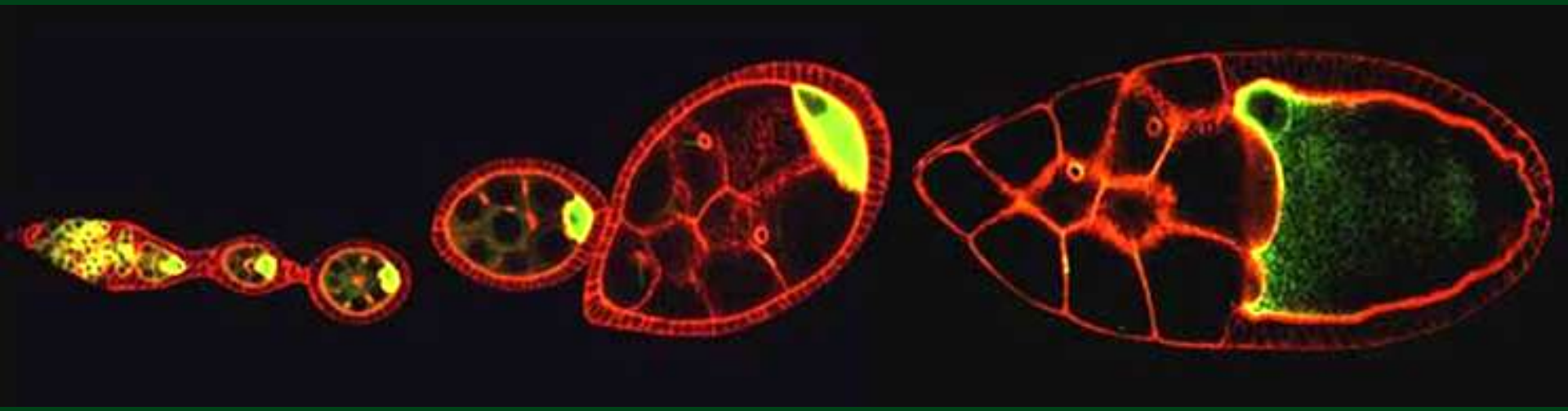
Оогенез у Дрозофилы



Оогенез у Дрозофилы

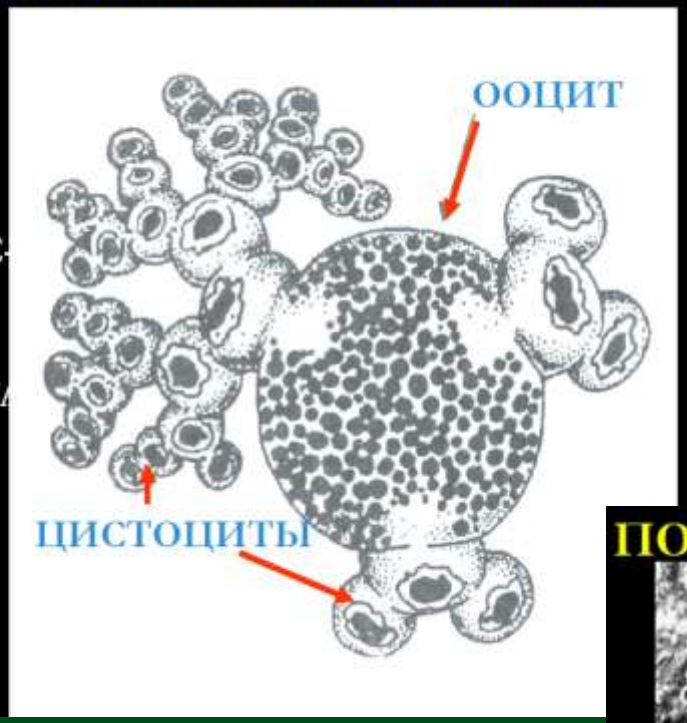


Lynn Cooley

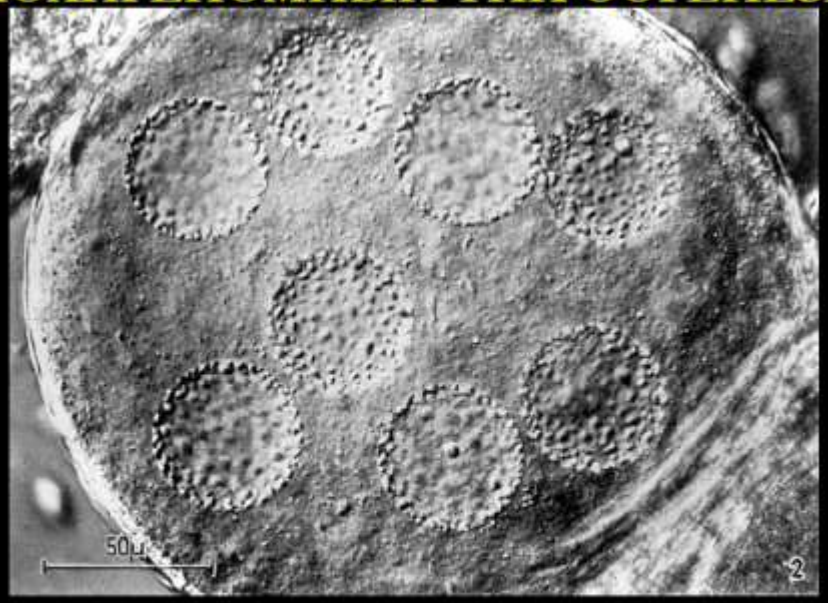


ПОЛИГЕНОМНЫЙ ТИП ООГЕНЕЗА

ООЦИТ И ЦИСТОБЛАСТЫ ИЗ ЯИЧНИКА ГРЕБНЕВИКА *Bolinopsis*



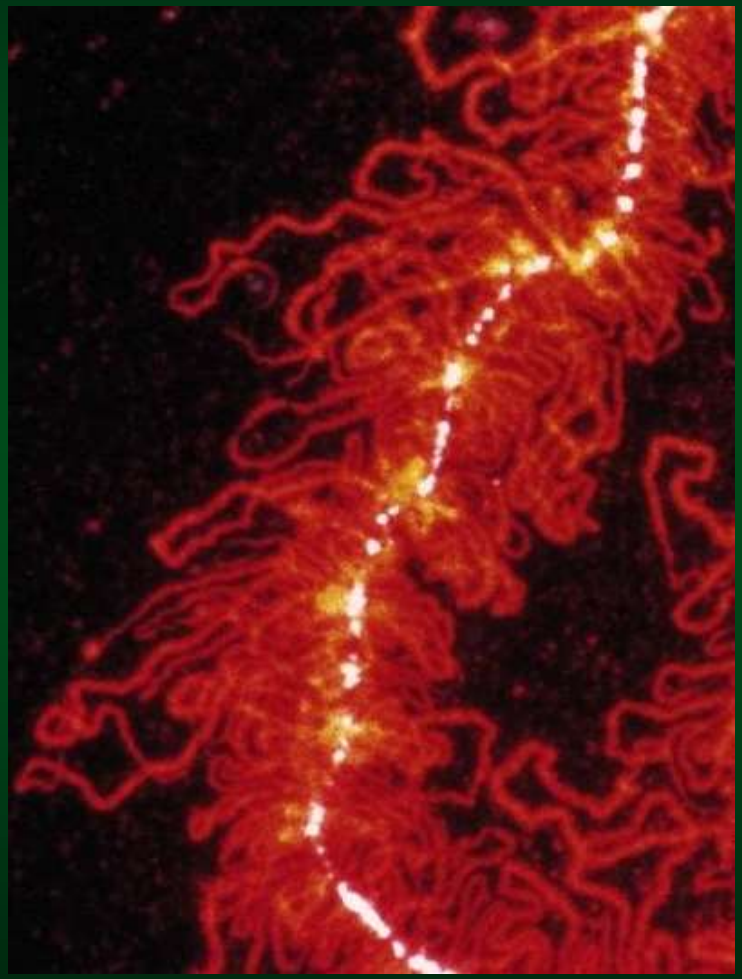
ПОЛИГЕНОМНЫЙ ТИП ООГЕНЕЗА



ВОСЬМИЯДЕРНЫЙ ООЦИТ ХВОСТАТОЙ ЛЯГУШКИ *Ascaphus* *возникает вследствие подавления цитотомии при делении гоний*

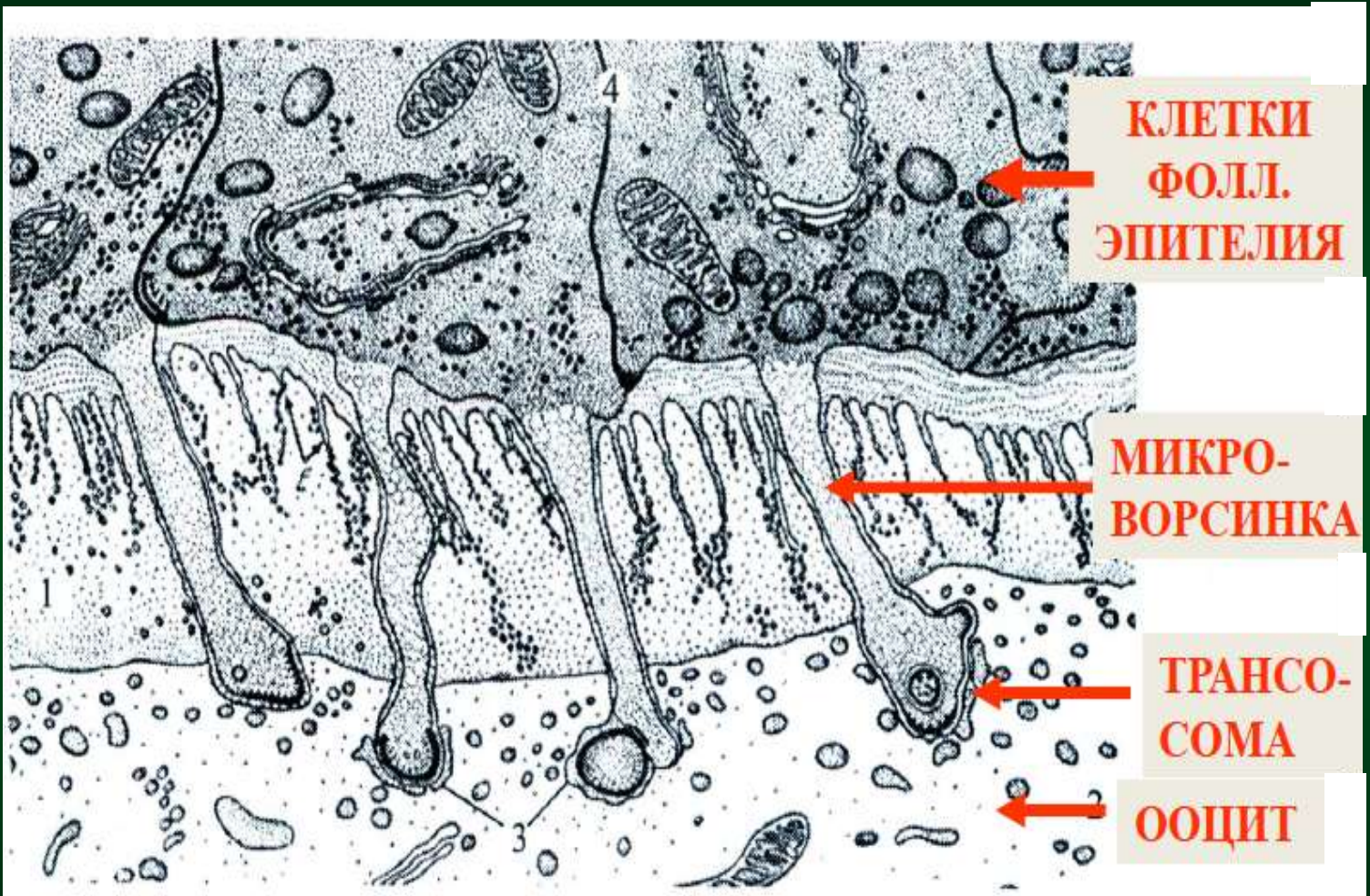
ГИПЕРТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ТИП ООГЕНЕЗА

ХРОМОСОМЫ ТИПА ЛАМПОВЫХ ЩЕТОК

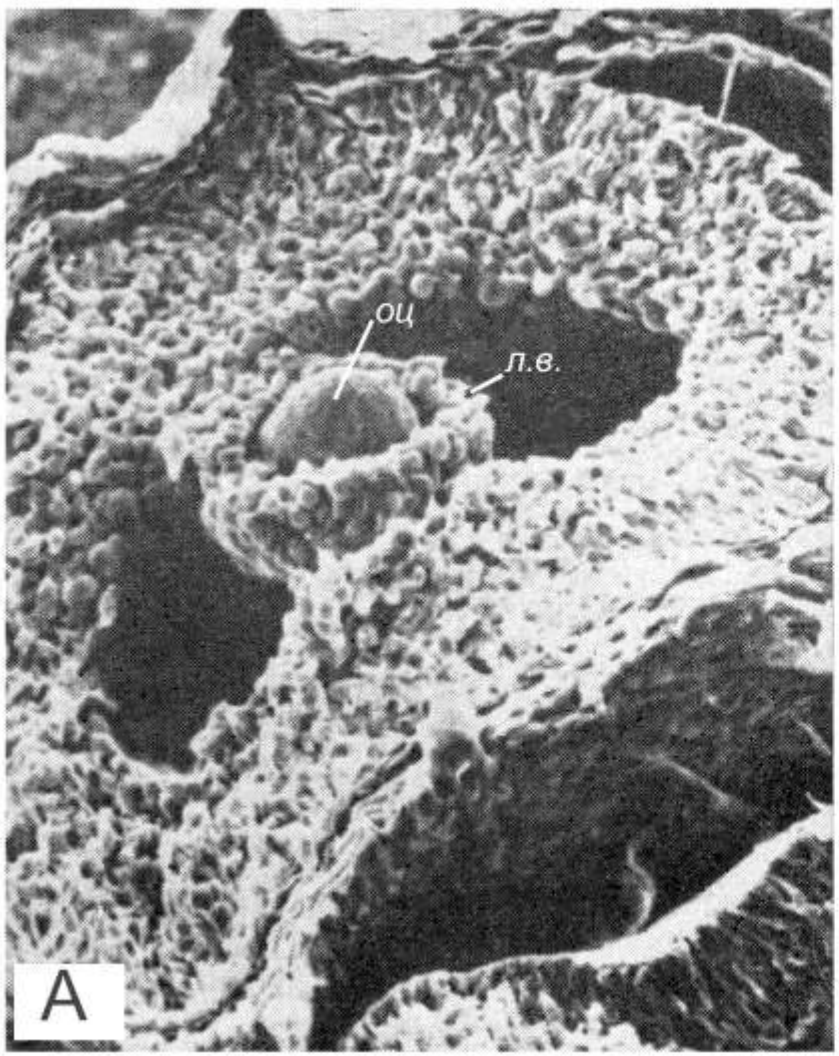


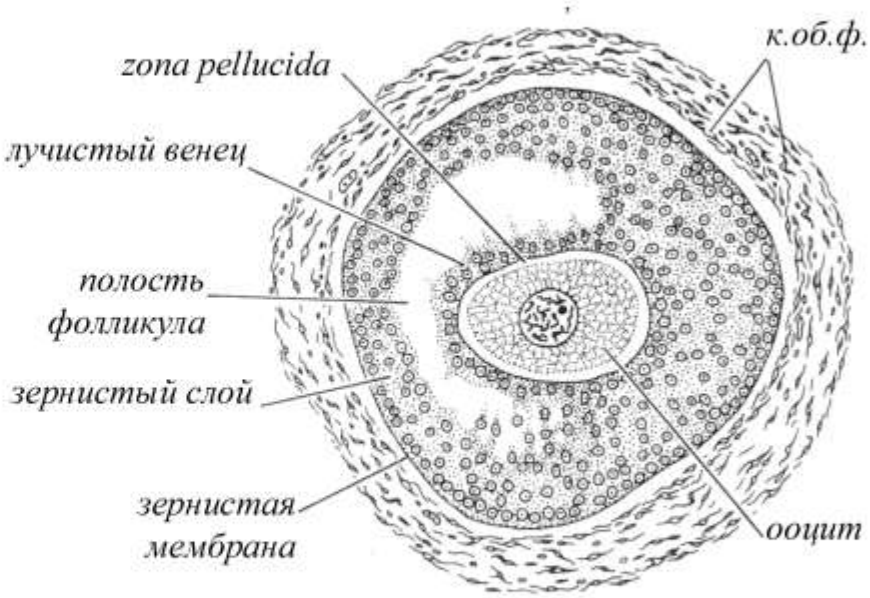
Синтез рРНК - в ооците или в фолликулярных клетках. У рыб и амфибий имеет место многократная репликация ДНК рибосомных генов или *амплификация* рДНК

ПТИЦЫ


4
1
3
2
КЛЕТКИ ФОЛЛ. ЭПИТЕЛИЯ
МИКРО-ВОРСИНКА
ТРАНСО-СОМА
ООЦИТ

Оогенез


оц
л.в.
А


zona pellucida
к.об.ф.
лучистый венец
полость фолликула
зернистый слой
зернистая мембрана
ооцит

Б

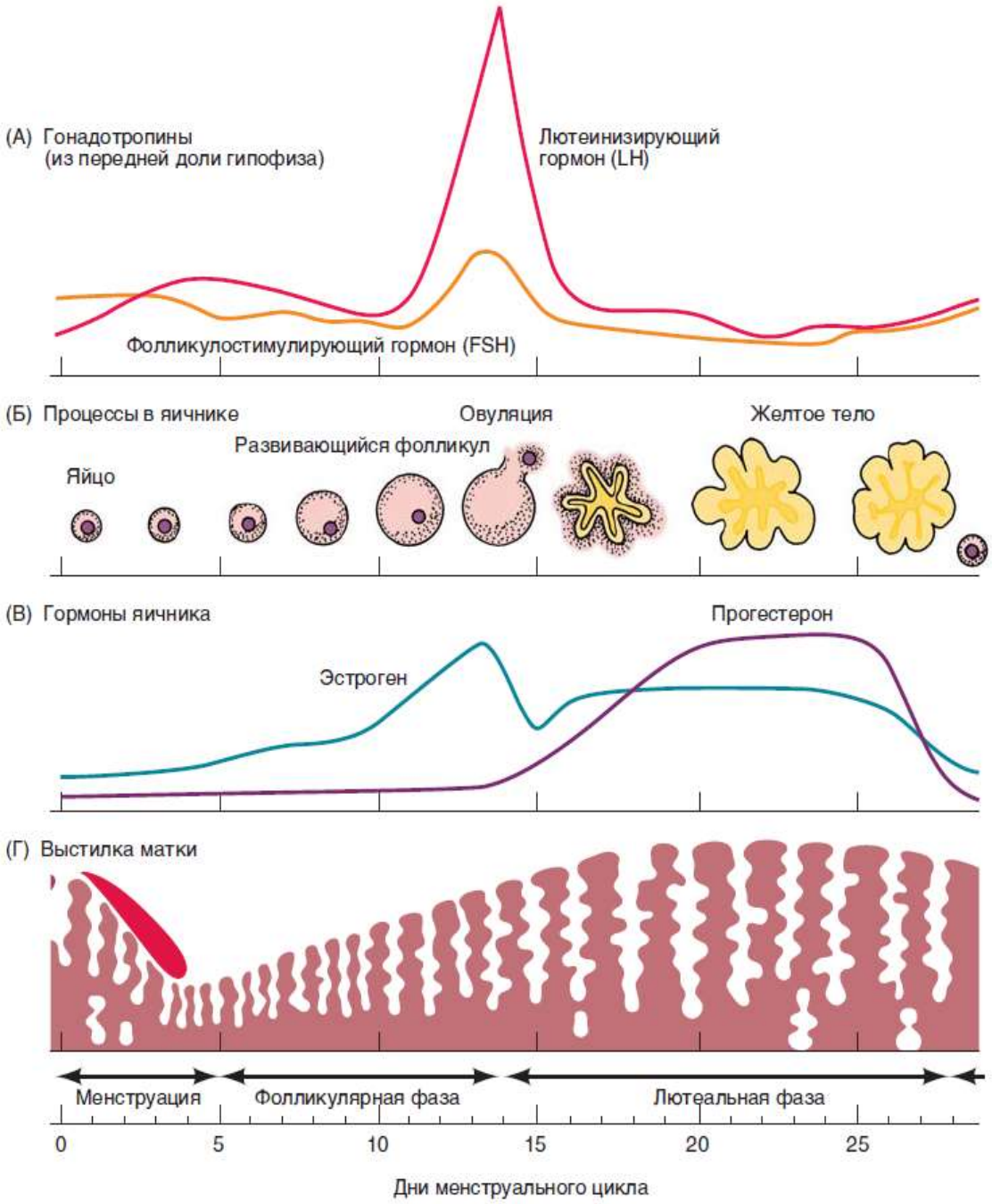
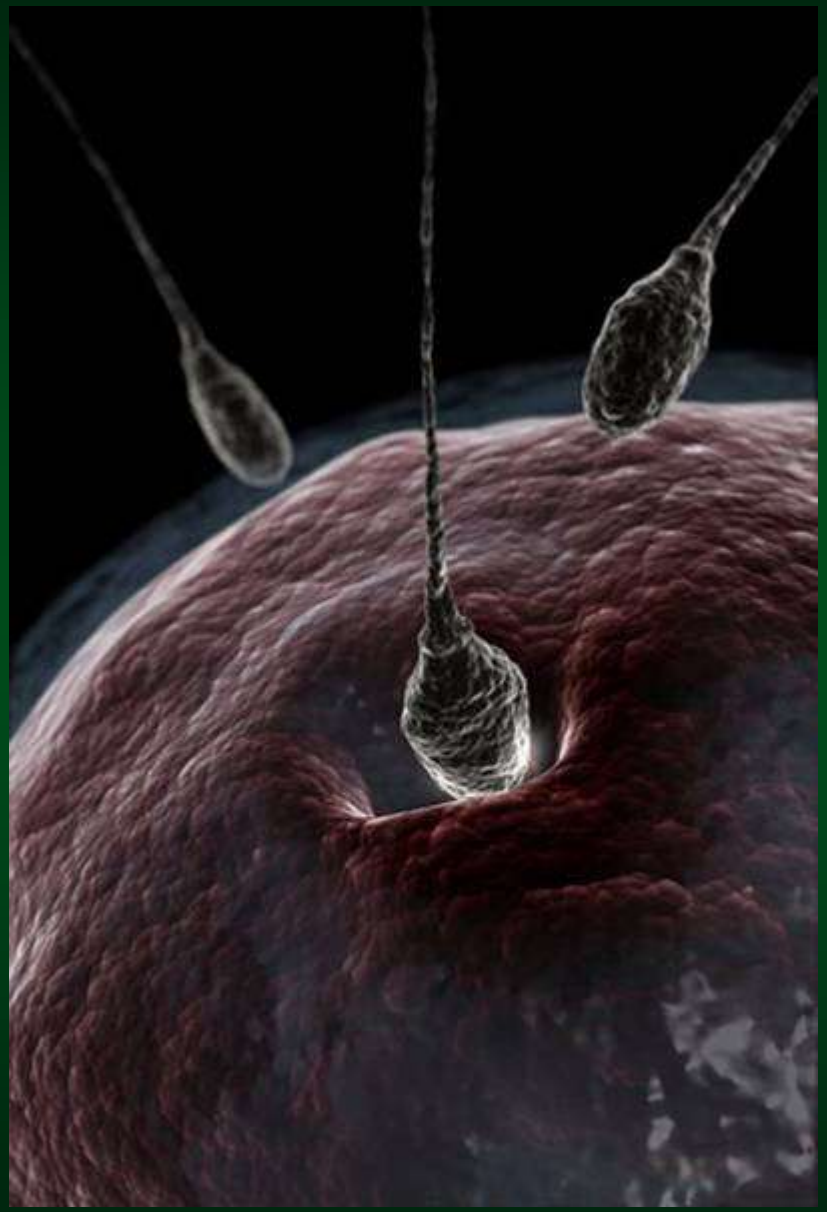


Рисунок 19.30
Менструальный цикл у человека. Координация овариального (Б) и маточного (Г) циклов контролируется гормонами гипофиза (А) и яичника (В).

Во время фолликулярной фазы яйцеклетка развивается внутри фолликула, а слизистая оболочка матки подготавливается к восприятию бластоцисты. Яйцо высвобождается из фолликула примерно на четырнадцатый день. Если бластоциста не имплантируется в матку, начинается отторжение слизистой и сосудов матки, процесс, приводящий к менструации.

ОПЛОДОТВОРЕНИЕ



- ПРИВЛЕЧЕНИЕ
- СВЯЗЫВАНИЕ СПЕРМАТОЗОИДА
- СЛИЯНИЕ ЖЕНСКОЙ И МУЖСКОЙ ГАМЕТ И ОБРАЗОВАНИЕ ЗИГОТЫ
- КАРИОГАМИЯ (СЛИЯНИЕ ПРОНУКЛЕУСОВ И ОБРАЗОВАНИЕ СИНКАРИОНА)

В результате оплодотворения наряду с восстановлением диплоидного набора хромосом в зиготе происходит активация метаболизма

Привлечение спермиев

хемокинез --- процессы,
регулирующие активность движения спермиев
хемотаксис --- процессы,
регулирующие направление движения спермия

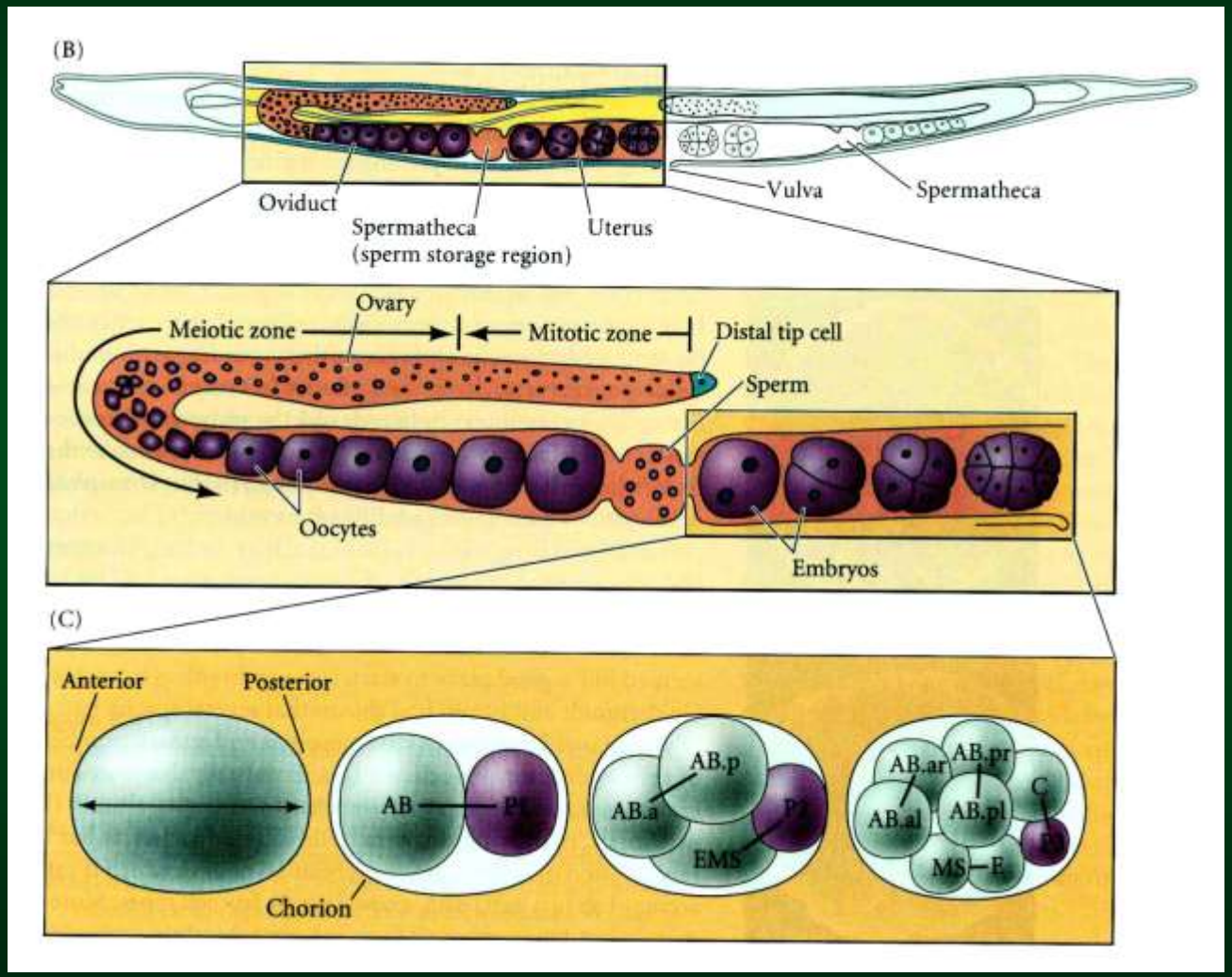
привлекающие спермии вещества --- *аттрактанты*

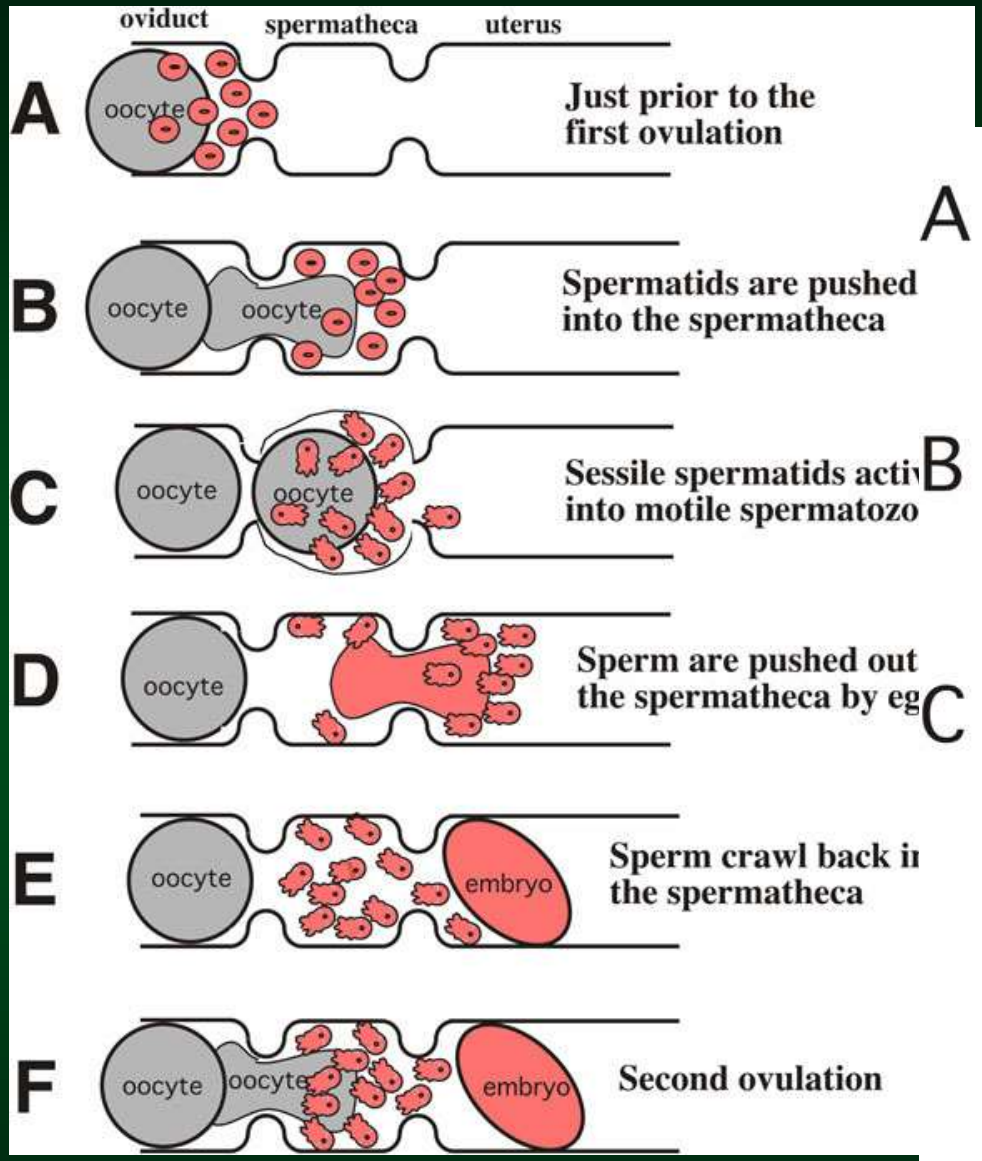
Insecta

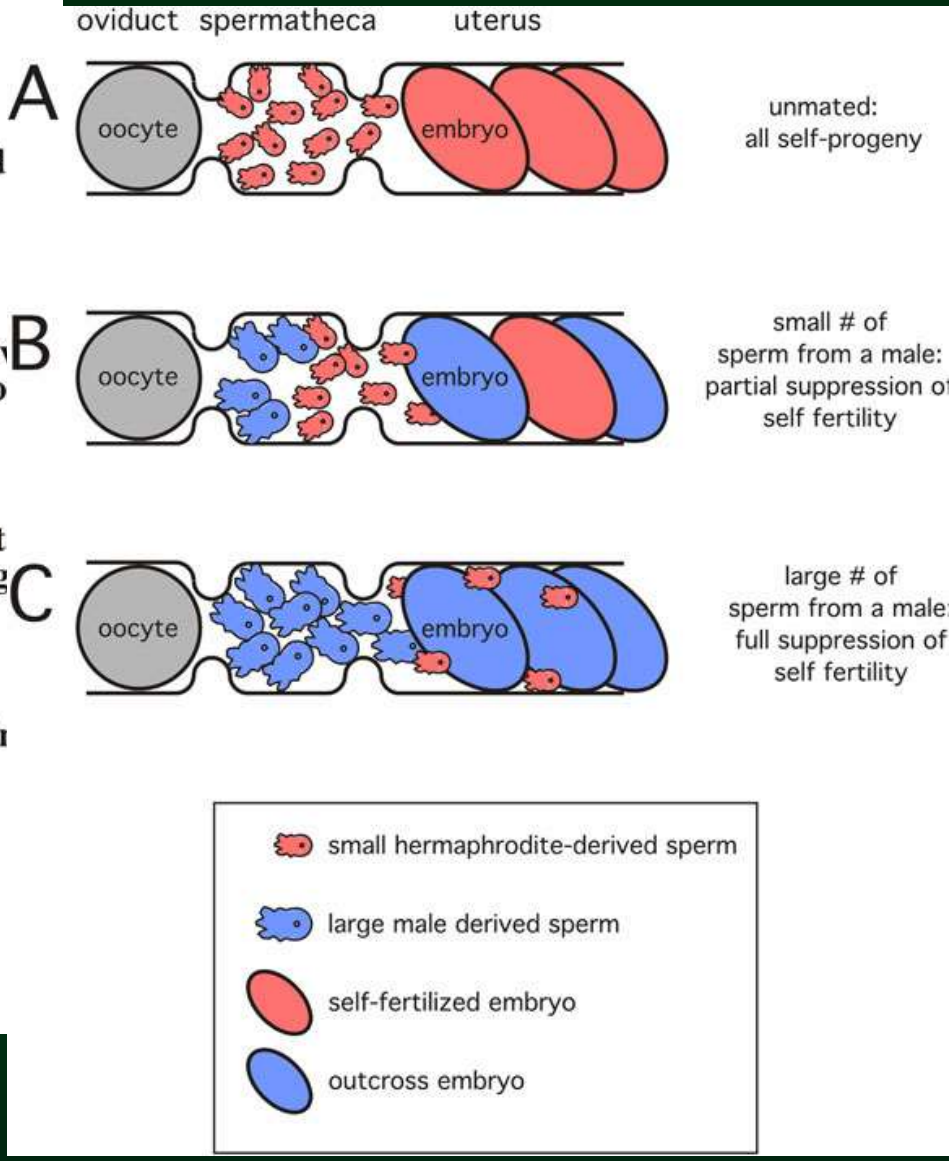
сперматека

сперматофор

Nematoda

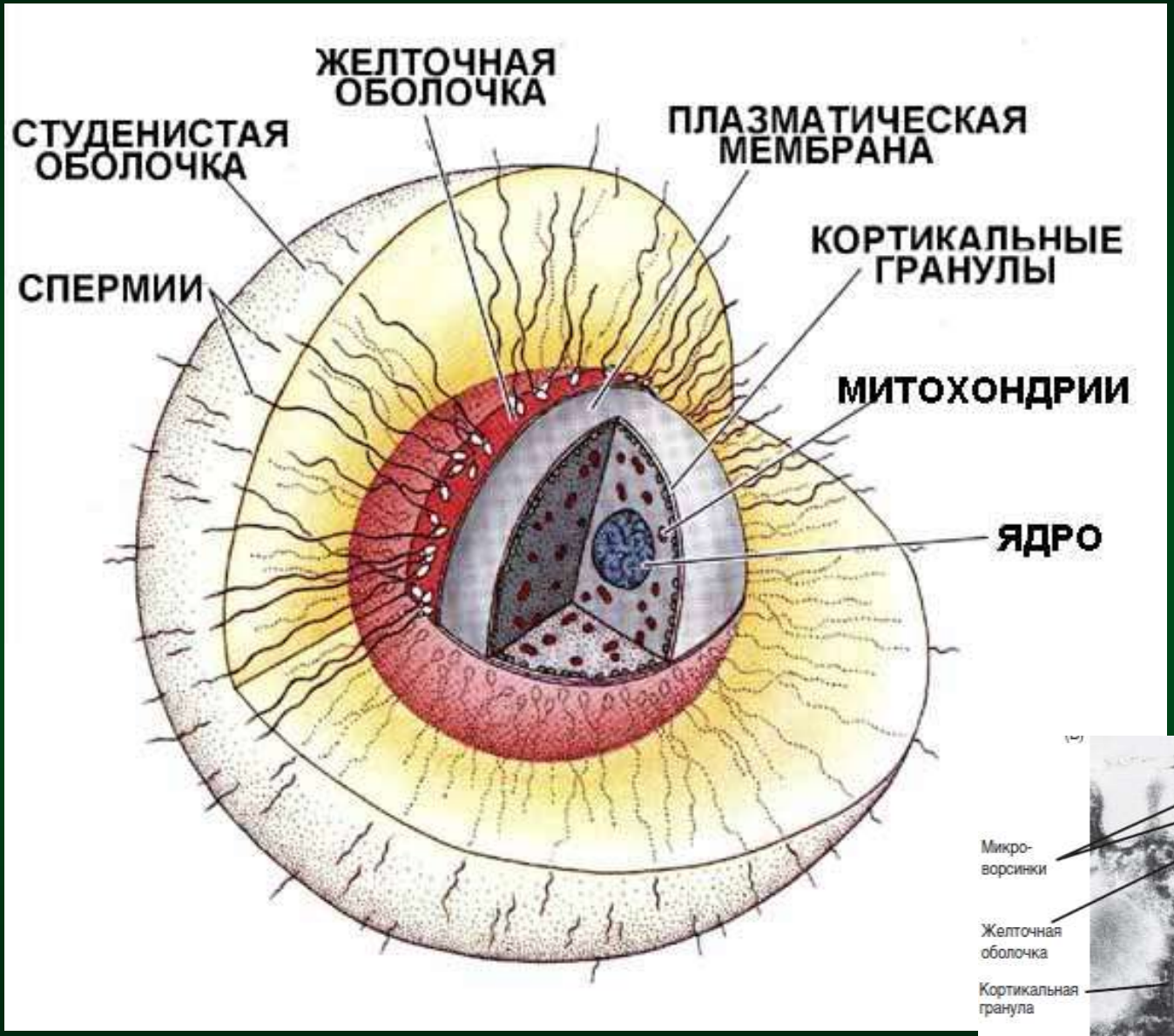

(B)
Oviduct
Spermatheca
(sperm storage region)
Uterus
Vulva
Spermatheca
Ovary
Meiotic zone
Mitotic zone
Distal tip cell
Sperm
Oocytes
Embryos
(C)
Anterior
Posterior
AB
P1
AB.p
AB.a
P2
EMS
AB.ar
AB.pr
AB.al
AB.pl
C
MS
E
Chorion

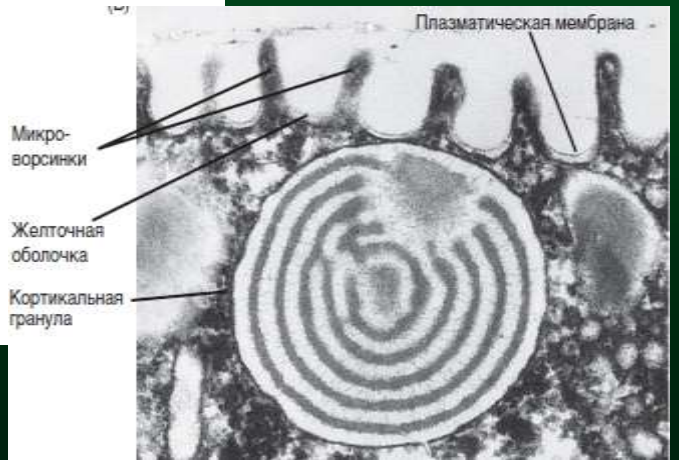




www.wormbook.org

Структура и оболочки яйца



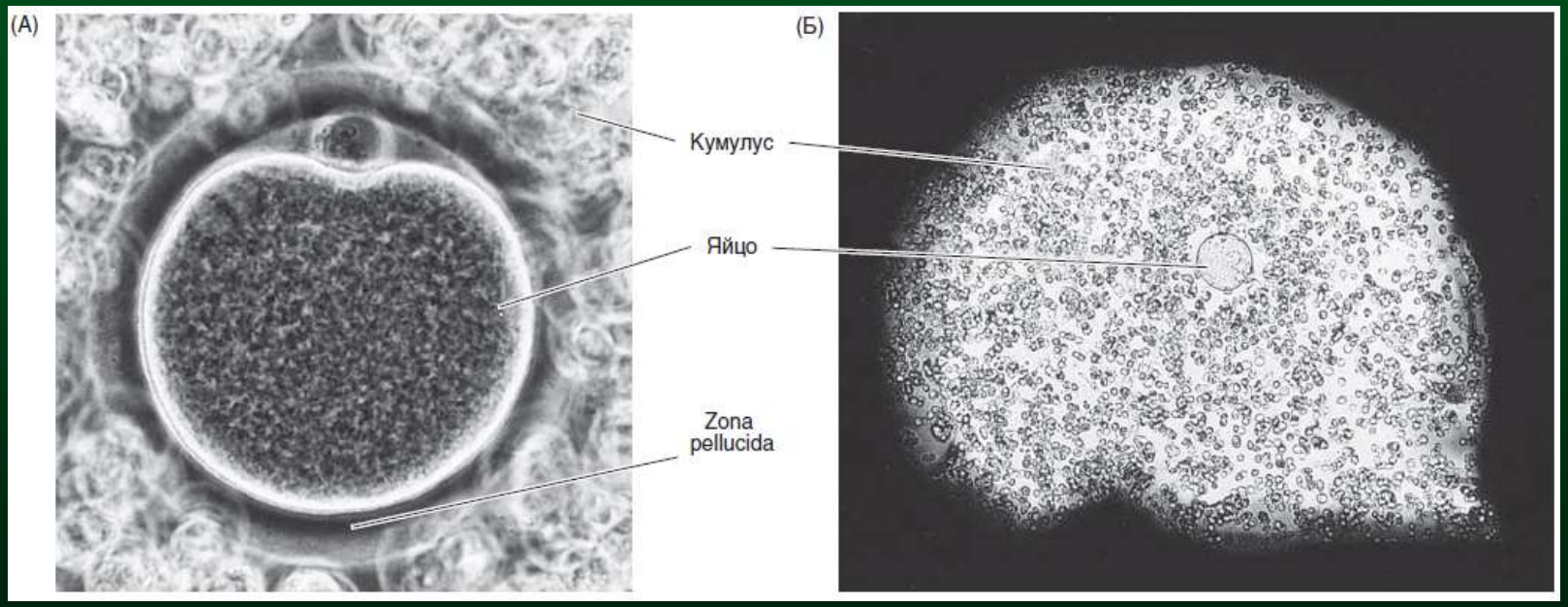


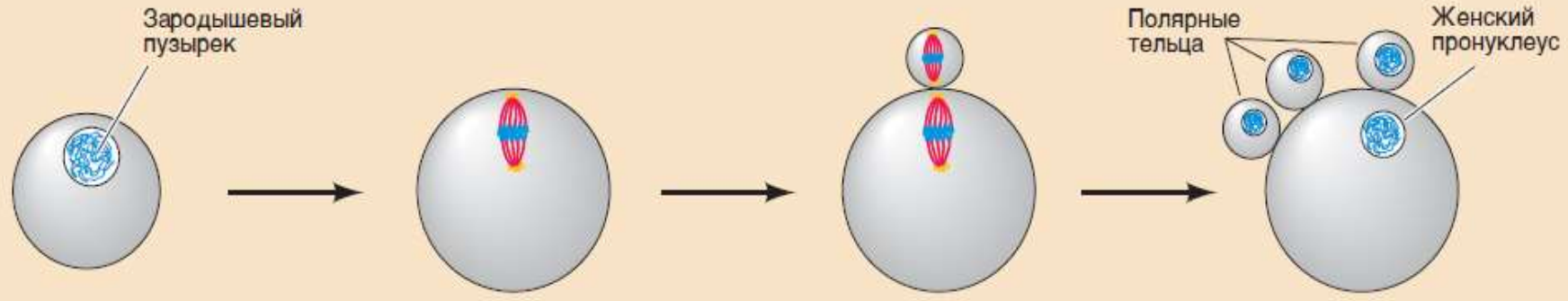
Структура и оболочки яйца

первичные, *вторичные* и *третичные* яйцевые оболочки.

рыбы: первичная оболочка - *лучистая оболочка* или *zona radiata*.

земноводные, птицы и млекопитающие:
желточная оболочка формируется ооцитом и клетками фолликулярного эпителия.
млекопитающие - *zona pellucida* (оолемма, или блестящий слой)



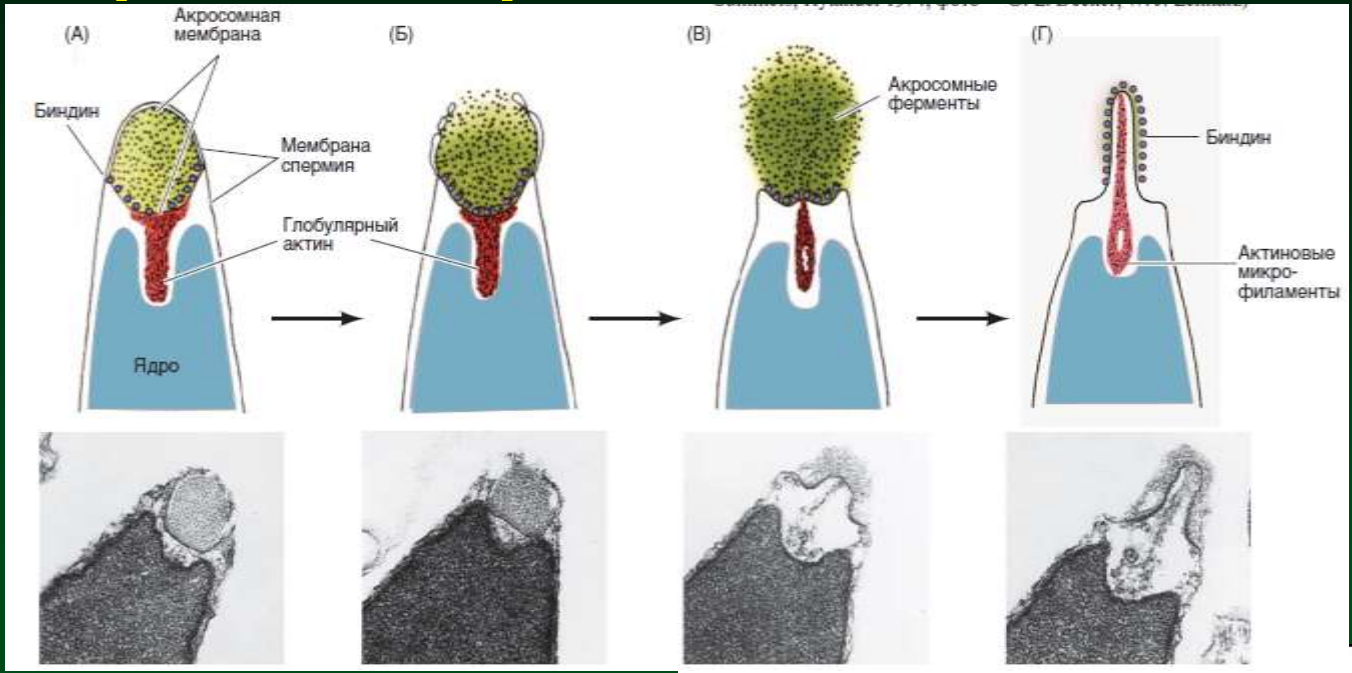


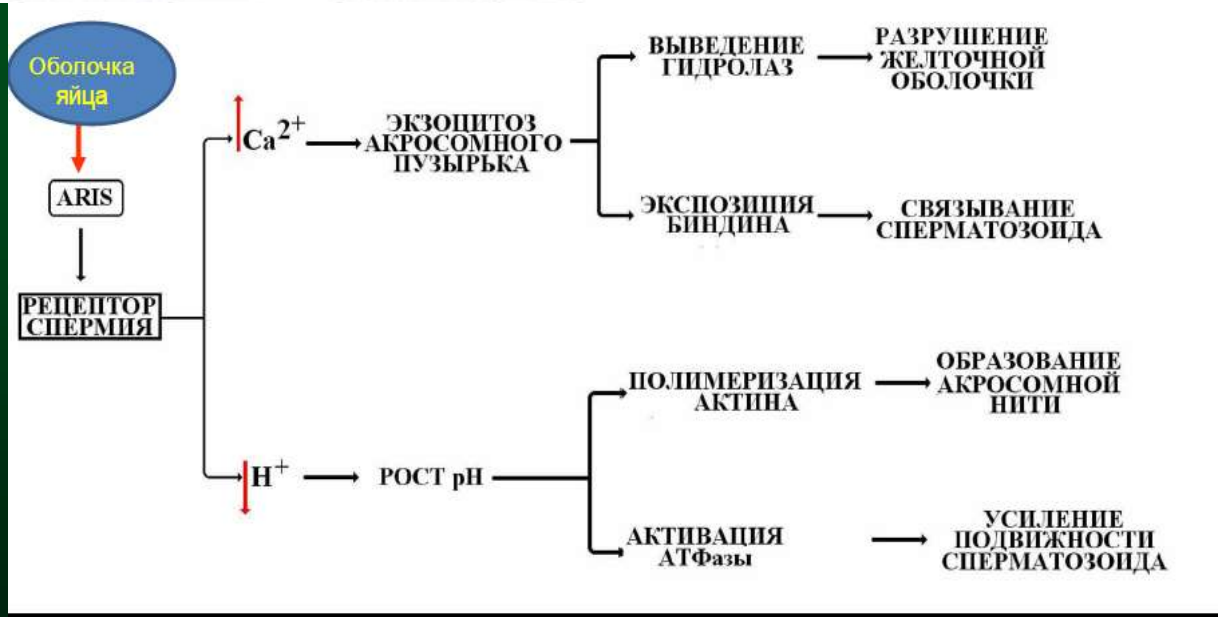
Первичный ооцит | Первая метафаза | Вторая метафаза | Завершенный мейоз

Первичный ооцит	Первая метафаза	Вторая метафаза	Завершенный мейоз
Круглый червь *Ascaris* Метозоа *Dicyema* Губка *Grantia* Полихеты *Myzostoma* *Nereis* Моллюск *Spisula* Эхиурида *Urechis* Собаки, лисицы	Немертина *Cerebratulus* Полихета *Chaetopterus* Моллюск *Dentalium* Полихета *Pectinaria* Многие насекомые	Ланцетник *Branchiostoma* Амфибии Большинство млекопитающих Рыбы	Книдарии (например, анемоны) Морские ежи

по Гилберт, 2010

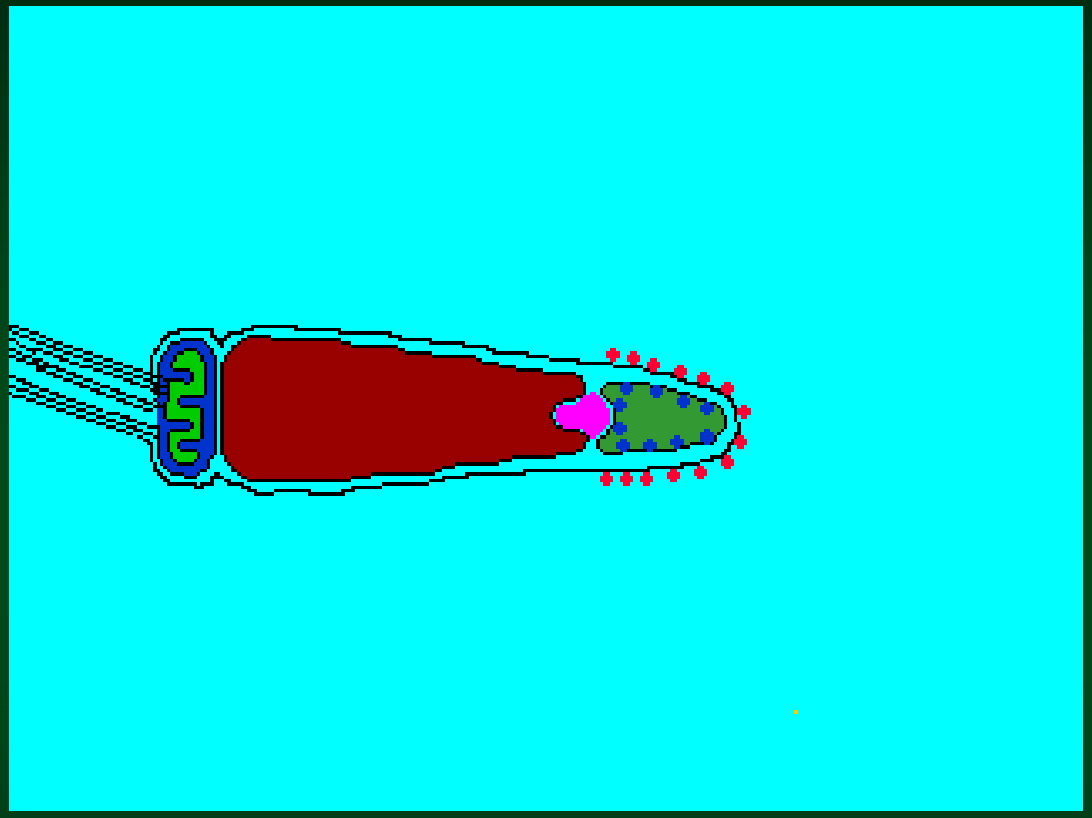
Акросомная реакция



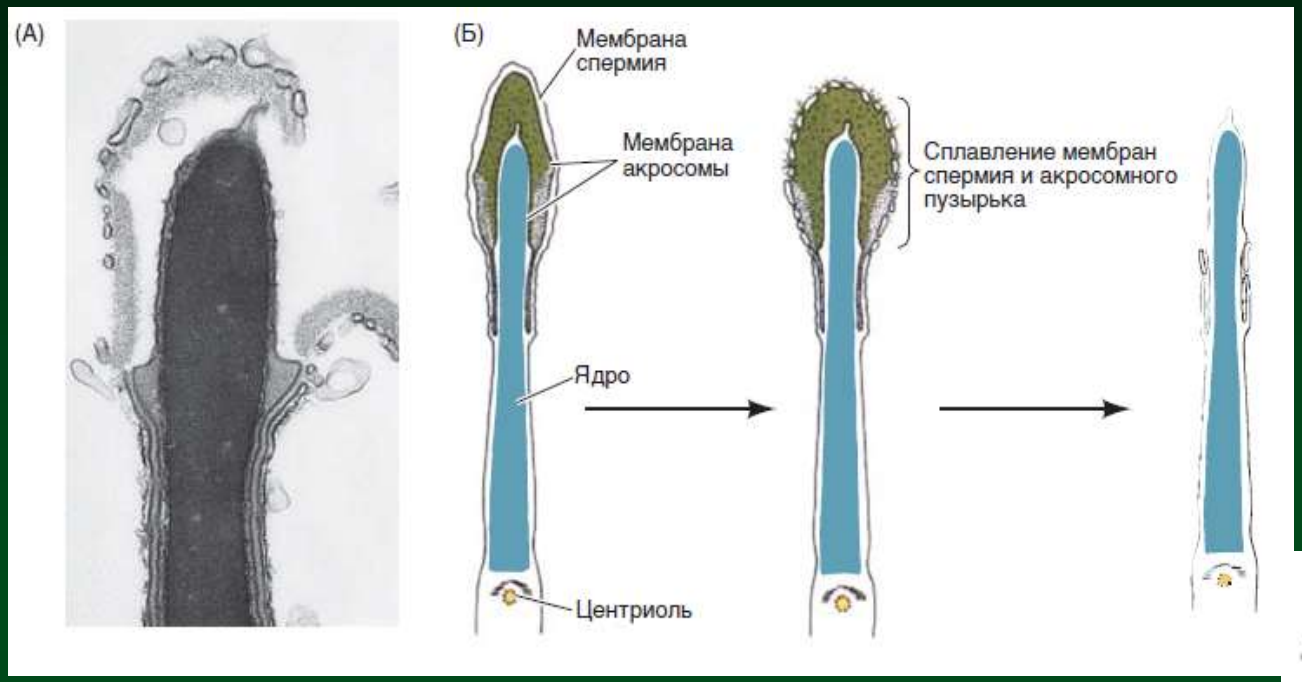


по Гилберт, 2010

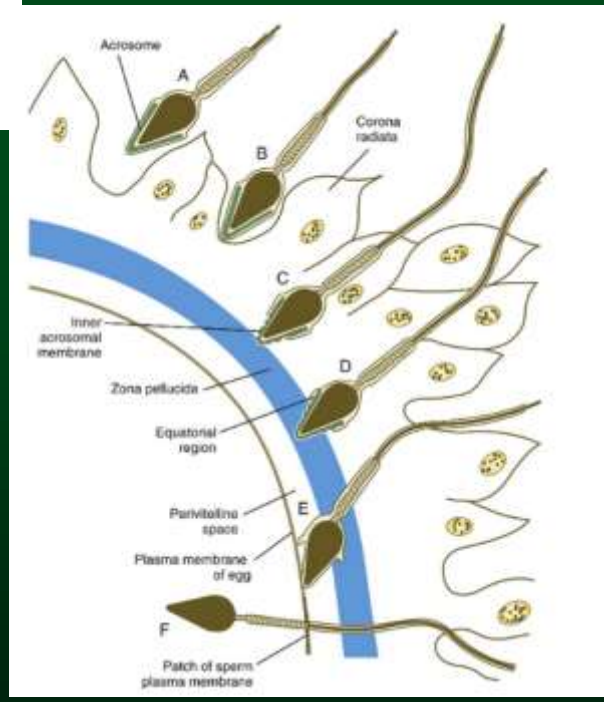
ARIS= Acrosome Reaction Inducible Substance



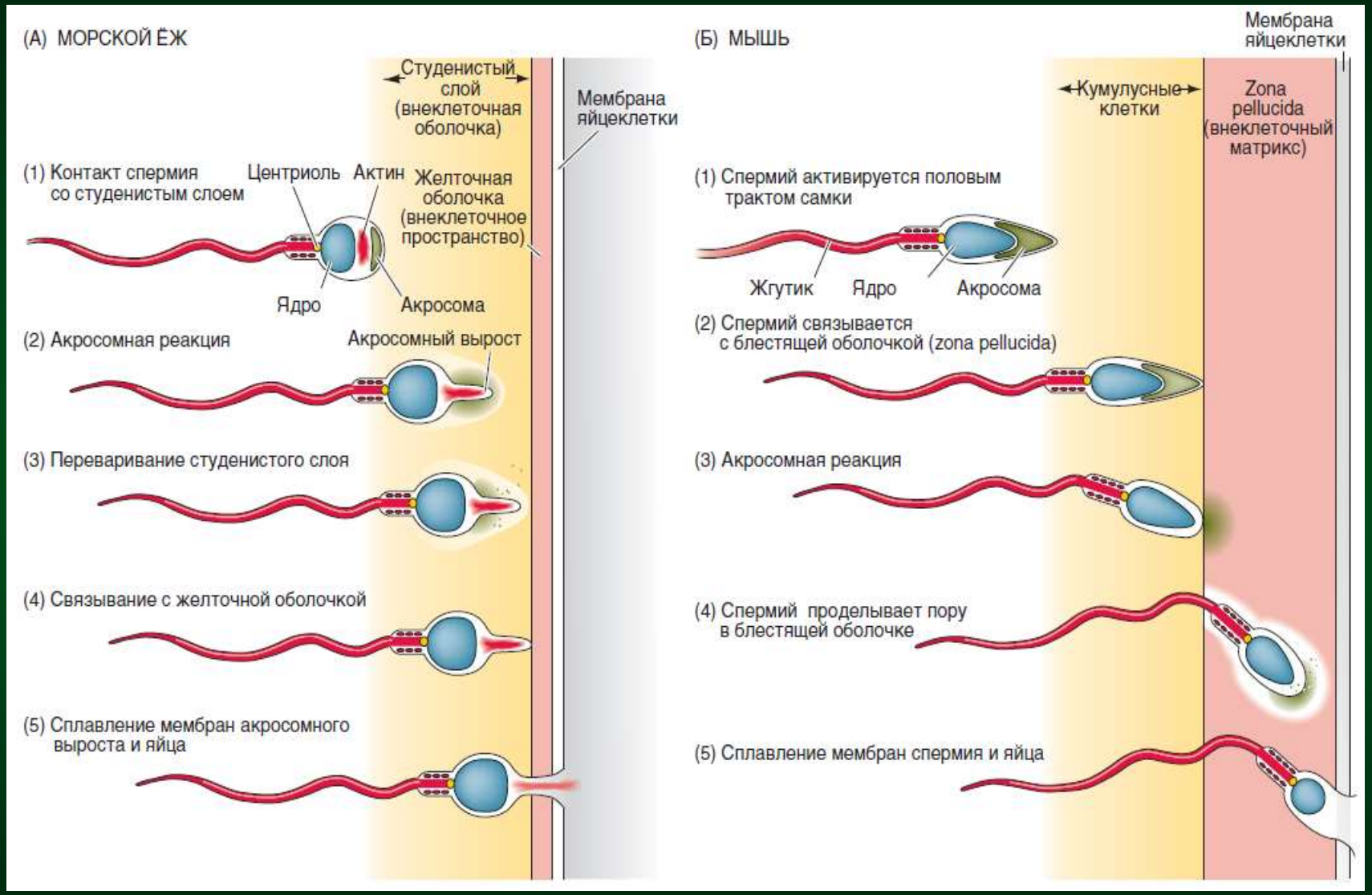
Акросомная реакция



по Гилберт, 2010



after Carlson, 2014



по Гилберт, 2010

капаситация

физиологические изменения, которые делают спермий компетентными к оплодотворению яйца

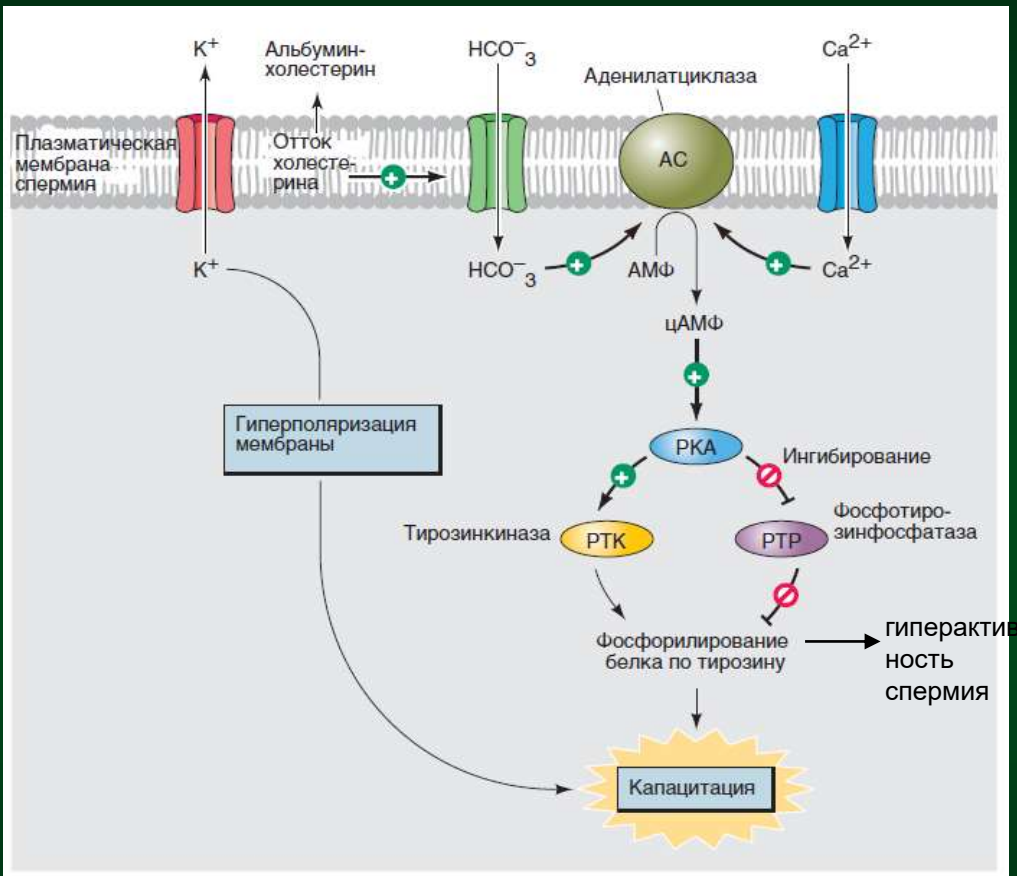
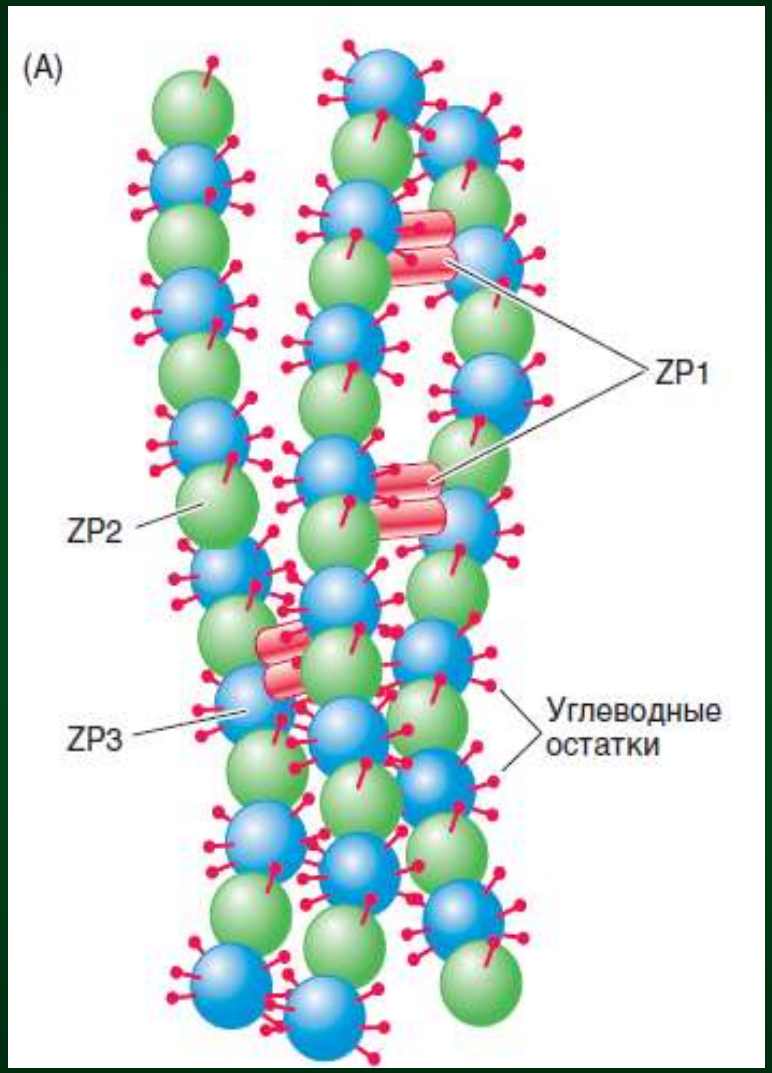


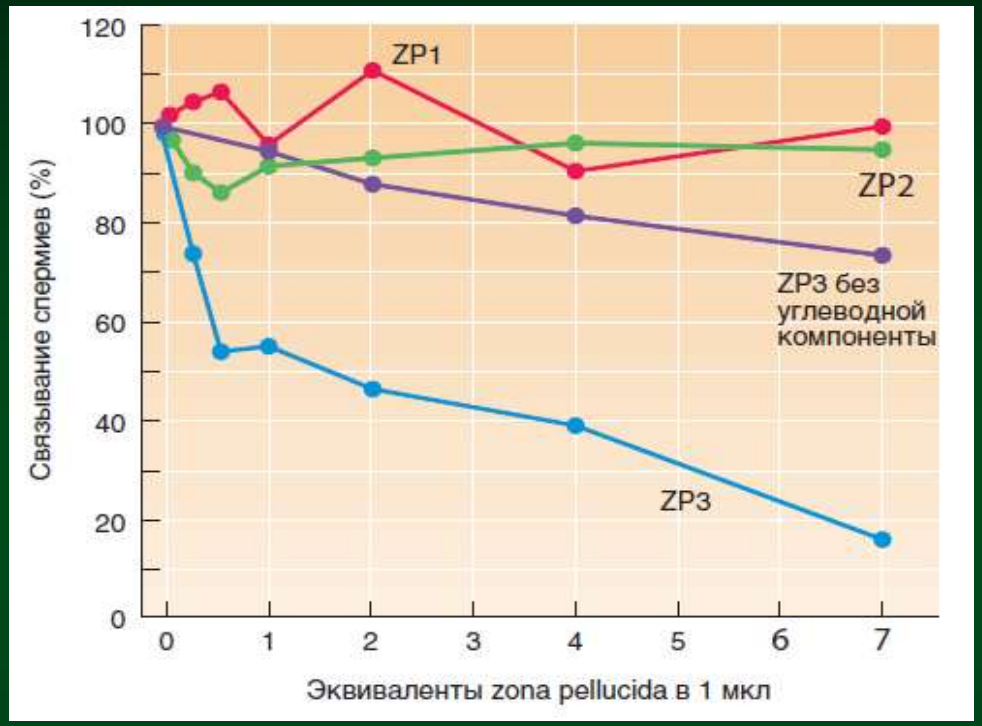
Рисунок 7.12
Гипотетическая модель капацитации спермия млекопитающих. Выделение калия (причина которого не известна) вызывает изменение потенциала покоя в клеточной мембране спермия. Удаление холестерина с помощью альбумина стимулирует ионные каналы, которые способствуют проникновению в спермий ионов кальция и бикарбоната. При этом активируется аденилатциклаза, благодаря которой образуется цАМФ из АМФ. Повышение уровня цАМФ вызывает активацию протеинкиназы А, стимулируя её, в свою очередь, к активации тирозинкиназы (инактивируемой фосфатазой). Фосфорилирование белков протеинкиназами — важный этап капацитации (по Visconti, Kopf 1998).

ГалТаза спермия инактивируется благодаря взаимодействию с галактозамингликаном --- N-ацетилгалактозамином, молекулы которого плотно прикрывают активные участки галактозилтрансферазы. В ходе капаситации эти полимерные молекулы удаляются с поверхности сперматозоида, в результате чего молекулы плазматической мембраны последнего приобретают способность к взаимодействию с поверхностью яйца

по Гилберт, 2010

ZP3: СВЯЗЫВАЮЩИЙСЯ СО СПЕРМИЯМИ БЕЛОК МЫШИНОЙ ПРОЗРАЧНОЙ ОБОЛОЧКИ



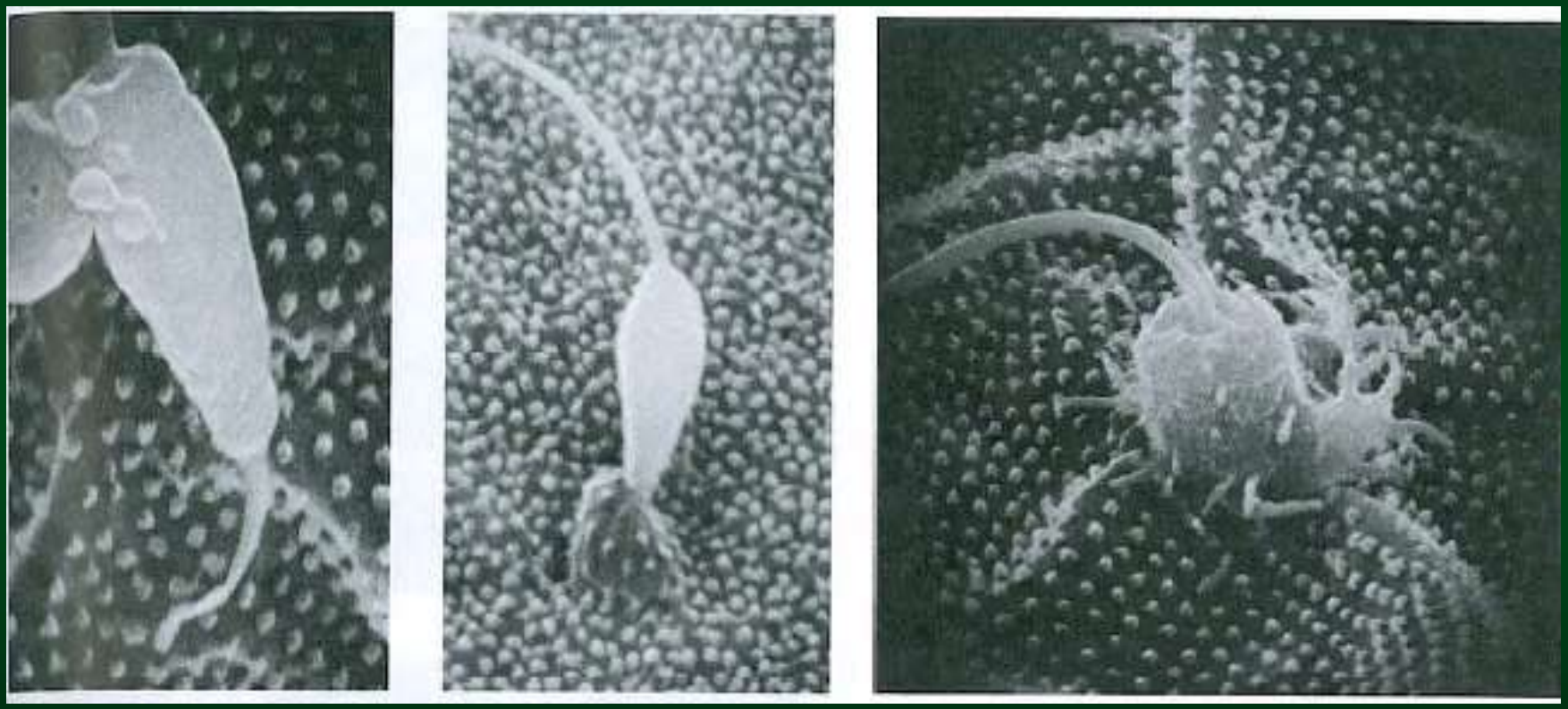


Опыты с ингибированием, показывающие специфическое уменьшение связывания спермиев мыши с прозрачной оболочкой, если спермии и прозрачную оболочку предварительно ин-кубировали с возрастающими количествами гликопротеина ZP3.

Акросомная реакция в спермиях мыши индуцируется при взаимодействии ZP3 с рецептором на клеточной мембране спермия (**галактозилтрансфераза-1**)

по Гилберт, 2010

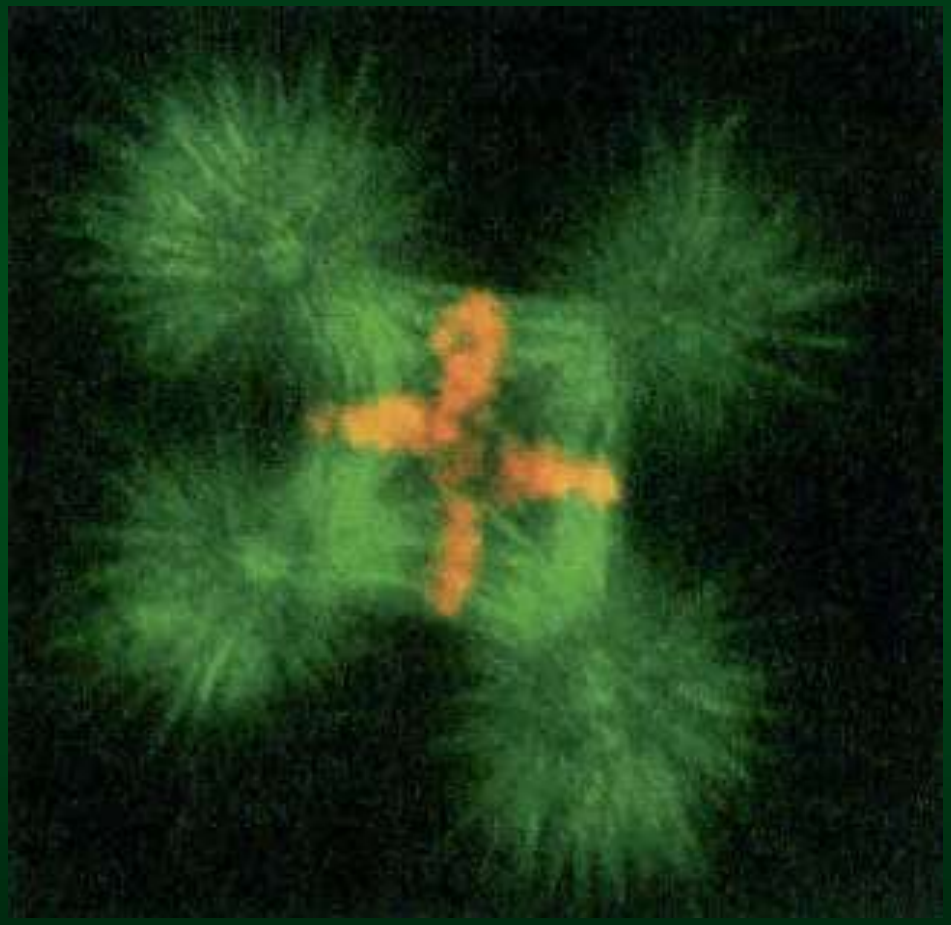
Echinodermata



Gilbert, 2006

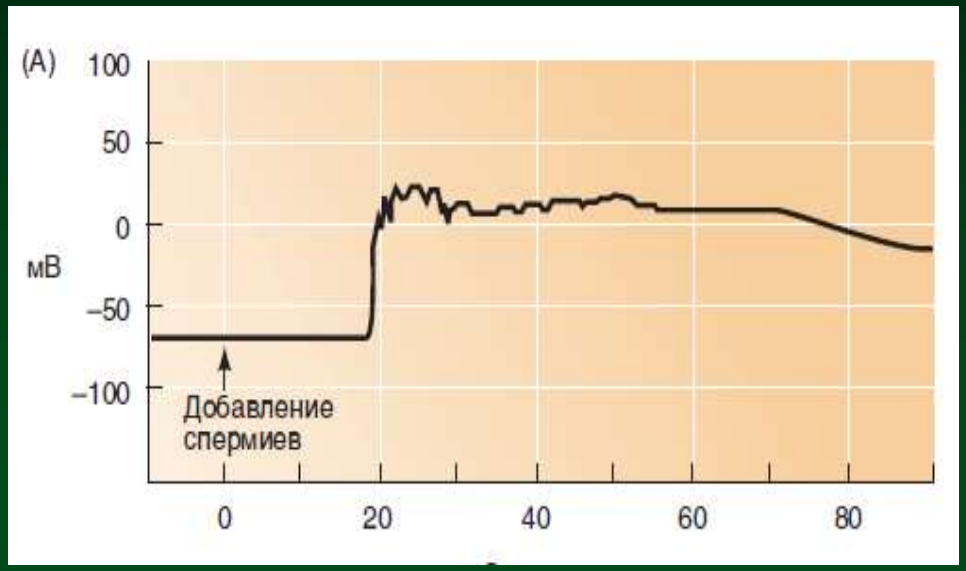
СЛИЯНИЕ ПРОНУКЛЕУСОВ ПОСЛЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ГРЕБНЕВИКА

Echinodermata



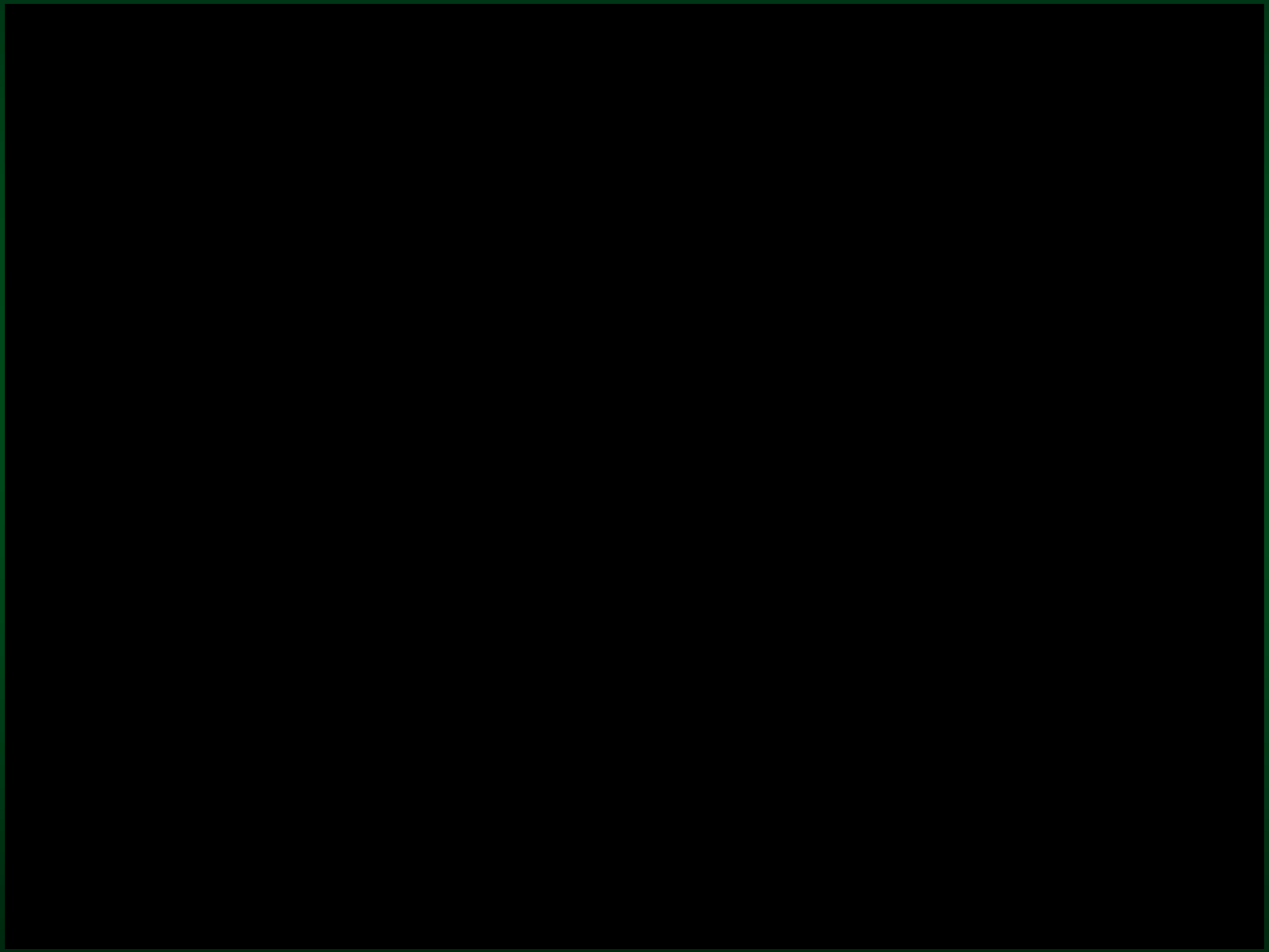
Gilbert, 2006

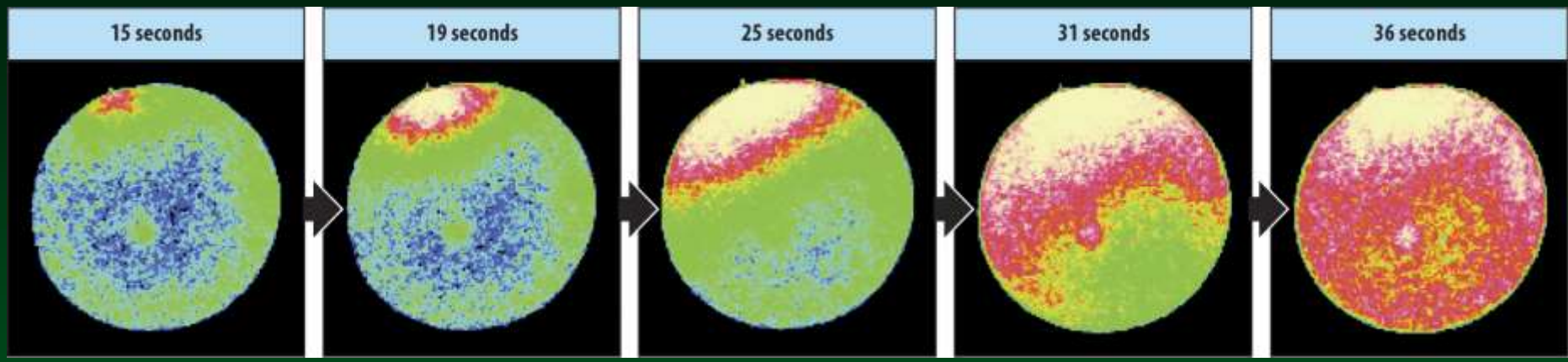
БЛОК ПОЛИСПЕРМИИ

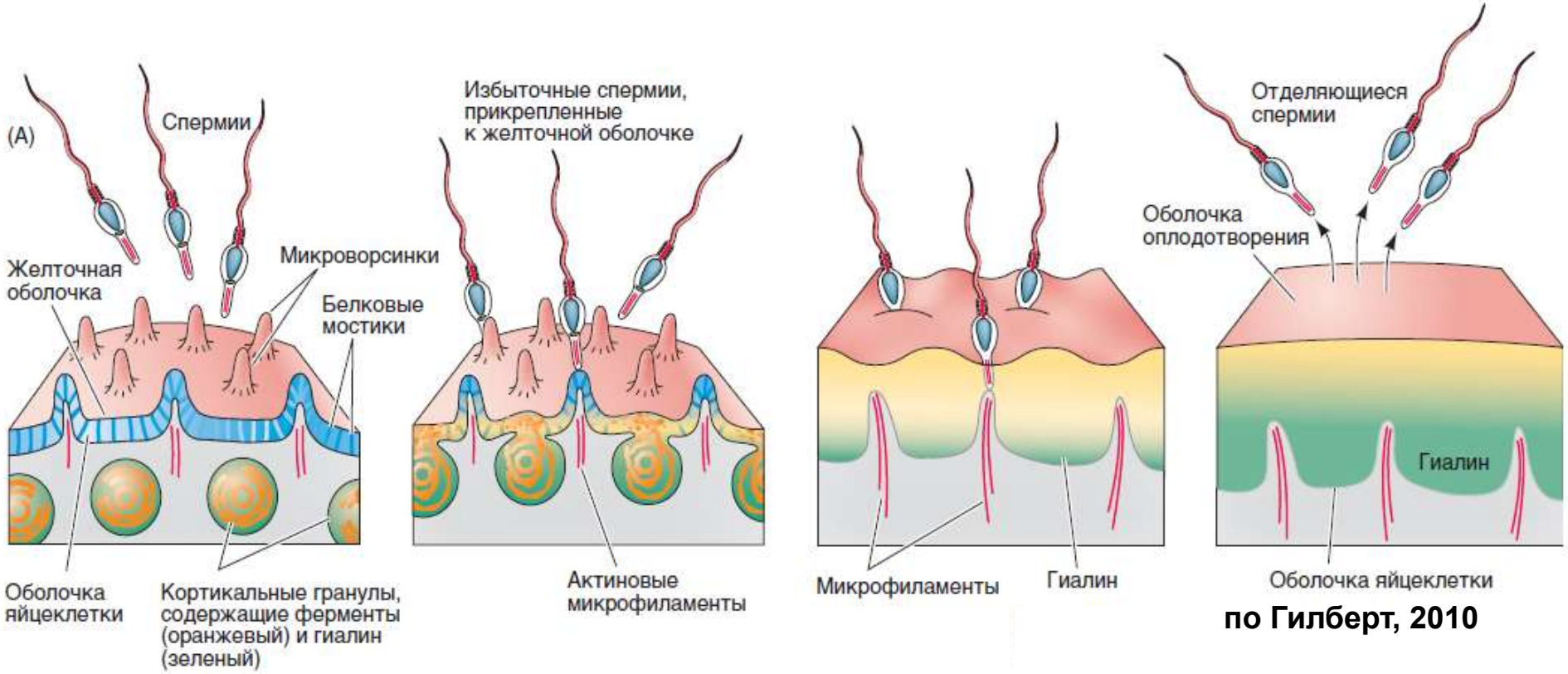


по Гилберт, 2010

Echinodermata







по Гилберт, 2010

Активация метаболизма в яйце

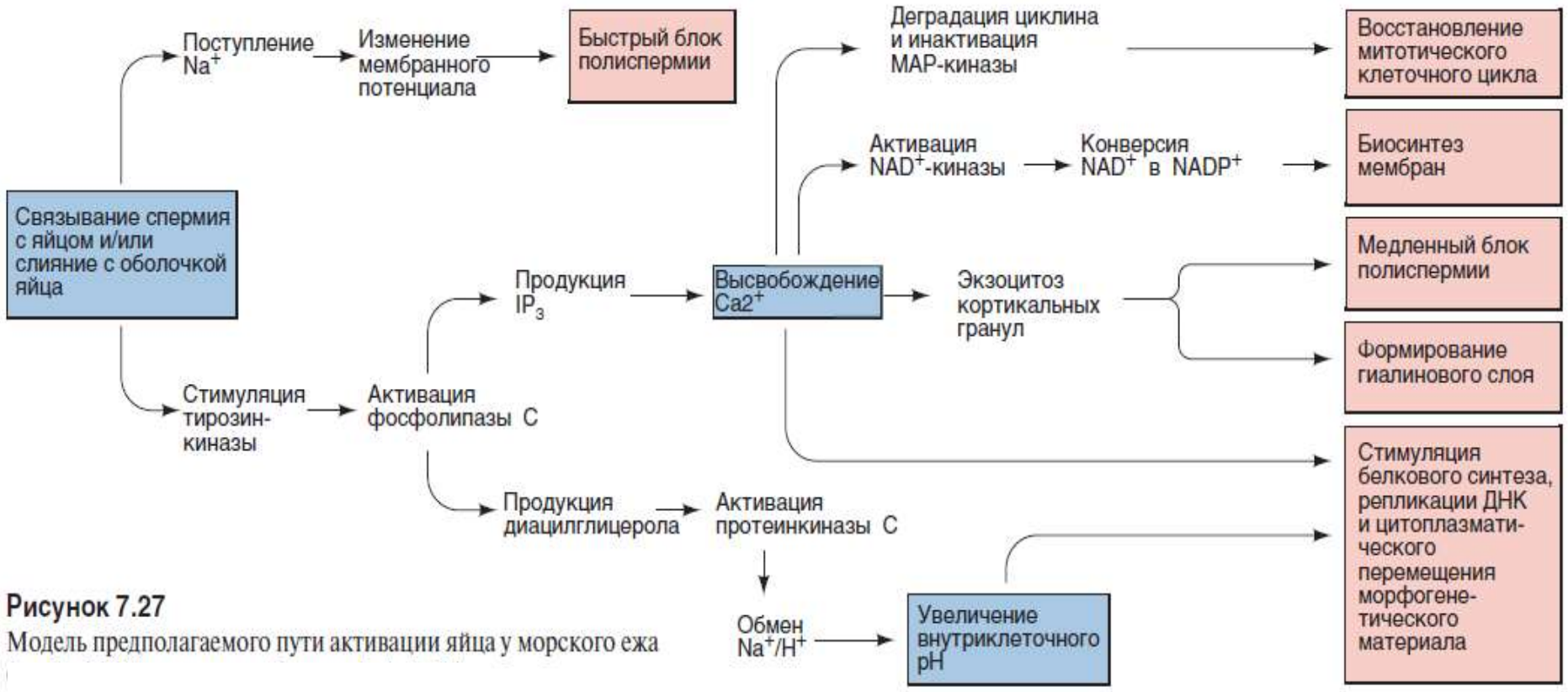
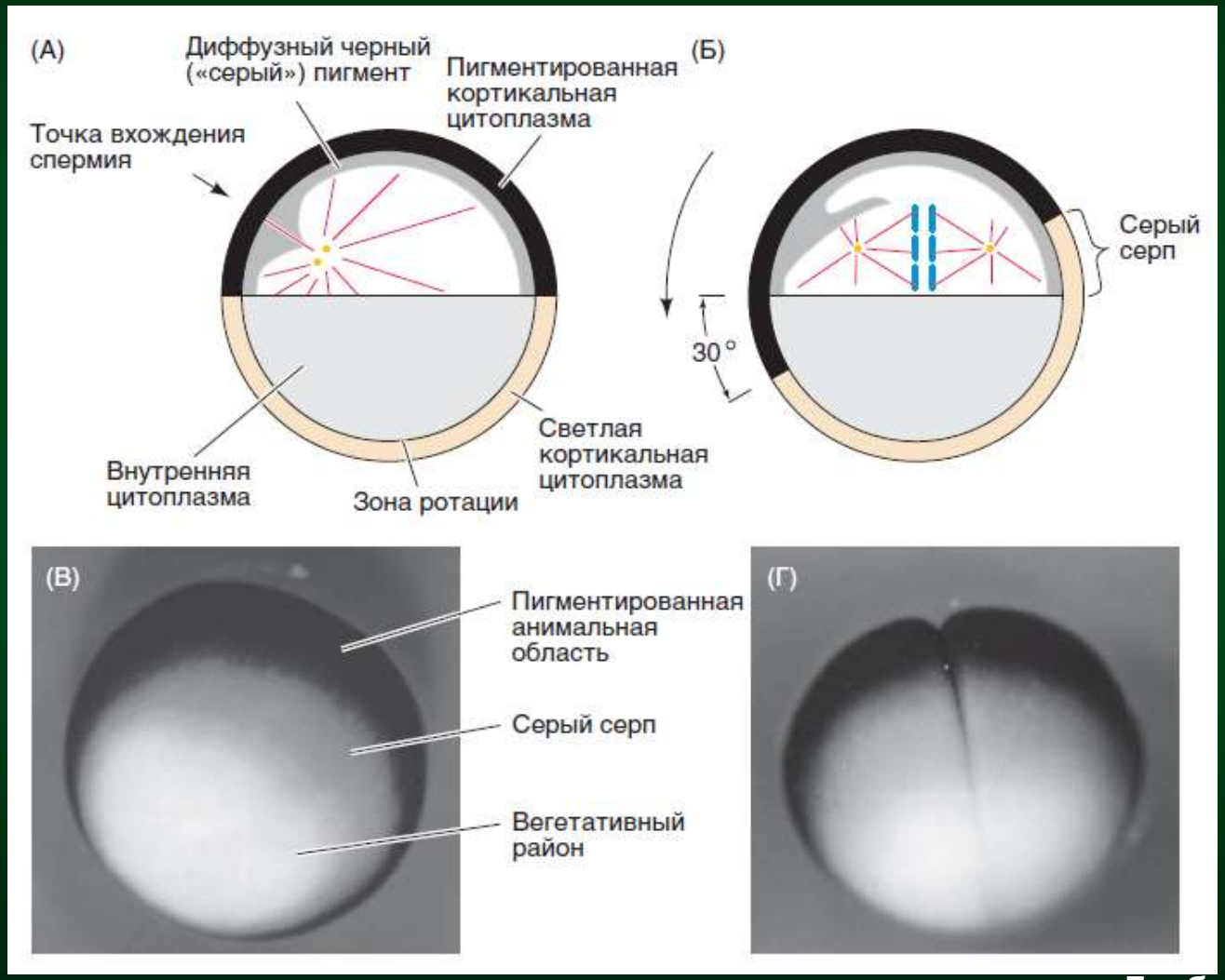


Рисунок 7.27
Модель предполагаемого пути активации яйца у морского ежа

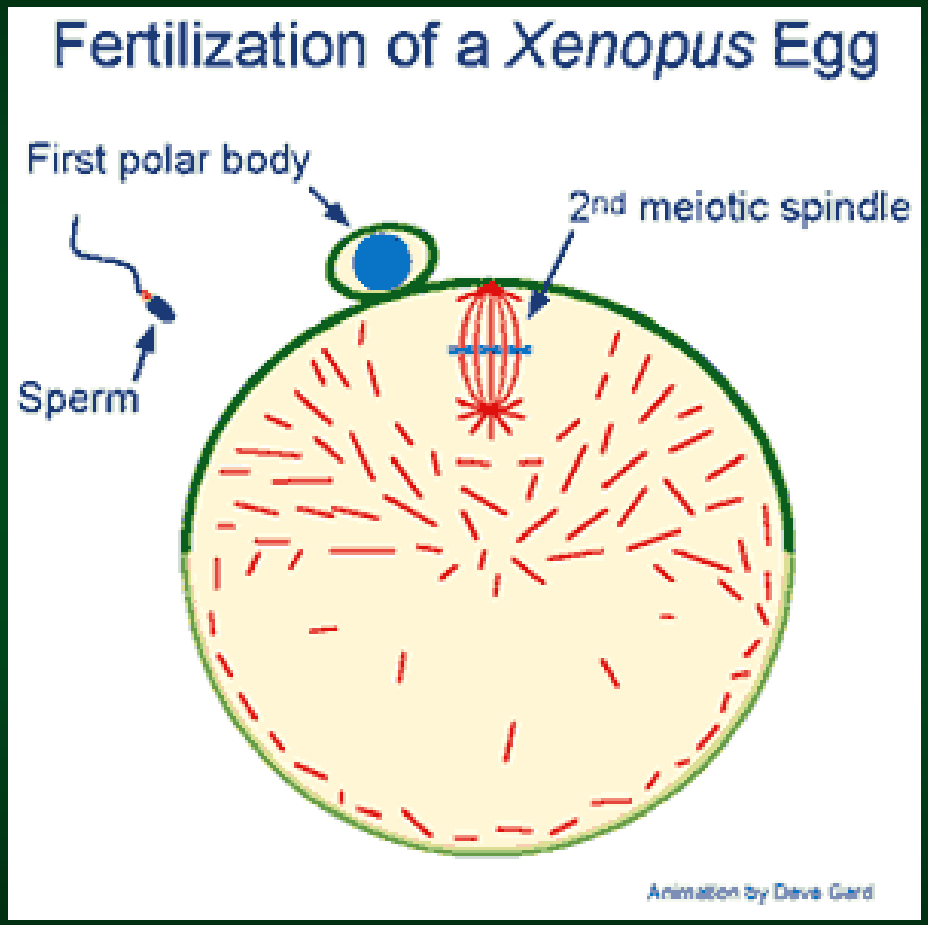
по Гилберт, 2010

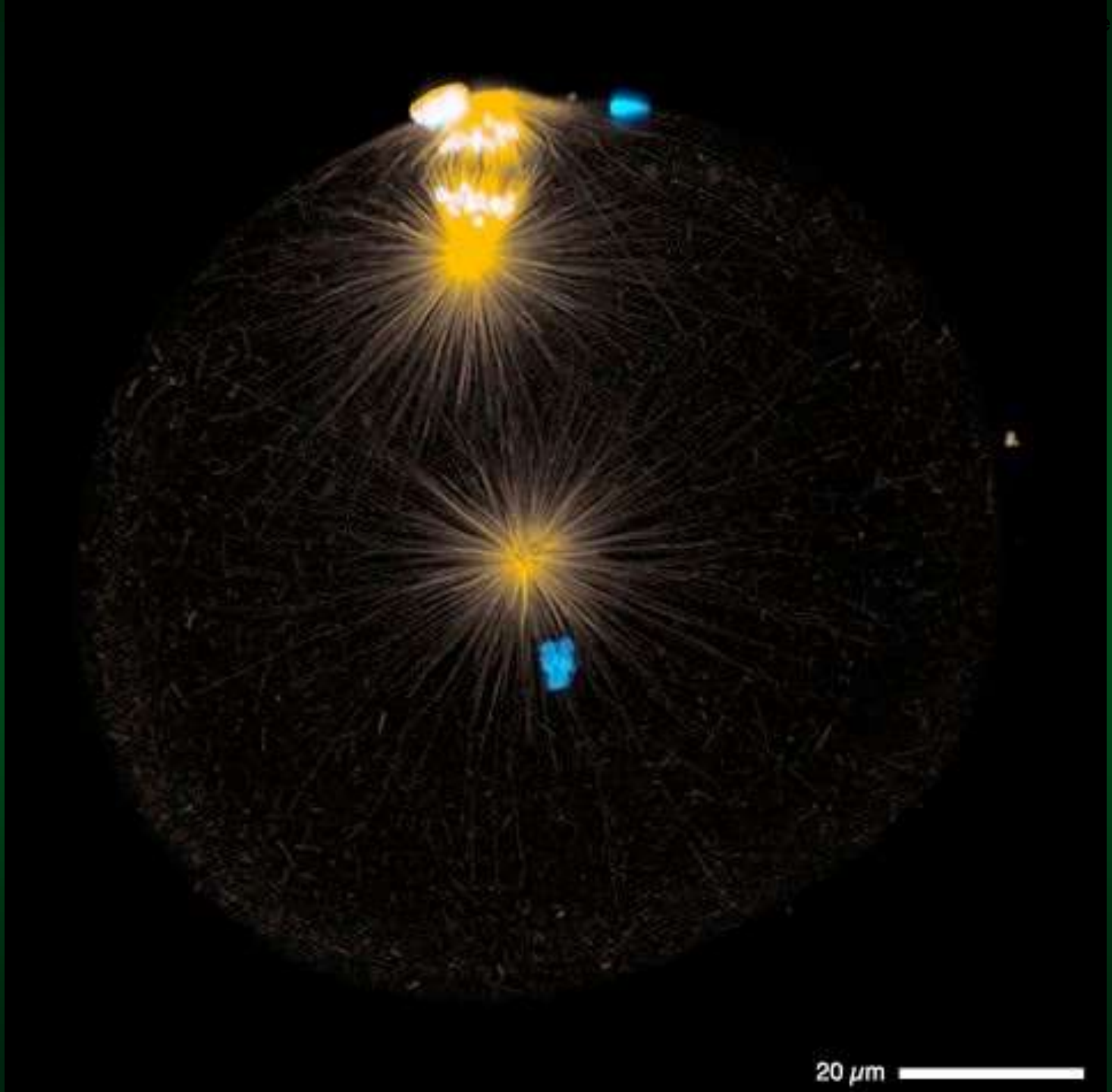
Реорганизация цитоплазмы яйца



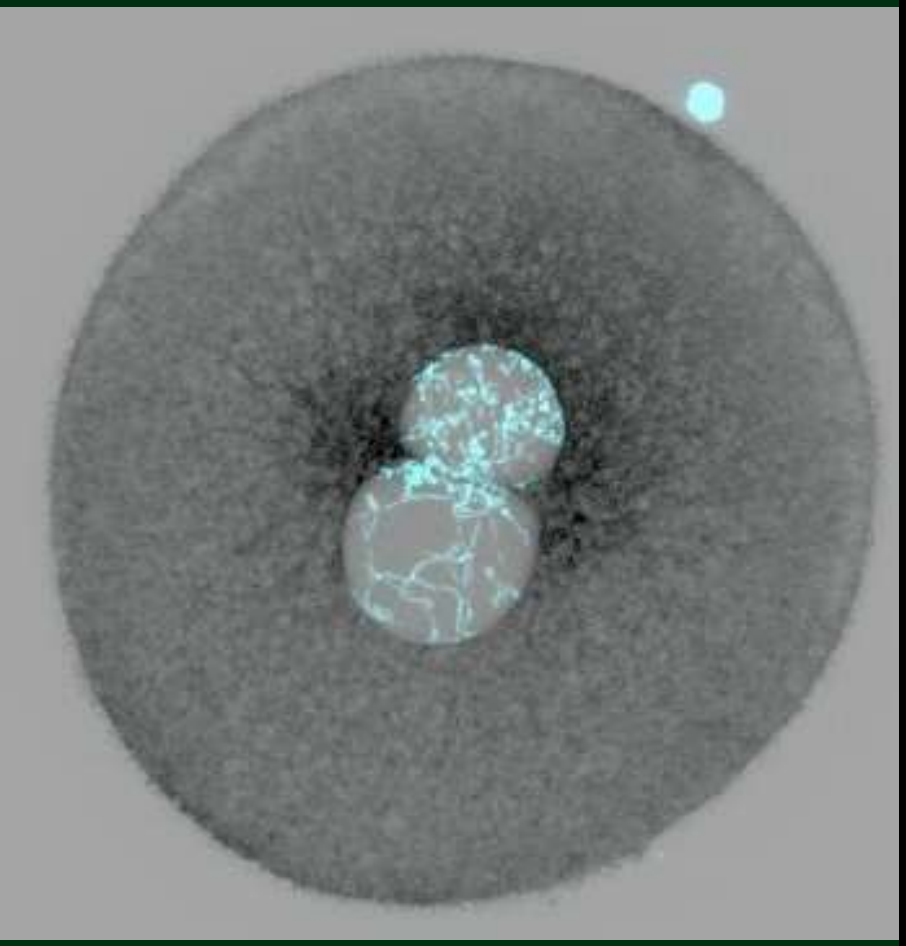
по Гилберт, 2010

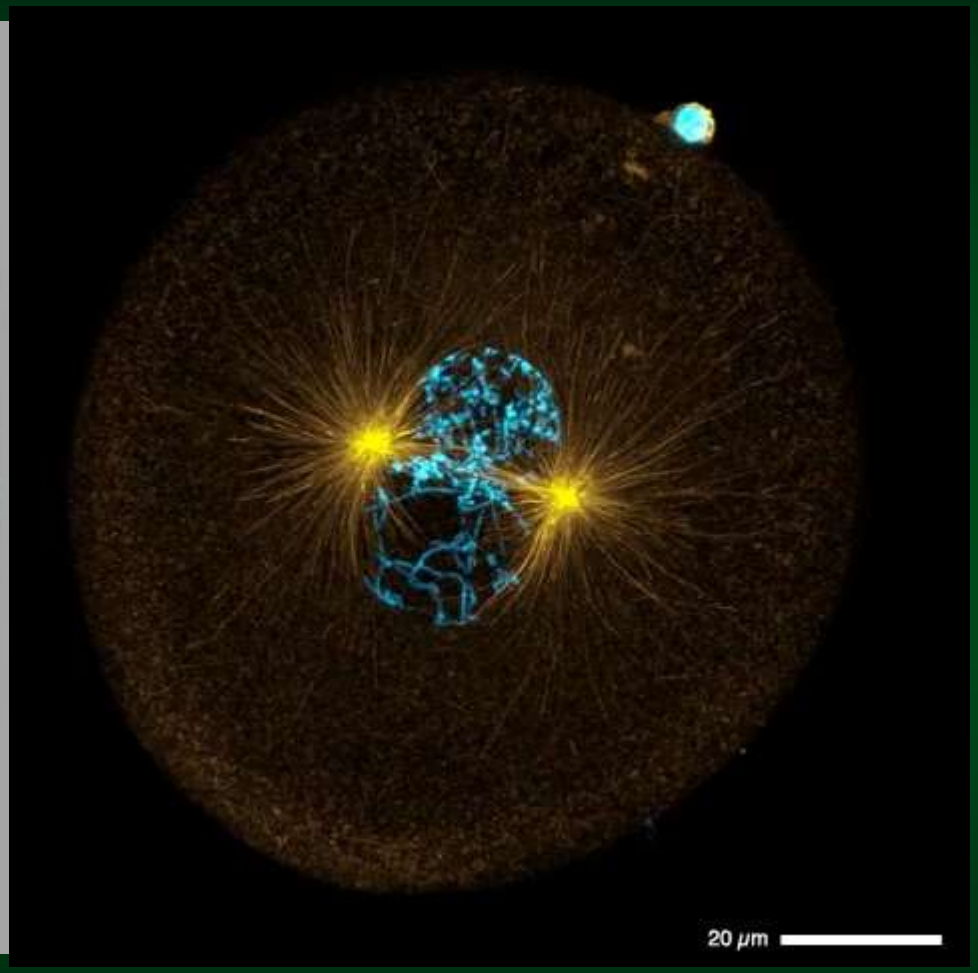
Реорганизация цитоплазмы яйца



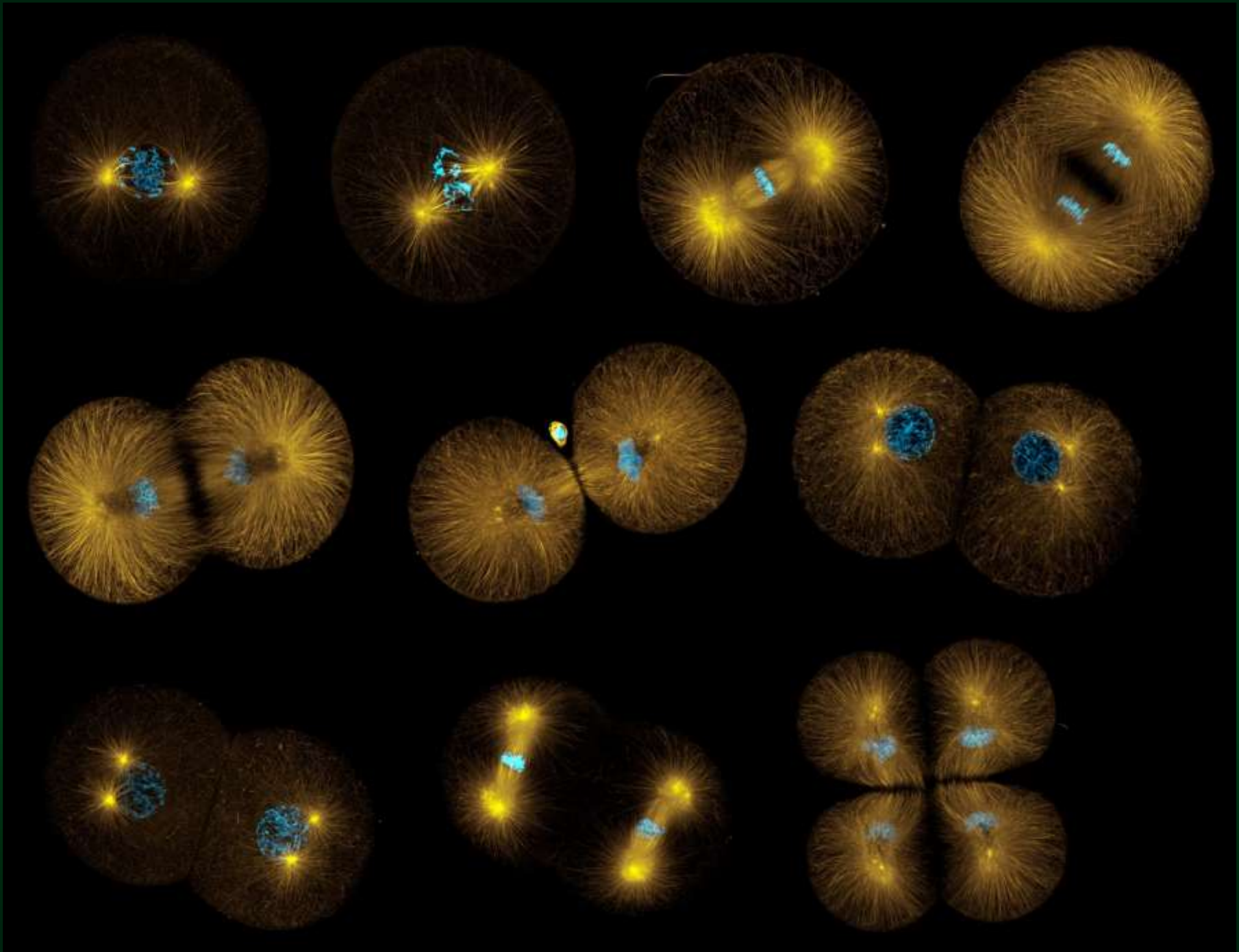


George von Dassow



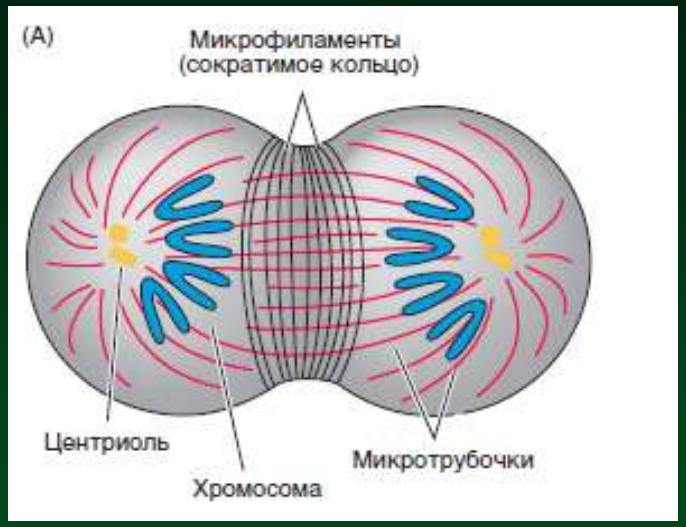


George von Dassow

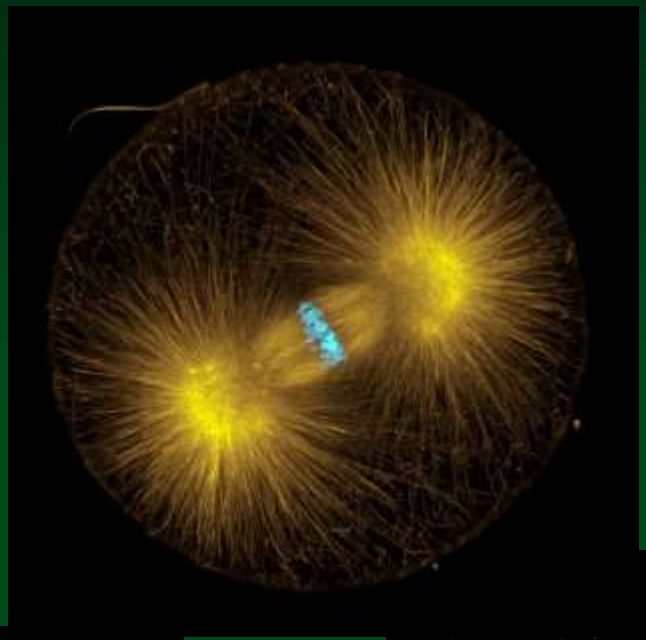


George von Dassow

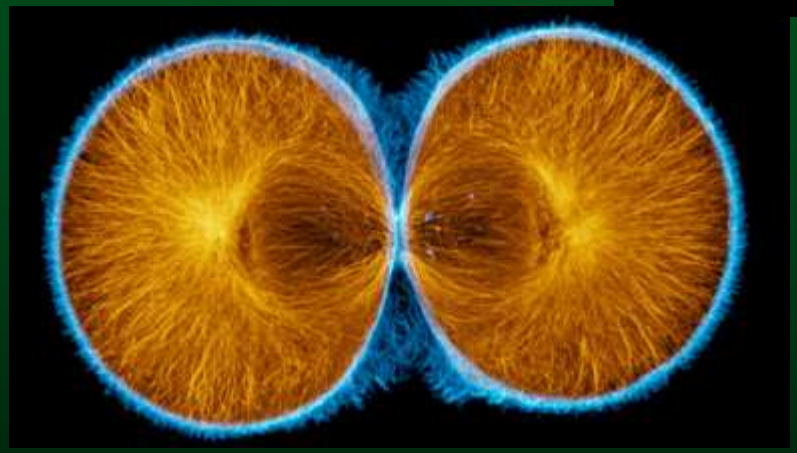
Дробление

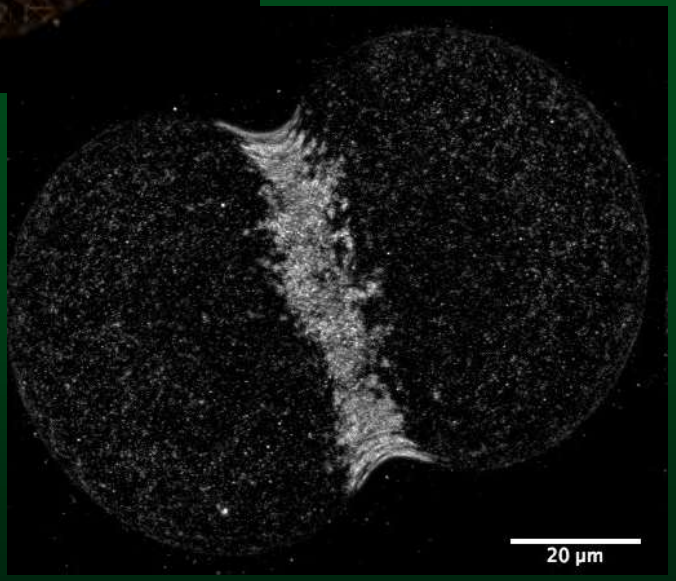


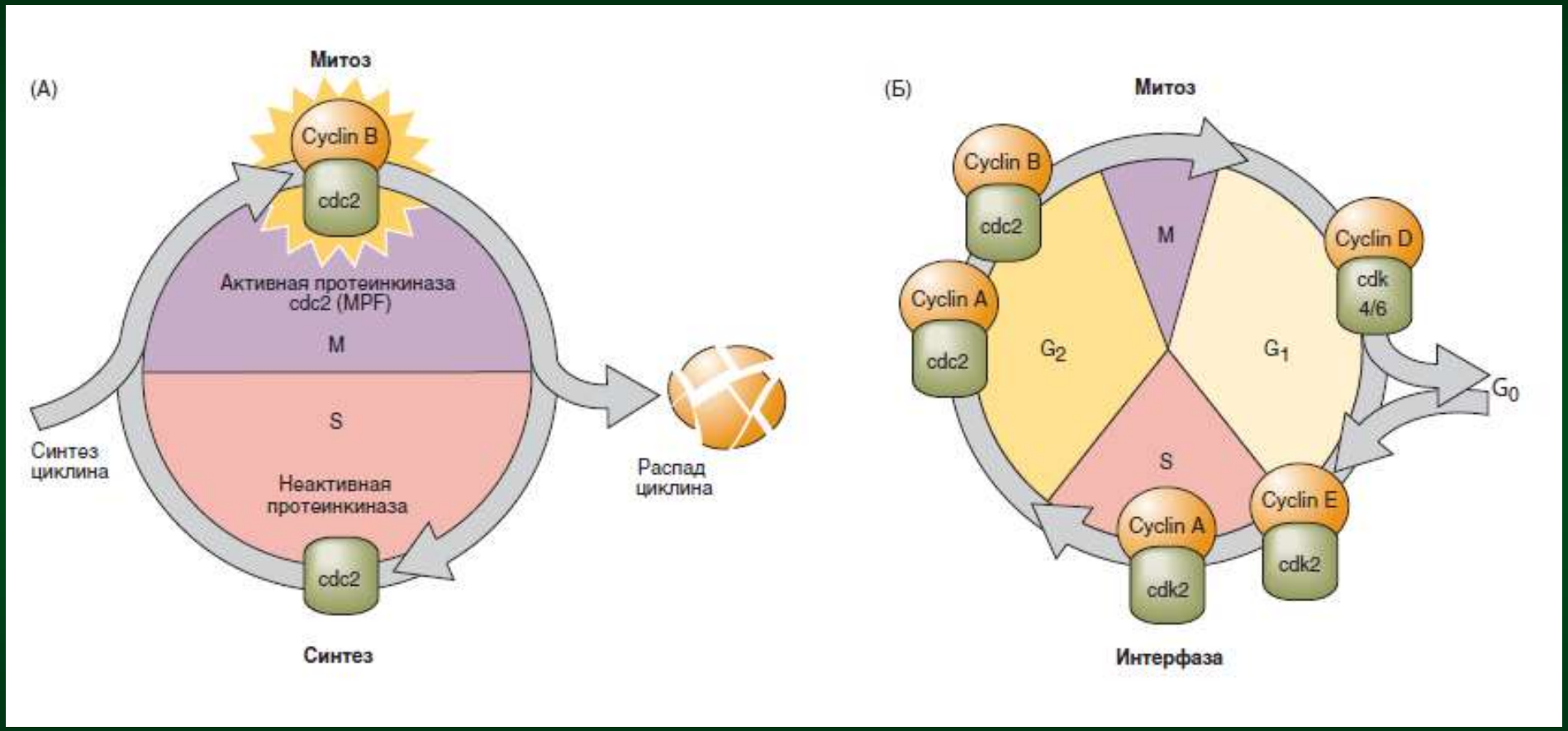
бластомеры



борозда дробления



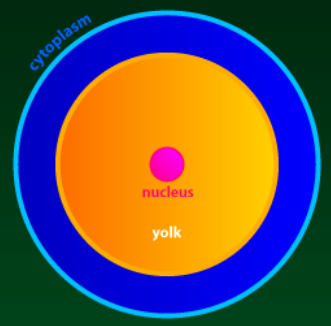



(А)
Митоз
Cyclin B
cdc2
Активная протеинкиназа
cdc2 (MPF)
M
S
Неактивная
протеинкиназа
cdc2
Синтез
циклина
Распад
циклина
Синтез
(Б)
Митоз
Cyclin B
cdc2
M
Cyclin D
cdk
4/6
Cyclin A
cdc2
G2
G1
G0
S
Cyclin E
Cyclin A
cdk2
cdk2
Интерфаза

По характеру локализации желтка

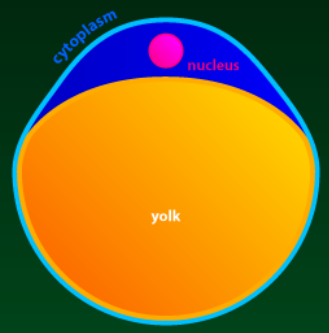
Isolecithal
Urchin

изолецитальные



Centrolecithal
Insect

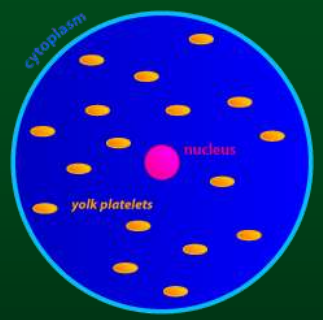
центролецитальные



Telolecithal
Zebrafish

телолецитальные

По количеству желтка



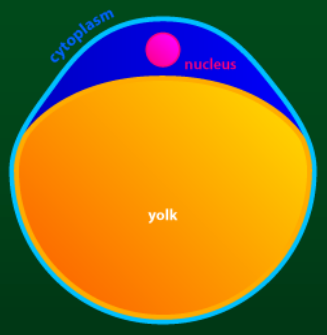
Alecithal
Mammal

алецитальные
олиголецитальные

Mesolecithal
Xenopus

мезолецитальные

Centrolecithal
Insect



Telolecithal
Zebrafish

полилецитальные