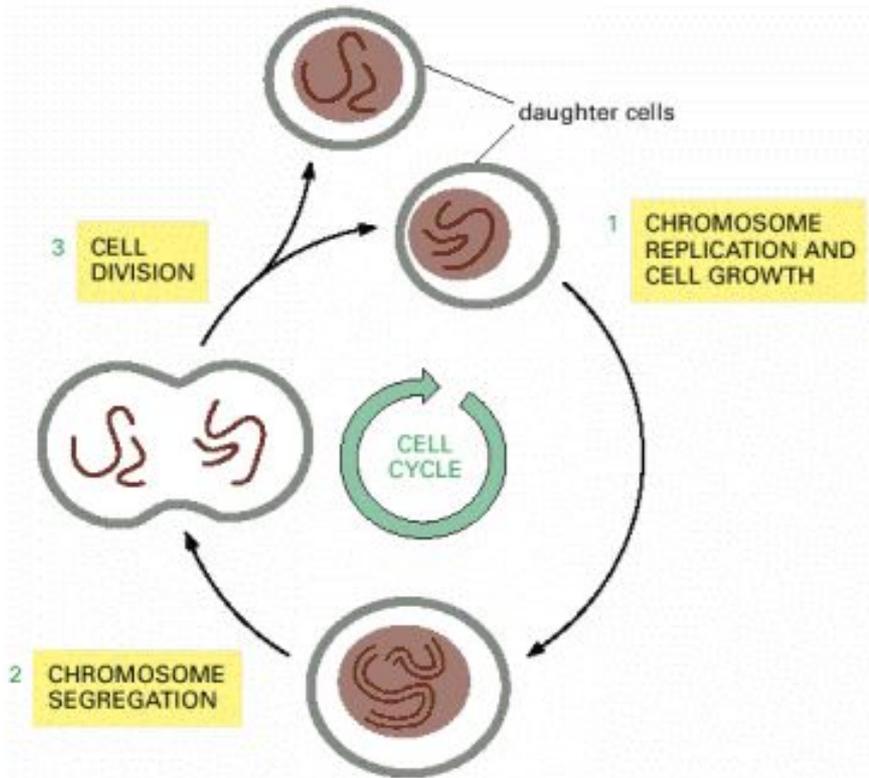


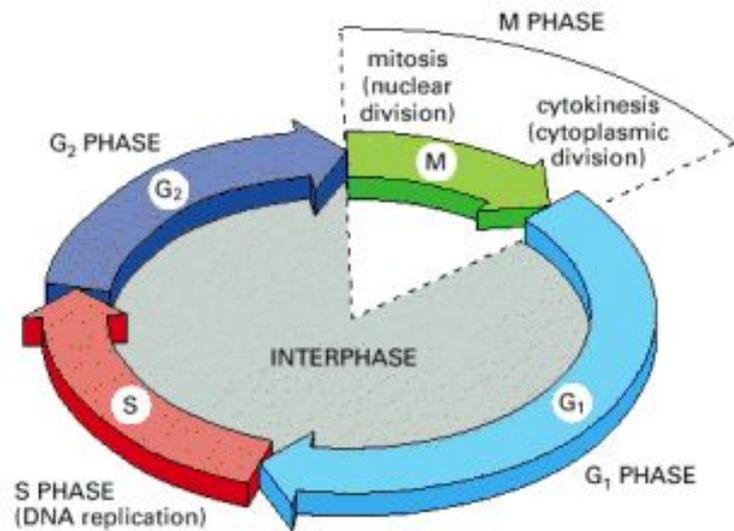
Все органы и ткани в процессе индивидуального развития формируются в результате взаимодействия механизмов регуляции деления, поляризации, миграции и программируемой смерти клеток.

Клеточный цикл.



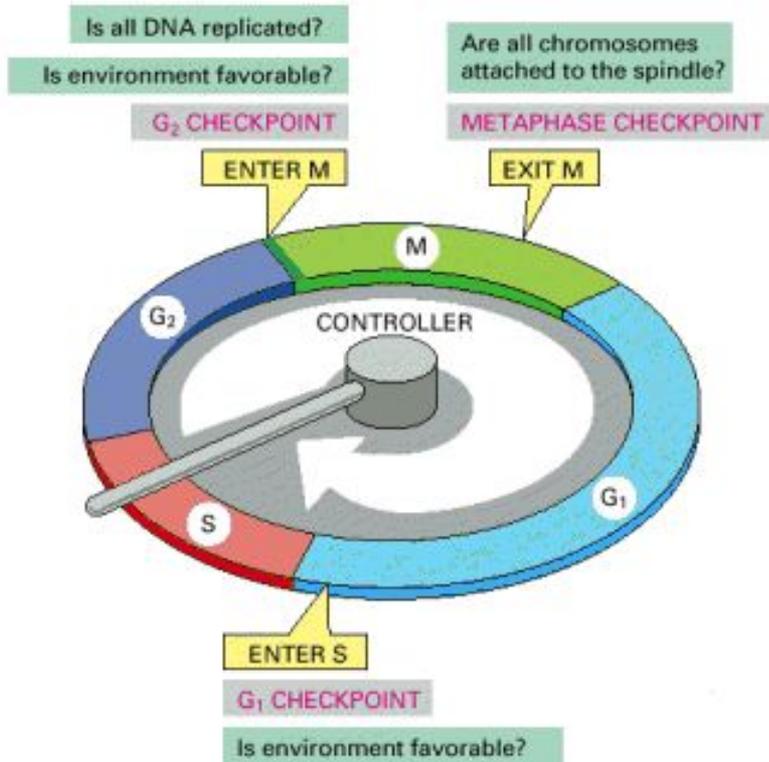
- Деление гипотетической клетки с двумя хромосомами продуцирует две генетически идентичные клетки компетентные к новому делению.

Фазы клеточного цикла.



- М фаза – деление ядра и цитоплазмы
- G1 фаза – синтез белков обеспечивающих репликацию ДНК
- S фаза – репликация ДНК
- G2 фаза – синтез белков обеспечивающих деление ядра и цитоплазмы

Точки проверки системы контроля клеточного цикла

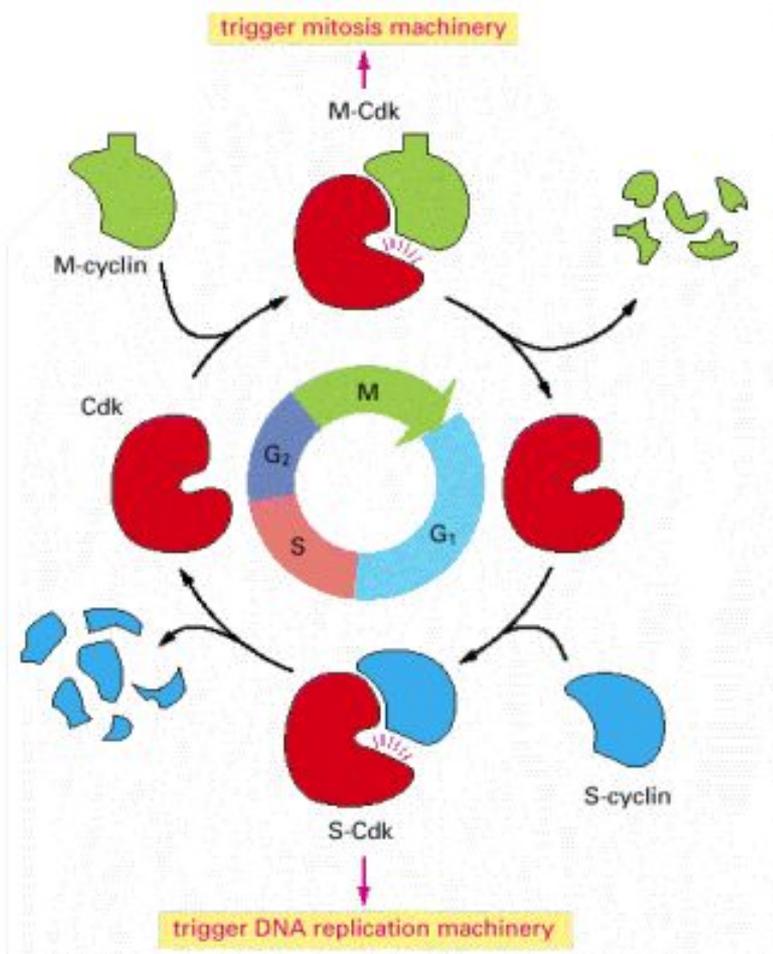


- Желтые флажки обозначают точки в которых система контроля определяет готовность клетки к переходу в очередную фазу клеточного цикла

Циклины и фазы клеточного цикла.

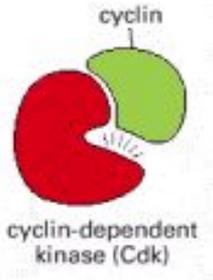
- Имеется четыре класса циклинов. Функция каждого из них связана с образованием комплекса с Cdk на определенной стадии клеточного цикла .
- 1. **G1/S-циклины** связывают Cdk в конце G1-фазы и готовят клетки к DNA-репликации.
 2. **S-циклины** связывают Cdk во время S-фазы и необходимы для инициации DNA-репликации.
 3. **M-циклины** инициируют митоз.
- 4. **G1-циклины** помогают пройти контрольную точку поздней G1-фазы.

Упрощенная схема системы контроля клеточного цикла



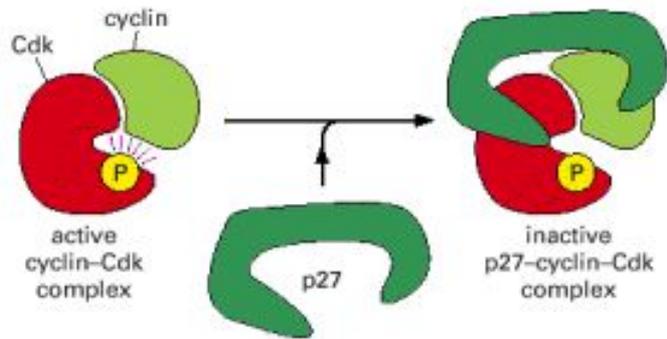
- Cdk – циклин зависимые киназы.
- Связывание Cdk с циклинами приводит к деградации циклинов
- S-cyclins и S-Cdk формируют комплексы обеспечивающие переход из G₁-фазы в S-фазу
- M-cyclins и M-Cdk формируют комплексы обеспечивающие переход из M-фазы в G₁-фазу

Двухкомпонентная система контроля клеточного цикла.



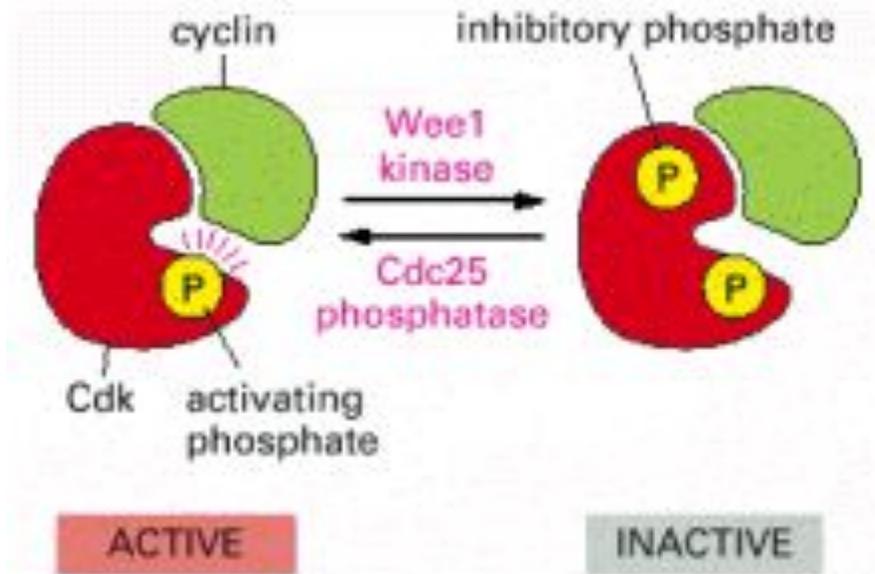
- Связывание циклина и Cdk активирует протеинкиназу к обеспечению прохождения специфических событий клеточного цикла. Без циклина Cdk неактивна.

СКІ p27 – ингибитор cyclin-Cdk комплекса.



- p27 связываясь с cyclin A-Cdk2 комплексом человека инактивирует ферментативную активность Cdk

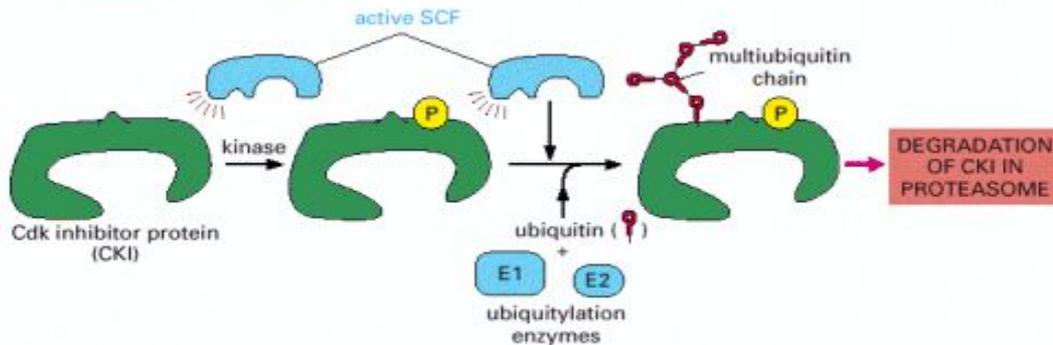
Регуляция активности Cdk путём фосфорилирования и дефосфорилирования.



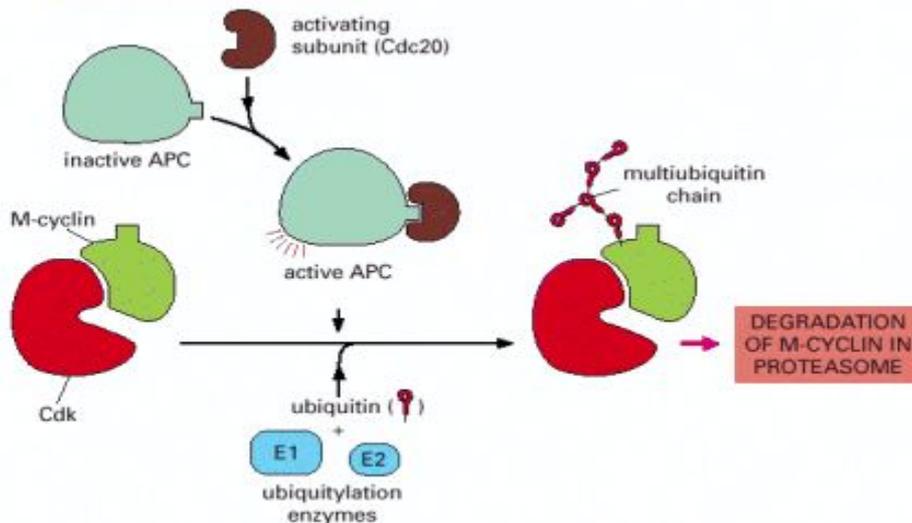
- Активность cyclin-Cdk комплекса блокируется Wee1-киназой
- Фосфотаза Cdc25 дефосфорилируя cyclin-Cdk комплекс активирует его вновь.

Контроль протеолиза SCF и APC во время клеточного цикла.

(A) control of proteolysis by SCF



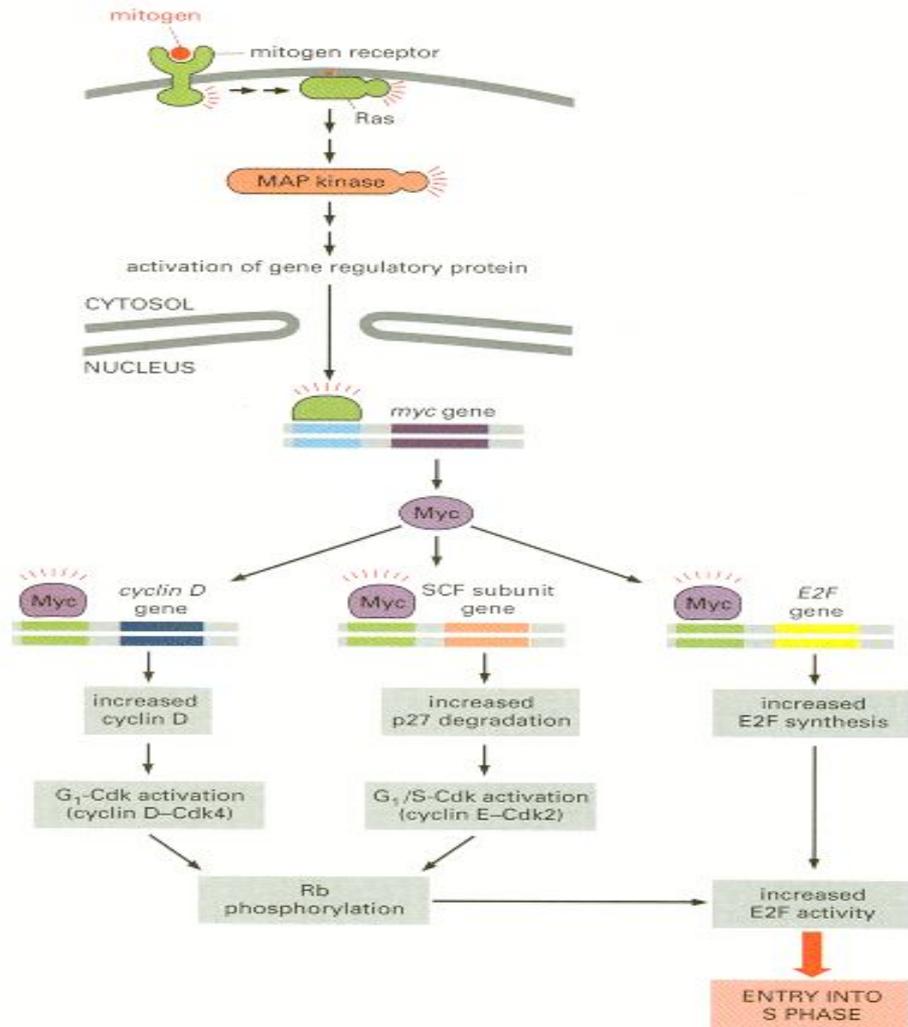
(B) control of proteolysis by APC



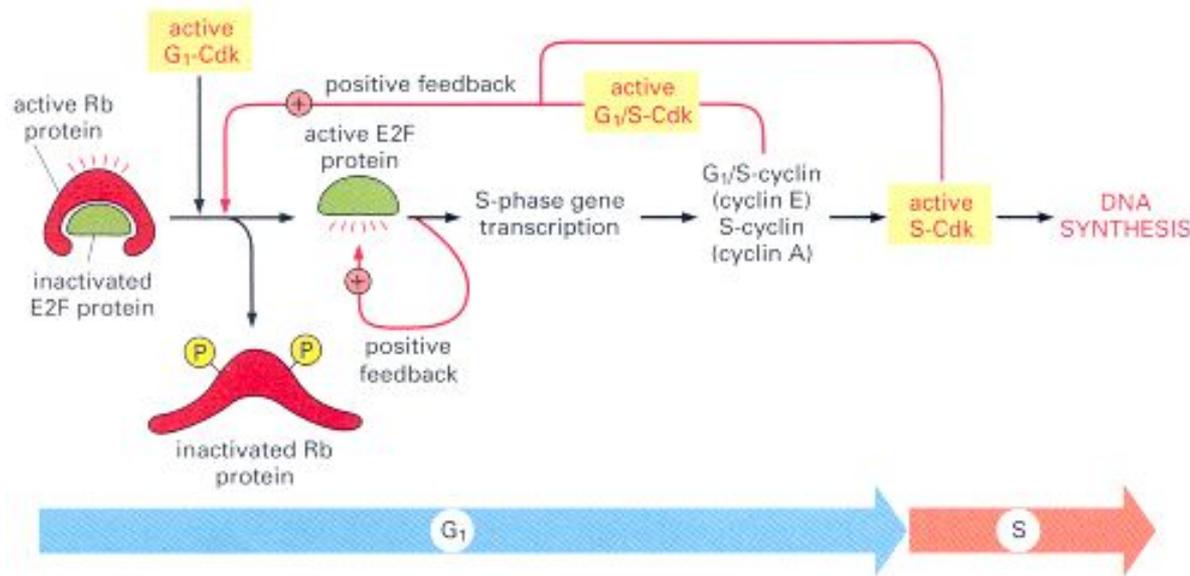
- А) Фосфорилирование СКІ делает его узнаваемым для конституционно-активного лигазного комплекса SCF. При помощи E1 и E2, SCF убикитинирует СКІ белок. Убикитинизированный СКІ белок немедленно узнаётся и лизируется протеасомами.
- (В) Убикитинизация М-циклина выполняется APC-комплексом активируемым в позднем митозе. Оба, и SCF, и APC имеют специальные сайты узнавания и связывания специфических аминокислотных последовательностей.

Упрощенная модель митогенной стимуляции клеточных делений.

- Связывание митогенов с поверхностными рецепторами инициирует активность Ras- и MAP-киназных каскадов. Усиливается продукция регуляторного белка Мус. Мус усиливает транскрипцию генов обслуживающих прохождение G1 фазы, включая cyclin D и субъединицу SCF убикитин лигазу. В результате усиления активности G1-Cdk и G1/S-Cdk активируется фосфорилирование pRb, что вызывает активирование транскрипционного фактора E2F, и вхождение клетки в S-фазу.

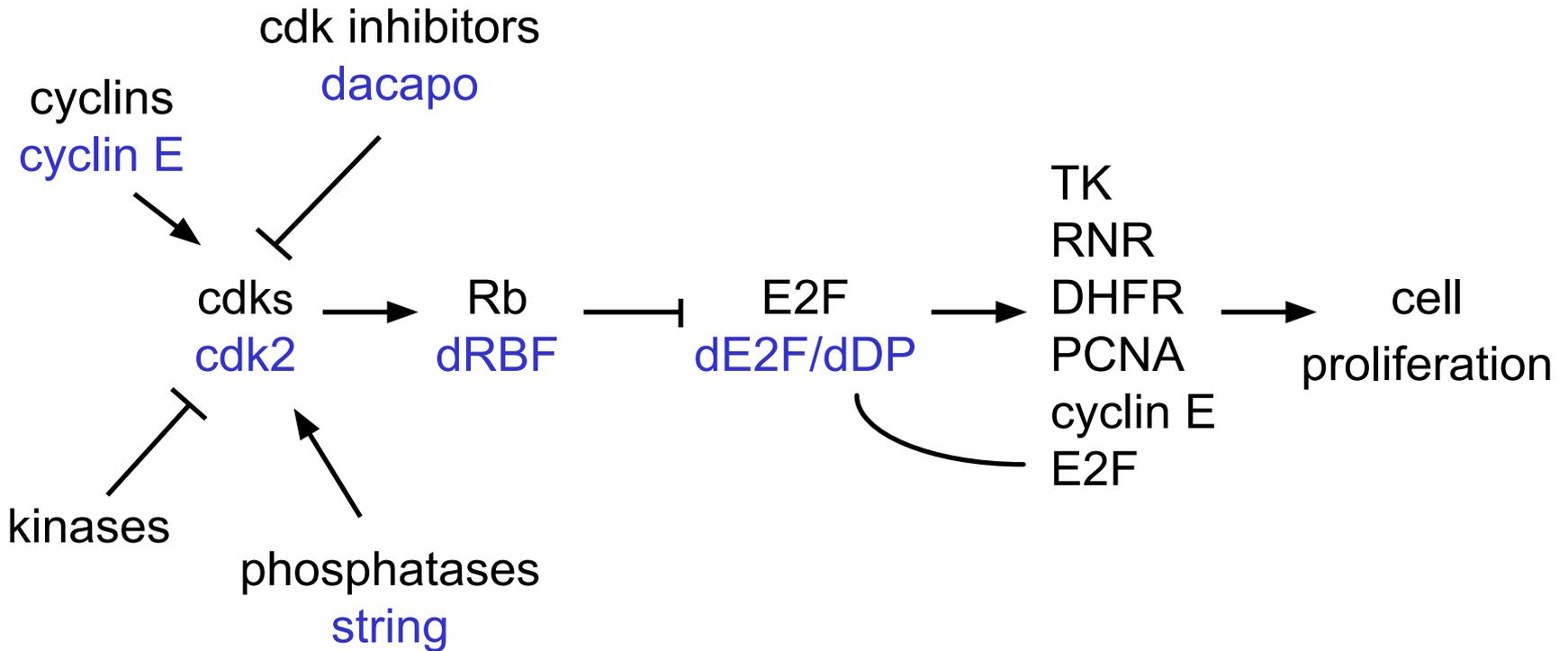


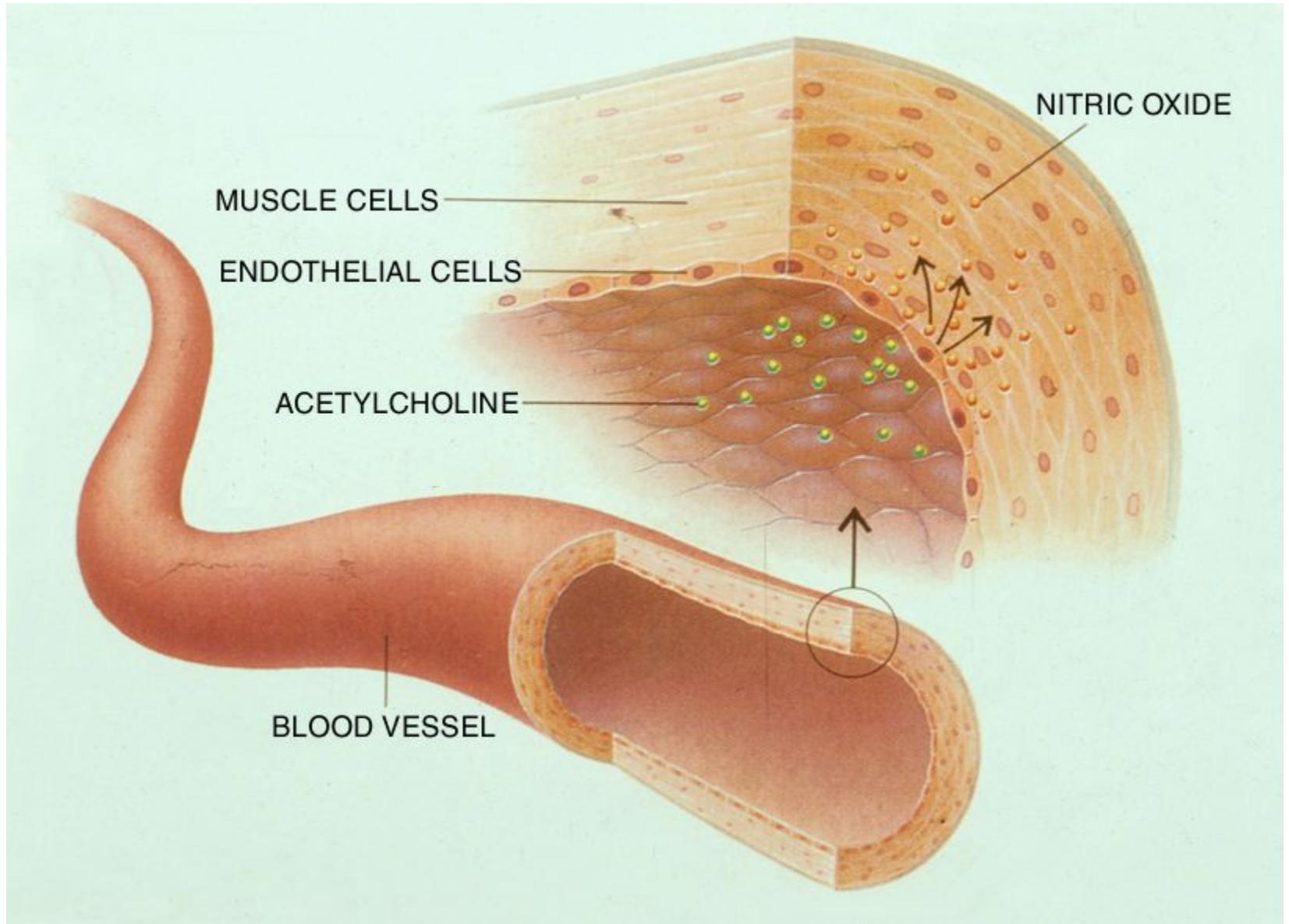
Rb-механизм контроля инициации S-фазы в клетках животных.



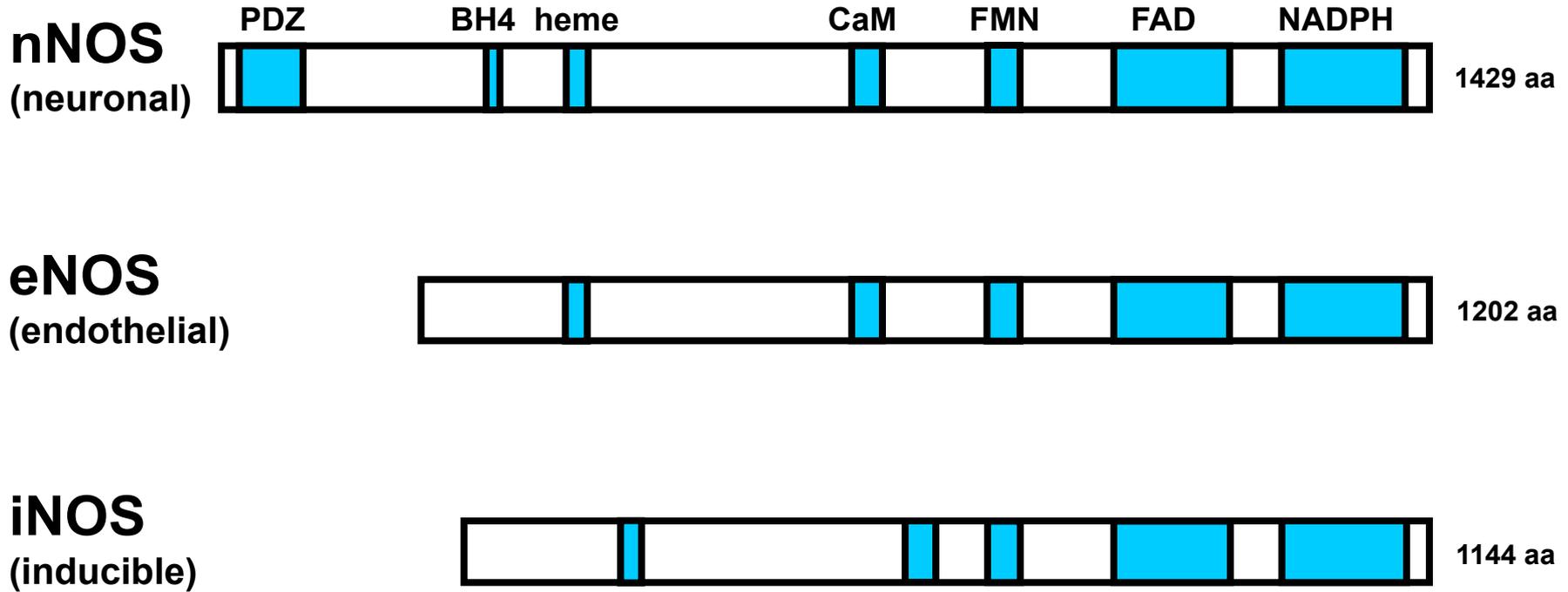
- G₁-Cdk (cyclin D-Cdk4) иницирует фосфорилирование Rb. Это инактивирует Rb. Комплекс Rb/E2F распадается. E2F активирует транскрипцию S-phase генов, включая G₁/S-cyclin (cyclin E) и S-cyclin (cyclin A).

Rb – путь - контроля клеточного цикла (*mammals/Drosophila*)



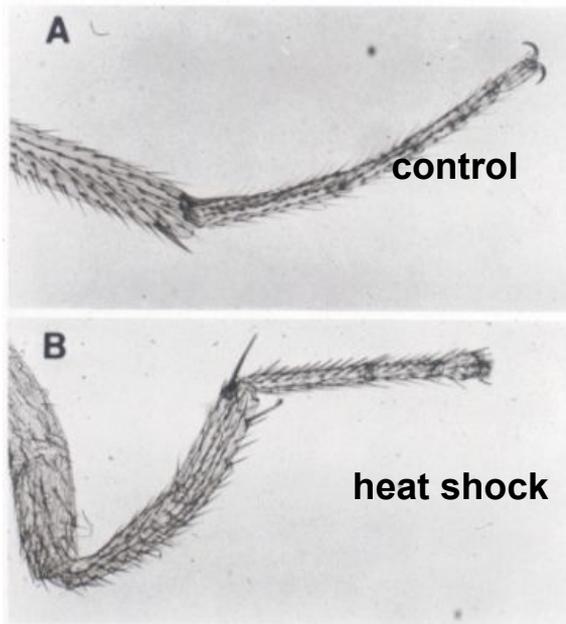


Nitric oxide synthase (NOS) изоформы

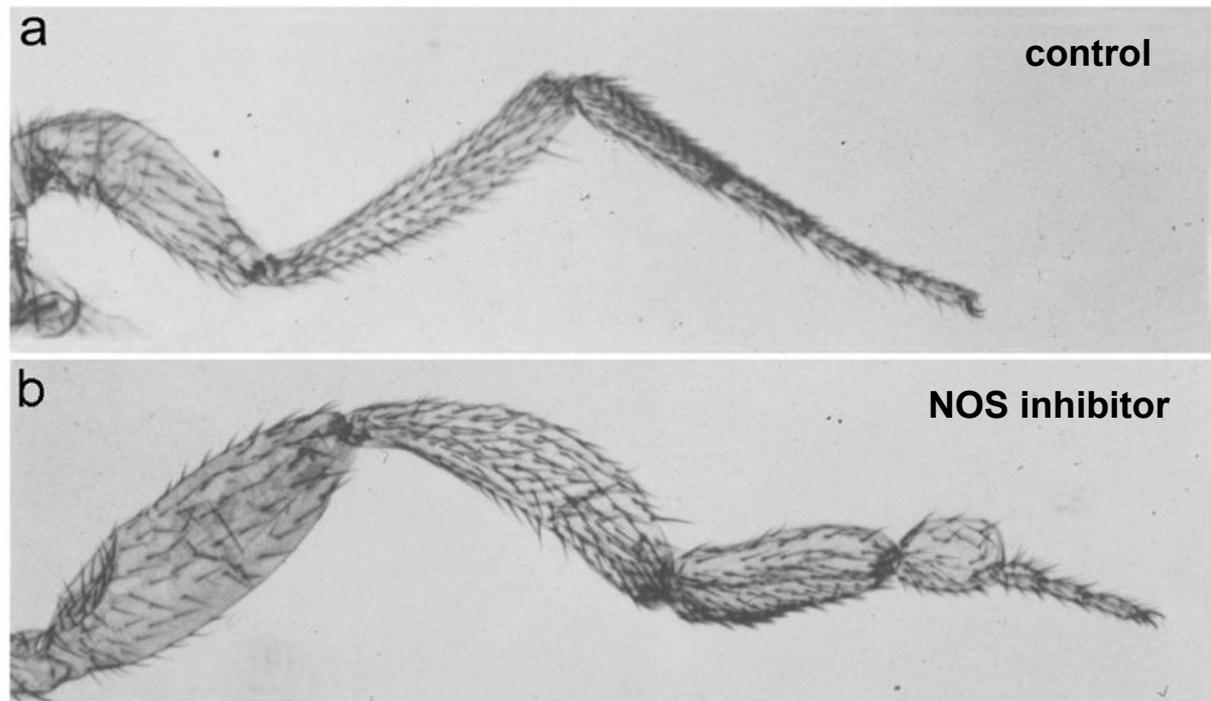


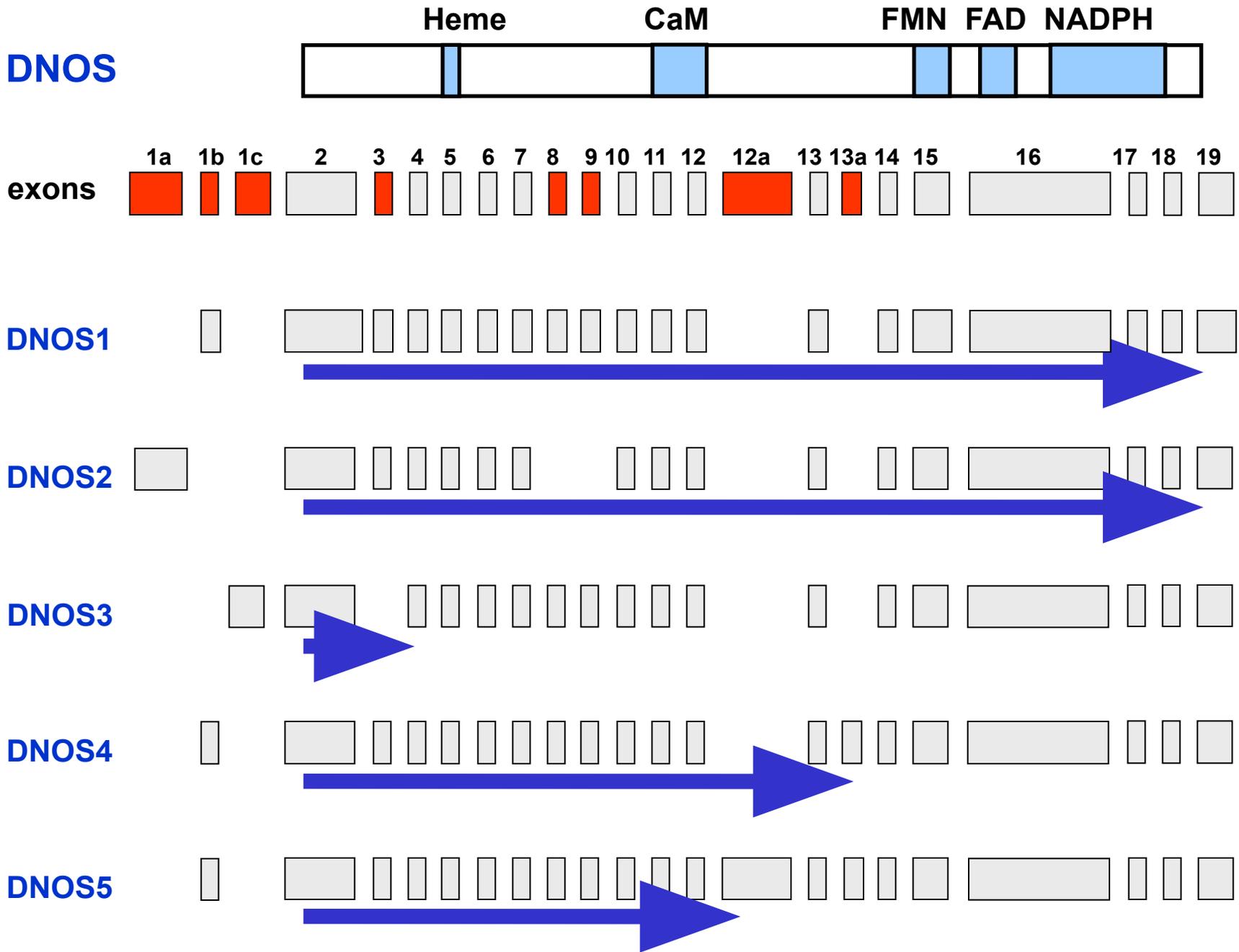
Оверэкспрессия NOS вызывает редукцию, а ингибирование увеличение ножных структур у *Drosophila*

индукция NOS в hs-NOS личинке



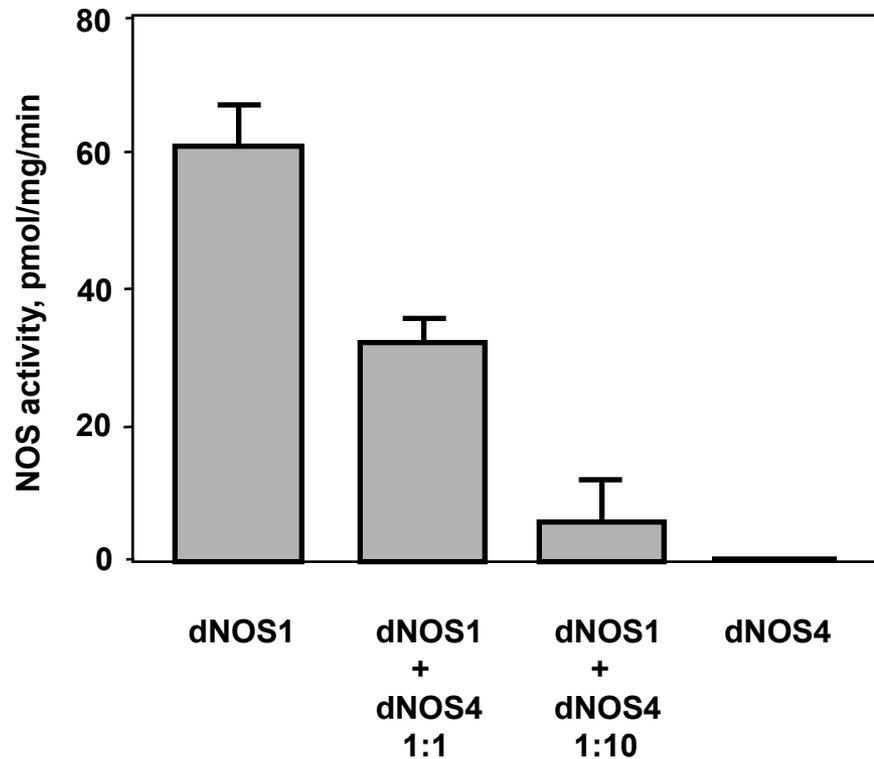
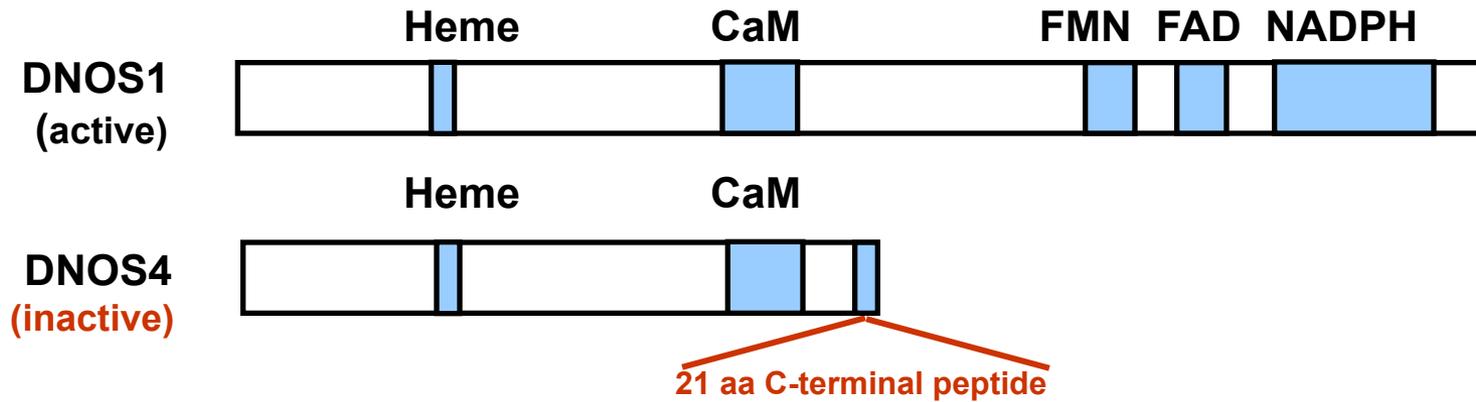
ингибирование NOS в личинке



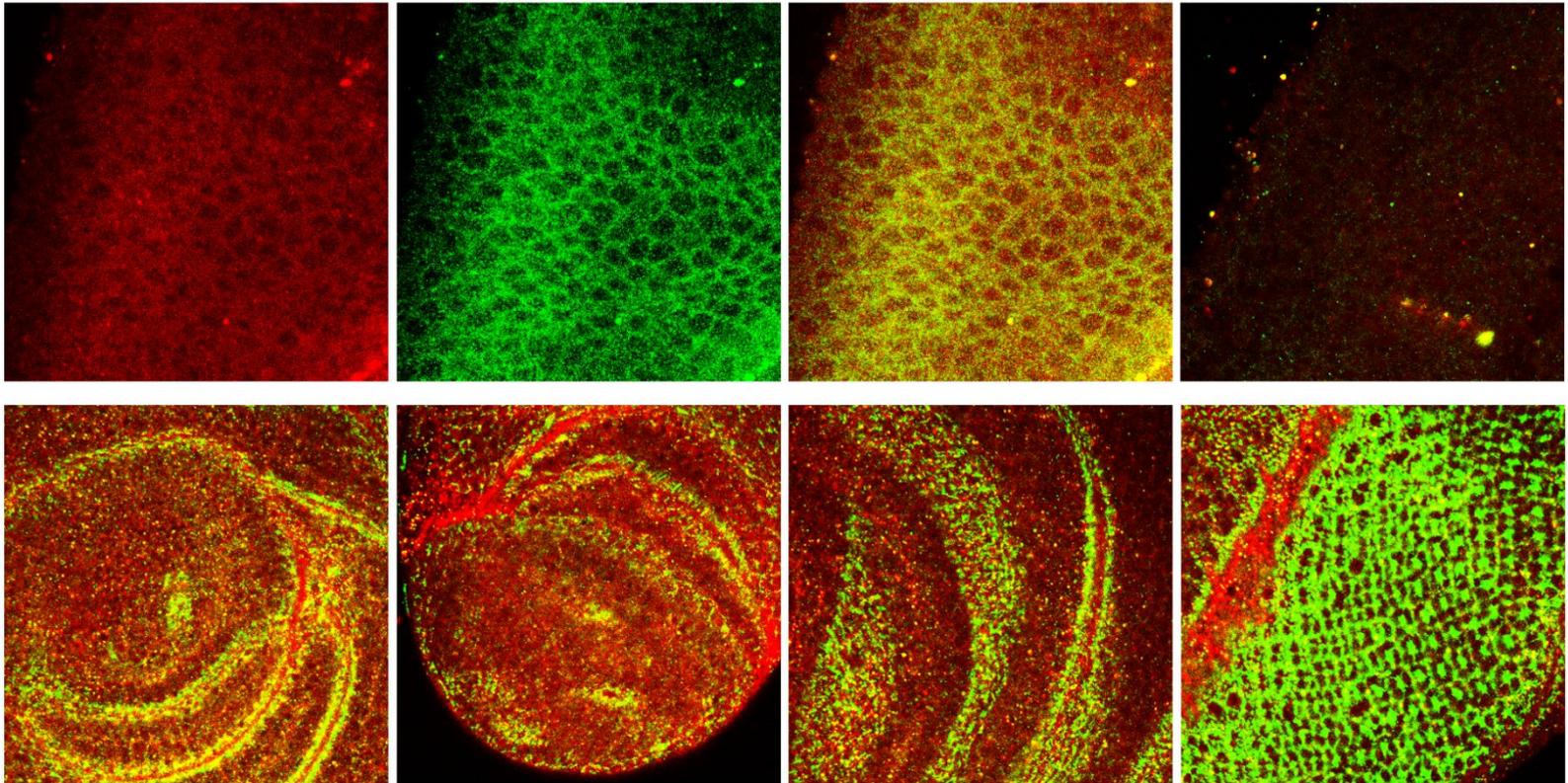


dNOS4 ингибирует dNOS1

активность



Паттерн экспрессии DNOS1 DNOS4 у *Drosophila*

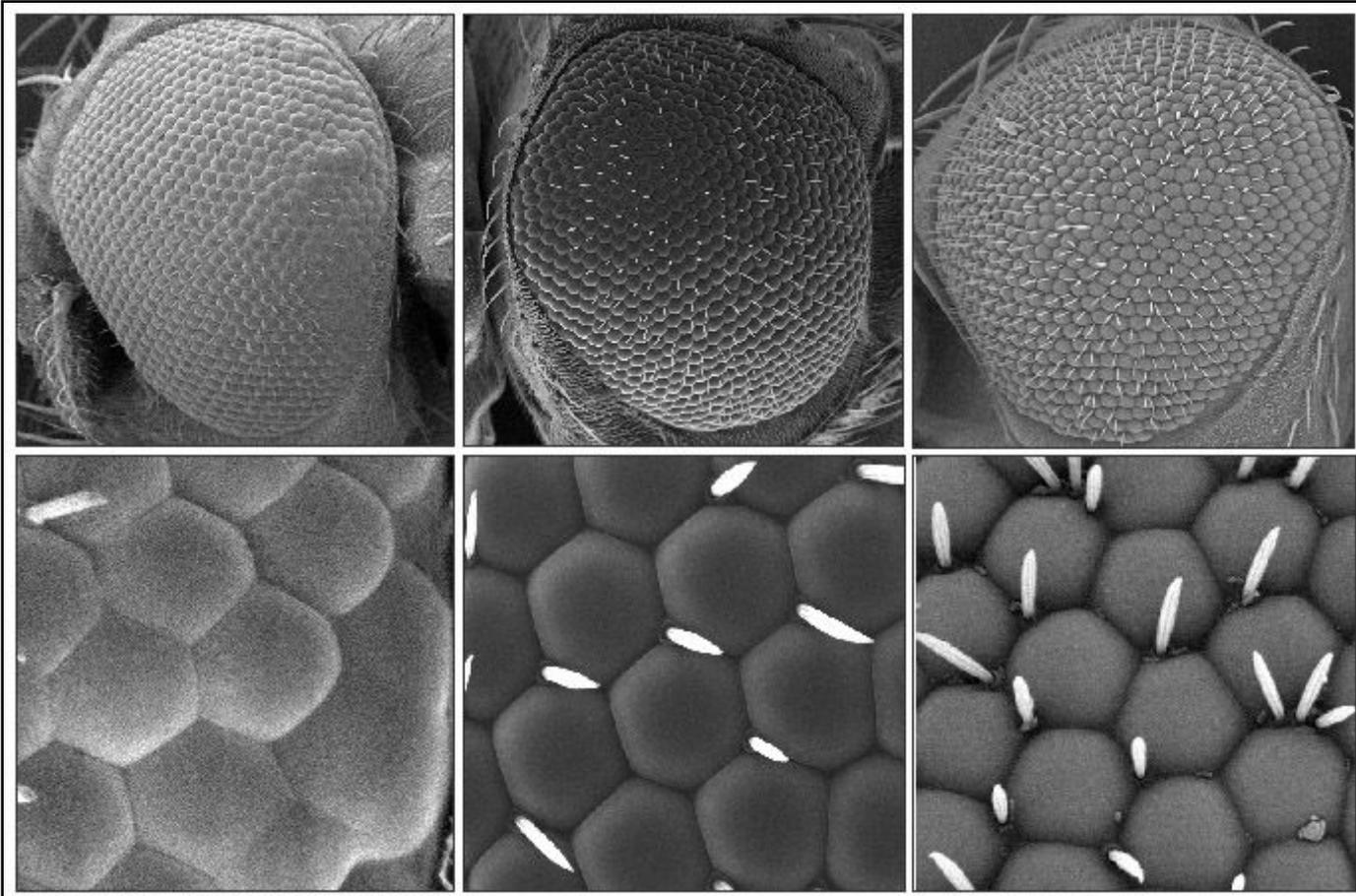


dNOS4 спасает RBF4 фенотип

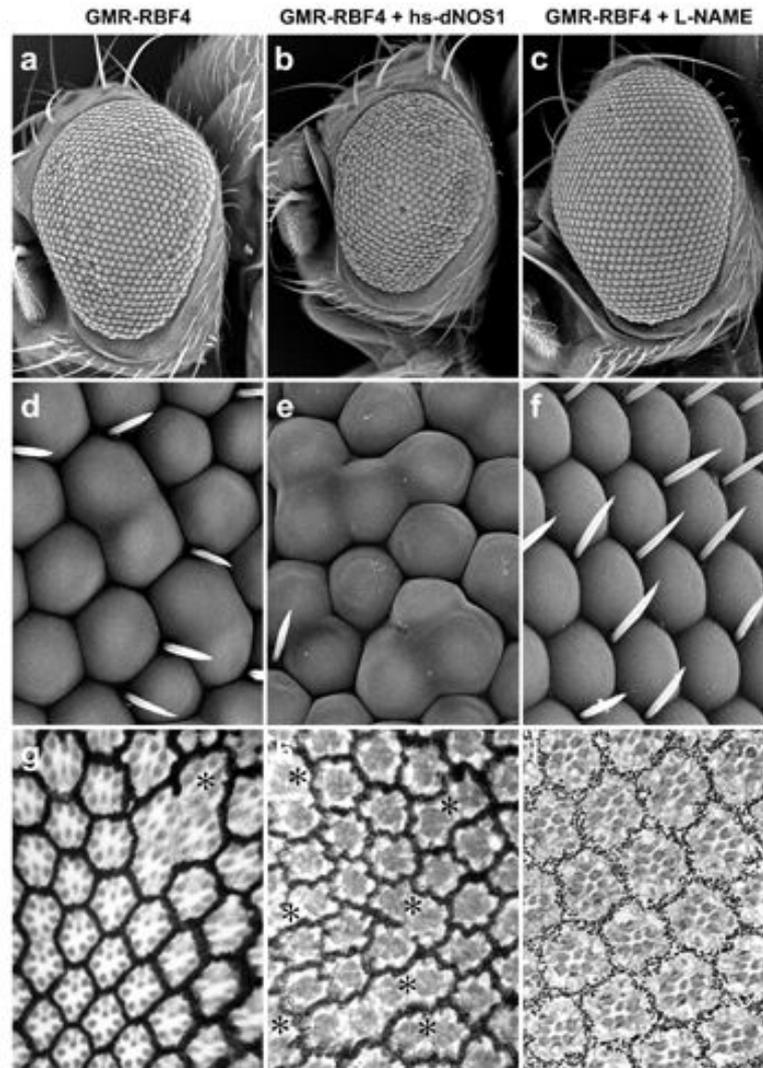
GMR-RBF4

**GMR-RBF4 +
+ GMRdNOS4**

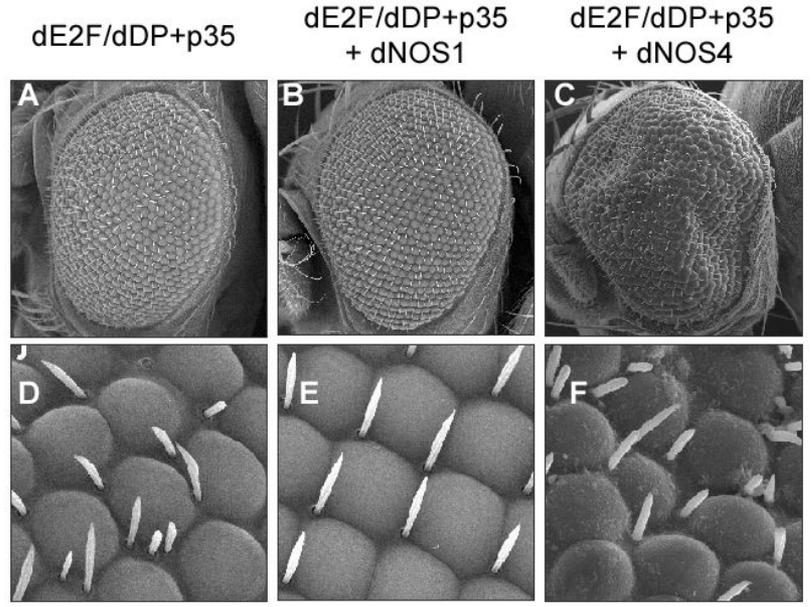
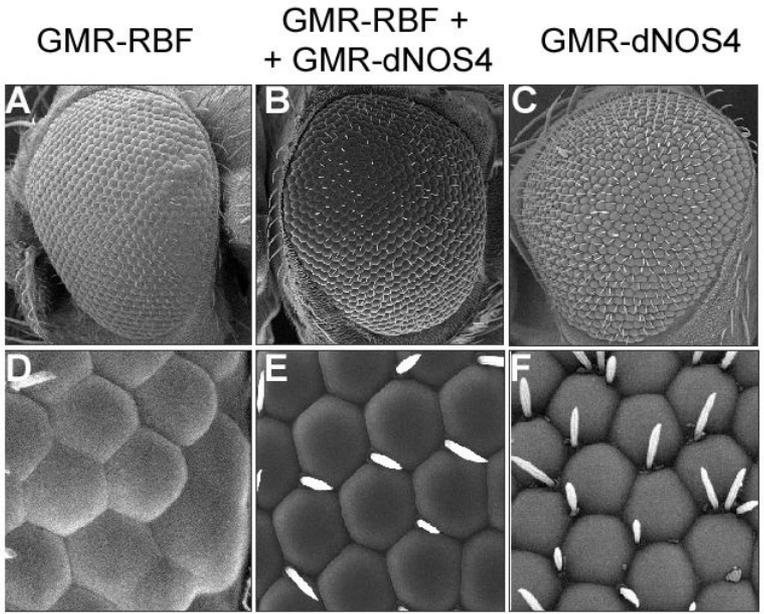
GMRdNOS4



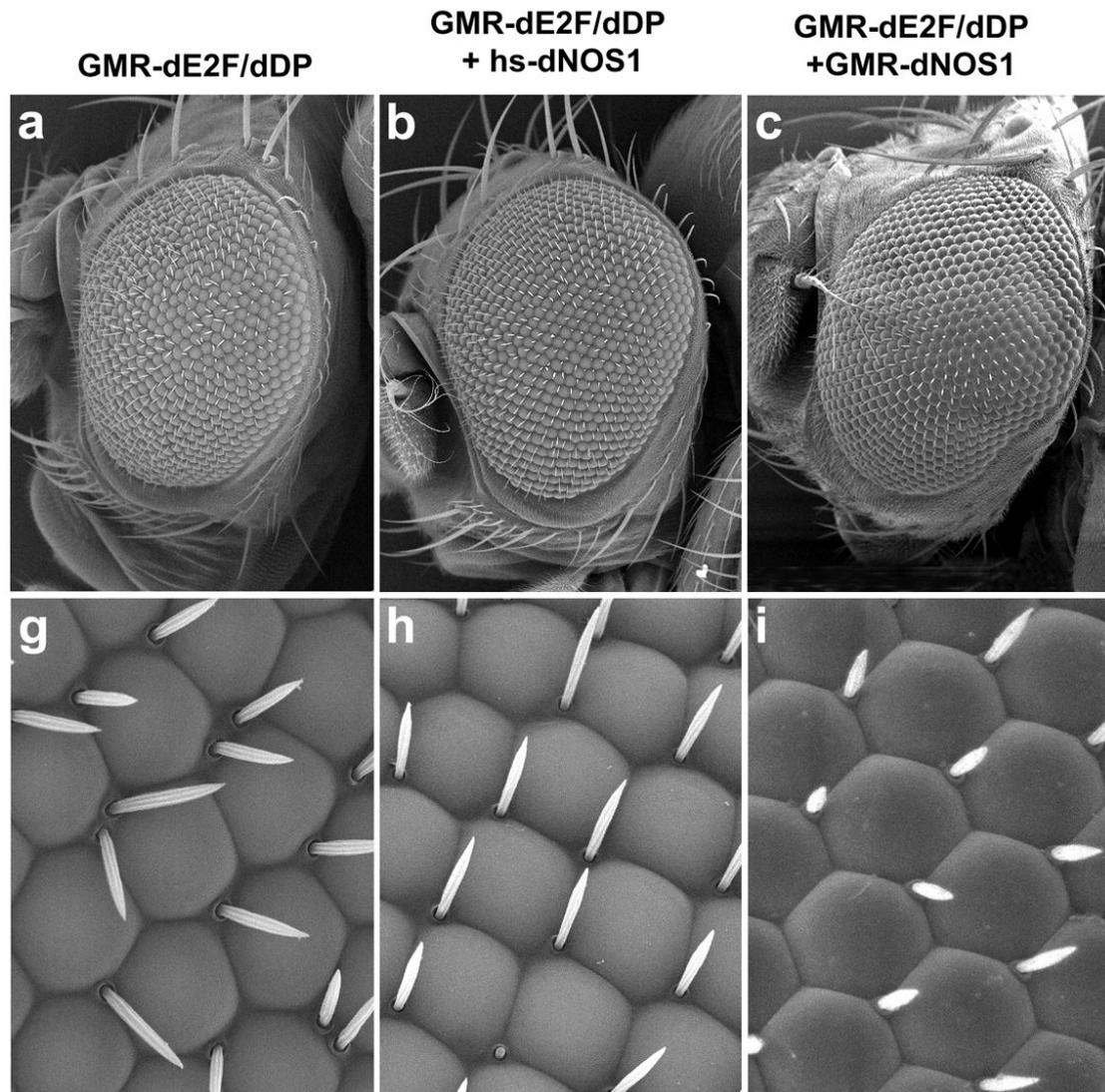
Оверэкспрессия *dNOS1* усиливает *RBF4* фенотип



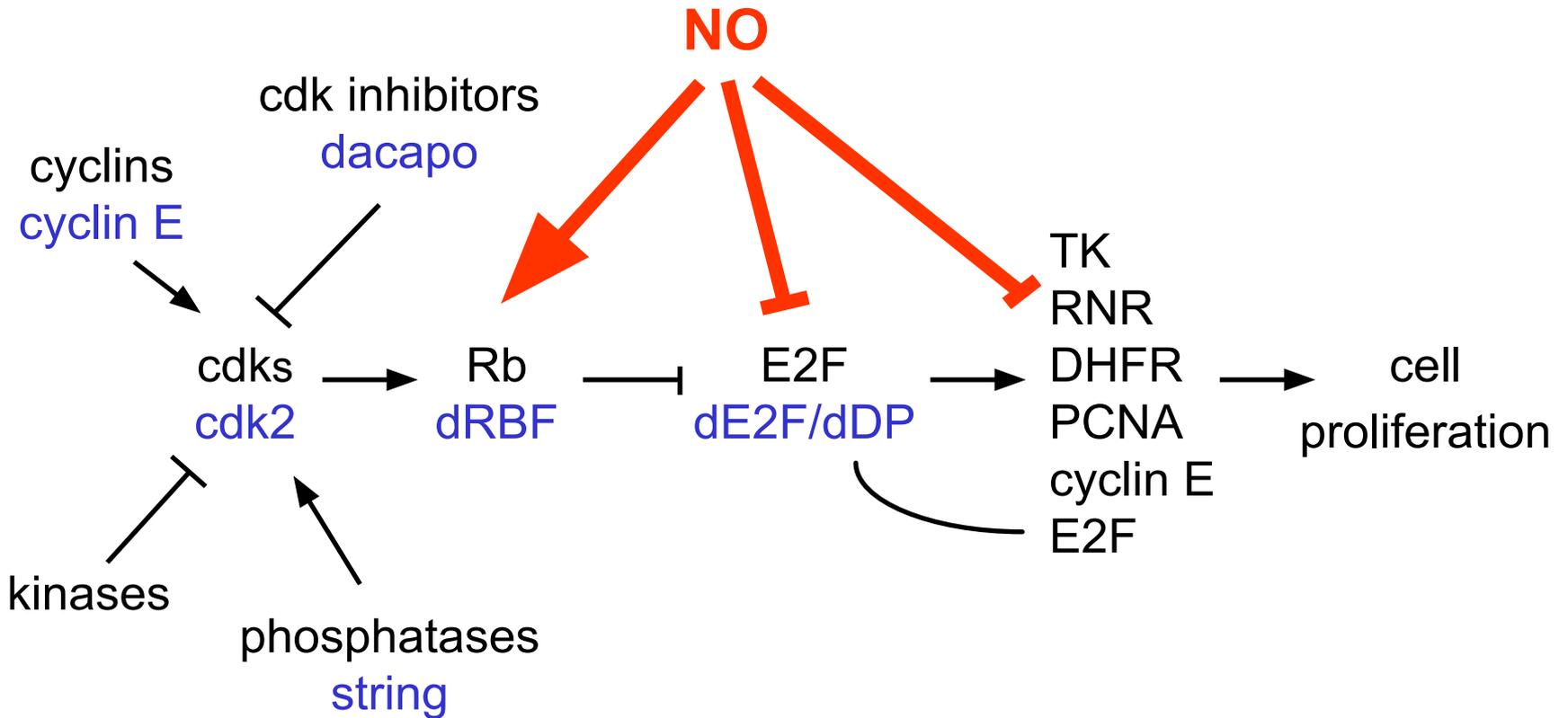
DNOS4 взаимодействует с RB-сигнальным путём; она спасает RBF- фенотип и усиливает E2F- фенотип



dNOS1 спасает *E2F* фенотип



NO interacts with the Rb pathway



Примеры фенотипических изменений мутациями генов определяющих планарную полярность клеток у дрозофилы и мыши.

МЫШИ.

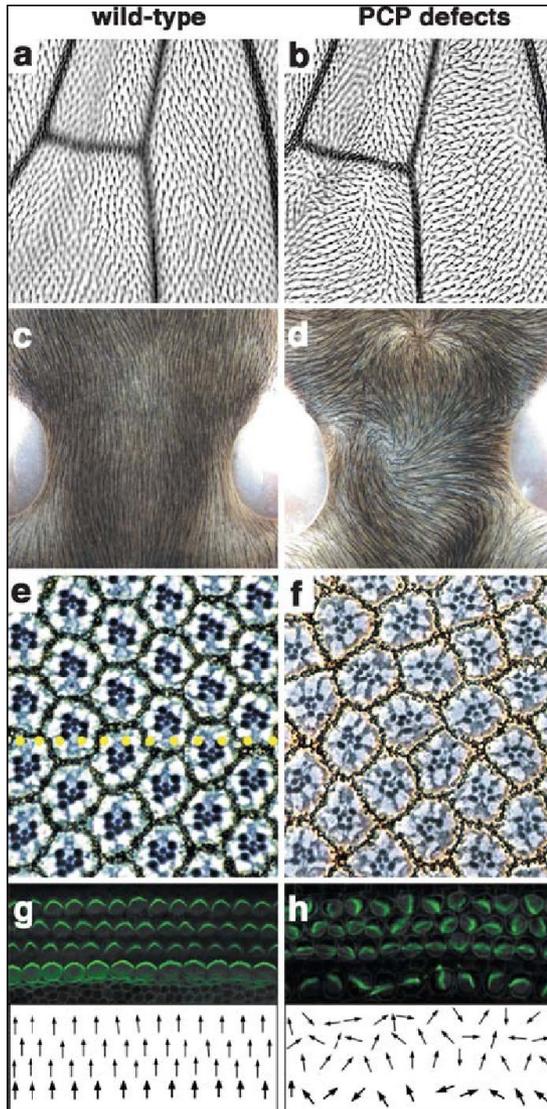
Дикий тип показан на панелях *a*, *c*, *e*, и *g* а мутантный фенотип показан в *b*, *d*, *f*, и *h* панелях

(*a,b*) *Drosophila* патерн волосков на крыльях;

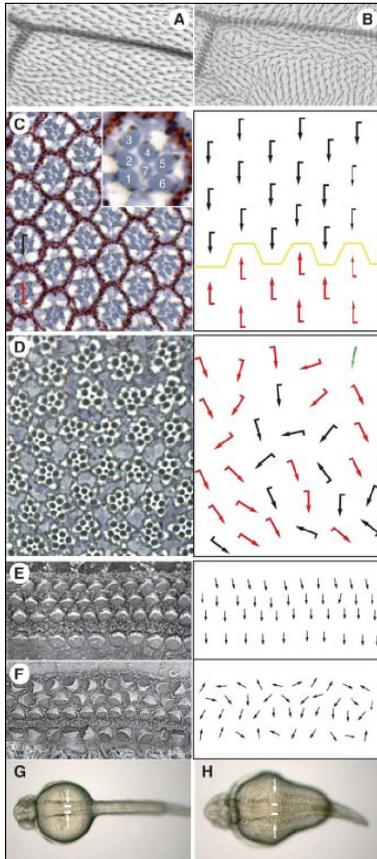
(*c,d*) рисунок волосяного покрова мыши;

(*e,f*) *Drosophila* рисунок глазного нейроэпителля ;

(*g,h*) нейроэпителлий внутреннего уха мыши.

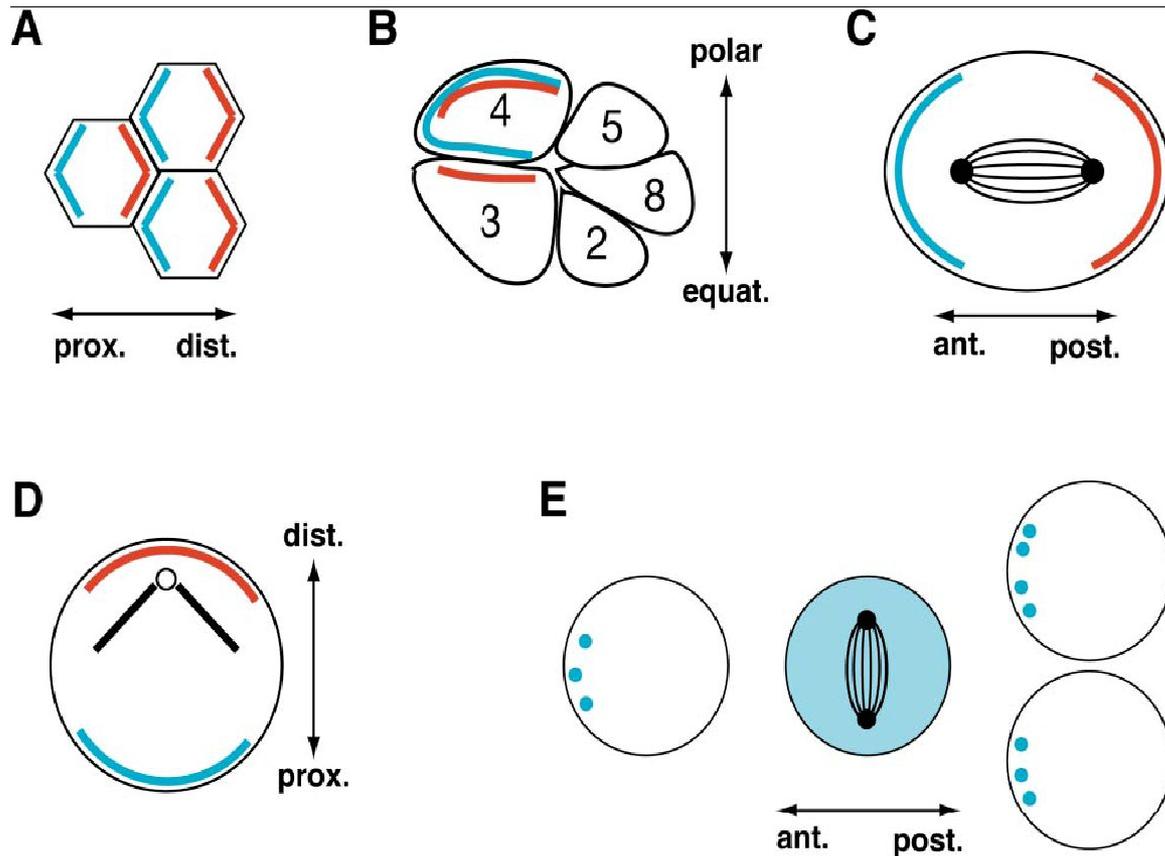


Фенотипическое проявление нарушений планарной полярности у мутантов *Stbm/Vang* – генов.



.Часть крыла *Drosophila* дикого типа (A) и мутантного (B). (C, D) Тангенциальный срез глаза *Drosophila* дикого типа (C) и мутантного (D). (E, F) Фотографии сканирующего электронного микроскопа части органа Corti внутреннего уха мыши дикого типа (E) и мутантного (*vangl2*) (F). (G, H) Дорзальная поверхность *zebrafish* дикого типа (G) и мутантного (*tri*) (H).

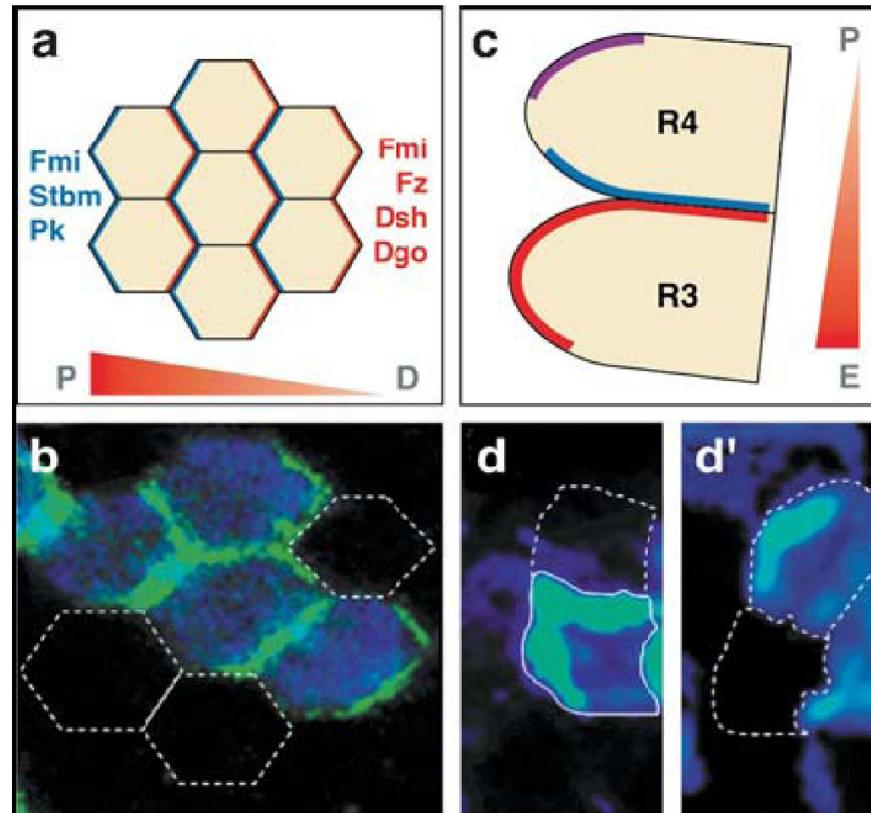
Распределение субклеточных РСР-белков определяющих ориентацию клеток в развивающихся органах.



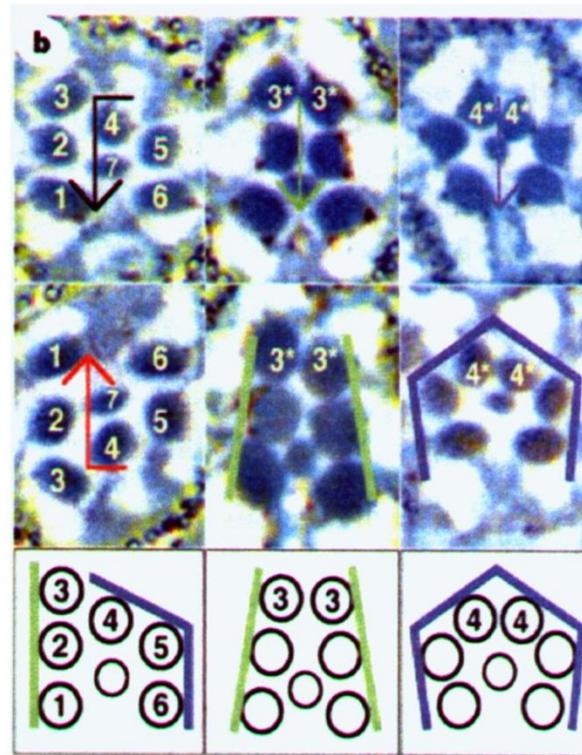
В крыловых клетках (A),
клетках глаза (B), сенсорных
клетках (C) *Drosophila*,
сенсорные клетки
Corti-органа мыши (D),
клетки нейроэктодермы
рыбы (E).

Fz/Dsh/Dgo, while *Stbm-Vang*
and *Pk*.

Локализация РСР-белков в клетках глазных и крыловых имагинальных дисков.



Нарушение полярности фоторецепторов



Ротация фоторецепторов и аккумуляция факторов поляризации клеток

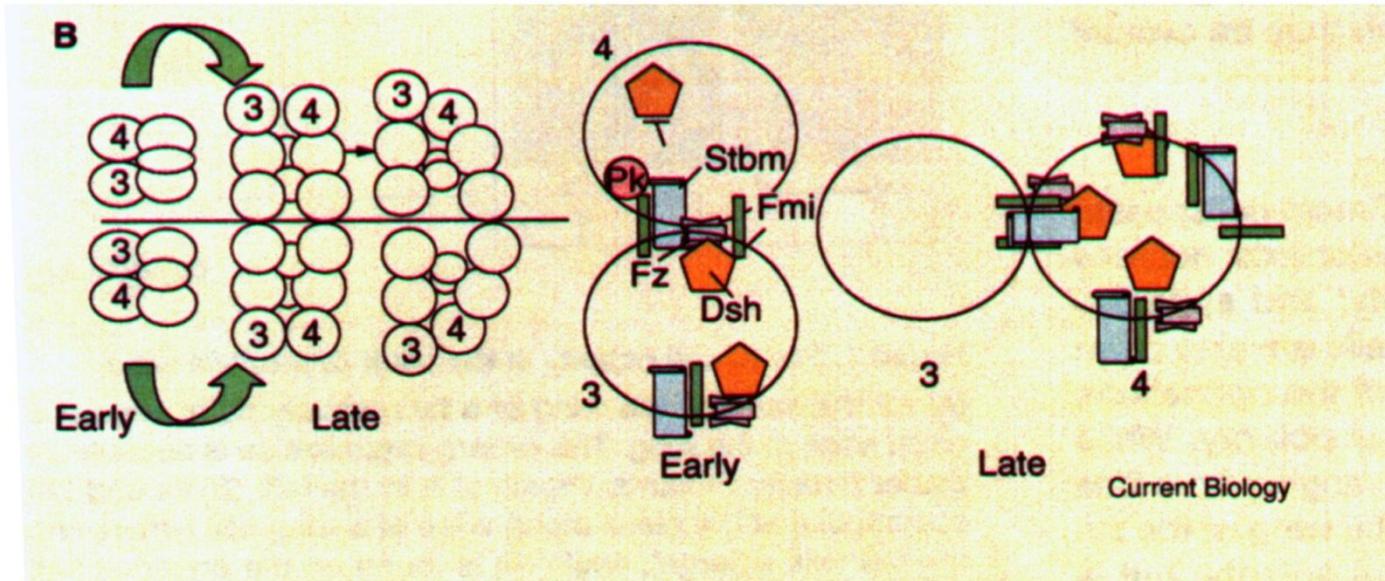
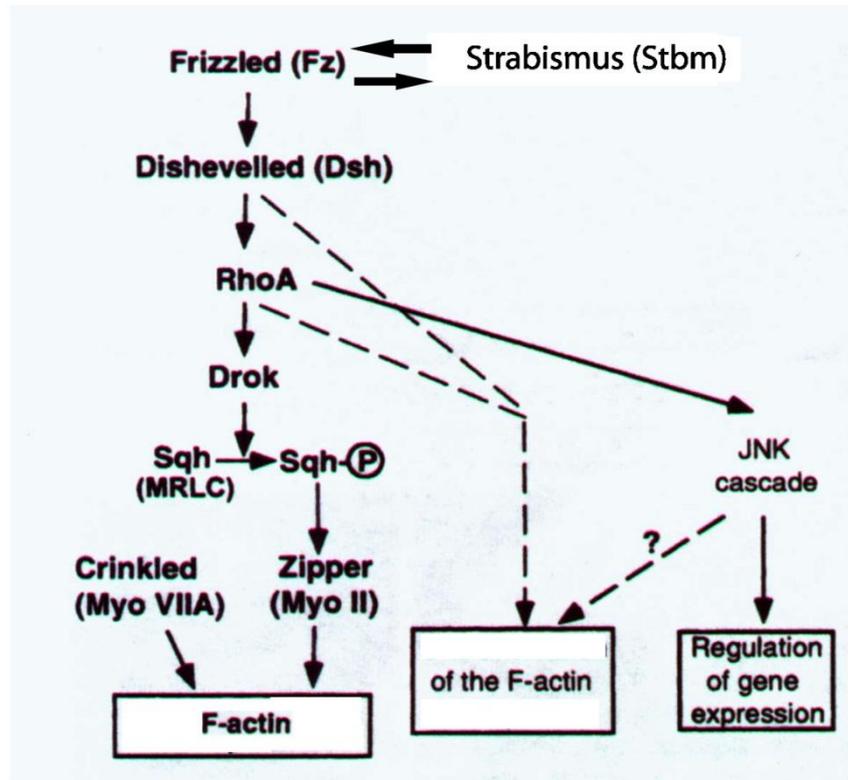
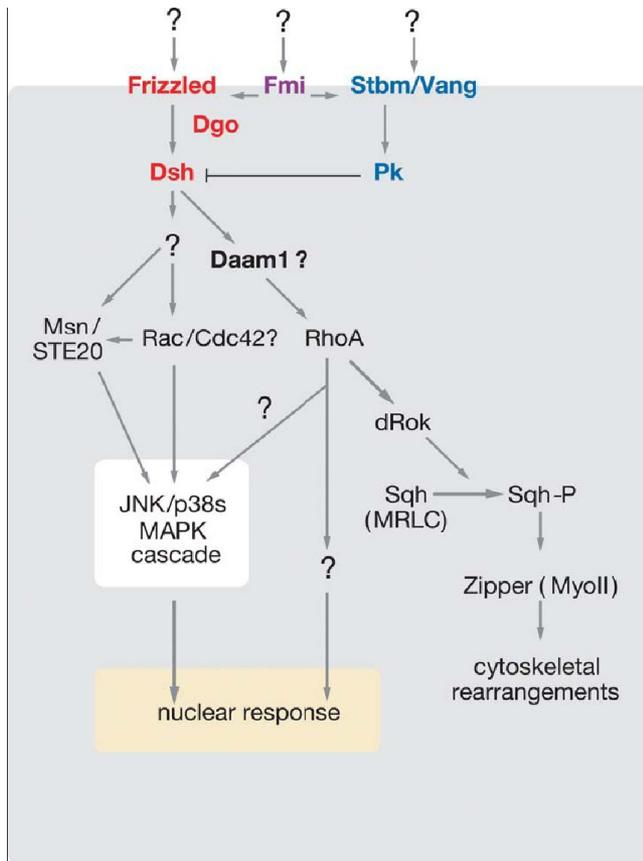


Схема путей регуляции плана полярности КЛЕТОК



Fz сигнальный путь регуляции планарной полярности клеток



Упрощенная схема Fz/PCP сигнального каскада.

Ядерные сигналы инициируют транскрипционную активность в ряде тканей. Несколько членов Rho GTPase - семейства и JNK/p38 MAPK - каскада действуют в значительной мере излишне. Полностью механизм действия ядерной сигнализации RhoA неизвестен. Однако, проксимальные сигналы кодируют Stbm/Vang-Pk – комплекс (голубой цвет), их антогонисты Fz-Dsh (красный) сигналы.

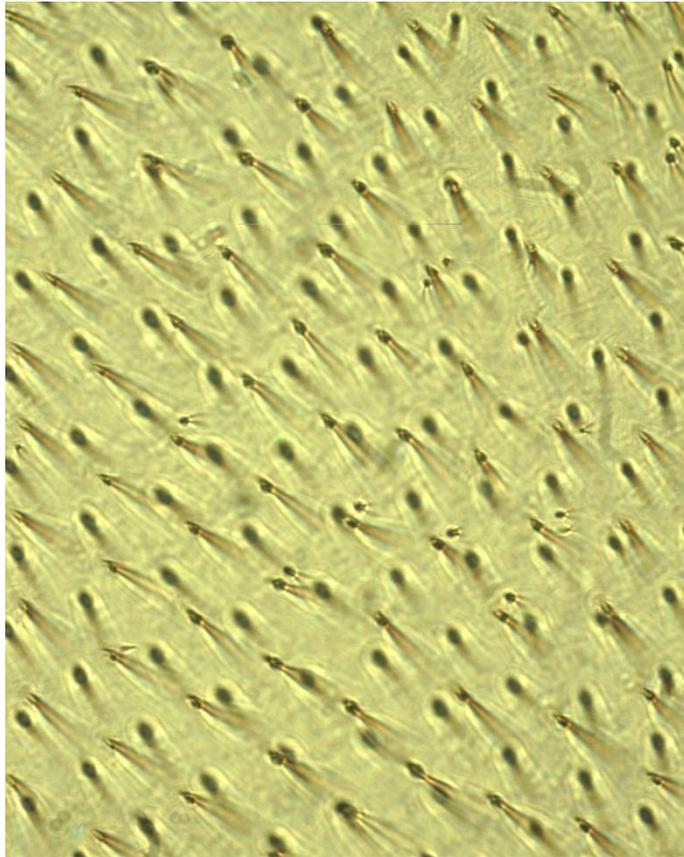
Fmi

(пурпурный цвет) стабилизирует оба комплекса.

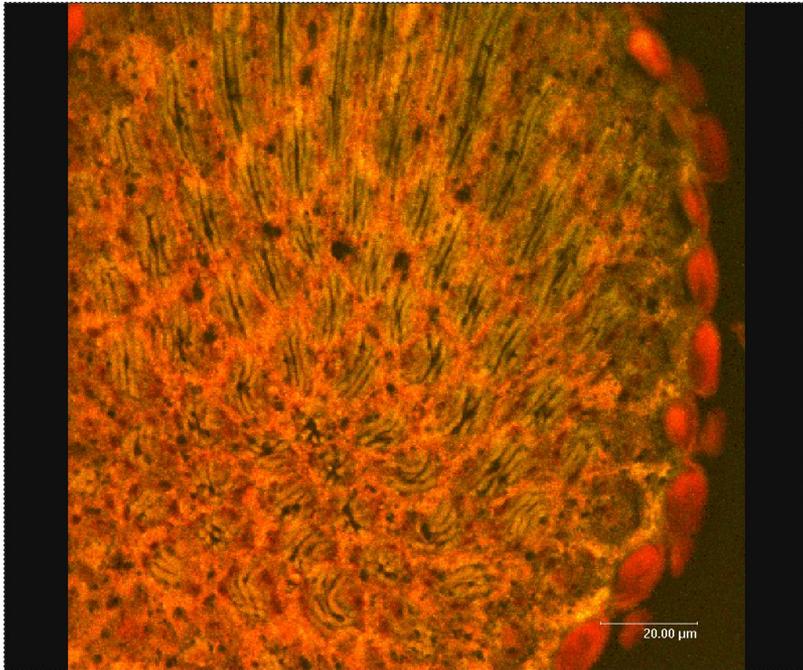
Dgo (red) позитивно влияет на

Fz-Dsh сигналы.

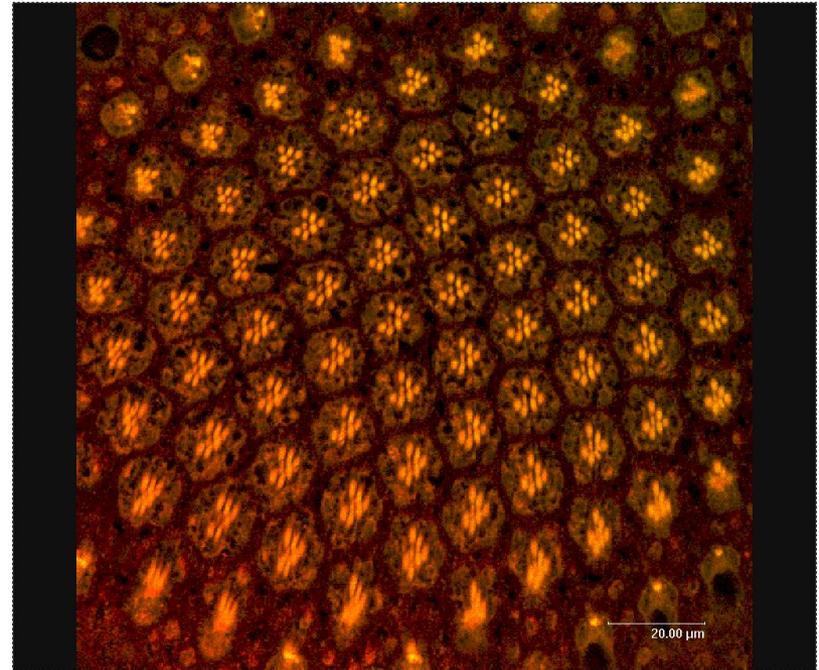
Эктопическая экспрессия NOS4 в крыловых структурах вызывает нарушение плана полярности клеток



Гистологические срезы ретины *Drosophila* дикого типа (WT) и GMR NOS4

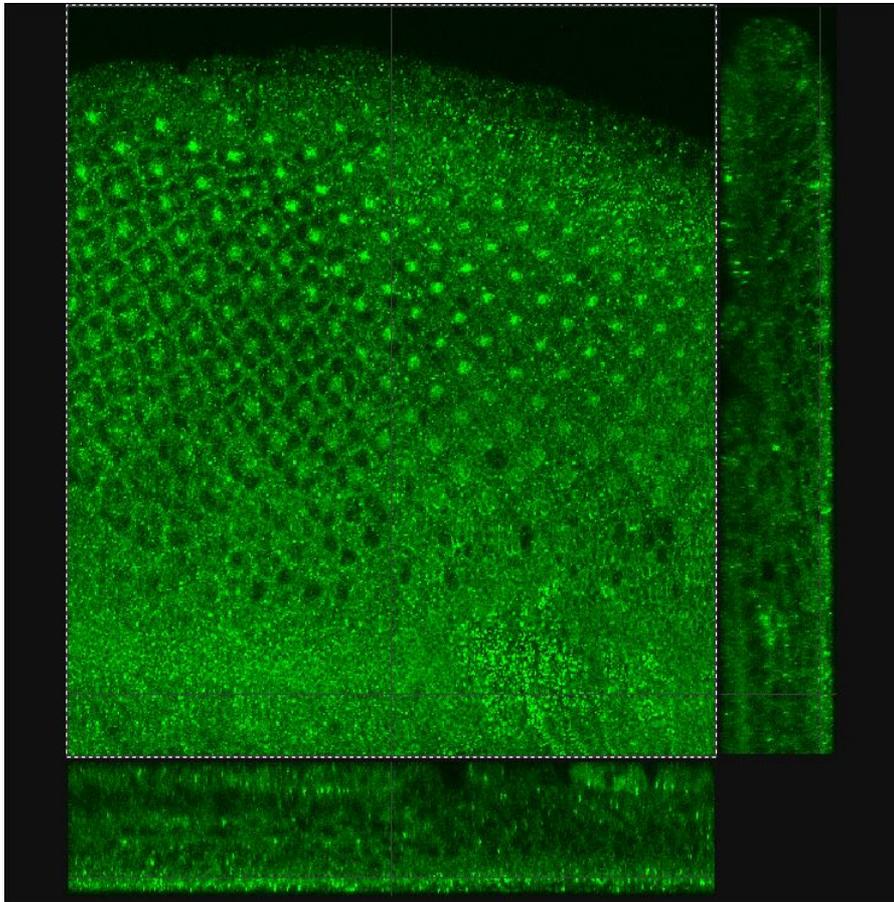


- GMR NOS4

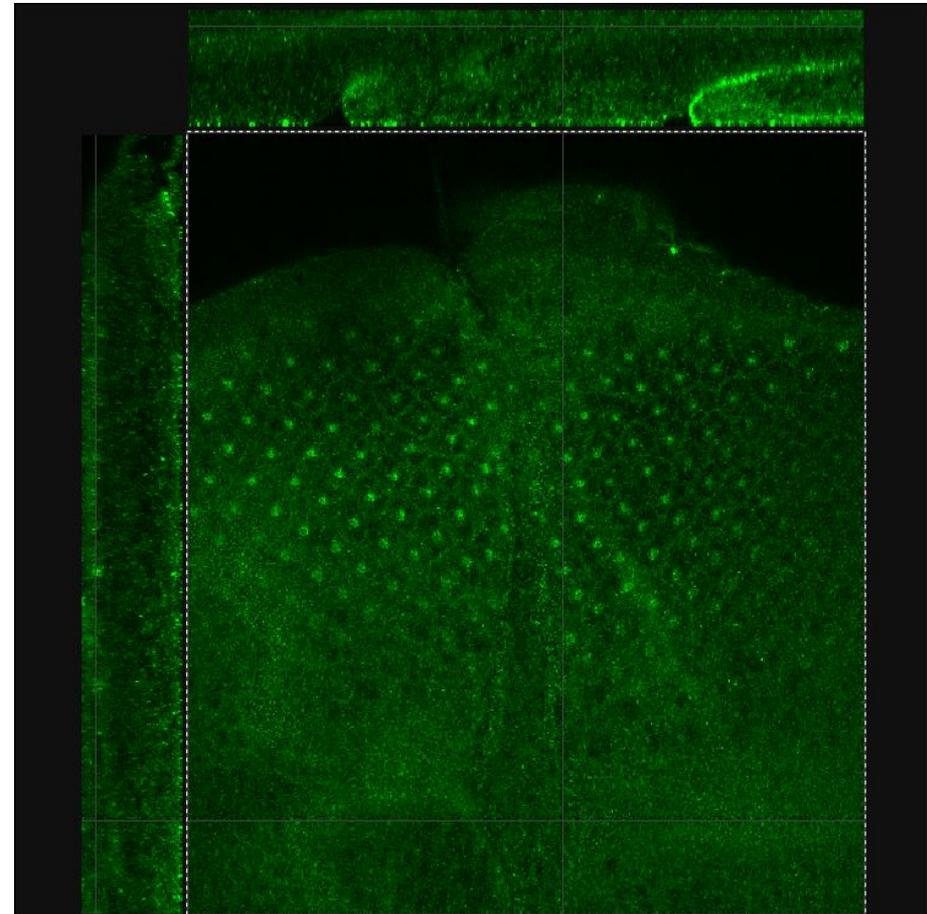


- WT

Окрашивание глазных имагинальных дисков дрозодилы Stbm-антителами

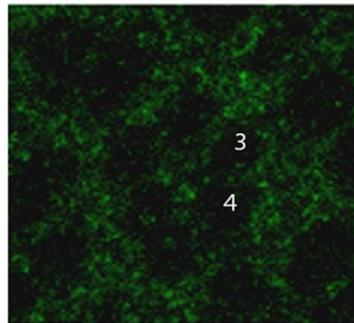


WT abStbm

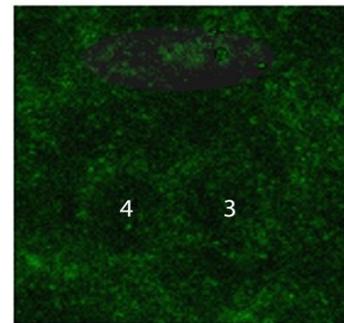


GMR NOS4 abStbm

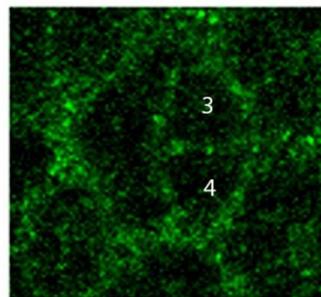
Иммунное окрашивание глазного имагинального диска abFz и abStbm



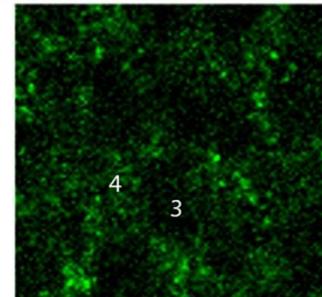
Ab Fz NOS4



Ab Fz wt

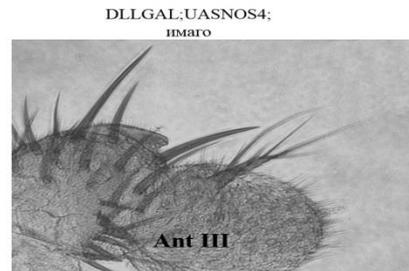
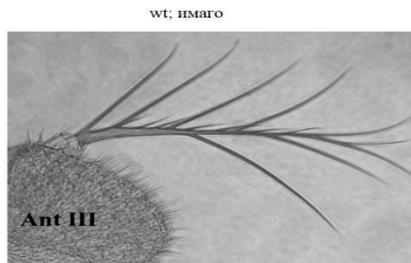
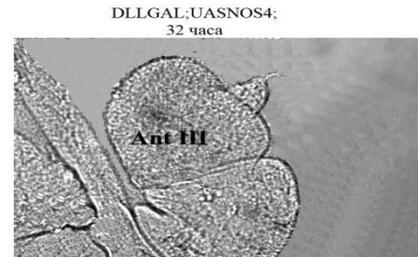
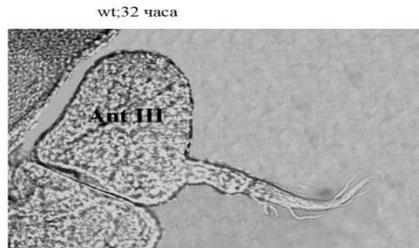
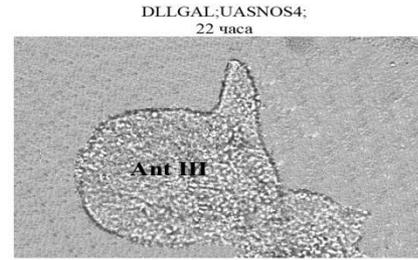
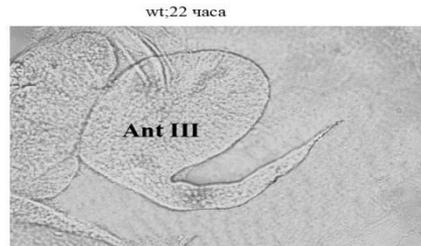


Ab Stbm NOS4

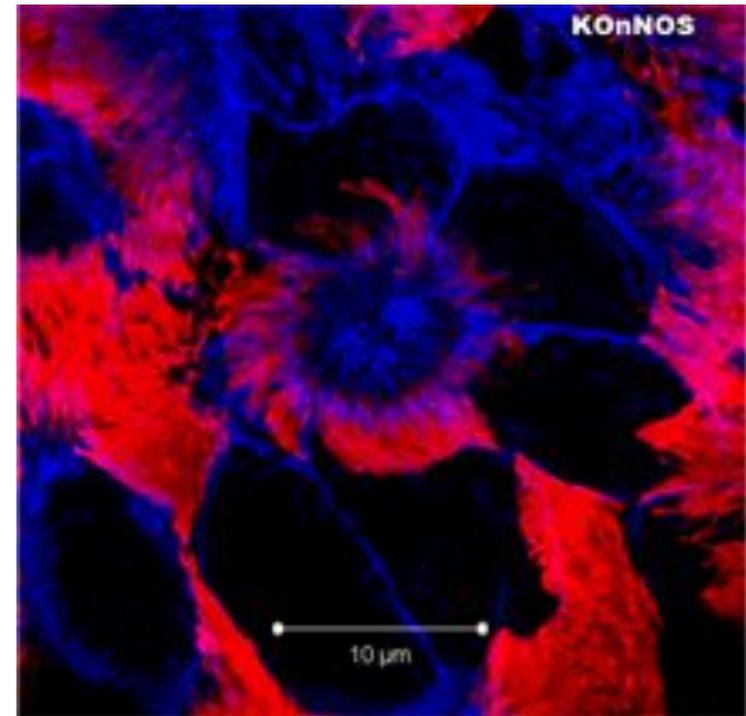
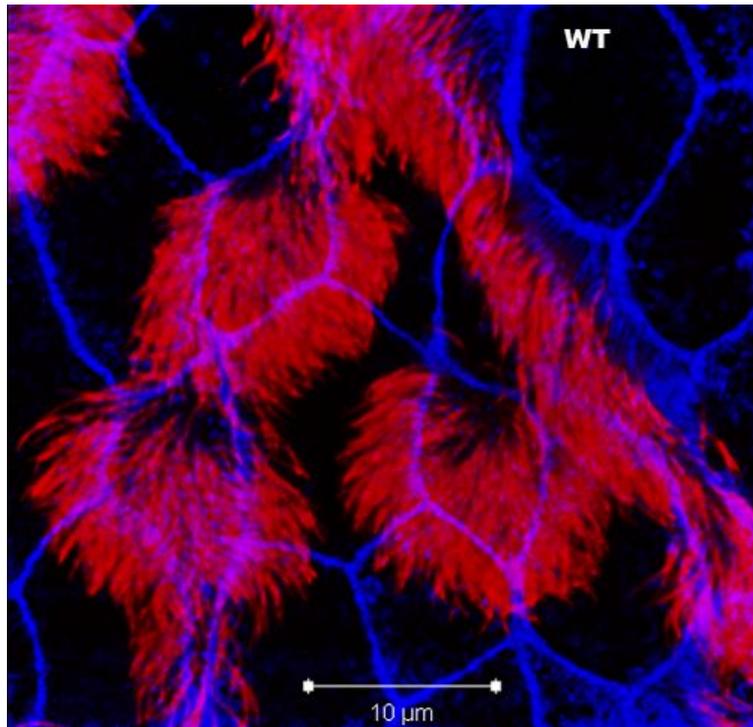


Ab Stbm wt

Структуры аристы на разных стадиях куколки (22ч., 32 ч., 44ч.) и имаго *WT* и *DLL GAL4; UAS NOS4*.



Изменение полярной организации клеток поверхностного эпителия трахеи мыши в результате нокаута nNOS-гена

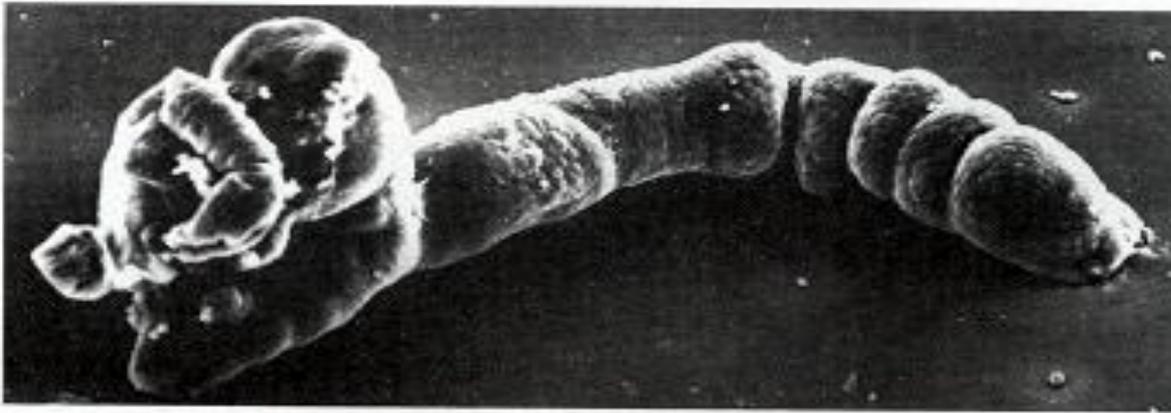


Лизис периподиальной мембраны, элонгация ножных структур.

(A)

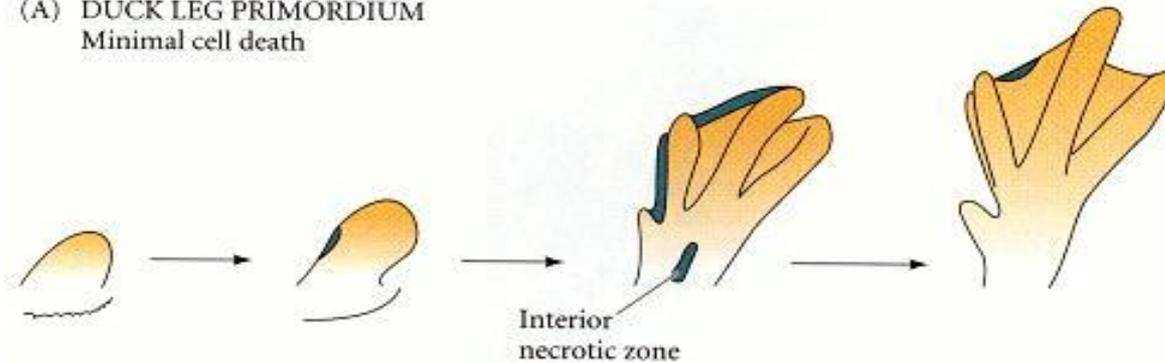


(B)

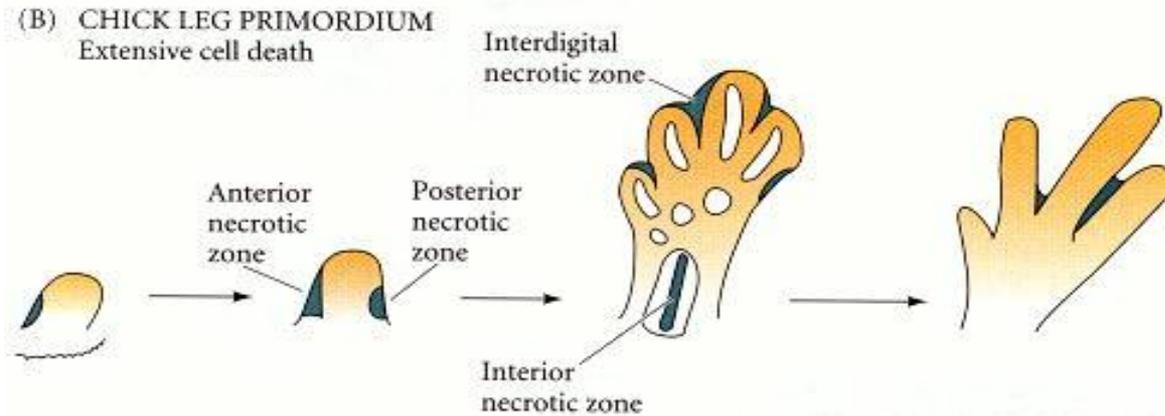


Паттерны клеточной смерти в ножных зачатках (А) утки и (В) курицы.

(A) DUCK LEG PRIMORDIUM
Minimal cell death



(B) CHICK LEG PRIMORDIUM
Extensive cell death



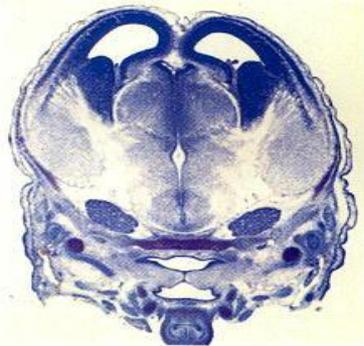
Блокирование апоптоза нарушает развитие МОЗГА МЫШИ.



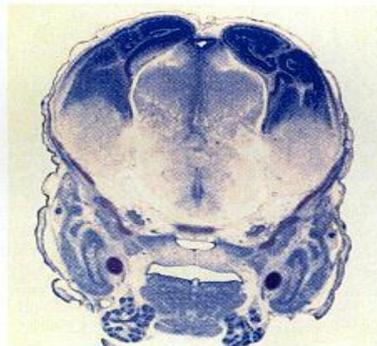
(A) +/+



(B) -/-



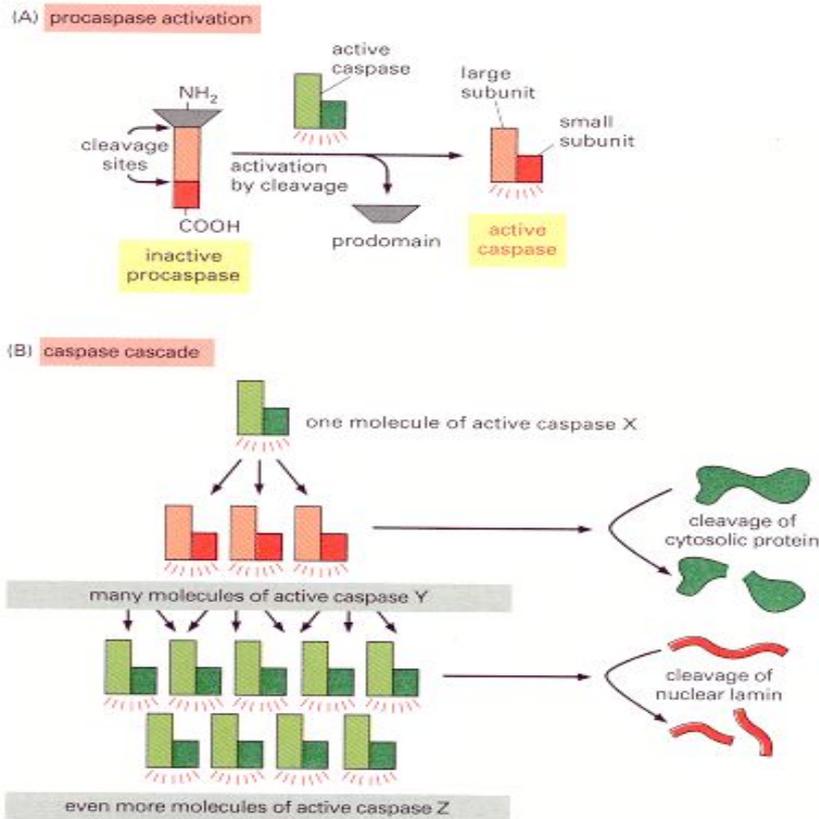
(C) +/+



(D) -/-

- Нарушение нормального развития мозга в результате блокирования апоптоза. У мышей нокаутных по *caspase-9* или *Araf-1* отсутствует нормальный нейрональный апоптоз. При дефиците по *caspase-9* у мышей наблюдается повышенная пролиферация нейронов мозга на морфологическом уровне. (A) 16-дневный эмбрион мыши дикого типа. (B) *Caspase-9*-нокаутная мышь сходного возраста. Эффект нарушения развития мозга виден и при сравнении срезов мозга 13.5-дневной нормальной мыши (C) и нокаутной по *caspase-9* (D).

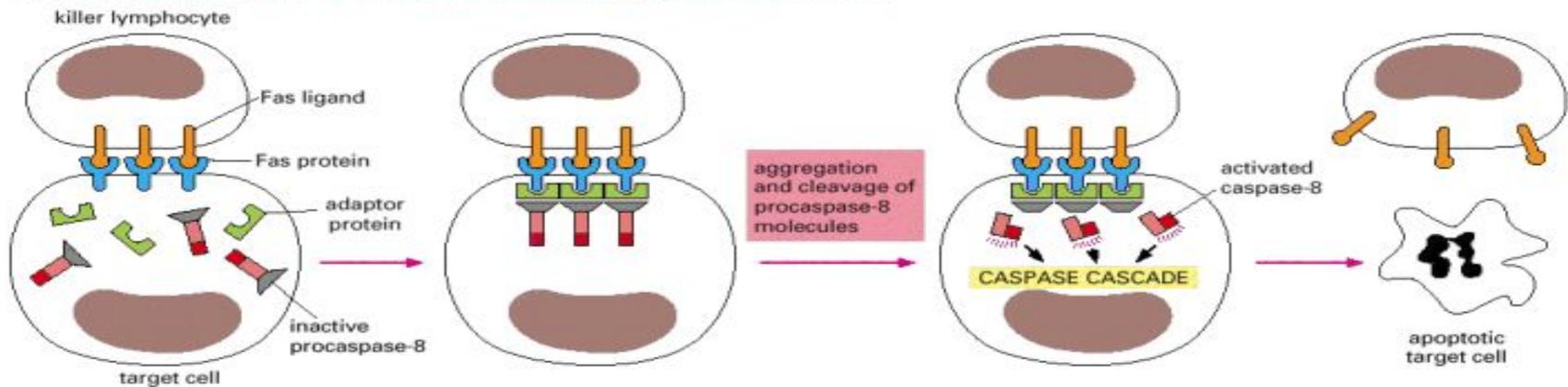
Апоптоз инициируется каскадом каспаз.



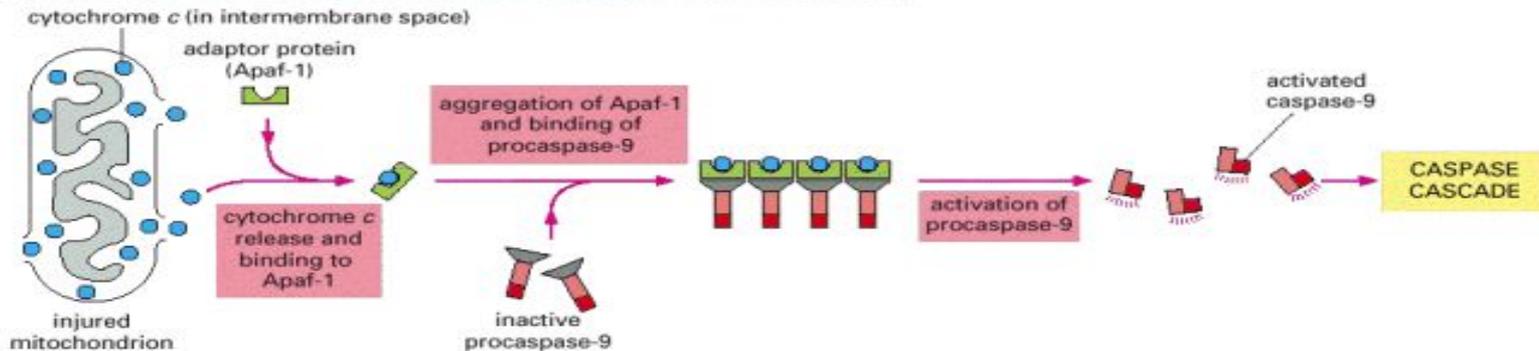
- (A) Каждая самоуничтожающаяся протеаза состоит из неактивного протоэнзима (прокаспазы) – активируемая протеолитическим разрезанием другим членом семейства каспаз. Два вырезанных фрагмента связываются, образуя проактивную форму каспазы. Активная форма образуется из соединения двух таких субъединиц. (B) Каждая активированная каспаза может разрезать множество молекул прокаспаз и активировать их. Некоторые из активированных каспаз (эффекторные каспазы) затем разрезают ряд ключевых клеточных белков (белки цитозоля, ядерных ламин), запуская процесс контролируемой клеточной смерти.

АПОПТОЗ ВЫЗЫВАЕТСЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫМИ И ВНУТРИКЛЕТОЧНЫМИ СТИМУЛАМИ .

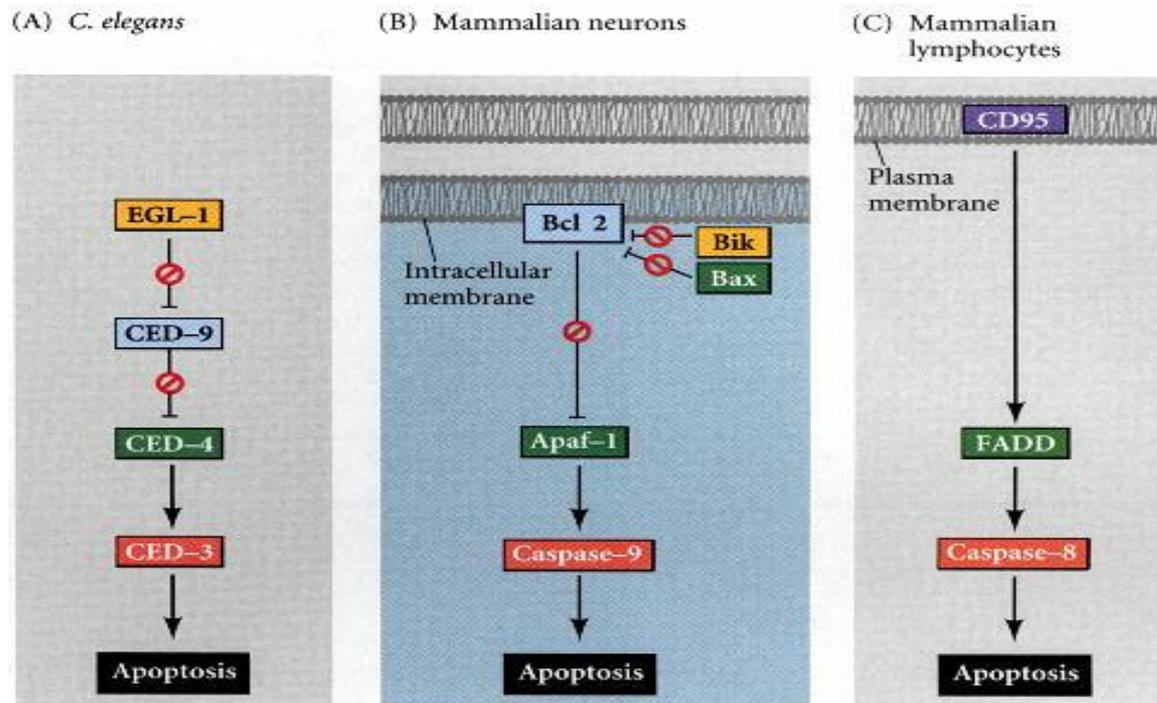
(A) ACTIVATION OF APOPTOSIS FROM OUTSIDE THE CELL (EXTRINSIC PATHWAY)



(B) ACTIVATION OF APOPTOSIS FROM INSIDE THE CELL (INTRINSIC PATHWAY)



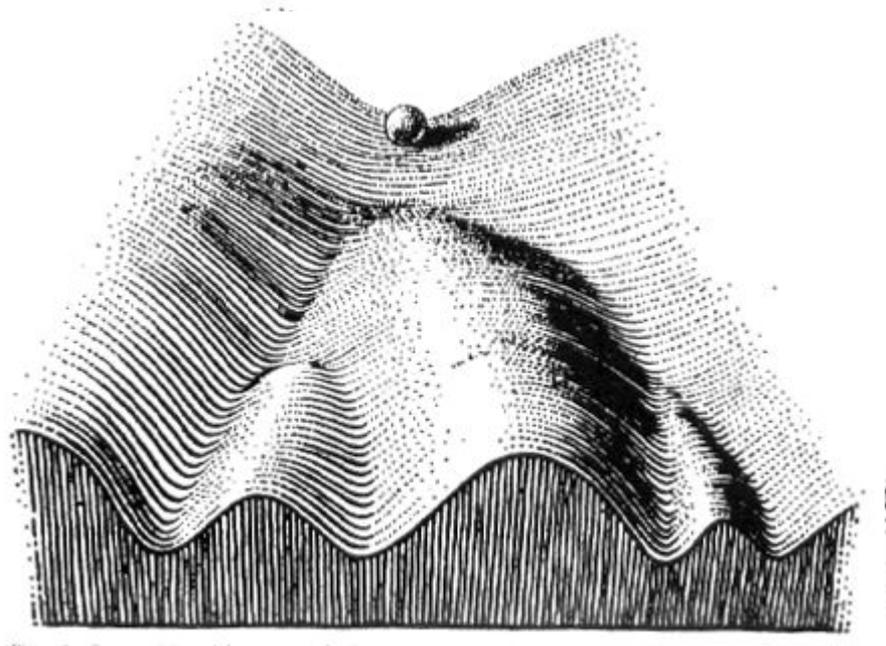
Сигнальные пути апоптоза у нематоды и млекопитающих.



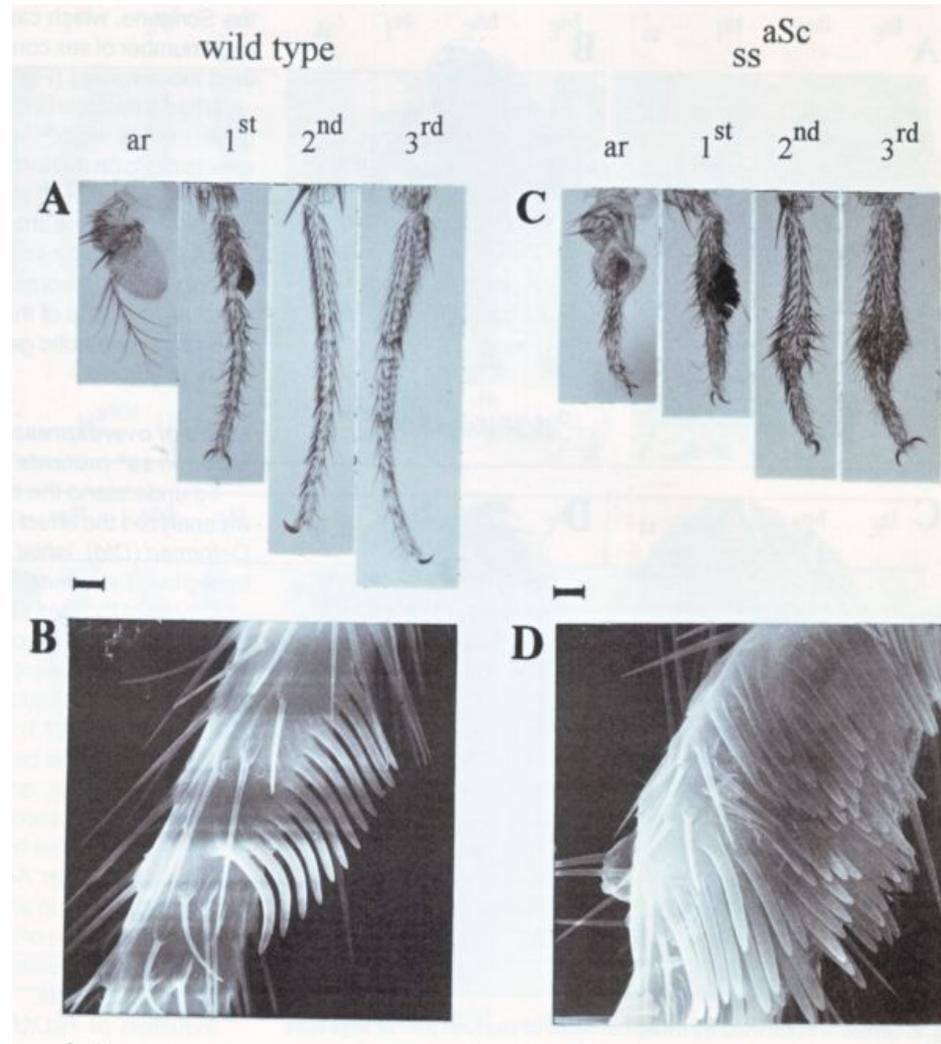
- (A) У *C. elegans*, CED-4 протеаза активирует протеазу CED-3 которая инициирует разрушение клетки. CED-9 может ингибировать CED-4, а CED-9 способен ингибировать EGL-1. (B) В нейронах млекопитающих функционирует похожий сигнальный путь: Bcl-2 связывает Араф-1и предотвращает активирование им caspase-9. Сигнал для апоптоза позволяет белку Вик ингибировать связывание Араф-1 с Bcl-2. В результате Араф-1 может связываться с предшественником caspase-9 и разрезать его. Caspase-9 димеризуется и активирует caspase-3, которая инициирует апоптоз. (C) Имеются другие пути, например, инициируемый белком CD95 в клеточной мембране лимфоцитов.

Взаимодействие генов в ответ на
воздействие внешней среды является
важнейшим фактором индивидуального и
исторического развития

Иллюстрация к «теории канализации развития», на примере шара скатывающегося по поверхности горного рельефа



Гомеозисная трансформация структур аристы и тарзуса у *ss*-мутантов *Drosophila*



Мутации *spineless-aristapedia*

нарушают:

морфогенез конечностей;

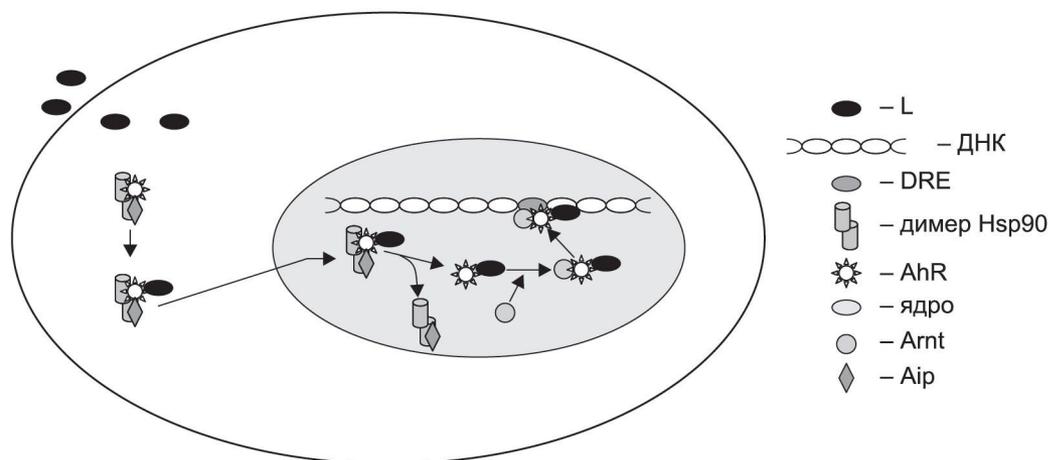
нейрогенез;

дендритное ветвление;

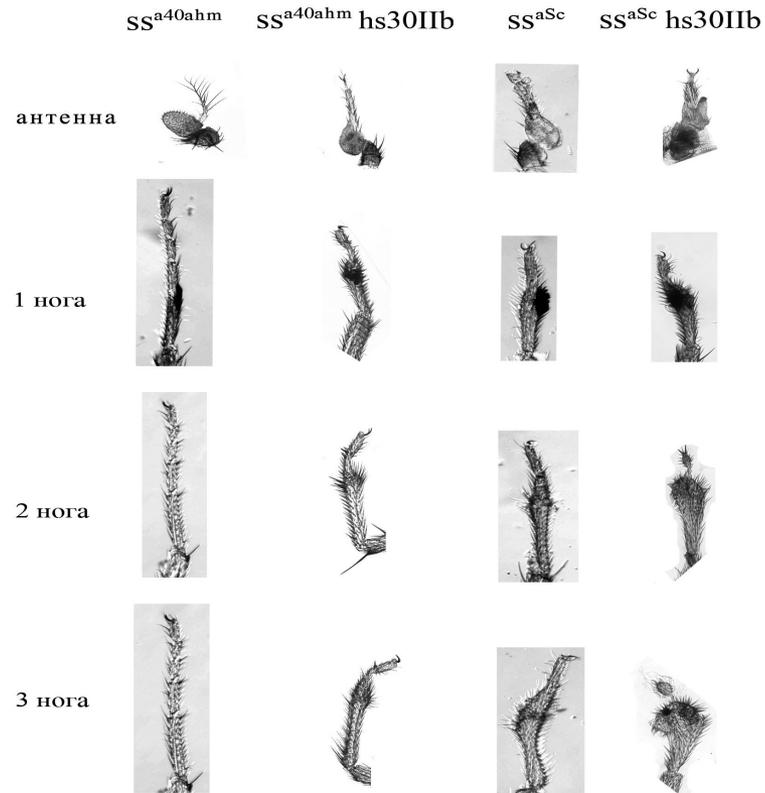
МИТОЗ

и характеризуются температурной
чувствительностью

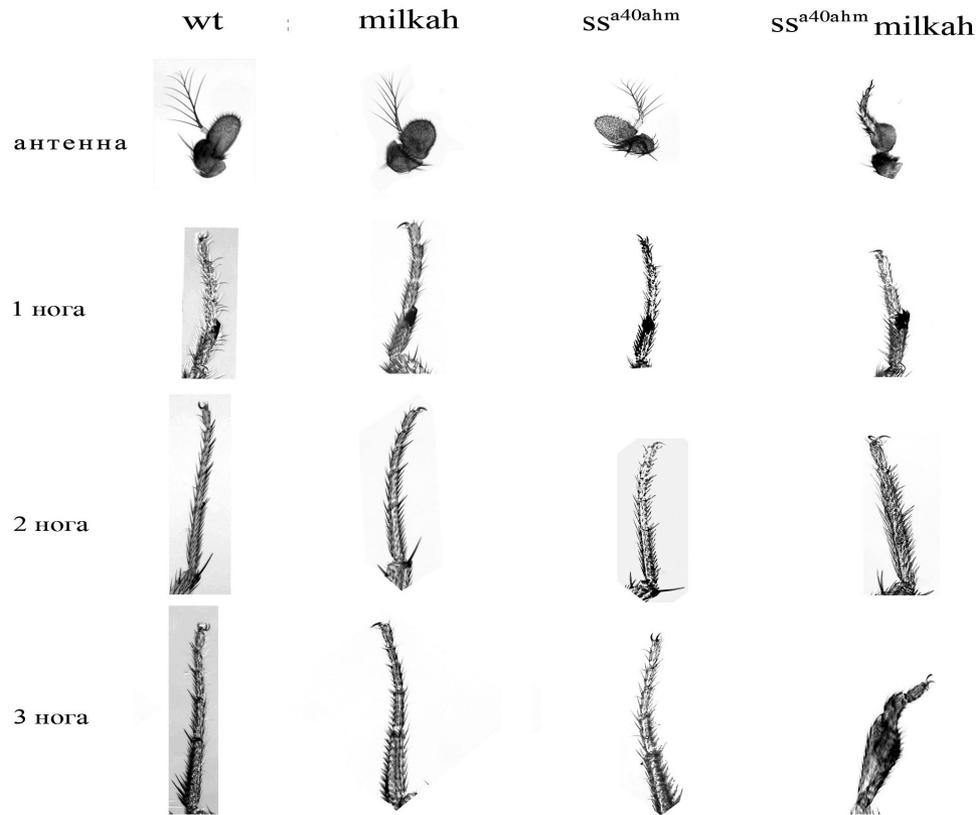
Схема активации АНР



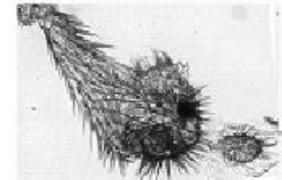
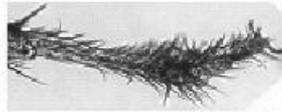
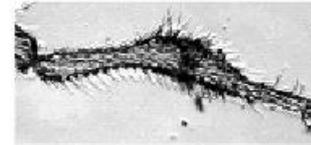
Мутантный *ss*-фенотип усиливается при понижении уровня экспрессии *hsp70*-гена



**• Усиление мутантного *ss*-фенотипа,
вызванного мутацией гена *CG5017***



**Разнообразие форм конечностей у дрозофилы,
вызванное модуляцией экспрессии гена *spineless* и
взаимодействующих с ним шаперонов**



Разнообразие форм конечностей внутри класса насекомых



Позвоночные

Беспозвоночные



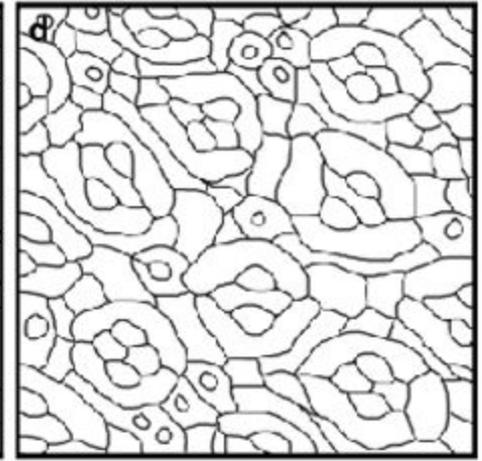
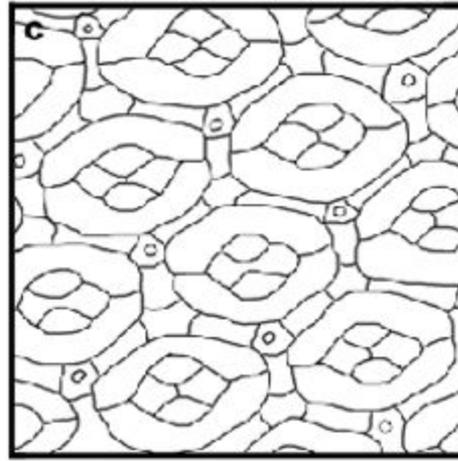
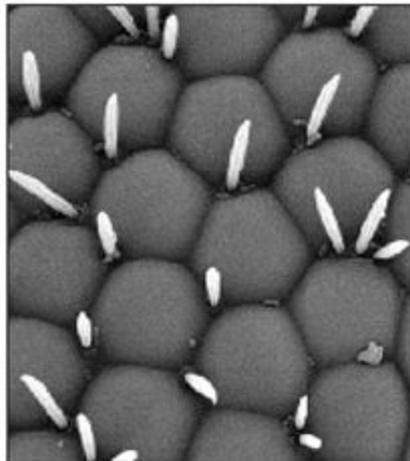
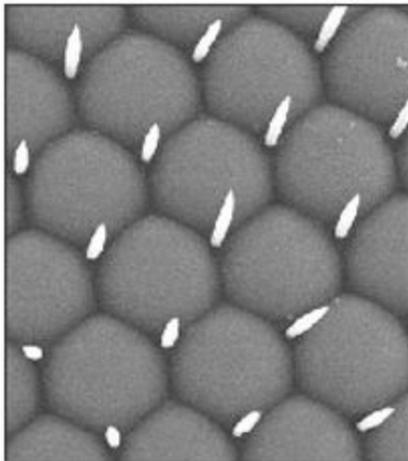
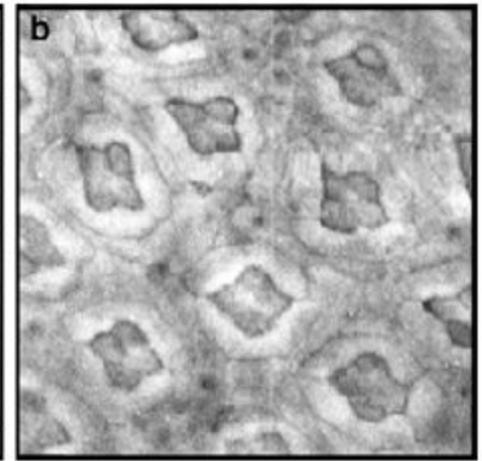
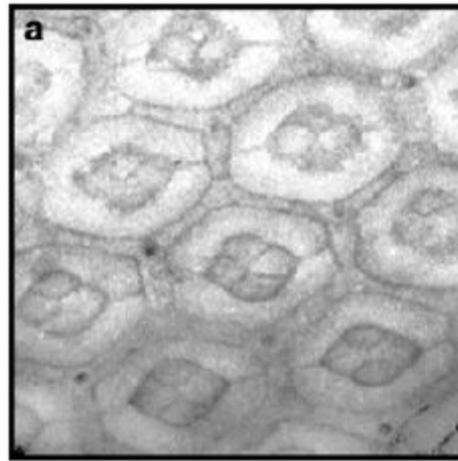
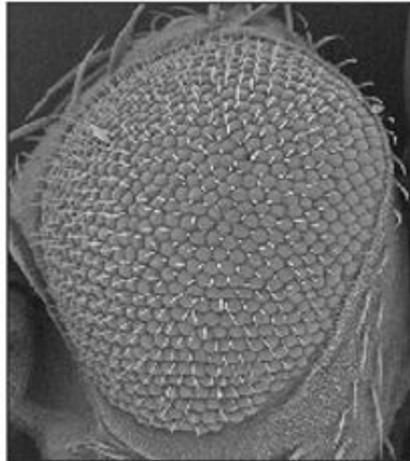
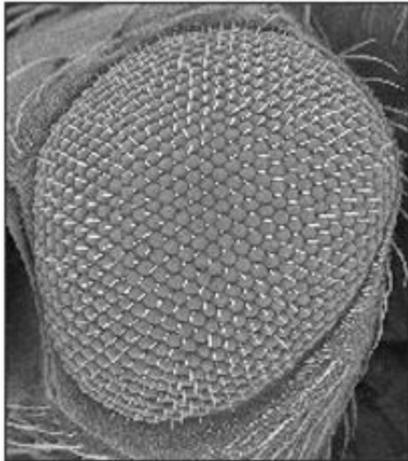
dNOS4 overexpression increases the cell number in the eye

WT

GMRdNOS4

WT

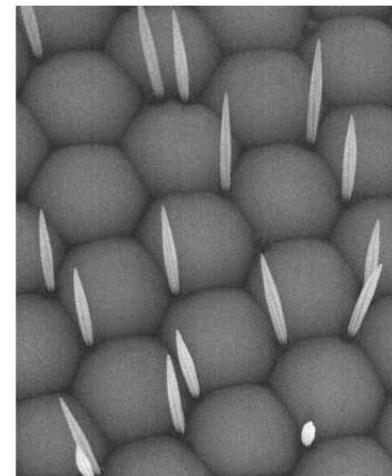
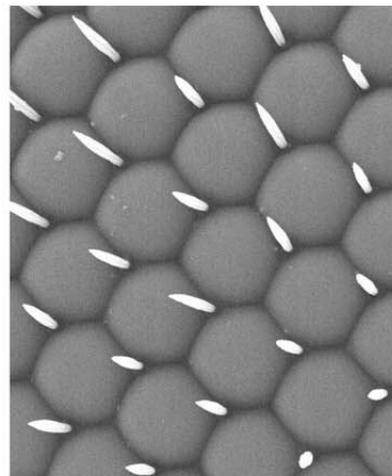
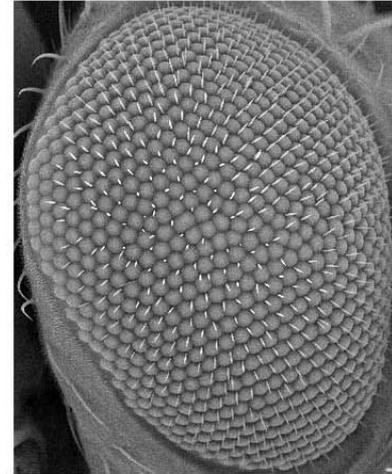
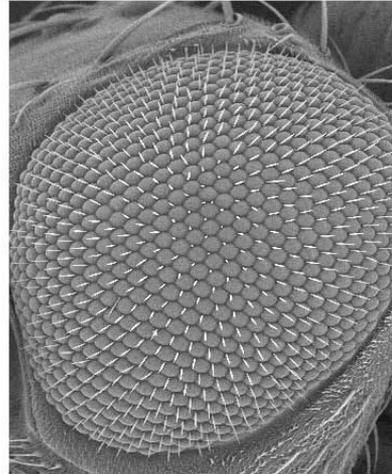
GMRdNOS4



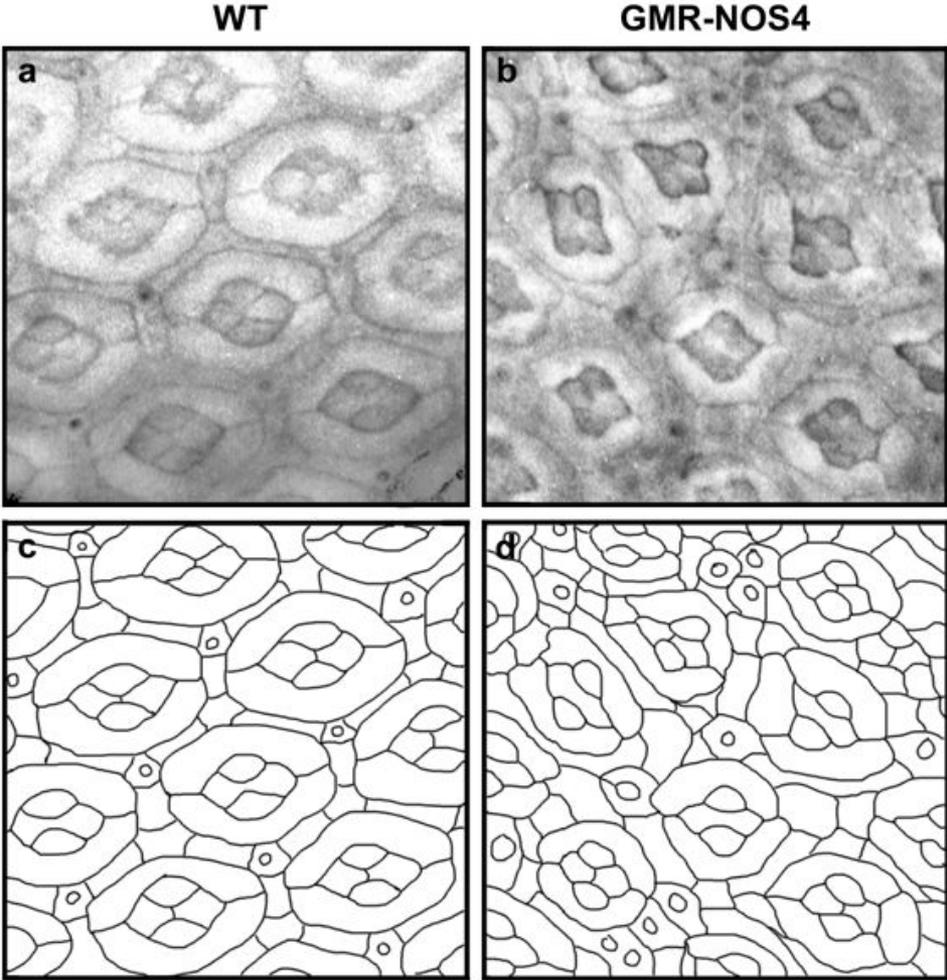
One copy of GMR-dNOS4 transgene combined with dNOS1 deficient allele causes an overproliferative eye phenotype

GMR-dNOS4
heterozygous
females

GMR-dNOS4 + 69F
heterozygous females



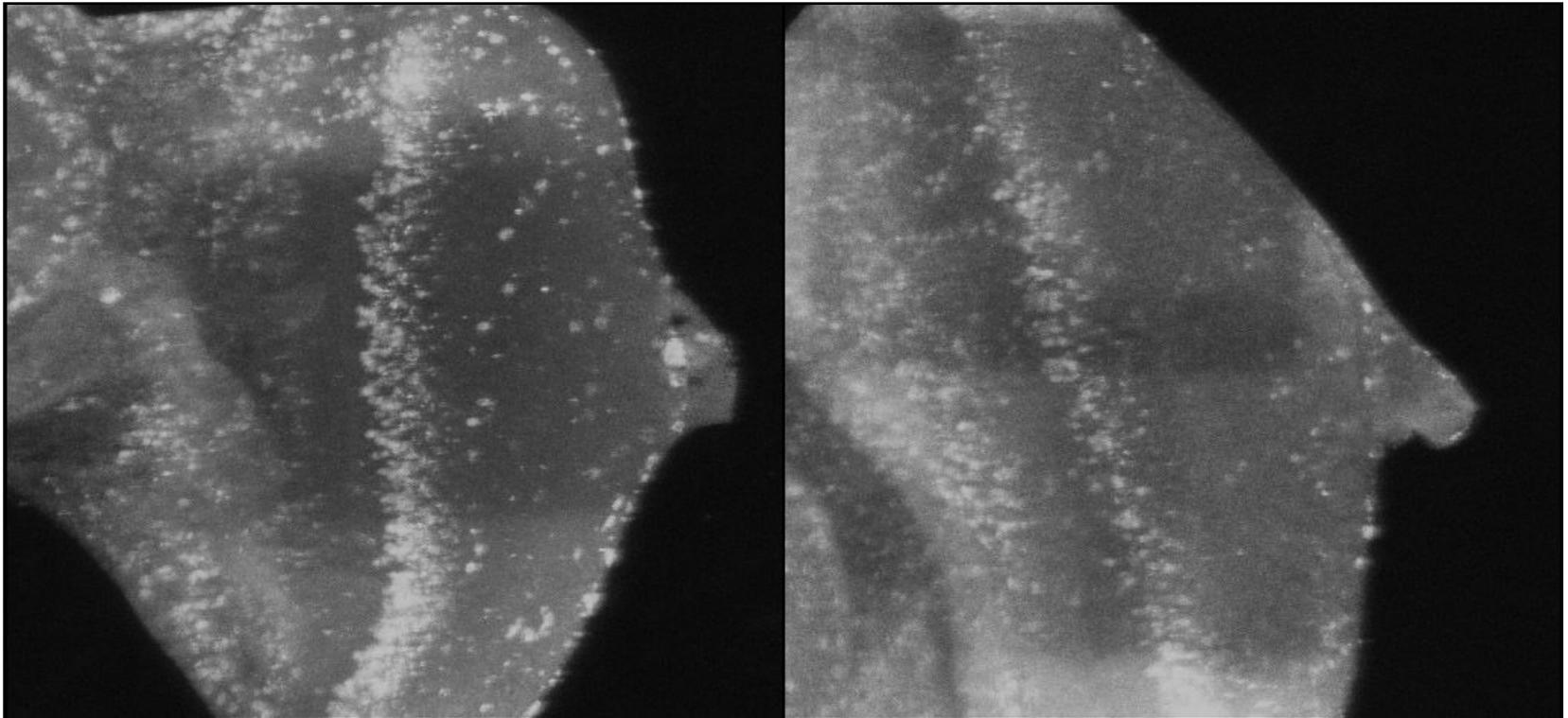
dNOS4 expression increases the number of cells in the eye

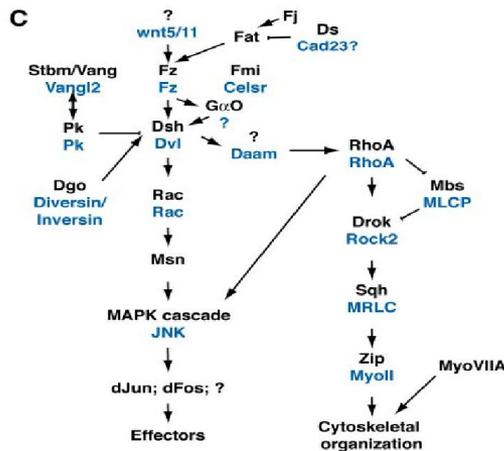
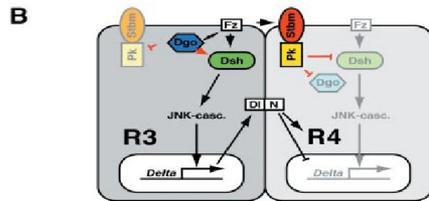
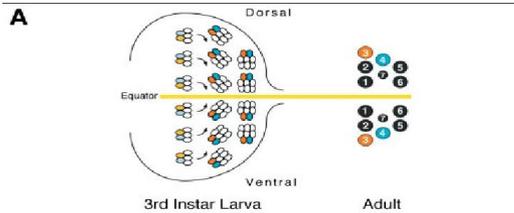


*Ectopic expression of dNOS4 in the eye imaginal disc
increases the number of proliferating cells*

GMRdNOS4

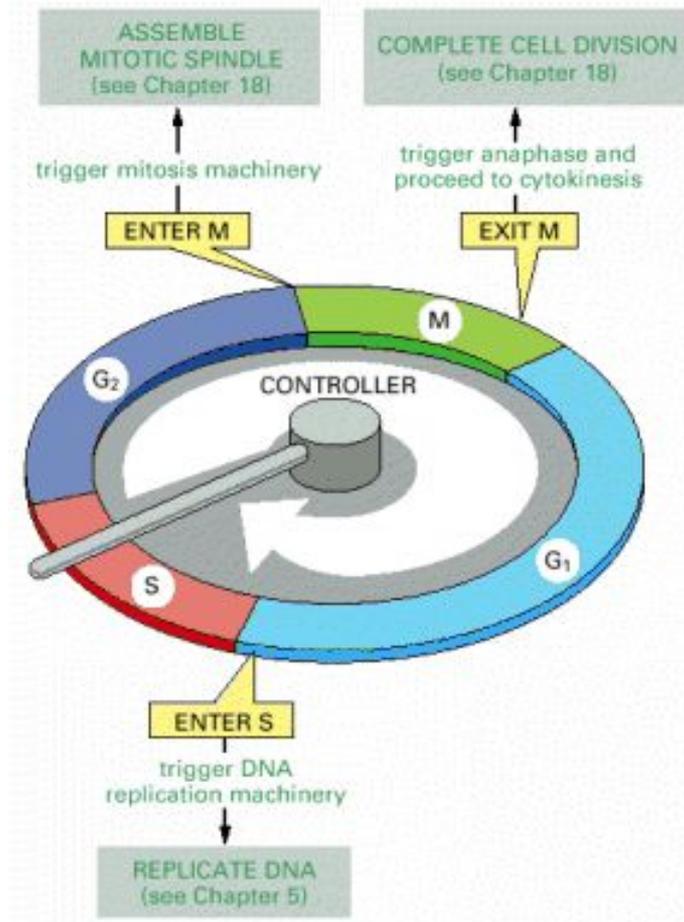
WT



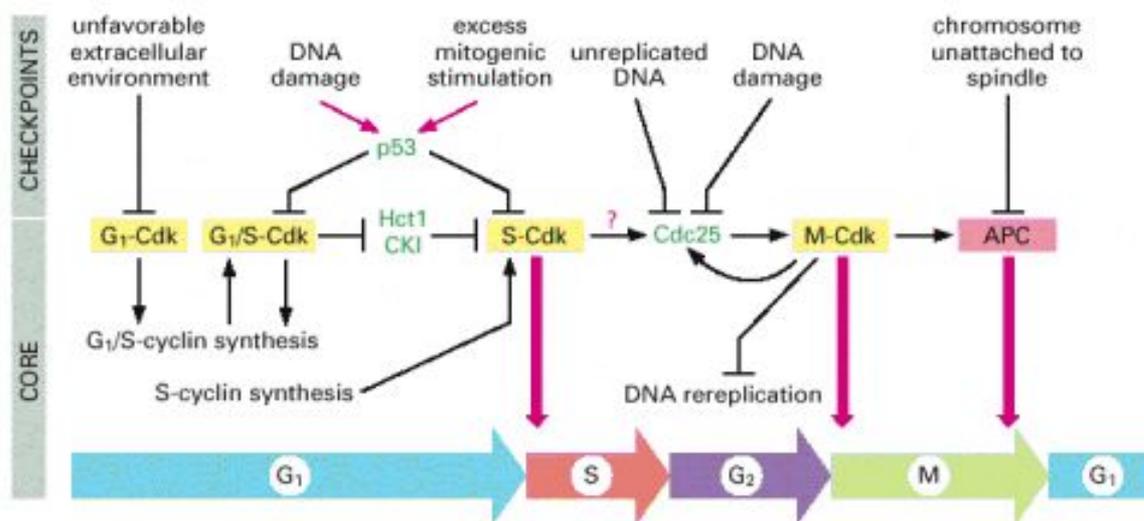


(A) Schematic of third instar *Drosophila* eye imaginal disc with dorso-ventral (D-V) midline or equator, in yellow. Anterior is left and dorsal up. Initially, ommatidial preclusters are symmetrical. PCP signaling leads to the determination of R3 (orange) and R4 (blue), followed by a 90° rotation of clusters towards the equator. In the adult, the rhabdomeres of the photoreceptors are positioned in mirror-symmetric trapezoids with R3 anterior to and polar of R4. (B) Schematic of PCP signaling in R3 and R4. Signaling of Fz through Dsh and a JNK cascade leads to specification of R3. In R4, Fz signaling is antagonized by Stbm and Pk. In a second step, the signaling difference between R3 and R4 is reinforced by Dl and N (N then specifies the R4 fate). See text for details. (C) Schematic summarizing the genes involved in PCP signaling in *Drosophila* (in black) and in vertebrates (compiled from different tissues, blue).

Контроль клеточного цикла

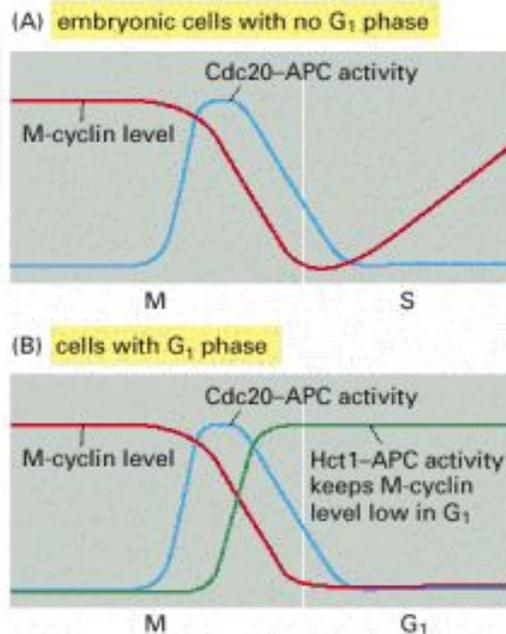


Общая схема контроля клеточного цикла.

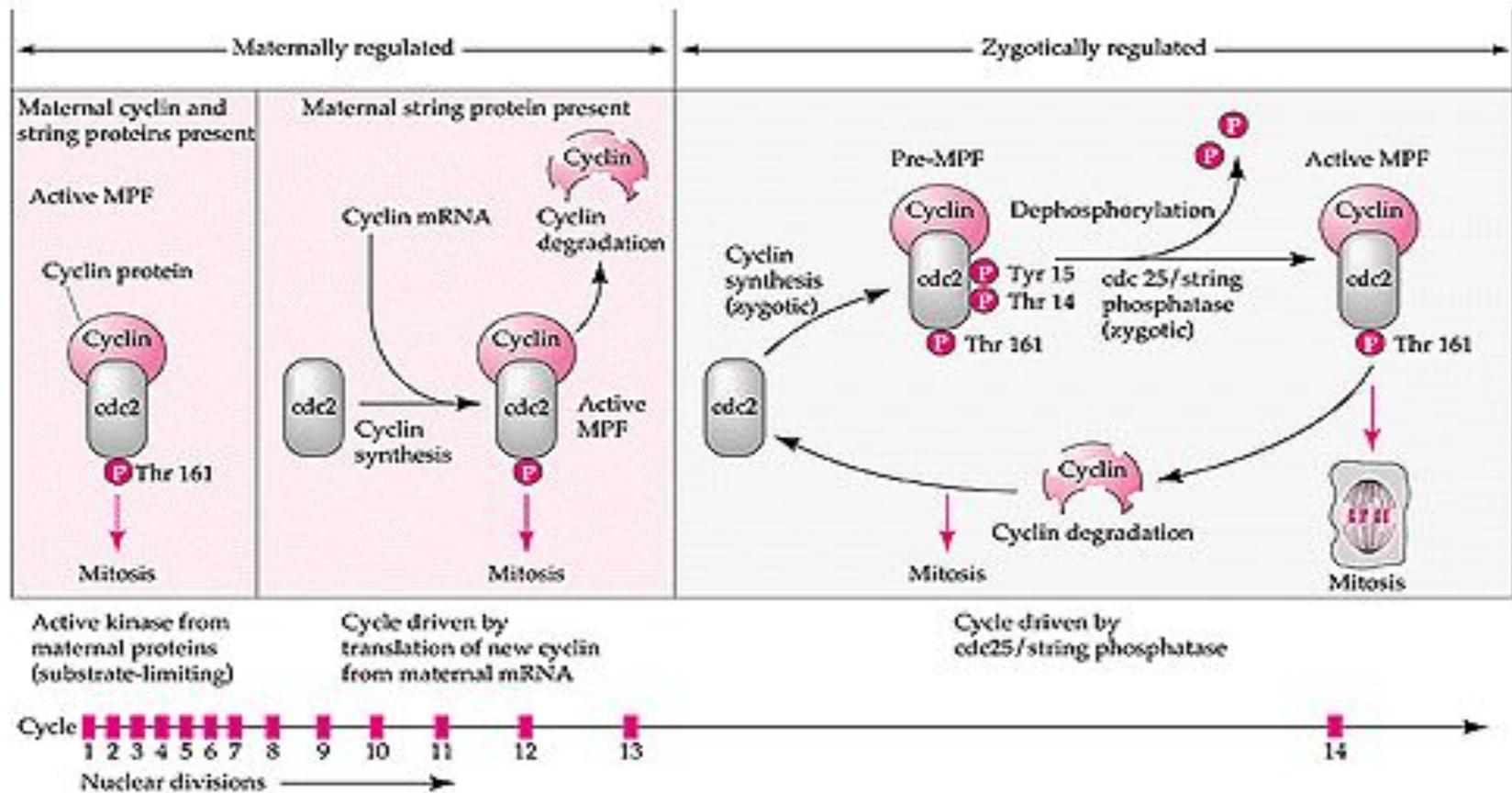


- Основа контроля клеточного цикла состоит в последовательном образовании циклин-Cdk комплексов (желтый цвет). Активность каждого комплекса регулируется специальными контрольными механизмами. Информация для контрольных механизмов поступает из внеклеточного окружения (повреждения ДНК, клеток, недорепликация ДНК, незавершенность клеточного цикла и т.д..)

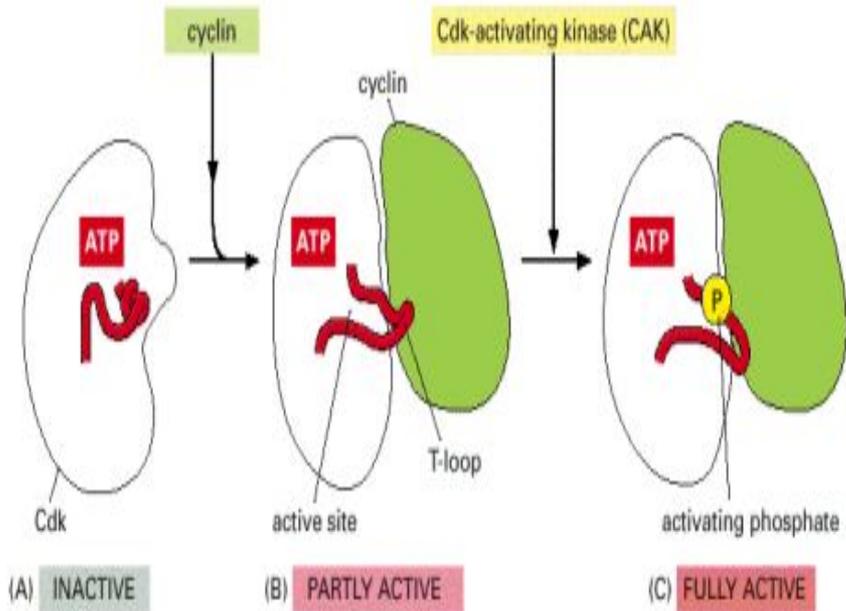
- (А) Во время клеточных циклов в раннем эмбриогенезе, активность убикитинитизирующего комплекса Cdc20-APC повышается к концу метафазы, инициируя деструкцию М-циклина. При этом активность Cdc20-APC стимулируется активностью М-Cdk. Потеря М-циклина запускает инактивацию APC после митоза, что позволяет вновь накапливаться М-циклинам. (В) В клетках находящихся в G₁ фазе, потеря активности М-Cdk запускает активацию. Это обеспечивает продолжение супрессии активности Cdk после митоза необходимой для, G₁ фазы.



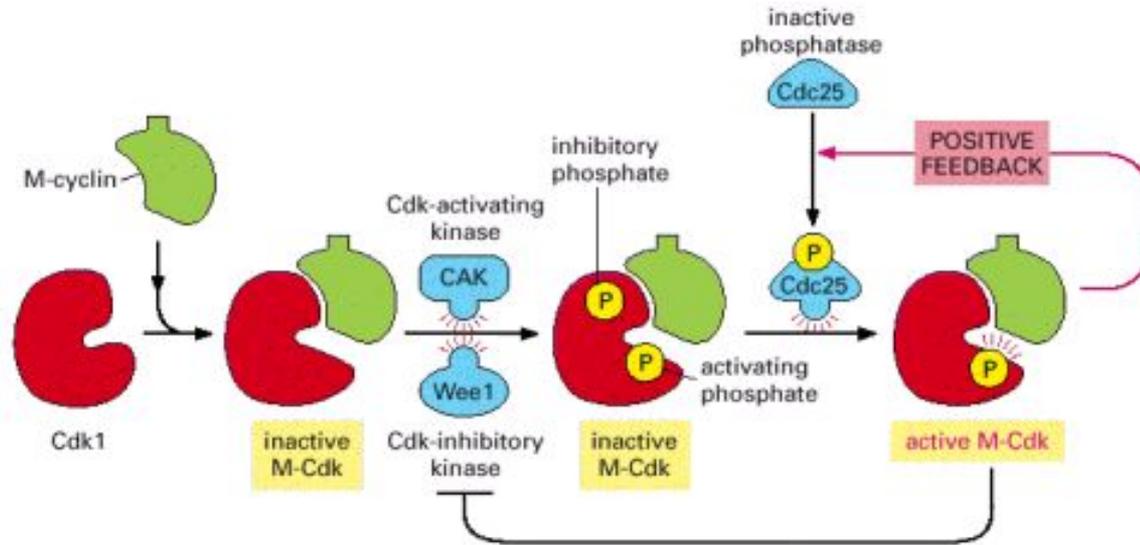
Регуляция клеточного цикла на ранних стадиях эмбриогенеза



Структурная основа Cdk-активации.



Активация M-Cdk.



- Повышение уровня M-циклина сопровождается его связыванием с Cdk1 . M-Cdk комплекс фосфорилируется Cdk-активирующей киназой (CAK) и ингибирующей Wee1 киназой. Инактивированный M-Cdk-комплекс в конце G2-фазы активируется фосфотазой Cdc25. В дальнейшем, в результате обратной позитивной регуляции Cdc25 стимулируется активным M-Cdk. Эффект обратной позитивной регуляции усиливается способностью M-Cdk ингибировать WeeI-киназу.