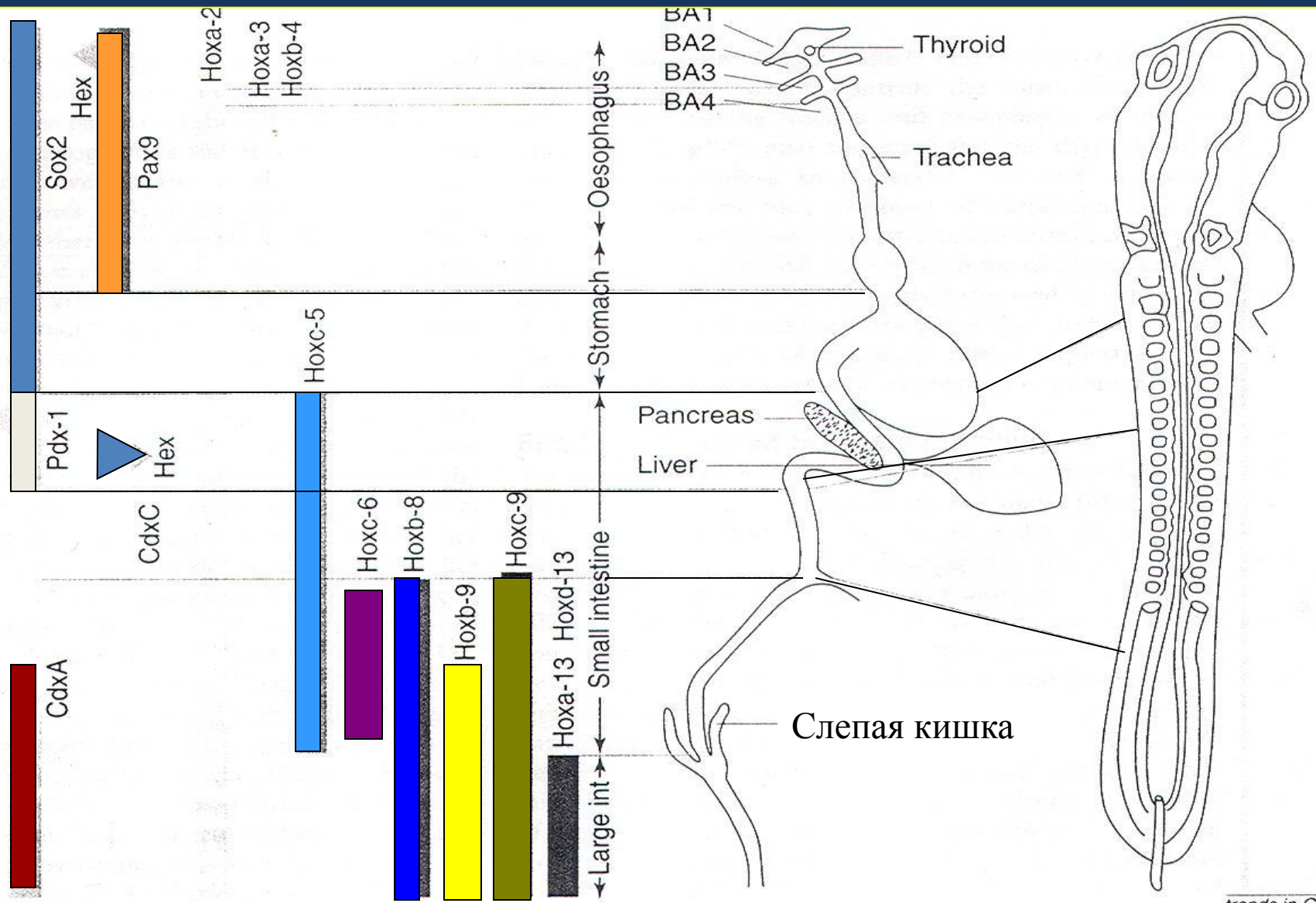


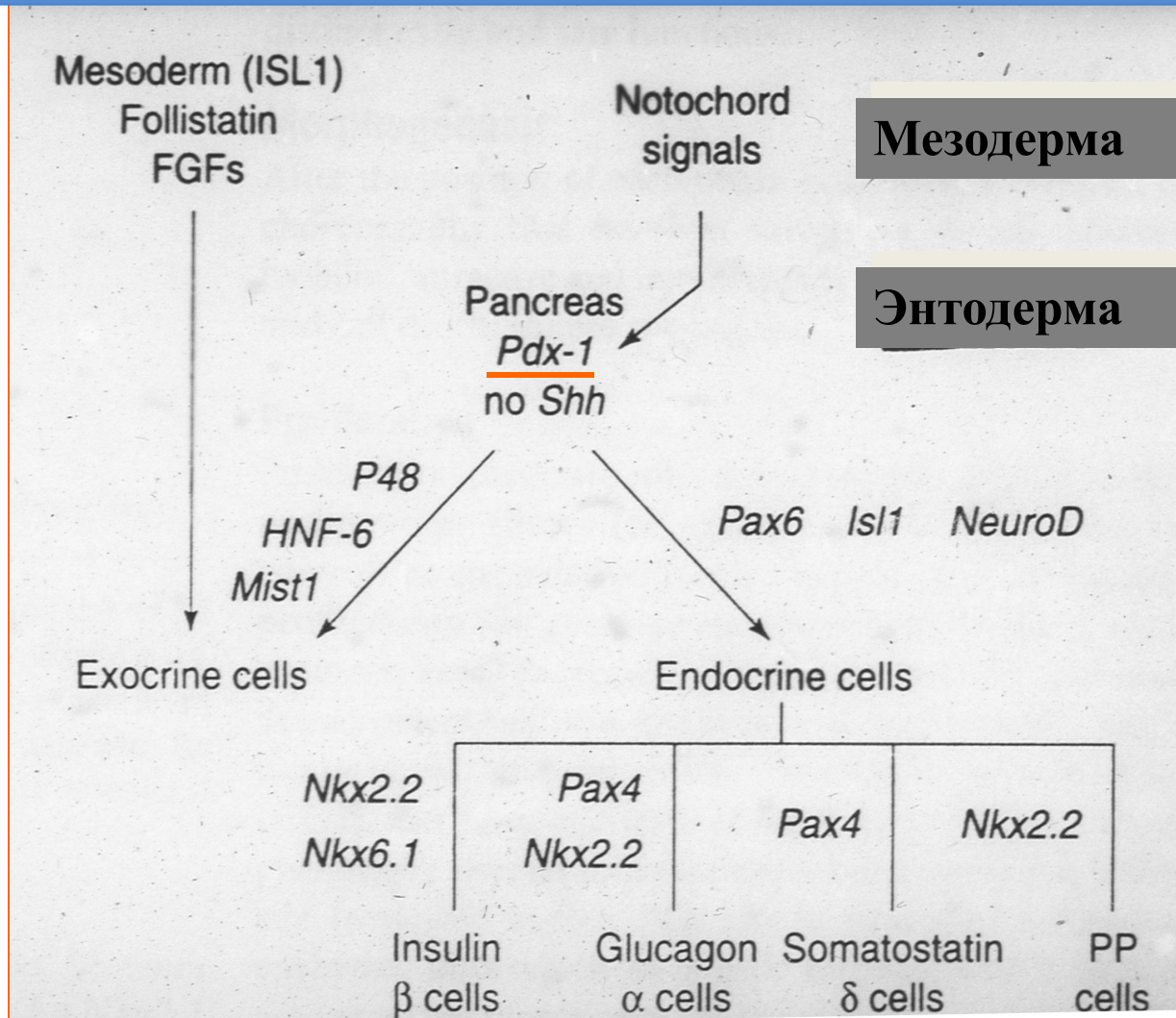
# **Лекции 9-10**

# Региональная экспрессия факторов транскрипции при дифференцировке энтодермы у курицы

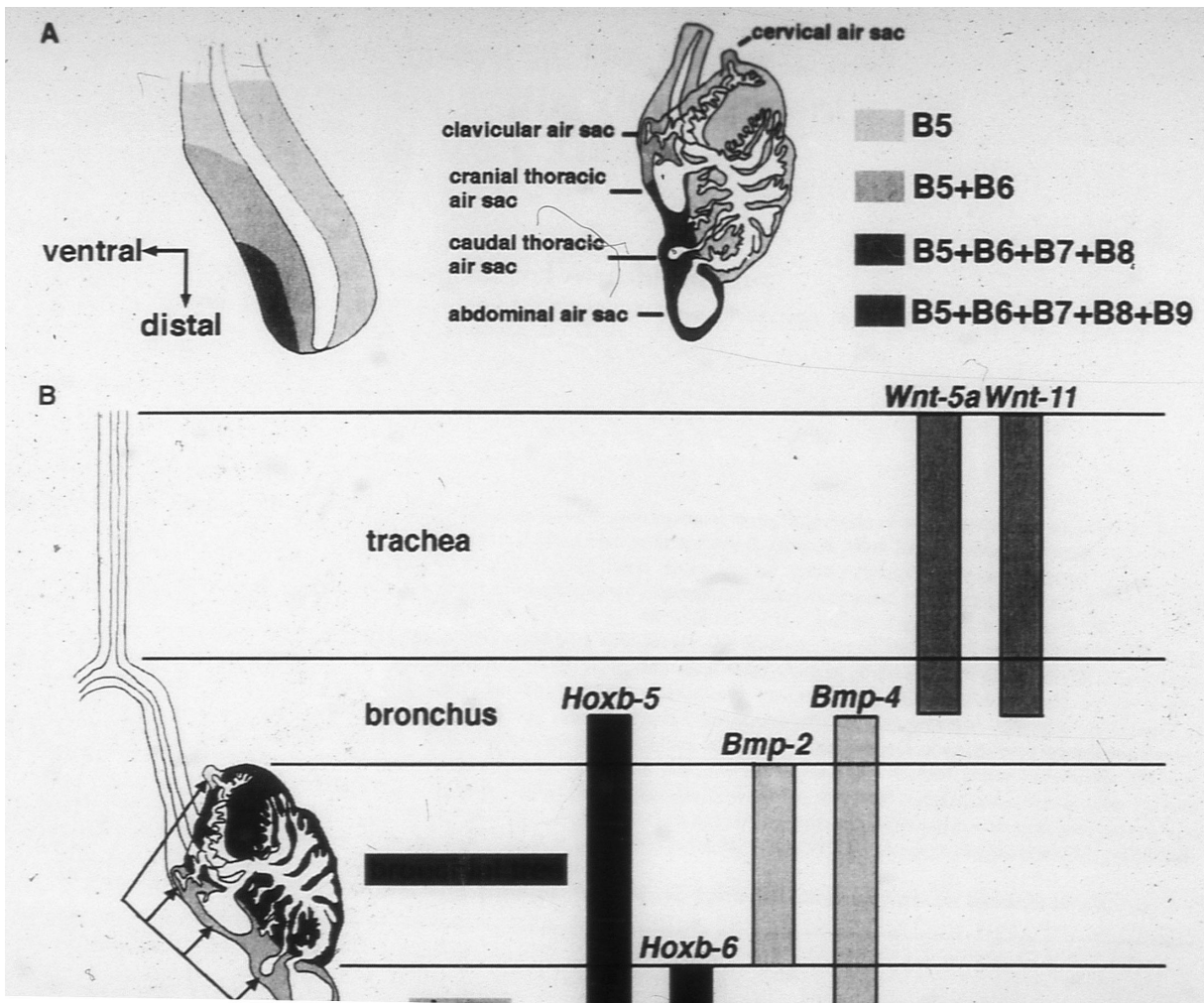
Начало - фактор транскрипции **GATA-4** и факторы роста **Vmp2, 4, 5, 7.**



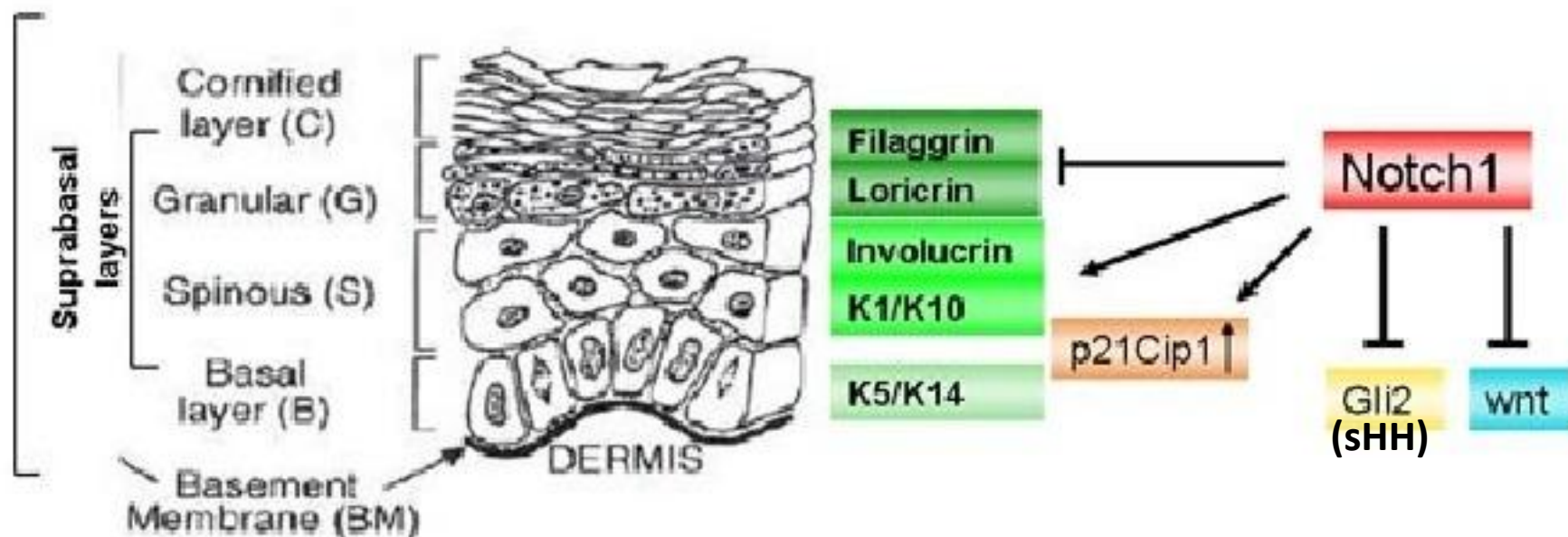
# Молекулярный контроль выбора клетками пути дифференцировки в панкреатической железе



# Координированная экспрессия генов семейства *Hox* при развитии респираторной системы кур



## Дифференцировка клеток кожного эпидермиса (постнатальная)



### Notch1 – функции в эпидермисе кожи мыши:

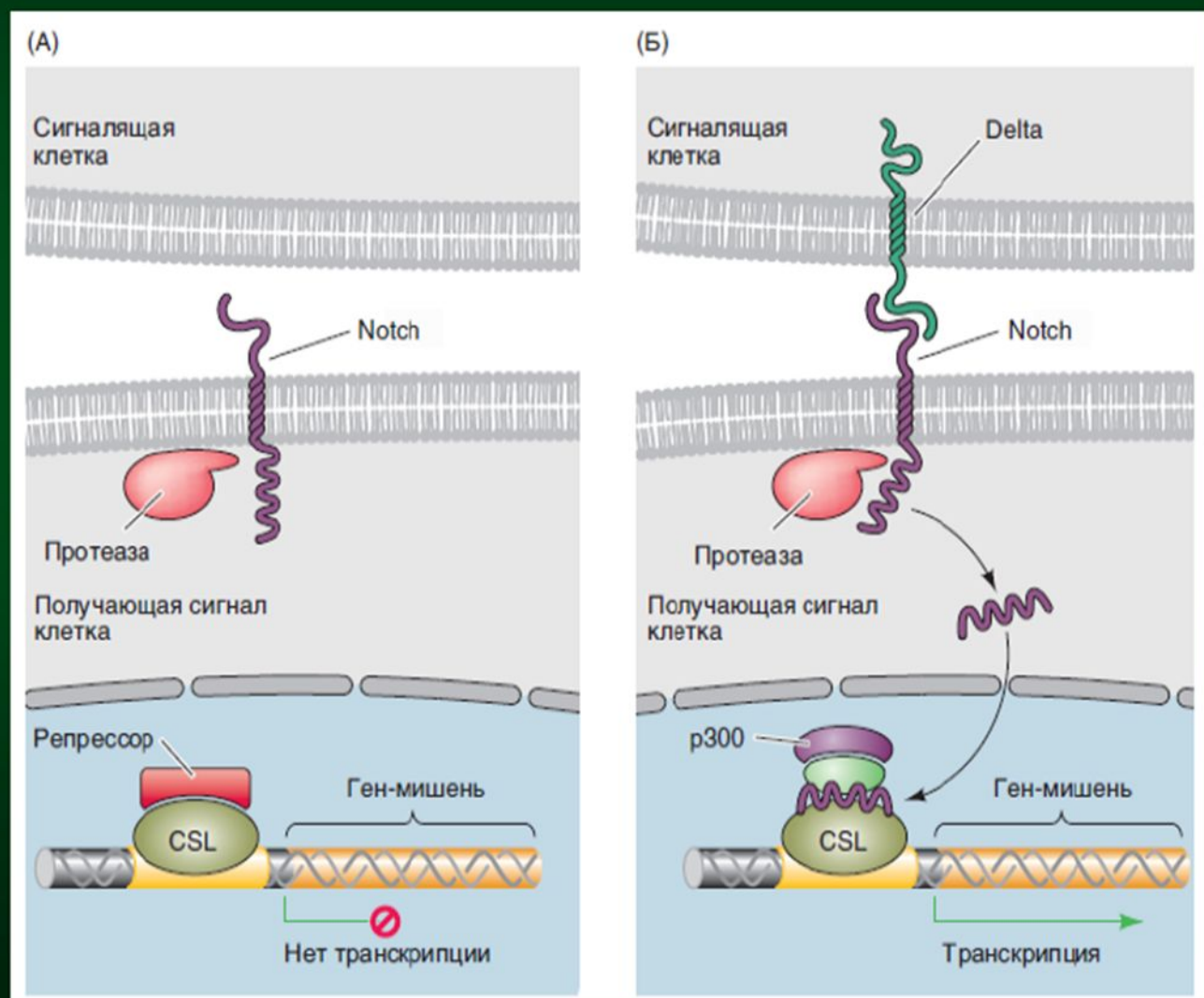
**Зеленый цвет** – белки, которые экспрессируются в различных клеточных слоях эпидермиса. Под влиянием дифференцирующих сигналов Notch1 индуцирует экспрессию ряда белков (involucrin, Keratin1 (K1), ингибитор клеточного цикла Cip1), и временно блокирует экспрессию других белков (fillagrin, loricrin) – их экспрессия происходит, только на последних стадиях дифференцировки (когда клетки эпидермиса смещаются в верхние слои).

Также Notch1 блокирует сигнальные пути Wnt ( $\beta$ -catenin-mediated Wnt signaling) и Shh (Gli2-mediated sonic hedgehog signaling). *У мыши при блокировании экспрессии Notch1 в эпидермисе реактивируются каскады Wnt и Shh: в результате возникают опухоли (basal-cell-carcinoma-like tumours)*

# Юкстакринный сигналинг

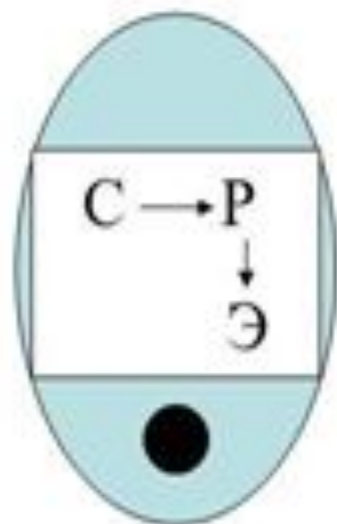
Сигнальный путь Notch:  
мембраносвязанные лиганды и рецепторы

Лиганды Delta, Jagged,  
Serrate  
Рецептор Notch



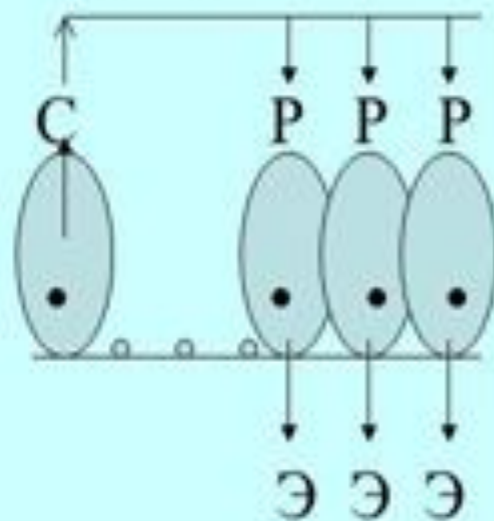
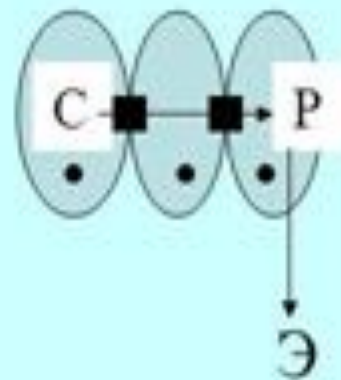
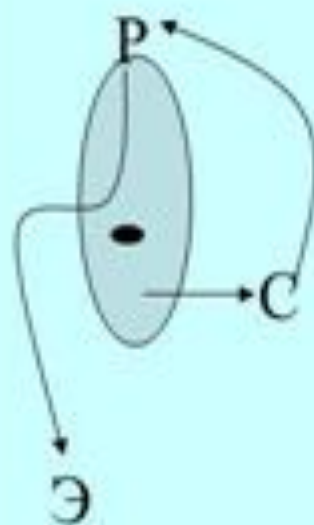
# Типы местного контроля

Внутриклеточный контроль



## Региональный контроль

Аутокринный Юкстакринный Паракринный

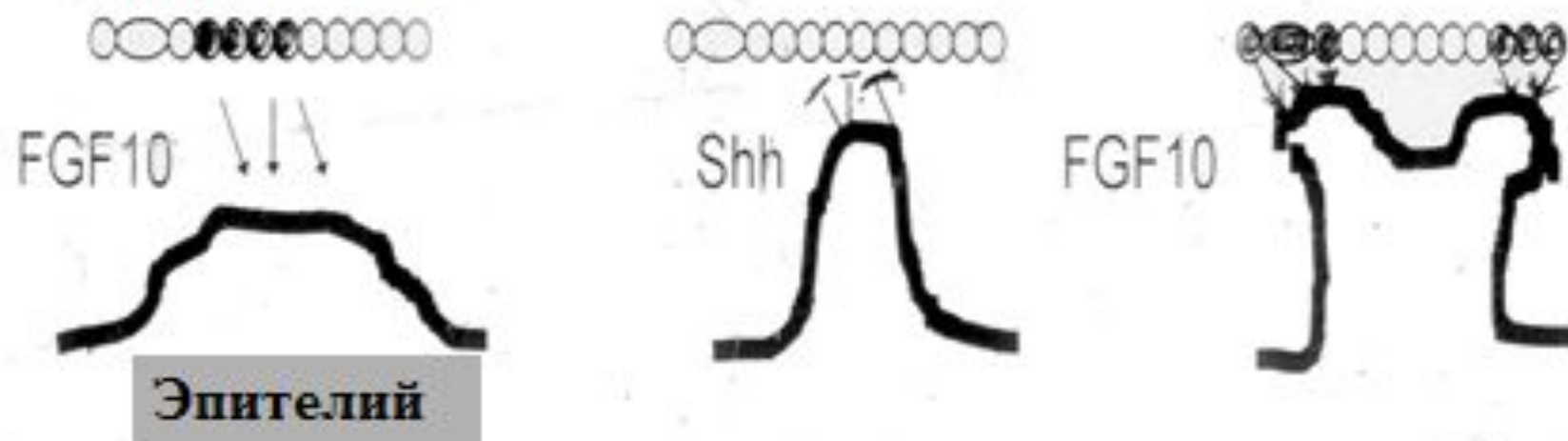


C=сигнальное соединение, P=рецептор, Э=эффект

# Генетический контроль разветвленного морфогенеза

---

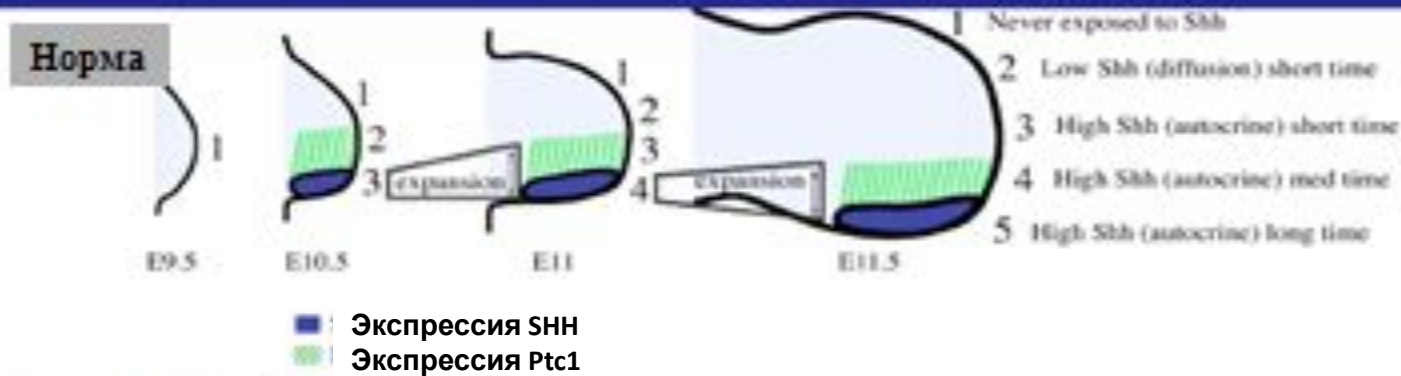
**Мезенхима**



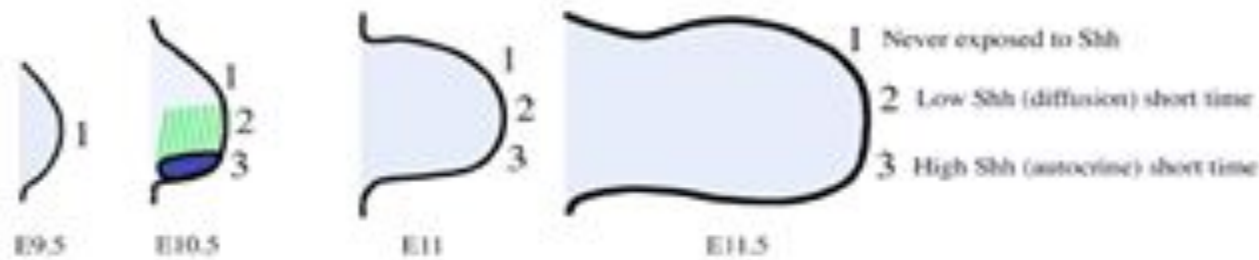
Конечные бронхиолы у человека соответствуют 16-й генерации



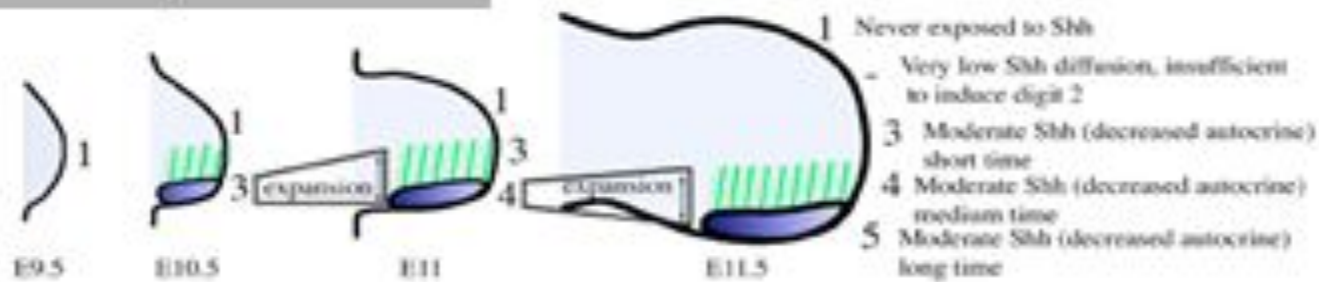
# Спецификация пальцев из почки конечности мыши под действием морфогена Shh и его мишени Ptc1



## Кондиционный нокаут гена Shh на стадии E11

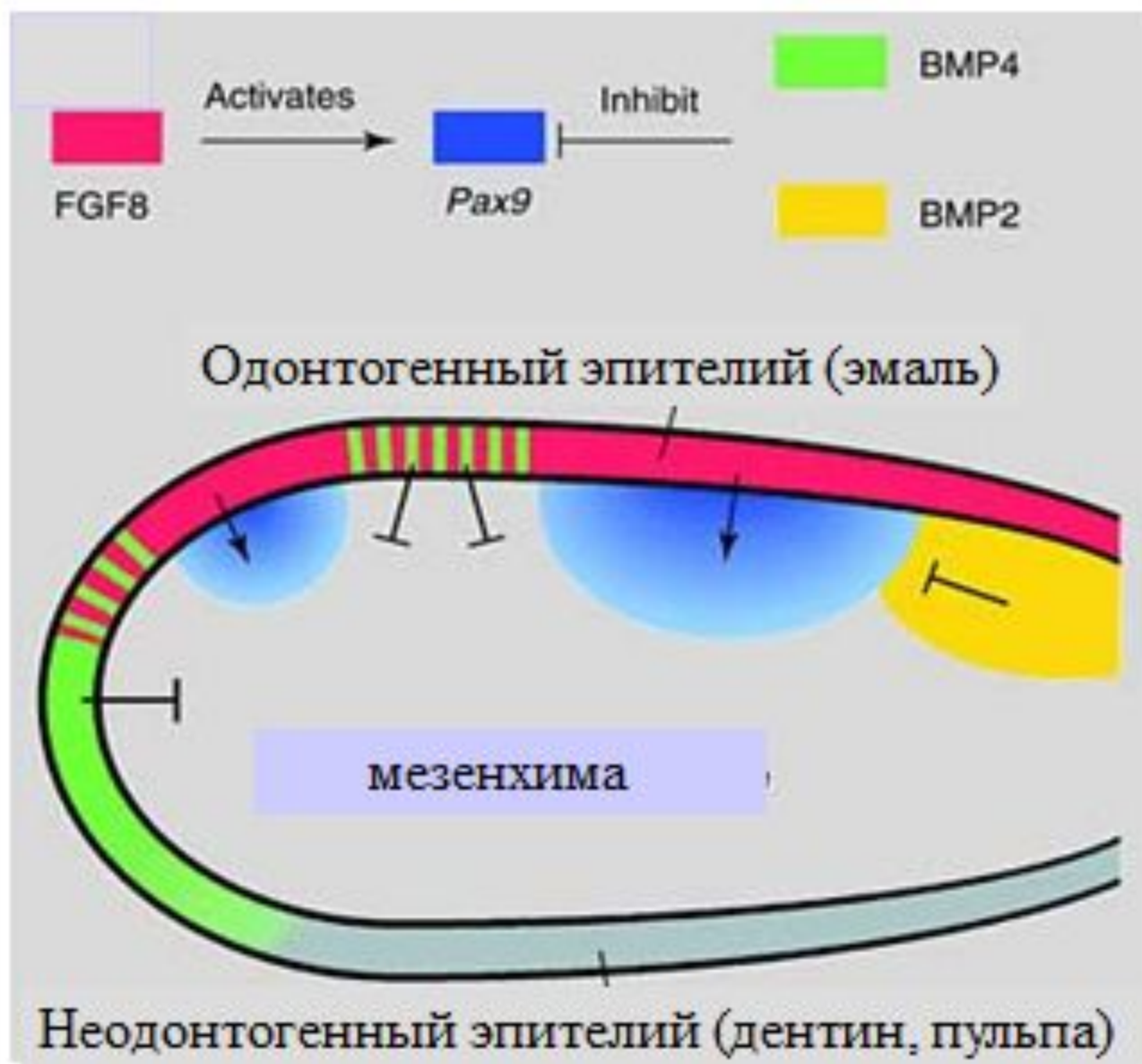


## Ослабление экспрессии гена Shh



# Морфогенез зубов

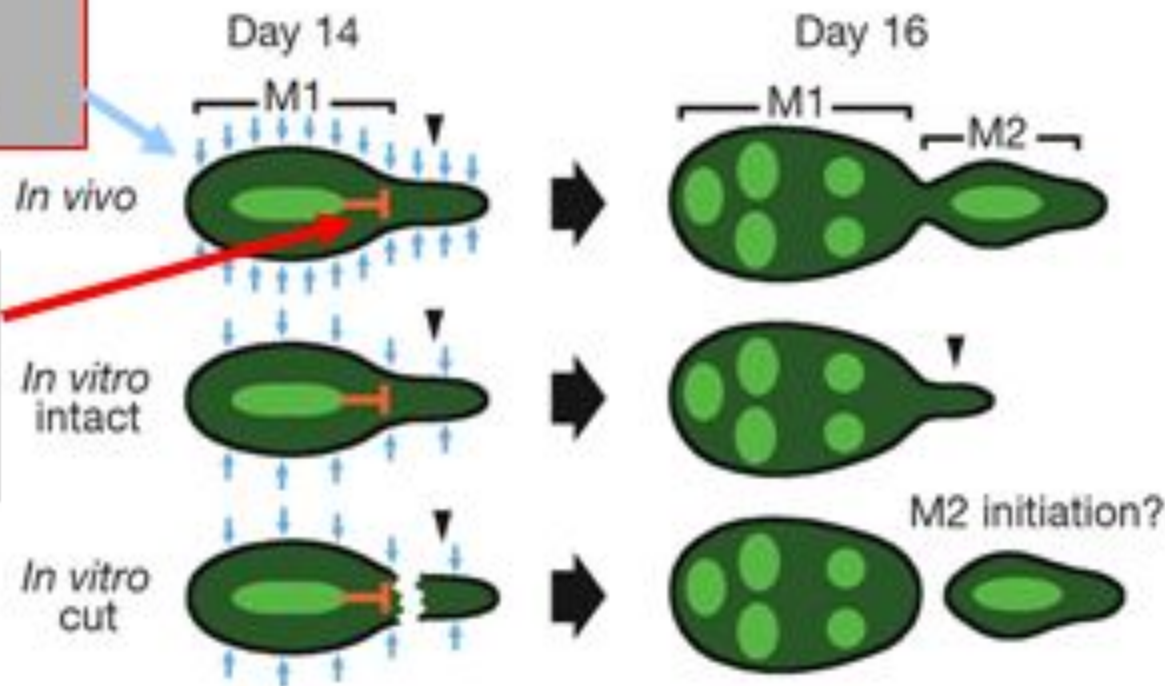
Иници-  
ация:  
Pitx-2,  
Shh,  
Wnt



# Механизм регуляции роста коренных зубов

Сигналы из мезенхимы челюсти (активатор)

Сигнал из первого моляра (ингибитор)



**Bmp, Fgf и Wnt/катенин – сигнальные пути из мезенхимы**

# Участие сигнальных молекул в регуляции дифференцировки клеток нервного гребня



Клетки нервного гребня по-разному отвечают на действие одних и тех же сигналов из этих семейств, что зависит от конкретной стадии дифференцировки клеток. А. Клетки нервного гребня образуют структуры лицевого скелета. В этой области молекулярные сигналы TGF $\beta$  и FGF определяют соответственно развитие глаза и лицевого скелета. Б. В области тела дифференцировку клеток нервного гребня направляют факторы из семейств Wnt и BMP. Действуя на начальных стадиях, сигналы Wnt из ненервной эктодермы индуцируют дифференцировку нервного гребня, а на последующих стадиях эти же факторы поддерживают спецификацию чувствительных нейронов и пигментных клеток. Представители семейства TGF $\beta$  молекулярные сигналы BMP, продуцируемые клетками дорсальной аорты, контролируют дифференцировку симпатических нейронов.

# Метаболические пути ремоделирования актинового цитоскелета



Поддержание и адаптация формы клетки ко внешним воздействиям, экзо- и эндоцитоз, обеспечение движения клетки как целого, активный внутриклеточный транспорт и клеточное деление.

Путь Rho-ROCK – пролиферация и механотрансдукция

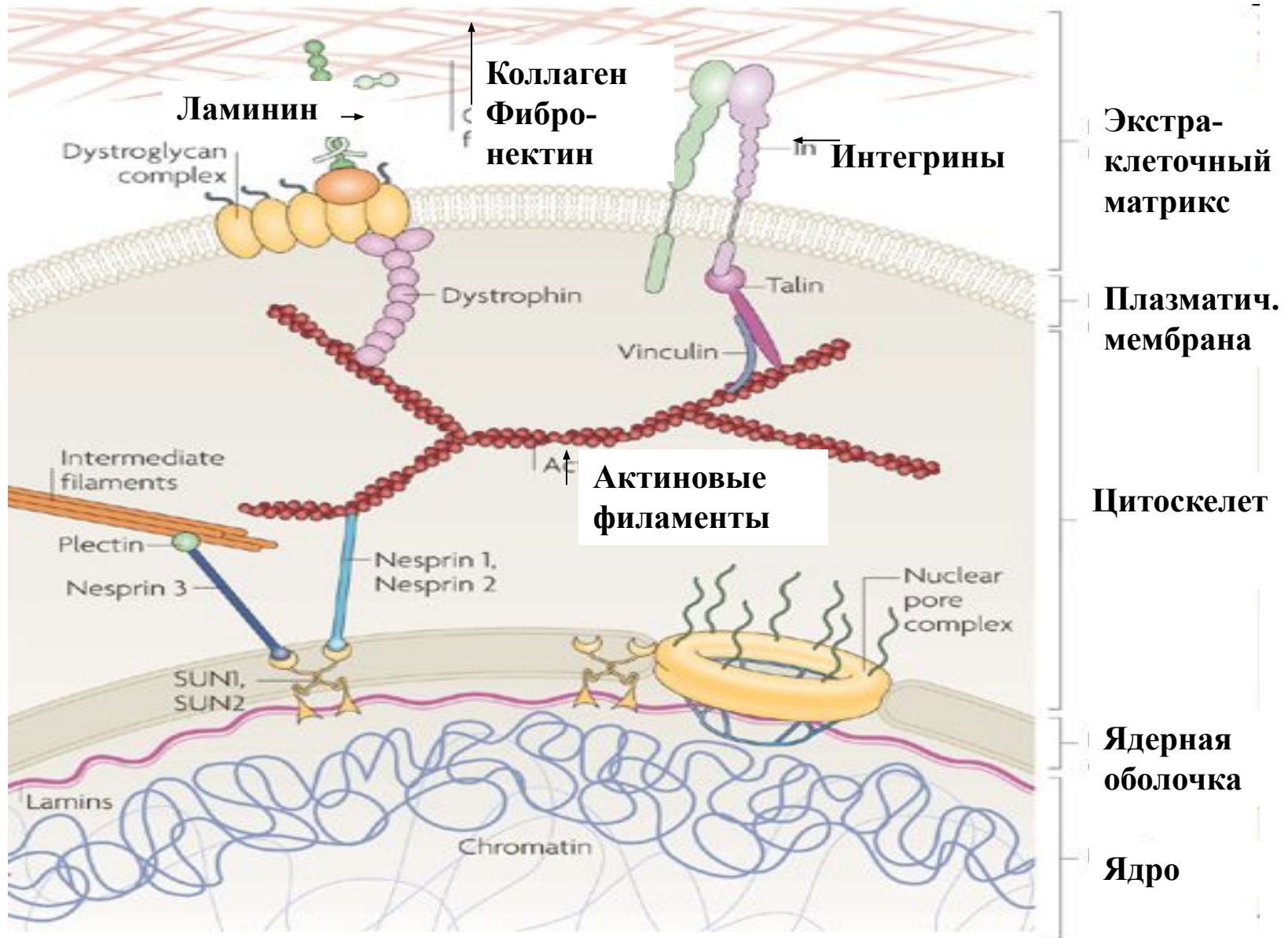
**Механотрансдукция** — конверсия механических сигналов во внутриклеточные биохимические каскады, изменяющие экспрессию генов, активность ферментов и функции клеток. Существенная роль в осуществлении механотрансдукции отводится ГТФазе RhoA и ее эффектору киназе ROCKII.

Механотрансдукция может модулировать разнообразные функции, такие как белковый синтез, секрецию, адгезию, миграцию, пролиферацию, жизнеспособность и апоптоз, играет критическую роль в поддержании многих тканей, подвергающихся механическим воздействиям, таких как мышцы, кости, хрящи и кровеносные сосуды.

# Механотрансдукция

- Внешние механические силы передаются через экстраклеточный матрикс (ламинин, коллаген, фибронектин), который физически связан с цитоскелетом (взаимодействие с актином через **интегрины, талин, винкулин**)
- Цитоскелет связан с ядерной мембраной через белки **несприны**.

# Механизм механотрансдукции





# Влияние механических стимулов, определяемых формой клеток, на выбор пути коммитирования МСК с участием пути Rho-ROCK

## Распластанные клетки

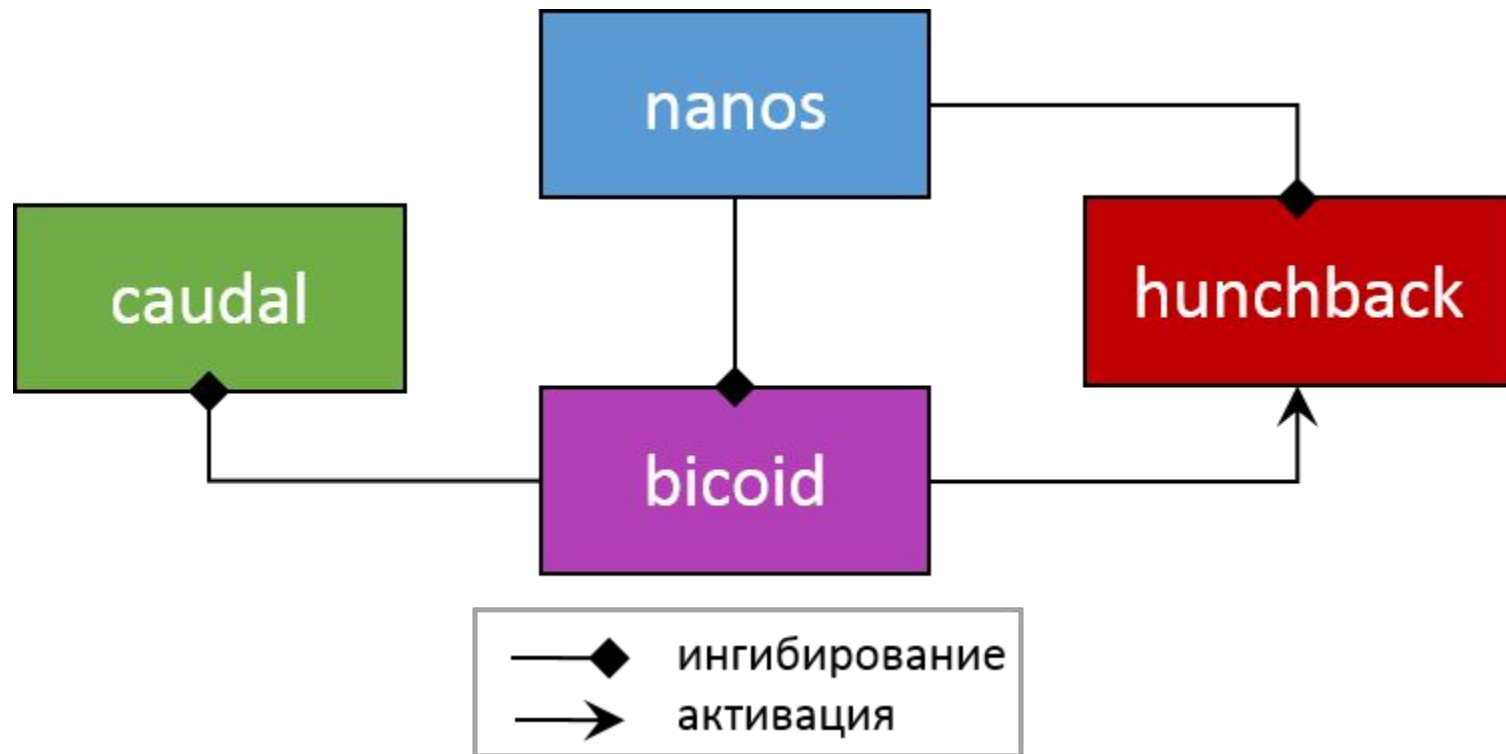
## Нераспластанные клетки

механические стимулы

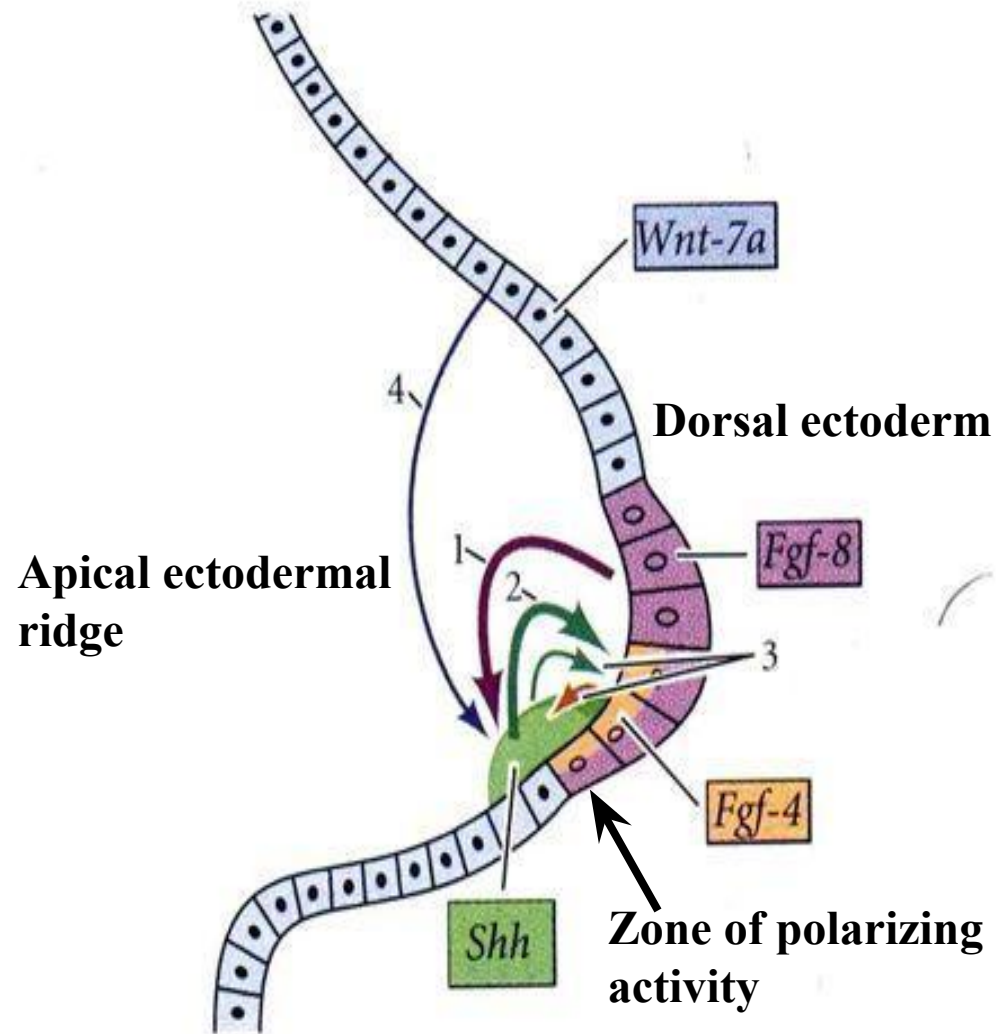
механические стимулы



# Схема взаимной регуляции генов дрозофилы, отвечающих за образование передне-задней оси в эмбриогенезе



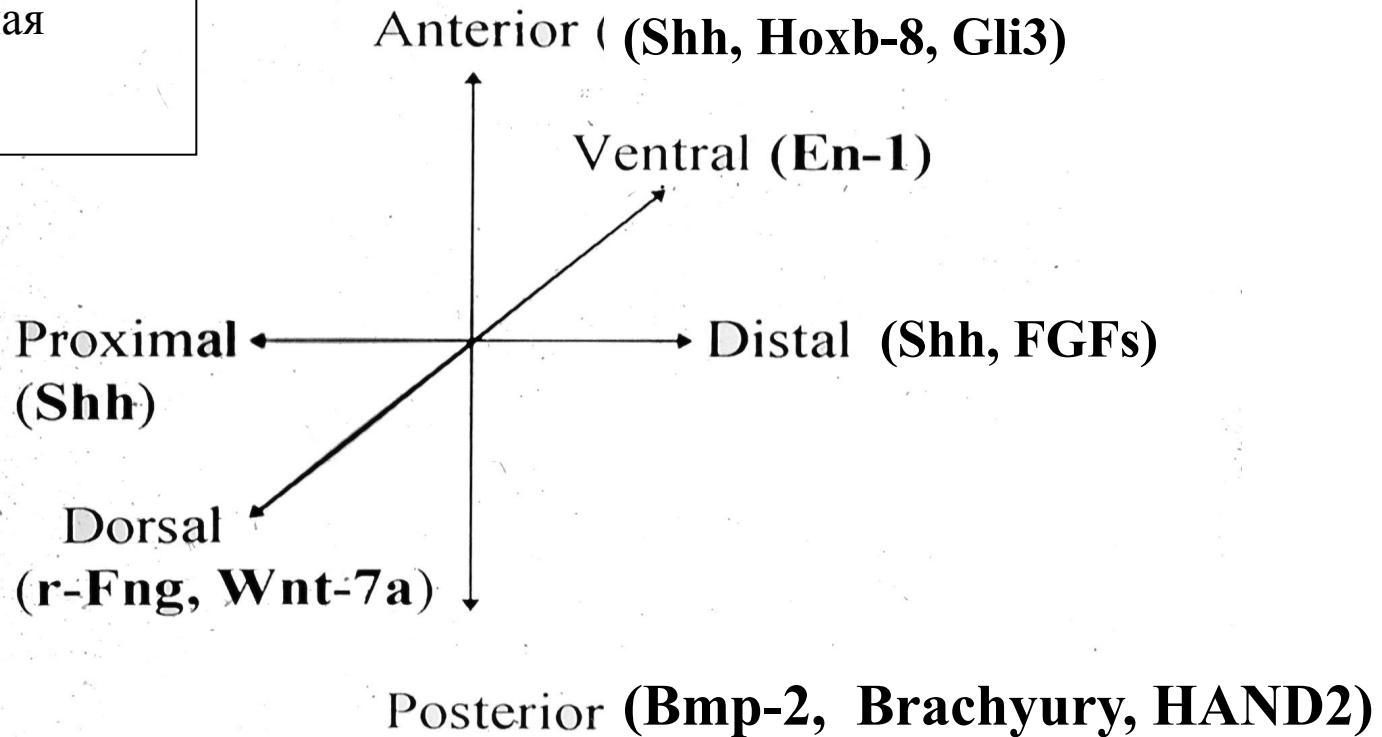
# Координированное действие паракринных факторов вдоль трех осей зачатка конечностей в ходе развития



# Формирование трехмерной формы конечности из латеральной пластинки и мезодермальных сомитов

Инициация выпячивания: FGF-8, 10, 2 и 4

Интермедиатная мезодерма



# **Факторы транскрипции, детерминирующие образование крыло-нога у кур**

- **Tbx-4 – нога – ингибитор Noxd9**
- **Tbx-5 – крыло – активатор Noxd9**
- **Перенос гена Tbx-4 в область крыла эмбрионов кур – трансдетерминация – образуется нога.**

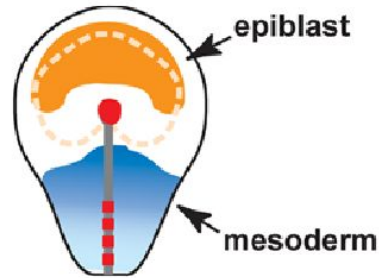
# Антерио-постериорное паттернирование в энтодерме с участием ретиноевой кислоты (RA) и FGFs

Ф-т синтеза RA  
Ф-ты деградации RA

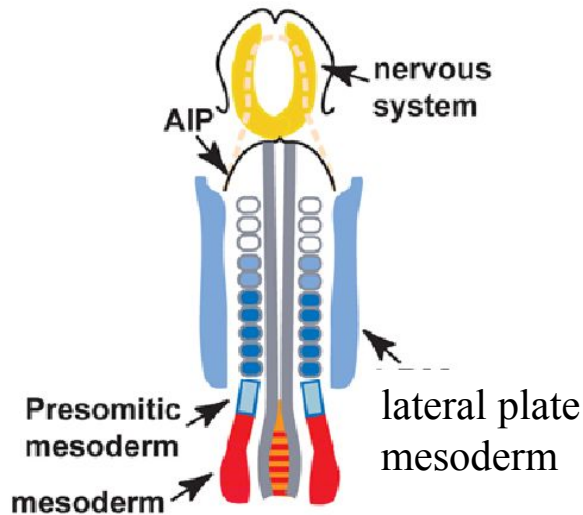
- Raldh2
- Cyp26A1
- Cyp26B1
- FGF4

## Expression pattern

Gastrulation (HH4)

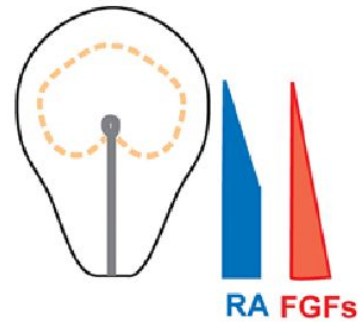


Somitogenesis (HH10)

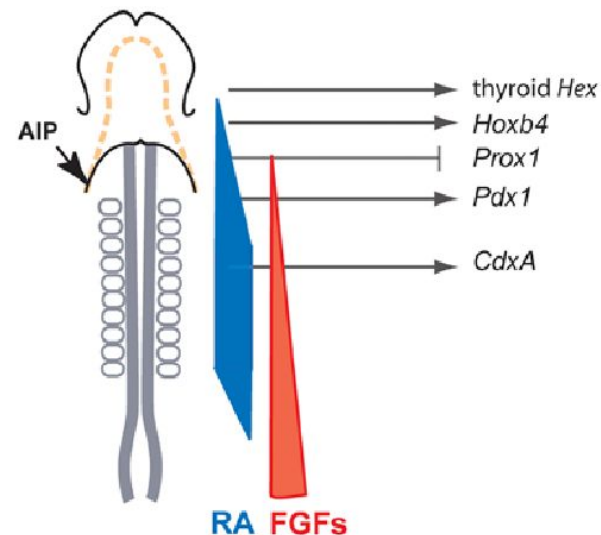


## AP patterning activity

Gastrulation (HH4)



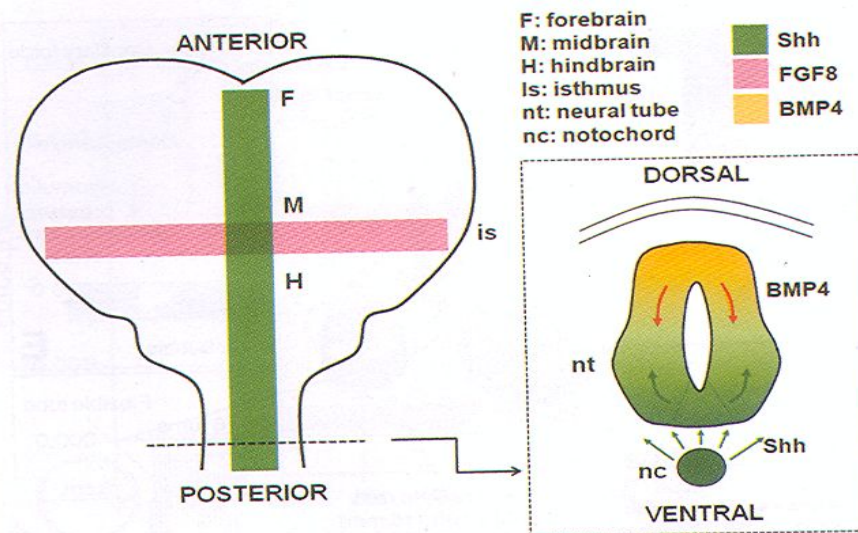
Somitogenesis (HH10)



# Взаимодействие различных паракринных факторов в процессе раннего развития нервной системы позвоночных

2647

Нервная трубка



Поперечный срез

**Figure 1.** The interplay between Shh, FGF8, and BMP4 that specifies neuronal identities along the dorso-ventral and anterior-posterior axes during the early development of the vertebrate nervous system. On the left is a ventral view of the neural tube. Inductive signaling molecules known to control neuronal identities originate from the neural plate at the mid-hindbrain junction (FGF8, red) and floor plate (Shh, green). A transverse section of the neural tube is shown on the right. A gradient of Shh (green) specifies ventral neurons, whereas a BMP gradient (orange) specifies dorsal neurons. Abbreviations: BMP4, bone morphogenetic protein 4; FGF8, fibroblast growth factor 8; Shh, sonic hedgehog.

# Молекулярные механизмы формирования лево-правосторонней асимметрии

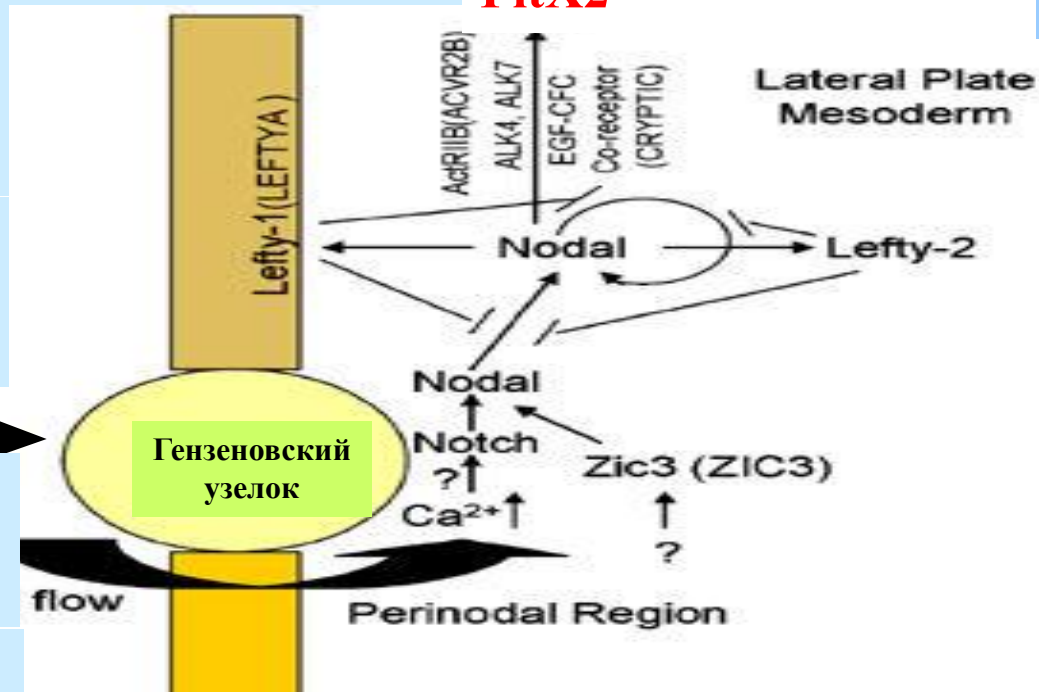
Гаструляция

Правая  
сторона

Левая  
сторона

*Anterior*

**PitX2**



1) Motor protein - Lrd

2) Flow of the vesicular particles (nodal flow) (Shh, FGF-8, RA)

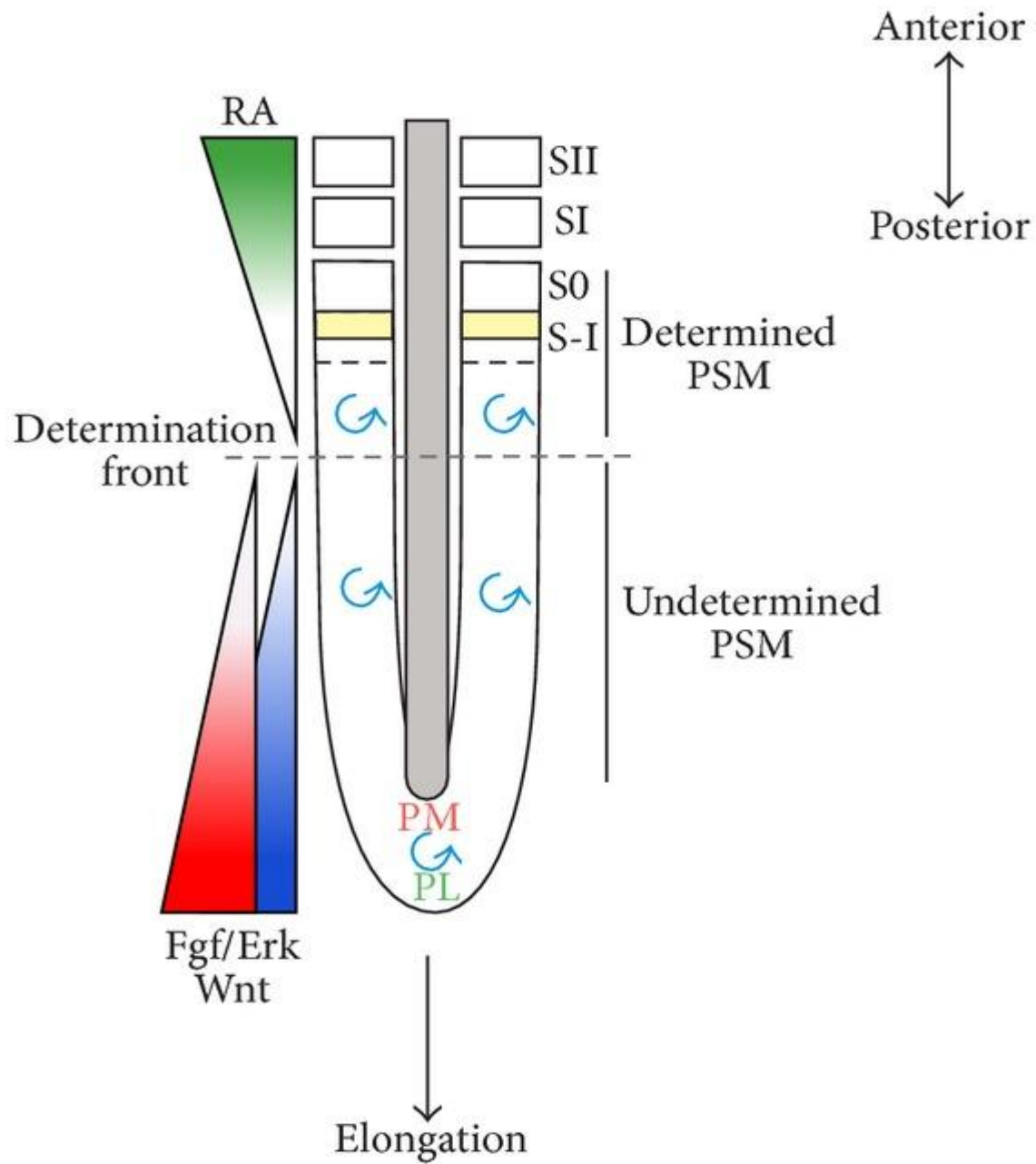
**NKX3.2**

*Posterior*

Nodal – активатор

Lefty -ингибитор

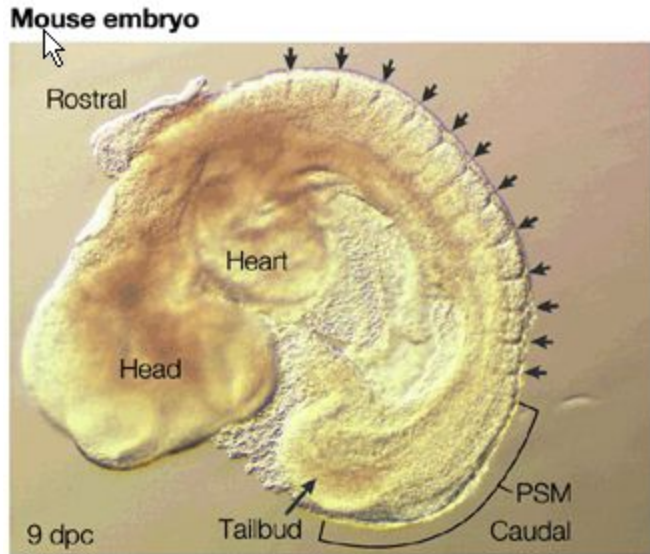




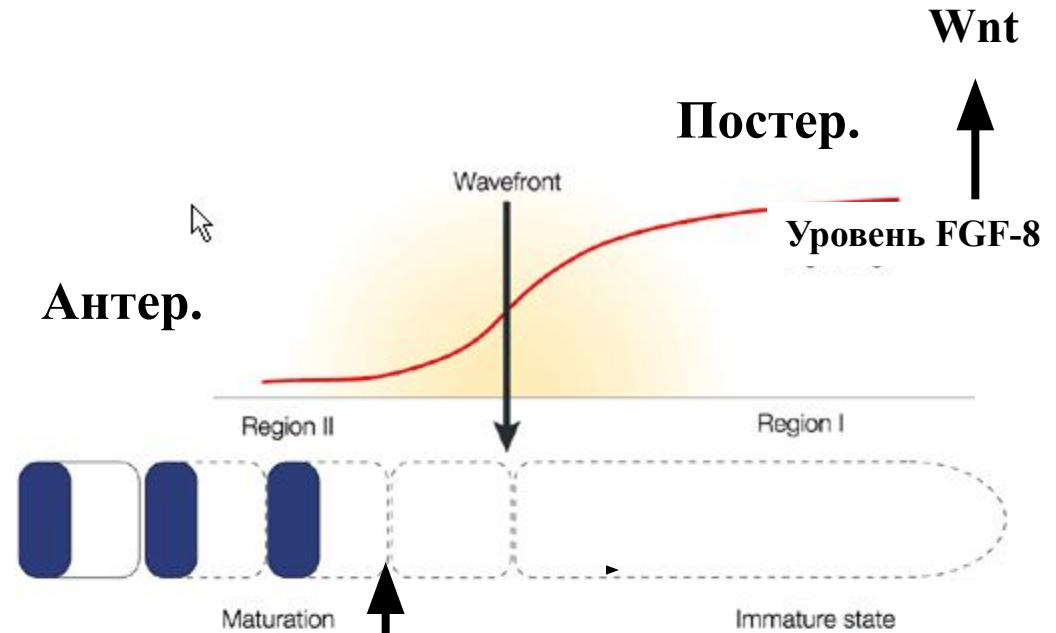
(b)

# Механизмы сомитогенеза

## Модель часов и фронта волны



1 сомит – 90 мин = цикл экспрессии гена *hairi 1 (hes)*



Периодическая активация Notch (часы) и активация FGF (волна)

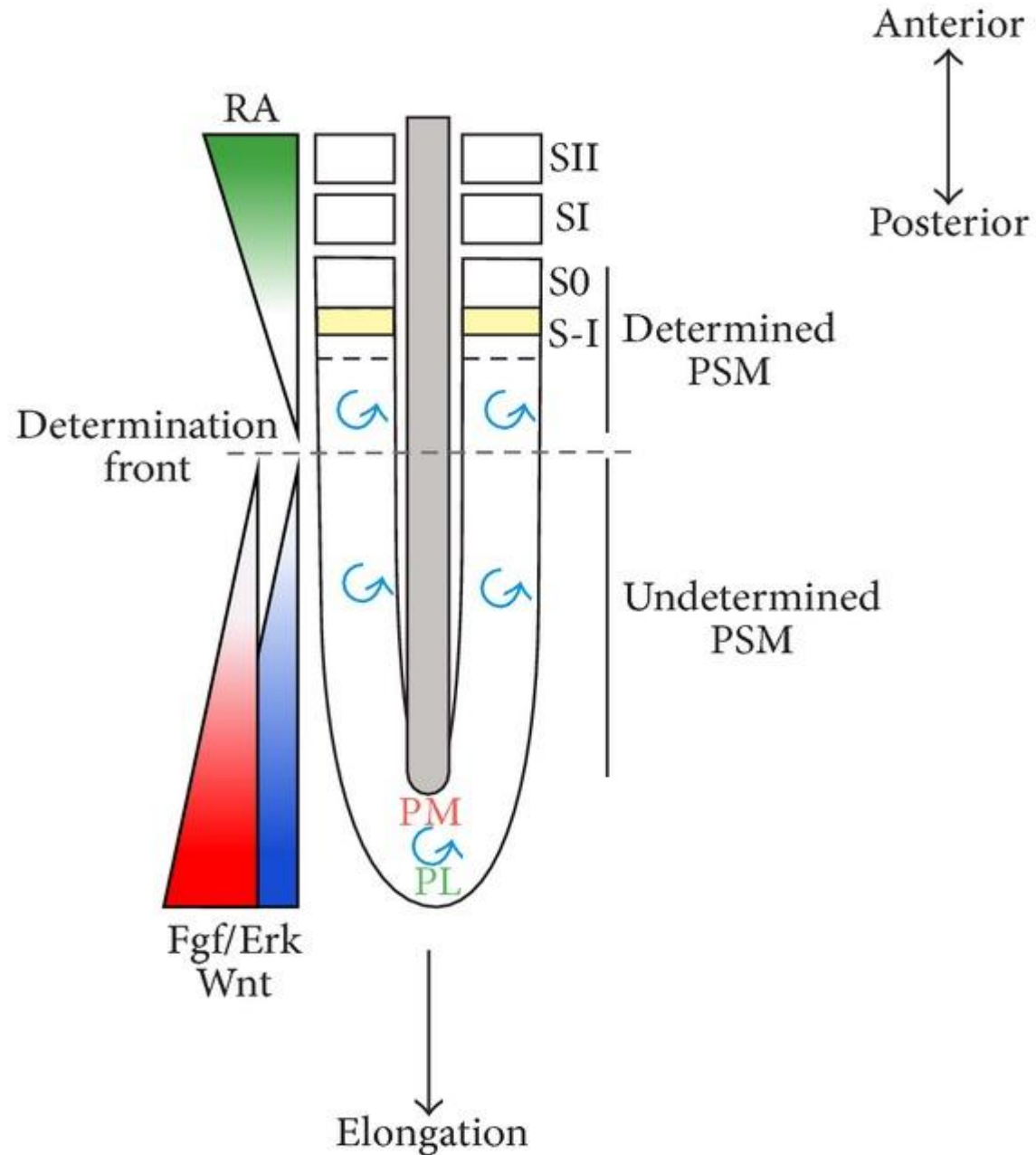
Осциллятор -циклическая экспрессия генов *hes/her* в PSM (аутоингибирование)

Начало: Shh и Pax3

**Нокаут:** ген рецептора FGF – прекращение сомитогенеза, ген *paraxis* – нарушение антерио-постериорных границ сомитов, ген *DMRT2* – недоразвитие сомитов и гибель на 10-ый день развития, не развиваются сомиты и хвостовая почка, участвует в формировании ген *Notch* – не останавливает сомитогенез, но нарушает границы между сомитами

ген *Wnt3* – границ сомитов,

# Молекулярные градиенты при сомитогенезе



# Дифференцировка пола

# Аномалии развития, связанные с нарушениями числа половых хромосом

## хромосом

**Синдром Клайнфельтера (XXY, ххуу) – 1 : 500.**

Мужчины с диспропорцией строения тела, бесплодие, часто снижен интеллект.

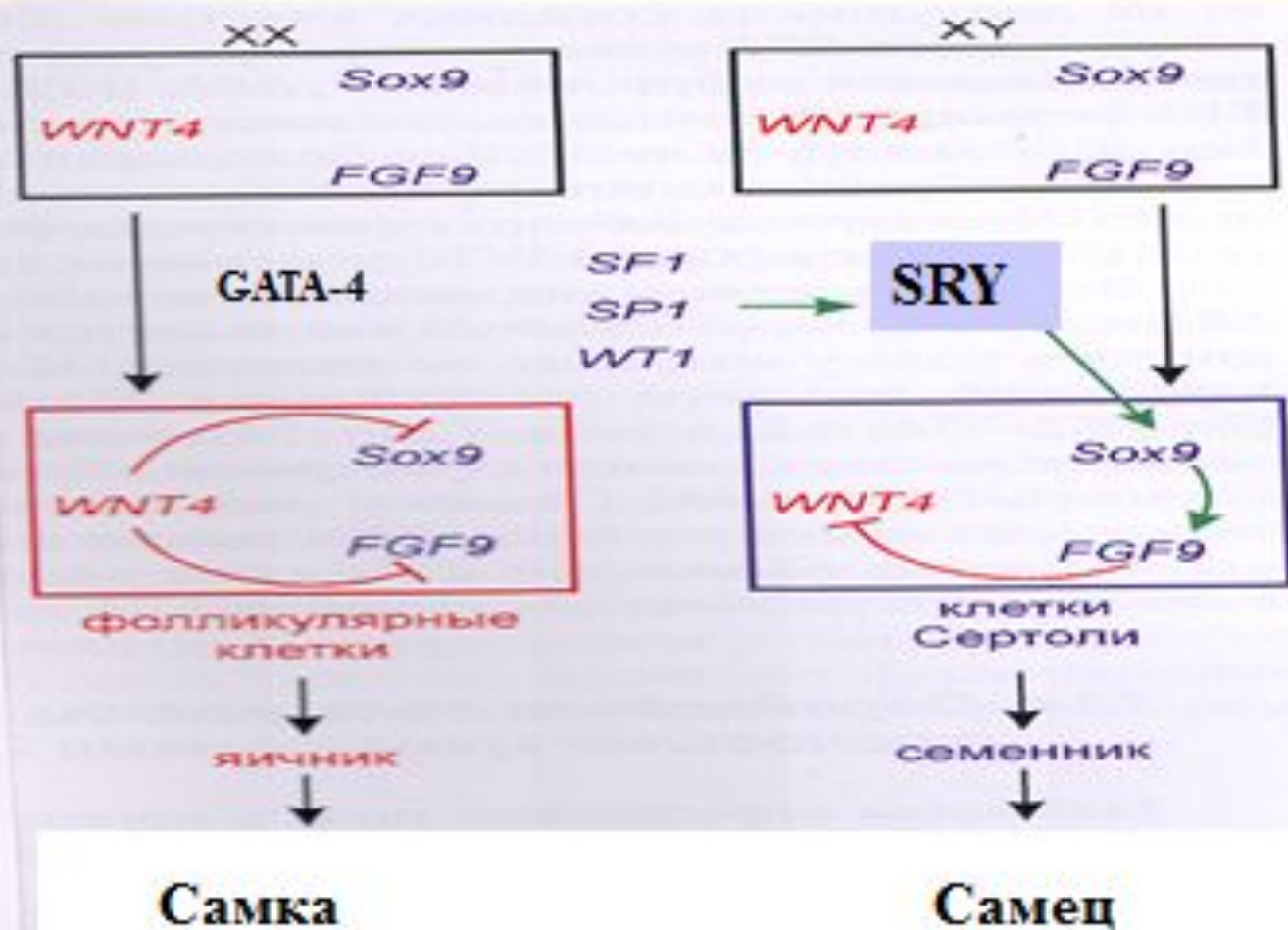
**Синдром Шерешевского-Тернера (XO) – 1 : 2500.**

Женщины маленького роста с нарушениями развития гонад.

**Синдром Жакоба (XXX, ХХХХ) – 1 : 700. Женщины с**

нарушениями функций яичников, фертильны, снижение интеллекта.

# Взаимодействие генов при половой дифференцировке (альтернативные пути)



# Механизмы определения пола

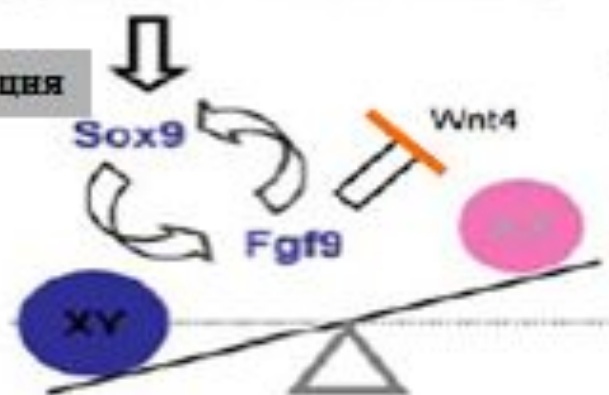


balanced opposing signals

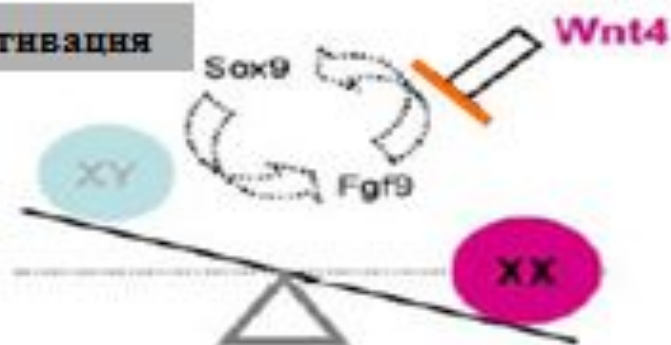


regulatory switch  
(genetic or environmental)

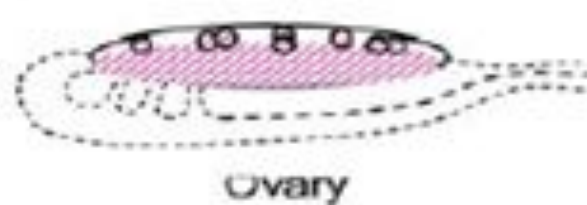
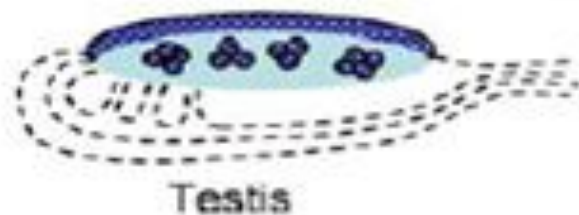
Активация



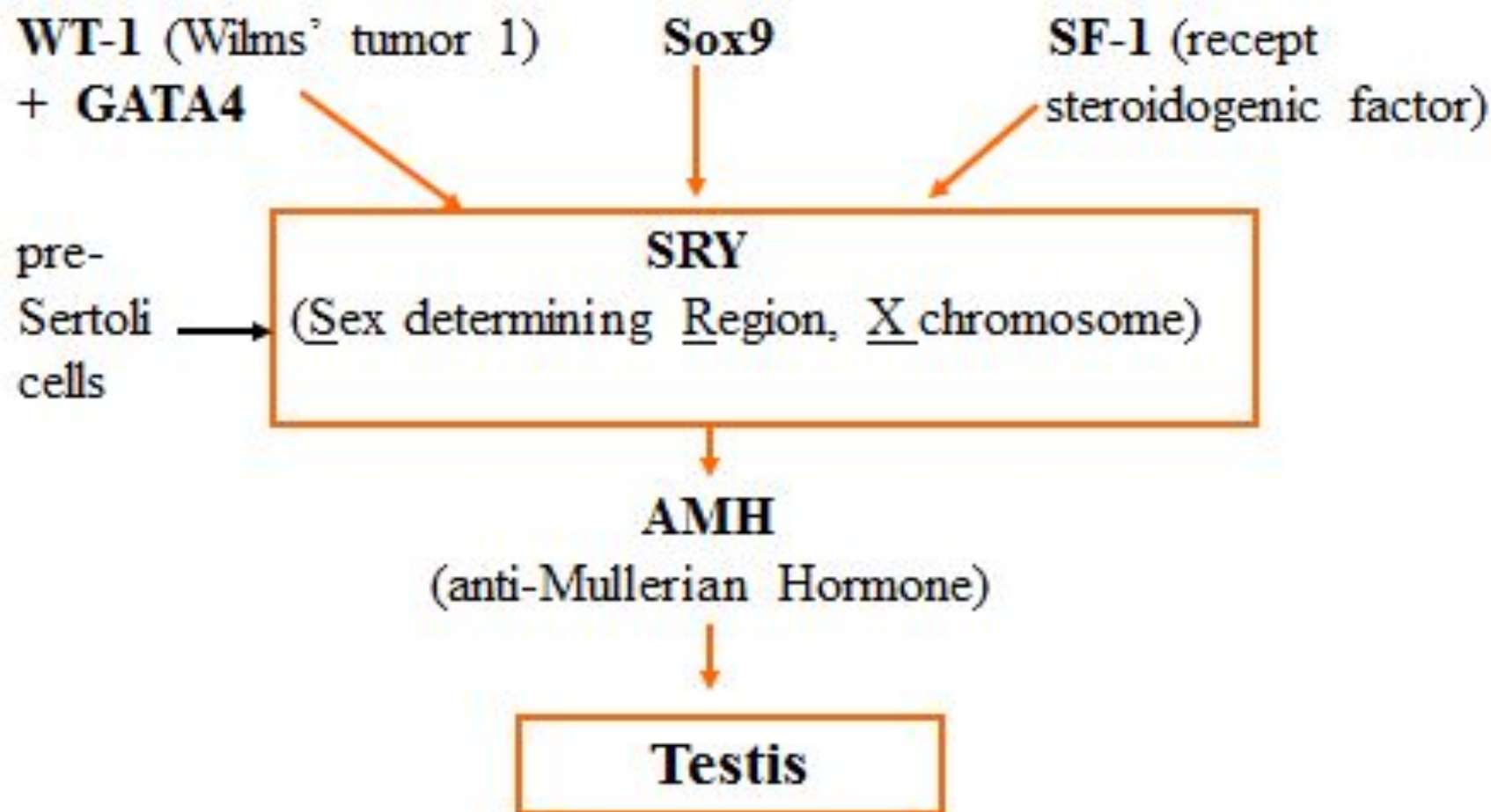
Инактивация



fate determination  
morphogenesis

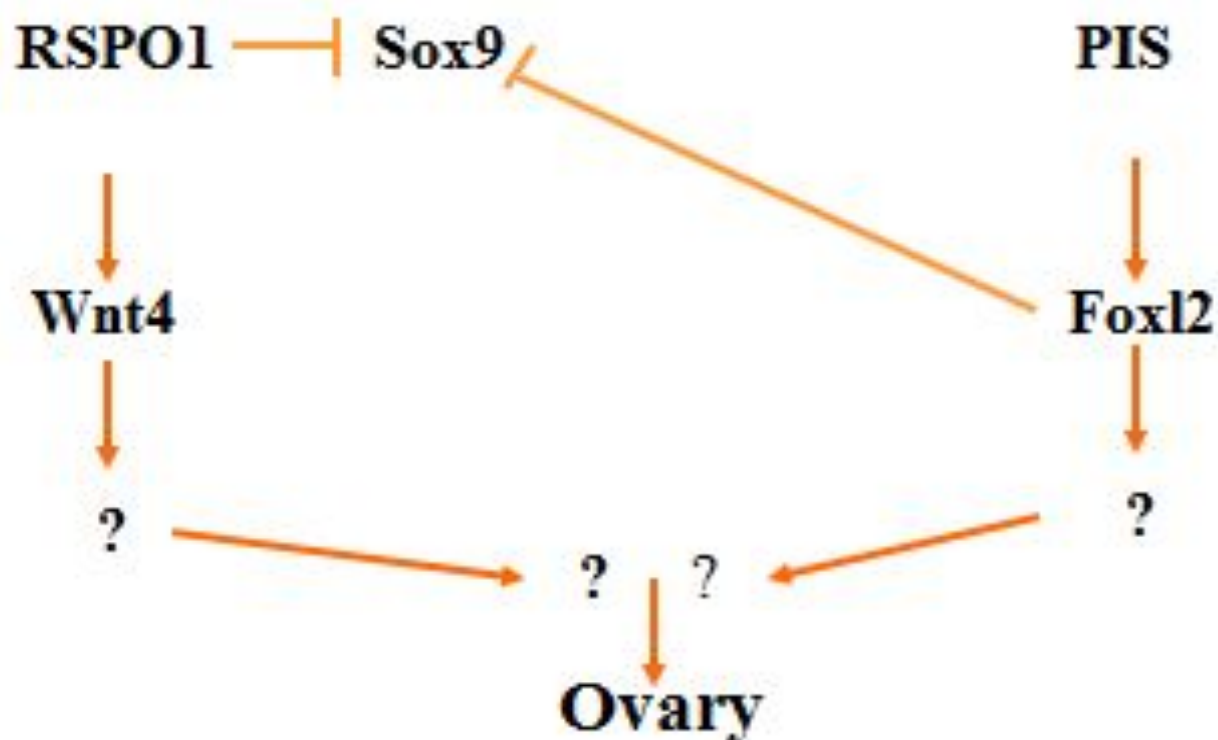


## Дополнительные метаболические пути детерминации мужского пола у млекопитающих





## Метаболические пути детерминации женского пола у млекопитающих



Предпосылки: а) 4 брата XX без гена SRY с мутацией в гене RSPO1;  
б) нокаут Foxl2

# **Эпигенетика и онтогенез**

**Эпигенетика (epigenetics)** [греч. *epi* — на, над, сверху и *genetikos* — относящийся к происхождению] — «ветвь биологии, изучающая причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип» (К. Уоддингтон, 1942); наука об обратимых наследственных изменениях функционирования гена, которые происходят без изменений в нуклеотидной последовательности ДНК.

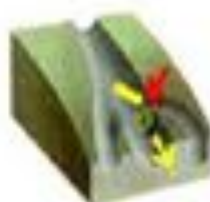
# Модель эпигенетического ландшафта К. Уоддингтона



**Норма**  
развитие идет  
по наиболее вероятному -  
нормальному пути



**Мутация**  
отклоняет ход развития



**Воздействие  
среды (лечение)**  
может стабилизировать  
действие мутации и вернуть  
развитие к норме



**Вредное  
влияние среды**  
может привести к отклонению  
от нормального пути развития  
даже при отсутствии мутации

В процессе эмбриогенеза  
осуществление  
записанной в генах  
программы развития  
происходит в конкретных  
условиях среды.

# МикроРНК и эмбриогенез

Большинство известных **miRNAs** экспрессируется во время первых 4-х дней эмбриогенеза кур.

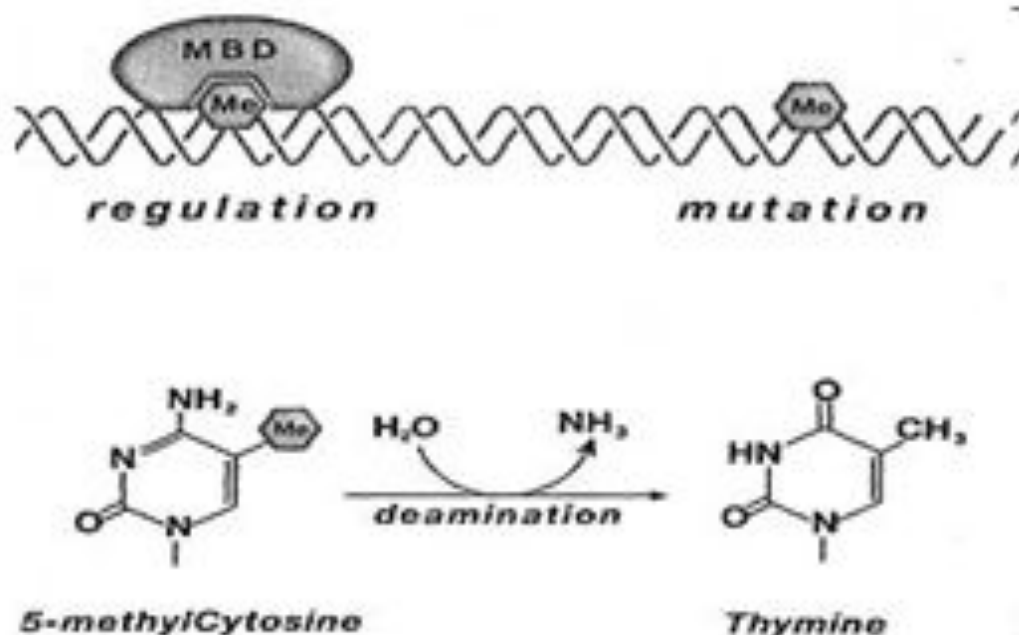
**miR-138** - запускает каскад активации генов ключевых белковых факторов, необходимых для формирования сердца.

**miR-181** - специфически экспрессируется в В-клетках костного мозга, способствует их дифференцировке.

**let-7b, miR-130b и miR-367** - специфически экспрессируются в эпибласте.

**let-7a, miR-10b, -18b и -363** - экспрессируются преимущественно в ранних зачатках конечностей.

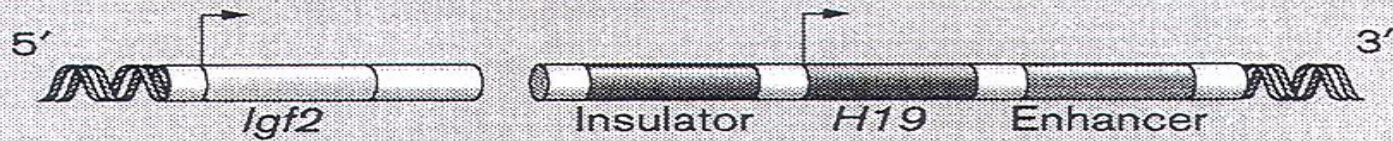
# Метилирование ДНК (цитозина) по CpG



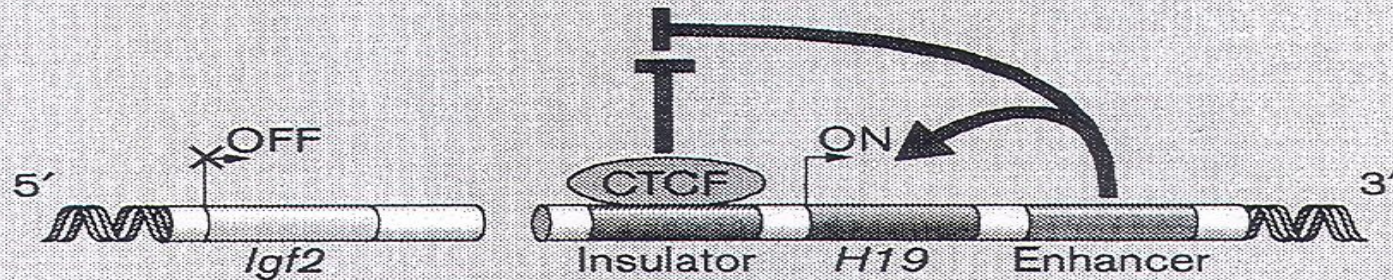
**Methylation and Deamination** Cytosine nucleotides that are methylated (Me) may be bound by methyl DNA-binding proteins (MBD). Unbound 5-methylcytosine is prone to spontaneous mutation through deamination (reaction shown in the lower panel), resulting in a 5-methyl CpG to TpA transition in the DNA sequence.

# Молекулярный механизм импринтинга

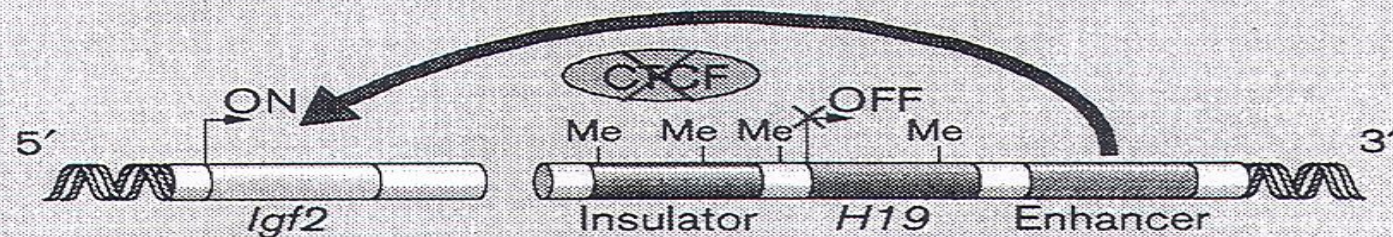
(a) *Igf2*-*H19* locus



(b) Maternal (unmethylated) locus



(c) Paternal (methylated) locus



# Схема инактивации X-хромосомы у самок млекопитающих в онтогенезе

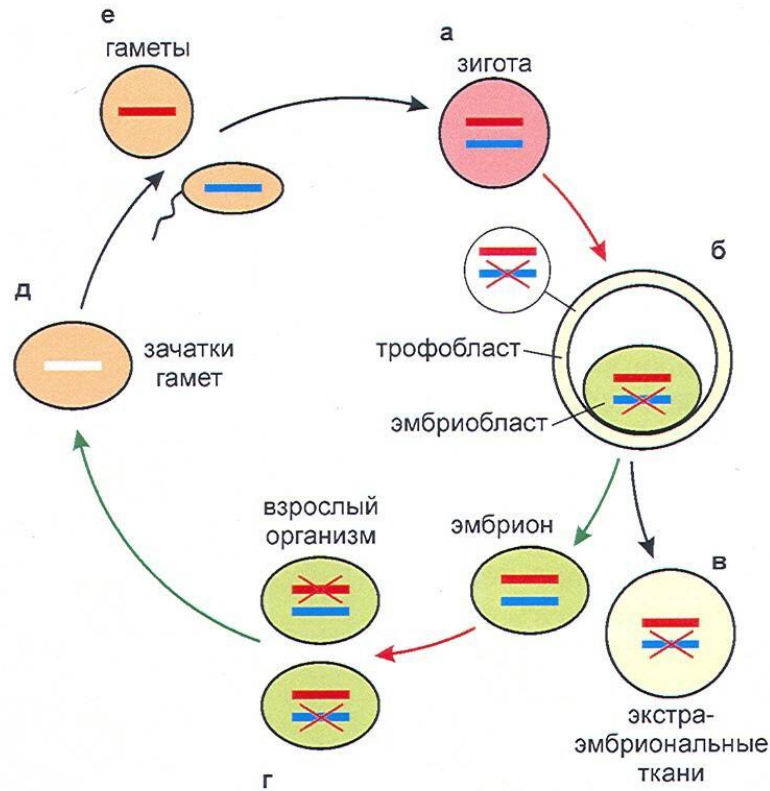
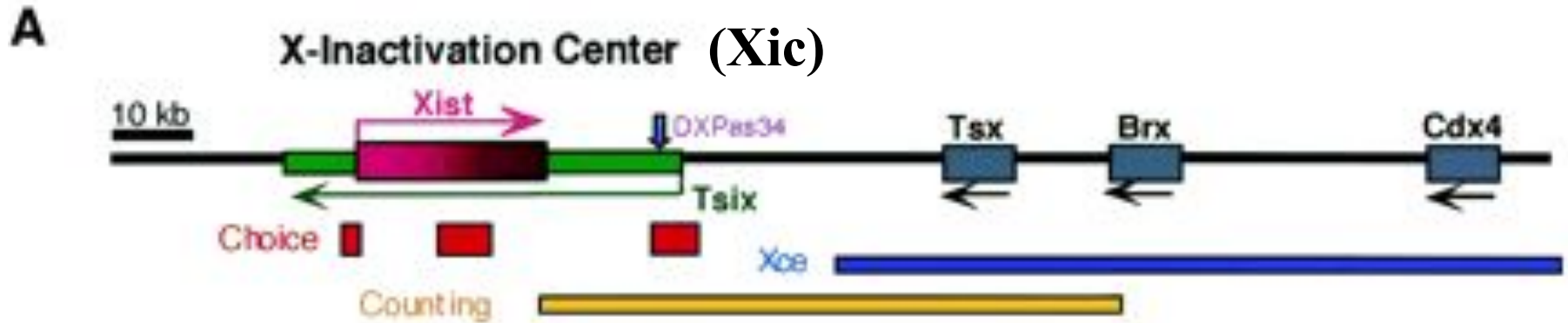


Схема изменений, происходящих с X-хромосомами в процессе онтогенеза некоторых млекопитающих. Красные полосы изображают X-хромосомы, пришедшие от самки (Xm), а голубые — от самца (Xp). Перечеркнутая красным крестиком хромосома обозначает инактивацию (Xi). Красные стрелки обозначают стадии, на которых происходит инактивация, а зеленые — реактивация



# Механизм инактивации X-хромосомы у млекопитающих



**Xist** – X inactivate specific transcript

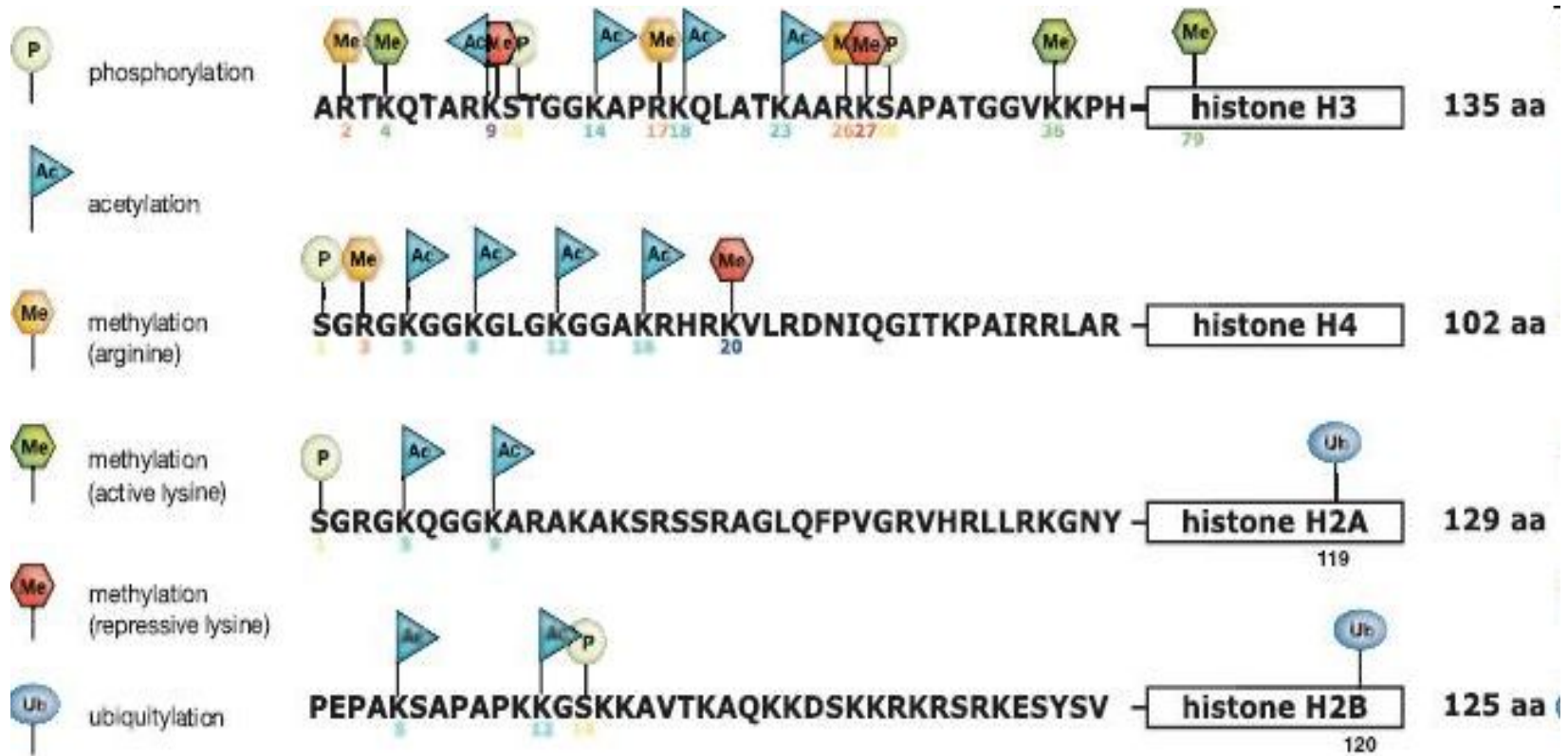
**Tsix** – антисмысловый локус



**Гистоновый код** — разнообразный набор модификаций (ацетилирование, фосфорилирование, метилирование, убиквитинирование, АДФ-рибозилирование) коровых гистонов, расположенных на поверхности нуклеосом, в результате которого происходят изменения экспрессии генов, передающиеся по наследству.

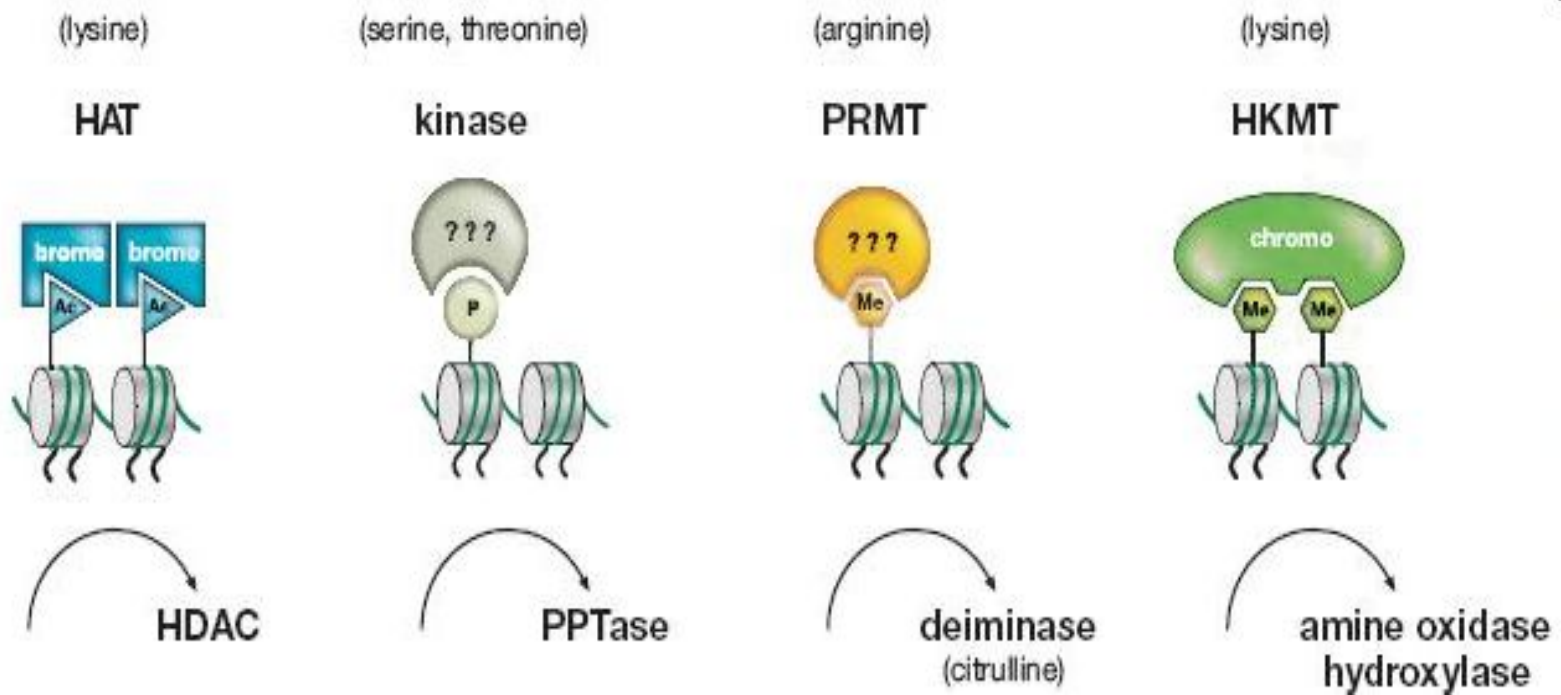
Модифицированные участки гистонов распознаются особыми регуляторными белками, содержащими определенные домены.

# Места модификаций «хвостов» ГИСТОНОВ



The amino-terminal tails of histones account for a quarter of the nucleosome mass. They host the vast majority of known covalent modification sites as illustrated. Modifications do also occur in the globular domain (boxed), some of which are indicated. In general, active marks include acetylation (turquoise Ac flag), arginine methylation (yellow Me hexagon), and some lysine methylation such as H3K4 and H3K36 (green Me hexagon). H3K79 in the globular domain has anti-silencing function. Repressive marks include H3K9, H3K27, and H4K20 (red Me hexagon), Green = active mark, red = repressive mark.

# Ферменты, модифицирующие гистоны

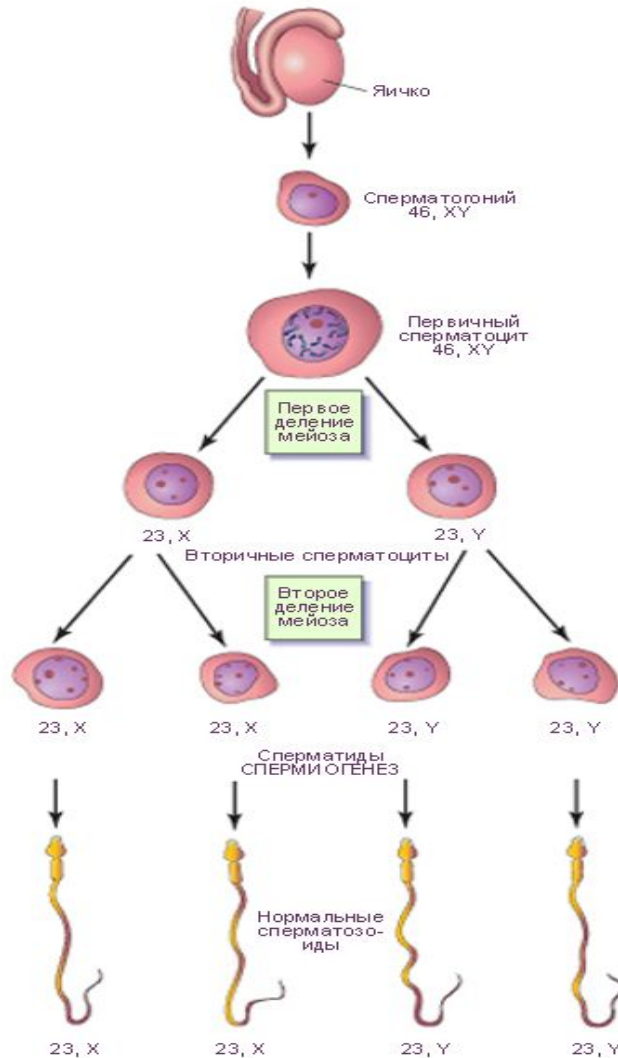


Covalent histone modifications are transduced by histone-modifying enzymes ("writers") and removed by antagonizing activities. They are classified into families according to the type of enzymatic action (e.g., acetylation or phosphorylation). Protein domains with specific affinity for a histone tail modification are termed "readers." (HAT) Histone acetyltransferase; (PRMT) protein arginine methyltransferase; (HKMT) histone lysine methyltransferase; (HDAC) histone deacetylase; (PPTase) protein phosphatases; (Ac) acetylation; (P) phosphorylation; (Me) methylation.

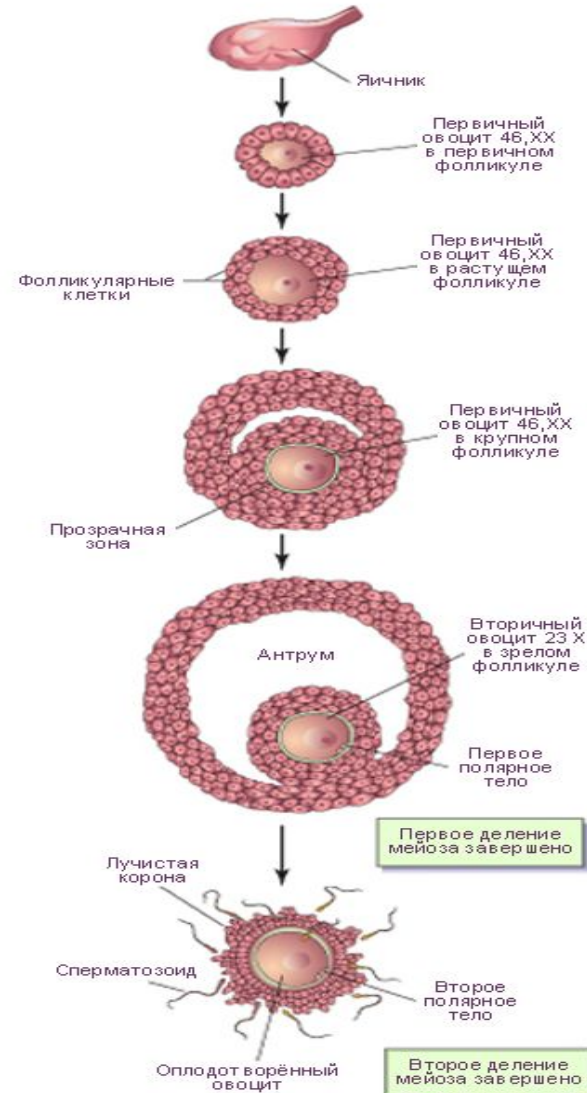
# **Молекулярные механизмы гаметогенеза**

# Гаметогенез

## Сперматогенез



## Оогенез



# Сперматогенез

## Три этапа выделения линии клеток зародышевого пути и их дифференцировка в гоноциты

1 – появление пре-первичных половых клеток (пре-ППК) в проксимальной области эпибласта в результате индукции гена *Blimp1* (он подавляет активность некоторых специфичных для соматических клеток гомеобоксных генов семейства *Hox*) и синтез белков Oct-4 и Nanog, восстанавливающих плюрипотентность этих клеток;

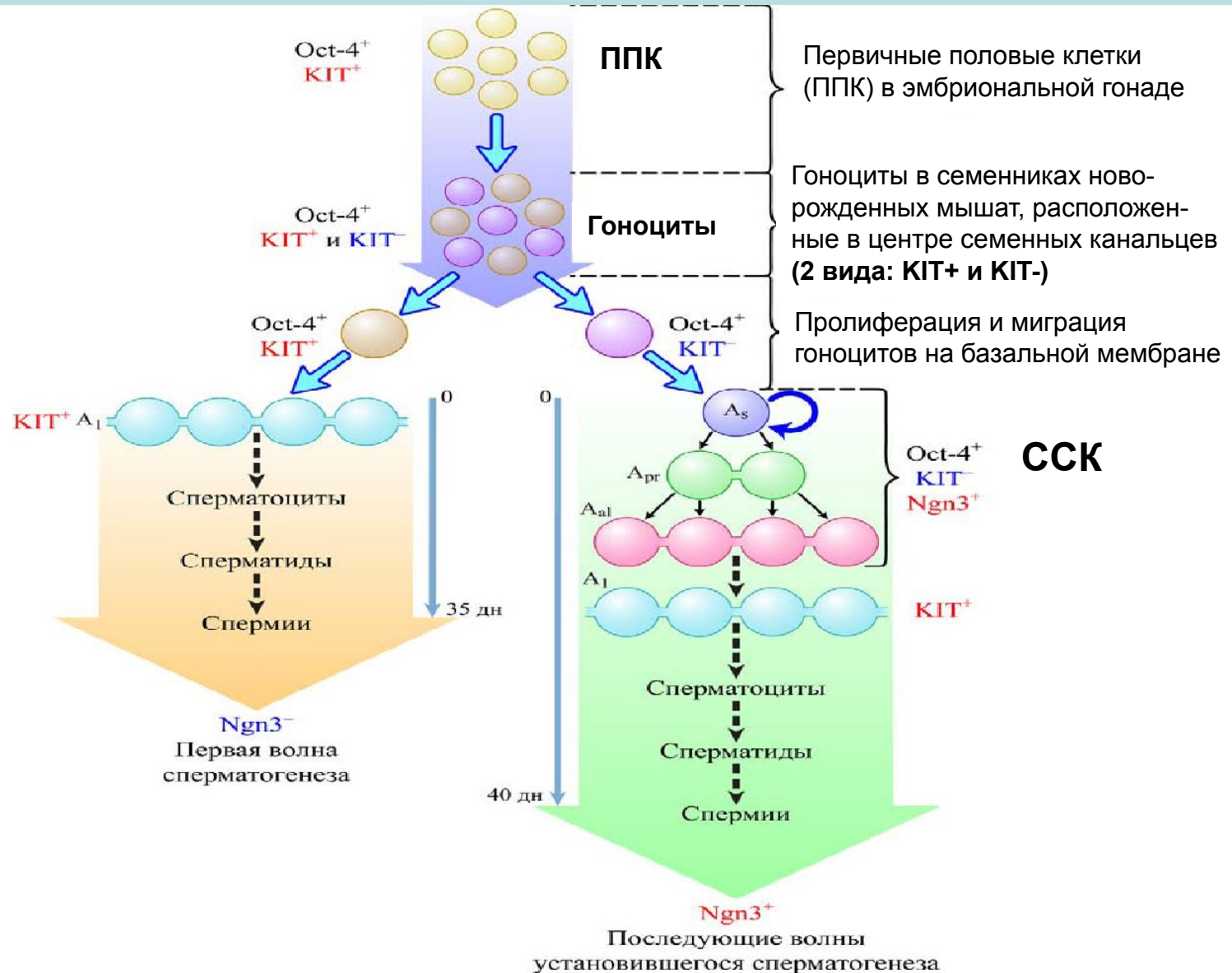
2 – дифференцировка пре-ППК в ППК под действием белков *Blimp1*, *Fragilis*, *Sox-2*, *Stella*;

3 – контакт ППК с предшественниками клеток Сертоли, приводящий к их дифференцировке в гоноциты (GDNF).

**Гоноциты – предшественники сперматогониальных стволовых клеток (ССК)**



# Постнатальный онтогенез – дифференцировка гонцитов в стволовые сперматогониальные клетки и сперматозоиды

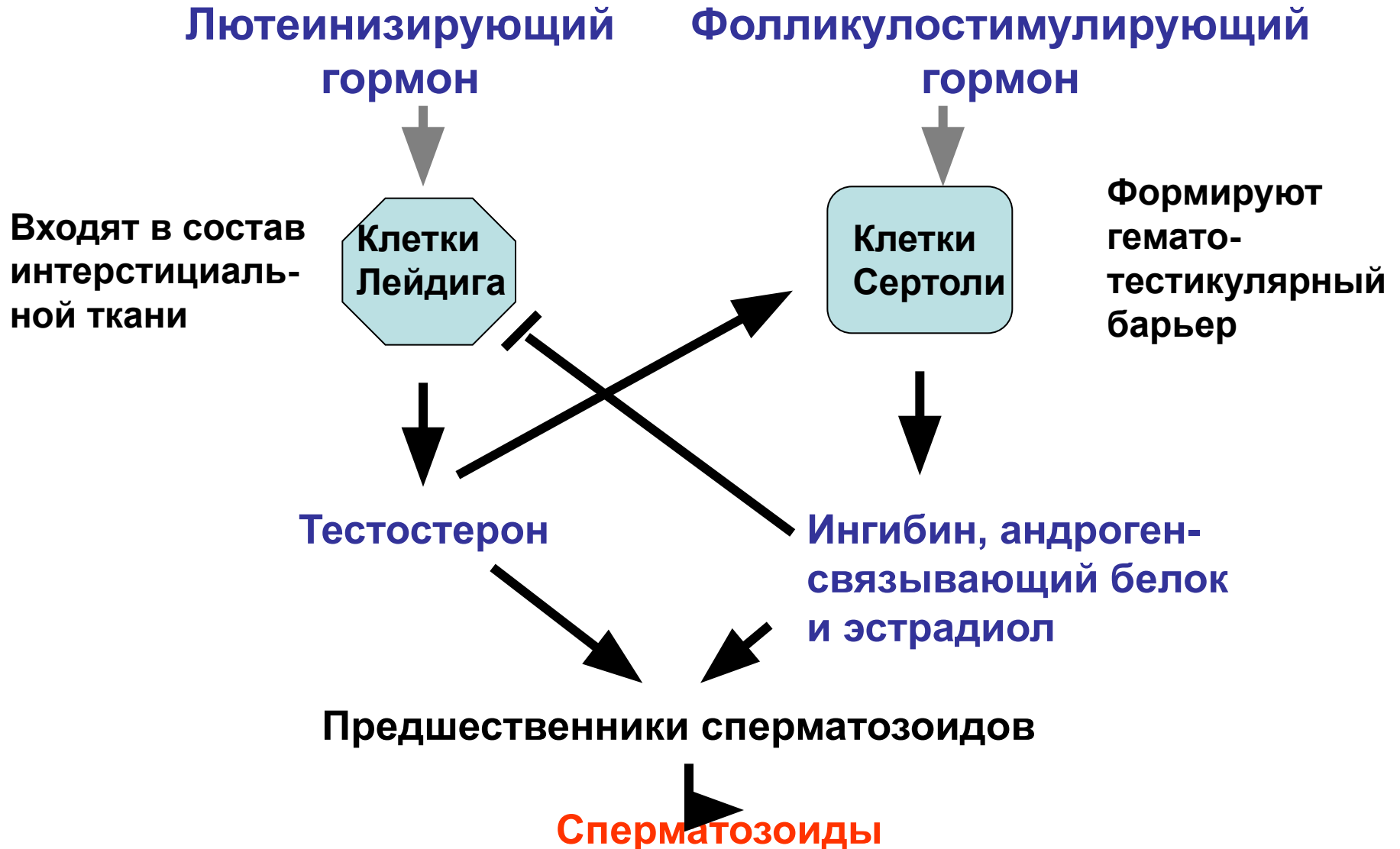


# Главные белки – регуляторы самообновления и дифференцировки **ССК** (для мыши).

Сокращ. название	Белок Полное название / класс	Клетки, экспрессирующие белок <sup>(1)</sup>	Известные индукторы экспрессии	Гены-мишени + <i>reg.</i> / - <i>reg.</i> <sup>(2)</sup>	Начало экспрессии, (дпр) <sup>(3)</sup>	Возраст на момент полного исчезновения МПК у нокаутированных мышей	Ссылки
<b>Белки ответственные за поддержание стволового состояния ССК</b>							
<b>Oct-4</b>	octamer-4 / фактор транскрипции	A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub> , A <sub>id</sub> , OC	Нет данных	Нет данных	1	Нет данных	Vlaas <i>et al.</i> , 2004
<b>Plzf</b>	zinc-finger / фактор транскрипции	A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub> , A <sub>id</sub>	Нет данных	<i>ash2l, cldv11, cyp1a1, dmr2, gpd1, hsd17b1, puip1, rbn3,9 / c-myc</i>	-3,5	Нет полной потери МПК к 3 мес	Vlaas <i>et al.</i> , 2004 Costoya <i>et al.</i> , 2004
<b>Белки, поддерживающие самообновление ССК</b>							
<b>GDNF</b>	glial cell line derived neurotrophic factor / фактор роста	КС	ФСТГ	<i>bcl6b, erm, lhx1, numb, erg1 2,3, Sox-2 / ngn3</i>	-1	8-10 нед	Meng, 2001 Hafmann <i>et al.</i> , 2005 Brydich-Stolle <i>et al.</i> , 2005
<b>ERM</b>	Ets related molecule / фактор транскрипции	КС, (A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub> , A <sub>id</sub> ) <sup>(4)</sup>	FGF-1,2,9	<i>stra8, Sdf-1, lx, Ccl7, dazl, Mmp-12, klf7, cycln E2 / -</i>	-15-20	10 нед	Chen <i>et al.</i> , 2005 Brydich-Stolle <i>et al.</i> , 2007
<b>Taf4b</b>	TSP-associated factors 4b / фактор транскрипции	A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub> , A <sub>id</sub>	Нет данных	<i>stra8, c-ret / -</i>	-1	Нет полной потери МПК к 3 мес	Falender <i>et al.</i> , 2005
<b>GFRα-1</b>	GDNF family receptor α-1/ поверхностный рецептор	A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub>	GDNF	<i>bcl6b, erm, lhx1, numb, kcnh2, Sox-2 / ngn3</i>	-3	8-10 нед	Naughton <i>et al.</i> , 2006 He <i>et al.</i> , 2007
<b>c-Ret</b>	ret proto-oncogene – receptor tyrosine kinase / поверхностный рецептор	A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub> , A <sub>id</sub>	Taf4b	<i>bcl6b, erm, lhx1, numb, kcnh2, Sox-2 / ngn3</i>	-1	8-10 нед	Naughton <i>et al.</i> , 2006
<b>Src</b>	Rous sarcoma oncogene – Serine - Threonine protein kinases / киназа	КЛ, КС, СГ, СП	Нет данных	<i>n-myc, bcl6b, erm, lhx1 / -</i>	-7	Нет данных	Gye <i>et al.</i> , 2005 Brydich-Stolle <i>et al.</i> , 2007 Oatley <i>et al.</i> , 2007
<b>N-myc</b>	nuclear proto-oncogene myc family / фактор транскрипции	A <sub>SC</sub>	GDNF	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Brydich-Stolle <i>et al.</i> , 2007
<b>Bcl6b</b>	B cell CLL/lymphoma 6 member b / фактор транскрипции	A <sub>SC</sub> , A <sub>reg</sub> , A <sub>id</sub> , OC	GDNF	Нет данных	Нет данных	Нет полной потери МПК к 4 мес	Oatley <i>et al.</i> , 2006, 2007

Белки		Клетки экспрессирующие белок <sup>(1)</sup>	Известные индукторы экспрессии	Гены-мишени + <i>per.1</i> / - <i>per.2</i> <sup>(2)</sup>	Начало экспрессии, (дир) <sup>(3)</sup>	Возраст нокаутированных мышей к моменту полной остановки сперматогенеза	Ссылки
Сокращ. название	Полное название / класс						
<b>Белки, инициирующие вступление ССК в дифференцировку</b>							
Notch-1	Notch-1 / <a href="#">поверхностный рецептор</a>	СГ, СП, ОС, УС	Нет данных	Нет данных	-6	Нет данных	Dirami <i>et al.</i> , 2001 Hayashi <i>et al.</i> , 2001 Mori <i>et al.</i> , 2003
Jagged-1	Jagged-1 / <a href="#">поверхностный белок</a>	КС	ФСГ	Нет данных	Нет данных	Нет данных	Dirami <i>et al.</i> , 2001
SOX-3	Sry-related HMG box-3 / <a href="#">Фактор транскрипции</a>	A <sub>sc</sub> , A <sub>pr</sub> , A <sub>d</sub>	Нет данных	<i>ngn3</i> / <i>oct-4</i>	-7	2 нед	Raverot <i>et al.</i> , 2005
Ngn3	Neurogenin3 / <a href="#">фактор транскрипции</a>	A <sub>sc</sub> , A <sub>pr</sub> , A <sub>d</sub>	Sohlh1, SOX-3	Нет данных	-5		Yoshida <i>et al.</i> , 2004
<b>Белки, поддерживающие трансформацию сперматогониев A<sub>d</sub> в сперматогонии A<sub>1</sub></b>							
SCF	stem cell factor / <a href="#">фактор роста</a>	КС	ФСГ	<i>cyclin D3</i> , <i>Tert</i> , <i>bel-w</i> , <i>bel-x1</i> / <i>bel-2</i>	1	Нет блока сперматогенеза к 8 мес	Mauduit <i>et al.</i> , 1999 Yan <i>et al.</i> , 2000
c-Kit	tyrosine-kinase receptor / <a href="#">поверхностный рецептор</a>	КЛ, A <sub>ab</sub> , A <sub>1-4</sub> , In, B	BMP4, Sohlh1	<i>cyclin D3</i> , <i>Tert</i> , <i>bel-w</i> , <i>bel-x1</i> / <i>bel-2</i>	1	Нет данных	Feng <i>et al.</i> , 2000 Dolci <i>et al.</i> , 2002
BMP4	bone morphogenetic protein 4 / <a href="#">фактор роста</a>	КС, СП, ОС	Нет данных	<i>c-kit</i>	1	Нет данных	Pellegrini <i>et al.</i> , 2003
Dazl	deleted in azoospermia like / <a href="#">РНК связывающий белок</a>	СГ, СП	ERM	<i>syce3</i> , <i>hsps2</i> , <i>calm2</i> , <i>Mvh</i>	1	Уже на 9 день в канальцах присутствуют только СГ	Schrans-Stassen <i>et al.</i> , 2001 Collier <i>et al.</i> , 2005 Reynolds <i>et al.</i> , 2005
Sohlh-1	spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix (bHLH)-1 / <a href="#">фактор транскрипции</a>	A <sub>ab</sub> , A <sub>1-4</sub> , In, B	Нет данных	<i>ngn3</i> , <i>c-kit</i> , <i>lhx8</i> , <i>crabp1</i> / <i>Sox-30</i> , <i>syce2</i>	-1	7 нед	Ballow <i>et al.</i> , 2006

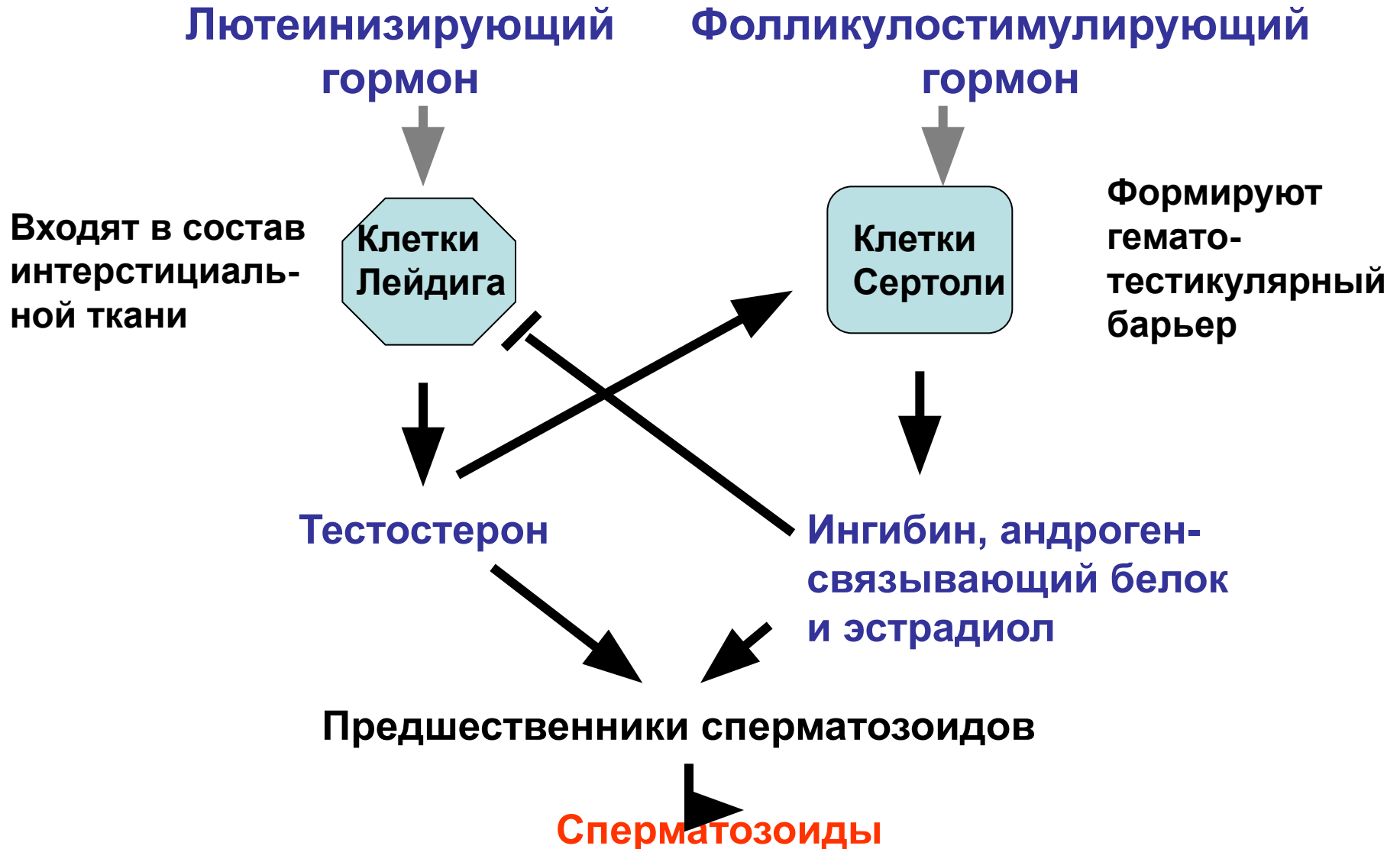
# Структурно-функциональная роль клеток Лейдига и Сертоли и выделяемых ими гормонов



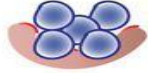



# Сперматогенез и гены

- 1) **Prm1 и Prm2** - гены, кодирующие протамины.
- 2) **Sperm1** – ген терминальной дифференцировки мужских половых клеток.
- 3) **FANK1** - предотвращает апоптоз сперматоцитов.
- 4) **Dmrt1** - контролирует ремоделирование и дифференцировку ювинальных семенников.
- 5) **DAZ** – мутации в этом гене приводят к бесплодию у мужчин
- 6) **TAp73** – необходим для сперматогенеза и поддержания мужской фертильности.

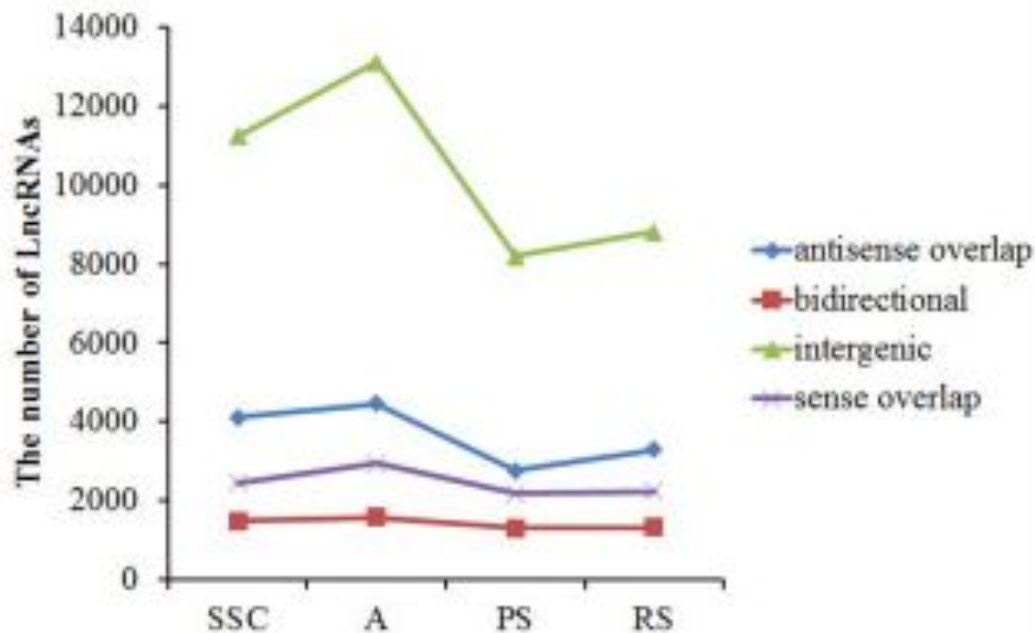
# Структурно-функциональная роль клеток Лейдига и Сертоли и выделяемых ими гормонов



# Экспрессия miRNA при сперматогенезе

	PGC  SSEA+ OCT4+ BSA gr.	SSC  THY1+ Cultured THY1+	SG  SE BSA gr.	Spermatocyte  STA-PUT	Spermatid  HS
let-7	c	e g	5 a c	d	a
miR-103	7 a b c	g	c	d	
miR-10		e f			a
miR-1195		g			
miR-125a-5p	c	g	c		
miR-143			a		a
miR-145			c		
miR-146		f			
miR-148ab-3p	a		a		a
miR-15		g		d	
miR-17	3 a b c	8 e g	c		
miR-182	a	e	a		
miR-183	a				
miR-184		f			
miR-191	c		c	d	a
miR-19	b				
miR-202-5p				d	
miR-203		f			
miR-21		e			a
miR-214	c				
miR-24	a b	g	a		
miR-2461-5p			a		
miR-25	6 b c		c		
miR-26	c	g	c	d	
miR-290-3p	b				
miR-290-5p	b				
miR-291ab-5p	b				
miR-293	b				
miR-297b-3p		f		d	
miR-29					
miR-30	a	f	a		a
miR-3470a			a		
miR-34		e		d	a
miR-378	a		a		a
miR-451	c				a
miR-463		f			
miR-465abc-3p		e f			
miR-465abc-5p		f			

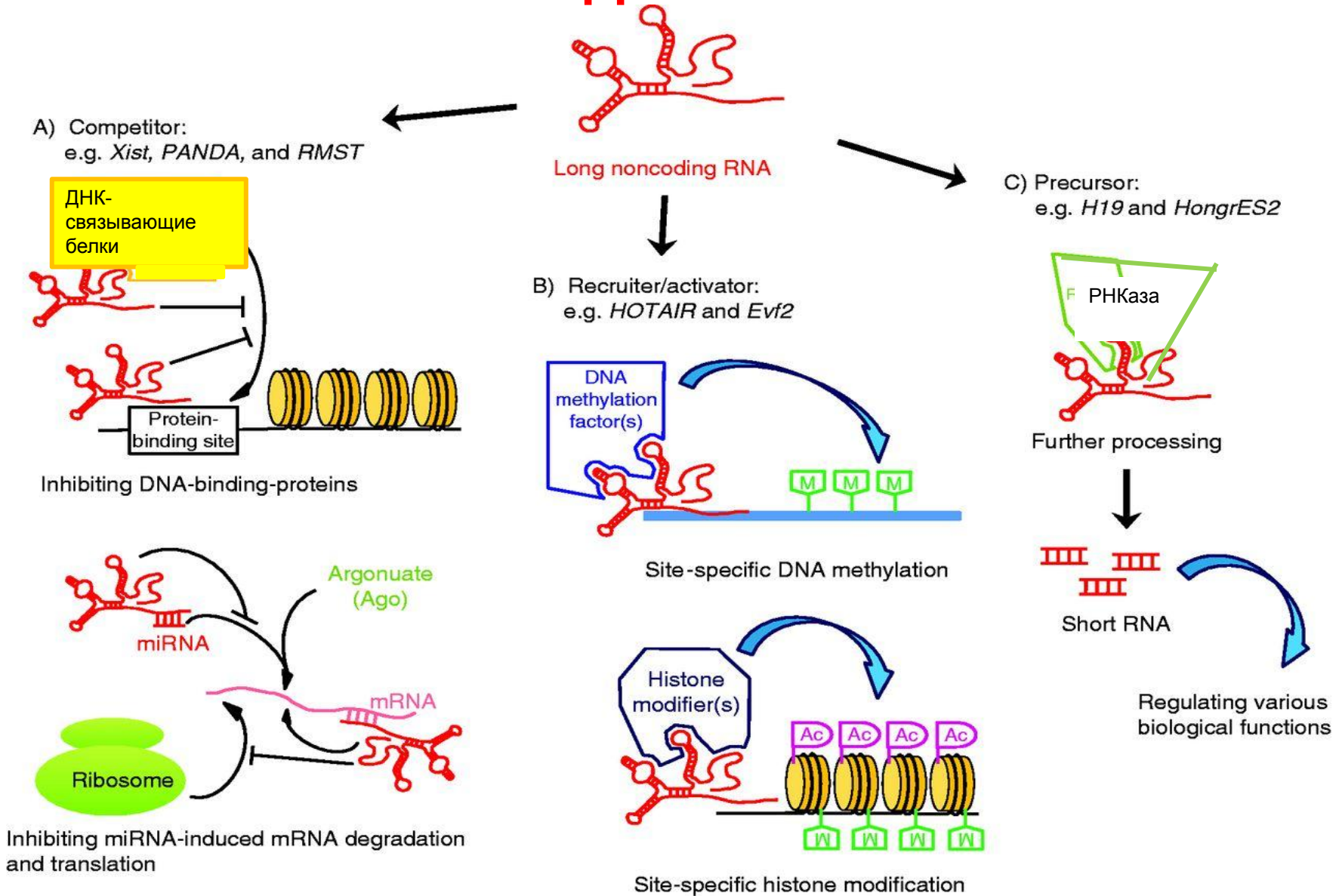
# Длинные некодирующие РНК (lncRNA) вовлечены в контроль созревания сперматозоидов



**SSC - spermatogonial stem cells,  
A - type A spermatogonia,  
PS - pachytene spermatocytes,  
RS - round spermatids**

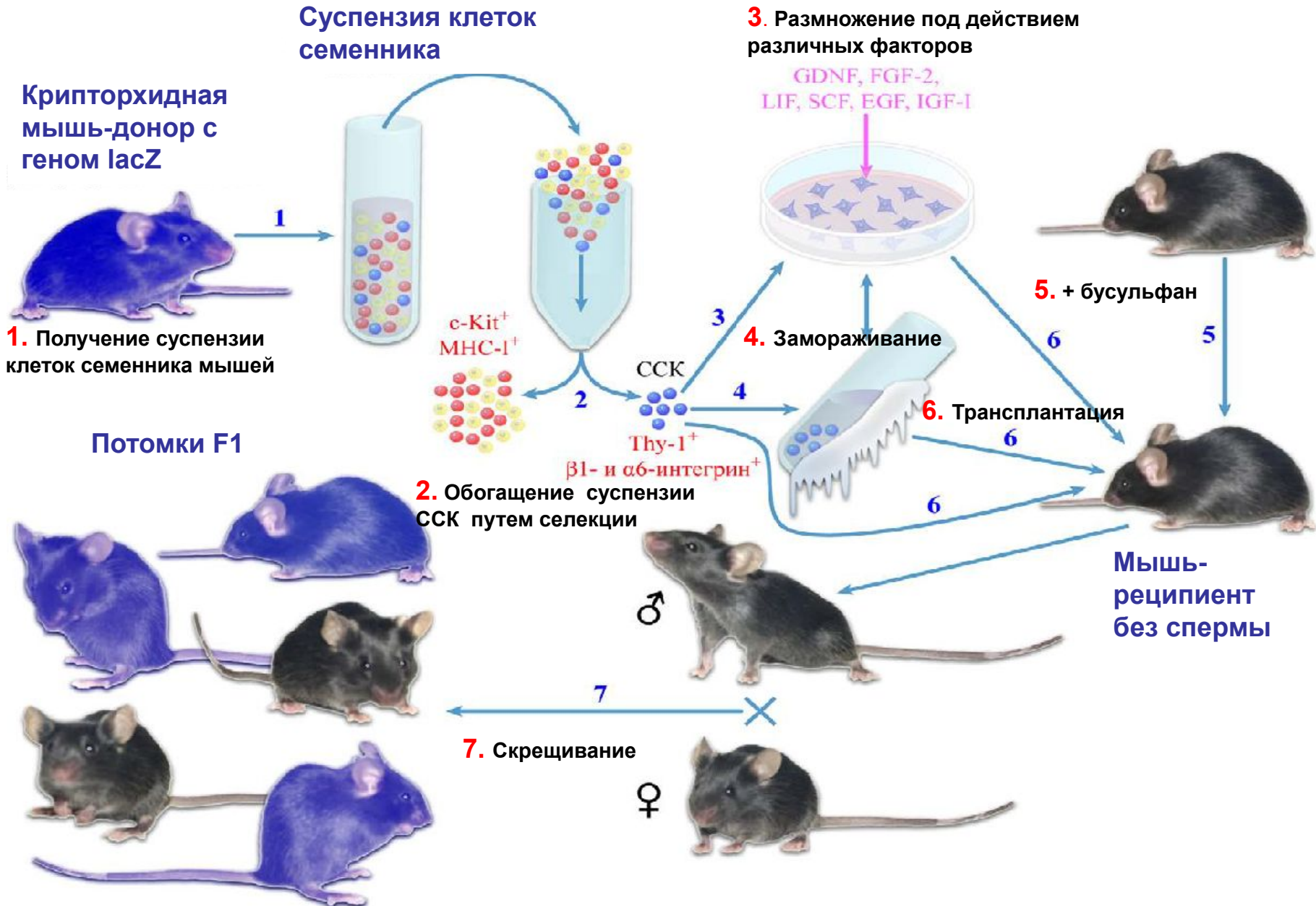


# Механизмы действия lncRNA



# Трансплантация ССК

(1994 г., Бринстер с соавт.)

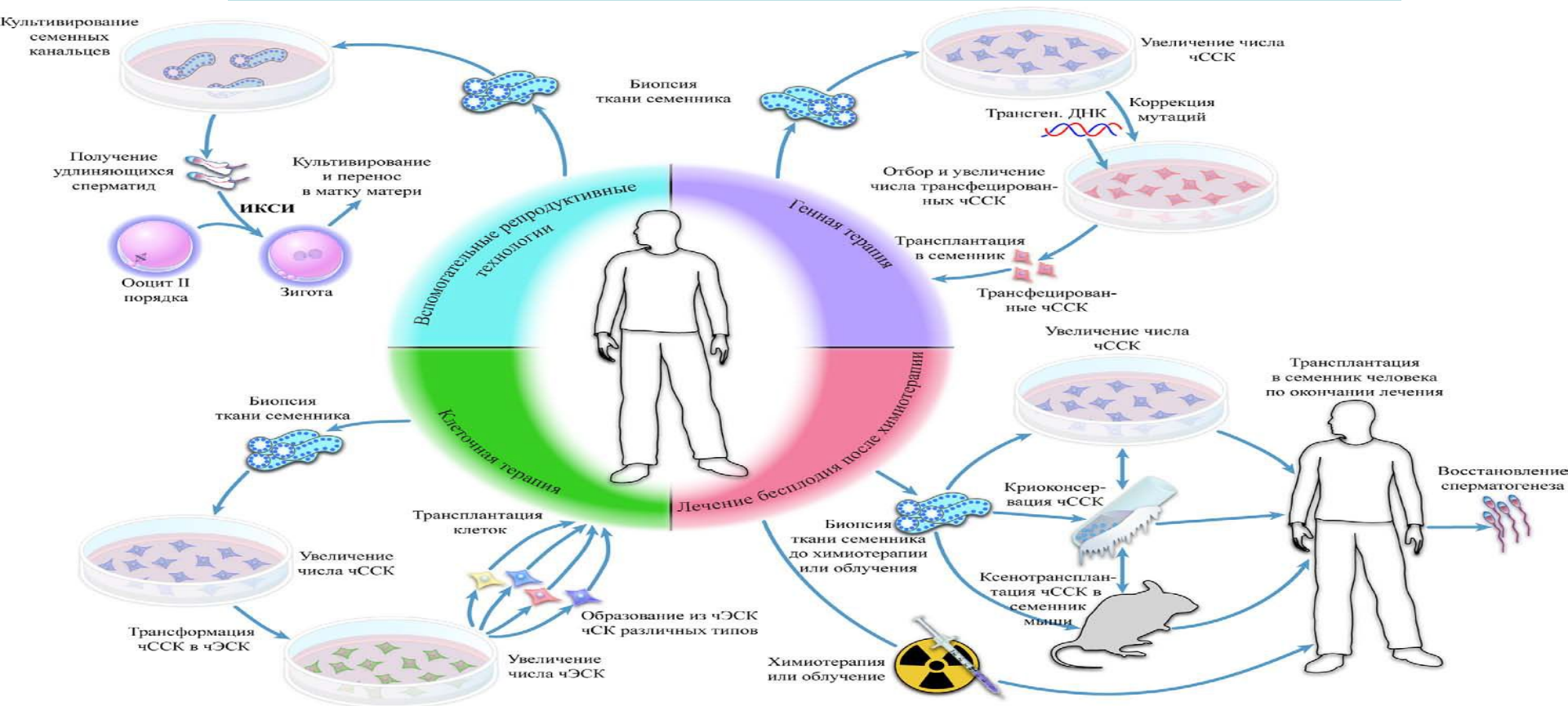


# **Трансфекция ССК – новый метод трансгеноза (2001 г., Нагано и соавт.)**

## **Преимущества данного метода:**

- 1- трансген попадает сразу в линию половых клеток, что точно обеспечивает его передачу по наследству.**
- 2 - возможно получение сразу большого количества трансгенных животных, причем у разных особей трансген будет встроен в разные участки генома, что позволит выбрать из них оптимальный вариант.**
- 3 - данная методика может быть применена к млекопитающим различных видов, тогда как культивирование ЭСК пока возможно только для мышей и человека.**

# Возможные способы применения чССК в клинике.



**Вспомогательные репродуктивные технологии** – биопсия ткани семенника, например при азооспермии, позволит получить округлые сперматиды и оплодотворить ими ооцит (ИКСИ). Пересадка полученного таким образом зародыша в матку приводит к его развитию.

**Генная терапия** – получение чССК у пациентов с генетически обусловленным бесплодием делает возможной коррекцию мутаций в этих клетках *in vitro*. Пересадка трансфицированных чССК в семенники пациента позволит восстановить у него сперматогенез.

**Лечение бесплодия после химиотерапии** – сперматогенез излеченных от онкологических болезней пациентов возможно восстановить с помощью ССК, взятых у них до проведения химио- и радио-терапии.

**Клеточная терапия** – трансформация чССК пациента *in vitro* в чЭСК позволит затем получать различные соматические чСК и с их помощью производить клеточную терапию заболеваний у пациента.

# Оогенез

Постулат Уильяма Харви (1578-1657):  
*ex ovo omnia* — все живое из яйца.

**- Начало оогенеза** - миграция первичных половых клеток (ППК) из желточного мешка к урогенитальной складке и формирование линии герминативных клеток.

**- В процессе половой дифференцировки** - ППК дают начало **оогониям**, которые, подвергаясь митозу, увеличивают свою популяцию в развивающихся женских гонадах. Входя в первое деление мейоза, оогонии становятся **ооцитами**.

# Оогенез и гены

## Гены с материнским эффектом:

- Гистоновые, актиновые, тубулиновые – структурные белки.
- Гены, кодирующие онкобелки (напр., *c-myc*).
- Гены **ZP 3** и **ZP 2** - формируют блестящую оболочку в процессе созревания яйцеклетки, **ZP 3** - рецептор сперматозоида.
- **Zar1** - важен для развития эмбриона до двухклеточной стадии.
- **OCT-4** - экспрессируется в зрелых ооцитах, делящихся эмбрионах до стадии морулы (плюрипотентность).
- Ооцит-специфичный линкерный гистон **H1 (H1F00)**, нуклео-плазмин **2 (Npm2)**, ооцитарная изоформа ДНК-метилтрансферазы-1 (**Dnmtlo**) - вовлечены в механизмы эпигенетической регуляции генов.

# Использование нокаута для выяснения функций генов с материнским эффектом

Gene	References	Fertility		Stage of developmental arrest
		Male	Female	
<i>Mater</i>	Tong et al., 2000 [4]	F	S	2C
<i>Hsf1</i>	Christians et al., 2000 [5]	F	S	Zygote
<i>Dnmt1o</i>	Howell et al., 2001 [6]	F	S	Post-I
<i>Dnmt3l</i>	Bourc'his et al., 2001 [7]	S	S	Post-I
<i>Fmn2</i>	Leader et al., 2002 [8]	F	SubF	MI
<i>Pms2</i>	Gurtu et al., 2002 [9]	S	F	Pre-I
<i>Tcl1a</i>	Narducci et al., 2002 [10]	F	SubF	4C to 8C
<i>Npm2</i>	Burns et al., 2003 [11]	F	SubF or S	Zygote
<i>Stella</i>	Payer et al., 2003 [12]	F	SubF	Pre-I
<i>Zar1</i>	Wu et al., 2003 [13]	F	S	Zygote
<i>Ube2a</i>	Roest et al., 2004 [14]	F	S	2C
<i>Zfp36l2</i>	Ramos et al., 2004 [15]	F	S	2C
<i>Uchl1</i>	Sekiguchi et al., 2006 [16]	NM	S	Zygote
<i>Filia</i>	Zhenq and Dean, 2009 [17]	F	SubF	zygote to MO

F- фертильны; S - стерильны; 2C – двухклеточная стадия; Post-I - постимплантация; SubF - субфертильные; MI – метафаза I; MO - морула



## **НОХ гены вовлечены в контроль созревания ооцитов**

В ооцитах экспрессируются гены ***НОХD1, НОХA3, НОХD4, НОХB7, НОХB9, НОХC9***

Гены ***НОХD1, НОХA3, НОХC9*** прекращают свою экспрессию на 5-8-клеточной стадии развития эмбриона.

***НОХB9*** увеличивает свою экспрессию на стадии между ооцитами и морулой.

***Lhx8*** – при нокауте - прекращается дифференцировка ооцитов.

***Nobox*** - при нокауте - исчезновение ооцитов.

# **miRNA вовлечены в контроль созревания ооцитов**

**miR-21 и miR-130a – синтезируются  
специфически в ооцитах**

**miRNA-181 – ингибитор ооцит-  
специфического белка Nucleoplasmin 2**

**Инактивация Dicer – нарушение оогенеза**

# Поляризация в ооцитах

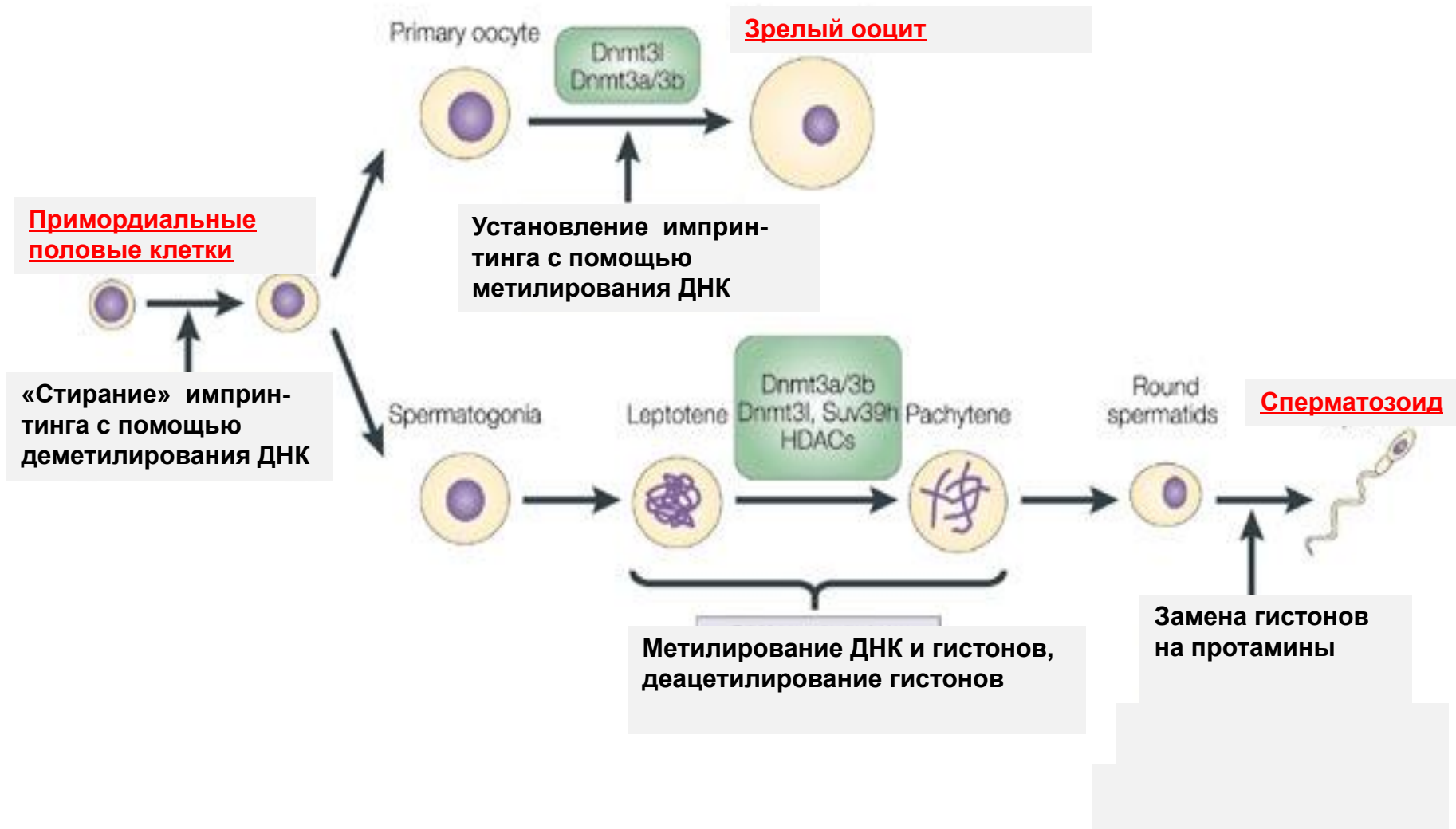
Направленный перенос белков и мРНК к специфическим внутриклеточным микрокомпартаментам в ооцитах осуществляется при участии микротрубочек и микрофиламентов цитоскелета.

В результате:

Вегетативный полюс – желток, мРНК Vg1, TGFbeta 5, Xcat 2, 3 и др.

Анимальный полюс - ядра клеток, мРНК An1-An2 и др.

# Эпигенетическое репрограммирование при гаметогенезе



# Несколько слов о вегетарианстве

Каждый волен сам выбирать себе любую диету. Но при этом людям, переходящим на путь вегетарианства, нужно учитывать следующее.

1) Для взрослых опасность от этих «экспериментов» хотя и существует, но, вероятно, не слишком велика. Организм у них уже сформировался в «безвегетарианскую эпоху». Ну, нет некоторых витаминов в растениях (например, витамина В12), зато других в избытке. Однако и здесь последствия не предсказуемые. А вот для **детей это просто катастрофа**: доказано практикой, что при гиповитаминозе у детей задерживается рост их организма, нарушается развитие нервной системы, возникает анемия. А это уже не шутки.

2) Растительные белки, как правило, плохо усваиваются, менее полноценны, чем животные. Приводимая в качестве обратного примера соя содержит свои «особенности», например, она содержит фитоэстрогены, которые плохо влияют на гормональный обмен у мужчин.

3) Очень важные для организма микроэлементы (железо, кальций, цинк, медь) очень трудно полноценно получить при питании только растительной пищей (нужен специальный и очень разнообразный рацион).

**Мы, люди, по определению не жвачные животные (как, например, коровы, мясо которых так не любят вегетарианцы), мы всеядные животные!!!**

Можно приводить много других примеров. Но все бесполезно. Множество «пропагандистов» работает на этом поле. Какой вопрос не возьми – всегда есть аргументы за и против. Одни уверяют, что СПИДа нет. А миллионы людей страдают от него. Другие говорят, что есть только одна религия и один Бог, а все остальное – обман (кто он? Иисус, Будда, Аллах?). И т.д. Можно еще долго перечислять. Весь ужас в том, что в третьем тысячелетии продолжают процветать дикие, далекие от реалий и науки воззрения. Жаль этих людей. Надо все-таки думать своей головой и ориентироваться во всем на свой собственный организм, а не на «советы» доброжелателей, разнообразных лецителей и чудотворцев.

**В ДНК жителей Индии, Азии и  
Африки найдены гены  
«вегетарианства» (2016 г.)**