

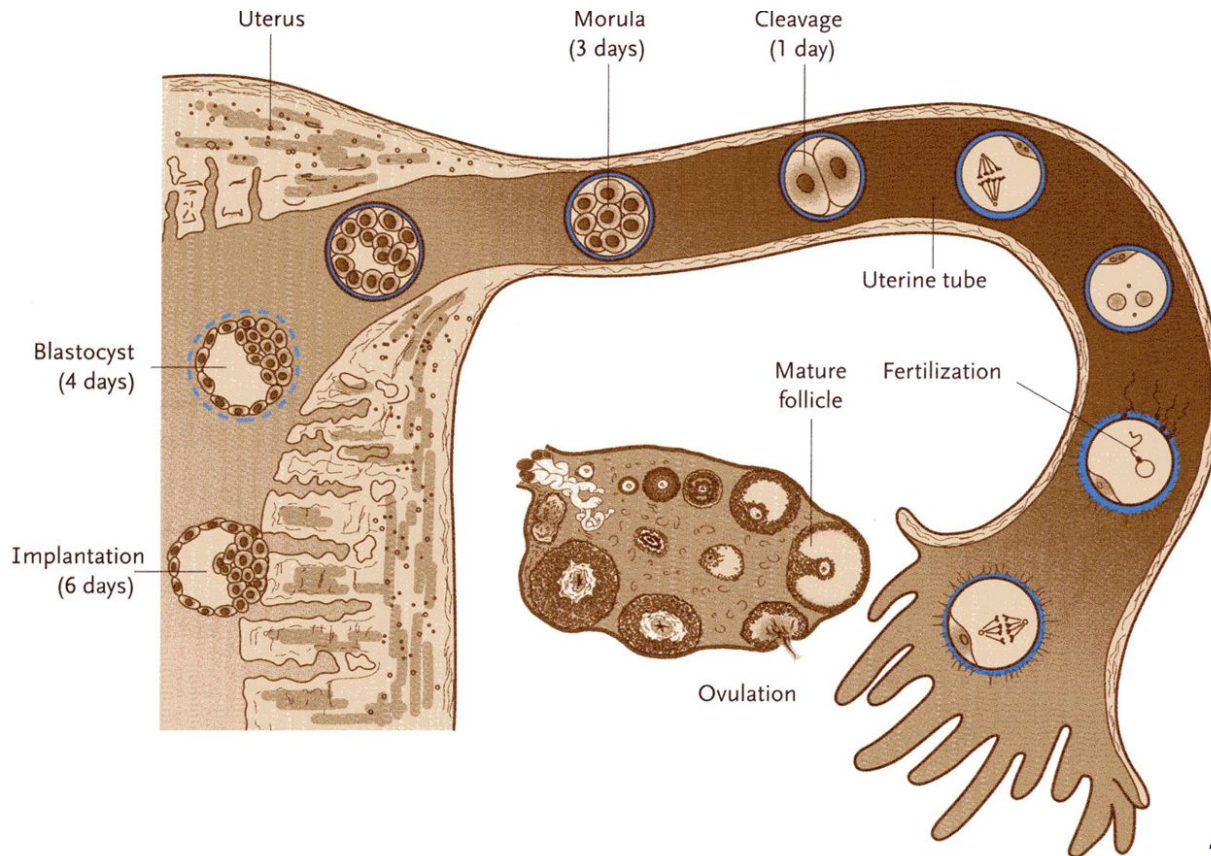
Семенова Мария Львовна

*д.б.н., профессор кафедры эмбриологии биологического факультета
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова*

***Экпрессия генов эмбриона – как это
проявляется в его морфологии ?***

MZT maternal-to-zygotic transition

Важнейшее событие преимплантационного развития - переход управления развитием эмбриона от материнского генома (генома ооцита) к геному зародыша.

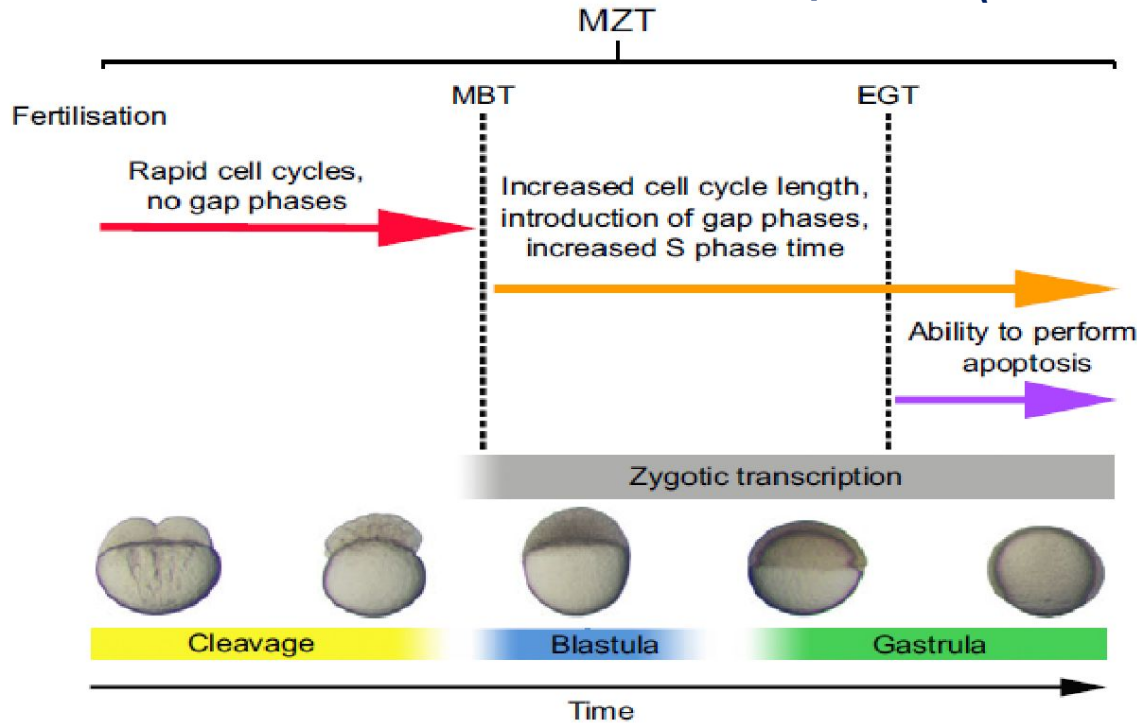


В раннем эмбрионе человека (как и любого другого животного) взаимодействуют две программы:

- материнская программа (реализуется за счет РНК, накопленных в оогенезе)
- программа эмбриона – за счет постепенного включения собственных генов

Успешное взаимодействие двух программ – это успешное развитие раннего эмбриона

**У большинства видов животных процесс MZT медленный:
в течение многих клеточных циклов (до 2-3 десятков циклов)**

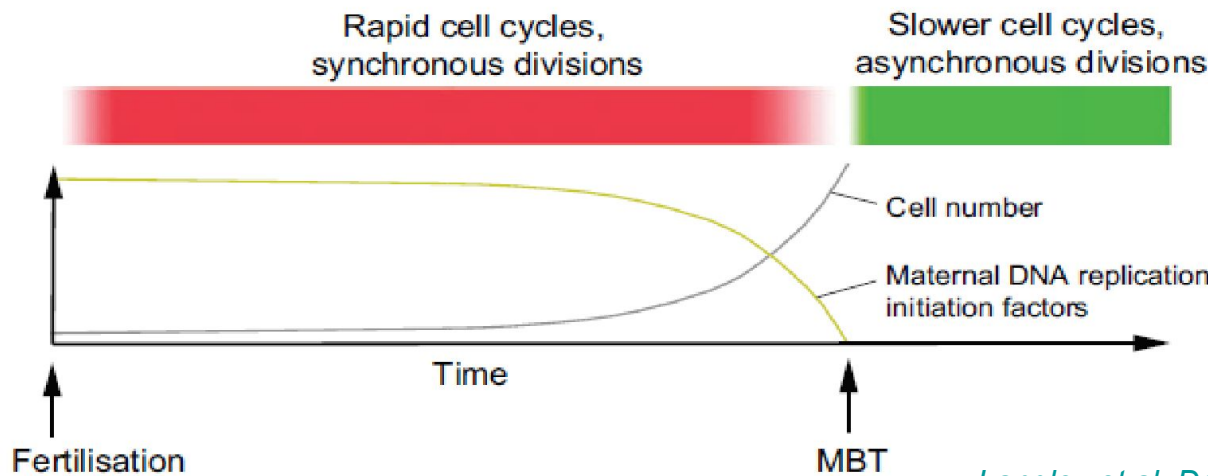


MBT – midblastula transition:

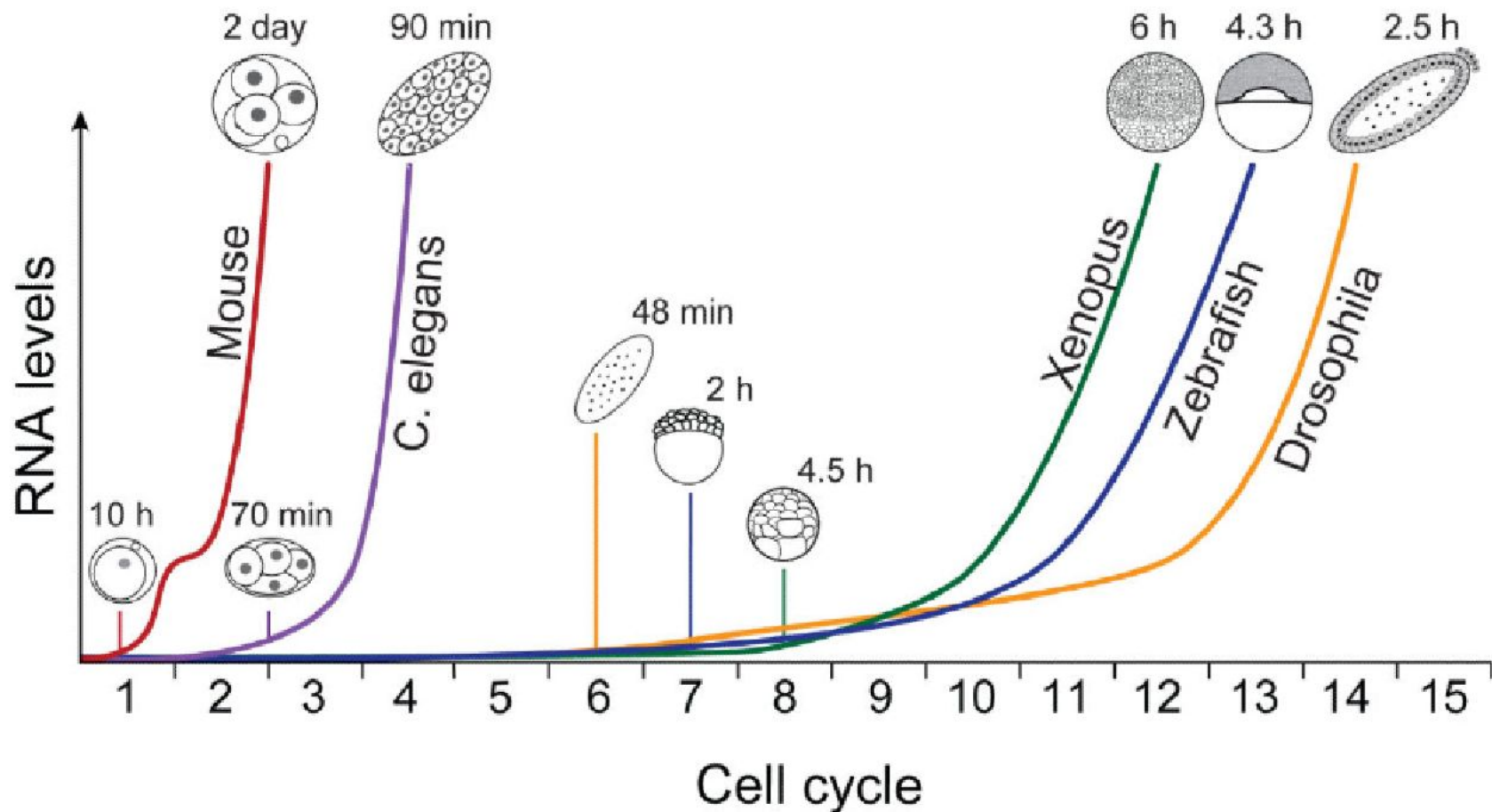
- начало активности генома зародыша;
- конец периода синхронных делений;
- конец периода коротких клеточных циклов;

EGT – early gastrula transition:

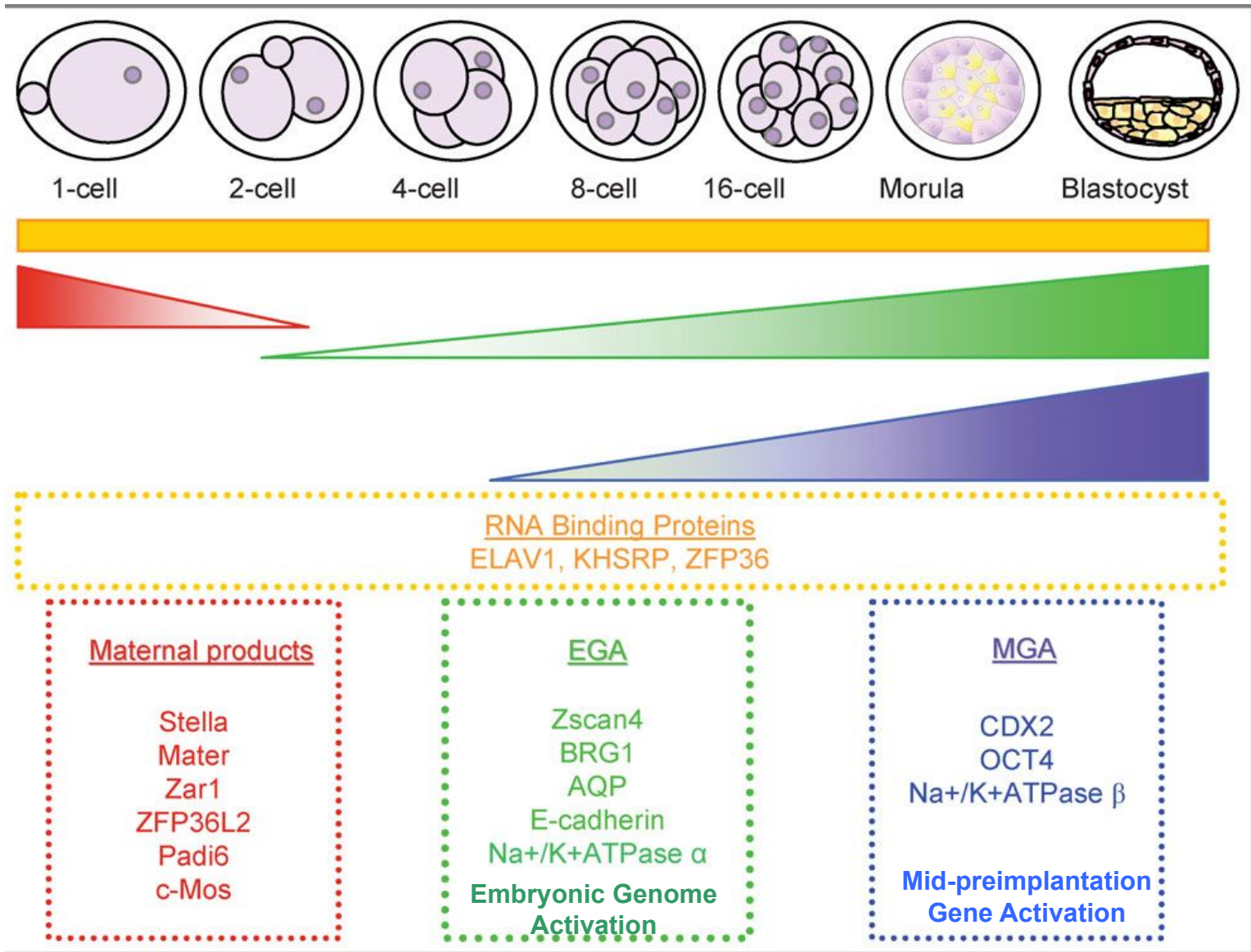
- завершение перехода на эмбриональные мРНК;
- возможна апоптотическая гибель клеток



Возрастание уровня РНК отражает активность собственного генома зародыша



Изменение экспрессии в раннем развитии эмбрионов



Контроль активации генома эмбриона - участие материнских генов

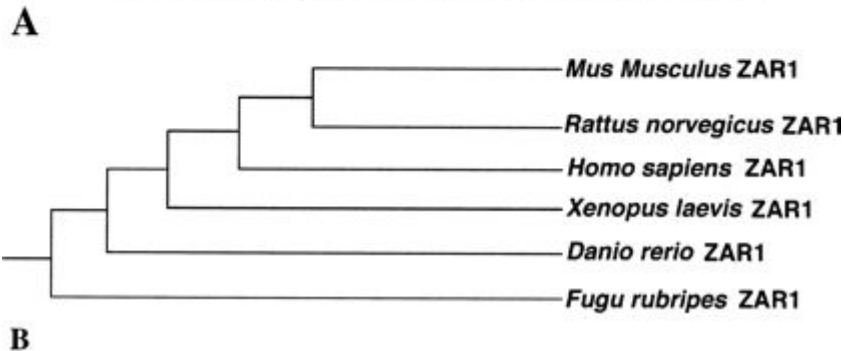
Percent Identity of Entire ZAR1 Protein

	Human	Mouse	Rat	Frog	Zebrafish	Pufferfish	
Human		59.6	59.7	64.9	53.7	56.9	Human
Mouse	91.3		88.1	57.1	50.8	53.0	Mouse
Rat	93.3	98.1		59.2	51.8	55.7	Rat
Frog	97.1	90.3	92.3		66.1	61.6	Frog
Zebrafish	89.3	83.5	84.6	88.3		60.4	Zebrafish
Pufferfish	83.5	80.6	81.7	82.5	84.5		Pufferfish
	Human	Mouse	Rat	Frog	Zebrafish	Pufferfish	

ZAR1 – zygote arrest protein1
Zar1 - zygote arrest protein1

2008

Percent Identity of C-termini 103 aa of ZAR1 Protein



zag1 (zygotic gene
activation-associated gene 1)

На стадии зиготы и на стадии 2-х
бластомеров белок локализован в
пронуклеусах и в ядре
Его количество постепенно
уменьшается

Филогенетическая дистанция между белками ZAR1 у
разных видов позвоночных:

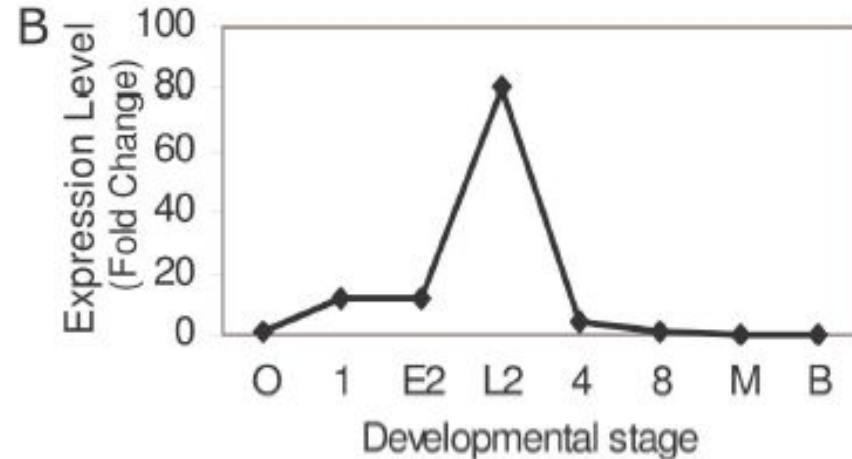
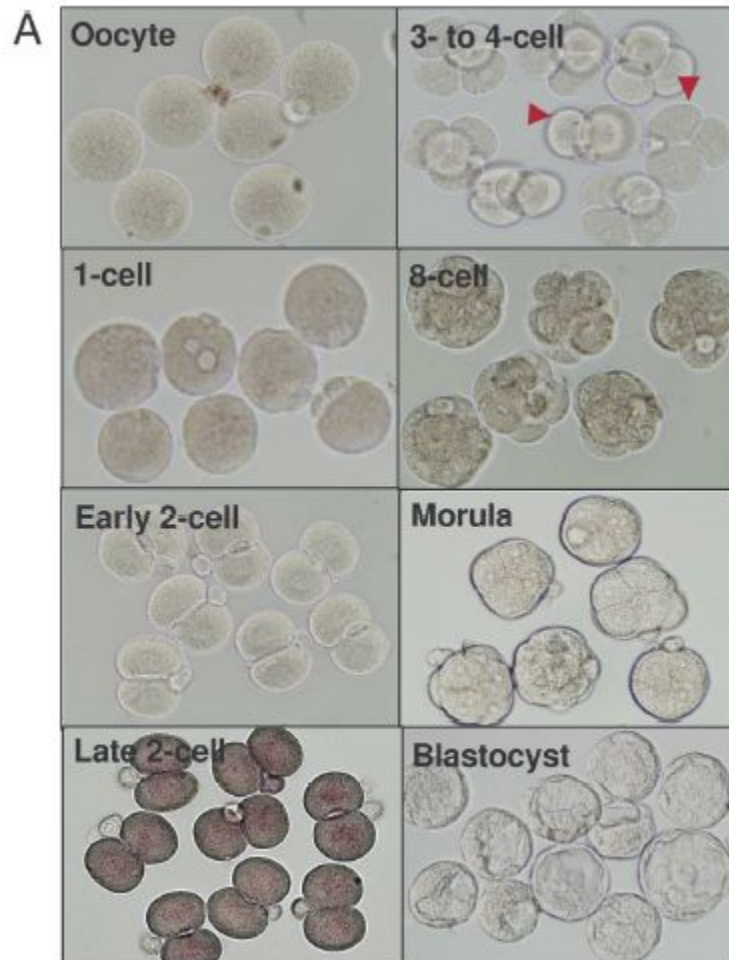
A) вверху справа: идентичность (%) всей аминокислотной
последовательности; внизу слева: процент идентичности для
103 С-терминальных аминокислот (*zinc finger motif*)

B) Филогенетическое древо ZAR1 белков

Активация генома эмбриона – участие собственных генов

В последние годы – поиск генов, работающих *только* на поздней 2-х бластомерной стадии: “zygotic genome activation” (ZGA),

Zscan4 - zinc finger and SCAN domain containing 4



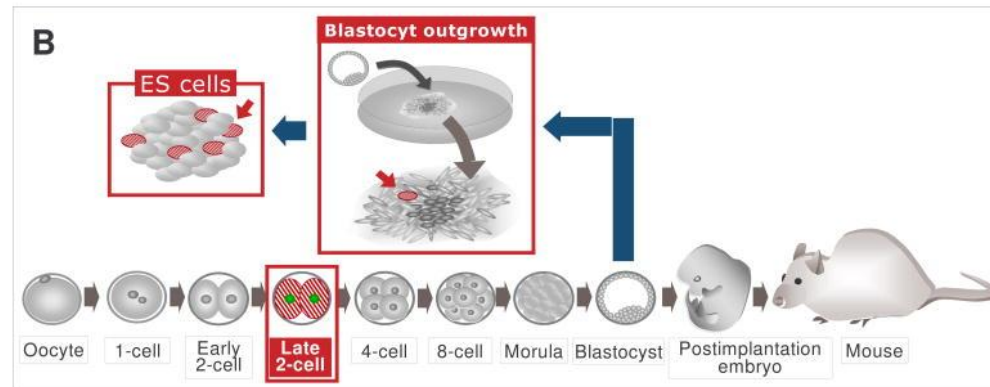
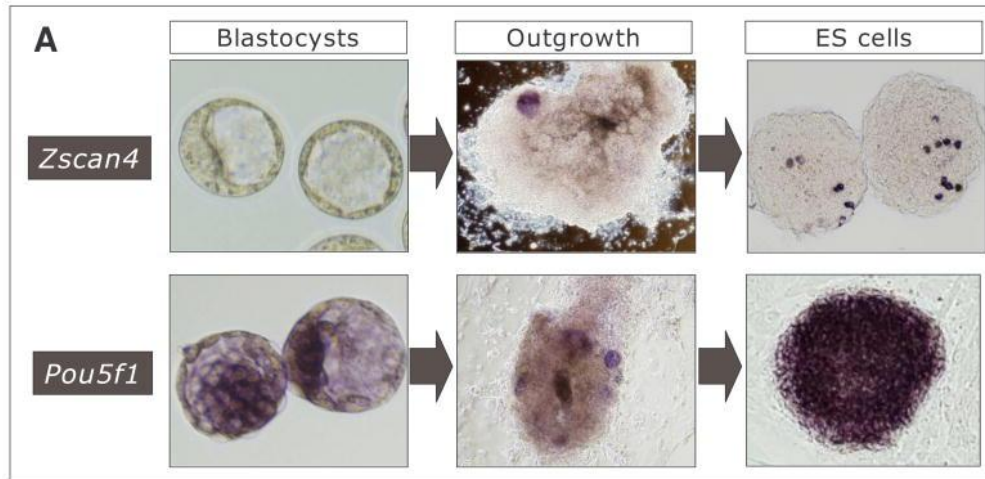
Профиль экспрессии **Zscan4** во время доимплантационного развития:

A: whole mount *in situ* hybridization;

B: qRT-PCR analysis

Zscan4 экспрессируется в течение короткого периода на поздней стадии 2-х бластомеров. shows a transient and high expression in the late 2-cell embryos. Такого высокого уровня экспрессии не обнаруживается ни в 3-х бластомерных эмбрионах (красные стрелки), не в 4-х бластомерных эмбрионах

Активация генома эмбриона - участие собственных генов



- A) Expressions of *Zscan4* and *Pou5f1* in the blastocysts, blastocyst outgrowth, and ES cells by the whole mount *in situ* hybridization.
- B) A schematic illustration of the *Zscan4* expression patterns [Dev Biol. 2007 July 15; 307\(2\): 539–550.](https://doi.org/10.1006/dbio.2007.3072)

У человека один ген *Zscan4*

У мыши – 6 работающих *Zscan4* и 3 псевдогена; из работающих 6-и 3 гена кодируют полноразмерный продукт 506ак длиной:

Zscan4d – транскрибируется на стадии 2-х бластомеров

Zscan4c - транскрибируется в ЭСК (ES) cells.

- Никакие транскрипты генов *Zscan4* не были обнаружены в других типах клеток
- Нокадаун *Zscan4* (инъекция siRNAs) задерживает переход от 2-х к 4-х клеточной стадии; бластоцисты, получившиеся из таких эмбрионов не способны имплантироваться или давать разрастания *in vitro*

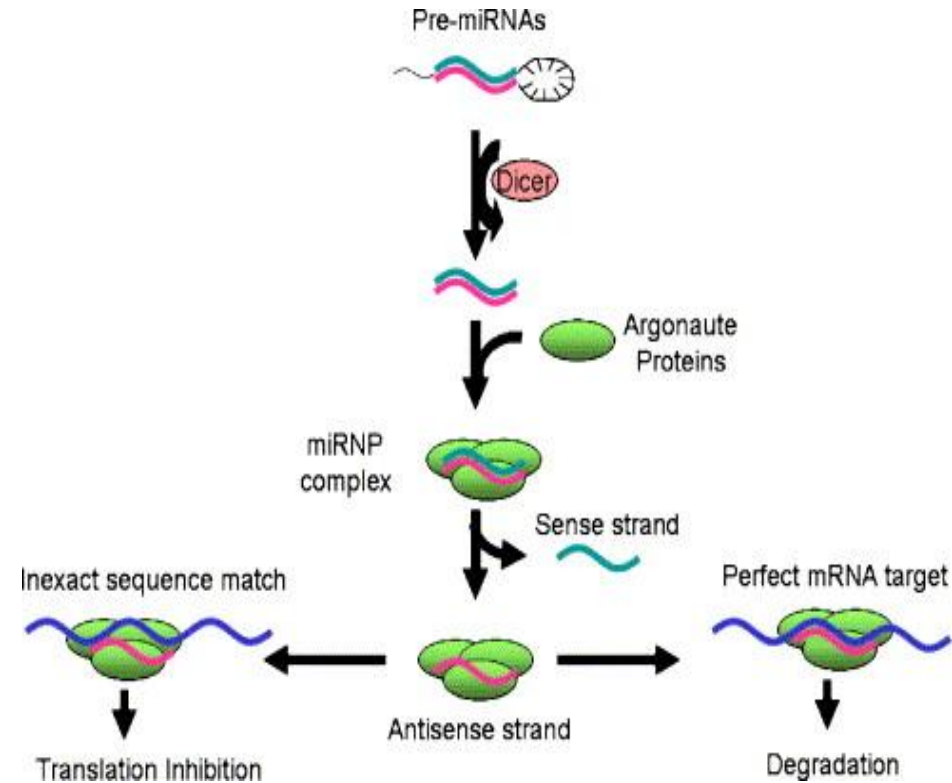
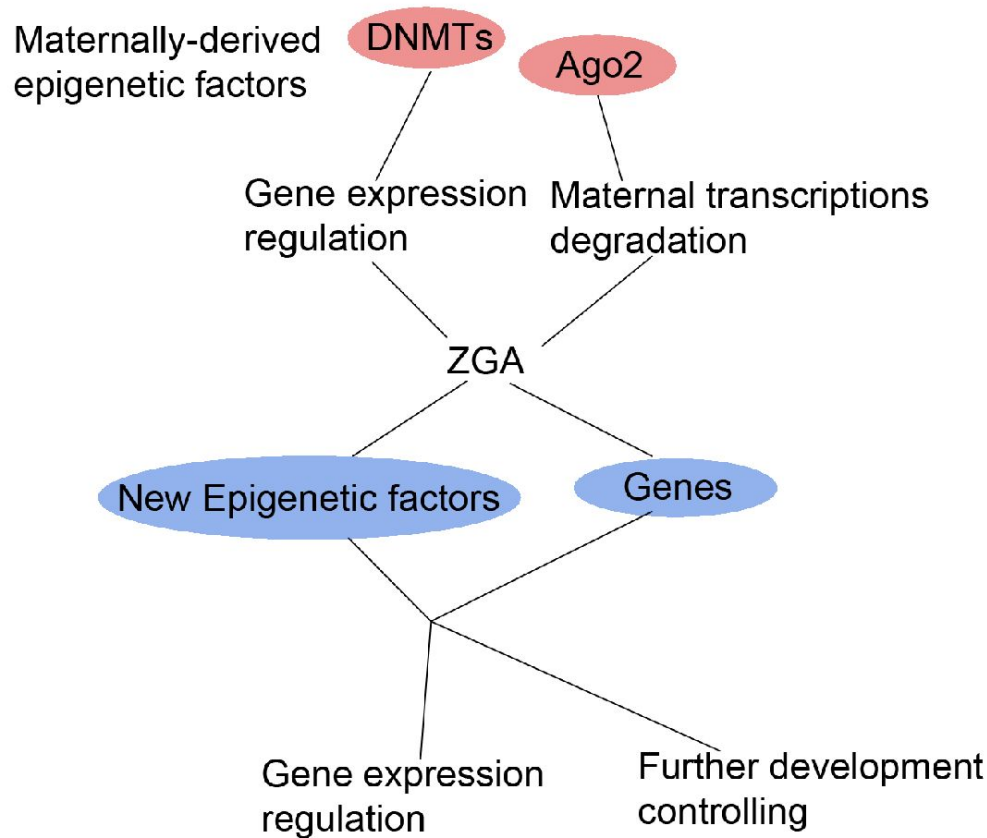
Gene Information

[POU5F1](#) POU class 5 homeobox 1 [Homo sapiens]

Also known as: DADB-104B20.2; MGC22487; OCT3; OCT4; OTF3; OTF4

POU domain (termed POU for its presence in the Pit-i, Oct-1/Oct-2, and Unc-86 genes)

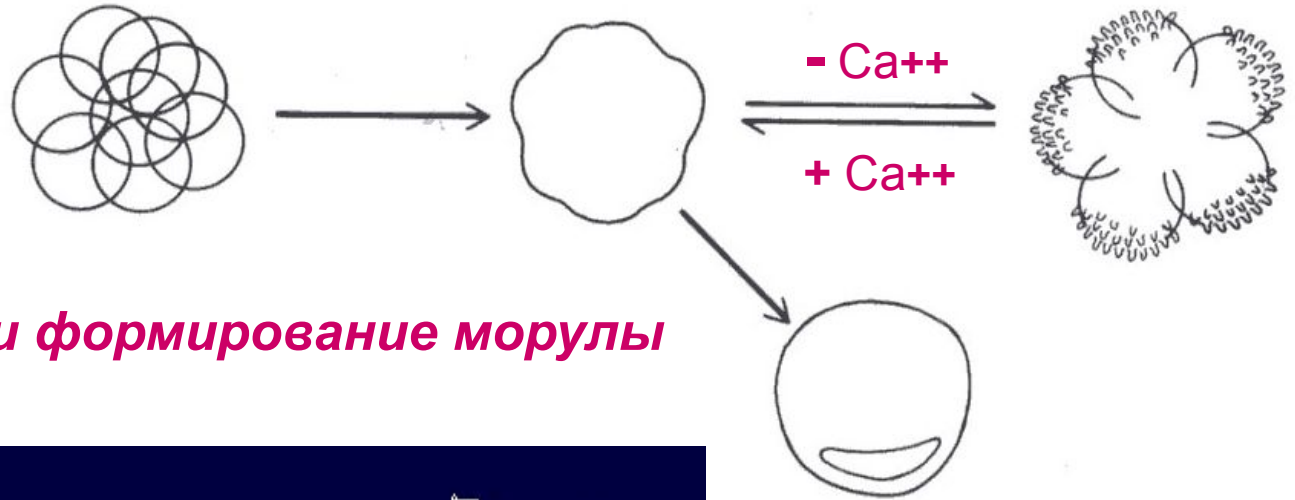
Генетическая и эпигенетическая регуляция раннего развития



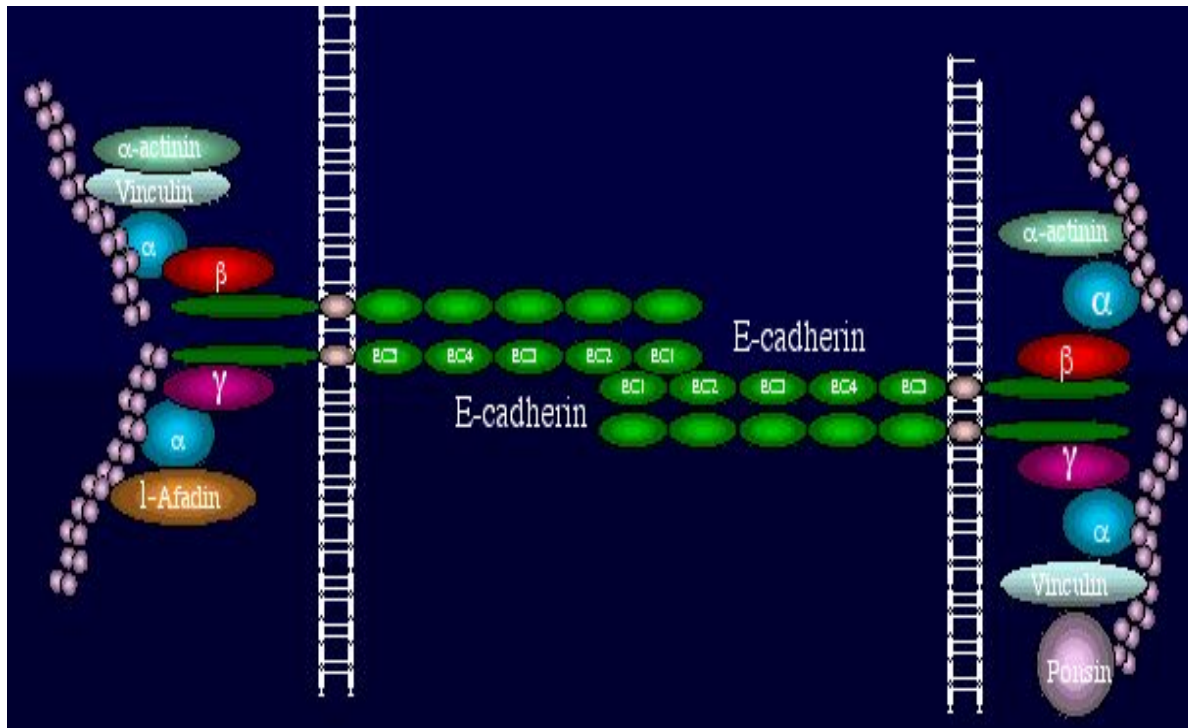
После оплодотворения некоторые эпигенетические факторы материнского происхождения (накопленные во время оогенеза), (в том числе DNMTs, Ago2) принимают участие в активации генома зиготы **“zygotic genome activation” (ZGA)**, и устанавливая статус работы генома зародыша при котором работают как белок-кодирующие гены, так и новые эпигенетические факторы, которые также принимают участие в дальнейшей регуляции генной экспрессии и от них также зависит наступление дальнейших стадий развития.

4-8 бластомеров

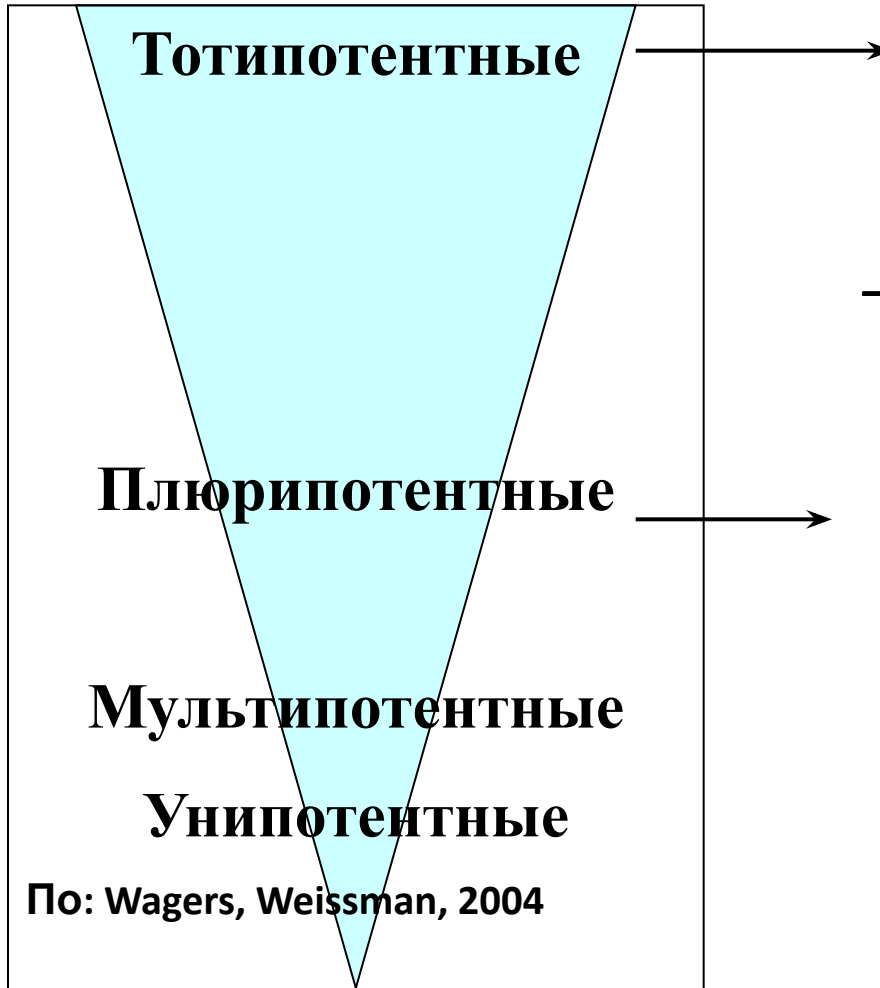
8-16 бластомеров



Компактизация и формирование морулы



Изменение потентности клеток в преимплантационный и периимплантационный период



- **Тотипотентность** – способность развиваться как в клетки зародышевых, так и внезародышевых структур: **клетки эмбриона до компактизации ?**).
- **“Наивная” плюрипотентность** – способность клетки к самообновлению при сохранении потенциала к дифференцировке без подразделения на линии и способности принимать участие в развитии половых клеток (**эпибласт ВКМ поздней бластоцисты и эпибласт периимплантационного периода (до начала формирования зародышевого диска?)**).
- **Первичная плюрипотентность** – “наивные” клетки, утратившие способности к самообновлению;

Тотипотентность:

определения этого термина и ошибки его толкования

- **Определение 1:**

Тотипотентность – способность клетки развиваться в целый организм

- **Определение 2:**

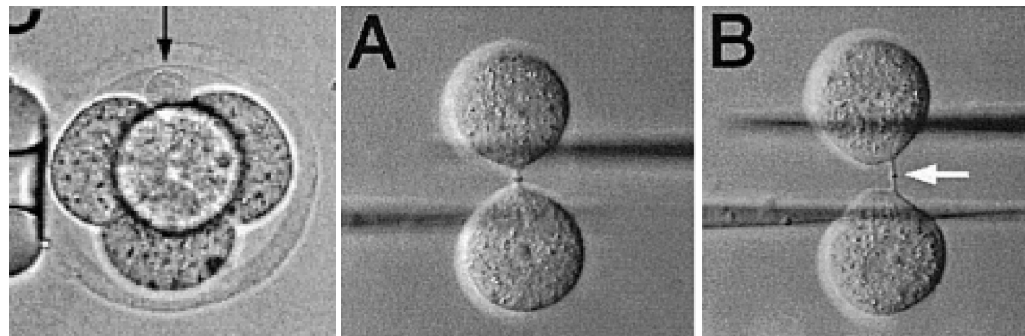
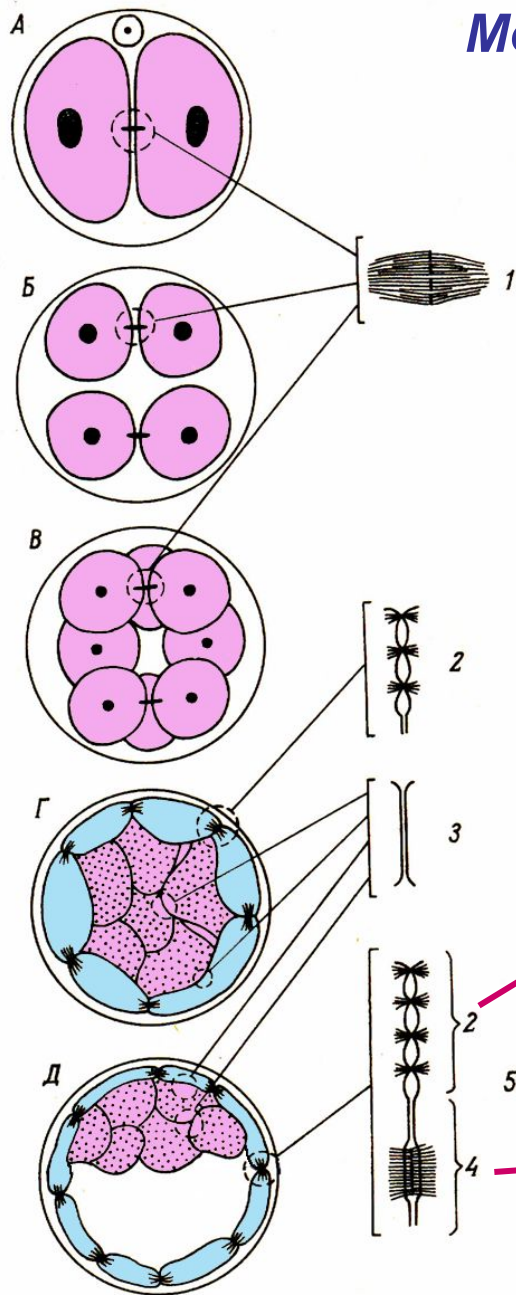
Тотипотентность - способность клетки давать все клетки и ткани организма

- **Определение 3:**

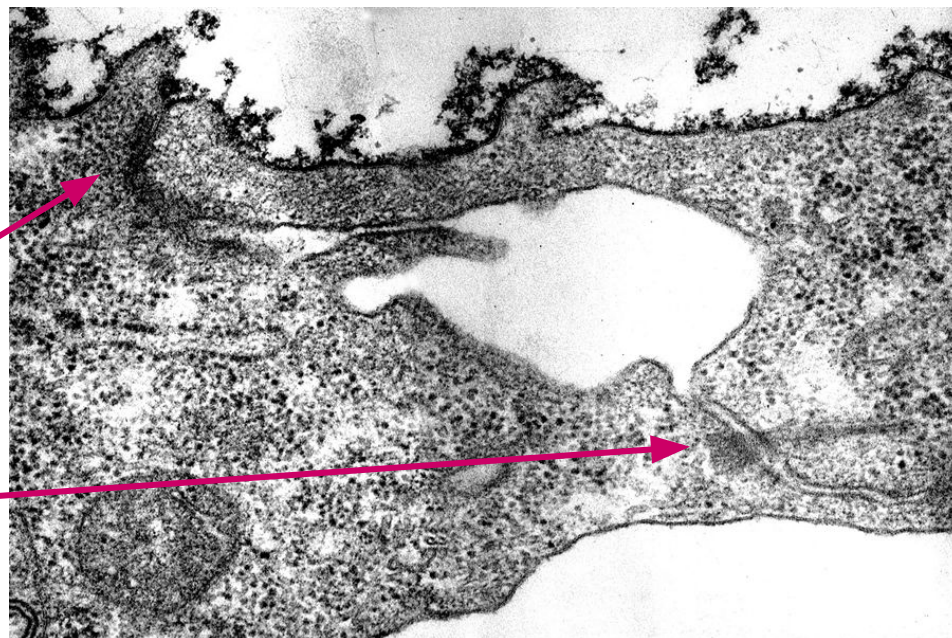
Тотипотентность - способность одной индивидуальной клетки (не группы клеток) давать

- Приравнивание участия в развитии организма к способности независимого развития в целый организм
- Приравнивание способности группы клеток развиваться в полноценную особь к способности одной клетки делать то же самое
- Приравнивание экспрессии ранних эмбриональных маркеров к тотипотентности
- Приравнивание способности группы клеток формировать нечто, схожее с эмбрионом, к тотипотентности

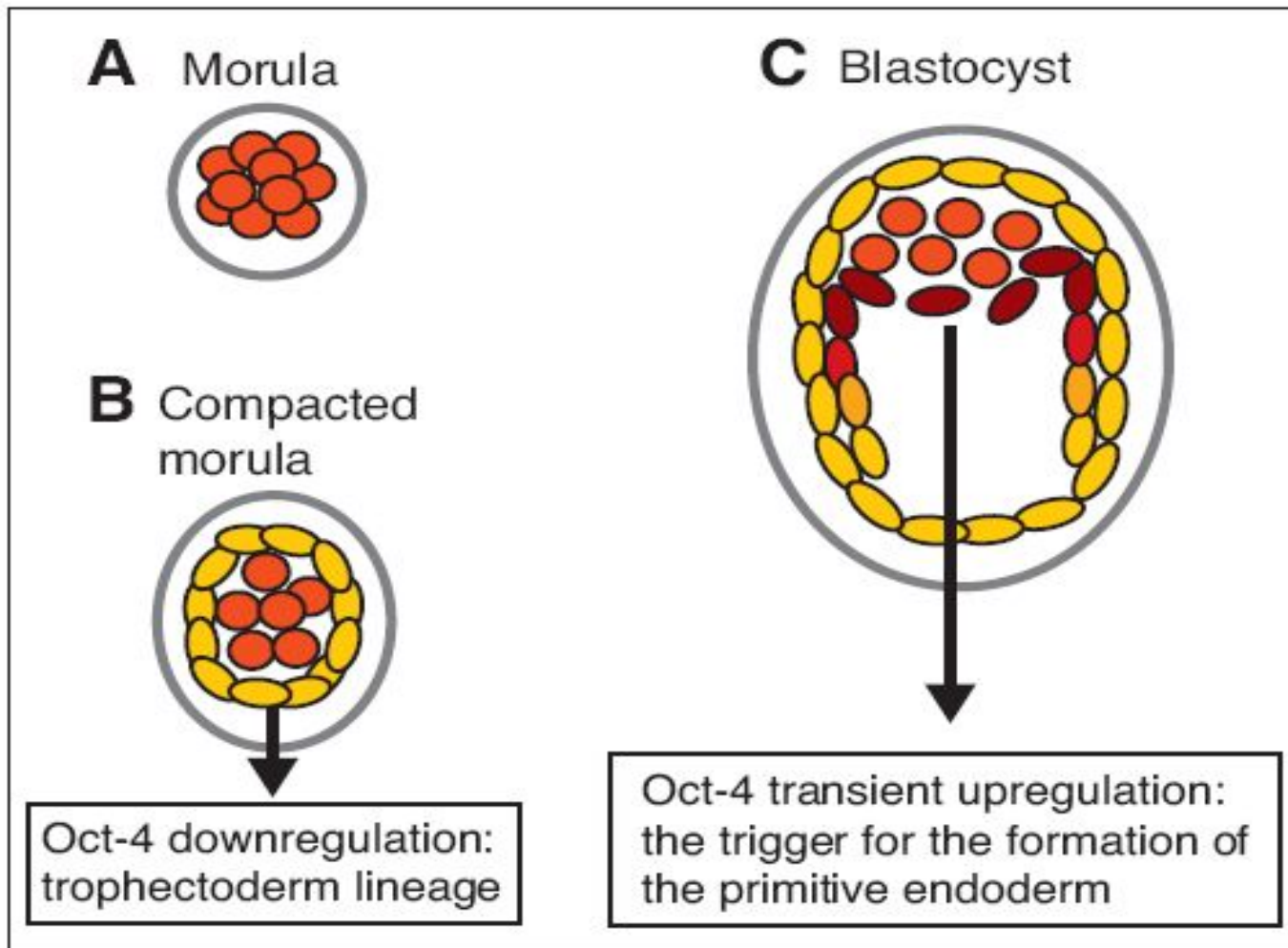
Межклеточные контакты в дробящихся эмбрионах, моруле и бластоцисте



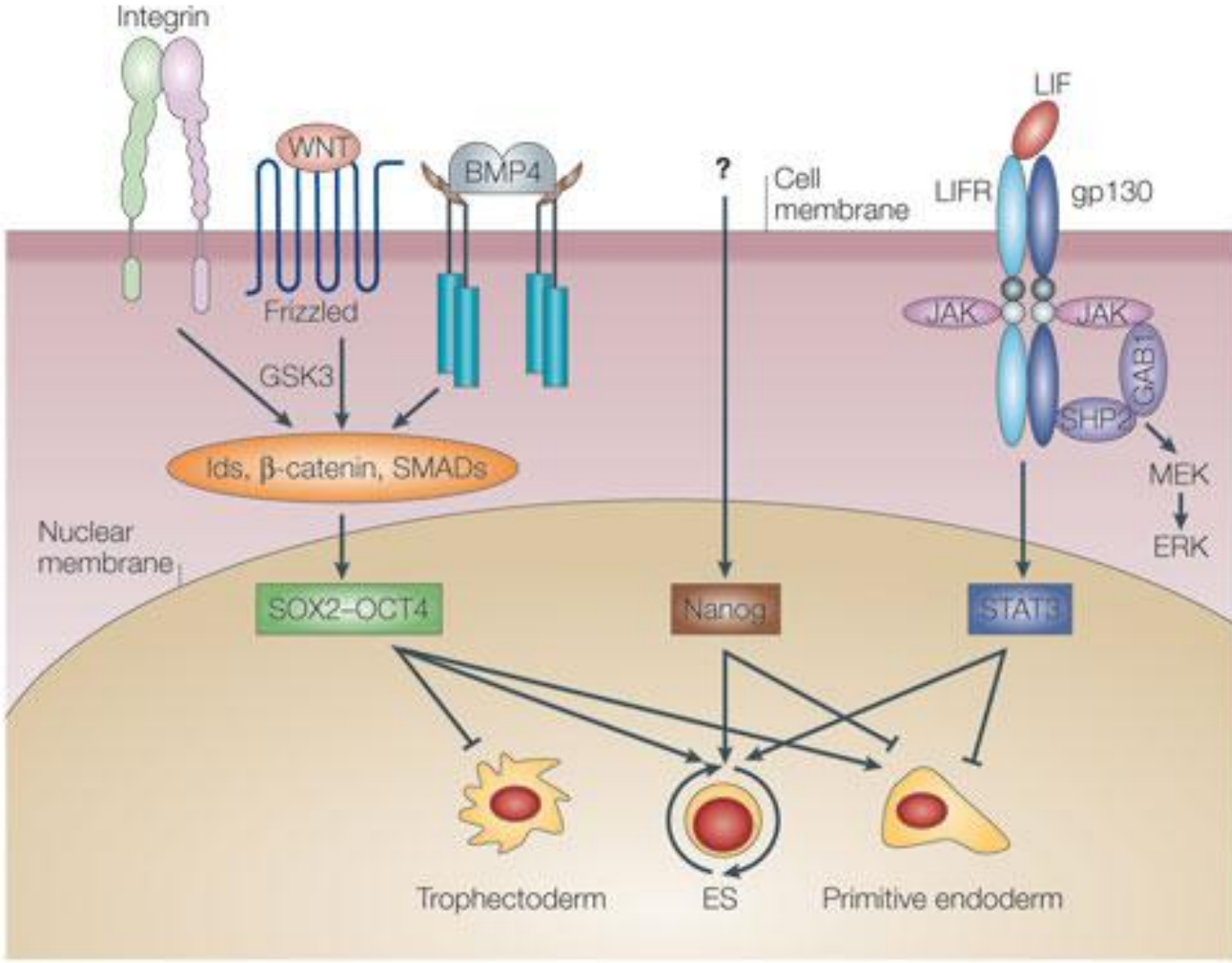
Gardner, 2002



Дифференцировка бластоцисты: OCT-4

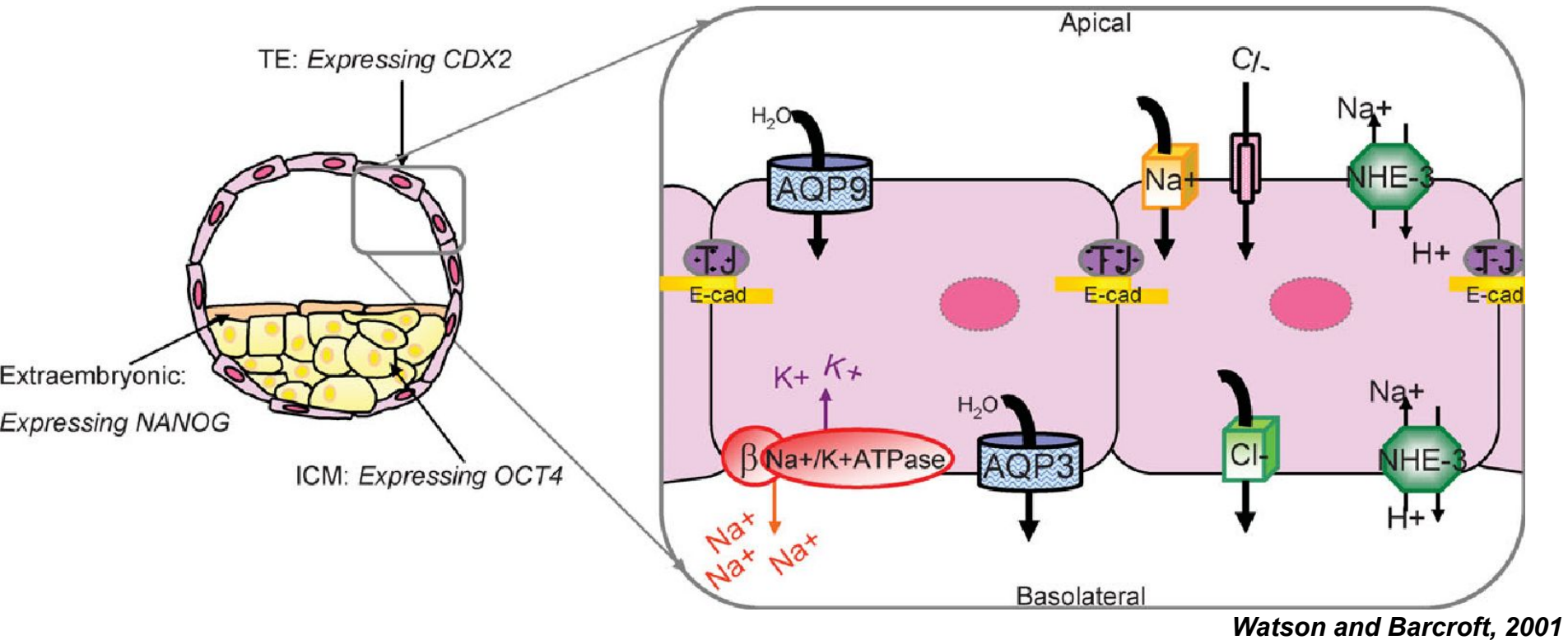


Поддержание плюрипотентности ES клеток в бластоцисте – сигнальные пути



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Трофэктодерма: транспорт ионов и молекул воды



Na/K-АТРаза, АQP (аквапорины) и белки плотных контактов (ТJ) играют основную роль в кавитации и формировании бластоцисты:

- Формирование бластоцисты зависит от поляризации распределения Na/K-АТРа1b1азы (базолатеральные мембраны клеток трофэктодермы).
- В результате устанавливается транс-трофэктодермальный градиент ионов
- ионный градиент способствует переносу молекул воды через эпителизованную трофэктодерму через апикальные и базолатеральные АQP-поры.
- Зона плотных контактов препятствует выходу воды наружу
- следствие – появление и последующее увеличение полости бластоцисты

Caudal-related homeobox 2 (Cdx2)

(E-cad, E-cadherin; NHE-3, sodium–hydrogen exchanger 3)