

ЛЕКЦИЯ 7 ДРОБЛЕНИЕ

1. Особенности митотических циклов в процессе дробления.
2. Правила дробления Гертвига-Сакса.
3. Полное (голобластическое), частичное (меробластическое) дробление.
4. Типы голобластического дробления.
5. Типы меробластического дробления.
6. Типы бластул животных с разным способом дробления, их строение и особенности.

1. Особенности митотических циклов в процессе дробления.

Дробление — серия митотических делений, в результате которых огромный объем цитоплазмы яйца разделяется на многочисленные содержащие ядро клетки меньшего размера. Такие клетки называются **бластомерами**. Перетяжки, разделяющие дробящуюся яйцеклетку на все более мелкие клетки (бластомеры), называются **бороздами дробления**.

Отличие дробления от деления соматических клеток

В период дробления зиготы объем цитоплазмы не возрастает: огромная масса цитоплазмы зиготы разделяется на все более мелкие клетки.

Темпы увеличения числа клеток в период дробления намного выше, чем на стадии гастрюляции.

От митотического деления соматических клеток дробление отличается тем, что полученные в результате дробления клетки не растут, а поэтому с каждым следующим делением становятся всё более мелкими, при этом увеличивается только их количество, а зародыш в целом не растет. Период синхронных делений дробления характеризуется укороченными клеточными циклами, из которых фактически выпадает пресинтетический, или G_1 -период, а также постсинтетический, или G_2 -период

Высокая скорость делений яйцеклеток объясняется следующим:

- в яйцеклетках заранее запасены (в период оогенеза) непосредственные предшественники ДНК (цитидин, тимидин-3-фосфаты, а также ядерные белки гистоны) и мРНК, а в других клетках таких запасов нет;
- ДНК синхронно делящихся бластомеров имеет значительно больше точек инициации репликации, нежели у других клеток эукариот.

Дробление является результатом двух координированных процессов — кариокинеза (митотическое деление ядра) и цитокинеза (деление клетки). Механическим аппаратом кариокинеза является митотическое веретено с его микротрубочками, состоящими из тубулина, а цитокинеза — сократимое кольцо микрофиламентов, состоящих из актина. Микротрубочки распределяют хромосомы по центриолям, тогда как в результате сокращения микрофиламентов происходит перешнуровывание цитоплазмы.

При дроблении зародыша происходит образование новых клеточных мембран посредством двух механизмов:

- синтез мембран *de novo*;
- растягивание плазматической мембраны ооцита.

Во всех случаях кариокинез и цитокинез должны быть скоординированы и яйцо разделено на клеточные области.

Механизм дробления

Клеточный цикл соматических клеток делится на четыре стадии (фазы). За митозом (М) следует пресинтетический период (G_1), после которого происходит синтез ДНК (S). Затем наступает премитотическая фаза (G_2), за которой опять следует митоз.

Высокая пролиферативная активность во время дробления обусловлена прежде всего укороченными клеточными циклами. В период синхронных делений дробления они отличаются отсутствием G_1 периода, составляющего у обычных делящихся клеток значительную часть клеточного цикла.

Укорочение клеточных циклов при дроблении происходит потому, что в G_1 фазе дробящихся эмбрионов отсутствует экспрессия генов, т. е. геном зародыша полностью неактивен. Все синтетические процессы, в том числе и синтез гистоновых белков, идут за счет материнских матричных РНК, накопленных еще в оогенезе.

Клеточный цикл бластомеров на ранних стадиях дробления в отличие от нормального клеточного цикла может быть гораздо более простым — двухфазным.

Факторы, регулирующие этот цикл, локализованы в цитоплазме. Это те же самые факторы, которые регулировали деления созревания при оогенезе: фактор, стимулирующий созревание (maturation promoting factor, MPF), цитостатический фактор (cytostatic factor, CSF) и ионы кальция.

Показано, что в делящихся клетках уровень активности MPF претерпевает циклические изменения. Активность MPF в бластомерах лягушки на ранних стадиях дробления наивысшая в М-фазе и не выявляется в S-фазе.

Действие MPF осуществляется путем изменения структуры ядерной оболочки. Цитостатический фактор стабилизирует фактор созревания, задерживая клетки в состоянии митоза, а кальций инактивирует цитостатический фактор, стимулируя переход к S-фазе за счет инактивации MPF. При добавлении CSF прекращаются также циклические сокращения кортикального слоя цитоплазмы, а последующая инъекция ионов кальция их стимулирует.

На ранних стадиях развития цитоплазма определяет скорость клеточных делений и продолжительность S- и М-фаз. В развитии всех животных наступает момент, начиная с которого темпы клеточной репродукции замедляются и происходит десинхронизация делений дробления. Считается, что потеря синхронности дробления связана именно с активацией генома зародыша. В период асинхронных делений дробления появляется фаза G_1 , удлиняется продолжительность всех остальных фаз цикла. Начинается синтез различных видов РНК на матрицах ДНК, т. е. пробуждается транскрипционная активность генома зародыша.

Гены, внесенные в геном зародыша со сперматозоидом, проявляют свое действие именно в этот период. Именно в это время зародыш перестает быть генетической копией матери. Период асинхронности начинается после разного числа делений дробления: у млекопитающих и круглых червей практически с самого начала развития, у иглокожих — со стадии 32 бластомеров, у амфибий — со стадии бластулы.

2. Правила дробления Гертвига-Сакса.

Пространственная организация зародыша во время дробления. Борозды дробления

Закономерности, связанные с наличием и распределением желтка в яйцеклетке и направлением хода борозд дробления, определяются **двумя правилами Гертвига — Сакса:**

- клеточное ядро стремится расположиться в центре чистой, свободной от желтка цитоплазмы;
- веретено клеточного деления стремится расположиться по направлению наибольшего протяжения свободной от желтка цитоплазмы.

Наиболее общей закономерностью полного дробления является взаимная перпендикулярность первых трех борозд, причем две проходят по меридианам яйца, а третья — по экватору.

- **меридиональная** — проходит от анимального полюса зиготы к вегетативному;
- **экваториальная** (ее аналогом является широтная борозда, смещенная по отношению к экваториальной в направлении к анимальному полюсу из-за перегруженности желтком вегетативного полюса) — проходит по экватору зиготы;
- **тангенциальная** — проходит параллельно поверхности зиготы, в результате чего образуется многослойный зародыш.

Следует заметить, что скорость прохождения борозд дробления всегда обратно пропорциональна количеству желтка в клетке (иногда данное положение называют третьим правилом дробления). Дробление у разных многоклеточных протекает различно. Это зависит от особенностей строения яйцеклеток, прежде всего от количества и расположения в них желтка, что и лежит в основе классификации типов дробления.

3. Полное (голобластическое), частичное (меробластическое) дробление.

Классификация типов дробления

Существует несколько типов классификации процесса дробления.

По характеру образования и расположению бластомеров:

- **полное (голобластическое)** — характерно для зигот, содержащих мало желтка (мезо- и изолецитальные яйца), при этом борозды дробления проходят через все яйцо, а имеющийся у них желток включается в вегетативные бластомеры;
- **неполное (меробластическое)** — характерно для зигот, содержащих большие запасы белков желтка (полилецитальные яйца), при этом борозды дробления не проникают в богатую желтком область цитоплазмы.

В зависимости от размеров образовавшихся бластомеров:

- **равномерное** — бластомеры на анимальном и вегетативном полюсе имеют одинаковые размеры;
- **неравномерное** — на анимальном полюсе сосредоточены более мелкие бластомеры, чем на вегетативном.

По скорости формирования бластомеров:

- **синхронное** — при одинаковой скорости образования бластомеров на обоих полюсах зиготы;
- **асинхронное** — на анимальном полюсе скорость образования бластомеров выше, чем на вегетативном.

4. Типы голобластического дробления.

Выделяют **четыре основных типа голобластического дробления**. Данная классификация основана на взаимном пространственном расположении бластомеров:

- радиальное;
- спиральное;
- билатерально-симметричное;
- неправильное (анархическое).

Радиальный тип дробления: хордовые (ланцетник, круглоротые, осетровые рыбы, амфибии), иглокожие и некоторые другие группы. Бластомеры разных широтных ярусов располагаются, по крайней мере на ранних стадиях, довольно точно один над другим, так что полярная ось яйца служит осью поворотной симметрии.

Спиральный тип дробления: присущ беспозвоночным (моллюски, кольчатые и ресничные черви), объединяемым в группу Spiralia. Характеризуется утерей элементов симметрии уже на стадии 4, а иногда и 2 бластомеров.

Отделяющиеся четверки бластомеров поворачиваются относительно анимально-вегетативной оси вправо или влево, образуя при наложении спираль. Знак спирального дробления (дексио-(право-) или лево-(лево-) тропность (“закрученность”) определяется геномом матери.

Оно во многом отличается от радиального типа дробления.

Во-первых, яйца не делятся параллельно или перпендикулярно анимально-вегетативной оси. Плоскости делений дробления ориентированы наклонно, что приводит к спиральному расположению дочерних бластомеров.

Во-вторых, число контактов между клетками больше, чем при радиальном дроблении. В-третьих, зародыши со спиральным типом дробления проходят меньше делений до начала гаструляции. Возникающие таким образом бластулы обычно не имеют бластоцели (стерробластула).

Билатеральный тип дробления: круглые черви, оболочники. Характеризуется наличием одной плоскости симметрии. Плоскость первого деления устанавливает единственную плоскость симметрии, а каждое последующее деление ориентируется так, что половина зародыша по одну сторону от первой борозды представляет собой зеркальное отражение половины зародыша по другую ее сторону.

Анархический тип дробления: присущ кишечнополостным и паразитическим плоским червям. Бластомеры слабо связаны между собой и располагаются неправильными цепочками. Их распад приводит к образованию полноценных зародышей, а результатом плотного объединения друг с другом будет морула.

5. Типы меробластического дробления.

Основными типами меробластического дробления являются:

- поверхностное;
- дискоидальное.

Поверхностный тип дробления: насекомые. Ядро зиготы делится на много ядер, которые с небольшим количеством цитоплазмы по цитоплазматическим мостикам переходят во внешний слой свободной от желтка цитоплазмы (периплазму). Здесь ядра несколько раз синхронно делятся (синцитиальная бластодерма). Базальная мембрана отделяет периплазму от желтка. Борозды дробления не заходят глубоко в яйцо.

Поверхностный тип дробления: насекомые. Ядро зиготы делится на много ядер, которые с небольшим количеством цитоплазмы по цитоплазматическим мостикам переходят во внешний слой свободной от желтка цитоплазмы (периплазму). Здесь ядра несколько раз синхронно делятся (синцитиальная бластодерма). Базальная мембрана отделяет периплазму от желтка. Борозды дробления не заходят глубоко в яйцо.

6. Типы бластул животных с разным способом дробления, их строение и особенности.

У многих яйцеклеток еще на ранних стадиях дробления внутренние концы бластомеров расходятся и между ними возникает небольшая, постепенно увеличивающаяся полость дробления (бластоцель). У некоторых типов яйцеклеток бластоцель может достигать значительных размеров. Зародыш на этой стадии развития называется **бластулой**. В ходе дальнейшего развития бластоцель превращается в первичную полость тела, которая является основной полостью тела у низших беспозвоночных. У высших беспозвоночных и позвоночных она почти полностью вытесняется возникающей позже вторичной полостью тела (целомом).

Бластоцель выполняет две функции:

- дает возможность клеткам при гастрюляции мигрировать внутрь зародыша;
- существование бластоцели предотвращает взаимодействие между клетками, которые находятся выше и ниже ее.

Бластоцель – первый отсек внутренней среды организма, отличающийся по ионному составу от наружной среды (клетки стенок образуют между собой плотные контакты, отгораживая его от наружной среды). В нем возникает избыток Na^+ и Cl^- – повышение осмотического давления обеспечивает перенос воды, а тургорное давление растягивает поверхность зародыша.

Типы бластул

Имеется 5 основных типов бластул:

- **целобластула;**
- **бластоциста;**
- **амфибластула;**
- **дискобластула;**
- **перибластула.**

Целобластула характерна для иглокожих и ланцетника. Этот тип бластул отличается тем, что бластомеры на анимальном и вегетативном полюсе почти одинаковы по размеру, тонкую бластодерму формирует один слой клеток

Полость внутри — бластоцель. Выделяют в целобластуле следующие зоны: крыша на анимальном полюсе, дно — на вегетативном, между ними находится краевая, или промежуточная, зона.

Бластула со стенкой равномерной толщины и очень маленьким центрально расположенным бластоцелем, встречаемая у некоторых кишечнополостных, моллюсков и червей, называется **стерробластулой**.

Зародышевое развитие некоторых червей, асцидий приводит к образованию **плакулы**. Она имеет вид двухслойной пластинки, образованной однородными клетками. Между слоями располагается полость дробления (бластоцель).

У некоторых кишечнополостных, а также у млекопитающих на ранних стадиях развития бластоцель вообще не возникает, и дробление приводит к образованию плотного скопления клеток — **морулы**.

Своеобразным типом бластулы является **стомобластула**, характерная для зародышевого развития известковых губок. Она имеет полость в центре и отверстие (*фиалопор*) на анимальном полюсе. Жгутикообразующие полюсы клеток обращены внутрь. По окончании дробления стомобластула выворачивается наизнанку через фиалопор (*экскурвация*), в результате чего образуется покрытая жгутиками амфибластула.

Бластоциста характерна для млекопитающих. Образуется после прохождения стадии морулы.

Она представлена в виде пузырька. Причем в составе этого пузырька имеются две части. Стенку формирует один слой клеток — *трофобласт*. Клетки эти очень светлые, другая часть — темноокрашенные клетки *эмбриобласта*. Трофобласт обеспечивает питание, а эмбриобласт идет на построение тела зародыша.

Амфибластула характерна для амфибий и некоторых представителей известковых губок. В отличие от целобластулы бластоцель в амфибластуле смещена к анимальному полюсу вследствие большего количества желтка на вегетативном полюсе. На анимальном полюсе находятся меньшие по размеру клетки — *микромеры*. В области вегетативного полюса располагаются *макромеры*. Так же как и в целобластуле, в амфибластуле выделяют крышу, дно и промежуточную (краевую) зону.

Дискобластула характерна для костистых рыб, рептилий и птиц. В результате дискоидального дробления образуется однослойная бластодерма (бластодиск), из которого затем возникает трех- или четырехклеточный пласт.

Бластодерма дискобластулы несколько выгибается над желтком, и между ними формируется подзародышевая полость. На этой стадии четко различимы две области бластодиска: **светлое поле** (*areapellucida*) соответствует той его части, которая располагается над полостью; **темное поле** (*area opaca*) состоит из клеток, расположенных по краю бластодиска и прилежащих к желтку.

К моменту откладки яйца некоторые из клеток бластодермы выселяются в подзародышевую полость, где образуют второй слой. Таким образом, на данной стадии зародыш состоит из **эпибласта** (наружный слой клеток) и лежащего под ним **гипобласта**. Между ними находится бластоцель.

Перибластула характерна для насекомых и представляет собой заключительную стадию поверхностного дробления. *Энергиды* (ядра с окружающими их островками цитоплазмы) мигрируют на поверхность яйца, где они окружаются новыми плазматическими мембранами. Первыми претерпевают изменения ядра, мигрировавшие к заднему полюсу яйца и образующие полярные клетки зародыша, которые дают начало половым клеткам взрослого организма. Клетки образующейся бластодермы формируют скопление на вентральной поверхности, обозначая место, где возникнут зародышевые листки (*зародышевая полоска*). Эта область дает начало всем клеткам насекомого. Остальные клетки бластодермы образуют внезародышевые оболочки. Впоследствии именно клеточная организация бластулы определит характер дальнейшего развития зародыша.