

## ПРОГРАММА

### вступительных экзаменов в аспирантуру

по специальности 03.03.05

### “ Биология развития, эмбриология”

#### Введение

Настоящая программа отражает современное состояние отрасли биологии, изучающей закономерности и механизмы онтогенетических процессов на всех уровнях организации живого – от молекулярного до эволюционного. Она включает в себя основные разделы, знание которых необходимо высококвалифицированному специалисту.

#### 1. Предмет и история эмбриологии и биологии развития

*Предмет эмбриологии*, ее место в системе биологических наук. Эмбриология как наука о процессах и причинных механизмах индивидуального развития. Дифференциация клеток, тканей и зародыша в целом - центральная проблема биологии развития. Описательная, эволюционная и экспериментальная эмбриология. Фундаментальные составляющие процесса индивидуального развития: клеточная репродукция, клеточная дифференциация и морфогенез.

Краткий *обзор истории эмбриологии*: воззрения Гиппократов и Аристотеля. Эмбриология XVII – XVIII вв. Теории развития: преформизм, эпигенез, эпигенетические теории развития. Работы К.Ф. Вольфа. Развитие эмбриологии в XIX в., значение работ К. Бэра, влияние дарвинизма на эмбриологию. Сравнительно-эволюционное направление. Исторические корни экспериментальной эмбриологии, ее основоположники (В. Ру, Г. Шпеман, Д.П. Филатов, Н.К. Кольцов, И.И. Шмальгаузен, М.М. Завадовский). Становление эволюционной эмбриологии, исследования А.О.Ковалевского и И.И.Мечникова. Биогенетический закон Мюллера-Геккеля. Теория происхождения многоклеточных животных. Теория филэмбриогенезов А.Н.Северцова. Теория зародышевой плазмы Августа Вейсмана. Каузально-аналитический метод, его сильные и слабые стороны.

*Биология развития* – новый этап в учении о закономерностях онтогенеза, возникший на основе синтеза достижений эмбриологии, цитологии, генетики, биохимии. Роль Н.К.Кольцова в становлении биологии развития как науки. Современное понимание предмета и основных проблем биологии развития

(реализация генетической информации в развитии; клеточные основы дифференцировки, морфогенеза, роста и регенерации; физиологические механизмы развития; влияние факторов внешней среды на развитие); эволюционная биология развития – EvoDevo – как синтез биологии развития и идей эволюции. Основные концептуальные понятия биологии развития: дифференциальная активность генов и избирательные взаимодействия клеток. Роль процессов развития в эволюции; гомеостатические гены и эволюция механизмов сегментации у животных. Молекулярная биология и генетика развития. Регуляция активности генов в онтогенезе. Общие представления об эволюции геномов и отдельных генов многоклеточных. Ортологичность и паралогичность генов.

Использование достижений эмбриологии и биологии развития в медицине и сельском хозяйстве.

## 2. Методы эмбриологии и биологии развития

Основные *методологические подходы* в эмбриологии и биологии развития: «утрата функции», «приобретение функции». *Основные методы* их реализации: изменение нормальных связей между частями развивающегося зародыша. Удаление частей зародыша, зачатков тканей или отдельных клеток, трансплантация, эксплантация, диссоциация-реагрегация. Методы маркировки клеток. Культивирование эмбриональных стволовых клеток. Методы качественного и количественного анализа экспрессии генов в тканях животных и в культивируемых клетках. Качественный анализ экспрессии генов методом полимеразной цепной реакции с визуализацией амплифицированных фрагментов кДНК методом электрофореза в агарозе. Определение экспрессии генов методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР в реальном времени). Методы направленного подавления экспрессии генов в культивируемых клетках с помощью малых двухцепочечных интерферирующих РНК (small interfering RNA - siRNA). Принципы использования siRNA для изучения роли отдельных генов в реализации физиологических функций клеток.

Компьютерные методы (*in silico* моделирование развития).

*Основы* световой и электронной *микроскопии*.

*Иммуноцитохимия*. Основной принцип метода. Понятие эпитопа или антигенной детерминанты у антигена. Метод прямой и непрямой иммуноцитохимии.

*Культура клеток и тканей*. Типы клеточных культур: первичные, вторичные, перевивные, иммортализованные, трансформированные (опухолевые). Суспензионные и субстрат-зависимые культуры.

*Трансфекция* - процесс введения нуклеиновой кислоты в клетки человека и животных невирусным методом. Генетический материал, используемый для трансфекции.

*Этическая оценка* как обязательный этап планирования экспериментов.

### 3. Гаметогенез

Формирование *первичных половых клеток* (гоноцитов) у различных групп животных (губки, кишечнополостные, круглые черви, ракообразные, позвоночные). Миграции гоноцитов в гонаду. Стратегия репродукции: внешние и внутренние источники энергии, необходимые для обеспечения эмбрионального развития. Видоизменение ядерного аппарата гамет, связанное с редукцией числа хромосом и рекомбинацией. Мейоз. Кроссинговер.

**Оогенез**, его основные периоды: размножение, рост, созревание яйцеклеток. Сравнительно-морфологические особенности яиц (полярность, симметрия, оплазматическая локализация, яйцевые оболочки). Особенности делений созревания яйцеклетки. Алецитальный, изолецитальный, телolecитальный и центролецитальный типы яиц. Механизмы формирования зрелой способной к оплодотворению яйцеклетки. Вспомогательные клетки оогенеза и их функции, включая синтез рРНК, иРНК, нежелтковых белков. Транспорт веществ из трофоцитов. Структура и функции хромосом типа ламповых щеток. Способы интенсификация запасания рРНК: (амплификация рибосомного гена, трансосомы). Превителлогенез и вителлогенез, его особенности у позвоночных, насекомых иannelид. Гены, участвующие в регуляции оогенезе. Три группы генов материнского действия («передние», «задние», «терминальные» гены). Регуляция дыхания при оогенезе.

**Сперматогенез**. Периодизация сперматогенеза, длительность его стадий у разных животных. Стволовые клетки сперматогониального компартмента. Сперматогонии. Первичные и вторичные сперматоциты. Спермиогенез. Значение смены типа белка. Цитологические характеристики спермиев. Разнообразие форм спермиев (типичные и атипичные спермии). Функции вспомогательных клеток семенника: клетки Сертоли, клетки Лейдига. Гемато-тестикулярный барьер. Различия в мейозе мужских и женских половых клеток млекопитающих. Механизмы восстановления сперматогенеза.

### 4. Оплодотворение

Биологическая *сущность процесса* оплодотворения. **Морфогены** и градиент их концентрации. Особенности формирования *осей полярности и общего плана* строения в раннем развитии разных животных. *D. melanogaster* как модель для изучения оплазматической полярности и формирования осей в раннем развитии. Последовательные **стадии оплодотворения**: привлечение и активация спермия, видоспецифическое связывание с ооцитом и слияние гамет, активация яйца). Дистантные и контактные взаимодействия гамет. Факторы **активации сперматозоидов**: ионный баланс, осмолярность, активирующие спермии пептиды (сперакт, резакт). **Капацитация** спермиев млекопитающих. **Акросомная реакция** спермиев у разных животных. Роль ионного баланса, G- белка и фосфолипазы C в акросомной реакции. Роль *zona pellucida* яйца в «заякоривании» сперматозоида млекопитающих. Слияние плазматических мембран гамет. Активация ооцита. Деполяризация яйца и быстрый блок **полиспермии**. Факторы медленного блока полиспермии. Условия возобновления синтеза ДНК и стимуляции белкового синтеза.

Формирование мужского пронуклеуса. *Ооплазматическая сегрегация* в разных типах яиц, ее роль. Искусственный и естественный *партеногенез*. Работы Б.Л. Астаурова и В.А. Струнникова. Роль *цитоскелета* в процессах поляризации ооцита, кортикальной ротации, дробления.

## 5. Дробление и бластула.

*Общая характеристика* процесса дробления, его биологические функции (становление многоклеточности, нормализация ядерно-цитоплазматического отношения). Факторы, определяющие пространственную организацию делений дробления. Типы дробления, их зависимость от количества желтка в клетке. Правила Сакса – Гертвига. *Строение бластулы* у животных с разным типом дробления. Механизмы бластуляции. Особенности *делений дробления* и десинхронизация. Гипотезы о механизмах ориентации веретен делений дробления. Ритмика клеточных делений в период дробления. Синтез ДНК, РНК и белков в период ранних стадий эмбриогенеза. Периодичность функции ядра в раннем развитии. Роль *материнского генома* в развитии и включении генов зародыша. Возникновение разнокачественности бластомеров у разных групп животных. Опыты по пересадкам и дезактивации ядер на разных стадиях развития. Возникновение разно- и однояйцевых близнецов. Их роль в изучении генетики человека. Проблемы клонирования животных. Нейротрансмиттеры как регуляторы раннего эмбриогенеза.

## 6. Гастрюляция и формирование основных закладок.

Общая характеристика процессов, *определение гастрюляции*. Представление о гастрюляции как о *морфогенетических перемещениях клеток* и клеточных пластов, в результате которых формируется общий план строения зародыша и происходит пространственное обособление зачатков. Типы *морфогенетических движений* (деламинация, иммиграция, эпиболия, инвагинация и их сочетания) и их механизмы. Карты презумптивных зачатков на стадии ранней гастрюлы. Целобластический, пролиферационный и энтероцельный способы образования мезодермы. *Морфогенетические поля*, роль поляризации в формировании зачатков органов. Эмбриональная регуляция. Закон Дриша. Позиционная информация. Гастрюляция у ланцетника, амфибий, рыб, птиц и млекопитающих. *Эмбриональная индукция*. История открытия, молекулярные основы, региональная специфичность и механизмы, индукторы, рецепторы. Индукция нейральных закладок хордомезоломой (первичная индукция по Шпеману, индукция мезодермы (П.Ньюкуп), тангенциальная индукция. Молекулярные механизмы индукционных процессов. *Гены сегментации* и их роль в гетерогенезации животных. Гомеозисные гены. Гомеобоксы и гомеодомены. Консерватизм гомеобокс-содержащих генов и их роль в эволюции. Расчленение хордомезодермального зачатка (хорда, сомиты, боковая пластинка, ее париетальный и висцеральный листки и образование *вторичной полости тела*, градиентные соотношения в пределах хордомезодермального зачатка). Особенности процессов *нейруляции* при голобластическом и меробластическом типах развития. Апоптоз как фактор морфогенеза.

## 7. Некоторые сведения об органогенезах.

Карта органов, происходящих из *трех зародышевых листков*. Нервный гребень и его производные в разных отделах зародыша. Суперсемейство белков basic Helix-Loop-Helix и их роль в программах дифференцировки клеток различных типов тканей. **Формирование головного мозга, глаз и конечностей позвоночных**. Роль производных организатора Шпемана в образовании нервной трубки. Морфогенетические взаимодействия между частями зачатка при развитии глаза, конечностей, желез пищеварительного тракта. Детерминация и регуляция при развитии органов. **Вторичные эмбриональные индукции**, их механизмы. Контактные и дистантные взаимодействия клеток. Механизмы клеточной агрегации. Участие транскрипционных факторов семейства Pax (Pax 3,7; Pax 6). Гомологичные пути спецификации нейральной ткани у позвоночных и членистоногих.

**Мезодерма** и ее производные.

**Сомитогенез** у позвоночных.

Образование **скелетной мускулатуры**. Факторы мышечной дифференцировки. Механизмы **формирования почки** (пронефрос, мезонефрос, метанефрос). Эпителиально-мезенхимные взаимодействия. Участие паракринных факторов. Закладка и образование **сердца**. Типы клеток, участвующих в формировании парных сердечных трубок.

Вклад различных зародышевых листков и разделов мезодермы в **морфогенез конечности**. Морфогенетическое поле конечности. Индукции эктопических конечностей. Мезенхимно-эпителиальные взаимодействия клеток. Гомология образования конечностей у насекомых и человека.

**Детерминация пола**. Становление пола: соотношение вклада генетических факторов и факторов внешней среды у различных животных. Генетические механизмы детерминации пола у беспозвоночных и позвоночных животных. Половые хромосомы, значение пloidности числа хромосом, гермафродитизм. Молекулярные механизмы детерминации пола у млекопитающих. Заселение гонад первичными половыми клетками. Функции генов *Sry* и *Sox9* в формировании семенников. Клетки Сертоли и Лейдига. Антимюллеров гормон (АМН) и тестостерон. Функции генов *Dax1* и *Sox9* в формировании яичника. Фолликулярные клетки и клетки теки, роль эстрогена. Структура Y-хромосомы млекопитающих и её значение в эволюции приматов.

## 8. Метаморфоз и регенерация.

**Метаморфоз** беспозвоночных и позвоночных. Реактивация процессов развития при метаморфозе под действием гормонов. **Метаморфоз амфибий** (у хвостатых и бесхвостых). Изменения строения тела при метаморфозе. Роль апоптоза в метаморфозе. Гетерохрония (неотения, прогения, прямое развитие). **Метаморфоз насекомых**. Голометаболия, гемиметаболия и аметаболия. Метаморфоз у дрозофилы. Развитие взрослых структур из имагинальных дисков. Детерминация клеток имагинальных дисков и их обособление от эктодермы Роль Нох-генов. **Роль гормонов**

в метаморфозе: жирорастворимого ювенильного гормона (ЖН) и стероидных (экдизон и 20-гидроксиэкдизон). Регуляция метаморфоза насекомых гормонами. Регуляция транскрипции рецепторами стероидных гормонов.

**Регенерация** как общебиологическое явление. Регенерация и онтогенез. **Способы** регенерации -эпиморфоз, морфоллаксис, компенсаторная регенерация и регенерационная гипертрофия. Эпиморфная регенерация у амфибий. Регенерационные территории. Регенерация конечности. Эпителизация (механизм эпителизации, роль раневого эпидермиса). Апикальная эктодермальная шапочка и регенерационная бластема. “Позиционная память” регенерационной бластемы. Общие представления о молекулярно-генетических механизмах регенерации у низших позвоночных. Регенерация по типу морфоллаксиса у гидры

## 9. Молекулярные и молекулярно-генетические основы эмбрионального развития.

Основные задачи **генетики развития**. Молекулярные основы экспрессии генов: строение гена, транскрипция, процессинг РНК, трансляция. Информационная РНК, информосомы. Гипотезы регуляции индивидуального развития Т. Моргана и Р. Гольдшмидта. Ядерно-цитоплазматические отношения как основа регуляции процессов развития. **Дифференциальная экспрессия генов** как основа клеточной дифференцировки. Уровни регуляции дифференциальной экспрессии генов. **Эпигенетические факторы** развития. **ДНК в ходе индивидуального развития**. Синтез ДНК в ходе оогенеза (редупликация, амплификация, репарация, магнификация). Особенности репликации ДНК в ходе дробления и раннего развития. Соматическая полиплоидия. Проблема изменения и перестройки ДНК в онтогенезе. Амплификация генов в развитии. Диминуция хроматина.

**Структура ядра**, хромосомы, ядрышки, структура хроматина интерфазного ядра, гетеро - и эухроматин, молекулярная структура хроматина и ДНП. Нуклеосомное строение хроматина (ДНП) и высшие уровни упаковки ДНК.

**Импринтинг**. Функциональные различия отцовских и материнских геномов, возникающие в гаметогенезе (метилирование, экспансия триплетных повторов у млекопитающих).

**Основные цитоплазматические органеллы**. Ядерно-плазменное отношение и его изменения в ходе развития. Запасание информационных молекул в оогенезе и их роль в регуляции раннего развития у насекомых, амфибий, рыб.

**Клеточной цикл, фазы**. Синтезы макромолекул в разных фазах цикла. Особенности клеточного цикла в раннем эмбриогенезе. Контрольные точки регуляции пролиферации клеток в процессе органогенеза. Циклины и циклин-зависимые факторы регуляции клеточного цикла. Изменение структуры хромосом в ходе развития: пуффинг, образование ламповых щеток, политения, недорепликация сателлитных ДНК, амплификация рибосомных (ядрышковых) генов. Инактивация районов X-хромосом у самок млекопитающих.

## 10. Элементы эволюционной эмбриологии и биологии развития.

**Предыстория.** Креационизм: «Единство типа» - Жоффруа Сент-Илер, Ричард Оуэн, «Условия существования»- Жорж Кювье, Чарльз Белл, Эволюционизм – Чарльз Дарвин «Наследование с изменениями». Понятие филэмбриогенезов (А.К. Северцев) и основные их типы. . Гомеозисные и гомеобоксодержащие гены - их общность для эукариотных клеток и роль в современном понимании общности онтогенезов. Представления о происхождении **многоклеточности. Гетерохронии** (Э. Геккель, Е. Менерт), их роль в эволюции. Гетерохромная метамерия (П.П. Павлов) в понимании происхождения сегментации.

**Современное состояние *EvoDevo*:** Успехи в секвенировании геномов и оценка числа генов у разных животных. Генетические основы усложнения организмов в ходе эволюции. Гомологичные и паралогичные гены. Консерватизм генов и сигнальных цепочек (гены-селекторы, гомеозисные гены; сигналинг с использованием Toll – рецепторов, Shh- , Wnt- и BMP- сигналинги).

**Механизмы защиты клеток и тканей** животных в ходе развития. Врожденная и приобретенная формы иммунитета. Роль врожденного иммунитета в развитии животных.

Значение принципов неустойчивости и креодичности развития для некоторых вопросов фенотипики и теории эволюции

## 11. Экологическая биология развития.

Особенности зависимости организма от среды на разных этапах жизненного цикла. Механизмы эмбриональной смертности на разных фазах развития. Тератогенез и его причины. Критические периоды развития целого организма и отдельных органов. Влияние химических и электромагнитных загрязнений природной среды на размножение и развитие животных и человека; методы его оценки. Острые и хронические воздействия техногенных факторов на организм. Отдаленные эффекты, проявляющиеся в процессах развития (мутагенные, тератогенные, гонадотоксические, эмбриотоксические). Применение эмбриональных биотестов для определения качества природной и техногенной среды. Принципы и перспективы эмбриологического мониторинга.

### Рекомендуемая литература

Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рефф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. Т.3. М.: Мир, 1994 г.

Айзенштадт Т.Б. Цитология оогенеза. М.: Наука, 1997 г.

Белинцев Б.Н. Физические основы биологического формообразования. М.: Наука, 1991 г.

Белоусов Л.В. Основы общей эмбриологии. М.: МГУ, 2005 г.

- Газарян К.Г, Белоусов Л.В. Биология индивидуального развития животных. М.: Высшая школа, 1983 г.
- Георгиев Г.П. Гены высших организмов и их экспрессия. М.: Наука, 1989 г.
- Гилберт С. Биология развития Спб. Планета. т. 1-3, 2010 г.
- Дондуа А.К. Роль кластерных гомеобоксодержащих генов в морфогенезе животных. Онтогенез. Т. 28, 1, 1997 г.
- Дондуа А.К. Биология развития. СПбГУ. 2005
- Дьюкар З. Клеточные взаимодействия в развитии животных. М., 1978 г.
- Зепгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. Т.3. М.: Мир, 1982 г.
- Иванова – Казас О.М. Эволюционная эмбриология животных. СПб.Наука. 1995.
- Иофф Н.А. Курс эмбриологии беспозвоночных. М.: МГУ, 1982 г.
- Карлсон Б.М. Регенерация. М.: Наука, 1986 г.
- Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. М.: Наука, 2000 г.
- Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития. 2002.
- Нейфах А.А., Лозовская Е.Р. Гены и развитие организма. М.: Наука, 1984 г.
- Озернюк Н.Д. Биоэнергетика онтогенеза. М.: МГУ, 1999 г.
- Рэфор Р., Кофмен Т. Эмбрионы, гены и эволюция. М.: Мир, 1986 г.
- Холланд П., Гарсия - Фернандес Х. Гены HOX, эволюция развития и происхождение позвоночных. Онтогенез. Т.27, 4, 1996 г.