

Регуляторные механизмы доимплантационного морфогенеза мышцы

А. В. Евсиков

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

В обзоре рассматриваются современные проблемы регуляции доимплантационного развития эмбриона мышцы. Обсуждается роль четырех основных регуляторов онтогенеза — ядерно-цитоплазматических взаимодействий, «цитоплазматической» регуляции, межклеточных взаимодействий и геномного импринтинга.

Введение. Биология раннего эмбриогенеза млекопитающих в последнее время находится как бы на перепутье своего дальнейшего развития. К сожалению, в сложившейся ситуации не слишком понятно, какой из путей тупиковый, а какой ведет к углублению нашего понимания природы и сущности процессов жизни.

В настоящий момент, на взгляд автора, проблема сводится к тому, что при наличии громадного количества разнообразнейших методических подходов остается неясным ответ на вопрос «а что же все-таки искать?» Дело в том, что если эмбриология других классов животных развивается в рамках достаточно давно сложившихся базовых концепций, то экспериментальное изучение онтогенеза млекопитающих, во-первых, началось относительно недавно и, во-вторых, практически сразу столкнулось с проблемами и задачами, отсутствовавшими при исследовании других объектов. Поскольку процесс развития любого многоклеточного организма можно рассматривать как цепь последовательных специализаций возникающих популяций клеток, то достижение понимания того, как они реализуются, несомненно, является одной из основных задач современной эмбриологии. И как раз здесь онтогенез высших млекопитающих задает нам трудноразрешимые загадки. Существенным отличием млекопитающих от всех остальных животных является то, что, начиная с самых первых стадий, их раннее развитие не обладает ни единой

чертой детерминированности и подчиняется только регуляторным принципам [1, 2]. Если у большинства животных первые этапы морфогенеза проходят под жестким контролем материнских факторов ооплазмы, для многих из которых преддетерминировано даже пространственное расположение в цитоплазме яйца [3], то у млекопитающих ооплазма играет в «регуляторном» смысле второстепенную роль: накапливающиеся в течение оогенеза продукты предназначены, по всей видимости, лишь для обеспечения нормального хода оплодотворения и последующего дробления зиготы вплоть до момента включения эмбрионального генома. Только после активации собственного генома зародыша начинает разворачиваться морфогенетическая программа дальнейшего развития. Таким образом, эмбриологи оказываются в сложной ситуации: если при детерминированном типе развития объектом изучения является система «набор материнских факторов цитоплазмы ↔ программа эмбриогенеза», то в случае млекопитающих возникает вторая система «геном зародыша ↔ цитоплазма ↔ программа эмбриогенеза», которая по своей сути является более динамичной, чем первая.

Регуляцию доимплантационного развития млекопитающих можно «расчленить» на четыре составляющих. Во-первых, — это межклеточные взаимодействия, являющиеся одним из основных механизмов дифференцировки и поддержания дифференцированного состояния клеток; во-вторых, ядерно-цитоплазматические взаимодействия; в-третьих, «ауторегуляционные» функции цито-

плазмы, под которыми подразумеваются как посттранскрипционный и посттрансляционный контроль продуктов экспрессии генов, так и материнская регуляция; в-четвертых, — это геномный импринтинг. При всей искусственности такого разделения оно становится очень удобным при попытке разобраться в той мозаике фактов, которую сейчас напоминает биология раннего развития млекопитающих.

Вследствие того, что важнейшим объектом эмбриологических исследований, посвященных этому классу, уже многие десятилетия является мышь, представленный обзор будет, в основном, базироваться на данных, полученных при изучении именно этого вида.

В течение первых четырех суток после оплодотворения, на доимплантационных стадиях, в зародыше мыши происходит несколько важных событий. Первое среди них — активация генома на ранней двухклеточной стадии. Далее следует компактизация, начинающаяся после третьего деления клеточного цикла (на стадии 16 клеток) в эмбрионе появляются две принципиально разные популяции бластомеров — «внутренние» и «внешние», т. е. возникает «радиальная» асимметрия зародыша. После пятого деления дробления начинает образовываться полость бластоцеля, знаменующая собой появление двух различных клеточных популяций — трофэктодермы и внутренней клеточной массы (ВКМ); кроме того, зародыш приобретает дорзо-вентральную асимметрию. В обзоре эти события рассмотрены в свете приведенных выше «четырёх регуляторных факторов развития» и имеющих к настоящему моменту экспериментальных данных, а также сделана попытка свести их в некую общую схему регуляции доимплантационного морфогенеза мыши.

Межклеточные взаимодействия. Межклеточные взаимодействия, возможно, играют ведущую роль при образовании на стадии бластоцисты двух принципиально различных клеточных популяций — ВКМ и трофэктодермы. Начальный этап этой дифференцировки (при переходе от 8- к 16-клеточной стадии) характеризуется возникновением «наружных» и «внутренних» бластомеров. Оказалось, что именно «внутренних» клетки в дальнейшем образуют ВКМ, тогда как из «наружных» бластомеров получается трофэктодерма [4—7]. Подобная схема дифференцировки была названа Тарковским [4] «внутри и снаружи» (*inside-outside theory*).

Для изучения межклеточных сигнальных систем, направляющих развитие, используется не-

сколько подходов. Еще в 70-х — начале 80-х гг. одним из самых широко использовавшихся методов в этой области было изучение цитоскелета бластомеров, его изменения при компактизации и кавитации. Эти данные, несмотря на их значимость, не приблизили нас к раскрытию механизмов регуляции доимплантационного развития. Поэтому не будем останавливаться на проблемах динамики цитоскелета в доимплантационном эмбрионе мыши, тем более что сведения о состоянии этого вопроса на современном этапе можно найти, например, в обзоре Гюй-Халлоне и Маро [8]. Совершенствование методов иммуноцитохимии позволило «заглянуть в глубь» эмбриона и изучить структуры, ответственные за передачу сигналов между бластомерами ранних зародышей. Киддер [9] детально обсудил факты, имеющиеся по данной проблеме, а Уотсон [10] рассмотрел с этой точки зрения роль межклеточных взаимодействий при образовании полости бластоцеля.

На взгляд автора, одним из самых (потенциально) информативных подходов к выяснению регуляторной роли межклеточных взаимодействий в раннем онтогенезе млекопитающих является изучение химерных зародышей, получающихся в результате агрегации двух или нескольких эмбрионов. Давно известно, что химеры способны развиваться как единый нормальный организм-мозаик, и с помощью этого метода удастся получить даже межвидовые (коза ↔ овца) «гибриды»; подробное обсуждение этих вопросов можно найти в книге МакЛарен [11]. Пожалуй, одним из наиболее удивительных свойств агрегации является то, что она позволяет добиться полноценной дифференцировки даже тех эмбрионов (или плюрипотентных клеток), которые индивидуально не развиваются. Например, были получены нормальные взрослые химеры между гиногенетическими, партеногенетическими, андрогенетическими и нормальными зародышами [12—14], химеры клеток тератокарциномы и эмбрионов мыши [15, 16], между эмбриональными стволовыми клетками и бластоцистами [17, 18].

В последнее время в исследованиях, связанных с так называемым направленным выключением гена (*targeted gene disruption* или *functional gene knockout*; см., например, [19]), широко используется то свойство химерных животных, что в закладке половых клеток участвуют обе части химеры. В этих экспериментах у эмбриональных стволовых клеток при помощи молекулярных методов производится направленное разрушение интересующего гена (как правило, достигается оно встраиванием векторной конструкции в кодирующую или

регуляторную области), затем эти клетки переносятся в полость бластоцеля нормального эмбриона. Получаются химеры, состоящие из двух частей, — «нормальной» и «дефектной». Этим методом (разумеется, в оптимальном случае) можно достичь двух целей. Во-первых, по вкладу «дефектной» части в органы и ткани химеры можно судить о том, как присутствие «нормальной» части повлияло на процесс ее дифференцировки, и соответственно сделать выводы как о роли, так и, частично, о механизмах регуляции «выключенного гена». Во-вторых, в случаях, когда клетки «дефектной» части вносят свой вклад в популяцию половых клеток взрослой химеры, появляется возможность получать гетеро- и гомозиготных по «выключенному» гену (*null mutations*) потомков, что также очень важно для изучения его роли. Таким способом к настоящему моменту уже изучено много генов, направляющих развитие, например, протоонкоген *c-mos*, ответственный за созревание ооцитов [20, 21]; *Notch1*, являющийся одним из регуляторов дифференцировки эктодермы и нервной ткани [22]; *HNF-4*, кодирующий стероидзависимый фактор транскрипции, играющий важную роль во время гастрюляции [23], и другие.

Чрезвычайно интересные результаты получены при агрегации асинхронных, т. е. находящихся на разных стадиях развития, зародышей. В экспериментах Пратера и Ферста [24—26] было показано ускорение образования бластоцеля у зародышей, полученных при объединении одного бластомера 8-клеточного эмбриона с двухклеточным зародышем, по сравнению с двухклеточными контрольными. Вопреки ожиданиям оказалось, что в подобных асинхронных химерах более «продвинутые» бластомеры не вносят относительно большего вклада в популяцию клеток ВКМ [25]. Интересно то, что при агрегации «слегка» асинхронных бластомеров зародышей ранней и поздней 8-клеточной стадии (разница в развитии составляет около 4 ч) или 4-клеточных зародышей с 8-клеточными наблюдается иная картина: потомки «поздних» бластомеров вносят больший вклад в популяцию ВКМ [7, 27]. К сожалению, до сих пор не было предпринято попыток изучения асинхронных химер на молекулярном уровне. Несомненно, однако, то, что выяснение механизмов взаимодействия бластомеров, находящихся на разных стадиях развития, не только интересно *per se*, но и позволит глубже понять процессы регуляции доимплантационного развития, происходящие на межклеточном уровне.

Взаимодействие ядра и цитоплазмы. Логичным следствием отсутствия преддетерминированности в доимплантационном морфогенезе млекопита-

ющих является то, что взаимосвязь генома зародыша и его окружения — цитоплазмы — служит одним из главных регуляторов раннего развития. Действительно, без включения эмбрионального генома на двухклеточной стадии зародыш мыши даже не скомпактизуется [28], а, например, при «выключении» транскрипции на стадиях вплоть до 16-клеточной в нем не сможет образоваться бластоцель [29]. В то же время на цитоплазматическом уровне осуществляется как контроль клеточного цикла, так и в какой-то мере регуляция программы морфогенеза, доказательством чему могут служить результаты пересадок гетерологичных ядер в экспериментах по клонированию млекопитающих (см. обзор [30]).

Итак, что же к настоящему моменту известно о том, как ядро и цитоплазма взаимодействуют в развитии? У мыши включение собственного генома эмбриона происходит на двухклеточной стадии [31] и сопровождается резким увеличением уровня белкового синтеза и появлением характерных белков, в частности, так называемого TRC70 (Transcription Requiring Complex 70 kDa). (Недавно было показано, что после оплодотворения ооцита сперматозоидом трансгенного самца синтез мРНК трансгена (люциферазы) начался уже в поздней зиготе [32].) «Выключение связи» между ядром и цитоплазмой при помощи ингибитора транскрипции α -аманитина на стадии зиготы не мешает нормальному прохождению первого деления дробления [33], однако препятствует появлению продуктов активации собственного генома зародыша [28]. Поздняя двухклеточная и ранняя—средняя четырехклеточная стадии характеризуются тем, что в это время идет транскрипция продуктов, необходимых для компактизации. Подавление синтеза РНК на этом этапе останавливает развитие на 8-клеточной стадии [34]. К моменту, когда число клеток зародыша достигает 16 (возможно, и раньше) в цитоплазме накапливается достаточно «ядерных» продуктов для образования бластоцеля и вылупления, так как α -аманитин, начиная с этой стадии, не препятствует прохождению последующих этапов морфогенеза [29].

Работы последних лет лаборатории Киддера ([35—38]; обзор [9]), посвященные двум генам одного из ключевых ферментов при образовании бластоцеля, — Na^+ , K^+ АТФазы — позволили глубже понять регуляцию экспрессии генома в доимплантационном развитии. Этот трансмембранный белок состоит из двух субъединиц — α (каталитической) и β (по всей видимости, регуляторной) — и его появление на стадии поздней морулы знаменует собой начало формирования бластоцисты. На-

копление мРНК α -субъединицы начинается уже на 2-клеточной стадии, а к 8-клеточной ее уровень достигает 70 % от стадии бластоцисты. Специфические антитела к α -субъединице выявляют ее лишь в поздней моруле. Однако было показано, что трансляция мРНК идет постоянно; следовательно, либо этот полипептид не полностью синтезируется, либо его процессинг осуществляется на посттрансляционном уровне. Иная картина наблюдается в случае β -субъединицы АТФазы. Хотя «следовая» транскрипция идет в течение всего доимплантационного развития, резкое увеличение синтеза ее мРНК происходит на стадии морулы. По-видимому, накопление β -субъединиц является толчком к увеличению синтеза (или посттрансляционному созреванию) α -субъединиц АТФазы, что, в свою очередь, ведет к накоплению этого фермента на апикальных мембранах бластомеров (в этом процессе задействован цитоскелет) и началу образования полости бластоцеля. В случае подтверждения данной гипотезы Киддера появится яркий пример того, как активация единственного гена приводит к запуску очередного морфогенетического события в онтогенезе.

В настоящий момент все больше доказательств находит теория, согласно которой механизм регуляции доимплантационного морфогенеза, если рассматривать его через призму взаимоотношений ядро \leftrightarrow цитоплазма, осуществляется по принципу «go when ready» (выражение принадлежит Дадрику и Шульцу [39]). Согласно этому воззрению, запуск очередной стадии морфогенеза может начаться лишь после того, как будет достигнут определенный «критический» уровень концентрации продуктов предшествующего этапа [40]. Это означает, что последовательность событий, происходящих на доимплантационных стадиях, чрезвычайно жестко предетерминирована; в данном случае можно вспомнить эпигенетический ландшафт Уоддингтона [41]. Однако на сегодня именно раскрытие механизмов, последовательно проводящих зародыш через доимплантационные стадии, очень важно для осмысления онтогенеза млекопитающих.

«Цитоплазматическая» регуляция доимплантационного развития. Как было отмечено выше, вследствие «регуляторности» онтогенеза млекопитающих материнский контроль развития осуществляется лишь на самых ранних стадиях, до тех пор, пока не включится эмбриональный геном. Поскольку у мыши это происходит на двухклеточной стадии, то материнской регуляции «подлежит» лишь первый клеточный цикл. Однако даже на этом этапе присутствие ядра необходимо для нормально-го дробления: энуклеированные зиготы не делятся,

а лишь фрагментируются [42]. В данном случае не имеет значения, какое именно это ядро, так как первый клеточный цикл нормально проходят даже зиготы, у которых собственное ядро заменено на ядро соматической клетки или второго полярного тельца [43, 44]. Дальнейшего же развития в таких случаях не наблюдается. В экспериментах по клонированию млекопитающих, когда осуществляется пересадка ядер из бластомеров достаточно поздних стадий в зиготу, при успешном развитии реконструированных эмбрионов принято говорить о «перепрограммировании» ядра цитоплазмой [30]. На взгляд автора, корректнее было бы назвать это «гибкостью» геномов бластомеров, еще не ушедших далеко по пути специализации. Подобную точку зрения можно обосновать хотя бы тем, что успешное развитие (у мыши) после пересадок удавалось получить, используя ядра «не старше» стадии 8 клеток, а у этих эмбрионов, как известно, все бластомеры равнозначны и тотипотентны.

К «ауторегуляторным» функциям цитоплазмы можно также отнести посттранскрипционный и посттрансляционный контроль продуктов экспрессии генома зародыша в тех случаях, когда эти процессы разнесены во времени и пространстве. Так регулируются, например, обсуждавшаяся выше Na^+ , K^+ АТФаза, мембранный белок Е-кадгерин, ответственный за клеточную адгезию, белок межклеточных контактов коннексин-43 и некоторые другие [9]. Именно благодаря таким механизмам регуляции развитие блокируется не моментально после «выключения» ядра α -аманитином, но продолжается еще некоторое время [29, 34]. Сюда же можно отнести и результаты, полученные в работе [45]: цитопласты зародышей, культивировавшихся в присутствии ингибитора цитокинеза цитохалазина D и энуклеированных на 8-клеточной стадии, образовывали некое подобие бластоцеля и вылуплялись примерно в одно и то же время, что и неэнуклеированные «одноклеточные бластоцисты».

Единственным имеющимся к настоящему времени примером «материнского эффекта» на развитие мыши служит линия мышей DDK. Самки этой линии, будучи скрещенными с самцами любой другой линии, не дают потомства: эмбрионы погибают вскоре после имплантации. Реципрокные скрещивания, однако, фертильны. Этот феномен, названный «синдромом DDK», связан с локусом *Om*, вызывающим у самок DDK несовместимость между ооцитом и каким-то отцовским фактором [46, 47]. В лабораториях Бабинне и Ренара [48, 49] было показано, что «синдром DDK» вызван материнской мРНК, имеющейся в зрелых ооцитах и сохраняющей свою активность и в доимплантаци-

онном развитии, которая каким-то образом взаимодействует с отцовским геномом и влияет на него. Хотя то, каким образом осуществляются данные взаимодействия, все еще неизвестно, необходимость раскрытия их молекулярных механизмов представляется очевидной.

Геномный импринтинг. После открытия того, что в онтогенезе млекопитающих отцовский и материнский геномы неравнозначны [50, 51], и доказательства невозможности полного развития андрогенетических, гиногенетических и партеногенетических зародышей [30] явлению, впоследствии названному геномным импринтингом, стали уделять большое внимание. К настоящему времени исследовано достаточно много подверженных импринтингу генов мыши (например, ген инсулиноподобного фактора роста *Igf2*, ген его рецептора *Igf2r*, ген малого ядерного рибонуклеопротеина *N SnrpN*, ген *H19*, тесно сцепленный с *Igf2*, но имеющий «противоположный» импринт); кроме того, составлена довольно точная хромосомная карта импринтинга. Процесс инактивации одной из X-хромосом в онтогенезе самок млекопитающих, являющийся механизмом дозовой компенсации, во многом напоминает импринтинг. Общепринятым, хотя до сих пор не вполне доказанным, является мнение, что импринтинг реализуется через метилирование геномной ДНК во время гаметогенеза. По крайней мере, для некоторых генов (в частности, *Igf2* и *H19* [52]) была показана связь между уровнем экспрессии аллеля и степенью метилированности некоторых близлежащих участков ДНК. Интересно, что метилирование может репрессировать ген, как это происходит в случае *H19*, и, наоборот, активировать его, как, например, *Igf2r*.

В большинстве случаев импринтинг начинает играть важную роль на постимплантационных стадиях: в частности, недавно было показано, что на доимплантационных стадиях два «классических» гена при изучении импринтинга — *Igf2* и *Igf2r* — могут экспрессироваться при андро-, партено- или гиногенезе как с отцовской, так и материнской хромосомы [53]. Аналогичные результаты были получены при изучении экспрессии генов *Igf2*, *Igf2r*, *SnrpN* и *H19* в дифференцирующихся *in vitro* андро- и гиногенетических эмбриональных стволовых клетках [54]. В обоих случаях необходимо отметить, что при нормальном развитии *in vivo* экспрессия всех этих генов идет исключительно с отцовского или материнского аллеля. Например, методом направленного мутагенеза было показано, что при наследовании «выключенного» аллеля *Igf2r* от отца развитие идет нормально, тогда как большинство зародышей, получивших нефункциональ-

ную копию этого гена от матери, погибает в перинатальный период [55]. Лэтэм с соавт. [53] предложили гипотезу, согласно которой импринтинг «помечает» хромосому во время гаметогенеза, а «метка» затем узнается какими-то регуляторными факторами клеток, достигших определенных стадий онтогенеза, и селективно выключает материнский или отцовский аллель. По мнению авторов, эта гипотеза позволяет отойти от не лишней недостатков модели импринтинга, по которой материнские или отцовские аллели импринтированных генов «молчат» с момента оплодотворения.

Закключение. Постоянно увеличивающийся объем наших знаний о развитии млекопитающих позволяет сейчас по крайней мере «расставить ориентиры» в огромном количестве имеющихся фактов и гипотез. Несомненно, что в ближайшем будущем основной проблемой эмбриологии данного класса животных станет выяснение «соподчиненности» уровней регуляции в онтогенезе. Без решения этой задачи мы даже близко не сможем подойти к пониманию общей картины эмбриогенеза млекопитающих.

Эмбриональный геном, начинающий играть первостепенную роль с самых начальных этапов развития млекопитающих, является главным претендентом на роль «вершины» иерархической структуры регуляторов онтогенеза. Как видно из вышеизложенного, ядро служит единственным носителем информации уже на доимплантационных стадиях, а через его взаимодействия с цитоплазмой реализуется программа эмбриогенеза. Дальнейшее изучение механизмов их взаимоотношений должно принести плодотворные результаты.

Важной задачей будущих исследований является выяснение того, как соотносятся «цитоплазматическая» и «межклеточная» регуляции развития. Первые шаги в этом направлении, например, создание асинхронных химер уже сделаны. Вопрос о соподчиненности этих уровней регуляции (по крайней мере, в доимплантационном развитии) все еще остается открытым.

Кроме того, представляется очень важным выяснение роли «внутреннего» регулятора генома — импринтинга — в онтогенезе. Открытие этого явления поставило перед исследователями ошеломляющий вопрос: является ли эмбриональный геном млекопитающих единой структурой или на самом деле мы имеем дело с двумя геномами — материнским и отцовским, точное взаимодействие которых является жизненно важным для полноценного развития организма. В связи с этим проблема импринтинга начинает привлекать пристальное внимание многих эмбриологов.

О. В. Євсиков

Регуляторні механізми доімплантаційного морфогенезу миші

Резюме

В огляді розглянуто сучасні проблеми регуляції доімплантаційного розвитку ембріона миші. Обговорюється роль чотирьох базових регуляторів онтогенезу ядерно-цитоплазматичних взаємодій, «цитоплазматичної» регуляції, міжклітинних взаємодій та геномного імпринтингу.

А. V. Evsikov

Regulatory mechanisms of mouse preimplantation development

Summary

Our review focuses on modern problems of developmental regulation in preimplantation mouse embryo. The roles of four involved mechanisms, nucleo-cytoplasmic interactions, «cytoplasmic» regulation, cell-cell interactions and genomic imprinting, are discussed.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Davidson E. H. Spatial mechanisms of gene regulation in metazoan embryos // *Development*.—1991.—113.—P. 1—26.
- Evsikov S. V., Morozova L. M., Solomko A. P. Role of ooplasmic segregation in mammalian development // *Roux's Arch. Develop. Biol.*—1994.—203.—P. 199—204.
- Dworkin M. B., Dworkin-Rastl E. Functions of maternal mRNA in early development // *Mol. Reprod. Develop.*—1990.—26.—P. 261—279.
- Tarkowski A., Wroblewska J. Development of blastomerés of mouse eggs isolated at the 4- and 8-cell stage // *J. Embryol. Exp. Morph.*—1967.—18.—P. 155—180.
- Johnson M. H., Ziomek C. A. Cell interactions influence the fate of mouse blastomeres undergoing the transition from the 16- to the 32-cell stage // *Develop. Biol.*—1983.—95, N 1.—P. 211—218.
- Pedersen R. A., Wu K., Balakier H. Origin of the inner cell mass in mouse embryos: cell lineage analysis by microinjection // *Ibid.*—1986.—117.—P. 581—595.
- Garbutt C. L., Johnson M. H., George M. A. When and how does cell division order influence cell allocation to the inner cell mass of the mouse blastocyst? // *Development*.—1987.—100.—P. 325—332.
- Gueth-Hallonet C., Maro B. Cell polarity and cell diversification during early mouse embryogenesis // *Trends Genet.*—1992.—8, N 8.—P. 274—279.
- Kidder G. M. The genetic program for preimplantation development // *Develop. Genet.*—1992.—13.—P. 319—325.
- Watson A. J. The cell biology of blastocyst development // *Mol. Reprod. Develop.*—1992.—33.—P. 492—504.
- Мак-Ларен Э. Химеры млекопитающих.—М.: Мир, 1979.
- Surani M. A. H., Barton S. K., Kaufman M. H. Development to term of chimeras between diploid parthenogenetic and fertilized embryos // *Nature*.—1977.—270.—P. 601—602.
- Otani H., Yokoyama M., Nozawa-Kimura S. et al. Pluripotency of homozygous-diploid mouse embryos in chimeras // *Develop. Growth and Differ.*—1987.—29, N 4.—P. 373—380.
- Paldi A., Nagy A., Markkula M. et al. Postnatal development of parthenogenetic + fertilized mouse aggregation chimeras // *Development*.—1989.—105.—P. 115—118.
- Hanaoka K., Kato Y., Noguchi T. Comparative study on the ability of various teratocarcinomas to form chimeric mouse embryos // *Develop. Growth and Differ.*—1986.—28, N 3.—P. 223—231.
- Hanaoka K., Hayasaka M., Noguchi T., Kato Y. Viable chimeras between embryonal carcinoma cells and mouse embryos: comparison of aggregation and injection methods // *Ibid.*—1987.—29, N 3.—P. 263—270.
- Hanaoka K., Kondo S., Hayasaka M., Kato Y. Internalization of embryonal carcinoma cells when aggregated with normal mouse embryos // *Ibid.*—N 4.—P. 307—315.
- Tokunaga T., Tsunoda Y. Efficacious production of viable germ-line chimeras between embryonic stem (ES) cells and 8-cell stage embryos // *Ibid.*—1992.—34, N 5.—P. 561—566.
- Travis J. Scoring a technical knockout in mice // *Science*.—1992.—256.—P. 1392—1394.
- Colledge W. H., Carlton M. B. L., Udy G. B., Evans M. J. Disruption of *c-mos* causes parthenogenetic development of unfertilized mouse eggs // *Nature*.—1994.—370, N 6484.—P. 65—67.
- Hashimoto N., Watanabe N., Furuta Y. et al. Parthenogenetic activation of oocytes in *c-mos*-deficient mice // *Ibid.*—P. 68—70.
- Swiatek P. J., Lindsell C. E., Franco del Amo F. et al. *Notch1* is essential for postimplantation development in mice // *Genes and Develop.*—1994.—8, N 6.—P. 707—719.
- Chen W. S., Manova K., Weinstein D. C. et al. Disruption of the HNF-4 gene, expressed in visceral endoderm, leads to cell death in embryonic ectoderm and impaired gastrulation of mouse embryos // *Ibid.*—N 3.—P. 2466—2477.
- Prather R. S., First N. L. Reprogramming of murine blastocoele formation // *J. Exp. Zool.*—1986.—237.—P. 347—350.
- Prather R. S., First N. L. Developmental fate in chimeras derived from highly asynchronous murine blastomeres // *Ibid.*—1987.—242.—P. 27—33.
- Prather R. S., First N. L. Chimerization of highly asynchronous murine blastomeres: Developmental alteration? // *Gamete Res.*—1988.—19, N 4.—P. 359—367.
- Spindle A. Cell allocation in preimplantation mouse chimeras // *J. Exp. Zool.*—1982.—219.—P. 361—367.
- Howlett S. K. The effect of inhibiting DNA replication in the one-cell mouse embryo // *Roux's Arch. Develop. Biol.*—1986.—195.—P. 499—505.
- Kidder G. M., McLachlin J. R. Timing of transcription and protein synthesis underlying morphogenesis in preimplantation mouse embryos // *Develop. Biol.*—1985.—112.—P. 265—275.
- McGrath J., Solter D. Nucleocytoplasmic interactions in the mouse embryo // *J. Embryol. Exp. Morph.*—1986.—97, Suppl.—P. 277—289.
- Clegg K. B., Piko L. Quantitative aspects of RNA synthesis and polyadenylation in 1- cell and 2-cell mouse embryos // *Ibid.*—1983.—74.—P. 169—182.
- Kasuya M., Masayuki A., Naomi N. et al. Onset of paternal gene activation in early mouse embryos fertilized with transgenic sperm // *Mol. Reprod. Develop.*—1994.—39, N 2.—P. 136—140.
- Bolton V. N., Oades P. J., Johnson M. H. The relationship between cleavage, DNA replication and activation of transcription in the mouse 2-cell embryo // *J. Embryol. Exp. Morph.*—1984.—79.—P. 139—163.
- Braude P. R. Time-dependent effects of α -amanitin on blastocyst formation in the mouse // *Ibid.*—1979.—52.—P. 193—202.
- Watson A. J., Kidder G. M. Immunofluorescence assessment of the timing of appearance and cellular distribution of Na/K-ATPase during mouse embryogenesis // *Develop. Biol.*—1988.—126.—P. 80—90.

36. *Watson A. J., Damsky C. H., Kidder G. M.* Differentiation of an epithelium: Factors affecting the polarized distribution of Na^+/K^+ -ATPase during mouse embryogenesis // *Ibid.*—1990.—141.—P. 104—114.
37. *Watson A. J., Pape C., Emanuel J. R. et al.* Expression of Na^+/K^+ -ATPase α and β subunit genes during preimplantation development of the mouse // *Develop. Genet.*—1990.—11.—P. 41—48.
38. *MacPhee D. J., Barr K. J., DeSousa P. A. et al.* Regulation of Na^+/K^+ -ATPase α subunit gene expression during mouse preimplantation development // *Develop. Biol.*—1994.—162.—P. 259—266.
39. *Dardik A., Schultz R. M.* Blastocoel expansion in the preimplantation mouse embryo—stimulatory effect of TGF- α and EGF // *Development.*—1991.—113.—P. 919—930.
40. *Evsikov S. V., Morozova L. M., Solomko A. P.* The role of the nucleocytoplasmic ratio in development regulation of the early mouse embryo // *Development.*—1990.—109.—P. 323—328.
41. *Уоддингтон К. Х.* Организаторы и гены.— М.: Гос. Изд. Иностран. Лит., 1947.—240 с.
42. *Waksmundska M., Krysiak E., Karasiewicz J. et al.* Autonomous cortical activity in mouse eggs controlled by a cytoplasmic clock // *J. Embryol. Exp. Morph.*—1984.—79.—P. 77—96.
43. *Evsikov S. V., Evsikov A. V.* Preimplantation development of manipulated mouse zygotes fused with the second polar bodies: a cytogenetic study // *Int. J. Develop. Biol.*—1994.—38.—P. 725—730.
44. *Евсиков А. В., Евсиков С. В.* Изучение первого и второго полярных телец в оогенезе мыши // *Онтогенез.*—1995.—26, № 3.—С. 196—200.
45. *Evsikov S. V.* Embryo viability and the timing of blastocoel formation depend on the nucleocytoplasmic ratio of the reconstructed mouse embryos // *Proc. of the Congr. of the Eur. Develop. Biol. Organisation.*—Toulouse, 1995.—P. 127.
46. *Wakasugi N., Tomita T., Kondo K.* Differences of fertility in reciprocal crosses between inbred strains of mice: DDK, KK, and NC // *J. Reprod. Fert.*—1967.—13.—P. 41—50.
47. *Wakasugi N.* A genetically determined incompatibility system between spermatozoa and eggs leading to embryonic death in mice // *Ibid.*—1974.—41.—P. 85—96.
48. *Babinet C., Richoux V., Guenet J.-L., Renard J.-P.* The DDK inbred strain as a model for the study of interactions between parental genomes and egg cytoplasm in mouse preimplantation development // *Development.*—1990, Suppl.—P. 81—87.
49. *Renard J.-P., Baldacci P., Richoux-Duranthon V. et al.* A maternal factor affecting mouse blastocyst formation // *Ibid.*—1994.—120.—P. 797—802.
50. *Barton S. C., Surani M. A. H., Norris M. L.* A Role of paternal and maternal genomes in mouse development // *Nature.*—1984.—311.—P. 374—376.
51. *Surani M. A. H., Barton S. C., Norris M. L.* Development of mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis // *Ibid.*—1984.—308.—P. 548—550.
52. *Feil R., Walter J., Allen N. D., Reik W.* Developmental control of allelic methylation in the imprinted mouse *Igf2* and *H19* genes // *Development.*—1994.—120.—P. 2933—2943.
53. *Latham K. E., Doherty A. S., Scott C. D., Schultz R. M.* *Igf2r* and *Igf2* gene expression in androgenetic, gynogenetic, and parthenogenetic preimplantation mouse embryos: absence of regulation by genomic imprinting // *Genes and Develop.*—1994.—8, N 3.—P. 290—299.
54. *Szabo P., Mann J. R.* Expression and methylation of imprinted genes during *in vitro* differentiation of mouse parthenogenetic and androgenetic embryonic stem cell lines // *Development.*—1994.—120.—P. 1651—1660.
55. *Lau M. M. H., Stewart C. E. H., Liu Z. et al.* Loss of the imprinted *IGF2/cation-independent mannose 6-phosphate receptor* results in fetal overgrowth and perinatal lethality // *Genes and Develop.*—1994.—8, N 24.—P. 2953—2963.

УДК 591

Поступила в редакцию 28.08.96