

СИСТЕМА «ООЦИТ—ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ КЛЕТКИ» КАК  
МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СИНТЕЗА НУКЛЕИНОВЫХ  
КИСЛОТ И БЕЛКОВ В ПРОЦЕССЕ  
ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ КЛЕТОК

Ю. А. МАГАКЯН

На основе собственных цитофотометрических, цитохимических, радиоавтографических и цитоморфологических данных по оогенезу кошенили и обзора литературы по другим насекомым рассматриваются вопросы морфогенеза клеточных элементов политрофной овариолы, синтеза и накопления нуклеиновых кислот и белков и их внутри- и межклеточного транспорта. Показано, что морфогенетические преобразования элементов системы овариолы находятся в тесной связи с гиперрепликацией ДНК в ядрах и синтезом огромных количеств РНК и белка на основе дополнительно кодирующего материала в системе. Указанная система является удобной моделью для изучения процессов синтеза нуклеиновых кислот и белка и механизмов их внутриклеточной и системной регуляции.

Благодаря комплексному применению морфологических, цитохимических и радиоавтографических методов в цитологических исследованиях в последние годы стал возможен функциональный подход к решению ряда проблем клеточной дифференцировки и, в частности, кардинальных вопросов о зависимостях между внутри- и межклеточными уровнями регуляции синтеза нуклеиновых кислот и белков дифференцирующихся клеток и о коррелятивных отношениях между синтетическими и морфогенетическими процессами. В связи с этим все большее значение стал приобретать вопрос о выборе таких модельных клеточных систем, которые, находясь в условиях интегрированной системы регуляций целостного организма, обладали бы определенной «автономностью» внутрипопуляционных (над- и субклеточных) регуляторных механизмов, так как только в этом случае создается реальная возможность с помощью комплексных методов исследования вскрыть указанные механизмы регуляции в относительной независимости от интегративных отношений организма в целом.

Механизмы регуляции синтеза нуклеиновых кислот и белков, размножения клеток, их дифференцировки и функциональной специализации, несомненно, сходны для всех клеток, и именно поэтому исследование модельных клеточных систем в развитии представляет общебиологический интерес.

В качестве примера удачного выбора моделей такого рода и изучения их комплексными методами можно привести работы по динамике синтеза нуклеиновых кислот и белков и функциональной активности клеток в системе «нейрон—нейроглия» [19], в популяции дифференци-

рующих нейронов переднего мозга и нейронов Пуркинье мозжечка [15, 18], в гетерогенной популяции гепатоцитов [5], в клетках эритропоэтического ряда [14] и др., в которых удалось вскрыть целый ряд ранее неизвестных закономерностей поведения конкретных групп клеток, входящих в более сложные системы тесно взаимосвязанных одна с другой клеточных популяций при нормальном их развитии, в условиях эксперимента и в патологии.

Несомненный интерес представляет также изучение дифференцирующихся и интенсивно растущих клеток, входящих в систему развивающегося фолликула яичника с политрофным строением овариол, при котором, как известно, в становлении организации зрелого яйца участвуют вспомогательные клетки—трофоциты и фолликулярные клетки. Эта система, как и описанные выше, в силу некоторой «обособленности» от воздействия надсистемных механизмов регуляции является удобной моделью для исследования процессов дифференцировки и функциональной специализации клеток на различных уровнях ее организации—молекулярном, субклеточном, клеточном и популяционном [1, 16, 17, 21].

Изучение этой системы тесно взаимосвязанных клеток важно еще и потому, что оно позволяет помимо общих проблем клеточной дифференцировки подойти к решению ряда частных проблем оогенеза таких, как формирование зрелого яйца, что невозможно без раскрытия механизмов гигантского роста ооцита, обусловленного накоплением в ооплазме большого количества р-РНК и желтка, предназначенных для обеспечения развития будущего зародыша.

В результате проведенных к настоящему времени исследований годов с политрофной структурой овариол различных видов животных, главным образом насекомых, накоплен большой фактический материал, позволяющий осмыслить многие аспекты структуры и функции всех элементов этой системы (см. обзоры: Айзенштадт [1] и Грузовой [9]). Многочисленные данные, характеризующие различные стороны развития и функционирования ооцита и вспомогательных клеток у араратской кошенили—насекомого, также имеющего политрофную структуру овариол, получены в нашей лаборатории при помощи методов цитоморфологии, цитоспектрофотометрии и радиоавтографии.

Основной целью настоящего сообщения является: обобщить сведения, характеризующие изменения в структуре и взаимодействии клеточных элементов, образующих политрофную овариолу, в процессе оогенеза и, используя системный подход, представить это сообщество клеток в качестве модели для изучения синтеза нуклеиновых кислот и белков в процессах дифференцировки и морфогенеза.

В начале обзора мы сочли необходимым кратко изложить события, происходящие в период формирования политрофной овариолы, и дать общую схему роста ооцитов с указанием основных характерных изменений в морфологии ядрышко-ядерного аппарата ооцита и вспомогательных клеток овариолы, главным образом, на примере оогенеза кошенили.

*Морфогенез политрофной овариолы и ее клеточных элементов.* Собственно оогенез начинается с оогониальных делений, принципиальная схема которых вплоть до появления вторичных голий одинакова как для оо-, так и для сперматогенеза [20]. Первичные оогонии проходят серию последовательных делений (у разных животных их число различно [9], у кошенили оно равно 4 [17]) и переходят во вторичные оогонии. По данным цитофотометрии и радиоавтографии, во вторичных голиях в предмейотической интерфазе удваивается количество ДНК, и они вступают в мейоз с тетраплоидным количеством ДНК при диплоидном числе хромосом [67]. В политрофных овариолах насекомых в гермариин (у кошенили в яйцевой камере [17]) вторичные оогонии также делятся от одного до нескольких раз (у кошенили они проходят последний—4-й тур [17, 21]), в результате чего возникает группа связанных между собой цитоплазматическими мостиками клеток (у кошенили 16). В ходе этих делений определяются протрофциты и прооциты (14 и 2 у кошенили). В дальнейшем один из прооцитов становится истинным ооцитом, а другой—трофоцитом или подвергается резорбции [6, 21]. Кинг с соавт. [33, 49], используя метод серийной реконструкции ультратонких срезов, показали, что в результате дифференцирующих митозов в прооциты превращаются клетки, имеющие наибольшее число цитоплазматических мостиков. Они вступают в мейоз и формируют синаптонемальный комплекс между конъюгирующими хромосомами. В остальных клетках—трофоцитах—начинается эндомитотическая репликация хромосом, в результате чего они полиплоидируются [9, 16, 21]. У некоторых насекомых, в том числе и у кошенили, все клетки (как ооцит, так и будущие трофоциты) синхронно проходят ранние стадии профазы мейоза, достигая пахитенной или диплотенной (у кошенили) стадий. В будущем ооците эти стадии протекают намного медленней, чем в трофоцитах, в которых хромосомы быстро спирализуются и образуют короткие тетрады [12, 17], после этого трофоциты вступают в эндомитоз [9, 21]. У некоторых насекомых расхождение путей дифференцировки трофоцитов и ооцита наступает еще раньше—на стадии зиготены [12].

Таким образом, расхождение путей развития ооцитов и трофоцитов начинается у различных насекомых на разных стадиях конъюгации хромосом, которая завершается лишь в ооцитах. Цитогенетические и химические факторы дивергенции путей дифференцировки трофоцитов и ооцитов еще не полностью выяснены. Имеющиеся сведения будут рассмотрены в следующем разделе.

Описанные процессы происходят в период так называемого малого роста ооцита (генеративной фазы). На диплотенной стадии ооциты вступают в период большого роста (вегетативную фазу), который можно назвать также фолликулярным периодом, так как именно с этого времени овариолы приобретают специфические черты строения, свойственные тому или иному типу мероистических (наличие трофоцитов) овариол [9, 12, 21]. Этот период подразделяется на несколько стадий

ду кошенили 5). В первую половину этого периода происходит интенсивный рост ядра и цитоплазмы ооцита (цитоплазматический рост), во вторую—осуществляется процесс вителлогенеза (трофоплазматический рост) [9, 17, 21]. У многих насекомых с политрофным строением овариола в это время хромосомы и ядрышки в ядре ооцита объединяются в единый комплекс—кариосферу. В конце периода большого роста хромосомы сильно укорачиваются, уплотняются. Наступает стадия диакинеза, после которой ядро разрушается, и хромосомы образуют метафазную пластинку I деления созревания [9, 17, 71]. У кошенили ядро ооцита долгое время сохраняет признаки высокой активности и почти до самого окончания вителлогенеза содержит одно или несколько активных ядрышек [17, 21]. Высокую активность проявляют также трофоциты [21]. Этим политрофная овариола кошенили существенно отличается от овариол других насекомых, имеющих политрофное строение. Появление и длительное функционирование интенсивно развитого ядрышкового аппарата в ядре ооцита характерно для ооцитов, не имеющих специализированных питающих клеток—трофоцитов (солитарный и фолликулярный типы оогенеза). Там же, где имеются трофоциты, ядрышки в ядре ооцита либо вообще отсутствуют, либо чаще всего функционируют короткое время, а хромосомы рано формируют кариосферу [8]. Для нескольких видов жуков-сильфид, имеющих политрофные овариолы, показано, что кариосфера активно включает  $^3\text{H}$ -уридин, множественные же ядрышки, находящиеся в тесном контакте с капсулой кариосферы и имеющие базофильную природу, метку не включают и, следовательно, не являются истинными ядрышками. Они содержат много РНК-, так как не выявляются после обработки срезов РНК-азой [53]. Описанная картина характерна для нутриментарного типа оогенеза. Кошениль по этим показателям занимает, таким образом, промежуточное положение между указанными типами оогенеза, что обуславливает еще больший интерес к ее исследованию. Следует отметить, что наличие ряда промежуточных форм и отклонений мы находим и у некоторых других насекомых [9].

Таковы, в общих чертах, основные характерные изменения в морфологии ооцита в процессе развития политрофной овариолы. Немаловажную роль в этом процессе, как уже указывалось, играют трофоциты, которые также претерпевают существенные изменения в период большого роста ооцита. У большинства насекомых с политрофным строением овариол их функция в это время значительно интенсифицируется, как правило, за счет полиплоидизации всего хромосомного набора и нередко независимой селективной репликации районов ядрышкового организатора [68—71]. Аналогичные преобразования происходят и в ядрах трофоцитов кошенили [16, 21]. Своеобразную форму приобретают эти процессы в трофоцитах яблонной плодовой гни, где развивается сферическое тельце ДНК в результате эндомитотической репликации XY-бивалента и, возможно, амплификации района ядрышкового

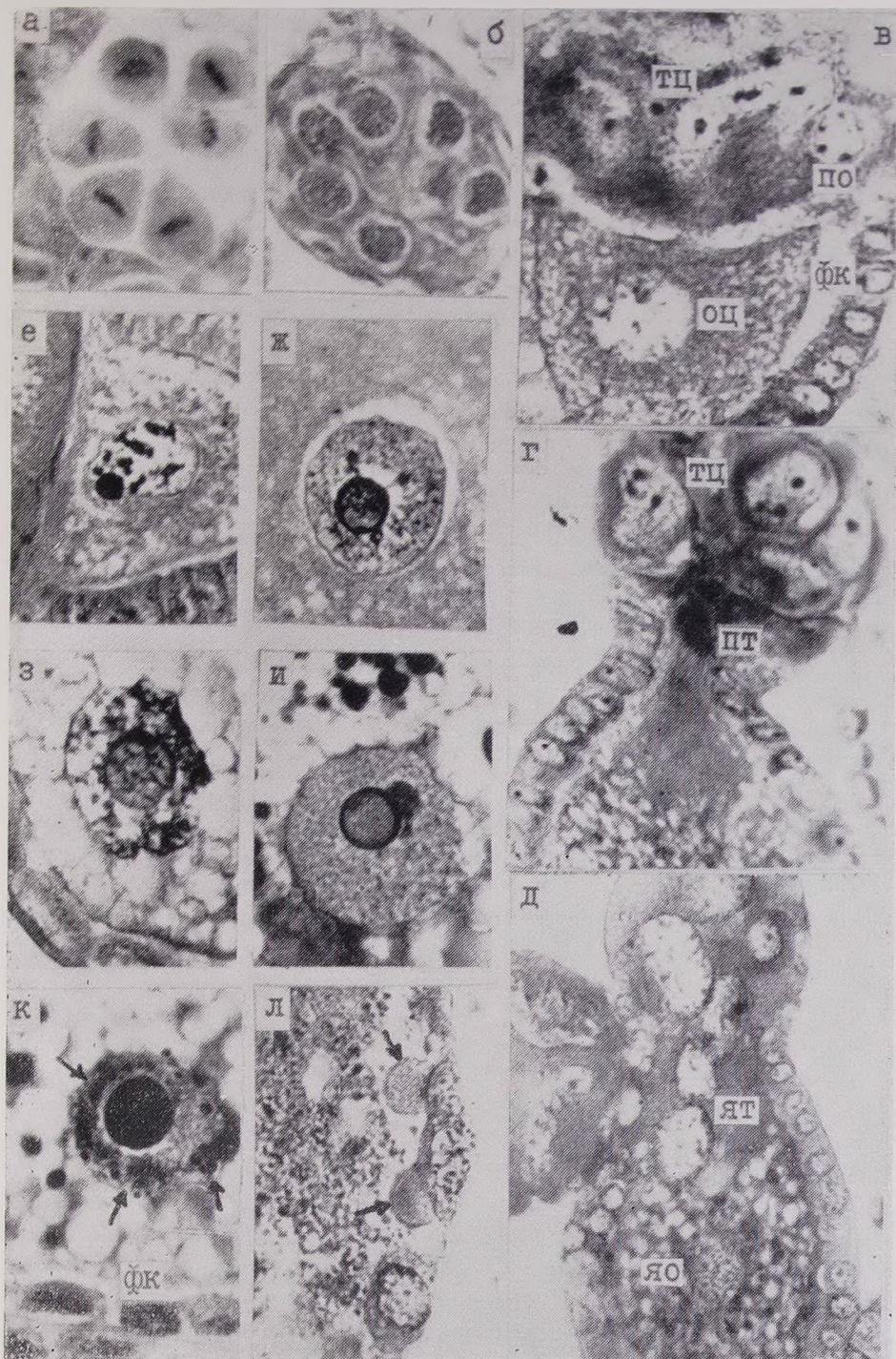


Рис. 1.

Рис. 1. Изменения в цитоморфологии ооцита и вспомогательных клеток в процессе развития политрофией овариполя кошенили а—последний (4-й) тур размножения ооцитов в шесте; б—эндомицитоз в ядрах протрофоцитов; в—интенсивно окрашивающиеся ядрышки трофоцитов (тц); ядро ооцита (оц) на стадии диплолены; дегенерирующий проооцит II (по) в питающей камере; фолликулярные клетки (фк) окружают ооцит; г—максимальная функция трофоцитов (тц); вещества базофильной природы поступают по питающему тяжу (пт) в ооплазму; д—«выброс» ядер трофоцитов (ят) в ооплазму; ядро ооцита (юо) отличается по окраске от (ят); е-к—последовательные этапы изменений ядра ооцита в пре- и вителлогенезе; увеличение размеров ядрышка (е-з) и его почкование (п); множественные ядрышкоподобные образования по периферии ядра ооцита (стрелки); эндомицитоз в ядрах фолликулярных клеток (фк); л—цитоплазматические «выбросы» из фолликулярных клеток в сторону ооплазмы (стрелки). Окраска: а, д—азаном по Гейденганну; б—фуксином по Фельгену; в, к—фуксином по Фельгену и железным гематоксилином; г, е-п, л—железным гематоксилином. Увеличение: а, б—об. 100×, ок. 12,5×; в, е-л—об. 100×, ок. 8×; г—об. 50×, ок. 8×; д—об. 25×, ок. 12,5×.

организатора, связанного с этим бивалентом. Не исключено, что это тело функционирует как гигантский ядрышковый организатор, в результате фрагментации которого в ядрах трофоцитов возникают (в том числе и у кошенили) множественные сложные ядрышки [7, 17, 21]. У некоторых насекомых, например у золотоглазки, в ядрах трофоцитов не обнаруживается высокой степени полиплоидизации и количество ДНК в них возрастает за счет селективной редупликации в районах ядрышковых организаторов. В ядрах же ооцитов развивается гигантский нуклеолярный аппарат [6, 10, 11]. Следует отметить, что степень полиплоидизации трофоцитов зависит не только от степени и продолжительности активации ядра ооцита, но и от числа их, приходящегося на один ооцит. Так, у улитковой пиявки, в яичнике которой на каждый ооцит приходится около 2000 питающих клеток, последние не полиплоидизируются [3].

Достигнув максимума в развитии к середине периода большого роста (у кошенили к 4-й стадии), трофоциты затем резко снижают уровень синтезирующей активности и быстро дегенерируют [17, 21].

Таким образом, систему «трофоциты—ооцит» можно рассматривать как бинарную, функции одного из элементов которой находятся в четкой зависимости от степени выраженности функциональной активности другого.

Картина морфогенеза политрофной овариолы была бы неполной без описания морфологических изменений фолликулярных клеток, окружающих ооцит почти с самого начала его развития и являющихся важным клеточным барьером между ооцитом и окружающей средой. Эти клетки дифференцируются из клеток мезодермального эпителия, окружающих группу цистоцитов (будущих трофо- и ооцитов) с самого начала развития овариолы. У кошенили фолликулярные клетки размножаются в «зоне митозов»—в области эпителиальной перегородки, отделяющей трофоциты от ооцита [17, 21]. По мере роста ооцита они выталкиваются в стенку фолликула и постепенно увеличиваются в размерах. При этом образуется определенный градиент увеличения их размеров от апикального к базальному полюсу фолликула. В ядрах этих клеток наблюдается эндомитотическая репликация хромосомного набора, которая приводит к их полиплоидизации [1, 16, 17]. С момента их формирования (к началу периода большого роста ооцита) вплоть до завершения оогенеза они проявляют признаки высокой функциональной активности, выражающиеся в наличии интенсивно окрашивающихся ядрышек и базофильной цитоплазмы [17, 21]. К концу оогенеза фолликулярные клетки образуют хорион, окружающий ооцит, что является, бесспорно, результатом их деятельности. Что касается их участия в питании ооцита, то в этом вопросе нет единого мнения. В ранних работах авторы придерживались мнения, что из фолликулярных клеток в ооцит переходят нуклеиновые кислоты [67], более поздние электронномикроскопические исследования показали, что между фолликулярными клетками и ооцитом цитоплазматические мостики не об-

разуются [1]. Правда в одной из последних работ установлено, что в ооците прямокрылых на стадии вителлогенеза образуются микроворсинки и многочисленные пиноцитозные пузырьки. Наблюдается образование микроворсинок и в фолликулярных клетках [40]. Вместе с тем обнаружено, что у дрозофилы на стадиях пре- и вителлогенеза формируются цитоплазматические мостики между фолликулярными клетками, причем строение этих мостиков не отличается от строения мостиков между трофоцитами и ооцитом [39]. В то же время наши исследования на кошенили (на уровне световой микроскопии) выявили образование своего рода «цитоплазматических выбросов» из фолликулярных клеток в ооплазму [17, 21]. Этот вопрос требует дальнейшего изучения. Считается тем не менее установленным, что фолликулярные клетки участвуют в транспорте определенных веществ из перифолликулярного пространства в ооплазму и в секретию в пернооцитное пространство гликопротеидов [1, 61]. На этом более подробно мы остановимся в следующих разделах. Так или иначе фолликулярные клетки входят в сообщество клеток, образующих единую систему политрофной овариолы, и их функционирование должно учитываться при анализе системы в целом.

Картина морфогенетических преобразований политрофной овариолы и ее элементов в процессе оогенеза иллюстрируется микрофотографиями, приведенными на рис. 1, на примере развития овариолы кошенили, изучаемого в нашей лаборатории [17, 21], и схемой строения четырех типов развивающихся овариол насекомых (рис. 2).

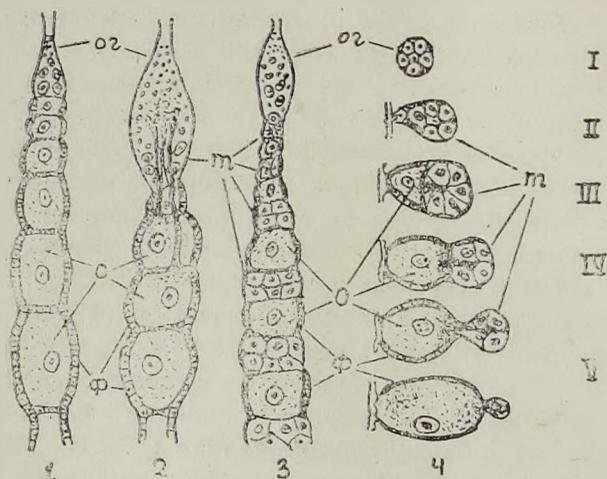


Рис. 2. Типы строения овариол насекомых. 1—паноистический; 2—телотрофный; 3—политрофный (по Соколову [20]); 4—«политрофно-фолликулярный» (по терминологии автора), характерен для сем. кокцид, к которому относится кошениль. I—V—стадии развития фолликула. ог—ооциты; т—трофоциты; о—ооциты; ф—фолликулярные клетки.

Представленные материалы свидетельствуют о том, что развитие клеточных элементов системы политрофной овариолы идет по строго

определенным, тесно взаимосвязанным одна с другой и в то же время четко различающимся программам. Последнее находит свое отражение и в характере роста указанных элементов системы (рис. 3), который также резко различается у ооцита, трофоцитов и фолликулярных клеток [21].

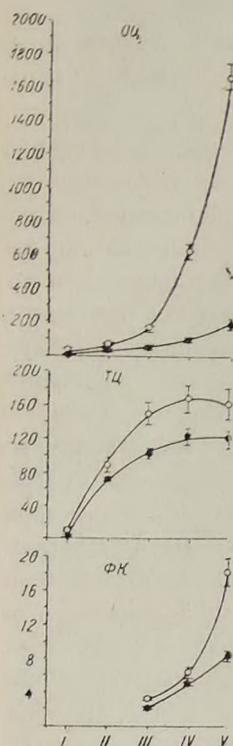


Рис. 3. Увеличение размеров ооцита и вспомогательных клеток кошенили в процессе развития фолликула. По горизонтали: стадии развития. По вертикали: площадь клеток ( $\mu\text{м}^2$ ). оо—ооцит; тц—трофоцит; фк—фолликулярная клетка. Светлые кружки—цитоплазма, темные—ядро.

Очевидно, что в основе морфогенетических и морфометрических различий между элементами системы, как и в основе возрастных изменений в морфогенезе ооцита, трофоцитов и фолликулярных клеток лежат специфические различия и изменения в метаболизме нуклеиновых кислот, белков и других соединений и в ультраструктуре этих клеток, которые будут рассмотрены в последующих разделах.

*Метаболизм нуклеиновых кислот.* Из кривых рис. 3 и из литературных данных [2, 23, 48, 85] следует, что объем ооцита в процессе оогенеза увеличивается во много десятков, а нередко и сотен раз; у кошенили, в частности, в 130 раз [21]. Объем вспомогательных клеток также увеличивается, однако в гораздо меньших масштабах (рис. 3) [21]. Возрастное увеличение размеров ооцита происходит, главным образом, за счет увеличения объема оплозмы, в которой накапливается огромное количество РНК и желтка [1, 21]. Синтез большого количества РНК, белков и других запасных веществ желтка предполагает значительное увеличение количества кодирующего их синтез материала, что лишь частично может быть компенсировано возрастанием скорости процессов транскрипции и трансляции [32]. В основном же у большин-

ства животных происходит многократное увеличение количества ДНК в системе. Именно в системе, так как нарабатывание «дополнительного» количества ДНК может быть обеспечено ее гиперрепликацией как в ядре ооцита (амплификация рДНК, гиперрепликация районов ядрышкового организатора), так и в ядрах трофоцитов (многократная редупликация всего генома в результате эндомиоза, гиперрепликация отдельных районов генома) [9, 16, 34, 81]. Нередко в политрофных овариолах один из указанных путей гиперрепликации ДНК сменяется или дополняется другим [9, 11, 16].

Так, в предыдущем разделе уже отмечалось, что ооциты вступают в мейоз с тетраплоидным содержанием ДНК и весь последующий период дифференцировки и морфо-функциональной специализации его протекает на фоне удвоенного количества ДНК. Этот факт сам по себе заслуживает пристального внимания, так как свидетельствует о наличии в клетках некоего механизма задержки их в постсинтетическом периоде, позволяющем в известных условиях обеспечивать высокую интенсивность синтетических процессов за счет временного удвоения количества ДНК в ядрах. Этот механизм, скорее всего, не является уникальным, так как подобные явления обнаружены и в различных соматических клетках в норме [15] и при некоторых воздействиях биологически активными веществами [14]. Помимо этого, у ряда животных в оогенезе функционирует экстрахромосомная ДНК, которая в виде плотного тельца присутствует уже на лептотенной стадии, а на пахитенной стадии, как правило, наблюдается вспышка синтеза этой ДНК, тельце значительно увеличивается в размерах и интенсивно включает  $^3\text{H}$ -тимидин. После этого образуются хромосомы «ламповые щетки» и экстра-ДНК диспергируется по ядру [8, 9]. Эта ДНК представляет собой амплифицированные участки рибосомных цистронов, отделенных от хромосом и обеспечивающих синтез необычайно больших количеств рибосомной РНК. Гиперрепликация ДНК такого типа обнаружена в ооцитах многих насекомых и у амфибий [9, 28, 37]. В частности, содержание избыточного количества рДНК убедительно показано методом гибридизации  $^3\text{H}$ -рРНК с пахитенными хромосомами ооцита домового сверчка *in situ* [34, 81]. Следует отметить, что при радиоавтографическом обнаружении синтеза ДНК в ранних ооцитах речь может идти и о дополнительной репликации минорной фракции ДНК, необходимой для нормального протекания мейоза [75], и просто о запоздалой репликации гетерохроматиновых участков хромосом [50]. Однако в этих случаях интенсивность включения метки намного ниже, чем при амплификации рДНК. Более позднее включение метки, как это обнаружено в нашей лаборатории в ядрах ооцитов кошенили, несомненно свидетельствует о синтезе рДНК (рис. 4). Этот путь умножения кодирующего материала в ядре ооцита свойствен, главным образом, тем овариолам, в которых отсутствуют трофоциты [9]. При наличии же питающих клеток синтеза дополнительной ДНК в ядре ооцита, большей частью, не происходит, или этот процесс длится очень не-

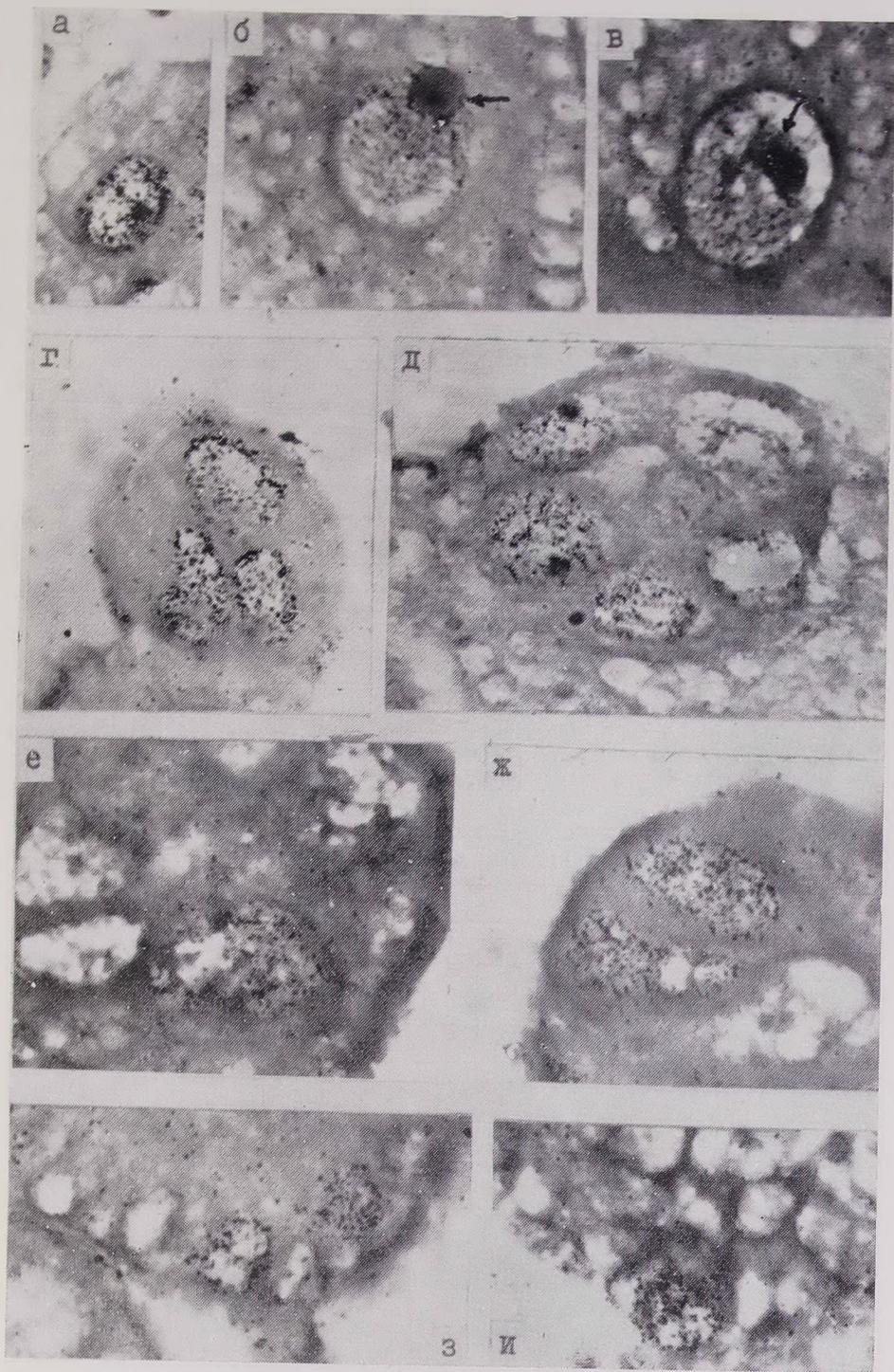


Рис. 4.

Рис. 4. Включение  $^3\text{H}$ -тимидиновой метки в ядра ооцита и вспомогательных клеток в процессе оогенеза у кошенки. а, б, в—ядро ооцита на I, III и IV стадиях развития фолликула соответственно; интенсивное включение метки в зоне ядрышка (стрелки). г-ж—ядра трофоцитов на II, III, IV и V стадиях последовательно. з-и—ядра фолликулярных клеток на III и IV стадиях. Условия введения изотопа: а, г—инкубация в течение 1 час., в питательной среде для насекомых С-45 с  $^3\text{H}$ -тимидином (конечная концентрация 50 мКи/мл); б, в, д-и—инкубация в течение 16 час. (первые 2 час. с изотопом, а затем в «холодной» среде). Подкраска гематоксилином и эозином. Увеличение: об. 100 $\times$ , ок. 8 $\times$ .

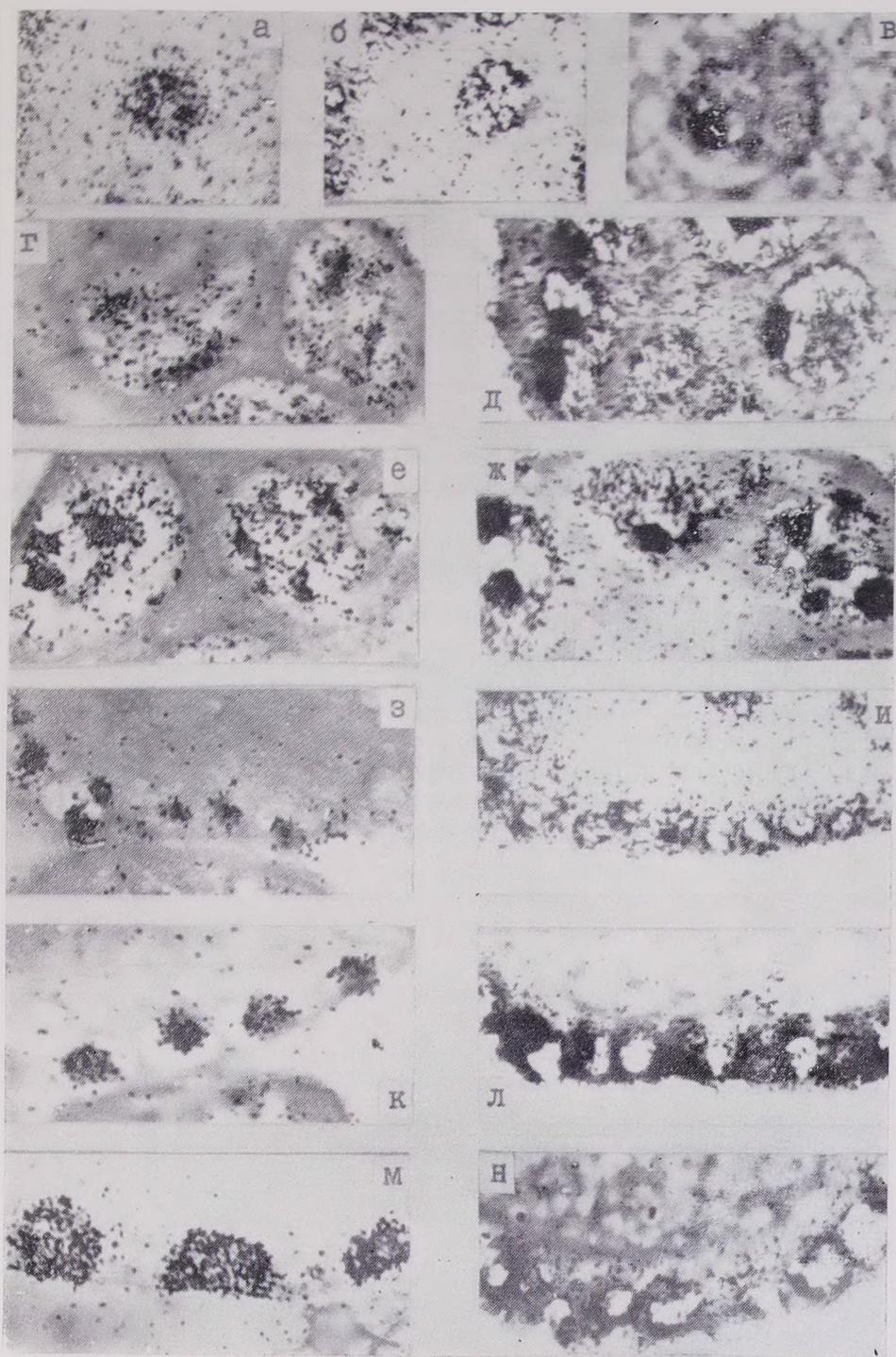


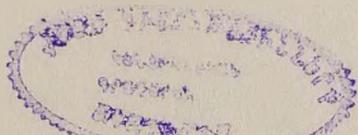
Рис. 5.

Рис. 5. Включение  $^3\text{H}$ -уридиновой метки в ооциты и вспомогательные клетки в процессе оогенеза кошенили. а-в—ядро ооцита на III—V стадиях; транспорт меченых частиц из ядра в цитоплазму; интенсивная метка в зоне ядрышек. г, д—ядра трофоцитов на III стадии; интенсивная метка в зоне ядрышек; отсутствие метки в цитоплазме (г) и транспорт меченых частиц в цитоплазму из ядер (д) при кратковременной и длительной инкубации соответственно. е, ж—то же на IV стадии. з-и—ядра фолликулярных клеток на III (з, и), IV (к, л) и V (м, н) стадиях; включение метки только в ядра (з, к, м) при кратковременной и транспорт метки в цитоплазму фолликулярных клеток и в сторону ооплазмы (и, л, н) при длительной инкубациях. Условия введения изотопа: г, е, з, к, м—инкубация 1 час. в С-45 с  $^3\text{H}$ -уридином (конечная концентрация 50 мКи/мл); а-в, д, ж, и, л, н—инкубация 16 час. (первые 2 час. с изотопом, а затем в «холодной» среде). Подкраска гематоксилином и эозином. Увеличение: об. 100X, ок. 8X.



продолжительное время на самых ранних стадиях оогенеза [9]. Правда, известны случаи, когда у некоторых насекомых (как и у кошенили) процесс амплификации рДНК происходит не только на ранних стадиях оогенеза, но и позже, в период большого роста ооцитов [9, 38]. Так, в растущих диплотных ооцитах золотоглазки заметный синтез экстрахромосомной ДНК наблюдается до стадии позднего вителлогенеза [9]. Но в большинстве случаев в политрофных овариолах (и вообще в системах с трофоцитами) гиперрепликация ДНК осуществляется в ядрах питающих клеток.

Уже давно известно, что питающие клетки у многих насекомых достигают высокой степени плоидности [60], а объем их ядер увеличивается во много (иногда в сотни и тысячи) раз [49]. Благодаря применению метода цитофотометрии и особенно в сочетании его с радиоавтографией эти данные были уточнены и расширены. Так, исследования, проведенные в нашей лаборатории, показали, что в ядрах трофоцитов кошенили количество ДНК в период фолликулярного развития увеличивается в среднем в 17 раз, причем наиболее интенсивно процесс синтеза ее протекает во время завершения малого и начала большого роста ооцитов (увеличение количества в 7,4 раза) (рис. 6). К началу превителлогенеза в этих клетках содержится уже близкое к конечному количество ДНК [16]. Было показано также, что на ранних стадиях (I и II) идет кратная эндоредупликация всего генома трофоцитов, которая впоследствии, а именно к началу интенсивного синтеза РНК и выведения ее в ооплазму, сменяется некротной репликацией отдельных участков генома, вероятнее всего, в районах ядрышковых организаторов до значений 128—256 с [16]. При этом выявлен определенный градиент в распределении питающих клеток по плоидности в питающей камере: ближайшие к ооциту клетки содержат больше ДНК в ядрах, чем остальные. Аналогичное явление было обнаружено ранее на трофоцитах дрозофилы, которые также полиплоидизируются, но клетки, расположенные вблизи ооцита и фолликулярных клеток, претерпевают 8 репликаций ДНК, а отдаленные—7; первые имеют более крупные ядра [31, 45]. На дрозофиле было также установлено, что при полиплоидизации трофоцитов полной редупликацией подвергаются гены, расположенные в эухроматиновых участках, сателлитная же ДНК, которая расположена в гетерохроматиновых участках, недореплицируется и составляет всего 72% от того количества, которое должно было быть достигнуто при полной эндоредупликации всего генома [68—71]. В то же время в ядрах питающих клеток золотоглазки не удалось обнаружить высокой степени плоидности, характерной для других насекомых, количество ДНК в них возрастает только за счет селективной репликации в районах ядрышковых организаторов [11]. Причем недостаточно активное функционирование ядер трофоцитов восполняется работой ядрышкового аппарата самого ооцита [9]. Степень плоидности питающих клеток в овариолах жуков также невысока, однако здесь отмечается большая скорость синтеза РНК в ядрах [32].



Таким образом, одним из способов накопления большого количества рибосом для будущего зародыша является переход функции синтеза рРНК от ядра ооцита к ядрам трофоцитов, достигающих в некоторых случаях высоких классов плоидности. В овариолах кошенили, в отличие от овариол многих других насекомых, параллельно осуществляются оба способа обеспечения синтеза больших количеств рРНК дополнительным количеством кодирующего материала, благодаря чему высокая РНК-синтезирующая активность наблюдается и в ядре ооцита, и в ядрах трофоцитов практически на всем протяжении фолликулярного периода развития ооцита (рис. 4 и 5).

На примере гиперрепликации ДНК и РНК-синтезирующей активности ядер бинарной системы «ооцит—трофоциты» еще более ярко, чем при цитоморфологическом анализе этой системы, выступает ее динамичность как в эволюционном, так и в онтогенетическом аспектах: от доминирующей функции (нередко полностью «взятой на себя») ядер трофоцитов через целую гамму промежуточных способов сочетания функций ядер трофоцитов и ооцита до полного исчезновения первых и максимального проявления ее в ядрах ооцитов. Анализ данных о синтезе РНК у насекомых с разными типами овариол [25, 28, 65] показал, что в мероистических яичниках степень участия ядра ооцита в синтезе РНК может быть различной; у домашней мухи в период активного роста ооцита практически вся РНК синтезируется в ядрах трофоцитов, а панорпа занимает по этому показателю промежуточное положение между насекомыми с паноистическими овариолами (отсутствие питающих клеток) и насекомыми с высокоразвитым мероистическим яичником, например, двукрылыми. У аннелиды ооцит соединен с одним единственным трофоцитом с полиплоидным ядром и наравне с ним синтезирует РНК [72], в телотрофных овариолах клопа [87] и жука [32] синтез РНК также происходит в ядре и ооцита, и трофоцитов. Аналогичное явление, как указывалось выше, наблюдается и в политрофных овариолах кошенили. В то же время в случае солитарного или фолликулярного типов оогенеза вся РНК синтезируется в ядре ооцита, и в этих ядрах амплификация рДНК достигает чрезвычайно высоких степеней, например, у амфибий избыток рДНК доходит до 30-кратных значений [48].

Переход РНК из трофоцитов в ооцит был впервые обнаружен с помощью радиоавтографии в политрофных овариолах мух [26—28], и у панорпы [65, 66]. Позже, также радиоавтографическими методами, было показано перемещение РНК из питающей камеры в ооцит в телотрофных овариолах ряда насекомых [52]. При электронномикроскопическом исследовании трофического тяжа таких овариол в нем была обнаружена высокая концентрация рибосомоподобных частиц [53]. Биохимическими исследованиями изолированных трофических тяжей из овариол клопа удалось показать, что рРНК в них находится в составе стабильных 80S-РНП-частиц, содержащих 18S- и 28S-рРНК [84]. С помощью препаративного центрифугирования и гибридизации нуклеи-

новых кислот было установлено, что амплифицированная ДНК из ядрышек ооцита состоит из повторов, каждый из которых содержит последовательности, кодирующие 18S- и 28S-рРНК, и не транскрибируемый спейсер, функция которого неизвестна [51]. Считываемые участки превышают по длине молекулу рРНК (18S+28S) в два раза [79, 80]. Из сказанного следует, что РНП-частицы, синтезируемые в ядрах трофоцитов и поступающие в ооплазму, и РНП-частицы, синтезируемые в ядре ооцита, практически тождественны.

Наши цитохимические исследования политрофной овариолы кошенили выявили высокую степень базофилии (обусловленной присутствием большого количества РНК) как в питающей камере, так и в прилегающей к ней области ооплазмы, что, по крайней мере, свидетельствует об однотипности химической природы материала цитоплазмы трофоцитов и указанной области ооплазмы [17, 21]. При этом наблюдается отчетливый градиент повышения концентрации базофильных гранул в цитоплазме трофоцитов в сторону ооцита. Наивысшая концентрация базофильных гранул наблюдается в питающем тяжке, идущем от трофоцитов к ооциту (рис. 1). Эти данные говорят о том, что переход РНП-частиц из питающей камеры в ооплазму может осуществляться именно благодаря градиенту их концентрации, более высокому в цитоплазме трофоцитов, чем в ооплазме. О переходе РНК из питающей камеры в ооцит свидетельствует и тот факт, что у шелкопряда-цекропии за несколько дней количество РНК в ооците увеличивается от 0,5 до 2,5 пг, в то время как в трофоцитах, несмотря на ее интенсивный синтез, количество РНК сохраняется на уровне 0,5 пг [1].

В перемещении высокополимерных частиц из трофоцитов в ооплазму немаловажную роль, вероятно, играет разность потенциалов между цитоплазмой трофоцитов и ооплазмой, например, у цекропии она составляет 10 мв. В эксперименте при одновременном измерении потенциалов и введении в питающую камеру меченого флуоресцеином глобулина было показано, что меченый белок транспортируется по питающему тяжку в ооцит. При диаметральной изменении разности потенциалов путем приложения дополнительной ЭДС происходит обратное движение белка из ооцита в трофоцит [86].

Таким образом, транспорт высокомолекулярных соединений из трофоцитов в ооцит, главным образом РНП, можно считать установленным. Между тем это не означает, что из питающих клеток в ооцит перетекает цитоплазма, как считали многие авторы [67]. Сейчас это мнение ставится под сомнение [1], несмотря на то, что некоторые данные последних лет говорят о возможности перехода в ооплазму из трофоцитов таких крупных субклеточных структур как митохондрии: они были обнаружены в трофическом тяжке телотрофных овариол ряда насекомых [44]. Наши исследования на овариолах кошенили выявили многочисленные случаи перемещения целых или частично поврежденных ядер трофоцитов в ооплазму, нередко до 3-х и более ядер (рис. 1). Причем благодаря интенсивно окрашивающимся ядрышкам создается

впечатление, что их высокая функциональная активность сохраняется и в ооплазме. В отличие от описанных в литературе случаев втягивания остатков дегенерирующих питающих клеток в ооплазму к концу оогенеза [82], у кошенили это явление наблюдается в период наиболее активной функции трофоцитов [17, 21]. Имеются сведения о том, что втягивание трофоцитов или фолликулярных клеток в ооплазму, также, впрочем, как и образование множественных ядер ооцита может быть связано с нарушениями в гормональной, т. е. надсистемной, регуляции оогенеза [13]. Так или иначе вопрос о роли проникающих в ооцит трофоцитов требует своего разрешения.

Представляют интерес данные, характеризующие метаболизм нуклеиновых кислот в фолликулярных клетках, хотя вопрос о транспорте РНК и других продуктов их жизнедеятельности в ооцит остается, как указывалось, открытым. Дифференцируясь позже остальных элементов, входящих в систему политрофной овариолы (у кошенили к началу III стадии развития фолликула), эти клетки большей частью полиплоидизируются путем полной эндоредупликации генома и на всем протяжении своего существования проявляют признаки высокой функциональной активности [16, 17, 21]. У кошенили количество ДНК в ядрах фолликулярных клеток увеличивается в значительно меньшей степени, чем в трофоцитах (в среднем в 2 раза). При этом наблюдается отчетливый градиент в распределении клеток в стенке фолликула по классам плоидности, возрастающий по мере удаления от питающей камеры и «зоны размножения» фолликулярных клеток; максимальные значения количеств ДНК в ядрах не превышают 16с [16]. С помощью радиоавтографии показано, что синтез ДНК в фолликулярных клетках идет непрерывно вплоть до завершения оогенеза, однако данные цитофотометрии свидетельствуют о том, что наиболее интенсивное накопление ДНК происходит на III стадии, т. е. во время превителлогенеза (рис. 4 и 6). К началу вителлогенеза, т. е. ко времени проявления наибольшей функциональной активности клеток они содержат близкое к конечному количество ДНК [16].

РНК-синтезирующая активность фолликулярных клеток у кошенили, по данным радиоавтографии, также проявляется в течение всего периода большого роста ооцита, однако наиболее активное включение  $^3\text{H}$ -уридина происходит в период вителлогенеза и завершения оогенеза (рис. 6). В это же время меченая РНК интенсивно выводится в цитоплазму фолликулярных клеток и концентрируется, главным образом, в ближайших к ооциту участках (рис. 5). Данные радиоавтографии подтверждаются цитохимическими исследованиями, которые свидетельствуют о концентрации пиронинофильного или базофильного (т. е. РНП-содержащего) материала в указанных участках цитоплазмы фолликулярных клеток (рис. 1 и [1]). Согласно электронномикроскопическим данным, в этих же участках наблюдается концентрация гранулированного эндоплазматического ретикулума [1]. Изложенное, а также наличие в ядрах фолликулярных клеток интенсивно окрашивающих

ся пиронином крупных ядрышек (рис. 1) говорят о том, что в этих клетках идет интенсивный синтез рРНК [16]. Такое активное накопление рРНК в фолликулярных клетках у кошенили и других насекомых

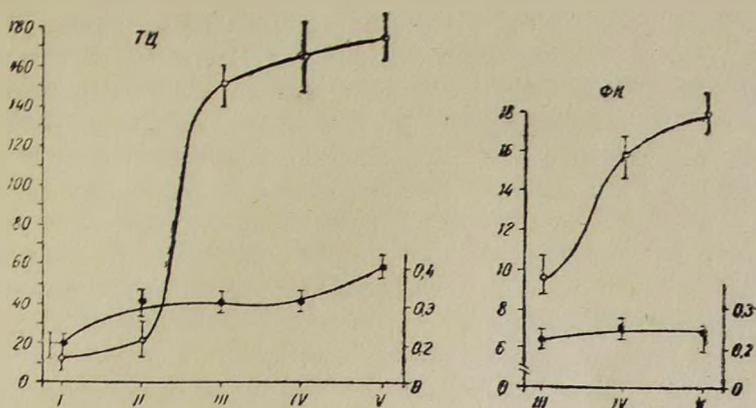


Рис. 6. Динамика содержания и концентрации ДНК в ядрах вспомогательных клеток в оогенезе кошенили. По горизонтали: стадии развития; по вертикали: слева—содержание, справа—концентрация ДНК (услов. ед.). тц—тробоциты; фк—фолликулярные клетки.

не совсем понятно, так как согласно современным представлениям РНП может переходить из клетки в клетку только по цитоплазматическим мостикам [1], отсутствующим, как указывалось в предыдущем разделе, у большинства животных между фолликулярными клетками и ооцитом. С помощью электронной микроскопии цитоплазматические мостики были обнаружены только у ящериц и только между так называемыми грушевидными клетками, располагающимися в стенке фолликула и имеющими оогонимальное происхождение, и ооцитом [29, 42, 43, 57, 59]. В этом случае транспорт рибосомного материала возможен [43].

Оригинальный путь перехода гранул рибосомной природы из фолликулярных клеток в ооцит обнаружен электронномикроскопически у птиц. Концевые отделы фолликулярных клеток у них образуют отростки («трансомы»), проникающие в ооплазму [63]. Внутри ооплазмы они отшнуровываются и образуют многочисленные гранулы, заполненные плотными рибосомоподобными частицами [62, 73]. Однако этот способ транспорта рибосом в ооцит из клеток соматического происхождения выявлен только у птиц и вероятен для некоторых рептилий [64]. Наши радиоавтографические данные (рис. 5) позволяют говорить с недостаточной степенью вероятности о проникновении меченного  $^3\text{H}$ -уридином материала из стенки фолликула в ооплазму, что в сочетании с данными цитохимического анализа (см. предыдущий раздел) может свидетельствовать о транспорте РНП-частиц в ооплазму у кошенили. С большей достоверностью об этом можно будет говорить по завершении электронномикроскопических исследований.

*Некоторые аспекты белкового метаболизма в развивающемся ооците и вспомогательных клетках в системе политрофной овариолы. Ме-*

таболизм белков, углеводно-белковых комплексов и липопротеидов, входящих в состав желточных гранул ооциты (так называемый «белковый желток»), на протяжении многих лет привлекает внимание исследователей именно в связи с формированием и накоплением огромных запасов желтка в развивающемся ооците. Этому вопросу посвящены многочисленные работы, данные которых подробно анализируются в ряде обзоров (например: [1]). В ходе этих исследований было показано, что желточные белки у большинства животных имеют экзогенное происхождение и поступают в ооцит путем микропиноцитоза, и лишь небольшая их часть синтезируется в самом ооците [1]. Гонады насекомых также не составляют исключения [23, 26, 35 и др.], причем у них основная масса желточных белков синтезируется клетками жирового тела, выводится в гемолимфу и поступает в ооцит по «межклеточникам», образующимся в период большого роста в фолликулярном эпителии [36, 76]. Было установлено также, что основную фракцию экзогенного желточного белка составляет (в том числе и у насекомых [58]) вителлогенин, который, согласно данным, полученным на амфибиях, внедрившись в ооцит, распадается на липовителлин и фосвитин [1, 83 и др.]. Эти белки в свою очередь формируют кристаллический желток [83].

Было показано кроме того, что в процессе вителлогенеза важнейшую роль играет гормональная регуляция. У насекомых, в частности, синтез желточных белков контролируется нейросекреторными клетками мозга, а их проникновение в ооцит — клетками прилежащих тел, секретирующими ювенильный гормон [56, 77]. При этом большое значение имеет избирательная функция фолликулярных клеток, дифференцированно проводящих в ооцит вителлогенин и препятствующих проникновению в ооцит других белков гемолимфы [41]. Механизм этой функции фолликулярных клеток пока не вполне ясен, хотя в литературе имеются сведения о том, что и здесь гормоны играют немаловажную роль [41].

Гораздо меньше внимания уделялось метаболизму эндогенных белков ооциты и цитоплазмы вспомогательных клеток в меростических овариолах и совсем мало сведений о синтезе ядерных белков этих клеток. Между тем без анализа этих процессов невозможно составить целостное представление о функционировании клеточных элементов, входящих в систему овариолы. Поэтому, не останавливаясь более на процессах синтеза и накопления в ооциты экзогенных белков, подробно рассмотренных, как указывалось, в предшествующих обзорах и оригинальных работах [1], мы главное внимание уделим метаболизму белков эндогенного (внутрисистемного) происхождения, преимущественно количественным аспектам этого процесса.

В предыдущих разделах было показано, что объем ооцита и вспомогательных клеток в процессе развития фолликула увеличивается во много раз. Согласно нашим количественным цитохимическим данным и литературным сведениям [1], это обусловлено, главным образом,

интенсивным синтезом и накоплением в цитоплазме вспомогательных клеток и в ооплазме—белковых масс. Так, у кошенили количество суммарного белка в ооплазме увеличивается примерно в 170 раз, в цитоплазме трофоцитов—17, в цитоплазме фолликулярных клеток—8 раз (рис. 7). Интересно, что при радиоавтографическом обнаружении меченого тритием лейцина включение метки наблюдается преимущественно в цитоплазму вспомогательных клеток. Интенсивность же мечения ооплазмы значительно менее выражена (рис. 8). В особенности это различие заметно на поздних стадиях оогенеза. Эти данные хорошо согласуются с представлениями о том, что значительная часть желточного белка поступает в ооцит извне и вместе с тем свидетельствуют о том, что определенное количество белков, по крайней мере у кошенили,

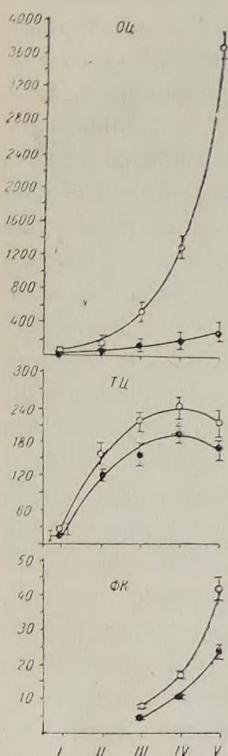


Рис. 7. Динамика содержания суммарного белка в ядрах и цитоплазме ооцита и вспомогательных клеток в оогенезе кошенили. По горизонтали: стадии развития; по вертикали: содержание белка (услов. ед.). Темные кружки—ядра, светлые—цитоплазма. оо—ооцит, тц—трофоцит, фк—фолликулярная клетка.

синтезируется в ооплазме. Наши данные не позволяют с достоверностью утверждать, что синтезированный во вспомогательных клетках белок транспортируется в ооплазму, однако более высокая концентрация метки в ооплазме вблизи фолликулярных клеток говорит об этой возможности (рис. 8). В случае же трофоцитов можно сказать о полном отсутствии транспорта белка из их цитоплазмы в ооплазму (рис. 8). Вместе с тем понижение интенсивности мечения ооплазмы к концу оогенеза может быть обусловлено накоплением в ней веществ небелковой природы—фосфолипидов и триглицеридов—в составе так называемого «жирового желтка» [1], что хорошо согласуется с нашими данными

ми о понижении концентрации суммарного белка в ооплазме в это время [21]. В литературе имеются сведения о синтезе эндогенного желточного белка в ооцитах ряда других насекомых, у которых тем не менее преобладает экзогенный желток [35]. Есть данные о значительной доле эндогенного желтка в ооцитах турбеллярий [30], ракообразных [24] и рыб [22 и др.]. Однако степень участия ооцита в синтезе желточных белков пока не поддается точному учету из-за того, что радиоавтографические данные не позволяют ответить на вопрос о том, какие именно белки синтезируются в ооплазме.

Наряду с цитоплазматическим синтезом белка и в ооците, и во вспомогательных клетках наблюдается интенсивный синтез ядерных белков. По данным цитофотометрии, количество суммарного белка в ядре ооцита кошенyli за время развития фолликула увеличивается в среднем в 24 раза, в ядрах трофоцитов—14, в ядрах фолликулярных клеток—5,5 раза (рис. 7). Одновременно с этим в ядрах возрастает и количество гистонов, однако в динамике накопления суммарного белка и гистонов нет параллелизма. Так, в ядре ооцита содержание гистонов увеличивается всего в 10 раз, причем отставание в интенсивности их накопления по сравнению с количеством суммарного белка становится особенно значительным начиная с III стадии развития фолликула (рис. 9). Последнее может быть связано, во-первых, с тем, что с этого времени в ядре ооцита начинается интенсивный синтез кислых белков, а во-вторых—с увеличением количества экстрахромосомной ДНК, отличающейся низким содержанием гистонов в хроматине [1, 9]. В ядрах трофоцитов интенсивность накопления гистонов на первых двух стадиях даже несколько превышает интенсивность накопления суммарного белка (увеличение в 25 и 13 раз соответственно), но затем количество гистонов снижается, что, вероятно, обусловлено переходом ядер трофоцитов от эндомитотической редупликации всего генома к избирательной репликации районов ядрышковых организаторов (см. предыдущие разделы), в процессе которой количество гистонов в хроматине понижается (рис. 9). В пользу этого свидетельствуют данные о динамике накопления гистонов в фолликулярных клетках, в ядрах которых и содержание ДНК, и количество суммарного белка и гистонов возрастает синхронно (ср. рис. 6 и 9). В этих клетках ДНК, как указывалось, претерпевает несколько туров кратной эндоредупликации.

По данным радиоавтографии, обнаруживаются различия в интенсивности включения  $^3\text{H}$ -лейциновой метки в ядро ооцита и ооплазму и в ядра и цитоплазму вспомогательных клеток: концентрация метки в ядре ооцита значительно выше, чем в ооплазме, во вспомогательных клетках же синтез белка в цитоплазме идет интенсивнее, чем в ядре (рис. 8). Можно полагать, что интенсивный синтез белков в ядре ооцита связан с образованием большого количества так называемых белковых телец (ядрышкоподобных образований [9]), которые на электронномикроскопическом уровне обнаруживаются в виде сферических тел, содержащих фибриллярный и гранулярный компоненты [9]. Такие тельца зарегистрированы у ряда насекомых и других животных [9].

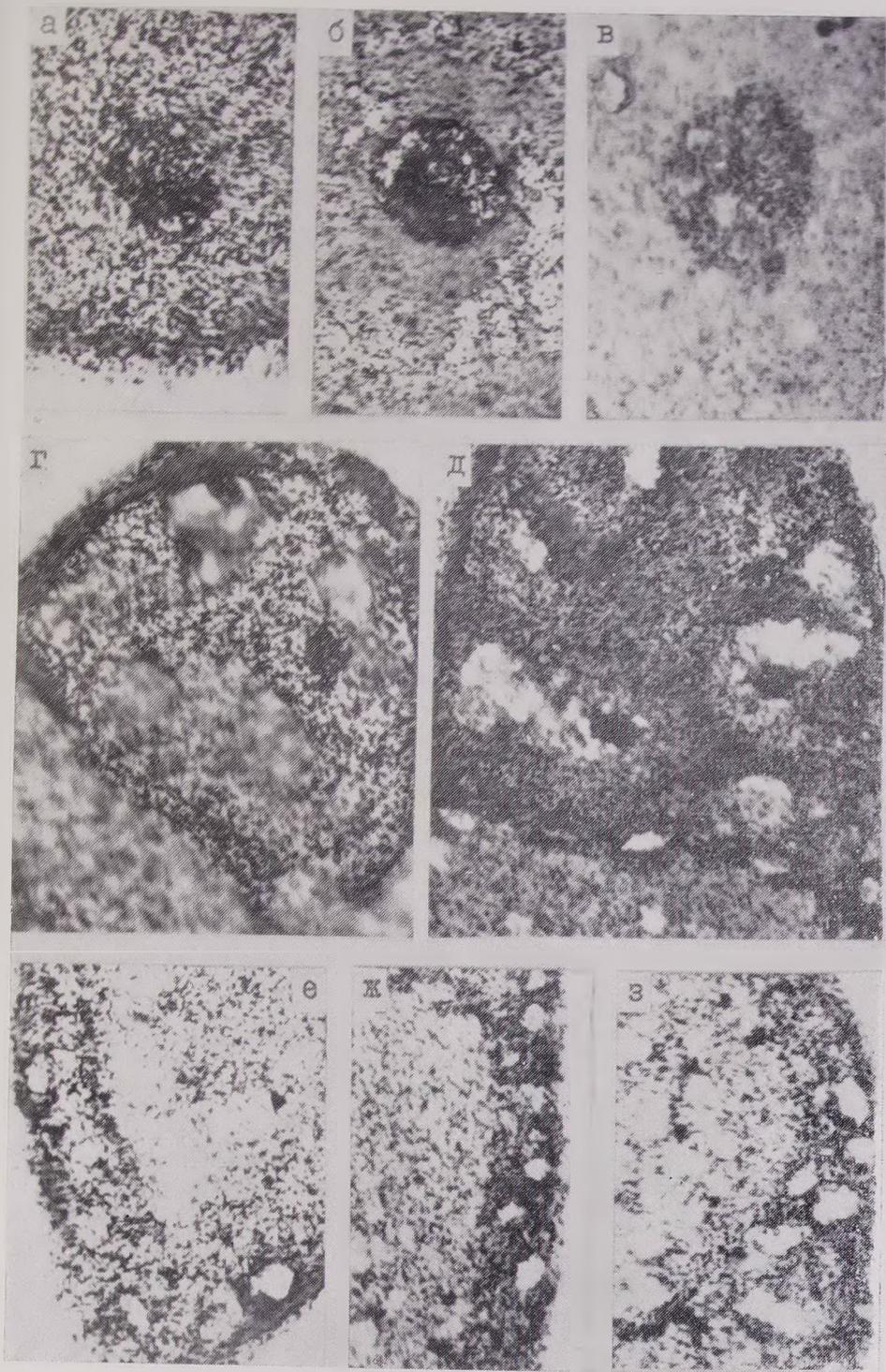


Рис. 8.

Рис. 8. Включение  $^3\text{H}$ -лейцина в ооцит и вспомогательные клетки в процессе развития фолликула кошенили. а-в—ооцит на III, IV и V стадиях; интенсивное включение метки в ядро и транспорт ее в ооплазму; также интенсивное включение метки в ядра и цитоплазму фолликулярных клеток (фк). г, д—трофобласты на III и IV стадиях; активное включение метки в зоне ядрышек и ядер (г); интенсивное включение метки в цитоплазму. е-з—фолликулярные клетки на III, IV и V стадиях; отсутствие метки в ядрах; активное включение ее в цитоплазму; наличие метки в ооплазме вблизи от стенки фолликула. Условия введения изотопа: инкубация в питательной среде С-45 в течение 12 час. (первые 30 мин с добавлением  $^3\text{H}$ -лейцина в конечной концентрации 50 мКи/мл, а затем в «холодной» среде). Подкраска гематоксилином и эозинном. Увеличение: об. 100 $\times$ , ок. 8 $\times$

Тигантская продукция белковых гранул наблюдается в оогенезе рептилий [4], у которых они перемещаются к периферии ядра ооцита. Согласно нашим данным,  $^3\text{H}$ -лейциновая метка концентрируется в центре ядра ооцита кошенили и постепенно убывает к его периферии (рис. 8). Некоторые авторы считают, что эти тельца, включающие в себя фибриллярные и гранулярные структуры, участвуют в процессинге рибосомных частиц [46]. Не исключено, что белковые тела участвуют в транспорте рибосомных или полисомных частиц из ядра в ооплазму

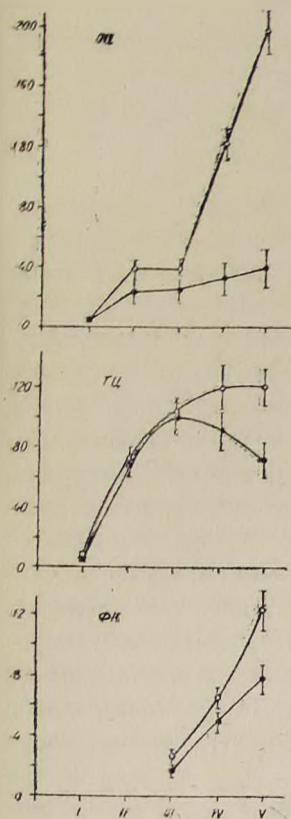


Рис. 9. Динамика содержания гистонов и суммарного белка в ядрах ооцита и вспомогательных клеток в оогенезе кошенили. По горизонтали: стадии развития; по вертикали: содержание белка (услов. ед.). Темные кружки—гистоны, светлые—суммарный белок. оц—ооцит, гц—трофоцит, фк—фолликулярная клетка.

[47]. Во всяком случае, можно сказать, что ядрышкоподобные образования являются отражением необычайно активного белкового метаболизма в ядре ооцита и, вероятно, участниками сложных ядерно-плазменных отношений в ооците.

Интенсивный синтез белка в цитоплазме фолликулярных клеток (на более ранних стадиях он наблюдается и в ядрах, и в цитоплазме, рис. 8), главным образом связан с выведением в пернооцитное пространство белков, участвующих в формировании хорниона к концу оогенеза. По данным некоторых авторов [61], до 90% меченого белка выделяется из фолликулярных клеток в хорнион. Необходимостью обеспечения этого синтеза дополнительным количеством кодирующего материала объясняется полиплоидизация фолликулярных клеток и наблюдаемый в их ядрах вплоть до конца оогенеза активный синтез РНК.

Не поддается объяснению высокая интенсивность синтеза и накопления белков в цитоплазме трофоцитов, поскольку описывавшееся ранее «перетекание» цитоплазмы трофоцитов в ооплазму в настоящее время представляется сомнительным.

В целом, с сожалением приходится признать, что метаболизм белков в сообществе клеток политрофных (как, впрочем, и других типов) овариол изучен в гораздо меньшей степени, чем метаболизм нуклеиновых кислот. Между тем, именно здесь видится возможность установления прямых связей между морфогенетическими преобразованиями элементов системы и выявляемыми изменениями в специфике белковых синтезов.

\* \* \*

Настоящий обзор не претендует на полноту изложения всего накопленного к данному времени материала. По каждому из рассмотренных выше вопросов можно найти более подробные сведения в обзорах и оригинальных статьях, приведенных в списке литературы. Мы же, концентрируя внимание на трех важнейших сторонах жизнедеятельности сообщества клеток, входящих в систему политрофной овариолы, — морфогенезе, синтезе нуклеиновых кислот и метаболизме белков — стремились показать, что эта клеточная ассоциация является удачной моделью для изучения и разрешения не только частных вопросов оогенеза, но и общих вопросов биологии развития, в особенности в сфере проблем клеточной дифференцировки и морфогенеза. Во-первых, гигантские размеры ооцитов и их ядер и достаточно большая величина трофоцитов и фолликулярных клеток позволяют подойти к решению вопросов внутриклеточного морфогенеза в тесной связи с метаболизмом нуклеиновых кислот и белков. Во-вторых, тесная и четко прослеживаемая взаимозависимость становления и развития морфо-функциональных структур элементов системы делает более доступным, чем в соматических клетках, анализ межклеточных отношений на всех уровнях системы. И, наконец, в-третьих, относительная «автономность» системы не исключает, а напротив, способствует более конкретизированному осмыслению путей и механизмов подсистемных уровней регуляции эндогенных процессов.

Кроме того, при сопоставлении путей развития каждого из элементов системы политрофной овариолы и элементов, входящих в системы других типов овариол, появляется возможность эволюционного подхода к анализу возникновения и развития таких специфических черт формирования ооцитов, как гиперрепликация ДНК путем амплификации генов в ядре ооцита и аккумуляирование в ооплазме продуктов гетеросинтеза вспомогательных клеток и (или) внесистемного происхождения, в том и другом случае обеспечивающих накопление огромной массы веществ, используемых в дальнейшем зародышем при сохранении «в чистоте» наследственного материала женской половой клетки.

Автор приносит благодарность сотрудникам лаборатории Л. А. Аюпьян, Е. М. Караловой, С. Р. Макарян, А. В. Петросян и М. Г. Хачатрян, принимавшим участие в получении и обработке использованного в настоящей статье оригинального материала, а также М. Н. Грузовой и Т. Б. Айзенштадт за консультации и интерес к нашей работе.

Институт экспериментальной биологии АН АрмССР

Поступило 28.II 1979 г.

ՕՈՑԻՏ-ՕՓԱՆԴԻԱԿ ՉՅՈՒՄՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱՄԱԿԱՐԳԸ ՈՐՊԵՍ ՆՄՈՒՇ  
ՆՈՒՎԼԵԻՆԱԹՐՈՒՆԵՐԻ ԵՎ ՍՊԵՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՄԵՆԹԵԶԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱ-  
ՍԻՐՄԱՆ ՀԱՄԱՐ ՉՅՈՒՄՎԱԾՔՆԵՐԻ ՏԱՐԲԵՐԱԿՄԱՆ ՊՐՈՑԵՍՈՒՄ

Յու. Ն. ՄԱԳԱԿՅԱՆ

Որդան կարմրի օոգենեզի վերաբերյալ ցիտոֆոտոմետրիկ, ցիտոքիմիական, սպիտակուտոգրաֆիկ և ցիտոքեմիական մեր սեփական տվյալների և այլ միջատների վերաբերյալ եղած զրականության ակնարկի հիման վարենարկվում են պոլիտրոֆ օվարիոլի բջջային տարրերի մորֆոգենեզի նուկլեինաթթուների և սպիտակուցների սինթեզը և կուտակումը, ինչպես նաև նրանց ներքին ու միջբջջային փոխադրման հարցերը:

Ցույց է տրվում, որ օվարիոլի համակարգի տարրերի մորֆոգենեզի վերականգնմանը սերտ կապի մեջ են կորիզներում տեղի ունեցող ԴՆԹ-ի հիպերբալկացիայի և ՌՆԹ-ի մեծ քանակությունների սինթեզի հետ, որը հիմնված է սպիտակուցի լրացուցիչ կոդացող նյութի վրա համակարգում:

Համակարգի տարրերից յուրաքանչյուրն իր ներդրումն ունի օոցիտի ինտենսիվ աճը պահպանելու և նրա մեջ ապագա սաղմի համար պահեստային նյութեր կուտակելու գործում: Համակարգի յուրաքանչյուր տարրի յուրօրինակությունը և նրանց ֆունկցիոնալ ախտիվության մակարդակը որոշվում է օոցիտ և օժանդակ բջիջների միջև էվոլյուցիոն և օնտոգենետիկ ձևով կաղմավորված փոխհարաբերությամբ:

Նշված համակարգը հարմար նմուշ է նուկլեինաթթուների ու սպիտակուցների սինթեզի պրոցեսների և նրանց ներբջջային սիստեմավորված կարգավորման մեխանիզմները ուսումնասիրելու համար:

THE OOCYTE-AUXILIARY CELL SYSTEM AS A MODEL FOR THE  
STUDY OF NUCLEIC ACID AND PROTEIN SYNTHESIS DURING  
CELL DIFFERENTIATION

Yu. A. MAGAKIAN

On the basis of original cytomorphological, cytochemical, cytophotometric and radioautographic data of the cochineal oogenesis and literature review on other insects the problems of cell morphogenesis of polytrophic ovarioles, synthesis and accumulation of nucleic acids and proteins and their intra- and intercellular transport are considered. It was

shown that the morphogenetic formations of the elements of ovariolar system are in close relation with DNA-hyperreplication in nuclei and with the synthesis of a great number of DNA and protein on the basis of additional coding material in the system. Each system element contributes to the maintenance of the oocyte's intensive growth and to the accumulation of reserve substances for the future embryo. The specific character and the level of functional activity of the system's elements are determined by the evolutionally and ontogenetically established correlation between the oocyte and auxiliary cells. The system indicated is a convenient model for the study of synthesis of nucleic acids and proteins and for their regulation mechanisms on intracellular and system level.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Айзенштадт Т. Б. В кн.: Современные проблемы оогенеза. М., 5—50, 1977.
2. Айзенштадт Т. Б., Бродский В. Я., Иванова С. И. Цитология, 6, 1, 77—81, 1964.
3. Айзенштадт Т. Б., Маршак Т. Л. Онтогенез, 5, 5, 446—453, 1969.
4. Арронет В. Н. Цитология, 17, 2, 137—143, 1975.
5. Бродский В. Я., Урываева И. В. (Brodsky W. Ya, Uryvaeva I. V.) Intern. rev. cyt., 50, 275—332, 1977.
6. Гагинская Е. Р., Грузова М. Н. Цитология, 17, 10, 1132—1137, 1975.
7. Грузова М. Н. Онтогенез, 5, 6, 622—632, 1974.
8. Грузова М. Н. В кн.: Цитология и генетика мейоза. М., 113—136, 1975.
9. Грузова М. Н. В кн.: Современные проблемы оогенеза. М., 51—98, 1977.
10. Грузова М. Н., Зайчикова З. П., Соколов И. И. Цитология, 14, 3, 269—276, 1972.
11. Зайчикова З. П. Цитология, 18, 4, 438—444, 1976.
12. Кожанова Н. И., Грузова М. Н. Цитология, 17, 6, 607—613, 1975.
13. Кожанова Н. И., Грузова М. Н., Хохлов Г. Н. Цитология, 18, 7, 824—833, 1976.
14. Корвин-Павловская Е. Г., Каралова Е. М., Кулиминская А. С., Магакян Ю. А., Газарян К. Г. Цитология, 20, 9, 1016—1025, 1978.
15. Магакян Ю. А. Цитология, 18, 3, 243—254, 1976.
16. Магакян Ю. А., Каралова Е. М., Хачатрян М. Г. Цитология, 21, 0, 000—000, 1979.
17. Магакян Ю. А., Макарян С. Р., Петросян А. В., Мкртчян Л. П., Аброян Л. О., Акопян Л. А. Цитология, 18, 8, 932—935, 1976.
18. Магакян Ю. А., Маркарян Р. Н., Петросян А. В. Цитология, 11, 3, 335—347, 1969.
19. Левзнер Л. З. Функциональная биохимия нейроглии. Л., 1972.
20. Соколов И. И. В кн.: Руководство по цитологии. 2, 390—460, М.—Л., 1966.
21. Хачатрян М. Г., Аксаян Л. А., Петросян А. В., Каралова Е. М., Макарян С. Р., Магакян Ю. А. Цитология, 21, 4, 382—390, 1979.
22. Anderson E. J. morphol., 125, 1, 23—59, 1968.
23. Anderson E. J. microsc., 8, 6, 721—738, 1969.
24. Veans H. W., Kessel R. G. J. cell biol., 18, 3, 621—649, 1963.
25. Bier K. Roux' Arch. Org., 154, 6, 552—575, 1963.
26. Bier K. J. cell biol., 16, 2, 436—440, 1963.
27. Bier K. Naturwiss., 51, 17, 418—433, 1964.
28. Bier K. Zool. Anz., Suppl., 33, 7—29, 1970.
29. Bou-Resli M. Z. Anat. Entwicklungsgesch., 143, 3, 239—254, 1974.
30. Boyer B. C. J. morphol., 136, 3, 273—294, 1972.
31. Brown E. H., King R. C. Growth, 28, 41—48, 1954.
32. Büning J. Z. Zellforsch., 128, 2, 241—282, 1972.

33. Cassidy J. D., King R. C. *Biol. bull.*, *143*, 483—505, 1972.
34. Cave M. D. *Chromosoma*, *42*, 1—22, 1973.
35. Cumming M. R., King R. C. *J. Morphol.*, *130*, 4, 467—476, 1970.
36. Engelman F. *The physiology of insect reproduction*. Oxford, 1970.
37. Gall J. G. *Genetics*, *61*, Suppl., 121—132, 1969.
38. Gall J. G., Rochalx J. D. *Proc. Nat. acad. sci. USA*, *71*, 1819—1823, 1974.
39. Giorgi F. *Cell and tissue res.*, *186*, 3, 413—422, 1978.
40. Goltzené F. *Compt. rend. acad. sci.*, *D 284*, 13, 1195—1197, 1977.
41. Hausman S. J., Anderson L. M., Telfer W. A. *J. cell biol.*, *48*, 2, 303—313, 1971.
42. Hubert J. Z. *Zellforsch.*, *116*, 2, 240—249, 1971.
43. Hubert J. *Bull. Soc. zool. France*, *102*, 2, 151—158, 1977.
44. Huebner E., Anderson E. *J. morphol.*, *137*, 4, 385—415, 1972.
45. Jacob J., Sirtin J. L. *Chromosoma*, *10*, 2, 210—228, 1959.
46. Jaworska H., Lima-de-Faria A. *Hereditas*, *74*, 169—186, 1973.
47. Jaworska H., Lima-de-Faria A. *Hereditas*, *74*, 187—204, 1973.
48. King R. C. In: *Results and problems in cell differentiation*. Berlin et al., 7, 85—109, 1973.
49. Koch E. A., King R. C. *Biol. bull.*, *143*, 483—505, 1972.
50. Lima-de-Faria A. In: *Handbook of molecular cytology*. Amsterdam—London 278—324, 1969.
51. Macgregor H. C. *Biol. rev. Cambridge philos. soc.*, *47*, 177—210, 1972.
52. Macgregor H. C., Stebbings H. J. *J. cell sci.*, *6*, 2, 431—449, 1970.
53. Malsuzaki M. *Japan. j. entomol.*, *43*, 1, 75—90, 1965.
54. Matuszewski B., Hoser P., Hoser G., Michalak M. *Experientia*, *33*, 7, 883—885 1977.
55. Mellis M., Telfer W. H. *J. morphol.*, *129*, 1, 1—16, 1969.
56. Mills R. R., Greenstade F. C., Couch E. F. *J. insect. physiol.*, *12*, 7, 767—779, 1966.
57. Neaves W. B. *Anat. rec.*, *170*, 3, 285—302, 1971.
58. Ole M., Takahashi S. Y., Ishtzaki H. *Dev., growth and differ.*, *17*, 3, 237—246 1975.
59. Olmo E., Tadei C. *Experientia*, *30*, 11, 1331—1332, 1974.
60. Painter T. S., Reindorp E. C. *Chromosoma*, *1*, 3, 276—283, 1939.
61. Paul M., Goldsmith M. R., Hungsley J. R., Kafatos F. C. *J. cell biol.*, *55*, 653—680, 1972.
62. Paulson J. L., Rosenberg M. D. *Dev. biol.*, *40*, 2, 366—371, 1974.
63. Prees N. J. *ultrastr. res.*, *10*, 5—6, 528—546, 1964.
64. Rahil K. S., Narbaitz R. *J. anat.*, *115*, 2, 175—186, 1973.
65. Ramamurty P. S. *Naturwiss.*, *50*, 10, 383—384, 1963.
66. Ramamurty P. S. *Exptl cell res.*, *33*, 3, 601—605, 1964.
67. Raven Ch. P. *Oogenesis*. N. Y.—London, 1961.
68. Renkawitz-Pohl R. *Verh. Deutsch. zool. Ges. 68. Jahresversamml. 1975*, Karlsruhe, Stuttgart, *116*, 1975.
69. Renkawitz-Pohl R. *J. cell biol.*, *75*, part. 2, 123, 1977.
70. Renkawitz-Pohl R. *Chromosoma*, *66*, 3, 249—258, 1978.
71. Renkawitz-Pohl R., Kunz W. *Chromosoma*, *53*, 131—140, 1975.
72. Ruthmann A. *Zellforsch.*, *63*, 6, 816—829, 1964.
73. Schjede O. A., Hanzely L., Holshouser S. J., Briles W. E. *Cell and tissue res.*, *156*, 1, 47—59, 1974.
74. Spear S. B. *Amer. zool.*, *17*, 3, 695—706, 1977.
75. Stern H., Hotta J. *Ann. rev. genet.*, *7*, 37—66, 1973.
76. Tanaka A., Ishizaki H. *Dev., growth and differ.*, *16*, 4, 247—255, 1974.
77. Telfer W. H. *Ann. rev. entomol.*, *10*, 161—184, 1965.
78. Trant W. *Verh. Deutsch. zool. Ges. 68. Jahresversamml. 1975*, Karlsruhe, Stuttgart, *64*, 121, 1975.
79. Trendelenburg M. F. *Chromosoma*, *48*, 119—135, 1974.

80. *Trendelenburg M. F., Scheer U., Franke W. W.* Nature new biol., 245, 167—170 1974.
81. *Ullman J., Lima-de-Faria A., Jaworska H.* Hereditas, 74, 1, 13—24, 1973.
82. *Urbani E.* Monit. zool. ital., 3, 2, 55—87, 1969.
83. *Wallace R. A., Dumont J. N.* J. cell physiol., 72, 2 (2), 73—89, 1968.
84. *Winter H. Roux* Arch. Ent. Org., 175, 2, 103—127, 1974.
85. *Wolin E. M., Laufer H., Albertini D. F.* Dev. biol., 35, 1, 160—170, 1973.
86. *Woodruff R. I., Telfer W. H.* J. cell. biol., 58, 1, 172—188, 1973.
87. *Zinneister P. P., Davenport R.* Exptl cell res., 67, 2, 273—278, 1971.