

УДК 591.392

ГЕОМЕТРИЯ ДВИЖЕНИЯ НАРУЖНОЙ ПОВЕРХНОСТИ ЗАРОДЫША В ГАСТРУЛЯЦИИ ШПОРЦЕВОЙ ЛЯГУШКИ

© 2016 г. Е. Г. Корвин-Павловская, В. Г. Черданцев

Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет
119991 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

E-mail: vgcherdantsev@yandex.ru

Поступила в редакцию 01.12.2015 г.

Окончательный вариант получен 21.01.2016 г.

Поверхность зародышей *Xenopus laevis* метили частицами угля, регистрируя с помощью цейтраферной киносъемки и последующего анализа изображений расположение группы меток, вплоть до их исчезновения в глубине гастрального впячивания. Измерение расстояний между индивидуально опознаваемыми метками, размер которых меньше размера одной клетки, позволяет количественно анализировать геометрию коллективного движения клеток без внешней системы координат. При образовании дорсальной губы бластопора (ДГБ) вворачивание поверхностных клеток внутрь принципиально отличается от предшествующей и последующей латеромедиальной (ЛМ) интеркаляции, будучи связанным с сокращением меридионального и ростом экваториального расстояния между мечеными участками поверхности. Участки, позже начавшие свое движение в сторону ДГБ, догоняют участки, начавшие его раньше, и в движении клеток возникает “пробка”. Темп лимитирующим звеном гастрюляции становится проталкивание “пробки” во внутренние слои за счет изменения формы ДГБ, после чего направленное движение клеток сменяется эпиболией, основанной на ЛМ интеркаляции, когда метки, оставшиеся на наружной поверхности краевой зоны, расходятся вдоль ее меридианов без направленной миграции в сторону бластопора. Направленное движение клеток и ЛМ интеркаляция оказываются закономерно сменяющимися друг друга фазами коллективного клеточного движения, а весь морфогенез ДГБ — прямым следствием торможения эпиболии при возникновении гастрального впячивания.

Ключевые слова: морфогенез, гастрюляция, *Xenopus*, дорсальная губа бластопора, угольная метка, геометрия движения наружной поверхности.

DOI: 10.7868/S0475145016040054

ВВЕДЕНИЕ

Гастрюляционные движения клеток у бесхвостых амфибий — в особенности, у шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* — изучены, казалось бы, досконально. Однако новые данные, а еще больше — их интерпретация (Wilson, Keller, 1991; Winklbaue, Schuerfeld, 1999; Keller, Shook, 2004, 2008) ставят под сомнение то, что долгие годы считалось очевидным — то, что “мотором” гастрюляции является дорсальная губа бластопора (ДГБ). По складывающимся в последние годы представлениям, общая картина оказывается неожиданно простой, если только не упрощенной.

Все чаще основным движением, ведущим к окончательному обособлению зародышевых листков и формированию осевых структур, считается не вворачивание клеток в ДГБ (инволюция), а втягивание всей желточной энтодермы в полость бластулы, начинающееся с образования щели Браше у дорсального угла бластоцеля (Winklbaue, Schuerfeld, 1999). Объем бластоцеля уменьшается вместе с сокращением наружной

поверхности вегетативного полушария, поэтому сама энтодерма движется к анимальному, а обрастающие ее клетки — к вегетативному полюсу зародыша. Речь, по сути дела, идет о классической эпиболии, но с уточнениями, важными как в эволюционном плане, так и с точки зрения механики развития. Подъем дна бластоцеля к крыше бластулы является процессом, гомологичным выпячиванию поверхности раздела бластодермы с желточным мешком, с которого начинается эпиболия у костистых рыб (Неклюдова и др., 2007). Различие материального субстрата (мембраны желточной клетки у костистых рыб и многослойного клеточного пласта желточной энтодермы у амфибий) несколько не мешает гомологии морфогенетических процессов. С морфогенетической точки зрения начало эпиболии у амфибий полностью повторяет, но уже на клеточном уровне, подъем еще не разделенного на клетки желтка на одной из сторон яйца, с которого начинается детерминация дорсовентральной и антеропостериорной осей зародыша (Gerhart, 2001, ср. Keller,

Shook, 2004). Наконец, с образования щели Браше начинается, еще до возникновения ДГБ, сегрегация наружного и внутренних листков будущей гастролы (Черданцев, 2003; Keller, Shook, 2004, 2008).

Получается – удивительным образом – связанная и лишенная внутренних противоречий картина гастрологии, в которой, если следовать классической терминологии, ведущую роль играет эпиволия. Клеточным механизмом эпиволии считается радиальная и планарная интеркаляция клеток: радиальная интеркаляция уменьшает число клеточных слоев в каждом из трех зародышевых листков и, соответственно, увеличивает площадь их поверхности. Планарная же интеркаляция вытягивает дорсальные меридианы и уменьшает их кривизну, вызывая, по очевидным механическим причинам, массовую миграцию клеток на дорсальную сторону зародыша (Keller, 1981, 1986). Учитывая, в какую сторону движутся клетки, их интеркаляционное движение удобнее называть не медиолатеральной (Keller, 1986), а латеромедиальной (ЛМ) интеркаляцией. Наконец, интеркаляция имеет собственный физический механизм, основанный на “тензотаксисе” (Белоусов и др., 1999; Belousov, 2015). Клетки активно встраиваются в упруго растянутые дорсальные меридианы, удлиняя их и трансформируя анизотропию упругих напряжений в анизотропию изменения формы – меридиональное вытяжение и экваториальное сокращение клеточного материала.

Сказанное не отменяет того факта, что клетки активно движутся в сторону ДГБ и в конце концов, перейдя границу между наружным и внутренними зародышевыми листками, оказываются внутри зародыша. Мало того, приближаясь к границе бластопора, клетки вытягиваются вдоль экваториальной и сокращаются вдоль меридиональной оси краевой зоны гастролы (Hardin, Keller, 1988). Возможно, что вытяжение клеток вдоль границы бластопора – прелюдия ЛМ интеркаляции, и длинная (экваториальная) ось клетки является осью ее движения. Возможно, однако, что осью движения является не длинная, а короткая (меридиональная) ось клетки, и тогда изменение формы клеток говорит об их направленном движении к границе бластопора, не совместимом с интеркаляцией.

Речь, по сути дела, идет о двух основных модах коллективного движения клеток, одну из которых можно назвать векторной, а другую – аксиальной модой (рис. 1). В обоих случаях одной из компонент движения является перемещение клеток вдоль поверхности клеточного пласта, и различие состоит не в том, как изменяется форма клеток, а в том, как это изменение передается от одной клетке к другой. При векторной моде клетки последовательно вовлекаются в одно и то же изменение формы за счет изменения кривизны пласта, что и задает единое для всех клеток на-

правление их движения вверх по градиенту кривизны наружной поверхности (рис. 1а). Для ДГБ это означает, что направление, в котором движутся вовлекающиеся в губу клетки, задает вектор движения дорсального края бластопора и, соответственно, направление, в котором формируется главная ось зародыша. Особыми точками векторного поля движения поверхности (см. рис. 1а) являются две узловых точки – устойчивый и неустойчивый узел.

Отличием аксиальной моды является не векторная, а тензорная связь между движением клетки и изменением формы клеточного пласта (тензотаксис). В простейшем случае (радиальная интеркаляция) пласт равномерно расширяется во все стороны (“шаровой” тензор), а при планарной интеркаляции всегда выделяются главная ось активного растяжения пласта и перпендикулярная ей ось движения клеток, ведущие себя как две независимые динамические переменные (рис. 1б). В случае ЛМ интеркаляции главная ось совпадает с сагитальным меридианом. Изменение формы пласта является анизотропным, но не направленным, поскольку противоположные полюса этих осей не отличаются друг от друга (Keller, Tibbetts, 1989; Wallingford et al., 2002). Особые точки векторного поля являются не узлами, а седлами (см. рис. 1б), в окрестности которых движение каждой отдельной клетки неустойчиво и может свернуть к любому из полюсов оси вытяжения.

Полярность ЛМ интеркаляции может вытекать только из начальных условий, т.е., в конечном счете, из полярности осей яйца, возникающей после поворота оплодотворения. Между тем, как показывает анализ нормальной изменчивости морфогенеза, ориентацию этих осей нельзя считать постоянной и одинаковой для всех зародышей. Изменчивость – не только морфологическая изменчивость (Ewald et al., 2004; Scobeyeva, 2006; Cherdantsev, Scobeyeva, 2012), но и изменчивость зональной экспрессии таких генов, как *brachyury* (Lerchner et al., 2000), максимальна при закладке ДГБ и стабилизируется по мере установления связи между движением (изменением формы) самой губы и вовлечением в это движение окружающих клеток. Окончательное направление главной оси тела зародыша – это, как минимум, компромисс между исходной полярностью осей яйца и собственной полярностью ДГБ, возникающей в самом процессе ее формирования.

Вопрос, о чем говорит экваториальное вытяжение и меридиональное сжатие клеток – об интеркаляции или о направленном к губе клеточном потоке – принципиален, потому что только в последнем случае с возникновением ДГБ возникает новое поле клеточных движений, отличающее гастрологию от предшествующих по времени стадий развития. Внутри одной и той же области аксиальная и векторная мода альтернативны, но можно, и даже естественно предположить, что они череду-

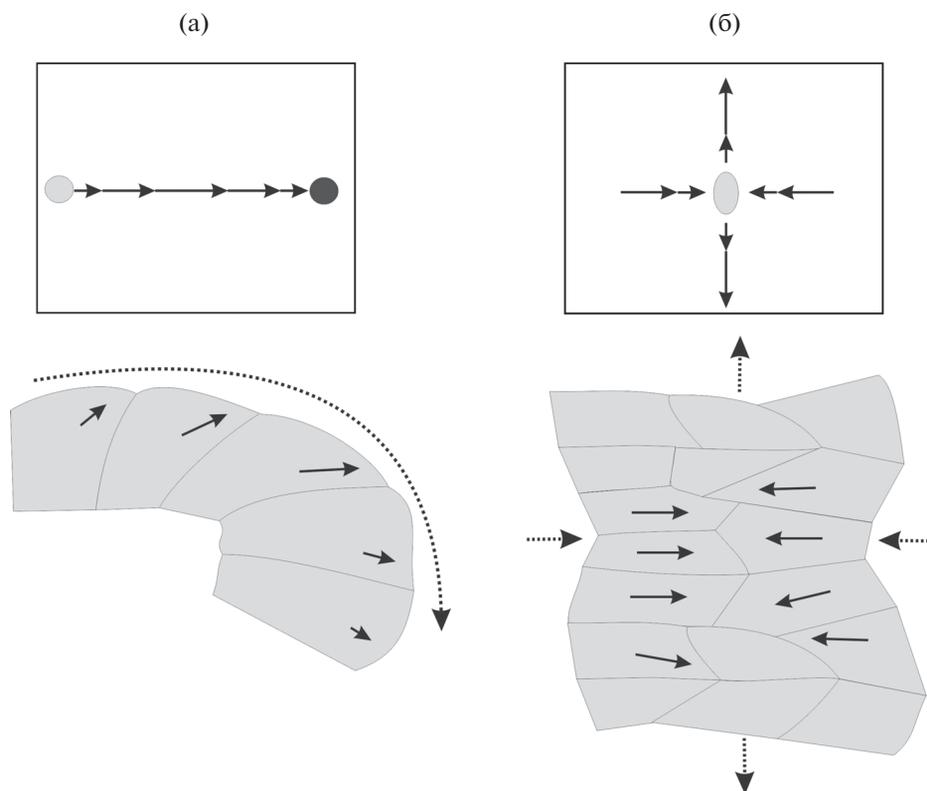


Рис. 1. Векторная (а, срез клеточного пласта) и аксиальная (б, вид поверхности клеточного пласта) моды коллективного движения клеток. Стрелки внутри клеток – векторы их движения, пунктирные стрелки за пределами пласта – направления изменения его формы. В рамках – векторное поле движения наружной поверхности: затененные окружности – устойчивые (темная заливка) и неустойчивые (светлая заливка) узлы, эллипс – седловидная точка векторного поля.

ются на последовательных стадиях ее развития, являясь фрагментами единого колебательного контура (Cherdantsev, 2014). Этот вопрос, очень важный для понимания роли ДГБ в гастрюляции, практически не исследован по очень простой причине. Дело в том, что обычный метод картирования морфогенетических движений на основе суммирования наблюдений за индивидуальными метками позволяет судить только о перемещении областей в неподвижной системе координат, не давая возможности связать перемещение области с изменением ее формы.

Это можно сделать, заменив индивидуальную метку групповой. Мы метили поверхность зародышей *Xenopus laevis* угольной меткой, как это делалось в далеком прошлом, но обратили внимание на то, что большинство угольных частиц имеет индивидуальную форму, позволяющую опознать одну и ту же прилипшую к поверхности частицу на последовательных стадиях гастрюляции. Это позволяет одновременно регистрировать изменение взаимного расположения группы индивидуально опознаваемых меток, до тех пор пока они не исчезнут в глубине гастрального впячивания. Основной количественной характеристикой коллективного движения клеток становится динамика формы

области, в составе которой они движутся, т.е., геометрия движения, не зависящая от выбора координат движущихся точек.

Связь морфогенеза ДГБ с чередованием фаз осцилляционного цикла отмечалась и ранее (Cherdantsev, Scobeyeva, 2012; Cherdantsev, 2014), но лишь на основании косвенных данных, вытекавших из анализа нормальной изменчивости морфогенеза. В этой работе впервые приводятся доводы в пользу этой гипотезы, основанные на прямом наблюдении и количественной регистрации движения (изменения формы) меченых участков поверхности зародыша *in situ*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Зародышей *Xenopus laevis* дехорионизировали, извлекали вручную из желточных оболочек и переносили в раствор Гольтфретера примерно за час до начала гастрюляции, так чтобы к появлению борозды гастрального впячивания они успели восстановить более или менее сферическую форму. Затем их укладывали антеродорсальной стороной вверх и после появления борозды метили их поверхность частицами угля. Для регистрации гастрюляционных движений отбирали заро-

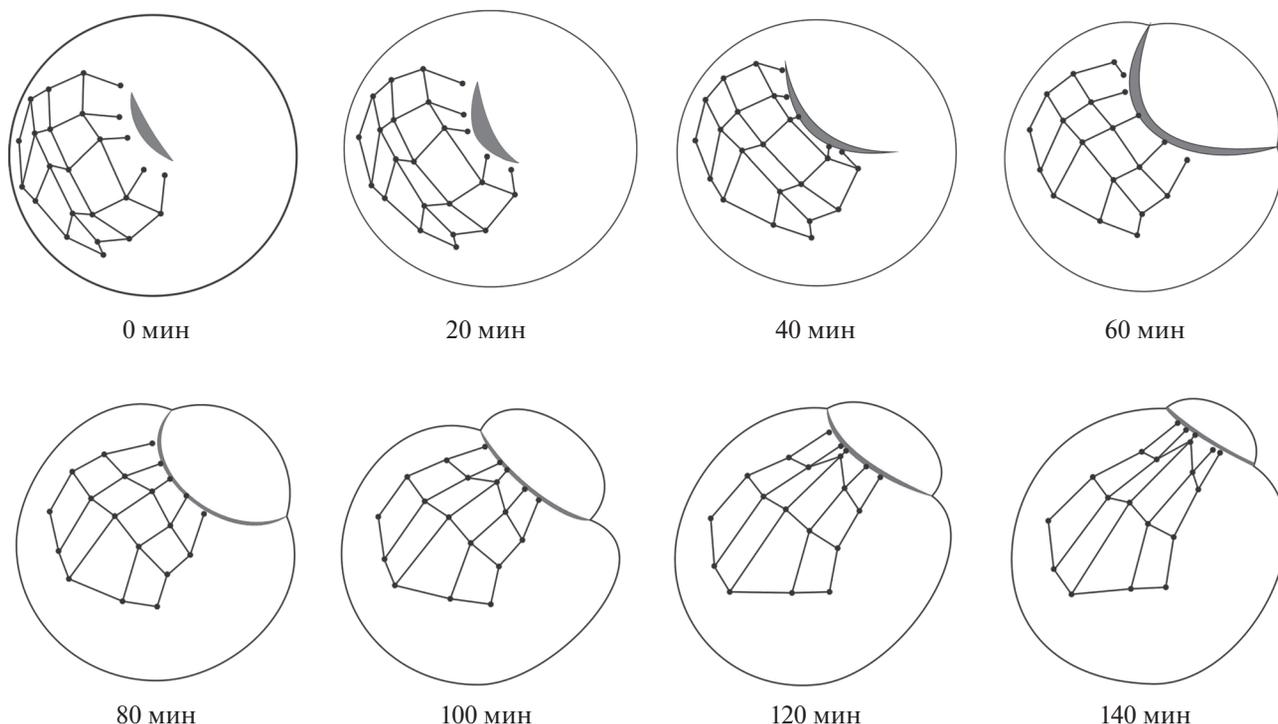


Рис. 2. Прорисовка с микрофотографий типичной серии изменений формы топографической сетки, полученной путем соединения отрезками прямых выбранных на поверхности зародыша индивидуально опознаваемых меток (точки). Выделены четыре экваториальных и четыре меридиональных ряда ячеек (метки – узлы ячеек). Серой заливкой показана видимая с наружной поверхности область гастрального впячивания, окаймленная с дорсальной стороны границей бластопора, а с вентральной стороны границей ухода внутрь вентральной энтодермы. Экваториальные ряды ячеек везде нумеруются в проксимодистальном направлении (от ДГБ), меридиональные ряды – слева направо.

дышей с подходящей ориентацией, такой, чтобы в центре поля зрения находился дорсальный сектор краевой зоны гастрюлы или, в некоторых случаях, геометрический центр вегетативного полушария. Зародышей, развивавшихся при температуре 19°C, фотографировали через каждые 20 мин в течение 120–200 мин, так как темпы развития сильно варьировали. В частности, у зародышей, ориентированных вегетативным полюсом вверх, гастрюляция шла заметно медленнее, замедляясь на стадиях, на которых желточная энтодерма окончательно перемещается на вентральную сторону гастрюлы.

С самого начала наблюдений метка концентрировалась на дне гастрального впячивания в виде плотной массы, но на остальную часть поверхности она ложилась в виде отдельных частиц столь разнообразной формы, что почти каждую из них легко было опознать индивидуально. Для построения карт движения поверхности мы выбирали частицы с максимальным диаметром 10–30 мкм – меньше максимального апикального диаметра одной клетки. Движение меток от начала гастрюляции до их ухода в полость архентерона удалось проследить у 16 зародышей. Полученные при цейтраферной съемке серии последовательных изображений каждого зародыша анализировали с

помощью пакета программ AxioVision. Для того, чтобы описание движения меток не зависело от выбора системы координат, перед началом измерений на изображениях поверхности дорсальной краевой зоны строили “топографическую сетку” (рис. 2). Метки выбирали таким образом, чтобы при соединении их прямыми получались ломаные экваториальные линии, по возможности конгруэнтные “арке” ДГБ. Далее метки соединяли по меридианам краевой зоны, получая в итоге сетку из экваториальных и меридиональных рядов ячеек, в узлах которых расположены метки.

Измеряли площади ячеек (используя соответствующую опцию программы AxioVision) и длину их меридиональных и экваториальных ребер. Теоретически, помимо изменения формы и площади, возможно взаимное смещение ячеек. Его оценивали с помощью величины $(180^\circ - a)/180^\circ$, где a – угол между меридиональными ребрами центральных ячеек соседних экваториальных рядов.

Угловые величины измеряли с точностью до 5°, линейные выражали в угловых градусах, линейные величины – с точностью до 0.005 мм, площади – с точностью до 0.01 мм². В качестве первичных данных использовали не абсолютные, а только относительные величины площади ячеек

и линейных и угловых расстояний между метками, нормированные относительно их начальных значений у каждого данного зародыша. Для статистической обработки материала использовали пакет программ “STATISTICA” 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Геометрия движения поверхности на качественном уровне

Типичная картина изменения формы топографической сетки на исследованных стадиях гастрюляции представлена на рис. 2. На этом рисунке серой заливкой показана видимая с поверхности часть гастрального впячивания, окаймленного с дорсальной стороны “аркой” ДГБ, которая через 60–100 мин после начала наблюдений превращается в замкнутое кольцо. Условно изображенная в виде дорсальной границы бластопора, арка в действительности является фрагментом тороидальной поверхности, ограничивающей переходную зону между наружным и внутренними слоями ДГБ. Это область, в которой клетки находятся в процессе эпителио-мезенхимального перехода, когда исходный (наружный) эпителий уже разрушен, а новые (внутренние) слои эпителия еще не сформированы (Cherdantsev, Scobeyeva, 2012).

Ячейки первого экваториального (ближайшего к ДГБ) ряда полностью уходят внутрь, причем меридиональные ребра ячеек начинают сокращаться до ухода внутрь меток, отмечающих проксимальную (ближайшую к ДГБ) границу этого ряда. По мере сокращения геометрические центры ячеек приближаются к краю бластопора, а отклонение меридиональных ребер ячеек от нормальной по отношению к арке ДГБ ориентации сначала возрастает (ср. кадры 0 мин и 20 мин на рис. 2), а потом уменьшается (ср. кадры 20 мин и 40 мин).

Волна сокращения движется навстречу движению клеток, а сближение меток, отмечающих проксимальную и дистальную границу первого ряда, означает, что метки, позже начавшие свое движение, догоняют метки, начавшие его раньше. Зона меридионального сокращения совпадает с зоной формирования арки ДГБ, так что сокращение связано с уменьшением радиуса и, соответственно, ростом кривизны наружной поверхности по мере ее вворачивания внутрь. Небольшая дуга окружности большого радиуса становится большей дугой окружности меньшего радиуса, чем и объясняется связь сокращения меридианов с направленным движением поверхности. *Удельная* площадь поверхности, отнесенная к объему заключенной в ней области, при этом не уменьшается, а наоборот, возрастает.

То, что направляющиеся к арке ДГБ потоки клеток сначала отклоняются от нормальной ориентации, а потом снова возвращаются к ней бла-

годаря изменению формы арки, отмечено давно (Черданцев, 2003; Cherdantsev, 2006). Об этом можно судить по ориентации микроскладок, образующихся между меридиональными “цугами” клеток, но только метка позволяет связать образование этих складок с клеточным движением. Складки возникают из-за роста экваториальной кривизны поверхностного пласта, неизбежной при вворачивании внутрь по чисто геометрическим причинам. Как следствие, возрастают силы латерального давления во внутренней части пласта, увеличивающие периметр арки ДГБ в ее центральной зоне.

Краевые ячейки первого ряда начинают вворачиваться в ДГБ чуть позже, чем центральные ячейки, а значит, мы застаем их на более ранней стадии вворачивания. По визуальной оценке, меридиональному сокращению поверхности предшествует ее меридиональное вытяжение и экваториальное сокращение. Это впечатление подтверждает серия изменения формы топографической сетки у зародышей с более медленным ходом гастрюляции, у которых внутрь уходит не только первый, но второй экваториальный ряд ячеек. Меридиональное вытяжение ячеек второго ряда начинается одновременно с меридиональным сокращением ячеек первого ряда и сменяется меридиональным сокращением по мере того, как проксимальная граница второго ряда приближается к дорсальному краю бластопора.

Одновременно с оформлением арки начинается вворачивание внутрь желточных клеток, расположенных под ДГБ – по картам презумптивных зачатков, это материал будущей вентральной энтодермы архентерона (Keller, Shook, 2004). От вворачивания клеток в ДГБ оно отличается тем, что меридиональное сокращение ячеек, уходящих с поверхности желточной энтодермы в глубину архентерона, выражено гораздо слабее. Соответственно, слабее должны быть и силы латерального давления, возникающие при переходе наружной поверхности в поверхность архентерона.

В еще большей степени это касается ухода наружной поверхности краевой зоны внутрь через боковые губы и через вентральную губу бластопора (рис. 3). В вентролатеральной зоне ячейки сначала вытягиваются в направлении своего движения, как и в дорсальном секторе, но фаза меридионального сокращения отсутствует. Расстояние между проксимальными и дистальными метками не уменьшается, а продолжает возрастать из-за экваториального сокращения ячеек. Метки, первоначально находившиеся на равном расстоянии от бластопора, приближаются к его границе с разной скоростью и уходят внутрь независимо друг от друга. Так как размер меток сопоставим с размером клеток, из этого следует, что в вентролатеральной зоне клетки уходят внутрь поодиночке, или небольшими группами, в чем принципиальное отличие от их массового ухода внутрь через ДГБ.

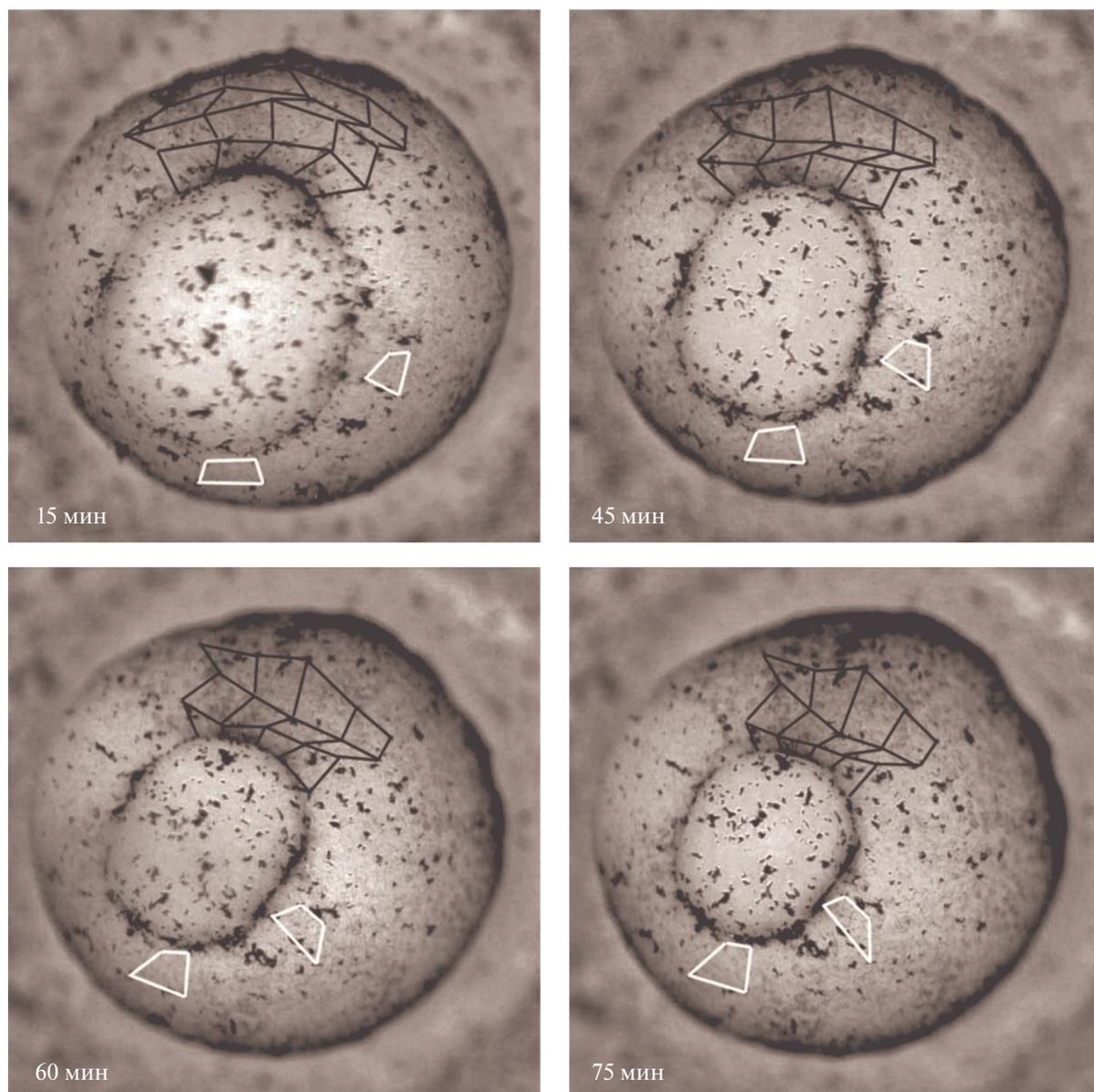


Рис. 3. Движение метки в вентролатеральной области: темные линии — стандартная топографическая сетка на дорсальной стороне зародыша, светлые линии ограничивают две ячейки, одна в окрестности латеральной, другая — в окрестности вентральной губы.

У всех 16 меченых зародышей поверхность всех четырех ячеек первого экваториального ряда полностью уходила внутрь ДГБ. Степень ухода поверхности второго экваториального ряда варьировала, а третий и четвертый экваториальные ряды всегда оставались на поверхности зародыша. У зародышей, у которых гастрюляция шла быстрее (быстрее сокращался бластопор), оставшиеся на поверхности ячейки вытягивались вдоль меридиональной и сокращались вдоль экваториальной оси, и форма топографической сетки намечала контуры будущей нервной пластинки (см. рис. 2). Последние порции уходящего в ДГБ материала

уходили внутрь примерно так же, как материал, уходящий внутрь через латеральные губы бластопора и вентральную губу (см. меридиональное вытяжение и экваториальное сокращение третьего ряда ячеек на рис. 2, 80–140 мин).

Можно предположить, что возникновение ДГБ и вворачивание в нее клеток является частью морфогенетического цикла, который в самой ДГБ проходит от начала и до конца, а в латеральных секторах краевой зоны и вентральном секторе останавливается на более ранних стадиях. Цикл начинается с эпиболии — встраивания (интеркаляции) клеток в меридианы краевой зоны,

ведущего к образованию и латеральному распространению борозды гастрального впячивания. В вентролатеральном секторе цикл останавливается на выселении внутрь клеток наружного листка на его границе с желточной энтодермой — поодиночке или небольшими группами. В дорсальном же секторе возникает арка ДГБ, с возникновением которой уход клеток внутрь становится массовым уходом. Сочетание направленного движения клеток вдоль меридианов с сокращением длины меридианов создает механизм автокаталитического роста концентрации клеток в переходной зоне ДГБ. В следующей фазе цикла клетки такой же массой выталкиваются из переходной зоны во внутренние слои, дорсальные меридианы снова начинают удлиняться, и цикл завершается вместе с гастральной впадиной.

То, что ДГБ образуется не во всей краевой зоне — прямое и очевидное следствие конвергенции. Клетки уходят из латеральных участков ДГБ, делая невозможным ее латеральное распространение, в отличие от латерального распространения борозды гастрального впячивания. Гораздо больше вопросов вызывают причины возникновения описанного морфогенетического цикла, да и само его существование. Для его доказательства нужны количественные данные, к анализу которых мы и переходим.

Количественный анализ геометрии движения

Динамика площади ячеек топографической сетки. На рис. 4а представлена динамика средних значений площади ячеек трех первых экваториальных рядов топографической сетки (ряды I—III), вычисленных для выборки из 16 зародышей.

На этом и последующих графиках все измеренные величины нормированы относительно своих начальных значений, принятых за единицу. Отрезки, обозначенные сплошными линиями, отмечают достоверные ($p < 0.05$), а пунктирные линии — статистически недостоверные различия между значениями отрицательного или положительного прироста переменных в соседних по времени точках (вплоть до последних измерений частотные распределения значений переменных достоверно не отличались от нормальных распределений). Динамика площади ячеек зависит от их принадлежности данному экваториальному ряду, но только для первого ряда (ряд I на рис. 3), который полностью уходит внутрь у всех зародышей, эту зависимость можно считать детерминированной. Начальные различия между краевыми ($S1.1$ и $S1.4$) и центральными ($S1.2$ и $S1.3$) ячейками (краевые ячейки начинают сокращение своей площади несколько позже) сохраняются вплоть до последних измерений. С третьего экваториального ряда начинается зона роста площади ячеек, причем ячейки третьего и четвертого ряда ведут себя практически одинаково. Рост площади го-

раздо более изменчив, чем ее сокращение, настолько, что темпы роста практически не зависят от положения ячеек в экваториальном ряду. Наиболее же изменчиво поведение ячеек второго ряда, занимающих пограничное положение — у одних зародышей ячейки почти целиком остаются на поверхности (см. рис. 2) а у других почти целиком уходят внутрь (см. рис. 3).

В случаях, когда изменения средних значений находятся на грани статистической достоверности, на помощь приходит корреляционный анализ (рис. 4б, в). Для всего периода, в течение которого первый экваториальный ряд погружается внутрь (с первого по третье измерение), между его площадью и площадью второго экваториального ряда существует сильная ($r = 0.8-0.7$) положительная корреляция, подтверждающая, что волна сокращения площади ячеек распространяется навстречу их движению в сторону бластопора (рис. 4б). Волна останавливается на границе второго и третьего рядов, а отрицательная корреляция между изменениями их площади ($r = -0.6$) означает, что сокращение поверхности первого и второго ряда вызывает растяжение поверхности третьего и четвертого рядов, связанных положительной корреляцией ($r = 0.6$).

Таким образом, в ответ на сокращение площади проксимальных рядов поверхность дистальных рядов растягивается, блокируя дальнейшее распространение волны сокращения наружной поверхности. Рост площади ячеек третьего и четвертого рядов начинается, скорее всего, с пассивного растяжения поверхности, но начиная с четвертого измерения, положительная корреляция между изменением их площади исчезает вместе с отрицательной корреляцией с площадью первого ряда (рис. 4в).

Очевидно, пассивное растяжение поверхности сменяется активным ростом ее площади за счет уменьшения числа клеточных слоев будущей нейроэктодермы (радиальная интеркаляция, см. Keller, Shook, 2004) с последующим переходом к ЛМ интеркаляции. Между радиальной интеркаляцией (которая сама по себе может вести только к изотропному росту площади клеточного пласта) и ЛМ интеркаляцией существует промежуточный этап, о котором можно судить по выпрямлению ломаных линий, образуемых меридиональными границами ячеек топографической сетки. Прежде всего, это относится к выпрямлению ломаной линии, образуемой отрезками центрального (сагиттального) меридиана. По мере смыкания латеральных границ бластопора и уменьшения его периметра средняя величина угла между этими отрезками стремится к 180° (рис. 5).

Выпрямление дорсальных меридианов начинается после превращения арки ДГБ в замкнутое кольцо и является прямым механическим следствием его активного сокращения, уменьшающе-

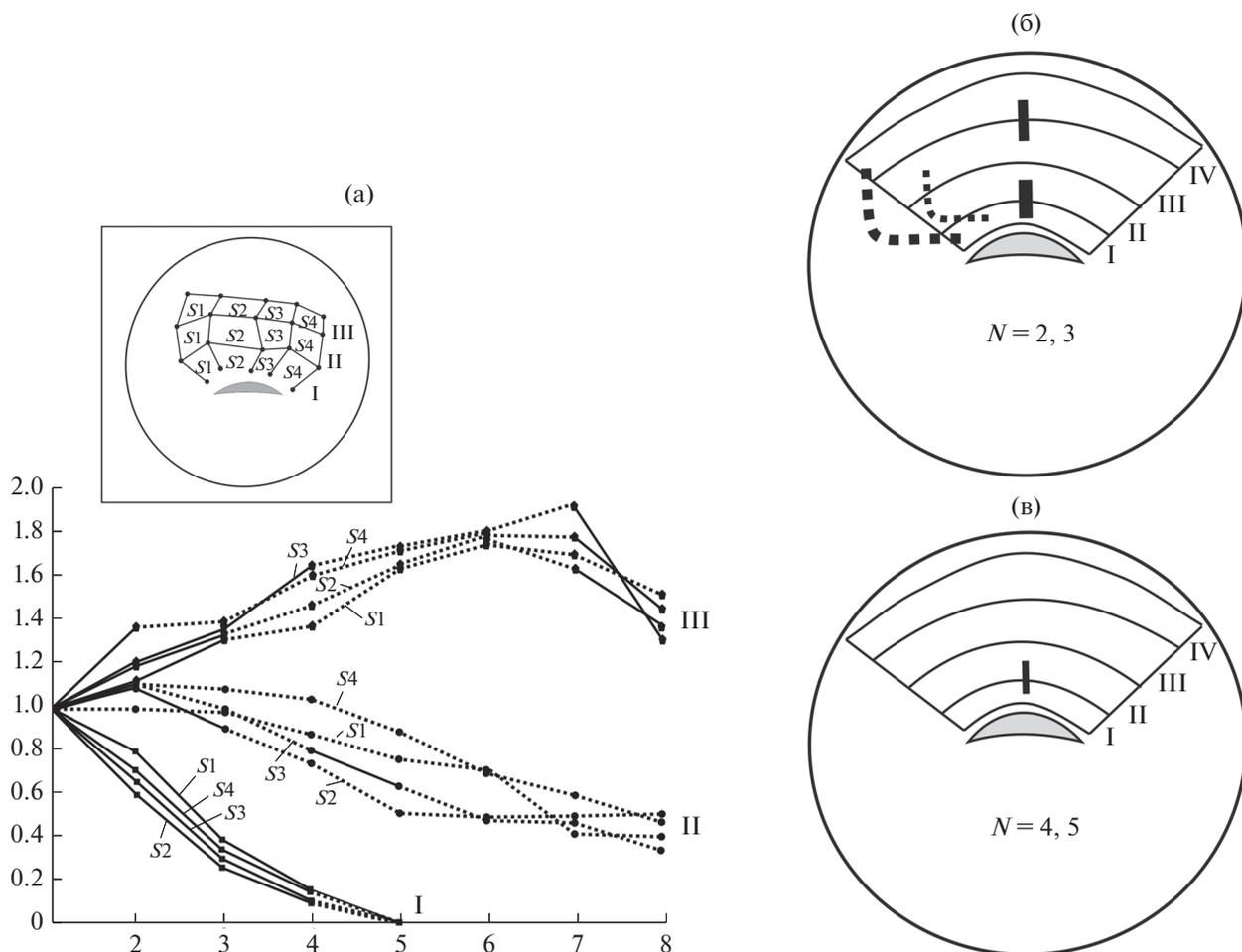


Рис. 4. Динамика площади ячеек топографической сетки (а) и анализ корреляций суммарной площади экваториальных рядов (б, в). В рамке – обозначения площади ячеек и номера экваториального ряда. Абсцисса на графике – номера измерений со стандартными промежутками в 20 мин. Ордината каждой точки – значение данного признака в данном измерении, деленное на его начальное значение, принимаемое за единицу. Сплошные линии – достоверные ($p < 0.05$), пунктирные линии ($p > 0.05$) – недостоверные различия значений признака в соседних по времени точках. Корреляции вычислены для суммарных площадей экваториальных рядов I–IV для двух выборок: (б) – для второго и третьего, (в) – для четвертого и пятого измерения. Сплошные линии – положительные, пунктирные линии – отрицательные корреляции, толщина линий отражает величину коэффициентов корреляции (от $r = 0.8$ до $r = 0.5$).

го диаметр бластопора. Сильнее всего сокращается дорсальный сектор кольца – это следует из экваториального сближения лежащих на нем меток (см. рис. 2, кадры 100–140). Максимальному активному сокращению должно соответствовать максимальное пассивное растяжение наружной поверхности, что и приводит к выпрямлению сагиттального меридиана. При дальнейшем сокращении кольца его плоскость остается ориентированной перпендикулярно сагиттальному меридиану. Значит, растягивающая дорсальный пласт сила уравновешивается ростом его упругого сопротивления, чему и служит активное встраивание клеток сагиттальный меридиан. Поэтому, собственно, клетки и движутся не вдоль, а поперек главной оси растяжения клеточного пласта. В промежутке между последними (седьмым и восьмым) измере-

ниями начинается сокращение площади ячеек третьего экваториального ряда (см. рис. 4). С этого момента удлинение сагиттального меридиана становится связанным с экваториальным сокращением наружной поверхности. Описанный переход пассивного растяжения в активную анизотропную деформацию клеточного пласта полностью совпадает с последовательностью событий, возникающих в изолированном фрагменте вентральной эктодермы в ответ на внешнее растяжение (Белоусов и др., 1999).

Приведенные в этом разделе данные показывают, что образование ДГБ делит поверхность дорсальной краевой зоны на два поля клеточных движений, граница раздела которых примерно соответствует границе между вторым и третьим экваториальными рядами. Одно из них – это соб-

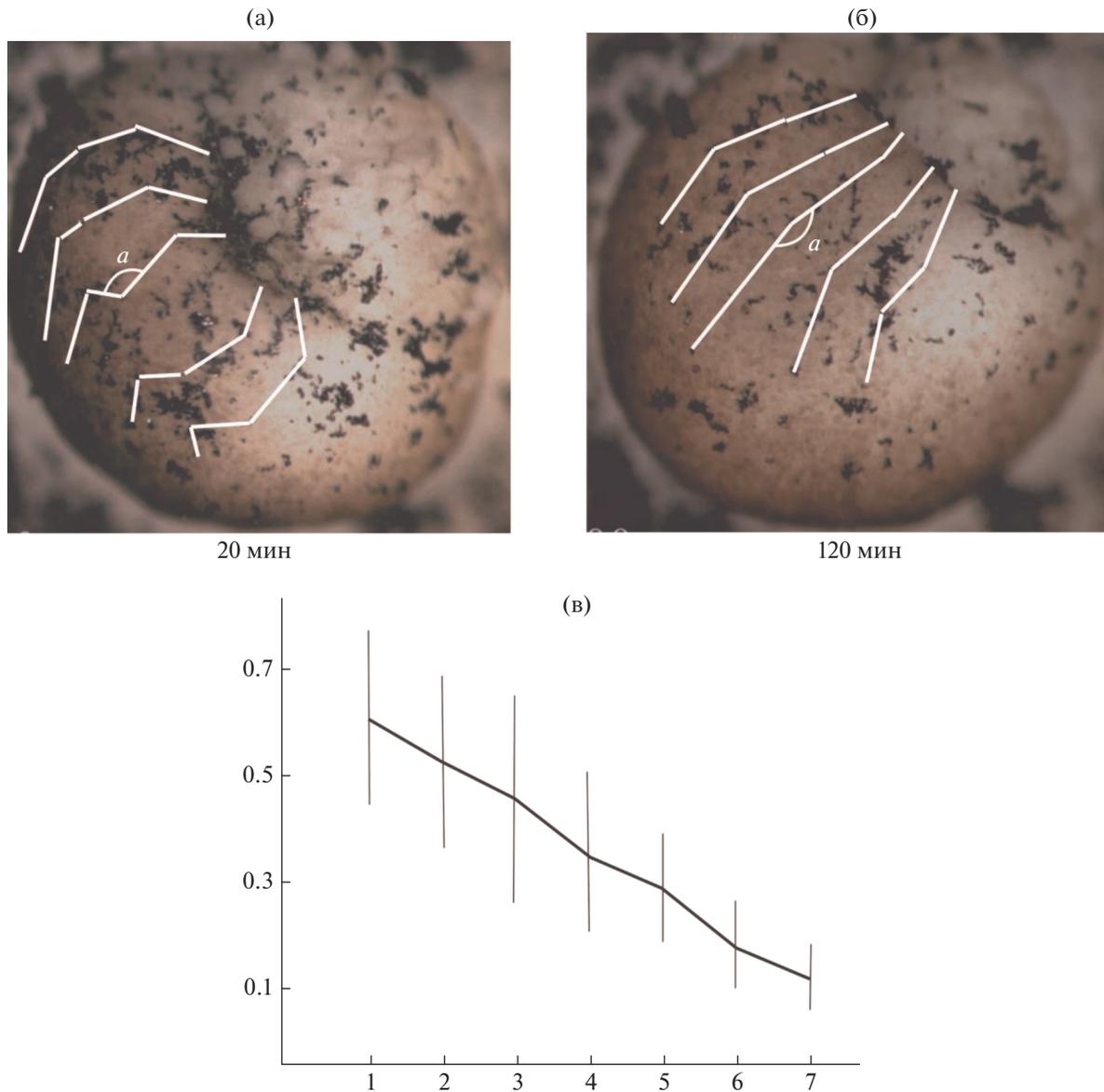


Рис. 5. Выпрямление дорсальных меридианов: при переходе от стадии ранней (а) к стадии поздней (б) гастрюлы меридиональные ребра ячеек топографической сетки (белые линии) ориентируются параллельно друг другу и перпендикулярно арке ДГБ; (в) – зависимость среднего значения величины $(180^\circ - a)/180^\circ$ (ордината), где a – угол между соседними отрезками сагиттального меридиана, от номера измерения (абсцисса).

ственное поле ДГБ, поле направленных к арке ДГБ клеточных потоков, где меридиональное сокращение поверхности исключает ЛМ интеркаляцию. Другое поле – поле радиальной и ЛМ интеркаляции, включая подготавливающий интеркаляцию рост анизотропии упругих напряжений. Это поле сначала пассивного, а затем активного анизотропного вытяжения поверхности клеточного пласта, где усредненная по времени площадь поверхности каждой отдельной клетки может оставаться неизменной. Дорсальные меридианы могут с равной вероятностью удлиняться как в сторону ДГБ, так и от нее, и этим, в частности,

объясняется рост изменчивости, по сравнению с направленным движением вворачивающихся в ДГБ клеток.

Пространственно-временная организация потоков поверхности. Измерение площади участков поверхности дает достоверную, но слишком грубую информацию об организации клеточных потоков. Дополнительную, и в некоторых отношениях более важную информацию, дает измерение длины отрезков меридиональных и экваториальных линий, выделяемых с помощью топографической сетки, и сопоставление их динамики с динамикой площади ячеек. Для анализа векторной

моды (поля ДГБ) удобнее ограничиться изменениями формы центральных участков первого–третьего экваториальных рядов по мере их приближения к арке ДГБ и ухода внутрь (первый и второй ряды).

Во время ухода внутрь ячеек первого ряда суммарная длина всех отрезков сагиттального меридиана (от первого до четвертого экваториального ряда) варьирует без статистически достоверного изменения среднего значения. Исходя из этого, можно считать, что после ухода первого ряда внутрь на место его проксимальной границы встает проксимальная граница второго ряда. Во время вворачивания клеток в ДГБ перемещение дорсального края бластопора вдоль сагиттального меридиана гастролы замедляется, и морфогенез арки ДГБ – рост ее периметра с одновременным сокращением диаметра бластопора – разворачивается только в ее собственной плоскости, положение которой остается неизменным. Наглядное представление об этом морфогенезе дает прорисовка наружного контура ДГБ на рис. 2 (кадры 0–40 мин). Контур дорсального края бластопора сначала (кадр 0) является, в первом приближении, малым сегментом окружности большого радиуса, постепенно (кадры 20–40 мин) превращаясь в больший сегмент окружности меньшего радиуса. Из-за приостановки движения плоскости бластопора вдоль сагиттального меридиана гастролы, вворачивающиеся внутрь клетки должны задерживаться в переходной зоне ДГБ с неизбежным ростом плотности расположения. Другими словами, в потоке клеток должна возникать “пробка”.

Динамика сокращения общей площади ячеек (S) практически совпадает с динамикой сокращения длины ближайшего к губе отрезка сагиттального меридиана $Long'$, а также, с некоторой задержкой, сокращения соседнего с ним меридионального отрезка $Long'$. В уменьшении площади небольшое (но статистически достоверное) участие принимает экваториальное сокращение дистальной экваториальной границы Lat' , а проксимальная граница Lat , наоборот, вытягивается вдоль экватора (рис. 6а).

Экваториальное расширение прямо говорит о возникновении “пробки” при вворачивании наружной поверхности внутрь. Из-за этого внутри арки ДГБ должны расти силы латерального давления, изгибающие арку в плоскости, параллельной плоскости бластопора, а изменение формы арки должно, в свою очередь, изменять форму коллективного движения клеток. Между первым и вторым измерением площадь ячеек второго ряда достоверно возрастает вместе с длиной их меридиональных границ и только после этого начинает уменьшаться, а экваториальные границы второго ряда достоверно сокращаются. Если при входе в губу прямоугольная ячейка первого ряда принимала форму трапеции с расширенным проксимальным основанием (см. рис. 6а), то

ячейка следующего ряда входит в губу в виде трапеции, сужающейся в направлении своего движения (рис. 6б). Такое сужение говорит о выталкивании “пробки” из переходной зоны ДГБ во внутренние слои. О том же говорит ослабление направленного к бластопору сокращения меридианов наружной поверхности – клетки поверхностного слоя входят в переходную зону ДГБ со скоростью, достаточной для компенсации ухода клеток из переходной зоны, но не достаточной для их накопления в этой зоне.

В этой фазе гастрюляции наибольший вклад в сокращение площади входящего в ДГБ материала вносит уже не меридиональное, а экваториальное сокращение. Внутренняя поверхность арки ДГБ имеет меньший радиус, чем наружная поверхность, поэтому при переходе наружного пласта в дорсальную стенку гастрального впячивания неизбежна конвергенция упругих напряжений, а с ними и клеточных потоков, перегибающихся через губу (Черданцев, 2003). Таким образом, конвергенция упругих напряжений готовит условия для начала ЛМ интеркаляции, которая должна начинаться во внутренних слоях ДГБ (ср. Keller, Shook, 2008), а в следующей фазе гастрюляции (рис. 6в) мы наблюдаем ее распространение в наружный слой клеток.

Площадь ячеек третьего экваториального ряда растет за счет удлинения меридианов, несмотря на экваториальное сокращение наружной поверхности, причем рост площади сначала опережает, а затем отстает от удлинения меридианов (рис. 6в). Это хорошо согласуется тем, что ЛМ интеркаляции, замедляющей рост площади поверхности из-за ее экваториального сокращения, предшествует пассивное растяжение меридианов. Хотя ячейки третьего ряда и приближаются к краю бластопора, метки, по крайней мере, в течение всего периода наблюдений, остаются на наружной поверхности. Из этого, конечно, не следует отсутствие ухода внутрь небольших групп клеток – этого не позволяет утверждать методика мечений, но несомненно, что прекращается массовый уход путем вворачивания внутрь всей наружной поверхности, не совместимый с интеркаляцией. Прекращение массового ухода внутрь совпадает с превращением арки ДГБ в замкнутое кольцо, сокращение которого вытягивает дорсальные меридианы и, тем самым, ведет к вытеснению векторной моды движения аксиальной модой.

Меридианы четвертого (самого дальнего от губы) экваториального ряда также удлиняются с одновременным ростом площади ячеек, очевидно, за счет присоединения новых клеток к своим дистальным (антериорным) концам. Волна вовлечения клеток в передний конец будущей нервной пластинки движется вдоль меридианов интеркаляции, но в направлении, противоположном направлению движения бластопора. В итоге, глав-

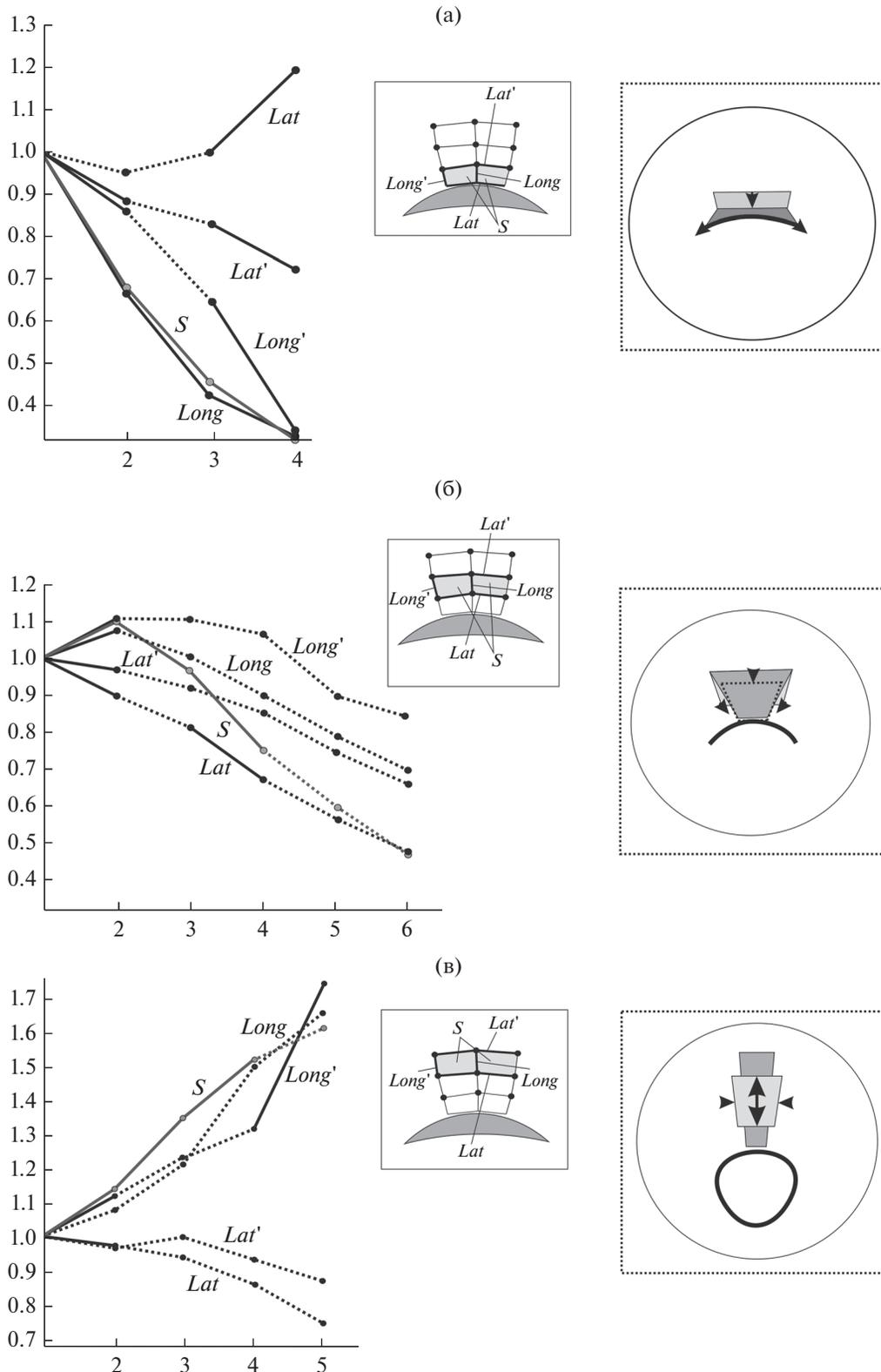


Рис. 6. Динамика длины меридиональных (*Long* и *Long'*) и экваториальных (*Lat* и *Lat'*) ребер ячеек топографической сетки в сопоставлении с динамикой площади экваториальных рядов (*S*) на последовательных стадиях гастрюляции (а–в). Абсцисса на графиках – номера измерений, ордината – значения признаков, нормированные относительно начальных значений (см. подпись к рис. 4). В рамках, очерченных сплошными линиями – схемы измерения признаков, серая заливка – площади экваториальных рядов ячеек. В рамках, очерченных пунктирными линиями – схемы вытекающих из графиков изменений формы наружной поверхности: стрелки – векторы движения, более светлой заливкой показаны начальные, более темной заливкой – последующие этапы изменения формы.

ная ось тела становится типичной биполярной осью, характерной для аксиальной моды движения. Условный центр симметрии располагается в области заднего мозга, в окрестности границы третьего и четвертого ряда ячеек топографической сетки.

Морфогенетический цикл гастрюляционных движений. Смена полей клеточного движения происходит при изменении всего одного параметра, управляющего соотношением скорости движения клеток в сторону дорсального края бластопора, и скорости движения самого дорсального края вдоль сагиттального меридиана зародыша. Сначала клетки приближаются к дорсальному краю бластопора быстрее увеличения длины сагиттального меридиана, накапливаясь в переходной зоне ДГБ и образуя “пробку” (первая фаза гастрюляции). Потом, после рассасывания “пробки”, скорости движения клеток вдоль сагиттального меридиана и увеличения его собственной длины выравниваются (вторая фаза). Равновесие этих скоростей оказывается неустойчивым, и в следующей (третьей) фазе меридиональное движение дорсального края опережает движение к нему клеток, растягивая меридианы наружного и внутренних листков ДГБ и индуцируя ЛМ интеркаляцию.

Описанную последовательность событий можно считать последовательностью стадий дифференцировки зародышевых листков, а с другой стороны – чередованием фаз морфогенетического цикла ДГБ, цикла “конденсации-проталкивания” клеток через переходную зону. Это практически одно и то же. Клетки, оказавшиеся в составе внутреннего листка, отличаются от клеток, оставшихся в поверхностном слое, именно тем, что проходят через переходную зону ДГБ. В то же время, без завершения цикла “конденсации-проталкивания” невозможно продолжение гастрюляции, независимо от судьбы клеток.

Оценить число таких циклов можно лишь при наличии серии, как минимум, четырех измерений меридиональной длины одного и того же участка поверхности, вворачивающейся в ДГБ. Для этого подходят только ячейки второго экваториального ряда топографической сетки: поверхность ячеек первого ряда у большинства зародышей уходит внутрь уже после третьего измерения, а ячейки третьего ряда находятся за пределами поля действия ДГБ.

Лежащее в основе цикла чередование аксиальной (меридиональное удлинение) и векторной (меридиональное сокращение) моды движения наружной поверхности показано на рис. 7. Первая осцилляция – сначала рост, а затем уменьшение меридиональной длины ячеек второго ряда – возникает синхронно в центральной ячейке и соседних с ней латеральных ячейках (ср. рис. 7а, 7б). Разница только в уровне индивидуальной изменчивости, который выше в центральной зоне, по-

этому только для латеральных ячеек эта осцилляция статистически достоверна. В латеральных ячейках осцилляция повторяется (см. рис. 7б), но уже на грани статистической достоверности из-за роста изменчивости, нарастающей к концу регистрации, когда уход клеток внутрь перестает быть массовым уходом. Таким образом, цикл “конденсации-проталкивания” может повторяться. Скорее всего, число циклов точно так же изменчиво, как и общий ход гастрюляционных движений (Cherdantsev, Scobeyeva, 2012). Вопрос нуждается в дальнейшем исследовании, но можно предположить, что дополнительные циклы появляются у зародышей, у которых темп лимитирующим звеном гастрюляции является процесс превращения арки ДГБ в замкнутое сократимое кольцо. Это, в свою очередь, может быть следствием уменьшения вклада предгастрюляционной эпителии в формирование внутренних зародышевых листков.

Чередование аксиальной и векторной моды гастрюляционных движений

Физические уравнения движения симметричны во времени и пространстве, поэтому описание направленных потоков клеток всегда было проблемой. В известных авторам физических и математических моделях морфогенеза клеточных пластов (Odell et al., 1981; Belintsev et al., 1987; Beloussov, Grabovsky, 2006) усредненный по времени поток клеток через клеточный пласт равен нулю, а поляризация движения выводится из асимметрии граничных или начальных условий. Среди немногих исключений – модель агрегации эмбриональных фибробластов (Oster et al., 1983) и социальных амёб (Белинцев, 1990), где действует механизм положительной обратной связи между гаптоаксисом (в случае социальных амёб – хемотаксисом) и движением клеток вверх по градиенту клеточной плотности.

В рассматриваемом нами случае аналогичная по механизму своего действия обратная связь возникает между движением клеток и изменением формы области, в составе которой они движутся. Когда мы рассматриваем одномерный или двухмерный клеточный пласт, в котором клетки сокращают свои свободные (апикальную и базальную) поверхности за счет удлинения, или растягивают свои свободные поверхности за счет сокращения контактных поверхностей, суммарное смещение клеток вдоль пласта равно нулю в силу принципа механического равновесия. Другое дело, если при тангенциальном (планарном) движении поверхность клеточного пласта изменяет свою форму (см. рис. 1а). Изменение формы действует как фильтр, пропускающий только одностороннее движение поверхности в том направлении, в каком ее кривизна изменяется во времени, т.е., вверх по градиенту кривизны. Связь между движением меченых участков ввора-

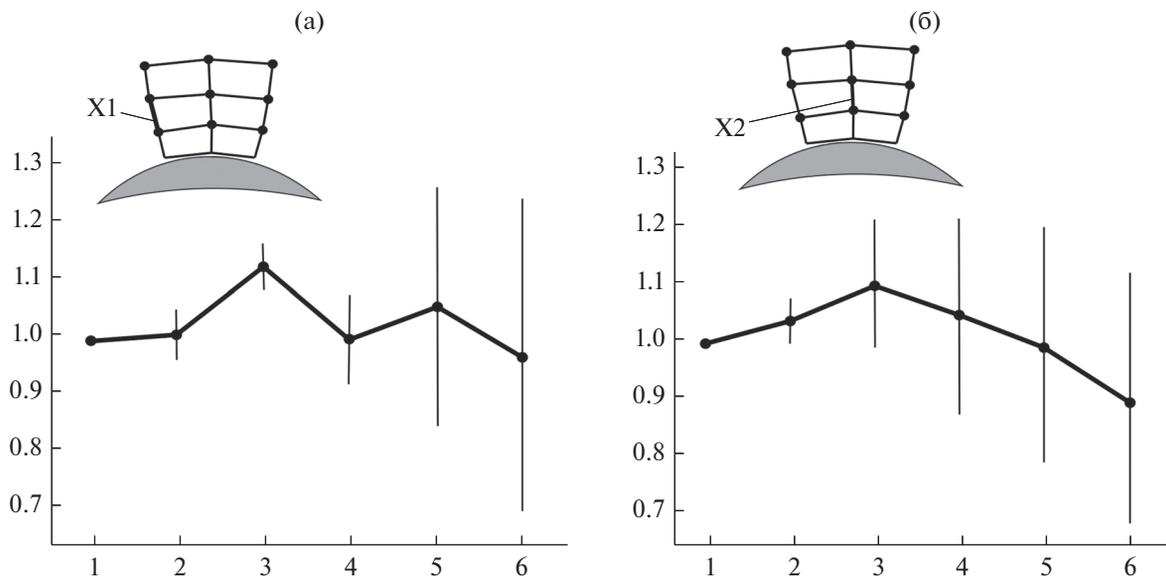


Рис. 7. Осцилляции меридиональной длины движущихся участков наружной поверхности латеральной (а) и центральной (б) зоны поля ДГБ. Абсцисса – номер измерения, ордината – нормированная величина длины меридиональных ребер латеральной (X1) и центральной (X2) ячеек второго экваториального ряда. В рамках – схемы измерения длины меридиональных ребер.

чивающейся в ДГБ наружной поверхности, и изменением формы самой ДГБ ее сагитальном сечении, схематически показана на рис. 8.

Вывести действующие в губе физические (макроскопические) силы из геометрии движения ее поверхности можно с помощью модели активных оболочек, подробно изложенной в других работах (Cherdantsev, Grigorieva, 2012; Cherdantsev, Scobeyeva, 2012; Cherdantsev, 2014). Активной оболочкой можно считать поверхность переходной зоны ДГБ, пассивно растягивающейся под действием сил внутреннего давления и активно изменяющей свою форму под действием сил латерального давления. Последние действуют в плоскости самой движущейся поверхности и возникают из-за движения ее элементов вверх по градиентам ее кривизны. Изменение формы начинается с перехода интеркаляции в поток поверхности, направленный в переходную зону, с возникновением максимума кривизны на ее границе (рис. 8а). Далее, поскольку менее искривленные участки поверхности более податливы пассивному растяжению, действие сил внутреннего давления выравнивает кривизну, приближая поверхность переходной зоны к фрагменту сферы, стремящегося минимизировать площадь своей поверхности (рис. 8б). Движение продолжается из-за неустойчивости пространственно однородной формы фрагмента, радиус которого уменьшается (соответственно, возрастает кривизна), а периметр растет из-за притока поверхности. Значит, должны усиливаться любые случайные флуктуации, увеличивающие отношение

периметра фрагмента к его усредненному радиусу. Учитывая направление планарного потока, новый максимум кривизны должен возникать у выхода из переходной зоны (рис. 8в). После того как интеркаляция разглаживает этот максимум (рис. 8г), цикл изменений формы переходной зоны завершается и может повториться, если (и только если) в переходной зоне ДГБ снова возникает “пробка”.

Наибольший интерес представляет сама возможность регулярного чередования процессов, один из которых (векторная мода с узловыми особыми точками векторного поля) является детерминированным, а другой (аксиальная мода с седловидными особыми точками) – стохастическим движением клеток. Их объединяет только связь с геометрией движения поверхности. Поэтому, в ответ на образование “пробки”, арка ДГБ изгибается с ростом отношения ее периметра к величине ее радиуса, так что “пробка” проталкивается внутрь. Как следствие, движущийся в сторону арки материал перестает сокращаться, а наоборот, вытягивается вслед за уходящей внутрь “пробкой”.

Фундаментальной физической причиной возникновения таких автоколебаний является нестационарность клеточного потока – говоря упрощенно (подробнее см. Ландау, Лившиц, 1976; Prigogine, 1980), клетки входят в переходную зону ДГБ быстрее, чем успевают выйти из нее. Цикл “конденсации-проталкивания” продолжается до тех пор, пока система не перейдет в новый (устойчивый) стационарный режим. На рассмотренном отрезке гаструляции это происходит тогда, когда

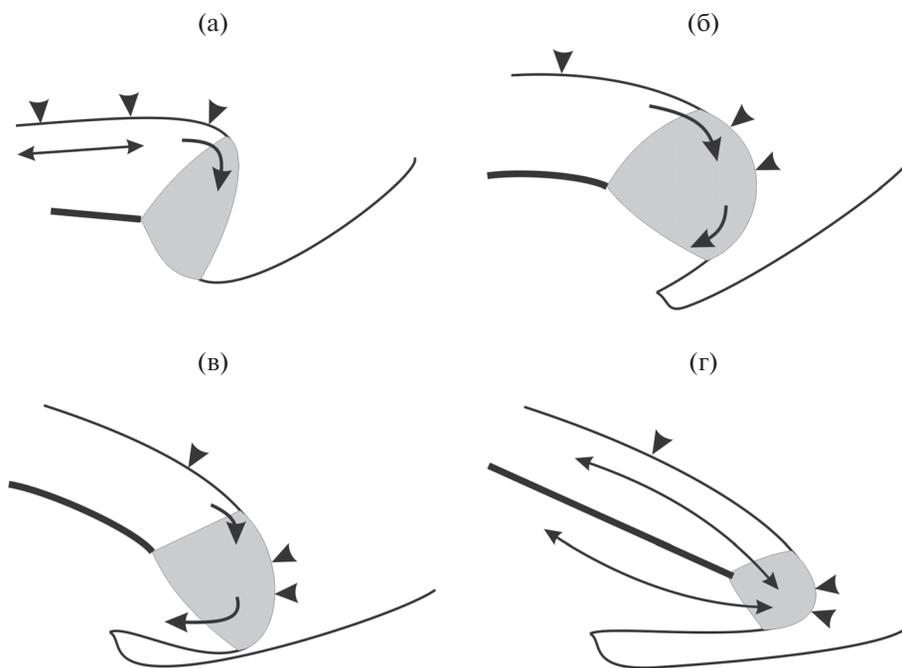


Рис. 8. Схема движения меток и изменения формы ДГБ в сагитальном сечении: наконечники – метки, утолщенная линия – щель Браше, серая залива – переходная зона ДГБ, односторонние стрелки – векторная, двухсторонние стрелки – аксиальная мода движения поверхности. Контур внутренней поверхности ДГБ построен исходя из общеизвестных данных о форме губы на ее сагитальном срезе.

выталкивание “пробки” перестает быть темп лимитирующим звеном эпиболлии, и векторная мода движения сменяется аксиальной модой (см. рис. 8г).

Векторной моде обязательно должна предшествовать аксиальная мода, так как иначе отсутствовала бы единая ось коллективного движения клеток. С другой стороны, векторная мода неизбежно переходит в аксиальную моду, когда зависимость движения клеток от кривизны клеточного пласта сменяется зависимостью от упругих напряжений. Происходит это тогда, когда кривизна поверхности слишком мала (поверхность за пределами переходной зоны ДГБ), или наоборот, слишком велика (поверхность переходной зоны ДГБ по завершении цикла “конденсации–проталкивания”, см. рис. 8г). Последним звеном, запускаящим МЛ интеркаляцию, является, скорее всего, упругая реакция дорсальных меридианов краевой зоны на активное сокращение окружности бластопора (ср. Belousov, 2015).

Чередование аксиальной и векторной моды дает ключ к пониманию морфогенетической природы дорсовентральных различий. Вентральная сторона отличается от дорсальной стороны тем, что эпиболлия является постоянной модой движения, не прерываемой векторной модой. От начала и до конца клетки вентролатерального сектора

движутся так, как клетки дорсального сектора перед началом и в конце гастрюляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С открытием интеркаляции клеток, планарной и радиальной (Keller, Tibbetts, 1989), практически все происходящие в гастрюляции морфологические перестройки, за исключением разве образования колбовидных клеток (Hardin, Keller, 1988), стали относить на счет интеркаляции (Keller, Shook, 2004, 2008). Используемая в этой работе методика массового мечения наружной поверхности краевой зоны гастрюлы, позволяющая не только наблюдать, но и количественно оценивать геометрию коллективного клеточного движения, показывает четкое различие между интеркаляцией и направленным к ДГБ потоком наружной поверхности, связанным не с удлинением, а сокращением меридианов краевой зоны. Даже напрашивающееся предположение, что с интеркаляцией связана конвергенция клеточных потоков к дорсальному краю бластопора (“конвергентная интеркаляция”, см. Keller, 1986; Cherdantsev, 2006), оказывается неверным. Конвергенция, т.е., отклонение траекторий движения поверхности от нормальной ориентации, заметна перед входом клеток в губу, но во время самого входа траектории нормализуются, и экваториальное расстояние между метками не уменьшается, а

возрастает. Конвергенция, связанная с интеркаляцией, начинается на более поздней стадии, когда уход клеток внутрь губы перестает быть массовым уходом, а основной движущей силой гастрюляции становится сокращение уже замкнутой окружности бластопора.

Непосредственной причиной усложнения морфогенеза и образования осевых структур на дорсальной стороне зародыша является не интеркаляция, а замедление скорости движения клеток при входе в губу, которое начинается с возникновения колбовидных клеток и борозды гастрального впячивания, еще до оформления ДГБ (ср. Keller, 1981). Именно из-за этого клетки задерживаются в переходной зоне губы, создавая условия для начала ее собственного морфогенеза. Возникает новая по сравнению с предшествующими стадиями развития обратная связь между динамикой локальной клеточной плотности и изменением формы клеточного пласта, т.е., между клеточным и надклеточным уровнем организации. Это, в частности, объясняет, почему гастрюляция продолжается и после удаления колбовидных клеток (Keller, 1981). Стягивание раневой поверхности тормозит меридиональное движение клеток краевой зоны практически так же, как образование борозды гастрального впячивания.

Характерный для ДГБ меридиональный профиль локальной концентрации клеток с максимумом в проксимальной зоне, образующей топологическую складку, окаймленную точками, которые в теории устойчивых отображений называются точками сборки (Cherdantsev, Scobeyeva, 2012), легко выводится из кинематики движения поверхности. Участки, позже начавшие свое движение, догоняют участки, начавшие его раньше. Учитывая, что планарный поток клеток является аналогом отображения плоскости в плоскость (Cherdantsev, 2006), это равнозначно возникновению топологической складки с кратерами на ее краях, которые в теории особенностей называются точками сборки (Арнольд, 1990). Форма складки совпадает с формой арки ДГБ, а точки сборки — с границами раздела ДГБ с латеральными губами бластопора (Cherdantsev, Scobeyeva, 2014). Торможение эпиболии при образовании борозды гастрального впячивания с разобщением движения эпителиальных клеток и движения подстилающей их мезодермы оказывается основной причиной возникновения ДГБ и начала ее собственного морфогенеза (ср. Keller, 1981).

Описанное в этой работе чередование аксиальной и векторной моды коллективного движения клеток можно считать эволюционно устойчивым, так как, со всеми подробностями, его можно наблюдать в раннем морфогенезе костистых рыб, несмотря на превращение наружного слоя во внезародышевую оболочку. В гастрюляционном движении эмбриональных клеток участвуют только многослойные клеточные пласты, и,

несмотря на это, они повторяют все, что делает поверхностный слой клеток гастрюлы *Xenopus* (Черданцев, Корвин-Павловская, 2016). В эмбриогенезе вьюна векторная мода возникает вместе с образованием зародышевого кольца, а до тех пор эпиболия представляет собой неполярное (интеркаляционное) удлинение меридианов бластодермы. Зародышевое кольцо образуется тогда, когда центробежная миграция клеток — их меридиональное движение по направлению к краю бластодермы — начинает опережать эпиболию, и клетки накапливаются у края бластодермы. Как и у *Xenopus*, это переключение ограничено дорсальным сектором краевой зоны бластодермы. На следующем этапе, из-за того что клетки зародышевого кольца проталкиваются в более глубокие слои бластодермы, скорости движения края бластодермы и движения к нему клеток снова выравниваются. Основной модой движения снова становится эпиболия, а его движущей силой — сокращение зародышевого кольца. С современной ревизией классических представлений о гастрюляционных движениях можно согласиться в том, что возникновение центра формирования осевых структур в виде ДГБ (у амфибий) или зародышевого щитка (у костистых рыб) является не более чем вставкой в эпиболию. Однако именно за счет этой вставки возникают дорсовентральные различия полей клеточного движения, ведущие, в частности, к формированию осевых структур именно в дорсальном секторе. Из-за стягивания к нему клеток только образование дополнительных клеточных слоев на дорсальной стороне зародыша (т.е., образование ДГБ или ее морфогенетических аналогов) обеспечивает равномерное обрас- тание желтка.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арнольд В.И. Теория катастроф. М.: Наука, 1990. 127 с.
- Белинцев Б.Н. Физические основы формообразования. М.: Наука, 1990. 340 с.
- Белоусов Л.В., Лучинская Н.Н., Зарайский А.Г. Тензотаксис — коллективное движение эмбриональных клеток вверх по градиентам механических натяжений // Онтогенез. 1999. Т. 30. № 3. С. 220–228.
- Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Статистическая физика. Часть 1. М.: Наука, 1976. 584 с.
- Неклюдова И.В., Корвин-Павловская Е.Г., Черданцев В.Г. Пространственно-временная динамика морфогенетических потенциалов бластодермы в раннем морфогенезе вьюна // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 5. С. 355–371.
- Черданцев В.Г. Морфогенез и эволюция. М.: Изд-во КМК, 2003. 360 с.
- Черданцев В.Г., Корвин-Павловская Е.Г. Изменчивость количественно-морфологических признаков и формирование дорсовентральных различий в раннем морфогенезе вьюна, *Missgurmus fossilis* L. // 2016. Т. 47. С. 1–16.

- Belintsev B.N., Belousov L.V., Zارايسки A.G.* Model of pattern formation in epithelial morphogenesis // *J. Theor. Biol.* 1987. № 129. V. 4. P. 369–394.
- Belousov L.V.* Morphomechanics of Development. Springer, 2015.
- Belousov L.V., Grabovsky V.I.* Morphomechanics: goals, basic experiments and models // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 81–91.
- Cherdantsev V.G.* The dynamic geometry of mass cell movements in animal morphogenesis // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 169–182.
- Cherdantsev V.G.* Generic oscillation patterns of the developing systems and their role in the origin and evolution of ontogeny // *BioSystems*. 2014. V. 123. P. 37–53.
- Cherdantsev V.G., Grigorieva O.V.* Morphogenesis of active shells // *BioSystems*. 2012. V. 109. P. 114–128.
- Cherdantsev V.G., Scobeyeva V.A.* Morphogenetic origin of natural variation // *BioSystems*. 2012. V. 109. P. 299–313.
- Ewald A.E., Peyrot S.M., Tyszcza J.M., Fraser S.E., Wallingford J.B.* Regional requirements for Dishevelled signaling during *Xenopus* gastrulation: separable effects on blastopore closure, mesendoderm internalization and archenteron formation // *Development*. 2004. V. 131. P. 6192–6209.
- Gerhart J.* Evolution of the Organizer and the chordate body plan // *Int. J. Dev. Biol.* 2001. V. 45. P. 133–153.
- Hardin J., Keller R.* The behavior and function of bottle cells during gastrulation of *Xenopus laevis* // *Development*. 1988. V. 103. P. 211–230.
- Keller R.E.* An experimental analysis of the role of bottle cells and the deep marginal zone in gastrulation of *Xenopus laevis* // *J. Exp. Zool.* 1981. V. 216. P. 81–101.
- Keller R.E.* The cellular basis of amphibian gastrulation // *Int. J. Devel. Biol.* 1986. V. 45. P. 241–327.
- Keller R., Tibbetts P.* Mediolateral cell intercalation in the dorsal, axial mesoderm of *Xenopus laevis* // *Dev Biol.* 1989. V. 131. P. 539–549.
- Keller R., Shook D.* Gastrulation in Amphibians // In: *Gastrulation: From Cell to Embryo*, D.S. Stern ed. 2004. P. 7–62.
- Keller R., Shook D.* Dynamic determinations: patterning the cell behaviors that close the amphibian blastopore // *Phil. Trans. Roy. Soc London. B Biol. Sci.* 2008. V. 363. P. 1317–1332.
- Lerchner W., Latinkic B.V., Remacle J.E., Huylebroeck D., Smith J.C.* Region-specific activation of the *Xenopus* Brachyury promoter involves active repression in ectoderm and endoderm: a study using transgenic frog embryos // *Development*. 2000. V. 127. P. 2729–2739.
- Odell G.M., Oster G., Alberch P., Burnside B.* The mechanical basis of morphogenesis. I. Epithelial folding and invagination // *Devel. Biol.* 1981. V. 85. P. 446–462.
- Prigogine I.* From Being to Becoming. Time and Complexity in Physical Sciences. W.H. Forman and Co, N.Y., 1980.
- Scobeyeva V.A.* The natural variability of morphogenesis: a tool for exploring the mechanics of gastrulation movements in amphibian embryos // *Int. J. Dev. Biol.* 2006. V. 50. P. 315–322.
- Wallingford J.B., Fraser S.E., Harland R.M.* Convergent extension: the molecular control of polarized cell movement during embryonic development // *Dev. Cell*. 2002. V. 2. P. 695–706.
- Wilson P., Keller R.* Cell rearrangement during gastrulation of *Xenopus*: direct observation of cultured explants // *Development*. 1991. V. 112. P. 289–300.
- Winklbauer R., Schuerfeld M.* Vegetal rotation, a new gastrulation movement involved in the internalization of the mesoderm and endoderm in *Xenopus* // *Development*. 1999. V. 126. P. 3703–3713.

Geometry of Movement of the Outer Surface of the Embryo during *Xenopus* Gastrulation

E. G. Korvin-Pavlovskaya and V. G. Cherdantsev

Biological Faculty, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

e-mail: vgcherdantsev@yandex.ru

Received December 1, 2015; in final form, January 21, 2016

The surface of *Xenopus laevis* embryos was marked with carbon particles, after which the location of mark groups was recorded by time-lapse video imaging and subsequent image analysis until their disappearance in the depth of gastric invagination. Measuring the distances between individually identifiable marks whose size is smaller than the size of a single cell makes it possible to quantitatively analyze the geometry of collective cell movement without any external coordinate system. During the dorsal blastopore lip (DBL) formation, the invagination of surface cells fundamentally differs from the preceding and subsequent lateromedial (LM) intercalation, being associated with a decrease in the meridional distance and an increase in the latitudinal distance between the marked surface sites. The sites that began to move towards the DBL later overtake the areas that started movement earlier, which leads to a “plug” in the movement of cells. Pushing the “plug” into the inner layers by changing the DBL shape becomes the rate-limiting stage of gastrulation; then, the directed cell movement is replaced by epiboly based on LM intercalation when the marks remaining on the outer surface of the marginal zone diverge along its meridians without directed migration towards the blastopore. As a result, directional movement of cells and LM intercalation become successive phases of collective cell movement, and the entire morphogenesis of DBL is the direct consequence of epiboly deceleration occurring upon gastric invagination.

Keywords: morphogenesis, *Xenopus* gastrulation, dorsal blastopore lip, carbon marks, outer-surface movement geometry