

## Генетический контроль раннего эмбриогенеза млекопитающих

И. Н. Вагина, С. В. Евсиков, А. П. Соломко

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины  
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

---

*Рассматриваются проблемы генетического контроля раннего развития млекопитающих. Обсуждаются современные представления о процессах доимплантационного развития и имплантации зародышей млекопитающих.*

---

Проблема реализации генетической информации в доимплантационном развитии является одной из важнейших в современной биологии. Регуляция экспрессии или выявление генных эффектов на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях представляет собой еще малоисследованную область процессов генетического контроля онтогенеза. При созревании яйцеклеток млекопитающих под контролем материнских генов (экспрессия генов ооцита) создается определенная генетическая программа развития, реализация которой происходит до, во время и после оплодотворения. Регуляция развития от момента оплодотворения до включения собственного генома зародыша осуществляется целиком и полностью факторами цитоплазмы зиготы, основную часть которой составляет цитоплазма яйцеклетки. Вместе с тем для раннего развития млекопитающих характерно двойное генетическое обеспечение: не только генопродуктами, которые накопились в онтогенезе, но и генопродуктами, возникшими в результате транскрипции и трансляции генов зародыша. Собственный геном зародыша мышей начинает работать на очень ранних стадиях развития, причем уже в двухклеточном зародыше появляются генопродукты, синтез которых кодируется родительскими аллелями [1—3]. С середины двухклеточной стадии начинают разрушаться материнские мРНК, но продукты их трансляции сохраняются в бластомерах на протяжении следующих делений дробления, неко-

торые из этих белков обнаруживаются не только на стадии бластоцисты [4, 5], но и на более поздних сроках эмбриогенеза мышей [3, 6, 7]. Таким образом, материнская генетическая информация может обеспечивать какие-то потребности зародышевых клеток и в конце дробления. Однако раннее проявление транскрипционной активности хромосом не может служить однозначным доказательством того, что развитие контролируется именно генами, экспрессирующимися на ранних стадиях развития.

Морфогенез, то есть возникновение сложной надклеточной организации, является генетически детерминированным, сложным и многоэтапным процессом. Вопрос о механизмах реализации наследственной информации, находящейся в ДНК хромосом в необходимом объеме, в соответствующем месте и в необходимый момент развития, составляет главную проблему морфогенеза и наиболее интересное и сложное явление онтогенеза. Периоду развития млекопитающих между оплодотворением и прикреплением к слизистой оболочке матки в последние годы уделялось много внимания, с одной стороны, из-за относительной доступности преимплантационных зародышей для экспериментирования и, с другой, — благодаря их значению в качестве модели клеточного морфогенеза и дифференцировки [8].

Зародыши плацентарных млекопитающих проходят через три морфогенетических периода, приводящих к имплантации. Первый известен как компактизация, поскольку его наиболее очевидная особенность — это сплющивание бластомеров до тех пор, пока индивидуальные клеточные границы

становятся неразличимыми. У мыши этот процесс происходит на восьмиклеточной стадии и нуждается в  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимом гликопротеине межклеточной адгезии E-кадherine. Сплучивание клеток сопровождается поляризацией бластомеров (у каждого бластомера появляются апикальная, базолатеральная плазматические мембраны и цитокортикальные области) и сборкой специализированных межклеточных соединений, включающих щели и плотные соединения. Вторая морфогенетическая стадия (кавитация) — это процесс, при котором между бластомерами накапливается жидкость, образующая полость бластоцеля. Кавитация требует затрат энергии и зависит от сложного механизма активного переноса ионов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТРаза). На стадии бластоцисты возникают две клеточные популяции: трофэктодерма (ТЭ), которая нужна для имплантации, и внутренняя клеточная масса (ВКМ), необходимая для развития зародыша и индукции в ТЭ процессов, без которых невозможны полноценная имплантация и плацентация. Чтобы сформировалась бластоцель, нужна не только выработка жидкости бластомерами, но и создание такой стенки (ТЭ), которая удерживала бы жидкость в бластоцеле. Это происходит благодаря формированию плотных контактов между клетками ТЭ. Затем увеличивается полость бластоцеля, облегчая выплывание бластоцисты из *zona pellucida* (толстого матрикса, окружающего яйцеклетку и зародыш), что позволяет вступить в прямой контакт с маткой.

Для генетического программирования процессов, следующих за оплодотворением, происходит накопление в растущем ооците генных транскриптов, которые затем будут использованы для инициации эмбриогенеза [9]. У всех зародышей набор материнских генопродуктов заменяется продуктами эмбриональной транскрипции (оогенетически-эмбриональный переход). У млекопитающих этот период начинается с овуляции по мере снижения количества оогенетической мРНК и, в основном, заканчивается к тому времени, когда на ранних стадиях дробления происходит эмбриональная транскрипция [10]. Важным следствием этого является зависимость всех фаз морфогенеза до имплантации от экспрессии эмбриональных генов. Об этом свидетельствует наличие летальных мутаций, отражающихся на доимплантационном развитии [11], и чувствительность трех основных морфологических стадий к факторам, нарушающим транскрипцию или белковый синтез [12—14]. Тем не менее, оогенетические генные продукты, скорее всего, играют важную роль в доимплантационном развитии, поскольку на мышах получены данные о сохранении некоторых оогенетических мРНК и

белков до оогенетически-эмбрионального перехода [15—18].

В последнее время собрано много информации о временном характере накопления транскриптов известных генов во время доимплантационного развития мыши, которая дает довольно точное представление о генетической программе, лежащей в основе морфогенеза и дифференцировки [19—21]. Считается, что транскрипт накапливается (указывая на транскрипцию эмбрионального генома), когда увеличивается его количество из расчета на зародыш между временными точками. Из этих данных следуют два фундаментальных вывода. Во-первых, в большинстве случаев, когда исследовали уровень транскриптов на дву- и четырехклеточной стадиях, накопление мРНК уже произошло. Большинство из известных изученных к этому времени генов начинают транскрипцию на четырехклеточной стадии. Второй вывод состоит в том, что после активации ген продолжает транскрибироваться, по меньшей мере, до стадии бластоцисты, что приводит к непрерывному накоплению мРНК. Таким образом, характер генной транскрипции, установившийся к поздней двухклеточной стадии, в основном, сохраняется до бластоцисты, с некоторыми дополнениями. Еще не обнаружено ни одной мРНК, которая, появившись, исчезала бы на более поздней стадии доимплантационного развития. Этот факт, возможно, объясняет постоянство характера полипептидного синтеза, начиная с поздней двухклеточной стадии [22, 23].

О чем свидетельствует такой анализ программирования отдельных морфогенетических стадий? Необходимо принимать во внимание известную чувствительность компактизации, кавитации и стадии увеличения бластоцеля к ингибиторам транскрипции (в частности к  $\alpha$ -аманитину). Относительно компактизации, то необходимые транскрипционные процессы завершаются (или достаточное количество мРНК накапливается) к середине четырехклеточной стадии и, начиная с этого момента, зародыши могут подвергаться компактизации, несмотря на присутствие  $\alpha$ -аманитина [12, 13, 24]. После того как бластоцель сформировалась, развитие становится в меньшей мере зависимым от транскрипции, так что максимальное развитие и выход из *zona pellucida* могут происходить в бластоцистах, обработанных  $\alpha$ -аманитином, по меньшей мере через 14 ч [12]. Гипотеза, предложенная Киддером [25], состоит в том, что генетическая программа относительно компактизации устанавливается у мышей во время активации на двухклеточной стадии, а начало компактизации должно определяться более поздними постреприпцион-

ными процессами. С другой стороны, генетическая программа кавитации должна включать один или несколько генов, транскрипты которых начинают накапливаться на более поздней стадии развития, чем можно объяснить ее большую чувствительность к  $\alpha$ -аманитину. Кандидатами на роль таких генов являются гены одного из ключевых ферментов при образовании бластоцеля — Na, K-АТФазы [25—28]. Этот трансмембранный белок состоит из двух субъединиц:  $\alpha$  (каталитической) и  $\beta$  (регуляторной) и его появление на стадии поздней морулы свидетельствует о начале формирования бластоцисты. Накопление мРНК  $\alpha$ -субъединицы начинается уже на двухклеточной стадии, а к восьмиклеточной — ее уровень достигает 70 % от уровня на стадии бластоцисты. Антитела, обладающие специфичностью к  $\alpha$ -субъединице, проявляют ее лишь в поздней моруле. Однако было показано, что трансляция мРНК идет постоянно, таким образом, или этот полипептид синтезируется не в полной мере, или же его процессинг происходит на посттрансляционном уровне.

Другая картина наблюдается в случае  $\beta$ -субъединицы АТФазы, хотя транскрипция идет на протяжении всего доимплантационного развития. Резкое увеличение синтеза ее мРНК происходит на стадии морулы. Вероятнее всего, накопление  $\beta$ -субъединиц является толчком к увеличению синтеза  $\alpha$ -субъединиц АТФазы, что в свою очередь ведет к накоплению этого фермента на апикальных мембранах бластомеров и к началу образования полости бластоцеля [29, 30]. В том случае, если эта гипотеза Киддера найдет подтверждение, появится яркий пример того, как активация одного гена приводит к запуску очередного морфогенетического процесса в онтогенезе.

Таким образом, транскрипция большинства генов во время доимплантационного развития не связана во времени с морфогенетическими стадиями, которые они проходят. Большинство генов мыши, мРНК которых присутствуют в бластоцисте, транскрибировались уже на четырехклеточной стадии. Посттранскрипционные регуляторные механизмы, скорее всего, играют ведущую роль в определении процессов морфогенеза. Однако для раскрытия механизмов генетического контроля таких сложных биологических явлений, как деление клеток, их дифференцирование и в особенности морфогенез, необходимы еще дополнительные исследования по выяснению многих аспектов действия и взаимодействия генов в процессе доимплантационного развития млекопитающих.

Как уже отмечалось, зародыши млекопитающих после прохождения стадий компактизации,

кавитации и денудации готовы к имплантации. Как только бластоциста выходит из блестящей оболочки, она попадает в полость кринты матки и начинается процесс имплантации, вызывающий физические и биохимические изменения прилегающих друг к другу клеточных поверхностей трофобласта и эпителия матки. Успех имплантации зависит от соответствия стадии развития самого эмбриона и эндометрия матки. Развитие восприимчивого состояния матки происходит под влиянием гормонов яичников [31]. Эстроген и прогестерон подготавливают матку к имплантации, и у грызунов вторичное повышение уровня эстрогена, секретлируемого яичниками, является триггером, индуцирующим имплантацию [32]. Эстроген запускает несколько процессов, позволяющих начать имплантацию. Он действует на эпителий матки, побуждая ее секретировать цитокины, такие как эпидермальный фактор роста (EGF) [33] и фактор ингибирования лейкемии (LIF) [34—36]. Четыре представителя семейства EGF: трансформирующий фактор роста (TGF- $\alpha$ ), гепаринсвязывающий фактор (HB-EGF) и амплирегулин образуются в матке в предимплантационный период. TGF- $\alpha$  синтезируется в больших количествах в тканях матки, но у мышей имплантация может происходить и в отсутствие функционального TGF- $\alpha$ -гена [37].

Характер экспрессии HB-EGF-гена особенно интересен. При нормальной беременности ген, кодирующий этот белок, экспрессируется только в эпителии просвета матки в месте расположения бластоцисты за 7 ч до ее прикрепления [33, 38]. При задержанной имплантации он не экспрессируется, но быстро индуцируется после инъекции эстрогена. У мышей EGF рецепторы (EGF-R) экспрессируются в трофобласте и способствуют росту трофобласта и развитию бластоцеля [39]. Несмотря на это, мутация гена, кодирующего EGF-R, не блокирует формирования бластоцист или начальных стадий имплантации, хотя зародыши вскоре после этого прекращают развитие. LIF, по-видимому, играет важную роль в запуске процессов, необходимых для начала имплантации. Нормальные зародыши не могут имплантироваться в матку мыши при нулевой мутации в LIF-гене [35], но действует LIF на бластоцисту или же имеет паракринный эффект — неизвестно.

Имплантация зависит не только от процессов, происходящих в материнском организме и открывающих «окно» для имплантации, но и от вторичных процессов, которые запускаются самой бластоцистой. Так, интерлейкин-1/ $\beta$  (IL-1/ $\beta$ ) продуцируется мышинными трофобластами, начиная со стадии бластоцисты [40], а рецепторы IL-1 типа 1

экспрессируются на трофобластах, эпителии матки и строме эндометрия. Обработка мышей антагонистом IL-1 (IL-1ra) препятствует имплантации. Блaстоцисты у этих мышей не прикрепляются и не индуцируют реакции отторжения, оставаясь при этом в свободном состоянии в матке. Однако IL-1ra не влияет на прикрепление бластоцист и рост трофобласта в культуре [40].

У многих видов позвоночных эмбриональное развитие останавливается перед имплантацией и потому носит название задержанной имплантации [41, 42]. У мышей и других грызунов наблюдается факультативная задержка имплантации, вызываемая лактацией. Во время диапаузы (временная остановка или задержка развития на стадии бластоцисты) метаболизм зародышей заторможен [43—45], и деление клеток останавливается в фазе G1 клеточного цикла [46]. Факультативная задержка имплантации имеет селективное преимущество в том, что позволяет самке быть беременной на протяжении всего сезона размножения без прерывания последовательных периодов лактации [47].

Задержку имплантации можно получить также экспериментальным путем. Овариэктомию до утра четвертого дня беременности препятствует имплантации, а овариэктомию и введение прогестерона задерживают ее [41]. После овариэктомии бластоцисты могут длительное время поддерживаться в состоянии диапаузы после еженедельного введения прогестерона [48]. Один из многих эффектов влияния прогестерона на эстроген — подготовленную доимплантационную матку — состоит в стимуляции клеток стромы эндометрия, что является необходимым условием достижения маткой чувствительности к децидуализации [49]. Считается, что секреция простагландина E2 необходима для увеличения проницаемости сосудов и децидуализации, которые предшествуют имплантации бластоцист у многих видов [50].

До последнего времени не было известно, что период задержки начинается с постепенного приближения к устойчивому состоянию, которое у мышей достигается где-то на седьмой день и позднее [41]. Интересно, что постепенное достижение покоя функционально отражается на отличиях в росте бластоцист *in vitro* при эксплантации от животных в начале задержки имплантации и в период устойчивого состояния задержки. Бластоцисты, полученные на ранней стадии задержки, растут быстрее, чем таковые, полученные на стадии устойчивого состояния задержки. Возможно, это связано с остаточным эффектом эстрогенов после овариэктомии [48]. Основная причина факультативной эмбриональной диапаузы — неспособность

самки обеспечить соответствующее состояние матки для поддержания непрерывного эмбрионального развития. Это обстоятельство было продемонстрировано трансплантацией бластоцист с задержанной имплантацией в матку соответственно подготовленных самок-реципентов [43]. Например, пересадка бластоцист мышей с задержанной имплантацией псевдобеременным самкам приводит к активированию имплантации бластоцист, в то время как пересадка активированных бластоцист в матку овариэктомированных, обработанных прогестероном самок, способствует вхождению их в состояние диапаузы. В то же время бластоцисты с задержанной имплантацией, культивированные в присутствии или в отсутствие прогестерона или эстрогена, не изменяли уровня метаболизма [51]. Эти экспериментальные данные свидетельствуют о том, что овариальные стероиды влияют на матку, а не на бластоцисты, вызывая возобновление развития и имплантацию. Показано, что бластоцисты с задержанной имплантацией быстро увеличивают свою метаболическую активность и достигают уровня метаболической активности у активированных бластоцист после нескольких часов культивирования *in vitro* [52]. Из этого следует вывод о том, что матка может оказывать ингибирующее влияние на развитие бластоцист, что приводит к их вхождению в состояние диапаузы [53]. Матка также обеспечивает достаточное количество питательных веществ для поддержания зародышей в жизнеспособном состоянии во время диапаузы, но в ее секретах отсутствуют необходимые стимулирующие факторы, инициирующие возобновление эмбрионального развития.

Модель задержки имплантации была использована для изучения влияния состояния активности бластоцист на «окна» имплантации в восприимчивой матке у мышей [54]. Задержку имплантации и развитие бластоцист вызывали овариэктомией на четвертый день беременности и продлевали ежедневными (5—7 дней) инъекциями прогестерона (P4). Активацию бластоцист и имплантацию индуцировали инъекцией эстрадиола-17В (E2). Было показано, что «окно» имплантации может быть определено как лимитированный промежуток времени, когда стадия активации бластоцисты накладывается на благоприятное состояние матки. Это «окно» остается открытым на более короткий период для бластоцист в состоянии покоя, чем для нормальных бластоцист. Более того, бластоцисты, находящиеся в состоянии покоя и достигшие метаболической активации после культивирования *in vitro*, не могли достичь одинакового состояния с бластоцистами, активированными E2 в матке для

дальнейшей имплантации. Авторы также отметили, что в матке, обработанной Р4 после инъекции Е2, генерируются факторы (на протяжении 1 ч), которые активируют бластоцисты, находящиеся в состоянии покоя, к имплантации. Идентификация таких факторов требует дальнейших исследований.

При изучении экспрессии гена рецептора эпидермального фактора роста (EGF-R) в бластоцистах мышей также была использована модель задержки имплантации [54, 55]. Выявлено 8—10-кратное снижение количества копий мРНК фактора на клетку в бластоцистах в состоянии покоя. В то же время в активированных бластоцистах через 8 ч после инъекции Е2 обнаружено увеличение количества мРНК фактора роста в 8 раз по сравнению с контролем. Гибридизация *in situ* обнаружила EGF-R мРНК у большинства из четырехдневных нормальных бластоцист, но она не была найдена в бластоцистах, находящихся в состоянии покоя. Эти опыты демонстрируют, что экспрессия гена фактора роста в бластоцистах мыши регулируется материнским гормональным статусом.

Еще один аспект использования экспериментально индуцированной задержки имплантации — это изучение экспрессии специфических антигенов клеточной поверхности у зародышей мышей на доимплантационной стадии развития [56]. Зародыши были взяты в разные периоды доимплантационной фазы нормальной беременности и от беременных самок после овариэктомии на четвертый день беременности с последующей инъекцией прогестерона. Затем их зондировали моноклональными антителами против антигенов мышинных лейкоцитов. Установлено, что антитела против определенных гликопротеинов поверхности макрофагов (Масс-2 и Масс-3) и против гликопротеинов мембран, связанных с лизосомами (LAMP-1, LAMP-2), реагировали специфично с детерминантами клеточной поверхности зародышей. Отличия в пространственно-временном характере связывания антител во время нормальной и задержанной имплантации указывают на то, что экспрессия антигенных детерминант, которые распознаются этими антителами, регулируется индивидуально в ответ на внутренние и внешние сигналы во время имплантации и, таким образом, они имеют важное значение для процесса имплантации зародышей, которые распознаются этими антителами, регулируются индивидуально в ответ на внутренние и внешние сигналы во время имплантации и, таким образом, они имеют важное значение для процесса имплантации зародышей.

Задержку имплантации возможно также моделировать, перенося бластоцисты в яйцеводы неполовозрелых самок мышей [57, 58]. В половом пути

неполовозрелых самок бластоцисты вылупляются из *zona pellucida*, у них увеличивается количество клеток по отношению к бластоцистам с задержанной имплантацией вследствие овариэктомии и некоторые из них могут продвигаться в матку. Отмечено, что жизнеспособность бластоцист остается на высоком уровне на протяжении 4 дней развития и снижается через 5—6 дней. Однако они могут сохраняться в репродуктивном тракте этих самок до 15 сут. При этом бластоцисты мышей, находящиеся в яйцеводах неполовозрелых самок, также постепенно входят в состояние диапаузы и могут быть реактивированы после культивирования *in vitro* или после переноса псевдобеременным самкам-реципиентам. Этот метод получения задержки имплантации позволяет точно оценить выживаемость и жизнеспособность зародышей, а также определить потребности эмбрионов в различных питательных веществах в период диапаузы. В то же время репродуктивный тракт неполовозрелых самок может быть использован для культивирования одноклеточных зародышей до стадии бластоцисты [59]. Такие зародыши были более продвинутыми в своем развитии (имели большее количество клеток) и чаще выживали в сравнении с зародышами, культивированными *in vitro*. Однако бластоцисты, развившиеся у неполовозрелых самок, имели меньшее количество клеток и пониженную выживаемость относительно бластоцист, перенесенных в матку псевдобеременных самок [58].

Впервые авторы работы [60] при получении монозиготных двоен у мышей отмечали высокую степень выживаемости половинок эмбрионов при асинхронных трансплантациях бластоцист в яйцеводы псевдобеременных самок. Однако эти результаты не получили дальнейшего подтверждения при использовании такой схемы переноса для половинок эмбрионов крыс [61]. В связи с этим необходимо дальнейшие исследования для проверки возможности использования асинхронного переноса зародышей псевдобеременным самкам как модели задержки имплантации.

Рождение мышат, развившихся из изолированных на двухклеточной стадии бластомеров, описано в нескольких работах [60, 62—64]. Показано, что любой из первых двух или четырех бластомеров, если их изолировать, имеют способность развиваться в полноценный зародыш, так как на ранних стадиях бластомеры полипотентны и зародыши имеют высокую регуляторную способность. Свойство изолированных бластомеров зародышей самых ранних стадий развития формировать бластоцисты было отмечено давно [65, 66], и именно эти работы послужили основой для гипотезы о полипотентно-

сти бластомеров и для опытов на зародышах сельскохозяйственных животных. Были получены однояйцовые двойни овец, коров, коней, коз и др. [67—69].

В экспериментах на зародышах мышей установлено, что любой из бластомеров, изолированных не только от четырех- и восьмиклеточных, но и от 16-клеточных зародышей, будучи перенесенным в бластоцисту, то есть в состав инъекционной химеры, может принять участие в развитии как тела зародыша, так и трофобластической оболочки [38]. При исследовании развития *in vitro* сестринских бластомеров, изолированных на двухклеточной стадии, отмечены существенные расхождения в темпах их дробления [63]. Таким образом, несмотря на идентичный генотип, ядра, попав в другое цитоплазматическое окружение, делятся с разной скоростью, а это в свою очередь влияет на пути дальнейшего дифференцирования бластомеров. При изучении развития изолированных бластомеров *in vitro* установлено, что полученные бластоцисты морфологически не отличались от нормы, хотя количество клеток было в 2 раза меньшим. Это свидетельствует о независимости морфогенеза от размера зародыша [70]. В то же время установлено, что половинки зародышей, полученные из одного бластомера на двухклеточной стадии, регулируют свой размер между 7,5 и 10,5 днями развития, хотя могут снова-таки отставать от контроля на 13,5 день [70]. Такие зародыши имеют пониженную жизнеспособность по сравнению с контролем [60].

В наших опытах по изучению развития разных типов бластоцист мышей в экспериментально созданных условиях задержки имплантации показано, что бластоцисты, которые развивались *in vitro* и имели на момент кавитации уменьшенное количество клеток, как правило, в условиях экспериментальной диапаузы догоняли по этому показателю зародышей, развивавшихся *in vivo*. Установлено также, что состояние покоя бластоцист достигается к тому времени, когда зародыш имеет около 120 клеток, а их ядерно-цитоплазматическое соотношение находится на уровне, характерном для соматических клеток. Основываясь на полученных данных, мы сделали вывод о том, что состояние покоя бластоцист запускается каким-то фактором, характерным для восьмого клеточного цикла и при нормальных условиях состояние покоя бластоцист обеспечивается снижением метаболической активности в то время, когда зародыши имеют около 120 клеток и ядерно-цитоплазматическое соотношение достигает уровня соматических клеток [71]. Возможно, дальнейшее изучение механизмов регуля-

ции размеров зародышей, а также использование экспериментально индуцированной диапаузы помогут выяснить некоторые вопросы, связанные с механизмами раннего развития зародышей и их имплантацией.

I. N. Vagina, S. V. Evsikov, A. P. Solomko

The genetic control of mammalian early embryogenesis

Summary

The review focuses on the problems of genetic control of mammalian early development. The modern views on the processes of pre-implantation development and implantation of rutherian embryos are discussed.

I. M. Вагіна, С. В. Євсіков, О. П. Соломко

Генетичний контроль раннього ембріогенезу ссавців

Резюме

Розглядаються проблеми генетичного контролю раннього розвитку ссавців. Обговорюються сучасні уявлення стосовно процесів доімплантаційного розвитку та імплантації зародків ссавців.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Johnson M. H. The molecular and cellular basis of preimplantation mouse development // Biol. Rev.—1981.—56.—P. 463—498.
2. Magnuson T. Genetic abnormalities and early mammalian development // Development in Mammals / Ed. M. H. Johnson.—Amsterdam, 1983.—Vol. 5.—P. 209—210.
3. Magnuson T., Epstein C. Genetic control of very early mammalian development // Biol. Rev.—1981.—56.—P. 369—408.
4. Pratt H. P., Bolton V. N., Gudgeon K. A. The legacy from the oocyte and its role in controlling early development of the mouse embryo // Ciba Found. Symp., London.—1983.—98.—P. 197—227.
5. West J. D., Green J. F. The transition from oocyte coded to embryo-coded glucose phosphate isomerase in the early mouse embryo // J. Embryol. and Exp. Morphol.—1983.—78.—P. 127—140.
6. McLaren A. Analysis of maternal effects on development in mammals // J. Reprod. Fertil.—1981.—62, N 2.—P. 591—596.
7. McLaren A. The embryo // Reproduction in Mammals.—Cambridge, 1982.—Vol. 2.—P. 1—25.
8. Wiley L. M., Kidder G. M., Watson A. J. Cell polarity and development of the first epithelium // BioEssays.—1990.—12.—P. 67—73.
9. Schultz G. A. Utilization of genetic information in the pre-implantation mouse embryo // Experimental approaches to mammalian embryonic development / Eds J. Rossant., R. A. Pedersen.—Cambridge, 1986.—P. 239—265.
10. Telford N. A., Watson A. J., Schultz G. A. Transition from maternal to embryonic control in early mammalian development: A comparison of several species // Mol. Reprod. Develop.—1990.—26.—P. 90—100.
11. Magnuson T. Mutations and chromosomal abnormalities: How are they useful for studying genetic control of early mammalian development? // Experimental approaches to mammalian emb-

- ryonic development / Eds J. Rossant, R. A. Pedersen.— Cambridge, 1986.—P. 437—474.
12. Kidder G. M., McLachlin J. R. Timing of transcription and protein synthesis underlying morphogenesis in preimplantation mouse embryos // *Develop. Biol.*—1985.—112.—P. 265—275.
  13. Levy J. B., Johnson M. H., Goodall H., Maro B. The timing of compaction: control of major developmental transition in mouse early embryogenesis // *J. Embryol. and Exp. Morphol.*—1986.—95.—P. 213—237.
  14. Seshagiri P. B., McKenzie D. I., Bavister B. D. Golden hamster embryonic genome activation occurs at the two-cell stage: Correlation with major developmental stages // *Mol. Reprod. Develop.*—1992.—32.—P. 229—235.
  15. Taylor K. D., Ptko L. Expression of ribosomal protein genes in mouse oocytes and early embryos // *Mol. Reprod. Develop.*—1992.—31.—P. 182—188.
  16. Barron D. J., Valdimarsson G., Paul D. L., Kidder G. M. Connexin 32, a gap junction protein, is a persistent oogenetic product through preimplantation development of the mouse // *Develop. Genet.*—1989.—10.—P. 318—323.
  17. Brenner C. A., Adler R. R., Rappolee D. A. Genes for extracellular matrix-degrading metalloproteinases and their inhibitor, TIMP, are expressed during early mammalian development // *Genes and Develop.*—1989.—3.—P. 848—859.
  18. West J. D., Flockhart J. H. Genetic differences in glucose phosphate isomerase activity among mouse embryos // *Development.*—1989.—107.—P. 465—472.
  19. Wiekowski M., Miranda M., DePamphillis M. L. Regulation of gene expression in preimplantation mouse embryos: effects of the zygotic clock and the first mitosis on promoter and enhancer activities // *Develop. Biol.*—1991.—147.—P. 403—414.
  20. Yasuda G. K., Schubiger G. Temporal regulation in the early embryo: is MBT too good to be true? // *Trends Genet.*—1992.—8.—P. 124—127.
  21. Valdimarsson G., Kidder G. M. Temporal control of gap junction assembly in preimplantation mouse embryos // *J. Cell Sci.*—1995.—108.—P. 1715—1722.
  22. Latham K. E., Garrels J. I., Chang C., Solter D. Quantitative analysis of protein synthesis in mouse embryos. I. Extensive reprogramming at the one- and two-cell stages // *Development.*—1991.—112.—P. 921—932.
  23. Levinson J., Goodfellow P., Vadeboncoeur M., McDevitt H. Identification of stage-specific polypeptides synthesized during murine preimplantation development // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1978.—75.—P. 3332—3336.
  24. McLachlin J. R., Kidder G. M. Intercellular junctional coupling in preimplantation mouse embryos: Effect of blocking transcription or translation // *Develop. Biol.*—1986.—117.—P. 146—155.
  25. Kidder G. M. The genetic program for preimplantation development // *Develop. Genet.*—1992.—13.—P. 319—325.
  26. Watson A. J., Damsky C. H., Kidder G. M. Differentiation of an epithelium: Factors affecting the polarized distribution of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in mouse trophectoderm // *Develop. Biol.*—1990.—141.—P. 104—114.
  27. Watson A. J., Pape C., Emanuel J. R. Expression of Na, K-ATPase subunit genes during preimplantation development of the mouse // *Develop. Genet.*—1990.—11.—P. 41—48.
  28. Mac Phee D. J., Barr K. J., De Sousa P. A. Regulation of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase subunit gene expression during mouse preimplantation development // *Develop. Biol.*—1994.—162.—P. 259—266.
  29. Jones D. H., Davies T. C., Kidder G. M. Embryonic expression of the putative subunit of the sodium pump is required for acquisition of fluid transport capacity during mouse blastocyst development // *J. Cell Biol.*—1997.—139.—P. 1545—1552.
  30. Mac Phee D. G., Jones D. H., Barr K. J., Betts D. H., Kidder G. M. Differential involvement of Na(+), K(+)-ATPase isozymes in preimplantation development of the mouse // *Develop. Biol.*—2000.—222, N 2.—P. 486—498.
  31. Paria B. C., Huet-Hudson Y. M., Dey S. K. Blastocyst's state of activity determines the window of implantation in the receptive mouse uterus // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90.—P. 10159—10162.
  32. Tan J., Paria B. C., Dey S. K., Das S. K. Differential uterine expression of estrogen and progesterone receptors correlates with uterine preparation for implantation and decidualization in the mouse // *Endocrinology.*—1999.—140, N 11.—P. 5310—5321.
  33. Das S. K., Wang X. N., Paria B. C. Heparin-binding EGF like growth factor gene is induced in the mouse uterus temporally by the blastocyst solely at the site of its apposition: a possible ligand for interaction with blastocyst EGF-receptor in implantation // *Development.*—1994.—120, N 5.—P. 1071—1083.
  34. Shen M., Leder P. Leukemia inhibitory factor is expressed by the preimplantation uterus and selectively blocks primitive ectoderm formation *in vitro* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1992.—89, N 17.—P. 8240—8244.
  35. Stewart C. L., Kaspar P., Brunet I. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor // *Nature.*—1992.—359.—P. 76—79.
  36. Auernhammer C. J., Melmed S. Leukemia-inhibitory factor — neuroimmune modulator of endocrine function // *Endocrine Revs.*—2000.—21, N 3.—P. 313—345.
  37. Luetjcke N. C., Qiu T. H., Peiffer R. L. TGF $\alpha$  deficiency results in hair follicle and eye abnormalities in targeted and waved-1 mice // *Cell.*—1993.—73.—P. 263—278.
  38. Paria B. C., Elenius K., Klagsbrun, Dey S. K. Heparin-binding EGF-like growth factor interacts with mouse blastocysts independently of ErbB1: a possible role for heparan sulfate proteoglycans and ErbB4 in blastocyst implantation // *Development.*—1999.—126, N 9.—P. 1997—2005.
  39. Dardik A., Schultz R. M. Blastocoel expansion in the preimplantation mouse embryo: stimulatory effect of TGF- $\alpha$  and EGF // *Development.*—1991.—113.—P. 919—930.
  40. Cross J. C., Werb Z., Fisher S. J. Implantation and the placenta: Key pieces of the development puzzle // *Science.*—1994.—266.—P. 1508—1518.
  41. Mead R. A. Embryonic diapause in vertebrates // *J. Exp. Zool.*—1993.—266.—P. 629—641.
  42. Renfree M. B., Shaw G. Diapause // *Annu. Rev. Physiol.*—2000.—62.—P. 353—375.
  43. Weitlauf H. M. Metabolic changes in the blastocysts of rats and mice during delayed implantation // *J. Reprod. Fertil.*—1974.—39.—P. 213—224.
  44. Weitlauf H. M. Changes in the rate of transcription with reactivation of delayed implanting mouse embryos // *J. Exp. Zool.*—1985.—236.—P. 309—312.
  45. Kaye P. L. Preimplantation growth factor physiology // *Rev. Reprod.*—1997.—2.—P. 121—127.
  46. Sherman M. I., Barlow P. W. Deoxyribonucleic acid content in delayed mouse blastocysts // *J. Reprod. Fertil.*—1972.—29.—P. 123—126.
  47. Vogel P. Occurrence and interpretation of delayed implantation in insectivores // *J. Reprod. Fertil.*—1981.—29, Suppl.—P. 51—60.
  48. Humbatsoomian E., Torpin J.L., Moreau J.F., Freydmann R., Chaouat G. *In vivo* administration of progesterone inhibits the secretion of endometrial leukaemia inhibitory factor *in vivo* // *Mol. Hum. Reprod.*—1998.—4.—P. 1039—1044.

49. Rider V. A., McRae A., Heap R. B., Feinstein A. Passive immunization against progesterone inhibits endometrial sensitization in pseudopregnant mice and has antifertility effects in pregnant mice which are reversible by steroid treatment // *J. Endocrinol.*—1985.—104.—P. 153—158.
50. Kennedy T. J. Prostaglandins and the endometrial vascular permeability changes preceding blastocyst implantation and decidualization // *Progr. Reprod. Biol.*—1980.—7.—P. 234—243.
51. Warner C. M., Tollefson A. The effect of estradiol on RNA synthesis in preimplantation mouse embryos cultured *in vitro* // *Biol. Reprod.*—1977.—16.—P. 627—632.
52. Weitlauf H. M., Kiessling A. Activation of «delayed implanting» mouse embryos *in vitro* // *J. Reprod. Fertil.*—1981.—29, Suppl.—P. 191—202.
53. Bitton-Casimiri V., Brun J. L., Psychoyos A. Uptake and incorporation of [<sup>3</sup>H] uridine by normal or diapausing rat blastocysts after various periods of culture // *J. Reprod. Fertil.*—1976.—46.—P. 447—448.
54. Paria B. C., Das S. K., Andrews K., Dey S. K. Expression of the epidermal growth factor receptor gene is regulated in mouse blastocysts during delayed implantation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90.—P. 55—59.
55. Stewart C. L., Cullinan E. B. Preimplantation development of the mammalian embryo and its regulation by growth factors // *Develop. Genet.*—1997.—21.—P. 91—101.
56. Weitlauf H. M., Knisley K. A. Changes in surface antigens on preimplantation mouse embryos // *Biol. Reprod.*—1992.—46.—P. 811—816.
57. Papaioannou V. E. Diapause of mouse blastocysts transferred to oviducts of immature mice // *J. Reprod. Fertil.*—1986.—76.—P. 105—113.
58. Papaioannou V. E., Ebert K. M. Development of fertilized embryos transferred to oviducts of immature mice // *J. Reprod. Fertil.*—1986.—76.—P. 603—608.
59. Ebert K. M., Papaioannou V. E. *In vivo* culture of embryos in the immature mouse oviduct // *Theriogenology.*—1989.—31.—P. 299—308.
60. Tsunoda Y., McLaren A. Effect of various procedures on the viability of mouse embryos containing half the normal number of blastomeres // *J. Reprod. Fertil.*—1983.—69.—P. 315—322.
61. Matsumoto K., Miyake M., Utsami K., Iritani A. Production of identical twins by separating two-cell rat embryos // *Gamete Res.*—1989.—22, N 3.—P. 257—263.
62. Hoppe P. C., Whitten W. K. Does X chromosome inactivation occur during mitosis of first cleavage? // *Nature.*—1972.—239.—P. 520—521.
63. Дыбан А. П., Секирина Т. Г. Изучение доимплантационного развития однопяцевых близнецов. Опыты на зародышах мышей // *Онтогенез.*—1981.—12, № 3.—С. 130—139.
64. O'Brien M. J., Critser E. S., First N. L. Developmental potential of isolated blastomeres from early murine embryos // *Theriogenology.*—1984.—22, N 5.—P. 601—607.
65. Tarkowski A. K., Wroblewska J. Development of blastomeres of mouse eggs isolated at the 4 and 8-cell stage // *J. Embryol. and Exp. Morphol.*—1967.—18.—P. 155—180.
66. Fiser P. S., MacPherson J. W. Development of embryonic structures from isolated mouse blastomeres // *Can. J. Anim. Sci.*—1976.—56.—P. 33—36.
67. Chesne P., Colas G., Cognie Y. I. Lamb production using superovulation, embryo bisection, and transfer // *Theriogenology.*—1987.—27, N 5.—P. 751—757.
68. Nagashima H., Katoh Y., Shibata K., Ogawa S. Production of normal piglets from microsurgically split morulae and blastocysts // *Theriogenology.*—1988.—29, N 2.—P. 485—495.
69. Willadsen S. M. Micromanipulation of embryos of the large domestic species // *Mammalian egg transfer* / Ed. C. E. Adams.—Florida, 1982.—P. 185—210.
70. Rands G. F. Size regulation in the mouse embryo // *J. Embryol. and Exp. Morphol.*—1986.—98.—P. 209—217.
71. Evsikov S. V., Vagina I. N., Solomko A. P. Mechanisms of cell number regulation in the peri-implantation mouse blastocyst // *J. Exp. Zool.*—1996.—276, N 3.—P. 201—208.

УДК 575.22

Надійшла до редакції 23.10.2000