

## **БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ ЖИВОТНЫХ**

Оборудование:

1. Микроскоп
2. Шестилуночный планшет – 2 шт
3. Препаровальная игла
4. Пипетка Пастера
5. Карандаши
6. Стекла с лункой
7. Листы с заданиями
8. Лист ответов

Материалы:

1. Фиксированные эмбрионы

В этом задании Вам предлагается изучить особенности эмбрионального развития хордового животного. Для этих целей используют метод визуальных наблюдений и экспериментального воздействия. В рамках практического тура в нашем кабинете Вам предлагается воспользоваться этим методом и вспомогательной информацией для описания развития имеющегося объекта.

Для того, чтобы выполнить задание, при помощи пипетки Пастера поместите зародыш на стекло с лункой в небольшом объеме жидкости и рассмотрите его под малым увеличением микроскопа. Воспользуйтесь препаровальной иглой, чтобы повернуть объект, когда будете его изучать. Избегайте высыхания объекта, так как это может привести к его деформации. После того, как закончите изучать объект, верните его в ту лунку планшета, где он находился в начале. Будьте осторожны и избегайте попадания жидкости на объектив и другие части микроскопа (за некорректное обращение с микроскопом могут быть сняты баллы).

### **I. Изучение морфологического строения развивающегося объекта. (32 балла)**

*Примерное время, затрачиваемое на выполнение задания - 25 минут.*

**Задание 1. Изучите содержимое лунок планшета 1 и ответьте на вопросы. Ответы внесите в лист ответов.**

**Задание 1.1** К какой систематической группе в типе Хордовые относятся представленные объекты? (1 балл)

**Задание 1.2** Соотнесите имеющиеся у Вас объекты с соответствующими стадиями развития (даны в избытке) (10 баллов):

- А** – оплодотворение/зигота (0 - 45 минут после оплодотворения (mpf))
- Б** – гастрюляция (240 - 490 минут после оплодотворения (mpf))
- В** – дробление (45 – 135 минут после оплодотворения (mpf))
- Г** – органогенез (24 часа после оплодотворения (hpf) и далее)
- Д** – нейруляция (490 – 660 минут после оплодотворения (mpf))
- Е** – ранняя бластула (135 - 180 минут после оплодотворения (mpf))
- Ж** – средняя бластула (180 – 220 минут после оплодотворения (mpf))
- З** – поздняя бластула (220-240 минут после оплодотворения (mpf))

## Задание 2.

**Задание 2.1.** Рассмотрите и зарисуйте зародыш, находящийся на наиболее продвинутой стадии, выберите из предложенных в таблице структур/органов те, что различимы у данного объекта, и отметьте их на сделанном Вами рисунке цифрами (1-7) (14 баллов).

1	2	3	4	5	6	7
Сердце	Глаз	Хорда	Сомиты	Слуховой пузырек	Желточный мешок	Меланоциты

**Задание 2.2.** Соотнесите отмеченные Вами на рисунке цифрами структуры/органы с источником происхождения (А-Ж) (даны в избытке) (7 баллов).

А	Б	В	Г	Д	Е	Ж
Нейроэктодерма	Покровная эктодерма	Осевая мезодерма	Промежуточная мезодерма	Боковая пластинка мезодермы	Энтодерма	Нервный гребень

## II. Исследование роли сигнальных каскадов в развитии. (18 баллов)

*Примерное время, затрачиваемое на выполнение задания - 20 минут.*

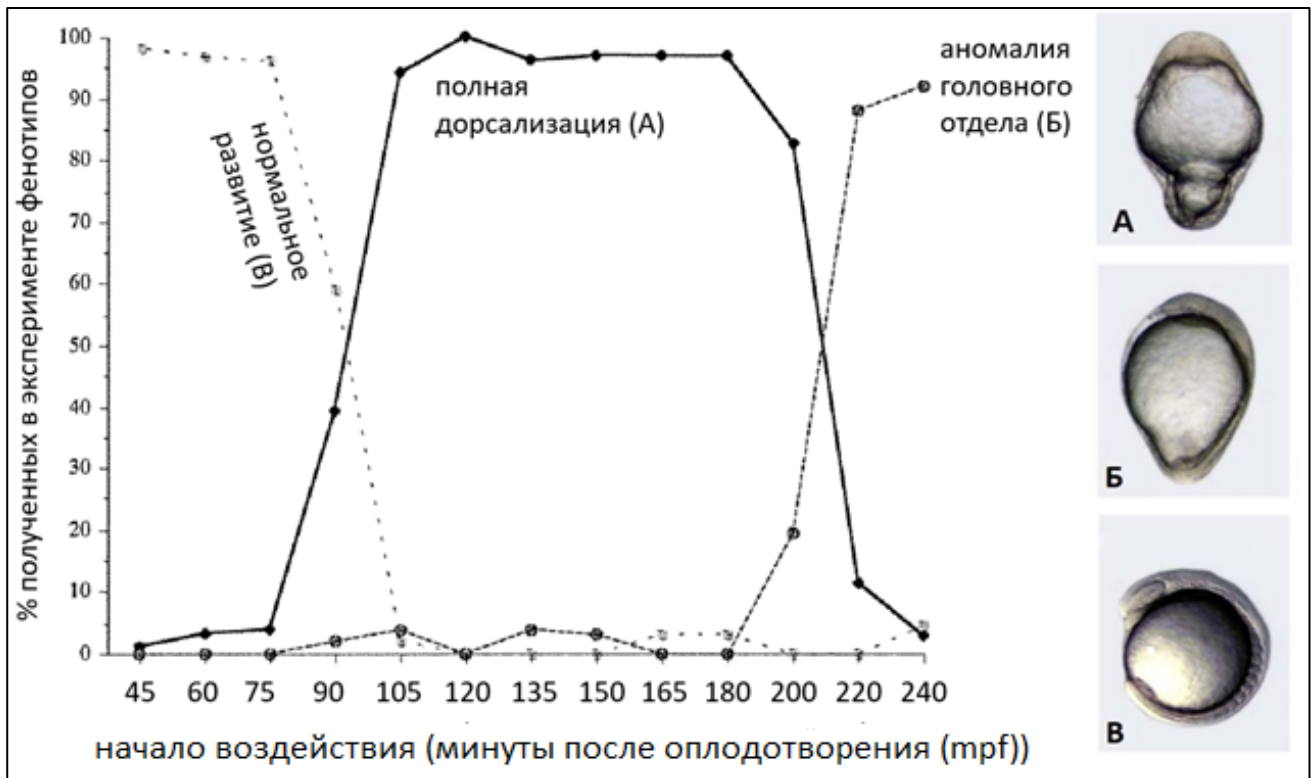
Соли лития применяются при лечении различных патологий психики, в частности биполярного расстройства. При этом основными мишенями для иона  $\text{Li}^+$  являются киназа гликогенсинтазы (GSK3) и инозитолфосфатаза (IMPase). Несмотря на то, что лечение с использованием препаратов на основе солей лития эффективно, высокие концентрации этих соединений обладают выраженной эмбриотоксичностью. Для изучения подобных нежелательных эффектов и механизма их развития часто используют зародыши Хордовых животных.

Вам предлагается поразмышлять над результатами эксперимента. В лунке 6 планшета 2 находится зародыш, который подвергли воздействию 0,3М LiCl в течение 10 минут, после чего отмыли и культивировали в чистой воде до стадии 24 часов после оплодотворения. В лунке 5 планшета 2 находится зародыш из группы контроля.

Рассмотрите эмбрионы из экспериментальной и контрольной группы и ответьте на вопросы:

**Задание 1.** На дифференцировку какого зародышевого листка оказал воздействие LiCl? (2 балла)

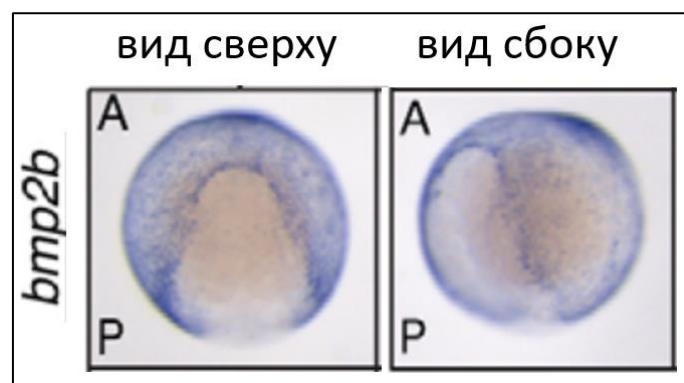
**Задание 2.** Рассмотрите диаграмму зависимости развития двух вариантов аномалий от момента начала воздействия LiCl на зародыши.



**Задание 2.1.** Какая аномалия развилась у эмбрионов из вашего эксперимента и в чем именно она проявилась? (4 балла)

**Задание 2.2.** Предположите, на какой стадии развития находились предоставленные Вам эмбрионы во время воздействия на них LiCl. (2 балла)

**3.** Известно, что в развитии зародышей важную роль играют градиенты различных молекул. В частности, при определении дорсовентральной оси зародыша ключевыми являются такие эволюционно консервативные факторы-антагонисты, как BMP и WNT, равно как и активирование или ингибирование соответствующих сигнальных каскадов. Исследователи из Института исследования рака в Лондоне изучали участие сигнального каскада BMP в формировании границ нейроэктодермы. Для этого проводили анализ эмбрионов после *in situ* гибридизации (метод мечения РНК). На иллюстрации ниже представлен паттерн экспрессии гена *bmp2b* в зародыше (синий цвет соответствует области активной экспрессии гена).



Используя имеющуюся у Вас информацию ответьте на вопросы:

**Задание 3.1.** На какой сигнальный каскад, из указанных выше, воздействует LiCl? (2 балла)

**Задание 3.2.** К активации или ингибированию этого каскада приводит воздействие LiCl? (2 балла)

**Задание 3.3.** Выберите верное(ые) утверждение(я) (6 баллов):

- 1 – Механизм развития эмбриотоксических эффектов при воздействии LiCl связан с активацией GSK3, приводящей к ингибированию сигнального каскада WNT;
- 2 – Развитие разных вариантов аномалий после начала воздействия ионов  $\text{Li}^+$  на эмбрионы объясняется тем, что на более ранних стадиях клетки всего зародыша еще обладают компетенцией к восприятию дорсализующего или вентрализирующего сигнала, в это время как на более поздних стадия судьба клеток детерминирована;
- 3 – При воздействии ионов  $\text{Li}^+$  на эмбрионы на стадии 64 бластомеров происходит нарушение соотношения BMP и WNT, приводящее к 100% возникновению дополнительных организаторов (зародышевых щитков) и дорсализации зародыша;
- 4 – При воздействии LiCl происходит расширение области экспрессии *bmp*;
- 5 – Для человека прием препаратов на основе лития на поздних сроках беременности (20 неделя и далее) не будет приводить к серьезным аномалиям развития эмбриона;