

**Рождение биологии развития.  
История догадок и ошибок**

**Юрий Борисович Шмуклер**

**Биология развития — раздел современной биологии, изучающий процессы индивидуального развития (онтогенеза) организма.**

# Онтогенез включает:

- Эмбриональное развитие — от образования зиготы или активации яйцеклетки до рождения или выхода из яйцевых оболочек;
- постэмбриональный — от выхода из яйцевых оболочек или рождения до смерти организма.

# В эмбриональном периоде выделяют:

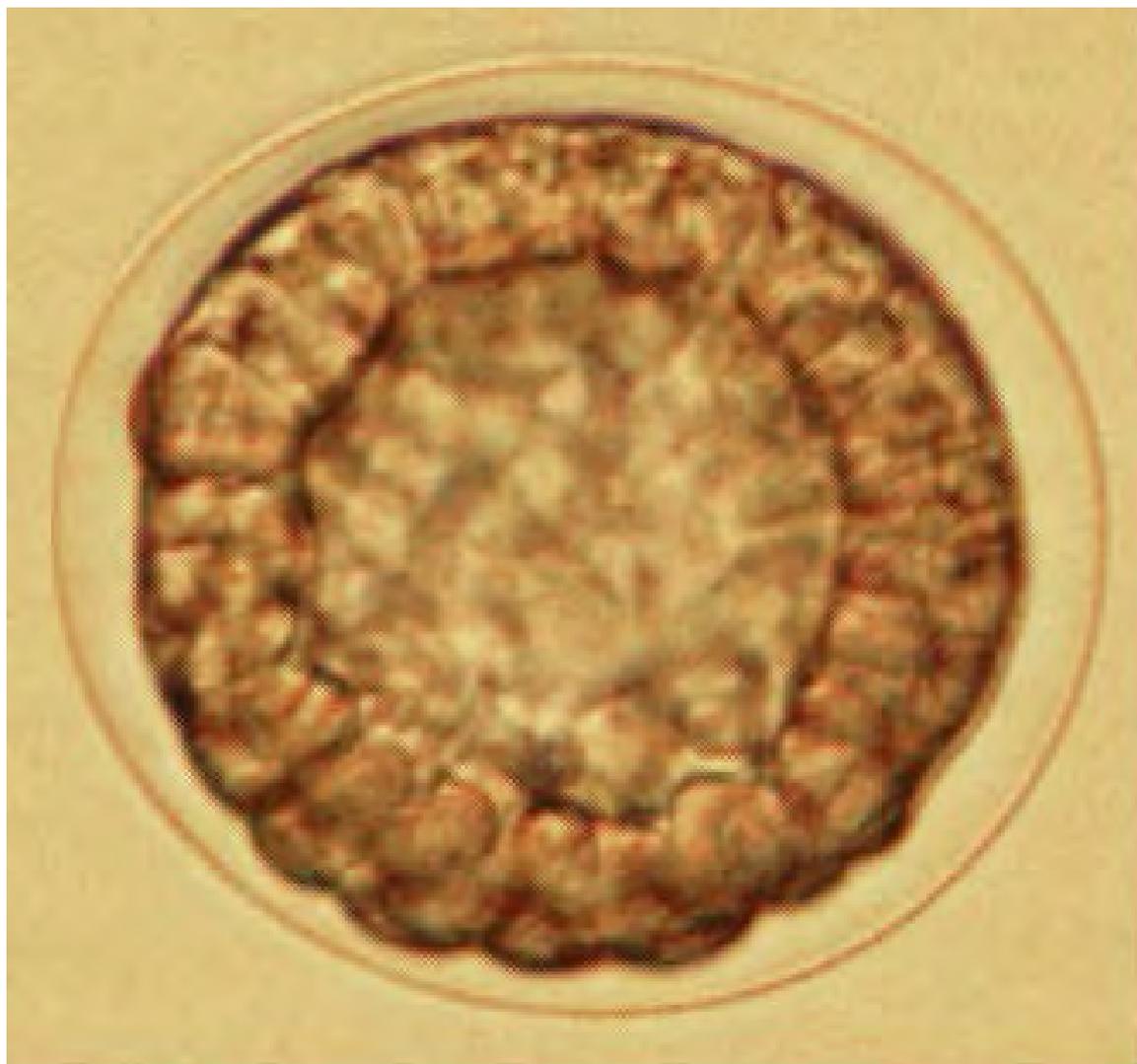
- дробление,
- гастрюляцию и
- органогенез.
- Все эти этапы сопровождаются различными формами регуляции и координации протекающих в развивающемся организме процессов, начиная с элементарных межклеточных взаимодействий
- Мы сосредоточимся на первом из этих этапов, поскольку он наиболее демонстративен, прост в понимании и исторически был исследован раньше остальных



# Антони ван Левенгук

- Создатель первых микроскопов и один из пионеров микроскопических исследований.
- Первым в 1676 году описал одноклеточные организмы
- открыл эритроциты
- описал бактерии (1683),
- зарисовал сперматозоиды (1677)
- etc

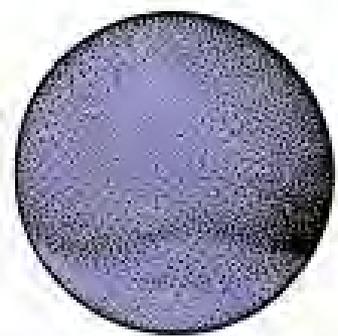
# Бластула



# Мезенхимная бластула и гастрουла

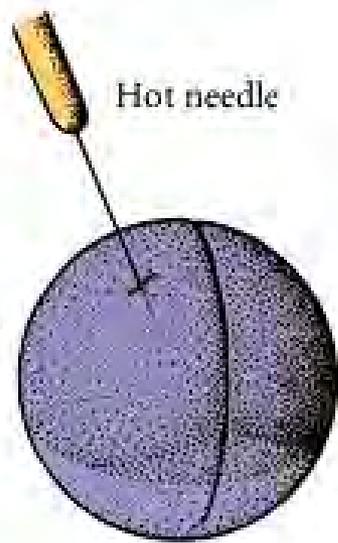


# Опыт Ру



Fertilized frog egg

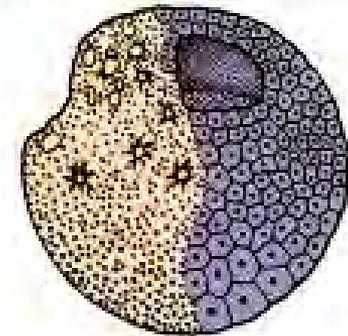
Cleavage



Hot needle

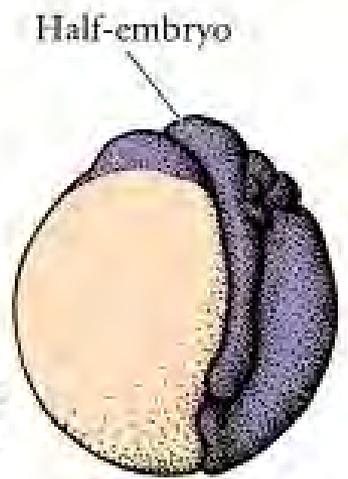
2-Cell stage

Dead tissue      Living tissue



Blastula

Destroyed half (dead tissue)

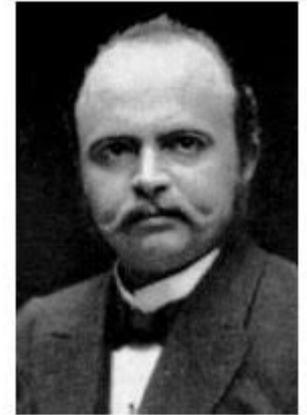


Half-embryo

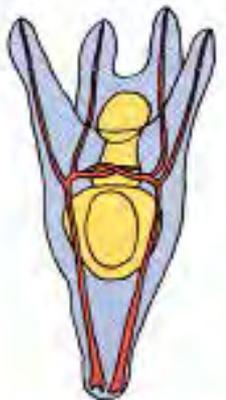
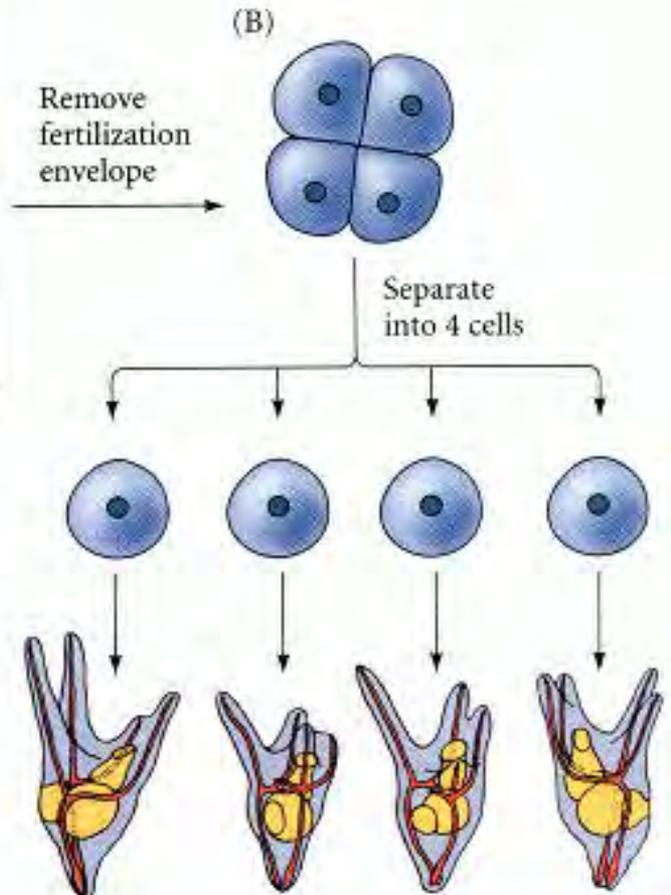
Neurula stage

Из Gilbert, 2006

# Опыт Дриша



(A) Fertilization envelope

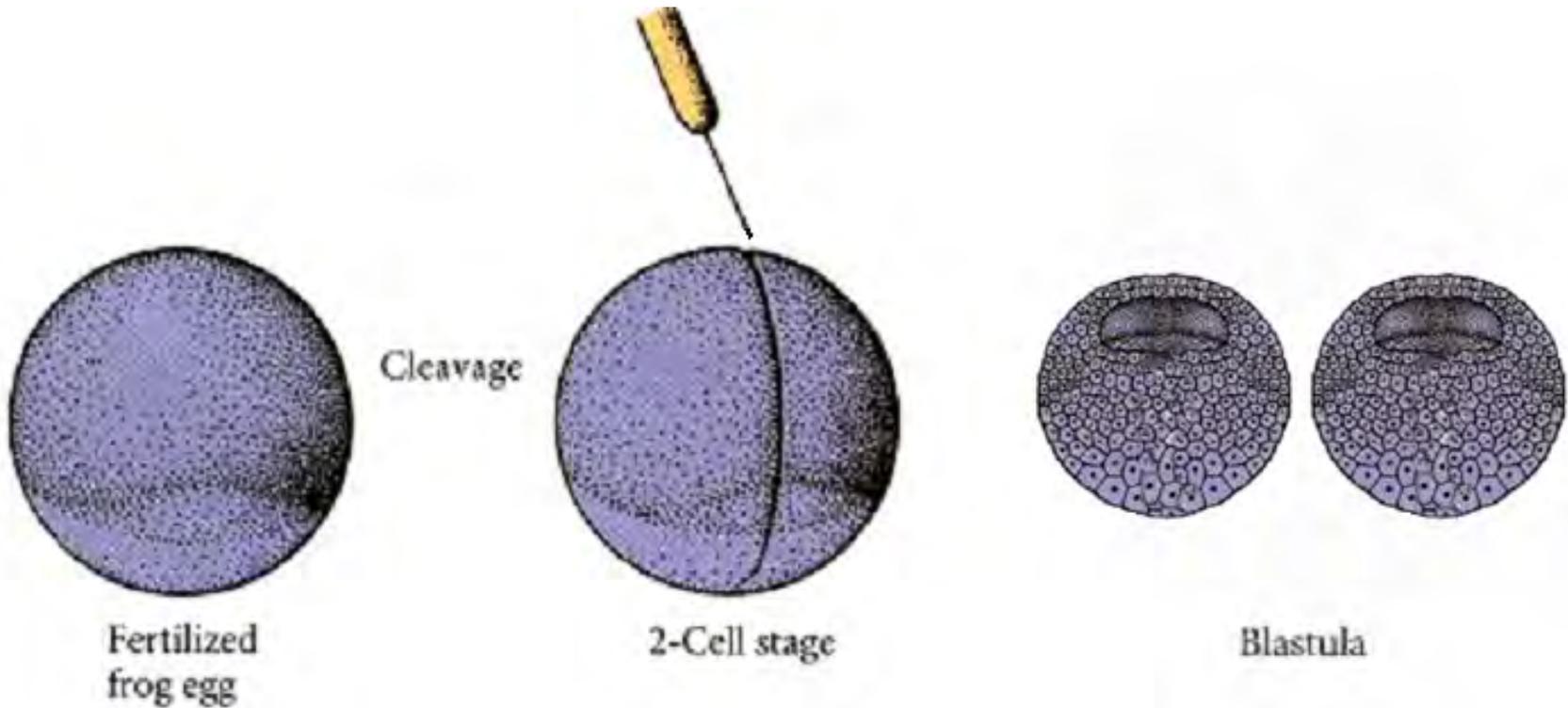


Normal pluteus larva

Plutei developed from single cells of 4-cell embryo

Из Gilbert, 2006

# Опыт МакКлендона



# Мозаичное развитие *Caenorhabditis elegans*



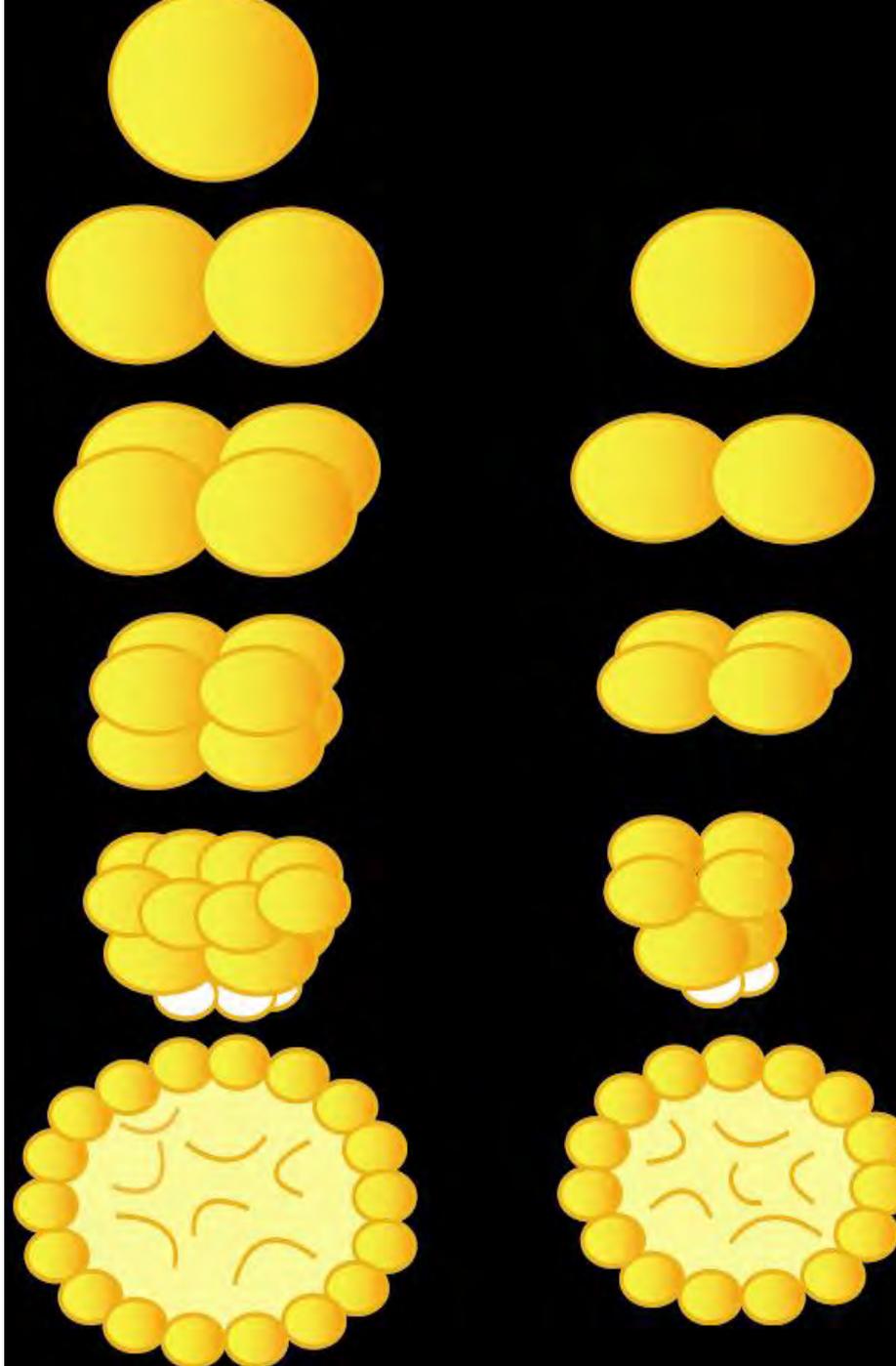
# Developmental Biology

## Gilbert, 2006.

...подобное мозаичному развитие двух первых бластомеров лягушки в исследовании Ру является артефактом некорректного эксперимента. Нечто **на или в** мертвом бластомере по-прежнему сообщает соседним клеткам, что он жив.

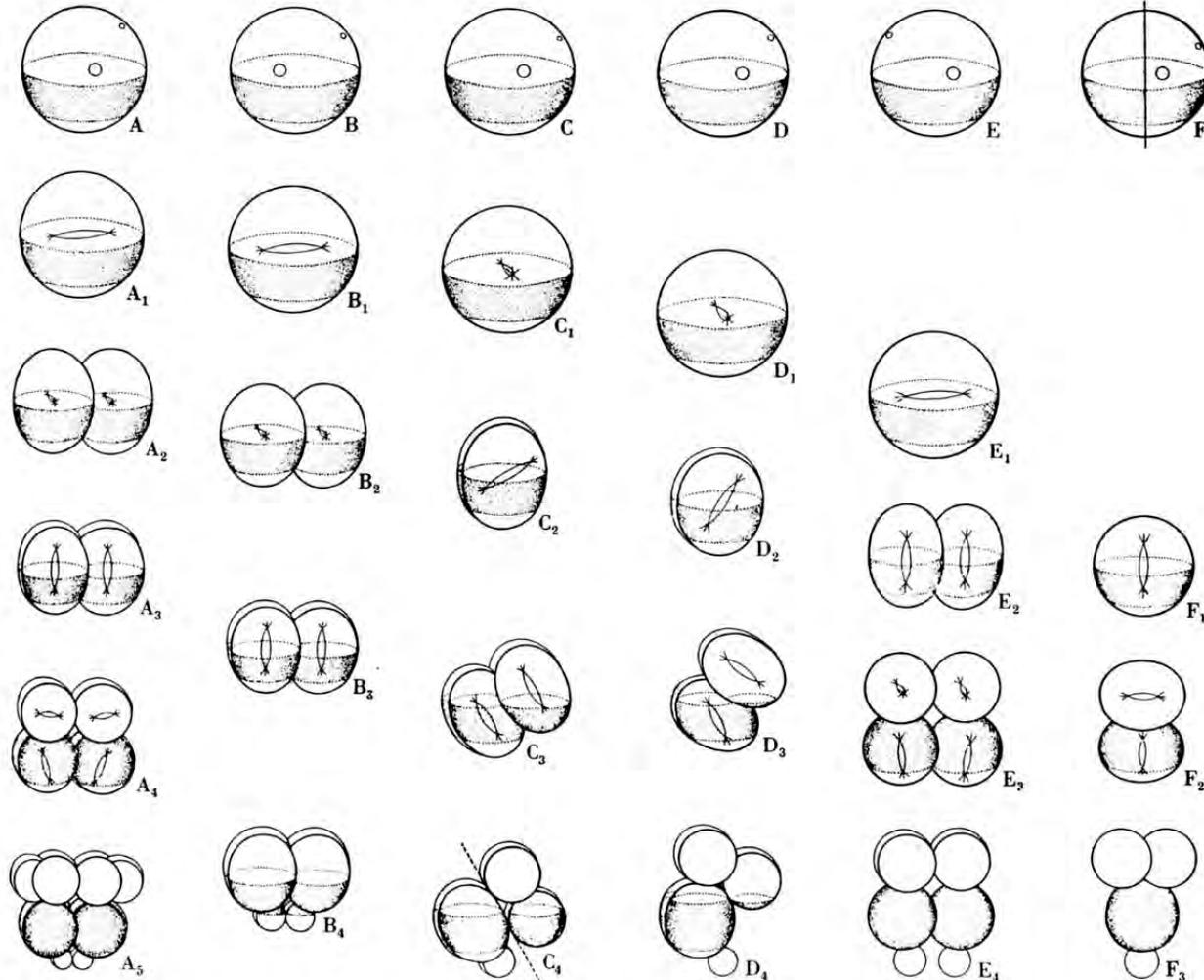
# Следствия из опыта Дриша

- А) бластомеры в ходе раннего развития морского ежа **обладают способностью формировать полноценный организм,**
- Б) в нормальном развитии такая способность последовательно **ограничивается,**
- В) напрашивающейся причиной такого ограничения является наличие сестринского бластомера, **НО...**

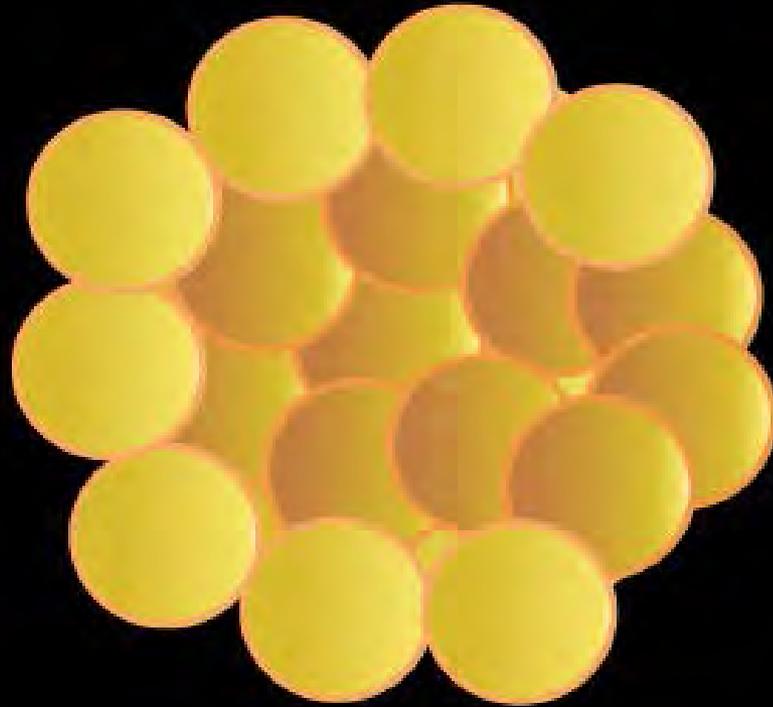


**Развитие  
половинных  
зародышей по  
Дришу**

# Микромерные часы Гёрстадиуса



# Регуляция формы бластулы у морских ежей



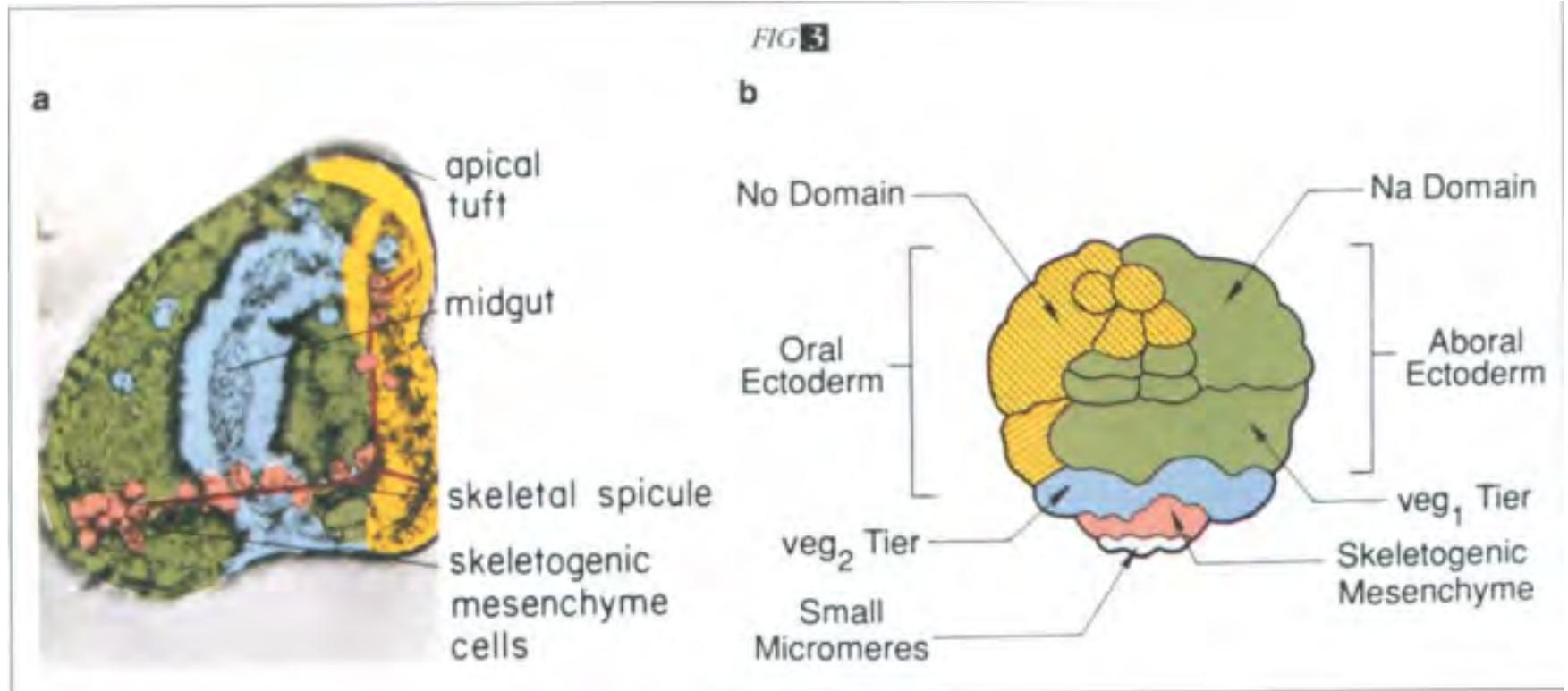
# **Между результатами опытов Дриша и Ру**

**отсутствует принципиальная  
разница, а регуляция развития  
происходит на более поздних этапах  
развития.**

**не существует.**

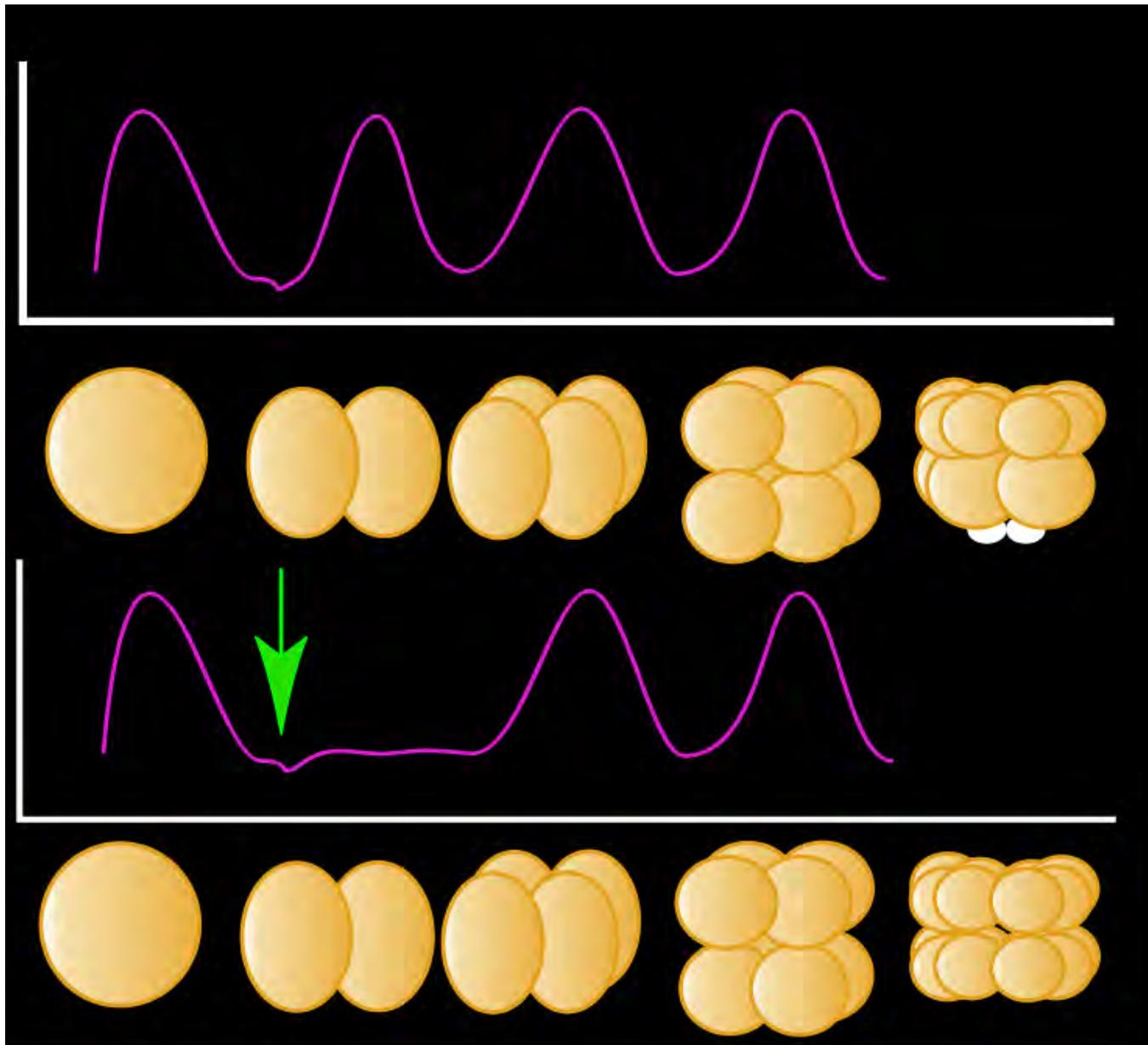
**ОДНАКО...**

# Территории зародыша морского ежа

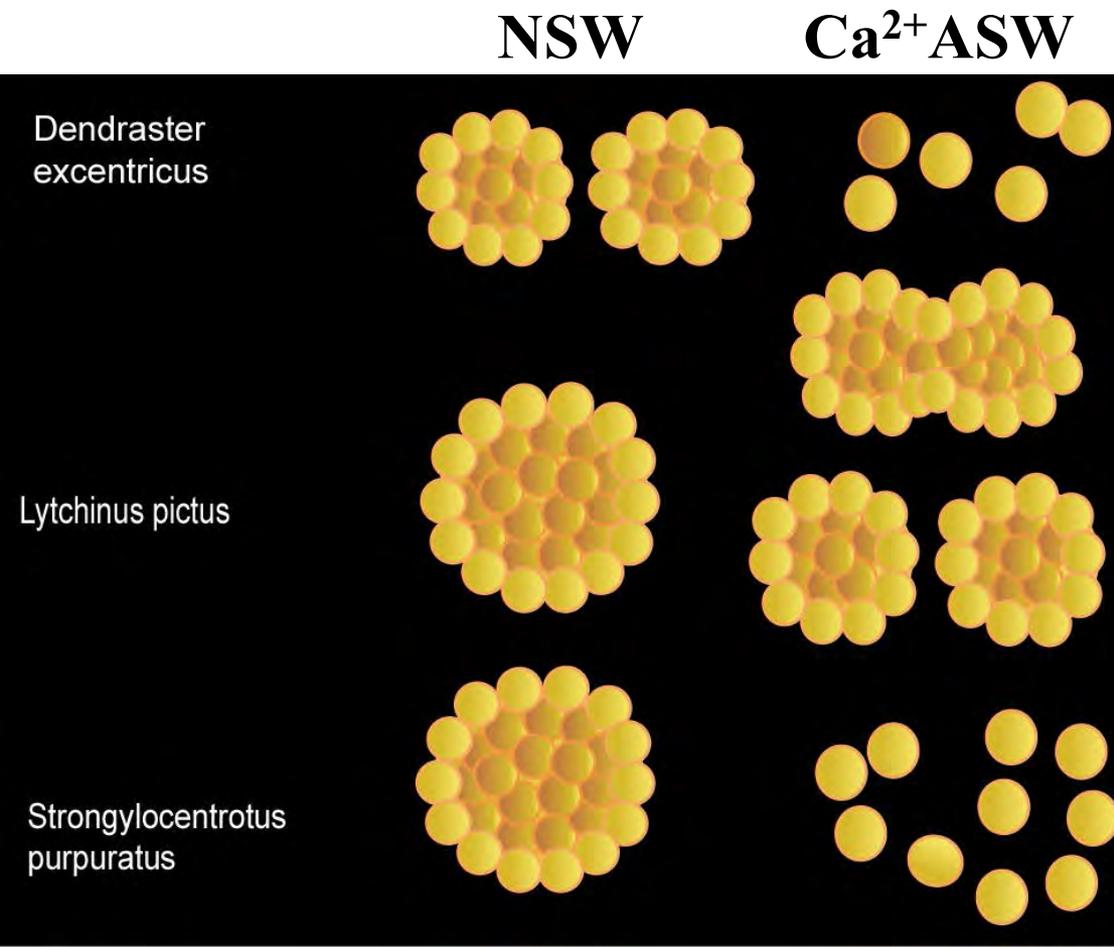


Cameron, Davidson, 1991

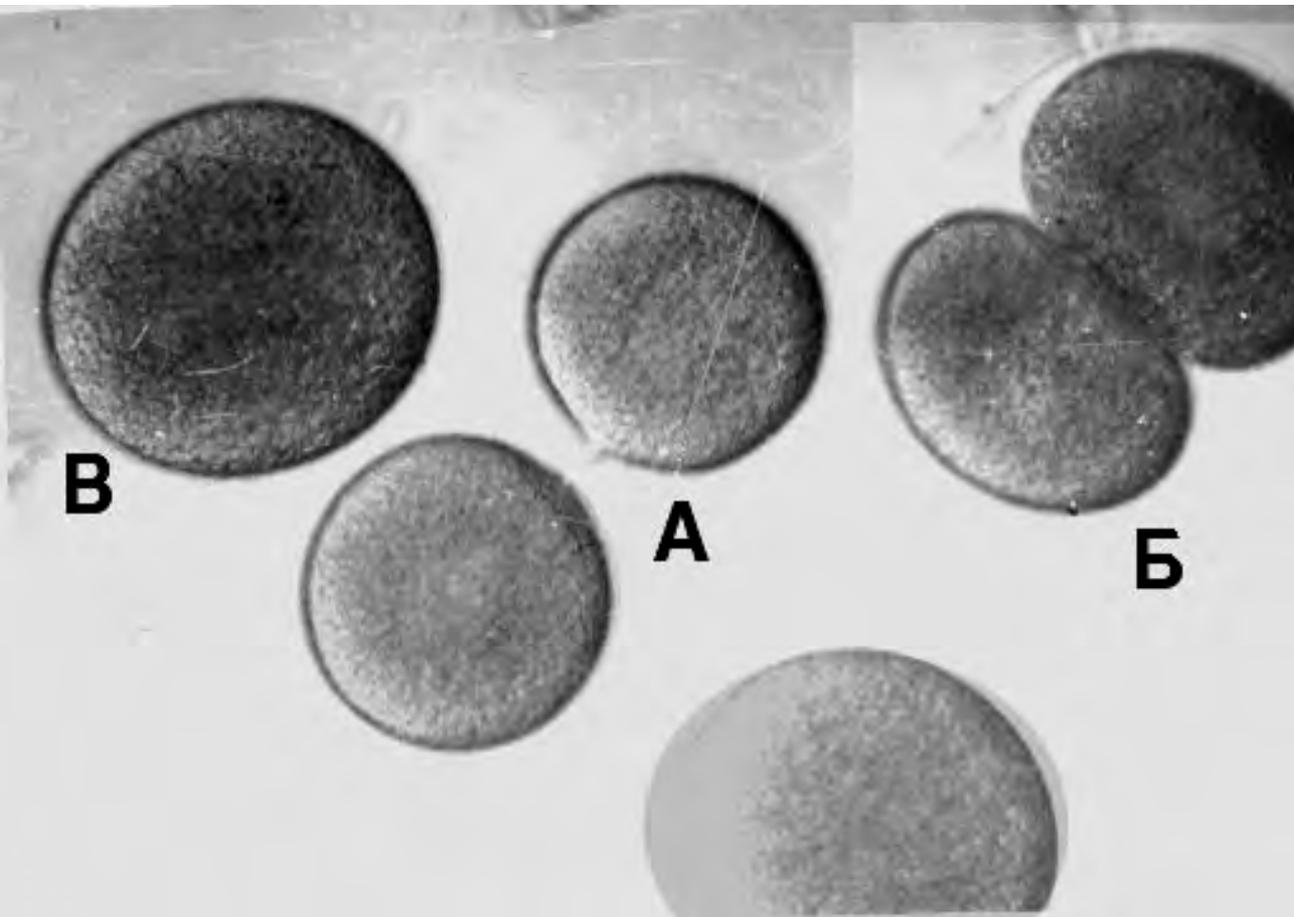
# Сульфгидрильные часы Кацумы Дана



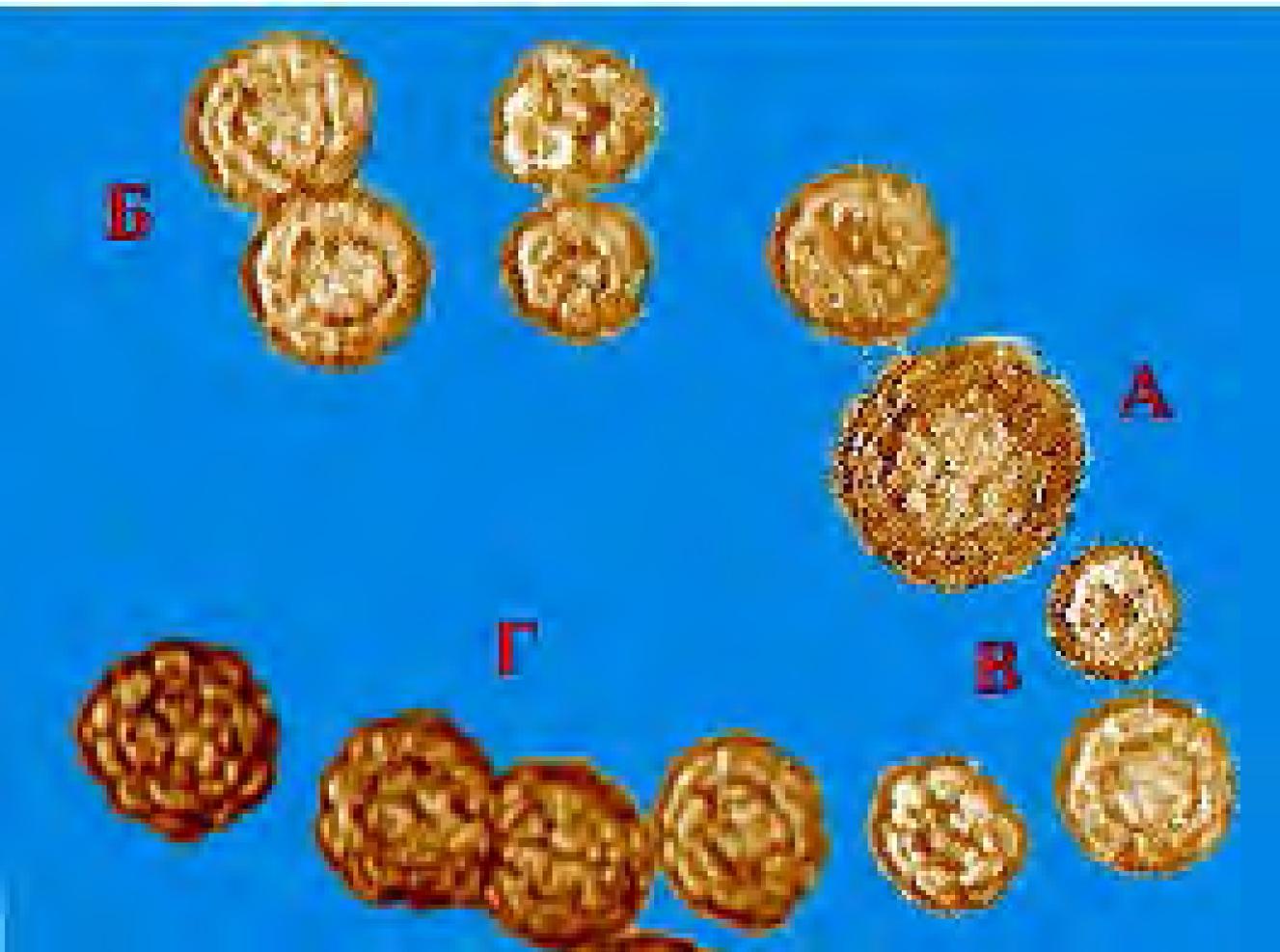
# Влияние дитиотрейтола на межклеточные взаимодействия у зародышей морских ежей



- По Vacquier & Mazia, 1974



- А - бластомеры до адгезии
- Б - развитие процесса адгезии
- В - неделящийся зародыш

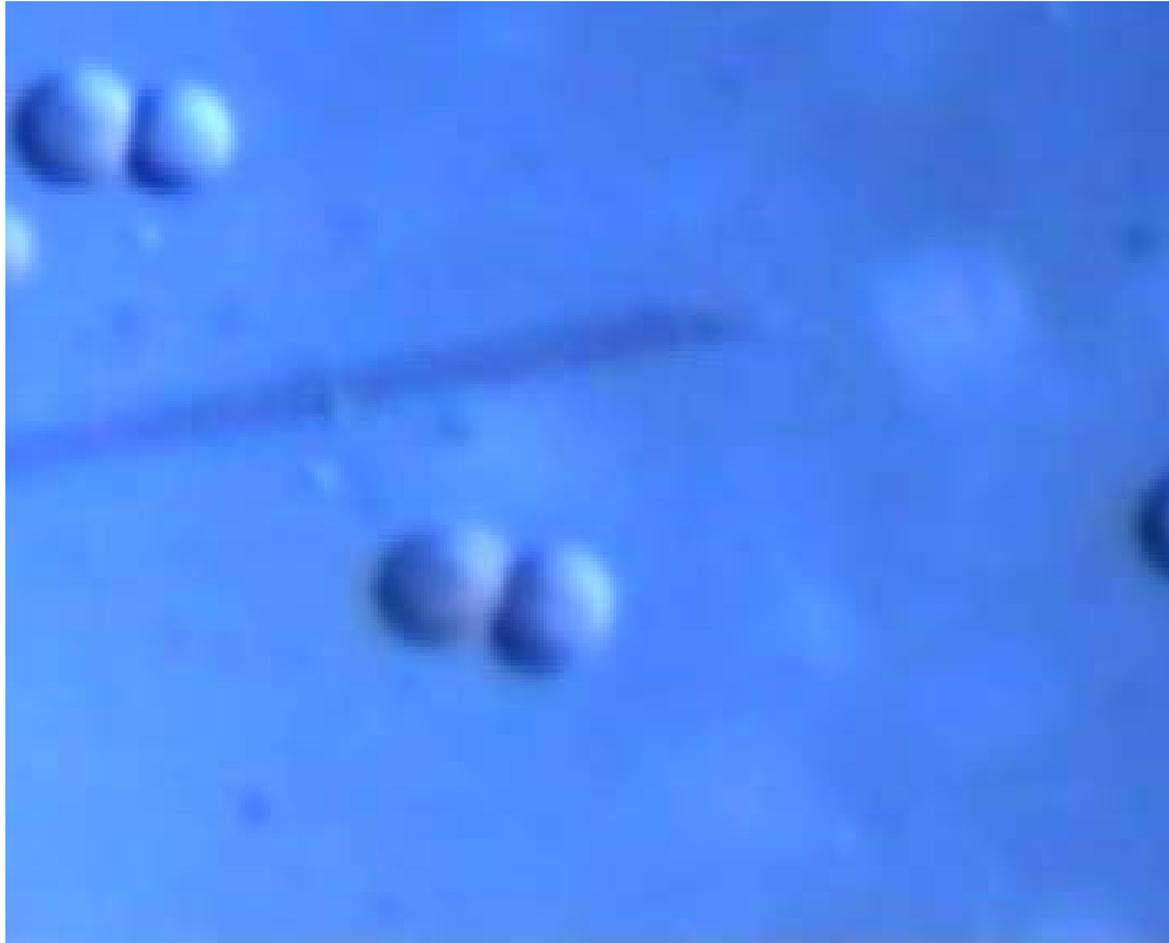


- А – нормальные зародыши
- Б – двойниковый зародыш
- В- карликовые зародыши  $1/2$  нормального
- Г – 8-образный зародыш

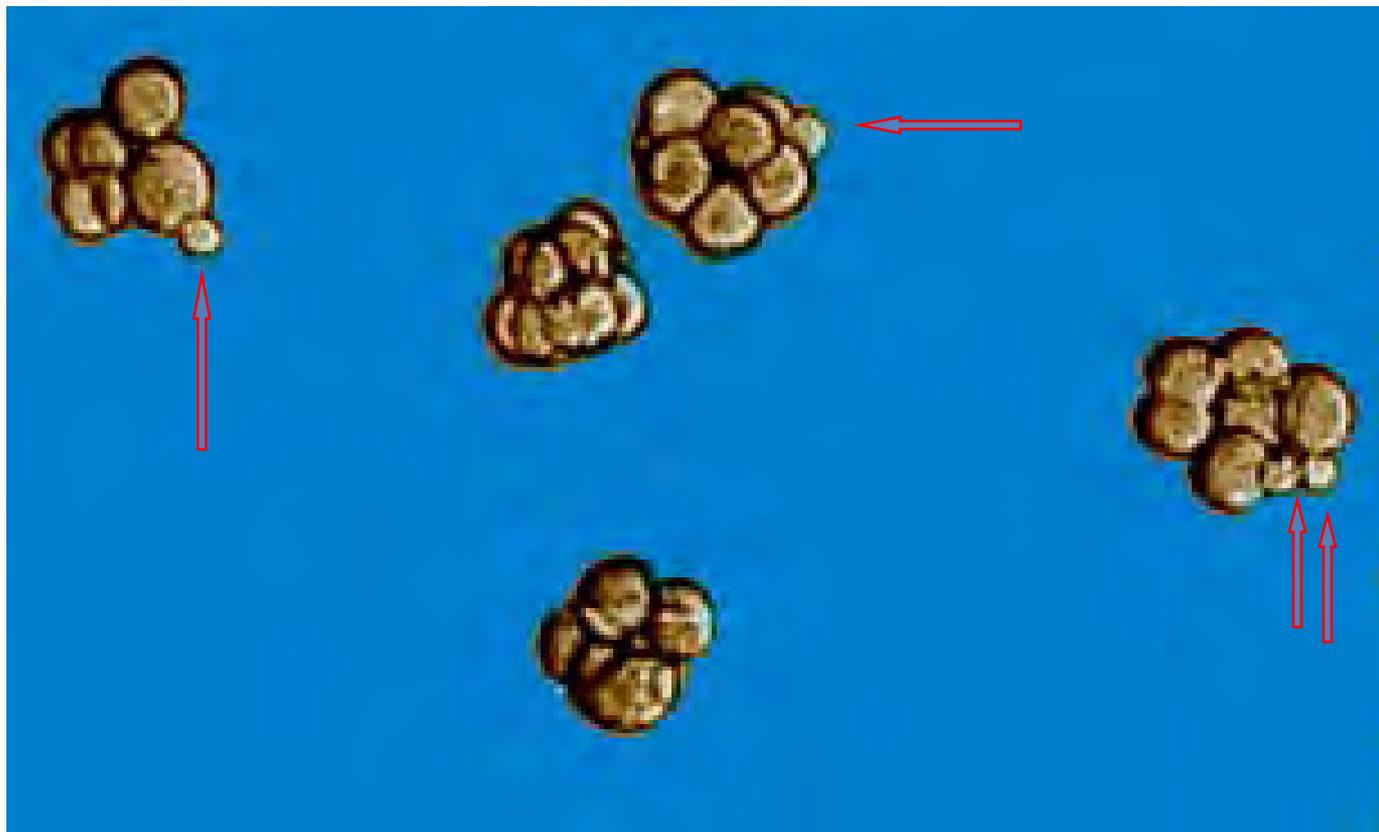
# Чайлахян и Бузников



# Изоляция бластомеров морского ежа стеклянной иглой



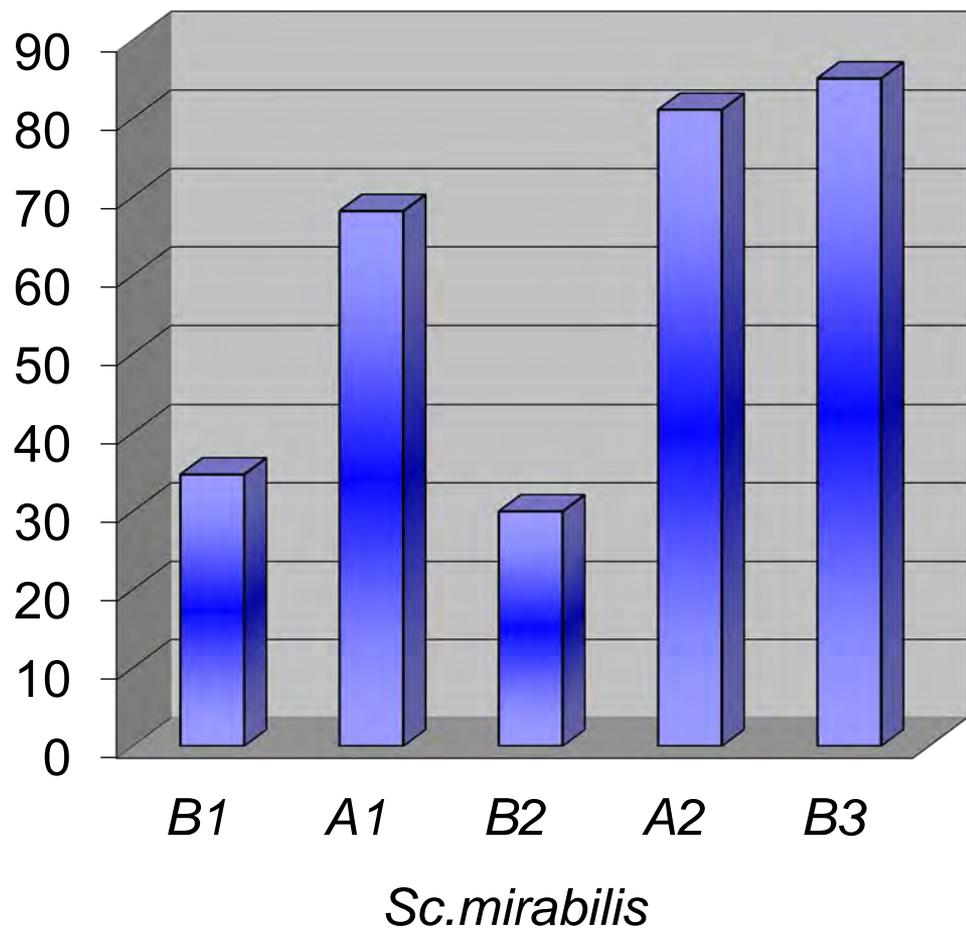


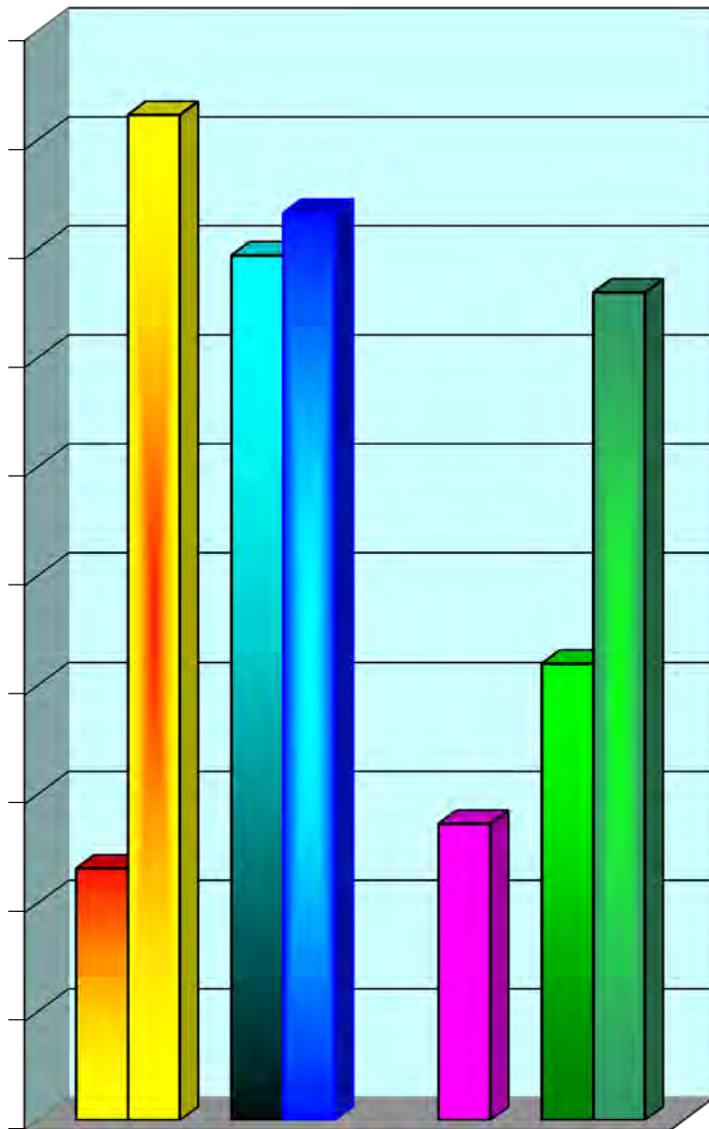


- Стрелками показаны микромеры

**В ходе деления дробления  
морского ежа существует  
критический период, в  
течение которого  
определяется  
перспективная судьба  
бластомеров**

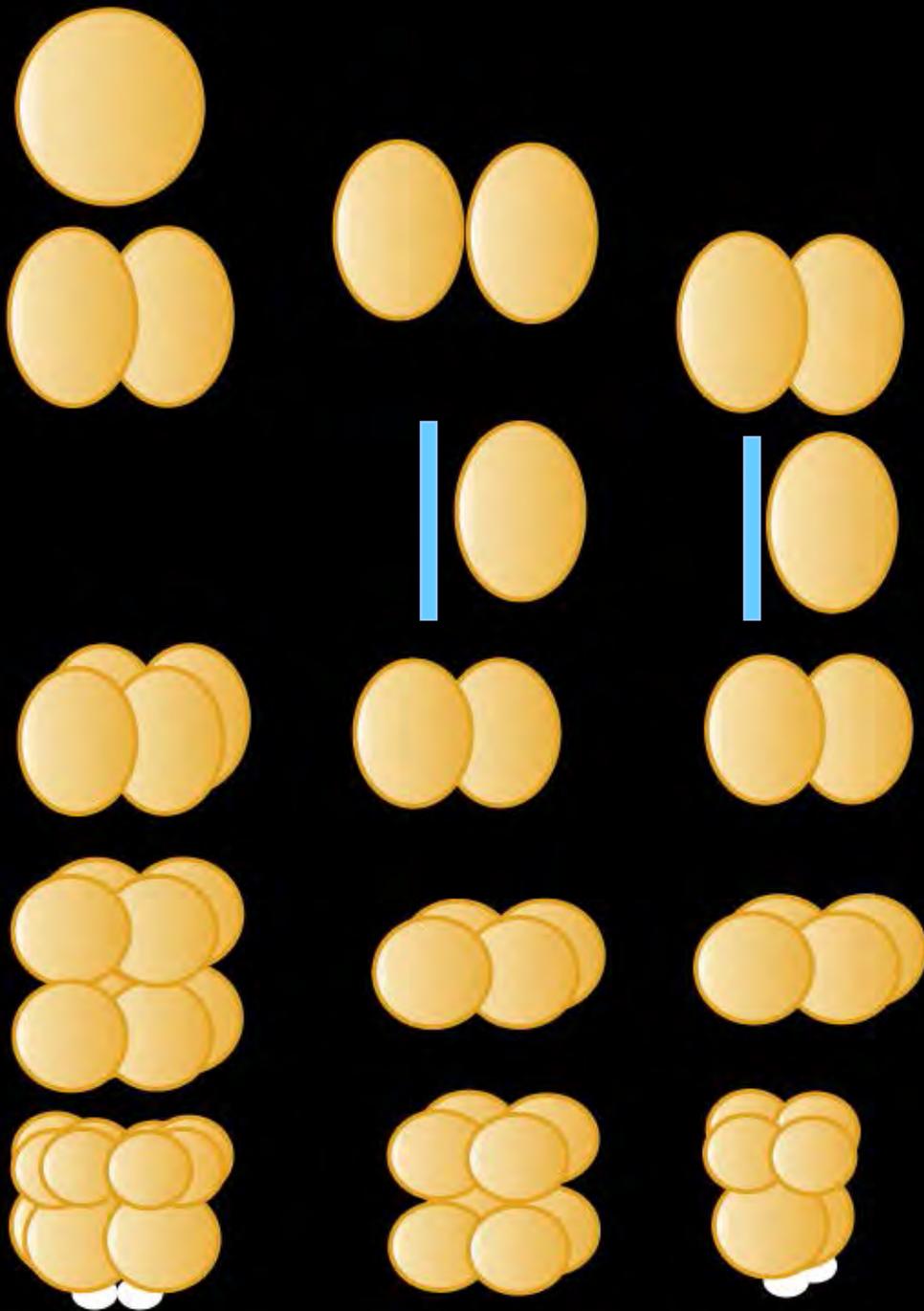
# Типы дробления половинных зародышей в зависимости от момента изоляции





- *S.nudus* B1
- *S.nudus* A1
- *S.intermedius* B1
- *S.intermedius* A1
- *E.cordatum* B1
- *P.lividus* B1
- *P.lividus* A1

По оси ординат - % зародышей, сформировавших микромеры на 4-м делении дробления

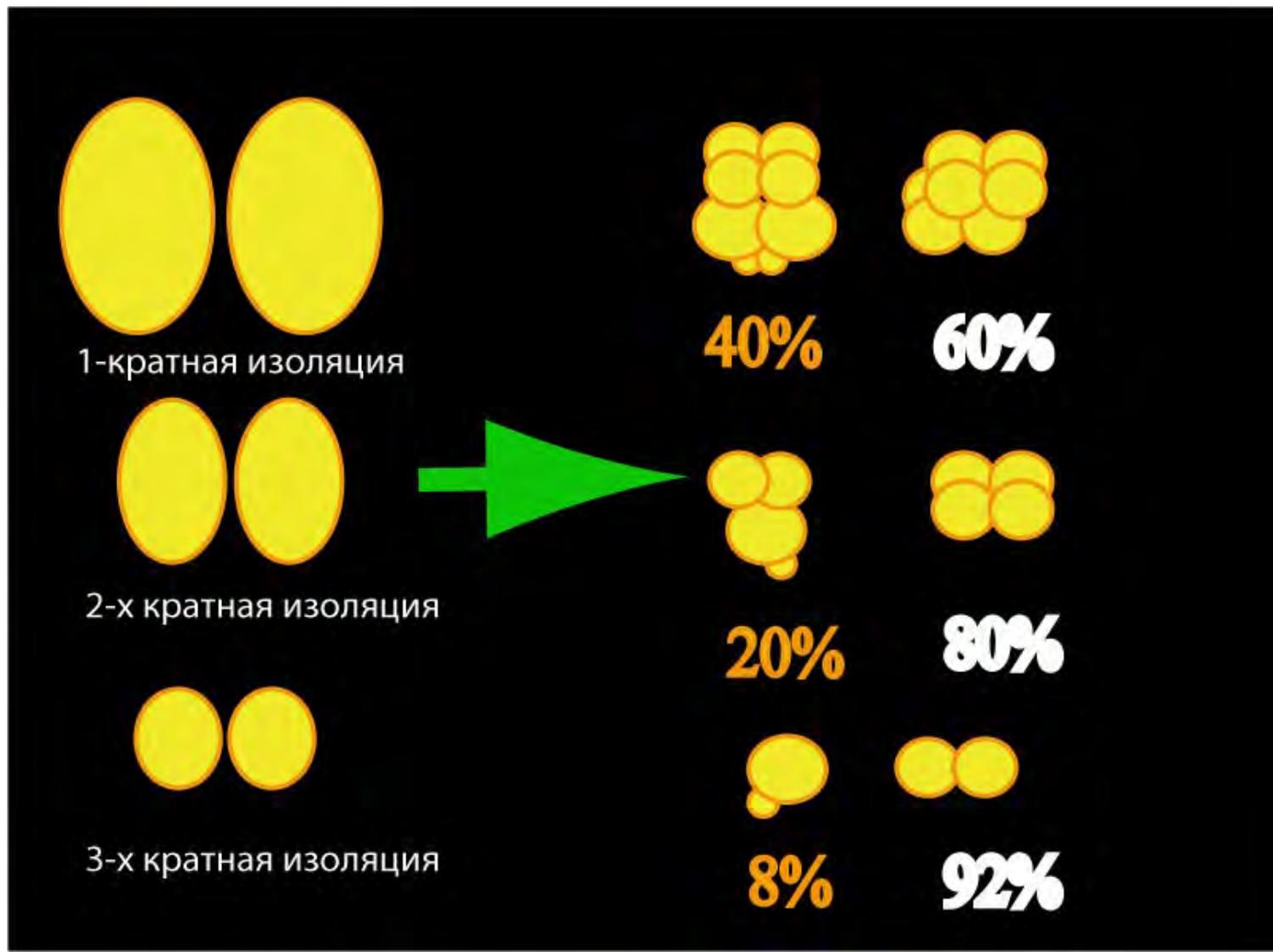


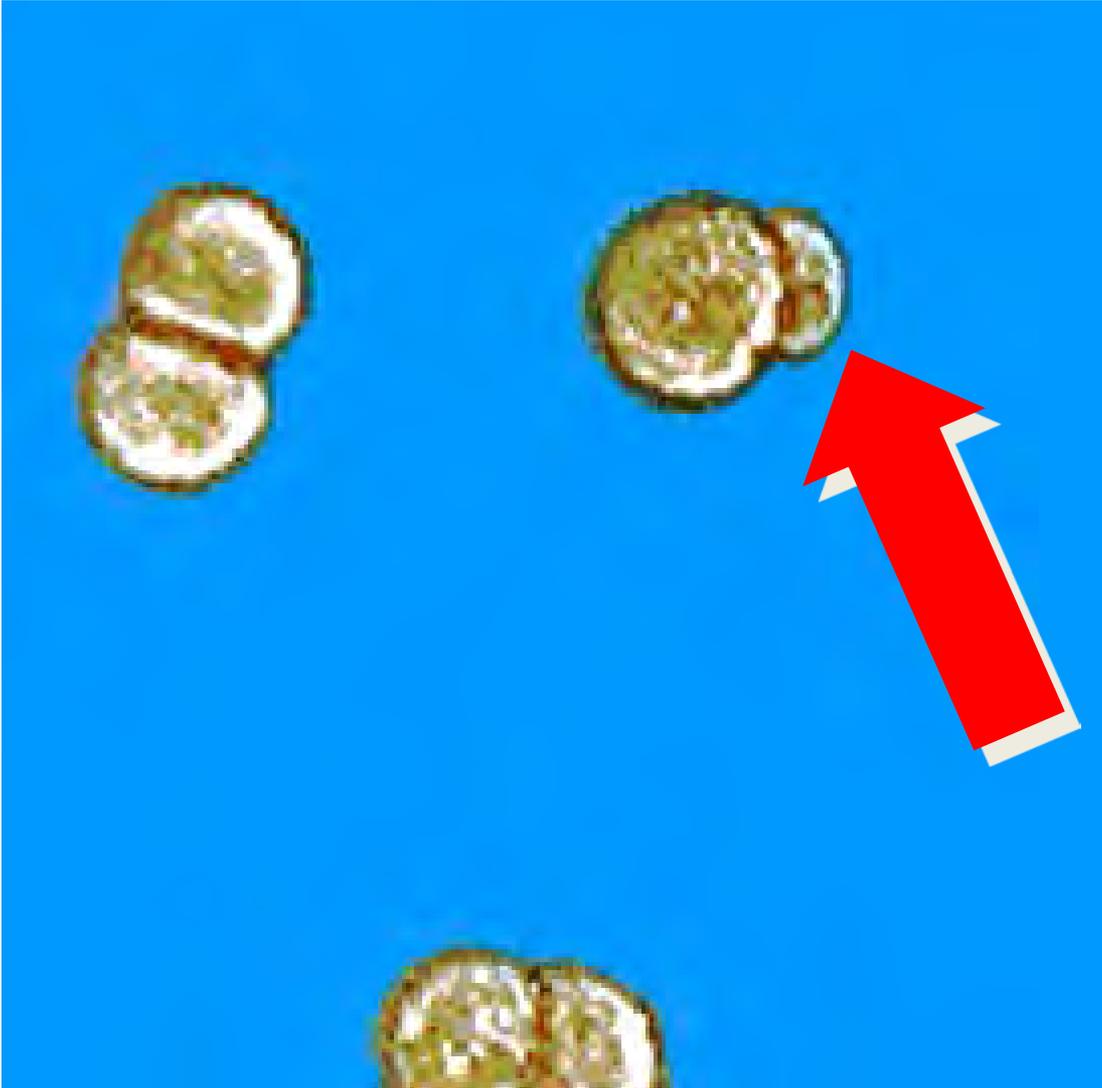
Микромерная  
модель

# Признаки межбластомерного сигнала

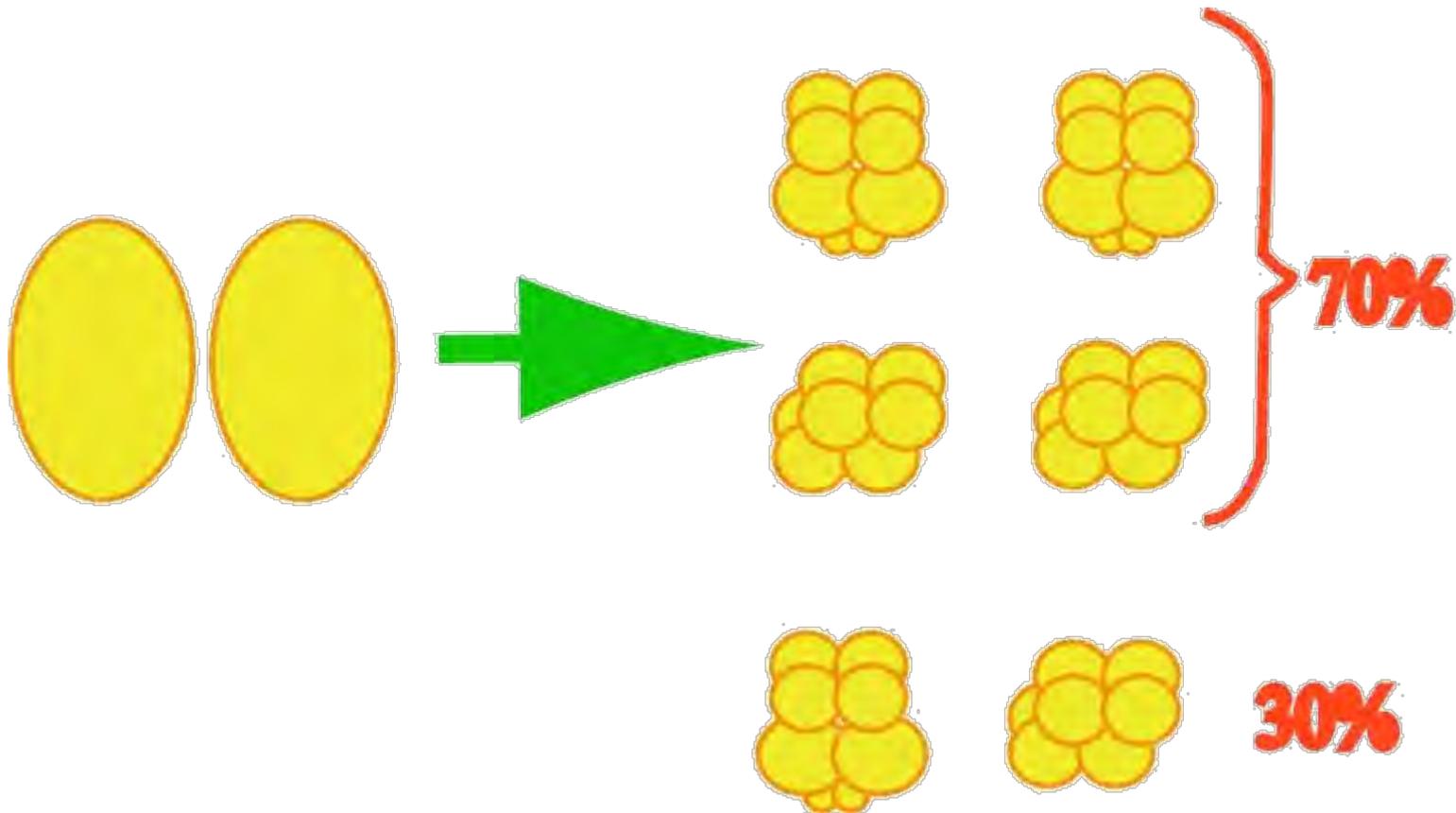
- Реципрокность
- Несинхронность
- Повторяемость

# Множественная изоляция бластомеров





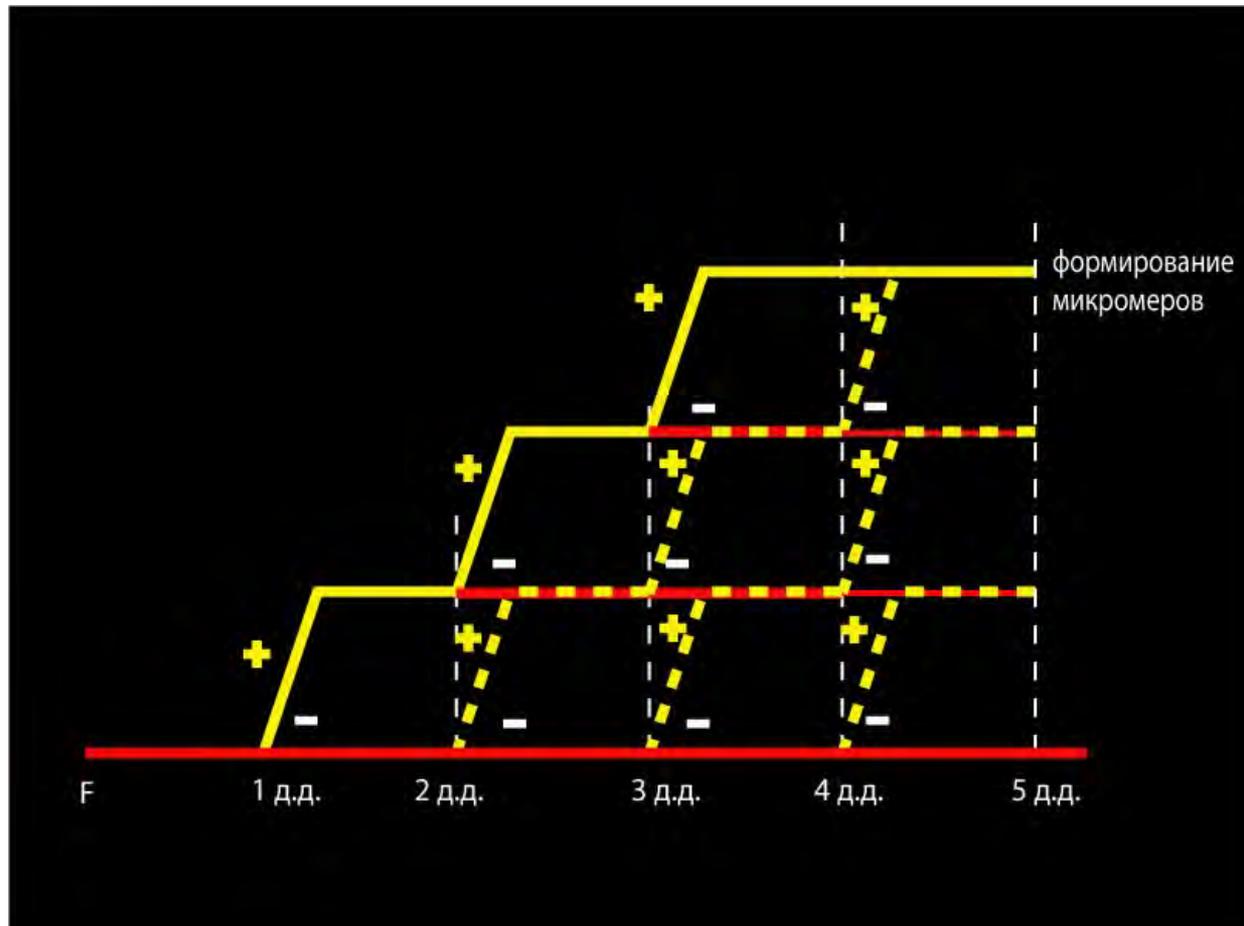
# Паттерн дробления близнецовых половинных зародышей (изолированных из одного исходного 2-х клеточного)



По-видимому, формирование микромеров определяется не работой жестких «часов», а последовательным обменом межбластомерными сигналами локально влияющими на структуру цитокортекса и, вследствие этого, на положение веретена и плоскости следующего деления дробления

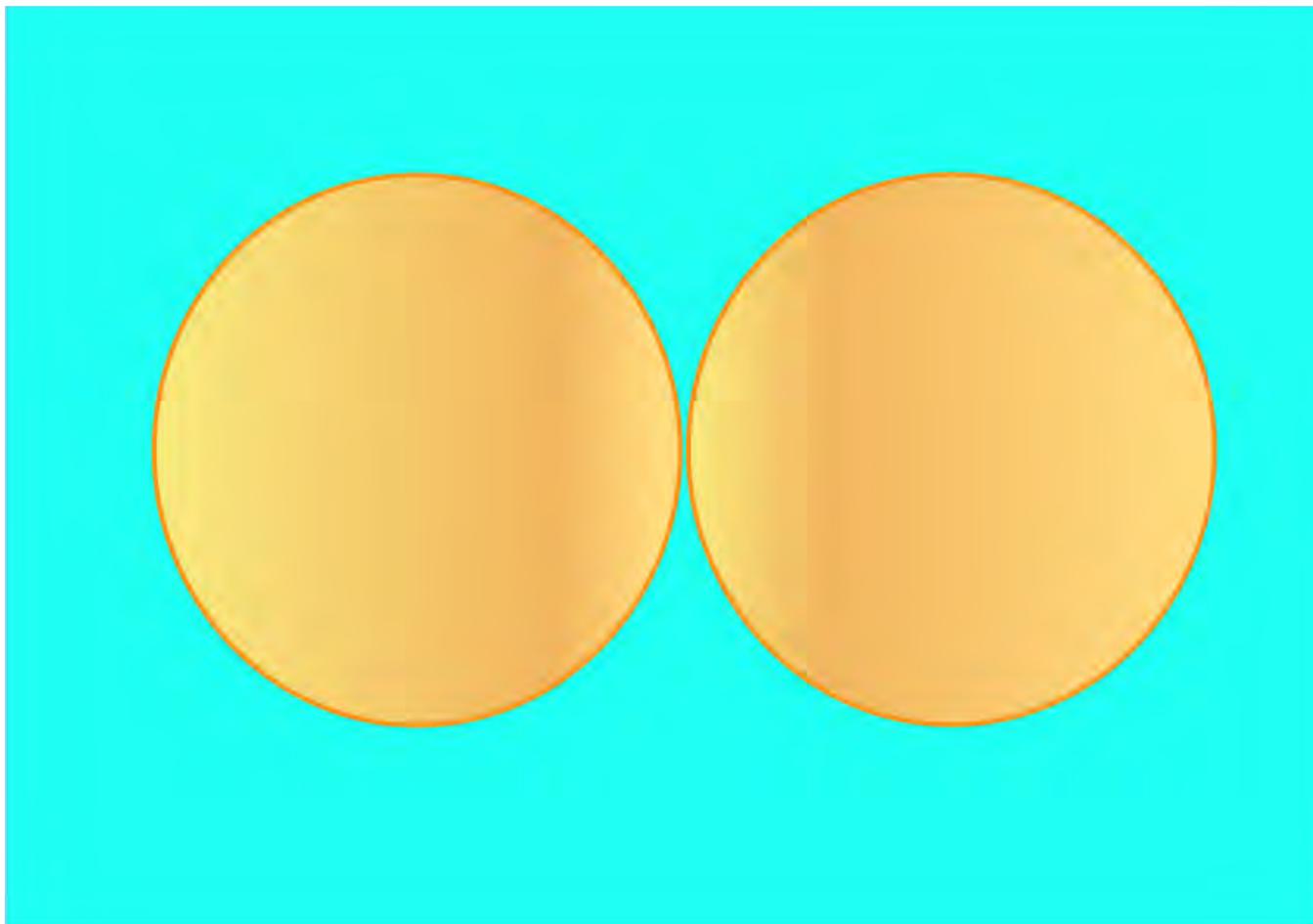
- **После прохождения деления в экваториальной плоскости (в норме – 3-го деления дробления) проявляется эффект преформированного распределения цитоплазмы по анимально-вегетативной оси**

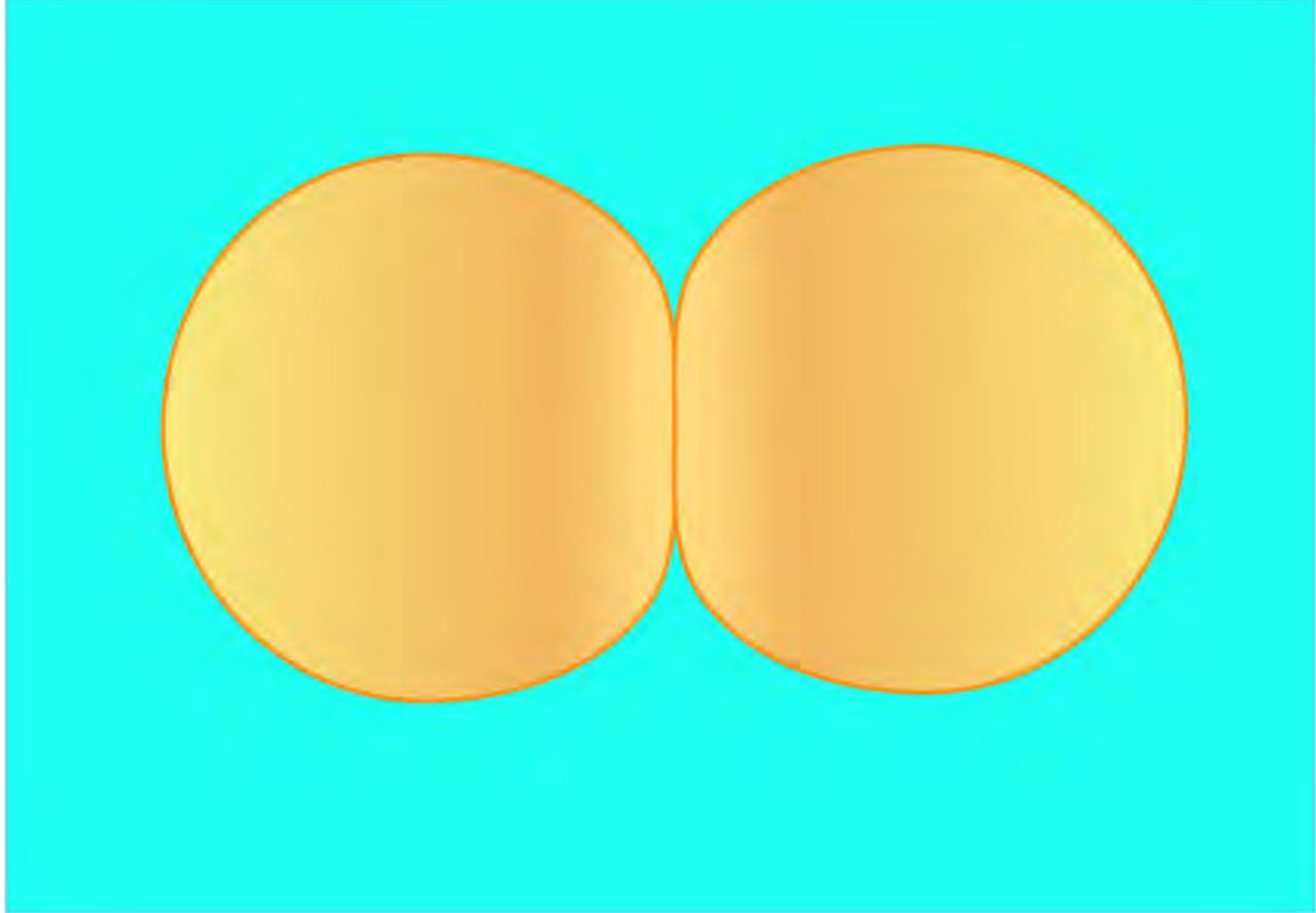
# Гипотетический механизм, определяющий момент формирования микромеров

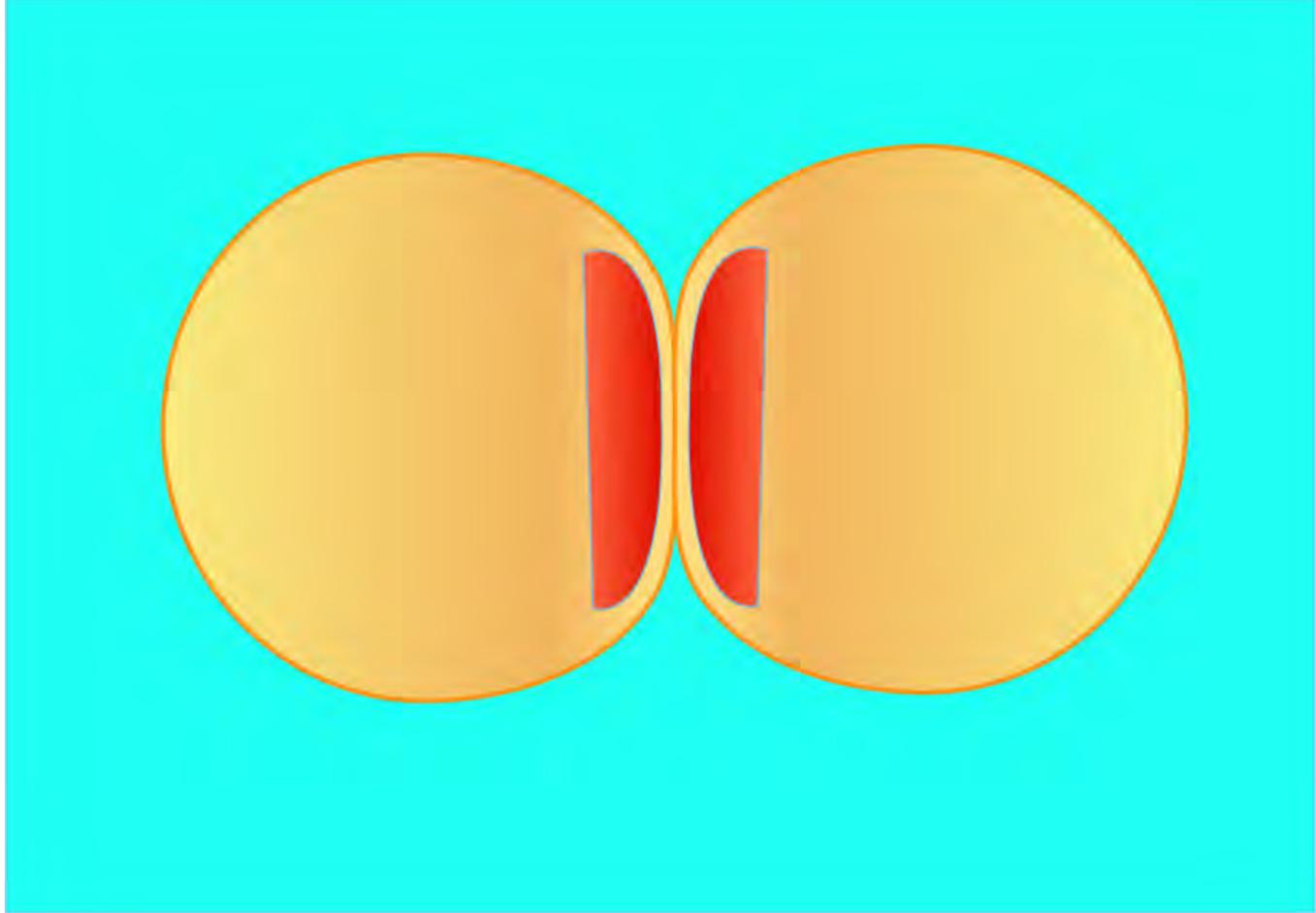


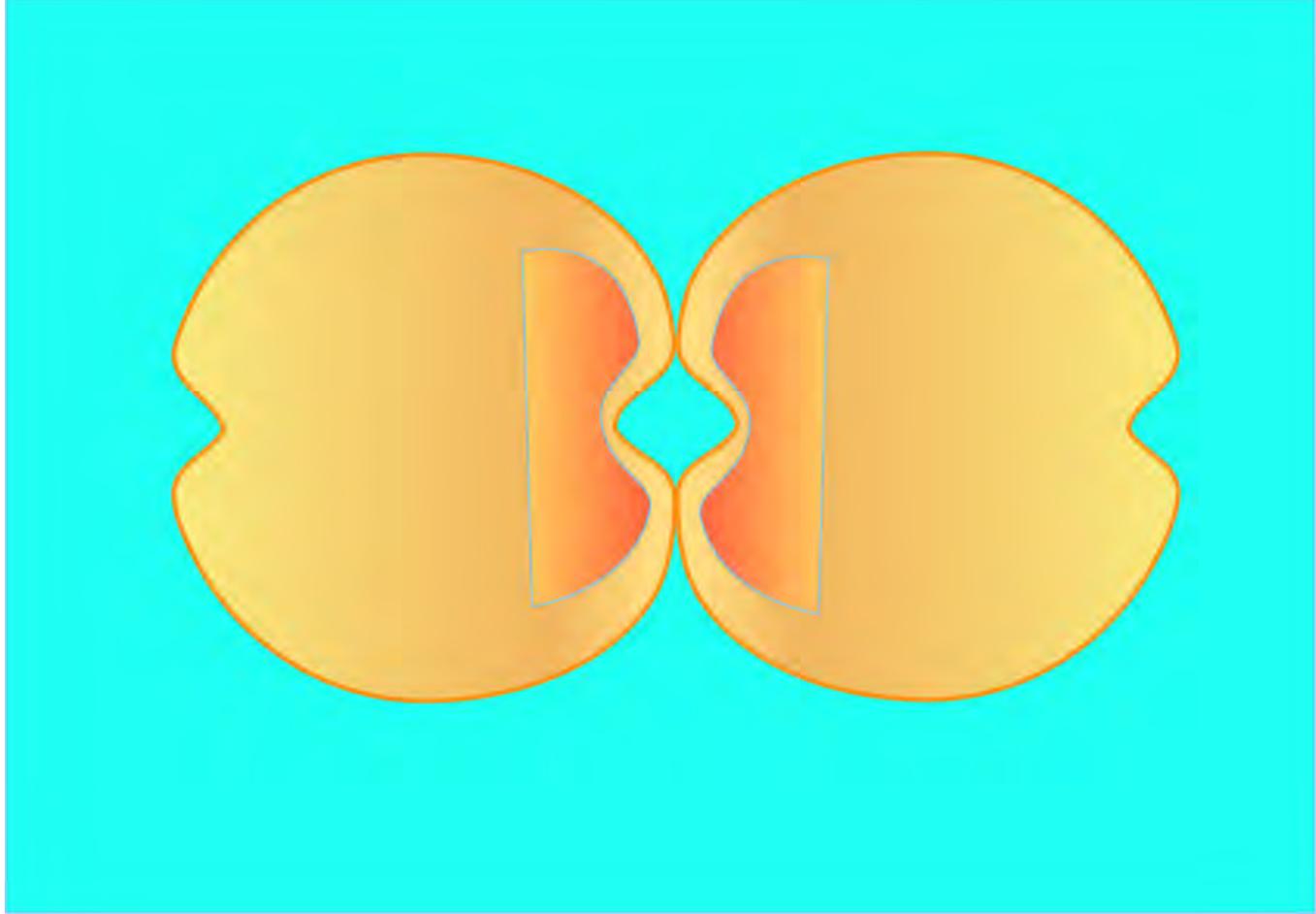
- По Шмуклер с соавт., 1981

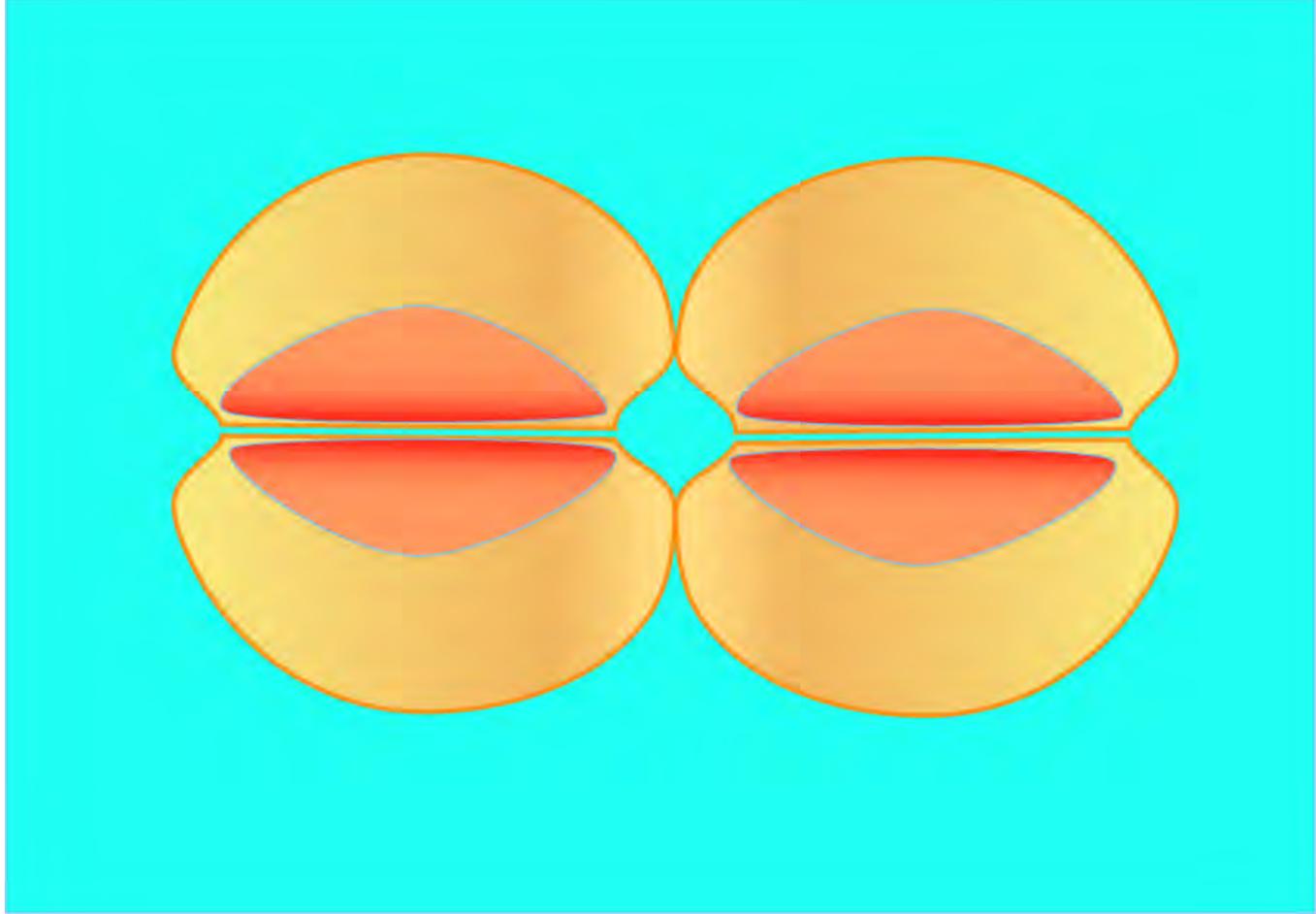
# Реконструкция цейтраферной съемки В.В.Смолянинова

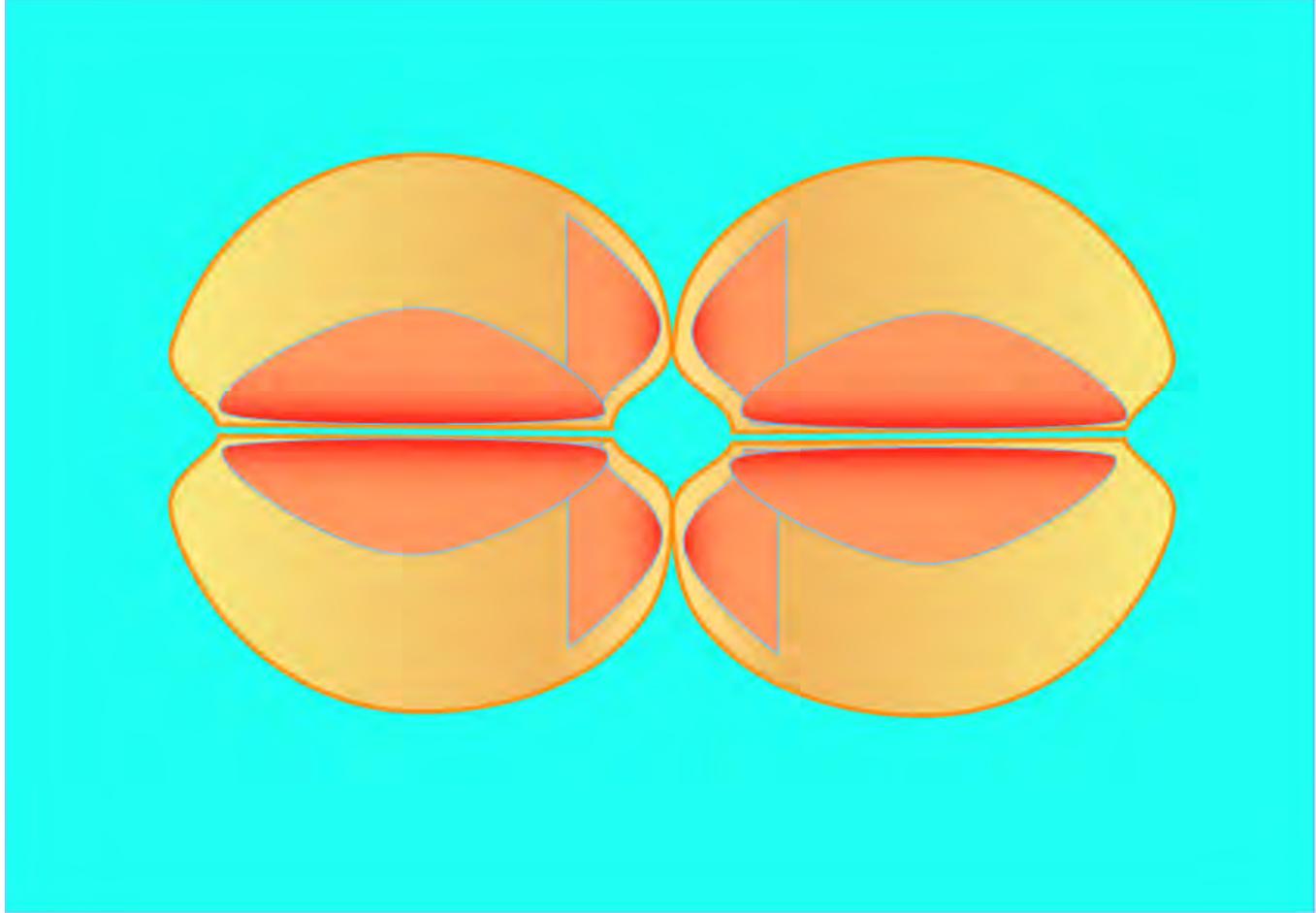


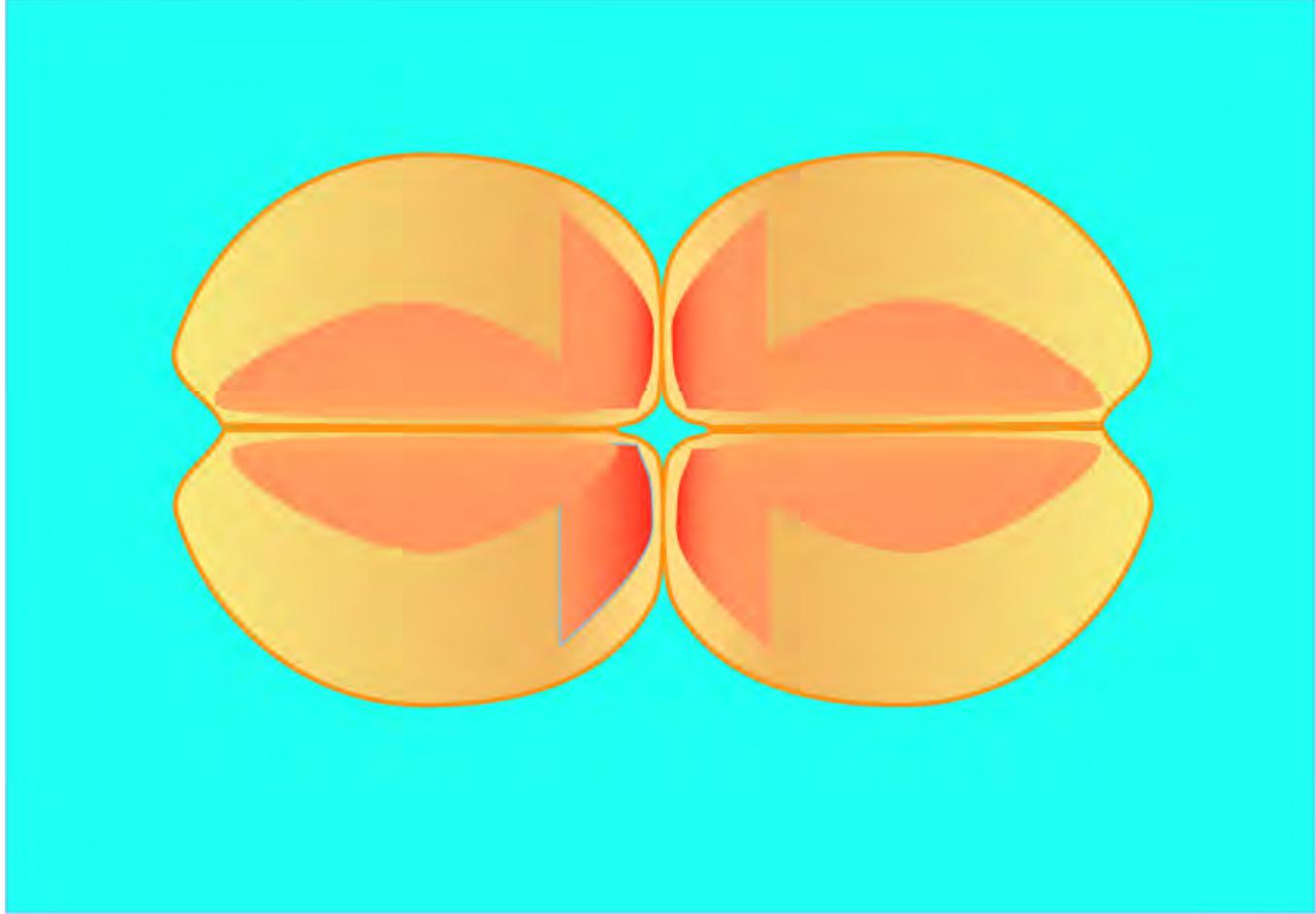








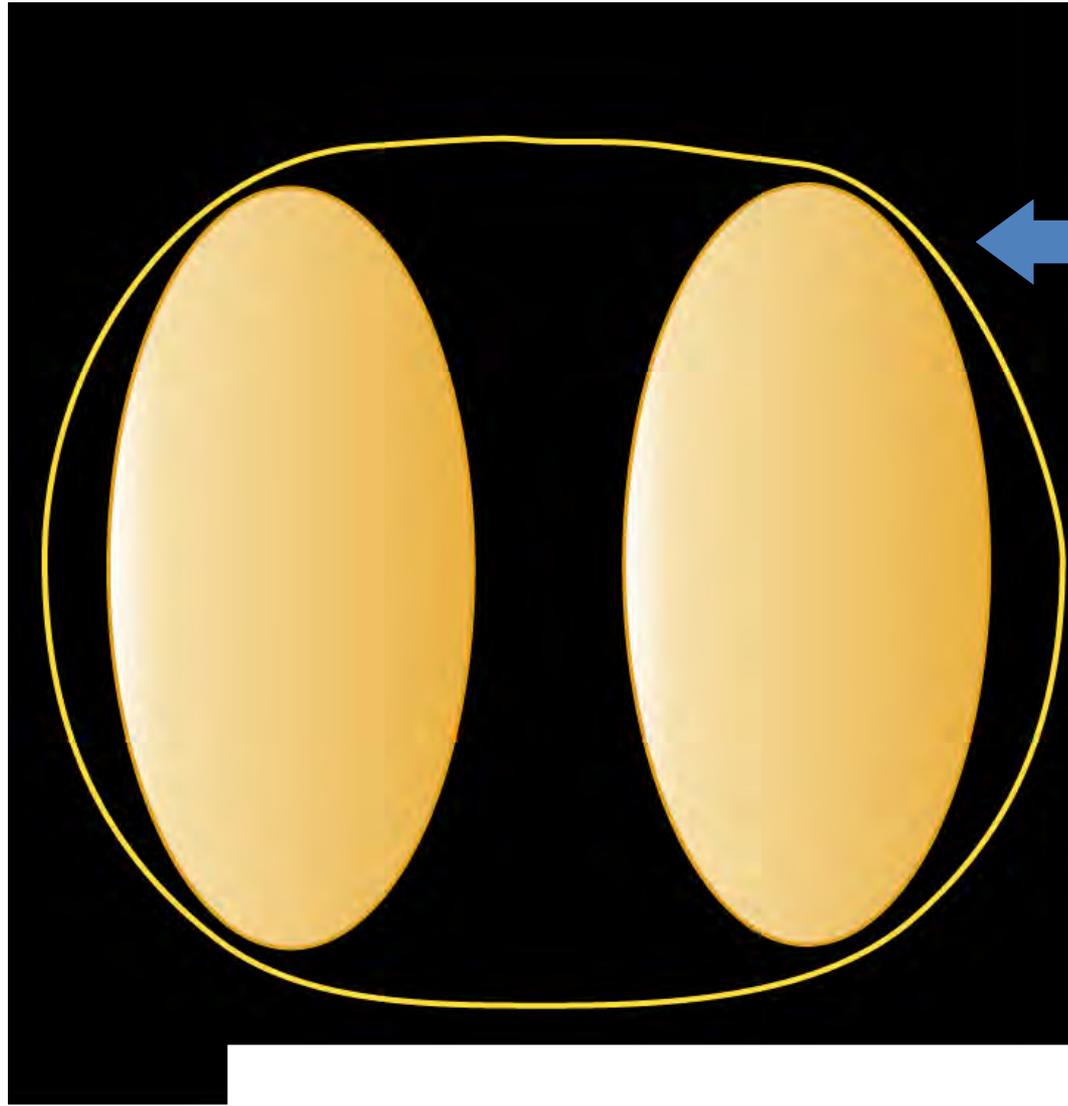




# Каков может быть механизм межбластомерной сигнализации?

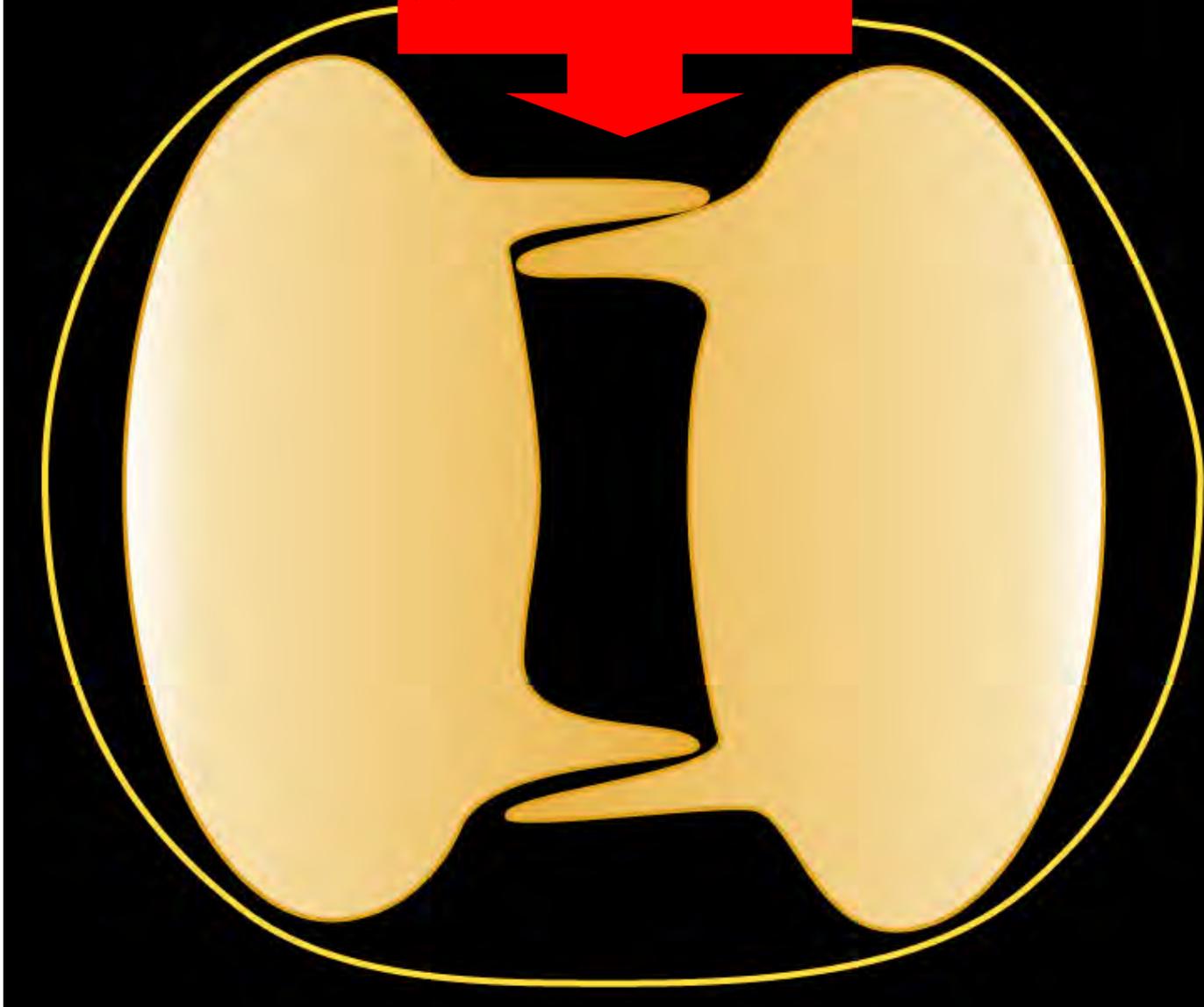
- Механические взаимодействия
- Обмен химическими сигналами

# Факторы межбластомерных взаимодействий

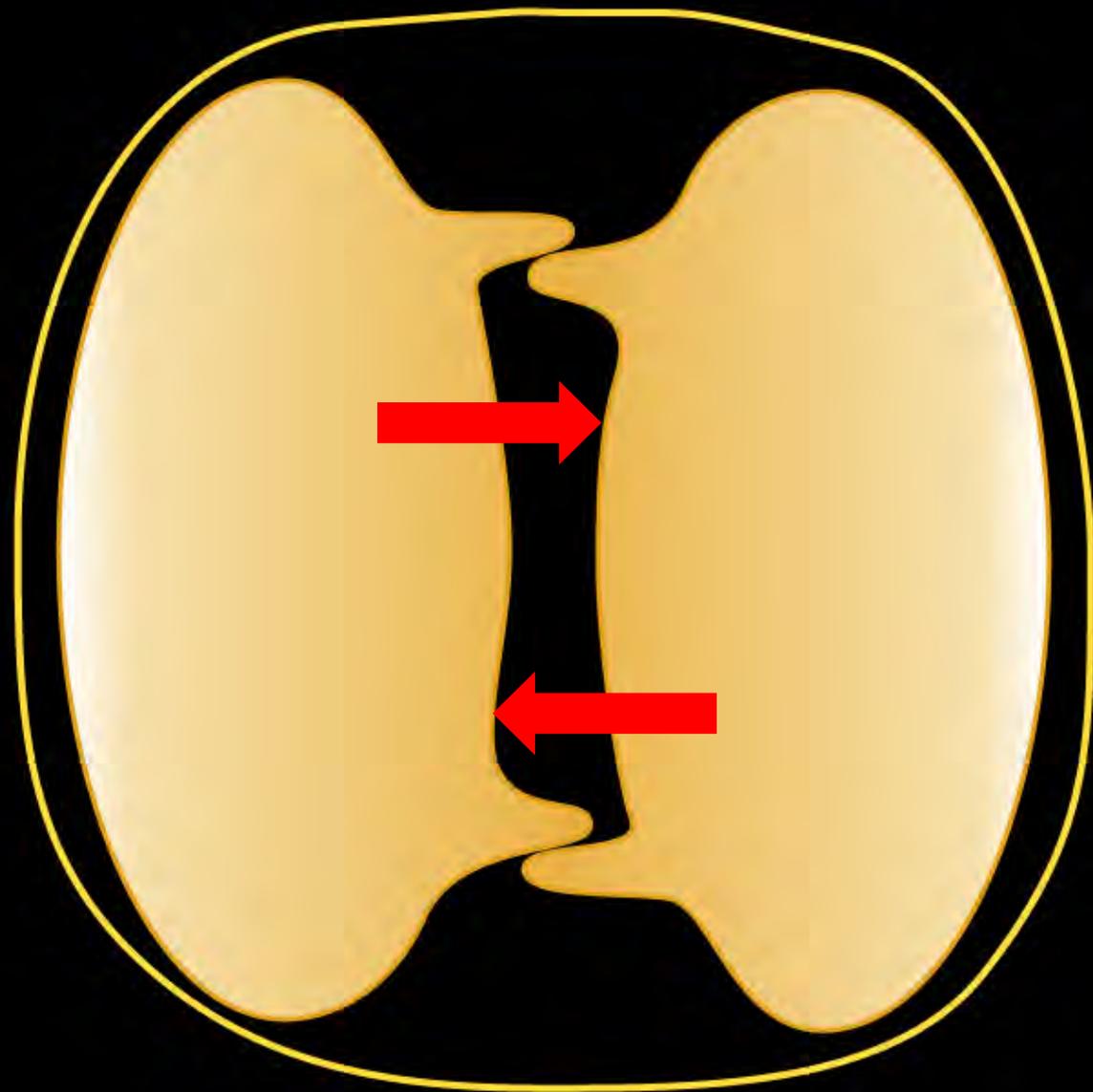


Гиалиновый слой

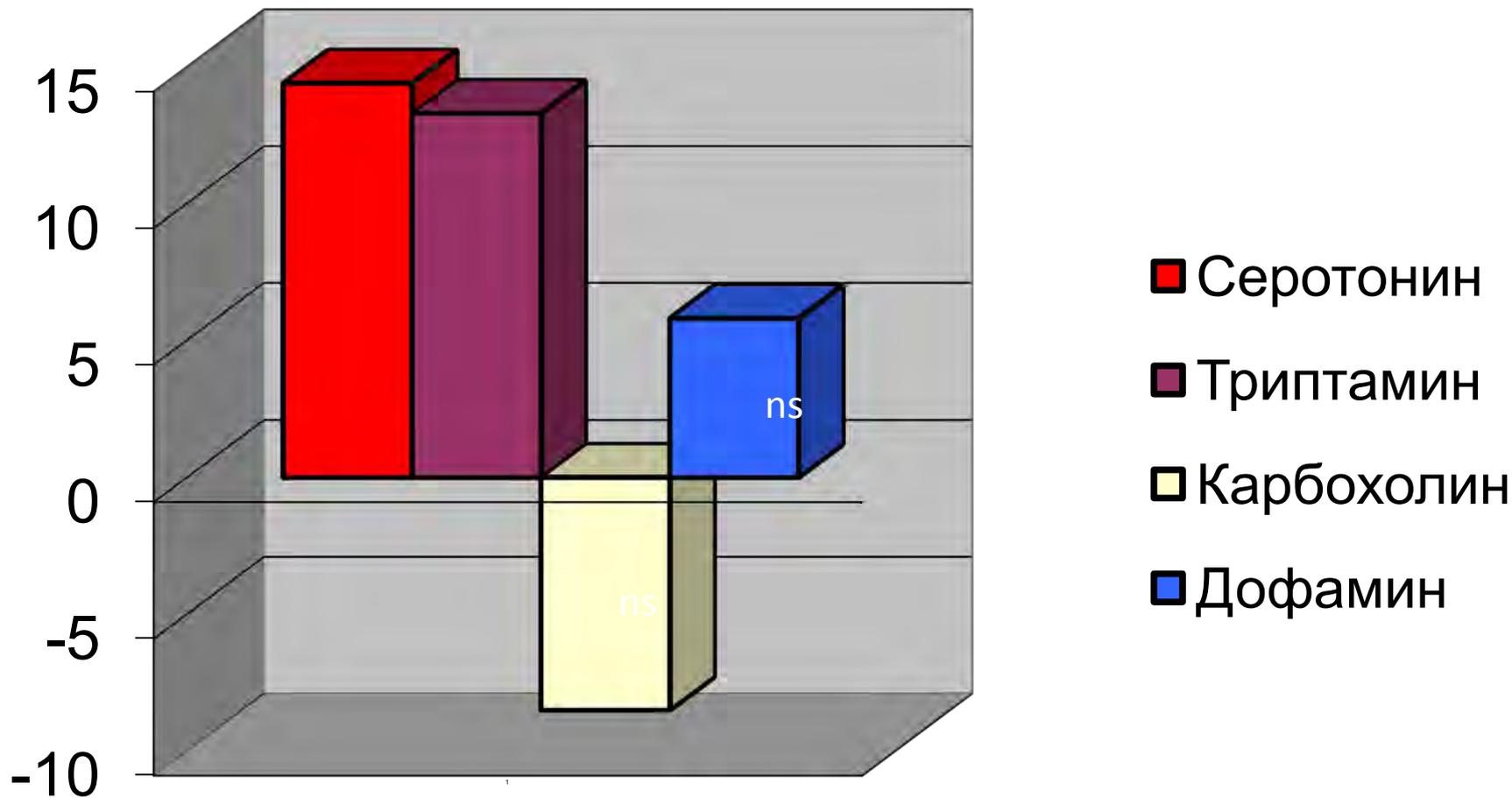
**ДТТ, Анти-5-НТ**



**Адгезия бластомеров после деления**

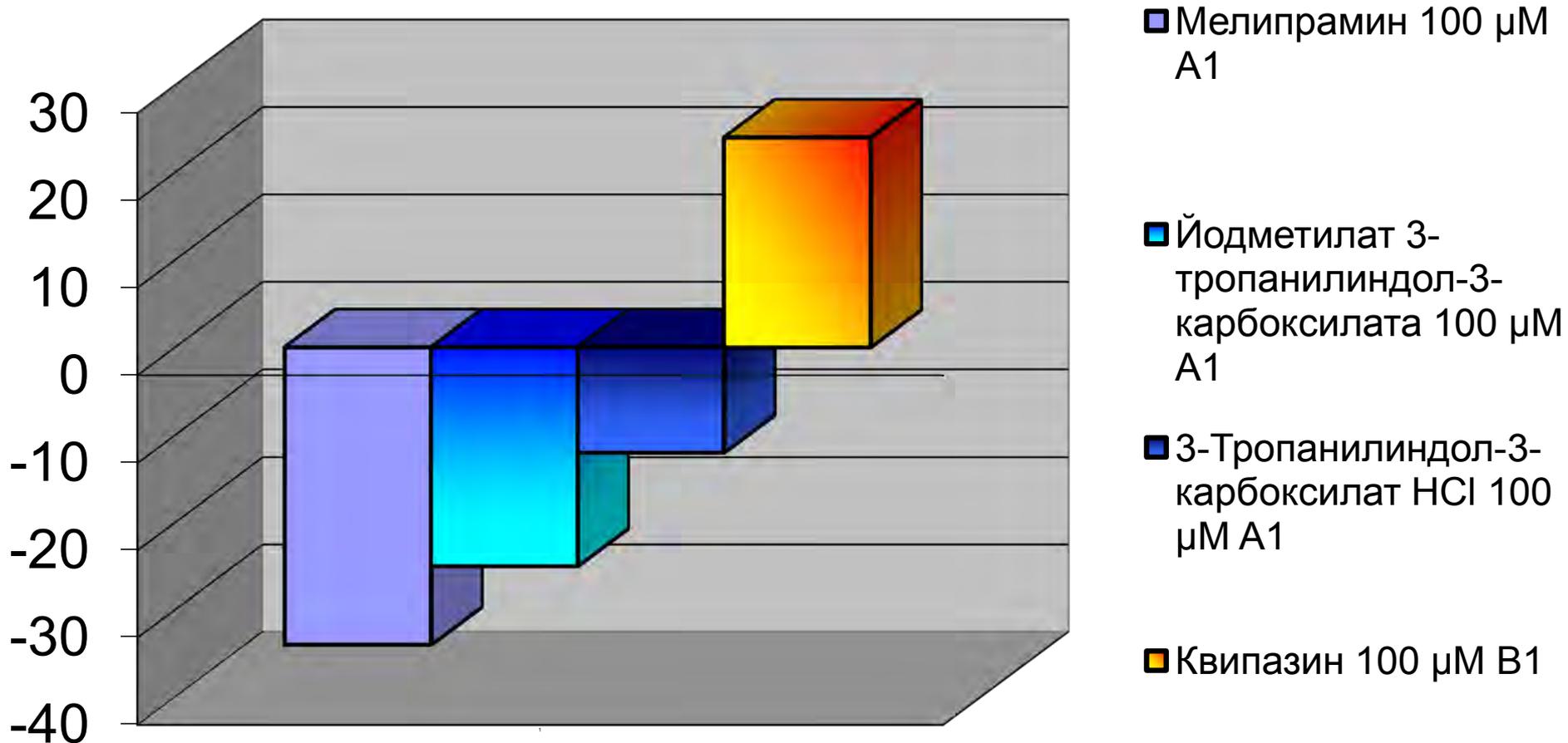


# Влияние нейротрансмиттеров на тип дробления половинных зародышей *S.mirabilis*



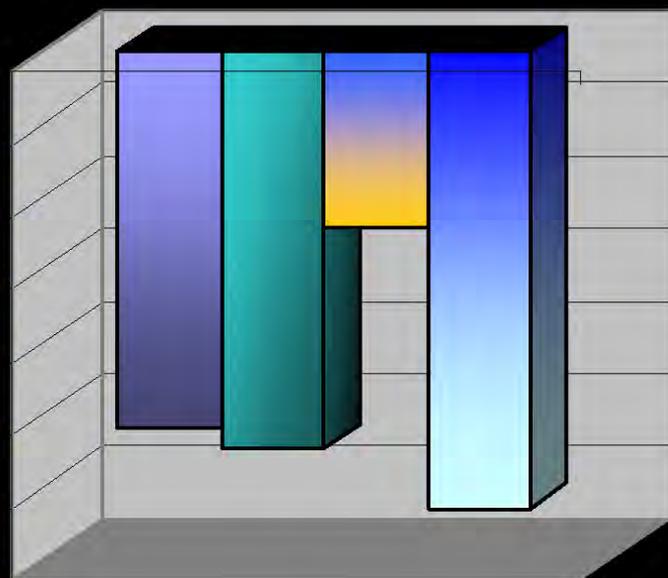
По оси ординат: изменение доли половинных зародышей, формирующих микромеры на 4-м делении дробления

# Эффекты серотониновых лигандов на тип дробления половинных зародышей *P. lividus*

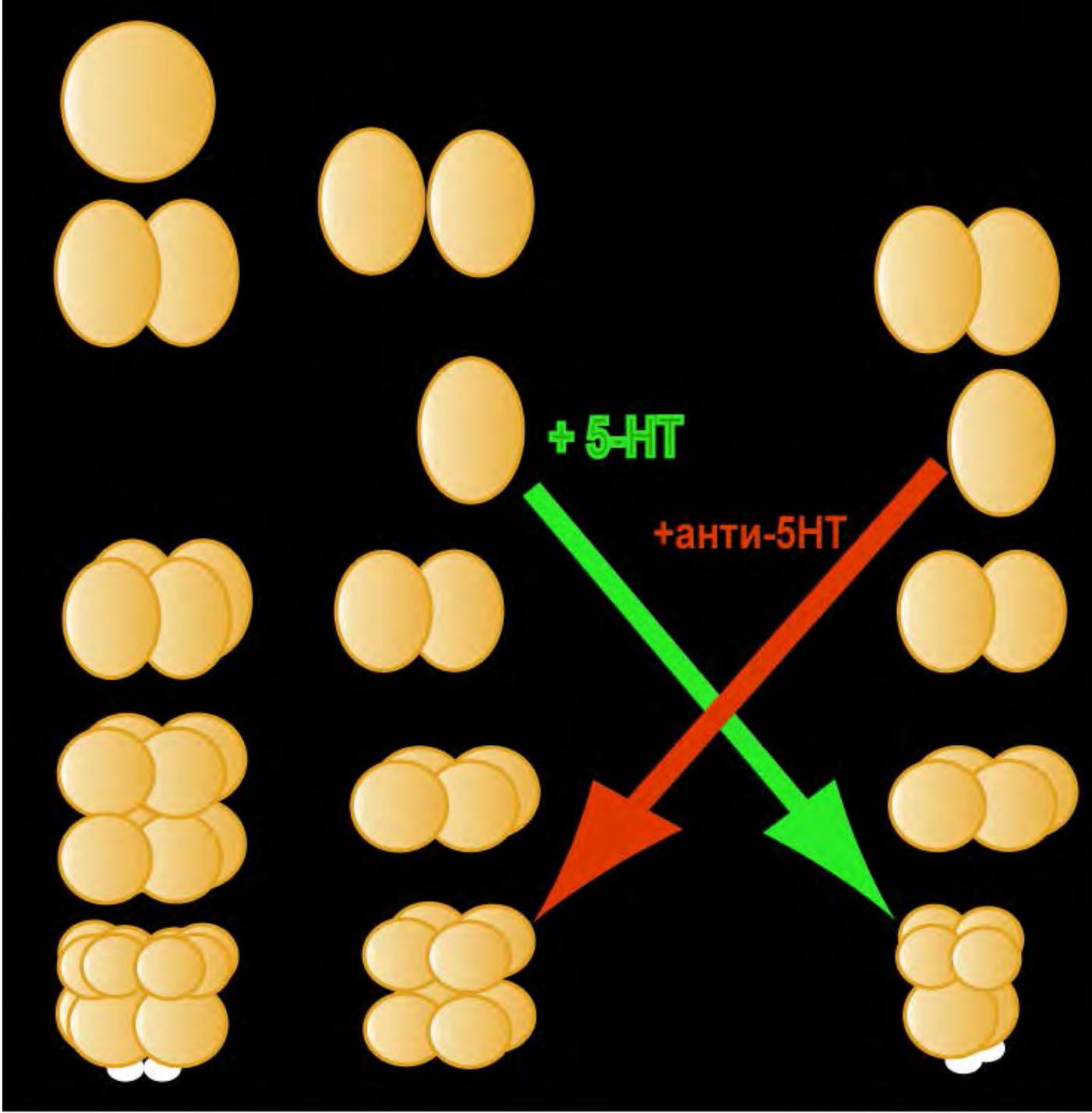


уменьшение  
%  
зародышей,  
формирующих  
микрмеры  
одновременно  
о с контролем

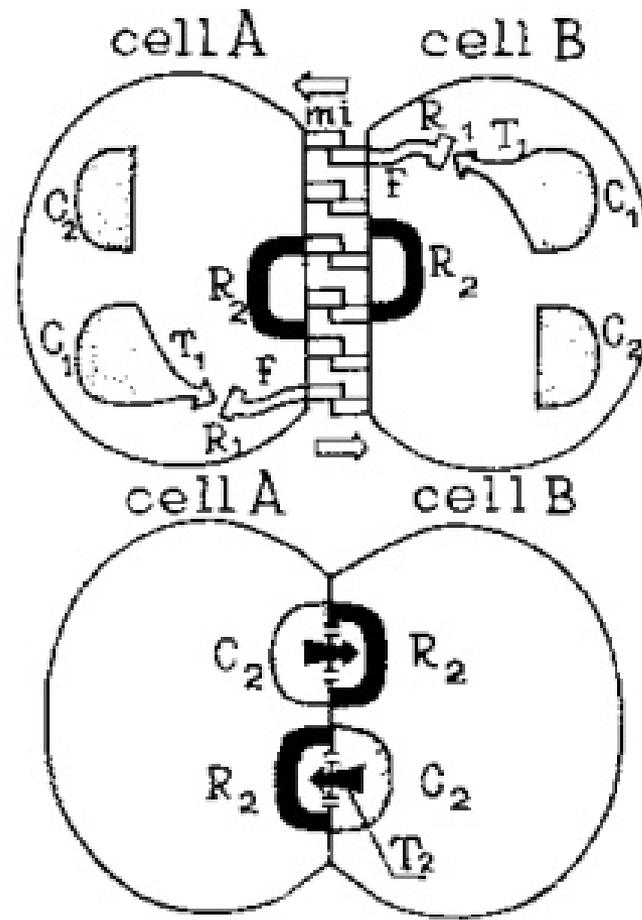
0  
-5  
-10  
-15  
-20  
-25  
-30  
-35



- *S. mirabilis* йодметилат инмекарба 25 мкМ
- *P.lividus* йодметилат инмекарба 52 мкМ
- *P.lividus* йодметилат инмекарба + 5-НТ (52 мкМ + 100 мкМ)
- *P.lividus* йодметилат КЮР-14 100 мкМ



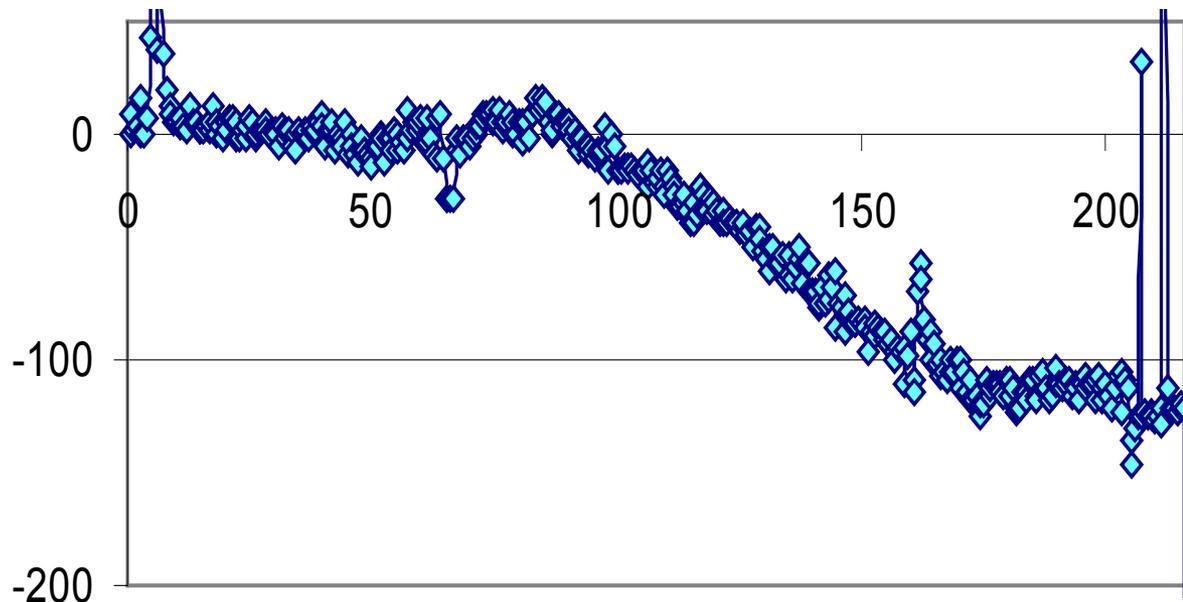
# Схема взаимодействия бластомеров



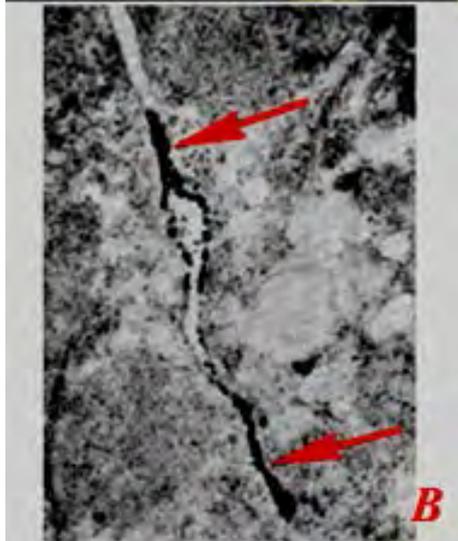
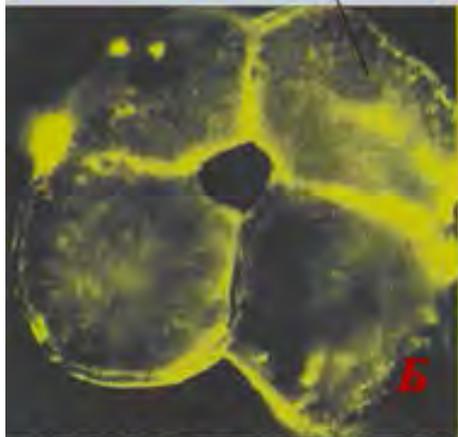
Buznikov, Shmukler, 1981

**Существуют  
эмбриональные  
рецептивные структуры,  
локализованные на  
плазматической  
мембране**

# Входящий ток, вызванный агонистом 5-НТ<sub>2</sub>-рецепторов DOI (100 μМ) в 4-х клеточном зародыше *P. lividus*

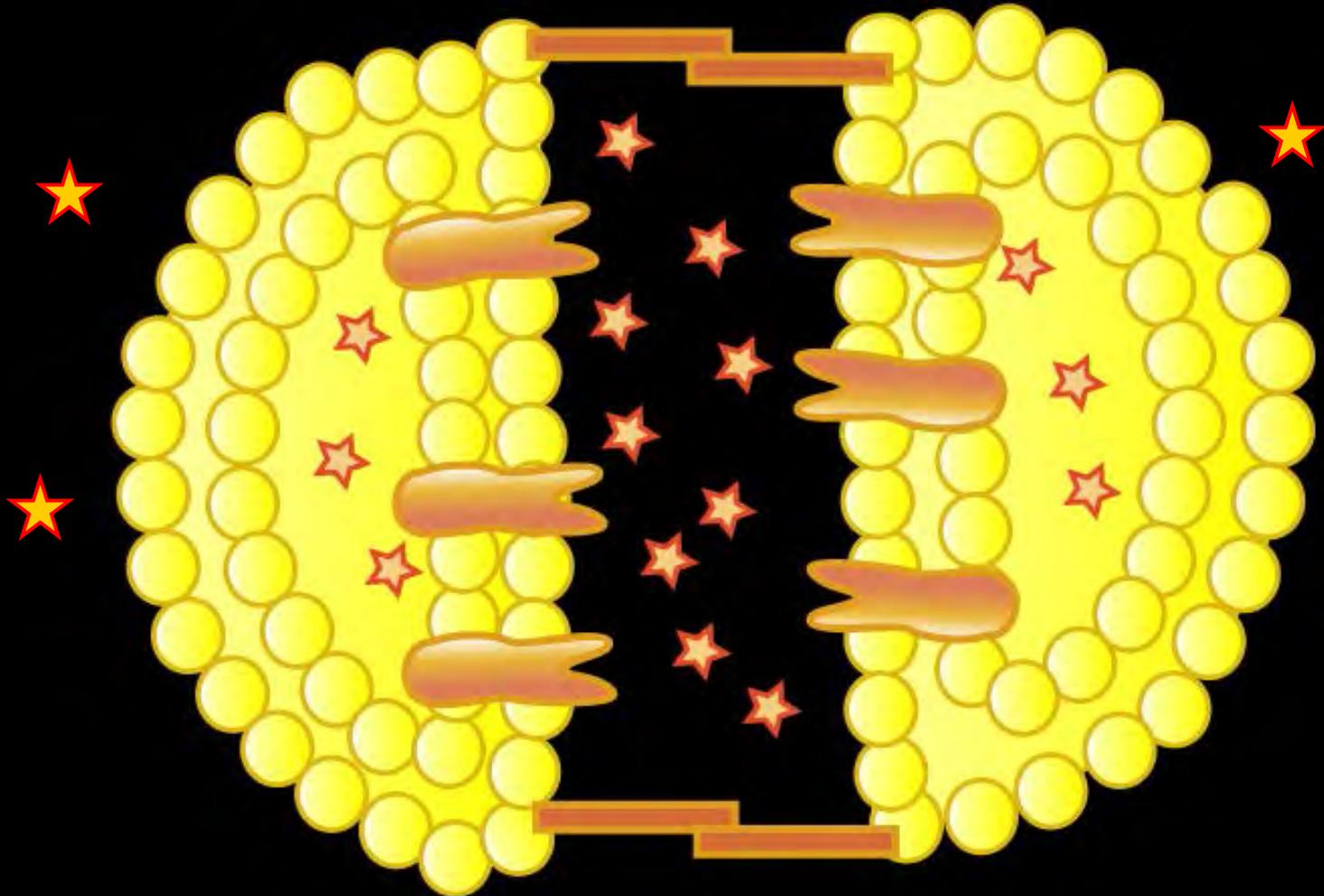


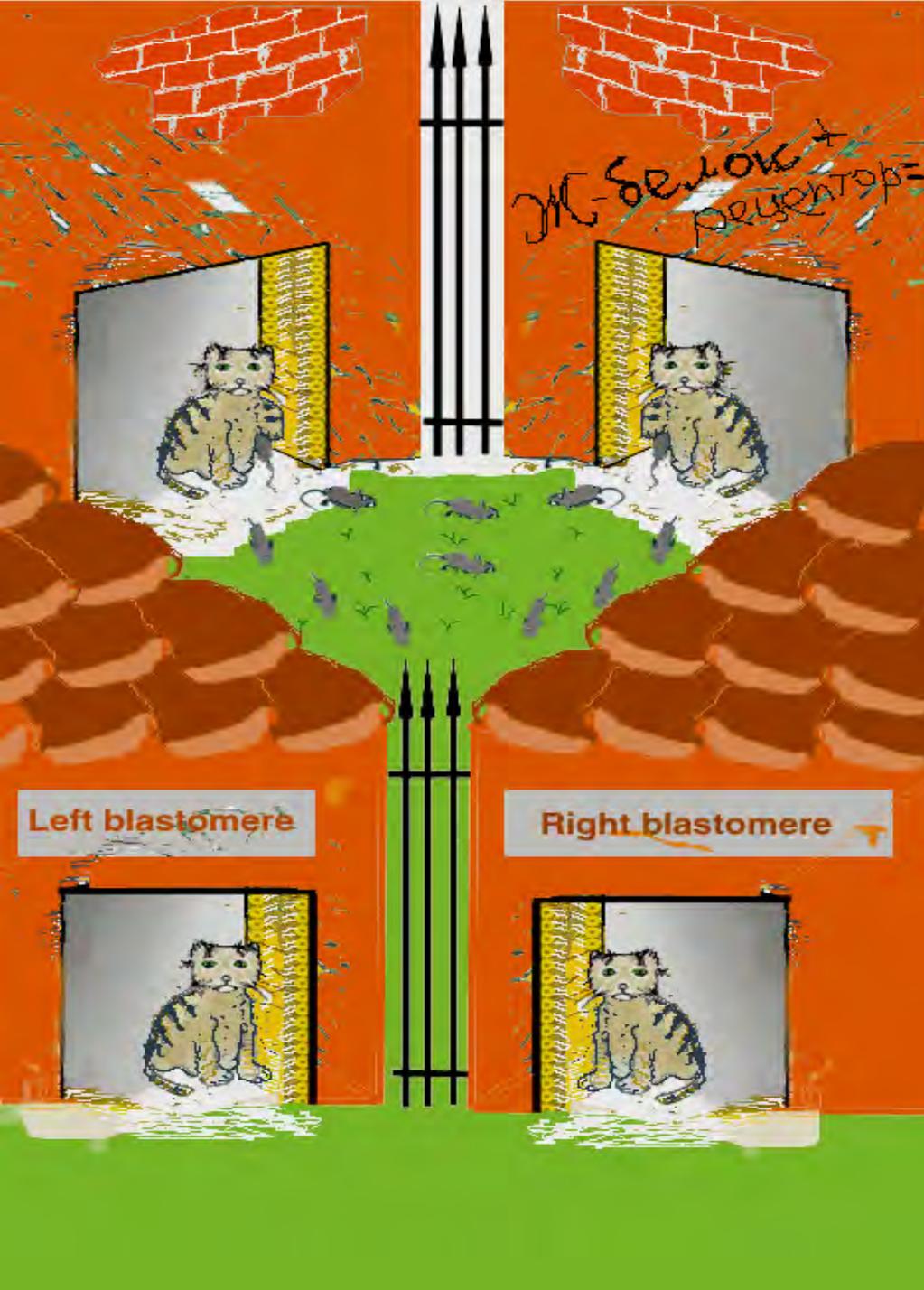
- *Ордината:* ток (нА);  
*абсцисса* – время с момента внесения DOI (с).



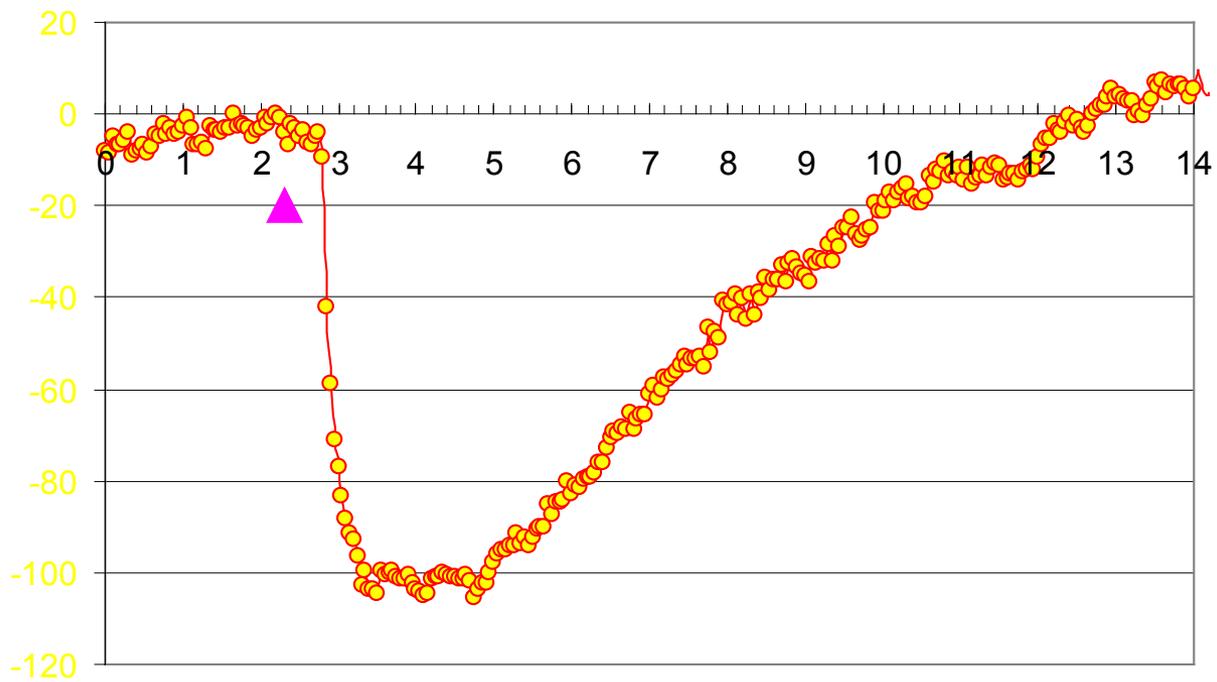
- А – флуоресценция 5-НТ**  
**Б – иммунофлуоресценция ганглиозидов**  
**В – электронная микроскопия гистохимической реакции на аденилатциклазу**

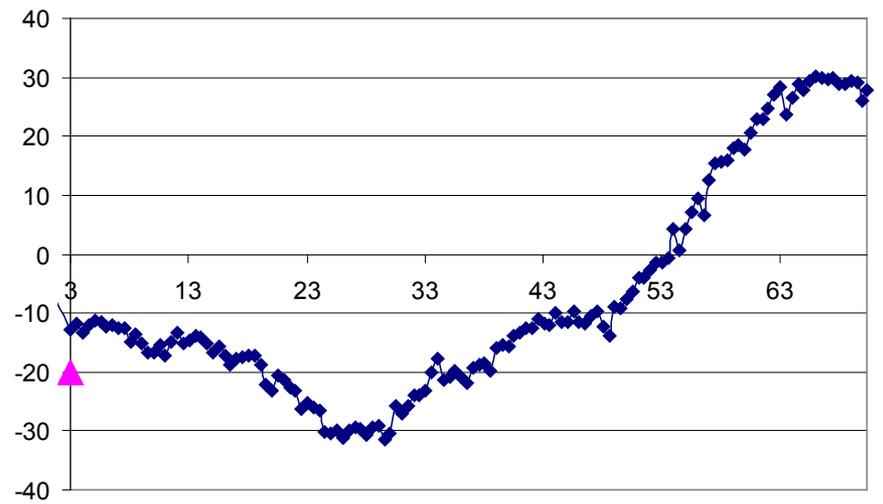
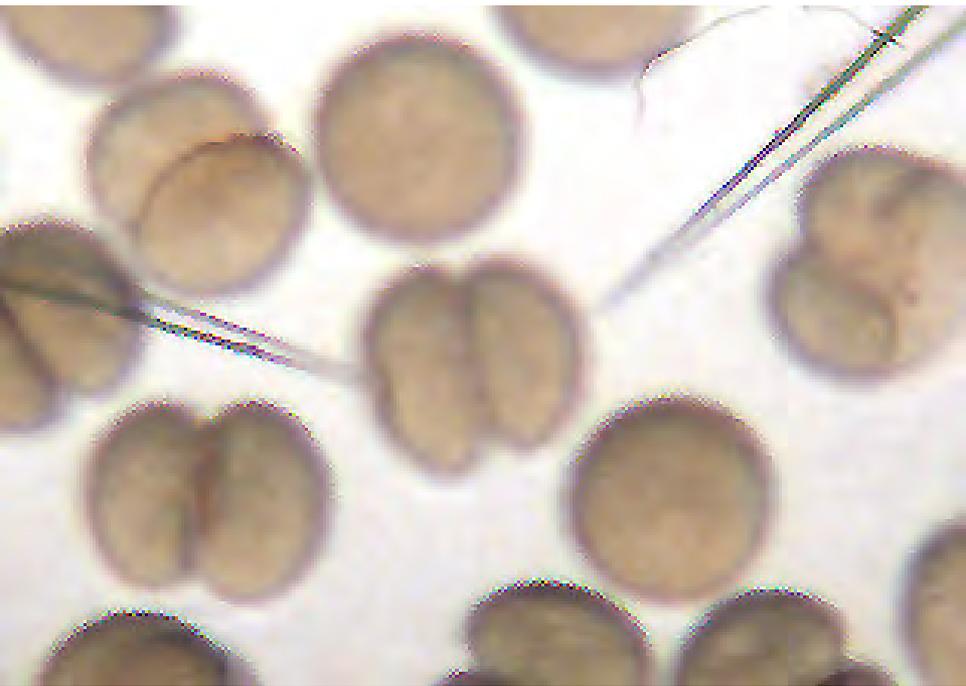
# Протосинапс



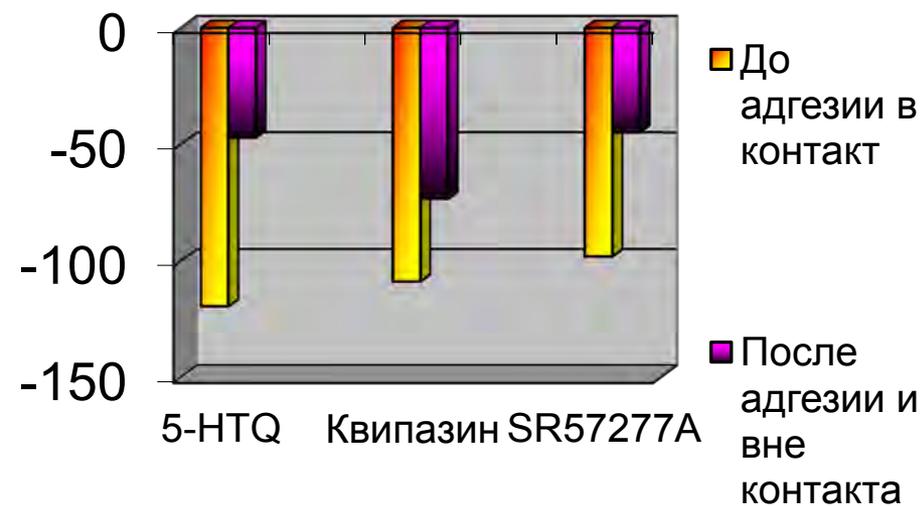


# Аллегория протосинапса

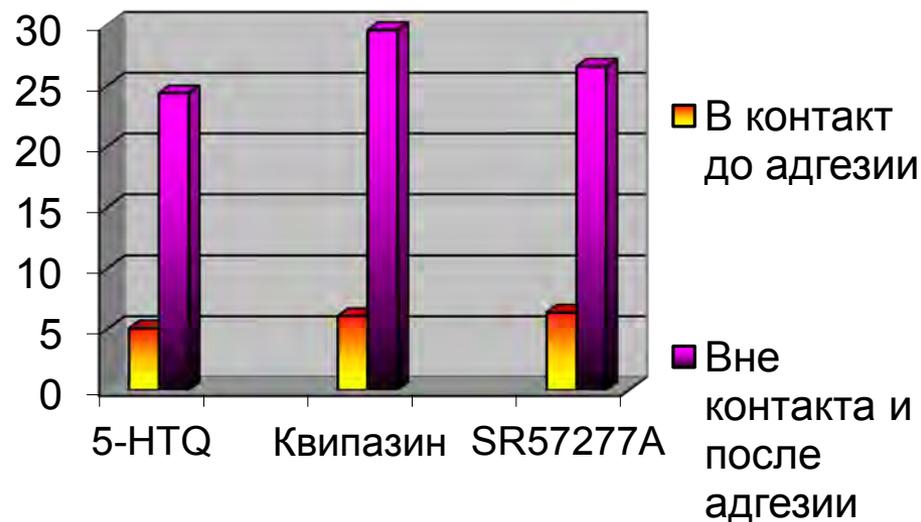




# Эффекты микроаппликации 5-НТЗ-агонистов

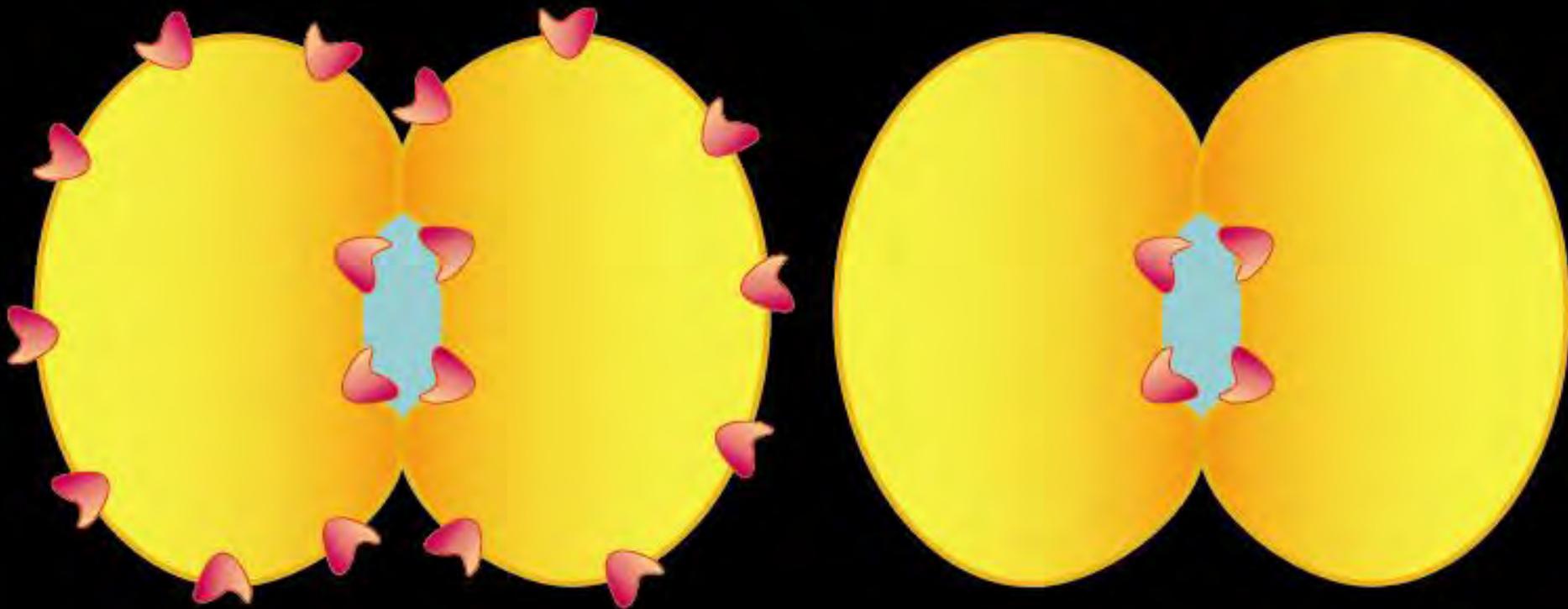


Ток

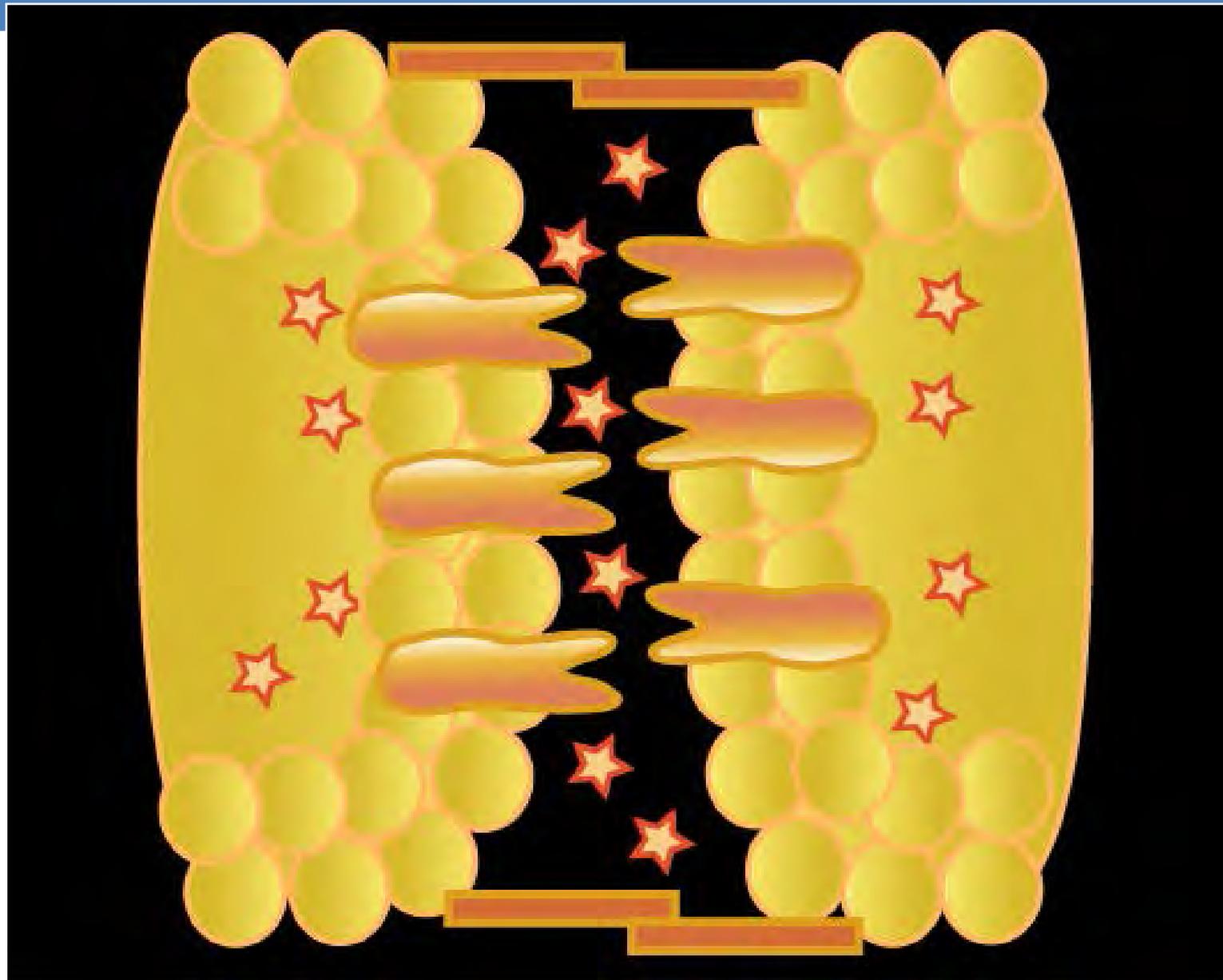


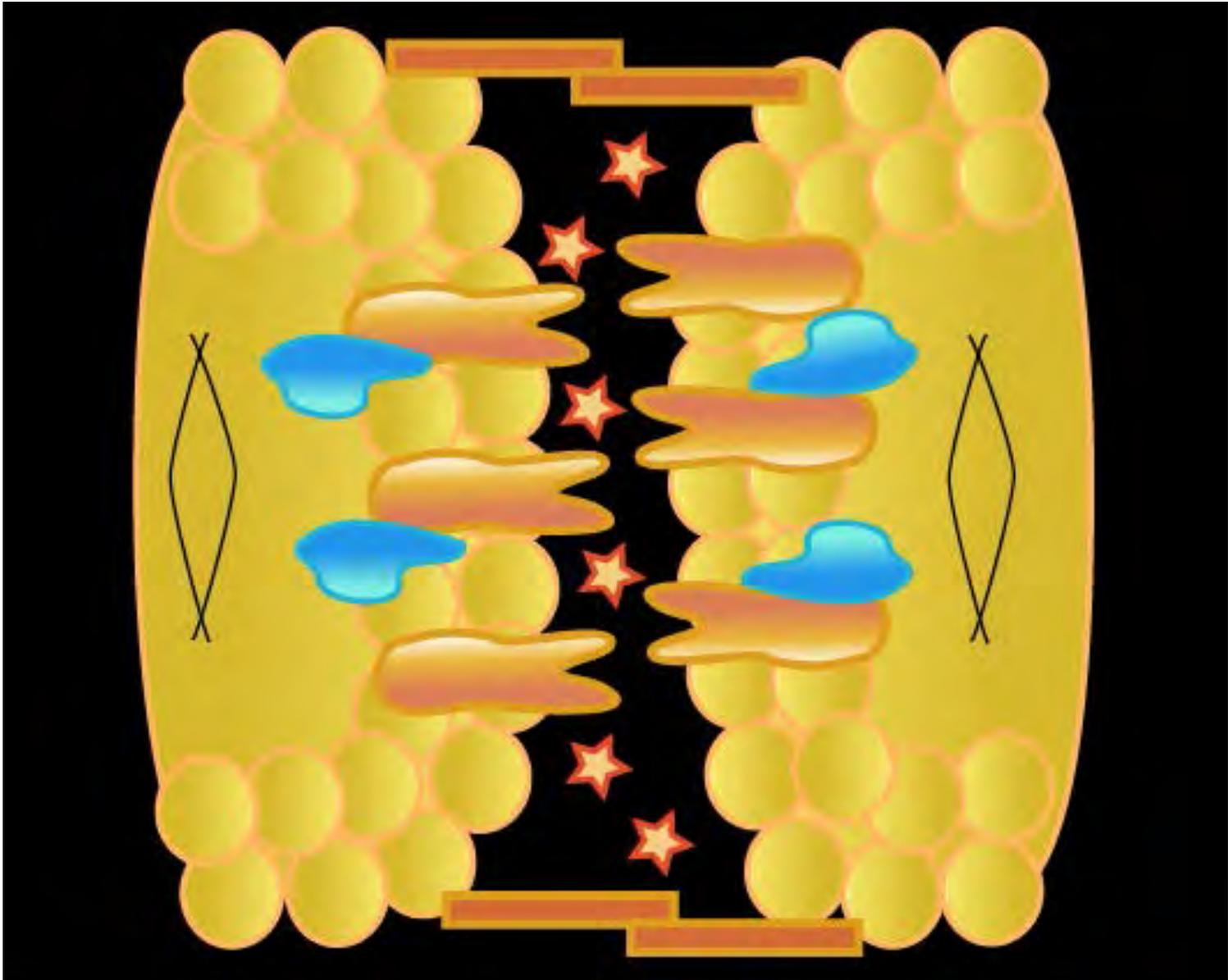
Латент

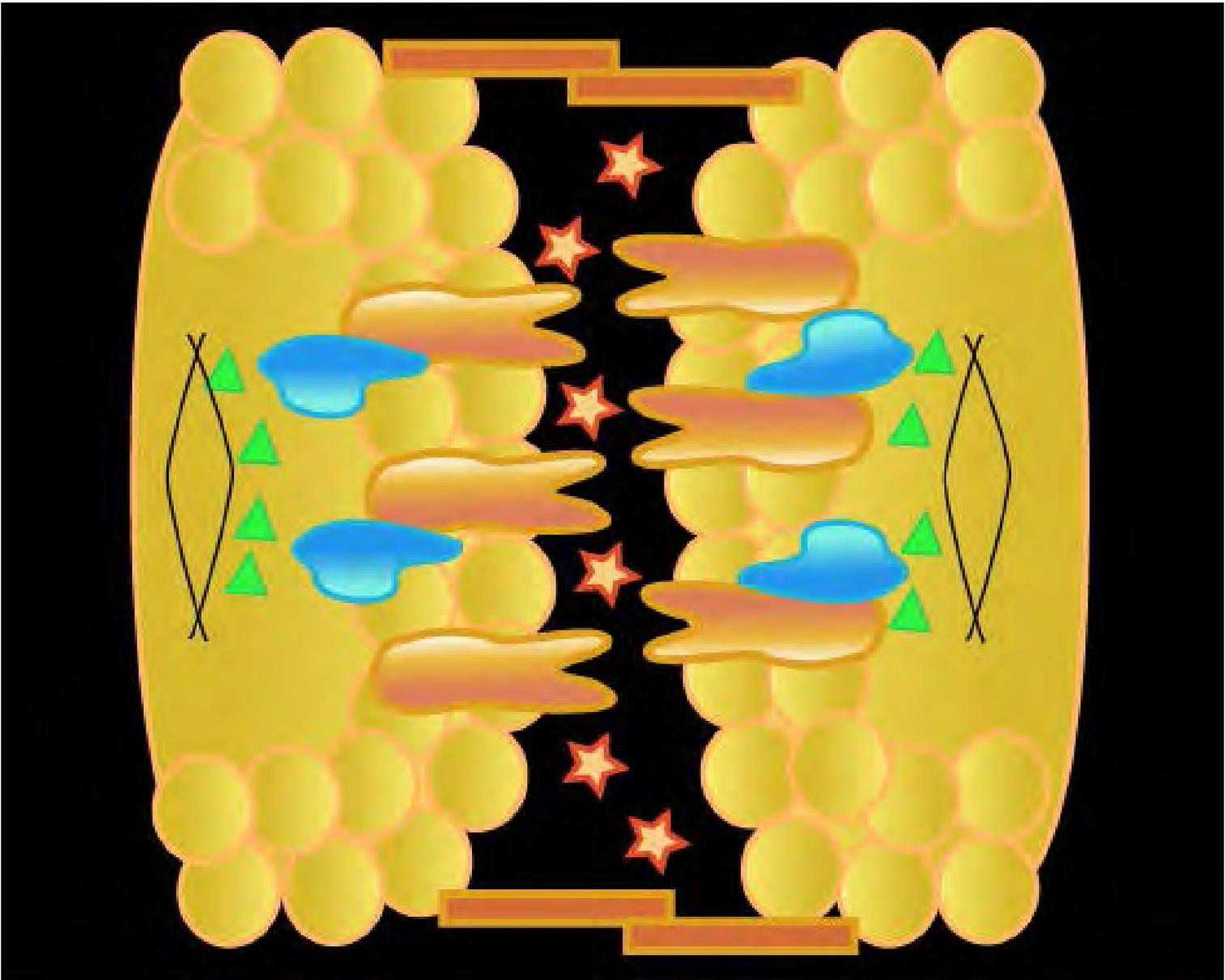
# Протосинапс у морского ежа

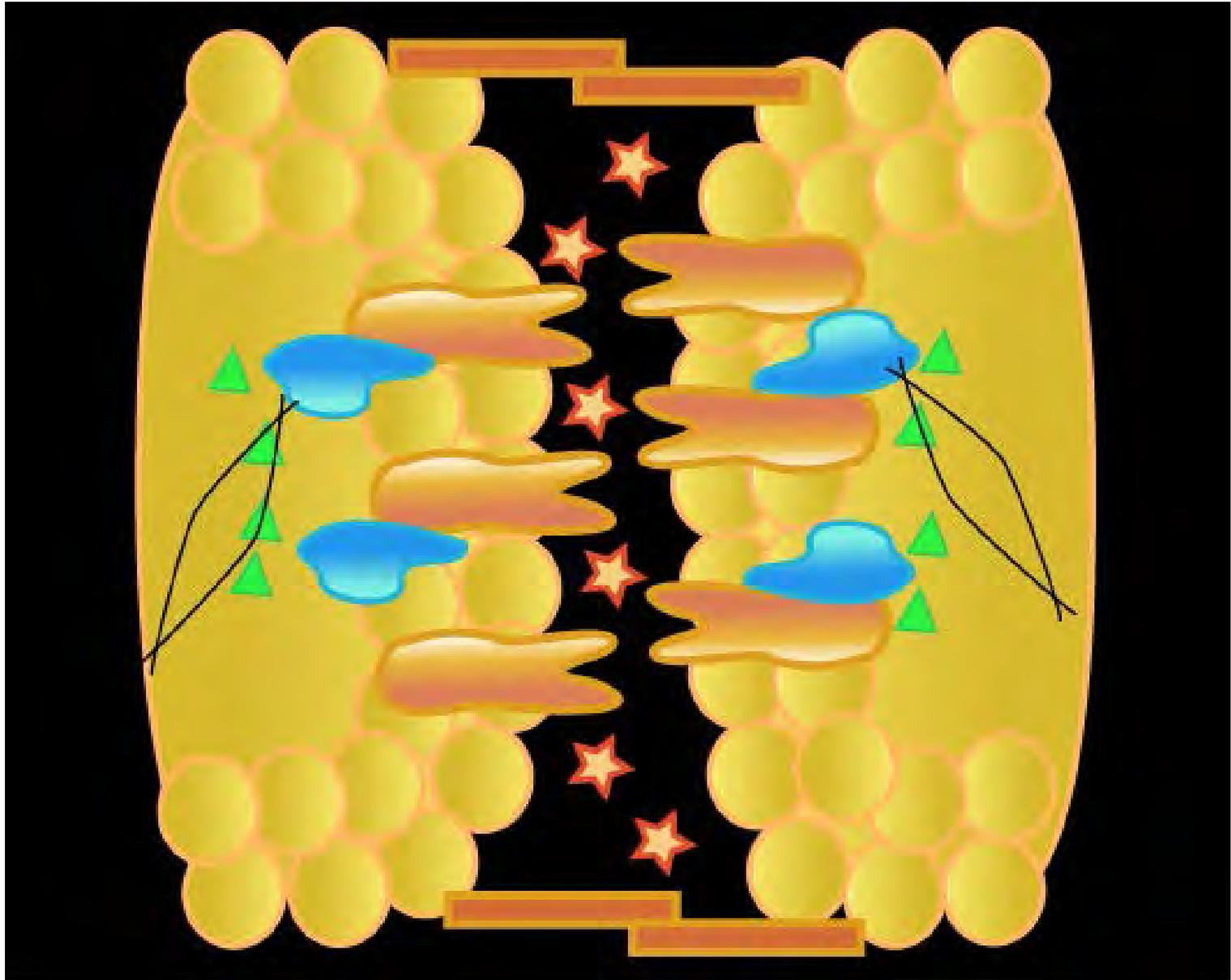


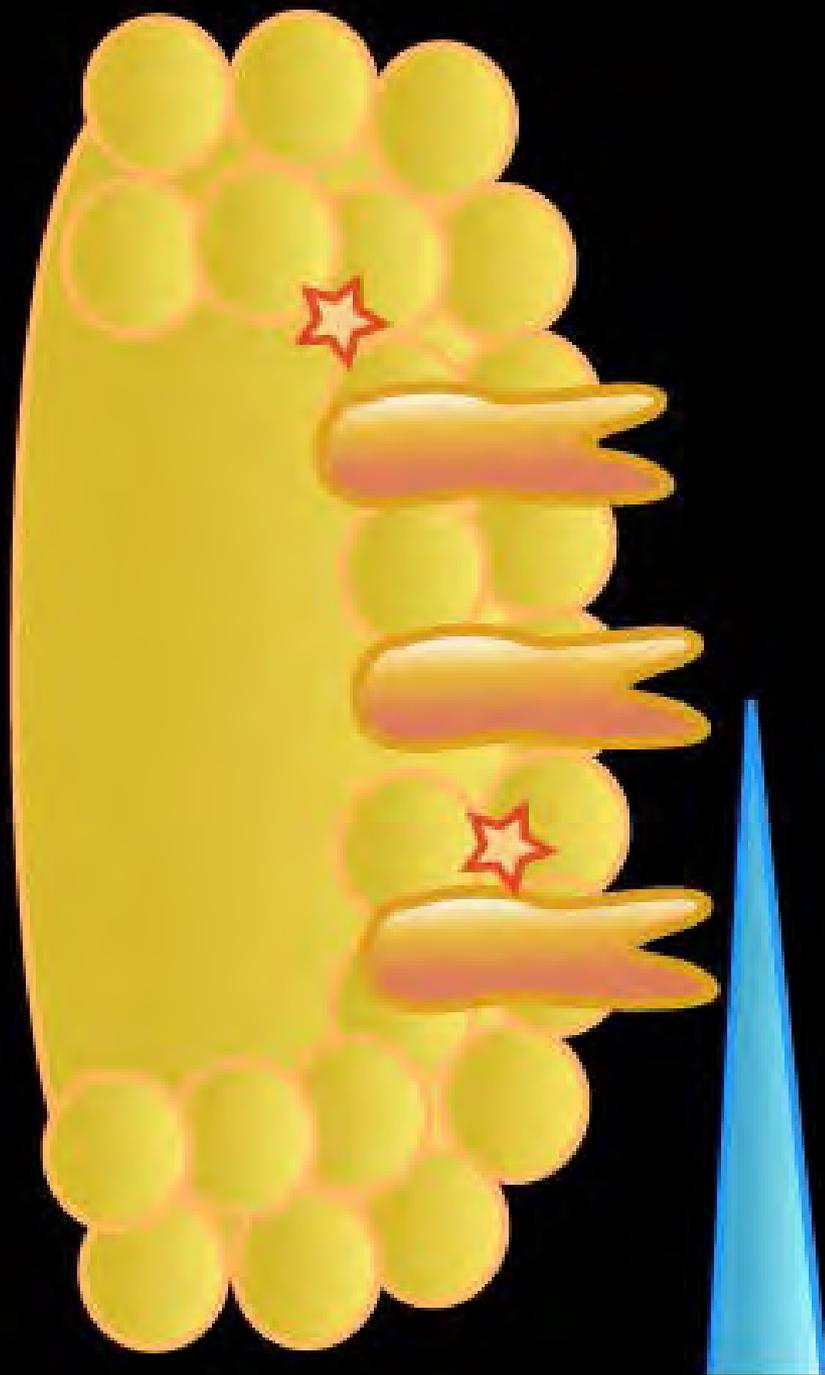
# Анализ опыта Дриша



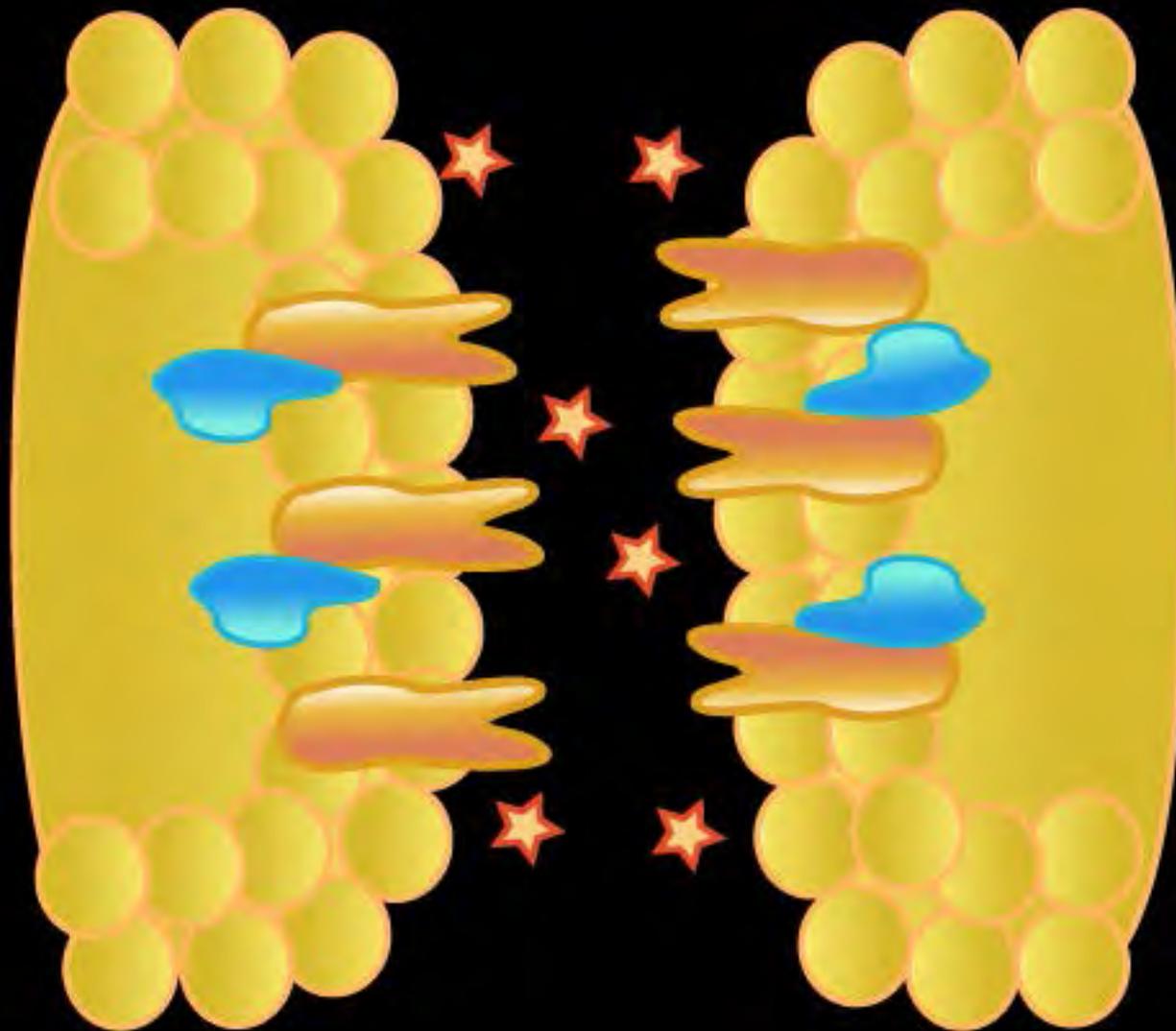


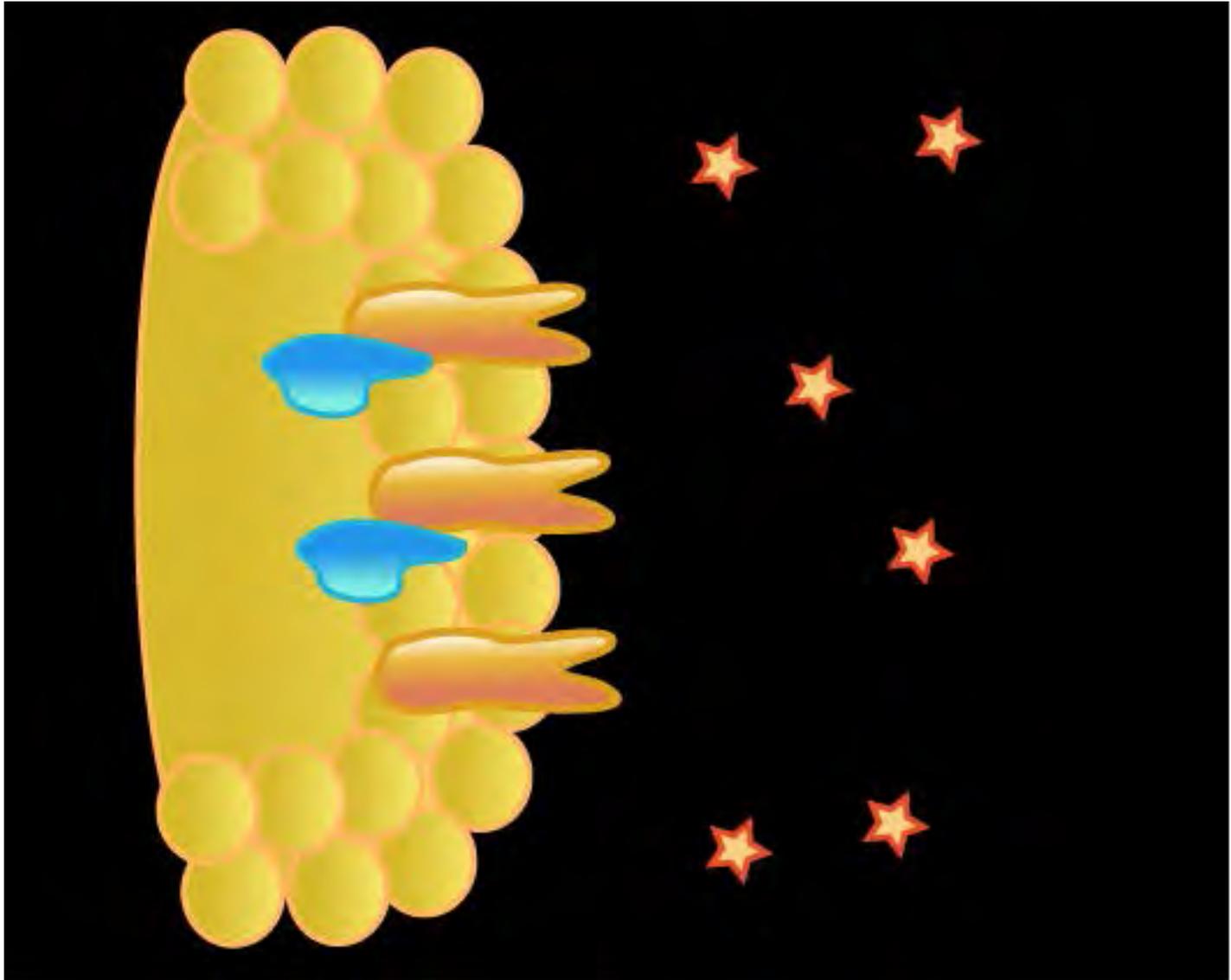


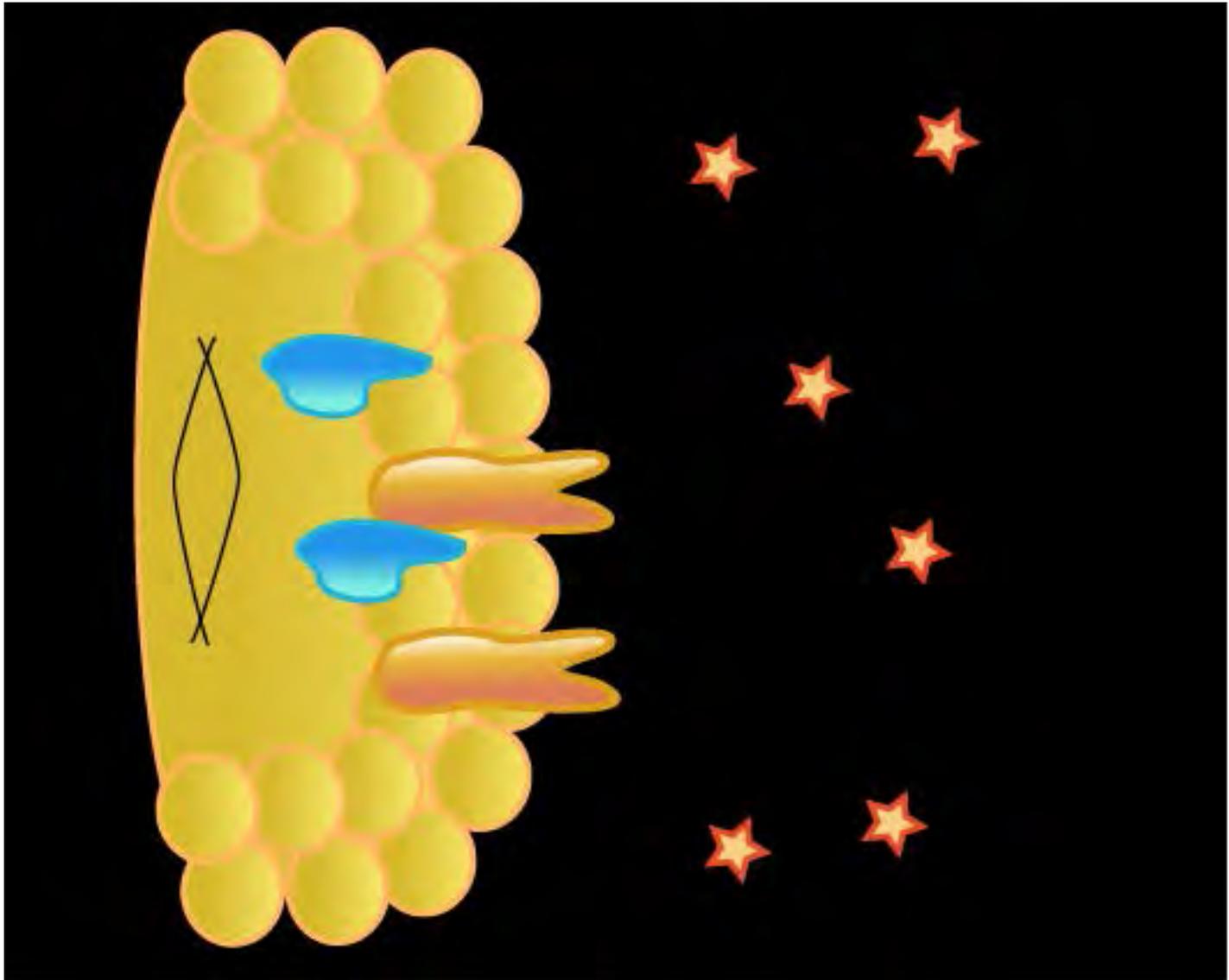




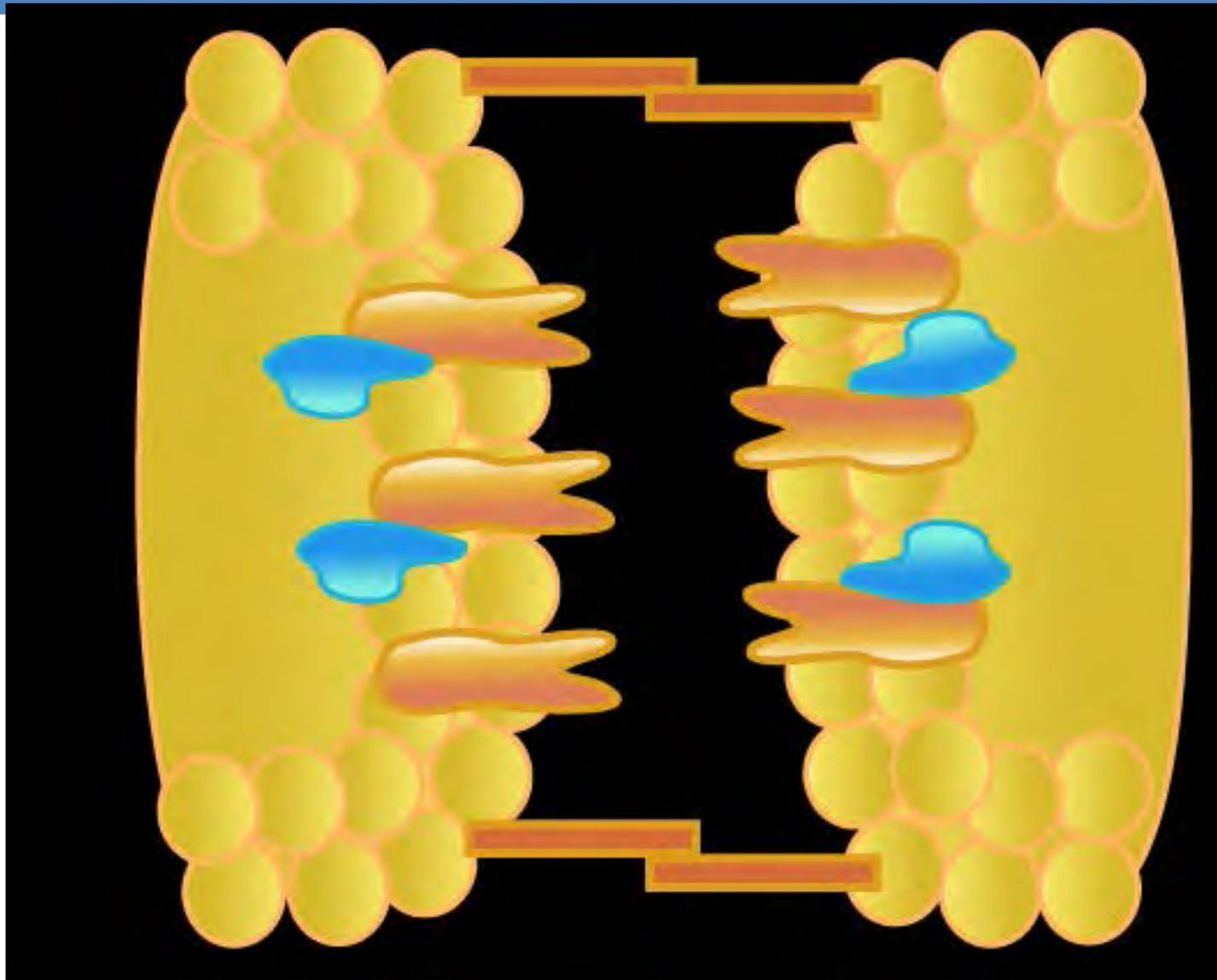
# «Ускоренный» опыт Дриша

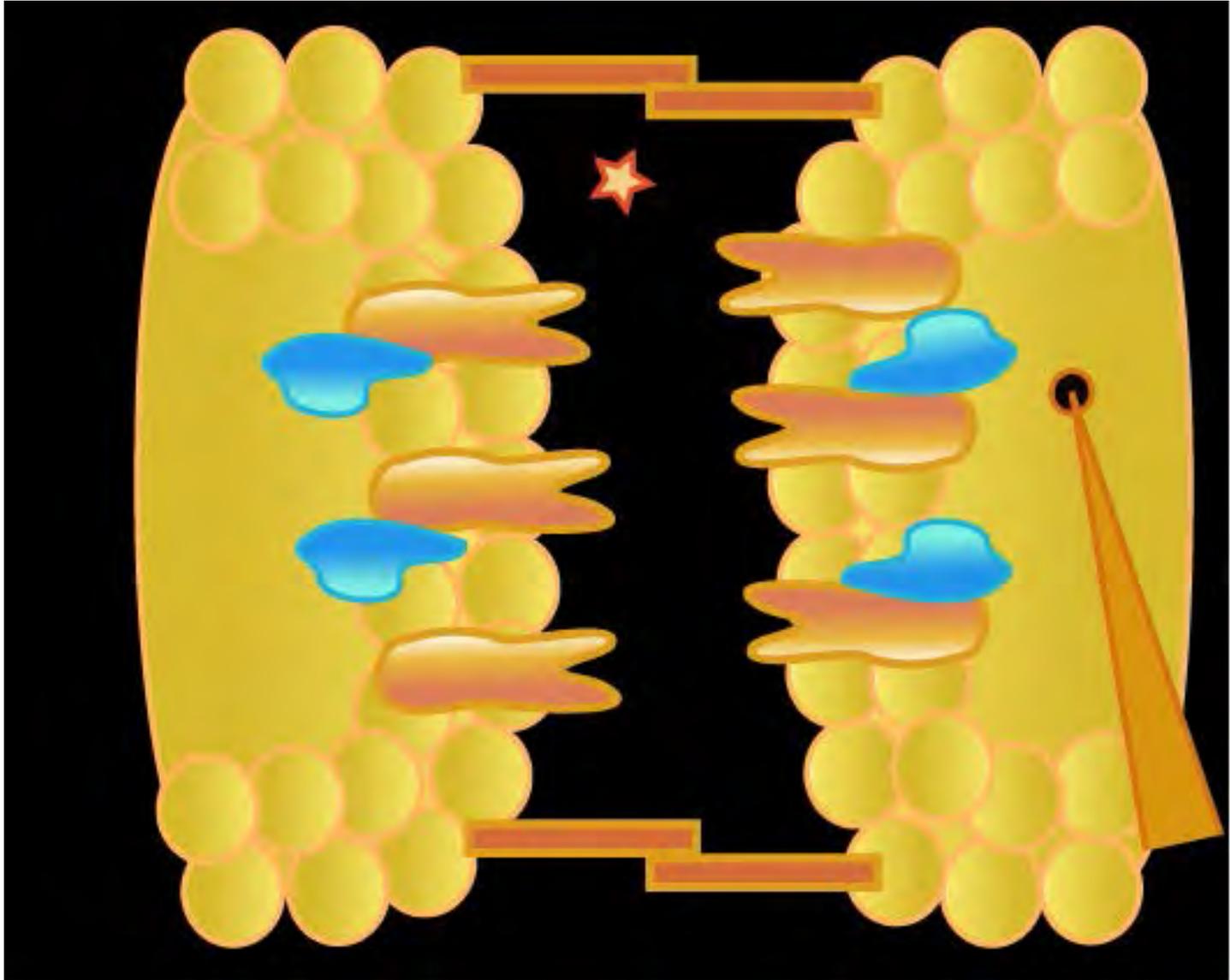


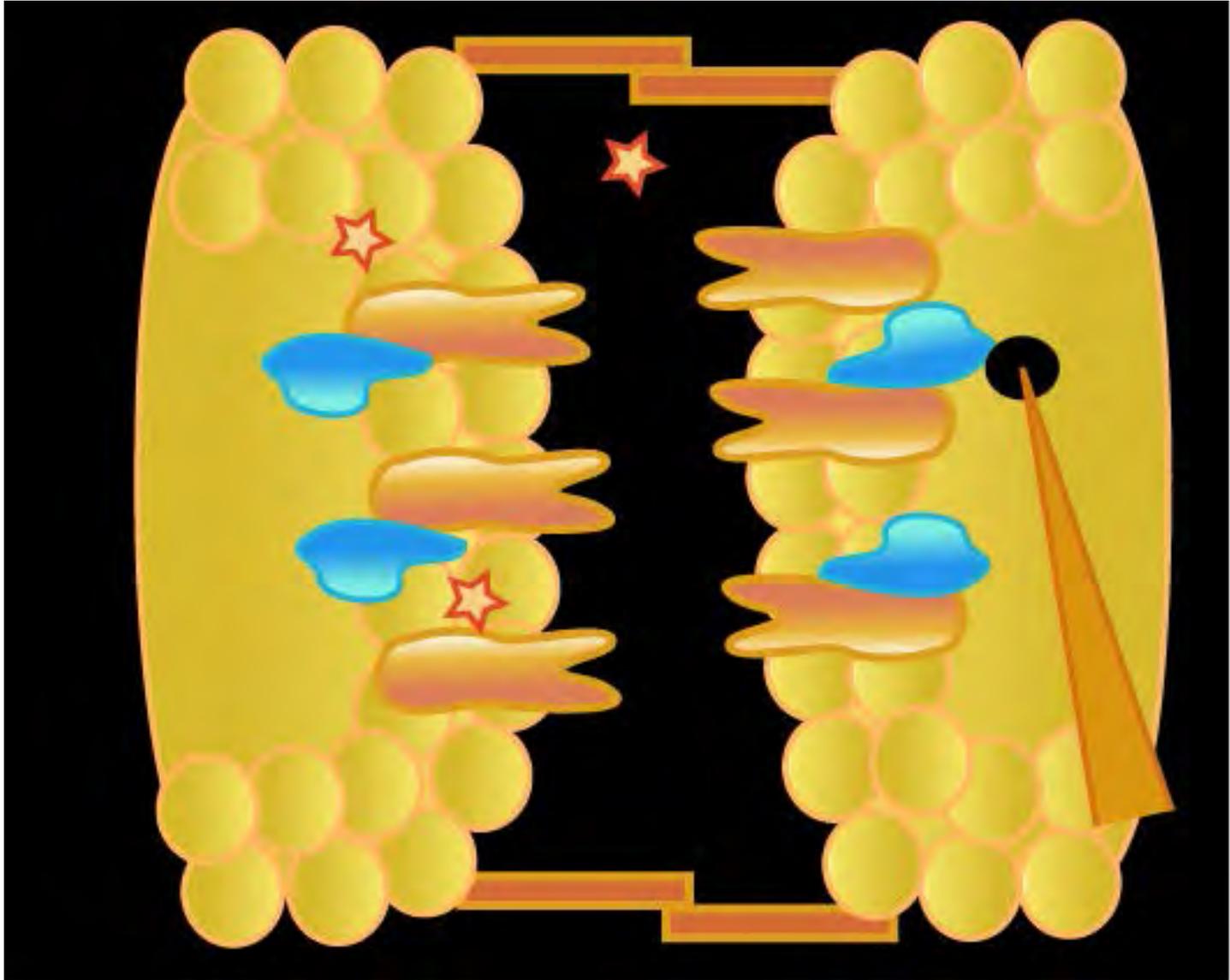


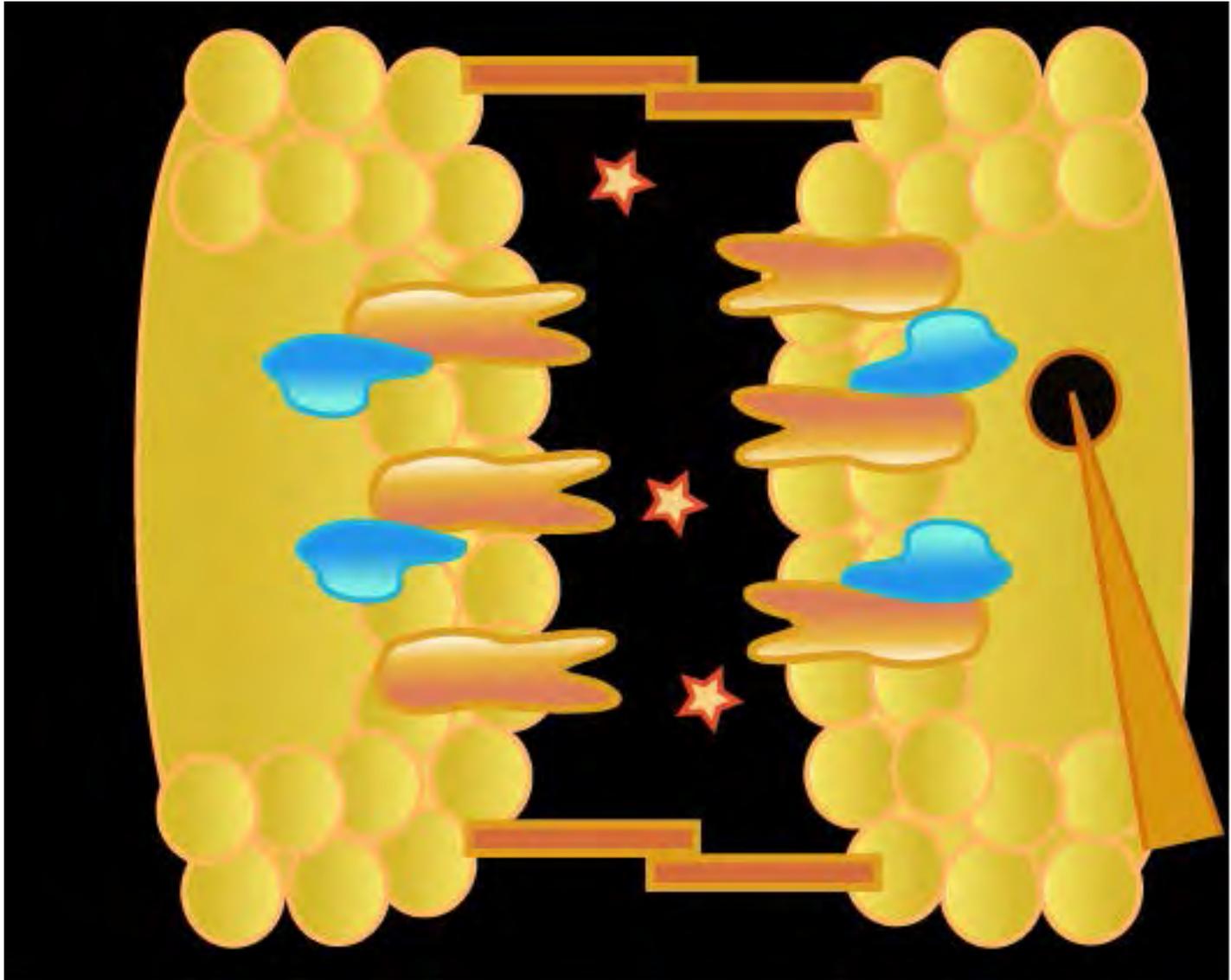


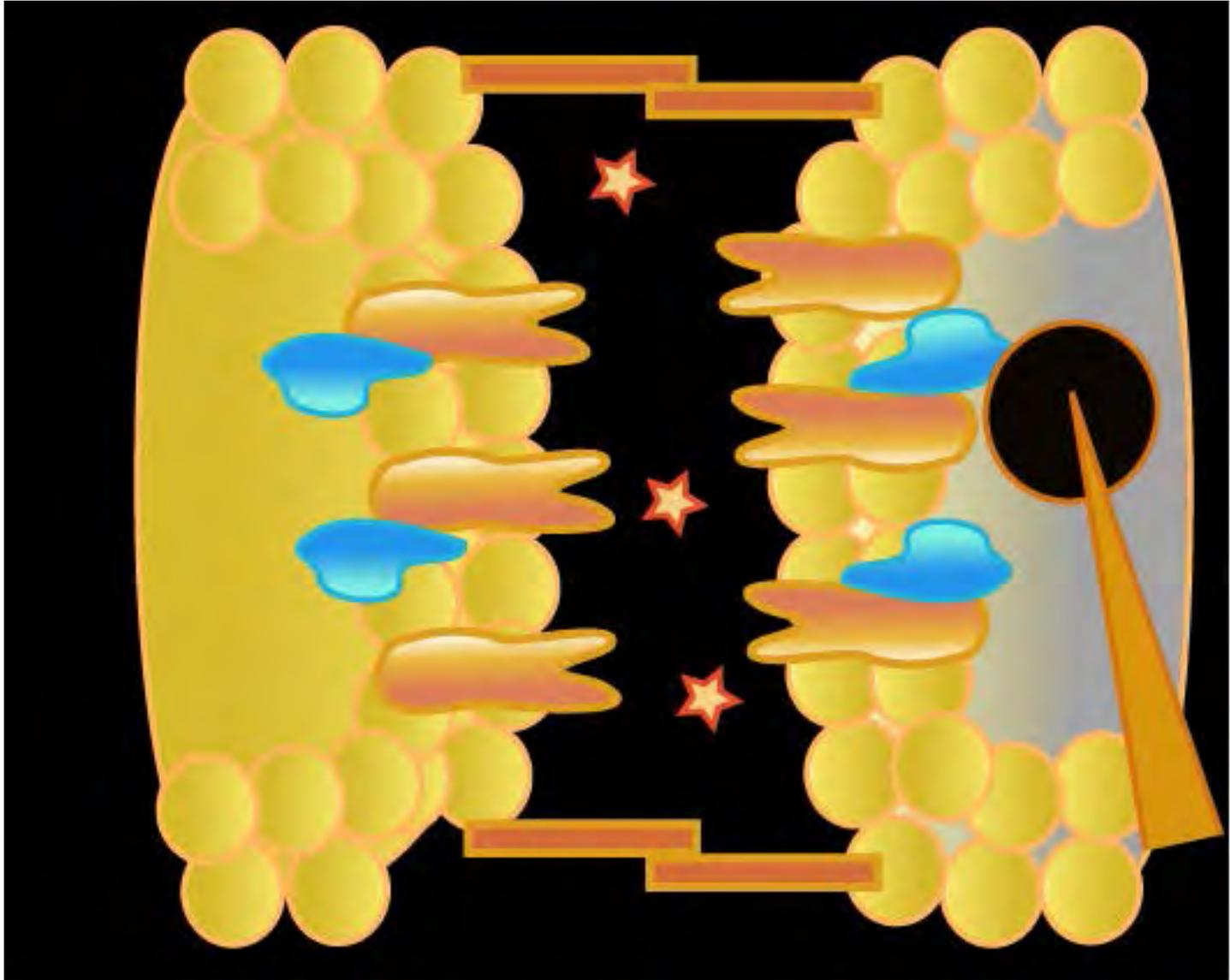
# Анализ опыта Ру

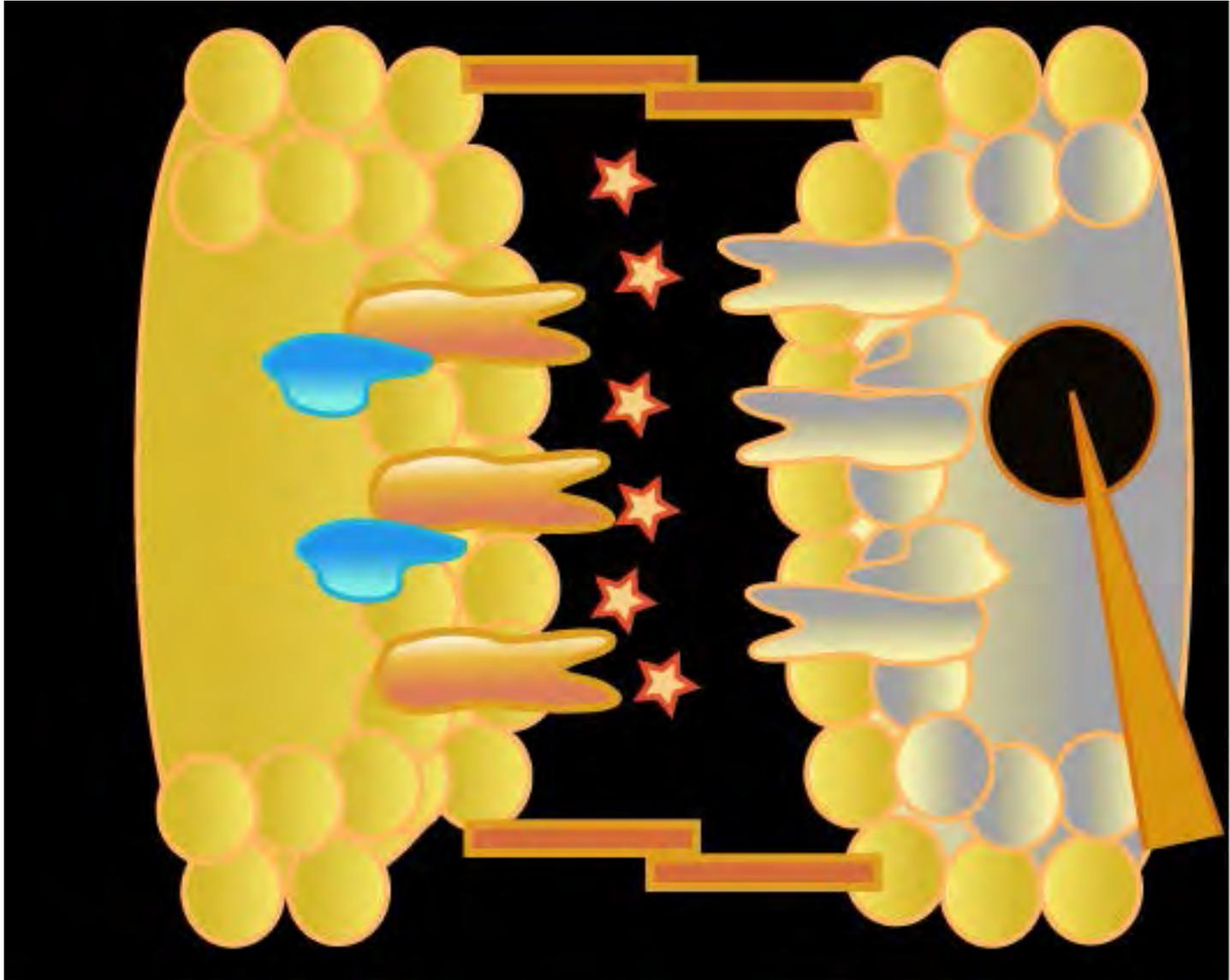


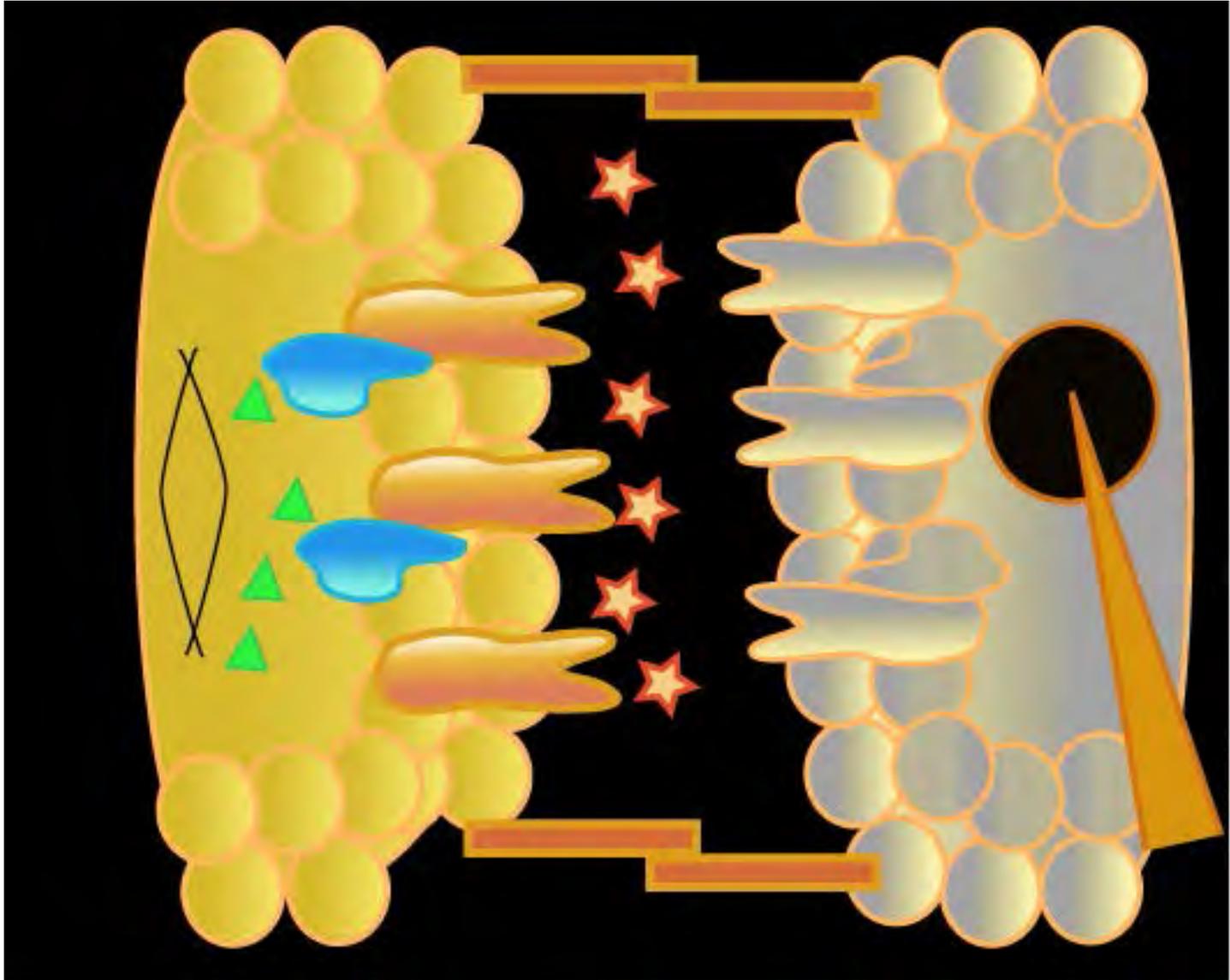


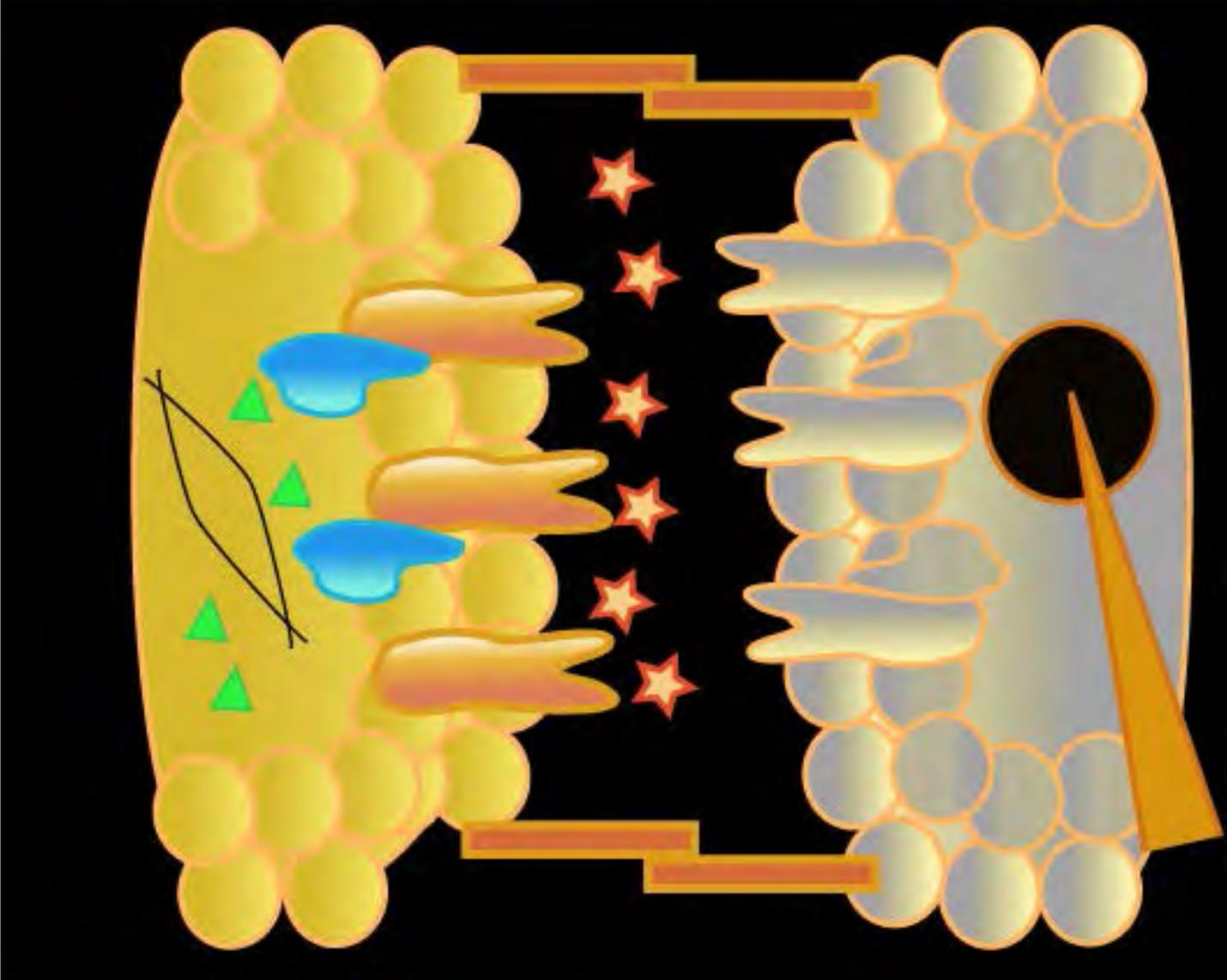




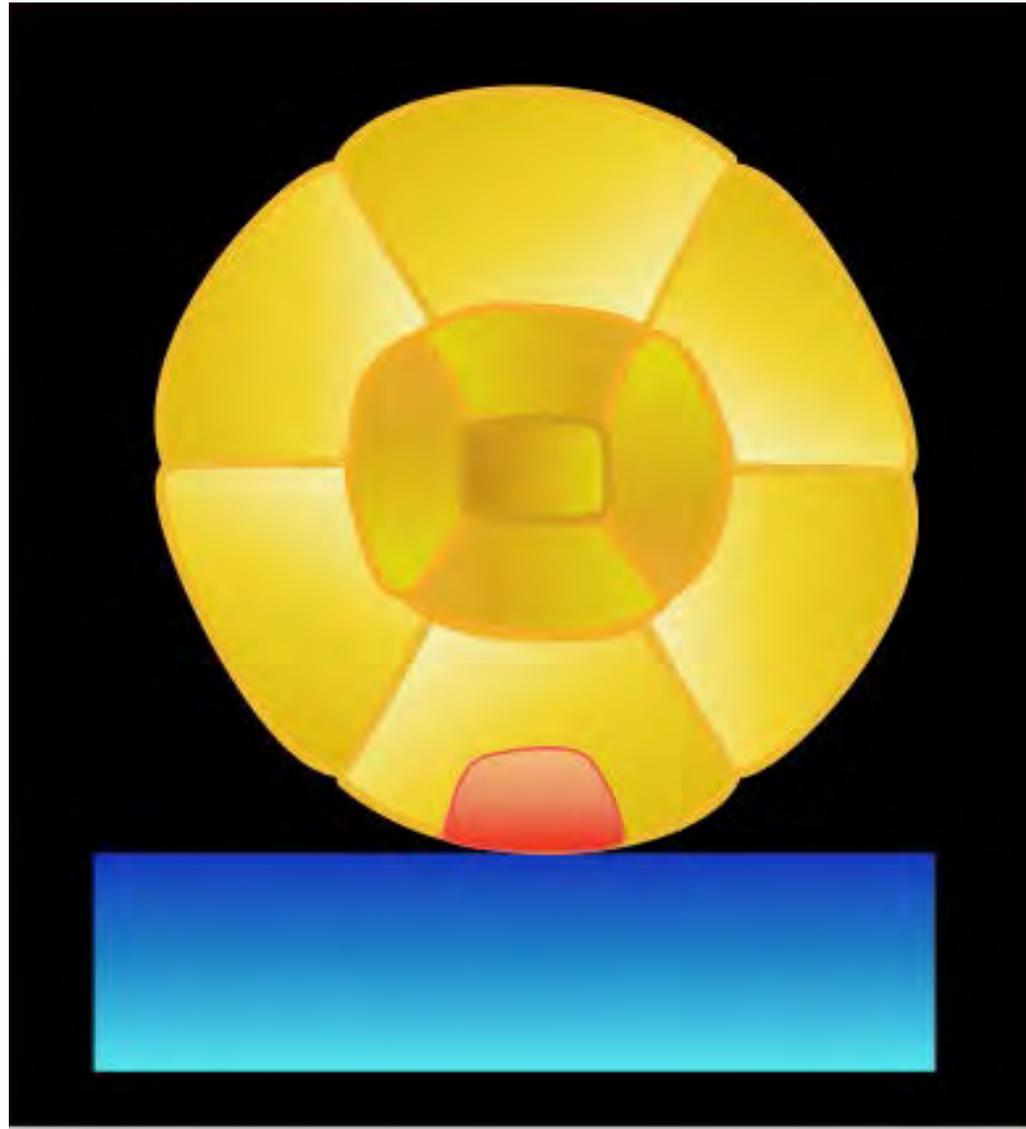


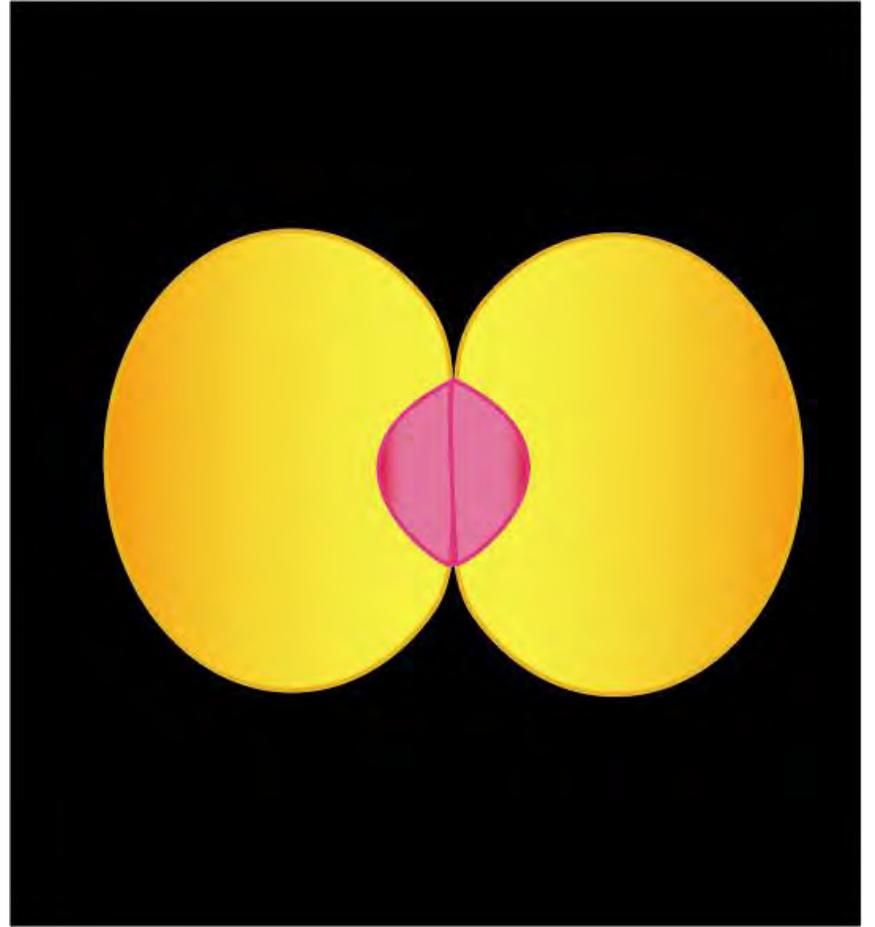
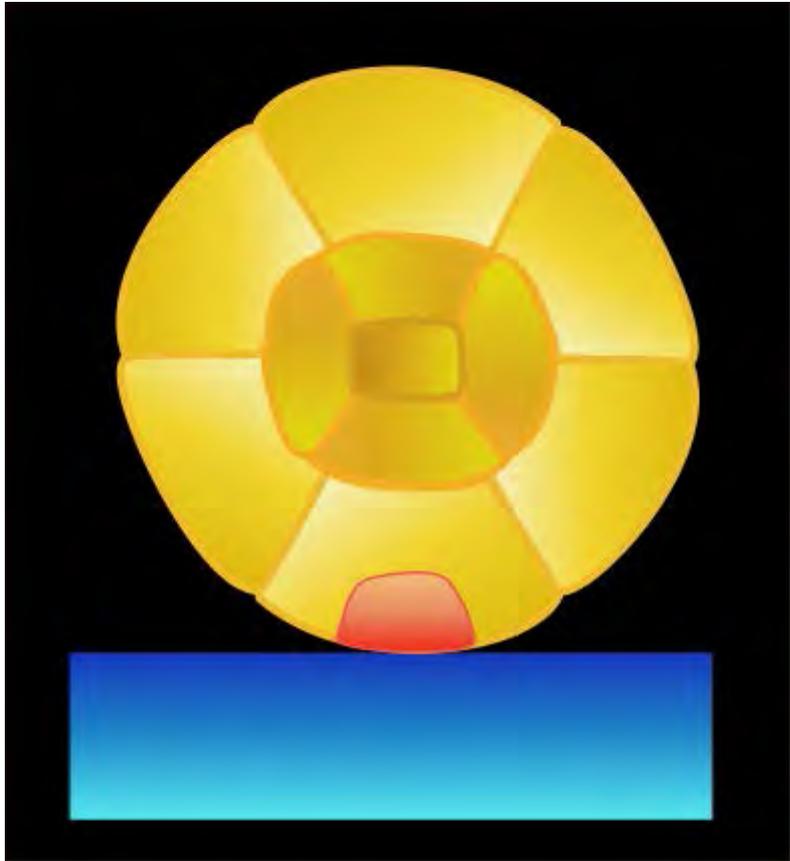






# Генерация асимметрии в зародыше по Wolpert, 1994





Ite! Missa est!