

Εμβρυολογία

και

Μοριακή

Βιολογία

Ανάπτυξης

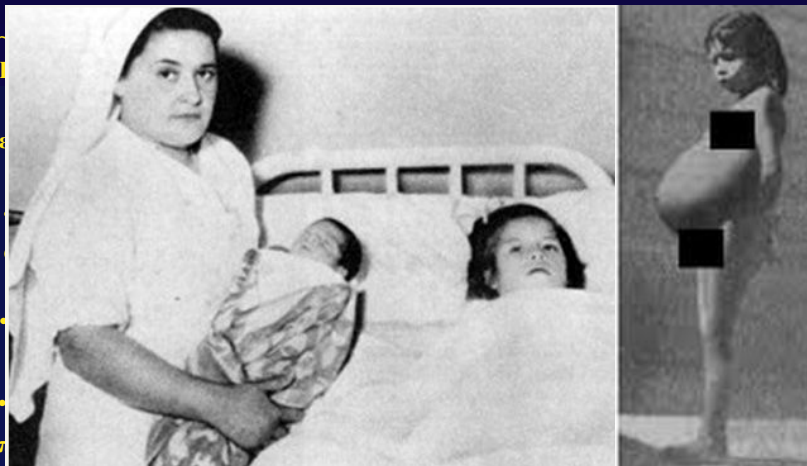


*Ενότητα 1: Οι βασικές αρχές I & II
με άλλα λόγια τί είναι η Βιολογία
Ανάπτυξης και πώς τη μελετάμε?*

Μ.Γρηγορίου 2024

1

Η αναπαραγωγή δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική:



• Ο ρόλος του περιβάλλοντος ιδιαίτερος σημαντικός !

2

2

Η αναπαραγωγή δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική:

<https://doi.org/10.1038/d41586-024-00943-7>



• Ο ρόλος του περιβάλλοντος ιδιαίτερος σημαντικός !

3

3

Η αναπαραγωγή δεν είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική:



• Ο ρόλος του περιβάλλοντος ιδιαίτερος σημαντικός !

4

4



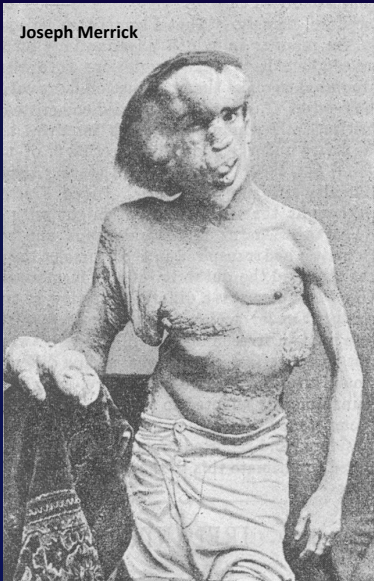
doi: <https://doi.org/10.1038/441586-024-00943-7>
Tgfb receptor 1/Gdf11

• Ο ρόλος του περιβάλλοντος ιδιαίτερος σημαντικός !

5

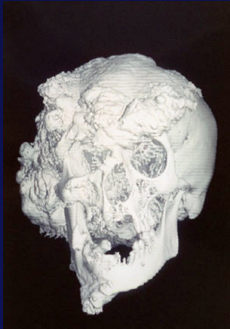
Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα

Joseph Merrick

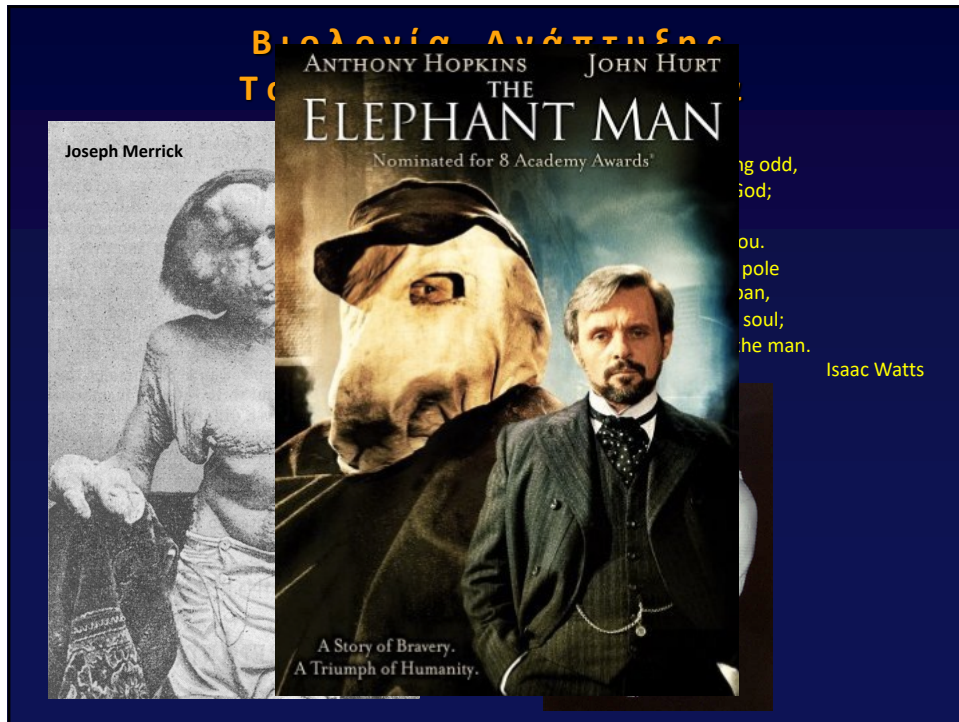


Tis true my form is something odd,
But blaming me is blaming God;
Could I create myself anew
I would not fail in pleasing you.
If I could reach from pole to pole
Or grasp the ocean with a span,
I would be measured by the soul;
The mind's the standard of the man.

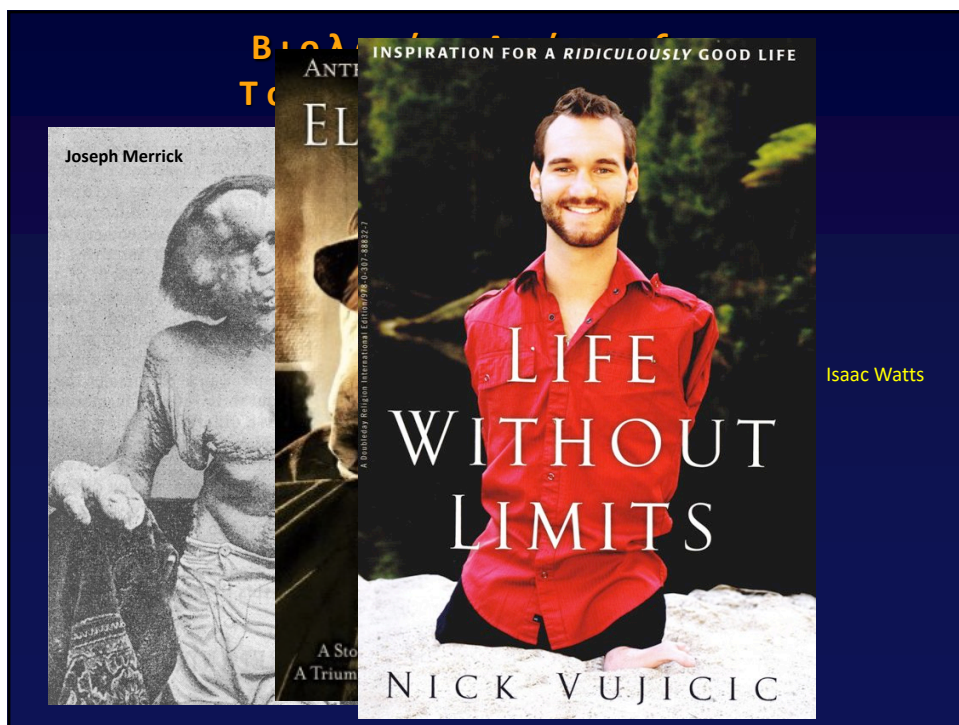
Isaac Watts



6

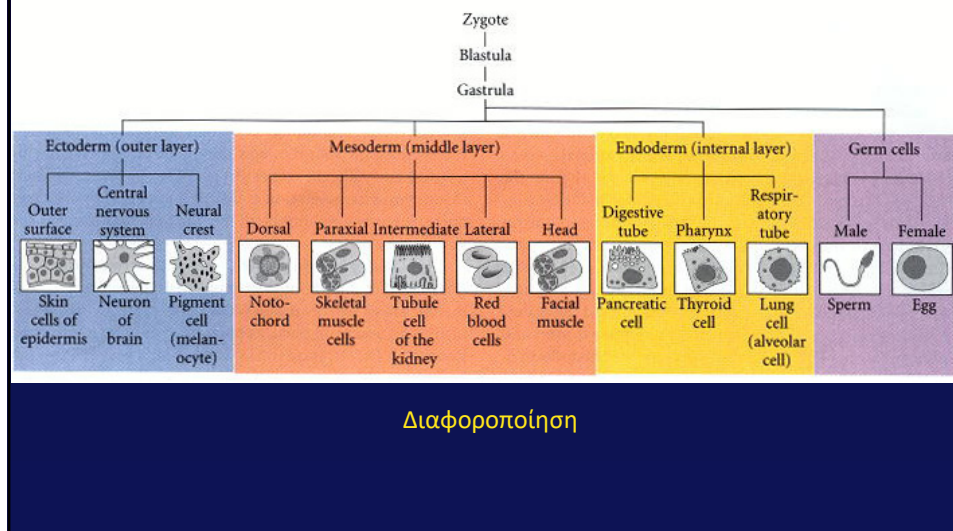


7



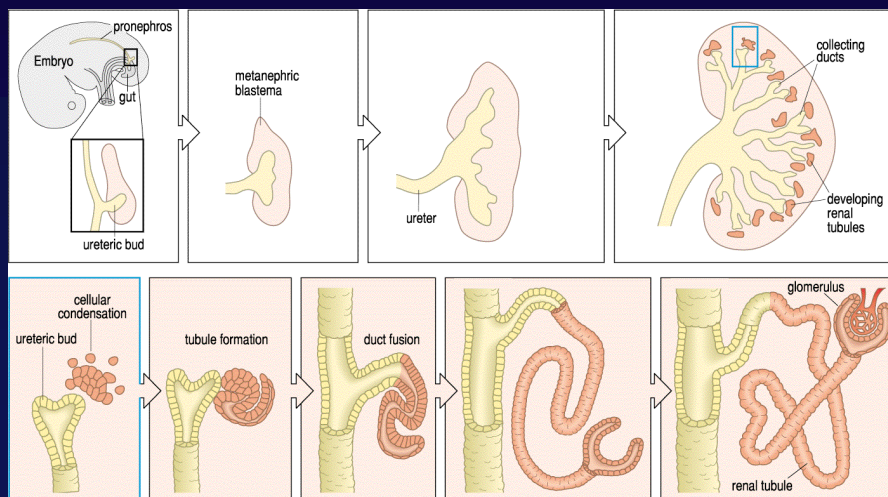
8

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



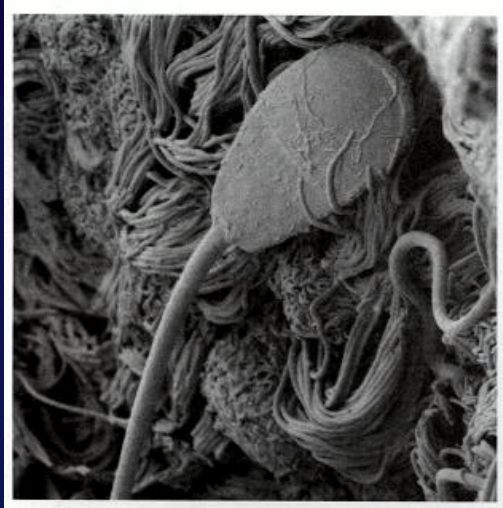
9

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



10

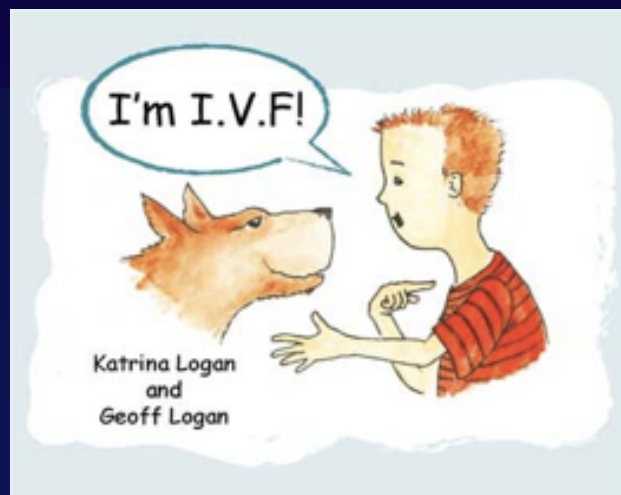
Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Αναπαραγωγή

11

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Αναπαραγωγή

12

Box 2. A history of ART

1785. Conception by artificial insemination in dogs by Lazzaro Spallanzani (University of Pavia, Italy) (Spallanzani, 1785).

1900s. Artificial insemination techniques for use in horses, cattle and sheep developed by Ilya Ivanov (State Veterinary Institute, Russia).

1940s. Techniques to freeze and store animal spermatozoa developed by Chris Polge (University of Cambridge, UK).

1934. IVF of rabbit oocytes followed by transfer into the fallopian tubes by George Pincus and Ernst Enzmann (Harvard University, USA).

1954. First characterization of human pre-implantation embryos (at the 2-cell and later stages) by Arthur Hertig and John Rock (Free Hospital for Women in Brookline, USA).

1957. Development of superovulation in mice using gonadotrophins by Robert Edwards and Ruth Fowler (University of Cambridge, UK).

1959. In vitro fertilized rabbit oocytes capable of proceeding to live birth were demonstrated by Min Chueh Chang (Worcester Foundation, USA).

1969. Early stages of IVF of human eggs by Robert Edwards and colleagues (University of Cambridge, UK).

1970. Successful culture of human cleavage stage embryos by Robert Edwards and colleagues (University of Cambridge, UK).

1972. Cryopreservation techniques for the long-term storage of pre-implantation mammalian embryos by David Whittingham (Oak Ridge National Laboratory, USA).

1978. Birth of the first child conceived via IVF reported by Robert Edwards and Patrick Steptoe (Oldham General Hospital and Bourn Hall Clinic).

1992. Development and successful use of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) to assist with infertility by Gianpiero Palermo, Paul Devroey and Andre Van Steirteghem (Vrije Universiteit Brussel, Belgium).

1998. Development of serum-free culture methods for human blastocysts in vitro by David Gardner and colleagues (University of Oxford, UK).

Assisted Reproduction Techniques

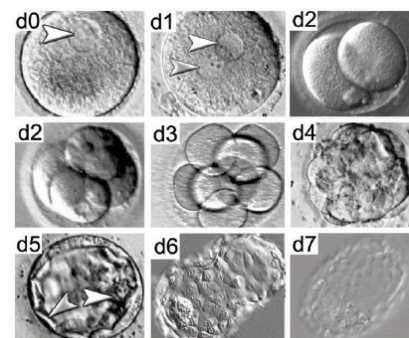


Fig. 1. Stages of human pre-implantation embryo development. Phase-contrast images of human embryo development from day (d) 0 to day 7. Following fertilization, embryos undergo a series of mitotic cell divisions. Arrowheads in d0 and d1 indicate pronuclei. On or around day 4, the embryo compacts, resulting in the formation of a morula that consists of cells (or blastomeres) in a compact cluster contained within the zona pellucida (the glycoprotein layer that surrounds the embryo). The blastocyst, which forms on day 5, is a fluid-filled structure composed of an inner cell mass (white arrowhead) and trophoblast (gray arrowhead). On day 6, the blastocyst 'hatches' from the zona pellucida and it is ready to implant into the uterine wall on day 7.

13

Box 2**1785.**

Spallanzani

and Spallanzani

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

Russia

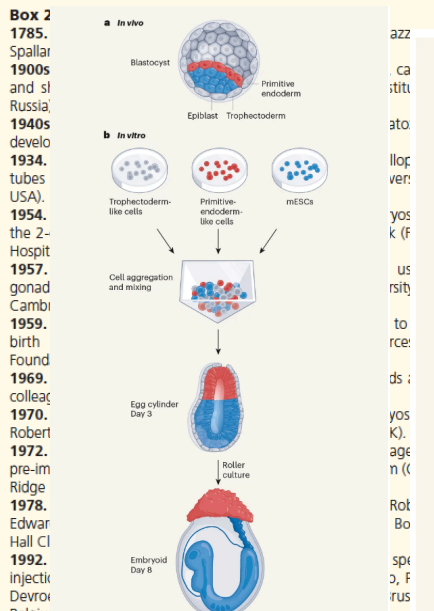
Russia

Russia

Russia

Russia

Russia



1998. Development of serum-free culture methods for human blastocysts in vitro by David Gardner and colleagues (University of Oxford, UK).

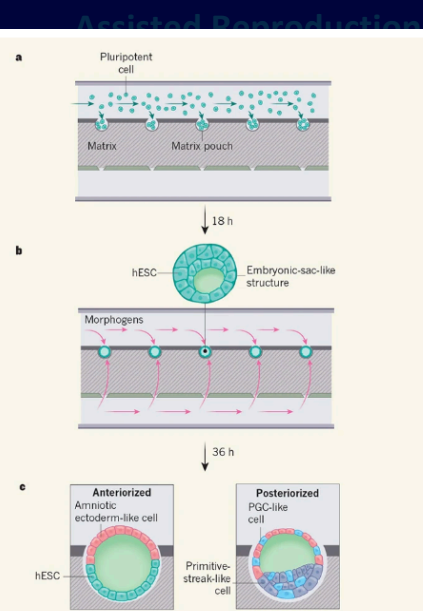


Figure 1 | Modelling human embryo development during implantation. a, Zheng et al.² developed a

14

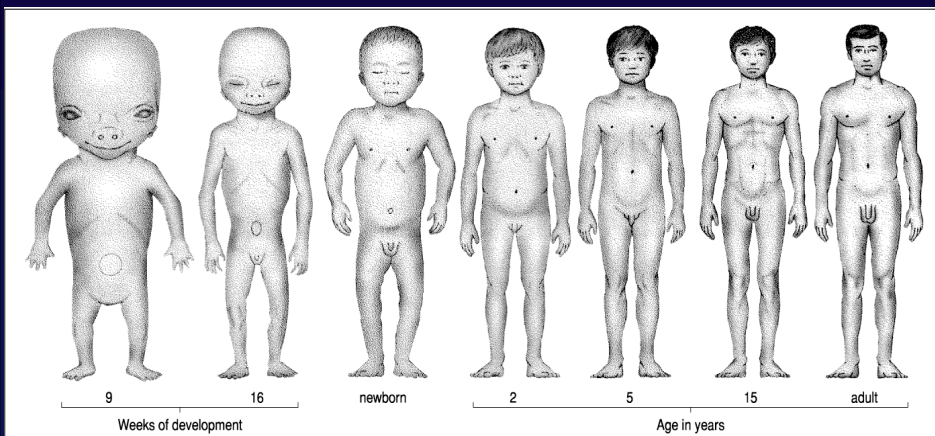
Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Las meninas, Diego Velazquez 1656

15

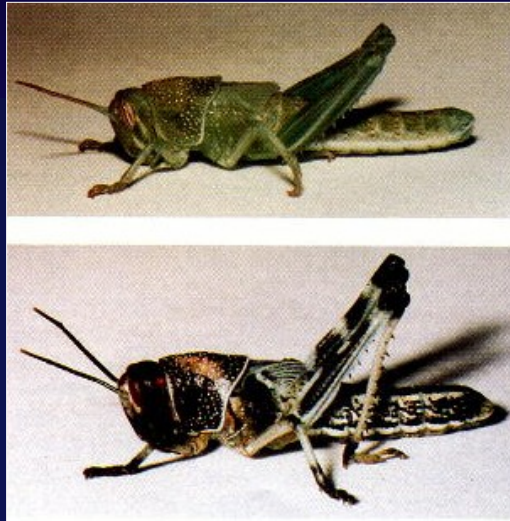
Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Αύξηση

16

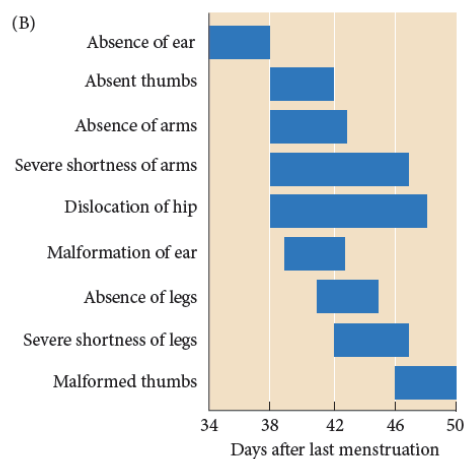
Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Περιβάλλον

17

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα

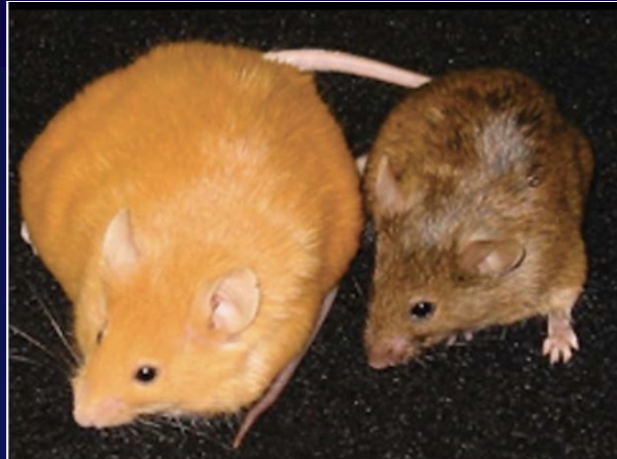


Περιβάλλον

18

We used to think that our fate is in the stars. Now we know in large measure, our fate is in our genes.....

J. Watson 1989.



Low folic acid in mother's diet
Agouti gene less methylated

High folic acid in mother's diet
Agouti gene more methylated

19

We used to think that our fate is in the stars. Now we know in large measure, our fate is in our genes.....

J. Watson 1989



A single genotype can produce many phenotypes, depending on many contingencies encountered during development. That is, phenotype is an outcome of a complex series of developmental processes that are influenced by environmental factors as well as gene.

F. Nijhout 1999

20

Inputs to development and heredity: The five (potential) mothers

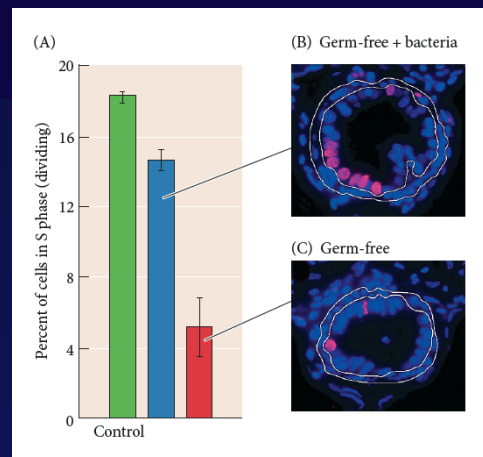
- The provider of genetic (DNA) resources
- The provider of the non-DNA part of the egg (nuclear and cytoplasmic)
- The provider of early nourishment (womb & milk)
- The provider of home and care
- The provider(s) of social education

21

Τα βακτήρια διεγείρουν τη διαίρεση των βλαστοκυττάρων και τη διαφοροποίηση στο έντερο.

(A) Quantitation of S-phase (dividing) intestinal epithelial cells in conventionally raised (control), germ-free, and germ-free plus added bacteria specimens.

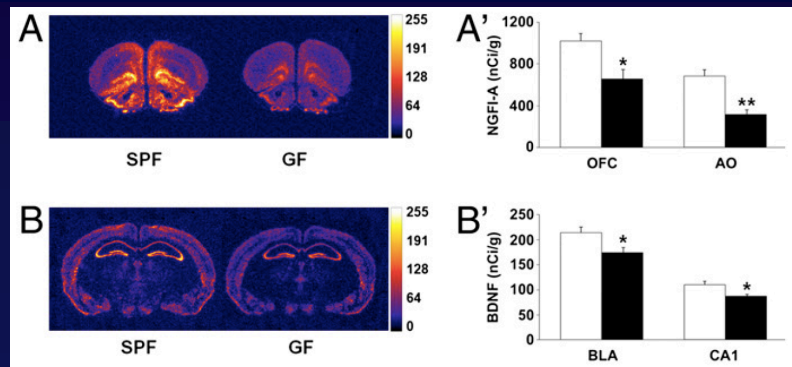
(B) Germ-free zebrafish given bacteria have normal amounts of stem cell division and epithelial cell differentiation after 6 days. Here and in (C), nondividing cells are stained blue and dividing cells are stained magenta. The inner cells are intestinal epithelia; cells in the white outline are mesenchyme and muscle. (C) The intestines of germ-free zebrafish are smaller and contain fewer dividing stem cells. (Glibert + Barresi 11th ed)



<https://doi.org/10.1073/pnas.0400706101>

22

Εντερικό μικροβίωμα και ανάπτυξη του νευρικού συστήματος



GF mice show altered expression of anxiety and synaptic plasticity related genes. (A) Representative autoradiograms showing NGFI-A mRNA expression at the level of the frontal cortex of SPF and GF mice (OFC, orbital frontal cortex; AO, anterior olfactory region). (A') Bars show expression of NGFI-A mRNA (nCi/g) in the OFC and AO of SPF and GF mice. (B) Representative autoradiograms showing BDNF mRNA expression at the level of amygdala and dorsal hippocampus of SPF and GF mice (BLA, basolateral amygdala; CA1, CA1 region of the dorsal hippocampus). (B') Bars show expression of BDNF mRNA (nCi/g) in the BLA and CA1 region of SPF and GF mice.

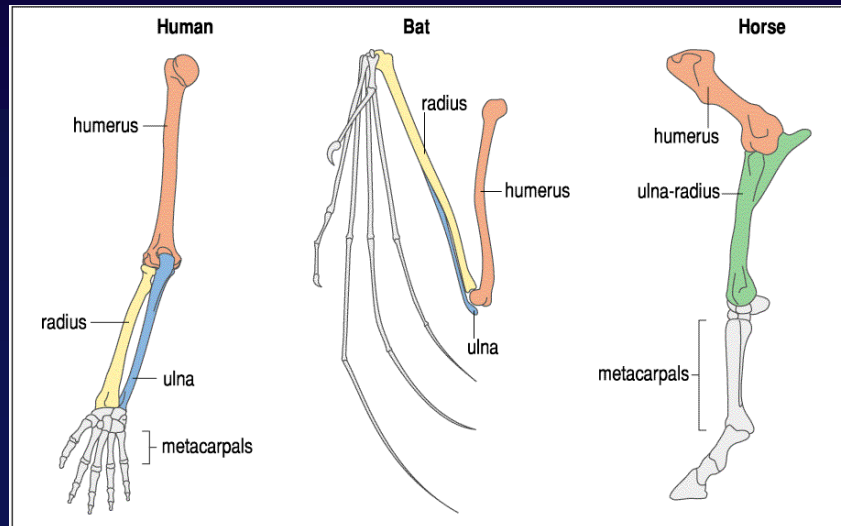
23

Ατομικότητα και Συμβίωση - από το άτομο στον ολοβίωτη

- **Anatomic** : one genome integrates cells to a common wholeness
trillions of microbiota present
 - **Physiological** : Integrated organ systems to a common end
microbiota required for several processes
 - **Developmental**: an organism is a product of a fertilized egg
microbiota help in the development of gut, immune system etc
 - **Immune**: discrimination of self- non self
microbiota help build the immune system, expand lymphocyte repertoire
 - **Genetic**: Cell genomes are nearly identical
decades of different species-genomes, many with phenotypic outcomes
 - **Evolutionary**: genome provides phenotypes for natural selection - individuals (genes or organisms get selected)
Speciation: Genetic variation, reproductive isolation (mating, pheromones)
- Ολοβίωτης: ο οργανισμός μαζί με τους μόνιμους συμβιώτες του.**

24

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Εξέλιξη

25

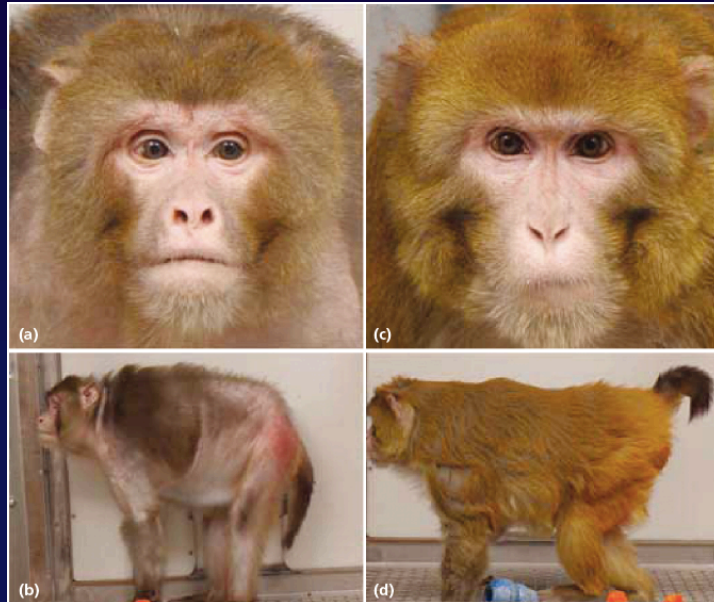
Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



Jeann Calment, γενέθλια 122 ετών 1997

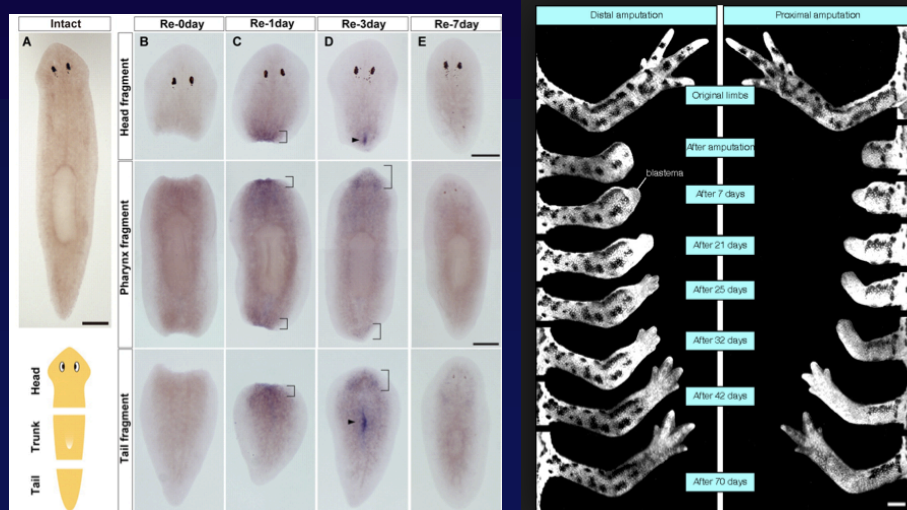
26

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



27

Βιολογία Ανάπτυξης Τα βασικά ερωτήματα



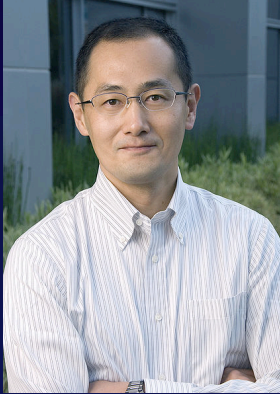
Αναγέννηση

28

2012 Nobel Prize in Medicine



J. Gurdon
Department of Zoology, University of Cambridge

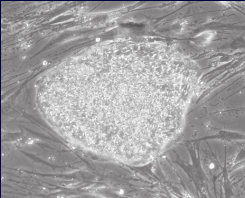


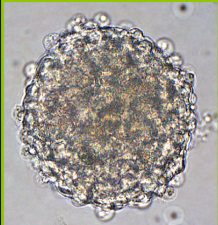
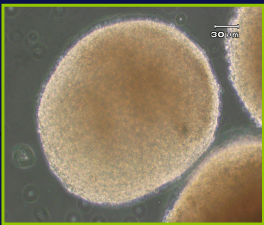
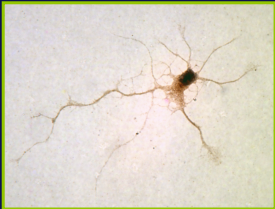
S. Yamanaka
Institute of Cardiovascular Disease, San Francisco

"revolutionized our understanding of how cells and organisms develop"

29

**Βιολογία Ανάπτυξης
Τα βασικά ερωτήματα**




→

→


ES

Νευροσφαιρίδια

Πρόδρομα
ολιγοδενδροκύτταρα

Εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα & Μηχανική Ιστών

30

Βιολογία Ανάπτυξης

➤ Εμβρυϊκή ανάπτυξη



➤ Μετεμβρυϊκή ανάπτυξη (αύξηση, μεταμόρφωση, γήρανση)

➤ Αναγέννηση

➤ Εξέλιξη των μηχανισμών που ενέχονται στην ανάπτυξη



31

....a science of becoming,
a science of process...

Scott Gilbert

32

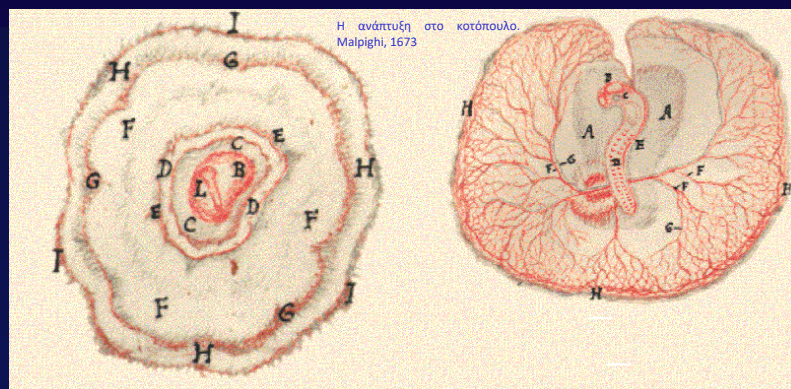
Διάλειμμα 10 λεπτών



33

Βιολογία Ανάπτυξης

Ο Αριστοτέλης είναι ο πρώτος που ασχολήθηκε με τη μελέτη της ανάπτυξης- μεταξύ άλλων έθεσε ένα ερώτημα που επρόκειτο να απαντηθεί οριστικά 22 αιώνες αργότερα!



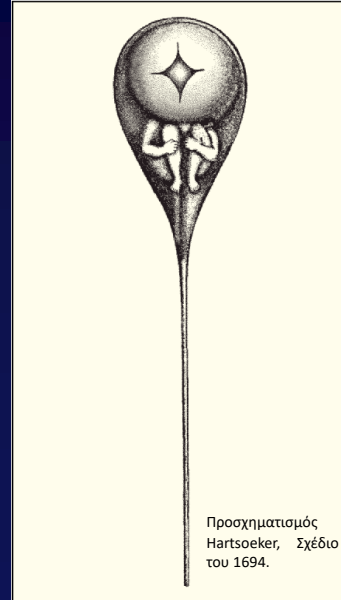
Με ποιο τρόπο σχηματίζονται τα μέρη του εμβρύου;
Προσχηματισμός ή Επιγένεση;

34

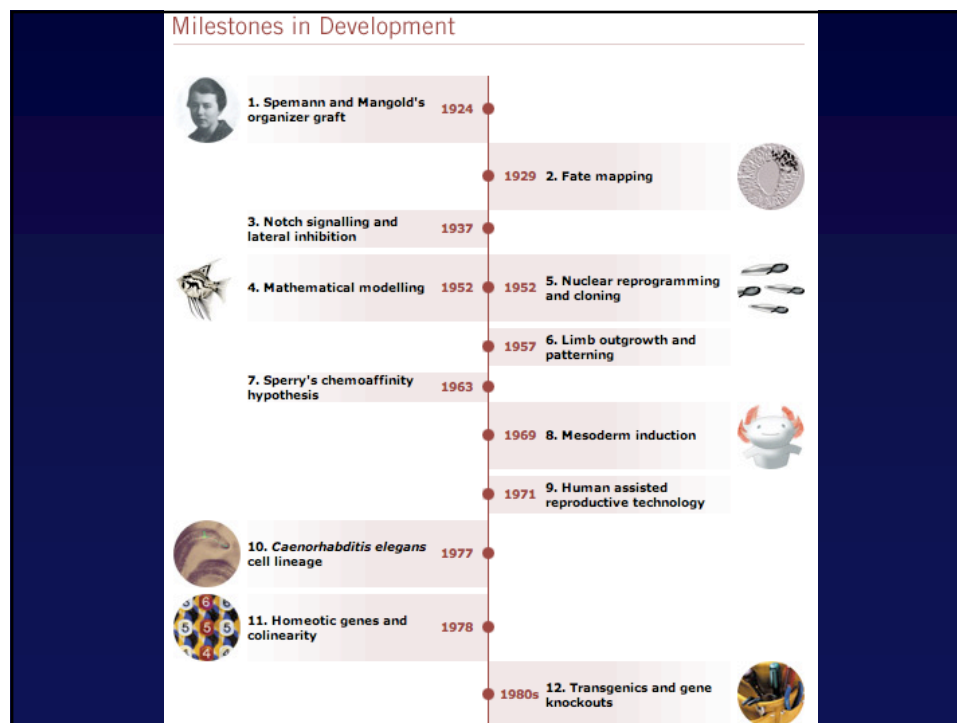
Βιολογία Ανάπτυξης

Μια σειρά παρατηρήσεων που έγιναν κατά το 19ο αιώνα οδήγησε στην απόρριψη της θεωρίας του προσχηματισμού:

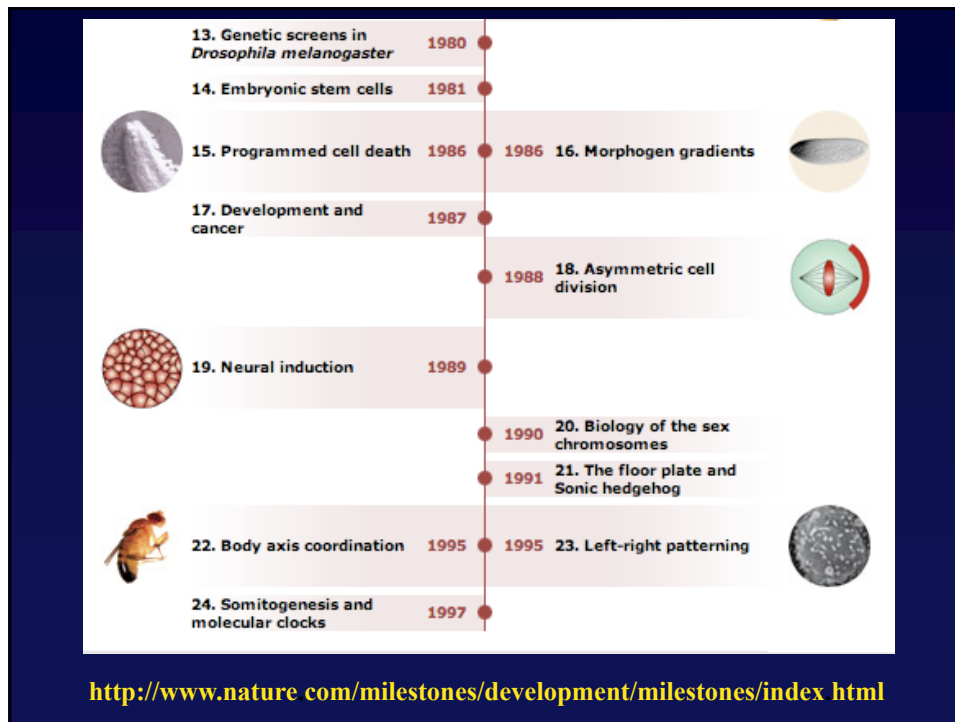
- Η κυτταρική θεωρία - παρατήρηση των ωαρίων.
- Διατυπώνεται η υπόθεση ότι οι απόγονοι κληρονομούν τα χαρακτηριστικά τους από την ένωση των γαμετικών κυττάρων που θα πρέπει να διαφέρουν από τα σωματικά. (Weissman-germ/somatic cells)
- Παρατήρηση της γονιμοποίησης και των προπυρήνων στο μικροσκόπιο.
- Παρατήρηση των χρωμοσωμάτων του ζυγωτού- τα μισά προέρχονται από τη μητέρα τα υπόλοιπα από τον πατέρα. Μίτωση-μείωση.



35

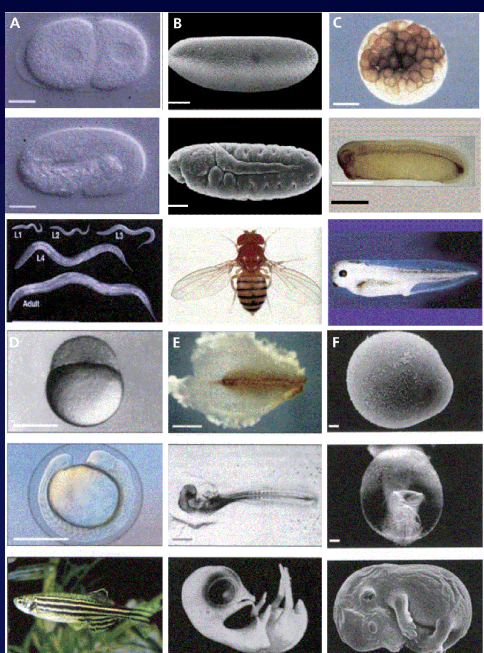


36



37

Βιολογία Ανάπτυξης

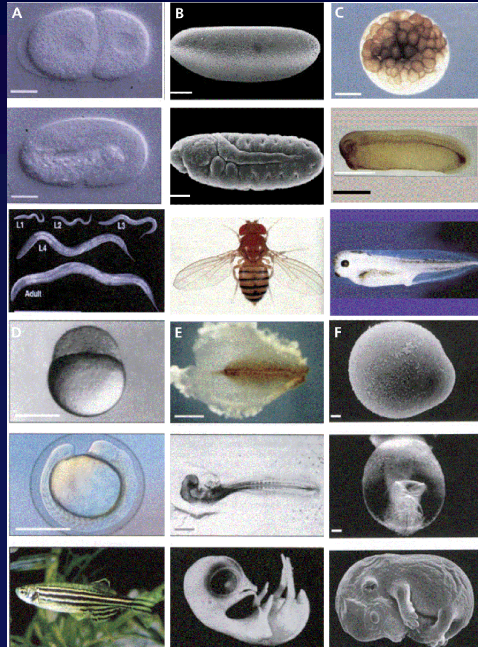


Η μεγάλη πρόοδος που παρατηρήθηκε τα τελευταία 35 χρόνια στην Αναπτυξιακή Βιολογία προήλθε από το συγκερασμό τριών κυρίως κλάδων της Βιολογίας:

- Εμβρυολογία
- Αναπτυξιακή Γενετική
- Μοριακή Βιολογία

38

Βιολογία Ανάπτυξης



Η μεγάλη πρόοδος που παρατηρήθηκε τα τελευταία 35 χρόνια στην Αναπτυξιακή Βιολογία προήλθε από το συγκερασμό τριών κυρίως κλάδων της Βιολογίας:

- Εμβρυολογία
- Αναπτυξιακή Γενετική
- Μοριακή Βιολογία

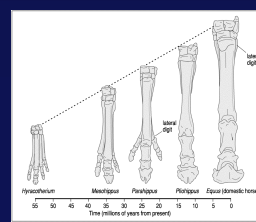
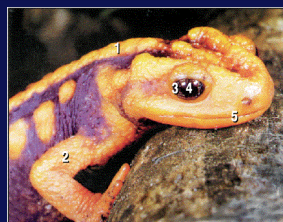
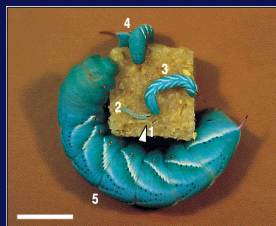
41

Βιολογία Ανάπτυξης

➤ Εμβρυϊκή ανάπτυξη



- Μετεμβρυϊκή ανάπτυξη (αύξηση, μεταμόρφωση, γήρανση)
- Αναγέννηση
- Εξέλιξη των μηχανισμών που ενέχονται στην ανάπτυξη

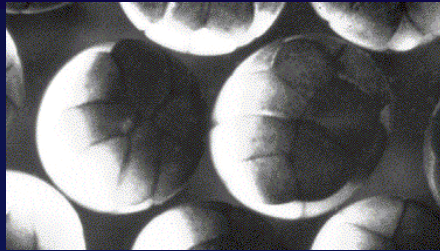


42

Βιολογία Ανάπτυξης

Κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη παρατηρούμε το σχηματισμό πολύπλοκων δομών από μια μικρή ομάδα ομοίων κυττάρων.

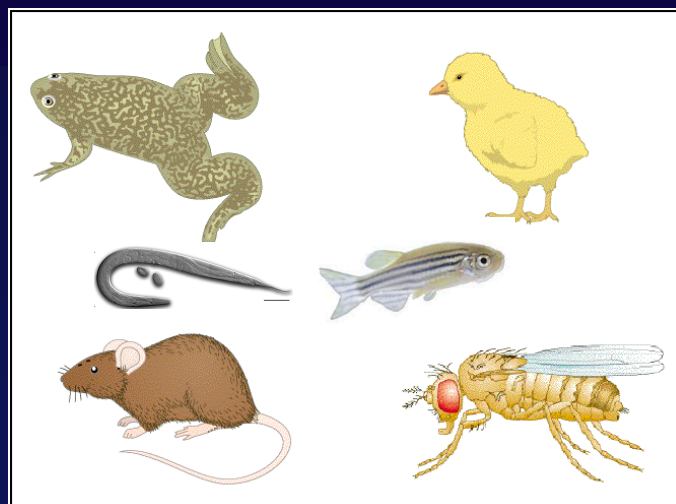
Οι κύριες αναπτυξιακές διαδικασίες που διακρίνουμε:



- Τοπική εξειδίκευση
- Κυτταρική διαφοροποίηση
- Μορφογένεση
- Αύξηση

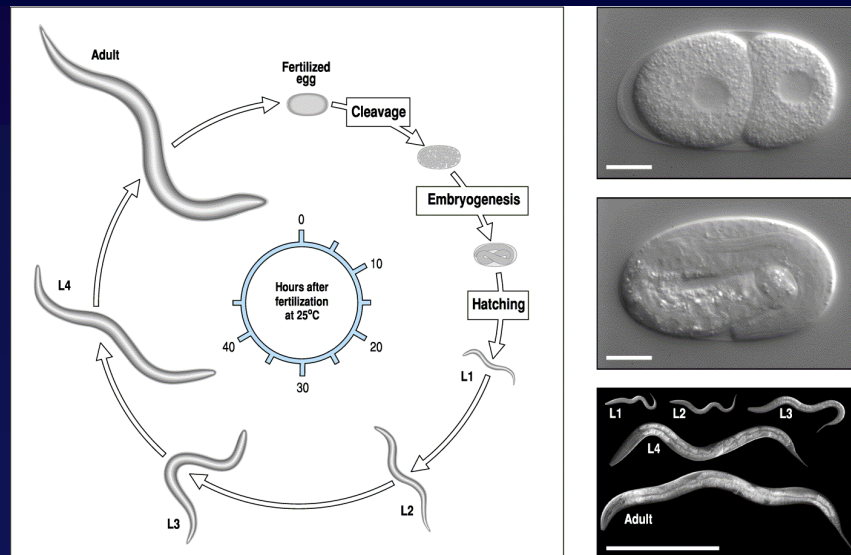
43

Οργανισμοί- μοντέλα The Big six



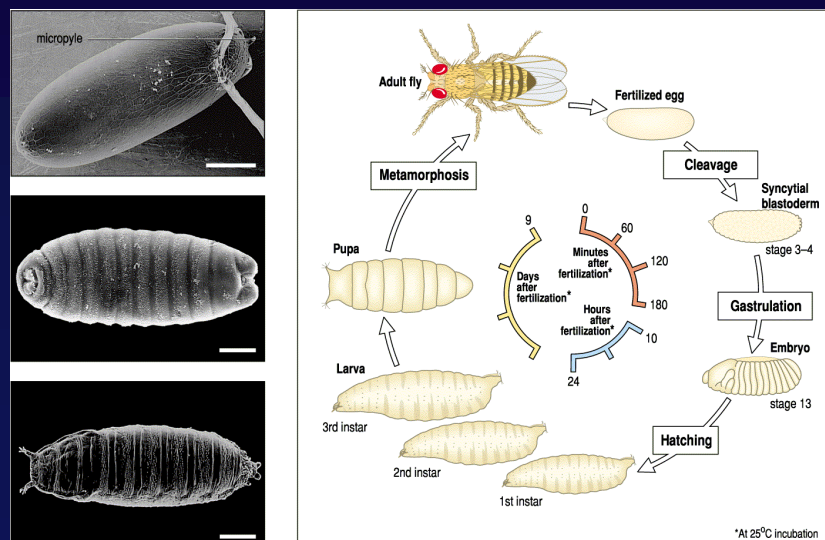
44

Caenorhabditis elegans



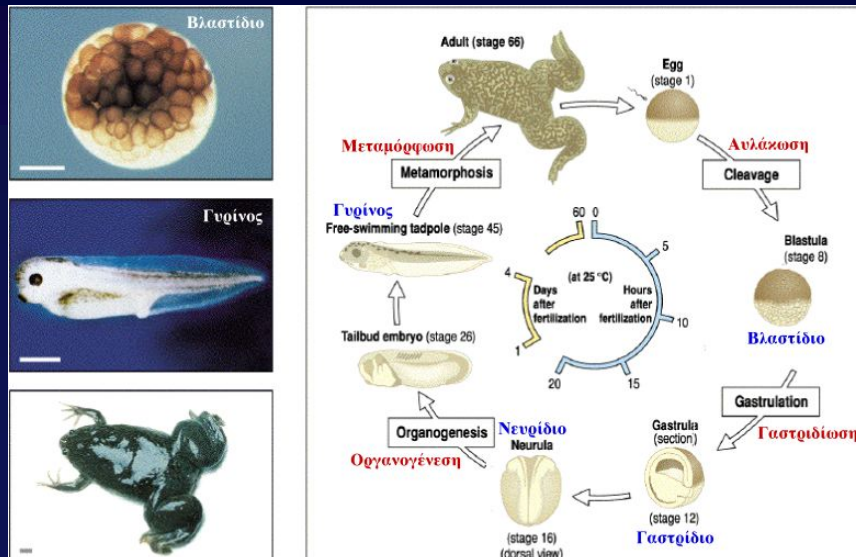
45

Drosophila melanogaster



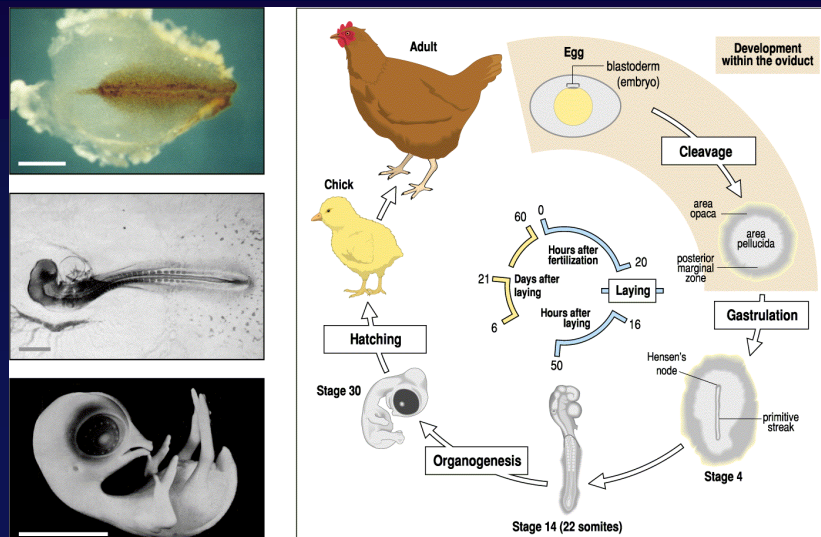
46

Xenopus laevis



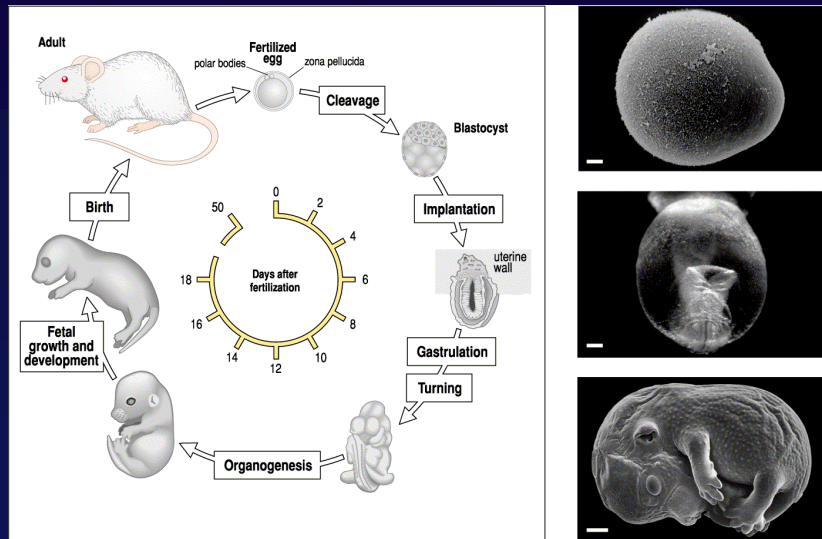
47

Gallus domesticus



48

Mus musculus

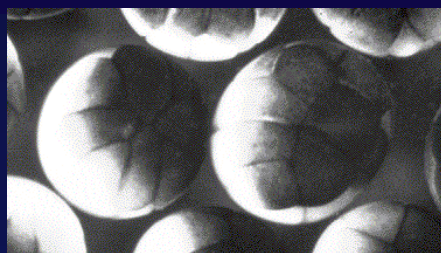


49

Βιολογία Ανάπτυξης

Κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη παρατηρούμε το σχηματισμό πολύπλοκων δομών από μια μικρή ομάδα ομοίων κυττάρων.

Οι κύριες αναπτυξιακές διαδικασίες που διακρίνουμε:



- Τοπική εξειδίκευση
- Κυτταρική διαφοροποίηση
- Μορφογένεση
- Αύξηση

50

Εμβρυϊκή Ανάπτυξη

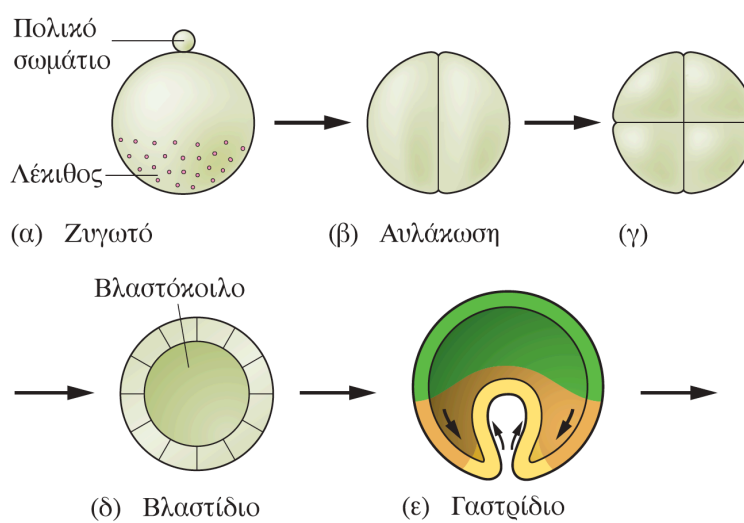
Αυλάκωση (cleavage)

Γαστριδίωση (gastrulation)

Οργανογένεση (organogenesis)

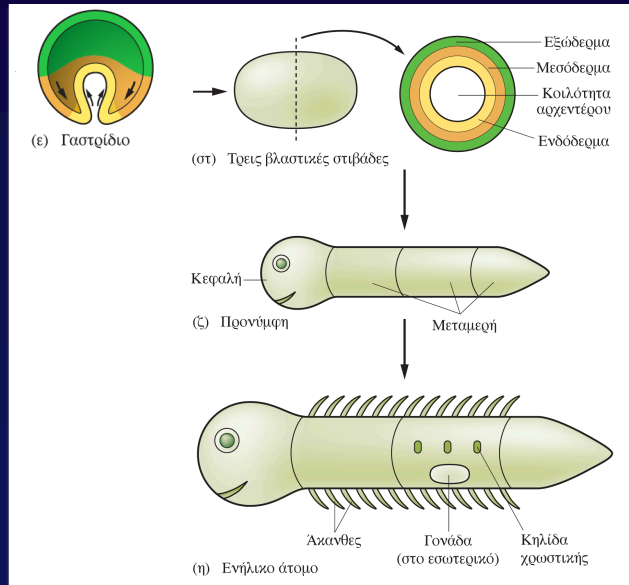
51

Γενικευμένη αλληλουχία των γεγονότων που λαμβάνουν χώρα κατά την πρώιμη ανάπτυξη



52

Γενικευμένη αλληλουχία των γεγονότων που λαμβάνουν χώρα κατά την πρώιμη ανάπτυξη



53

Αυλάκωση

Αυλάκωση (cleavage): Η σειρά των γρήγορων κυτταρικών διαιρέσεων που αρχίζουν αμέσως μετά τη γονιμοποίηση, κατά τη διάρκεια των οποίων αυξάνεται ο αριθμός των κυττάρων του εμβρύου χωρίς αύξηση του μεγέθους του. Τα κύτταρα κατά την αυλάκωση ονομάζονται βλαστομερίδια (blastomeres).



Αυλάκωση στον αχινό

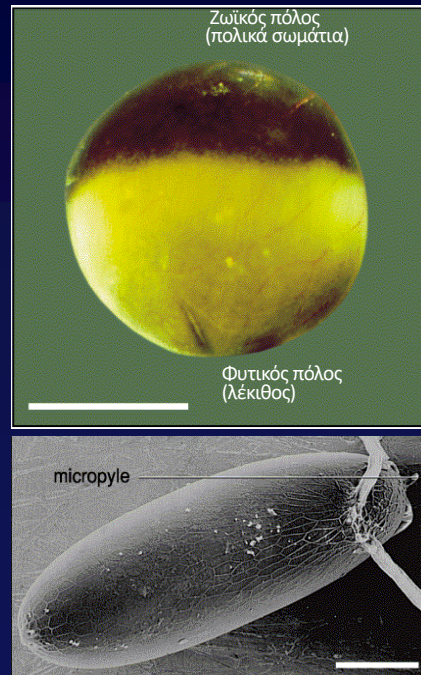
54

Αυλάκωση

Τα αυγά των ζώων εμφανίζουν συνήθως πολικότητα. Η πολικότητα αυτή είναι δυνατόν να προϋπάρχει στο ωάριο ή να δημιουργείται μετά τη γονιμοποίηση.

Η ποσότητα και η θέση της λεκίθου καθορίζει τον τύπο της αυλάκωσης. Ανάλογα με την ποσότητα και τον εντοπισμό της λεκίθου τα αυγά διακρίνονται:

- Ολιγολεκιτικά
- Μεσολεκιτικά
- Τελολεκιτικά
- Κεντρολεκιτικά



55

Αυλάκωση

Η ποσότητα και η κατανομή της λεκίθου καθώς και παράγοντες οι οποίοι εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα και σχετίζονται με το σχηματισμό της ατράκτου, καθορίζουν τον τύπο της αυλάκωσης.

Ολοβλαστική αυλάκωση

Η αυλάκωση είναι πλήρης: η αύλακα περνά από τον άξονα ζωϊκού - φυτικού πόλου (ολιγολεκιτικά και μεσολεκιτικά) αυγά.

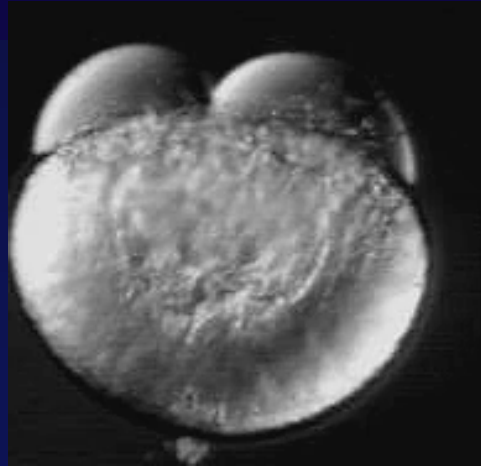


Αυλάκωση στον *Xenopus*

56

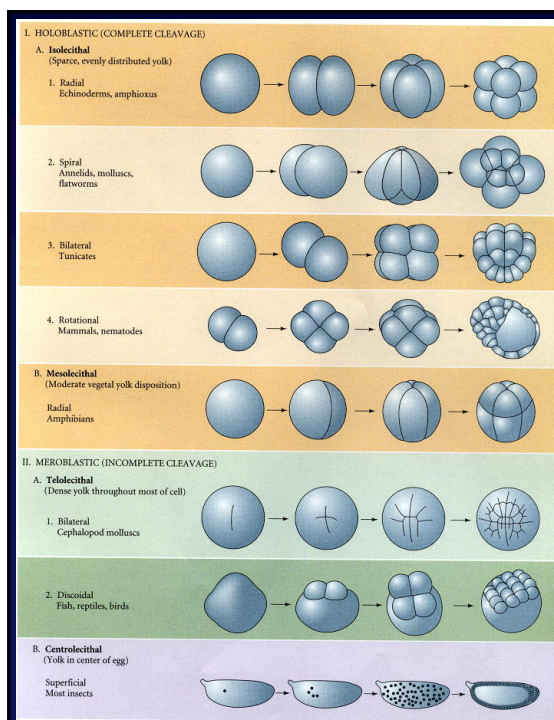
Αυλάκωση

Μεροβλαστική αυλάκωση : μέρος μόνον του αυγού διαιρείται (τελολεκιθικά και κεντρολεκιθικά)



Αυλάκωση στο Zebrafish

57



Αυλάκωση

Η διεύθυνση των βλαστομεριδίων κατά την αυλάκωση ποικίλλει, έτσι προκύπτουν τελικά επτά διαφορετικοί τύποι αυλάκωσης που χαρακτηρίζουν ομάδες οργανισμών.

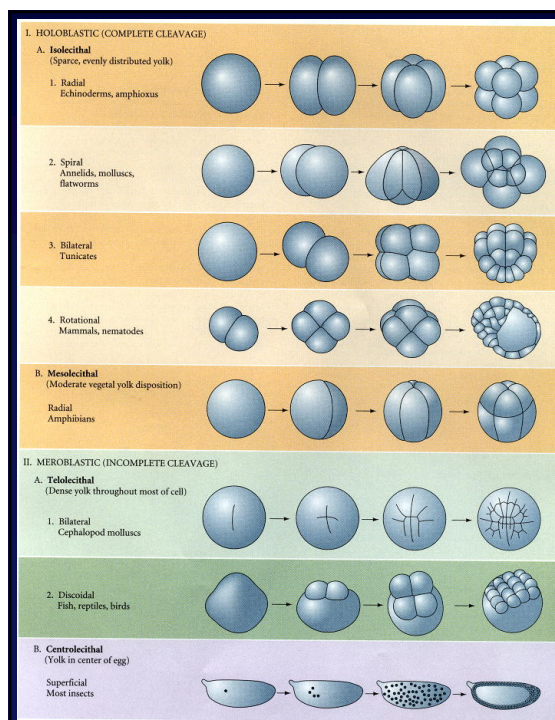
Ανάλογα με τη μορφολογία του (σφαίρα ή στιβάδα κυττάρων) το έμβρυο στο τέλος της αυλάκωσης ονομάζεται βλαστίδιο (blastula) ή βλαστώδερμα (blastoderm).

58

Διάρλειμμα 10 λεπτών

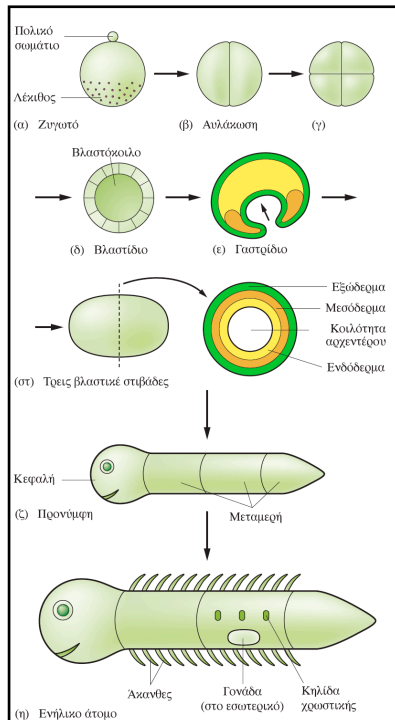


59



Αυλάκωση

60



Γαστριδίωση

Γαστριδίωση (gastrulation): Η φάση κατά την οποία μεμονωμένα κύτταρα ή ομάδες κυττάρων μετακινούνται κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματιστούν οι τρεις βλαστικές στιβάδες (germ layers):

- το εξώδερμα -η εξωτερική στιβάδα.
- το ενδόδερμα η εσωτερική στιβάδα
- το μεσόδερμα παρεμβάλλεται μεταξύ των δύο άλλων.

61

Γαστριδίωση

Γαστριδίωση (gastrulation): Η φάση κατά την οποία μεμονωμένα κύτταρα ή ομάδες κυττάρων μετακινούνται κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να σχηματιστούν οι τρεις βλαστικές στιβάδες (germ layers):

- το εξώδερμα (ectoderm) -η εξωτερική στιβάδα.
- το ενδόδερμα (endoderm) - η εσωτερική στιβάδα
- το μεσόδερμα (mesoderm) - παρεμβάλλεται μεταξύ των δύο άλλων.

gastrulation in the frog
Xenopus laevis

Γαστριδίωση στον
Xenopus

62

Γαστριδίωση

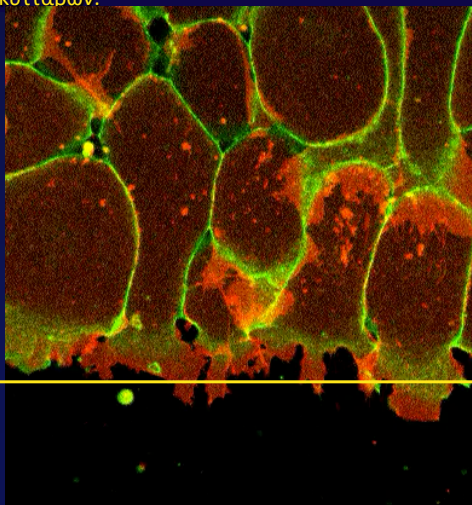
Όλοι οι οργανισμοί στους οποίους θα αναφερθούμε είναι τριπλοβλαστικοί- σχηματίζονται κατά την πρώιμη ανάπτυξή τους τρεις στιβάδες κυττάρων, το εξώδερμα το ενδόδερμα και το μεσόδερμα. Οι τρεις αυτές στιβάδες διαφέρουν ως προς τη θέση τους στο έμβρυο, όσο και ως προς τους κυτταρικούς τύπους που θα προκύψουν από αυτές.

Germ layers	Organs
Endoderm	gut, liver, lungs
Mesoderm	skeleton, muscle, kidney, heart, blood
Ectoderm	skin, nervous system

63

Γαστριδίωση

Παρά το ότι η γαστριδίωση μπορεί να διαφέρει πολύ από οργανισμό σε οργανισμό πάντοτε παρατηρούνται οι ίδιες μορφογενετικές διαδικασίες που μπορεί να αφορούν σε αλλαγές που αφορούν στο σχήμα κυττάρων ή ομάδων κυττάρων και μετακινήσεις κυττάρων ή ομάδων κυττάρων.



Xenopus laevis marginal zone explant: (60 minutes elapsed) A two-plane, timelapse confocal movie shows migration of mesendodermal cells on a fibronectin substrate in culture. The red plane is at the level of the substrate and the green plane is 5 microns deep into the tissue. Note that the posterior cells (top of image) underlap the more anterior ones from behind. The cells are labeled with a plasma membrane targeted GFP.

Credit: Lance Davidson

64

Γαστριδίωση

Παρά το ότι η γαστριδίωση μπορεί να διαφέρει πολύ από οργανισμό σε οργανισμό πάντοτε παρατηρούνται οι ίδιες μορφογενετικές διαδικασίες που μπορεί να αφορούν σε:

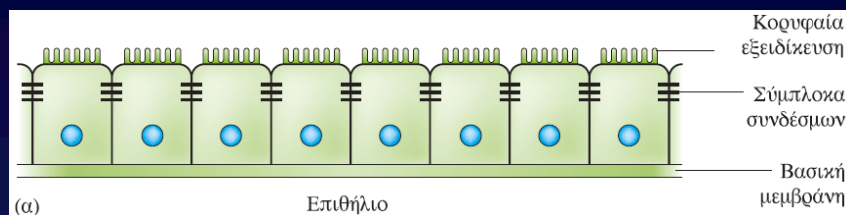
αλλαγές που αφορούν στο σχήμα κυττάρων ή ομάδων κυττάρων
και
μετακινήσεις κυττάρων ή ομάδων κυττάρων.

Οι ίδιες μορφογενετικές διαδικασίες εμφανίζονται και στα επόμενα αναπτυξιακά στάδια.

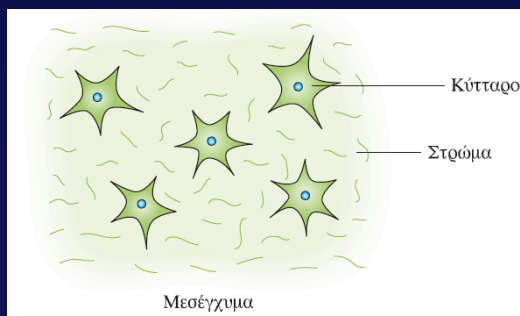
Μορφογένεση: Στον όρο μορφογένεση αποδίδονται διαφορετικές, παραπλήσιες όμως σημασίες. Εμείς θα τον χρησιμοποιήσουμε αναφερόμενοι στο φαινόμενο της οργάνωσης των διαφόρων τύπων κυττάρων του εμβρύου, προκειμένου να σχηματιστούν χαρακτηριστικές δομές του οργανισμού.

65

Από μορφολογική άποψη τα περισσότερα εμβρυϊκά κύτταρα μπορούν να χαρακτηριστούν ως μεσεγχυματικά ή επιθηλιακά.



Επιθήλια: Ιστοί των οποίων τα κύτταρα είναι στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους και συχνά σχηματίζουν μεμβράνες οι που καλύπτουν διάφορες επιφάνειες και κοιλότητες.

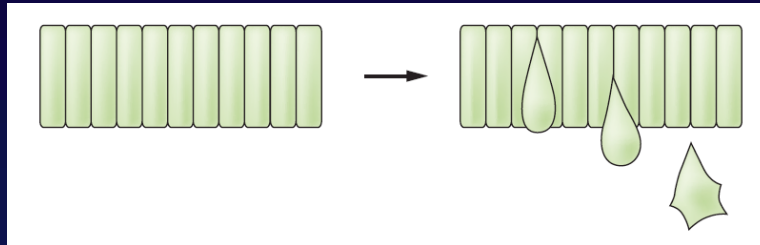


Μεσέγγυμα: Με τον όρο αυτό αναφερόμαστε σε εμβρυϊκούς ιστούς των οποίων τα κύτταρα είναι χαλαρά συνδεδεμένα μεταξύ τους και έχουν τη δυνατότητα να μεταναστεύουν.

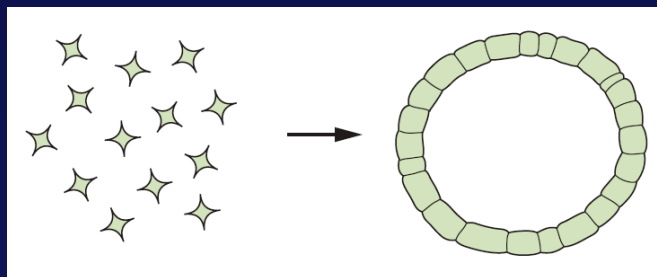
66

Γαστριδίωση

Επιθηλιομεσεγχυματική μετάπτωση



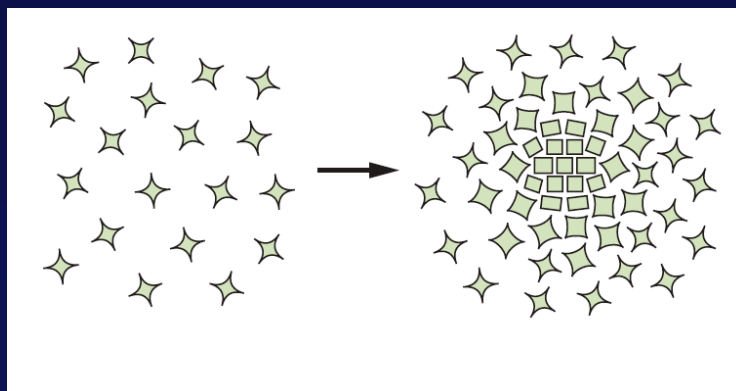
Μεσεγχυματεπιθηλιακή μετάπτωση



67

Γαστριδίωση

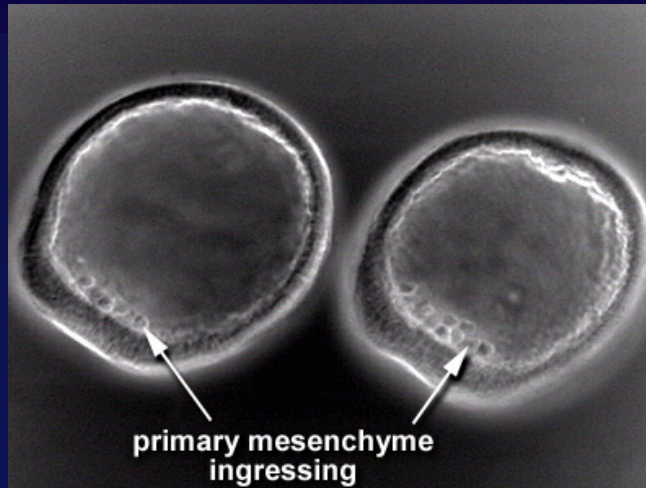
Συμπύκνωση (condensation) : Κατά τη διαδικασία αυτή τα κύτταρα σχηματίζουν συσσωματώματα - η διαδικασία αυτή εμφανίζεται συχνά κατά την ανάπτυξη, ιδιαίτερα κατά το σχηματισμό των καταβολών διαφόρων οργάνων.



68

Γαστριδίωση

Εισδοχή (ingression): Η είσοδος μεμονωμένων κυττάρων στο εσωτερικό του εμβρύου.

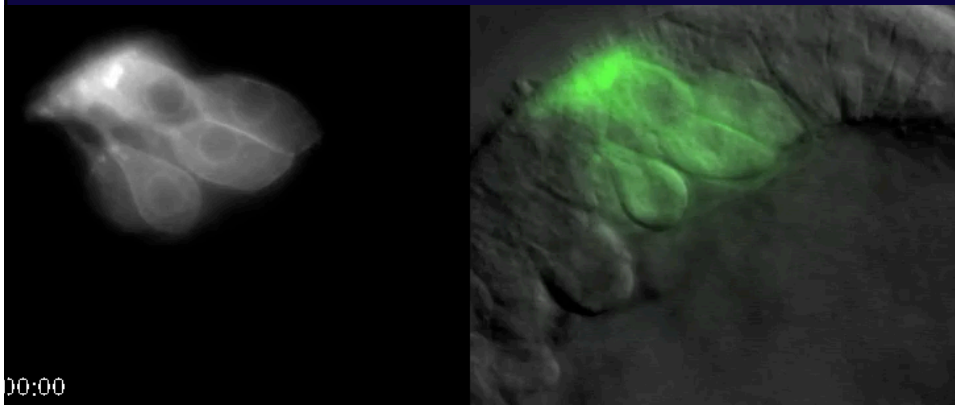


Εισδοχή στον
αχινό

69

Γαστριδίωση

Εισδοχή (ingression): Η είσοδος μεμονωμένων κυττάρων στο εσωτερικό του εμβρύου.



Εισδοχή στον αχινό

This movie shows ingression of GFP-labeled PMCs. As can be seen the cells elongate during the process of ingression and much of the cell body is inside the blastocoel before the trailing edge of the cell pulls away from the hyaline layer on the outside of the embryo.

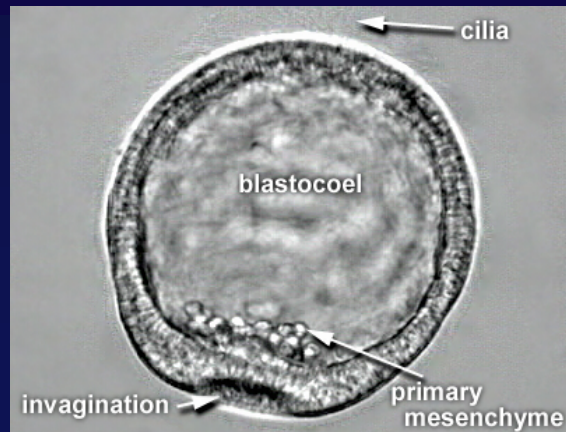
70

Γαστριδίωση

Εγκόλπωση και αναδίπλωση (invagination and involution): Οι διαδικασίες αυτές παρατηρούνται συνήθως κατά τη δημιουργία από ένα απλό επιθήλιο, δομών που αποτελούνται από πολλές στιβάδες.

Κατά την εγκόλπωση μια στιβάδα κυττάρων μετακινείται τοπικά στο εσωτερικό του εμβρύου όπου σχηματίζει μια διόγκωση.

Κατά την αναδίπλωση μια στιβάδα κυττάρων συμπύσσεται, εισχωρώντας έτσι στο εσωτερικό του εμβρύου.



Εγκόλπωση στον αχινό

71

Γαστριδίωση

Εγκόλπωση και αναδίπλωση (invagination and involution): Οι διαδικασίες αυτές παρατηρούνται συνήθως κατά τη δημιουργία από ένα απλό επιθήλιο, δομών που αποτελούνται από πολλές στιβάδες.



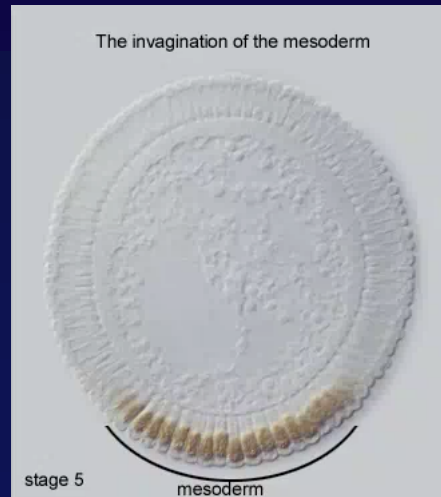
72

Γαστριδίωση

Εγκόλπωση και αναδίπλωση (invagination and involution): Οι διαδικασίες αυτές παρατηρούνται συνήθως κατά τη δημιουργία από ένα απλό επιθήλιο, δομών που αποτελούνται από πολλές στιβάδες.

Κατά την εγκόλπωση μια στιβάδα κυττάρων μετακινείται τοπικά στο εσωτερικό του εμβρύου όπου σχηματίζει μια διόγκωση.

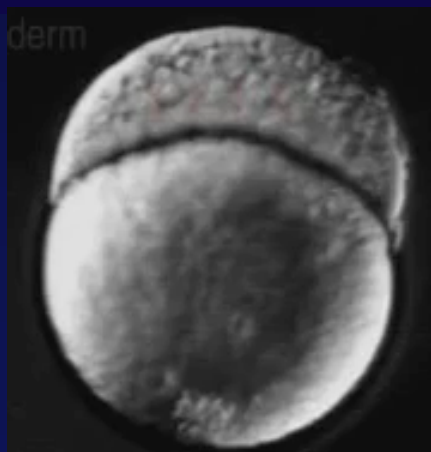
Κατά την αναδίπλωση μια στιβάδα κυττάρων συμπτύσσεται, εισχωρώντας έτσι στο εσωτερικό του εμβρύου.



73

Γαστριδίωση

Επιβολή (epiboly): Κατά τη διαδικασία αυτή μια στιβάδα κυττάρων επεκτείνεται και τελικά περιβάλλει και περικλείει έναν άλλο κυτταρικό πληθυσμό.

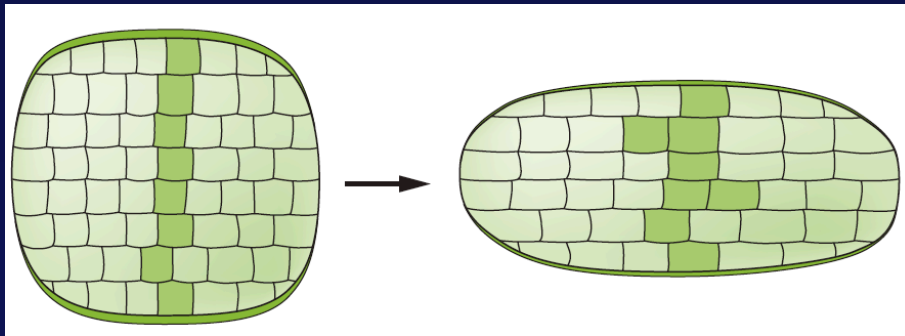


Επιβολή και αναδίπλωση κατά τη γαστριδίωση στο *Zebrafish*

74

Γαστριδίωση

Σύγκλιουσα επέκταση (convergent extension): Η διαδικασία κατά την οποία μια στιβάδα κυττάρων μεταβάλλει το σχήμα της επεκτεινόμενη στη μια διάσταση με ταυτόχρονη μείωση στη κάθετη διάσταση. Αυτό επιτυγχάνεται με αλλαγή του σχήματος των κυττάρων καθώς και μετακίνηση μερικών από αυτά.



75

Type of movement	Description	Illustration
Invagination	Infolding of a sheet (epithelium) of cells, much like the indentation of a soft rubber ball when it is poked.	
Involution	Inward movement of an expanding outer layer so that it spreads over the internal surface of the remaining external cells.	
Ingression	Migration of individual cells from the surface into the embryo's interior. Individual cells become mesenchymal (i.e., separate from one another) and migrate independently.	
Delamination	Splitting of one cellular sheet into two more or less parallel sheets. While on a cellular basis it resembles ingression, the result is the formation of a new (additional) epithelial sheet of cells.	
Epiboly	Movement of epithelial sheets (usually ectodermal cells) spreading as a unit (rather than individually) to enclose deeper layers of the embryo. Can occur by cells dividing, by cells changing their shape, or by several layers of cells intercalating into fewer layers; often, all three mechanisms are used.	

76

Γαστριδίωση - Μορφογένεση

- Αριθμός και προσανατολισμός κυτταρικών διαιρέσεων
- Αλλαγές στο κυτταρικό σχήμα
- Κυτταρική μετανάστευση
- Κυτταρική αύξηση
- Κυτταρικός θάνατος (προγραμματισμένος)
- Μεταβολές στη σύσταση της κυτταρικής μεμβράνης ή/και της εξωκυττάριας ουσίας

77

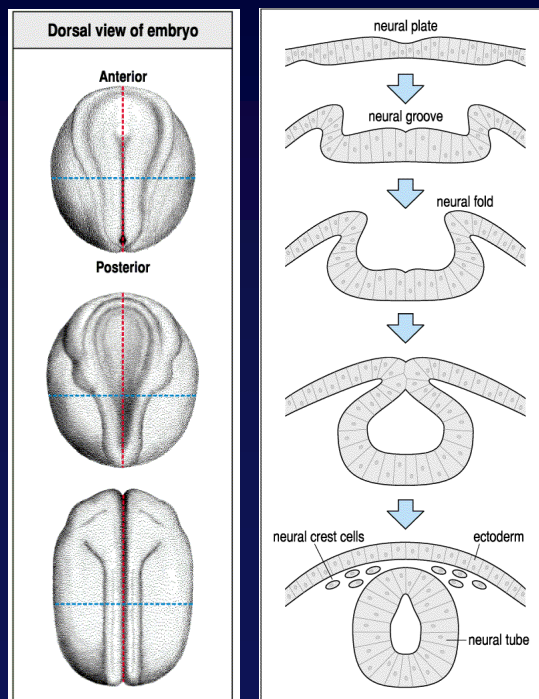
Νευριδίωση

Νευριδίωση (neurulation): Πρόκειται για τη φάση που ακολουθεί τη γαστριδίωση και κατά την οποία σχηματίζεται από κύτταρα του εξωδέρματος ο νευρικός σωλήνας (neural tube). Από το νευρικό σωλήνα θα προκύψει το νευρικό σύστημα. Στη φάση της νευριδίωσης το έμβρυο ονομάζεται νευρίδιο (neurula).



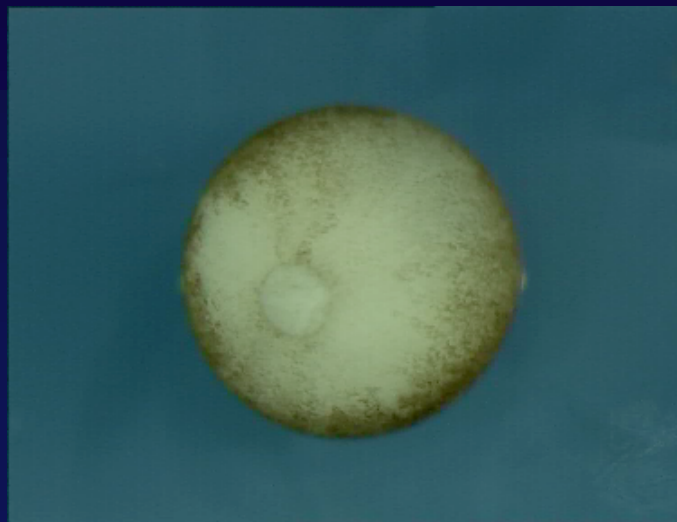
78

Νευριδίωση



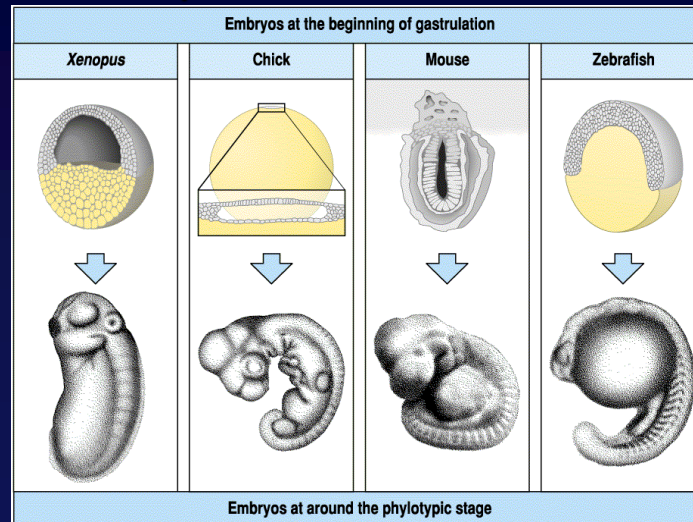
79

Νευριδίωση



80

Το φυλοτυπικό στάδιο

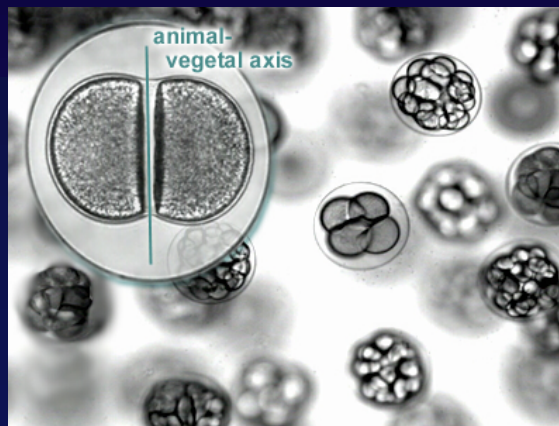


Στο φυλοτυπικό στάδιο (phylotypic stage) τα έμβρυα μιας ομάδας (όχι απαραίτητα ενός ολόκληρου φύλου) παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη ομοιότητα μεταξύ τους - είναι το αναπτυξιακό στάδιο κατά το οποίο έχει διαμορφωθεί το γενικό αρχιτεκτονικό σχέδιο του σώματος (body plan).

81

Άξονες συμμετρίας

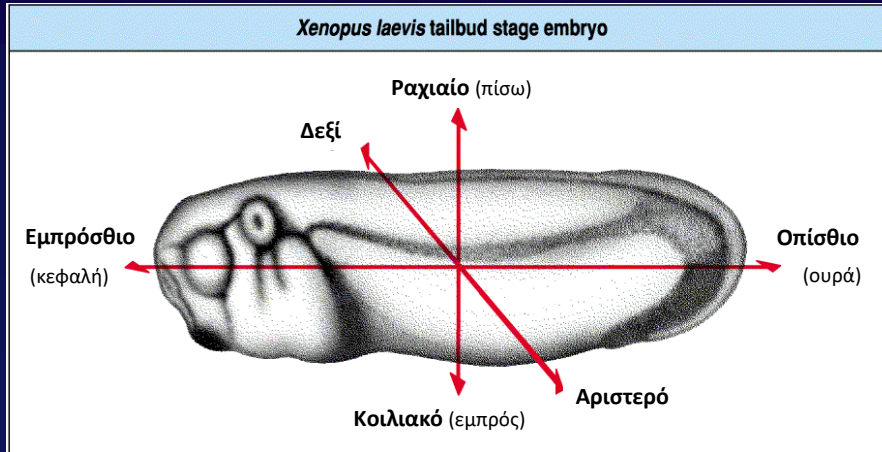
Πολλά αυγά είναι σφαιρικά. Συνήθως τα αυγά αυτά πριν από τη γονιμοποίηση είναι ακτινωτά συμμετρικά ως προς τον άξονα ζωϊκού-φυτικού πόλου.



Συνήθως μετά τη γονιμοποίηση η συμμετρία αυτή διαταράσσεται εξ' αιτίας ανακατατάξεων στο κυτταρόπλασμα και έτσι το έμβρυο αποκτά αμφίπλευρη συμμετρία.

82

Τρεις άξονες καθορίζουν την πολικότητα του οργανισμού προς τρεις διευθύνσεις



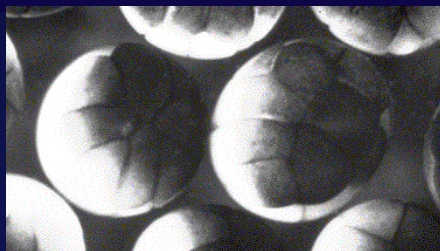
Συστημα συντεταγμένων

83

Βασικές αρχές

Κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη παρατηρούμε το σχηματισμό πολύπλοκων δομών από μια μικρή ομάδα ομοίων κυττάρων.

Οι κύριες αναπτυξιακές διαδικασίες που διακρίνουμε:



➤ Κυτταρική διαφοροποίηση

➤ Τοπική εξειδίκευση

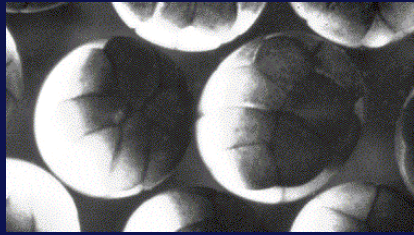
➤ Μορφογένεση

➤ Αύξηση

84

Ερωτήματα και προσεγγίσεις

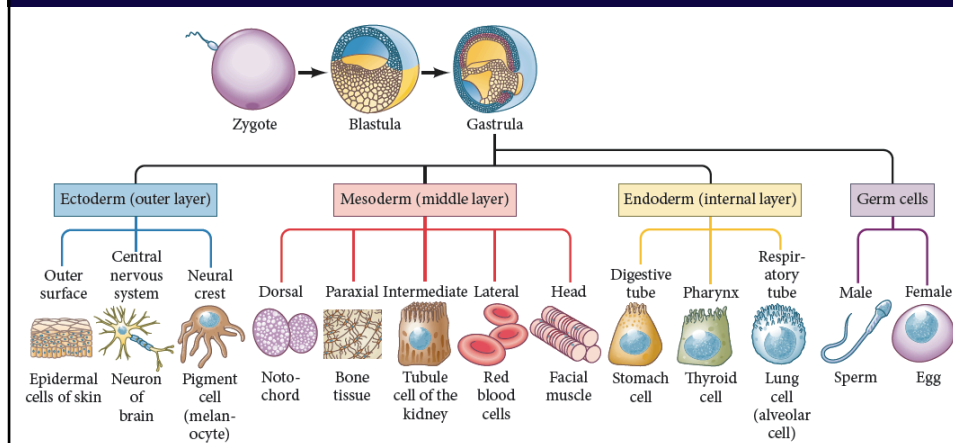
- Πώς επιτυγχάνεται η κυτταρική διαφοροποίηση;
- Πώς επιτυγχάνεται η τοπική εξειδίκευση;
- Πώς επιτυγχάνεται η μορφογένεση;
- Πώς ρυθμίζεται η ανάπτυξη;



- Εμβρυολογία
- Γενετική της ανάπτυξης
- Μοριακή Βιολογία

85

Πώς επιτυγχάνεται η κυτταρική διαφοροποίηση;



86

Πώς επιτυγχάνεται η κυτταρική διαφοροποίηση;

Type of cell	Differentiated cell product	Specialized function
Keratinocyte (epidermal cell)	Keratin	Protection against abrasion, desiccation
Erythrocyte (red blood cell)	Hemoglobin	Transport of oxygen
Lens cell	Crystallins	Transmission of light
B lymphocyte	Immunoglobulins	Synthesis of antibodies
T lymphocyte	Cytokines	Destruction of foreign cells; regulation of immune response
Melanocyte	Melanin	Pigment production
Pancreatic islet (β) cell	Insulin	Regulation of carbohydrate metabolism
Leydig cell (σ^7)	Testosterone	Male sexual characteristics
Chondrocyte (cartilage cell)	Chondroitin sulfate; type II collagen	Tendons and ligaments
Osteoblast (bone-forming cell)	Bone matrix	Skeletal support
Myocyte (muscle cell)	Actin and myosin	Muscle contraction
Hepatocyte (liver cell)	Serum albumin; numerous enzymes	Production of serum proteins and numerous enzymatic functions
Neurons	Neurotransmitters (acetylcholine, serotonin, etc.)	Transmission of communication signals in the nervous system
Tubule cell ($\varnothing$) of hen oviduct	Ovalbumin	Egg white proteins for nutrition and protection of the embryo
Follicle cell ($\varnothing$) of insect ovary	Chorion proteins	Eggshell proteins for protection of embryo

87

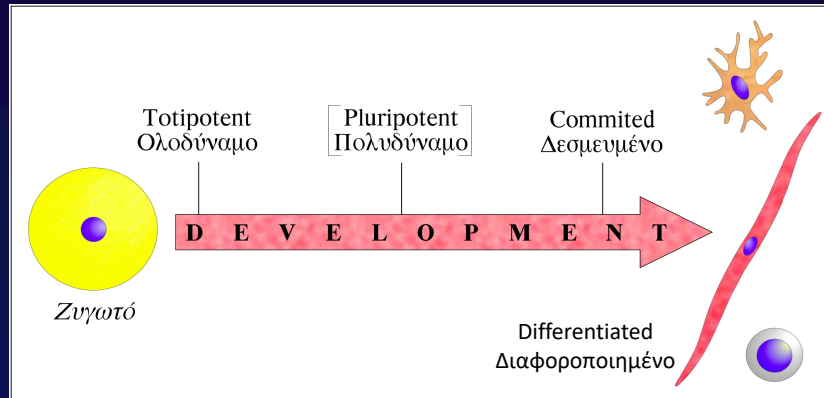
Πώς επιτυγχάνεται η κυτταρική διαφοροποίηση;

		Γ ο ν ί δ ι ο		
		A	B	Γ
	Οστικό κύτταρο	—	+++	—
	Μυϊκό κύτταρο	+++	—	++
	Β λεμφο-κύτταρο	—	+	++++

Οι ανώτεροι πολυκύτταροι οργανισμοί έχουν πολλούς διαφορετικούς τύπους εξειδικευμένων (διαφοροποιημένων) κυττάρων. Με ελάχιστες εξαιρέσεις όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού φέρουν τα ίδια γονίδια. Η ύπαρξη διαφορετικών κυτταρικών τύπων οφείλεται στο ότι οι διαφορετικές ομάδες κυττάρων εκφράζουν διαφορεικά τα γονίδια τους.

88

Η πορεία προς τη διαφοροποίηση (Σχηματικά και απλουστευμένα)



Όσο περισσότερο προχωρά η εμβρυική ανάπτυξη ενός οργανισμού, τόσο περισσότερο περιορίζονται οι αναπτυξιακές δυνατότητες των κυττάρων του (δηλαδή ο αριθμός των διαφορετικών κυτταρικών τύπων που μπορεί να προκύψουν από καθένα από αυτά).

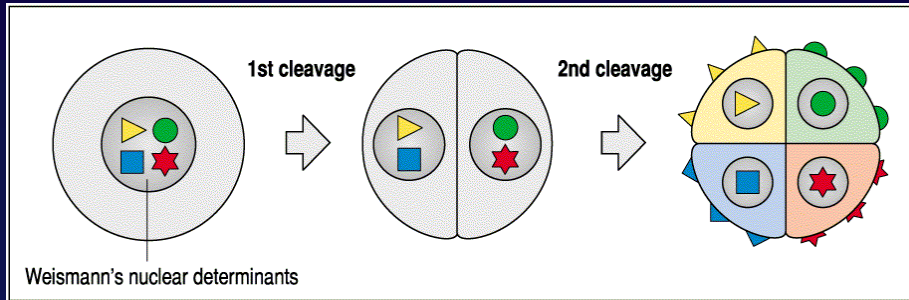
89

Μέσα από ποιούς μηχανισμούς είναι δυνατό διαφορετικές ομάδες εμβρυικών κυττάρων, να αρχίζουν σταδιακά να εκφράζουν κατά τρόπο διαφορετικό τα γονίδια τους, ώστε να ακολουθούν διαφορετικές πορείες και τελικά να δίνουν διαφορετικούς τύπους κυττάρων;

- α) Το μωσαϊκό μοντέλο ανάπτυξης
- β) Το ρυθμιστικό μοντέλο ανάπτυξης
- γ) Το συγκυτιακό μοντέλο ανάπτυξης*

90

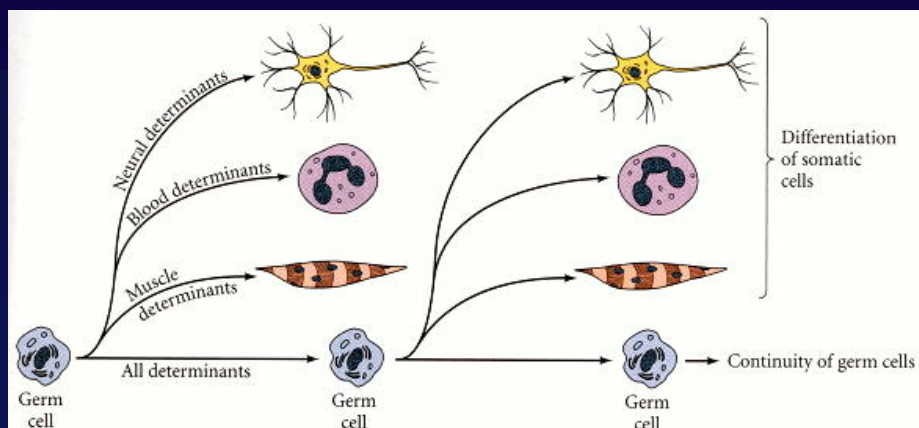
Το μωσαϊκό μοντέλο ανάπτυξης του August Weismann. (Autonomous cell type specification)



Στον πυρήνα του ζυγωτού υπάρχουν ειδικοί παράγοντες οι καθοριστές (determinants) που κατανέμονται ασύμμετρα κατά την αυλάκωση. Οι παράγοντες αυτοί ρυθμίζουν το πεπρωμένο (fate) των κυττάρων (αυτόνομη κυτταρική εξειδίκευση- autonomous cell type specification).

91

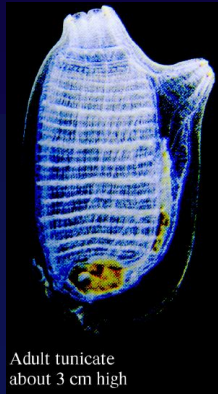
Το μωσαϊκό μοντέλο ανάπτυξης του August Weismann. (Autonomous cell type specification)



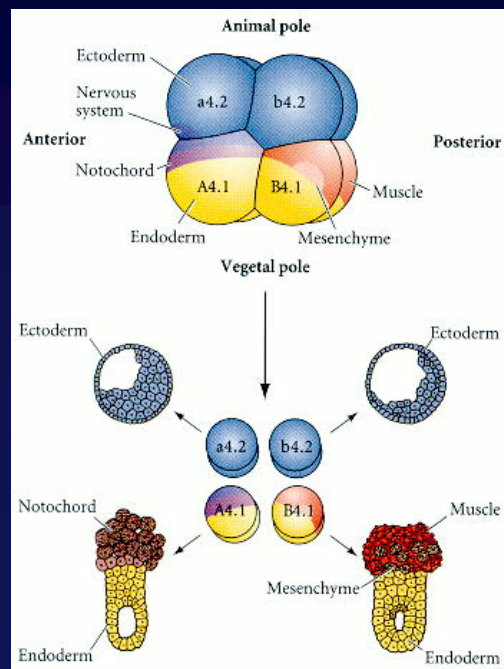
Το μοντέλο αυτό προϋποθέτει ότι οι κυτταρικές διαιρέσεις είναι ασύμμετρες.

92

Τα πειράματα του Laurent Chabry (1887)

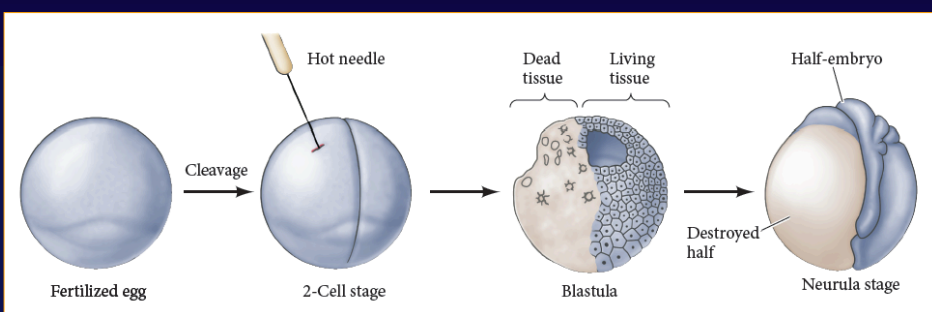


Όταν τα βλαστομερίδια διαχωριστούν και καλλιεργηθούν *in vitro*, σχηματίζουν τους ιστούς που θα σχημάτιζαν φυσιολογικά στο έμβρυο.



93

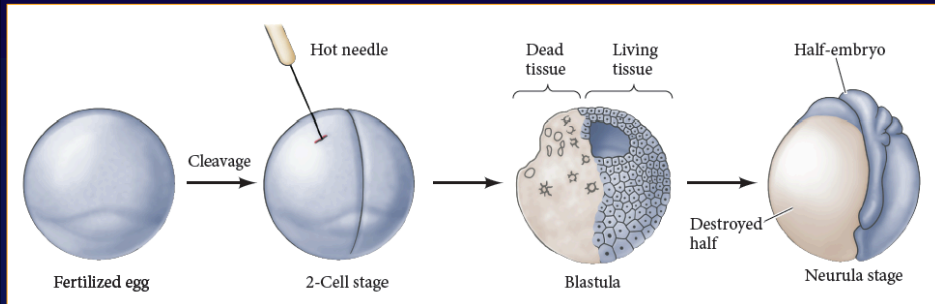
Τα πειράματα του Wilhelm Roux (1888)



...development of the frog is based on a mosaic mechanism, the cells having their character and fate determined at each cleavage. (Roux 1888)

94

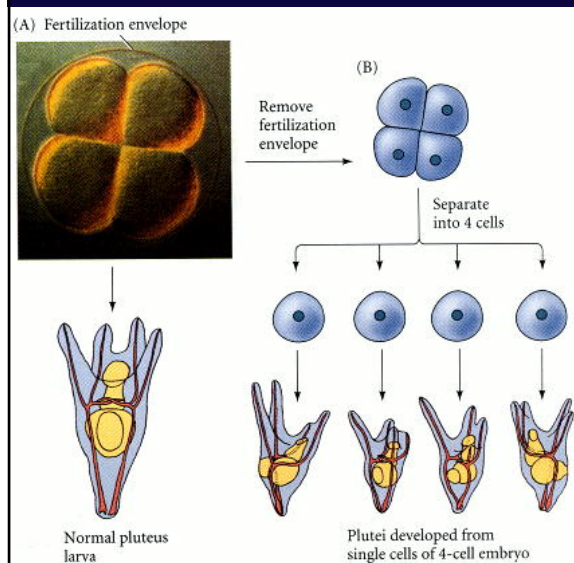
Τα πειράματα του Wilhelm Roux (1888)



...development of the frog is based on a mosaic mechanism, the cells having their character and fate determined at each cleavage. (Roux 1888)

95

Το ρυθμιστικό μοντέλο ανάπτυξης (Hans Driesch) (Conditional cell type specification)



.....But things turned out as they were bound to do and not as I expected; there was, typically, a whole gastrula on my dish the next morning, differing only by its small size from a normal one; and this small but whole gastrula developed into a whole and typical larva»

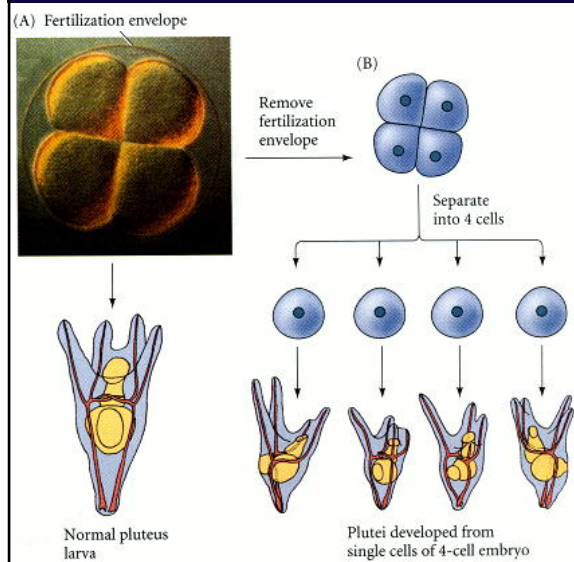
H. Driesch, 1892.

Νέοι όροι: ολοδύναμο πολυδύναμο κύτταρο.

Κατά συνθήκη κυτταρική εξειδίκευση.

96

Το ρυθμιστικό μοντέλο ανάπτυξης (Hans Driesch) (Conditional cell type specification)



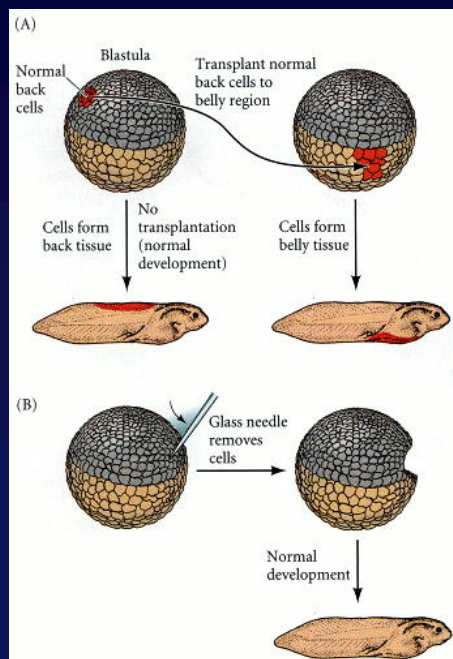
.....But things turned out as they were bound to do and not as I expected; there was, typically, a whole gastrula on my dish the next morning, differing only by its small size from a normal one; and this small but whole gastrula developed into a whole and typical larva»

H. Driesch, 1892.

Νέοι όροι: ολοδύναμο πολυδύναμο κύτταρο.

Κατά συνθήκη κυτταρική εξειδίκευση.

97



➤ Το αναπτυξιακό δυναμικό κάθε βλαστομεριδίου είναι πολύ μεγαλύτερο από το τελικό του πεπρωμένο.

➤ Το πεπρωμένο των κυττάρων εξαρτάται από τη θέση στην οποία βρίσκονται.

(ρυθμιστικό μοντέλο κατά συνθήκη εξειδίκευση)

98

Insofar as it contains a nucleus, every cell, during development, carries the totality of all primordia; Insofar as it contains a specific cytoplasmic cell body, it is specifically embedded by this to respond to specific effects only.

.....When nuclear material is activated, then, under its guidance, the cytoplasm of its cell that had first influenced the nucleus is in turn changed, and thus the basis is established for a new elementary process, which itself is not only the result but also a cause.

(Driesch 1894- Developmental Biology by S.Gilbert)

99

Η ανάπτυξη στο αρμαντίλλο *Dasypus novemcinctus*



Στο αρμαντίλλο από ένα έμβρυο πάντοτε προκύπτουν φυσιολογικά τέσσερα ομάδες κυττάρων που διαχωρίζονται πλήρως - έτσι τελικά από ένα ζυγωτό προκύπτουν τέσσερα έμβρυα.



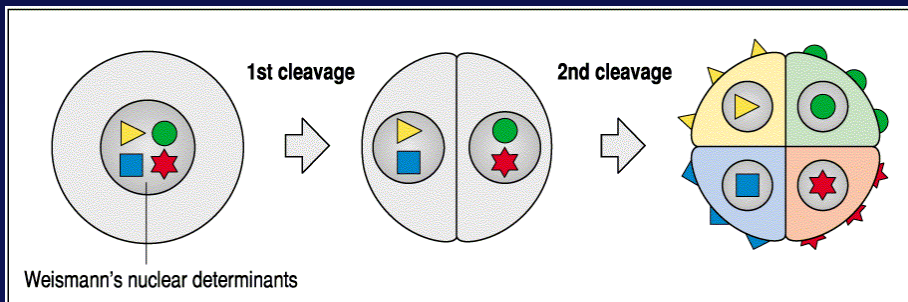
100

Μωσαϊκή ανάπτυξη

➤ Αυτόνομος προκαθορισμός κυτταρικών τύπων μέσω της επιλεκτικής κληρονομής ορισμένων μορίων που βρίσκονται στο ωάριο και συχνά αναφέρονται ως κυτταροπλασματικοί καθοριστές (cytoplasmic determinants).

➤ Το μέλλον των κυττάρων είναι προκαθορισμένο από το στάδιο των πρώτων διαιρέσεων του εμβρύου.

➤ Χαρακτηρίζει τα περισσότερα ασπόνδυλα.



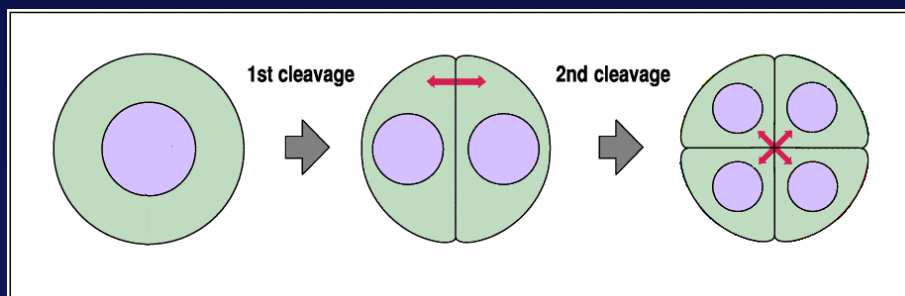
101

Ρυθμιστική ανάπτυξη

➤ «Κατά συνθήκη» (conditional) εξειδίκευση κυτταρικών τύπων μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων.

➤ Το πεπρωμένο των κυττάρων προκαθορίζεται σε σχετικά πιο προχωρημένο αναπτυξιακό στάδιο.

➤ Χαρακτηρίζει τα περισσότερα σπονδυλόζωα.



102

Τα κύτταρα διαφέρουν μεταξύ τους γιατί εκφράζουν διαφορετικά τα γονίδια τους.

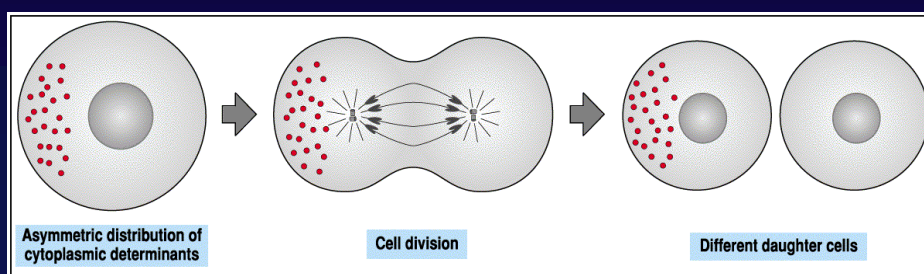
Στην πορεία της εμβρυογένεσης μπορούν να προκύψουν διαφορετικοί τύποι κυττάρων με δύο βασικούς τρόπους:

➤ Μέσω ασύμμετρης κυτταρικής διαίρεσης μπορεί τα δύο θυγατρικά κύτταρα να κληρονομούν διαφορετικά μόρια (π.χ. διαφορετικούς μεταγραφικούς παράγοντες) η δράση των οποίων θα καθορίσει στη συνέχεια ποια γονίδια θα εκφράσουν. Τέτοια μόρια είναι γνωστά ως κυτταροπλασματικοί καθοριστές (cytoplasmic determinants) και καθορίζουν προς ποια κατεύθυνση θα διαφοροποιηθεί το κύτταρο (μωσαϊκό μοντέλο ανάπτυξης).

➤ Τα κύτταρα αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και οι αλληλεπιδράσεις αυτές καθορίζουν το ποια πορεία διαφοροποίησης θα ακολουθήσουν (ρυθμιστικό μοντέλο ανάπτυξης).

103

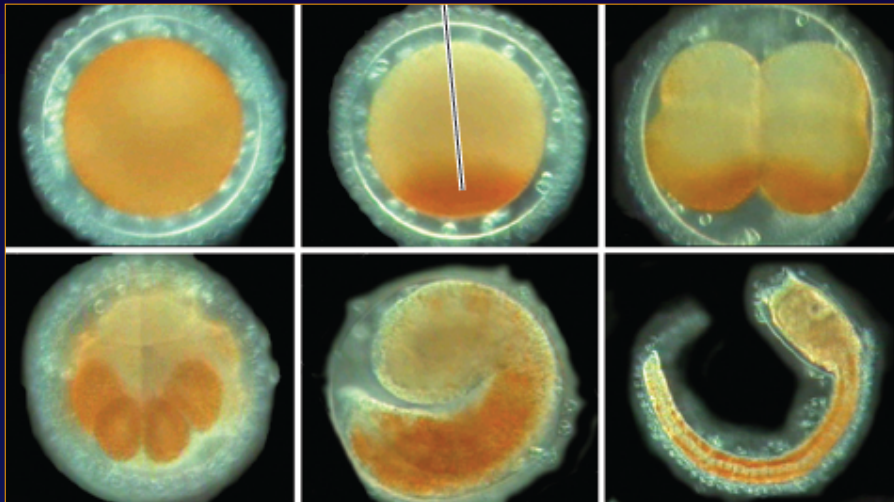
Παράδειγμα διαφοροποίησης με κυτταροπλασματικούς καθοριστές



Μια κυτταρική διαίρεση χαρακτηρίζεται ως ασύμμετρον (asymmetric) όταν τα θυγατρικά κύτταρα διαφέρουν μεταξύ τους εξ' αιτίας της διαφορετικής κατανομής κυτταροπλασματικών καθοριστών σ' αυτά.

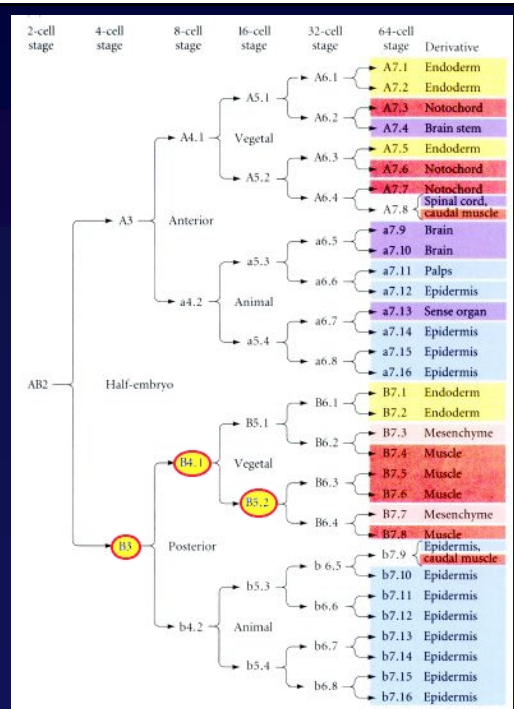
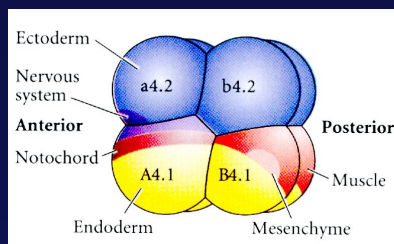
104

Ο σχηματισμός μυών στο ασκίδιο *Styela partita*



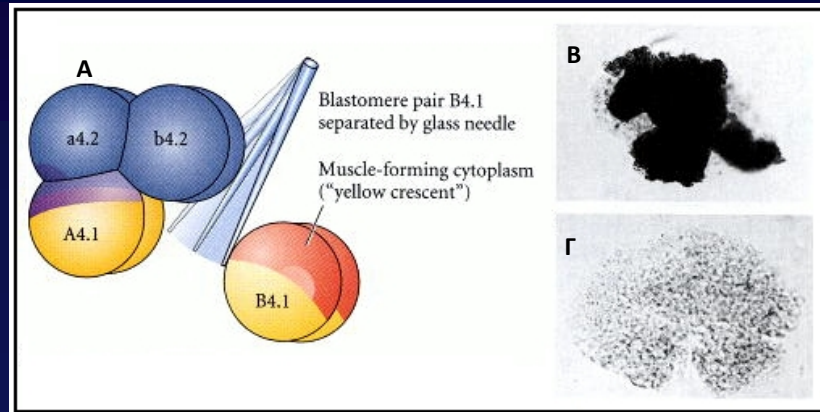
105

Τα πειράματα του E. G. Conklin (1905) στα ασκίδια



106

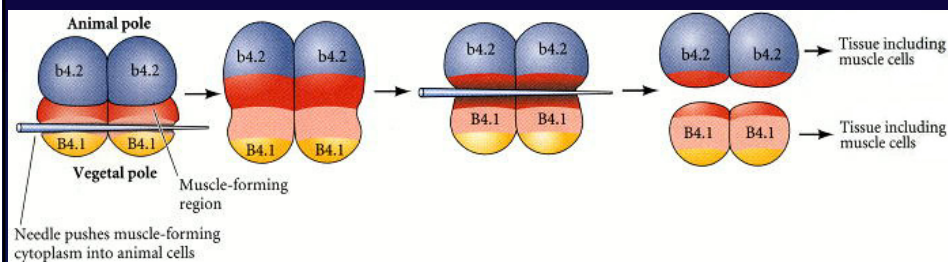
Styela partita - J. R. Whittaker (1977) Ανίχνευση ακετυλοχολινεστεράσης



Η ακετυλοχολινεστεράση εκφράζεται μόνο στα μυϊκά κύτταρα της λάρβας. Απο τα πειράματα του Conklin ήταν γνωστό ότι τα B4.1 παράγουν τα μυϊκά κύτταρα της λάρβας- τα απομόνωσαν (A), τα καλλιέργησαν και έδειξαν ότι παράγουν ακετυλοχολινεστεράση (B).

107

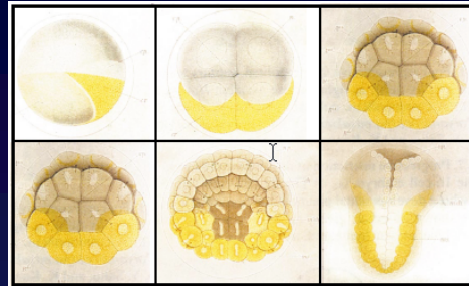
Styela partita J. R. Whittaker (1983)



Αν με μικροχειρουργικούς χειρισμούς αλλάξουμε το επίπεδο αυλάκωσης έτσι ώστε μια ποσότητα κυταροπλάσματος από το B4.1 να μεταφερθεί στο B4.2, τότε στους απογόνους του B4.2 περιλαμβάνονται και μυϊκά κύτταρα.

108

E. G. Conklin *J. Acad. Nat. Sci. Philadelphia* 13: 1–19 (1905)



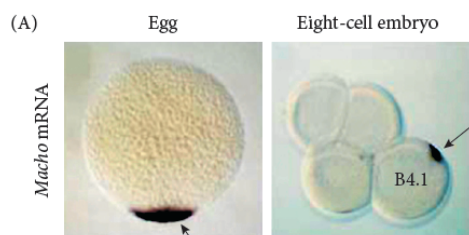
H. Nishida & K. Sawada
Nature 409: 724-729 (2001)

macho-1 encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis

Hiroki Nishida & Kaichiro Sawada

Department of Biological Sciences, Tokyo Institute of Technology, Nagatsuta, Midoriku, Yokohama 226-8501, Japan

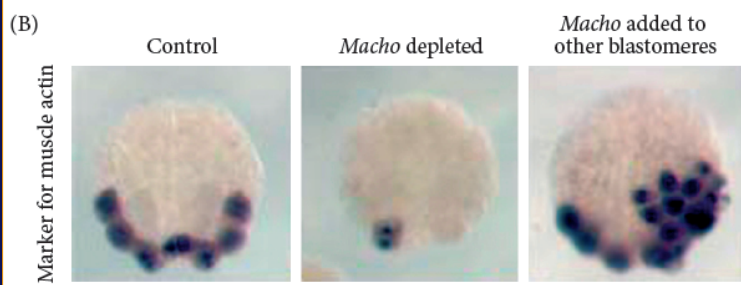
109



macho-1 encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis

Hiroki Nishida & Kaichiro Sawada

Nature 409: 724-729 (2001)



110

Η πρωτεΐνη PIE-1 κατανέμεται ασύμμετρα στην πρώτη αυλακωτική διαίρεση



Κατά την πρώτη διαίρεση της αυλάκωσης του εμβρύου του *C. elegans*, η πρωτεΐνη PIE-1 κατανέμεται στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου, στο ένα από τα δύο βλαστομερίδια.

Στο συγκεκριμένο παράδειγμα ο εντοπισμός της PIE-1 μελετάται μέσω της δημιουργίας μιας υβριδικής πρωτεΐνης ανάμεσα στην PIE-1 και την GFP, η οποία φθορίζει.

111

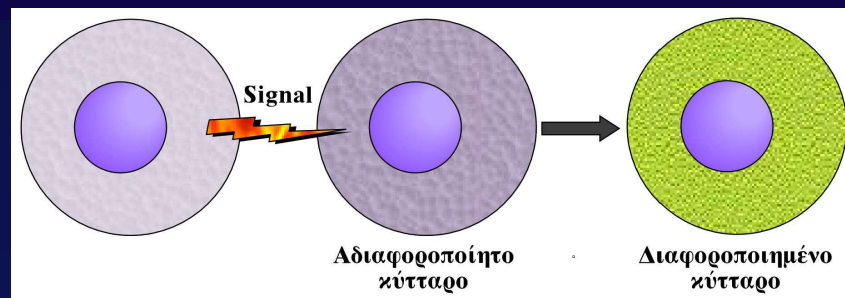
Τα κύτταρα διαφέρουν μεταξύ τους γιατί εκφράζουν διαφορετικά τα γονίδια τους. Στην πορεία της εμβρυογένεσης μπορούν να προκύψουν διαφορετικοί τύποι κυττάρων με δύο βασικούς τρόπους:

➤ Μέσω ασύμμετρης κυτταρικής διαίρεσης μπορεί τα δύο θυγατρικά κύτταρα να κληρονομούν διαφορετικά μόρια (π.χ. διαφορετικούς μεταγραφικούς παράγοντες) η δράση των οποίων θα καθορίσει στη συνέχεια ποια γονίδια θα εκφράσουν. Τέτοια μόρια είναι γνωστά ως κυτταροπλασματικοί καθοριστές (cytoplasmic determinants) και καθορίζουν προς ποια κατεύθυνση θα διαφοροποιηθεί το κύτταρο (μωσαϊκό μοντέλο ανάπτυξης).

➤ Τα κύτταρα αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και οι αλληλεπιδράσεις αυτές καθορίζουν το ποια πορεία διαφοροποίησης θα ακολουθήσουν (ρυθμιστικό μοντέλο ανάπτυξης).

112

Παραδείγματα διαφοροποίησης μέσω κυτταρικών αλληλεπιδράσεων (κατά συνθήκη εξειδίκευση)



Κυτταρική επικοινωνία (cell signaling)

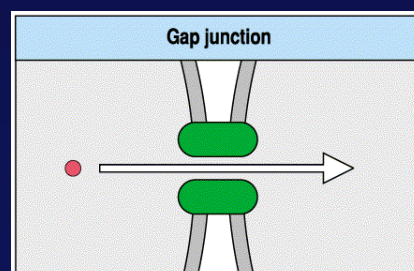
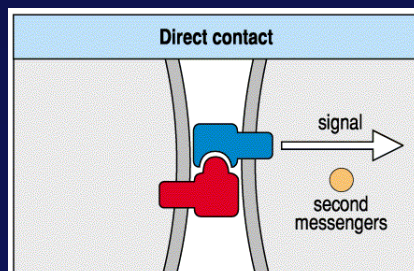
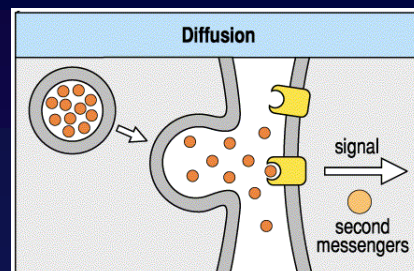
113

Τύποι κυτταρικής επικοινωνίας

α) Με αλληλεπίδραση μεταξύ εκκρινόμενων μορίων και διαμεμβρανικών υποδοχέων.

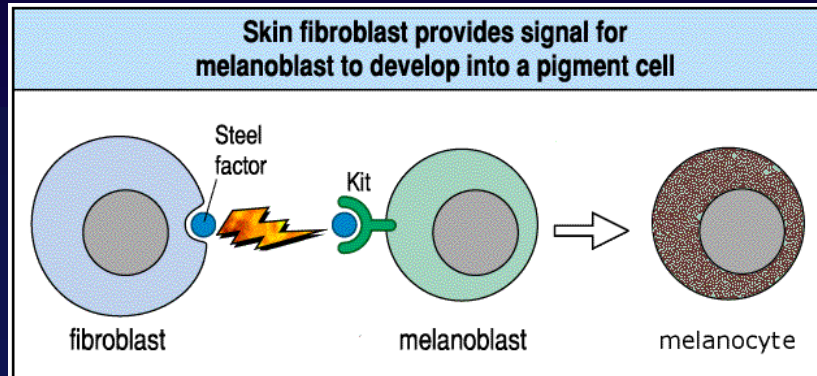
β) Με αλληλεπίδραση μεταξύ διαμεμβρανικών πρωτεϊνών.

γ) Μέσω χασματοσυνδέσμων (gap junctions).



114

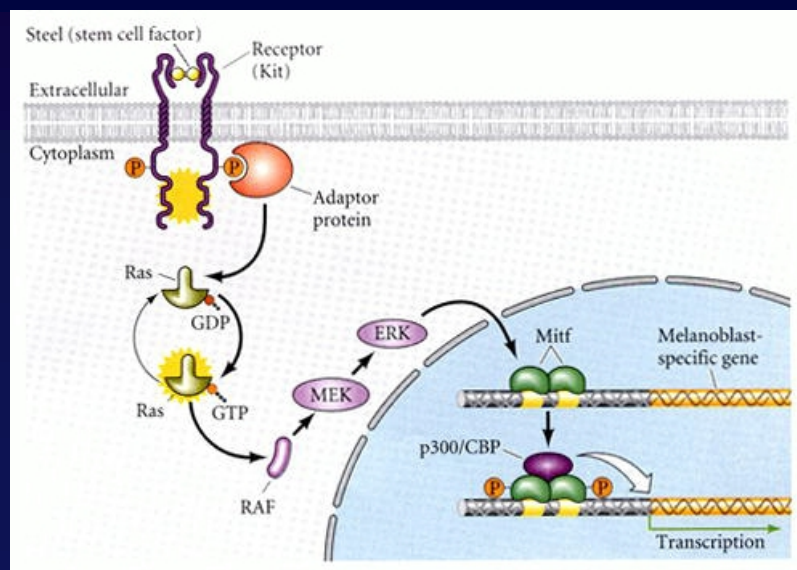
Παράδειγμα: τα γονίδια *Steel* / *Kit* και η διαφοροποίηση των μελανοκυττάρων στα θηλαστικά



Η τελική διαφοροποίηση των μελανοκυττάρων εξαρτάται από την αλληλεπίδραση ινοβλαστών-μελανοβλαστών. Οι ινοβλάστες παράγουν ένα διαλυτό παράγοντα (*Steel*) ο οποίος προσδένεται στον υποδοχέα (*Kit*) που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των μελανοβλαστών. Η πρόσδεση του *Steel* στον *Kit* ενεργοποιεί το μονοπάτι του *ras*.

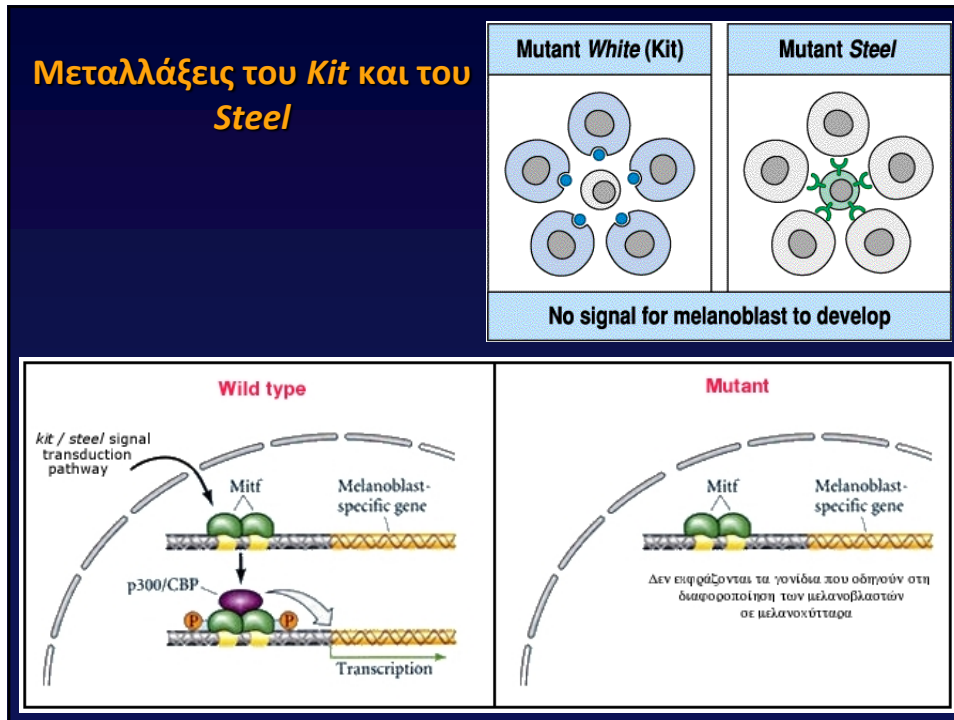
115

Το μονοπάτι του *Kit*

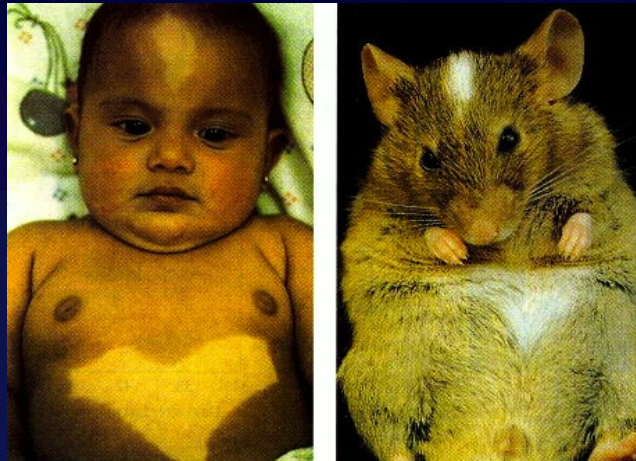


116

Μεταλλάξεις του *Kit* και του *Steel*



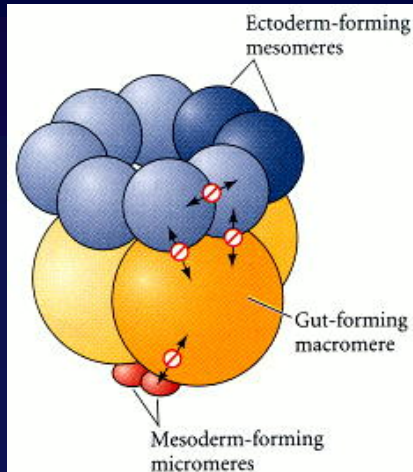
117



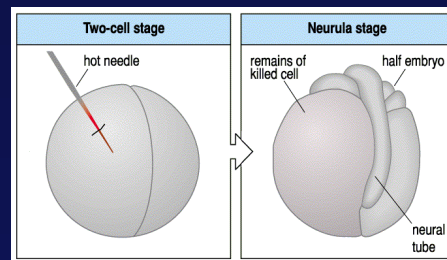
Ατομα ετερόζυγα για μεταλλαγμένα αλληλόμορφα του *Kit* εμφανίζουν μεταξύ άλλων ανωμαλίες στο χρώμα του δέρματος. (Στον άνθρωπο τα αντίστοιχα αλληλόμορφα σε ομόζυγη κατάσταση πιθανότατα προκαλούν εμβρυικό θάνατο. Στον ποντικό, στην ομόζυγη κατάσταση, ορισμένα αλληλόμορφα προκαλούν εμβρυικό θάνατο ενώ άλλα προκαλούν διάφορες σοβαρές ανωμαλίες - οι ποντικοί είναι λευκοί).

118

«A harmonious equipotential system»



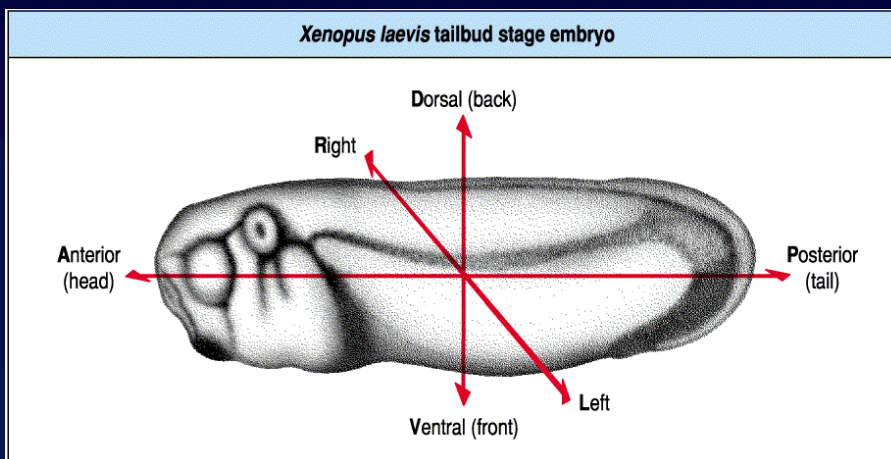
Στο ρυθμιστικό μοντέλο παρόλο που κάθε κύτταρο θα μπορούσε να σχηματίσει έναν οργανισμό τελικά σχηματίζει ένα τμήμα του. Αλληλεπιδράσεις με άλλα κύτταρα περιορίζουν το δυναμικό του.



Τα αμφίβια ακολουθούν το ρυθμιστικό μοντέλο - αν τα δύο βλαστομερίδια απομονωθούν από αυτά προκύπτουν δύο πλήρη έμβρυα! Το αντίθετο αποτέλεσμα που παρατήρησε ο Roux οφείλεται στο ότι δεν απομάκρυνε το νεκρό βλαστομερίδιο.

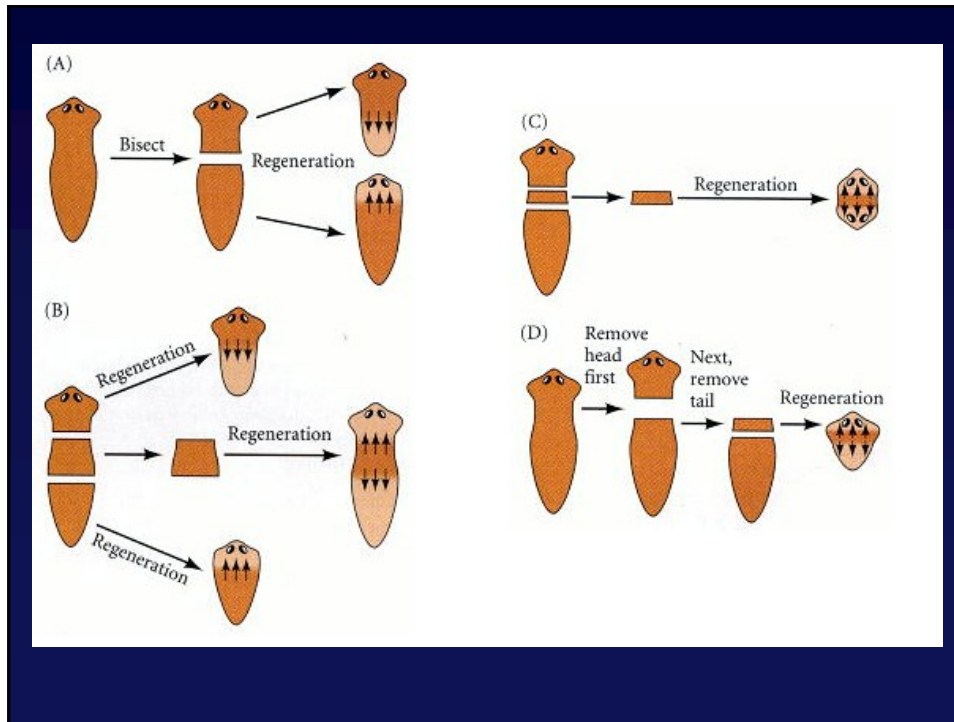
119

Δημιουργία προτύπου



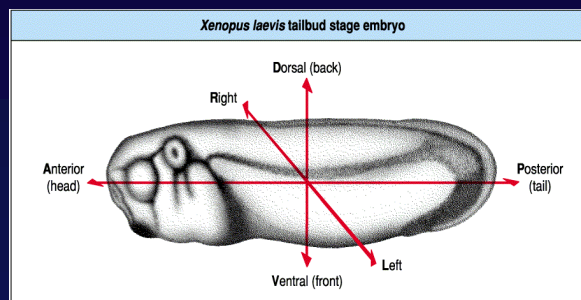
Η διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα του αναπτυσσόμενου εμβρύου αποκτούν την ταυτότητά τους, και οργανώνονται έτσι ώστε να σχηματιστεί το αρχιτεκτονικό σχέδιο του σώματος (body plan).

120



121

Δημιουργία προτύπου και πληροφορία θέσης. (patterning & positional information)



Η Γαλλική σημαία εμφανίζει ένα πολύ απλό πρότυπο - αν ήταν βιολογικό σύστημα, θα αποτελείτο από τρία είδη κυττάρων: μπλε, ασπρα, κόκκινα. Με ποιο μηχανισμό θα ήταν δυνατό να σχηματιστεί αυτό το απλό πρότυπο; Μια λύση είναι αυτή της πληροφορίας θέσης.

122

The French flag analogy Wolpert, 1968

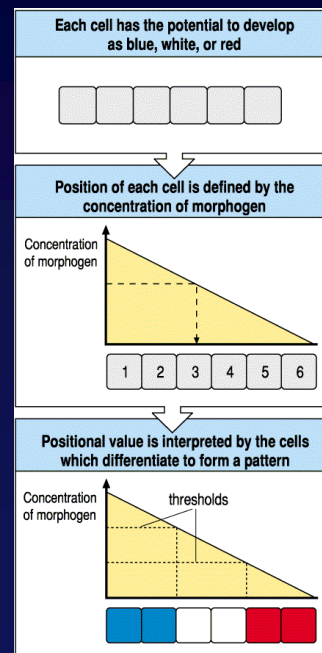
➤ Όλα τα κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να γίνουν άσπρα, κόκκινα ή μπλε.

➤ Τα κύτταρα αποκτούν την ταυτότητά τους ή την «τιμή θέσης» (positional value) που σχετίζεται με τη θέση τους κατά μήκος της γραμμής.

➤ Η τιμή θέσης πρέπει να αξιοποιηθεί από τα κύτταρα οδηγώντας τελικά στο σχηματισμό του προτύπου.

➤ Η απόκτηση της τιμής θέσης και η αξιοποίησή της είναι δύο διαφορετικές μη σχετιζόμενες διαδικασίες - η «ερμηνεία» της τιμής θέσης εξαρτάται από το κύτταρο και την αναπτυξιακή του ιστορία.

(σε άλλη περίπτωση Ιταλική σημαία)



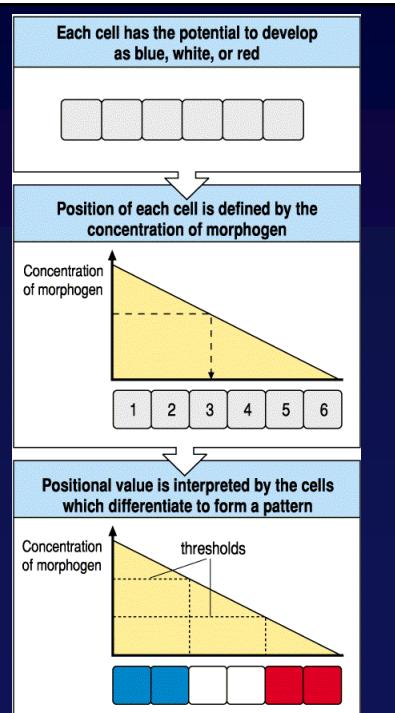
123

The French flag analogy Wolpert, 1968

➤ Ο απλούστερος μηχανισμός που θα μπορούσε να ισχύει βασίζεται στην κλίση συγκέντρωσης κάποιου μορίου - η συγκέντρωσή του κατά μήκος της γραμμής είναι η τιμή θέσης (πληροφορία).

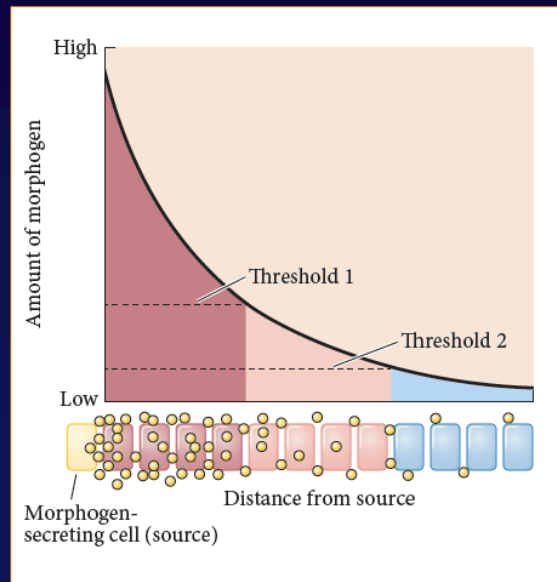
➤ Υποθέτουμε ότι υπάρχει κάποια πηγή του σήματος αυτού στο ένα άκρο - η κλίση μπορεί να σχηματίζεται με διάχυση *.

➤ Τα κύτταρα απαντούν σε συγκεντρώσεις-κατωφλίου (threshold concentrations): σε πολύ ψηλές συγκεντρώσεις γίνονται μπλέ, σε ενδιάμεσες άσπρα και σε πολύ χαμηλές κόκκινα.



124

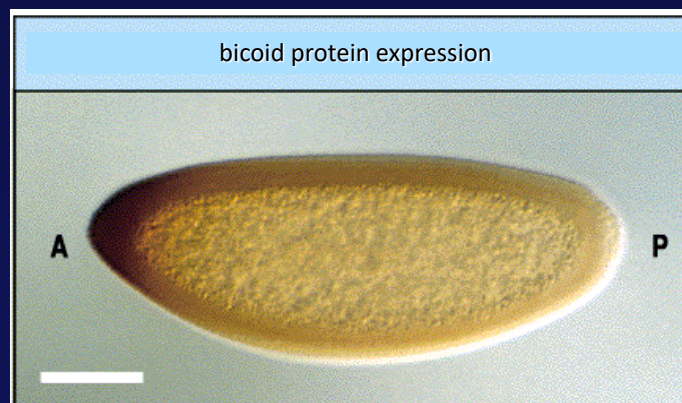
The French flag analogy Wolpert, 1968



125

Μορφογόνο (morphogen)

Μια ουσία η οποία κατανέμεται ασύμμετρα σε κάποια περιοχή του εμβρύου επάγει τη διαφοροποίηση γειτονικών κυττάρων κατά τρόπο που εξαρτάται από την τοπική της συγκέντρωση.



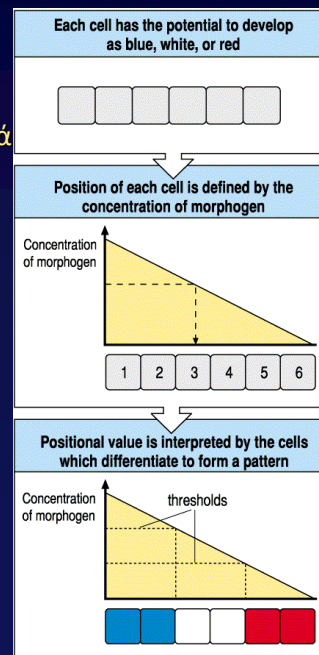
126

The French flag analogy Wolpert, 1968

Το μοντέλο αυτό παρουσιάζει δυο χαρακτηριστικά της ανάπτυξης:

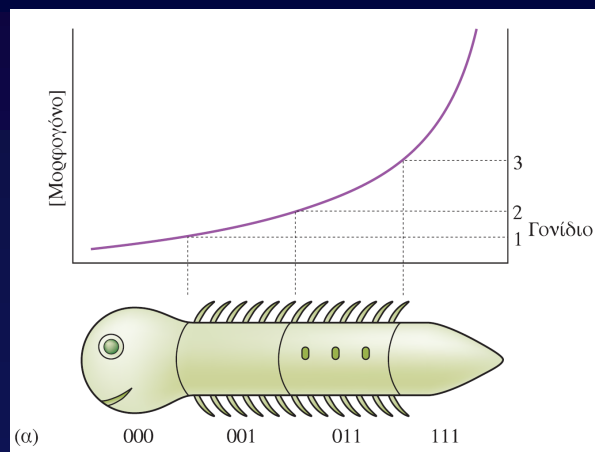
➤ Ανεξάρτητα από το μήκος της γραμμής, το πρότυπο θα σχηματιστεί σωστά εφόσον οι συγκεντρώσεις του μορφογόνου στα όρια είναι σταθερές.

➤ Το σύστημα έχει τη δυνατότητα αναγέννησης του προτύπου. Αν για παράδειγμα ένα τμήμα αποκοπεί το πρότυπο θα εγκαθιδρυθεί εκ νέου (εφόσον και οι οριακές συγκεντρώσεις θα εγκαθιδρυθούν)- ρυθμιστικό.



127

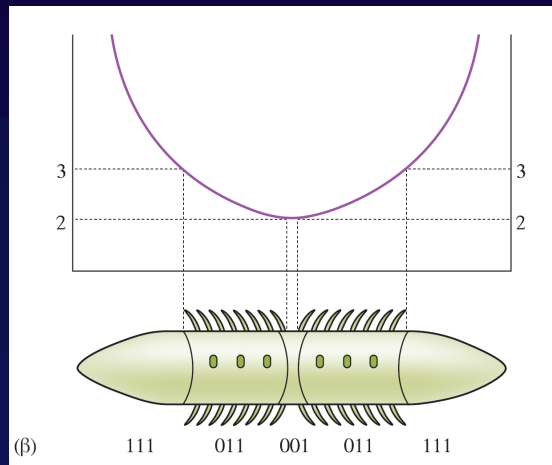
Κλίση μορφογόνου



Η ενεργοποίηση, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, των γονιδίων 1, 2 και 3 διαιρεί το έμβρυο σε τέσσερις περιοχές. Κάθε περιοχή χαρακτηρίζεται από έναν διαφορετικό συνδυασμό.

128

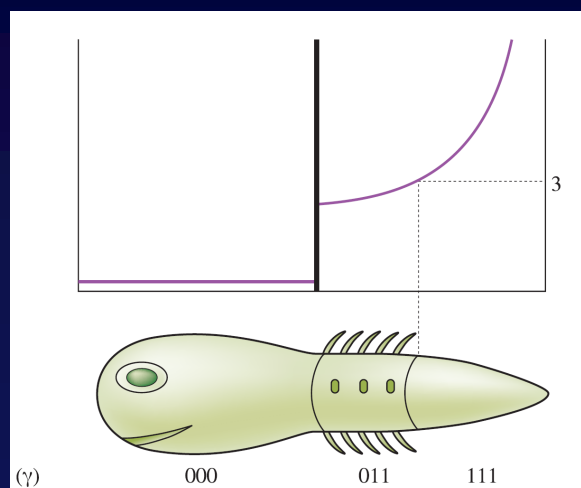
Κλίση μορφογόνου



Αν τοποθετήσουμε δεύτερη πηγή του μορφογόνου στο τότε περιμένουμε να διπλασιαστούν κάποιες δομές (αρκετές φορές σε βάρος άλλων).

129

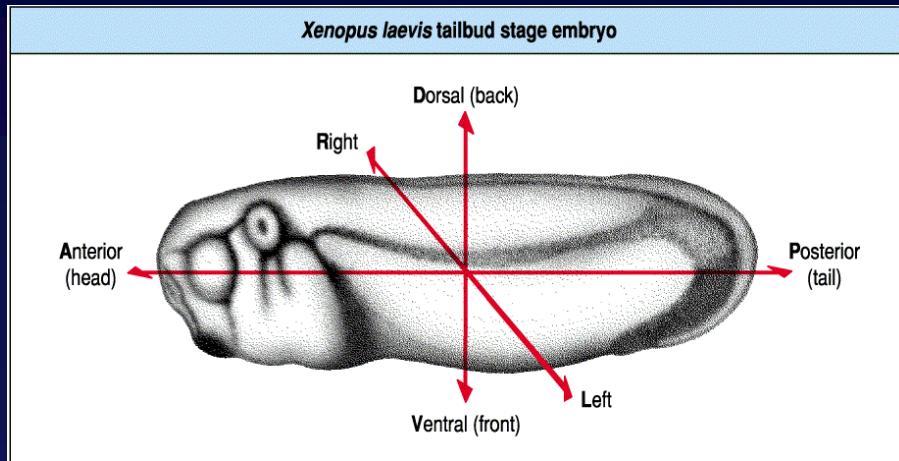
Κλίση μορφογόνου



Η εισαγωγή ενός αδιαπέραστου φράγματος προκαλεί σχηματισμό ενός μεγάλου κενού στο πρότυπο: χάνεται το ήμισυ του προτύπου του εμπρόσθιου τμήματος του σώματος, καθώς και μέρος του προτύπου του οπίσθιου τμήματος

130

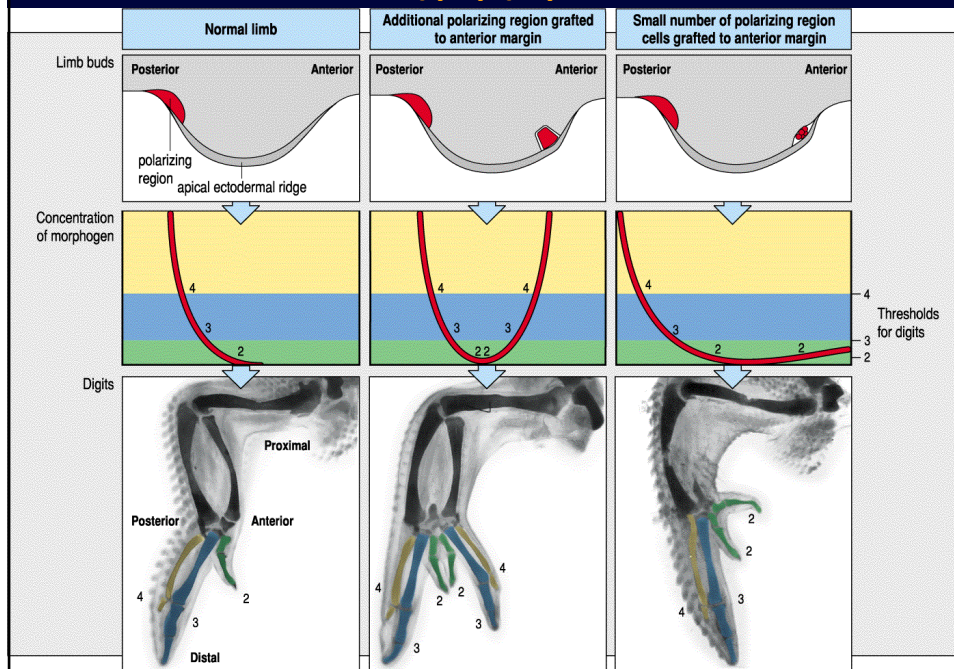
Δημιουργία προτύπου



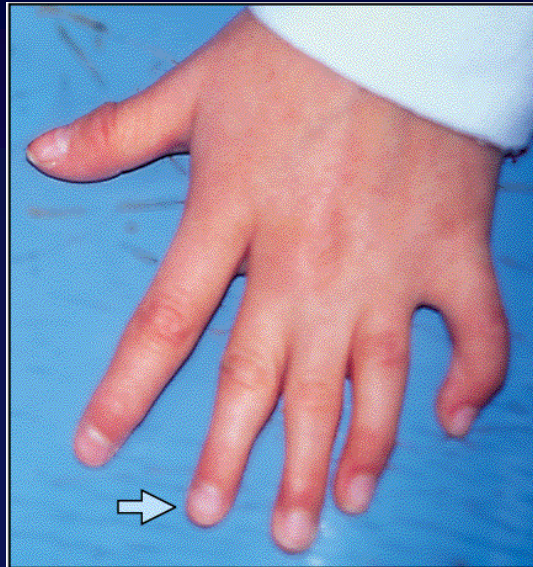
Η διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα του αναπτυσσόμενου εμβρύου αποκτούν την ταυτότητά τους, και οργανώνονται έτσι ώστε να σχηματιστεί το αρχιτεκτονικό σχέδιο του σώματος (body plan).

131

Κλίση μορφογόνου



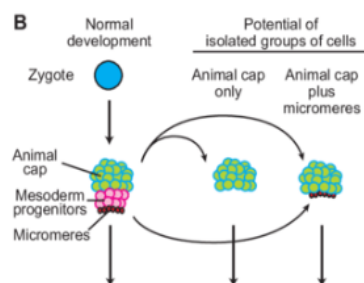
132



133

Το αποτέλεσμα του πειράματος θα είναι:

- A. Από κάθε περιοχή θα αναπτυχθεί ένα τμήμα του εμβρύου
- B. Το έμβρυο θα πεθάνει
- C. Θα αναπτυχθούν δύο πλήρη έμβρυα
- D. Θα αναπτυχθεί ένα συσσωμάτωμα κυττάρων που δεν θα θυμίζει έμβρυο
- E. Δεν έχω ιδέα

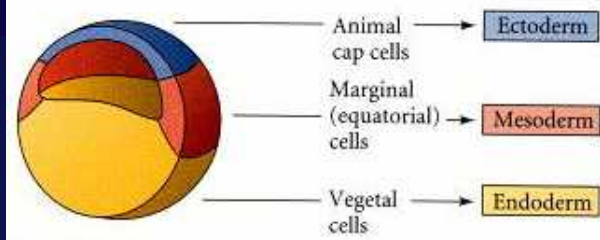


A B C D E 0

134

Ακτιβίνη και σχηματισμός μεσοδέρματος στο *X. laevis*

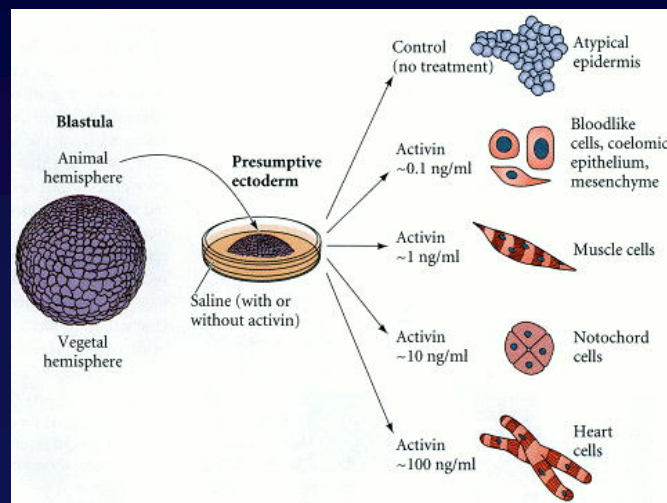
Dissected blastula fragments give rise to different tissue in culture:



Στον *Xenopus* το μεσόδερμα σχηματίζεται από τα κύτταρα που εντοπίζονται στην ισημερινή περιοχή.

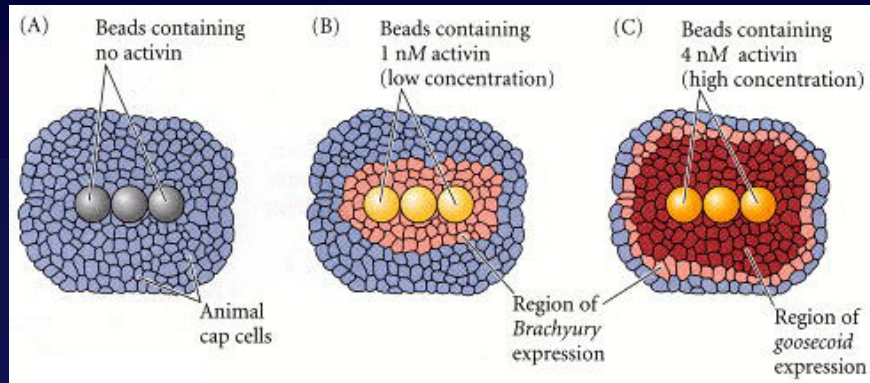
Germ layers	Organs
Endoderm	gut, liver, lungs
Mesoderm	skeleton, muscle, kidney, heart, blood
Ectoderm	skin, nervous system

135



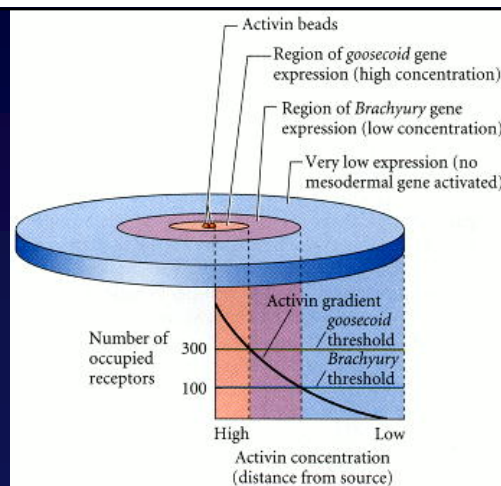
Κύτταρα του ζωικού ημισφαιρίου σχηματίζουν *in vitro* μεσοδερμικά κύτταρα αποκρινόμενα διαφορεικά σε αυξανόμενες συγκεντρώσεις ακτιβίνης-α.

136



Διαφορετικοί μεταγραφικοί παράγοντες επάγονται σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ακτιβίνης-α.

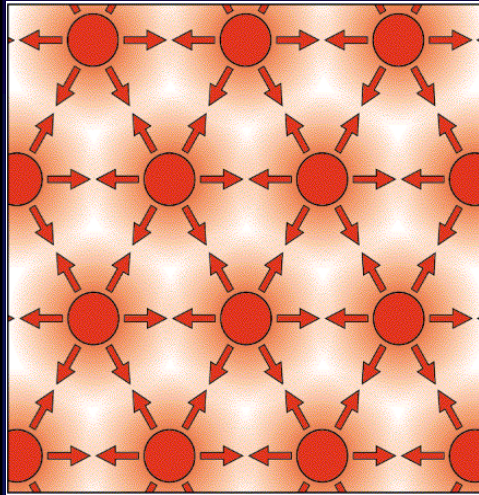
137



Η ακτιβίνη-α προσδένεται σε υποδοχείς. Ο αριθμός των υποδοχέων σε κάθε κύτταρο είναι περίπου 500. Όταν είναι κατειλημμένοι οι 100 το κύτταρο εκφράζει τον μεταγραφικό παράγοντα *Bra* και σχηματίζει πλευροκοιλιακό μεσόδερμα. Αν ο αριθμός των κατειλημμένων υποδοχέων ξεπεράσει του 300 το κύτταρο εκφράζει τον μεταγραφικό παράγοντα *gsc* και σχηματίζει ραχιαίες δομές π.χ. νωτοχορδή.

138

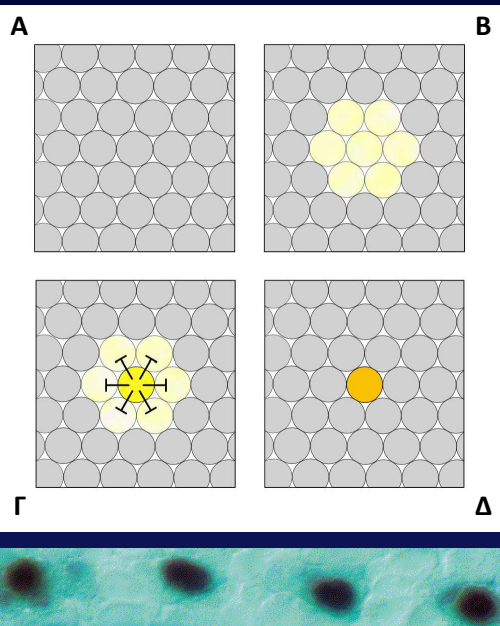
Πλευρική αναστολή



Σε πολλές περιπτώσεις παρατηρούμε επαναλαμβανόμενες δομές (π.χ. φτερά) σε κανονική διάταξη. Στην περίπτωση αυτή στην καταβολή της δομής όλα τα κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να σχηματίσουν αυτή τη δομή, όμως τελικά μόνον μερικά ακολουθούν αυτή την τύχη. Αυτό συμβαίνει επειδή τα κύτταρα αυτά έχουν τη δυνατότητα να αναστέλλουν τη διαφοροποίηση των διπλάνών τους - αυτός ο μηχανισμός ονομάζεται πλευρική αναστολή (lateral inhibition).

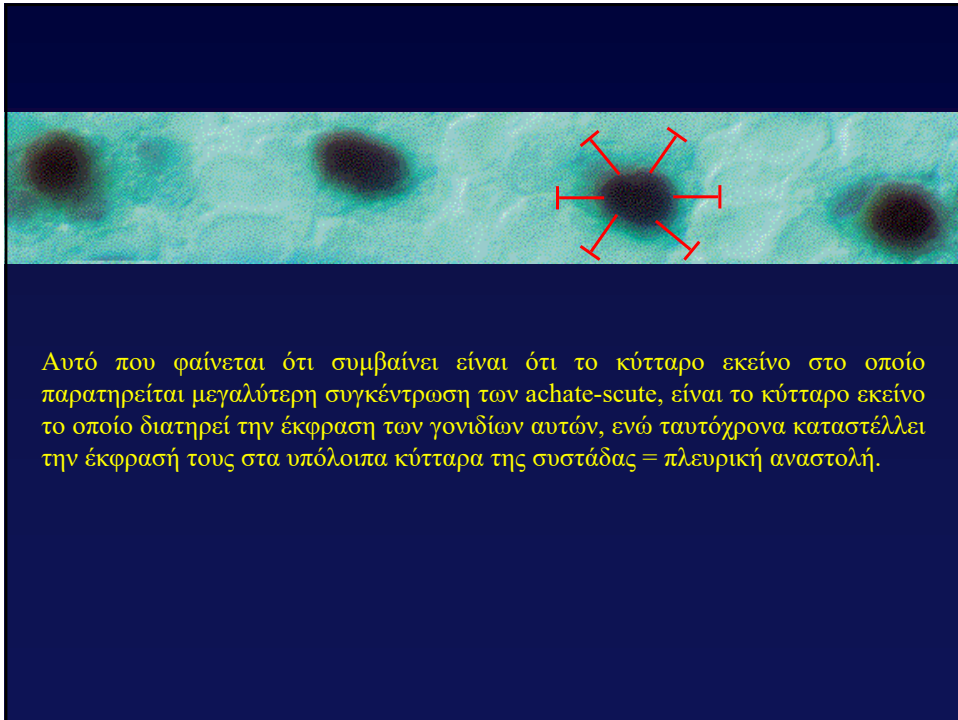
139

Τα γονίδια *Delta* / *Notch* στη Δροσόφιλα



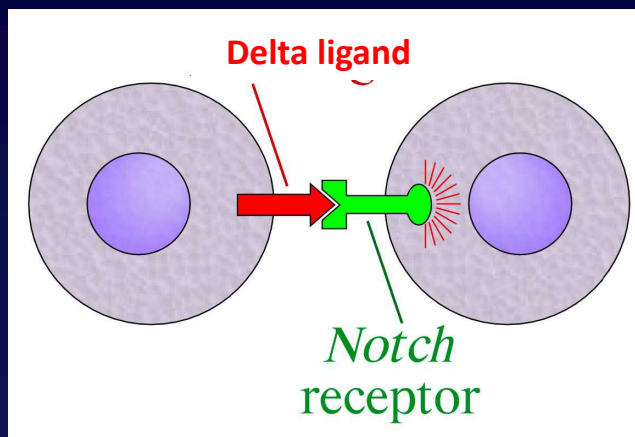
Κατά την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος στη Δροσόφιλα, πριν από την εμφάνιση οποιασδήποτε κανονικής δομής τα προνευρικά γονίδια του γονιδιακού τόπου *achaete-scute* εκφράζονται σε ένα κανονικό πρότυπο σε ομάδες κυττάρων που ονομάζονται προνευρικές συστάδες. Σταδιακά η έκφρασή τους περιορίζεται σε ένα μόνον κύτταρο από κάθε συστάδα. Το κύτταρο αυτό θα γίνει νευροβλάστης.

140



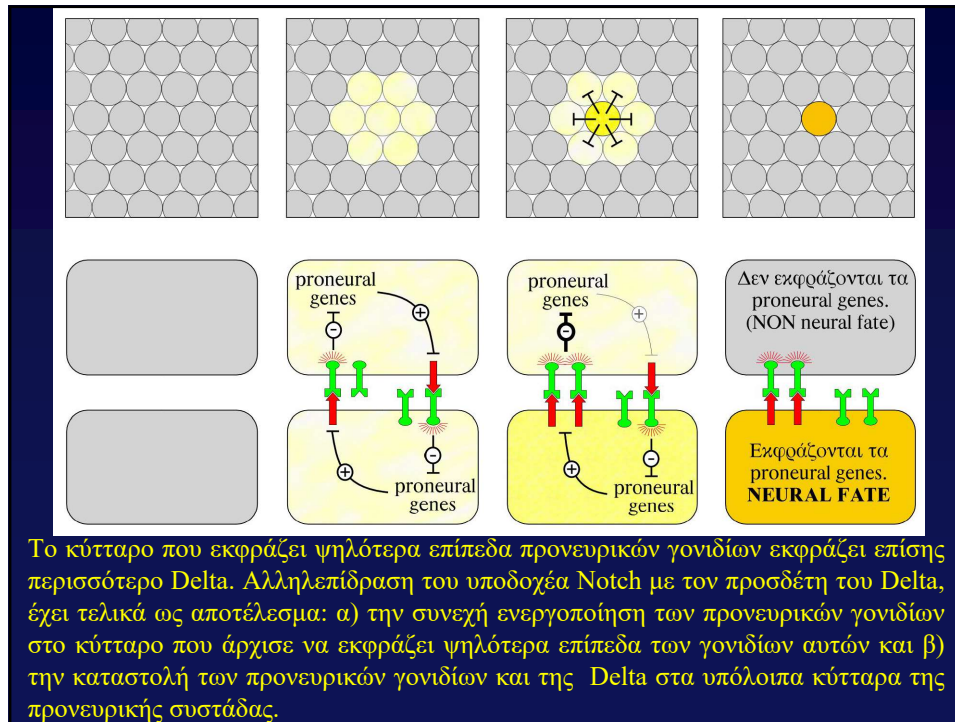
141

Το μονοπάτι του Notch και η πλευρική αναστολή



Η **Notch** είναι μεγάλη διαμεμβρανική πρωτεΐνη. Το εξωκυττάριο τμήμα φέρει 36 επαναλαμβανόμενα τμήματα που μοιάζουν με τον EGF ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα φέρει το επαναλαμβανόμενο μοτίβο cdc10/ankyrin. Η Notch είναι ο υποδοχέας για δυο παρόμοια μόρια τη **Delta** και τη **Serrate**.

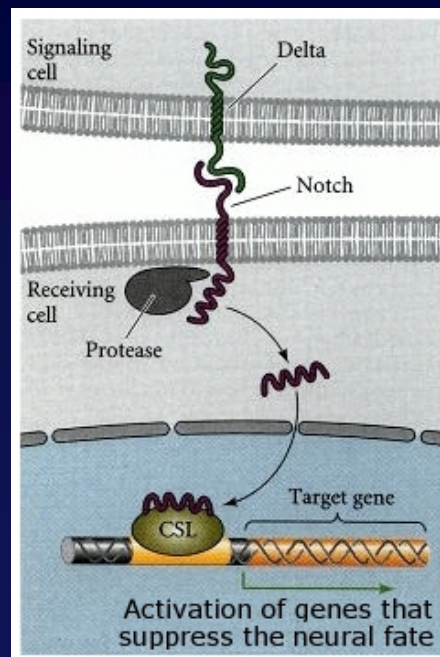
142



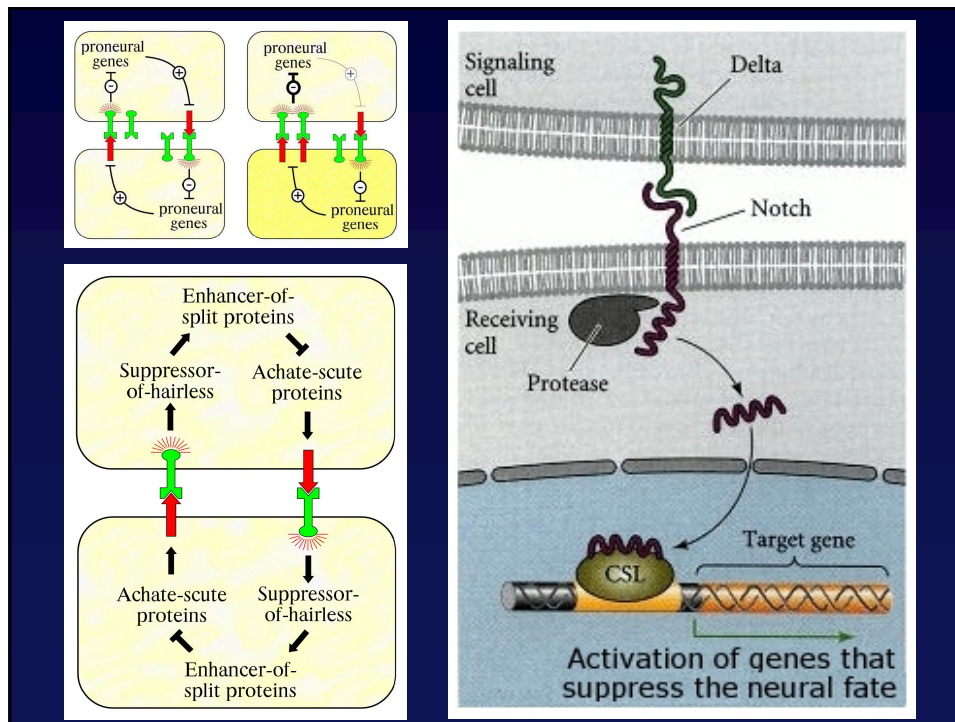
143

Το μονοπάτι του Notch

Ενεργοποίηση του μονοπατιού του Notch έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση μιας πρωτεΐσης η οποία αποκόπτει το κυτταροπλασματικό τμήμα του υποδοχέα, το οποίο μετατοπίζεται στον πυρήνα όπου ενεργοποιεί τους μεταγραφικούς παράγοντες suppressor of hairless. Αυτοί καταστέλλουν τη μεταγραφή των προνευρικών γονιδίων.



144

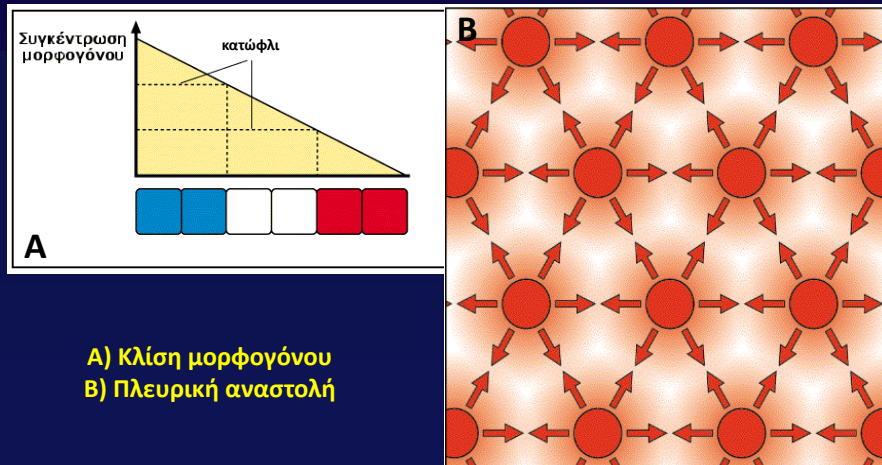


145

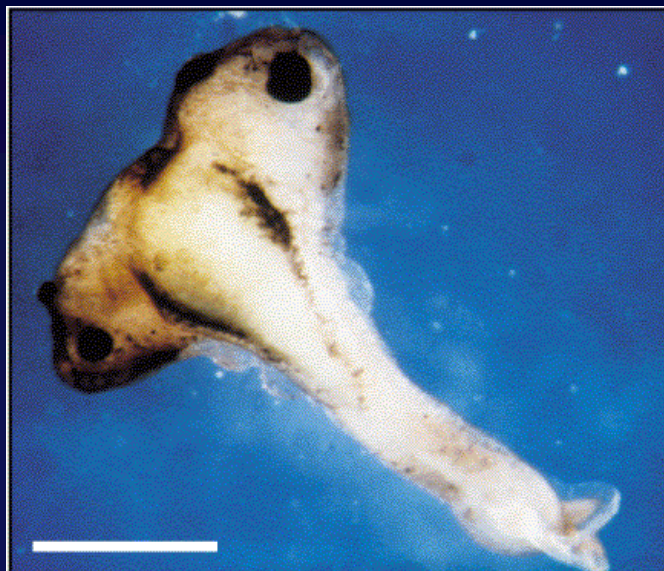
Ποιος είναι ο φαινότυπος μεταλλάξεων στο *Notch* ή στο *Delta* ;

146

Ανακεφαλαίωση Δημιουργία προτύπου



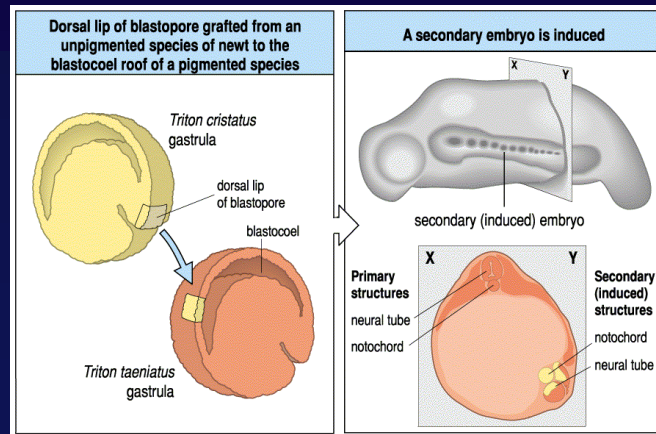
147



148

Επαγωγή (induction) & δεκτικότητα (competence)

Ο οργανωτής (organizer) των αμφιβίων
Hans Spemann and Hilde Mangold 1924

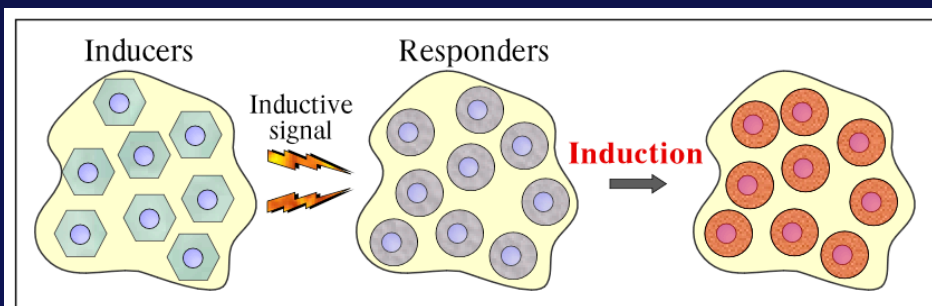


Μεταμόσχευση του ραχιαίου χείλους του βλαστοπόρου έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός δεύτερου εμβρύου.

149

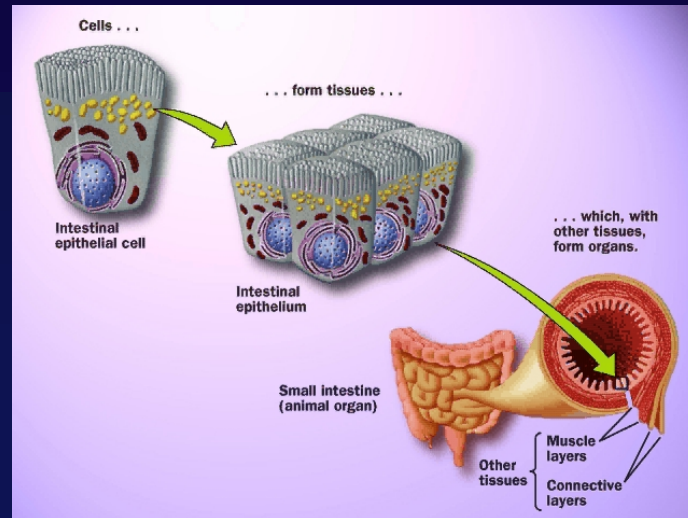
Επαγωγή

Επαγωγή (induction) ονομάζεται το φαινόμενο κατά το οποίο μία ομάδα κυττάρων του εμβρύου που ονομάζονται επαγωγείς (inducers), μεταβιβάζουν σήματα σε μια δεύτερη ομάδα κυττάρων που ονομάζονται αποδέκτες (responders) επηρεάζοντας με τον τρόπο αυτό τη διαφοροποίησή τους.



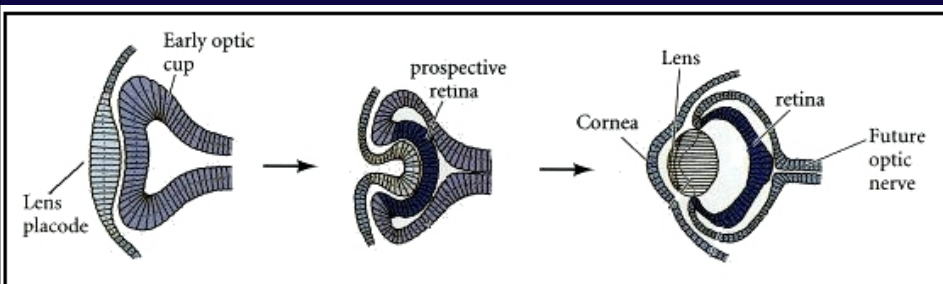
150

Μια σειρά επαγωγικών φαινομένων εξασφαλίζουν την διευθέτηση των ιστών κατά την κατασκευή των οργάνων.



151

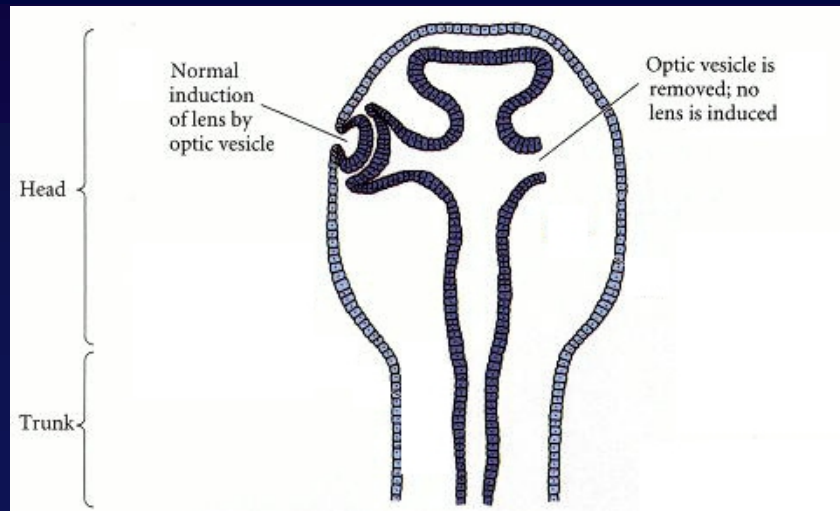
Ο σχηματισμός του φακού του ματιού στα σπονδυλόζωα



Τα πρωτογενή οφθαλμικά κυστίδια επάγουν το εξώδερμα που βρίσκεται απέναντί τους να σχηματίσει το πλακώδιο του φακού, που στη συνέχεια εγκολπώνεται προς το πρωτογενές οφθαλμικό κυστίδιο σχηματίζοντας αρχικά το εντύπωμα του φακού και στη συνέχεια το κυστίδιο του φακού. Ταυτόχρονα το οπτικό κυστίδιο μετατρέπεται σε ένα κυπελοειδές μόρφωμα, το δευτερογενές οπτικό κυστίδιο.

152

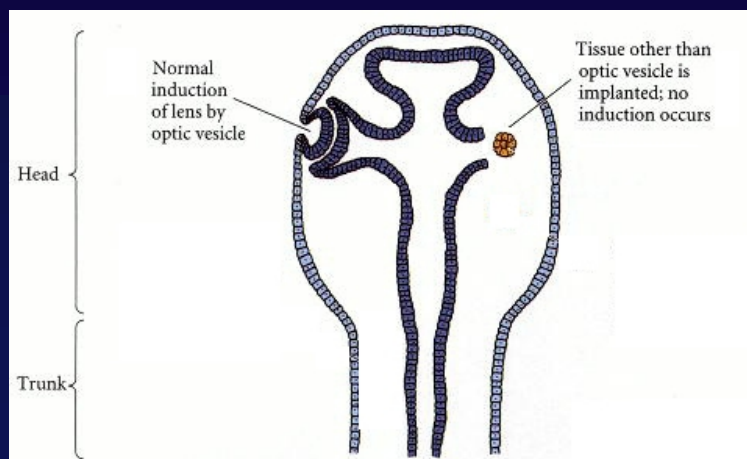
Το οπτικό κυστίδιο επάγει το σχηματισμό του φακού



Αν απομακρύνουμε το πρωτογενές οπτικό κυστίδιο δεν σχηματίζεται φακός.

153

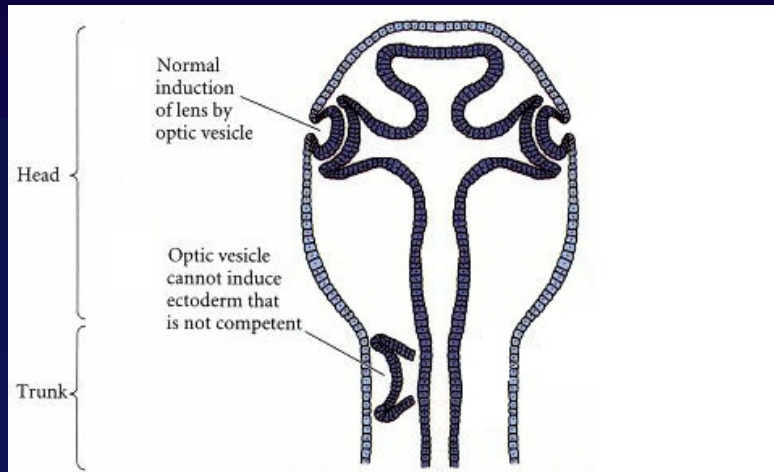
Άλλοι ιστοί δεν μπορούν να υποκαταστήσουν το οπτικό κυστίδιο στη παραγωγή του επαγωγικού σήματος



Μπορεί το οπτικό κυστίδιο να επάγει άλλα κύτταρα πέραν αυτών του εξωδέρματος της κεφαλής, να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα του φακού;

154

Δεν είναι όλα τα κύτταρα δεκτικά στα επαγωγικά σήματα του οπτικού κυστιδίου

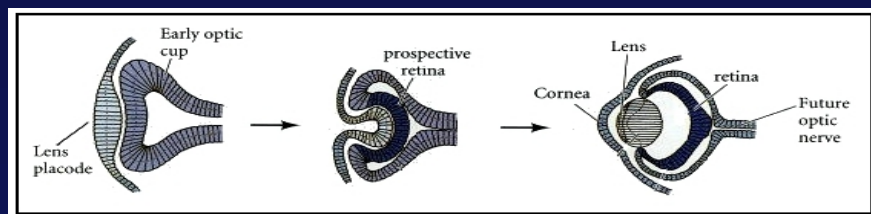
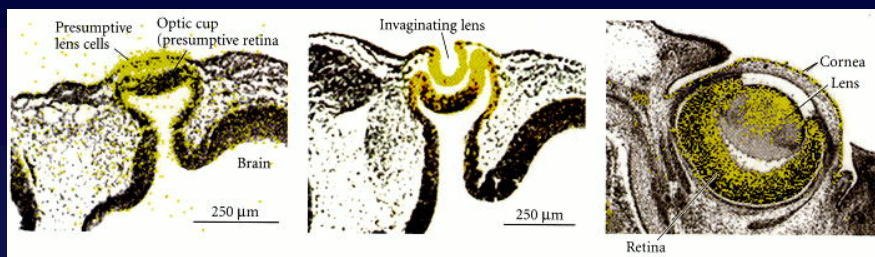


Ο ρόλος των αποδεκτών δεν είναι παθητικός.

Δεκτικότητα (competence) ονομάζεται η ικανότητα μιας ομάδας κυττάρων να ανταποκρίνονται σε ένα επαγωγικό σήμα.

155

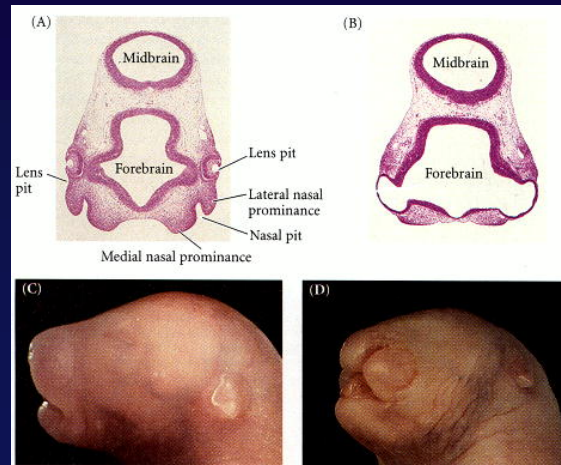
Ο ρόλος του γονιδίου *Rax6* στο σχηματισμό του ματιού



Το γονίδιο *Rax6* εκφράζεται στον οπτικό μίσχο αλλά και στο εξώδερμα της κεφαλής.

156

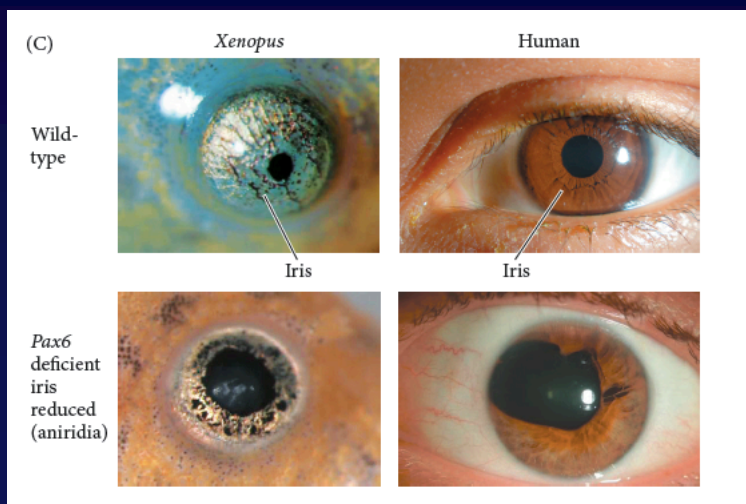
Ο φαινότυπος των μεταλλαγμάτων *Pax6*



Στον άνθρωπο οι μεταλλάξεις του *Pax6* σε ομοζυγωτία προκαλούν σοβαρά προβλήματα και μεταξύ άλλων ανοφθαλμία.

157

Ο φαινότυπος των μεταλλαγμάτων *Pax6*

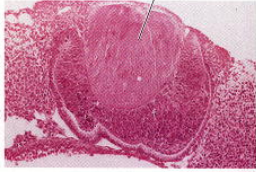
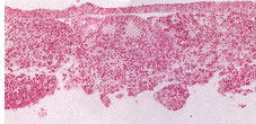


Στα άτομα που είναι ετερόζυγα για μια μετάλλαξη του *Pax6* απουσιάζει η ίριδα (aniridia) ανεπάρκεια απλοειδίας.

158

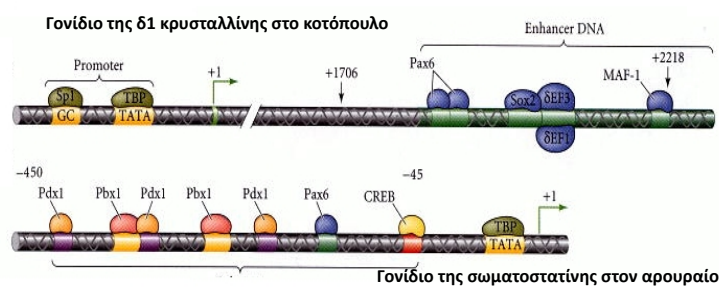
Πειράματα συνδυασμού in vitro εξωδέρματος με οπτικά κυστίδια.

Η πρωτεΐνη *Pax6* κάνει τα κύτταρα του εξωδέρματος δεκτικά στο επαγωγικό σήμα του οπτικού κυστιδίου - (παράγοντας δεκτικότητας - competence factor).

Optic vesicles	Surface ectoderm	Lens induction	
Wild-type	Wild-type	Yes	
<i>Pax6</i> ^{-/-} / <i>Pax6</i> ^{-/-}	Wild-type	Yes	
Wild-type	<i>Pax6</i> ^{-/-} / <i>Pax6</i> ^{-/-}	No	
<i>Pax6</i> ^{-/-} / <i>Pax6</i> ^{-/-}	<i>Pax6</i> ^{-/-} / <i>Pax6</i> ^{-/-}	No	

159

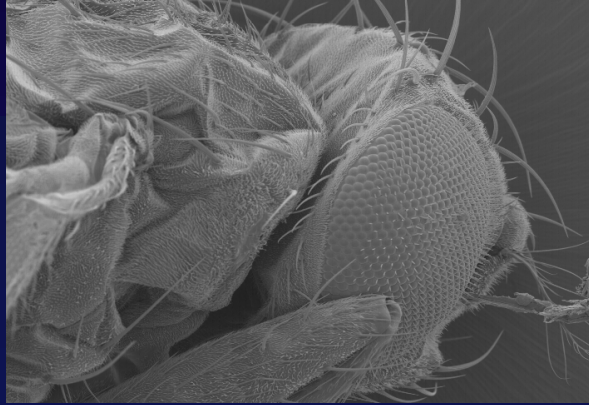
Ο μεταγραφικός παράγοντας *Pax6* επηρεάζει στα θηλαστικά την ανάπτυξη του ματιού, του νευρικού συστήματος και του παγκρέατος.



Τι επάγει την έκφραση του *Pax6*;

160

Τα σύνθετα μάτια (compound eyes) των εντόμων

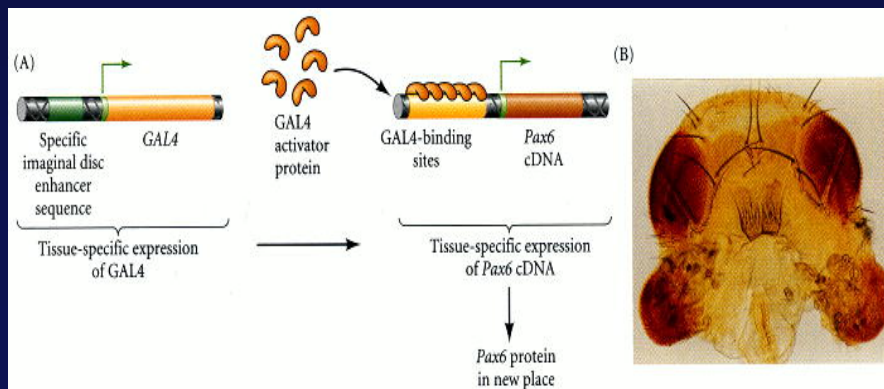


«It requires little persuasion to become convinced that the lens eye of a vertebrate and the compound eye of an insect are independent evolutionary developments.»

L. Salvini-Plawen and E. Mayr (1961)

161

Στη δροσόφιλα εκτοπική έκφραση τόσο του *eyeless* όσο και του *Pax6* προκαλεί το σχηματισμό εκτοπικών ματιών.



162

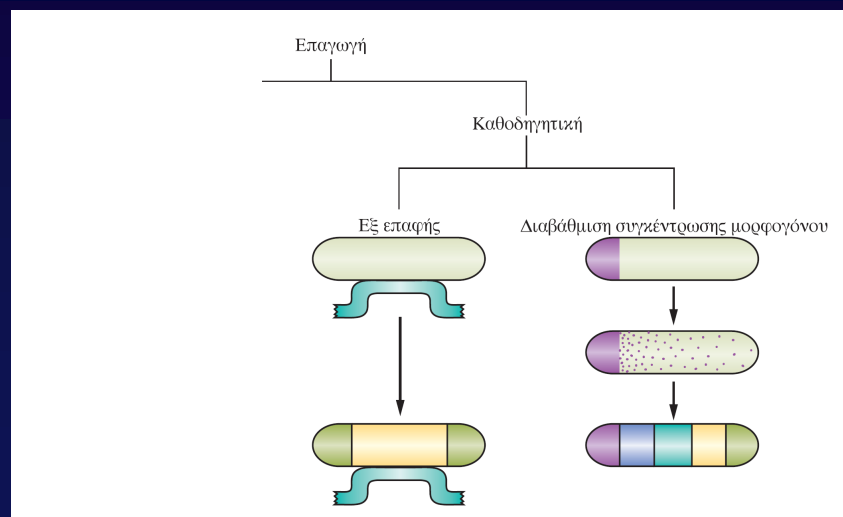
Καθοδηγητική και επιτρεπτική επαγωγή

Στην καθοδηγητική επαγωγή (instructive induction) το σήμα από τους επαγωγείς είναι **απαραίτητο** για να ξεκινήσει η έκφραση κάποιων γονιδίων στους αποδέκτες.

Στην καθοδηγητική επαγωγή ο αποκρινόμενος ιστός συνήθως επιλέγει μεταξύ διαφορετικών αναπτυξιακών μονοπατιών.

163

Καθοδηγητική και επιτρεπτική επαγωγή



164

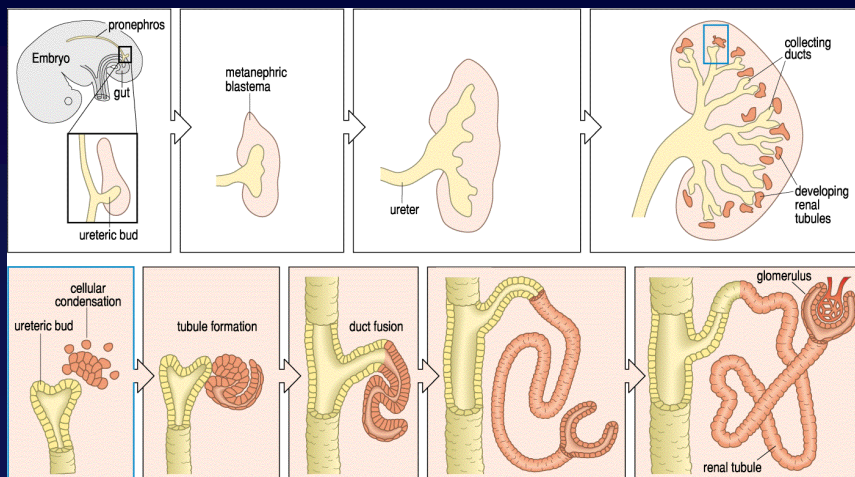
Καθοδηγητική και επιτρεπτική επαγωγή

Στην επιτρεπτική επαγωγή (permissive induction) ο αποκρινόμενος ιστός χρειάζεται απλά ένα περιβαλλοντικό σήμα το οποίο του **επιτρέπει να αναδείξει** το δυναμικό του (το δυναμικό αυτό υπάρχει ανεξάρτητα από το περιβαλλοντικό σήμα).

Στην επιτρεπτική επαγωγή ο αποκρινόμενος ιστός έχει μόνο ένα μονοπάτι που μπορεί να ακολουθήσει- δεν επιλέγεται μέσω της επαγωγής η τύχη των κυττάρων- απλά αναδεικνύεται.

165

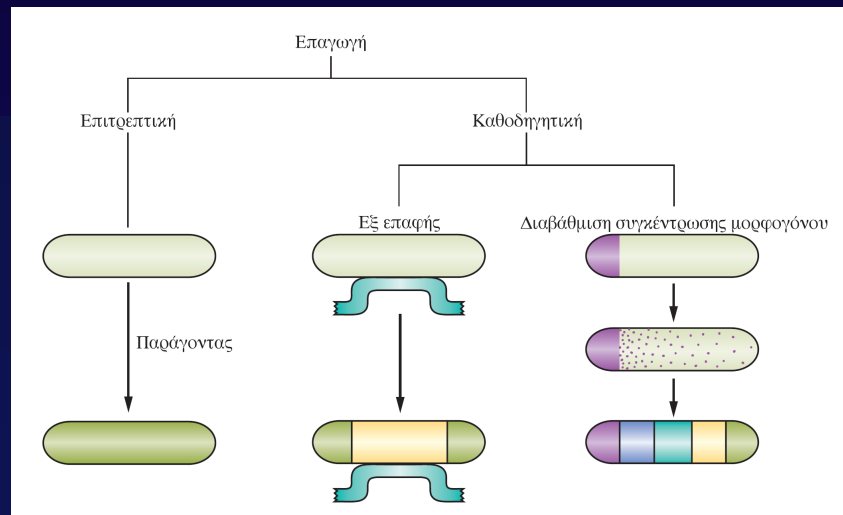
Επιτρεπτική επαγωγή



Για την επαγωγή των νεφρών από το μετانهφρικό μεσέγγυμα είναι απαραίτητη η παρουσία της καταβολής του ουρητήρα. Το μετانهφρικό μεσέγγυμα δεν έχει τη δυνατότητα να σχηματίσει τίποτε άλλο παρά μόνο νεφρόνες αλλά επιβιώνει μόνο παρουσία της καταβολής του ουρητήρα.

166

Καθοδηγητική και επιτρεπτική επαγωγή



167

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ επιθηλίων και μεσεγχύματος (epithelial - mesenchymal interactions)

Μεσέγχυμα: Με τον όρο αυτό αναφερόμαστε σε εμβρυϊκούς ιστούς των οποίων τα κύτταρα είναι χαλαρά συνδεδεμένα μεταξύ τους και έχουν τη δυνατότητα να μεταναστεύουν. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα προέρχονται από το μεσόδερμα ή από την νευρική ακρολοφία.

Επιθήλια: Ιστοί των οποίων τα κύτταρα είναι στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους και συχνά σχηματίζουν μεμβράνες οι οποίες καλύπτουν διάφορες επιφάνειες και κοιλότητες του σώματος. Τα επιθήλια μπορεί να προέρχονται από οποιαδήποτε από τις βλαστικές στιβάδες.

Πολλά όργανα αποτελούνται από ένα επιθήλιο και έναν μεσεγχυματικό ιστό - μεταξύ τους αναπτύσσονται συνήθως επαγωγικές αλληλεπιδράσεις.

168

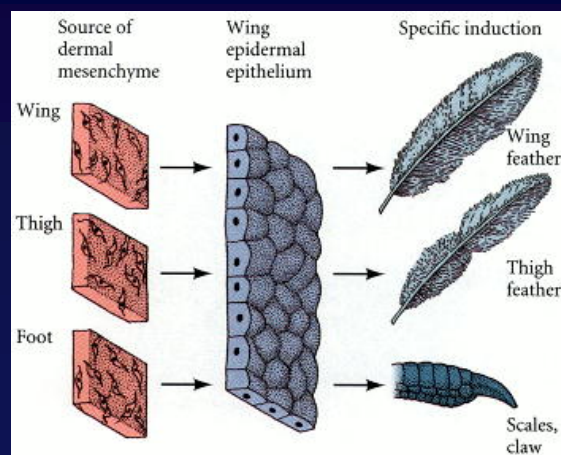
Αλληλεπιδράσεις μεταξύ επιθηλίων και μεσεγχύματος

Epithelial - mesenchymal interactions		
Organ	Epithelial component	Mesenchymal component
Cutaneous structures(hair, feathers, sweat glands, mammary glands)	Epidermis (ectoderm)	Dermis (mesoderm)
Limb	Epidermis (ectoderm)	Mesenchyme (mesoderm)
Gut organs (liver, pancreas, salivary glands)	Epithelium (endoderm)	Mesenchyme (mesoderm)
Pharyngeal and respiratory associated organs (lungs, thymus, thyroid)	Epithelium (endoderm)	Mesenchyme (mesoderm)
Kidney	Ureteric bud epithelium (mesoderm)	Mesenchyme (mesoderm)
Tooth	Jaw epithelium (ectoderm)	Mesenchyme (neural crest)

169

Τοπική εξειδίκευση και επαγωγή

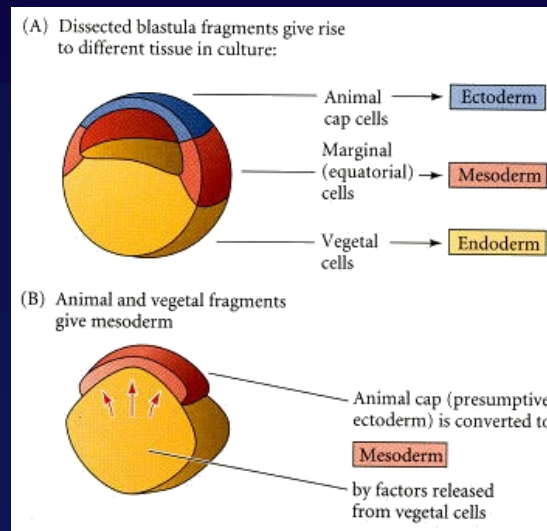
Σε πρώιμα στάδια της ανάπτυξης των άκρων η επιδερμίδα έχει τη δυνατότητα να ανταποκρίνεται διαφορετικά σε σήματα που προέρχονται από το μεσεγχύμα. Το μεσεγχύμα είναι υπεύθυνο για την τοπική εξειδίκευση του δεκτικού επιθηλίου.



Μια ομάδα κυττάρων μπορεί να έχει τη δυνατότητα να ανταποκριθεί σε περισσότερα του ενός επαγωγικά σήματα, με διαφορετικό κάθε φορά τρόπο.

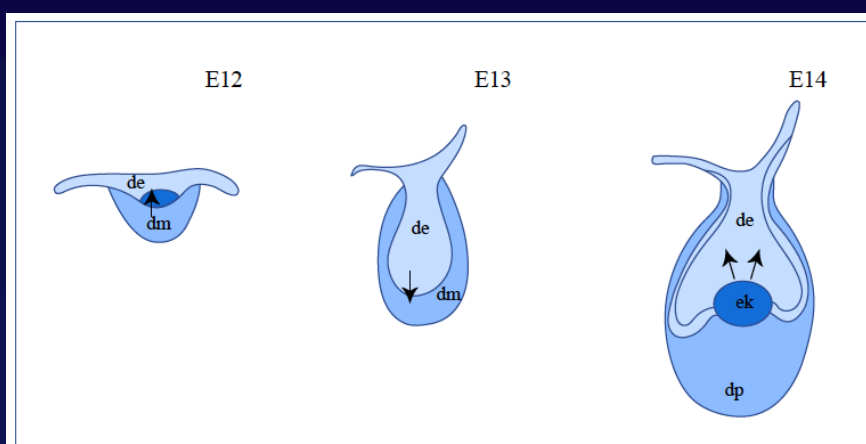
170

Το αναπτυξιακό στάδιο στο οποίο βρίσκεται μια ομάδα κυττάρων επηρεάζει τη δεκτικότητα της



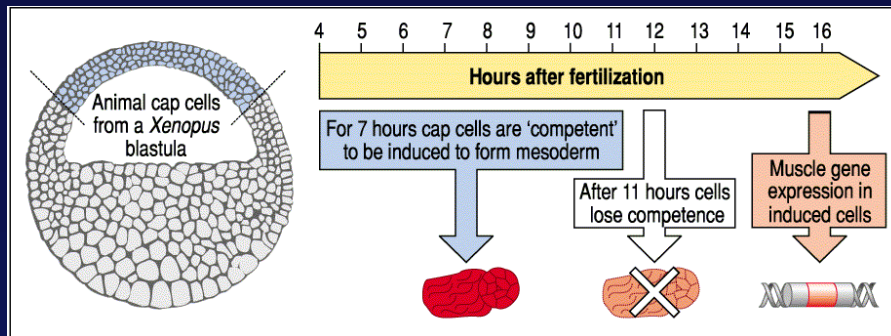
171

«Αντιστροφή ρόλων»



172

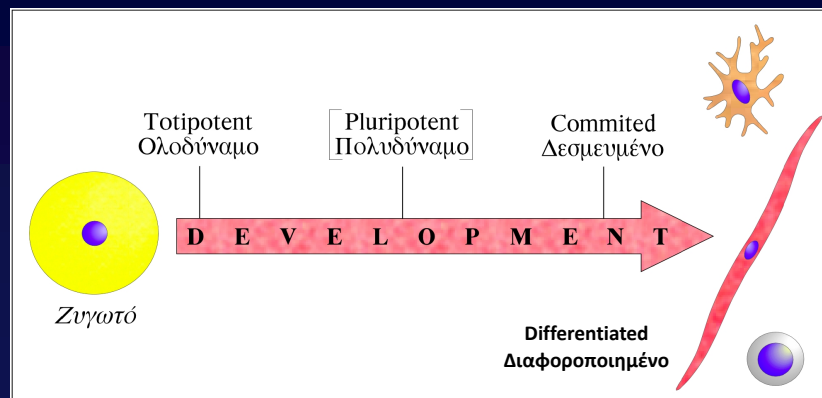
**Τα κύτταρα του ζωϊκού πόλου έχουν τη δυνατότητα να αποκρίνονται στα επαγωγικά σήματα (είναι δεκτικά) των φυτικών κυττάρων για επτά ώρες.
Η δεκτικότητα αποτελεί μια δυναμική κατάσταση.**



Καθώς προχωρά η ανάπτυξη η ικανότητα των κυττάρων να ανταποκρίνονται σε επαγωγικά σήματα μεταβάλλεται.

173

Η πορεία προς τη διαφοροποίηση

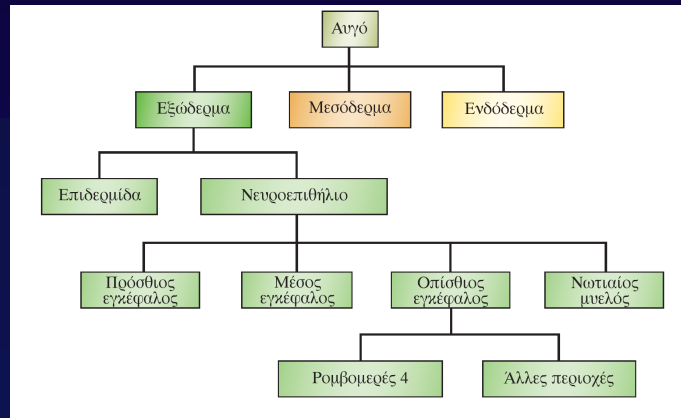


Η διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα εξειδικεύονται ονομάζεται διαφοροποίηση (differentiation).

Η δέσμευση (commitment) προηγείται της τελικής διαφοροποίησης. Ένα δεσμευμένο (committed) κύτταρο δεν διαφέρει φαινοτυπικά από ένα μη δεσμευμένο- όμως έχει ήδη περιοριστεί το αναπτυξιακό δυναμικό του

174

Η πορεία προς τη διαφοροποίηση



Ιεραρχία τοπικής εξειδίκευσης κατά την ανάπτυξη. Τα κύτταρα που συγκροτούν το ρομβομερές 4 του οπίσθιου εγκεφάλου πρέπει προηγουμένως να έχουν «αποφασίσει» αρχικά ότι θα σχηματίσουν εξώδερμα, κατόπιν νευροεπιθήλιο, στη συνέχεια οπίσθιο εγκέφαλο και τελικά ρομβομερές 4.

175

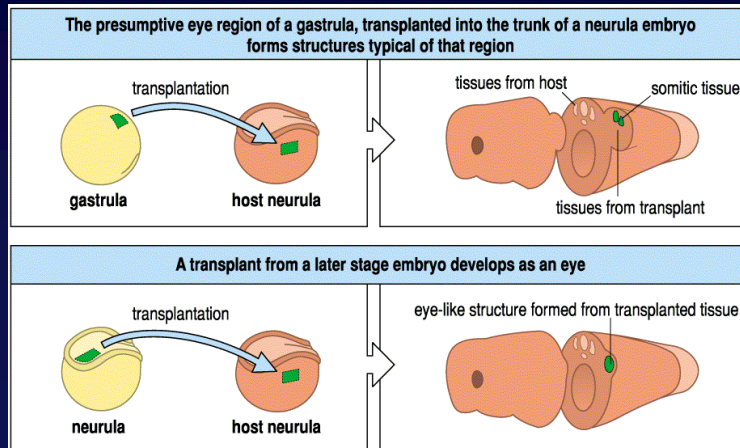
Η δέσμευση μπορεί να χωριστεί σε δυο στάδια:

Εξειδίκευση (Specification)

Προκαθορισμός (Determination)

176

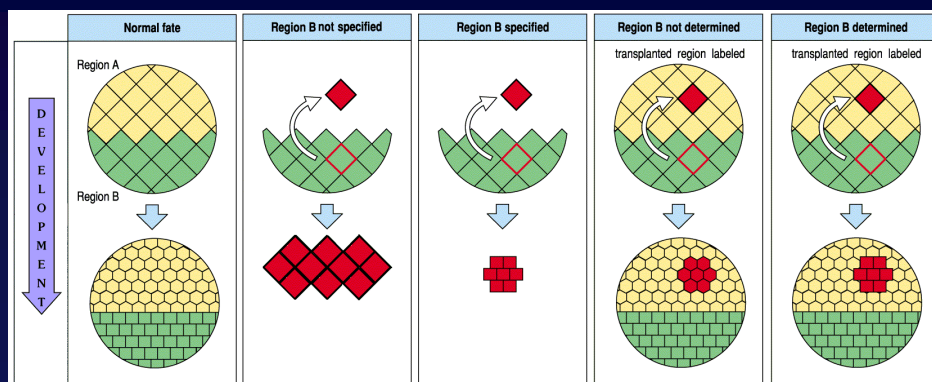
Εξειδίκευση και Προκαθορισμός



Ένα κύτταρο ονομάζεται προκαθορισμένο ως προς κάποια πορεία διαφοροποίησης, όταν είναι δεδομένο πως θα ακολουθήσει την πορεία αυτή, ακόμα και αν μεταμοσχευθεί σε μια διαφορετική περιοχή του εμβρύου και επομένως εκτεθεί σε επαγωγικά ερεθίσματα που στρέφουν τα κύτταρα σε διαφορετικούς αναπτυξιακούς προορισμούς.

177

Εξειδίκευση και Προκαθορισμός



Ένα κύτταρο θεωρείται εξειδικευμένο για μία πορεία διαφοροποίησης, όταν σε περίπτωση που απομονωθεί από το υπόλοιπο έμβρυο και καλλιεργηθεί σε ένα απλό (ουδέτερο) θρεπτικό μέσο, ακολουθεί αυτή την πορεία διαφοροποίησης. Ένα εξειδικευμένο κύτταρο μπορεί να ακολουθήσει διαφορετική αναπτυξιακή πορεία εάν εκτεθεί σε κατάλληλα επαγωγικά ερεθίσματα.

178