Εμβρυολογία και Μοριακή Βιολογία Ανάπτυξης



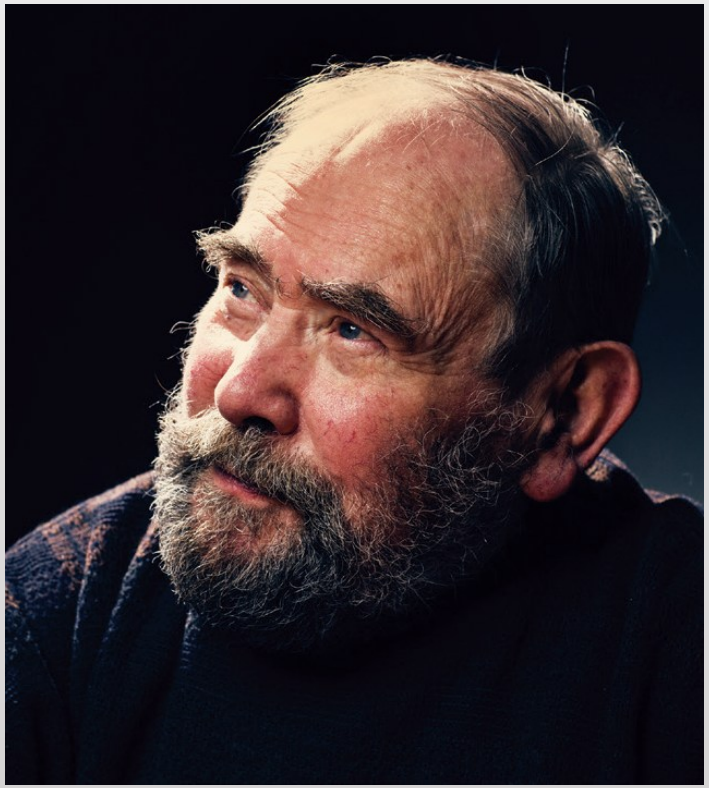
Ενότητα 3:

Ο νηματώδης Caenorhabditis elegans

Στυλιανοπούλου Η., Γρηγορίου Μ. 2026

«We think we have a good candidate in the form of a small nematode worm»

Απόσπασμα από ερευνητική πρόταση του S. Brenner προς το MRC, 1964

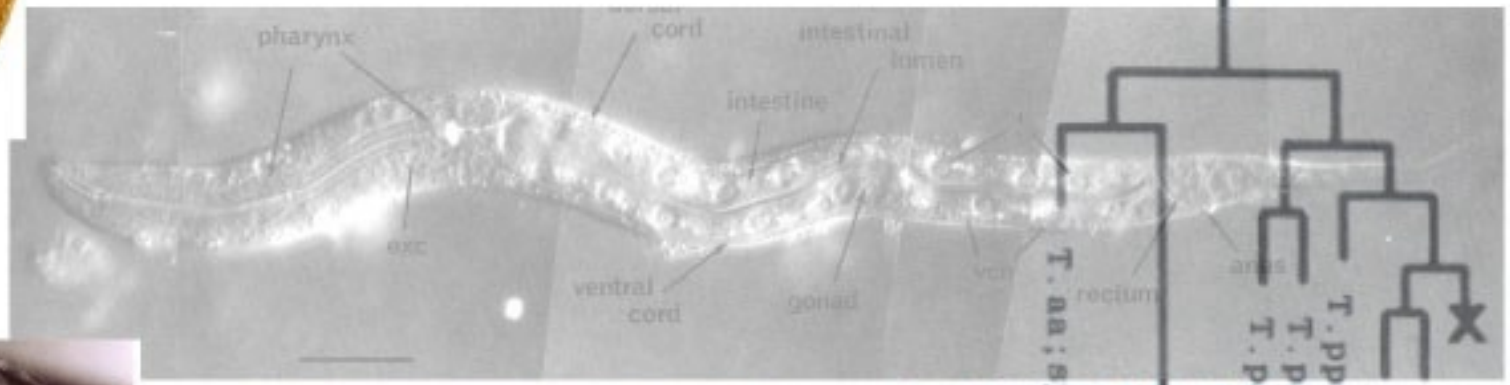


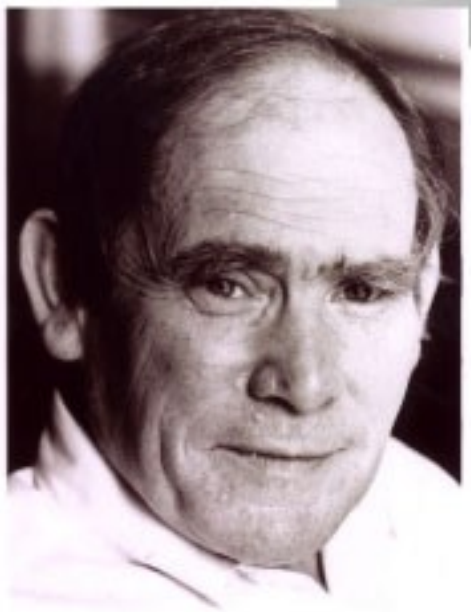
Sydney Brenner (1927-2019)

2002 Nobel Prize in Physiology or Medicine



"for their discoveries concerning genetic regulation of organ development and programmed cell death"





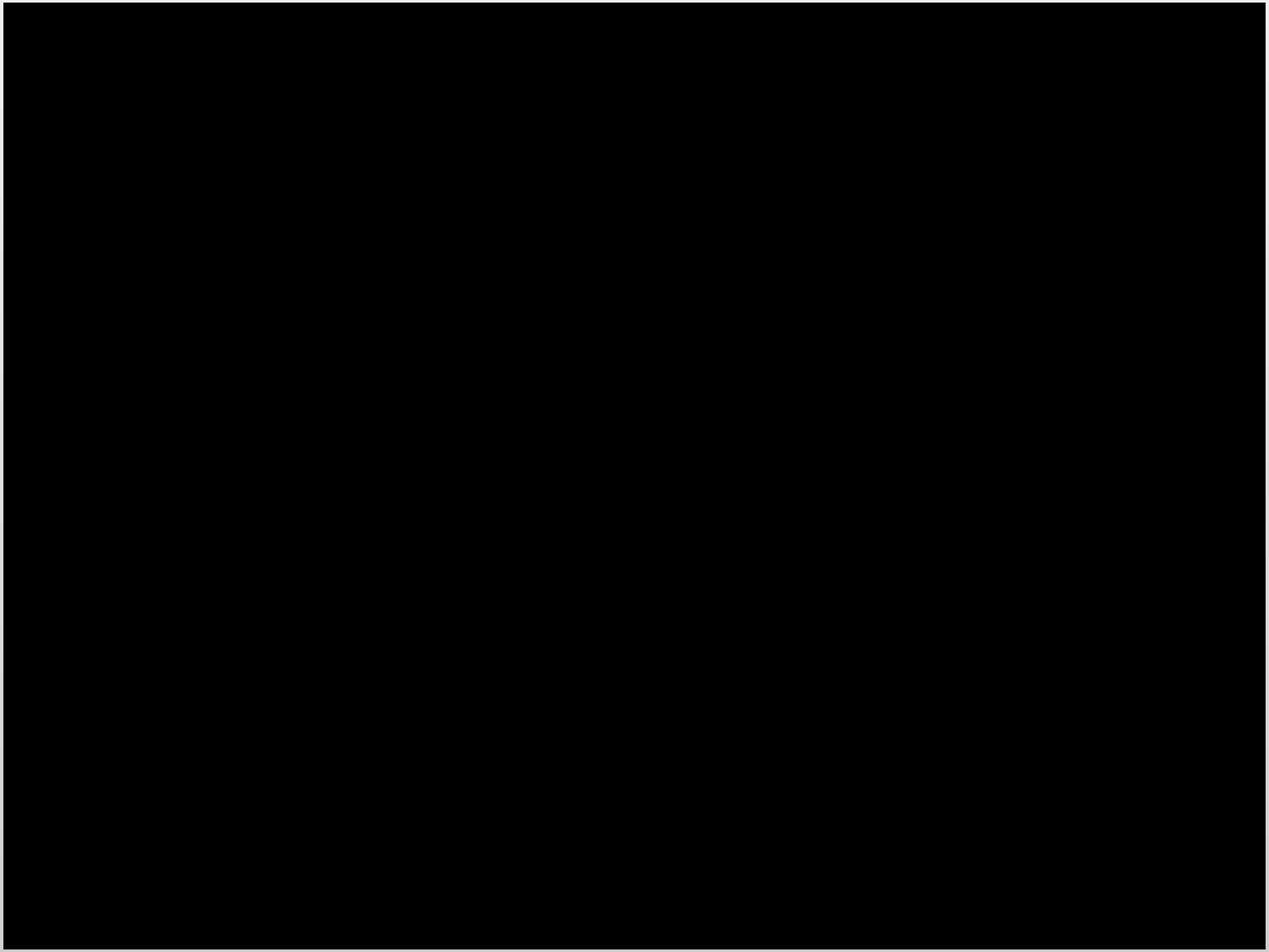
Sydney Brenner



John Sulston



Bob Horvitz



Ο *Caenorhabditis elegans*

- Νηματώδης - μήκος περίπου 1mm
- Ζει ελεύθερος στο έδαφος
- Τρέφεται με βακτήρια
- Συνήθως ερμαφρόδιτος
- Διπλοειδής, απλή οργάνωση

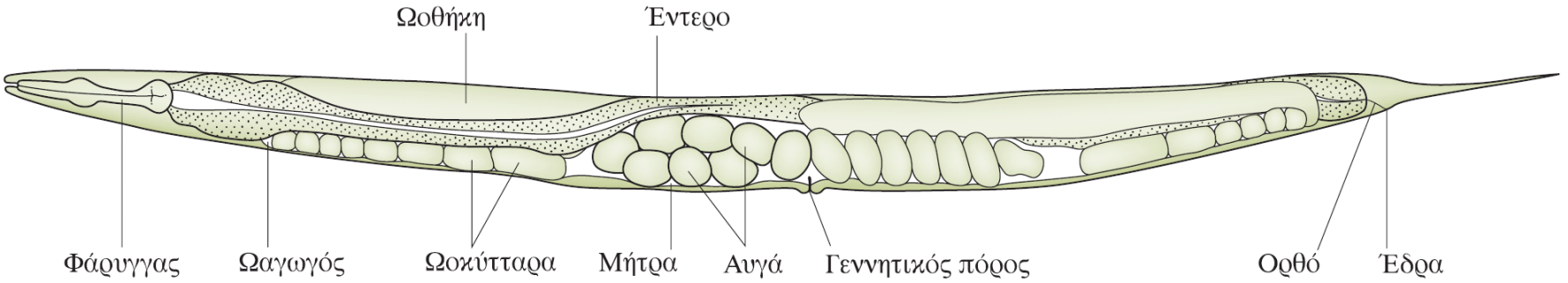
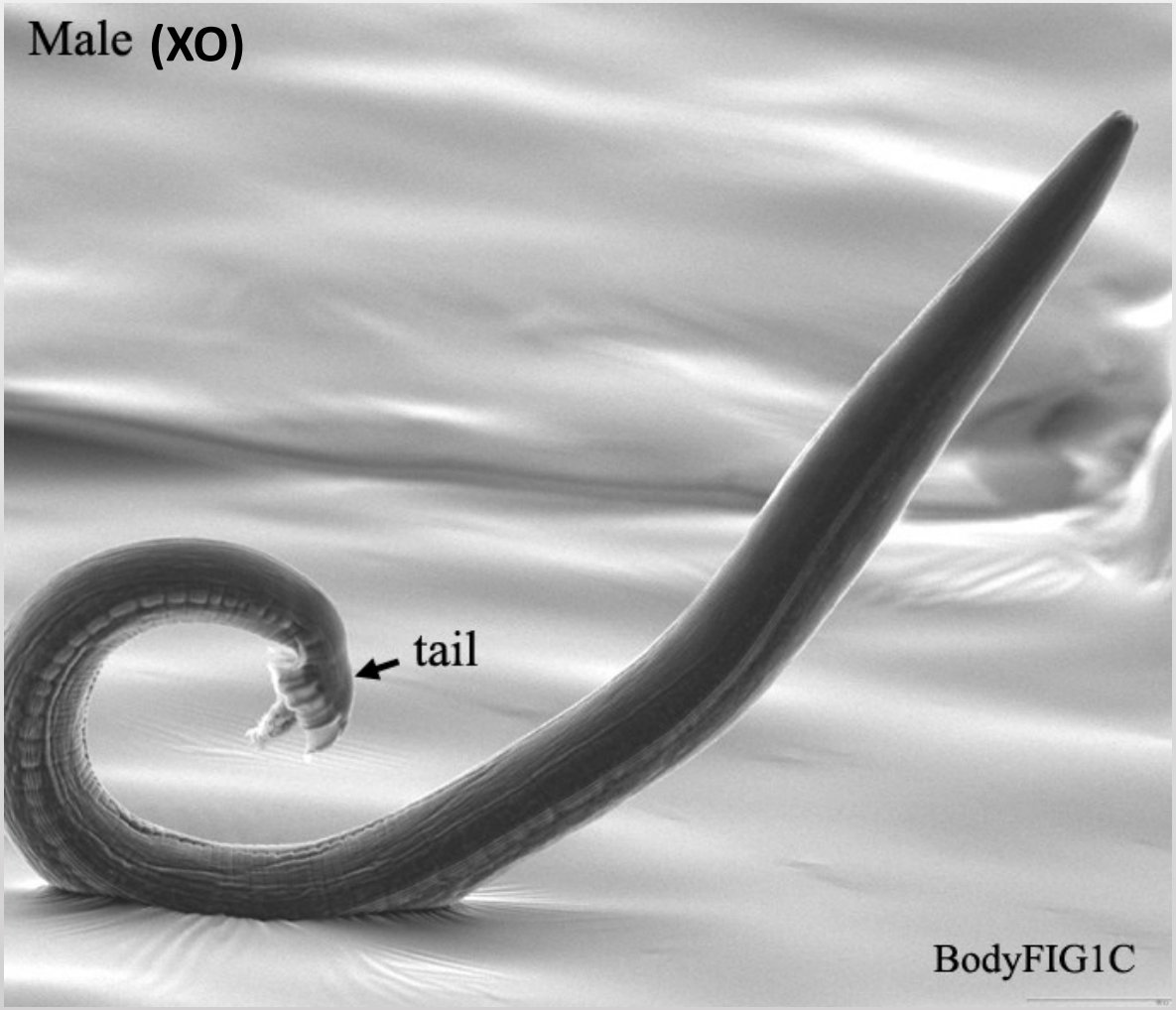


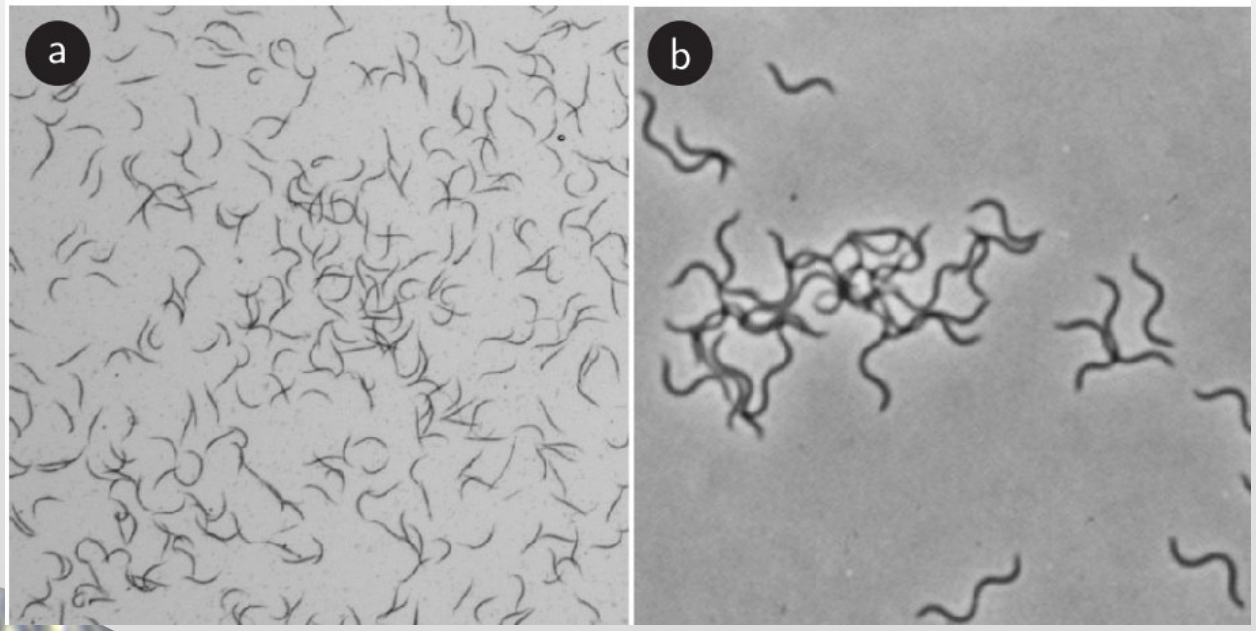

Image from Maria Gallegos
https://www.fredhutch.org/en/news/spotlight/2022/09/bs-raiders-bioprot.html

Ο αρσενικός *Caenorhabditis elegans*

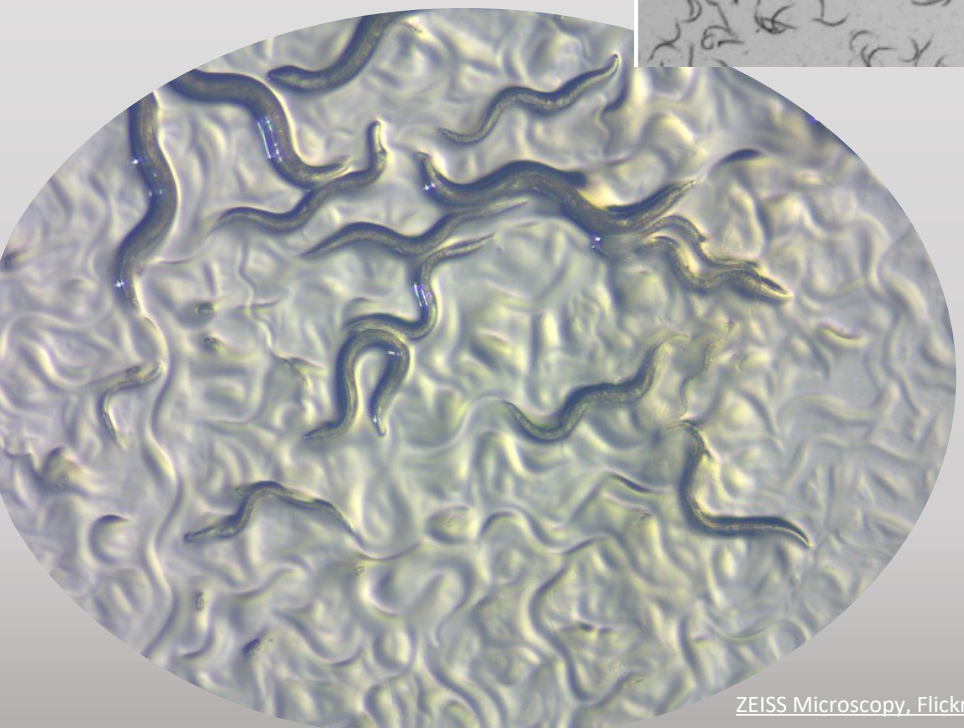


Τα αρσενικά προκύπτουν οταν χαθεί αυθόρμητα ένα Χ κατά τη μείωση.
Στη φύση με συχνότητα 1:700

O *Caenorhabditis elegans*

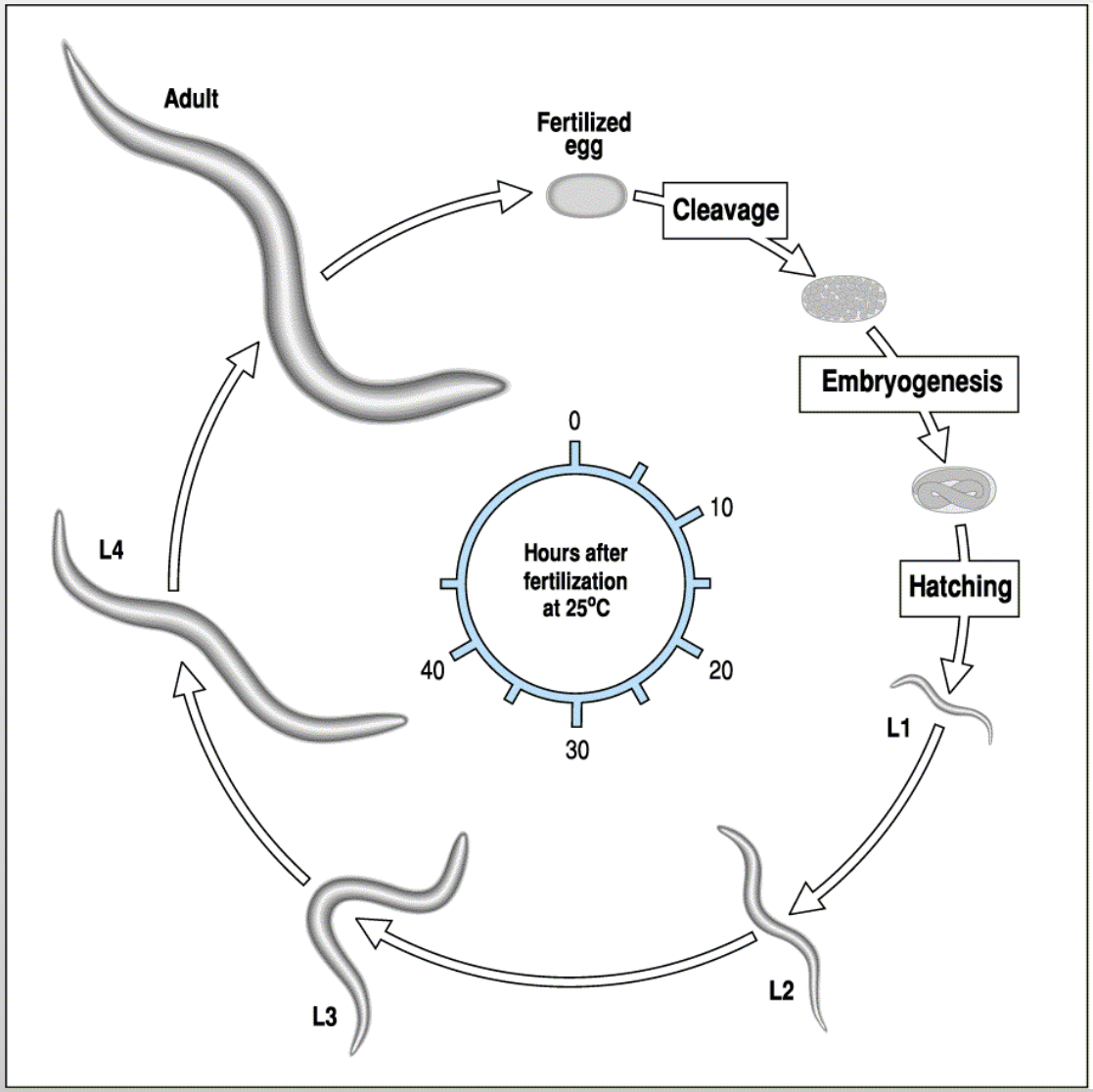


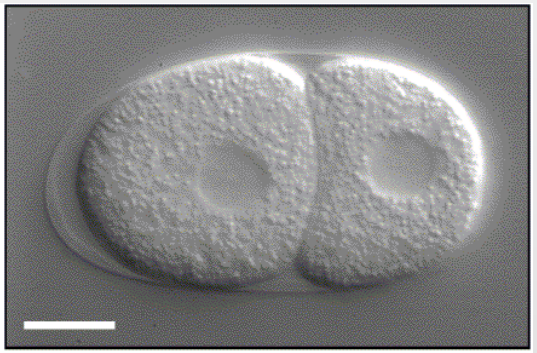
https://doi.org/10.1038/s42003-023-05098-1 | www.nature.com/commsbio

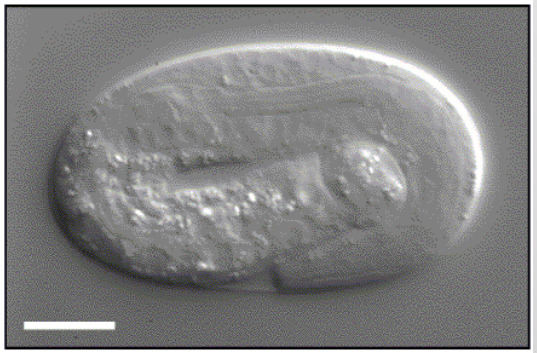


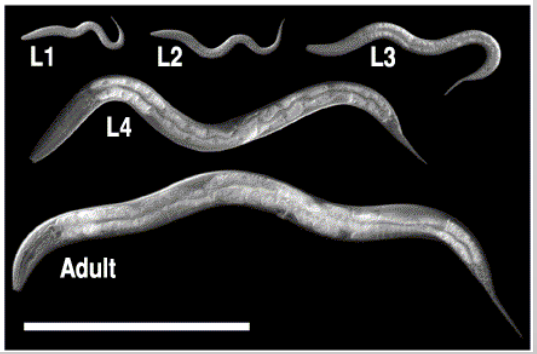
ZEISS Microscopy, Flickr.

Κύκλος ζωής του *Caenorhabditis elegans*









Ολοκλήρωση εμβρυογένεσης σε 15h-16h!

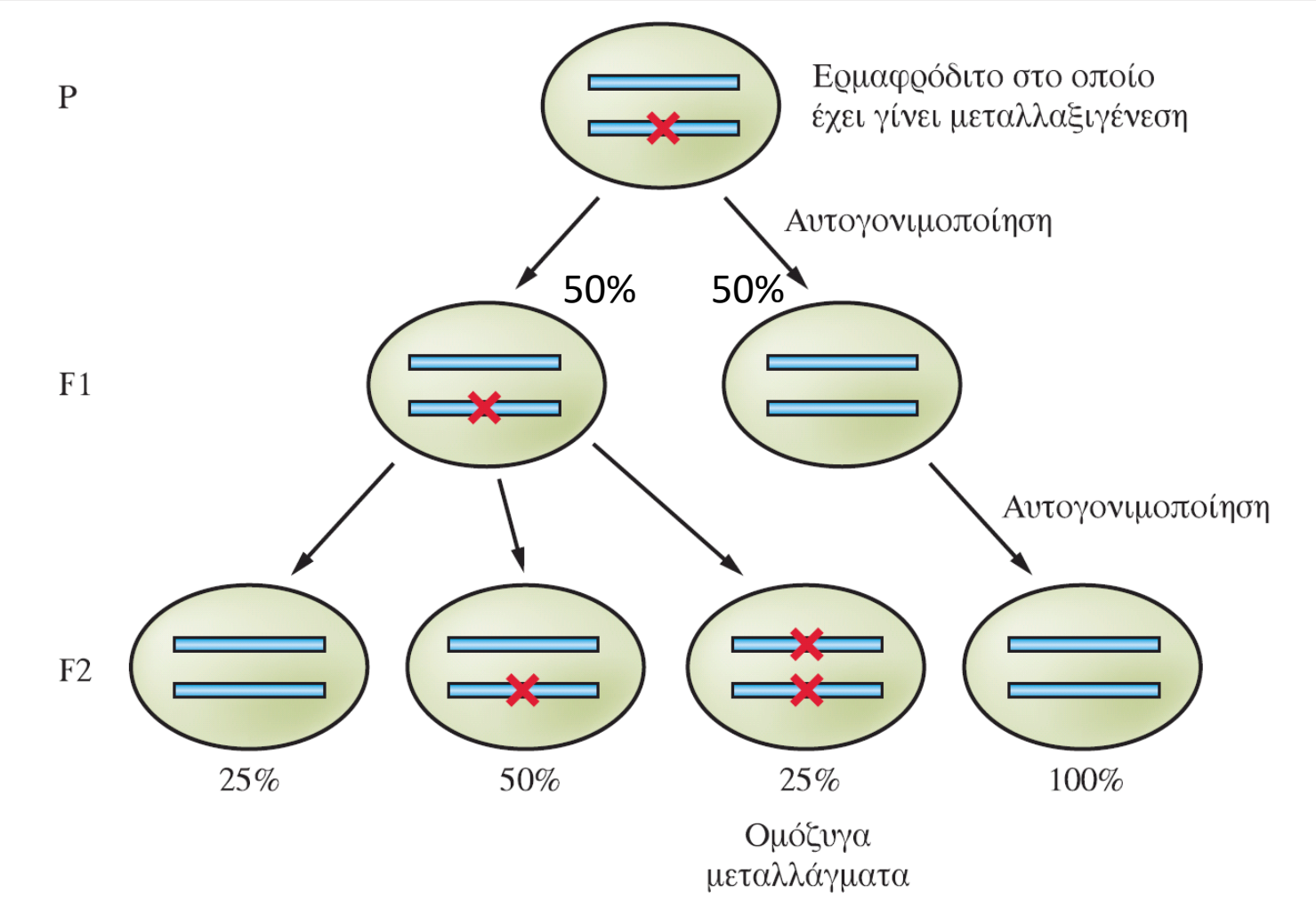
Σε περίπου 3 μέρες έχουμε ενήλικο άτομο!

Τα πλεονεκτήματα του *C. elegans*

- Σύντομη εμβρυογένεση (15-16 ώρες στους 25^{o}C)
- Γενιά - 3 ημέρες
- Λίγοι κυτταρικοί τύποι
- Πολύ λίγα κύτταρα (959 το ώριμο άτομο, 558 η λάρβα)
- Η κυτταρική γενεαλογία γνωστή (διαφανής) (DIC-Nomarski)
- Η κυτταρική γενεαλογία επαναλαμβάνεται σχεδόν απαράλλακτη από το ένα άτομο στο άλλο γι' αυτό και η «ιστορία» κάθε κυττάρου στο έμβρυο μπορεί να ανιχνευθεί πίσω μέχρι το ένα κύτταρο- το ζυγωτό!
- Ερμαφρόδιτος - αυτογονιμοποίηση αλλά και διασταυρώσεις με αρσενικά άτομα
- Όλο το γονιδίωμα γνωστό (το πρώτο που χαρτογραφήθηκε -1998)
- Ομόλογα γονίδια με σπονδυλωτά και ασπόνδυλα
- Στο εργαστήριο αναπτύσσεται σε τρυβλία Petri, τρέφεται με βακτήρια και οι προνύμφες πρώϊμων σταδίων είναι δυνατόν να διατηρηθούν κατεψυγμένες (εύκολες και οικονομικές συνθήκες ανάπτυξής του)

Προσφέρεται για γενετική ανάλυση!!

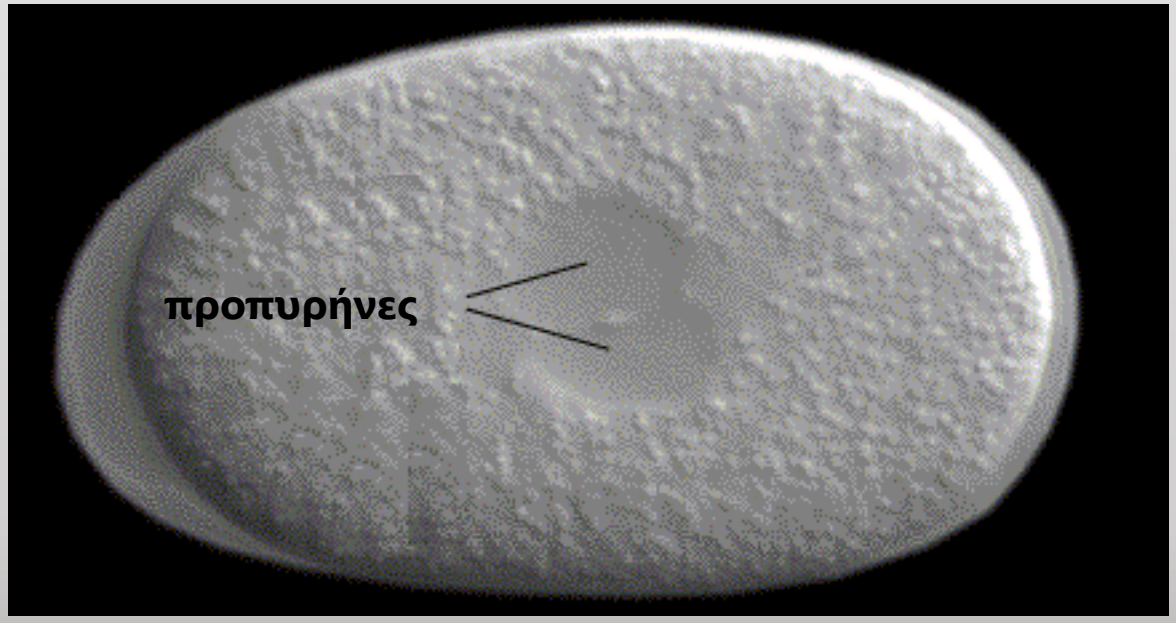
Πορεία μεταλλαξιγένεσης στον *C. elegans*



Διαχωρισμός ομόζυγων ατόμων μετά απο πείραμα μεταλλαξιγένεσης και δυο γενιές αυτογονιμοποίησης.

Τα μειονεκτήματα του *C. elegans*

- Μικρό μέγεθος αυγών.
- Πολύ σκληρό κέλυφος ⟶ Δύσκολοι μικροχειρουργικοί χειρισμοί και άρα μικροχειρουργικά πειράματα.



Η ανάπτυξη του *C. elegans*

Προϋποθέσεις που πρέπει να τηρούνται προκειμένου να αποδειχθεί ότι ένα μόριο πράγματι ενέχεται σε μια συγκεκριμένη αναπτυξιακή διαδικασία
Find it-lose it-move it

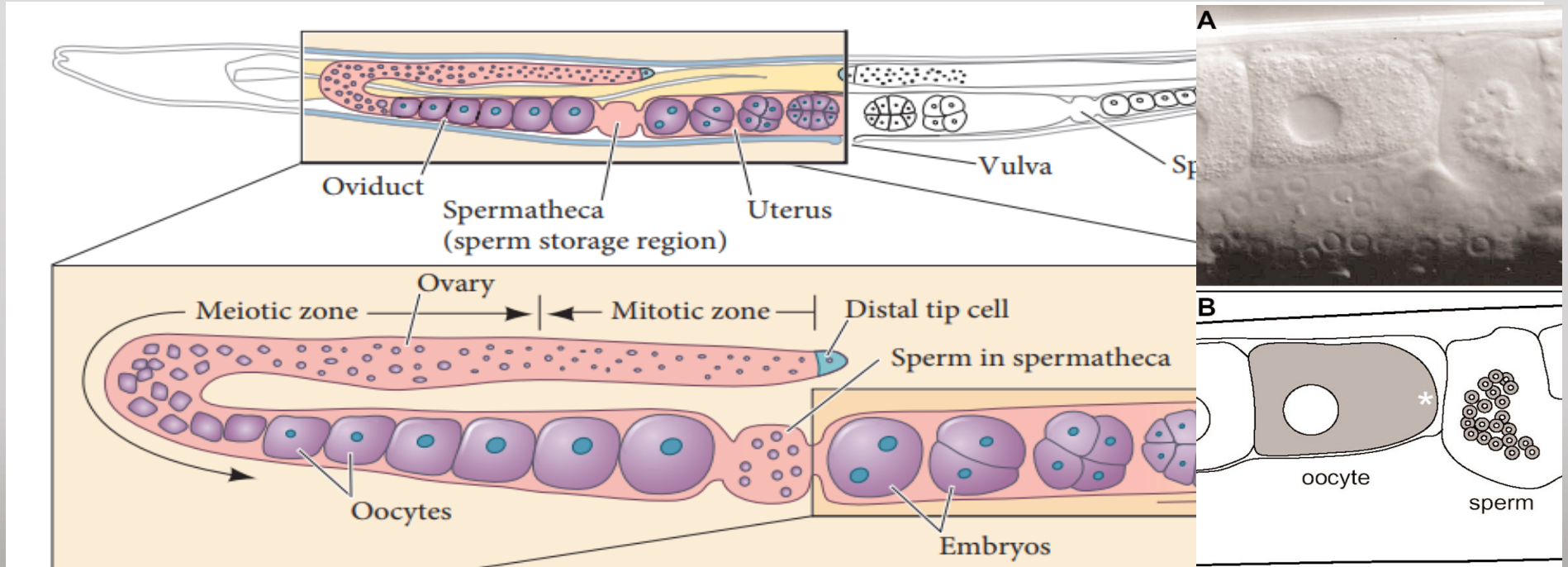


Προϋποθέσεις που πρέπει να τηρούνται προκειμένου να αποδειχθεί ότι ένα μόριο πράγματι ενέχεται σε μια συγκεκριμένη αναπτυξιακή διαδικασία

- Έκφραση - δράση (προβλεπόμενος ρόλος)
- Αναστολή
- Εκτοπική έκφραση ή/και Υπερέκφραση

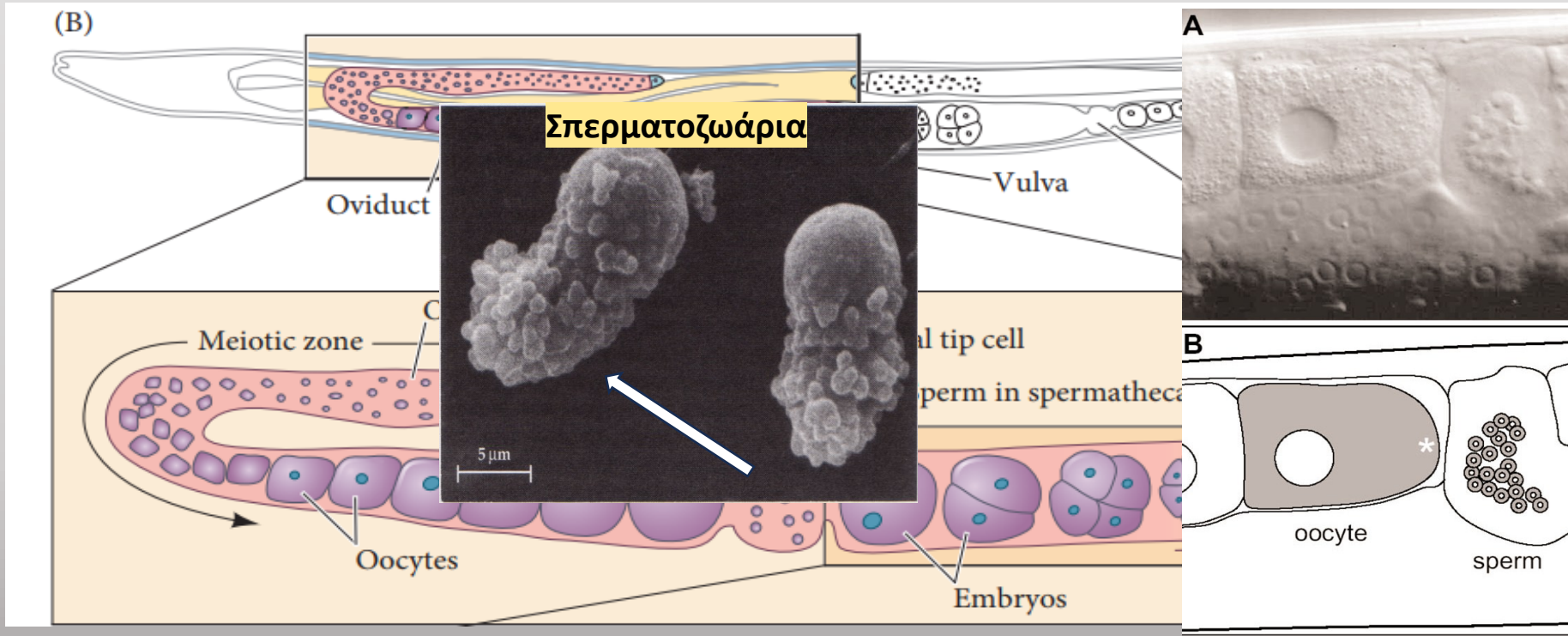
Η γονιμοποίηση στον *C. elegans*

- Το αυγό δεν παρουσιάζει εμφανή ασυμμετρία.
- Με συσπάσεις τους, τα ωάρια που βρίσκονται κοντά στη σπερματοθήκη, προωθούνται σε αυτήν.
- Η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα καθώς τα ωάρια μετακινούνται προς τη μήτρα μέσω της σπερματοθήκης.
- Η γονιμοποίηση ακολουθείται από ενεργοποίηση του αυγού (ολοκλήρωση της μείωσης και σχηματισμό του κελύφους).
- Η είσοδος του σπερματοζωαρίου είναι **απαραίτητη** για την έναρξη της εμβρυογένεσης (MTOC, κεντροσωμάτιο και πρωτεΐνη (ες)).

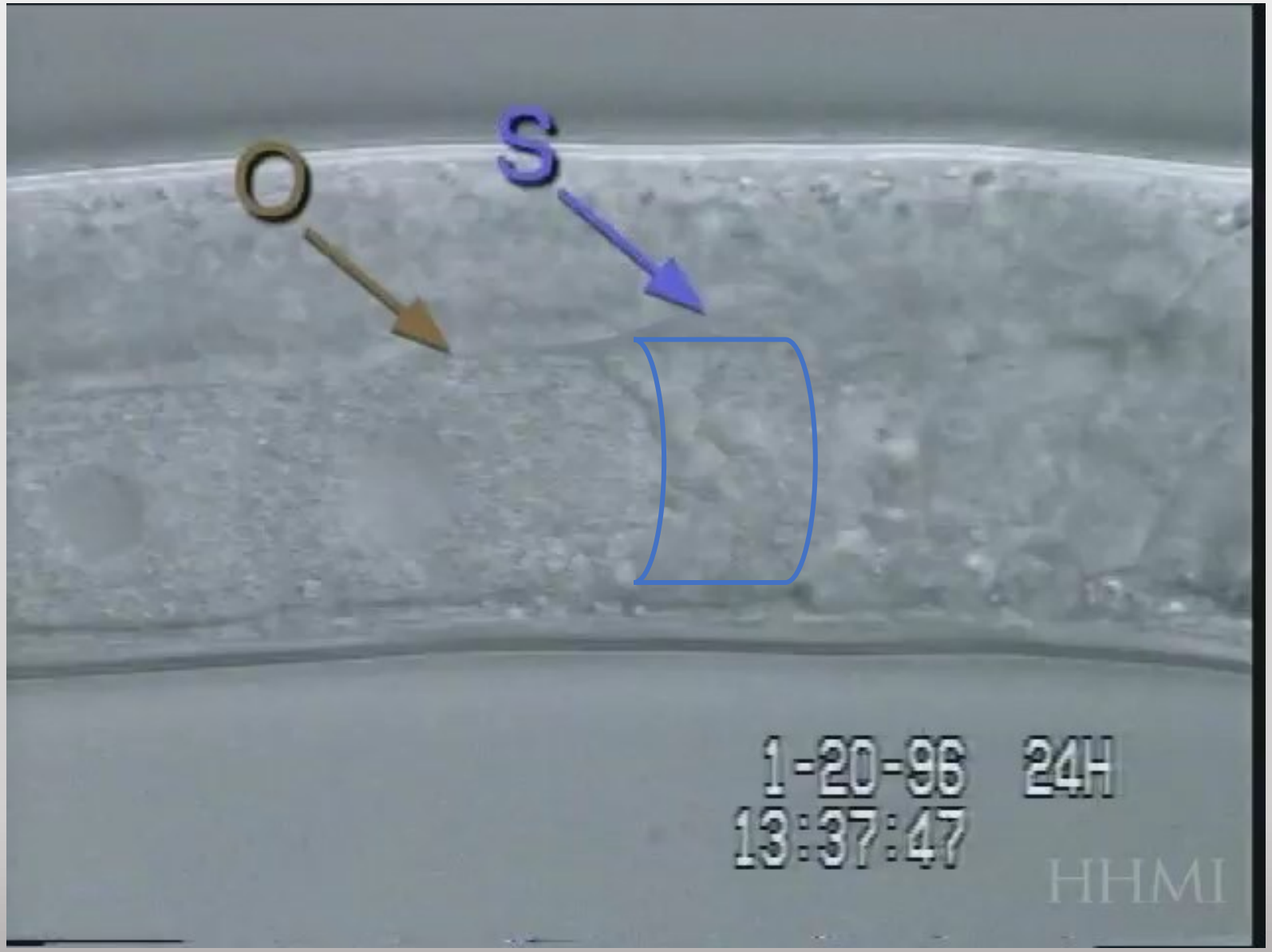


Η γονιμοποίηση στον *C. elegans*

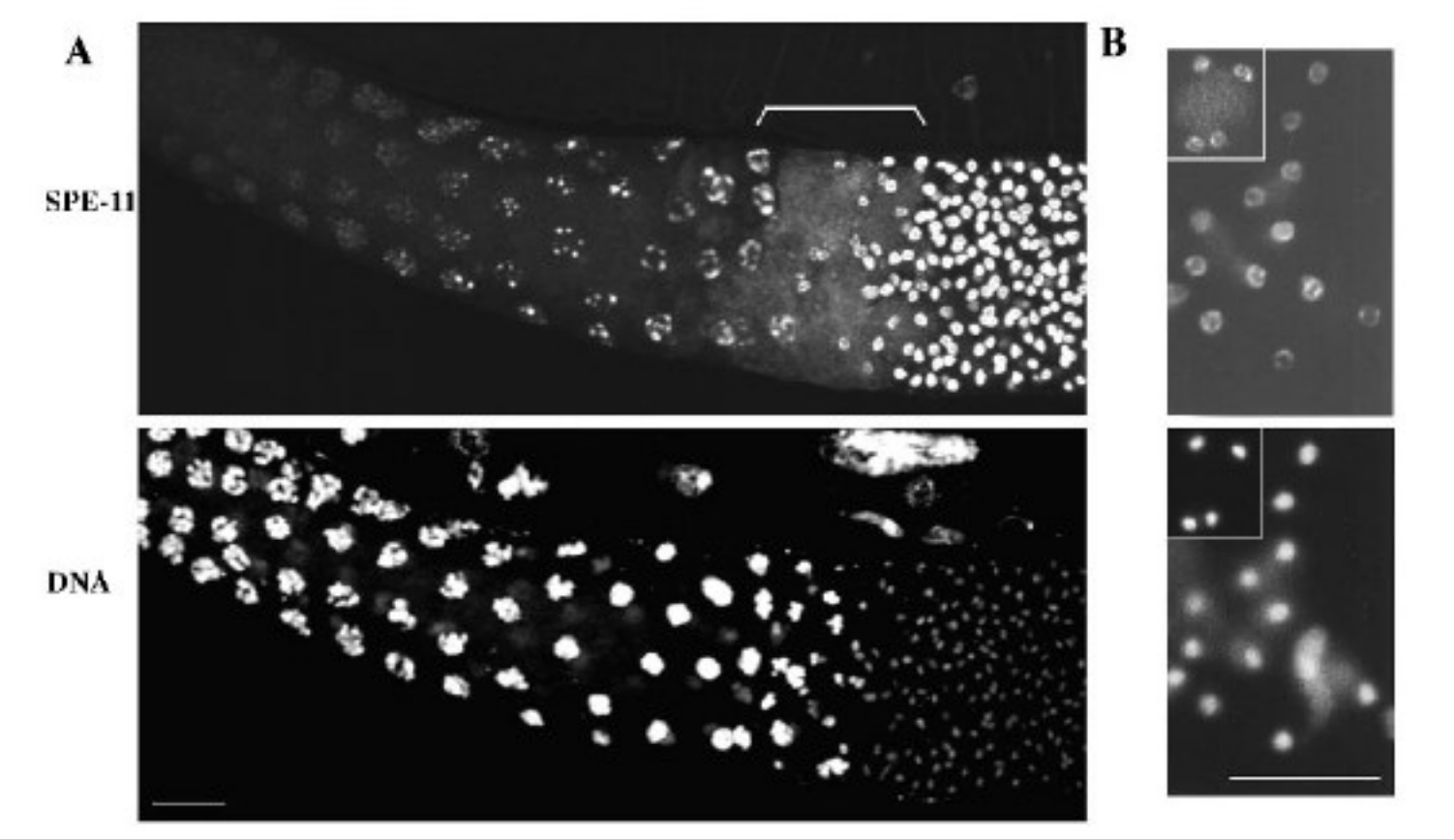
- Το αυγό δεν παρουσιάζει εμφανή ασυμμετρία.
- Με συσπάσεις της μήτρας τα ωάρια προωθούνται στη σπερματοθήκη.
- Η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα καθώς τα ωάρια μετακινούνται προς τη μήτρα μέσω της σπερματοθήκης.
- Η γονιμοποίηση ακολουθείται από ενεργοποίηση του αυγού (ολοκλήρωση της μείωσης και σχηματισμό του κελύφους).
- Η είσοδος του σπερματοζωαρίου είναι **απαραίτητη** για την έναρξη της εμβρυογένεσης (MTOC, κεντροσωμάτιο και πρωτεΐνη (ες).



Η γονιμοποίηση στον *C. elegans*



Τα έμβρυα που προέρχονται από γονιμοποίηση με σπερματοζωάρια μεταλλαγμάτων *spe-11* δεν αναπτύσσονται φυσιολογικά



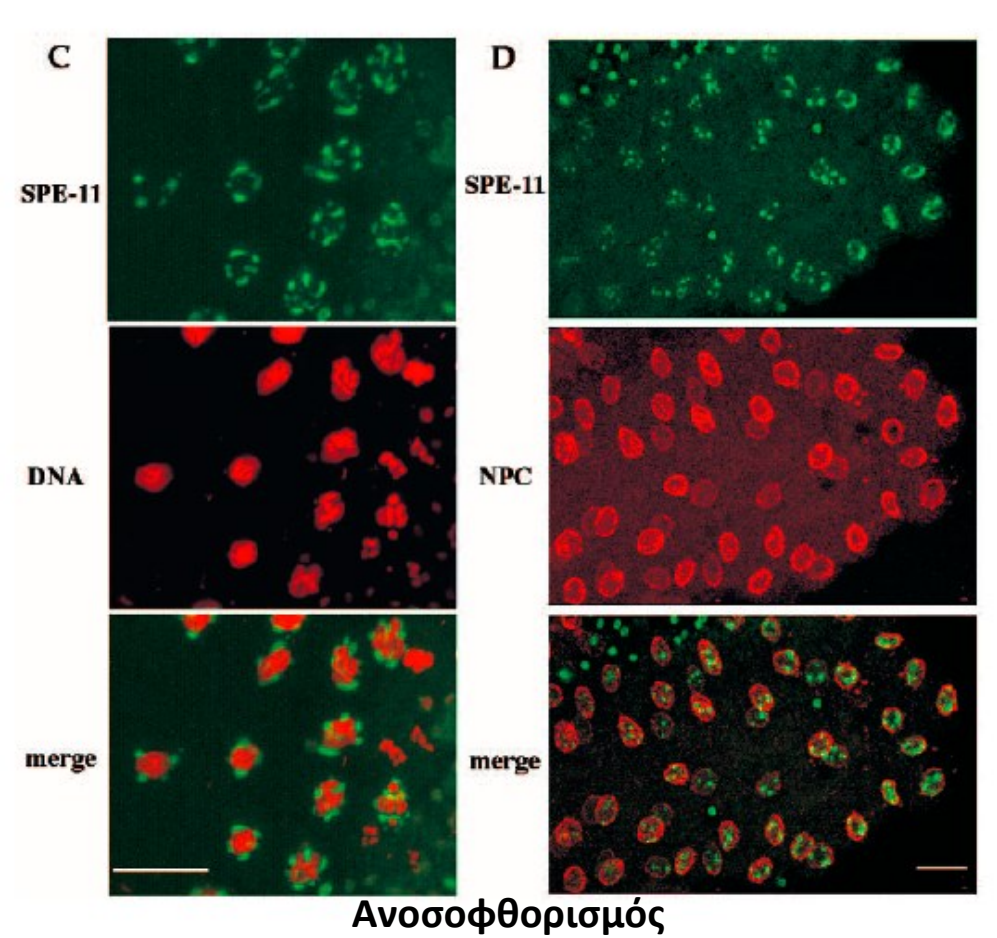
Εντοπισμός

Εκτοπικη Έκφραση

Αναστολή

Μεταλλάξεις πατρικής επίδρασης

Μεταλλάξεις πατρικής επίδρασης



Ανοσοφθορισμός

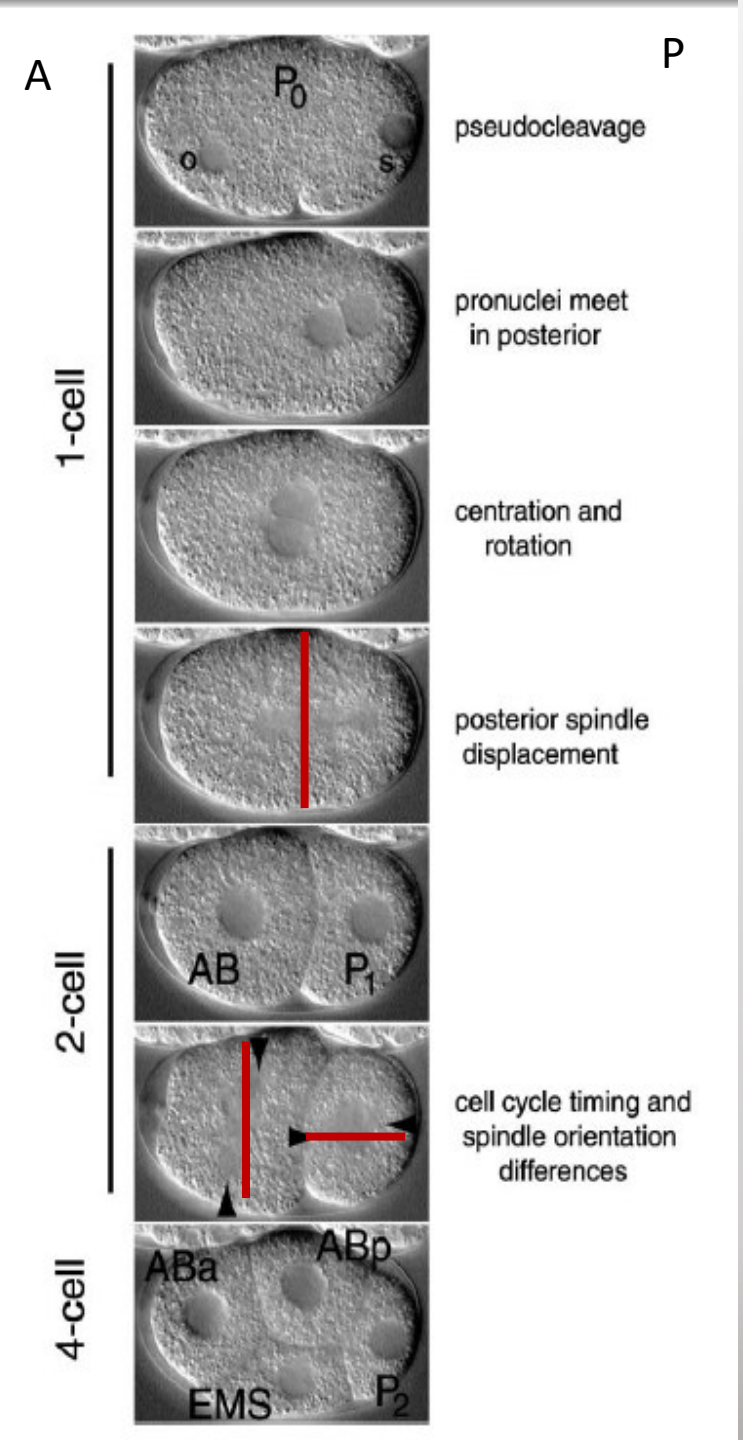
Η <u>SPE-11:</u>

- Πυρηνική πρωτεΐνη, λειτουργία?
- Εκφράζεται κατά τη σπερματο-γένεση και την πρώιμη ανάπτυξη.
- Έμβρυα από σπερματοζωάρια απο τα οποία απουσιάζει η spe-11 διασώζονται αν τα ωάρια εκφράζουν **εκτοπικά** την SPE-11.
- Δεν αποτελεί στοιχείο του κεντροσωματίου.

Τα σπερματοζωάρια του *C. elegans* είναι πολύ μικρά σε σχέση με τα ωάρια (1%v/v).

Για ποιο λόγο μια πρωτεΐνη να εκφράζεται σε αυτά και όχι στα ωάρια;

Η αυλάκωση στον *C. elegans*



- Η **πρώτη διαίρεση** είναι ασύμμετρη. Η αύλακα σχηματίζεται κοντύτερα προς το οπίσθιο άκρο και δημιουργούνται δυο κύτταρα το AB και το P_1. Ολοβλαστική αυλάκωση
- Οι αυλακωτικές διαιρέσεις είναι ασύμμετρες – στις διαιρέσεις της πρώϊμης αυλάκωσης σχηματίζονται ένα ιδρυτικό κύτταρο (founder cells: AB, MS, E, D, C) και ένα βλαστικό κύτταρο (stem cells: P_1 - P_4).
- Κατά τη **δεύτερη διαίρεση:**
  - το AB διαιρείται *ισημερινά* (κάθετα στον εμπροσθοπίσθιο άξονα) και προκύπτουν τα ABa και Abp, (a: anterior, p: posterior)
  - το P_1 διαιρείται *μεσημβρινά* και προκύπτουν το EMS και το P2

  Περιστροφική αυλάκωση.
- Τα βλαστικά κύτταρα διαιρούνται πάντα μεσημβρινά και από κάθε διαίρεση προκύπτει ένα ιδρυτικό κύτταρο εμπρόσθια και ένα βλαστικό κύτταρο οπίσθια.
- Απο τα ιδρυτικά κύτταρα παράγονται διαφοροποιημένα κύτταρα.

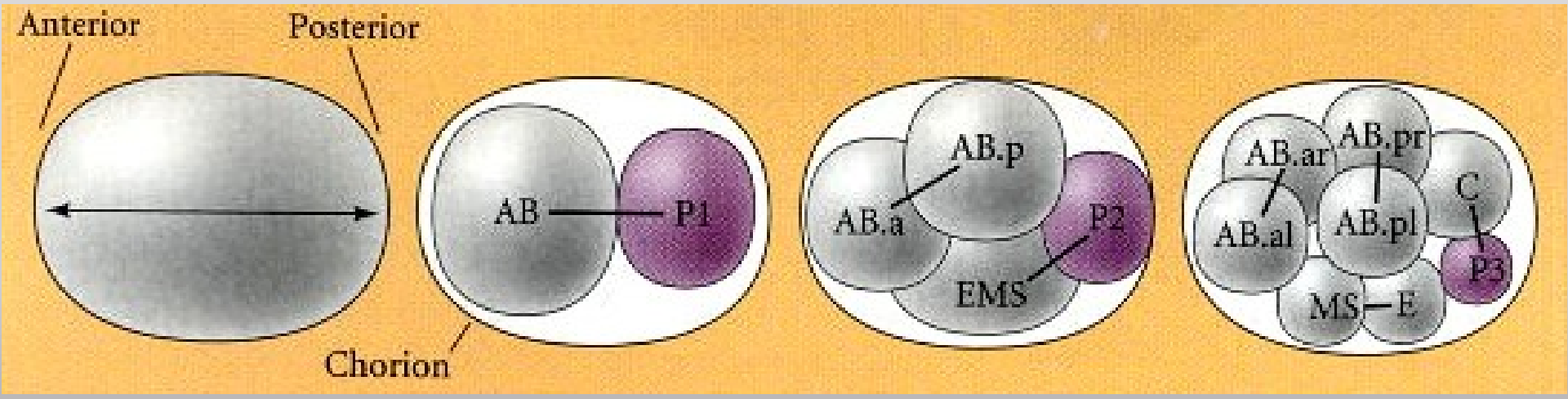
Ολοβλαστική περιστροφική αυλάκωση

Πώς ονομάζουμε τα κύτταρα του *C. elegans*

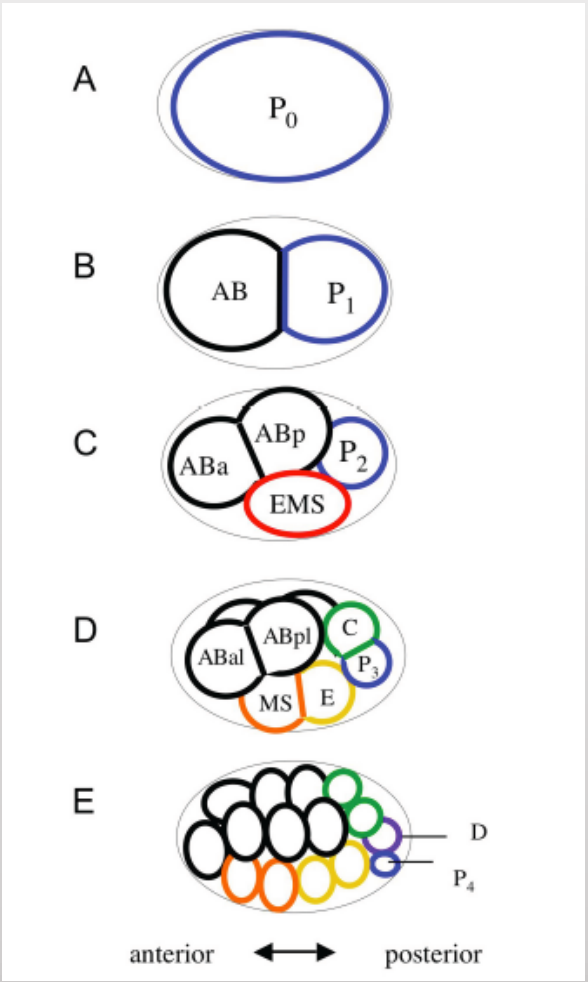
Πολλές φορές τα κύτταρα στον *C. elegans* τα ονομάζουμε με βάση τη θέση τους ως προς τα αδελφικά τους κύτταρα.

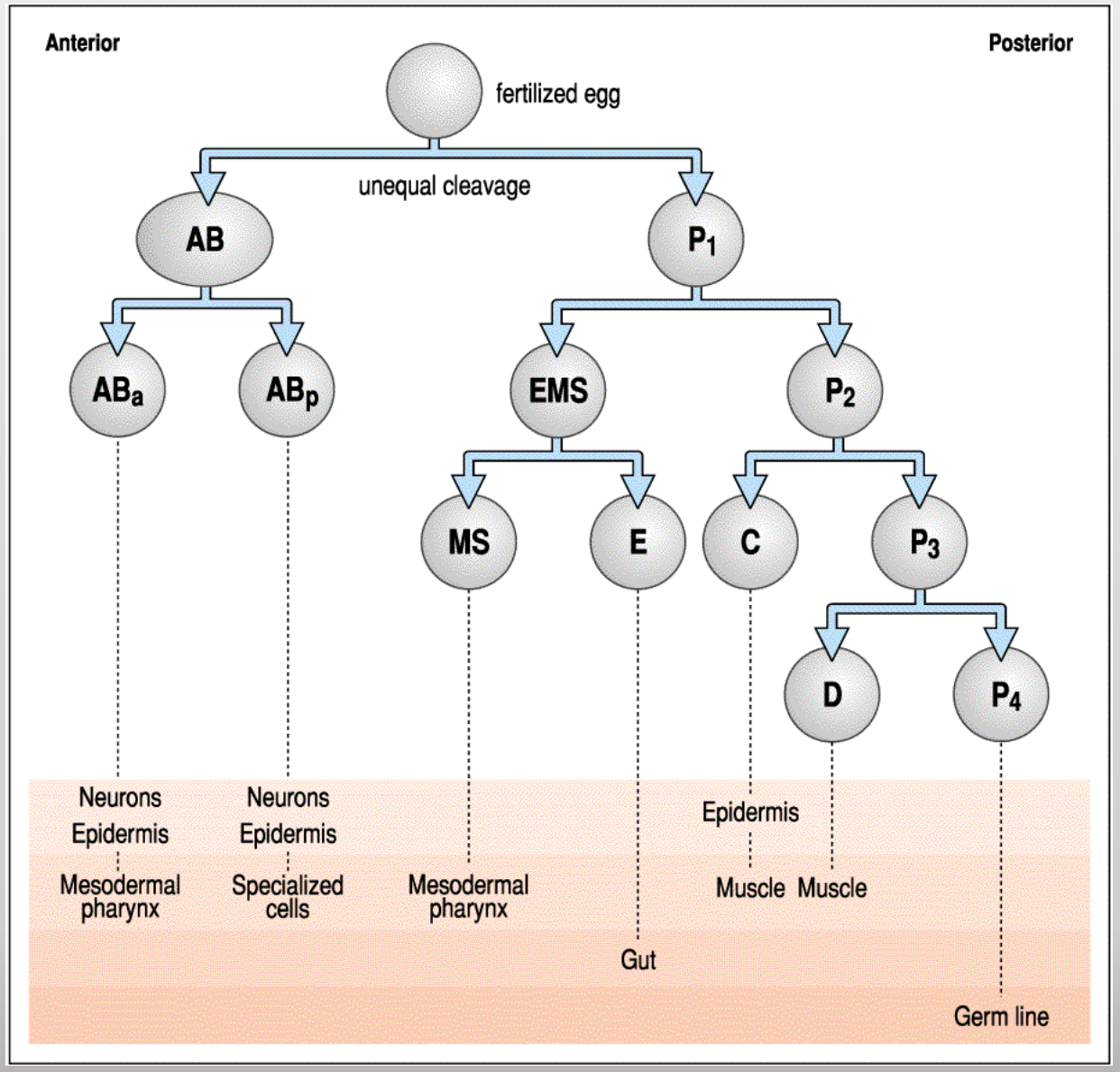
π.χ. ABal= το κύτταρο που έχει προέλθει από τη διαίρεση του ABa και βρίσκεται αριστερά.

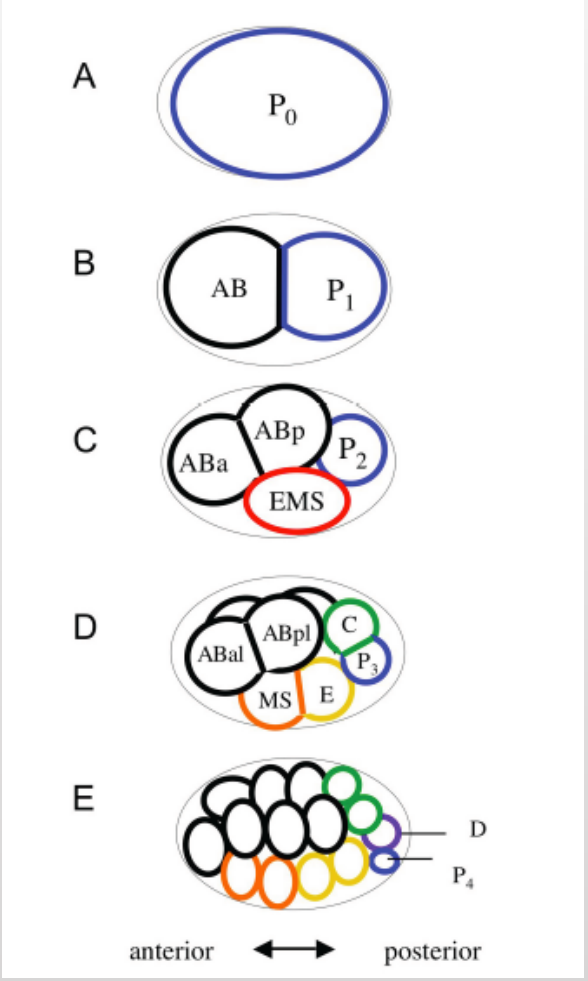
Το ABa προέρχεται από τη διαίρεση του AB και είναι το κύτταρο που βρίσκεται πλησιέστερα στο εμπρόσθιο άκρο του εμβρύου.

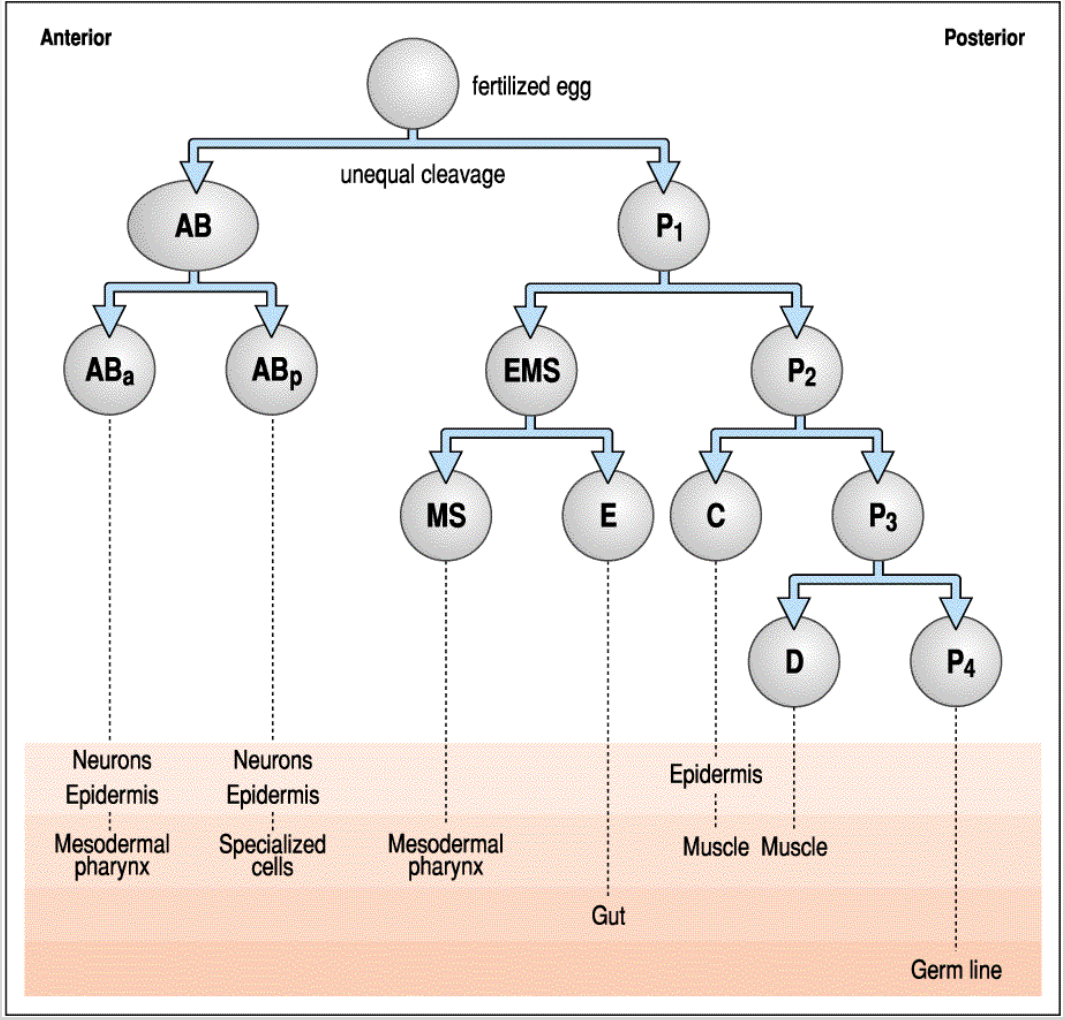


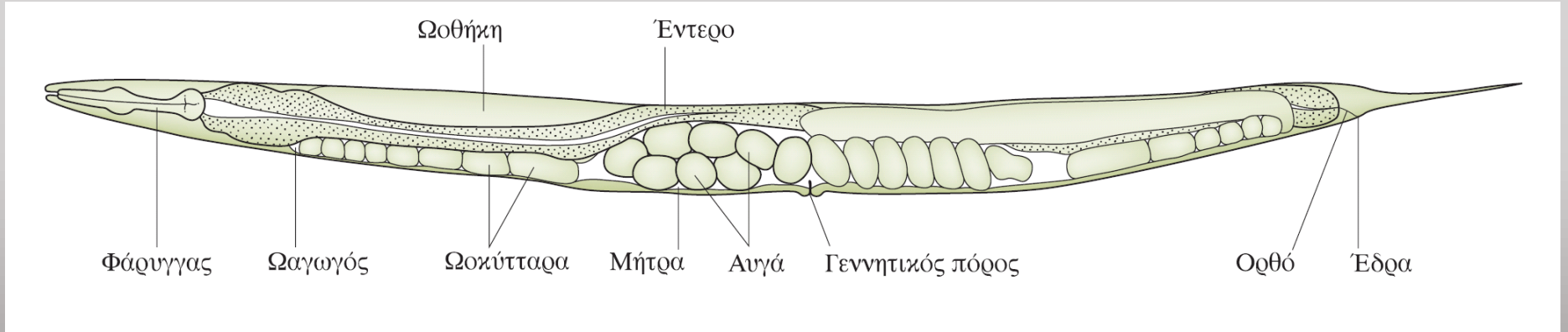
Κυτταρική γενεαλογία (cell lineage) σε πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του *C. elegans*






A
P0
B
AB
P1
C
ABa
ABp
P2
EMS
D
ABal
ABpl
C
P3
MS
E
E
D
P4
anterior
posterior

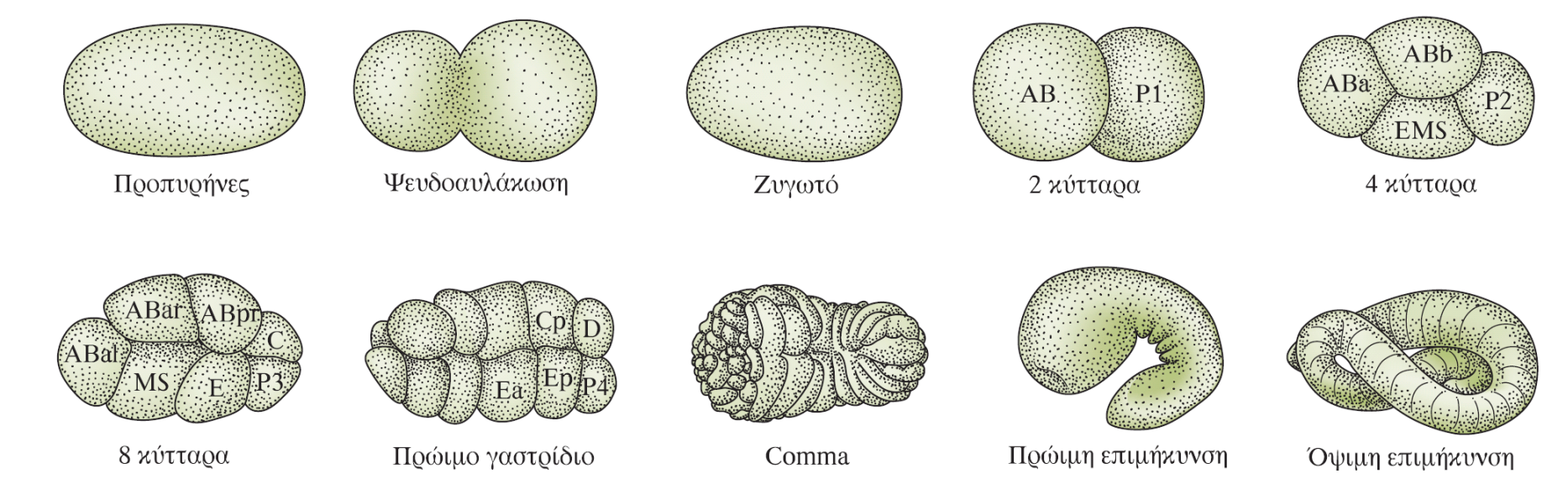

Anterior
Posterior
fertilized egg
unequal cleavage
AB
P1
ABa
ABp
EMS
P2
MS
E
C
P3
D
P4
Neurons
Epidermis
Mesodermal pharynx
Neurons
Epidermis
Specialized cells
Mesodermal pharynx
Gut
Epidermis
Muscle
Muscle
Germ line


Ωοθήκη
Έντερο
Φάρυγγας
Ωαγωγός
Ωοκύτταρα
Μήτρα
Αυγά
Γεννητικός πόρος
Ορθό
Έδρα

Η αυλάκωση στον *C. elegans*

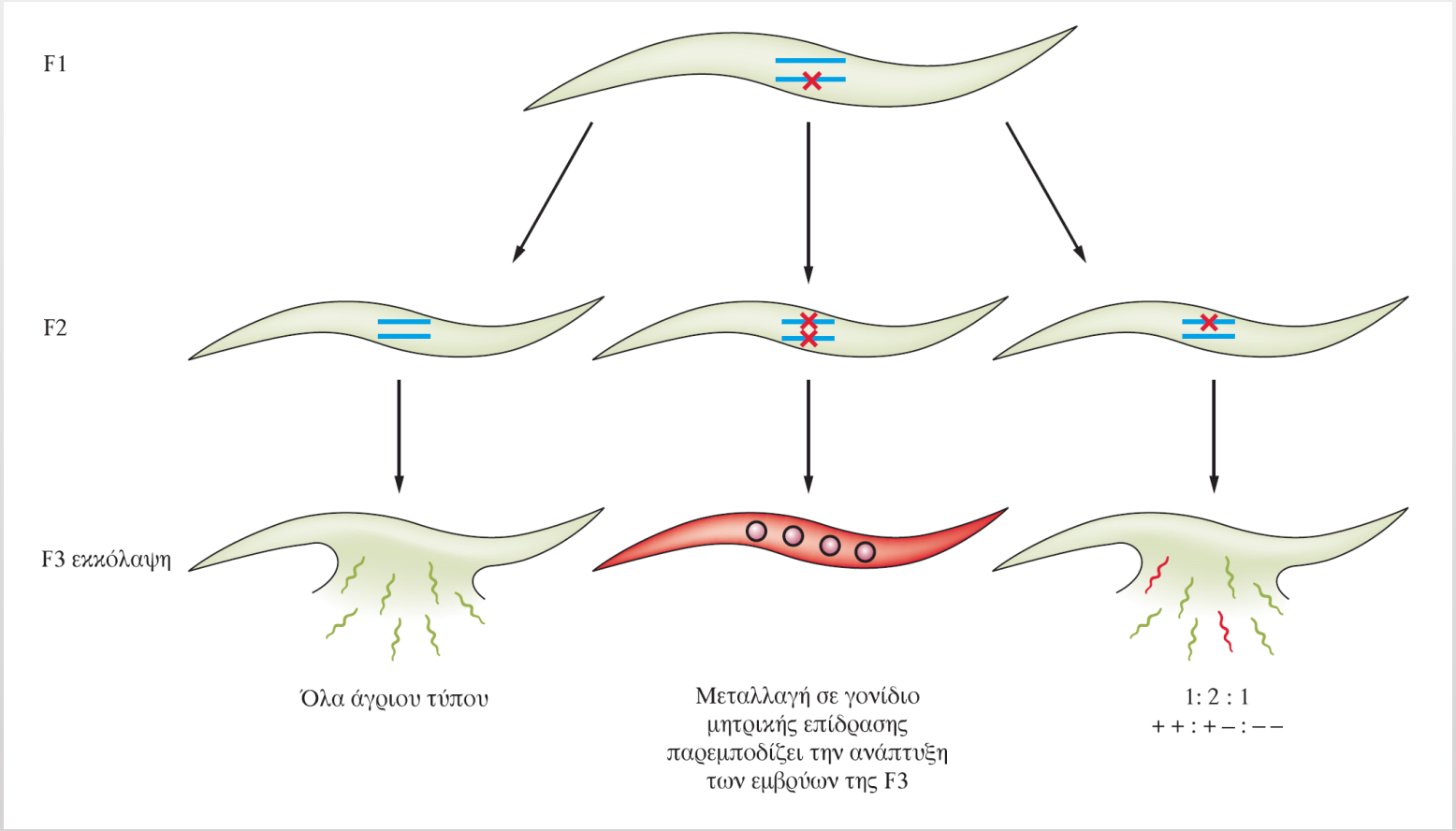


Η μεταγραφή των ζυγωτικών γονιδίων ξεκινά στο στάδιο των τεσσάρων κυττάρων όμως γονίδια μητρικής επίδρασης (περίπου 100) ελέγχουν την ανάπτυξη μέχρι την έναρξη της γαστριδίωσης (28 κύτταρα).



Τα πρώϊμα στάδια της ανάπτυξης του *C. elegans* ελέγχονται από γονίδια μητρικής επίδρασης

Σάρωση μεταλλαξιγένεσης για την ανεύρεση μεταλλαγών σε γονίδια μητρικής επίδρασης



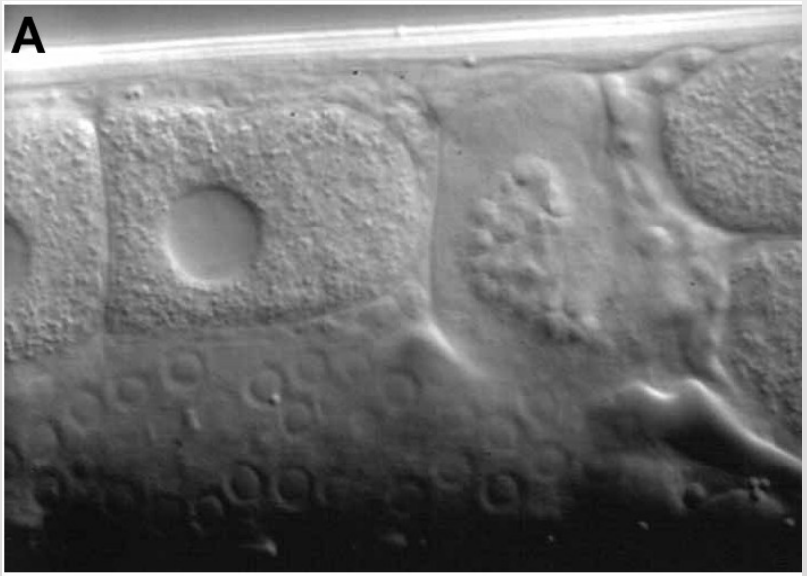
- Πειράματα σε ερμαφρόδιτα που δεν διαθέτουν γεννητικό πόρο και επομένως δεν είναι σε θέση να γεννήσουν αυγά. Προκειμένου να απελευθερωθούν οι προνύμφες κατατρώγουν το σώμα του γονέα.
- Τα άτομα της F2 τα οποία φέρουν έμβρυα των οποίων η ανάπυξη έχει σταματήσει λόγω μεταλλαγής σε γονίδιο μητρικής επίδρασης παραμένουν στο σώμα του γονέα.

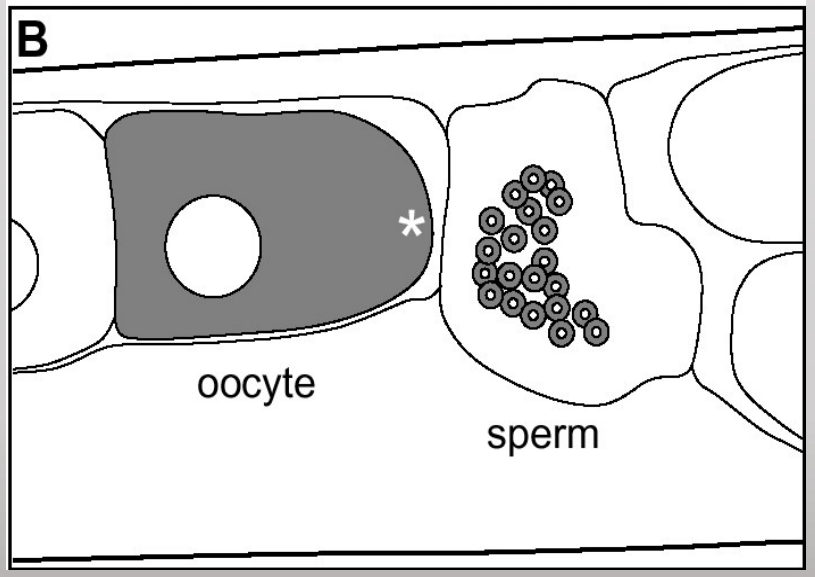
Ο σχηματισμός του εμπροσθοπίσθιου άξονα στον *C. elegans*

Ο σχηματισμός του εμπροσθοπίσθιου άξονα στον *C. elegans*

- Ο εμπροσθοπίσθιος άξονας σχηματίζεται στη μακριά διάσταση του ωαρίου πριν την πρώτη διαίρεση.
- Ο εμπροσθοπίσθιος άξονας δεν είναι καθορισμένος πριν από τη γονιμοποίηση (το ωάριο δεν έχει πολικότητα).
- Το άκρο που βρίσκεται πλησιέστερα στο σημείο εισόδου του σπερματοζωαρίου (point of sperm entry) γίνεται το μελλοντικό οπίσθιο άκρο του εμβρύου.
- Πώς μπορούμε να το αποδείξουμε?

Όμως το ωάριο παίζει κι αυτό ρόλο…





Πρώτη αυλακωτική διαίρεση

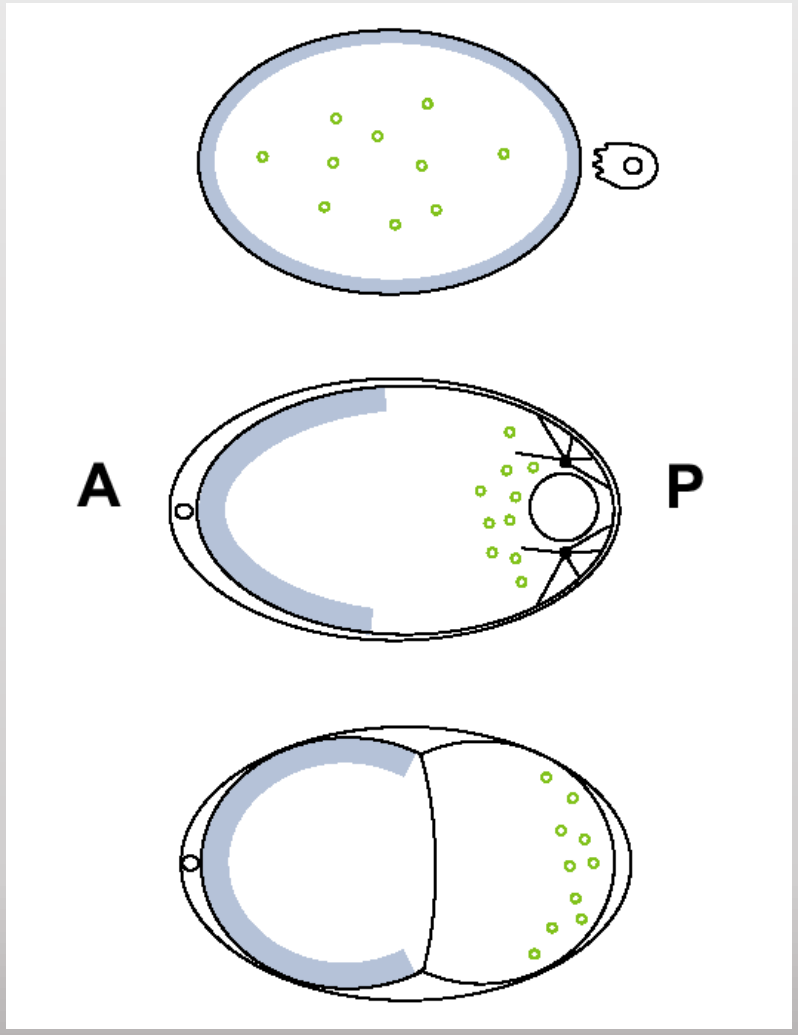
Η είσοδος του σπερματοζωαρίου ακολουθείται απο το σχηματισμό ενός κυτταροπλασματικού ρεύματος το οποίο φαίνεται ότι κατανέμει ασύμμετρα στο ζυγωτό διάφορα μόρια ή συμπλέγματα μορίων.

- Περιφερειακό κυτταρόπλασμα - ΕΠ
- Κεντρικό κυτταρόπλασμα- ΟΠ

Συμμετέχουν:

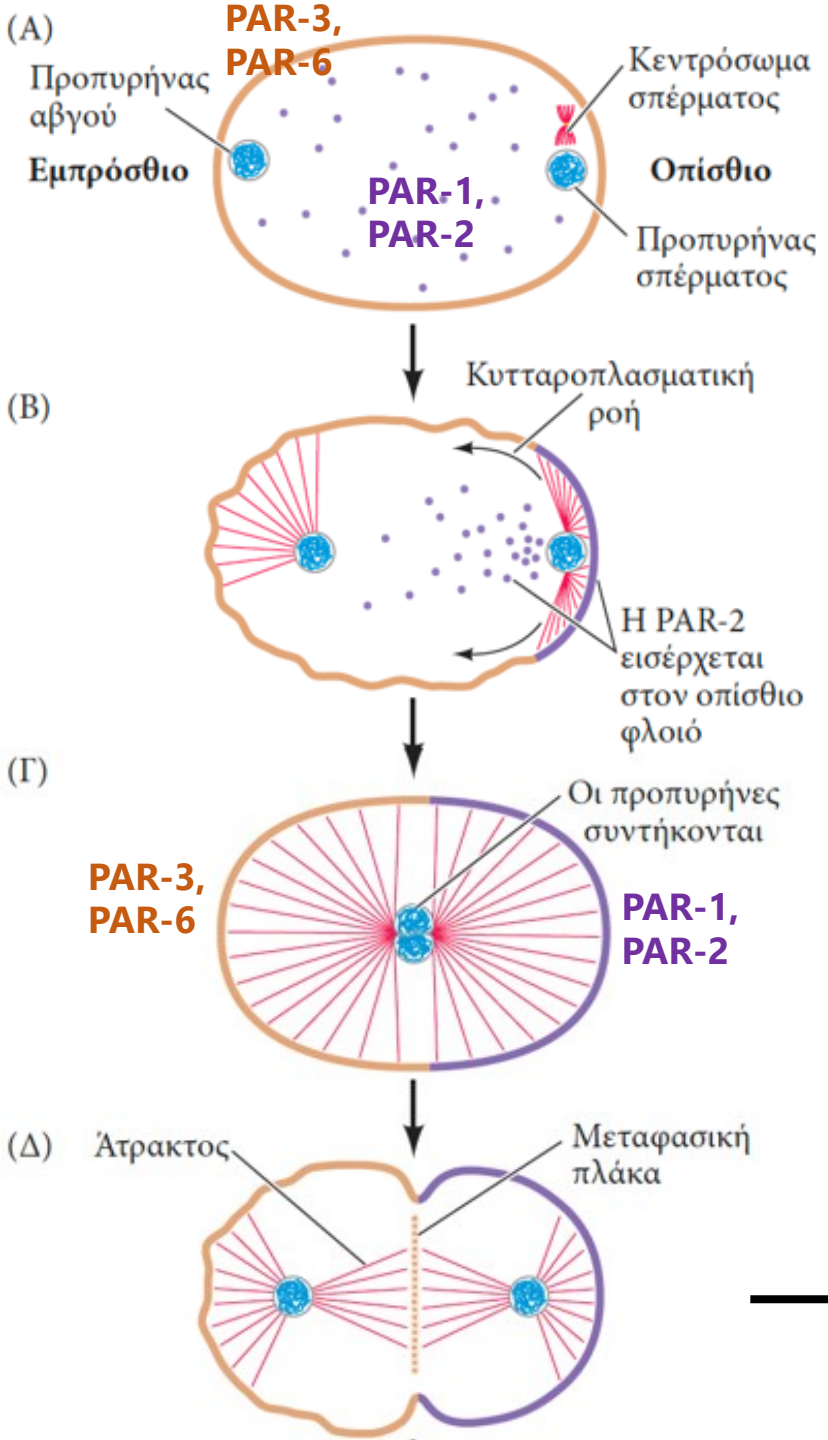
- Το κεντριόλιο του σπερματοζωαρίου καθώς οργανώνει μικροσωληνίσκους.
- Μικροϊνίδια στην αναδιοργάνωση και στο σχηματισμό της ατράκτου.

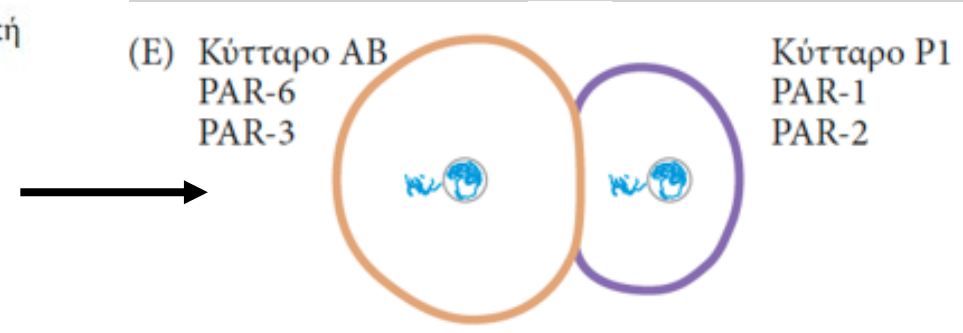
Τι θα συμβεί αν επωάσουμε με κυτοχαλασίνη;.



Πρώτη αυλακωτική διαίρεση και Πρωτεΐνες PAR

- **PAR-3** και **PAR-6** αλληλεπιδρούν με την PKC-3 (κινάση) και κατανέμονται ομοιόμορφα στο περιφερειακό κυτταρόπλασμα.
- Οι **PAR-1** και **PAR-2** περιορίζονται στο κεντρικό κυτταρόπλασμα λόγω φωσφορυλίωσης απο PKC-3.
- Το κεντρόσωμα του σπερματοζωαρίου ερχεται σε επαφή με το περιφερικό κυτταρόπλασμα μέσω των μικροσωληνίσκων και ξεκινούν οι κυτταροπλασματικές κινήσεις.
- Οι **PAR-2** αρχικά και στη συνέχεια η **PAR-1** περιορίζονται **οπίσθια**.
- Οι **PAR-3** (φωσφορυλίώνεται απο PAR-1) και μαζί με την **PAR-6** περιορίζονται **εμπρόσθια**.





Οι πρωτεΐνες PAR

- **PAR-1**: κυτταροσκελετική MARK κινάση σερίνης-θρεονίνης
- **PAR-2:** περιέχει δακτυλίους RING επικράτεια πρόσδεσης ATP

} **ΟΠΙΣΘΙΑ**

- **PAR-3**: περιέχει επικράτεια PDZ, ομόλογη με πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με PKC (κινάση), - αλληλεπιδρά με PAR-6
- **PAR-6**: περιέχει επικράτεια PDZ - αλληλεπιδρά με PAR-3

} **ΕΜΠΡΟΣΘΙΑ**

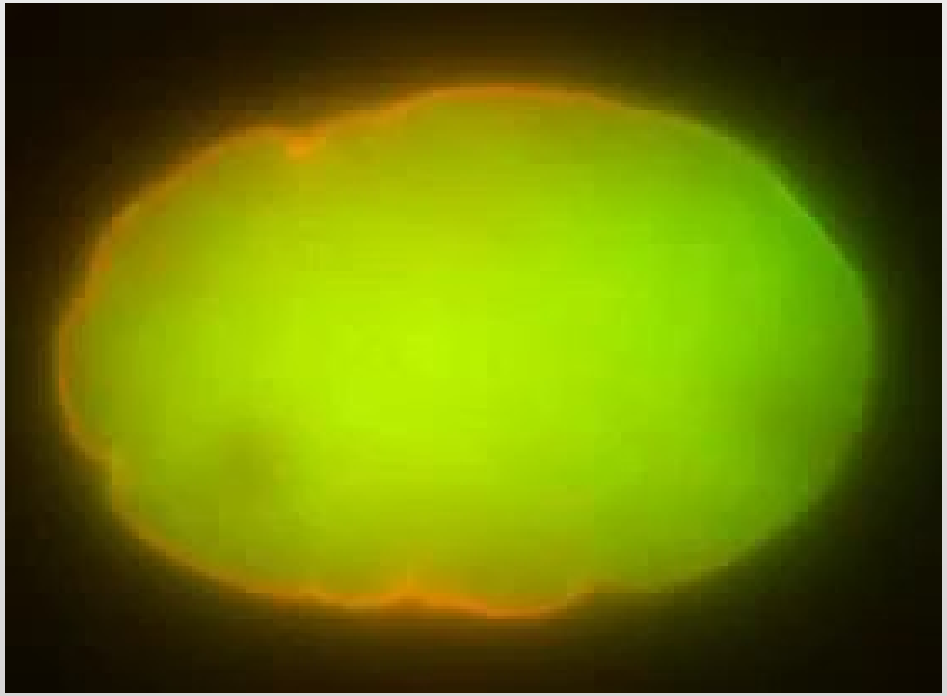
- PAR-4: ? Ομόλογη με ανθρώπινη πρωτεΐνη
- PAR-5: πρωτεΐνη 14-4-3

Δεν είναι απολύτως σαφής ο τρόπος με τον οποίο τα γονίδια *par* ρυθμίζουν τα επίπεδα αυλάκωσης ή την κατανομή διαφόρων μορίων στο έμβρυο.

Αλληλεπιδράσεις με τον κυτταροσκελετό (μικροσωληνίσκοι)

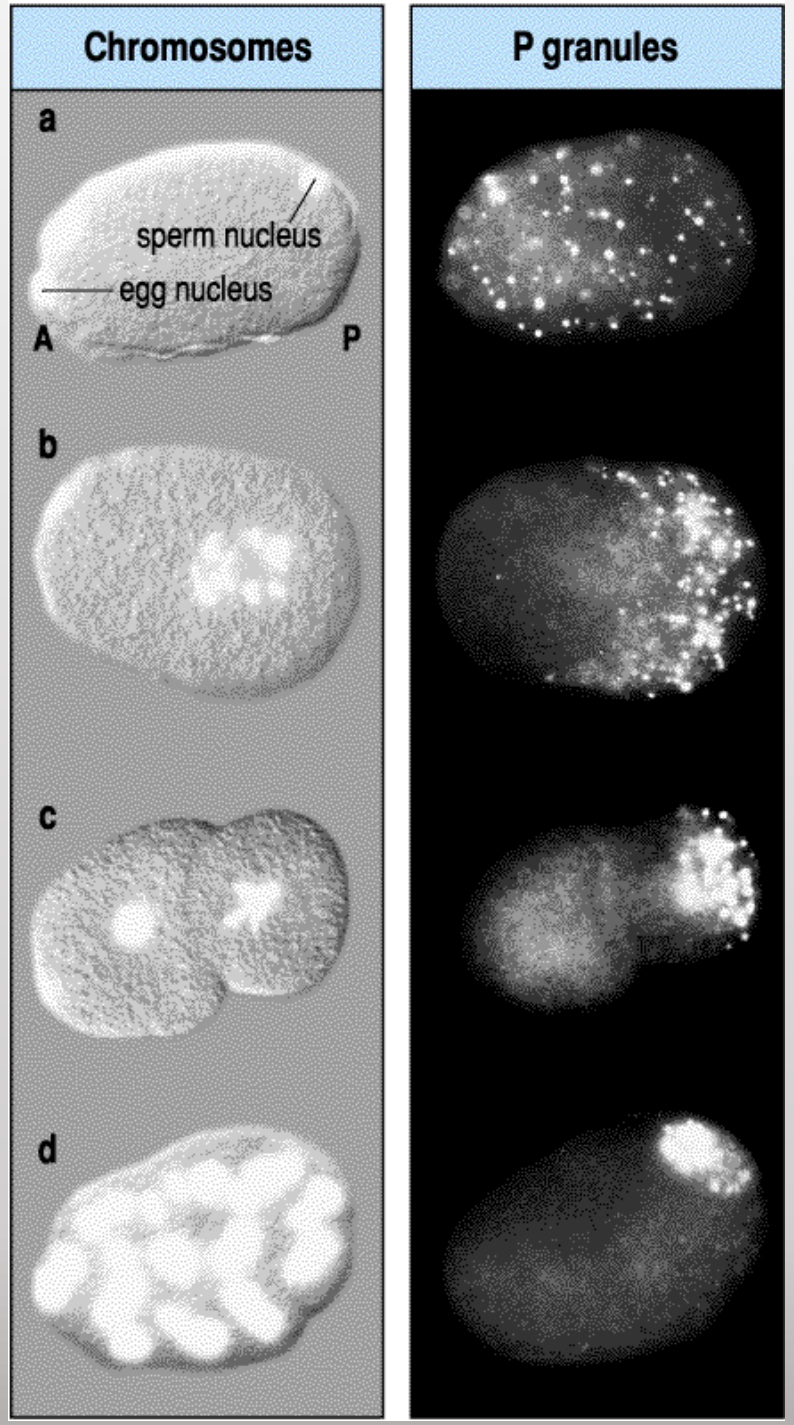
Οι πρωτεΐνες PAR

- Κατανέμονται ομοιόμορφα πριν από την γονιμοποίηση.
- Μετά την είσοδο του σπερματοζωαρίου κατανέμονται ασύμμετρα στο περιφερικό κυτταρόπλασμα (φλοιός).
- Για την κατανομή τους απαιτούνται μικροσωληνίσκοι.



PAR-2 GFP
PAR-6 mcherry

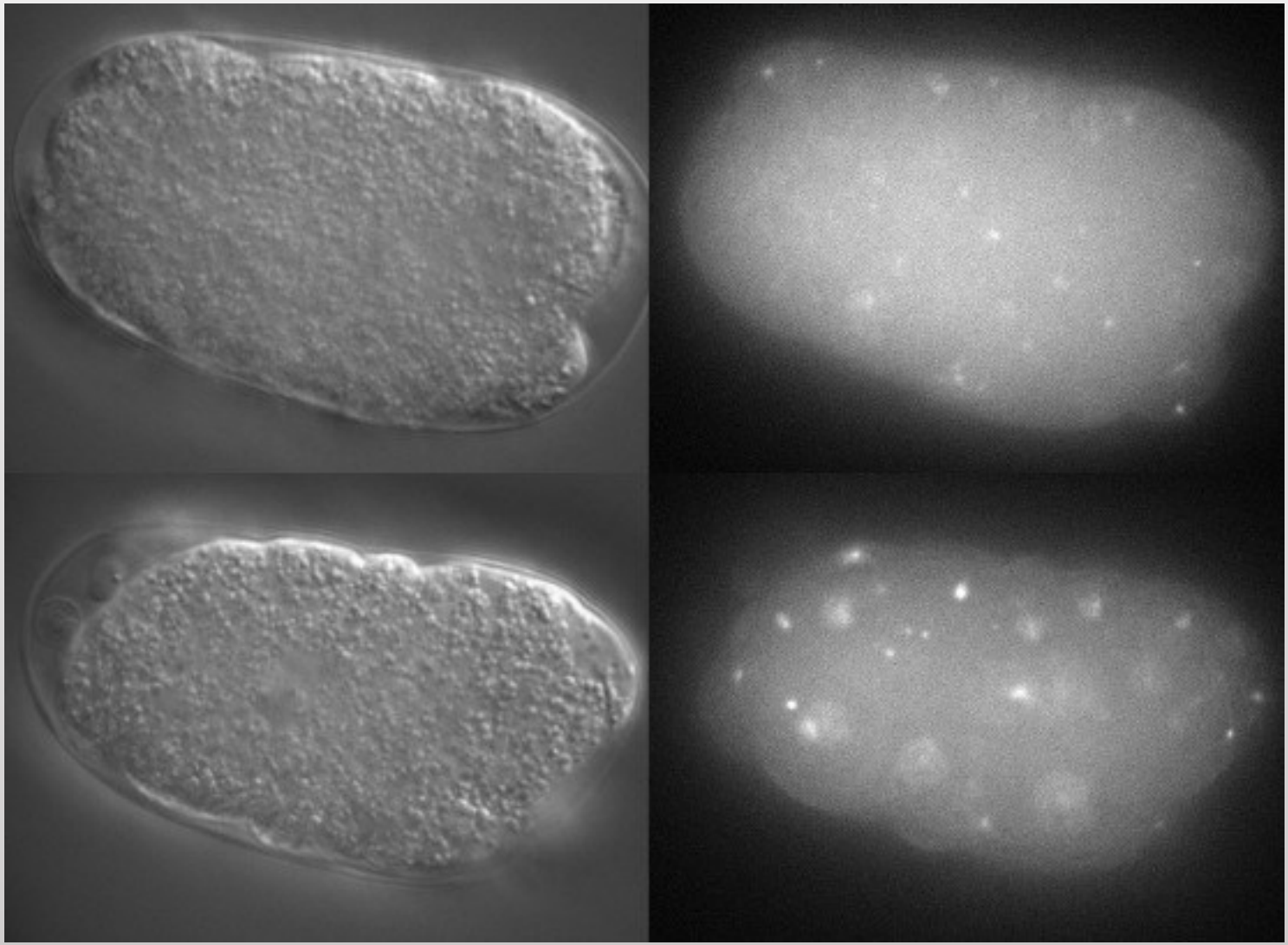
- **Τα γονίδια PAR συνεργάζονται για τον ορθό σχηματισμό των μιτωτικών ατράκτων και για το διαχωρισμό και την κατανομή διαφόρων παραγόντων.**



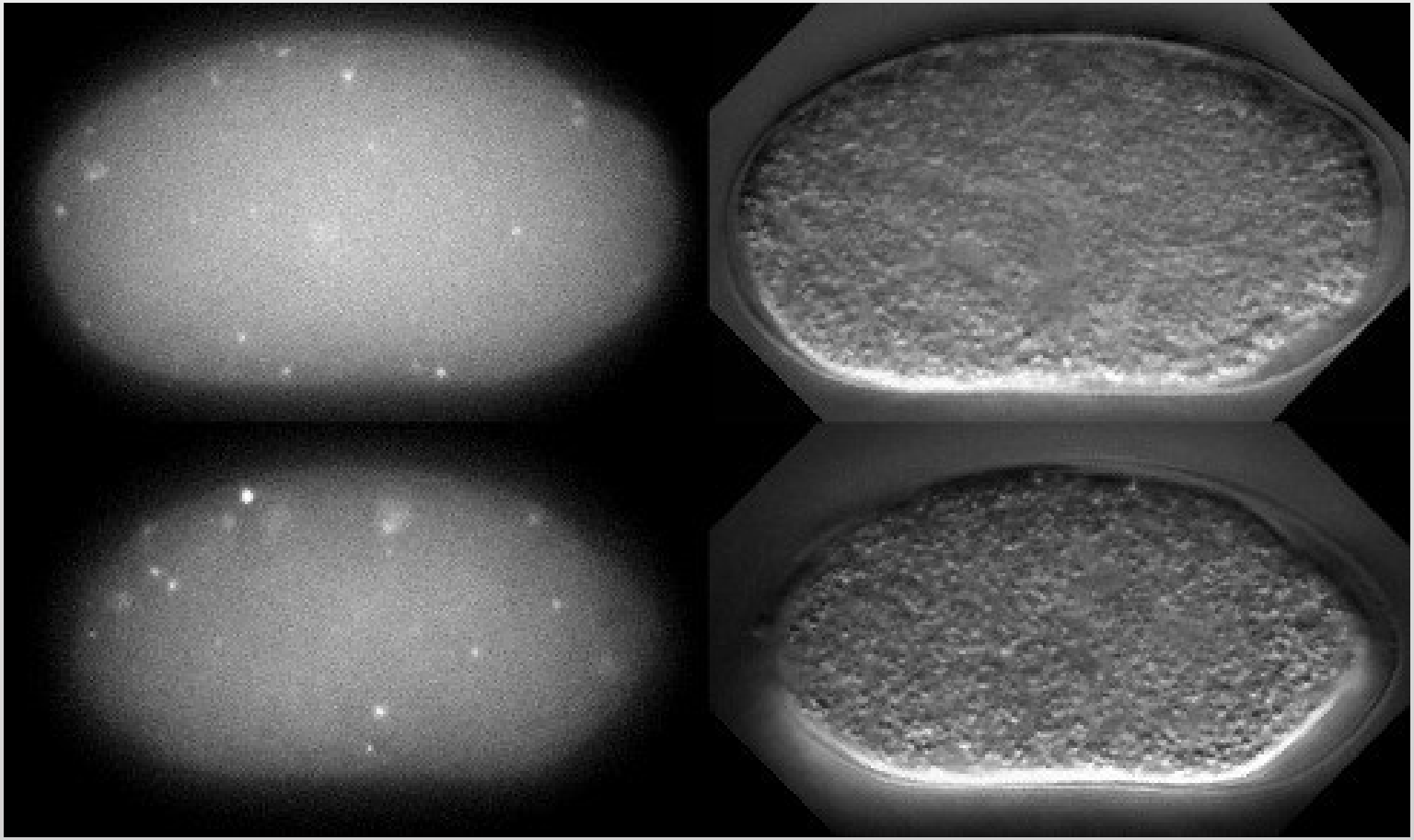
Τα κοκκία P

- Ριβονουκλεοπρωτεϊνικά συμπλέγματα τα οποία κατανέμονται ασύμμετρα μετά τη γονιμοποίηση.
- Περιέχουν RNA-ελικάσες, πολυμεράσες πολυ-Α, παράγοντες έναρξης της μετάφρασης κ.α.
- Μετά από κάθε διαίρεση παραμένουν στο **βλαστικό κύτταρο**.
- Ακολουθούν την πολικότητα που σχηματίζεται απο τις PAR.
- Κυτοχαλασίνη D αναστέλλει τη μετακίνηση των κοκκίων P.
- Συμμετοχή μικροϊνιδίων.

Τα κοκκία P



Τα γονίδια *par* και τα κοκκία P

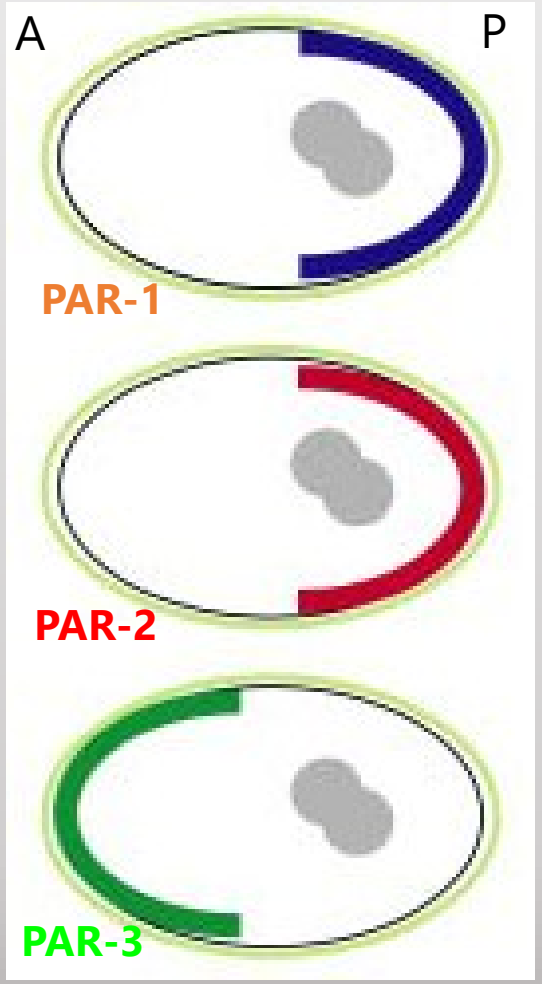


Η κατανομή των κοκκίων P απουσία PAR2 και PAR5

Τα μεταλλάγματα *par* (partitioning defective mutants)

- Επηρεάζουν την κατανομή των κοκκίων P ή άλλων καθοριστών
- Αλλαγές στα επίπεδα αυλάκωσης
- Αλλαγή στο πρότυπο έκφρασης άλλων γονιδίων

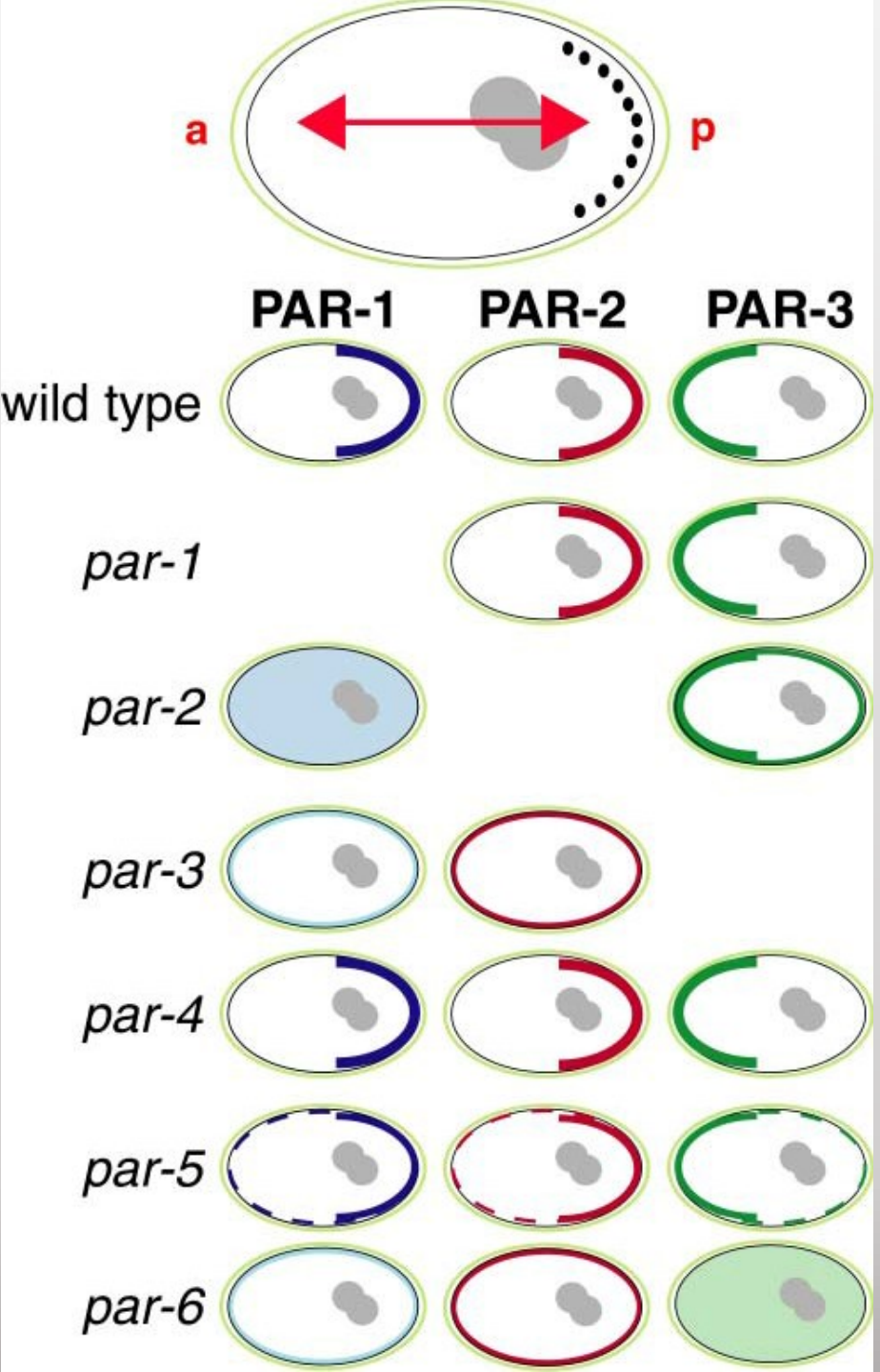
- **Το έμβρυο που προκύπτει χαρακτηρίζεται από <u>συμμετρικές</u> διαιρέσεις και <u>απουσία διαφοροποίησης.</u>**



Έχουν χαρακτηριστεί 6 μεταλλάξεις PAR.

- Διαφορετική κατανομή.
- Διαφορετικά στάδια.
- Διαφορετικά μόρια.

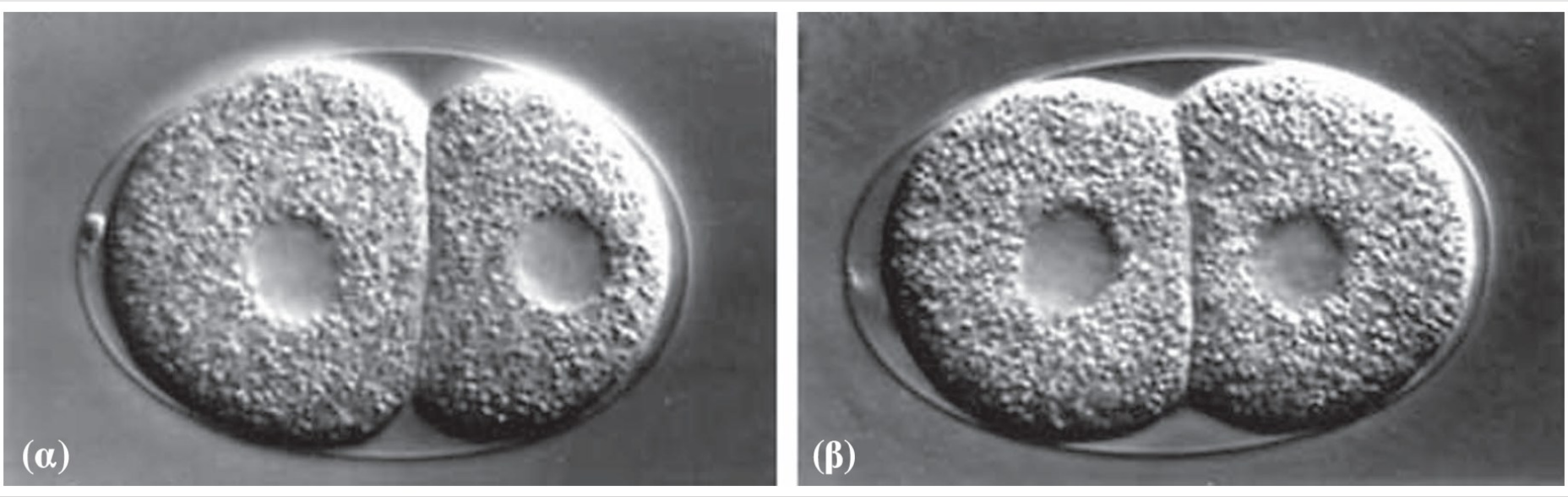
Τα μεταλλάγματα *par*



Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γονιδίων *par*.

Μεταλλάξεις του ενός επηρεάζουν την κατανομή των υπολοίπων

Ο ρόλος του γονιδίου *par-3* στην αυλάκωση



(α) Έμβρυο άγριου τύπου στο οποίο διακρίνονται τα κύτταρα AB και P1. (β) Έμβρυο που έχει προκύψει από ωάριο από το οποίο απουσιάζει το λειτουργικό προϊόν του *par-3*. Τα δύο βλαστομερίδια έχουν το ίδιο μέγεθος. Από τη δημοσίευση Goldstein & Macara (2007) *Developmental Cell* **13**, 609-622, με άδεια από τον εκδοτικό οίκο Elsevier.

Πολικότητα και σχηματισμός της ατράκτου στην πρώτη αυλακωτική διαίρεση

Η εγκαθίδρυση πολικότητας δεν αρκεί! Προκειμένου να προχωρήσει ομαλά η ανάπτυξη θα πρέπει η άτρακτος να είναι μετατοπισμένη.

Έχει δειχθεί ότι

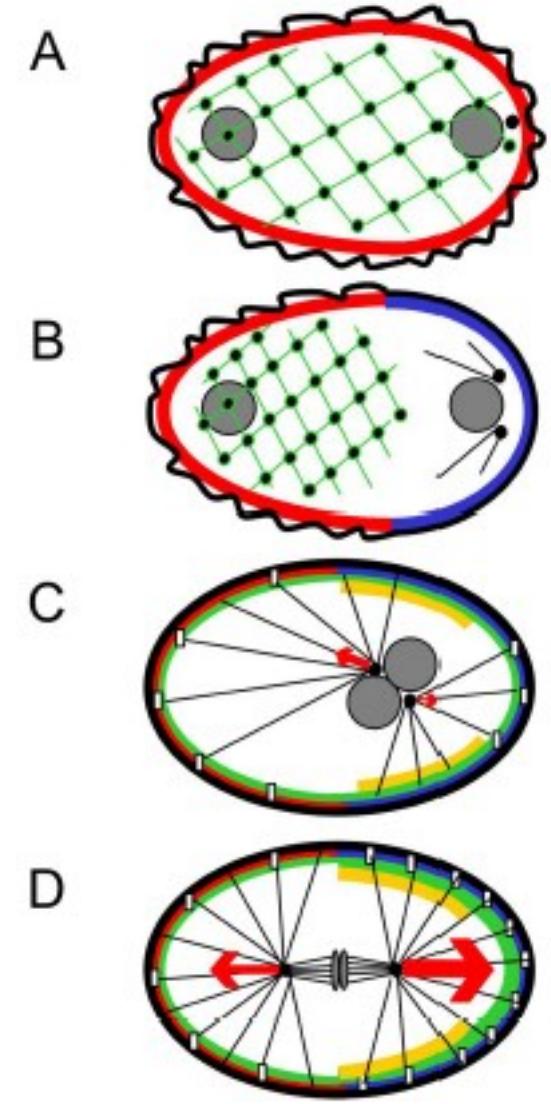
η μετατόπιση οφείλεται στη διαφορά των δυνάμεων που ασκούνται στα δύο κεντροσωμάτια

Απαιτούνται:

PAR-3: επηρεάζει τη σταθερότητα των MT

PAR-2: PAR-3 (περιορίζει την ενεργότητά της στο εμπρόσθιο τμήμα).

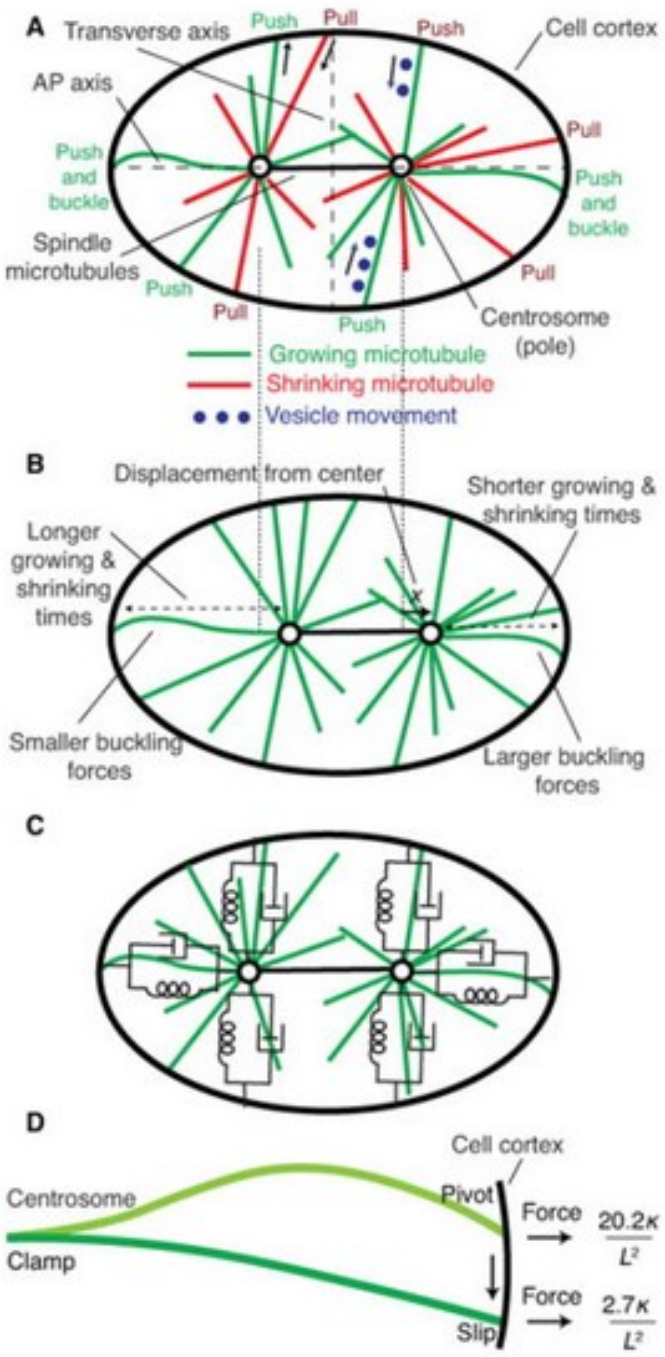
par-2,3 μεταλλάγματα???



Κεντρόσωμα: μαύροι δίσκοι, μικροσωληνίσκοι: μαύρες γραμμές με γκρίζο χρώμα οι προπυρήνες οι πυρήνες και τα χρωμοσώματα

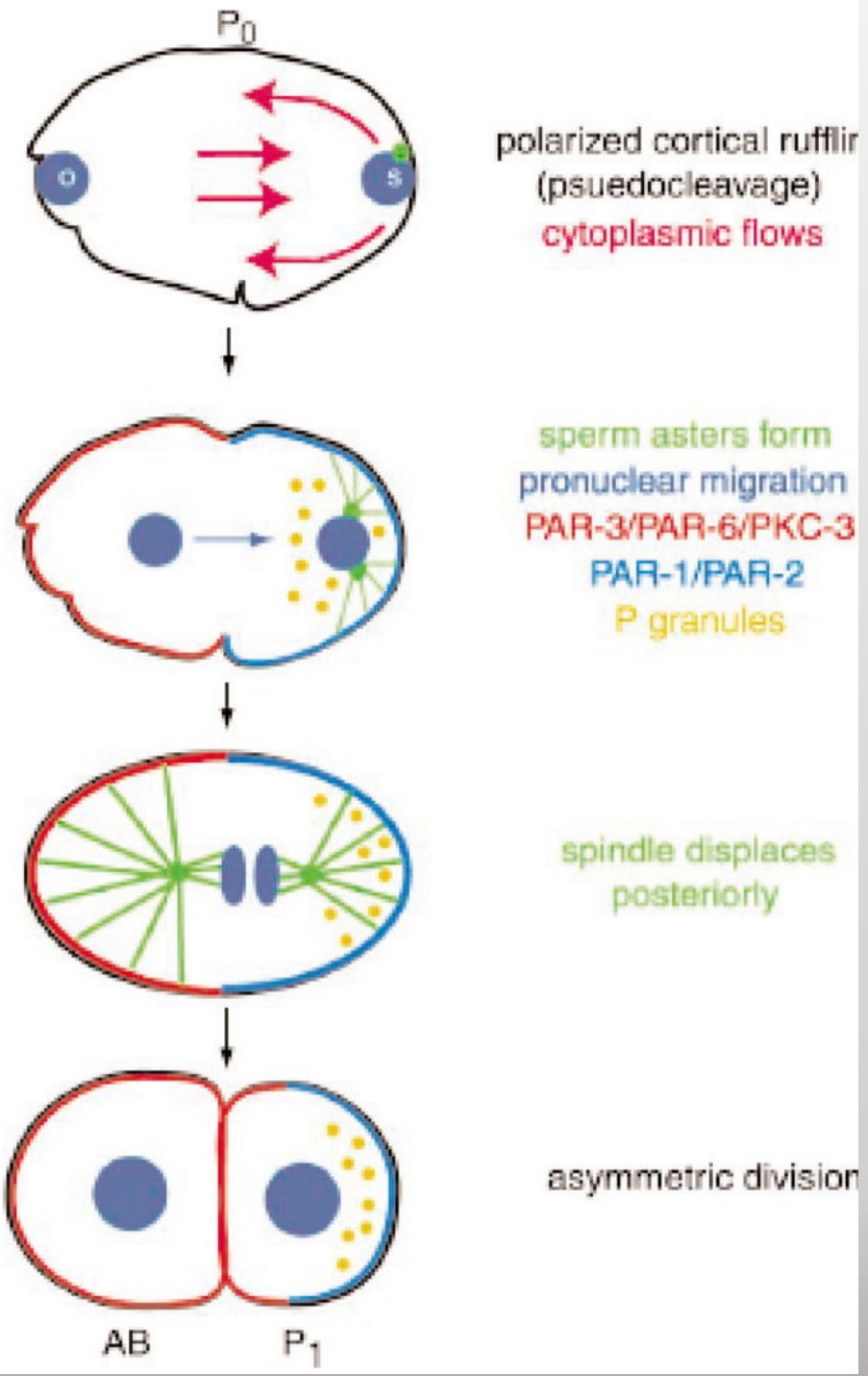
PAR-3/PAR-6 κόκκινο περιφερειακό κυτταρόπλασμα, PAR-2 και PAR-1: μπλε, GPR-1/2 πράσινο cortical LET-99: χρυσαφί

Πολικότητα και σχηματισμός της ατράκτου στην πρώτη αυλακωτική διαίρεση



Models of spindle centering

A Three force-generating mechanisms operating on astral microtubules: (i) pushing by microtubules, shown in green, growing against the cell cortex, (ii) pulling by microtubules, shown in red, shortening while maintaining contact with the cortex, and (iii) hydrodynamic force generated by movement of vesicles, shown in blue, moving towards the center of the aster. The pushing and vesicles forces are centering, meaning that they move the aster and the spindle towards the cell center. The pulling forces can be centering or anti-centering depending on the details of cell shape and cortical attachment. B Origins of length-dependent pushing forces. Displacement of the spindle to the right leads to larger leftwards restoring force because (i) the microtubules spend less time growing and shrinking from the right-hand cortex, and (ii) the buckling forces are larger for the shorter microtubules on the right. C Spring and dashboard model of the spindle showing the equivalent mechanical circuit for pushing microtubule arrays. D Microtubule buckling after contact with the cortex (show cortex). Upper microtubule: clamped at the aster center and fixed at the cortex (but free to pivot). Lower microtubule: clamped at the aster center and free to slide along the cortex. If there is friction at the cortex, the microtubule will initially buckle as shown in the upper part, but then transition to the shape shown after sliding. Bioessays. 2017 Nov; 39(11): 10.1002/bies.201700122.



Εγκαθίδρυση Εμπροσθοπίσθιου άξονα Σύνοψη

1) Είσοδος σπερματοζωαρίου - το κεντριόλιο του σπερματοζωαρίου οργανώνει τους μικροσωληνίσκους.

2) Δημιουργία κυτταροπλασματικών ρευμάτων – πολικότητα.

3) Οι **PAR-3** και **PAR-6** περιορίζονται στο εμπρόσθιο τμήμα. και οι **PAR-1** και **PAR-2** περιορίζονται στο οπίσθιο άκρο. Ασύμμετρη κατανομή των PAR (στα βλαστικά κύτταρα).

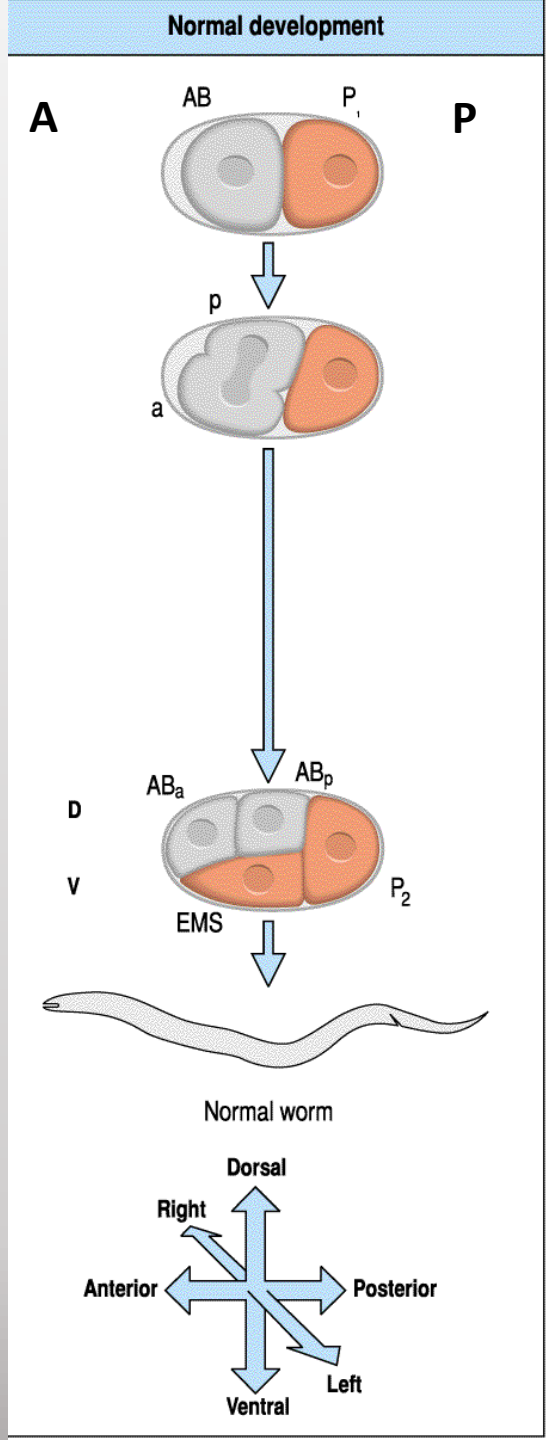
4) Τα **κοκκία P** μετακινούνται στο οπίσθιο άκρο.

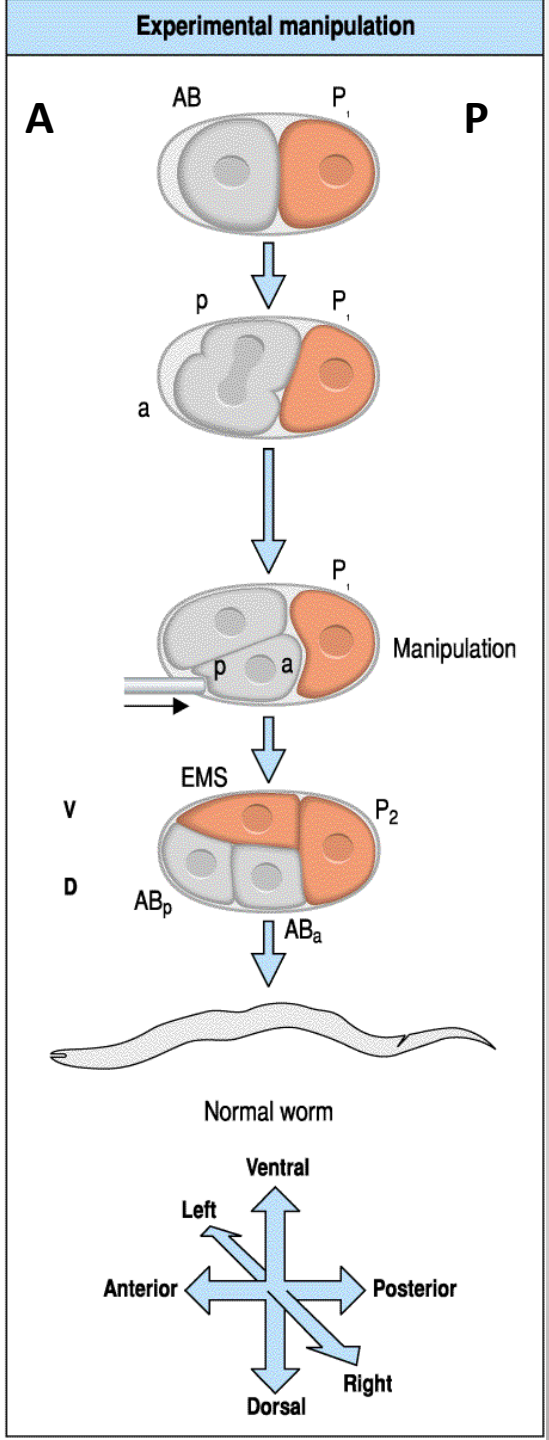
5) Διαφορά δυνάμεων που ασκούνται στα δύο κεντροσωμάτια .

Ο σχηματισμός του ραχιοκοιλιακού άξονα

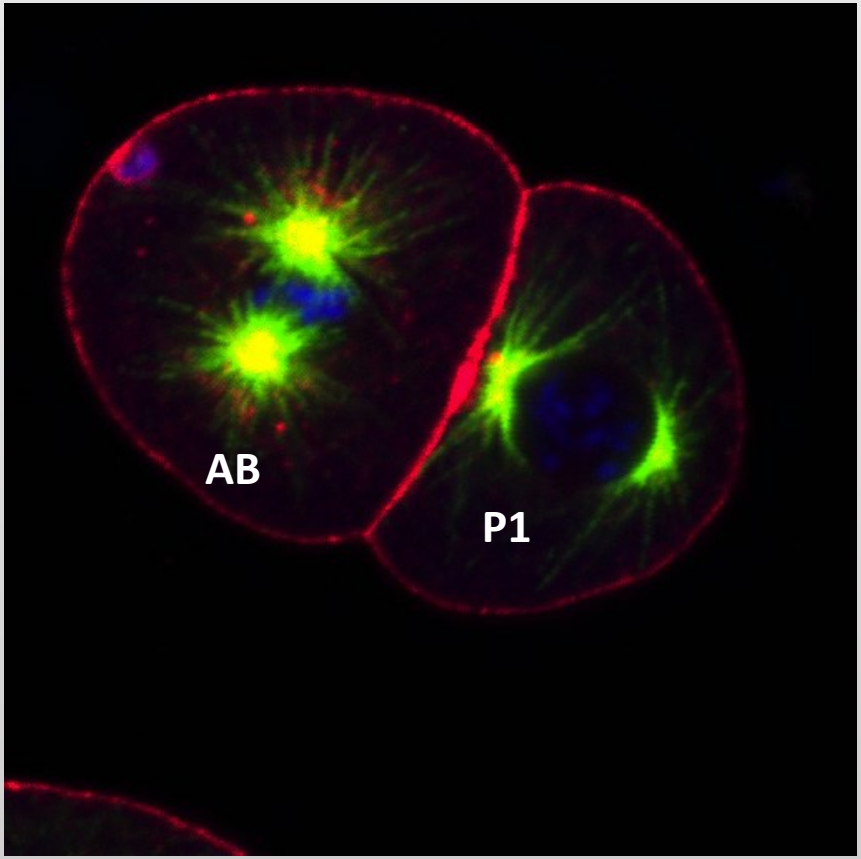
- Εγκαθιδρύεται στο στάδιο των 4-κυττάρων κατα τη διαίρεση του κυττάρου **AB**.
- Μηχανική περιστροφή του ABp αντιστρέφει τον ραχιαίο-κοιλιακό άξονα.

- **ABp**: καθορίζει τη <u>ραχιαία</u> πλευρά.
- **EMS**: καθορίζει την <u>κοιλιακή</u> πλευρά.





Αυτόνομη αλλά και κατά συνθήκη εξειδίκευση ελέγχουν την ταυτότητα των βλαστομεριδίων του *C. elegans*



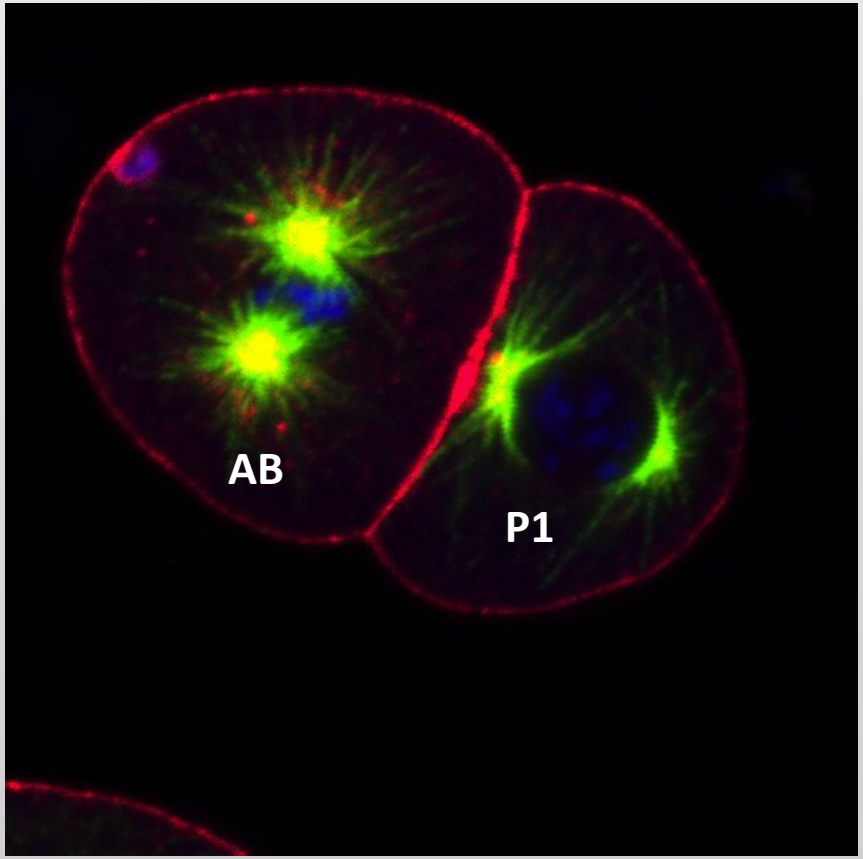
Διαχωρισμός ή καταστροφή των βλαστομεριδίων στο στάδιο των δύο κυττάρων:

- οι απόγονοι του **P1** σχηματίζουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που θα έδιναν φυσιολογικά.
- οι απόγονοι του **AB** σχηματίζουν μόνο μερικούς από τους κυτταρικούς τύπους που θα έδινε φυσιολογικά.

P1: αυτόνομη εξειδίκευση

AB: κατά συνθήκη εξειδίκευση

Αυτόνομη αλλά και κατά συνθήκη εξειδίκευση ελέγχουν την ταυτότητα των βλαστομεριδίων του *C. elegans*



Διαχωρισμός ή καταστροφή των βλαστομεριδίων στο στάδιο των δύο κυττάρων:

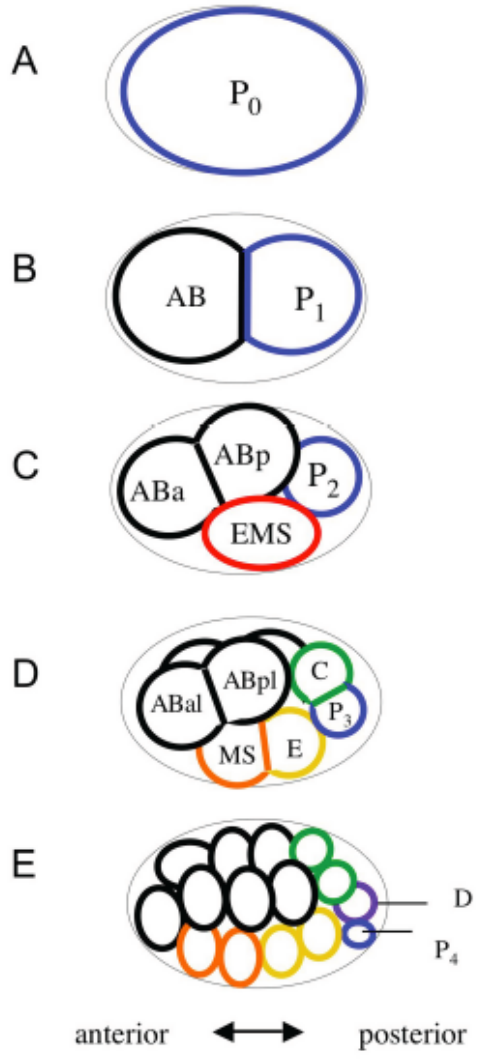
- οι απόγονοι του **P1** σχηματίζουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που θα έδιναν φυσιολογικά.
- οι απόγονοι του **AB** σχηματίζουν μόνο μερικούς από τους κυτταρικούς τύπους που θα έδινε φυσιολογικά.

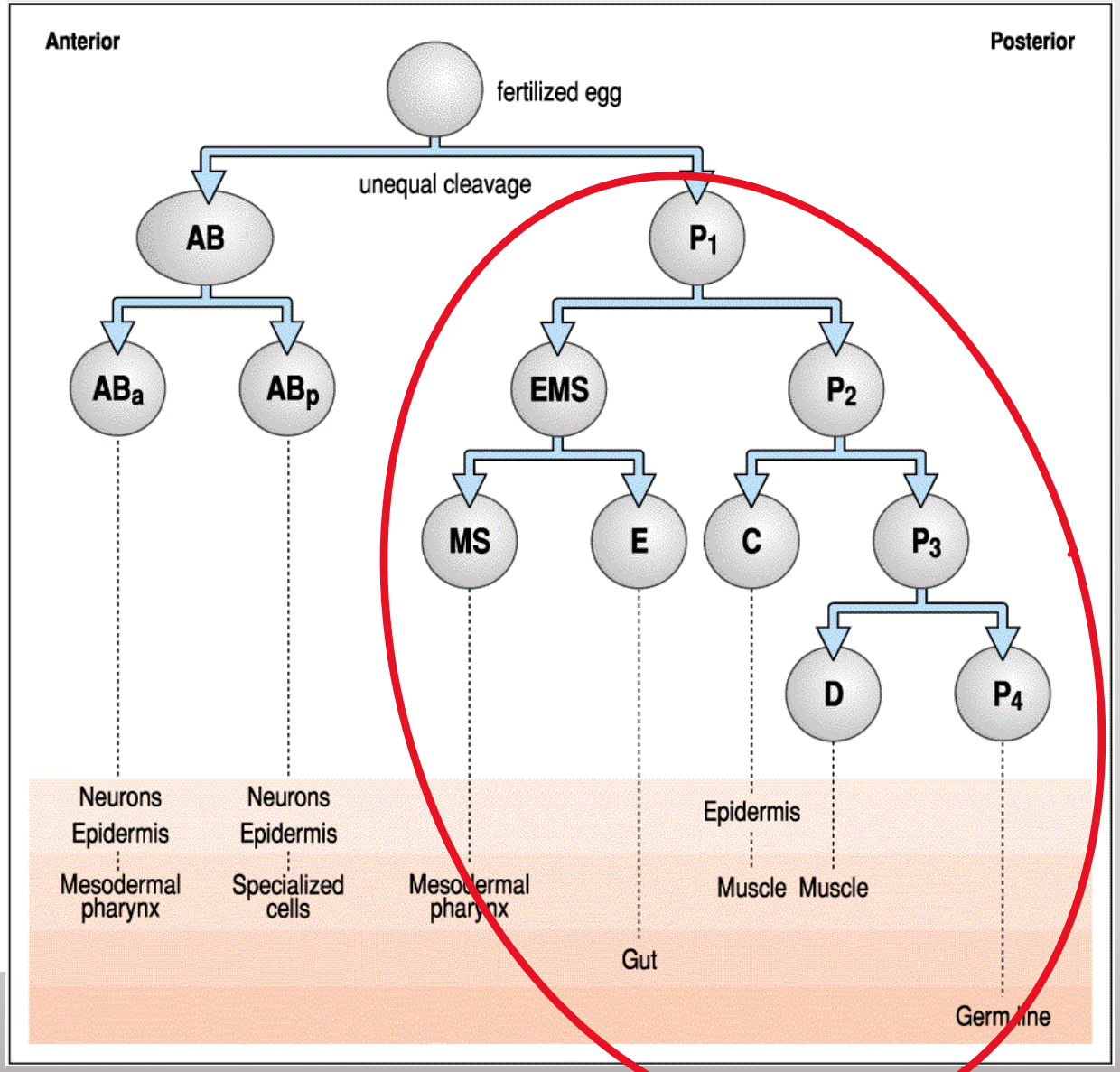
↓

P1: αυτόνομη εξειδίκευση

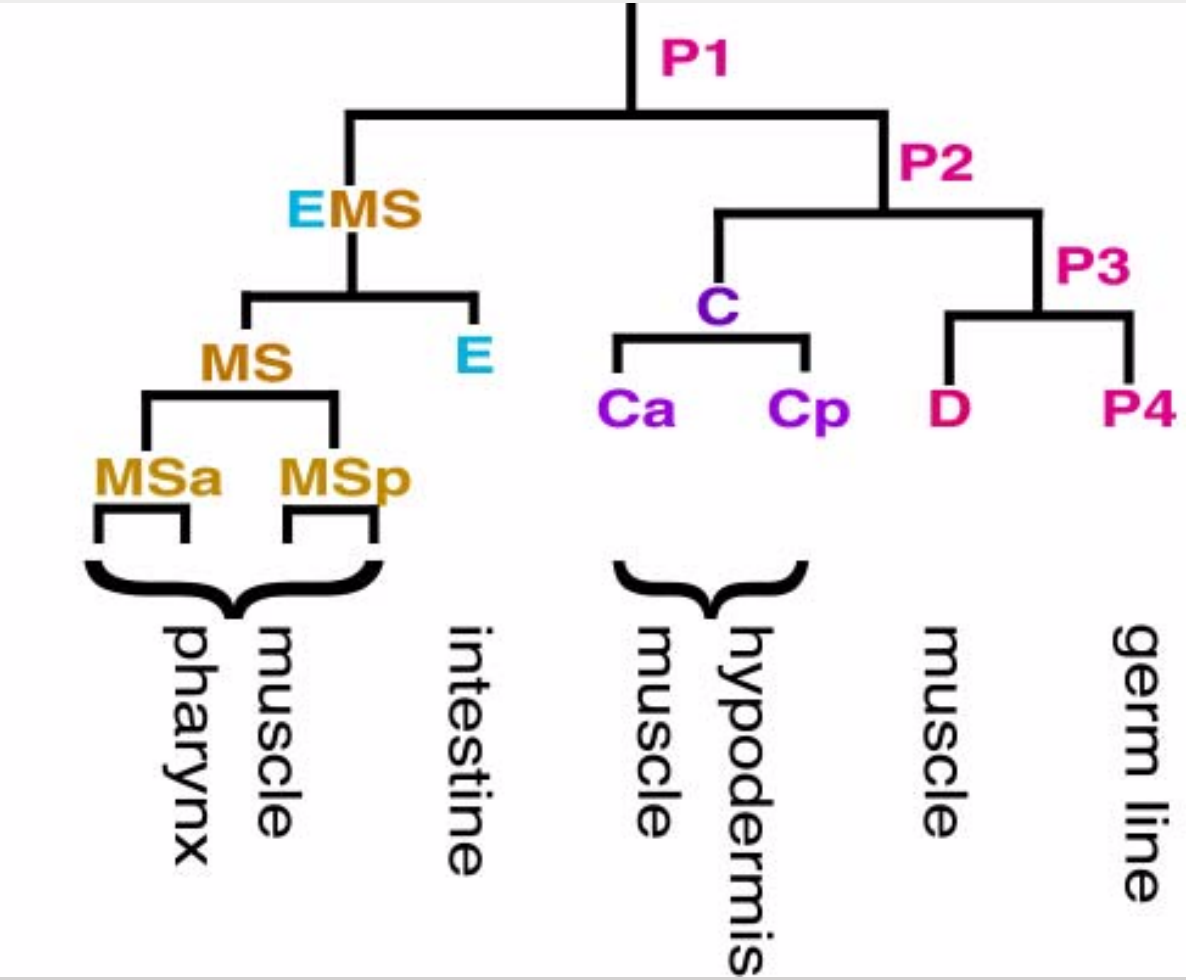
AB: κατά συνθήκη εξειδίκευση

Κυτταρική γενεαλογία (cell lineage) σε πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του *C. elegans*



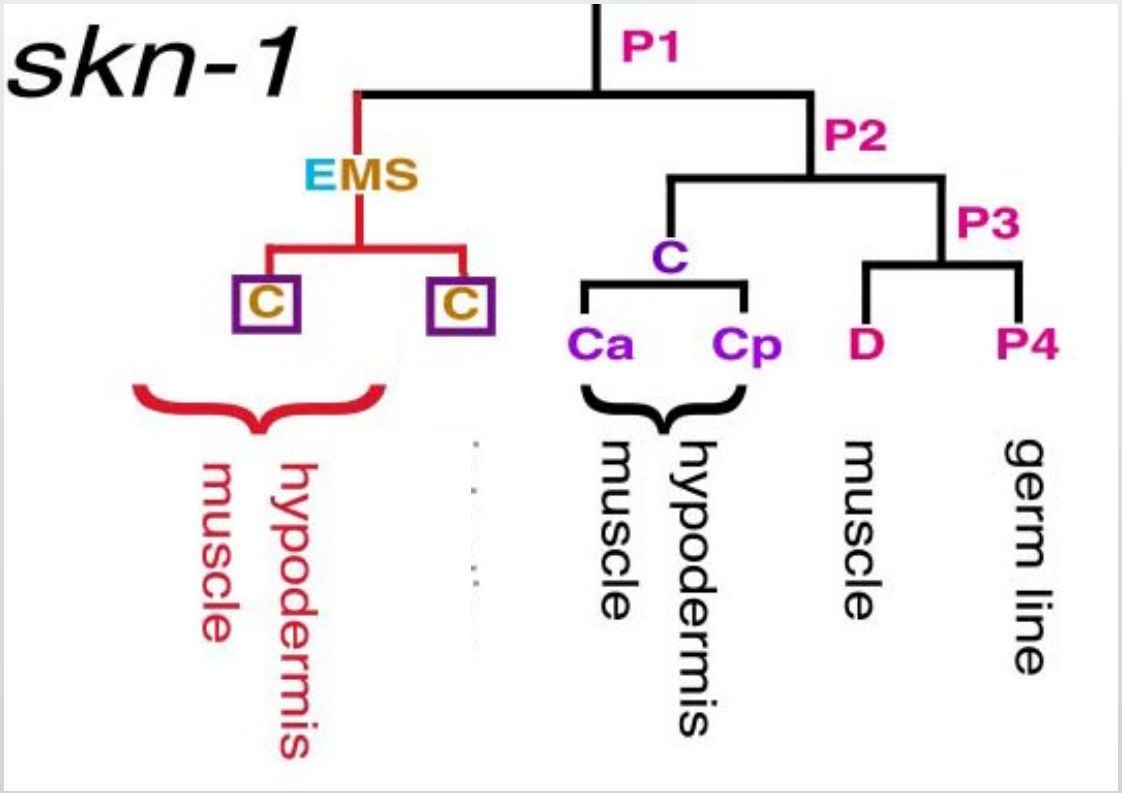


Αυτόνομη εξειδίκευση και η κυτταρική γενεαλογία του P1



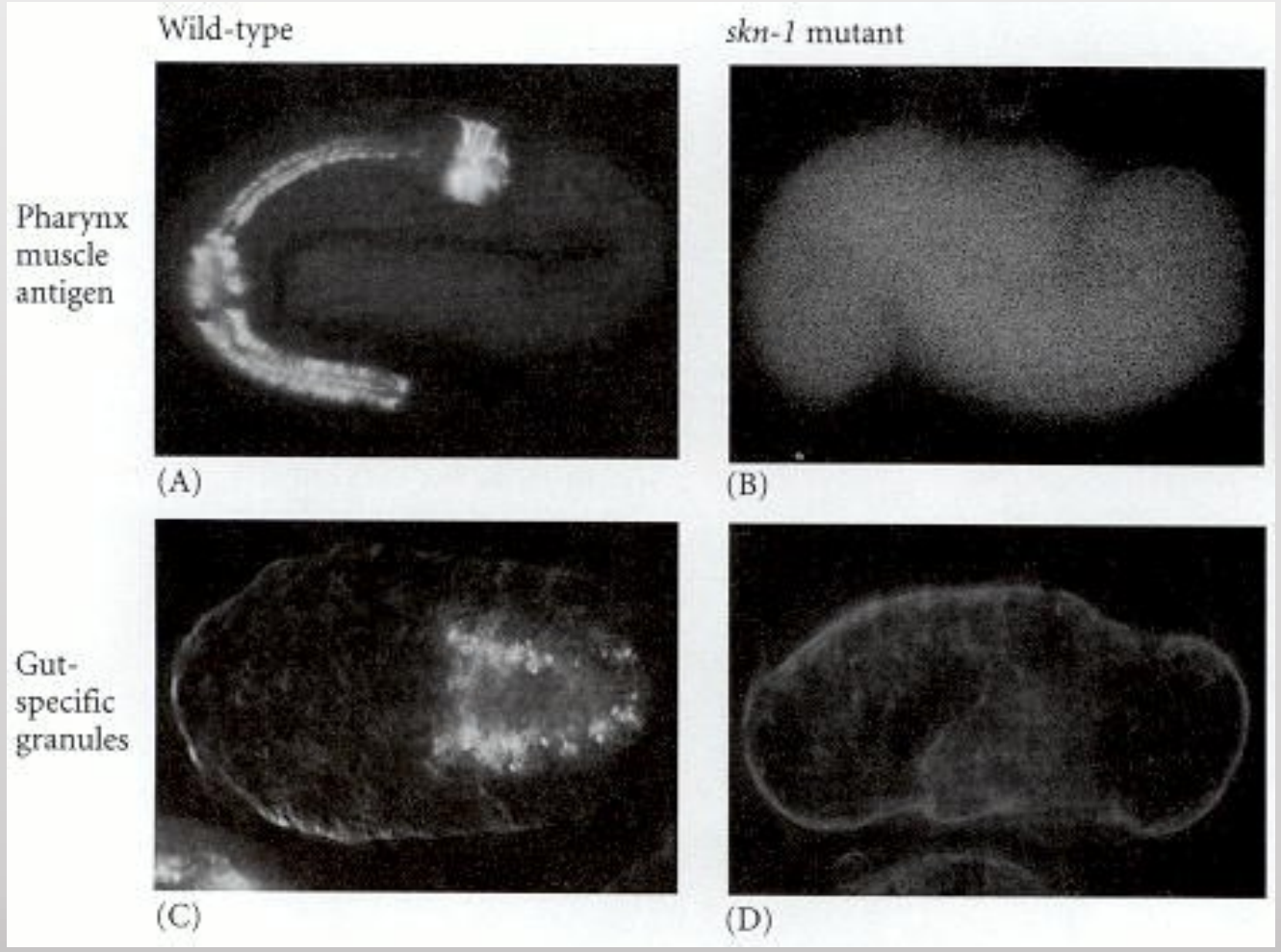
- P1, EMS και MS σε πειράματα απομόνωσης - μύες του φάρυγγα .
- **SKN-1, PAL-1 και PIE-1**: καθορίζουν την τύχη των ιδρυτικών κυττάρων MS, E, C και D (μεταγραφικοί παράγοντες) που προκύπτουν από το P1.
- **Κοκκία P**: κατανέμονται πάντα στο βλαστικό κύτταρο καθορίζουν τη γαμετική σειρά

Έμβρυα από ωάρια απο τα οποία απουσιάζει η skn-1 χαρακτηρίζονται από την απουσία εντέρου και φαρυγγικών μυών



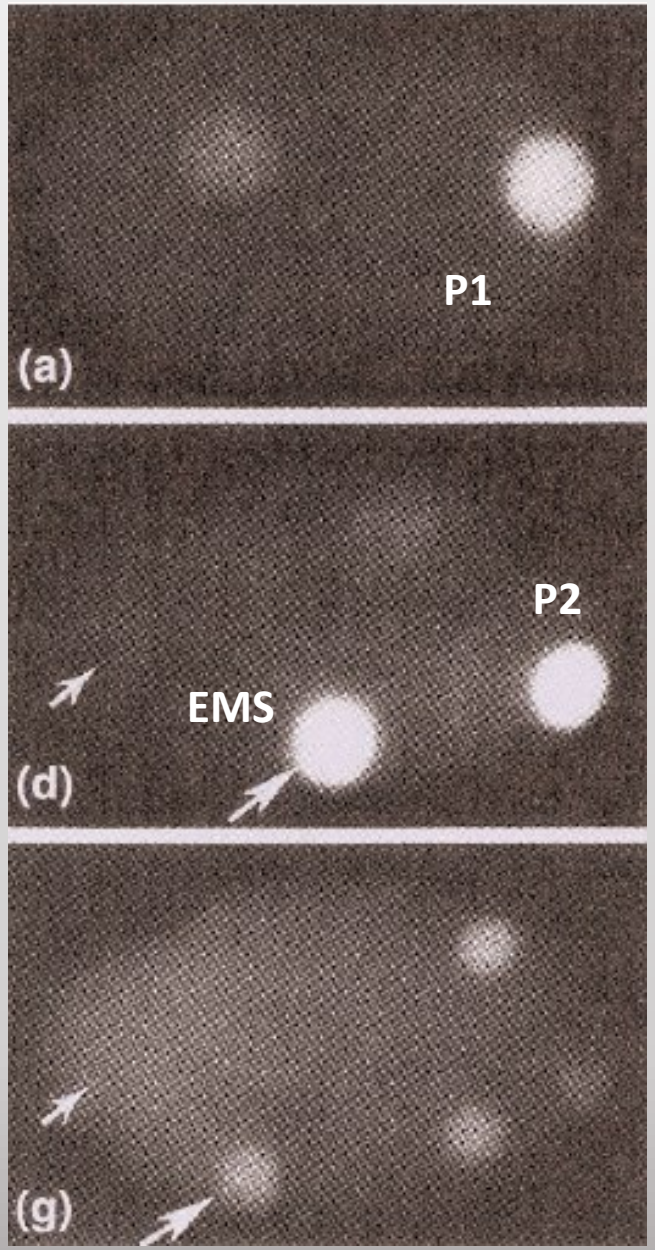
- Μητρικό mRNA, ασύμμετρη μετάφραση
- Ελέγχει την τύχη του βλαστομεριδίου EMS
- Το *skn-1* κωδικοποιεί για έναν μεταγραφικό παράγοντα της bZip/homeodomain.
- Απουσία της SKN-1: - αντί για μύες του φάρυγγα έχουμε επιδερμίδα.
  - το E μετατρέπεται σε C (προβλήματα και στο έντερο) .

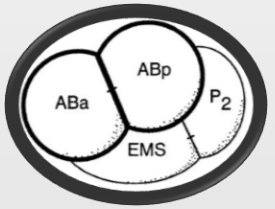
Έμβρυα από ωάρια από τα οποία απουσιάζει το προϊόν *skn-1* χαρακτηρίζονται από την απουσία εντέρου και φαρυγγικών μυών



Lose it

Έμβρυα από ωάρια από τα οποία απουσιάζει το προϊόν *skn-1* χαρακτηρίζονται από την απουσία εντέρου και φαρυγγικών μυών





- Η SKN-1 εκφράζεται στο P1, στο P2 και το EMS και σε χαμηλά επίπεδα στα E, MS,P3 και C.

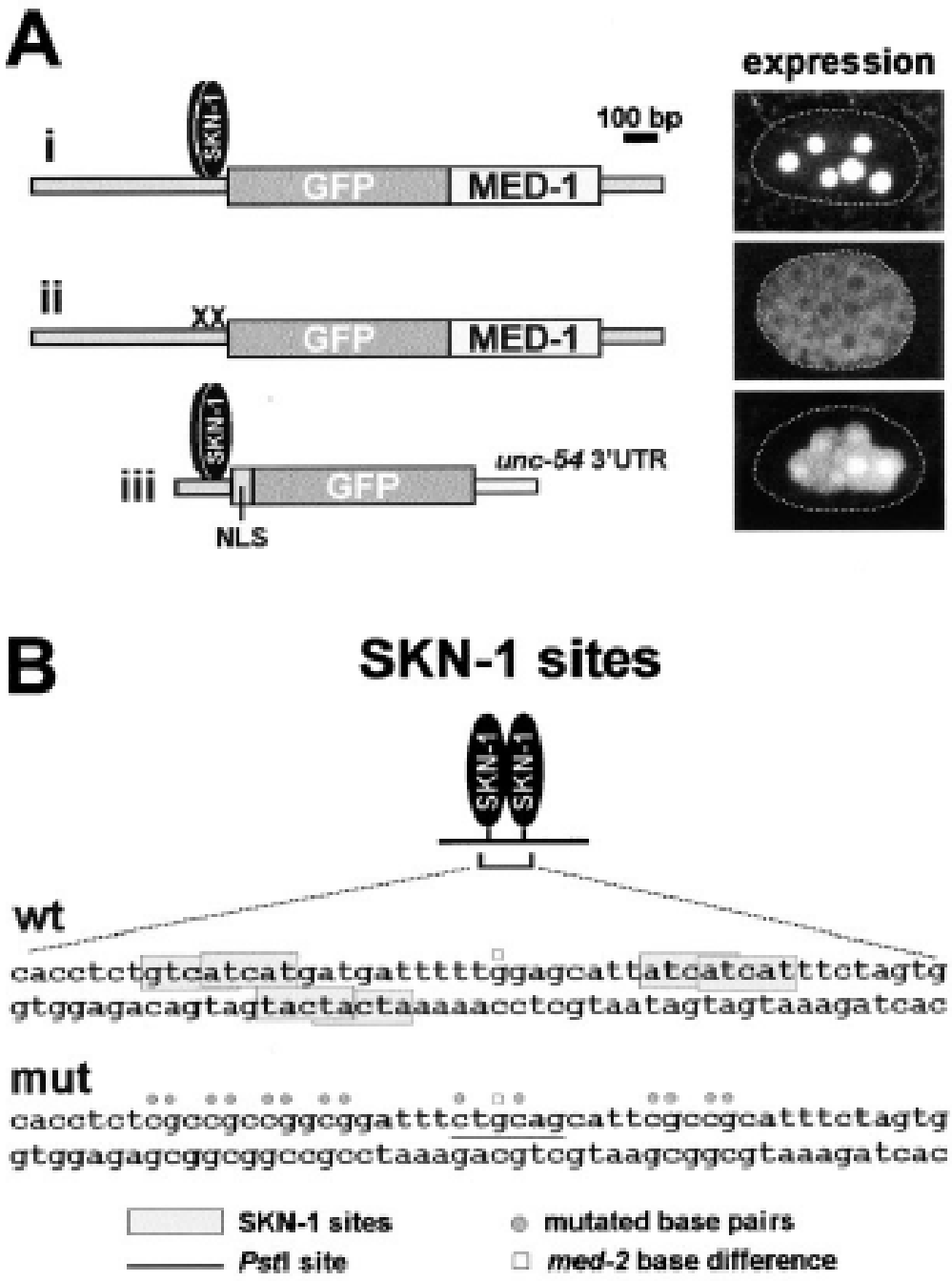
Find it

- Η έκφραση της SKN-1 εκτοπικά στο AB μεταβάλλει το πεπρωμένο του- υιοθετεί το πεπρωμένο του MS.

Move it

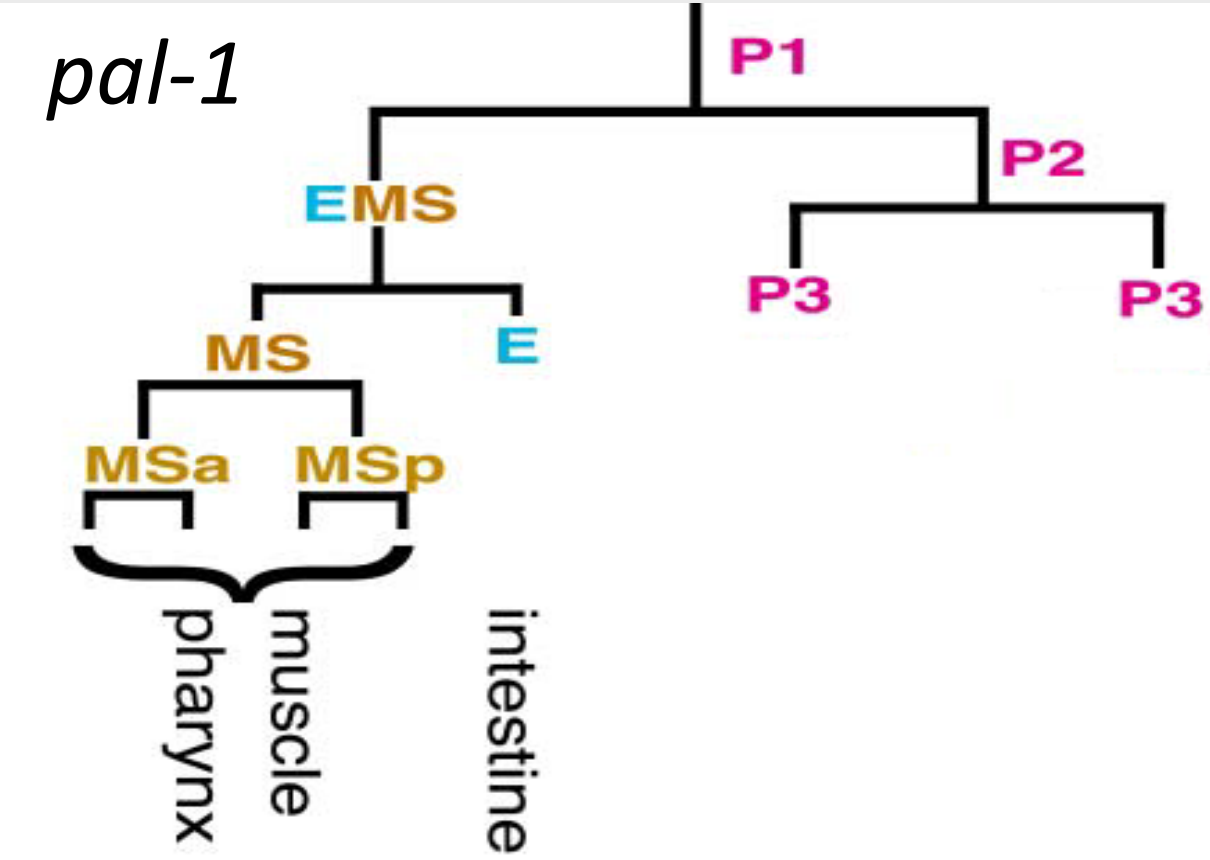
- Η SKN-1 εμπλέκεται στον καθορισμό του πεπρωμένου της γενεαλογίας του P1 (EMS).

Η SKN-1 ενεργοποιεί τη μεταγραφή των *med-1* και *med-2*

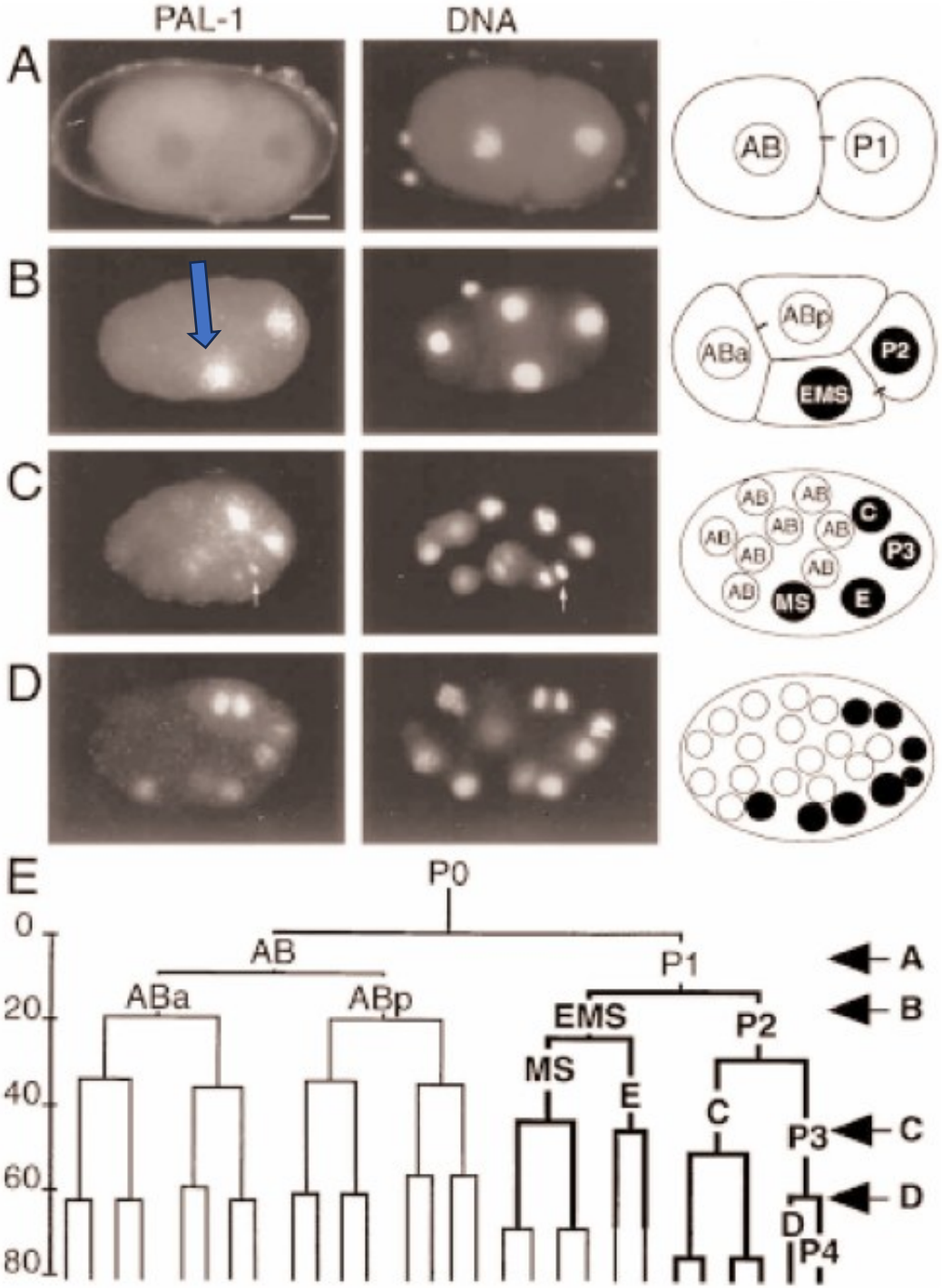


- MED-1 και MED-2 : GATA ζυγωτικοί μεταγραφικοί παράγοντες
- Η SKN-1 αναγνωρίζει ρυθμιστικά στοιχεία στον υποκινητή των MED-1 και MED-2.
- Έκτοπη έκφραση των med μετατρέπει μη EMS κύτταρα σε EMS απουσία της SKN-1.
- Απουσία τους – ίδιος φαινότυπος με απουσία SKN-1.

Στα έμβρυα από ωάρια από τα οποία απουσιάζει το προϊόν του *pal-1* παρατηρείται απουσία των σωματικών απογόνων του P2



- Μητρικό mRNA
- Καθορίζει την ανάπτυξη των σωματικών απογόνων του P2.
- Μεταγραφικός παράγοντας - περιέχει homeodomain.
- Ομόλογη της Caudal, μητρικό μήνυμα μετάφραση τοπική.

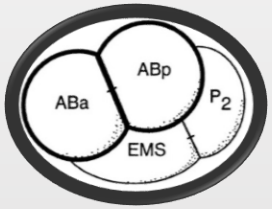


- Η PAL-1 εκφράζεται στο P2, το EMS, P3, στο C και D.

Όμως….

- Η SKN-1 αναστέλλει την PAL-1

Μετάφραση μητρικών mRNA (*pal-1*)



Μια σειρά από RNA-binding πρωτεΐνες ελέγχουν τη μετάφραση των μητρικών μυνημάτων.

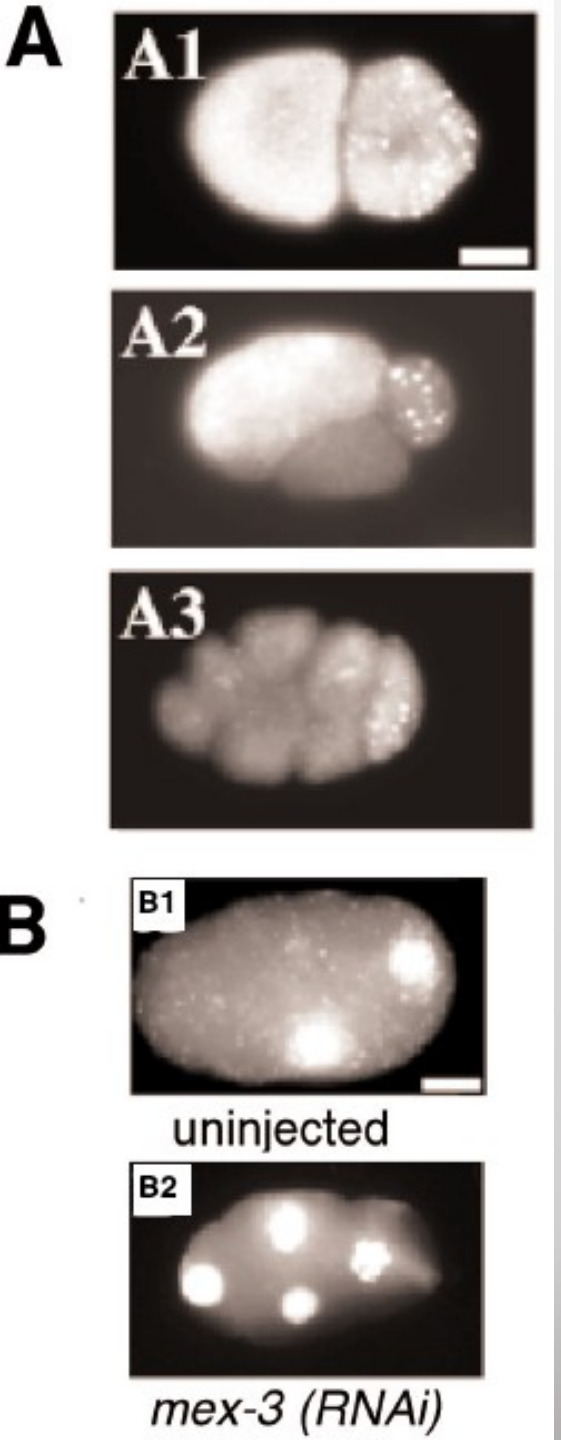
A: έκφραση της MEX-3

B: έκφραση της PAL-1 παρουσία ή απουσία της MEX-3

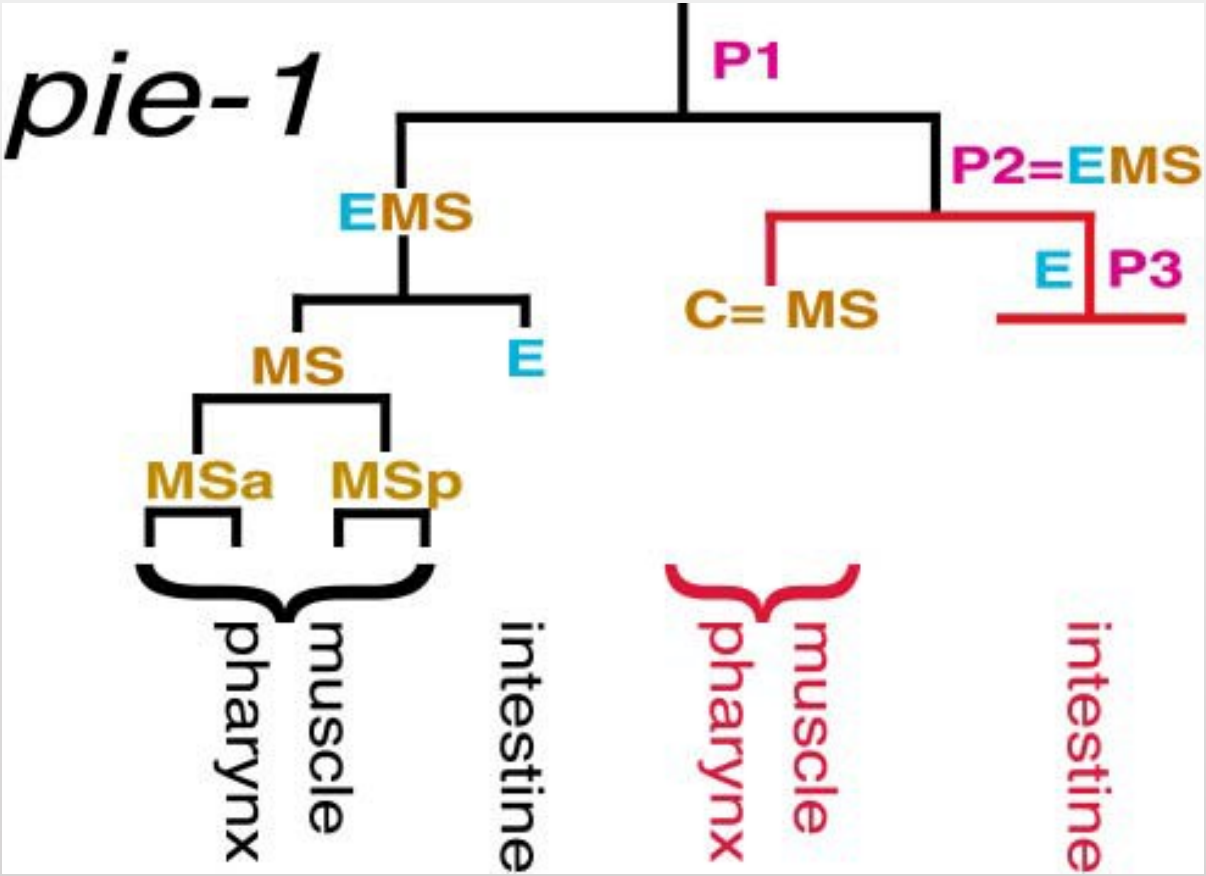
Πώς επηρεάζεται η PAL-1 όταν απουσιάζει η MEX-3?

Πώς ελέγχει η MEX-3 την έκφραση της PAL-1?

Η μετάφραση του *pal-1* ρυθμίζεται από τη MEX-3 (RNA binding protein) – όπου υπάρχει η MEX-3 απουσιάζει η PAL-1.

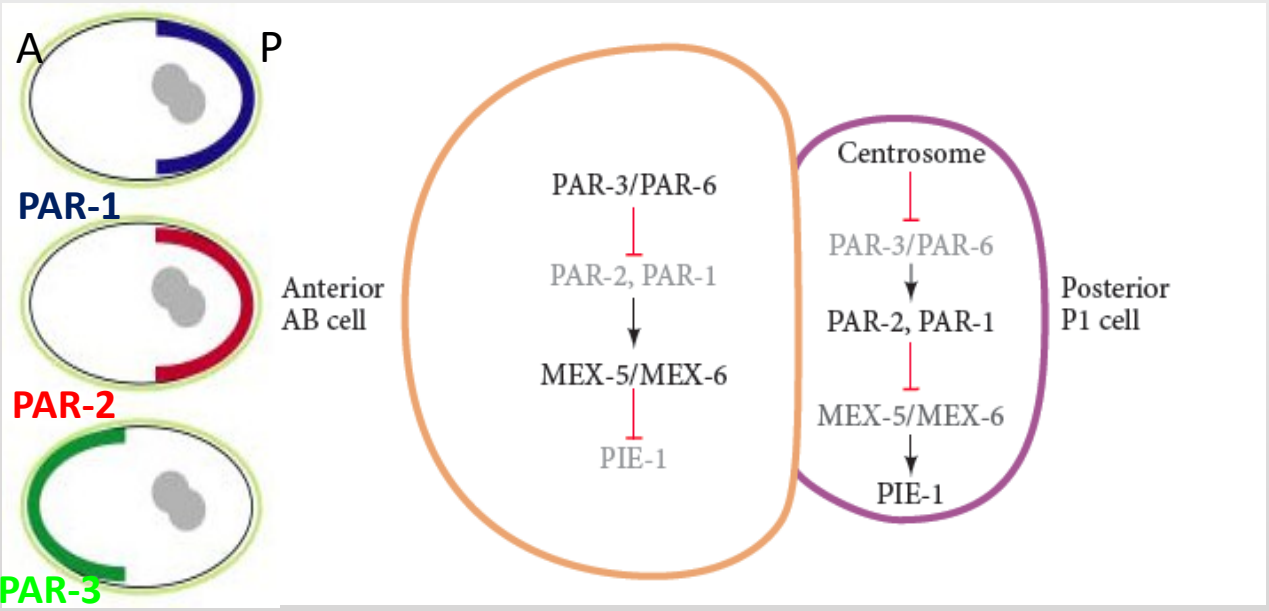


Η PIE-1 απαιτείται για την τύχη της γαμετικής σειράς



- Μητρικό mRNA
- Καθορίζει την τύχη των κυττάρων της γαμετικής σειράς
- Μεταγραφικός παράγοντας - zinc finger
- Απουσία του το P2 συμπεριφέρεται σαν EMS
- Καταστέλλει *skn-1 και pal-1* στα κύτταρα της γαμετικής σειράς

Έκφραση της PIE-1 κατά την αυλάκωση

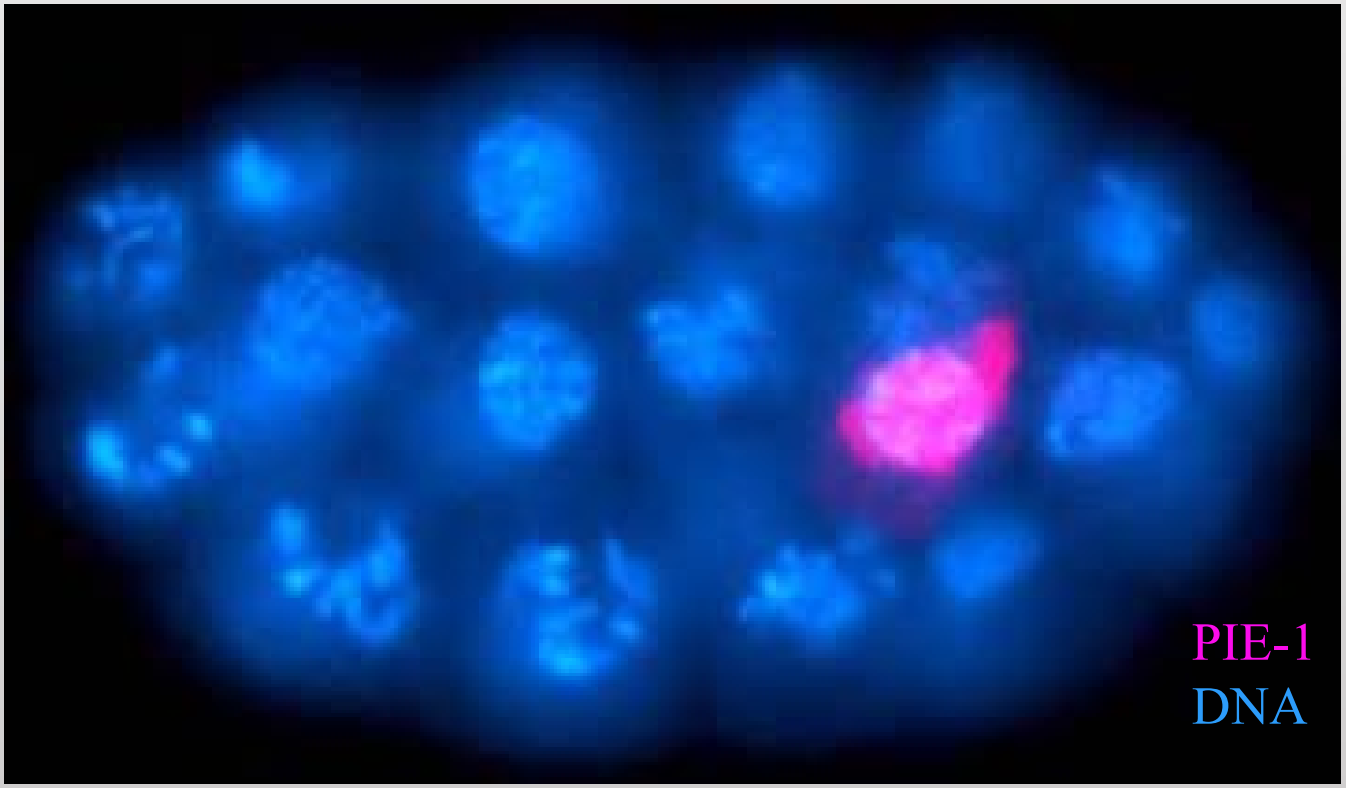


Segregation of PIE-1 determinant into the P1 blastomere at the 2-cell stage. The sperm centrosome inhibits the presence of the PAR-3/PAR-6 complex in the posterior of the egg. This allows the function of PAR-2 and PAR-1, which inhibit the MEX-5 and MEX-6 proteins that would degrade PIE-1. So while PIE-1 is degraded in the resulting anterior AB cell, it is preserved in the posterior P1 cell. (After Gönczy and Rose 2005.) Gilbert+Barresi 11th ed



PIE-1:GFP

Η έκφραση της PIE-1 στα κύτταρα της γαμετικής σειράς συνεχίζεται και μετά την αυλάκωση



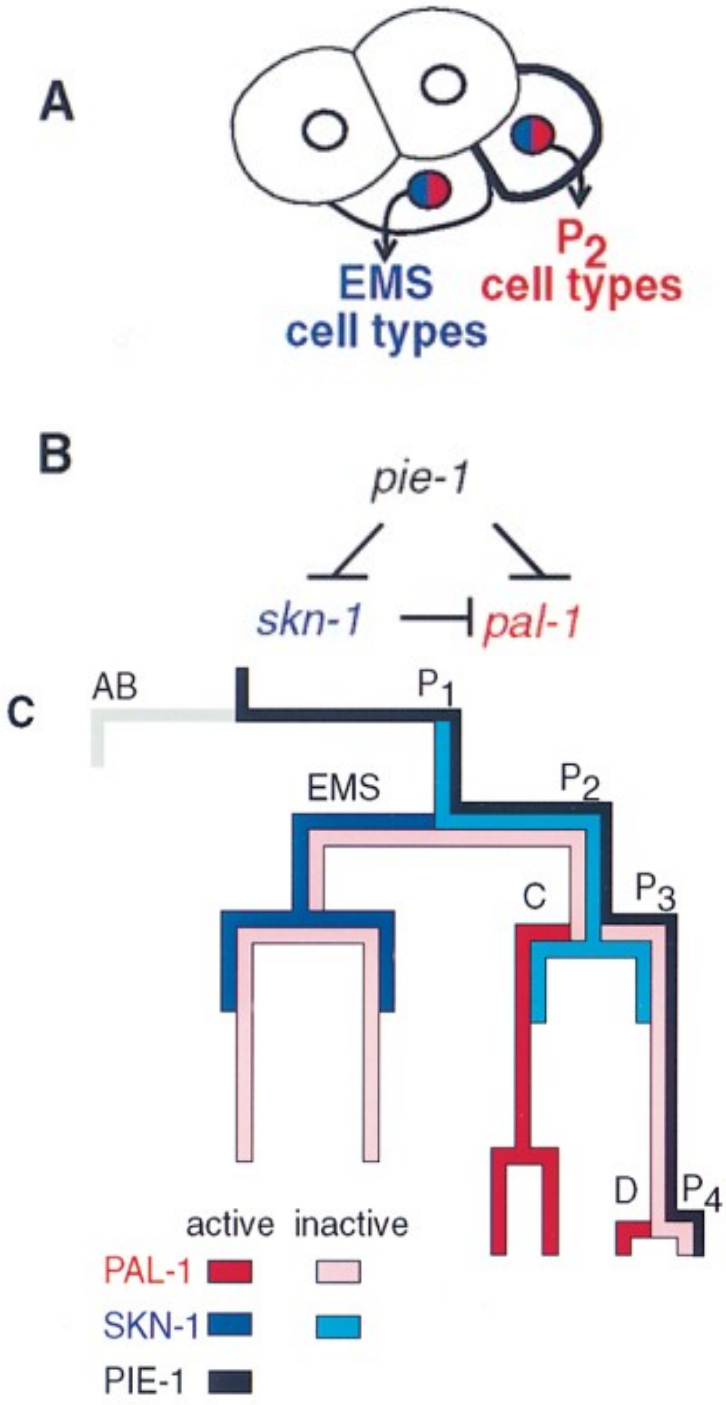
Αυτόνομη εξειδίκευση και η κυτταρική γενεαλογία του P1

Σύνοψη

SKN-1: Ελέγχει την τύχη του EMS.

PAL-1: Καθορίζει την ανάπτυξη των σωματικών απογόνων του P2 (C και D κλπ).

PIE-1: Απαιτείται για την τύχη των κυττάρων της γαμετικής σειράς.

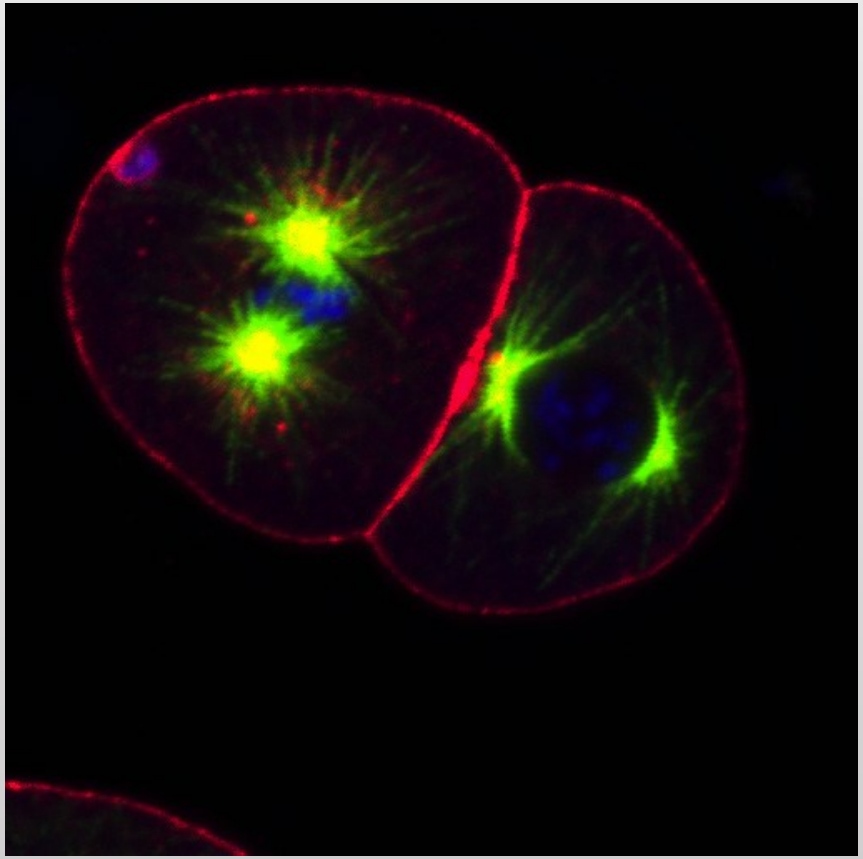


Hunter and Kenyon, Cell, Vol. 87, 217–226, October 18, 1996

Figure 8. Model for Regulatory Interactions between the *pal-1*, *skn-1*, and *pie-1* Proteins

(A) In 4 cell embryos, both SKN-1 (blue) and PAL-1 (red) are preferentially localized to the posterior blastomeres EMS and P_2, yet SKN-1 functions in EMS to promote the production of EMS fates, and PAL-1 functions in P_2 to promote the production of P_2 somatic fates. PIE-1 (black outline of P_2 blastomere) is localized to P_2 (Mello et al., 1996) and functions to promote the production of P_2 somatic and germline fates (Mello et al., 1992). In this model, regulatory interactions between *pie-1*, *skn-1*, and *pal-1* (B), in conjunction with the protein distributions diagrammed in (C), allow *skn-1* to function in the EMS descendants and *pal-1* to function in the somatic P_2 descendants (see text). In principle, the regulatory interactions could be at the level of the proteins or their targets.

Αυτόνομη αλλά και κατά συνθήκη εξειδίκευση ελέγχουν την ταυτότητα των βλαστομεριδίων του *C. elegans*



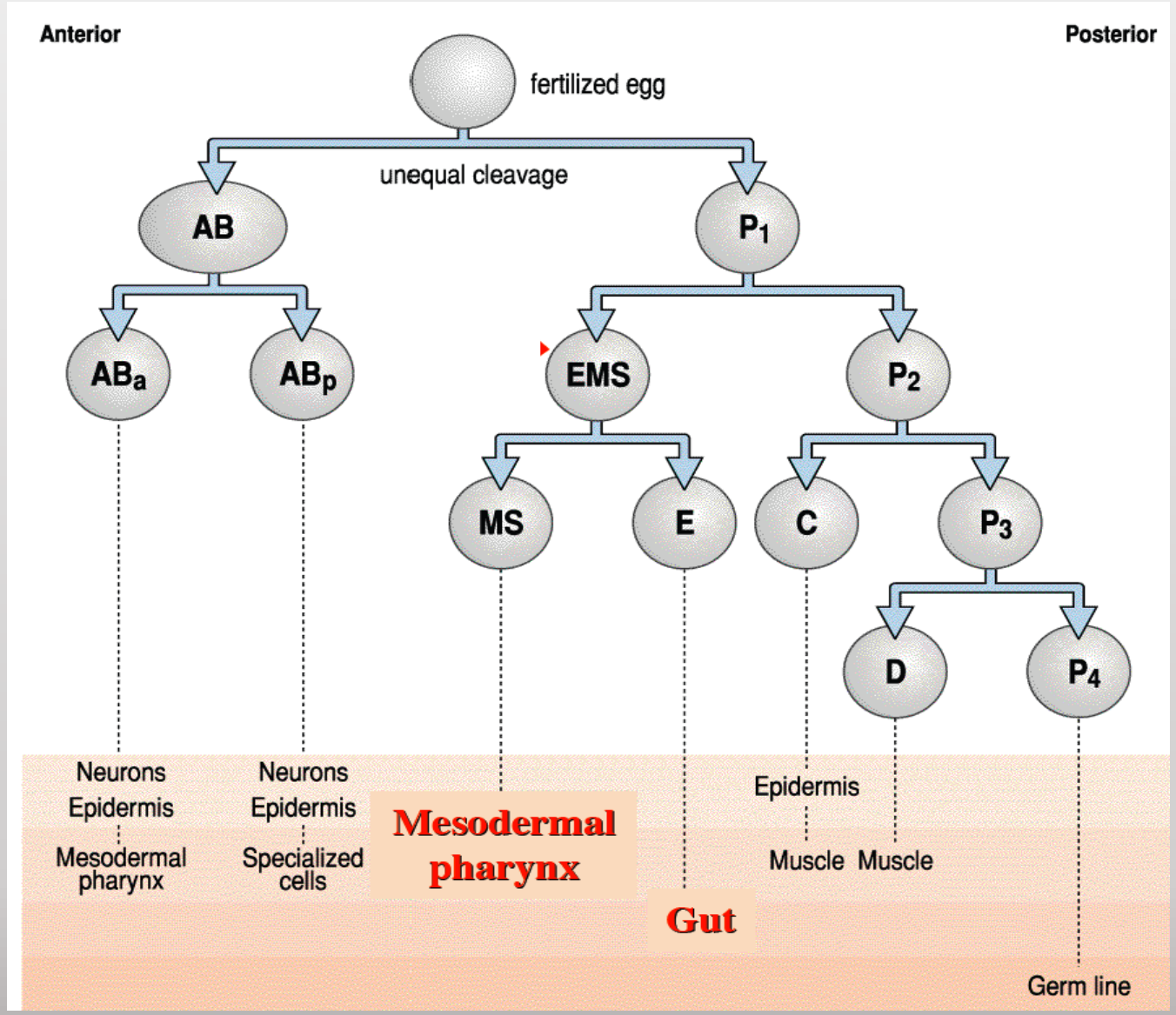
Διαχωρισμός ή καταστροφή των βλαστομεριδίων στο στάδιο των δύο κυττάρων:

- οι απόγονοι του **P1** σχηματίζουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που θα έδιναν φυσιολογικά.
- οι απόγονοι του **AB** σχηματίζουν μόνο μερικούς από τους κυτταρικούς τύπους που θα έδινε φυσιολογικά.

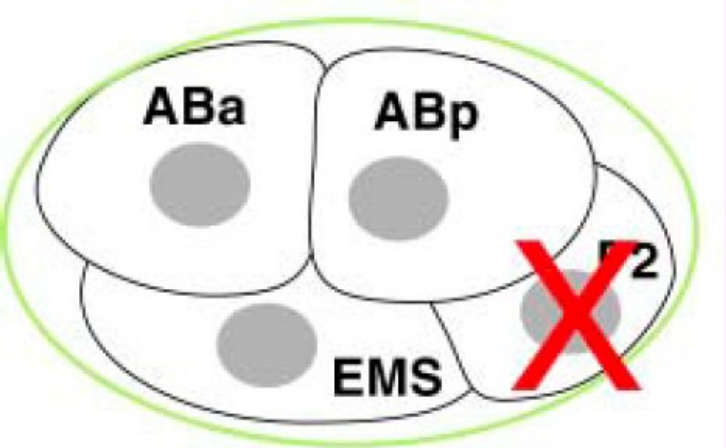
P1: αυτόνομη εξειδίκευση

AB: κατά συνθήκη εξειδίκευση

Κατά συνθήκη εξειδίκευση κατά την πρώιμη ανάπτυξη του *C. elegans*

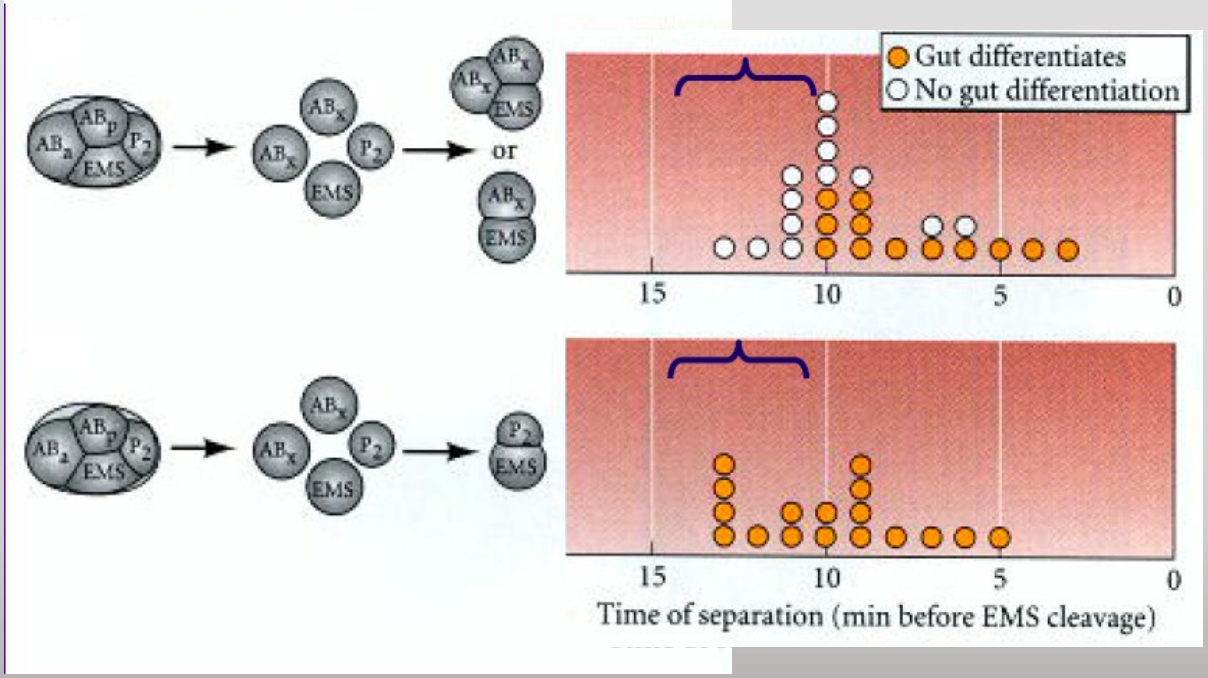


Κατά συνθήκη εξειδίκευση κατά την πρώιμη ανάπτυξη του *C. elegans*



Απουσία του P2 το EMS διαιρείται συμμετρικά δίνοντας δύο MS.

Απουσιάζει.... έντερο

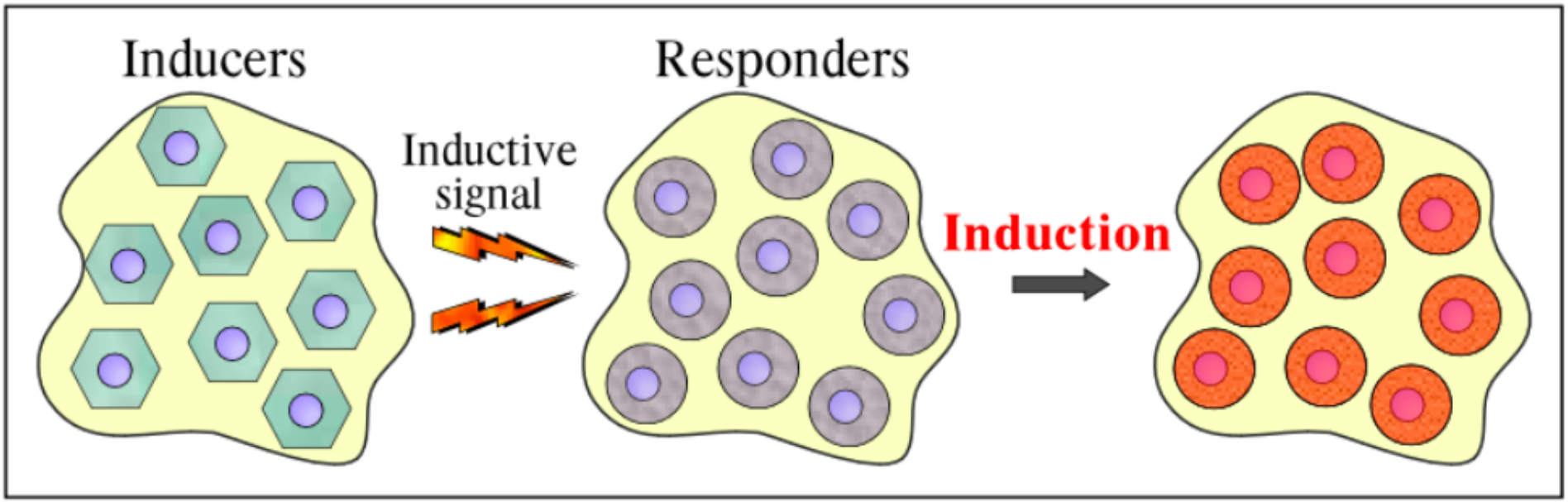


Ανασυνδυασμός EMS με ABa ή ABp ή και τα δύο

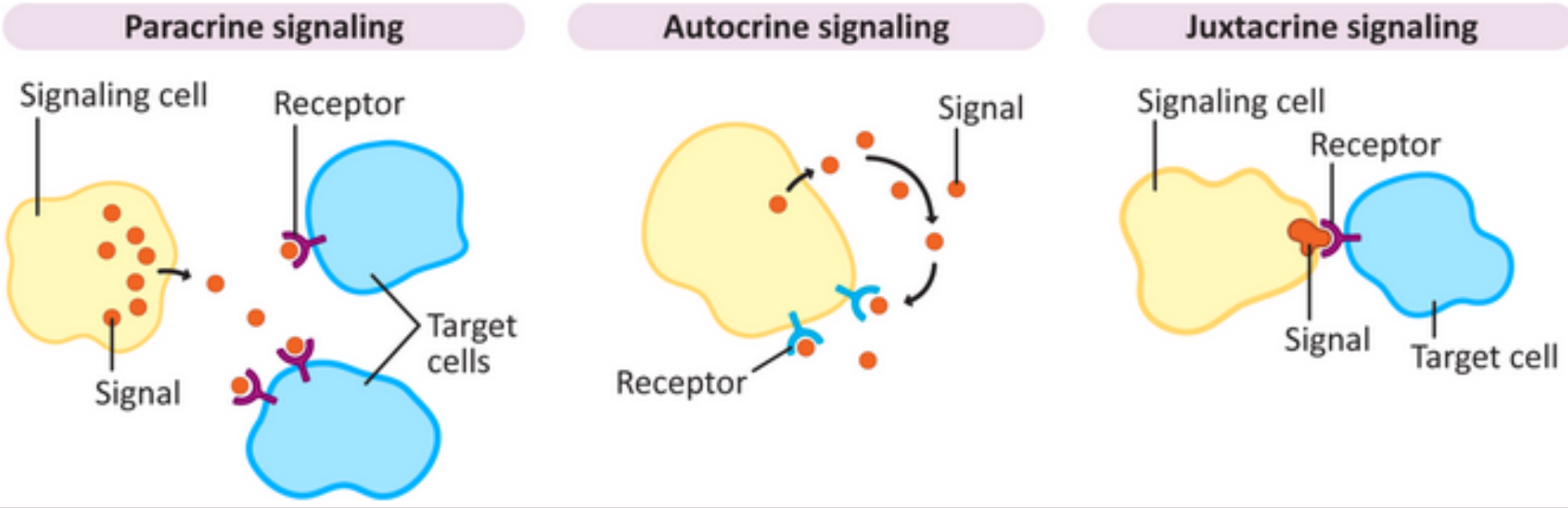
Ανασυνδυασμός EMS με P2

Επαγωγή

Επαγωγή (induction) ονομάζεται το φαινόμενο κατά το οποίο μια ομάδα κυττάρων του εμβρύου που ονομάζονται επαγωγείς μεταβιβαζουν σήματα σε μια δεύτερη ομάδα που ονομάζονται αποδέκτες επηρεάζοντας με τον τρόπο αυτό τη διαφοροποίηση τους.



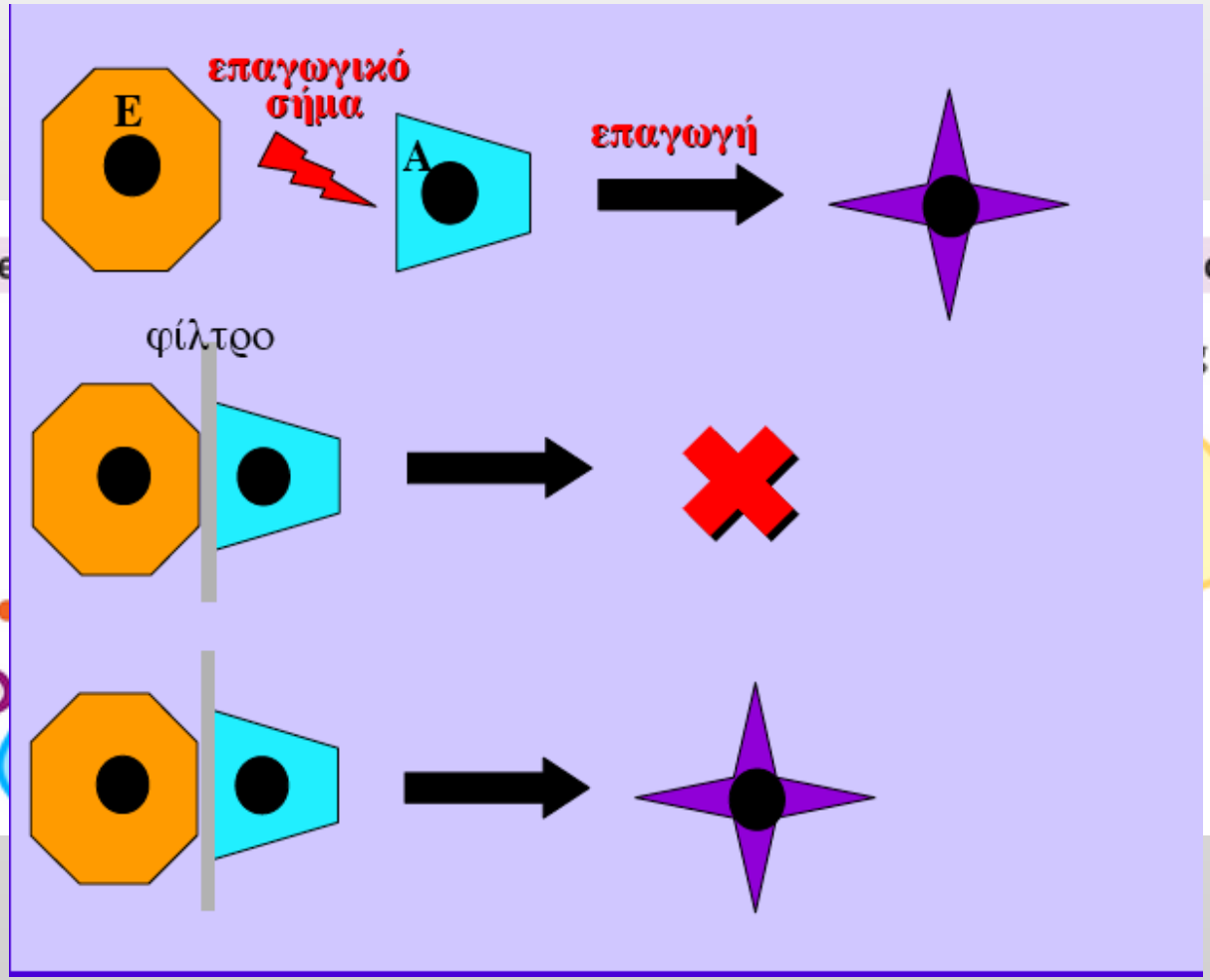
Ποια είναι η φύση των επαγωγικών σημάτων;



Fundamentals of Cell Biology, Lauren Dalton and Robin Young

Τα επαγωγικά γεγονότα που διεκπεραιώνονται από διαχυτά μόρια χαρακτηρίζονται ως παρακρινή (paracrine). Τα επαγωγικά φαινόμενα που εξαρτώνται από την κυτταρική επαφή χαρακτηρίζονται ως αντικρινή (juxtecrine). Τα εκκρινόμενα επαγωγικά σήματα ονομάζονται παρακρινείς παράγοντες ή παράγοντες αύξησης και διαφοροποίησης.

Ποια είναι η φύση των επαγωγικών σημάτων;



Paracrine

Signaling cell

Signal

crine signaling

cell

Receptor

Signal

Target cell

Τα επαγωγικά γεγονότα που διεκπεραιώνονται από διαχυτά μόρια χαρακτηρίζονται ως παρακρινή (paracrine). Τα επαγωγικά φαινόμενα που εξαρτώνται από την κυτταρική επαφή χαρακτηρίζονται ως αντικρινή (juxtecrine). Τα εκκρινόμενα επαγωγικά σήματα ονομάζονται παρακρινείς παράγοντες ή παράγοντες αύξησης και διαφοροποίησης.

Ποια είναι η φύση των επαγωγικών σημάτων;

Η επαγωγή επιτελείται από συντηρημένες οικογένειες παρακρινών παραγόντων:

- **Οικογένεια FGF (fibroblast growth factor- παράγοντας αύξησης ινοβλαστών).**
- **Οικογένεια Hedgehog.**
- **Οικογένεια TGFβ (Transforming growth factor β- παράγοντας μετασχηματισμού β).**
- **Οικογένεια Wnt (*wingless-integrated*).**

Οι παρακρινείς παράγοντες αναγνωρίζονται από υποδοχείς και ενεργοποιούν μονοπάτια μεταγωγής σήματος.

Ανάπτυξη και μονοπάτια μεταγωγής σήματος

Κατά την ανάπτυξη ενεργοποιούνται από τους παρακρινείς παράγοντες μονοπάτια μεταγωγής σήματος που συναντώνται και σε άλλες διαδικασίες όπως:

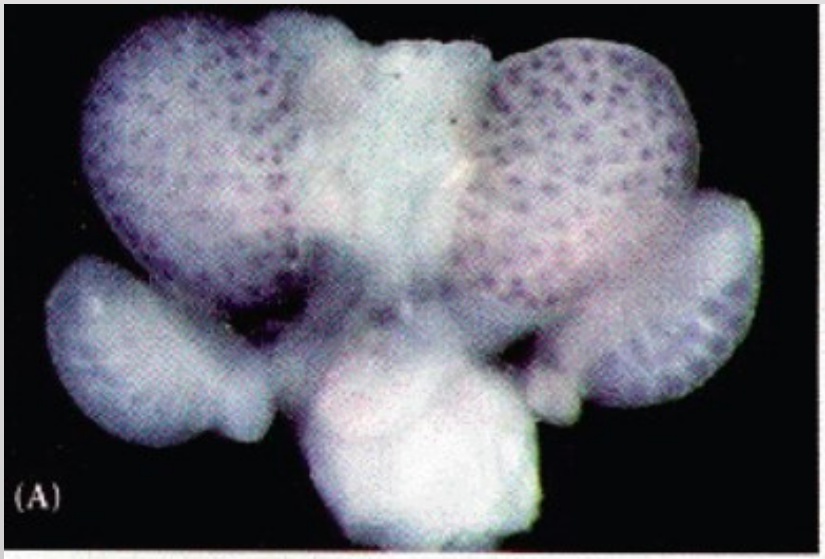
- **Μονοπάτια υποδοχέων με ενεργότητα κινάσης τυροσίνης**
- **Μονοπάτια που ενεργοποιούν τους SMAD**
- **Μονοπάτια JAK-STAT**

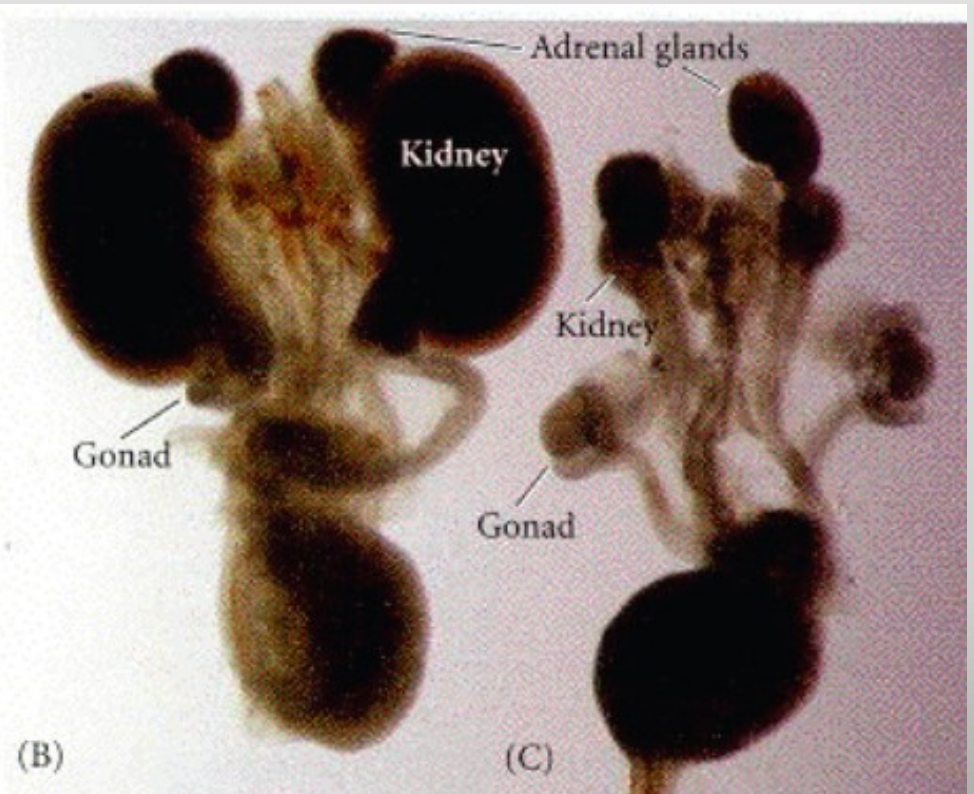
αλλά και μονοπάτια που ενέχονται κατά κύριο λόγο στην ανάπτυξη:

- **Μονοπάτι Wnt**
- **Μονοπάτι hedgehog**

Η οικογένεια παραγόντων Wnt

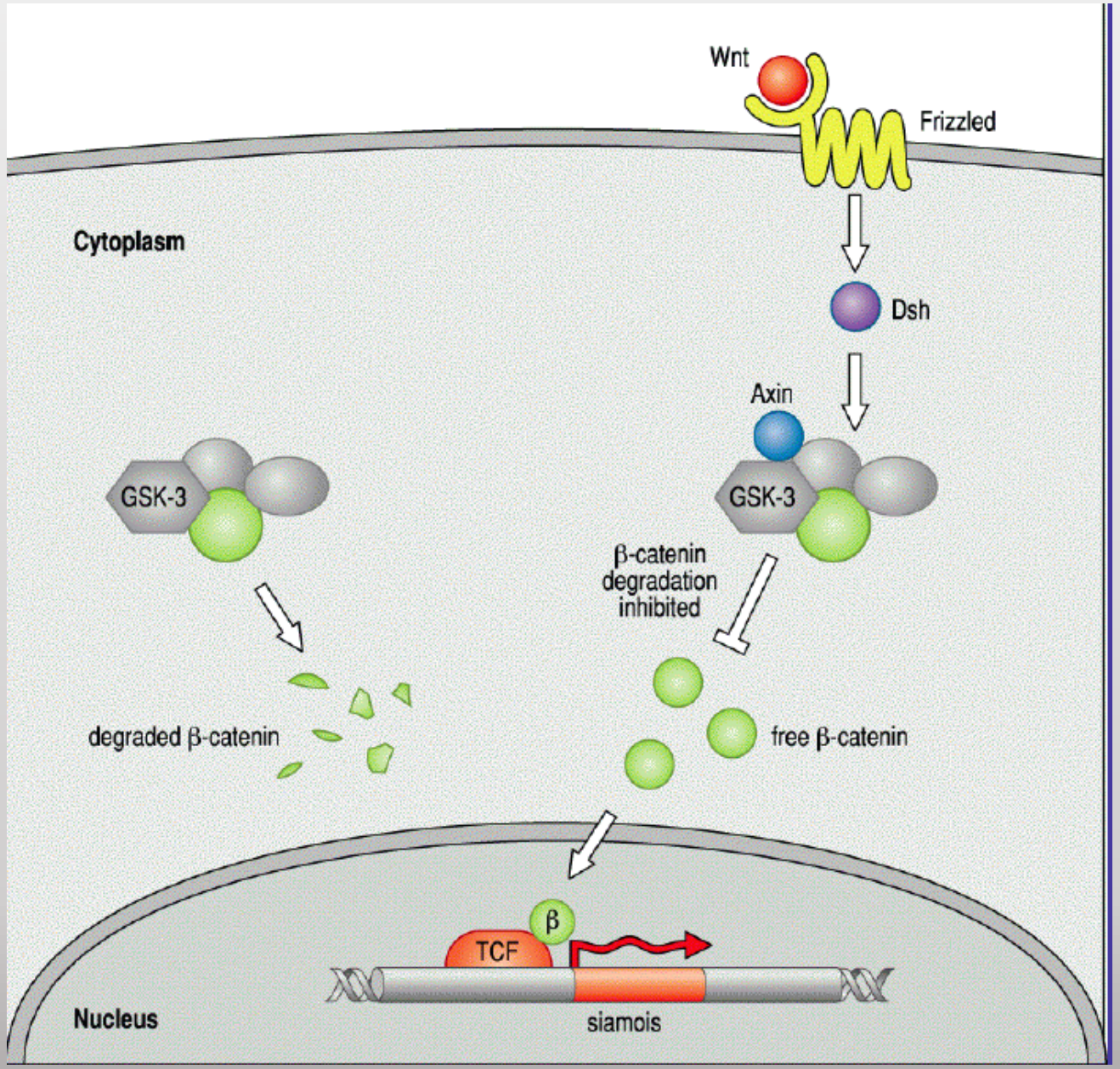
- Μεγάλη οικογένεια παραγόντων που περιλαμβάνει πάνω από 11 μέλη στα σπονδυλόζωα – πάνω από 15 στον άνθρωπο
- Παλιά οικογένεια (μέλη της απαντούν τόσο στα πρωτοστόμια όσο και τα δευτεροστόμια
- Γλυκοπρωτεΐνες με υψηλή περιεκτικότητα σε κατάλοιπα κυστεΐνης-αδιάλυτοι
- Ενέχονται σε πολλές αναπτυξιακές διαδικασίες.



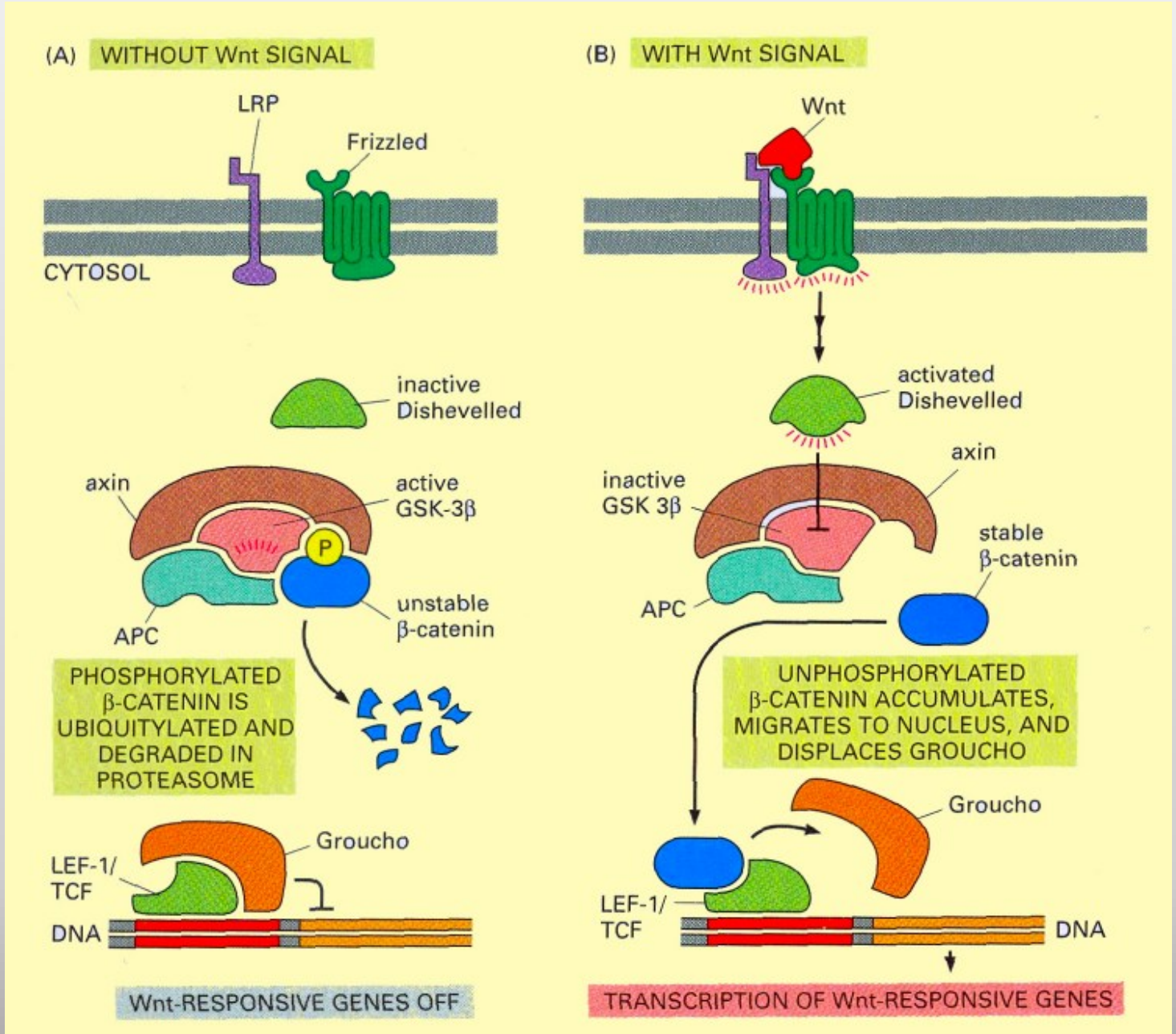


A: E14 ISH *Wnt4* urogenital organs
B: urogenital rudiment newborn wt
C: urogenital rudiment newborn *wnt4-/wnt4-*

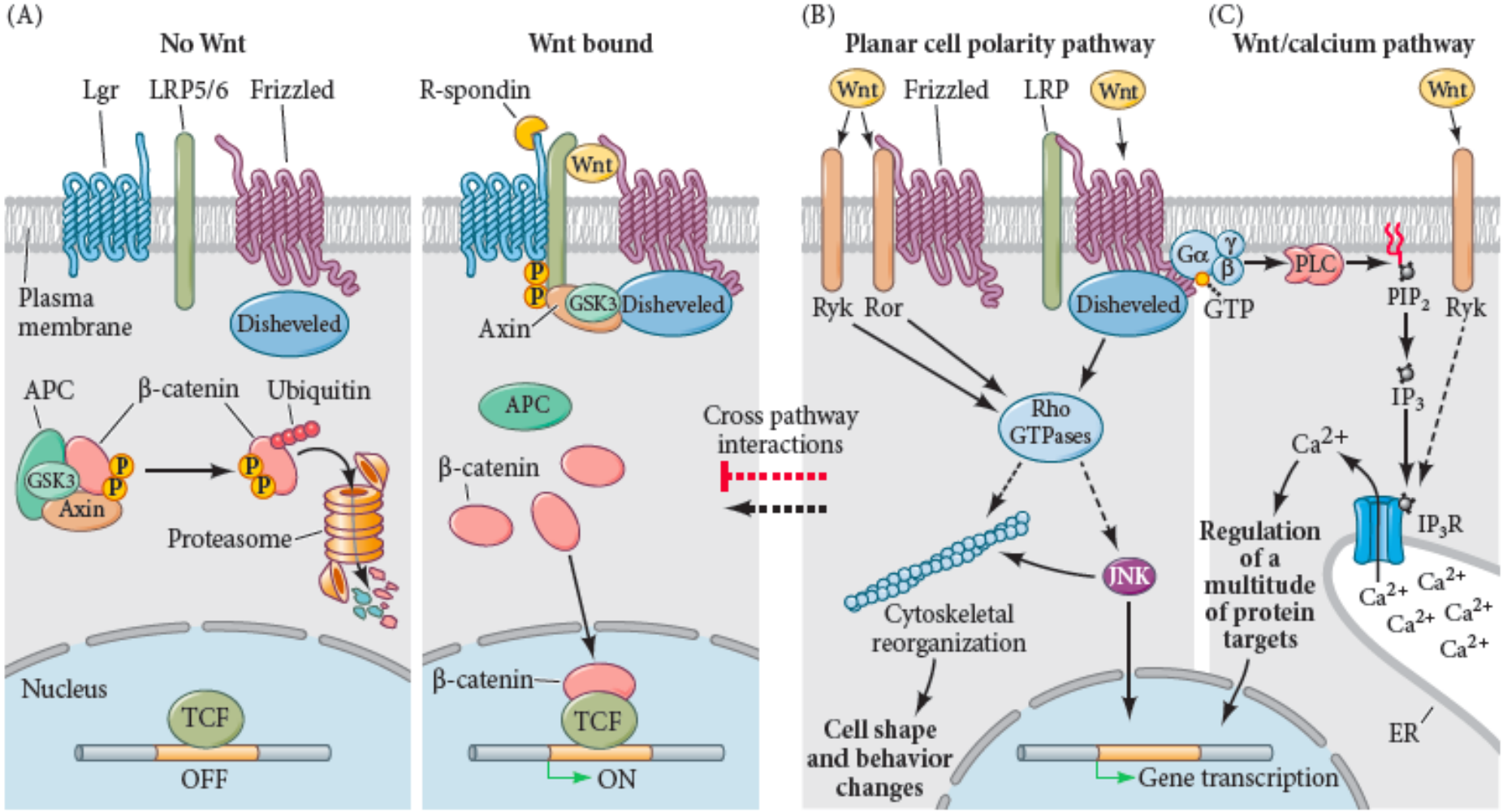
Το κανονικό μονοπάτι Wnt (παρακρινές επαγωγικό φαινόμενο)



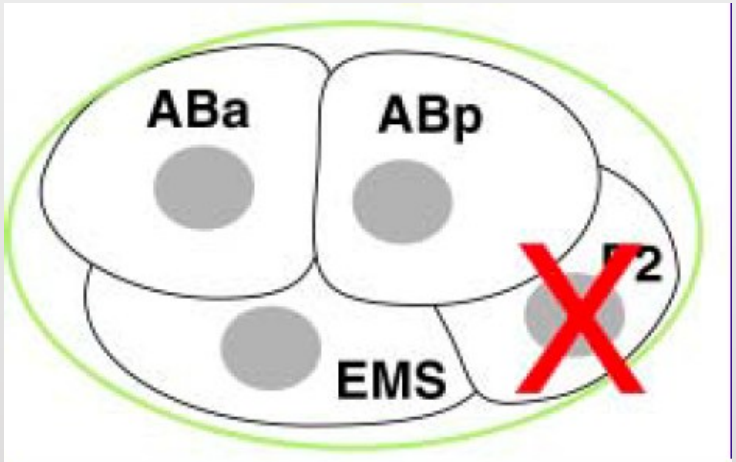
Το κανονικό μονοπάτι Wnt



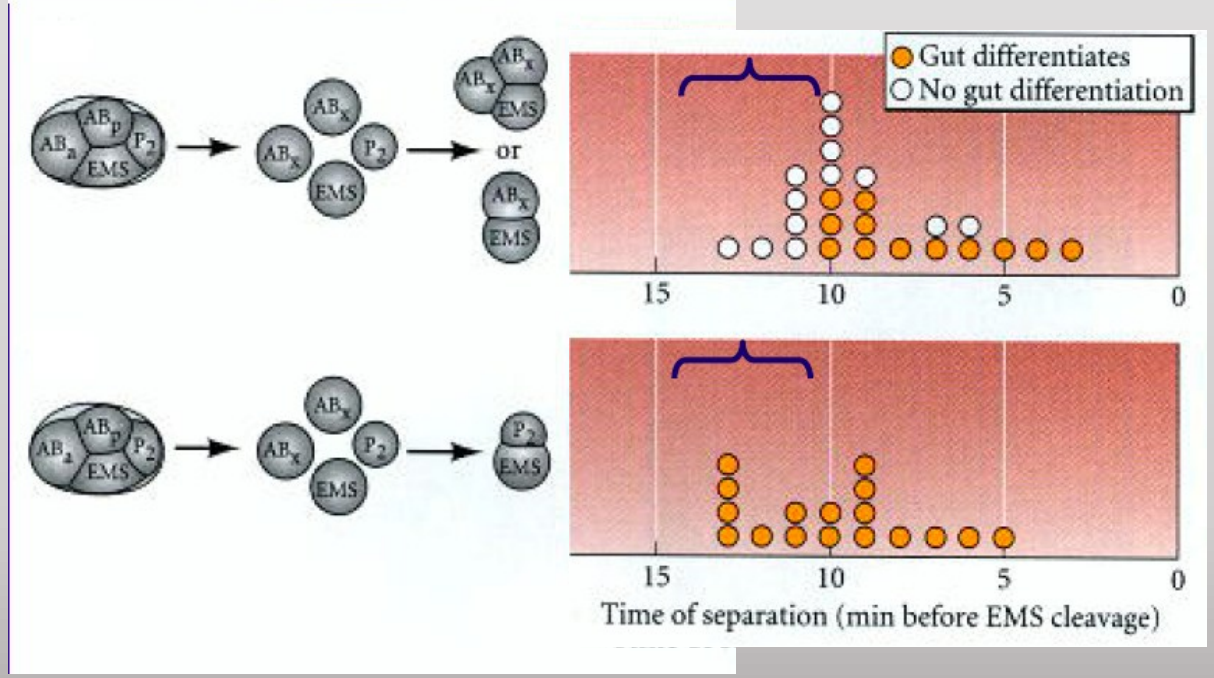
Τα μονοπάτια Wnt (κανονικό, πολικότητας, ασβεστίου)



Κατά συνθήκη εξειδίκευση κατά την πρώιμη ανάπτυξη του *C. elegans*



Απουσία του P2 το EMS διαιρείται συμμετρικά δίνοντας δύο MS



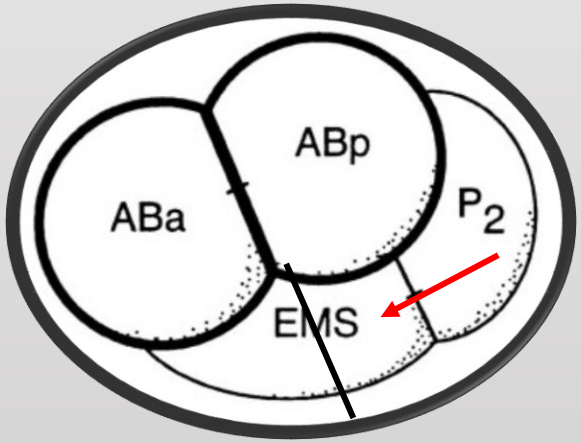
Ανασυνδυασμός EMS με ABa ή ABp ή και τα δύο

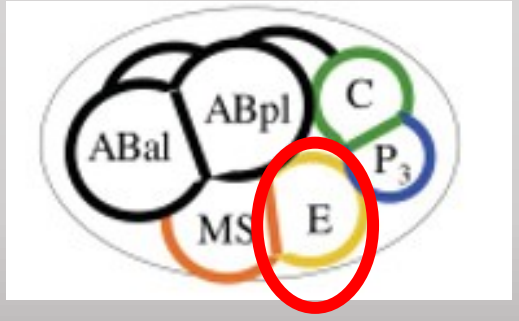
Ανασυνδυασμός EMS με P2

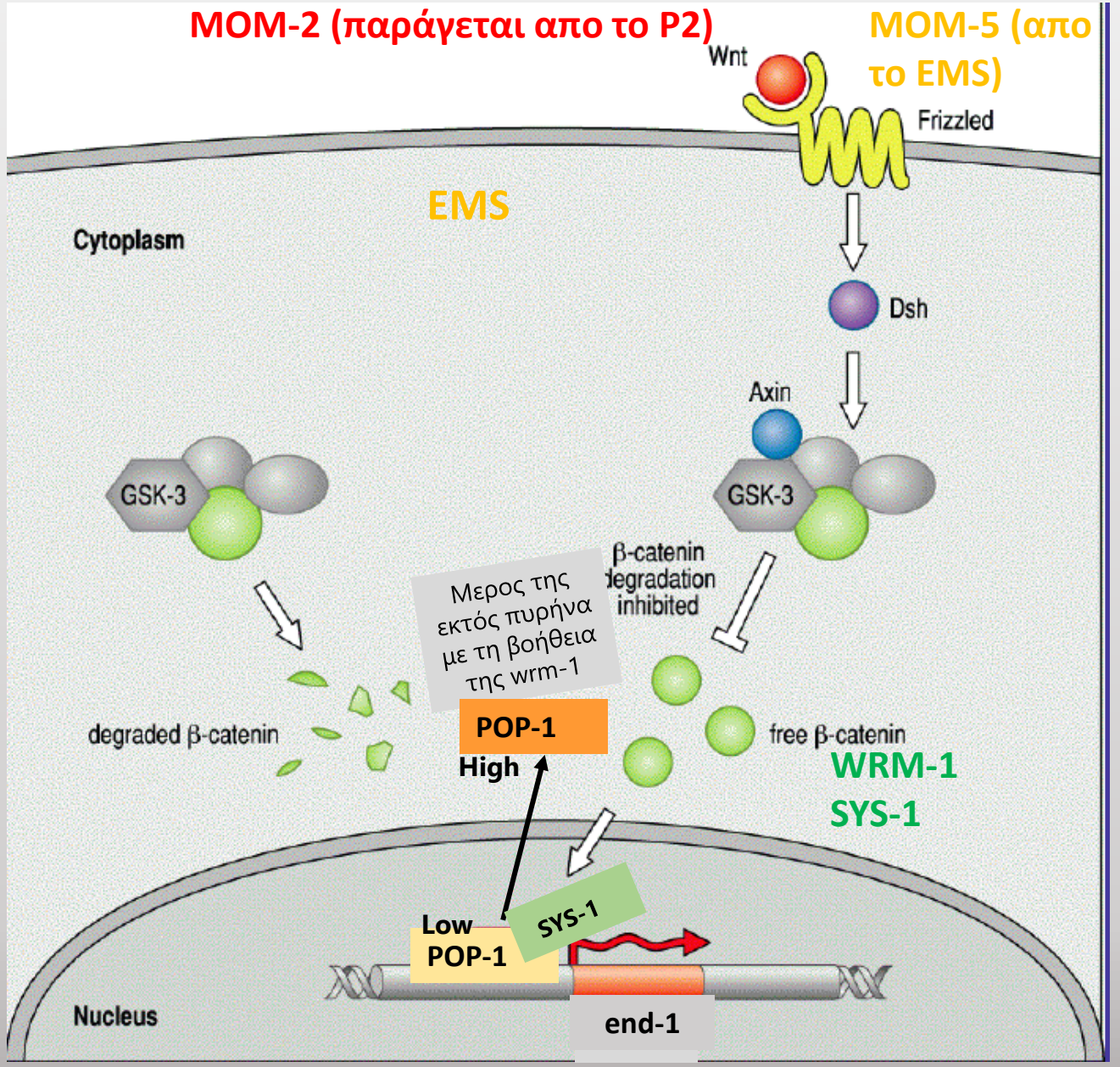
Το E σχηματίζεται από το τμήμα του EMS που είναι σε επαφή με το P2

Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*

Εξειδίκευση
βλαστομεριδίου Ε

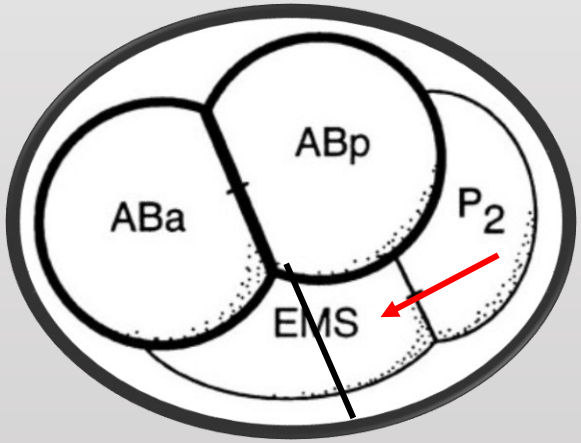


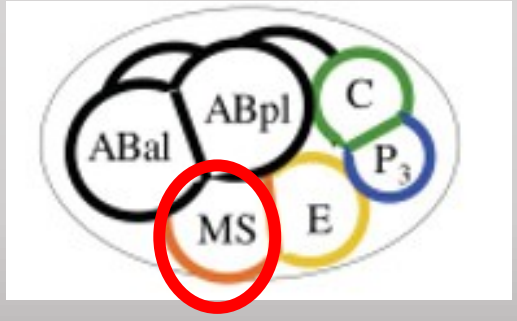


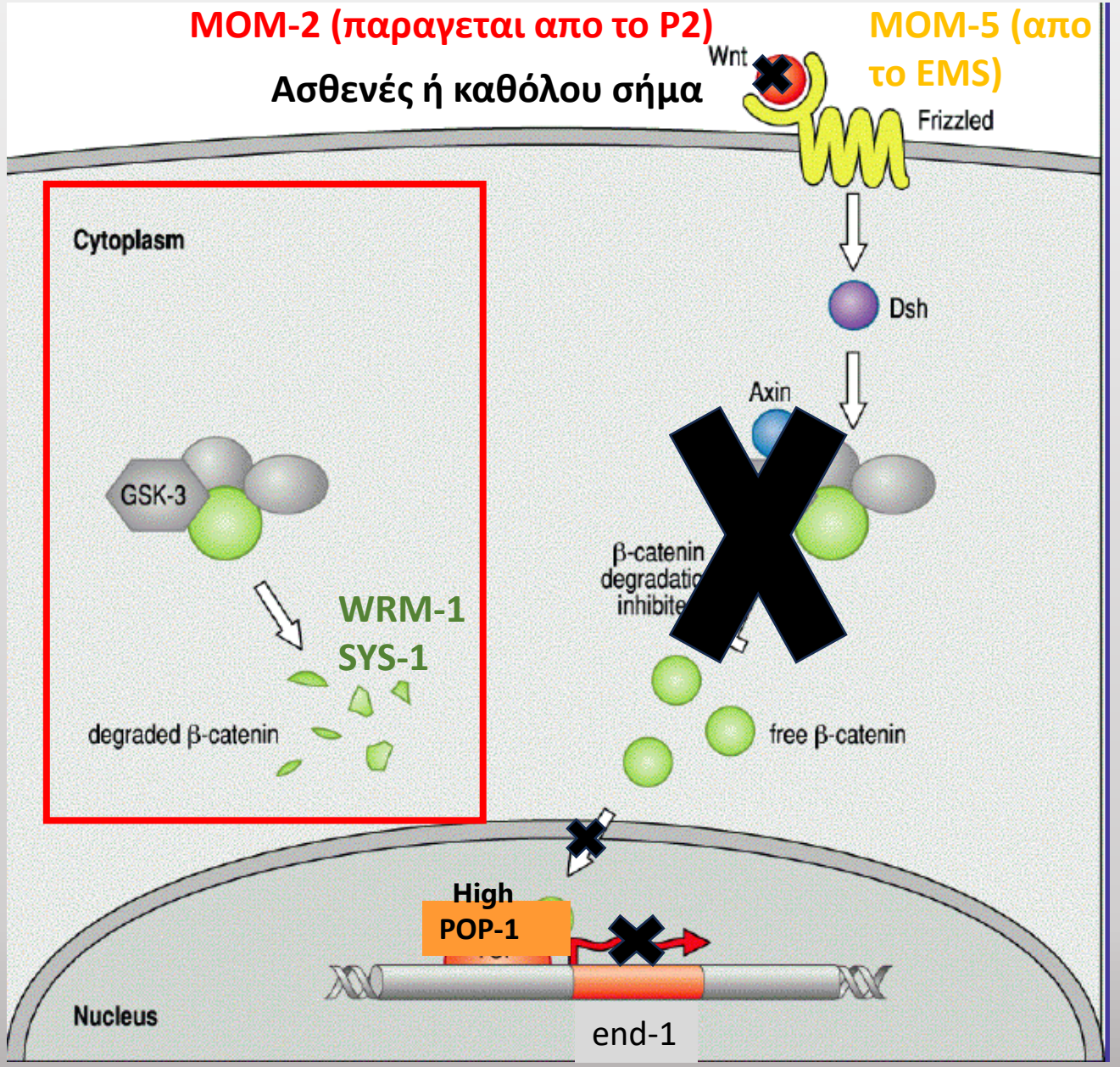


Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*

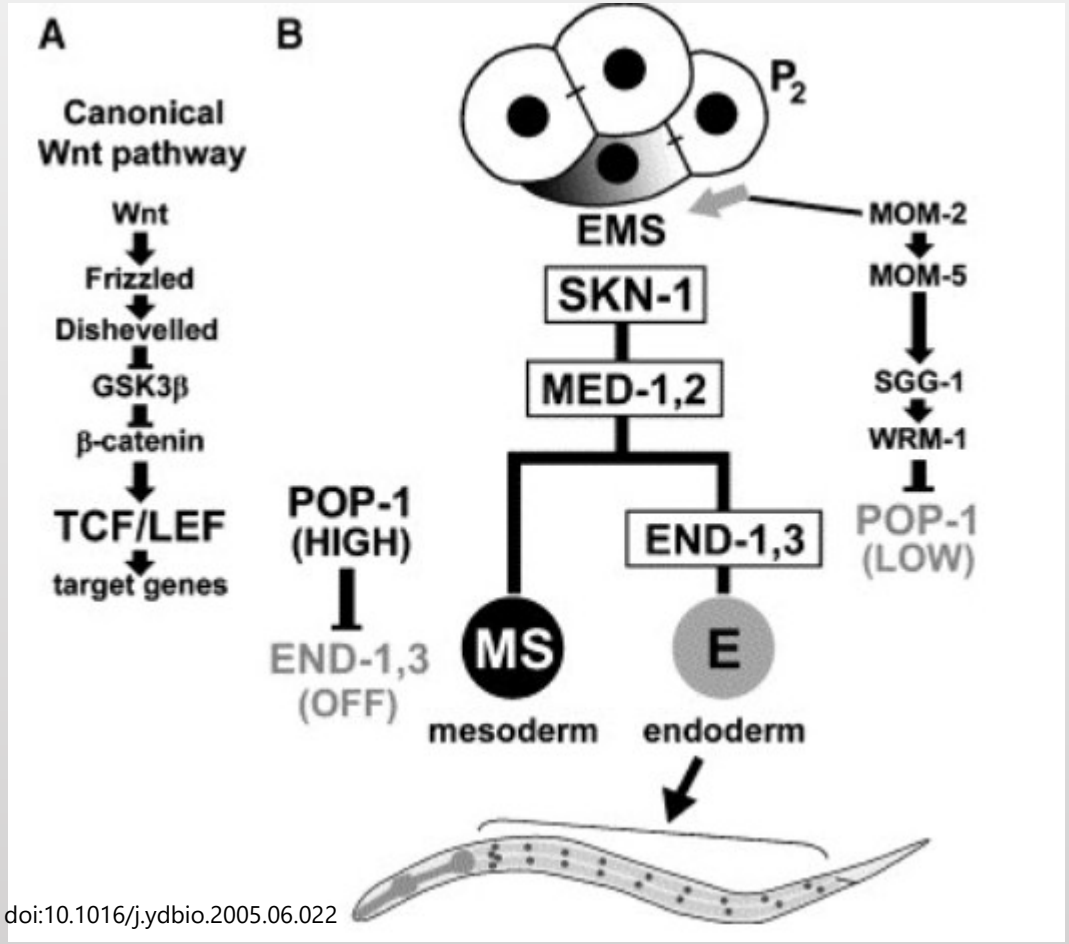
Εξειδίκευση βλαστομεριδίου MS







Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*

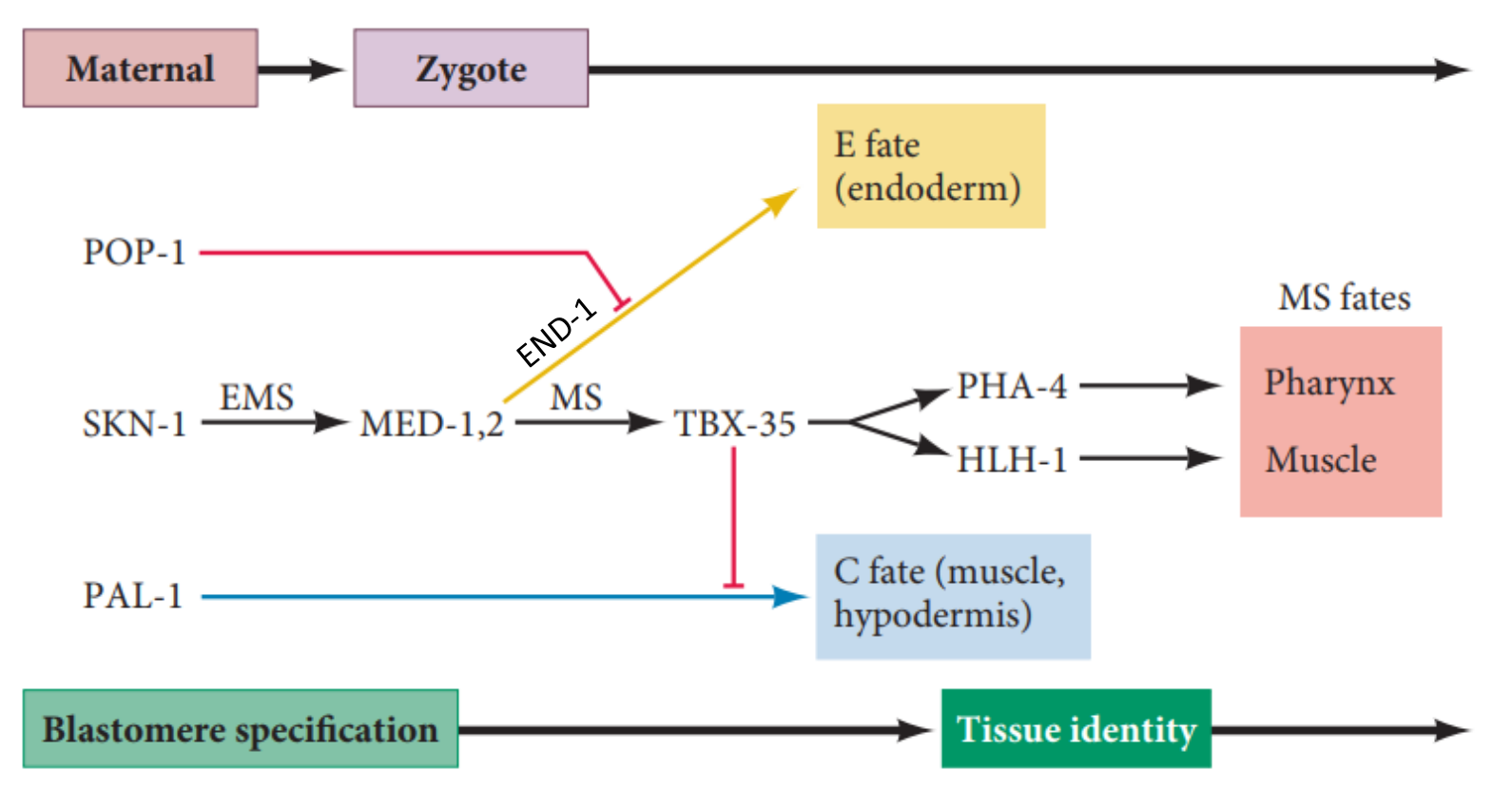


doi:10.1016/j.ydbio.2005.06.022

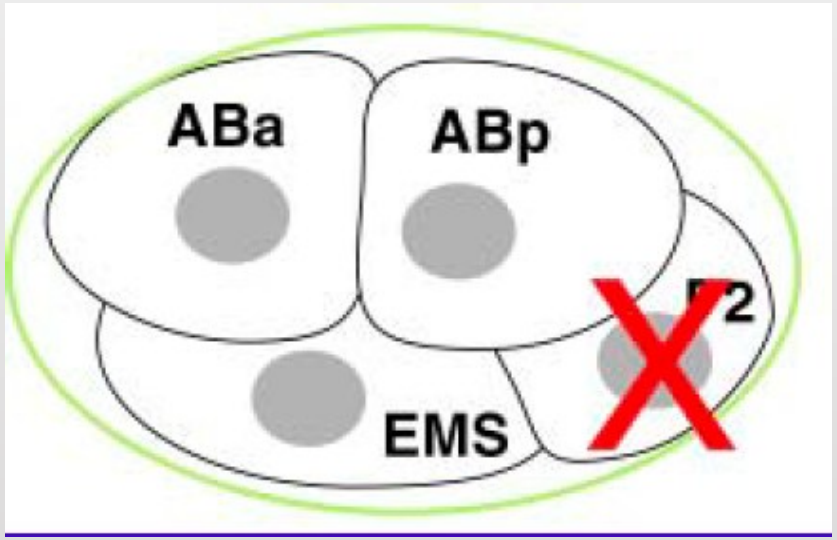
Εξειδίκευση βλαστομεριδίου EMS

ΕΟ άξονας!

Fig. 1. Canonical Wnt pathway and C. elegans embryonic Wnt pathway. (A) In the canonical Wnt pathway, Wnt signaling results in activation of a bipartite transcription factor consisting of h-catenin and a TCF/Lef factor, which activates target genes (reviewed in Cadigan and Nusse, 1997). In the absence of the Wnt signal, TCF/Lefs can function as repressors (not shown on the figure) (Kim et al., 2000; Merrill et al., 2001). A similar pathway is proposed to exist for postembryonic C. elegans signaling events (Herman, 2001; Herman and Wu, 2004; Korswagen et al., 2000). (B) The Wntpathway as previously described for C. elegans E specification. At the 4-cell stage, P 2 polarizes the ventral blastomere EMS (depicted by shading of the EMS cytoplasm) such that its posterior daughter becomes E. The terminal TCF/Lef-1-like regulator, POP-1, represses E specification in MS by preventing activation of end-1,3 by the SKN-1/MED-1,2 pathway (Calvo et al., 2001; Maduro et al., 2002; Maduro et al., 2001). A newly hatched L1 animal is diagrammed showing the 20 E nuclei (dots) that constitute the intestine.

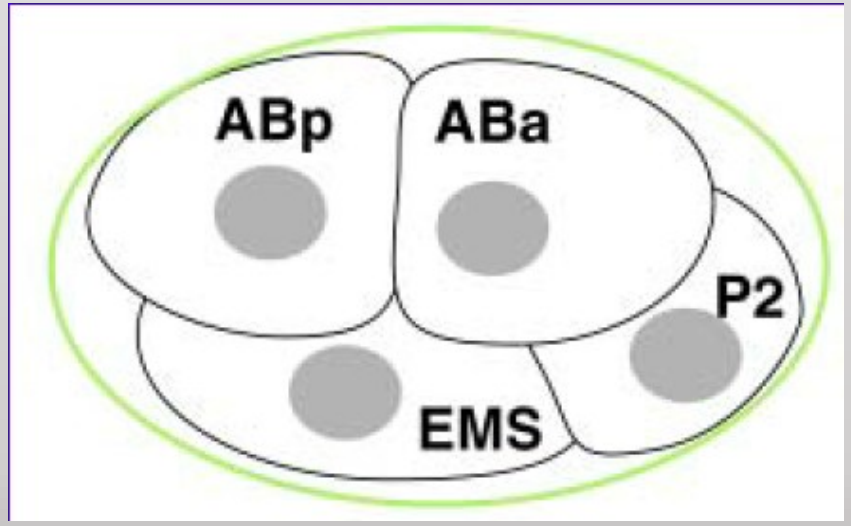

Maternal
Zygote
E fate
(endoderm)
POP-1
END-1
MS fates
EMS
MS
SKN-1
MED-1,2
TBX-35
PHA-4
HLH-1
Pharynx
Muscle
PAL-1
C fate (muscle,
hypodermis)
Blastomere specification
Tissue identity

Κατά συνθήκη εξειδίκευση βλαστομεριδίων κατά την πρώιμη ανάπτυξη του *C. elegans*



Καταστροφή του P2

ABp **δεν** δίνει όλους τους κυτταρικούς τύπους που φυσιολογικά θα έδινε.



Αντιμετάθεση ABa, ABp

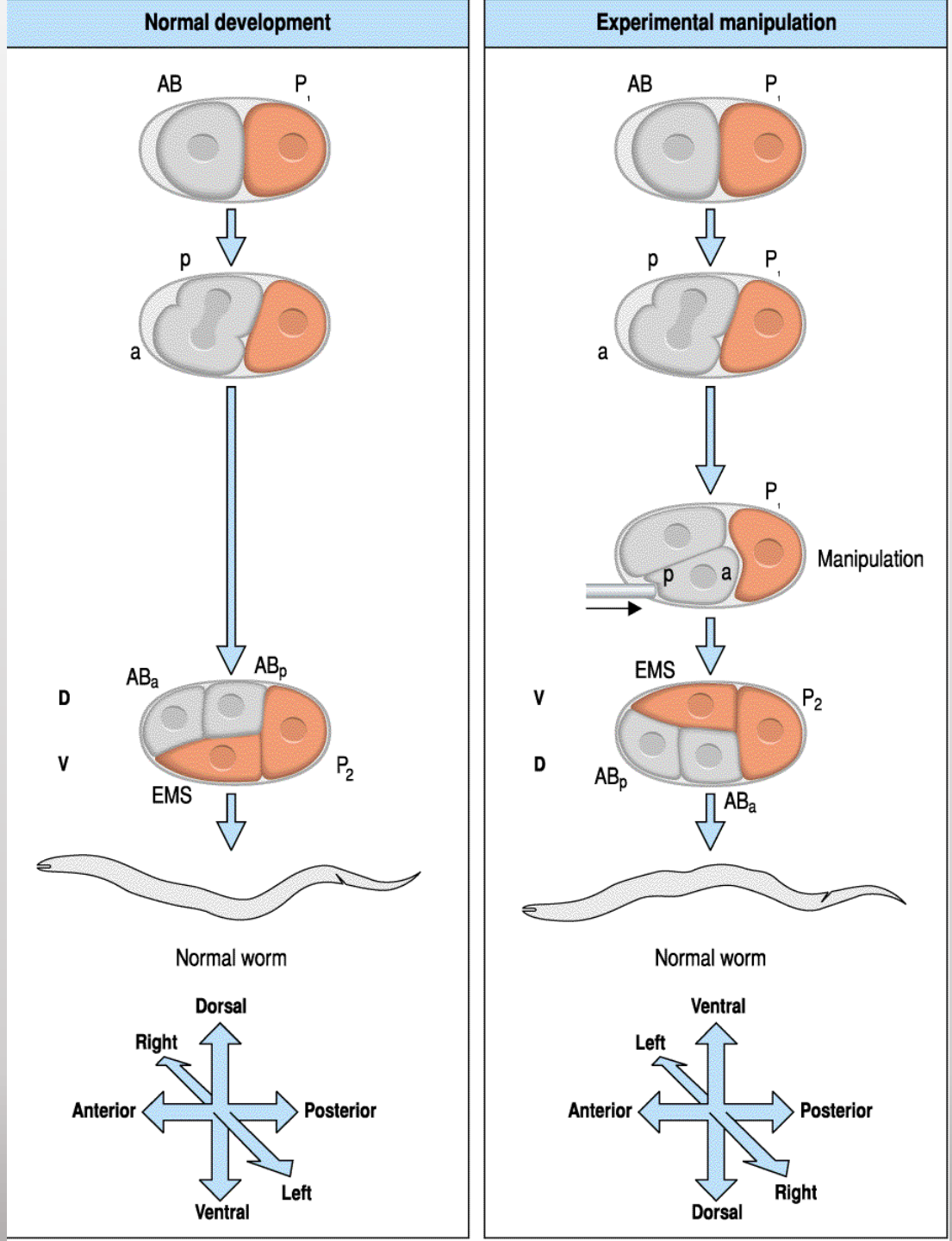
ABa δίνει όλους τους κυτταρικούς τύπους που φυσιολογικα δίνει το ABp

Για την εξειδίκευση του ABp απαιτείται επαφή με το P2

Ο σχηματισμός του ραχιοκοιλιακού άξονα

- Ο ραχιοκοιλιακος άξονας εγκαθιδρύεται στο στάδιο των 4-κυττάρων.
- Μηχανική περιστροφή του ABp αντιστρέφει τον ραχιαίο-κοιλιακό άξονα.

ABp: καθορίζει τη ραχιαία πλευρά.

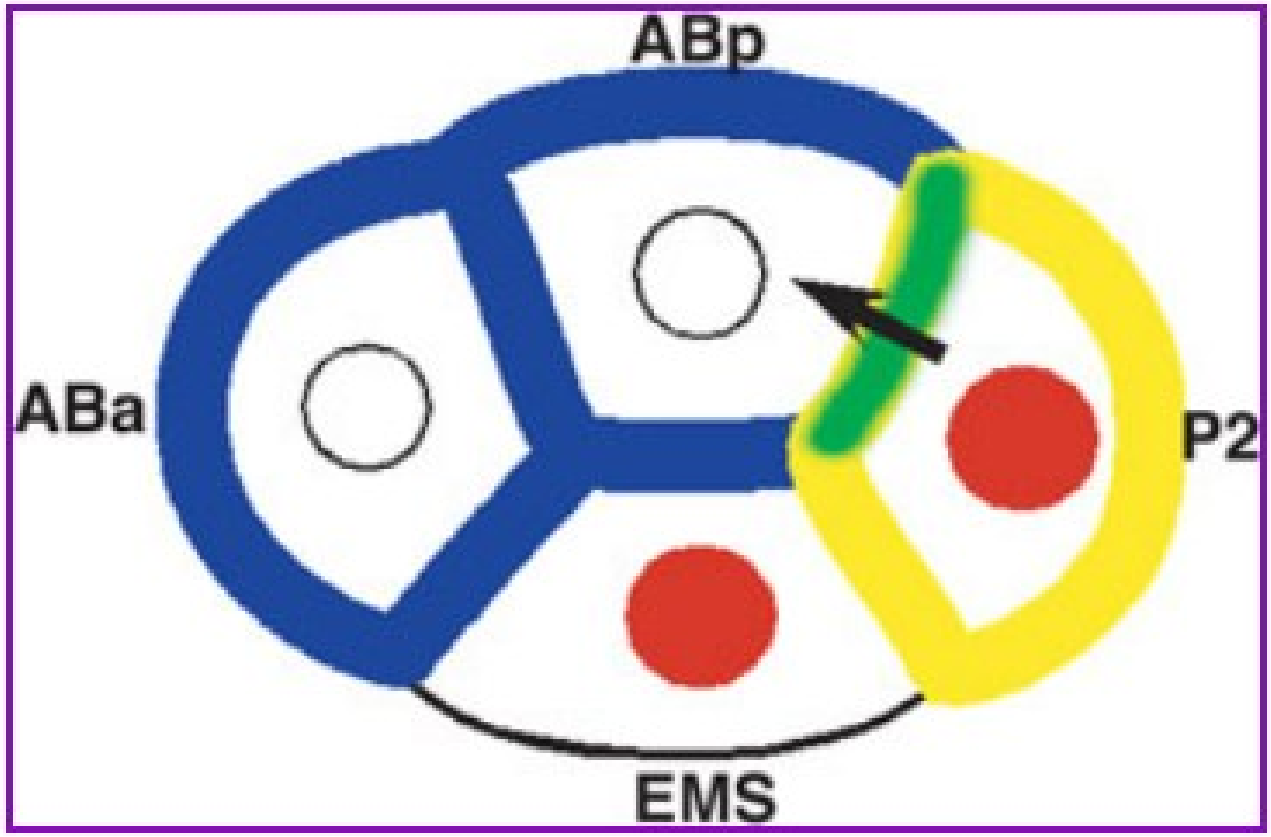


Ο σχηματισμός του ραχιοκοιλιακού άξονα

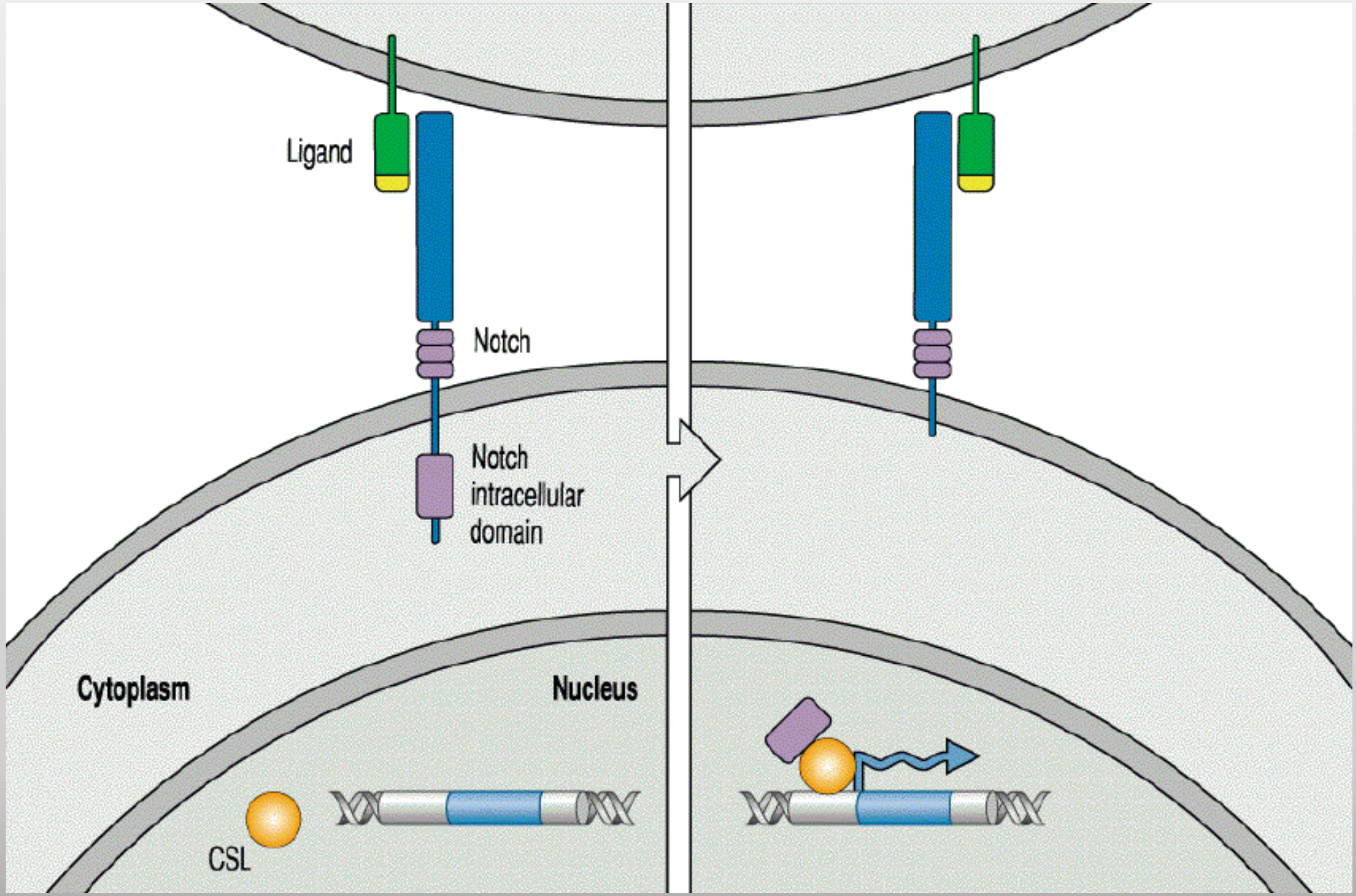
- Ο ραχιοκοιλιακός άξονας εγκαθιδ
4-κυττά

- Μηχαν
ABp αν
κοιλιακ

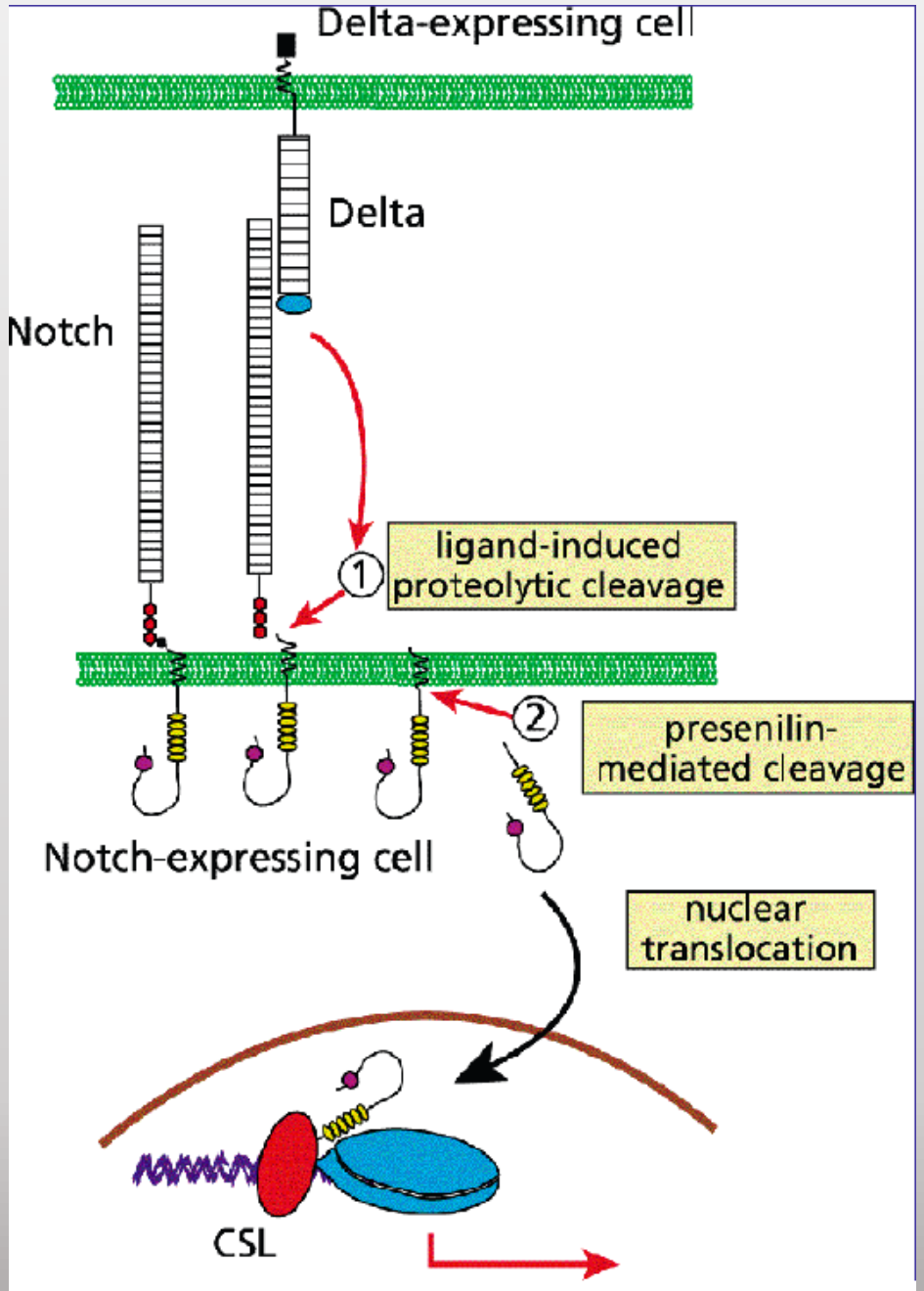
ABp: καθο
πλευρά.



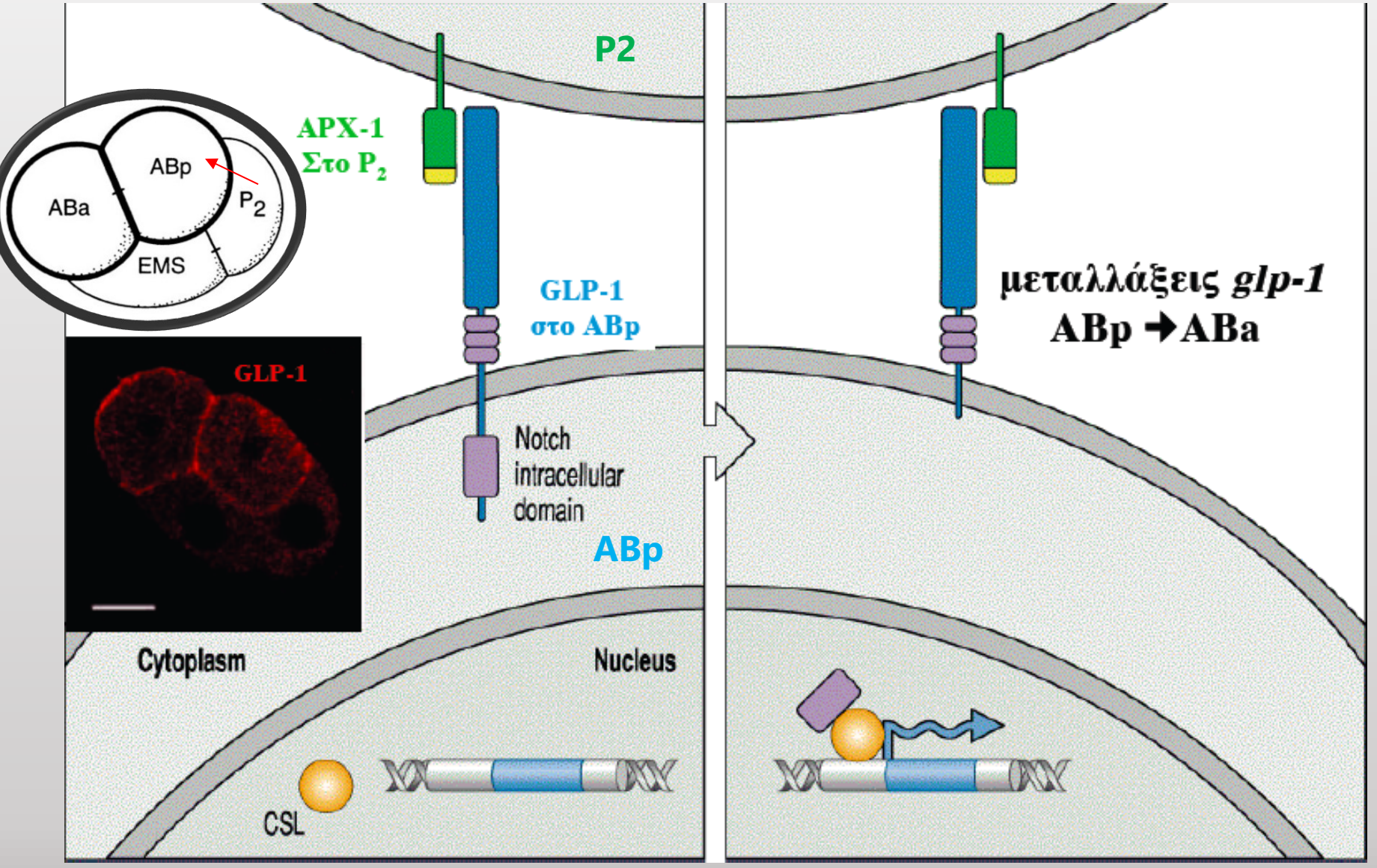
Το μονοπατι Notch (αντικρινές επαγωγικό φαινόμενο)



Το μονοπάτι Notch

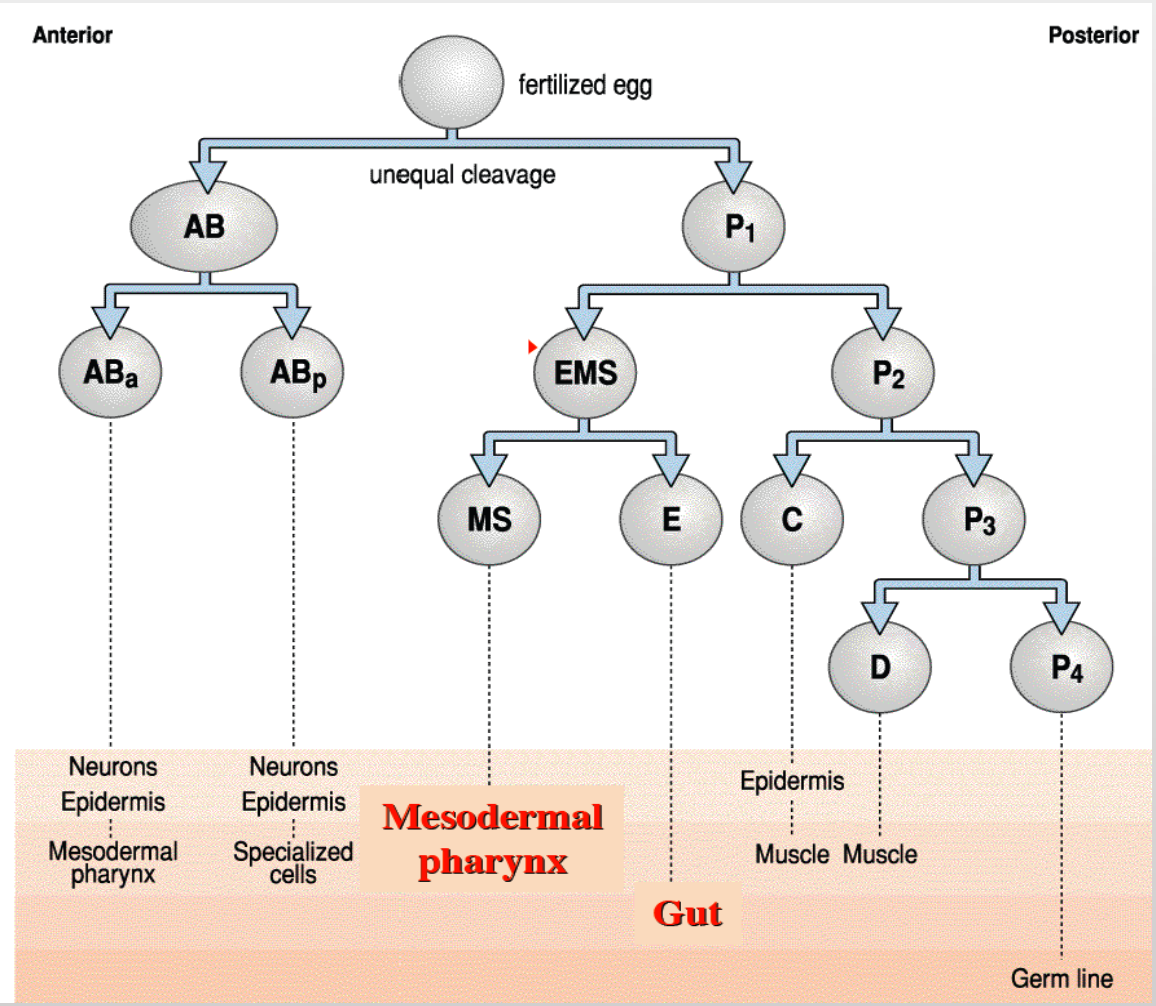


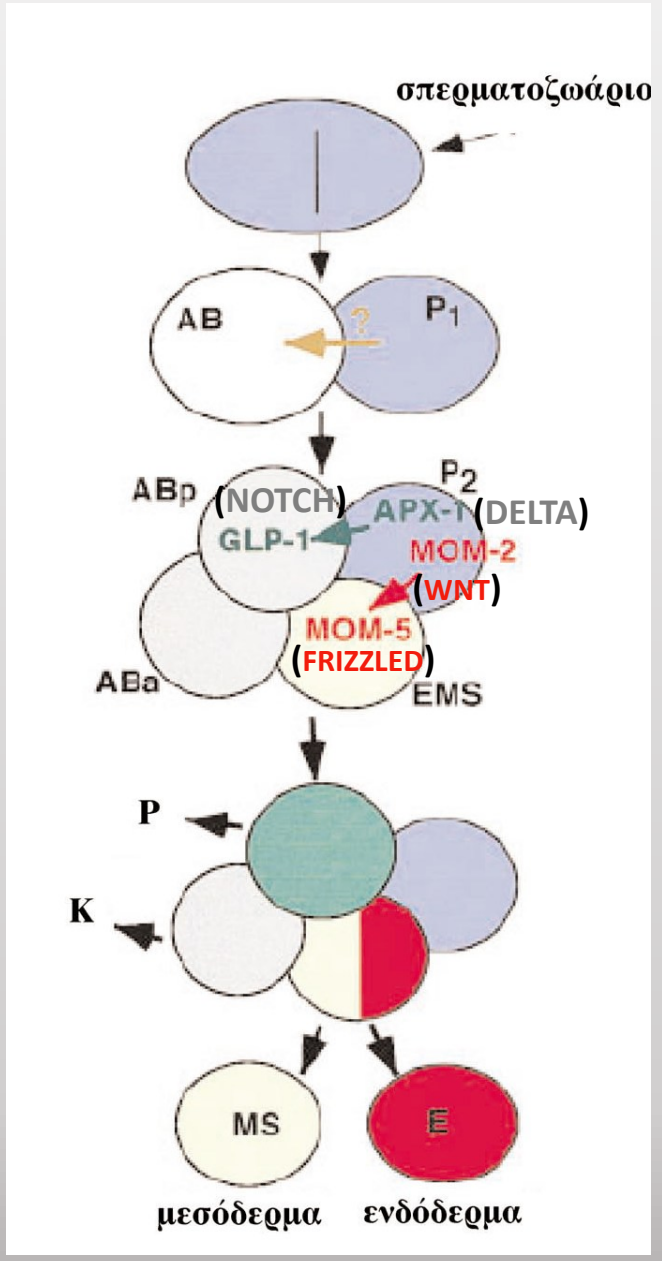
Το μονοπάτι Notch και η τύχη του ABp



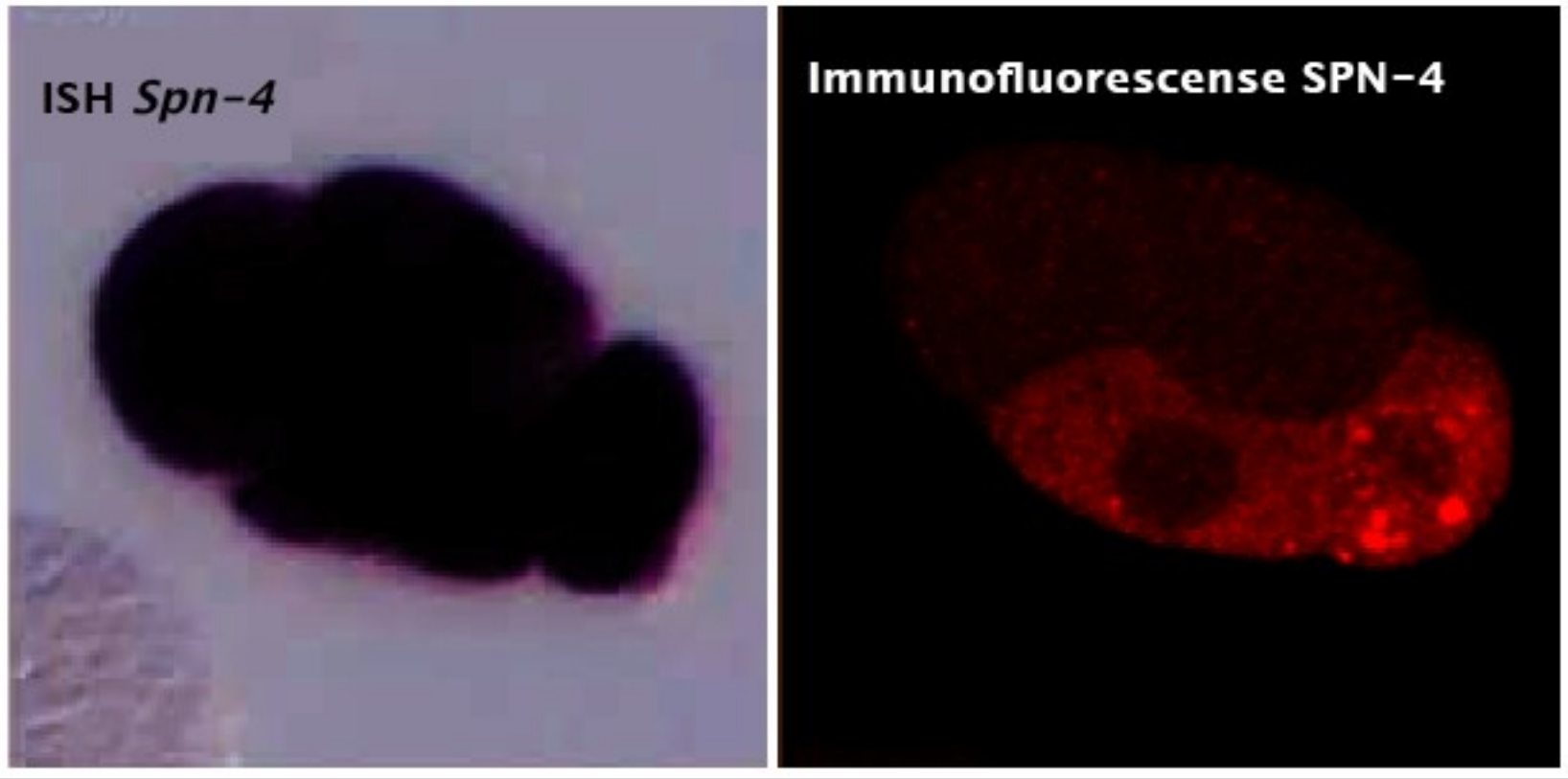
Η αλληλεπίδραση GLP-1/APX-1 δημιουργεί ασυμμετρία και καθορίζει το ραχιαίο-κοιλιακό άξονα

Εγκαθίδρυση ΕΟ και ΡΚ άξονα
Σύνοψη



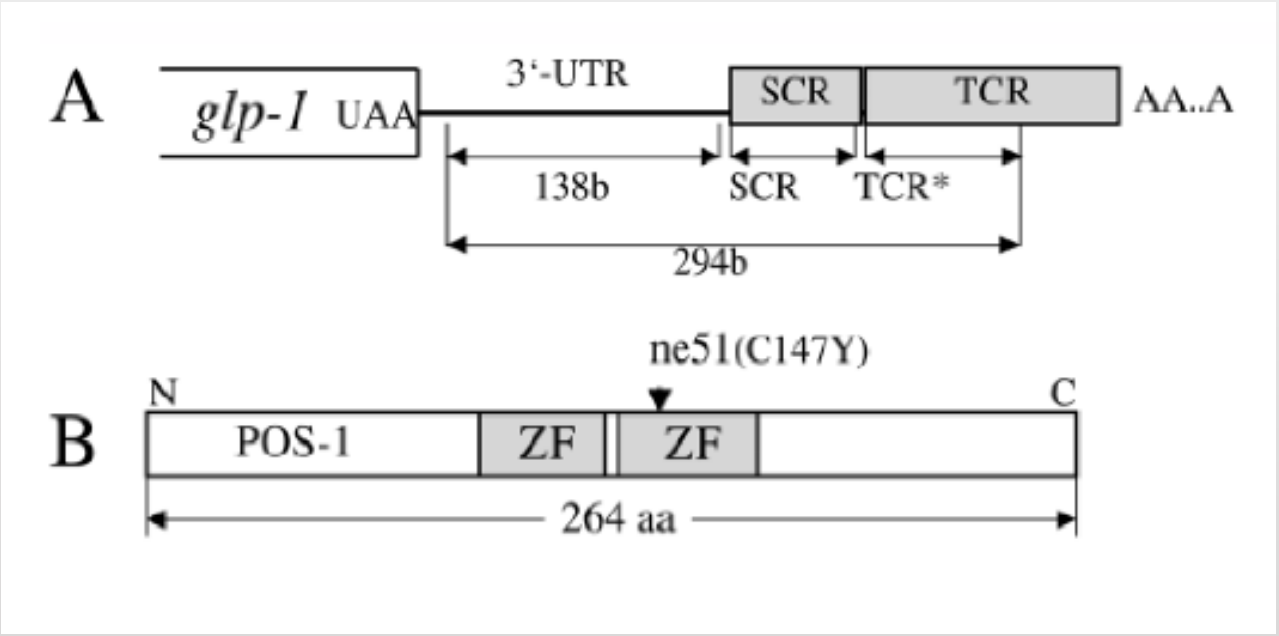


Μετάφραση μητρικών mRNA

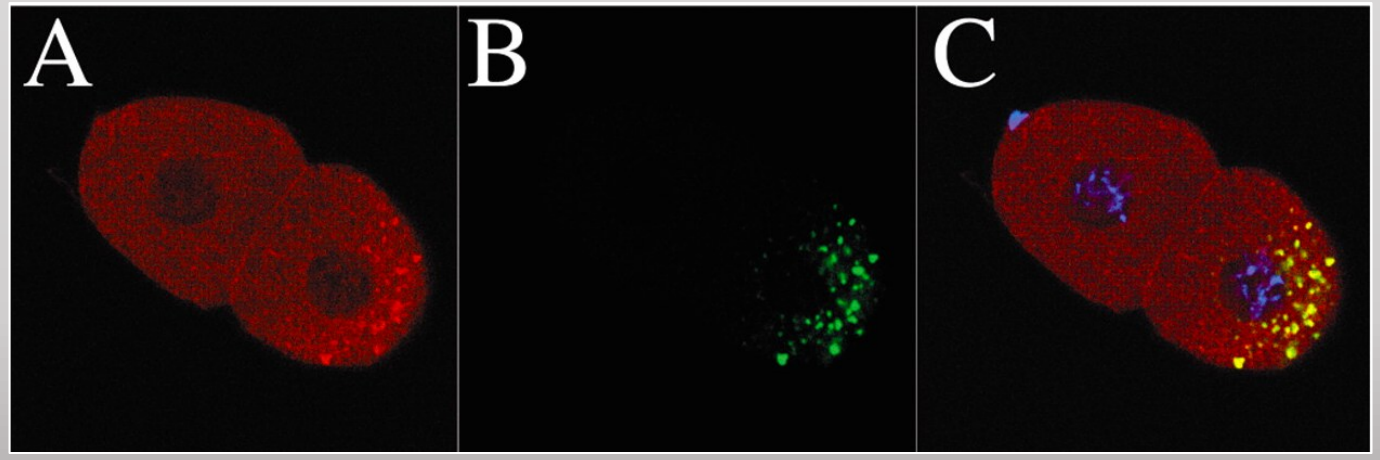


Πολλά μητρικά μηνύματα κατανέμονται ομοιόμορφα αλλά μεταφράζονται διαφορικά στο έμβρυο!

Μετάφραση μητρικών mRNA

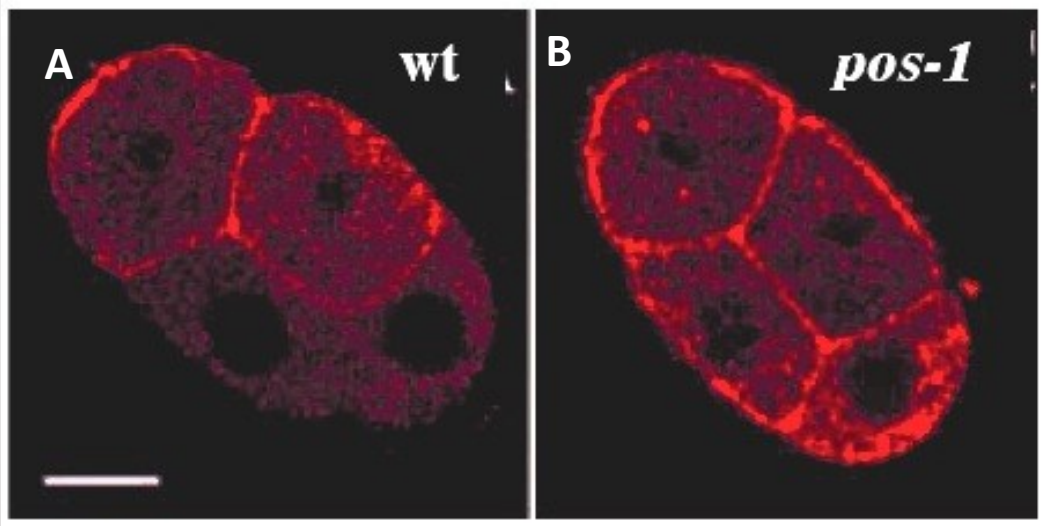


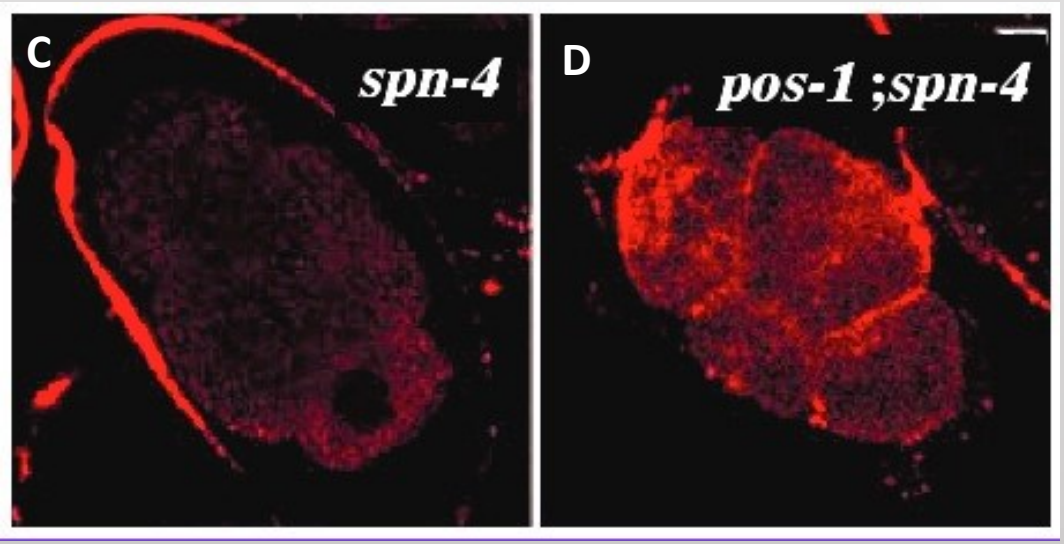
Στην 3' UTR του mRNA *glp1* εντοπίζονται ρυθμιστικές αλληλουχίες που ελέγχουν τη μετάφραση του *glp1* και αναγνωρίζονται από την POS-1 και τη SPN-4.



Co-localization of SPN-4 and the P granules. Wild-type embryos were stained with an anti-SPN-4 antibody (red, A) and mabK76, which recognizes P granules (green, B). (C) is a merged image and includes a DAPI-stained image (blue). The granular staining of the anti-SPN-4 antibody matches the mabK76 staining pattern of the P granules (C, yellow dots). doi: 10.1242/dev.00469

Μετάφραση μητρικών mRNA





Κατανομή της **GLP-1** σε έμβρυα:

A. Άγριου τύπου

B. Απουσία προϊόντος pos-1

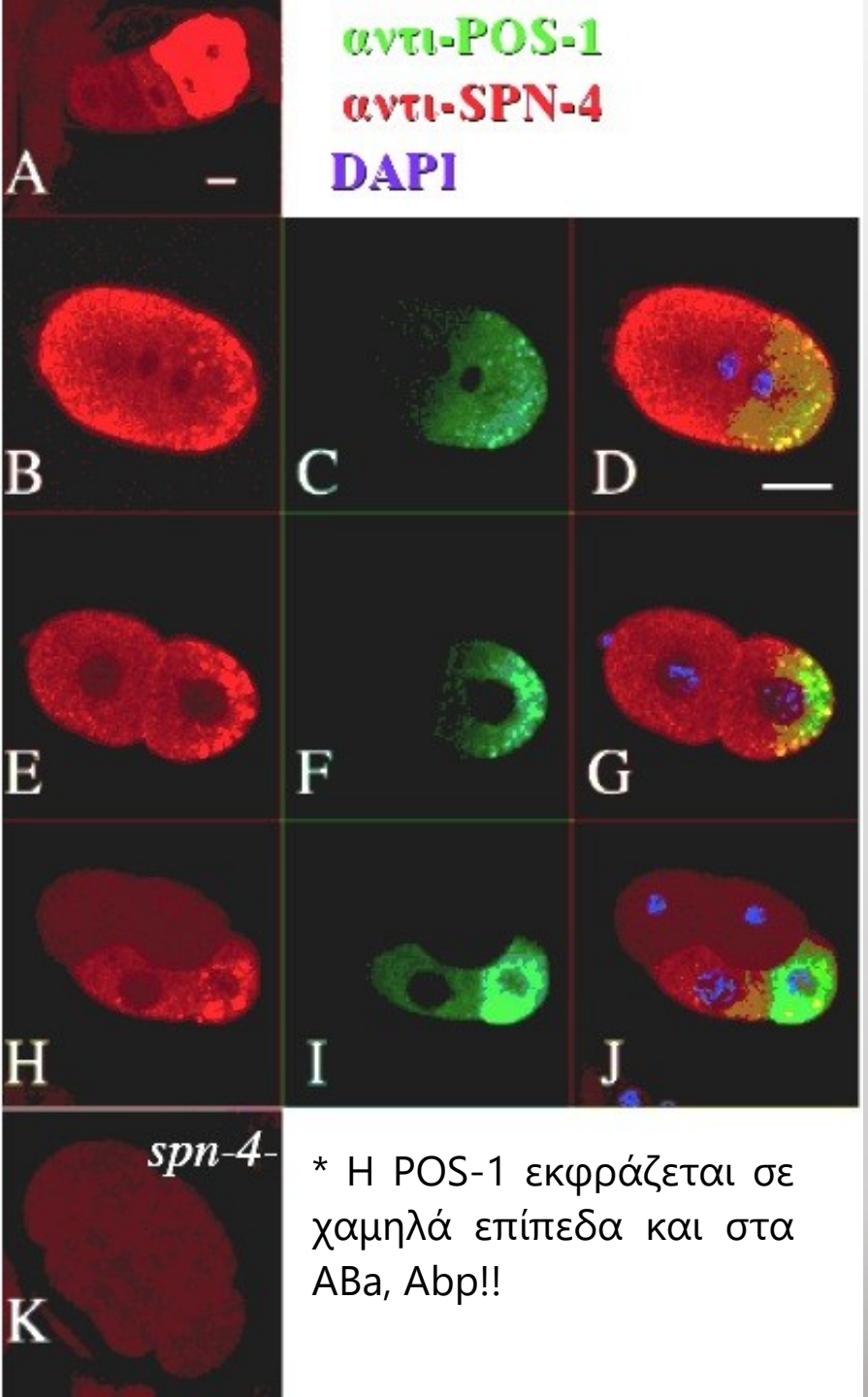
C. Απουσία προϊόντος spn-4

D. Απουσία προϊόντων pos-1 και spn-4

Πώς οι pos-1 και spn-4 ελέγχουν τη μετάφραση του glp-1;

Η pos-1 καταστέλλει τη μετάφραση του glp-1 mRNA στο P2 και EMS

Η spn-4 επάγει τη μετάφραση του glp-1 mRNA στα AB



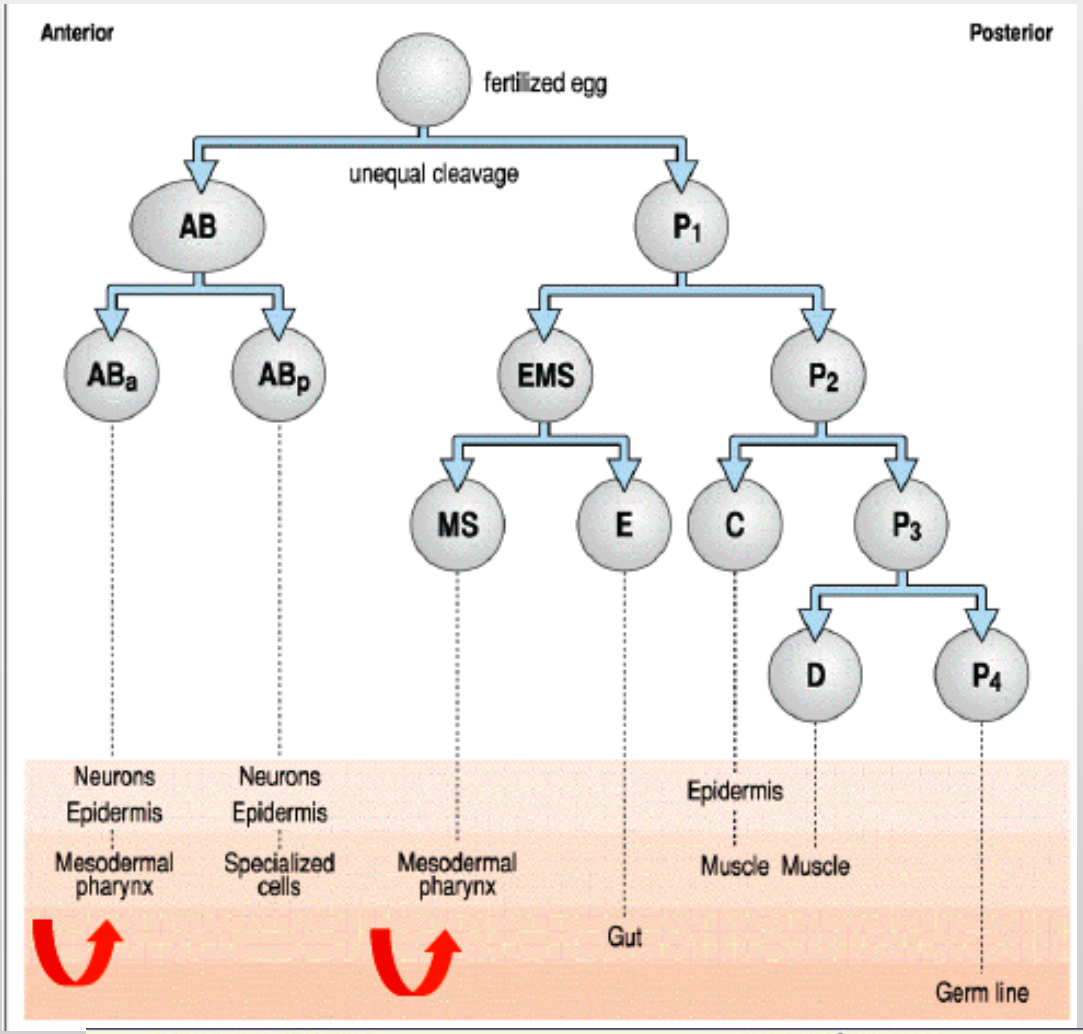
* Η POS-1 εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα και στα ABa, Abp!!

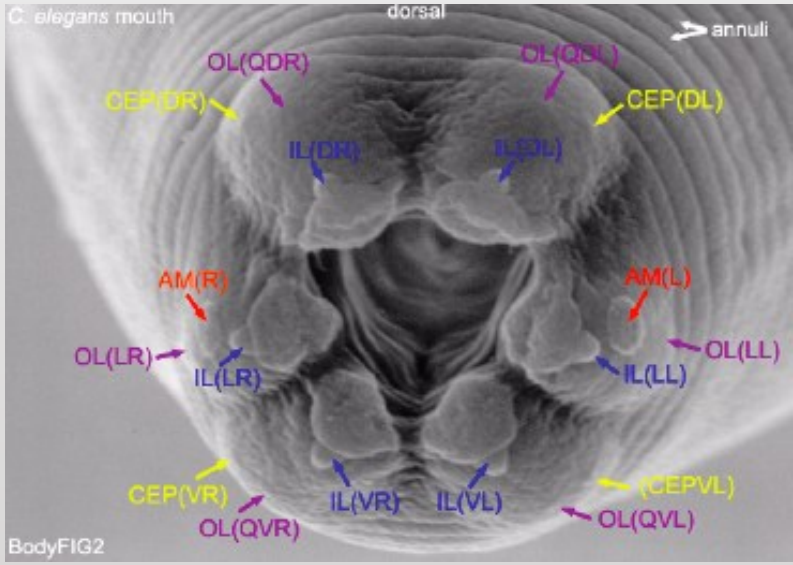
Μετάφραση μητρικών mRNA

Οι POS-1 και SPN-4 εκφράζονται στο αυγό και στο έμβρυο P0 στα οποία δεν εκφράζεται η GLP-1 γιατι ελέγχουν τη μετάφραση και άλλων RNA που μπορεί να δρουν νωρίτερα πχ στο στάδιο των 2 κυττάρων οπως των *skn-1* και *pal-1*.

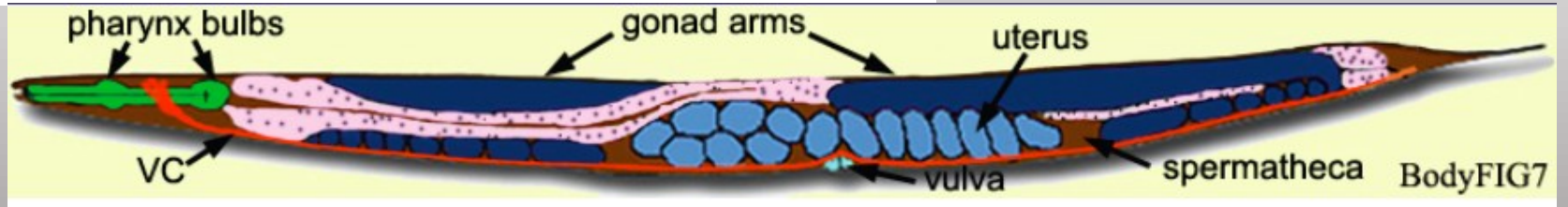
Η SPN-4 ελέγχει και τη μεταφραση των μηνυμάτων *skn-1* και *pal-1*.

Η ανάπτυξη του φάρυγγα
Από τα γονίδια μητρικής επίδρασης στα ζυγωτικά

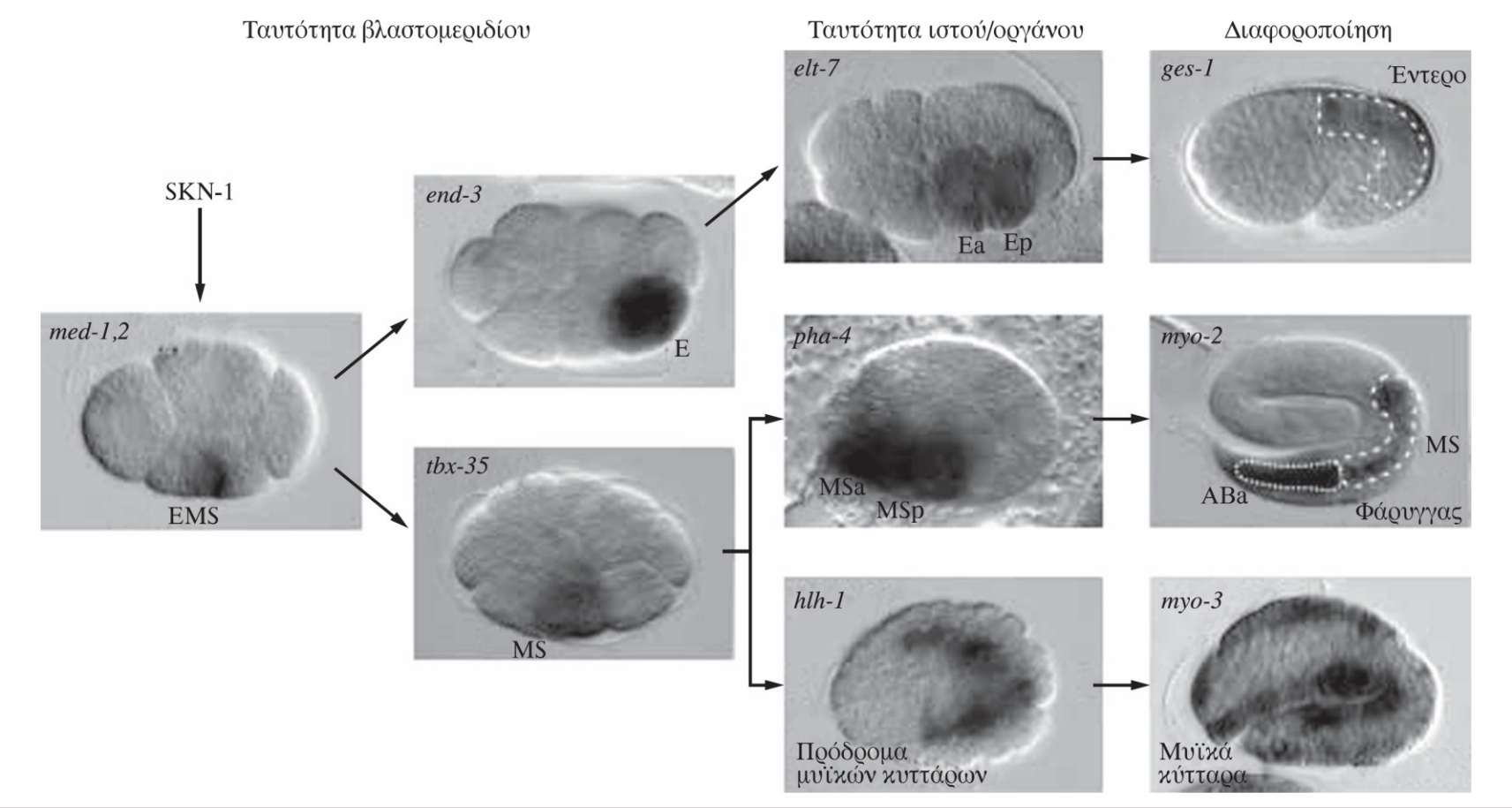




Ο Φάρυγγας αναπτύσσεται από δύο γενεαλογίες.



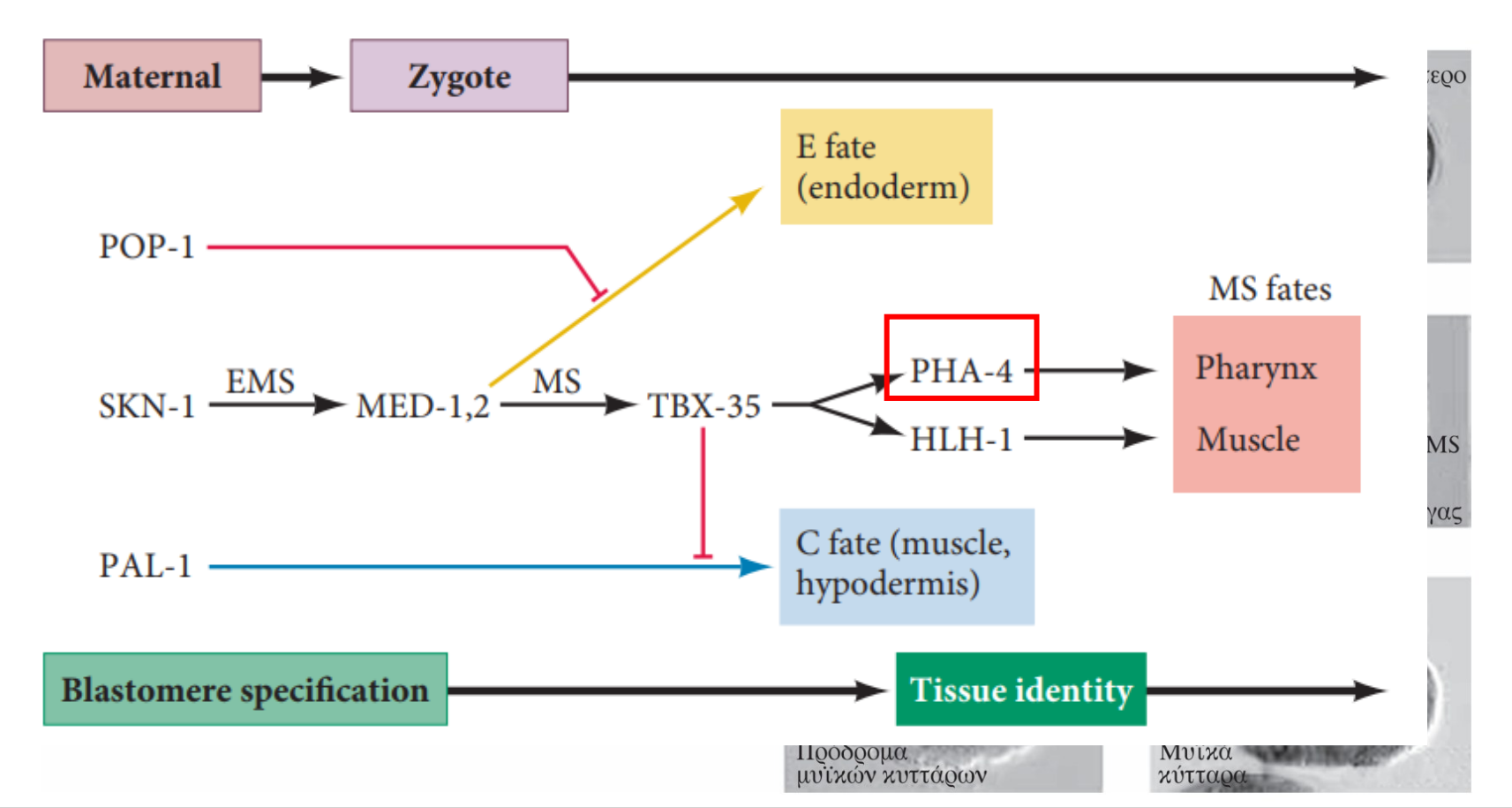
Ανάλυση της έκφρασης ζυγωτικών γονιδίων με πειράματα υβριδοποίησης *in situ*



Η έκφραση των ζυγωτικών γονιδίων είναι αποτέλεσμα του εντοπισμού καθοριστών.

Από τη δημοσίευση Maduro & Rothman (2002) *Developmental Biology* **246**, 68-85, με άδεια από τον εκδοτικό οίκο Elsevier.

Ανάλυση της έκφρασης ζυγωτικών γονιδίων με πειράματα υβριδοποίησης *in situ*



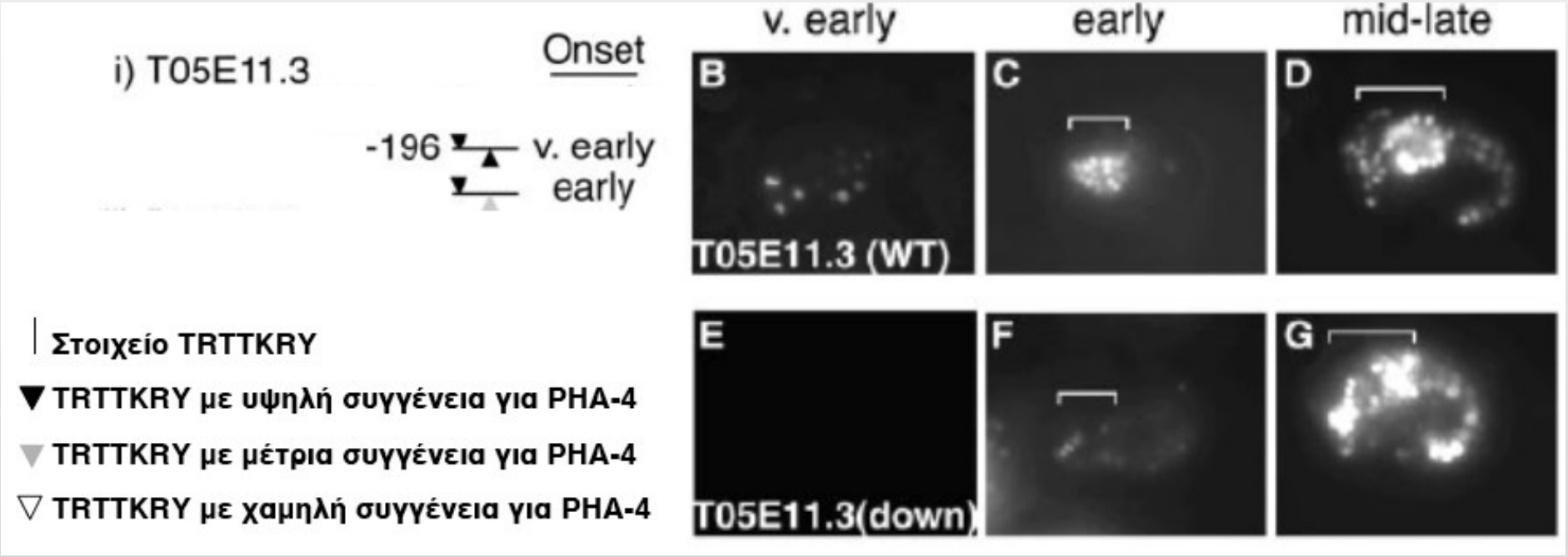
Η έκφραση των ζυγωτικών γονιδίων είναι αποτέλεσμα του εντοπισμού καθοριστών.

Από τη δημοσίευση Maduro & Rothman (2002) *Developmental Biology* **246**, 68-85, με άδεια από τον εκδοτικό οίκο Elsevier.

Το γονίδιο *pha-4* είναι υπεύθυνο για την ταυτότητα των κυττάρων του φάρυγγα

- μεταγραφικός παράγοντας της οικογένειας forkhead (HNF3β)
- απαιτείται σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης του φάρυγγα (ts mutants) και για τις δύο γενεαλογίες
- αναγνωρίζει την αλληλουχία TRTTKRY
- ενεργοποίεί σχεδόν **όλα τα γονίδια** που είναι απαραίτητα για το σχηματισμό όλων των κυτταρικών τύπων του φάρυγγα.

Το γονίδιο *pha-4* είναι υπεύθυνο για την ταυτότητα των κυττάρων του φάρυγγα



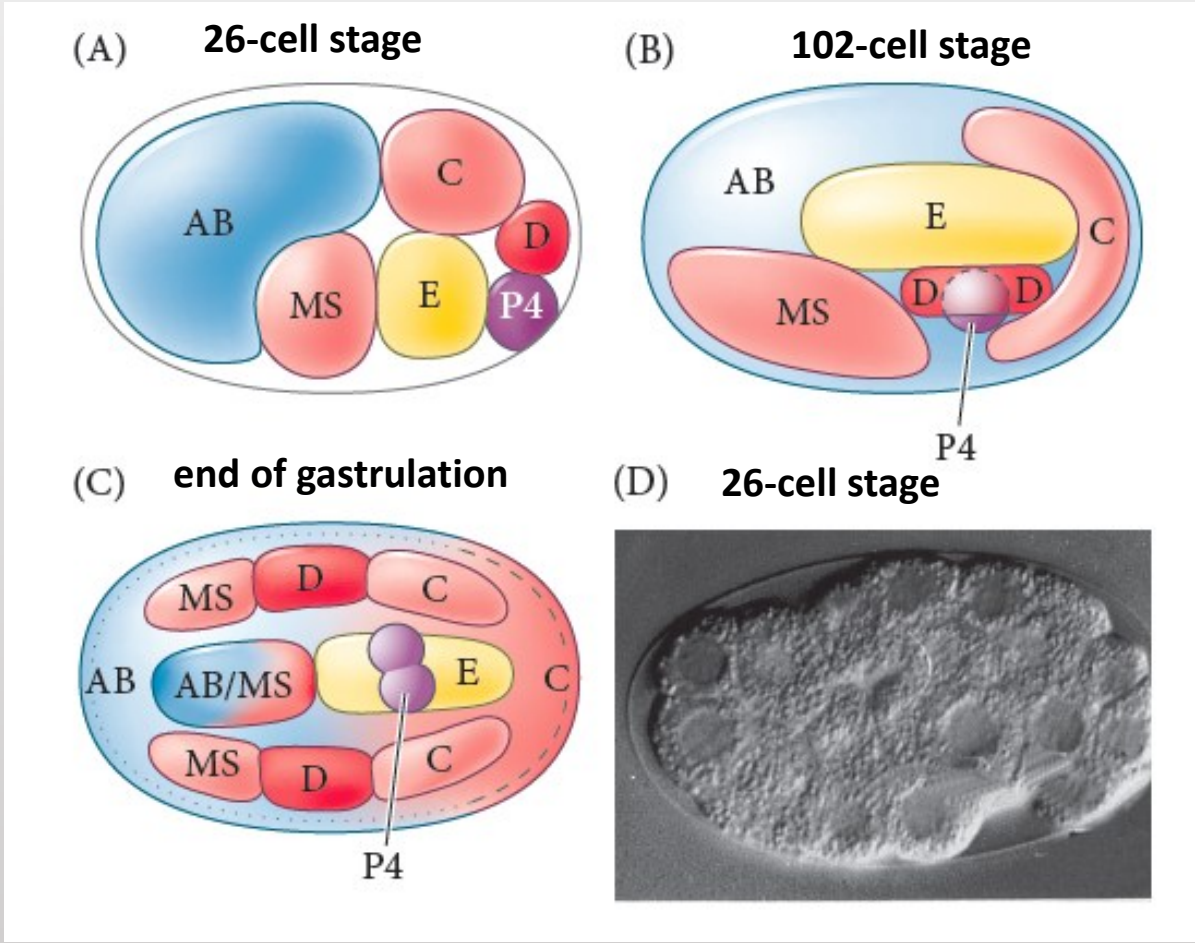
Η έκφραση σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια ελέγχεται από διαφορετικά στοιχεία TRTTKRY τα οποία η PHA-4 αναγνωρίζει με διαφορετική συγγένεια.

Γονίδια που φέρουν στοιχεία TRTTKRY με υψηλή συγγένεια για τη PHA-4 αρχίζουν να εκφράζονται σε πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του φάρυγγα. Μεταλλαγές που μεταβάλλουν τη συγγένεια τέτοιων στοιχείων έχουν ως αποτέλεσμα την έναρξη της έκφρασης με καθυστέρηση 2-3 ωρών.

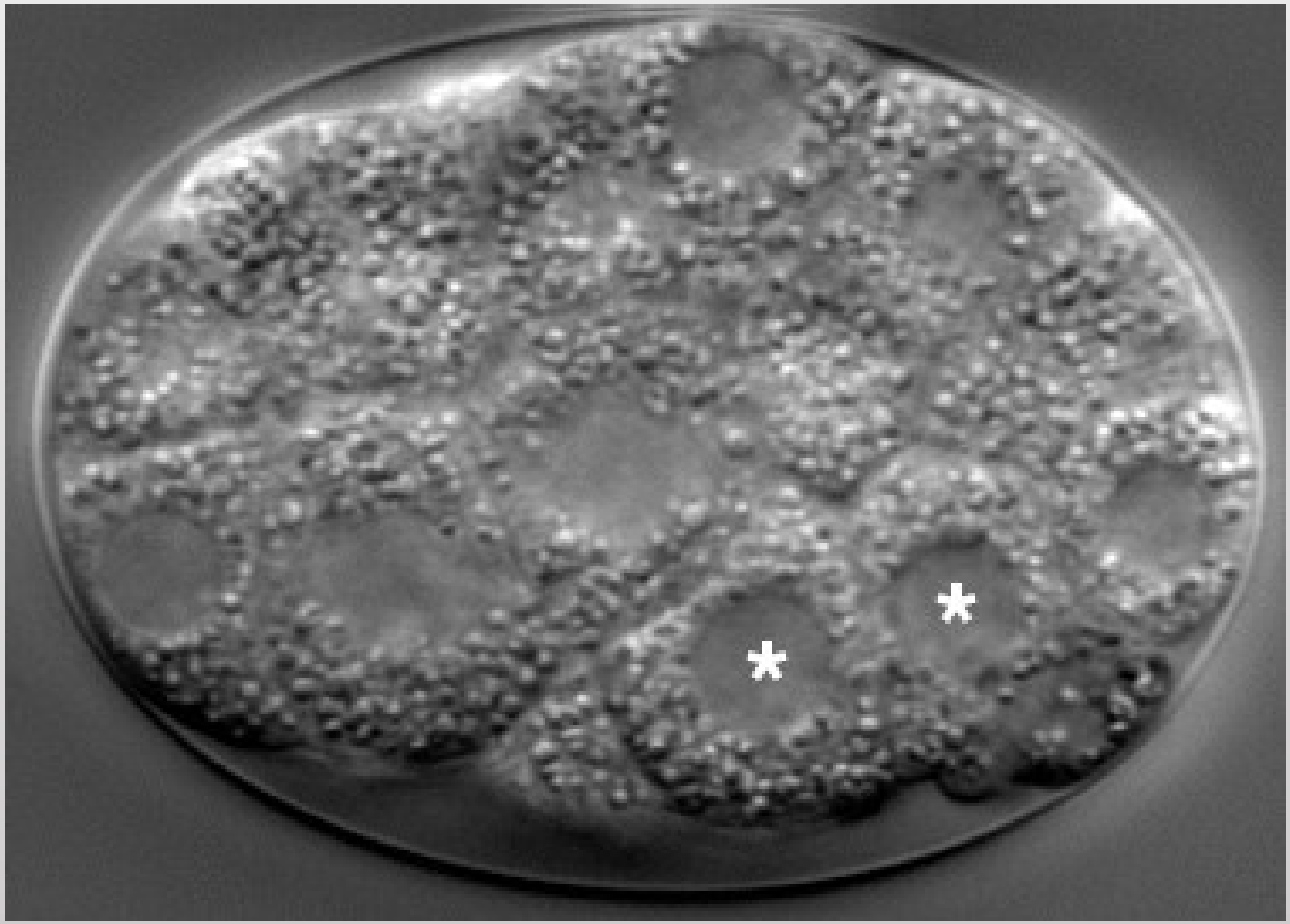
ΑΡΑ: Η συγγένεια της PHA-4 για τα ρυθμιστικά στοιχεία των γονιδίων που ελέγχει, ρυθμίζει την έναρξη της μεταγραφής τους.

Γαστριδίωση

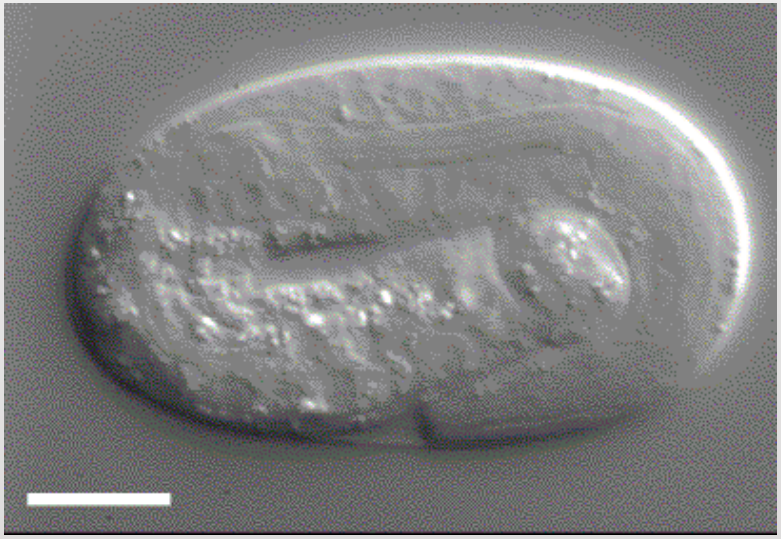
- Ξεκινά στο στάδιο των 26 κυττάρων
- Ea, Ep μεταναστεύουν κοιλιακά προς το εσωτερικό
- Ακολουθεί το P4.
- Ακολουθούν τα μεσοδερμικά κύτταρα απόγονοι MS, C και D.
- Πρόδρομα φαρυγγικά (AB)
- Επιβολή των υποδερμικών προγόνων (απόγονοι AB και C)

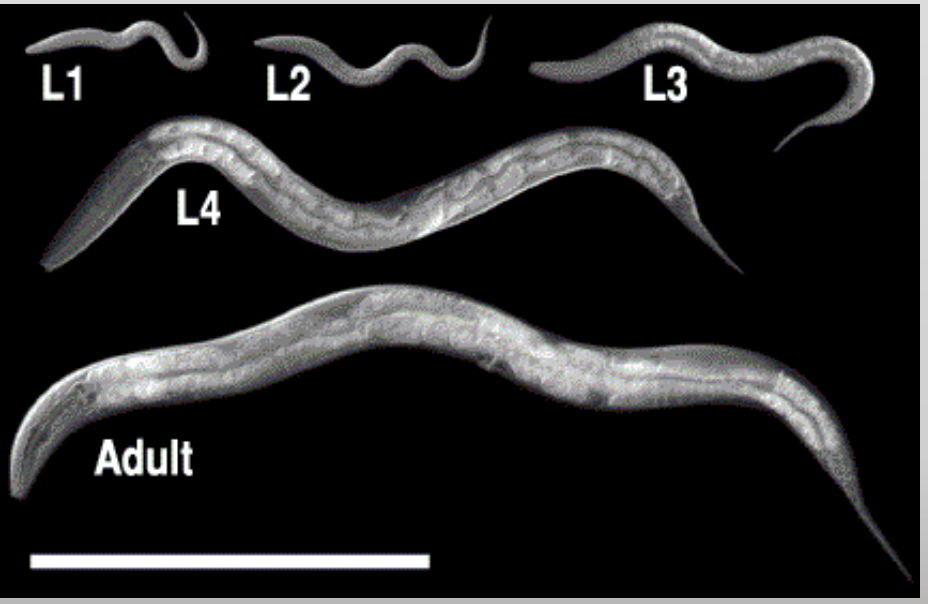


Γαστριδίωση

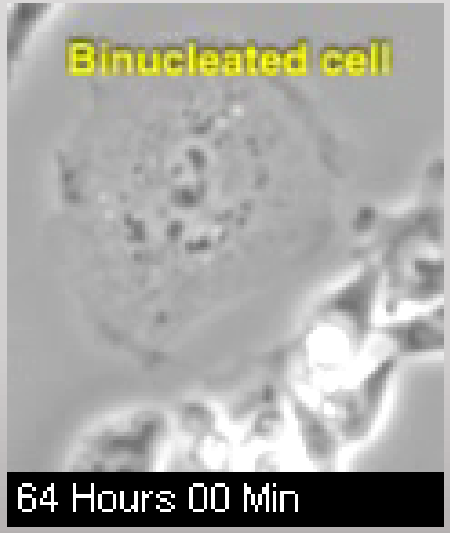


Τέλος γαστριδίωσης





- Σχηματισμός οργάνων
- Επιμήκυνση
- Προνύμφη
- Η προνύμφη έχει 558 κύτταρα
- 131 κύτταρα έχουν ακολουθήσει προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο
- Τέσσερεις εκδύσεις
- Ώριμο άτομο



Science

RESEARCH ARTICLES

Cite as: J. S. Packer *et al.*, *Science* 10.1126/science.aax1971 (2019).

A lineage-resolved molecular atlas of *C. elegans* embryogenesis at single-cell resolution

Jonathan S. Packer[1]*, Qin Zhu[2]*, Chau Huynh[1], Priya Sivaramakrishnan[3], Elicia Preston[3], Hannah Dueck[3]†, Derek Stefanik[4], Kai Tan[3,5,6,7], Cole Trapnell[1], Junhyong Kim[4]‡, Robert H. Waterston[1]‡, John I. Murray[3]‡

[1]Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, WA, USA. [2]Genomics and Computational Biology Graduate Group, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA. [3]Department of Genetics, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA. [4]Department of Biology, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA. [5]Division of Oncology and Center for Childhood Cancer Research, Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, USA. [6]Department of Pediatrics, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA. [7]Department of Cell and Developmental Biology, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA.

*These authors contributed equally to this work.

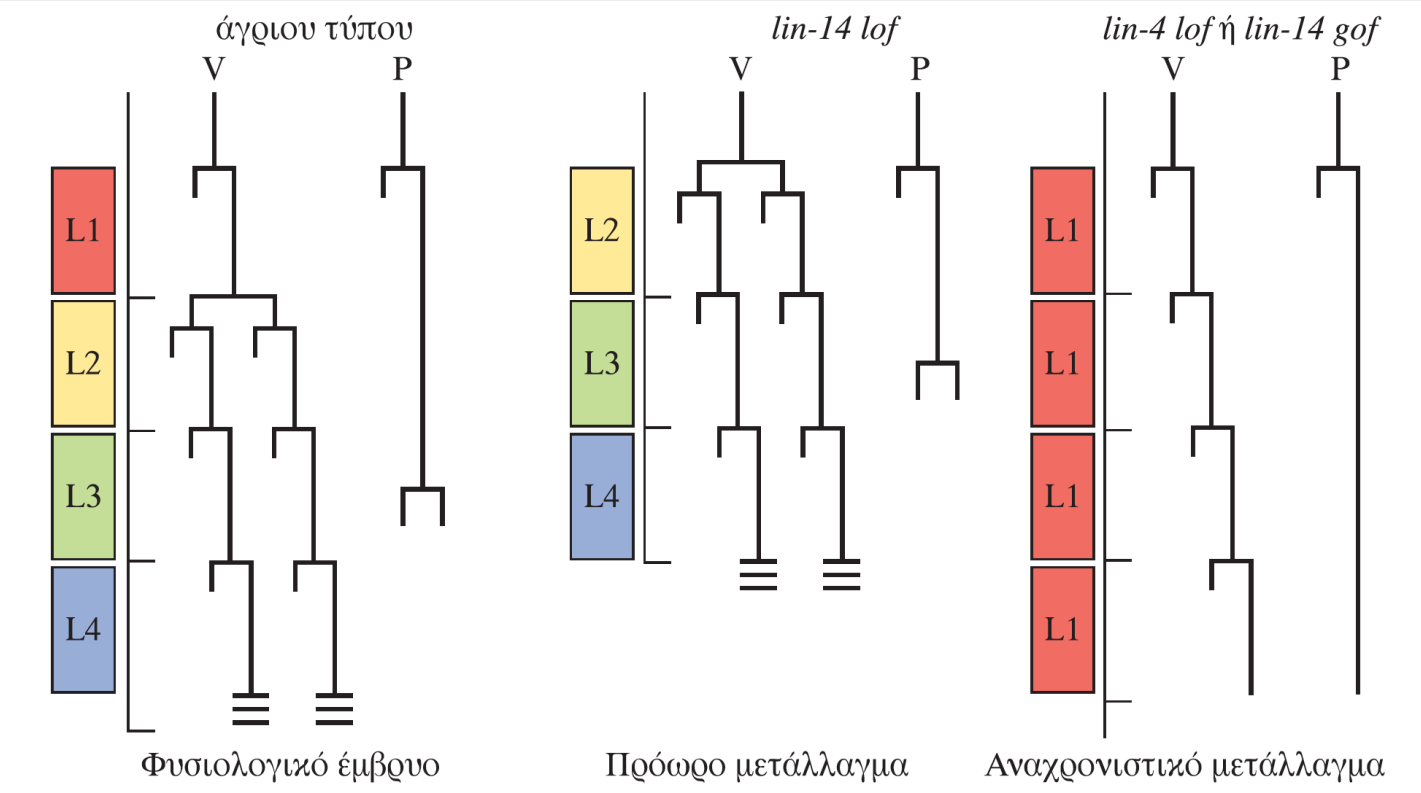
†Present address: National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA.

‡Corresponding author. Email: junhyong@sas.upenn.edu (J.K.); watersto@uw.edu (R.H.W.); jmurr@pennmedicine.upenn.edu (J.I.M.)

Caenorhabditis elegans **is an animal with few cells, but a striking diversity of cell types. Here, we characterize the molecular basis for their specification by profiling the transcriptomes of 86,024 single embryonic cells. We identify 502 terminal and pre-terminal cell types, mapping most single-cell transcriptomes to their exact position in *C. elegans*' invariant lineage. Using these annotations, we find that: 1) the correlation between a cell's lineage and its transcriptome increases from mid to late gastrulation, then falls dramatically as cells in the nervous system and pharynx adopt their terminal fates; 2) multilineage priming contributes to the differentiation of sister cells at dozens of lineage branches; and 3) most distinct lineages that produce the same anatomical cell type converge to a homogenous transcriptomic state.**

Downloaded from http://science.sciencema

Ετεροχρονικές μεταλλαγές

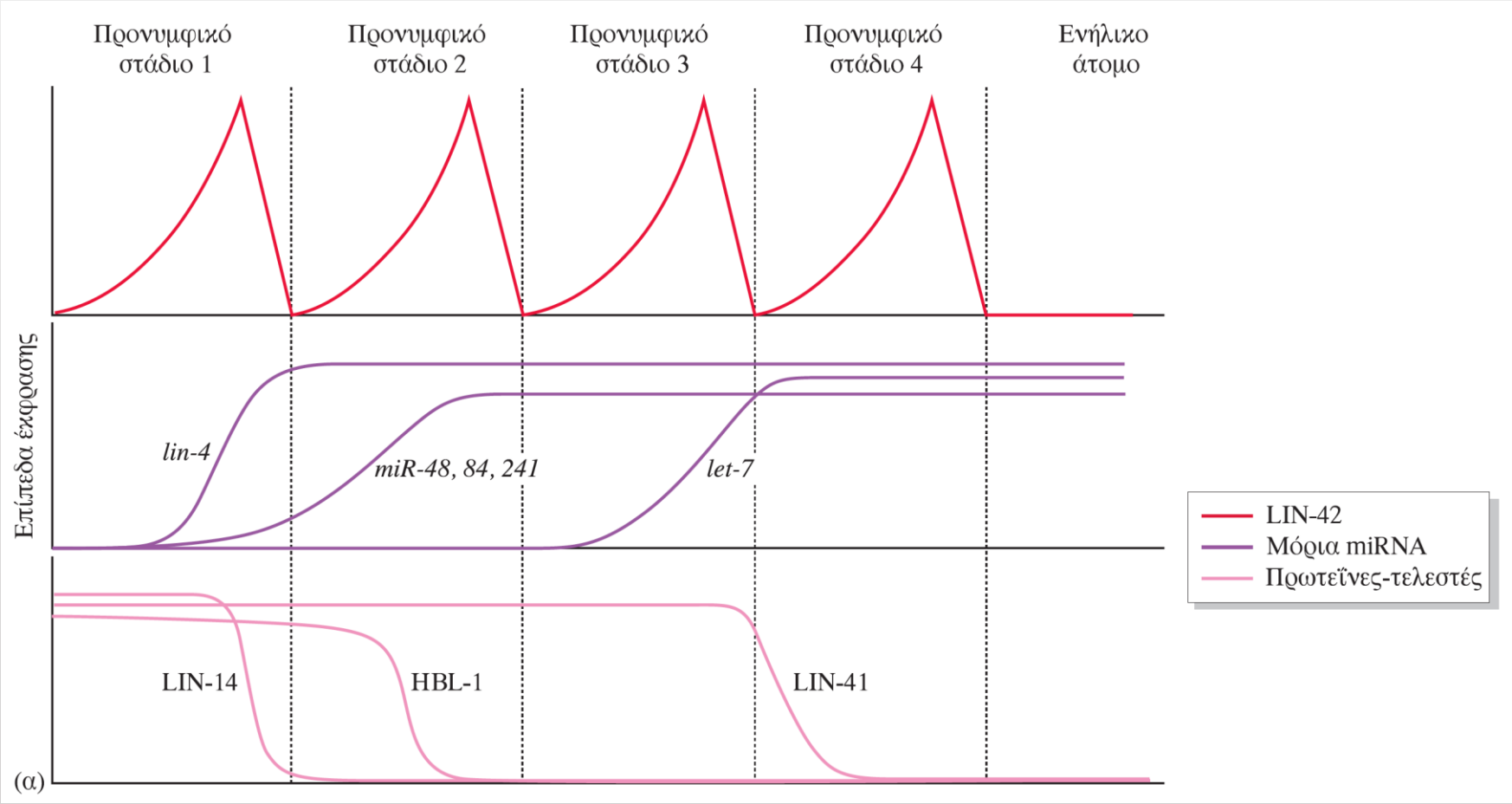


Παρουσιάζονται δύο γενεαλογίες της προνύμφης, οι V και P. Κατά την ανάπτυξη οι δύο γενεαλογίες εμφανίζουν πολύ διαφορετικά προγράμματα κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Οι γενεαλογίες V και P επηρεάζονται συντονισμένα στα μεταλλαγμένα στελέχη. Στα πρόωρα μεταλλάγματα παρατηρείται παράλειψη ενός σταδίου, ενώ στα αναχρονιστικά μεταλλάγματα παρατηρείται επανάληψη γεγονότων του σταδίου L1.

lof: απώλεια λειτουργίας, **gof**: κέρδος λειτουργίας.

Από τη δημοσίευση Moss (2007) *Current Biology* **17**, R425-R434

Ετεροχρονικές μεταλλαγές

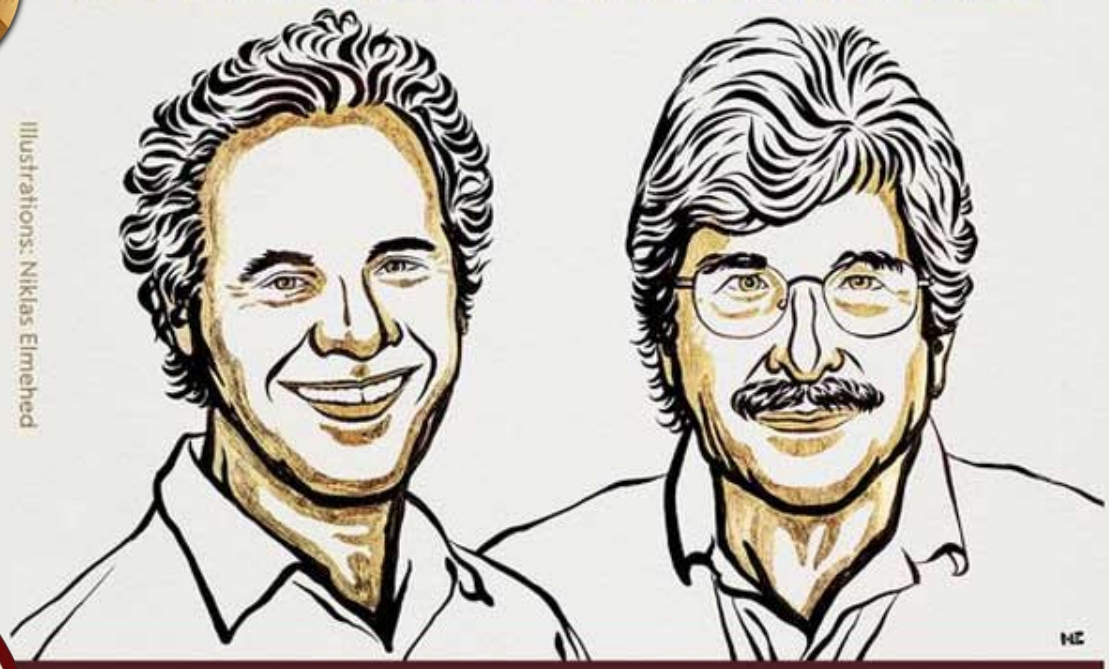


(α) Διαγράμματα στα οποία παρουσιάζεται η σχετική έκφραση του γονιδίου *lin-42*, που είναι ομόλογο του *per*, των μορίων microRNA και των πρωτεϊνών των οποίων τη μετάφραση καταστέλλουν.



THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE 2024

Illustrations: Niklas Elmehed





Victor Ambros Gary Ruvkun

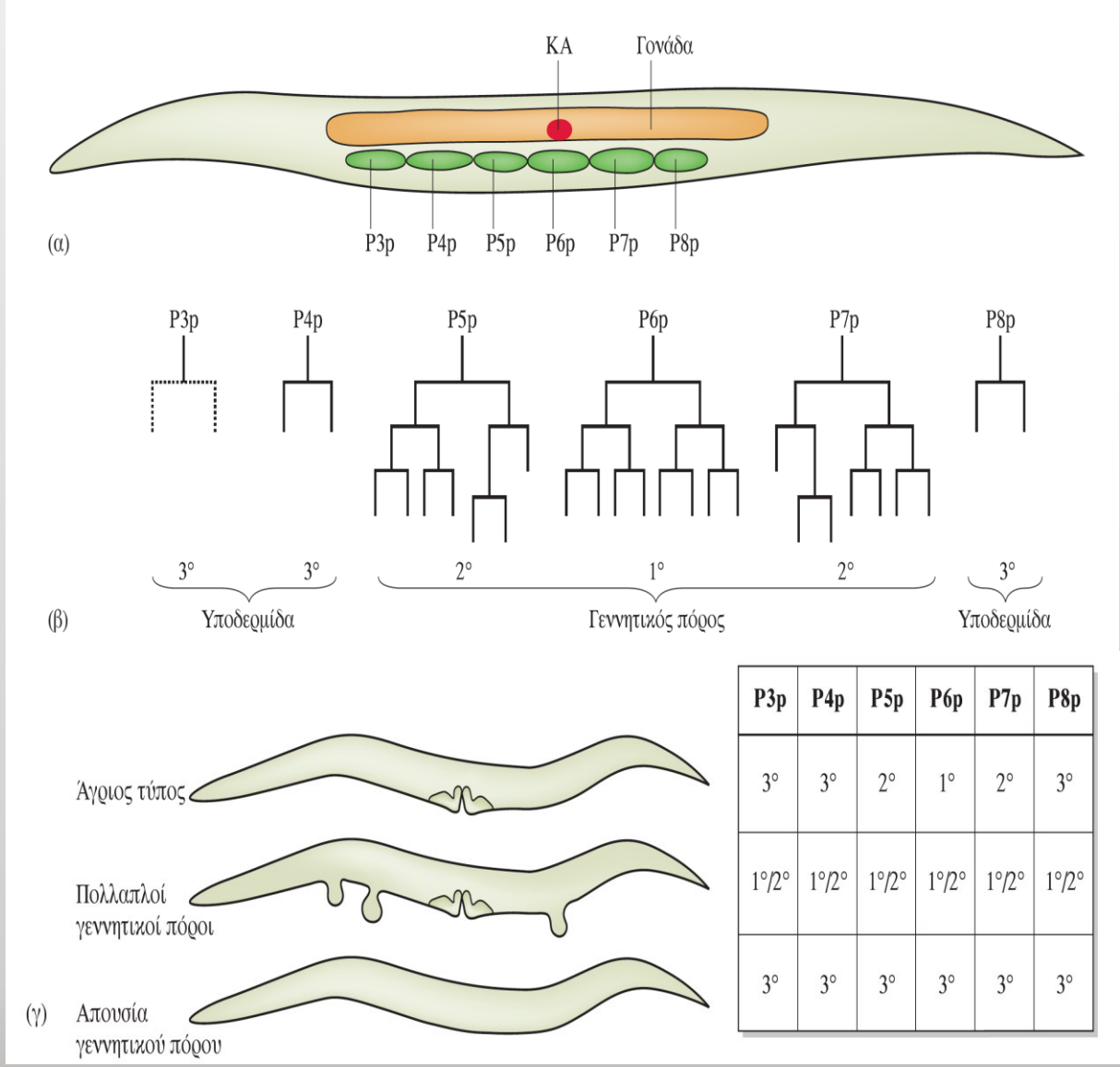
"for the discovery of microRNA and its role in post-transcriptional gene regulation"

THE NOBEL ASSEMBLY AT KAROLINSKA INSTITUTET



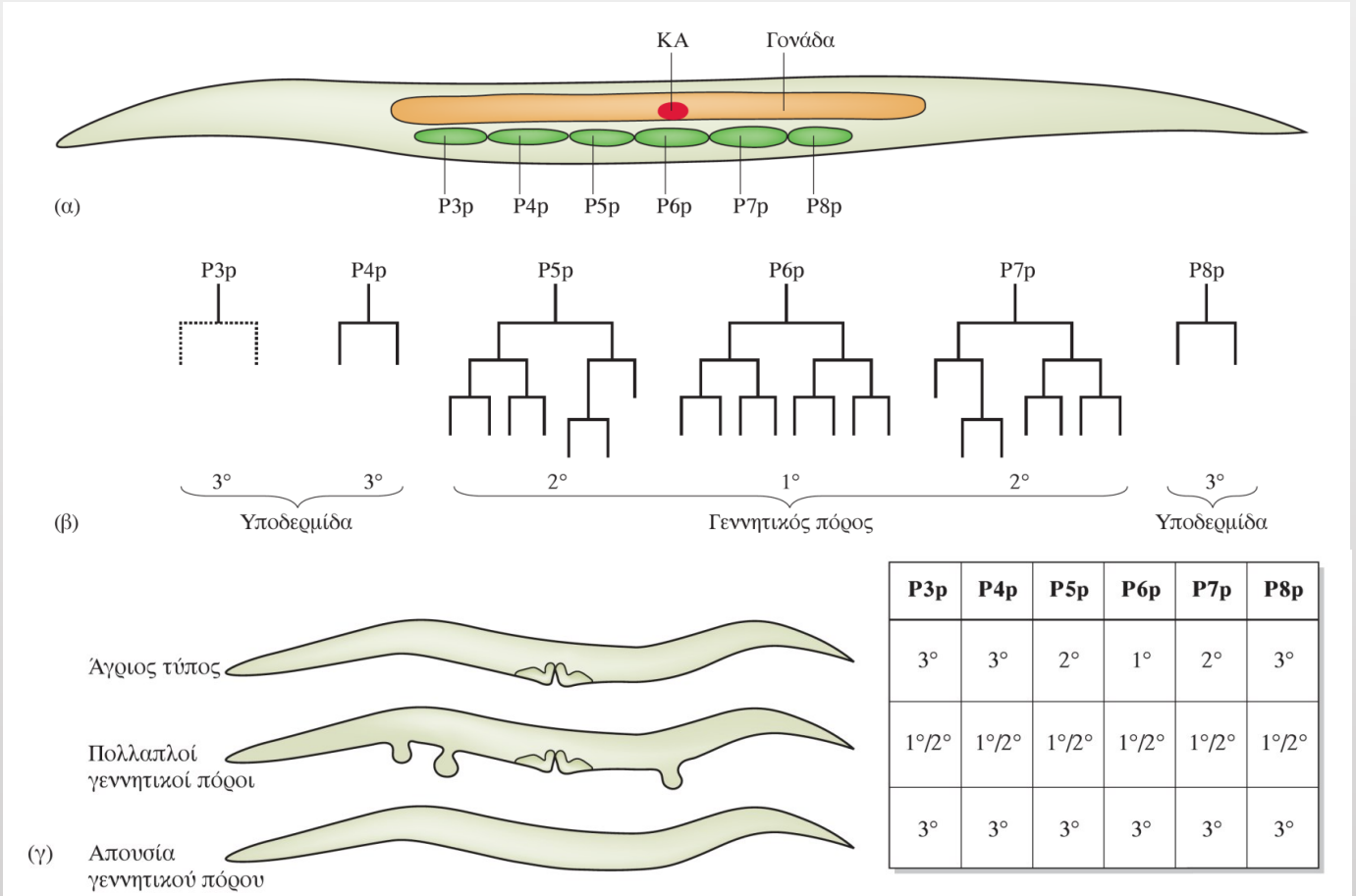
Ο γεννητικός πόρος

- Δομή της επιδερμίδας
- Σχηματιζεται στο στάδιο της προνύμφης (L3)
- Αναπτύσσεται από τα κύτταρα **P5p, P6p και P7p:** οπίσθια θυγατρικά κύτταρα - απόγονοι των εμβρυϊκής προέλευσης εξωδερμικών κυττάρων P5, P6 και P7
- **P6p: οκτώ** απόγονοι που συμμετέχουν στον γεννητικό πόρο - 1ο πεπρωμένο
- **P5p , P7p** : επτά απόγονοι που συμμετέχουν στον γεννητικό πόρο.- 2ο πεπρωμένο
- **P3p, P4p και P8p**: δύο απογόνους το καθένα – φυσιολογικά σχηματίζουν την υποδερμίδα – 3ο πεπρωμένο



P3p	P4p	P5p	P6p	P7p	P8p
3°	3°	2°	1°	2°	3°
1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°
3°	3°	3°	3°	3°	3°

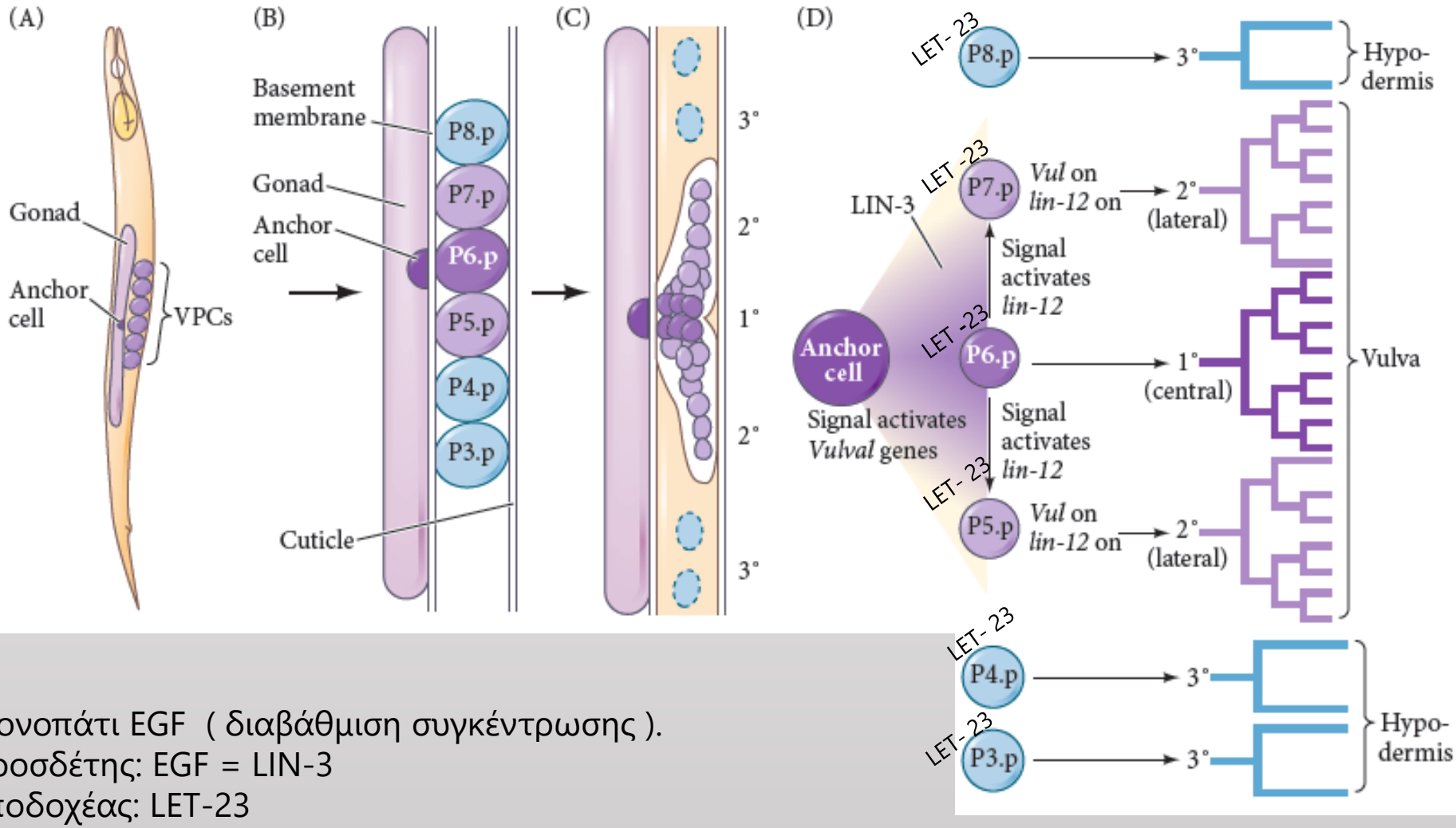
Ο γεννητικός πόρος



P3p	P4p	P5p	P6p	P7p	P8p
3°	3°	2°	1°	2°	3°
1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°
3°	3°	3°	3°	3°	3°

Τα έξι κύτταρα P3p-P8p αποτελούν μια **ομάδα ισοδυναμίας** επειδή όλα είναι ικανά να δώσουν απογόνους που είναι δυνατόν να διαφοροποιηθούν σε κύτταρα του γεννητικού πόρου, ενώ επίσης, κάτω από πειραματικές συνθήκες, είναι εφικτό να υποκαταστήσουν το ένα το άλλο – Σχέση με το θέσης με το **Κυτταρο αγκύρωσης (ΚΑ).**

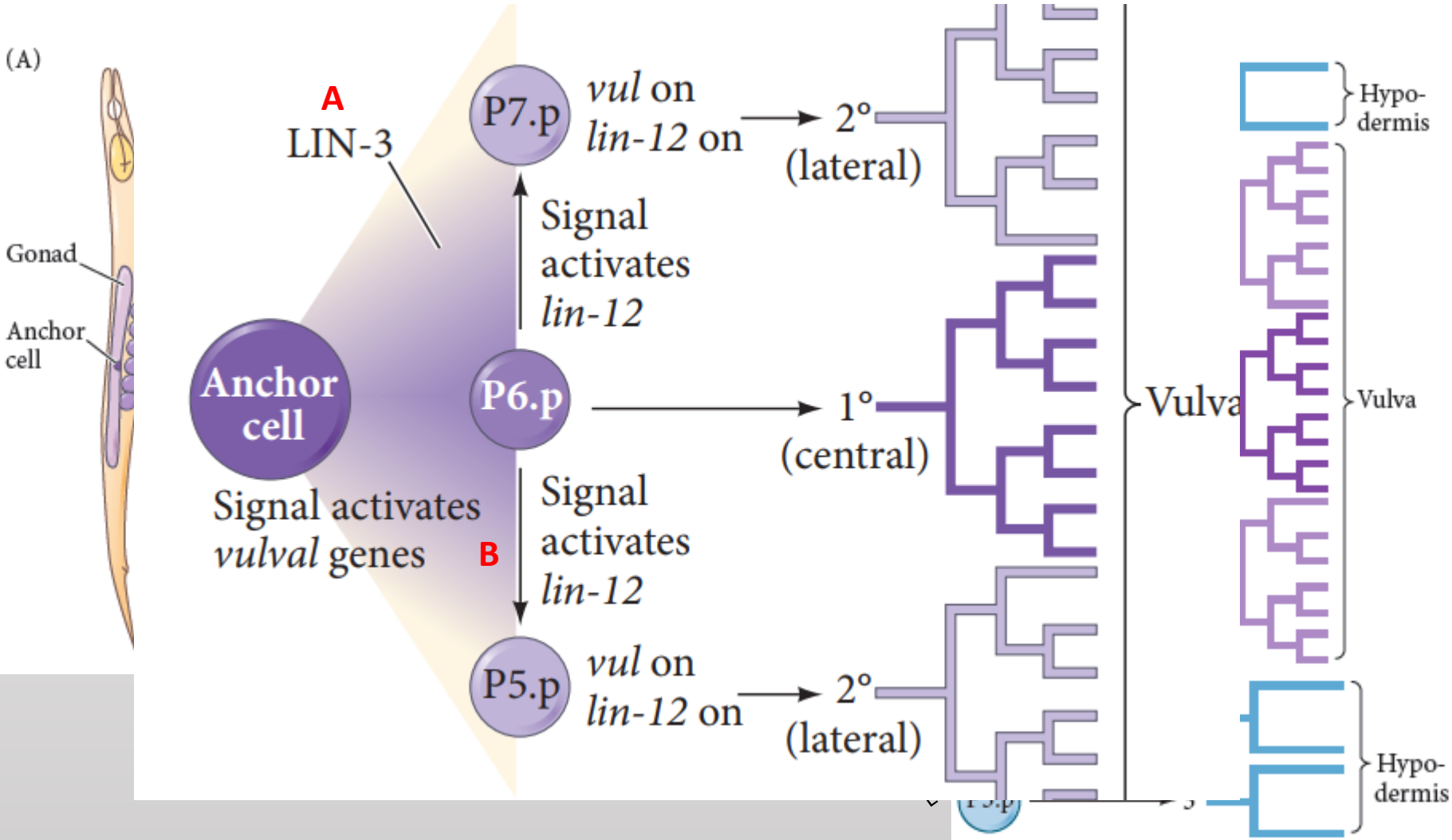
Ο γεννητικός πόρος



Μονοπάτι EGF (διαβάθμιση συγκέντρωσης).
Προσδέτης: EGF = LIN-3
Υποδοχέας: LET-23
Ras = *let - 60*

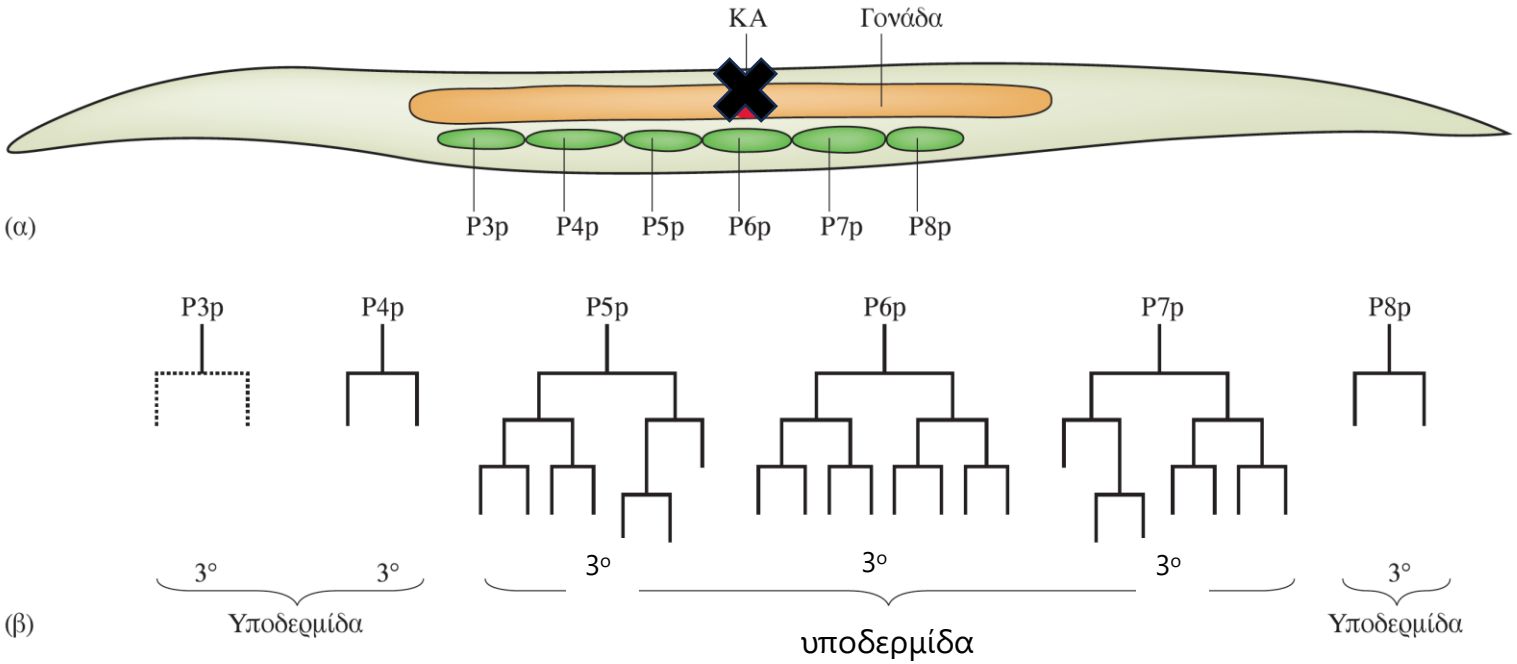
- Τα κύτταρα που βρίσκονται πιο κοντά στο ΚΑ λαμβάνουν μεγαλύτερη ποσότητα σήματος (LIN-3) και απο αυτά προκύπτει ο γεννητικός πόρος (P6p, P5p,P7p).

Ο γεννητικός πόρος



- Το κύτταρο που βρίσκεται πιο κοντα στο ΚΑ (P6.p) δέχεται το ισχυρότερο σήμα LIN-3 (**A**), αποκτά πρωτογενή κυτταρική μοίρα (1°) και σχηματίζει τα κεντρικά κύτταρα του γεν. πόρου.
- Το P6.p εκφράζει τον προσδέτη LAG-2 (σήμα **B**), ο οποίος ενεργοποιεί τον υποδοχέα LIN-12/Notch στα γειτονικά κύτταρα P5.p και P7.p. Έτσι, αναστέλλεται η απόκτηση πρωτογενούς μοίρας και προάγεται η δευτερογενής κυτταρική μοίρα (2°)- πλευρικά κύτταρα.

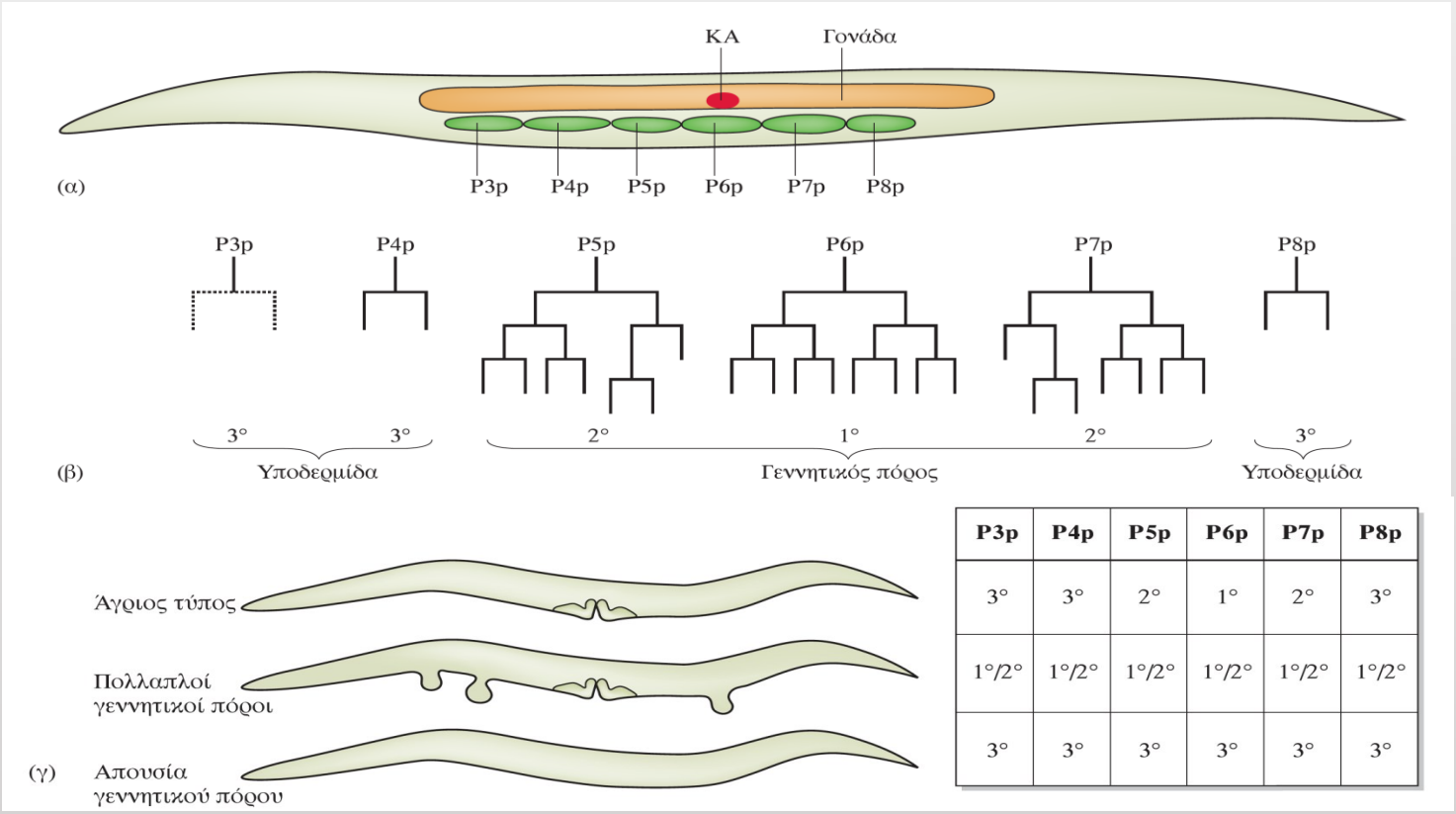
Ο γεννητικός πόρος (μεταλλάγματα)



P3p	P4p	P5p	P6p	P7p	P8p
3°	3°	2°	1°	2°	3°
1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°
3°	3°	3°	3°	3°	3°

- Θανάτωση με λέιζερ του ΚΑ: Τα P3p-P8p ακολουθούν το 3ο-οχι γενετικος πόρος
- Μεταλλάγματα displaced gonad = ΚΑ μετακινείται σε σχέση με τα P3p-P8p = κοντινότερο σε ΚΑ

Ο γεννητικός πόρος

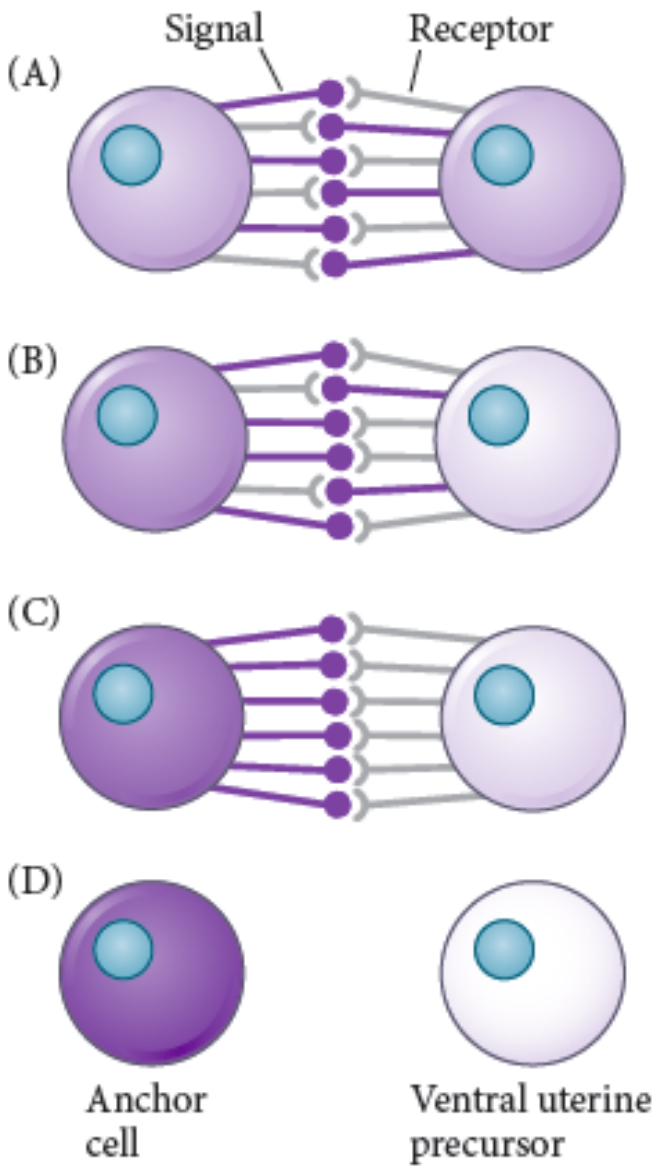


P3p	P4p	P5p	P6p	P7p	P8p
3°	3°	2°	1°	2°	3°
1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°	1°/2°
3°	3°	3°	3°	3°	3°

Δύο κύριες ομάδες μεταλλαγμάτων:
vulvaless =απουσιάζει ο γεννητικός πόρος (ιδιος φαινότυπος με καταστροφή ΚΑ).
Multivulva = πολλαπλοί γεννητικοί πόροι από την ομάδα κυττάρων P3p-P8p.

Loss - of - function let-60 = vulvaless phenotype
gain - of - function let-60 = multivulva phenotype

Ο γεννητικός πόρος (καθορισμός ΚΑ)



(Greenwald and Rubin 1992)

Πώς όμως προκύπτει το κύτταρο αγκύρωσης?

Πλευρική αναστολή = Μονοπάτι Notch Στοχαστικό φαινόμενο που όμως ενισχύεται (βλ. Α προς D)!!

LIN-12 = NOTCH
LAG-2 = DELTA

Α) Z1.ppp και Z4.aaa με το ίδιο δυναμικό παράγουν διαφορετικά επίπεδα υποδοχέα-σήματος (lin-12, lag-2).

Β) Στοχαστικά κάποιο απο τα δύο θα παράγει πιο πολύ LAG-2 (Delta) και το άλλο θα αναγκαστεί να παράγει περισσότερο LIN-12 (Notch).
Γ) Η ενεργοποίηση του υποδοχέα (LIN-12) καταστέλλει την έκφραση του προσδέτη (LAG-2) και επάγει την έκφραση του υποδοχέα!

Δ) Το κύτταρο που θα εκφράζει περισσότερη LAG-2 (Delta) θα γίνει το ΚΑ.