

# Η αναπτυξιακή βιολογία της *D. melanogaster*

2.1.	Εισαγωγή. ....	1
2.2.	Ο κύκλος ζωής της <i>D. melanogaster</i> . ....	2
2.3	Η ωογένεση στη <i>D. melanogaster</i> . ....	4
2.4	Η εμβρυογένεση στη <i>D. melanogaster</i> . ....	7
2.5	Η μετα-εμβρυϊκή ανάπτυξη της <i>D. melanogaster</i> . ....	16
2.6	Τα γονίδια μητρικής επίδρασης. ....	17
2.7	Τα ζυγωτικά γονίδια. ....	18
2.8	Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα I: Ο ρόλος των μητρικών γονιδίων. ....	22
	Α. Εισαγωγή.	
	Β. Ο ρόλος του bicoid στο σχηματισμό εμπρόσθιων δομών.	
	Γ. Ο ρόλος του nanos στο σχηματισμό εμπρόσθιων δομών.	
	Δ. Ο ρόλος του torso στο σχηματισμό των άκρων του εμβρύου.	
2.9	Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα I: Ο ρόλος των ζυγωτικών γονιδίων. ....	30
	Α. Εισαγωγή.	
	Β. Τα κασματικά γονίδια.	
	Γ. Τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών.	
	Δ. Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών.	
	Ε. Τα ομοιοτικά γονίδια.	
2.10	Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του κοιλιακού - ραχιαίου άξονα I: Ο ρόλος των μητρικών γονιδίων. ....	39
2.11	Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του κοιλιακού - ραχιαίου άξονα II: Ο ρόλος των ζυγωτικών γονιδίων. ....	41
2.12	Επίλογος. ....	42
Παράρτημα:	Συνοπτική αναφορά στα σημαντικότερα από τα γονίδια που ελέγχουν την ανάπτυξη της <i>D. melanogaster</i> . ....	43
Βιβλιογραφία.	.....	44



## Η αναπτυξιακή βιολογία της *D. melanogaster*

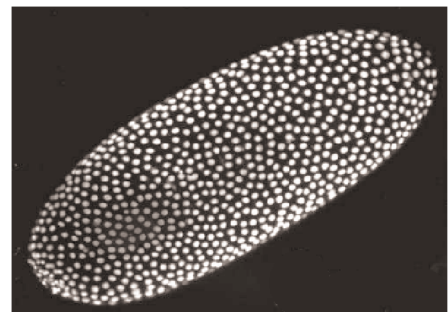
### 2.1. Εισαγωγή.

Στις αρχές του εικοστού αιώνα ο Tomas Hunt Morgan (Εικόνα 2.1), προκειμένου να μελετήσει τη «χρωμοσωμική θεωρία της κληρονομικότητας»\* επέλεξε τη *D. melanogaster* γιατί συγκέντρωνε ως πειραματόζωο μια σειρά από σημαντικά πλεονεκτήματα. Η καλλιέργειά της έχει ελάχιστο κόστος και διατηρείται πολύ εύκολα στο εργαστήριο. Επιπλέον, ο κύκλος ζωής της διαρκεί μόλις 9 – 10 μέρες στους 25 °C, αφήνει μεγάλο αριθμό απογόνων και έχει μόνο τέσσερα χρωμοσώματα. Για τους παραπάνω λόγους η δροσόφιλα αποτελεί εδώ και έναν αιώνα το αγαπημένο πειραματόζωο των γενετιστών, γεγονός που οδήγησε σταδιακά στην ανάπτυξη μιας μεγάλης ποικιλίας τεχνικών για τη μελέτη της.

Ως πειραματικό υλικό για εμβρυολογικές μελέτες η δροσόφιλα παρουσιάζει επίσης κάποια πλεονεκτήματα. Τα ωάρια της είναι αρκετά μεγάλα (0,15 mm X 0,5 mm) και τα έμβρυα αναπτύσσονται έξω από το σώμα του ζώου, στοιχεία που διευκολύνουν ορισμένους πειραματικούς χειρισμούς. Παρόλα αυτά οι εμβρυολογικές μελέτες στη δροσόφιλα αποδείχθηκαν αρκετά δύσκολες κυρίως λόγω του ιδιαίτερου τρόπου με τον οποίο αναπτύσσεται κατά τα πρώτα εμβρυικά στάδια. Στη δροσόφιλα (όπως άλλωστε και στα περισσότερα έντομα) οι πρώτες πυρηνικές διαιρέσεις που ακολουθούν τη γονιμοποίηση δεν συνοδεύονται από το σχηματισμό ανεξάρτητων κυττάρων. Οι πυρήνες που προκύπτουν μοιράζονται το κοινό κυτταρόπλασμα του ωαρίου σχηματίζοντας ένα **συγκύτιο**. Κατά τα πρώτα λοιπόν στάδια της ανάπτυξής του, το έμβρυο είναι μονοκύτταρο και πολυπύρηνο (Εικόνα 2.2). Το γεγονός αυτό καθιστά αδύνατη την πραγματοποίηση μιας σειράς προσεγγίσεων, που στα πλαίσια της πειραματικής εμβρυολογίας ακολουθήθηκαν σε άλλους οργανισμούς κατά το πρώτο μισό του εικοστού αιώνα. Στα αμφίβια π.χ. πολλά σημαντικά πειράματα βασιζόνταν στη μεταμόσχευση συγκεκριμένων κυττάρων ενός εμβρύου δότη σε καθορισμένες περιοχές ενός εμβρύου δέκτη. Επίσης, χάρη στη σήμανση συγκεκριμένων κυττάρων με ζωτικές χρωστικές (vital dyes) κατασκευάστηκαν οι πρώτοι χάρτες πεπρωμένου (fate maps). Ανάλογα πειράματα είναι αδύνατο να πραγματοποιη-



**Εικόνα 2.1:** Φωτογραφία του T. H. Morgan ανάμεσα σε συνεργάτες του. Από αριστερά προς τα δεξιά: C. Bridges, P. Reed (σύζυγος του A. H. Sturtevant), T. H. Morgan, A. H. Sturtevant και E. M. Wallace (φιλολογούσε τα σχέδια που συνόδευαν τις δημοσιεύσεις του εργαστηρίου και φρόντιζε τις διασταυρώσεις).



**Εικόνα 2.2:** Νεαρό έμβρυο δροσόφιλας στο οποίο εντοπίζονται οι πυρήνες με τη βοήθεια ενός φθορίζοντος αντισώματος που αναγνωρίζει τις ιστόνες. Στη φάση αυτή το έμβρυο δεν αποτελείται από ανεξάρτητα κύτταρα. Οι πυρήνες μοιράζονται ένα κοινό κυτταρόπλασμα με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός συγκυτίου (Fogarty et al 1994).

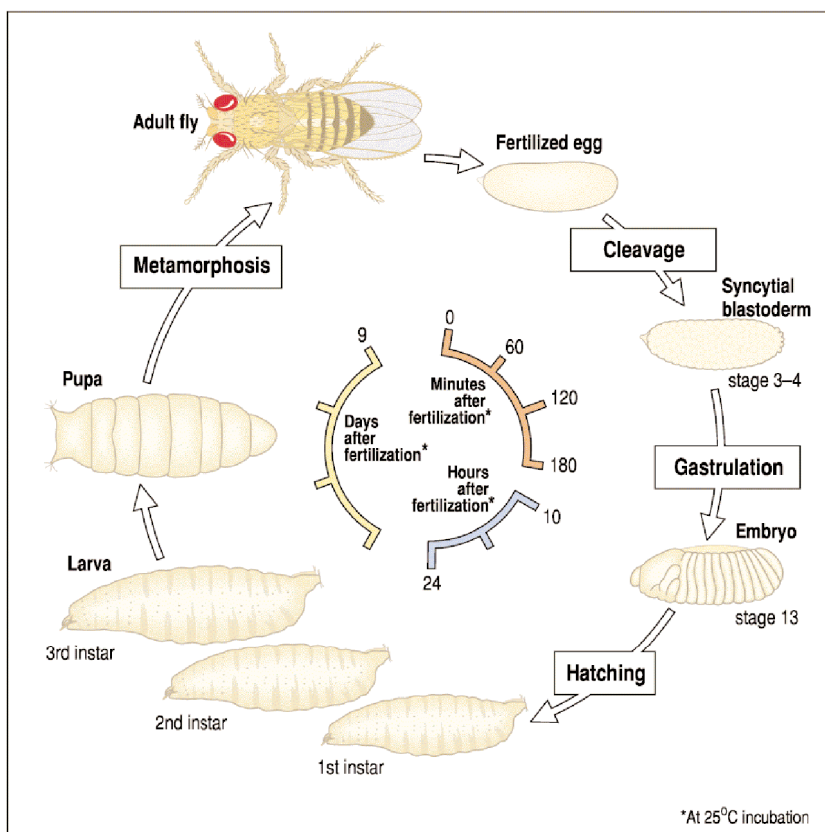
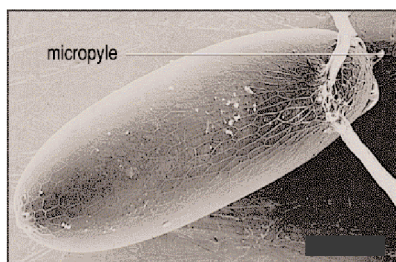
\*Το 1883 πρώτος ο W. Roux διατύπωσε την άποψη, πως οι νηματοειδείς δομές που περιέχονται στον πυρήνα (και οι οποίες το 1888 ονομάστηκαν χρωμοσώματα από τον W. Waldeyer) συνιστούν τις δομικές μονάδες της κληρονομικότητας, μέσω των οποίων μεταφέρονται από γενιά σε γενιά τα κληρονομικά χαρακτηριστικά. Η υπόθεση αυτή του Roux αποτέλεσε την πρώτη διατύπωση της «χρωμοσωμικής θεωρίας της κληρονομικότητας» η οποία υιοθετήθηκε και εξελίχθηκε αρχικά από τον A. Weismann και στη συνέχεια από τον W. S. Sutton. Η χρωμοσωμική θεωρία της κληρονομικότητας αποδείχθηκε στη διάρκεια της δεύτερης δεκαετίας του εικοστού αιώνα χάρη στα πειράματα που διεξήγαγαν ο T. H. Morgan και οι συνεργάτες του A. H. Sturtevant, C. Bridges και H. Muller στο πανεπιστήμιο Columbia. Συναρπαστικές πληροφορίες για την ιστορία της γενετικής μπορείτε να βρείτε στο βιβλίο «A history of Genetics» του A. H. Sturtevant (1965) στη διεύθυνση <http://www.esp.org/books>.

θούν στο νεαρό έμβρυο της δροσόφιλας. Χρειάστηκε λοιπόν να φτάσουμε στην εποχή της Μοριακής Βιολογίας, οι τεχνικές της οποίας επιτρέπουν τον χειρισμό των γονιδίων και του RNA των οργανισμών, προκειμένου οι συσσωρευμένες γνώσεις πάνω στη γενετική της δροσόφιλας, να αξιοποιηθούν προς την κατεύθυνση της κατανόησης των μηχανισμών που ρυθμίζουν την ανάπτυξη της.

## 2.2. Ο κύκλος ζωής της *D. melanogaster*.

Ο κύκλος ζωής της *D. melanogaster* (Εικόνα 2.3), όπως αναφέραμε και παραπάνω, ολοκληρώνεται στους 25 °C σε μόλις 9 έως 10 μέρες . Μετά τη γονιμοποίηση ο διπλοειδής πυρήνας του ζυγωτού αρχίζει να διαιρείται με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός συγκυτίου. Στη συνέχεια οι πυρήνες περικλείονται από μεμβράνες ώστε να σχηματιστούν κύτταρα και αμέσως μετά ακολουθεί η γαστριδίωση. Η μεταμερική οργάνωση του εμβρύου γίνεται ορατή μετά τη γαστριδίωση (βλέπε Ενθετο 2.1 και Στάδιο 13 στην Εικόνα 2.3). Μέσα σε περίπου 24 ώρες (στους 25 °C) ολοκληρώνεται η εμβρυϊκή ανάπτυξη με την εκκόλαψη της **προνύμφης πρώτου σταδίου** (first instar larva). Καθώς η προνύμφη αναπτύσσεται θα χρειαστεί δύο φορές να αποβάλει το χιτινώδες περίβλημά της (cuticle) με τη διαδικασία της **έκδυσης**. Μετά την πρώτη έκδυση ονομάζεται προνύμφη δεύτερου σταδίου ενώ μετά την δεύτερη έκδυση ονομάζεται προνύμφη τρίτου σταδίου. Η προνύμφη τρίτου σταδίου κάποια στιγμή ακινητοποιείται και εκκρίνει ένα ιδιαίτερα ανθεκτικό χιτινώδες περίβλημα, το **ryarium**, γεγονός που σηματοδοτεί τη μετατροπή της σε **νύμφη** (ryra). Στη φάση της νύμφης θα συντελεσθεί το φαινόμενο της μεταμόρφωσης. Κατά τη μεταμόρφωση, από την προνύμφη της οποίας η μορφή θυμίζει περισσότερο σκώληκα, σχηματίζεται το ώριμο έντομο.

**Εικόνα 2.3:** Σχηματική απεικόνιση του κύκλου ζωής της *D. melanogaster*. Οι τρεις φωτογραφίες αριστερά απεικονίζουν (από πάνω προς τα κάτω): ώαριο πριν από τη γονιμοποίηση, προνύμφη και νύμφη. Στο ώαριο επισημαίνεται η θέση της μικροπύλης, η οποία είναι ένα μικρό άνοιγμα στο κέλυφος του αυγού μέσω του οποίου εισέρχεται το σπέρμα κατά τη γονιμοποίηση.



**Ενθετο 2.1: Μεταμερισμός.**

Με τον όρο **μεταμερισμός** (metamerism ή segmentation) αναφερόμαστε στο φαινόμενο της διαίρεσης του σώματος ενός ζώου, κατά μήκος του εμπρόσθιου – οπίσθιου άξονα, σε επαναλαμβανόμενες μονάδες που ονομάζονται **μεταμερή** (metamers ή segments). Μεταμερική οργάνωση παρουσιάζει το σώμα των ζώων που ανήκουν στα φύλα των **Αννελιδίων των Αρθρόποδων** και των **Χορδωτών**.

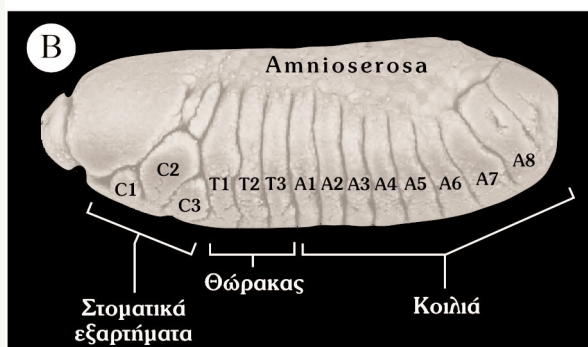
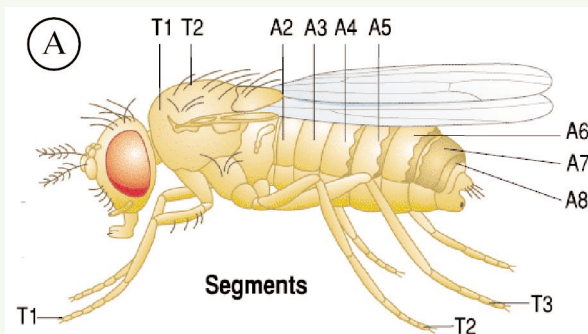
Στα Αννελίδια (Annelida από το λατινικό *anellus* που σημαίνει δακτύλιος) υπάγονται μεταξύ άλλων ομάδων ζώων και οι γεωσκώληκες. Ένα τυπικό Αννελίδιο, με εξαίρεση την κεφαλή και το οπίσθιο άκρο που εμφανίζουν χαρακτηριστική μορφολογία, αποτελείται από επαναλαμβανόμενα μεταμερή τα οποία μοιάζουν πολύ μεταξύ τους. Αυτού του τύπου η μεταμερική οργάνωση ονομάζεται **ομόνυμη** (homonomous segmentation).

Στην περίπτωση των αρθρόποδων τα μεταμερή μπορεί να εμφανίζουν αρκετές διαφορές μεταξύ τους. Αυτού του τύπου η μεταμερική οργάνωση ονομάζεται **ετερόνυμη** (heteronomous segmentation). Τα μεταμερή των αρθροπόδων (σπανιότερα και των Αννελιδίων) εμφανίζουν την τάση να συντήκονται μεταξύ τους σχηματίζοντας έτσι διακριτές ομάδες μεταμερών. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται **τάγμωση** (tagmosis ή tagmatization) ενώ οι διάφορες ομάδες μεταμερών ονομάζονται **τάγματα** (tagmata / ενικός tagma). Ειδικά στην ομάδα των εντόμων στην οποία ανήκει και η *D. melanogaster* απαντούν τρία τάγματα (Εικόνα Α): το **κεφάλι** (head), ο **θώρακας** (thorax) και η **κοιλιά** (abdomen). Στην περίπτωση του κεφαλιού των ώριμων ατόμων τα μεταμερή συντήκονται πλήρως μεταξύ τους. Έτσι, η μεταμερική οργάνωση του κεφαλιού δεν είναι ορατή, καθώς έχει τη μορφή μιας ενιαίας και συμπαγούς δομής. Η μεταμερική όμως οργάνωση φαίνεται στην περιοχή του θώρακα ενώ είναι ιδιαίτερα εμφανής στην περιοχή της κοιλιάς. Στο έμβρυο της δροσόφιλας η μεταμερική του οργάνωση γίνεται ορατή περίπου 10 ώρες μετά τη γονιμοποίηση (Εικόνα Β).

Το φαινόμενο του μεταμερισμού εμφανίζεται και στα Χορδωτά. Στα σπονδυλόζωα (τα οποία αποτελούν τη μεγαλύτερη υποομάδα των χορδωτών) η σπονδυλική στήλη αποτελείται από όμοιες επαναλαμβανόμενες μονάδες, τους σπονδύλους. Επίσης διάφοροι μύες του σώματος, όπως π.χ. αυτοί που συνδέονται στη σπονδυλική στήλη, παρουσιάζουν μεταμερική οργάνωση.

Απο εξελικτικής απόψεως η οργάνωση του σώματος σε μεταμερή εμφανίζει μια σειρά σημαντικών πλεονεκτημάτων. Η ύπαρξη λιγότερο ή περισσότερα όμοιων λειτουργικών μονάδων που επαναλαμβάνονται, βοηθά στην επιβίωση του ζώου σε περίπτωση τραυματισμού. Καθώς οι επαναλαμβανόμενες μονάδες

του σώματος δεν επιτελούν μοναδικές λειτουργίες η καθεμιά, αν π.χ. κάποια από αυτές υποστεί βλάβη, το ζώο είναι δυνατό να επιβιώσει. Επίσης το σώμα του ζώου αποκτά ιδιαίτερη ευλιγισία γεγονός το οποίο μπορεί να διευκολύνει ορισμένες λειτουργίες και δραστηριότητές του όπως π.χ. το ζευγάρισμα (Εικόνα Γ).



**Α:** Η μεταμερική οργάνωση του σώματος ενός ενήλικου ατόμου δροσόφιλας είναι φανερή κυρίως στην περιοχή της κοιλιάς και δευτερευόντος στην περιοχή του θώρακα. Επισημαίνονται τα τρία θωρακικά (T1-3) καθώς και τα οχτώ κοιλιακά (A1-8) μεταμερή.

**Β:** Έμβρυο δροσόφιλας περίπου 10 ωρών. Από τα μεταμερή T1-3 και A1-8 θα προκύψουν ο θώρακας και η κοιλιά αντίστοιχα. Από τα μεταμερή C1-3 θα προκύψουν τα στοματικά εξαρτήματα που αποτελούν τμήμα της κεφαλής. Το μεγαλύτερο όμως τμήμα της κεφαλής θα προκύψει από την περιοχή του εμβρύου που δεν έχει ορατά μεταμερική οργάνωση. Η περιοχή του εμβρύου που έχει ορατά μεταμερική οργάνωση (C1-3, T1-3 και A1-8) ονομάζεται **βλαστική ζώνη**. Η *amnioserosa* είναι μία εξωεμβρυϊκή μεμβράνη.

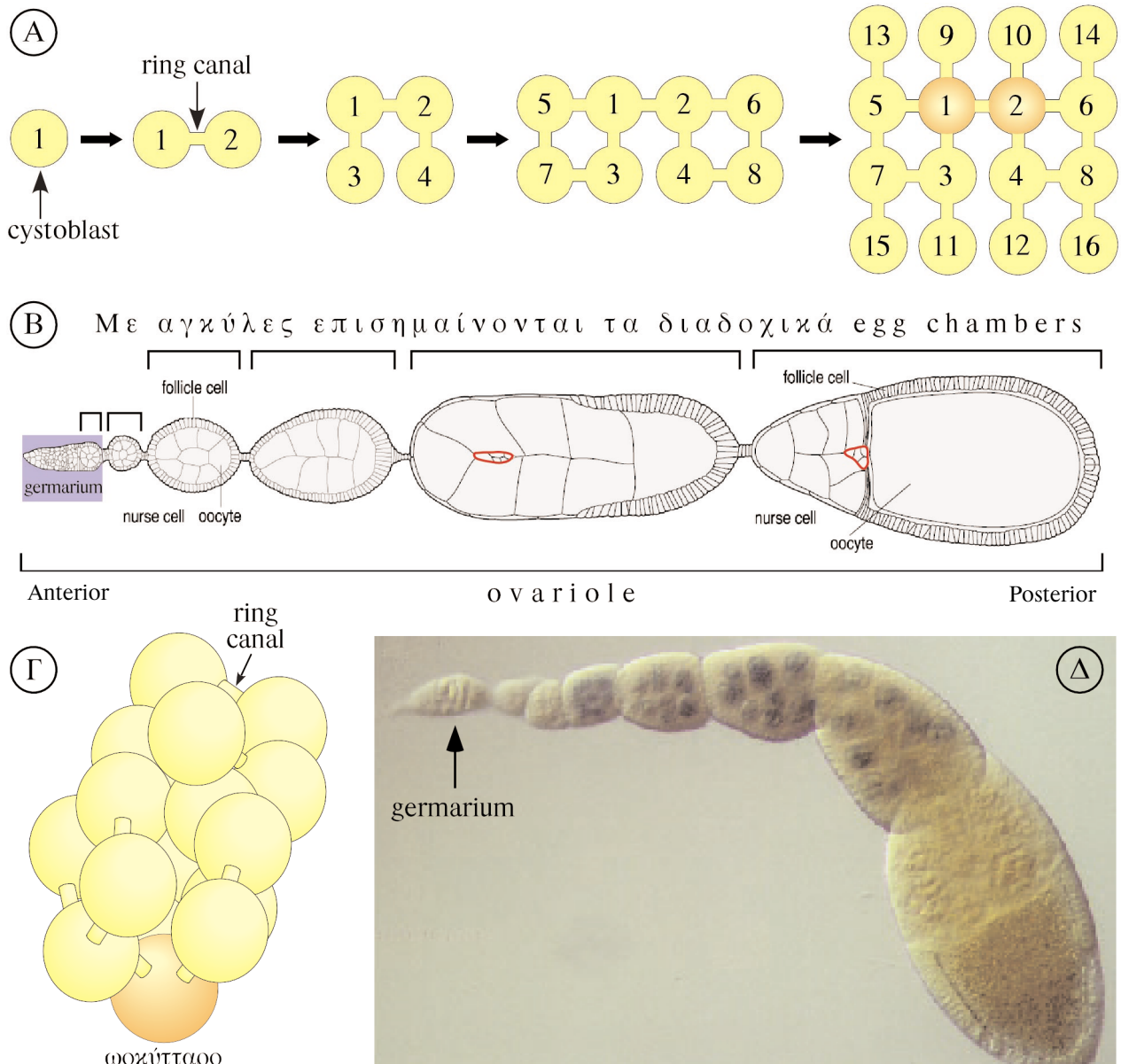
**Γ:** Η ευλιγισία που χάρη στη μεταμερική της οργάνωση χαρακτηρίζει την κοιλιακή περιοχή της δροσόφιλας διευκολύνει σημαντικά το ζευγάρισμα.

## 2.3 Η ωογένεση στη *D. melanogaster*.

Με τον όρο **ωογένεση** αναφερόμαστε στη διαδικασία σχηματισμού του **ωαρίου / αυγού** (ovum – πληθ. ova / egg cell) από ένα πρόδρομο διπλοειδές κύτταρο που ονομάζεται **ωοκύτταρο** (oocyte). Η ωογένεση περιλαμβάνει όχι μόνο το σχηματισμό του γονιδιώματος του ωαρίου με τη διαδικασία της μείωσης, αλλά και τις διαδικασίες σχηματισμού του **χορίου** (chorion), της **λεκιθικής μεμβράνης** (vitelline membrane) και της **λεκίθου** (yolk). Το χόριο είναι το προστατευτικό κέλυφος του αυγού της δροσόφιλας. Η λεκιθική μεμβράνη βρίσκεται κάτω από το χόριο και σε κάποια απόσταση από την κυτταρική μεμβράνη του ωαρίου. Το διάστημα μεταξύ λεκιθικής και κυτταρικής μεμβράνης ονομάζεται **περιλεκιθικός χώρος** (perivitelline space). Στον περιλεκιθικό χώρο μεταφέρεται η λέκιθος η οποία συντίθεται από σωματικά κύτταρα, προκειμένου να προσληφθεί από το ωοκύτταρο. Η λέκιθος εναποτίθεται στην κεντρική περιοχή του ωοκυττάρου και χρησιμοποιείται κατά την εμβρυογένεση ως πηγή ενέργειας.

Οι ωοθήκες της δροσόφιλας αποτελούνται από 16 - 20 ανεξάρτητες λειτουργικές μονάδες οι οποίες ονομάζονται **ovarioles** (*van Eeden and St Johnston 1999, Riechmann and Ephrussi 2001*). Στο εμπρόσθιο άκρο κάθε ovariole απαντά μια διαφοροποιημένη δομή κωνικού σχήματος, το **germarium**. Στο germarium εδράζονται 2 - 3 **Germ – line Stem Cells** (GSC). Τα GSC έχουν την ιδιότητα να διαιρούνται ασύμμετρα, παράγοντας δύο θυγατρικά κύτταρα εκ των οποίων το ένα συνεχίζει να λειτουργεί ως GSC ενώ το άλλο ονομάζεται **κυστοβλάστης** (cystoblast). Ο κυστοβλάστης πραγματοποιεί 4 μιτωτικές διαιρέσεις με ατελή κυτοκίνηση (incomplete cytokinesis). Καθώς η κυτοκίνηση δεν ολοκληρώνεται, τα 16 κύτταρα που σχηματίζονται από τις 4 μιτώσεις παραμένουν συνδεδεμένα με κυτταροπλασματικές γέφυρες οι οποίες ονομάζονται **δακτυλιοειδή κανάλια** (ring canals - Εικόνα 2.4A). Έτσι προκύπτει ένα σύμπλεγμα 16 κυττάρων που συνδέονται μεταξύ τους. Το σύμπλεγμα αυτό αναφέρεται ως **κύστη** ενώ τα κύτταρα από τα οποία αποτελείται ονομάζονται **κυστοκύτταρα**.

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.4A, από τα 16 κυστοκύτταρα μόνο τα δύο φέρουν τέσσερα δακτυλιοειδή κανάλια. Το ένα από αυτά (με μηχανισμούς στους οποίους δεν θα αναφερθούμε) θα επιλεγεί για να γίνει ωοκύτταρο, δηλαδή το πρόδρομο κύτταρο από το οποίο θα προκύψει το ωάριο. Τα υπόλοιπα 15 κυστοκύτταρα θα αποτελέσουν τα λεγόμενα **βοηθητικά κύτταρα** (nurse cells). Παράλληλα με την επιλογή του ωοκυττάρου ορισμένα σωματικά κύτταρα επαναιδευθετούνται ώστε να σχηματίσουν ένα μονόστιβο επιθήλιο γύρω από την κύστη. Τα σωματικά αυτά κύτταρα ονομάζονται **ωοθυλακικά κύτταρα** (follicle cells) και μαζί με τα κύτταρα της κύστης σχηματίζουν μια ενιαία δομή που ονομάζεται **θάλαμος του ωαρίου** (egg chamber). Στο εσωτερικό του νεοσχηματισμένου θαλάμου τα 16 κύτταρα της κύστης μετακινούνται το ένα σε σχέση με το άλλο, κατά τέτοιο τρόπο ώστε το ωοκύτταρο να βρεθεί στο οπίσθιο άκρο (Εικόνα 2.4B,Γ). Λίγο μετά το σχηματισμό του, ο θάλαμος του ωαρίου εγκαταλείπει το germarium βγαίνοντας από το εμπρόσθιο άκρο του και αρχίζει να κινείται κατά μήκος του ovariole.



Στο germarium δημιουργούνται συνεχώς νέοι θάλαμοι ωαρίου που ωριμάζουν καθώς μετακινούνται προς το οπίσθιο τμήμα του ovariole που καταλήγει στον αγωγό, στον οποίο και πρόκειται να ελευθερωθούν τα ώριμα ωάρια. Κατά μήκος λοιπόν του ovariole συναντάμε διαδοχικούς θαλάμους ωαρίων, καθένας από τους οποίους βρίσκεται σε διαφορετική φάση ανάπτυξης. Καθώς ο θάλαμος του ωαρίου ωριμάζει στην πορεία της μετακίνησής του από το εμπρόσθιο προς το οπίσθιο τμήμα του ovariole, η μορφολογία του υφίσταται θεαματικές αλλαγές (Εικόνα 2.4B,Δ). Αρχικά το ωοκύτταρο έχει το ίδιο περίπου μέγεθος με τα βοηθητικά κύτταρα. Σταδιακά όμως, και καθώς αυξάνεται το μέγεθος ολόκληρου του θαλάμου του ωαρίου, το ωοκύτταρο αρχίζει να μεγενθύνεται εις βάρος των βοηθητικών κυττάρων.

Τόσο τα βοηθητικά όσο και τα ωοθυλακικά κύτταρα τροφοδοτούν με λέκιθο το ωοκύτταρο. Τα ωοθυλακικά κύτταρα επιπλέον εκκρίνουν τις ουσίες που απαιτούνται για το σχηματισμό του χορίου και της λεκιθικής μεμβράνης. Όμως ο ρόλος των βοηθητικών και των ωοθυλακικών κυττάρων δεν περιορίζεται στα παραπάνω. Συμμετέχουν επίσης στη ρύθμιση του αναπτυξιακού προγράμματος του μελλοντικού εμβρύου (Van Buskirk and Schüpbach 1999). Τα βοηθητικά κύττα-

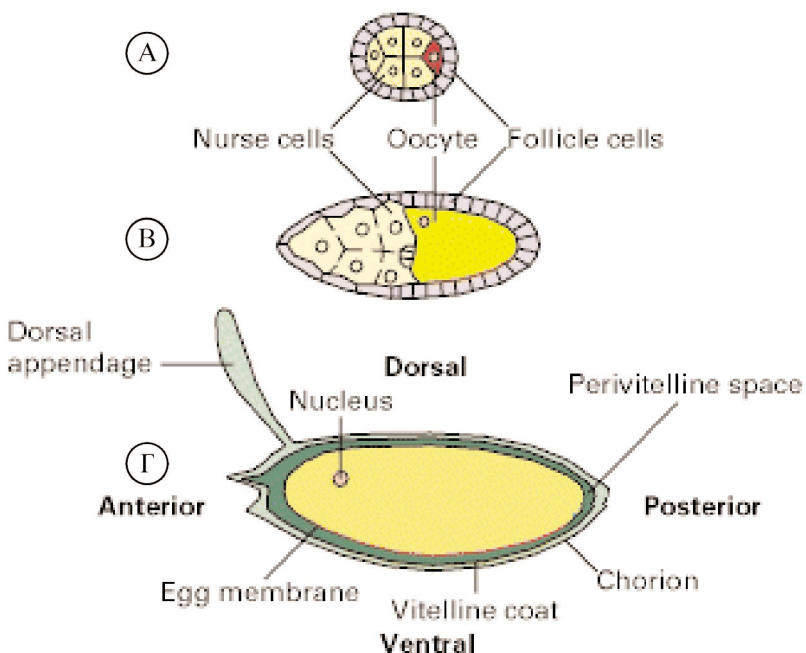
**Εικόνα 2.4:** Α. Σχηματική και απλουστευμένη αναπαράσταση της διαδικασίας με την οποία από τον κυστοβλάστη προκύπτουν 16 κυστοκύτταρα. Β. Ένα ovariole αποτελείται από το germarium και διαδοχικούς θαλάμους ωαρίων καθένας από τους οποίους βρίσκεται σε διαφορετική φάση ανάπτυξης. Τα κύτταρα που επισημαίνονται στους δύο τελευταίους θαλάμους με κόκκινο, είναι ωοθυλακικά που εγκαταλείπουν το οπίσθιο άκρο του θαλάμου και μεταναστεύουν διαμέσου των βοηθητικών κυττάρων ώστε να έρθουν σε επαφή με την οπίσθια περιοχή του ωαρίου. Γ. Μοντέλο που αποδίδει σχηματικά τις θέσεις στο χώρο των 15 βοηθητικών κυττάρων και του ωοκυττάρου, στη φάση που επαναδιευθετούνται ώστε να τοποθετηθεί το ωοκύτταρο στο οπίσθιο άκρο του νεοσχηματισμένου θαλάμου του ωαρίου. Δ. Φωτογραφία ενός ovariole. Η σκούρα μπλέ χρώση στους πυρήνες των βοηθητικών κυττάρων ορισμένων θαλάμων ωαρίου, οφείλεται στην παρουσία ενός διαγονιδίου το οποίο φέρει το *lacZ* (Schonbaum et al 2000).

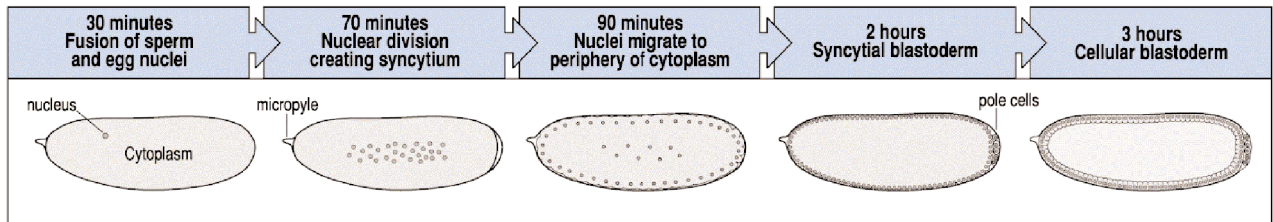
ρα τροφοδοτούν το ωκύτταρο μέσω των δακτυλιοειδών καναλιών, με μια σειρά RNA μορίων και πρωτεϊνών που στη συνέχεια θα αποτελέσουν καθοριστικούς ρυθμιστές της ανάπτυξης του εμβρύου. Σε ό,τι αφορά τα ωθυλακικά κύτταρα, ορισμένα από αυτά που βρίσκονται στο εμπρόσθιο άκρο του θαλάμου του ωαρίου, μεταναστεύουν διαμέσου των βοηθητικών κυττάρων και μεταφέρονται στο εμπρόσθιο άκρο του ωκυττάρου (Εικόνα 2.4B). Έτσι, από το μέσο περίπου της ωογένεσης και μετά, όλες οι πλευρές του ωκυττάρου (εμπρόσθια, οπίσθια, ραχιαία και κοιλιακή) βρίσκονται σε επαφή με ωθυλακικά κύτταρα. Τα ωθηλακικά κύτταρα που περιβάλλουν το ωκύτταρο αλληλεπιδρούν μαζί του, συμβάλλοντας στον καθορισμό των τμημάτων του εμβρύου που θα προκύψουν από τις διάφορες περιοχές του ωαρίου.

Στο τέλος της ωογένεσης τα βοηθητικά κύτταρα μεταφέρουν το κυτταρόπλασμά τους στο ωκύτταρο και εκφυλίζονται. Παράλληλα εκφυλίζονται και τα ωθυλακικά κύτταρα. Στην Εικόνα 2.5 συνοψίζεται η διαδικασία της ωογένεσης και παρουσιάζονται ορισμένα αντιπροσωπευτικά στάδια της πορείας ωρίμανσης του ωκυττάρου.

Το ώριμο ωάριο ελευθερώνεται στον αγωγό (oviduct) μέσω του οποίου μεταφέρεται στη μήτρα (uterus). Στη μήτρα ελευθερώνεται και το σπέρμα, το οποίο μετά το ζευγάρωμα βρίσκεται αποθηκευμένο σε ειδικά όργανα του θηλυκού ατόμου. Σε αντίθεση λοιπόν με τον άνθρωπο στην περίπτωση του οποίου η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα στον αγωγό, το ωάριο της δροσόφιλας γονιμοποιείται στη μήτρα. Όπως συμβαίνει στα περισσότερα ζώα, έτσι και στη δροσόφιλα, όταν επιτελείται η γονιμοποίηση το ωάριο δεν έχει ολοκληρώσει τη μείωση. Το ωάριο της δροσόφιλας ξεκινά τη διαδικασία της μείωσης όταν ακόμα βρίσκεται στο germarium. Όταν φθάσει στη μετάφαση της πρώτης μειωτικής διαίρεσης, η μείωση σταματά (meiotic arrest). Κατά το μεγαλύτερο μέρος της ωογένεσης η μειωτική διαδικασία παραμένει σταματημένη σε αυτή τη φάση. Η μείωση ενεργοποιείται ξανά όταν το ωάριο περνά από τον αγωγό. Δεν είναι σαφές σε ποια ακριβώς φάση της μείωσης βρίσκεται το ωάριο όταν λαμβάνει χώρα η γονιμοποίηση, υπάρχουν όμως ενδείξεις πως έχει ήδη ολοκληρώσει την πρώτη μειωτική διαίρεση (Heifetz et al. 2001).

**Εικόνα 2.5:** **A.** Νεοσχηματισμένος θάλαμος ωαρίου στο εσωτερικό του οποίου τα 16 κύτταρα της κύστης έχουν διευθετηθεί κατά τέτοιο τρόπο ώστε το ωκύτταρο να βρίσκεται στο οπίσθιο άκρο. Στο στάδιο αυτό το ωκύτταρο έχει το ίδιο μέγεθος με τα βοηθητικά κύτταρα. **B.** Στην πορεία της ωογένεσης το μέγεθος του θαλάμου μεγαλώνει. Το ωκύτταρο αυξάνει σε μέγεθος με πιο γρήγορο ρυθμό από τα ωθυλακικά κύτταρα. Έτσι, ενώ αρχικά έχει το ίδιο μέγεθος με τα ωθυλακικά κύτταρα, στην πορεία της ωογένεσης γίνεται πολύ μεγαλύτερο από αυτά. **Γ.** Προς το τέλος της ωογένεσης τα βοηθητικά κύτταρα μεταφέρουν το σύνολο του κυτταροπλάσματός τους στο ωκύτταρο και εκφυλίζονται. Παράλληλα εκφυλίζονται και τα ωθυλακικά κύτταρα. Το ώριμο ωάριο ελευθερώνεται στον αγωγό μέσω του οποίου καταλήγει στη μήτρα.



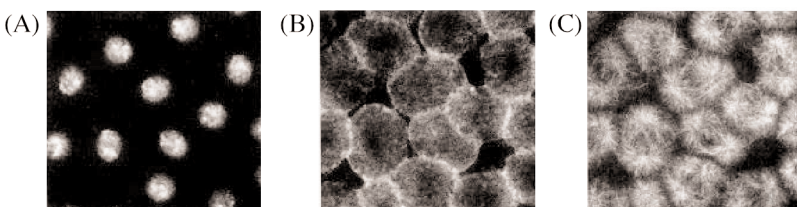


**Εικόνα 2.6:** Σχηματική αναπαράσταση των πρώτων φάσεων ανάπτυξης του εμβρύου της δροσόφιλας. Λεπτομέρειες δίνονται στο κείμενο.

## 2.4 Η εμβρυογένεση στη *D. melanogaster*.

Η ανάπτυξη του εμβρύου της δροσόφιλας από τη γονιμοποίηση μέχρι την εκκόλαψη της προνύμφης πρώτου σταδίου διαρκεί στους 25 °C περίπου 24 ώρες και χωρίζεται σε 17 στάδια.

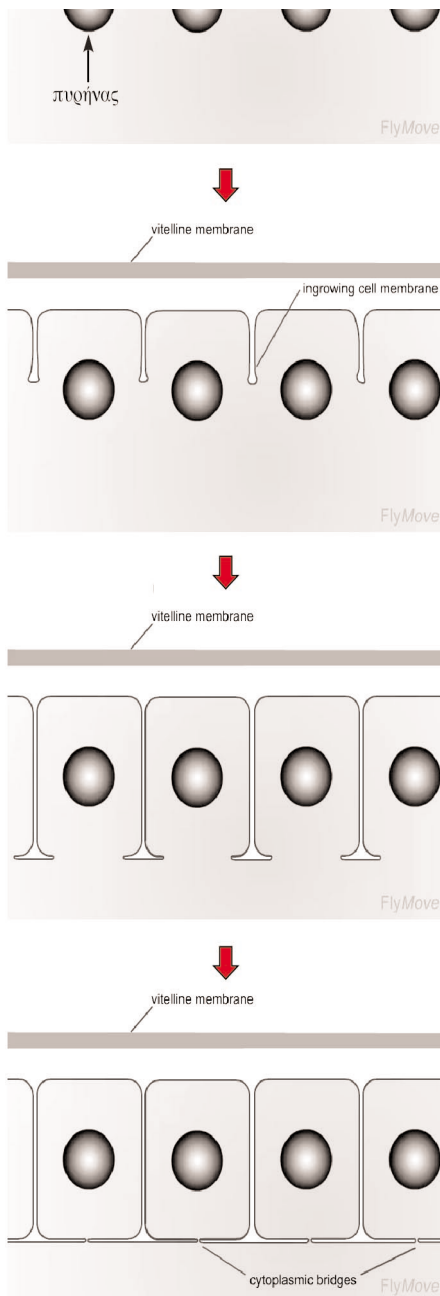
**Στάδια 1 – 4:** Αντιστοιχούν στις ταχύτατες και συγχρόνισμένες 13 πρώτες μιτωτικές διαιρέσεις, κατά τη διάρκεια των οποίων το έμβryo έχει τη μορφή συγκυτίου. Οι 256 πυρήνες που προκύπτουν από τις πρώτες 8 διαιρέσεις απαντούν στην κεντρική περιοχή του εμβρύου (Εικόνα 2.6). Κατά τη διάρκεια της ένατης μίτωσης περίπου 5 πυρήνες μετακινούνται προς το οπίσθιο άκρο (τον οπίσθιο πόλο) του εμβρύου. Οι πυρήνες αυτοί είναι οι πρώτοι που θα περικλειστούν από μεμβράνες σχηματίζοντας κατά την ενδέκατη διαίρεση τα λεγόμενα **πολικά κύτταρα** (pole cells). Τα πολικά κύτταρα είναι ορατά στην οπίσθια περιοχή του εμβρύου σαν μικρά εκβλαστήματα (Εικόνα 2.7) και από αυτά θα προκύψουν οι γαμέτες του ενήλικου ατόμου. Οι υπόλοιποι πυρήνες αρχίζουν να μετακινούνται στην περιφέρεια του εμβρύου κατά τη διάρκεια της δέκατης μίτωσης και περικλείονται από κυτταρικές μεμβράνες κατά τη διάρκεια της δέκατης τέταρτης μίτωσης. Στο διάστημα μεταξύ δέκατης και δέκατης τρίτης διαίρεσης, όταν οι πυρήνες έχουν μετακινηθεί στην περιφέρεια του εμβρύου χωρίς όμως να έχουν ακόμα σχηματιστεί κύτταρα (με εξαίρεση τα πολικά κύτταρα), το έμβryo ονομάζεται **συγκυτιακό θλαστοδέρμα** (syncytial blastoderm). Παρά το γεγονός ότι στη φάση του συγκυτιακού θλαστοδέρματος δεν έχουν σχηματιστεί κύτταρα, το κοινό κυτταρόπλασμα μέσα στο οποίο διαιρούνται οι πυρήνες δεν είναι ομοιόμορφο. Στην περιφέρεια των πυρήνων οργανώνονται μια σειρά μικροσωληνίσκων και μικροϊνιδίων. Τα κυτταροσκελετικά αυτά στοιχεία οριοθετούν γύρω από κάθε πυρήνα μία νησίδα κυτταροπλάσματος (Εικόνα 2.8). Κάθε τέτοια κυτταροπλασματική νησίδα μαζί με τον πυρήνα στον οποίο αντιστοιχεί, ονομάζεται **ενεργίδα** (energid). Πρέπει να σημειωθεί πως τα γονίδια του εμβρύου της δροσόφιλας δεν μεταγράφονται στα πρώιμα αυτά στάδια της ανάπτυξής του. Η μεταγραφή στους εμβρυικούς πυρήνες ξεκινά περίπου κατά την ενδέκατη διαίρεση, παραμένει όμως σε χαμηλά επίπεδα μέχρι και τη δέκατη τρίτη διαίρεση. Τα πρώτα στάδια του αναπτυξιακού προγράμματος του εμβρύου ελέγχονται αποκλειστικά από πρωτεΐνες και mRNA που έχουν εναποτεθεί σε αυτό από κύτταρα της μητέρας, και συγκεκριμένα από τα βοηθητικά κύτταρα.



**Εικόνα 2.7:** Νεαρό έμβryo δροσόφιλας στο οπίσθιο άκρο του οποίου υποδεικνύονται με αγκύλη τα νεοσχηματισμένα πολικά κύτταρα.

**Εικόνα 2.8:** Στις τρεις φωτογραφίες δείχνεται η ίδια περιοχή ενός τμήματος εμβρύου στο στάδιο του κυτταρικού θλαστοδέρματος. **A.** Με μια χρωστική που προσδένεται στο DNA εντοπίζεται η θέση των πυρήνων. **B.** Με ένα φθορίζον αντίσωμα που αναγνωρίζει την ακτίνη εντοπίζονται τα μικροϊνίδια. **Γ.** Με ένα φθορίζον αντίσωμα που αναγνωρίζει την τουμποουλίνη εντοπίζονται οι μικροσωληνίσκοι. Όπως φαίνεται, τα μικροϊνίδια και οι μικροσωληνίσκοι οριοθετούν γύρω από κάθε πυρήνα μία κυτταροπλασματική νησίδα, η οποία, μαζί με τον πυρήνα στον οποίο αντιστοιχεί, ονομάζεται **ενεργίδα**.





**Εικόνα 2.9:** Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας σχηματισμού κυττάρων στο έμβryo της δροσόφιλας, κατά τη μετάβαση από το στάδιο του συγκιτιακού βλαστοδέρματος στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος.

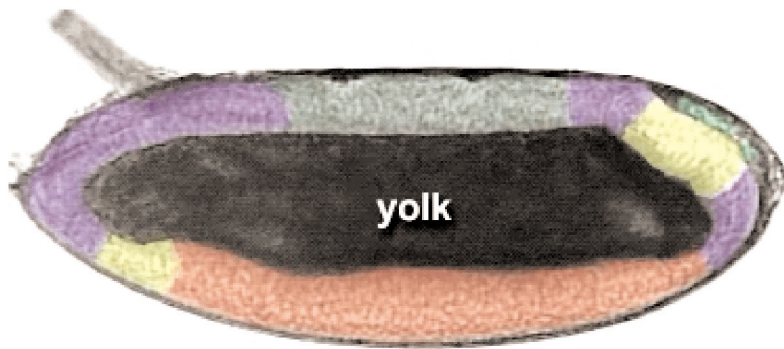
**Στάδιο 5:** Στο στάδιο αυτό οι πυρήνες περιβάλλονται από μεμβράνες και σχηματίζονται κύτταρα. Καθώς οι πυρήνες βρίσκονται στην περιφέρεια του εμβρύου ακριβώς κάτω από την πλασματική μεμβράνη, κατά τη διάρκεια της δέκατης τέταρτης μίτωσης αρχίζουν να περιβάλλονται από εγκολλώσεις της μεμβράνης μέσα στις οποίες τελικά περικλείονται ώστε να σχηματιστεί μία στιβάδα κυττάρων (Εικόνα 2.9). Στη φάση αυτή το έμβryo ονομάζεται **κυτταρικό βλαστοδέρμα** (cellular blastoderm). Από τα κύτταρα του μονόστιβου (single layer) επιθηλίου που σχηματίζεται στη φάση του κυτταρικού βλαστοδέρματος, θα προκύψουν όλοι οι μελλοντικοί ιστοί του ατόμου. Στην Εικόνα 2.10 μπορείτε να δείτε ένα χάρτη πεπρωμένου του εμβρύου της δροσόφιλας στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος.

Κατά τον σχηματισμό του κυτταρικού βλαστοδέρματος παρατηρούνται τα ακόλουθα δύο φαινόμενα:

- Η μεταγραφική δραστηριότητα των εμβρυικών πυρήνων (που έχει ξεκινήσει περίπου στη φάση της ενδέκατης διαίρεσης) αυξάνεται δραματικά.
- Οι κυτταρικές διαιρέσεις επιβραδύνονται και γίνονται ασύγχρονες. Τα δύο αυτά φαινόμενα συμβαίνουν ακριβώς πριν από την έναρξη της γαστριδίωσης, όχι μόνο στη δροσόφιλα αλλά και σε πολλούς άλλους οργανισμούς όπως π.χ. στο βάτραχο. Η φάση στην οποία παρατηρούνται αναφέρεται ως *midblastula transition*\*.

Καθεμία από τις πρώτες 10 διαιρέσεις του εμβρύου της δροσόφιλας διαρκεί περίπου 8 λεπτά. Στη συνέχεια η διάρκεια των διαιρέσεων σταδιακά αυξάνεται. Έτσι, η δέκατη τρίτη ολοκληρώνεται σε 25 λεπτά. Όπως είπαμε παραπάνω, η δέκατη τέταρτη διαίρεση κατά την οποία σχηματίζονται κύτταρα, όχι μόνο διαρκεί πολύ περισσότερο από τις προηγούμενες, αλλά είναι και η πρώτη ασύγχρονη: ορισμένες ομάδες κυττάρων επιτελούν την δέκατη τέταρτη διαίρεση σε 75 λεπτά ενώ άλλες σε 175 λεπτά. Καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο της διάρκειας του κυτταρικού κύκλου στο έμβryo της δροσόφιλας παίζει το γονίδιο *string* που κωδικοποιεί για μία φωσφατάση. Η πρωτεΐνη *string* αποφωσφορυλλιώνει και έτσι ενεργοποιεί μια cdk (cyclin dependent kinase) που είναι απαραίτητη για την διεκπεραίωση της μίτωσης. Η *String* που απαιτείται για την επιτέλεση των πρώτων δεκατριών διαιρέσεων συντίθεται από το μητρικό mRNA που έχει εναποτεθεί ομοιόμορφα στο αυγό κατά την ωογένεση. Στη συνέχεια όμως τα μητρικά αποθέματα mRNA αποικοδομούνται με συνέπεια η δέκατη τέταρτη διαίρεση να εξαρτάται πλέον από τη μεταγραφή του *string* στους πυρήνες των νεοσχηματισθέντων εμβρυικών κυττάρων. Η μεταγραφή του *string* στους εμβρυικούς πυρήνες ρυθμίζεται με πολύπλοκο τρόπο από ένα μεγάλο αριθμό γονιδίων. Επειδή το *string* μεταγράφεται σε διαφορετικές χρονικές περιόδους στις διάφορες περιοχές του εμβρύου, διαφορετικές ομάδες κυττάρων επιτελούν την δέκατη τέταρτη μίτωση σε διαφορετικό χρόνο, ανάλογα με το πότε μεταγράφουν το *string*.

\*Ο όρος *midblastula transition* είναι κάπως παραπλανητικός. Το φαινόμενο στο οποίο αναφέρεται λαμβάνει χώρα ακριβώς πριν από τη γαστριδίωση, στην φάση δηλαδή που το έμβryo ολοκληρώνει την αυλάκωση και κατά συνέπεια αναφέρεται ως *late blastula*.



Cellular blastoderm fate map



Ο σχηματισμός κυττάρων καθώς και οι μεταβολές που παρατηρούνται στο χρόνο που διαρκούν οι μιτωτικές διαιρέσεις του εμβρύου της δροσόφιλας, φαίνεται πως βρίσκονται υπό τον κοινό έλεγχο ενός μηχανισμού, ο οποίος βασίζεται στην αναλογία χρωματίνης / κυτταροπλάσματος. Στο συμπέρασμα αυτό οδήγησαν πειράματα με απλοειδή έμβρυα που προέρχονταν από θηλυκά άτομα ομόζυγα για τη μεταλλαγή *mh* (maternal haploid). Τα έμβρυα αυτά χαρακτηρίζονται ως γυνογενετικά (gynogenetic) γιατί στην ανάπτυξη τους συμμετέχει μόνο το μητρικό γονιδίωμα ενώ τα πατρικής προέλευσης χρωμοσώματα εξαλείφονται. (Loppin et al. 2001). Τέτοια απλοειδή έμβρυα κατά κανόνα διεκπεραιώνουν φυσιολογικά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης, ποτέ όμως δεν επιβιώνουν μέχρι το στάδιο της προνύμφης. Έχει διαπιστωθεί, πως στα απλοειδή έμβρυα ο σχηματισμός κυττάρων δεν συμβαίνει κατά τη δέκατη τέταρτη διαίρεση όπως στα φυσιολογικά, αλλά κατά τη δέκατη πέμπτη διαίρεση (Edgar et al. 1986), όταν δηλαδή αποκτήσουν τόση ποσότητα χρωματίνης όση έχουν τα φυσιολογικά έμβρυα κατά τη δέκατη τέταρτη διαίρεση. Επιπλέον, η χρονική διάρκεια των διαιρέσεων 12 – 15 των απλοειδών εμβρύων αντιστοιχεί στη χρονική διάρκεια των διαιρέσεων 11 – 14 των φυσιολογικών εμβρύων.

**Στάδια 6 – 7:** Στη διάρκεια των σταδίων αυτών λαμβάνουν χώρα τα ακόλουθα:

- α.** Επιτελείται η γαστριδίωση, στα πλαίσια της οποίας το μεσόδερμα και το ενδόδερμα μετακινούνται στο εσωτερικό του εμβρύου.
- β.** Αρχίζει και εξελίσσεται ένα φαινόμενο που ονομάζεται «επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης» (germ band extension ή germ band elongation).

Στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος το μελλοντικό μεσόδερμα βρίσκεται στην κοιλιακή περιοχή ενώ τα κύτταρα που θα αποτελέσουν το μελλοντικό ενδόδερμα εντοπίζονται σε δύο ανεξάρτητες περιοχές, μία στο εμπρόσθιο και μία στο οπίσθιο άκρο του εμβρύου (Εικόνα 2.10). Η γαστριδίωση ξεκινά περίπου 3 ώρες μετά τη γονιμοποίηση, όταν το μεσόδερμα αρχίζει να εγκολπώνεται κατά μήκος μίας αύλακας που διατρέχει τον εμπρόσθιο – οπίσθιο άξονα στην κοιλιακή περιοχή του εμβρύου. Η αύλακα αυτή που ονομάζεται **κοιλιακή** (ventral furrow) θα εξελιχθεί σε ένα κοιλιακό σωλήνα αποτελούμενο από 800 περίπου μεσοδερμικά κύτταρα, ο οποίος θα αποκοπεί στο εσωτερικό του εμβρύου (Εικόνα 2.11). Τα μεσοδερμικά

**Εικόνα 2.10:** Χάρτης πεπωμένου σε επιμήκη τομή εμβρύου δροσόφιλας που βρίσκεται στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος. Η amnioserosa είναι μια εξωεμβρυϊκή μεμβράνη.

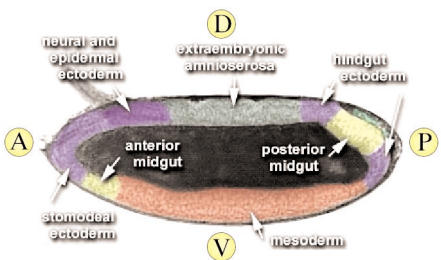


**Εικόνα 2.11:** Εγκάρσιες τομές εμβρύων σε διαδοχικές φάσεις ανάπτυξης κατά τη διάρκεια της γαστριδίωσης, στις οποίες με τη βοήθεια κατάλληλου αντισώματος ανιχνεύεται η έκφραση του γονιδίου *twist*. Στα στάδια 5-8 το *twist* εκφράζεται σε όλα τα μεσοδερμικά κύτταρα και μόνο σε αυτά, επιτρέποντας έτσι τον εντοπισμό τους και τη διάκρισή τους από τα υπόλοιπα κύτταρα του εμβρύου.

κύτταρα στη συνέχεια αναδιατάσσονται ώστε να καταλάβουν τον κενό χώρο στο εσωτερικό του σωλήνα και να σχηματιστεί τελικά ένα στρώμα κυττάρων από τα οποία θα προκύψουν οι μύες και οι συνδετικοί ιστοί του εμβρύου.

Λίγο μετά τη μεταφορά του μεσοδέρματος αρχίζει και η μεταφορά του ενδοδέρματος στο εσωτερικό του εμβρύου, μέσω δύο ανεξάρτητων σωληνοειδών εγκολπώσεων (Εικόνα 2.12). Καθώς οι δύο παραπάνω εγκολπώσεις αναπτύσσονται, το ενδόδερμα συμπαρασύρει στο εσωτερικό του εμβρύου και ένα μέρος του γειτονικού εξωδέρματος. Η μία σωληνοειδής εγκόλπωση εντοπίζεται στην εμπρόσθια / κοιλιακή περιοχή του εμβρύου και το μεν τμήμα της που αποτελείται από ενδόδερμα πρόκειται να αποτελέσει το εμπρόσθιο τμήμα του μεσεντέρου (midgut), το δε τμήμα της που αποτελείται από εξώδερμα θα σχηματίσει το εμπρόσθιο τμήμα του εντέρου (foregut). Η άλλη σωληνοειδής εγκόλπωση εντοπίζεται στην οπίσθια / ραχιαία περιοχή του εμβρύου. Το τμήμα αυτής που αποτελείται από ενδόδερμα πρόκειται να αποτελέσει το οπίσθιο τμήμα του μεσεντέρου ενώ από το τμήμα της που αποτελείται από εξώδερμα θα σχηματιστεί το οπίσθιο τμήμα του εντέρου (hindgut). Οι δύο εγκολπώσεις αναπτύσσονται σταθερά προς το εσωτερικό του εμβρύου μέχρι να συναντήσουν η μία την άλλη και να συντηχθούν σχηματίζοντας έτσι τον ενιαίο εντερικό σωλήνα. Με την εγκόλπωση του ενδοδέρματος η γαστριδίωση ολοκληρώνεται, για τον πλήρη όμως σχηματισμό του εντέρου θα χρειαστεί να περάσουν αρκετές ώρες ακόμα.

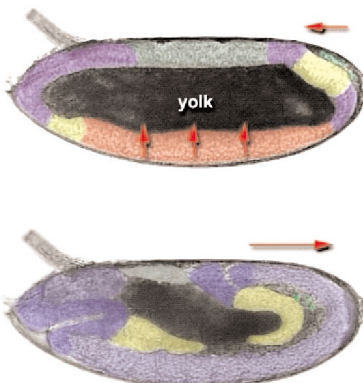
**Εικόνα 2.12:** Επιμήκεις τομές εμβρύων σε διαδοχικά στάδια ανάπτυξης. Η διαδικασία σχηματισμού του εντερικού σωλήνα ξεκινά με τη γαστριδίωση ολοκληρώνεται όμως πολύ αργότερα. Προσέξτε πως ενώ στα σπονδυλόζωα όλο το έντερο προκύπτει από το ενδόδερμα, στη δροσόφιλα το εμπρόσθιο και το οπίσθιο τμήμα του εντέρου προκύπτουν από το εξώδερμα. Τα φαινόμενα της επιμήκυνσης και της σύμπτυξης της βλαστικής ζώνης περιγράφονται στις επόμενες σελίδες. (A:Anterior, P:Posterior, D:Dorsal, V:Ventral)



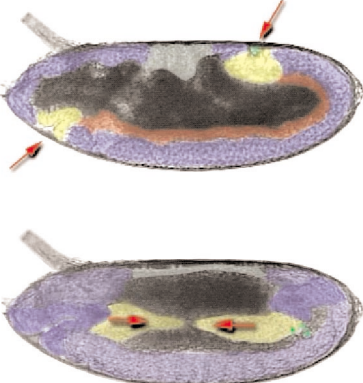
**Στάδιο 6:** Στην αρχή της γαστριδίωσης το μεσοδερμα εγκολπώνεται. Ακολουθεί η επέκταση της βλαστικής ζώνης, μέσω της οποίας το οπίσθιο ενδόδερμα μετακινείται εμπρόσθια και ραχιαία.

**Στάδιο 7:** Εγκολπώνεται το ενδόδερμα. Η εμπρόσθια / κοιλιακή ενδοδερμική περιοχή θα δώσει το εμπρόσθιο τμήμα του μεσεντέρου ενώ η οπίσθια / ραχιαία το οπίσθιο τμήμα του μεσεντέρου.

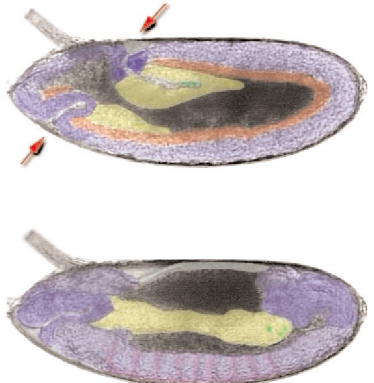
**Στάδιο 9:** Τμήματα εξωδέρματος έχουν ακολουθήσει την εγκόλπωση του ενδοδέρματος. Από αυτά θα προκύψει το εμπρόσθιο και το οπίσθιο τμήμα του εντέρου.



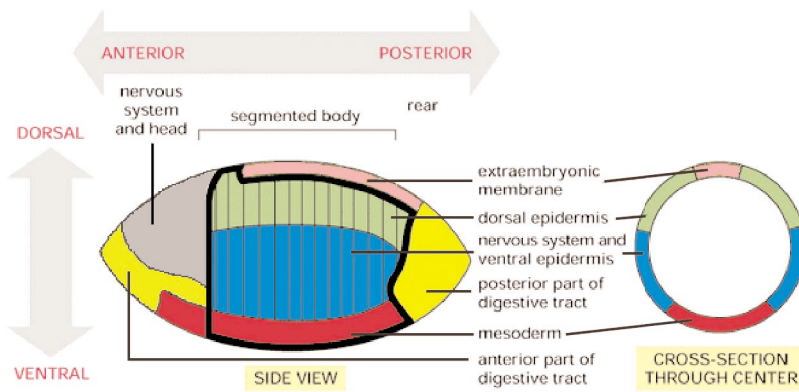
**Αρχή του σταδίου 12:** Αρχίζει η σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης που έχει σαν αποτέλεσμα τη μετακίνηση του οπίσθιου τμήματος του εντέρου προς το οπίσθιο τμήμα του εμβρύου.



**Μέσο του σταδίου 12:** Καθώς η βλαστική ζώνη συμπύκνωση και το οπίσθιο τμήμα του μεσεντέρου έρχονται απέναντι το ένα από το άλλο.

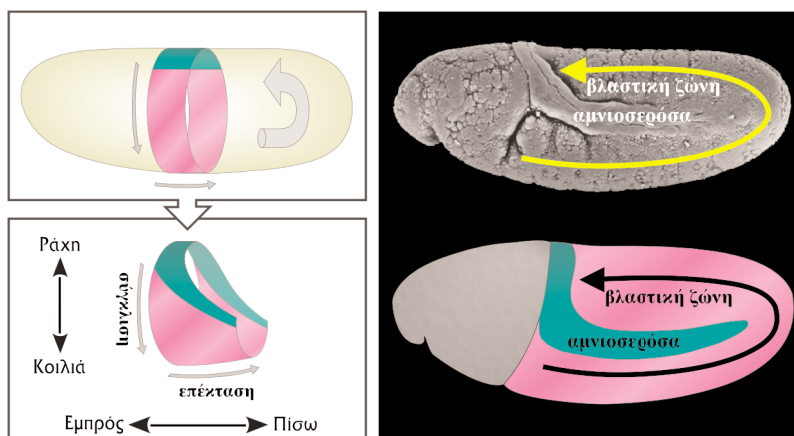


**Τέλος του σταδίου 12:** Ολοκληρώνεται η σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης και παράλληλα το εμπρόσθιο και το οπίσθιο τμήμα μεσεντέρου συντηχονται μεταξύ τους.



Παράλληλα με τη γαστριδίωση αρχίζει και εξελίσσεται το φαινόμενο της επιμήκυνσης της βλαστικής ζώνης. Με τον όρο βλαστική ζώνη αναφερόμαστε στην περιοχή του εμβρύου που έχει (ή θα αποκτήσει αν πρόκειται για νεαρό έμβρυο) ορατά μεταμερική οργάνωση (Εικόνα 2.13 - βλέπε και Εικόνα Β στο Ενθετο 2.1). Η βλαστική ζώνη στο στάδιο 6 (που δεν έχει ακόμα αποκτήσει ορατά μεταμερική οργάνωση), λόγω της επαναδιευθέτησης των κυττάρων που την αποτελούν, συγκλίνει προς την κοιλιακή περιοχή και ταυτόχρονα επεκτείνεται κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα (Irvine and Wieschaus 1994). Αυτή η κίνηση σύγκλισης - επέκτασης (convergent extension) έχει ως αποτέλεσμα το μεν πλάτος της βλαστικής ζώνης να μειώνεται δραστικά το δε μήκος της να αυξάνεται περισσότερο από 2,5 φορές (Εικόνα 2.14). Αρχικά η βλαστική ζώνη επεκτείνεται κοιλιακά προς το οπίσθιο άκρο του εμβρύου. Σύντομα όμως, καθώς το μήκος της αυξάνεται ακόμα περισσότερο, περιστρέφεται κατά τέτοιο τρόπο ώστε, αφού διαγράψει ένα τόξο γύρω από το οπίσθιο άκρο του εμβρύου, να συνεχίσει την επέκτασή της κατά μήκος της ραχιαίας πλευράς και κινούμενη πλέον προς το εμπρόσθιο άκρο του εμβρύου (Εικόνα 2.14).

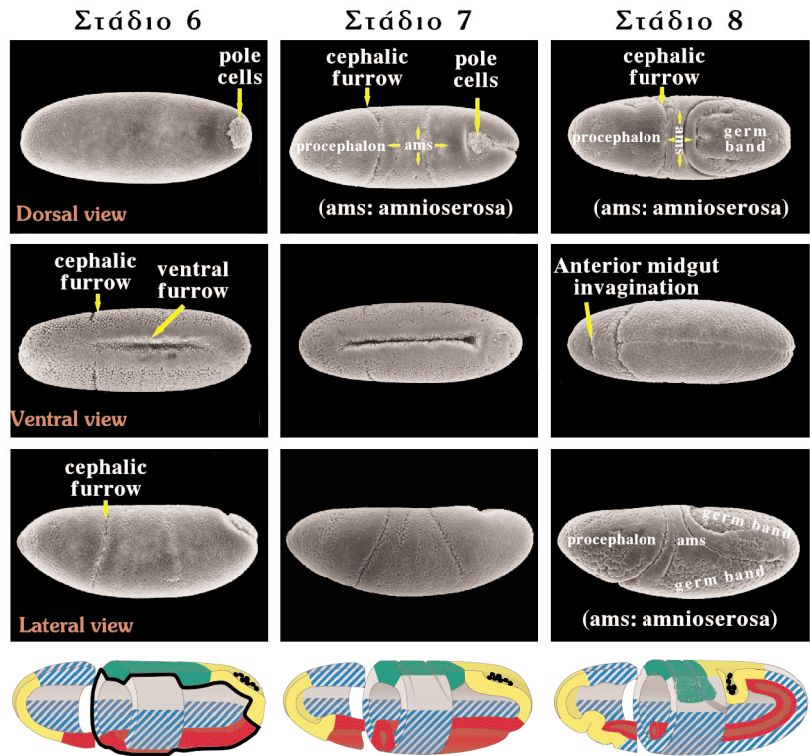
Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, κατά τη διάρκεια των σταδίων 6 - 7 παρατηρείται ιδιαίτερα έντονη κινητικότητα των κυττάρων του εμβρύου, ώστε στα πλαίσια της γαστριδίωσης και της επιμήκυνσης της βλαστικής ζώνης διάφορες ομάδες κυττάρων να καταλάβουν συγκεκριμένες περιοχές του σώματος. Οι σημαντικές αυτές αλλαγές στην οργάνωση του εμβρύου περιγράφονται συνοπτικά στην Εικόνα 2.15.



**Εικόνα 2.14:** Η επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης. Επάνω αριστερά απεικονίζεται ένα έμβρυο και σε ένα εγκάρσιο τμήμα του περίπου στο μέσο του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα, επισημαίνεται με ιώδες χρώμα η βλαστική ζώνη και με πράσινο η αμνιοσερόσα. Κάτω αριστερά απεικονίζεται μόνο το εγκάρσιο τμήμα και φαίνεται ο τρόπος με τον οποίο κινείται η βλαστική ζώνη, καθώς τα κύτταρα που την αποτελούν επαναδιευθετούνται ώστε να μειωθεί το πλάτος της και να αυξηθεί το μήκος της. Δεξιά δείχνεται φωτόγραφια (επάνω) και σχηματική απεικόνιση (κάτω) εμβρύου που μόλις έχει ολοκληρώσει την επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης. Με βέλος υποδεικνύεται η κίνηση που διέγραψε η βλαστική ζώνη.

**Εικόνα 2.15:** Στη διάρκεια των σταδίων 6 - 7 αρχίζει και ολοκληρώνεται η γαστριδίωση. Στο πλαίσιο της γαστριδίωσης μέσω της κοιλιακής αύλακας (ventral furrow) εγκολπώνεται το μεσόδεσμα από το οποίο πρόκειται να σχηματιστούν οι μύες και ο συνδετικός ιστός. Εγκολπώνεται επίσης το ενδόδεσμα από το οποίο πρόκειται να σχηματιστεί το μεσέντερο. Ενώ ακόμα εξελίσσεται η γαστριδίωση αρχίζει και η επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης. Σε ορισμένες από τις φωτογραφίες επισημαίνεται η κεφαλική αύλακα. Πρόκειται για μία παροδική αύλακα που σχηματίζεται περίπου στο σύνορο μεταξύ των τμημάτων του εμβρύου από τα οποία θα προκύψει το κεφάλι και ο θώρακας. Στα σχήματα κάτω από τις φωτογραφίες με κίτρινο χρώμα υποδεικνύονται οι περιοχές από τις οποίες θα προκύψει ο εντερικός σωλήνας. (ενδόδεσμα και τμήμα του εξωδέρματος). Στο σχήμα που αντιστοιχεί στο στάδιο 6, με έντονη μαύρη γραμμή υποδεικνύεται η βλαστική ζώνη.

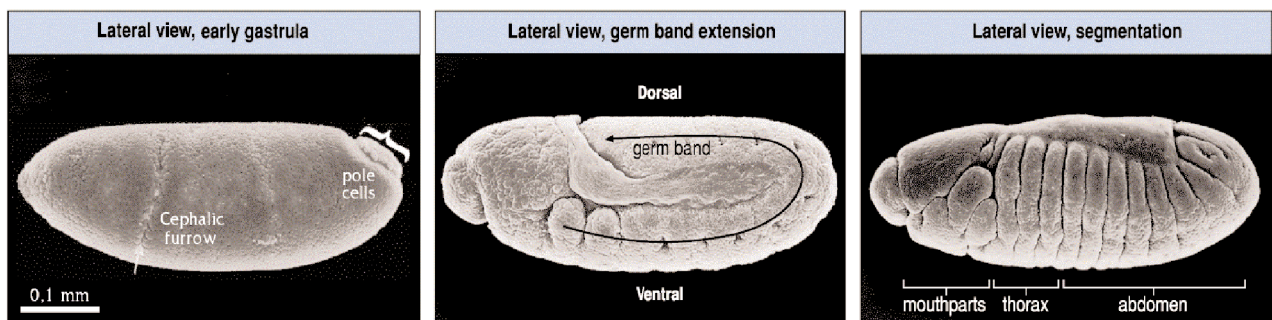
- mesoderm
- amnioserosa
- gut
- nervous system
- epidermis
- germ line

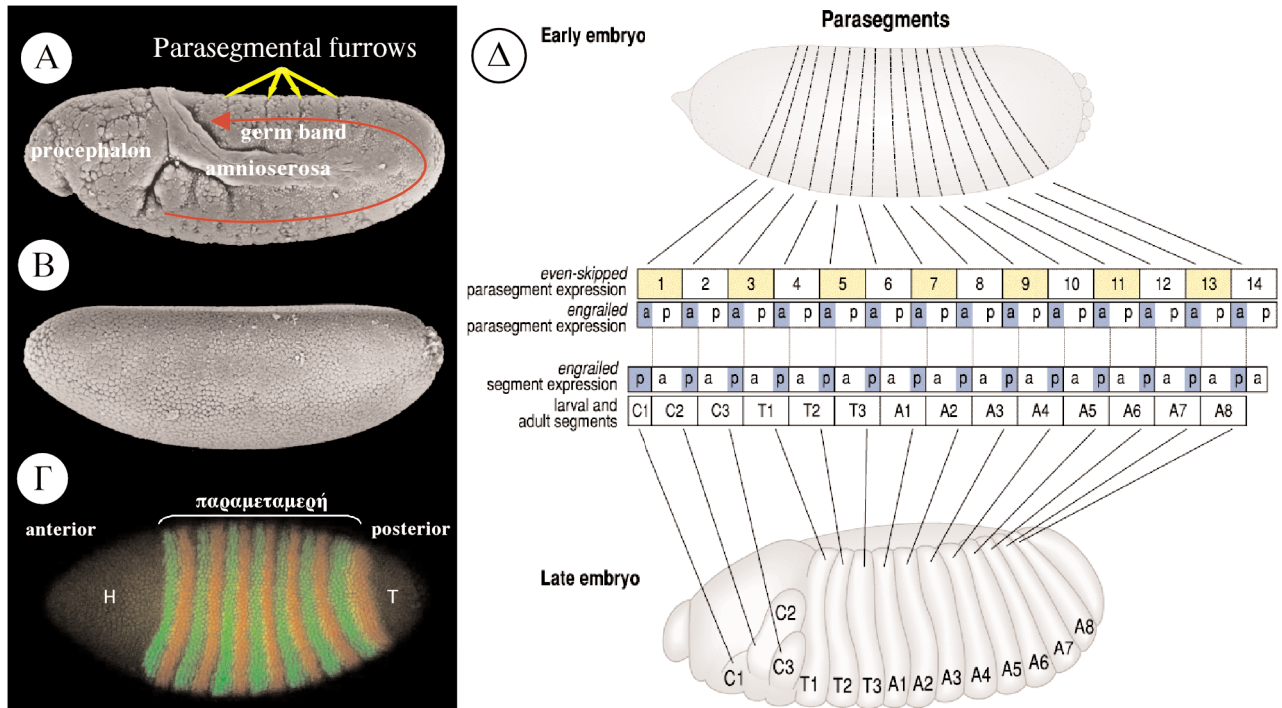


**Στάδια 8 – 12:** Ολοκληρώνεται η επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης. Στη συνέχεια η βλαστική ζώνη αρχίζει να διαγράφει την αντίστροφη πορεία. Το φαινόμενο αυτό που ονομάζεται **σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης** ολοκληρώνεται στο τέλος του σταδίου 12. Όταν η βλαστική ζώνη βρίσκεται στην πιο επιμηκυμένη μορφή της, το ραχιαίο άκρο της απαντά πίσω από την περιοχή του εμβρύου που πρόκειται να δώσει το κεφάλι. Κατά τη σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης το άκρο αυτό μετατοπίζεται στο οπίσθιο άκρο του εμβρύου (Εικόνα 2.16).

**Εικόνα 2.16:** Διαδοχικά στάδια ανάπτυξης εμβρύου δροσόφιλας. **A.** Εμβryo στη φάση της γαστριδίωσης. Στο στάδιο αυτό δεν υπάρχει καμία μορφολογική ένδειξη μεταμερικής οργάνωσης. **B.** Εμβryo που μόλις έχει ολοκληρώσει την επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης. Για πρώτη φορά γίνεται ορατή η μεταμερική του οργάνωση, καθώς εμφανίζονται ορισμένες ρηχές αύλακες που οριοθετούν τα παραμεταμερή (βλέπε και Εικόνα 2.17 A). **Γ.** Εμβryo που μόλις έχει ολοκληρώσει τη σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης. Κατά τη διάρκεια της σύμπτυξης της βλαστικής ζώνης οι αύλακες στην επιφάνεια του εμβρύου βαθαιίνουν και μετακινούνται. Τα τμήματα της βλαστικής ζώνης που οριοθετούν οι αύλακες μετά τη μετακίνησή τους, αντιστοιχούν πλέον στα μεταμερή. Από τα τρία πρώτα μεταμερή προκύπτουν τμήματα της κεφαλής, από τα τρία επόμενα ο θώρακας και από τα επόμενα οκτώ η κοιλιά του ζώου.

Η μεταμερική οργάνωση του εμβρύου γίνεται ορατή για πρώτη φορά κατά την ολοκλήρωση της επιμήκυνσης της βλαστικής ζώνης (Εικόνα 2.16). Τότε εμφανίζονται στην επιφάνειά του **ρηχές αύλακες**, οι οποίες χωρίζουν τη βλαστική ζώνη σε 14 τμήματα που ονομάζονται **παραμεταμερή**. Κατά τη διάρκεια της σύμπτυξης της βλαστικής ζώνης οι αύλακες στην επιφάνεια του εμβρύου **βαθαίνουν και μετακινούνται** κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να τοποθετηθούν περίπου στο μέσο των παραμεταμερών. Μετά τη μετακίνησή τους οι αύλακες, όπως είναι φυσικό, οριοθετούν πλέον νέα τμήματα του σώματος του εμβρύου. Τα τμήματα αυτά ονομάζονται **μεταμερή** και αποτελούν στη συνέχεια τη μορφολογική μονάδα οργάνωσης του εμβρύου, της προνύμφης, της νύμφης και του ενήλικου ατόμου.



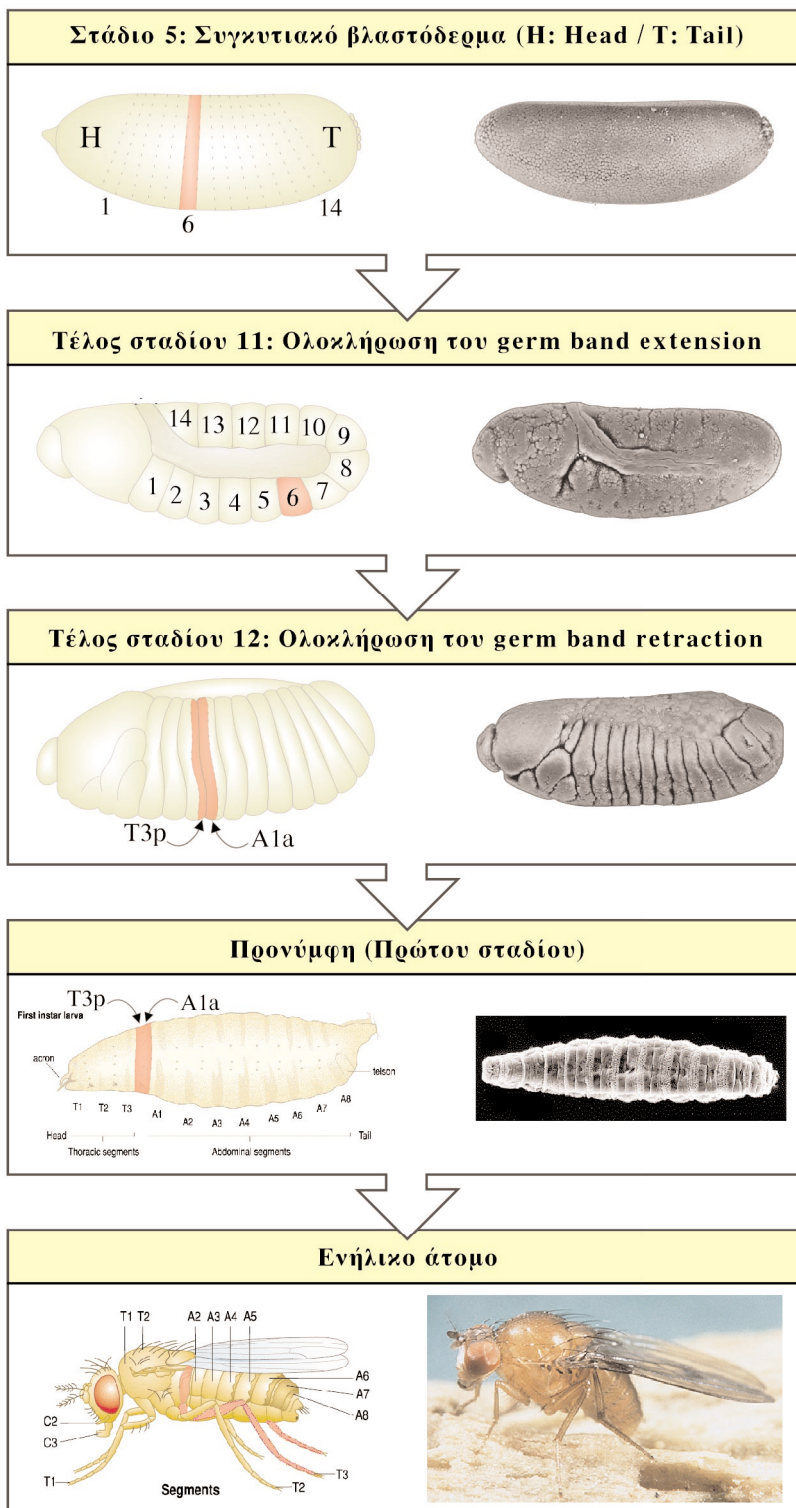


Σήμερα γνωρίζουμε πως κατά την ανάπτυξη της δροσόφιλας, μια σειρά γονιδίων που ονομάζονται **μεταμερικά γονίδια** (segmentation genes) οργανώνουν το σώμα της σε μια σειρά επαναλαμβανόμενων τμημάτων και καθορίζουν τα κοινά μορφολογικά τους χαρακτηριστικά. Τα επαναλαμβανόμενα όμως αυτά τμήματα πέρα από ομοιότητες εμφανίζουν και σημαντικές διαφορές. Ο καθορισμός της ιδιαίτερης αναπτυξιακής ταυτότητας του καθενός ρυθμίζεται από μια άλλη κατηγορία γονιδίων που ονομάζονται **ομοιοτικά γονίδια** (homeotic genes). Ποια είναι όμως αυτά τα επαναλαμβανόμενα τμήματα στο σώμα του ζώου, που σύμφωνα με τα παραπάνω λειτουργούν σαν ανεξάρτητες αναπτυξιακές μονάδες; Στο βιβλίο του "The making of a fly" (Blackwell Scientific Publications - 1992), ο Peter Lawrence αναφέρει χαρακτηριστικά (σελ. 91): "Παραδοσιακά, κατασκευαστική μονάδα του σώματος της δροσόφιλας θεωρείται το μεταμερές, όμως η παράδοση δεν συνιστά ένδειξη. Πράγματι, σήμερα φαίνεται ότι τα παραμεταμερή και όχι τα μεταμερή αποτελούν τη σημαντική αναπτυξιακή μονάδα του εμβρύου.". Παρά λοιπόν το γεγονός πως τα μεταμερή συνιστούν την ανατομική μονάδα οργάνωσης για το συντριπτικά μεγαλύτερο μέρος της ζωής του ζώου, φαίνεται ότι το αναπτυξιακό του πρόγραμμα οργανώνεται με βάση τα παραμεταμερή. Τα πρώτα στοιχεία που υποστήριξαν ισχυρά την άποψη αυτή, προήλθαν από τη μελέτη του φαινότυπου των μεταλλάξεων στα ομοιοτικά γονίδια. Όπως θα δούμε αναλυτικά αργότερα, οι ομοιοτικές μεταλλάξεις μεταβάλλουν την αναπτυξιακή ταυτότητα τμημάτων του σώματος του ζώου, που αντιστοιχούν όχι στα μεταμερή αλλά στα παραμεταμερή. Επίσης, σήμερα γνωρίζουμε πως το έμβρυο οργανώνεται σε παραμεταμερή από το στάδιο ακόμα του κυτταρικού βλαστοδέρματος, πριν δηλαδή από την εμφάνιση οποιασδήποτε ανατομικής ένδειξης πως συμβαίνει κάτι τέτοιο. Αυτό έχει γίνει αντιληπτό με τη βοήθεια μεθόδων που μας επιτρέπουν να εντοπίσουμε τις περιοχές έκφρασης των γονιδίων. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.17, οι περιοχές έκφρασης ορισμένων μεταμερικών

**Εικόνα 2.17:** Α. Εμβryo δροσόφιλας μετά την ολοκλήρωση του σταδίου επιμήκυνσης της βλαστικής ζώνης. Υποδεικνύονται ορισμένες από τις αύλακες που οριοθετούν τα παραμεταμερή. Β. Σε ένα έμβryo στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος δεν είναι ορατό κανένα μορφολογικό στοιχείο που να υποδεικνύει τη μεταμερική του οργάνωση. Γ. Εμβryo δροσόφιλας στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος. Με τη βοήθεια κατάλληλα σημασμένων αντισωμάτων ανιχνεύονται οι περιοχές έκφρασης των γονιδίων fushi tarazu (κόκκινο χρώμα) και even-skipped (πράσινο χρώμα). Το fushi tarazu εκφράζεται στα ζυγά παραμεταμερή ενώ το even-skipped στα μονά. Φαίνεται λοιπόν πως το έμβryo είναι οργανωμένο σε παραμεταμερή πολύ πριν την εμφάνιση οποιασδήποτε μορφολογικής / ανατομικής ένδειξης. Δ. Στο πάνω τμήμα του σχήματος δείχνεται έμβryo στα στάδια του κυτταρικού βλαστοδέρματος και υποδεικνύονται οι θέσεις των 14 παραμεταμερών. Το even-skipped εκφράζεται στα μονά παραμεταμερή. Κάθε παραμεταμερές χωρίζεται σε ένα εμπρόσθιο τμήμα (a) και σε ένα οπίσθιο τμήμα (p). Όπως φαίνεται το γονίδιο engrailed εκφράζεται στο εμπρόσθιο τμήμα των παραμεταμερών. Στο κάτω τμήμα του σχήματος δείχνεται ένα έμβryo μετά την ολοκλήρωση της σύμπτυξης της βλαστικής ζώνης και υποδεικνύονται τα διάφορα μεταμερή. Τα μεταμερή χωρίζονται επίσης σε εμπρόσθιο και οπίσθιο τμήμα. Καθώς όμως οι αύλακες που οριοθετούν τα μεταμερή βρίσκονται περίπου στο μέσο των παραμεταμερών, το εμπρόσθιο τμήμα των παραμεταμερών αντιστοιχεί στο οπίσθιο τμήμα των μεταμερών. Αυτή η διαφορά φάσης μεταξύ παραμεταμερών και μεταμερών, έχει σαν συνέπεια το engrailed να εκφράζεται στο οπίσθιο τμήμα των μεταμερών.

**Εικόνα 2.18:** Ο μορφολογικός διαχωρισμός του σώματος του εμβρύου σε 14 παραμεταμερή με τις αβθαθείς αύλακες που εμφανίζονται ενόσω διαρκεί η επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης (στάδιο 11) αποτελεί την πρώτη ένδειξη μεταμερικής οργάνωσης. Τα παραμεταμερή λειτουργούν καθόλη τη διάρκεια της εμβρυογένεσης ως ανεξάρτητες αναπτυξιακές μονάδες, σε καθεμιά από τις οποίες εκφράζονται συγκεκριμένοι συνδυασμοί γονιδίων. Οι αύλακες όμως που οριοθετούν τα παραμεταμερή, βαθαίνουν και μετακινούνται κατά τη σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης, οριοθετώντας πλέον νέες περιοχές του σώματος του ζώου που ονομάζονται μεταμερή (στάδιο 12). Από τη στιγμή της εμφάνισής τους τα μεταμερή αποτελούν τη μορφολογική / ανατομική μονάδα οργάνωσης του ζώου για το υπόλοιπο της ζωής του. Στην Εικόνα δείχνονται φωτογραφίες, διαδοχικών σταδίων ανάπτυξης (δεξιά) και σχέδια (αριστερά), στα οποία επισημαίνεται η θέση του παραμεταμερούς 6. Από το τέλος του σταδίου 12 και μετά, οι αύλακες στην επιφάνεια του σώματος του ζώου, έχουν μετακινηθεί με αποτέλεσμα να οριοθετούν πλέον τα μεταμερή. Έτσι η ζώνη των κυττάρων του παραμεταμερούς 6, αποτελεί πλέον το οπίσθιο τμήμα του τρίτου θωρακικού μεταμερούς (T3p) και το εμπρόσθιο τμήμα του πρώτου κοιλιακού μεταμερούς (A1a).

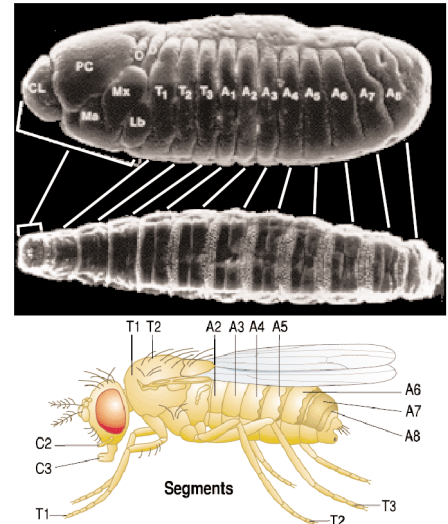
## Η “εξέλιξη” του παραμεταμερούς 6



γονιδίων στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέματος, υποδεικνύουν τα τμήματα του εμβρύου που αντιστοιχούν στα 14 παραμεταμερή. Τα μεταμερή εμφανίζονται περίπου 6 ώρες αργότερα, ως μορφολογικές / ανατομικές οντότητες. Στην Εικόνα 2.17Δ και στην Εικόνα 2.18, δείχνεται η σχέση μεταξύ των περιοχών του σώματος του ζώου που αντιστοιχούν στα παραμεταμερή και αυτών που αντιστοιχούν στα μεταμερή. Όπως φαίνεται, κάθε παραμεταμερές αποτελείται από το οπίσθιο τμήμα ενός μεταμερούς και από το εμπρόσθιο του επόμενου.

**Στάδια 13 – 17:** Στη διάρκεια των σταδίων αυτών επιτελείται μια διαδικασία που ονομάζεται **αναδίπλωση της κεφαλής** (head involution), στα πλαίσια της οποίας το τμήμα του εξωδέρματος που πρόκειται να συμμετέχει στο σχηματισμό του κεφαλιού του ζώου, μεταφέρεται στο εσωτερικό του σώματός του. Έτσι, παρατηρώντας κανείς την εξωτερική μορφολογία της προνύμφης, διαπιστώνει πως η έκταση της περιοχής που αντιστοιχεί στο κεφάλι είναι πολύ περιορισμένη (Εικόνα 2.19). Στο εμπρόσθιο άκρο της κεφαλής απαντούν ορισμένες χαρακτηριστικές δομές που ονομάζονται **άκρον** (acron). Στο οπίσθιο άκρο της προνύμφης απαντούν επίσης ορισμένες χαρακτηριστικές δομές που ονομάζονται **τέλσον** (telson). Ανάμεσα στο άκρο και το τέλσον παρεμβάλλονται τα 3 θωρακικά και τα 8 κοιλιακά μεταμερή.

Με την εκκόλαψη της προνύμφης 24 περίπου ώρες μετά την γονιμοποίηση ολοκληρώνεται η εμβρυϊκή ανάπτυξη της δροσόφιλας. Το υπόλοιπο τμήμα του κύκλου της ζωής της μέχρι το σχηματισμό του ώριμου ατόμου, αναφέρεται ως μετα-εμβρυϊκή ανάπτυξη (post-embryonic development). Η σημαντικότερη αλλά και εντυπωσιακότερη αναπτυξιακή διαδικασία που συμβαίνει στα πλαίσια της μετα-εμβρυϊκής ανάπτυξης είναι αυτή της μεταμόρφωσης. Η δροσόφιλα ανήκει στα ολομετάβολα έντομα (Ενθετο 2.2). Η προνύμφη της δεν έχει ούτε φτερά ούτε πόδια και γενικά δεν θυμίζει καθόλου το ενήλικο άτομο. Όπως λοιπόν θα δούμε στην επόμενη ενότητα, αυτά καθώς και άλλα όργανα του ώριμου ατόμου δημιουργούνται στη φάση της μεταμόρφωσης.



**Εικόνα 2.19:** Με Ma, Mx, Lb, CL, PC, O και D υποδεικνύονται διάφορα τμήματα του εμβρύου από τα οποία θα προέλθει το κεφάλι (τα Ma, Mx και Lb αντιστοιχούν στα C1, C2 και C3 της Εικόνας Β στο Ενθετο 2.1 και της Εικόνας 2.17). Στην προνύμφη το κεφάλι περιορίζεται σε μια πολύ μικρή περιοχή στο εμπρόσθιο τμήμα της.

### Ενθετο 2.2: Η μετα-εμβρυϊκή ανάπτυξη των εντόμων.

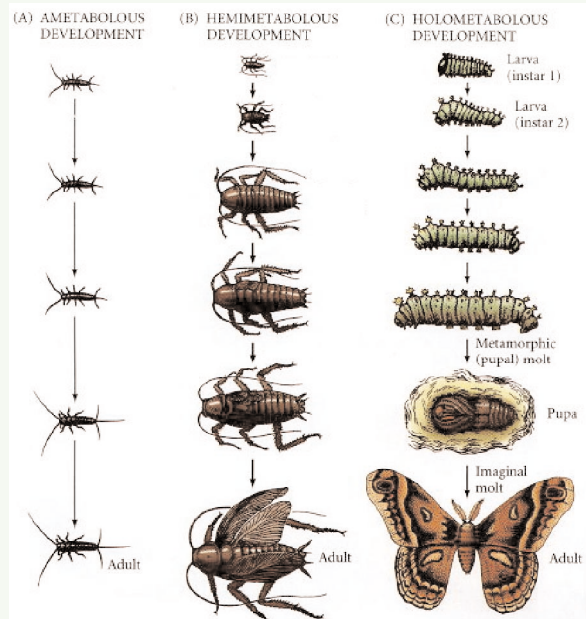
Η μετα-εμβρυϊκή ανάπτυξη των εντόμων ακολουθεί το παρακάτω γενικό πρότυπο:

έμβρυο → σεξουαλικά ανώριμο άτομο → ενήλικο

Το σεξουαλικά ανώριμο άτομο (immature) στην πορεία του προς την ενηλικίωση (δηλ. τη σεξουαλική ωριμότητα), αυξάνει σταδιακά σε μέγεθος. Για να επιτευχθεί η αύξηση του μεγέθους υφίσταται διαδοχικές εκδύσεις κατά τις οποίες αποβάλλει το παλαιό χιτινώδες περίβλημά του συνθέτοντας παράλληλα ένα νέο.

Στο παραπάνω γενικό σενάριο παρατηρούνται τρεις βασικές παραλλαγές. Ανάλογα με το ποια από αυτές ακολουθεί κάποιο είδος χαρακτηρίζεται ως αμετάβολο (ametabolous), ημιμετάβολο (hemimetabolous) ή ολομετάβολο (holometabolous). Στα **αμετάβολα** έντομα (π.χ. ψαράκια κ.ά.) το ανώριμο άτομο που εκκολάπτεται μετά την ολοκλήρωση της εμβρυϊκής ανάπτυξης είναι σχεδόν όμοιο μορφολογικά με το ενήλικο (imago), με μόνη ουσιαστική διαφορά πως υπολείπεται σε μέγεθος. Τα **ημιμετάβολα** έντομα (π.χ. ακρίδες, κατσαρίδες κ.ά.) αμέσως μετά την εκκόλαψη μοιάζουν πολύ με το ενήλικο. Διαφέρουν από αυτό ως προς δύο χαρακτηριστικά: η ανάπτυξη των γενετικών τους οργάνων δεν έχει ολοκληρωθεί και δεν έχουν φτερά. Πρέπει λοιπόν να υποστούν μια σταδιακή διαδικασία μερικής μεταμόρφωσης στα πλαίσια της οποίας αυξάνει το μέγεθος τους, ωριμάζει το αναπαραγωγικό τους σύστημα και αποκτούν φτερά. Τέλος, στα **ολομετάβολα** έντομα (π.χ. μύγες, πεταλούδες κ.ά.) το άτομο μετά την εκκόλαψη ονομάζεται προνύμφη πρώτου σταδίου (first instar larva) και δεν

εμφανίζει καμία μορφολογική ομοιότητα με το ενήλικο. Στη συνέχεια υφίσταται διαδοχικές εκδύσεις των οποίων ο συνολικός αριθμός ποικίλει ανάλογα με το είδος. Μετά την πρώτη έκδυση το άτομο ονομάζεται προνύμφη δεύτερου σταδίου κ.ο.κ. Ακολουθεί το στάδιο της νύμφης (pupa). Η νύμφη παραμένει ακίνητη και περιβάλλεται από ένα σκληρό χιτινώδες περίβλημα το puparium. Στο στάδιο της νύμφης συντελείται η μεταμόρφωση κατά την οποία σχηματίζεται το ενήλικο άτομο.



Παράδειγμα αμετάβολου (ψαράκι), ημιμετάβολου (κατσαρίδα) και ολομετάβολου (πεταλούδα), εντόμου.



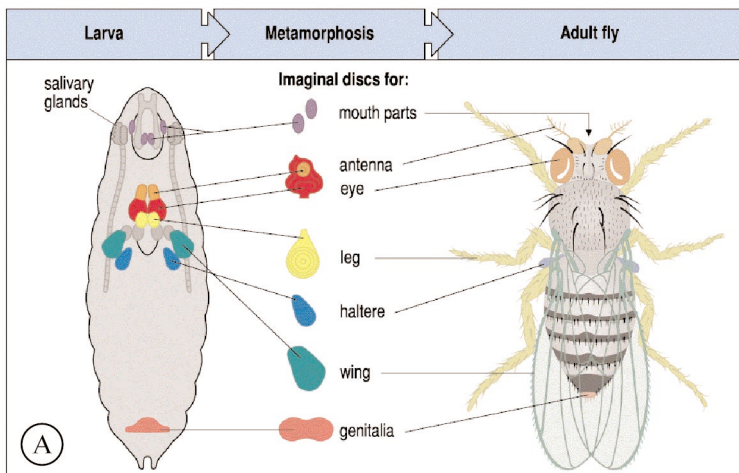
## 2.5. Η μετα-εμβρυική ανάπτυξη της *D. melanogaster*.

Στα ολομετάβολα έντομα όπως η δροσόφιλα, ο μετασχηματισμός της προνύμφης σε ενήλικο άτομο λαμβάνει χώρα μέσα στο χιτινώδες περίβλημα της νύμφης. Κατά τη μεταμόρφωση η μεγάλη πλειοψηφία των λειτουργικών κυττάρων του σώματος της προνύμφης καταστρέφονται με τη διαδικασία της απόπτωσης. Τα διάφορα όργανα του ενήλικου, όπως π.χ. τα φτερά και τα πόδια, δημιουργούνται από ανεξάρτητες ομάδες αδιαφοροποιητών κυττάρων, οι οποίες απαντούν στο εσωτερικό του σώματος της προνύμφης και ονομάζονται **δίσκοι ενήλικου** (imaginal discs από τη λέξη imago που σημαίνει ενήλικο / σεξουαλικά ώριμο έντομο). Στην προνύμφη λοιπόν της δροσόφιλας συνυπάρχουν δύο, εν πολλοίς ανεξάρτητοι, τύποι κυττάρων:

- Τα διαφοροποιημένα κύτταρα που εξυπηρετούν τις λειτουργίες της προνύμφης. Τα κύτταρα αυτά καταστρέφονται κατά τη μεταμόρφωση με αποτέλεσμα να μη συμμετέχουν στην οργάνωση του σώματος του ενήλικου.
- Τα κύτταρα από τα οποία πρόκειται να δομηθεί το σώμα του ενήλικου. Τα κύτταρα αυτά παραμένουν αδιαφοροποίητα στη διάρκεια των τριών προνυμφικών σταδίων και στην μεγάλη τους πλειοψηφία απαντούν στους 19 συνολικά δίσκους ενήλικου.

Υπάρχουν 9 ζευγάρια δίσκων ενήλικου τοποθετημένα κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα της προνύμφης. Οι δύο πανομοιότυποι δίσκοι κάθε ζεύγους είναι συμμετρικά τοποθετημένοι στις δύο πλευρές του ζώου, ο ένας απέναντι από τον άλλο (Εικόνα 2.20). Τέλος, στο οπίσθιο άκρο υπάρχει ο δίσκος των γενετικών οργάνων ο οποίος είναι μοναδικός. Ο σχηματισμός των δίσκων ενήλικου αρχίζει προς το τέλος της φάσης επιμήκυνσης της βλαστικής ζώνης. Κάθε δίσκος αποτελείται αρχικά από 40 περίπου κύτταρα. Τα περισσότερα από αυτά προέρχονται από το εξώδερμα ενώ ορισμένα έχουν μεσοδερμική προέλευση. Καθώς η προνύμφη αναπτύσσεται ο αριθμός των κυττάρων των δίσκων αυξάνει δραματικά. Ο μεγαλύτερος δίσκος, αυτός του φτερού, καταλήγει να αποτελείται από περίπου 60.000 ενώ οι δίσκοι από τους οποίους θα προκύψουν τα πόδια αποτελούνται από 10.000 κύτταρα. Στη φάση της μεταμόρφωσης τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται ώστε να προκύψουν οι ανάλογες δομές του ενήλικου.

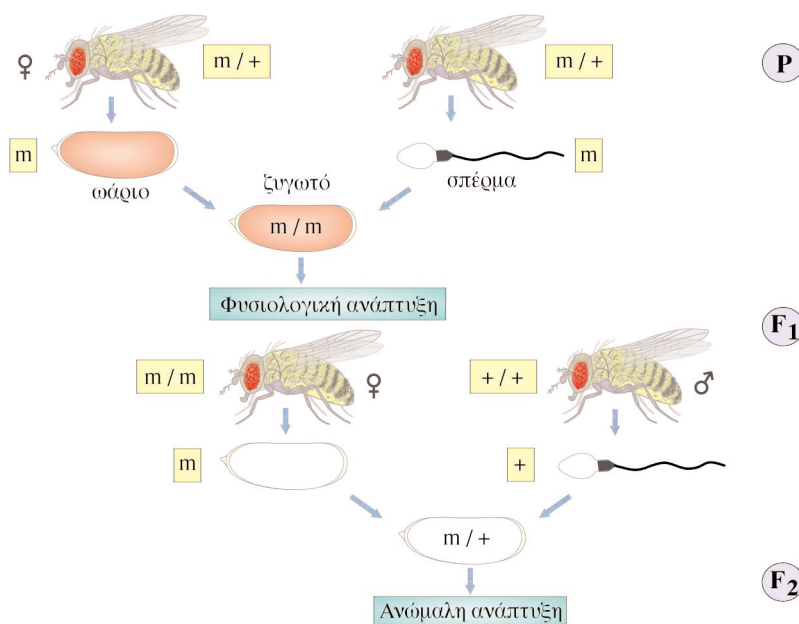
**Εικόνα 2.20:** **A.** Σχηματική απεικόνιση ορισμένων από τους δίσκους ενήλικου της δροσόφιλας. Δείχνεται η θέση τους στο σώμα της προνύμφης και τα τμήματα του ενήλικου ατόμου που προκύπτουν από αυτούς. Οι δίσκοι είναι συνολικά 19 όπως αναφέρεται στο κείμενο, εφόσον θεωρήσουμε πως οι κεραίες και τα μάτια προέρχονται από ένα δίσκο (υποδεικνύεται με κόκκινο χρώμα στο σχήμα). Ορισμένοι θεωρούν πως πρόκειται για διαφορετικούς δίσκους που συνδέονται μεταξύ τους, με συνέπεια να ανεβάζουν το συνολικό αριθμό των δίσκων στους 21. **B.** Φωτογραφία του δίσκου ενήλικου από τον οποίο θα προκύψει το πόδι του ώριμου ατόμου. Ο δίσκος αυτός έχει αφαιρεθεί από προνύμφη τρίτου σταδίου. **Γ.** Φωτογραφία του δίσκου ενήλικου από τον οποίο θα προκύψει το πόδι του ώριμου ατόμου. Ο δίσκος αυτός έχει αφαιρεθεί από νύμφη ενώ εξελίσσεται η διαδικασία της μεταμόρφωσης. Παρατηρήστε πως έχει αρχίσει να αποκτά τη μορφή του ποδιού ενός ώριμου ατόμου.



## 2.6 Τα γονίδια μητρικής επίδρασης.

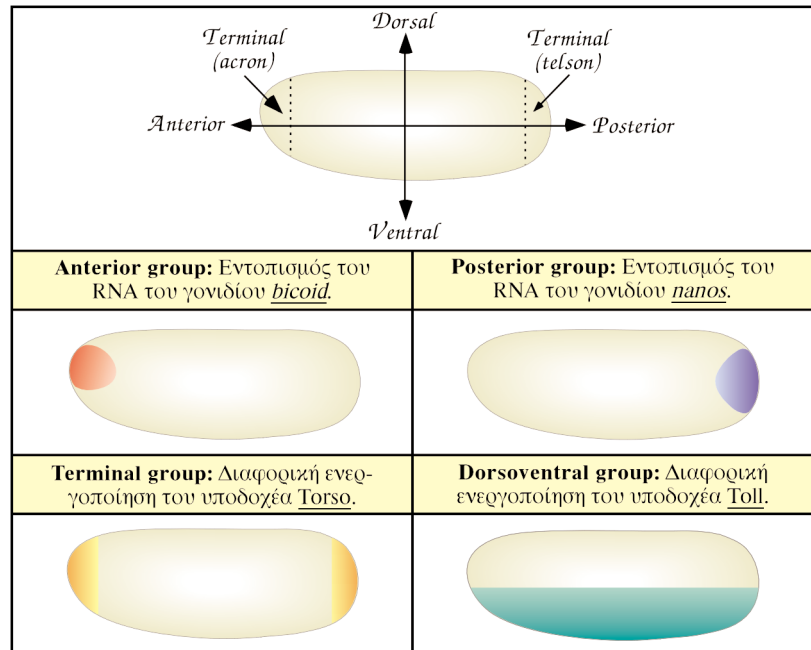
Στη δροσόφιλα έχουν απομονωθεί ορισμένες μεταλλάξεις που χωρίς να εμποδίζουν την ολοκλήρωση της ωογένεσης, προκαλούν στην ομόζυγη κατάσταση στείρωση στα θηλυκά άτομα. Στις περιπτώσεις αυτές παράγονται μορφολογικά φυσιολογικά ωάρια, η ανάπτυξη όμως του εμβρύου δεν εξελίσσεται ομαλά (Εικόνα 2.21). Τα γονίδια των οποίων οι μεταλλάξεις προκαλούν τον παραπάνω φαινότυπο ονομάζονται **γονίδια μητρικής επίδρασης** (maternal effect genes). Ορισμένα από τα γονίδια μητρικής επίδρασης μεταγράφονται στα βοηθητικά κύτταρα και τα προϊόντα τους (πρωτεΐνες ή mRNA) μεταφέρονται κατά τη διάρκεια της ωογένεσης στο ωοκύτταρο, όπου χρησιμοποιούνται κατά την ανάπτυξη του εμβρύου. Αλλα εκφράζονται στα ωοθυλακικά κύτταρα και ρυθμίζουν τις αλληλεπιδράσεις τους με το αναπτυσσόμενο ωοκύτταρο. Έχει βρεθεί πως στον καθορισμό των βασικών συντεταγμένων του αρχιτεκτονικού σχεδίου (pattern) της δροσόφιλας, ενέχονται 50 περίπου γονίδια μητρικής επίδρασης. Τα γονίδια αυτά ονομάζονται **γονίδια πολικότητας του ωαρίου** (egg polarity genes) και ρυθμίζουν από ποιές περιοχές του εμβρύου θα προκύψει το εμπρόσθιο (anterior), το οπίσθιο (posterior), το ραχιαίο (dorsal) και το κοιλιακό (ventral) τμήμα του ζώου. Τα γονίδια πολικότητας του ωαρίου διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες (Εικόνα 2. 22):

- Στα γονίδια της εμπρόσθιας ομάδας (anterior set of egg polarity genes) που εμπλέκονται στον καθορισμό του εμπρόσθιου τμήματος του εμβρύου (με εξαίρεση το εμπρόσθιο άκρο του).
- Στα γονίδια της οπίσθιας ομάδας (posterior set of egg polarity genes) που εμπλέκονται στον καθορισμό του οπίσθιου τμήματος του εμβρύου (με εξαίρεση το οπίσθιο άκρο του).
- Στα γονίδια της ακραίας ομάδας (terminal set of egg polarity genes) που εμπλέκονται στον καθορισμό των δύο ακραίων τμημάτων του εμβρύου, από τα οποία θα προέλθουν το άκρον και το τέλος στο στάδιο της προνύμφης (βλέπε και σελ. 15).
- Στα γονίδια της ραχιαίας / κοιλιακής ομάδας (dorsoventral set of egg polarity genes) που εμπλέκονται στον καθορισμό του ραχιαίου και του κοιλιακού τμήματος του εμβρύου.



**Εικόνα 2.21:** Σχηματική απεικόνιση του τρόπου κληρονομιάς των γονιδίων μητρικής επίδρασης. Δύο μύγες ετερόζυγες για μια μετάλλαξη ενός γονιδίου μητρικής επίδρασης (γονότυπος m/+, όπου m το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο και + το άγριου τύπου) διασταυρώνονται μεταξύ τους. Καθώς το θηλυκό άτομο είναι ετερόζυγο, όλα τα γονιμοποιημένα ωάρια (ακόμα και αυτά με γονότυπο m/m) θα περιέχουν το προϊόν του γονιδίου μητρικής επίδρασης, (συμβολίζεται με κόκκινο χρώμα). Ετσι, όλα τα έμβρυα (ακόμα και αυτά με γονότυπο m/m) θα αναπτυχθούν φυσιολογικά. Από τα άτομα της επόμενης γενιάς, όσα θηλυκά έχουν γονότυπο m/m προφανώς δεν μπορούν να τροφοδοτήσουν τα ωάρια τους με το προϊόν αυτού του γονιδίου μητρικής επίδρασης. Ετσι, ακόμα και αν διασταυρωθούν με ένα αρσενικό ομόζυγο για το άγριου τύπου αλληλόμορφο (+/+), τα γονιμοποιημένα ωάρια τους δεν θα αναπτυχθούν φυσιολογικά, παρά το γεγονός ότι θα φέρουν ένα άγριου τύπου αλληλόμορφο (θα έχουν γονότυπο m/+).

**Εικόνα 2.22:** Χαρακτηριστικά παραδείγματα γονιδίων πολικότητας του ωαρίου. Στην περίπτωση του *bicoid* και του *nanos* υποδεικνύονται με κόκκινο και γαλάζιο χρώμα οι περιοχές του ωαρίου στις οποίες εντοπίζεται το mRNA τους. Όπως θα δούμε αργότερα, οι πρωτεΐνες Bicoid και Nanos συντίθενται στο εμπρόσθιο και οπίσθιο άκρο του εμβρύου αντίστοιχα και στη συνέχεια διαχέονται σχηματίζοντας δύο κλίσεις συγκέντρωσης με αντίστροφη φορά. Η κλίση της Bicoid εμφανίζεται μέγιστο στο εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου ενώ της Nanos στο οπίσθιο. Στην περίπτωση των γονιδίων *torso* και *toll*, οι διαμεμβρανικοί υποδοχείς για τους οποίους κωδικοποιούν κατανέμονται ομοιόμορφα στην επιφάνεια του εμβρύου. Ενεργοποιούνται όμως σε συγκεκριμένες περιοχές που υποδεικνύονται με κίτρινο χρώμα (*Torso*) και πράσινο χρώμα (*Toll*).



## 2.7 Τα ζυγωτικά γονίδια.

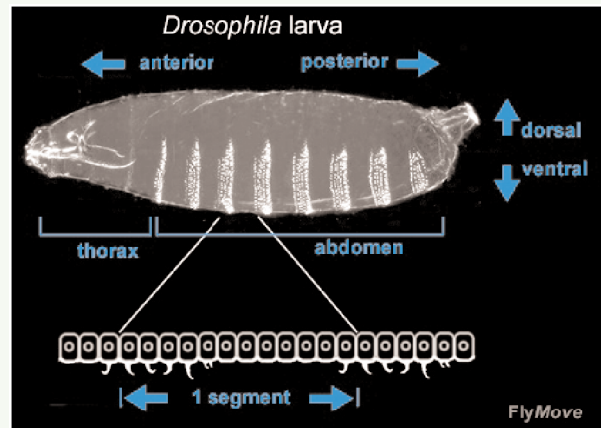
Στα τέλη της δεκαετίας του 1970 η Christiane Nüsslein-Volhard και ο Eric Wieschaus ξεκίνησαν στη Χαϊδελβέργη μια σειρά συναρπαστικών πειραμάτων με σκοπό την ανακάλυψη γονιδίων που επηρεάζουν την ανάπτυξη της δροσόφιλας. Σαν πρώτο βήμα προς την κατεύθυνση αυτή αποφάσισαν να απομονώσουν μεταλλάξεις που οδηγούν στην εμφάνιση αναπτυξιακών ανωμαλιών (βλέπε Ενθετο 2.3). Κατά το σχεδιασμό των πειραμάτων τους έλαβαν υπόψη τους μια σειρά παραμέτρων. Γνώριζαν πως τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου (που είναι ιδιαίτερα σημαντικά καθώς σε αυτά καθορίζεται το βασικό σχέδιο ανάπτυξης του σώματος του ζώου), ρυθμίζονται τόσο από τα γονίδια μητρικής επίδρασης όσο και από γονίδια του εμβρύου τα οποία αναφέρονται ως **ζυγωτικά γονίδια** (zygotic genes). Επέλεξαν όμως να εστιάσουν την προσοχή τους στα ζυγωτικά γονίδια. Προέβλεψαν επίσης πως στη συντριπτική τους πλειοψηφία οι μεταλλάξεις που επιθυμούσαν να απομονώσουν θα ήταν θνησιγόνες και υπολειπόμενες. Θνησιγόνες γιατί τα ζώα δεν θα μπορούσαν να ολοκληρώσουν το αναπτυξιακό τους πρόγραμμα και υπολειπόμενες γιατί κατά κανόνα, ένα μόνο άγριου τύπου αλληλόμορφο είναι αρκετό για τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων των διπλοειδών οργανισμών όπως η δροσόφιλα. Στα πλαίσια λοιπόν ενός πειράματος μεταλλαξογένεσης κατέστρωσαν μια σειρά διασταυρώσεων σχεδιασμένων με τέτοιο τρόπο, ώστε να τελικά να προκύπτουν από αυτές έμβρυα ομόζυγα για τις προς εξέταση μεταλλάξεις.

Πριν περιγράψουμε αναλυτικά την πειραματική προσέγγιση που ακολούθησαν οι C. Nüsslein - Volhard και ο E. Wieschaus, είναι σκόπιμο να τονίσουμε ορισμένα γενικά στοιχεία που αφορούν τέτοιου τύπου γενετικές μεθοδολογίες (St Johnston 2002):

**α)** Καθώς η συχνότητα εμφάνισης αυθόρμητων μεταλλάξεων είναι ιδιαίτερα χαμηλή, προκειμένου να απομονώσει κανείς μεταλλάξεις ξεκινά εκθέτοντας τις μύγες σε κάποιο μεταλλαξογόνο παράγοντα.

**Ενθετο 2.3: Η ταυτοποίηση των μεταμερών της προνύμφης.**

Τα μεταμερή της προνύμφης μπορεί να ταυτοποιηθούν χάρη στην ιδιαίτερη μορφολογία τους. Στην κοιλιακή πλευρά της προνύμφης απαντούν ορισμένα χιτινώδη εξαρτήματα σαν μικροί γάτζοι, τα λεγόμενα denticles, που της επιτρέπουν να αγκιστρώνεται πάνω στο υπόστρωμα διευκολύνοντας έτσι την κίνησή της. Κάθε μεταμερές της νεαρής προνύμφης αποτελείται από 12 περίπου σειρές κυττάρων. Οι 5 πρώτες και η τελευταία από αυτές φέρουν denticles ενώ οι άλλες 6 είναι “γυμνές”. Η παρουσία των denticles βοηθά στην ταυτοποίηση των μεταμερών της προνύμφης. Η C. Nüsslein-Volhard και ο E. Wieschaus χαρακτήρισαν τις μεταλλάξεις που απομόνωσαν με βάση τις συνέπειες τους στη μορφολογία της προνύμφης, αξιολογώντας για το σκοπό αυτό τα denticles της κοιλιακής επιφάνειας.



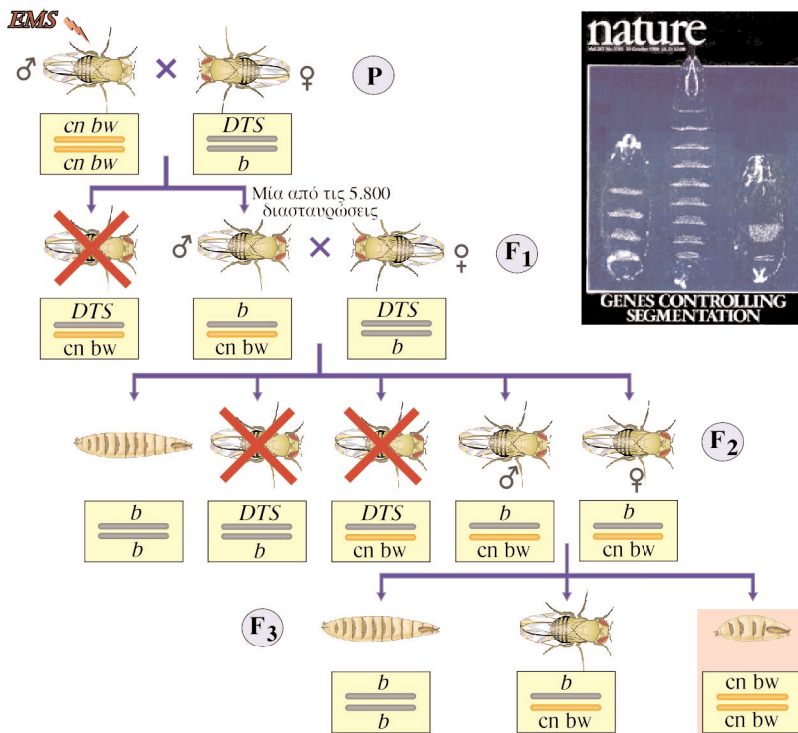
Τα μεταμερή της προνύμφης της δροσόφιλας, μπορούν να ταυτοποιηθούν με βάση τη μορφολογία των χιτινωδών προεκβολών τις οποίες φέρουν, σε διαδοχικές σειρές των κυττάρων της κοιλιακής τους επιφάνειας.

**β)** Όταν κάποιος θέλει να απομονώσει υπολειπόμενες μεταλλάξεις, είναι υποχρεωτικό να ακολουθήσει μια σειρά κατάλληλων διασταυρώσεων που του εξασφαλίζουν πως θα πάρει άτομα ομόζυγα για τις μεταλλάξεις αυτές. Επειδή τα ομόζυγα άτομα εμφανίζονται στην  $F_3$  γενιά, τέτοιου τύπου γενετικές μεθοδολογίες στην Αγγλόφωνη βιβλιογραφία αναφέρονται συχνά ως “ $F_3$  genetic screens”.

**γ)** Οι διασταυρώσεις είναι σχεδιασμένες κατά τέτοιο τρόπο, ώστε να εστιάζεται κανείς σε μεταλλάξεις γονιδίων ενός συγκεκριμένου χρωμοσώματος. Με απλά λόγια, αν κάποιος θέλει να απομονώσει μεταλλάξεις σε γονίδια π.χ. του δεύτερου χρωμοσώματος, θα ξεκινήσει επιλέγοντας από την αρχή τα κατάλληλα στελέχη, που θα του εξασφαλίζουν πως όλες οι μεταλλάξεις οι οποίες θα έχουν προκληθεί σε γονίδια του δεύτερου χρωμοσώματος, θα βρεθούν σε ομοζυγωτία σε ένα ποσοστό ατόμων της  $F_3$ . Φυσικά, κατά την έκθεση στο μεταλλαξογόνο παράγοντα θα προκληθούν μεταλλάξεις και σε γονίδια άλλων χρωμοσωμάτων. Οι περισσότερες όμως από τις μεταλλάξεις αυτές θα περάσουν απαρατήρητες, καθώς το γενετικό σχήμα είναι τέτοιο ώστε μόνο *συμπωματικά*, θα προκύψουν στην  $F_3$  άτομα ομόζυγα για μεταλλάξεις σε άλλα χρωμοσώματα.

Το σχήμα των διασταυρώσεων που κατέστρωσαν οι C. Nüsslein-Volhard και E. Wieschaus για την απομόνωση μεταλλάξεων στο δεύτερο χρωμόσωμα παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.23 ενώ στο Ενθετο 2.4 (σελ. 20) δίνονται πληροφορίες σχετικά με την ορολογία που χρησιμοποιείται κατά την περιγραφή διασταυρώσεων στη δροσόφιλα. Οι δύο επιστήμονες προσέθεσαν στην τροφή αρσενικών ατόμων που ήταν ομόζυγα για τις μεταλλάξεις *cn* και *bw*, τον μεταλλαξογόνο παράγοντα EMS (Ethyl Methane Sulfonate) προκαλώντας έτσι μεταλλάξεις στα *σπερματοζωάρια* τους. Τα γονίδια *cn* (*cinnabar*) και *bw* (*brown*) βρίσκονται στο δεύτερο χρωμόσωμα και άτομα που είναι ομόζυγα για μεταλλαγμένα αλληλόμορφα και των δύο, έχουν άσπρα μάτια αντί για τα κόκκινα του άγριου τύπου. Τα παραπάνω αρσενικά διασταυρώθηκαν με θηλυκά των οποίων το ένα από τα δύο ομόλογα του δεύτερου ζεύγους χρωμοσωμάτων, έφερε ένα επικρατές κατά συνθήκη θνησιγόνο αλληλόμορφο, ενώ το άλλο έφερε ένα υπολειπόμενο θνησιγόνο αλληλόμορφο. Το επικρατές κατά συνθήκη θνησιγό-

**Εικόνα 2.23:** Παρουσίαση των διασταυρώσεων που κατέστρωσαν οι C. Nüsslein-Volhard και E. Wieschaus προκειμένου να απομονώσουν μεταλλάξεις σε ζυγωτικά γονίδια του δεύτερου χρωμοσώματος που ελέγχουν την ανάπτυξη του εμβρύου. Η διαδικασία περιγράφεται αναλυτικά στο κυρίως κείμενο. Επάνω δεξιά δείχνεται το τεύχος του περιοδικού *Nature* στο οποίο δημοσιεύθηκε η εργασία τους.



**Ενθετο 2.4: Η ορολογία των διασταυρώσεων της δροσόφιλας.**

Μερικοί από τους κανόνες που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή διασταυρώσεων δροσόφιλας, είναι ακόλουθοι:

α) Για κάθε γονίδιο υπάρχει μια συντομογραφία. Για τα γονίδια π.χ. *cinnabar* και *brown* που ελέγχουν το χρώμα του ματιού, οι αντίστοιχες συντομογραφίες είναι *cn* και *bw*.

β) Όταν κάποιος αναφέρεται σε μεταλλαγμένα αλληλόμορφα γονιδίων, χρησιμοποιεί ένα εκθέτη για να υποδείξει το συγκεκριμένο αλληλόμορφο για το οποίο πρόκειται: π.χ. *cn<sup>18P</sup>* είναι ένα από τα αλληλόμορφα του *cinnabar*. Για να συμβολίσουμε το άγριου τύπου γονίδιο χρησιμοποιούμε ως εκθέτη το "+": *cn<sup>+</sup>*. Όταν χρησιμοποιούμε τη συντομογραφία του γονιδίου χωρίς κανένα δείκτη, εννοούμε ότι πρόκειται για το πρώτο καταγεγραμμένο μεταλλαγμένο αλληλόμορφο του γονιδίου: ως *cn* ή *cn<sup>1</sup>* συμβολίζεται το πρώτο γνωστό αλληλόμορφο του *cinnabar*.

γ) Όταν το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο ξεκινά με κεφαλαίο γράμμα σημαίνει πως είναι επικρατές ενώ όταν ξεκινά με μικρό γράμμα, σημαίνει πως είναι υπολειπόμενο (σε σχέση πάντα με το άγριου τύπου αλληλόμορφο).

δ) Όταν κανείς περιγράφει ένα γονότυπο αναφέρεται συνήθως μόνο σε όσα γονίδια φέρουν κάποια μετάλλαξη, χωρίζοντας τα αλληλόμορφα των ομολόγων χρωμοσωμάτων με "/". Π.χ. ο γονότυπος *sp/cn bw* σημαίνει ότι το ένα ομόλογο φέρει ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο του γονιδίου *sp* (*speck* - επηρεάζει το χρωματισμό του σώματος) ενώ το άλλο ομόλογο φέρει μεταλλαγμένα αλληλόμορφα των γονιδίων *cinnabar* και *brown*. Τα άγριου τύπου αλληλόμορφα συνήθως δεν υποδεικνύονται, αν και μπορεί τον παραπάνω γονότυπο να το βρείτε γραμμένο ως εξής *sp + + / + cn bw ή sp cn<sup>+</sup> bw<sup>+</sup> / sp<sup>+</sup> cn bw*.

ε) Όταν δύο γονίδια διαχωρίζονται με ";" σημαίνει πως βρίσκονται σε διαφορετικό ζεύγος ομολόγων χρωμοσωμάτων.

Αν και οι κανόνες αυτοί είναι γενικά αποδεκτοί, θα πρέπει να γνωρίζετε και ποτέ να μην ξεχνάτε, τον ακόλουθο αφορισμό του J. M. M. Cohen: "Οι ακαδημαϊκοί, είναι πιο εύκολο να μοιραστούν την ίδια οδοντόβουτσα, παρά ο ένας την ορολογία που χρησιμοποιεί ο άλλος."

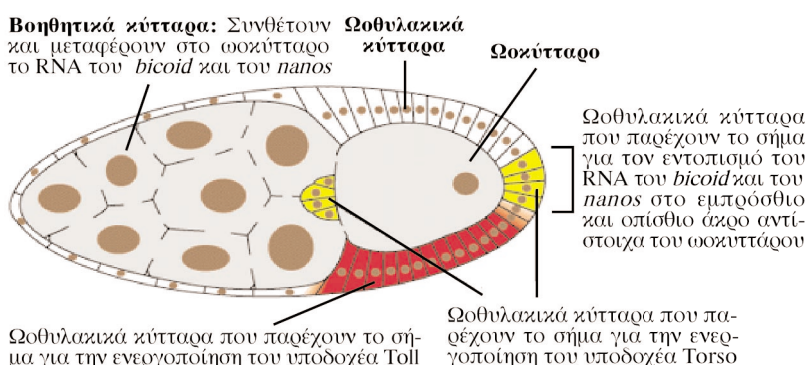
νο αλληλόμορφο, συμβολίζεται στην Εικόνα 2.23 ως *DTS* (Dominant Temperature Sensitive) και προκαλεί το θάνατο των μυγών σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες (29 °C)\*. Το υπολειπόμενο θνησιγόνο αλληλόμορφο συμβολίζεται ως *b*. Ατομα με γονότυπο *b/b* πεθαίνουν (ανεξαρτήτως συνθηκών) στο στάδιο της προνύμφης, όμως η μορφολογία του σώματός τους είναι φυσιολογική. Εκθέτοντας οι δύο επιστήμονες τα άτομα της F<sub>1</sub> σε θερμοκρασία 29 °C, προκάλεσαν το θάνατο όσων από αυτά έφεραν το αλληλόμορφο *DTS*. Ετσι, επεβίωσαν μόνο τα άτομα με γονότυπο *b/cn bw*. Προφανώς, καθένα από αυτά θα μπορούσε να είναι ετερόζυγο για μία μετάλλαξη στο δεύτερο χρωμόσωμα. Από αυτά επέλεξαν 5.800 αρσενικά και τα διασταύρωσαν με θηλυκά που είχαν και πάλι γονότυπο *DTS/b*. Εκθέτοντας τα άτομα της F<sub>2</sub> που προέκυψαν από τις 5.800 διασταυρώσεις σε θερμοκρασία 29 °C, προκάλεσαν ξανά τον θάνατο όσων από αυτά έφεραν το αλληλόμορφο *DTS*. Ατομα με γονότυπο *b/b* όπως είπαμε δεν φθάνουν καν μέχρι την ενηλικίωση. Ετσι λοιπόν, τα άτομα της F<sub>2</sub> που τελικά επεβίωσαν έφεραν υποχρεωτικά ένα εν δυνάμει μεταλλαγμένο δεύτερο χρωμόσωμα με τα αλληλόμορφα *cn* και *bw* καθώς και το δεύτερο χρωμόσωμα με το θνησιγόνο αλληλόμορφο *b*. Προσέξτε, πως τόσο στην F<sub>1</sub> όσο και στην F<sub>2</sub> γενιά, επιλέγονται για τις περαιτέρω διασταυρώσεις, άτομα με γονότυπο *b/cn bw*. Τα μεταλλαγμένα όμως άτομα της F<sub>1</sub> που έχουν αυτό το γονότυπο, φέρουν το καθένα διαφορετικές μεταλλάξεις. Αντίθετα, τα μεταλλαγμένα άτομα της F<sub>2</sub> που έχουν γονότυπο *b/cn bw*, εφόσον είναι αδέρφια τα οποία έχουν προκύψει από την ίδια διασταύρωση, φέρουν προφανώς όλα την ίδια μετάλλαξη.

\*Το αλληλόμορφο *DTS* χαρακτηρίζεται ως "θνησιγόνο" γιατί προκαλεί το θάνατο στην θερμοκρασία των 29 °C που φυσιολογικά οι άγριου τύπου μύγες επιβιώνουν χωρίς πρόβλημα. Χαρακτηρίζεται ως "κατά συνθήκη" γιατί ο παραπάνω θνησιγόνος φαινότυπος εκδηλώνεται σε συγκεκριμένες μόνο συνθήκες, στην προκειμένη περίπτωση στους 29 °C. Στους 25 °C η βιωσιμότητα των μυγών δεν επηρεάζεται. Τέλος, το *DTS* χαρακτηρίζεται ως επικρατές, γιατί ακόμα και στην ετερόζυγη κατάσταση, όταν δηλαδή υπάρχει σε ένα μόνο αντίγραφο, εκδηλώνεται ο χαρακτηριστικός, "κατά συνθήκη θνησιγόνος" φαινότυπος του.

Στην τελική φάση οι δύο ερευνητές διασταύρωσαν μεταξύ τους αδέρφια από την  $F_2$  προκείμενου στην  $F_3$  να φέρουν σε ομοζυγωτία τις μεταλλάξεις που είχαν δημιουργήσει. Από τη διασταύρωση αυτή προκύπτουν τρεις τύποι ατόμων (Εικόνα 2.23):

- Ατομα με γονότυπο  $b / b$  τα οποία πεθαίνουν στο στάδιο της προνύμφης χωρίς όμως να εμφανίζουν μορφολογικές ανωμαλίες.
- Ατομα που έχουν τον ίδιο γονότυπο με τους γονείς τους ( $b / cn bw$ ).
- Ατομα ομόζυγα για το εν δυνάμει μεταλλαγμένο δεύτερο χρωμόσωμα ( $cn bw / cn bw$ ). Αν τα άτομα αυτά δεν φέρουν κάποια μετάλλαξη η οποία τα εμποδίζει να ολοκληρώσουν το αναπτυξιακό τους πρόγραμμα, θα πρέπει στην  $F_3$  να εμφανιστούν μύγες με άσπρα μάτια. Οι διασταυρώσεις λοιπόν από τις οποίες προέκυπταν ενήλικα άτομα με άσπρα μάτια εντοπίζονταν εύκολα και δεν αναλύονταν περαιτέρω. Στις διασταυρώσεις όμως στις οποίες όλα τα ενήλικα είχαν αγρίου τύπου μάτια, θα έπρεπε προφανώς να είχε βρεθεί σε ομοζυγωτία μία υπολειπόμενη θνησιγόνος μετάλλαξη, που θα είχε προκληθεί από την έκθεση στο EMS. Οι διασταυρώσεις αυτές εξετάζονταν προσεκτικά με σκοπό τον εντοπισμό νεκρών προνυμφών με εμφανείς αναπτυξιακές ανωμαλίες. Με τον τρόπο αυτό οι δύο ερευνητές απομόνωσαν μεταλλάξεις σε 15 ζυγωτικά γονίδια που ελέγχουν την ανάπτυξη της *D. melanogaster* (Nüsslein-Volhard and Wieschaus 1980).

Μετά από τον εντοπισμό μιας σειράς ζυγωτικών γονιδίων που ενέχονται στην ανάπτυξη της δροσόφιλας, η C. Nüsslein-Volhard και ο E. Wieschaus με την συνέργαση και άλλων επιστημόνων, όπως η Trudi Schupbach, ξεκίνησαν την προσπάθεια για τον εντοπισμό νέων γονιδίων μητρικής επίδρασης. Σήμερα γνωρίζουμε πως η ανάπτυξη της δροσόφιλας ρυθμίζεται από τη συντονισμένη δράση των γονιδίων μητρικής επίδρασης και των ζυγωτικών γονιδίων. Υπάρχουν περίπου 50 γονίδια μητρικής επίδρασης που καθορίζουν το βασικό αρχιτεκτονικό σχέδιο του εμβρύου από τη φάση ακόμα της ωογένεσης. Στη ρύθμιση της δράσης των γονιδίων αυτών παίζουν καθοριστικό ρόλο οι αλληλεπιδράσεις του ωοκυττάρου, τόσο με τα βοηθητικά όσο και με τα ωοθυλακικά κύτταρα (Εικόνα 2.24). Έτσι, π.χ. τα mRNA των *bicoid* και *nanos* συνθέτονται από τα βοηθητικά κύτταρα και μεταφέρονται στο ωοκύτταρο, όπου συγκεντρώνονται σε συγκεκριμένες περιοχές του. Για τον εντοπισμό τους απαιτείται η αλληλεπίδραση του ωοκυττάρου με ορισμένα ωοθυλακικά κύτταρα. Μέχρι και την ενδέκατη περίπου διαίρεση, η ανάπτυξη του εμβρύου ελέγχεται αποκλειστικά από από πρωτεΐνες και mRNA που έχουν εναποτεθεί σε αυτό από κύτταρα της μητέρας (βλέπε και σελ. 7). Στη συνέχεια τα γονίδια μητρικής επίδρασης αρχίζουν να ενεργοποιούν ζυγωτικά γονίδια, τα οποία και αναλαμβάνουν τον έλεγχο του αναπτυξιακού προγράμματος του ζώου.



**Εικόνα 2.24:** Χαρακτηριστικά παραδείγματα του ρόλου των βοηθητικών κυττάρων και των ωοθυλακικών κυττάρων στη ρύθμιση της δράσης των γονιδίων μητρικής επίδρασης. Σχετικά με το ρόλο των γονιδίων που αναφέρονται στο σχήμα βλέπε και Εικόνα 2.22.

**2.8 Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα I: Ο ρόλος των μητρικών γονιδίων.**

**A. Εισαγωγή.**

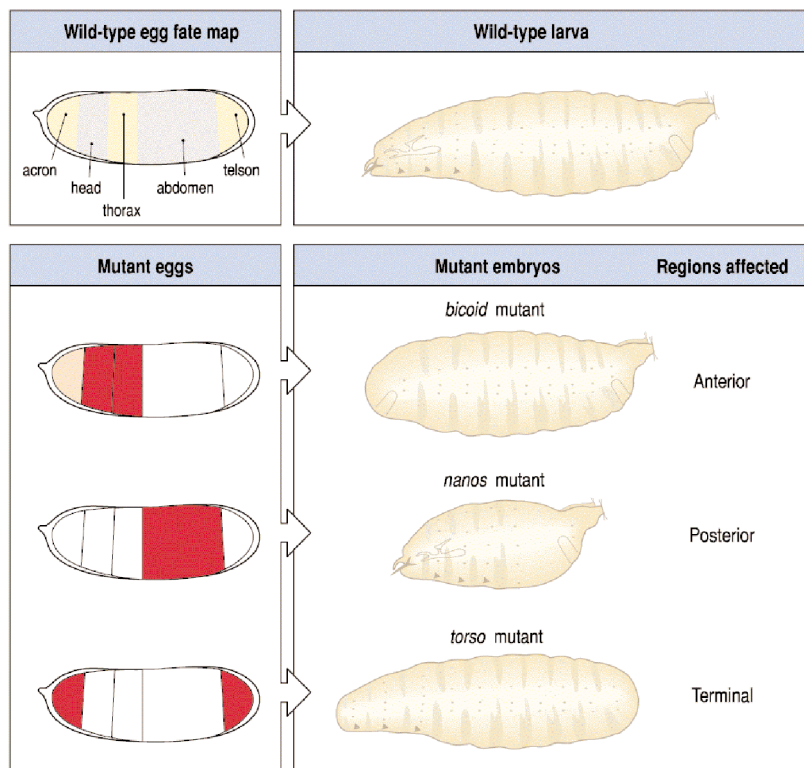
Τα γονίδια μητρικής επίδρασης που ελέγχουν την ανάπτυξη κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα, διακρίνονται όπως έχουμε ήδη αναφέρει σε τρεις κατηγορίες:

-Στα γονίδια της εμπρόσθιας ομάδας με χαρακτηριστικότερο εκπρόσωπο το *bicoid*.

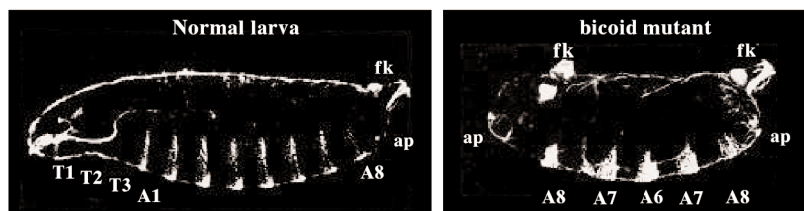
-Στα γονίδια της οπίσθιας ομάδας με χαρακτηριστικότερο εκπρόσωπο το *nanos*.

.-Στα γονίδια της ακραίας ομάδας με χαρακτηριστικότερο εκπρόσωπο το *torso*.

Η παραπάνω κατάταξη γίνεται με βάση το φαινότυπο των μεταλλαγών τους (Εικόνα 2.25). Μεταλλάξεις σε γονίδια της εμπρόσθιας ομάδας έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση ή την απώλεια των περιοχών της προνύμφης που αντιστοιχούν στο κεφάλι και τον θώρακα και σε μερικές περιπτώσεις την αντικατάστασή τους από οπίσθιες δομές. Μεταλλάξεις σε γονίδια της οπίσθιας ομάδας έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια κοιλιακών τμημάτων της προνύμφης. Τέλος, μεταλλάξεις σε γονίδια της ακραίας ομάδας έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια των ακραίων τμημάτων της προνύμφης δηλαδή του άκρου και του τέλους.

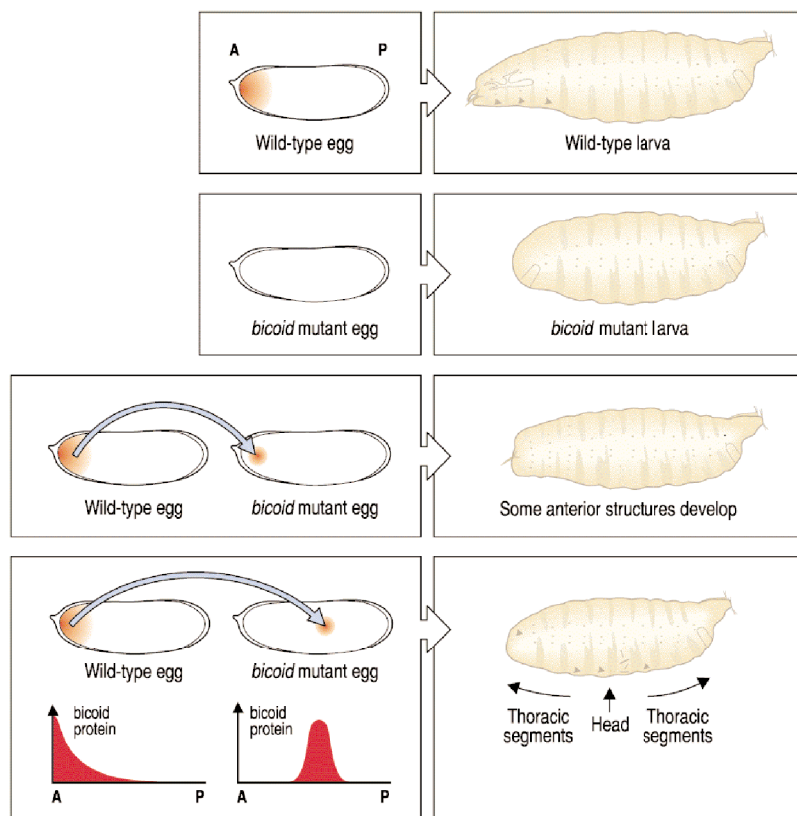


**Εικόνα 2.25:** Χαρακτηριστικά παραδείγματα του φαινότυπου των μεταλλάξεων γονιδίων μητρικής επίδρασης, τα οποία ελέγχουν την ανάπτυξη κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα. Κάτω από τα σχήματα δείχνεται η φωτογραφία μιας προνύμφης που προέρχεται από μητέρα ομόζυγη για κάποια μετάλλαξη του *bicoid*. Προσέξτε πως στις περιπτώσεις μεταλλάξεων του *bicoid*, πέρα από την απώλεια των εμπρόσθιων δομών, παρατηρείται επίσης η αντικατάσταση του άκρου από ένα ατελώς σχηματισμένο τέλος. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως το *bicoid* ενέχεται και στον καθορισμό του άκρου. Πέρα από την εξαίρεση αυτή, το σύστημα διαφοροποίησης των δύο ακραίων τμημάτων λειτουργεί εν πολλοίς ανεξάρτητα από τα συστήματα διαφοροποίησης του εμπρόσθιου και του οπίσθιου τμήματος (ap: anal plates, fk: filzkörper, και τα δύο χαρακτηριστικές δομές του τέλους).



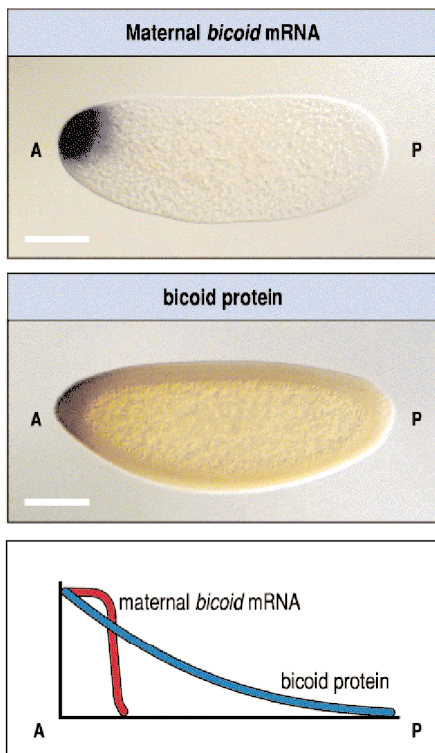
## B. Ο ρόλος του *bicoid* στο σχηματισμό των εμπρόσθιων δομών.

Μια σειρά πειραμάτων τα οποία είχαν γίνει με σκοπό τον εντοπισμό κυτταροπλασματικών παραγόντων που ρυθμίζουν την ανάπτυξη της δροσόφιλας, είχαν δείξει πως στο εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου υπάρχει ένας κυτταροπλασματικός καθοριστής που είναι απαραίτητος για το σχηματισμό της κεφαλής και του θώρακα. Όταν κάποιος τρυπούσε με μια βελόνα το εμπρόσθιο άκρο ενός εμβρύου και απομάκρυνε μια μικρή ποσότητα κυτταροπλάσματος, τότε η προνύμφη που εκκολάπτονταν από το έμβρυο αυτό στερείτο των δομών της κεφαλής και του θώρακα. Καθώς ο παραπάνω φαινότυπος θύμιζε έντονα τα έμβρυα που γενιούνται από μητέρες ομόζυγες για μεταλλάξεις του *bicoid*, ήταν λογικό να υποθεθεί πως ο άγνωστος κυτταροπλασματικός καθοριστής είναι η πρωτεΐνη Bicoid. Πράγματι, είναι δυνατό να μετριαστούν σε σημαντικό βαθμό οι αναπτυξιακές ανωμαλίες της προνύμφης που εκκολάπτεται από ένα γονιμοποιημένο ωάριο το οποίο στερείται Bicoid, αν στην εμπρόσθια περιοχή του ενεθεί λίγο κυτταρόπλασμα από την εμπρόσθια περιοχή ενός φυσιολογικού ωαρίου (Εικόνα 2.26). Ακόμα πιο εντυπωσιακή ήταν η διαπίστωση, πως με ένεση εμπρόσθιου αγρίου τύπου κυτταροπλάσματος, στο μέσο ενός ζυγωτού που στερείται Bicoid, αναπτύσσονταν μία προνύμφη που εμφάνιζε χαρακτηριστικές δομές της κεφαλής στο μέσο του σώματός της και εκατέρωθεν αυτών θωρακικού τύπου μεταμερή! Ο απλούστερος τρόπος για να ερμηνευθούν αυτά τα πειραματικά αποτελέσματα, είναι να υποθεθεί πως η Bicoid λειτουργεί ως μορφογόνο το οποίο καθορίζει το σχηματισμό των εμπρόσθιων δομών της προνύμφης: σε υψηλές συγκεντρώσεις Bicoid σχηματίζεται το κεφάλι, σε χαμηλότερες ο θώρακας και απουσία Bicoid η κοιλιακή περιοχή. Η παραπάνω αυτή υπόθεση έχει σήμερα επιβεβαιωθεί με μια σειρά πειραμάτων Μοριακής Βιολογίας. Κατ' αρχήν γνωρίζουμε πως το mRNA



**Εικόνα 2.26:** Οι αναπτυξιακές ανωμαλίες μιας προνύμφης που προέχεται από μητέρα ομόζυγη για κάποια μετάλλαξη του *bicoid*, μπορούν να μετριαστούν αν ενεθεί στο ζυγωτό από το οποίο λείπει η Bicoid, λίγο κυτταρόπλασμα από την εμπρόσθια περιοχή ενός φυσιολογικού ωαρίου. Με ένεση εμπρόσθιου, αγρίου τύπου κυτταροπλάσματος, στο μέσο ενός ζυγωτού που στερείται Bicoid, αναπτύσσεται μία προνύμφη που εμφάνιζε χαρακτηριστικές δομές της κεφαλής στο μέσο του σώματός της και εκατέρωθεν αυτών θωρακικού τύπου μεταμερή. Ο απλούστερος τρόπος για να ερμηνευθούν αυτά τα πειραματικά αποτελέσματα, είναι να υποθεθεί πως η Bicoid λειτουργεί ως μορφογόνο το οποίο καθορίζει το σχηματισμό των εμπρόσθιων δομών της προνύμφης: σε υψηλές συγκεντρώσεις Bicoid σχηματίζεται το κεφάλι, σε χαμηλότερες ο θώρακας και απουσία Bicoid η κοιλιακή περιοχή.



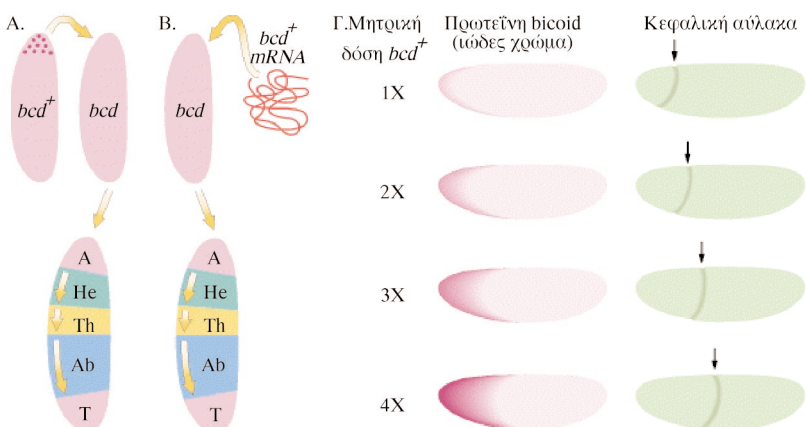


**Εικόνα 2.27:** Στο πάνω τμήμα του σχήματος δείχνεται με *in situ* υβριδοποίηση, ο εντοπισμός του *bicoid*-mRNA στο εμπρόσθιο τμήμα του ωαρίου (σκούρο μπλέ χρώμα). Στο μεσαίο τμήμα του σχήματος δείχνεται ο εντοπισμός της πρωτεΐνης Bicoid με τη βοήθεια κατάλληλου αντισώματος, στο εμπρόσθιο τμήμα νεαρού εμβρύου (καφέ χρώμα). Στο κάτω τμήμα του σχήματος απεικονίζεται η κατανομή του mRNA και της πρωτεΐνης του *bicoid*, κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα στα νεαρά έμβρυα.

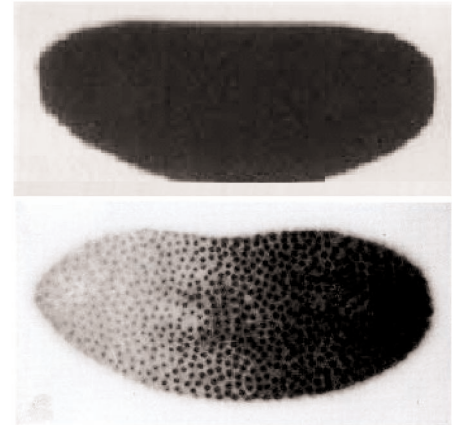
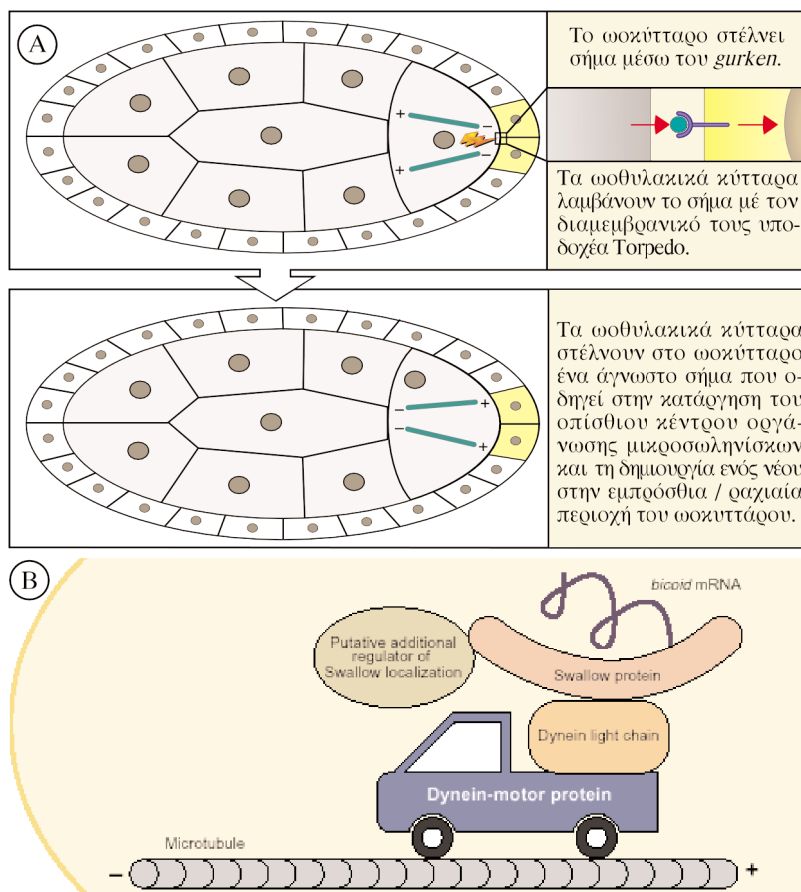
του *bicoid* εντοπίζεται στο εμπρόσθιο άκρο του ωοκυττάρου κατά την ωογένεση. Μετά τη γονιμοποίηση αρχίζει να μεταφράζεται και η πρωτεΐνη του διαχέεται προς το οπίσθιο τμήμα του εμβρύου. Έτσι δημιουργείται μια κλίση συγκέντρωσης (concentration gradient) της Bicoid κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα (Εικόνα 2.27). Επομένως, η κατανομή της Bicoid στο έμβρυο είναι απόλυτα συμβατή με την υπόθεση πως λειτουργεί ως μορφογόνο το οποίο καθορίζει το σχηματισμό των εμπρόσθιων δομών. Επιπλέον, αν καθαρό mRNA του γονιδίου *bicoid* ενεθεί στο εμπρόσθιο άκρο ζυγωτών μητέρας ομόζυγης για μεταλλάξεις του *bicoid*, τότε εκεί όπου έγινε η ένεση σχηματίζονται δομές της κεφαλής, και καθώς απομακρυνόμαστε από το σημείο της ένεσης, σχηματίζονται αρχικά θωρακικά και στη συνέχεια κοιλιακά μεταμερή (Εικόνα 2.28). Τέλος, σε έμβρυα από γενετικά τροποποιημένα θηλυκά άτομα τα οποία έχουν περισσότερα από δύο αντίγραφα του *bicoid*, παρατηρείται βαθμιαία μεγέθυνση της περιοχής από την οποία θα προκύψει το κεφάλι, εις βάρος των υπολοίπων τμημάτων του εμβρύου (Εικόνα 2.28).

Με δεδομένο λοιπόν πως τα παραπάνω πειράματα αποδεικνύουν το ρόλο της Bicoid ως μορφογόνο, τίθεται το επόμενο λογικό ερώτημα: μέσα από ποιο μηχανισμό επιτυγχάνει η Bicoid τη δράση της; Σήμερα γνωρίζουμε πως η Bicoid λειτουργεί τόσο ως μεταγραφικός παραγόντας όσο και ως μεταφραστικός καταστολέας (Wilkinson and Shyu 2001). Όπως θα δούμε στην επόμενη ενότητα, η Bicoid εισέρχεται στους πυρήνες του εμβρύου και επάγει τη μεταγραφή του ζυγωτικού γονιδίου *hunchback*. Έτσι εξασφαλίζεται πως το *hunchback* (το οποίο παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση της κεφαλής και του θώρακα), θα εκφραστεί μόνο στο εμπρόσθιο ήμισυ του εμβρύου. Επίσης, η Bicoid λειτουργώντας ως μεταφραστικός καταστολέας καταστέλλει τη μετάφραση του mRNA ενός άλλου γονιδίου μητρικής επίδρασης, του *caudal*. Το mRNA του *caudal* είναι ομοιόμορφα καταμεμημένο σε όλο το έμβρυο (Εικόνα 2.29). Η πρωτεΐνη Caudal παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στον καθορισμό των κοιλιακών δομών του εμβρύου, μεταξύ άλλων και γιατί ενεργοποιεί τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την εγκόλπωση του οπίσθιου τμήματος του εντέρου (βλέπε και σελ. 10). Η Bicoid αναγνωρίζει ένα τμήμα της 3' αμετάφραστης περιοχής του mRNA του *caudal* και προσδένεται επάνω του καταστέλλοντας έτσι τη μετάφρασή του. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς έχει δειχθεί πως σε περίπτωση που η πρωτεΐνη Caudal συντεθεί στο εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου, δεν αναπτύσσονται ομαλά οι περιοχές της κεφαλής και του θώρακα.

**Εικόνα 2.28:** Α. Μεταφορά εμπρόσθιου, άγριου τύπου κυτταροπλάσματος, στο εμπρόσθιο τμήμα ζυγωτού που στερείται Bicoid, αποκαθιστά σε σημαντικό βαθμό την ανάπτυξη του εμβρύου. Β. Στο ίδιο αποτέλεσμα οδηγούμαστε, αν αντί για άγριου τύπου κυτταροπλάσμα, ενεθεί στο ζυγωτό που προέρχεται από μητέρα ομόζυγη για κάποια μετάλλαξη του *bicoid*, καθαρό *bicoid*-mRNA. Γ. Σε έμβρυα από γενετικά τροποποιημένα θηλυκά άτομα τα οποία φέρουν περισσότερα από δύο αντίγραφα του *bicoid*, παρατηρείται βαθμιαία μεγέθυνση της περιοχής από την οποία θα προκύψει το κεφάλι, εις βάρος των υπολοίπων τμημάτων του εμβρύου. Αυτό διαπιστώνεται από τη σταδιακή μετακίνηση προς το οπίσθιο άκρο του εμβρύου, της θέσης στην οποία σχηματίζεται η κεφαλική αύλακα, (βλέπε και Εικόνα 2.15 στη σελ. 12).



Όπως έχουμε αναφέρει, καθοριστικό ρόλο στη δημιουργία της κλίσης συγκέντρωσης της Bicoid παίζει ο εντοπισμός του *bicoid*-mRNA στον εμπρόσθιο πόλο του εμβρύου. Ο μηχανισμός με τον οποίο εξασφαλίζεται αυτό, αποτελεί ένα εξαιρετικό παράδειγμα τόσο της σημασίας των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ωκυττάρου και ωθυλακικών κυττάρων, όσο και του ρόλου του κυτταροσκελετού στον εντοπισμό ορισμένων mRNAs σε συγκεκριμένες περιοχές του κυττάρου (Jansen 1999 - Ενθετο 2.5 στη σελ. 26). Στα πρώτα στάδια της ωγένεσης η παρουσία ενός MTOC (βλέπε Ενθετο 2.4) στο οπίσθιο τμήμα του ωκυττάρου, έχει σαν αποτέλεσμα το αρνητικό άκρο των μικροσωληνίσκων να βρίσκεται στον οπίσθιο πόλο ενώ το θετικό στον εμπρόσθιο (Εικόνα 2.30A). Στην πορεία όμως της ωγένεσης το ωκύτταρο εκκρίνει τοπικά, στην οπίσθια περιοχή του θαλάμου του ωαρίου, την πρωτεΐνη Gurken η οποία αλληλεπιδρά με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα Torpedo των ωθυλακικών κυττάρων. Τα ωθυλακικά κύτταρα που εκτίθενται στην Gurken στέλνουν στο ωκύτταρο ένα άγνωστο σήμα το οποίο έχει ως συνέπεια τη μετατόπιση του MTOC στο εμπρόσθιο άκρο του ωκυττάρου. Έτσι, ο προσανατολισμός των μικροσωληνίσκων αντιστρέφεται. Αυτή η αναδιάταξη των μικροσωληνίσκων έχει βρεθεί πως είναι απαραίτητη για τον εντοπισμό του *bicoid*-mRNA στο εμπρόσθιο άκρο του ωκυττάρου. Πρόσφατα μάλιστα δείχθηκε πως το *bicoid*-mRNA αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη Swallow, η οποία με τη σειρά της συνδέεται με μία πρωτεΐνη της οικογένειας των δυνεΐνων (Schnorrer et al 2000, Hays and Karess 2000). Καθώς οι δυνεΐνες μετακινούνται προς το αρνητικό άκρο των μικροσωληνίσκων, με τον μηχανισμό αυτό εξασφαλίζεται ενεργητικά, η συσσώρευση του *bicoid*-mRNA στο εμπρόσθιο άκρο του ωκυττάρου (Εικόνα 2.30B).



**Εικόνα 2.29:** Στο επάνω τμήμα του σχήματος δείχνεται ένα ωάριο στο οποίο ανιχνεύεται το *caudal*-mRNA (μαύρο χρώμα), και όπως είναι φανερό κατανέμεται ομοιόμορφα. Στο κάτω τμήμα του σχήματος ανιχνεύεται η πρωτεΐνη Caudal, σε έμβryo στο στάδιο του συγκυτιακού βλαστοδέρματος (μαύρο χρώμα). Καθώς η Bicoid καταστέλλει τη μετάφραση του *caudal*-mRNA, η πρωτεΐνη Caudal απουσιάζει από το εμπρόσθιο τμήμα του ωαρίου.

**Εικόνα 2.30: A.** Σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης μεταξύ του ωκυττάρου και των ωθυλακικών κυττάρων, που έχει ως αποτέλεσμα την αναδιάταξη των μικροσωληνίσκων. Η αναδιάταξη αυτή είναι απαραίτητη για τον εντοπισμό του *bicoid*-mRNA στο εμπρόσθιο τμήμα του ωκυττάρου. **B.** Μοντέλο που απεικονίζει τον ενεργητικό μηχανισμό μετατόπισης του *bicoid*-mRNA στο εμπρόσθιο τμήμα του ωκυττάρου. Στη δυνεΐνη, η οποία έχει την ιδιότητα να συνδέεται πάνω στους μικροσωληνίσκους και να μετακινείται προς το αρνητικό τους άκρο, συνδέεται η πρωτεΐνη Swallow και μέσω αυτής το *bicoid*-mRNA. Πιθανώς στο όλο σύμπλοκο να συμμετέχει και κάποια ακόμα άγνωστη πρωτεΐνη, η οποία να επηρεάζει την αλληλεπίδραση της Swallow με την δυνεΐνη.

**Ενθετο 2.5: Ο κυτταροσκελετός**

Ο κυτταροσκελετός αποτελείται από διάφορους τύπους ινιδίων που είναι γνωστά ως **κυτταροσκελετικά ινίδια** (cytoskeletal filaments). Στα ευκαρυωτικά κύτταρα οι σημαντικότεροι τύποι κυτταροσκελετικών ινιδίων είναι οι ακόλουθοι:

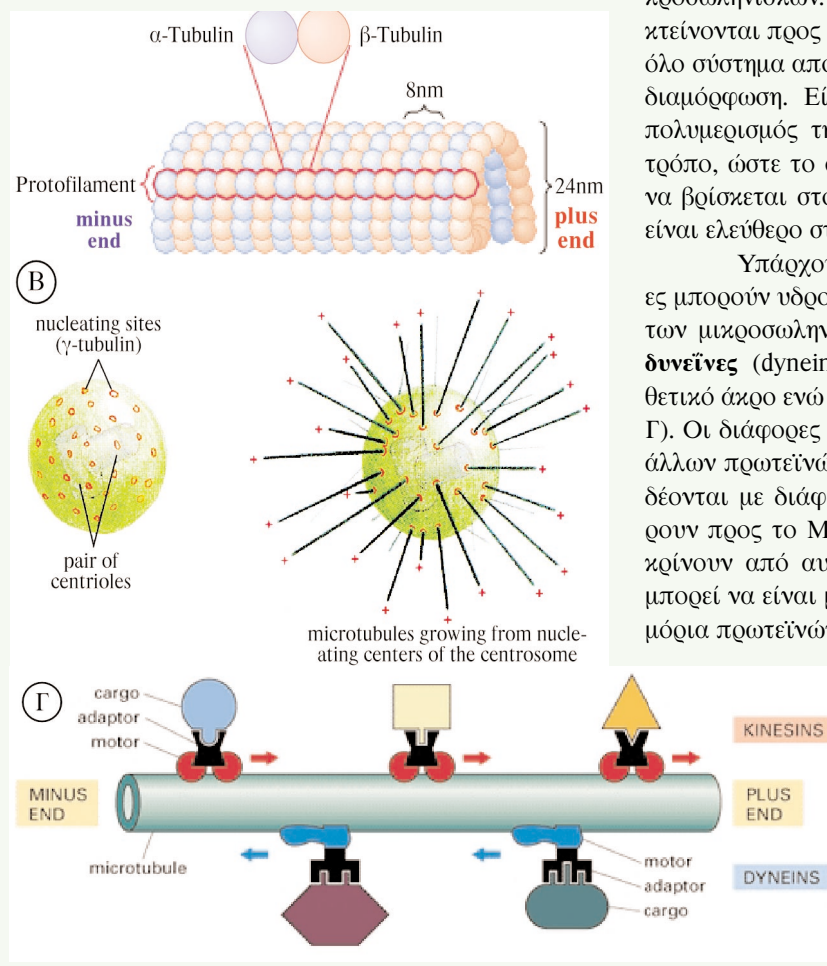
- Τα **ενδιάμεσα ινίδια** (intermediate filaments), ο βασικός ρόλος των οποίων είναι να εξασφαλίζουν μηχανική αντοχή στο κύτταρο.
- Τα **ινίδια ακτίνης** (actin filaments) που αναφέρονται και ως **μικροϊνίδια** (microfilaments) τα οποία απαντούν σε μεγαλύτερη συγκέντρωση κάτω από την πλασματική μεμβράνη, και ενέχονται τόσο σε περιπτώσεις μετακίνησης κυττάρων όπως π.χ. συμβαίνει κατά τη μετανάστευση των κυττάρων της νευρικής ακρολοφίας, όσο και σε περιπτώσεις ενδοκυτταρικής μετακίνησης μορίων.
- Οι **μικροσωληνίσκοι** (microtubules) οι οποίοι ενέχονται σε διάφορους τύπους ενδοκυτταρικών μεταφορών (intracellular transport) και τελικά στον εντοπισμό (localization), τόσο των μεμβρανωδών σωματιδίων του κυττάρου όσο και διάφορων πρωτεϊνών και mRNAs.

Οι μικροσωληνίσκοι αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες υπομονάδες **τουμπουλίνης** (Εικόνα Α). Κάθε υπομονάδα τουμπουλίνης είναι ένα ετεροδιμερές αποτελούμενο από από ένα μόριο **α-τουμπουλίνης** και ένα μόριο **β-τουμπουλίνης**. Γραμμικά επαναλαμβανόμενες υπομονάδες τουμπουλίνης σχηματίζουν τα λεγό-

μενα **πρωτοϊνίδια** (protofilaments). Οι μικροσωληνίσκοι είναι κυλινδρικές δομές των οποίων η επιφάνεια αποτελείται από 13 παράλληλα τοποθετημένα πρωτοϊνίδια, ενώ το εσωτερικό τους είναι κενό. Λόγω του τρόπου κατασκευής τους οι μικροσωληνίσκοι εμφανίζουν πολικότητα. Στο ένα άκρο τους εκτίθενται μόρια α-τουμπουλίνης ενώ στο άλλο εκτίθενται μόρια β-τουμπουλίνης. Το άκρο στο οποίο εκτίθενται οι α-τουμπουλίνες ονομάζεται αρνητικό ενώ αυτό στο οποίο εκτίθενται οι β-τουμπουλίνες ονομάζεται θετικό.

Ο πολυμερισμός των υπομονάδων τουμπουλίνης με σκοπό το σχηματισμό μικροσωληνίσκων, γίνεται από συγκεκριμένες δομές του κυττάρου οι οποίες ονομάζονται **Κέντρα Οργάνωσης Μικροσωληνίσκων** (Microtubule Organizing Centers - στο εξής θα ακολουθήσουμε την Αγγλική συντομογραφία "**MTOC**"). Τα περισσότερα ζωικά κύτταρα διαθέτουν ένα μόνο MTOC που ονομάζεται **κεντρόσωμα** (centrosome) και απαντά κοντά στον πυρήνα (Εικόνα Β). Το κεντρόσωμα αποτελείται από δύο κυλινδρικούς σχηματισμούς που ονομάζονται **κεντρίλια** (centrioles) και από το λεγόμενο **περικεντρίλιο υλικό** (pericentriolar material / centrosome matrix) που τα περιβάλλει. Το περικεντρίλιο υλικό είναι πλούσιο σε μόρια ενός τρίτου τύπου τουμπουλίνης, της **γ-τουμπουλίνης**. Η γ-τουμπουλίνη δημιουργεί στην επιφάνεια του κεντροσώματος εστίες πολυμερισμού τουμπουλίνης, στις οποίες ξεκινά η παραγωγή των μικροσωληνίσκων. Καθώς γύρω από το κεντρόσωμα επεκτείνονται προς κάθε κατεύθυνση μικροσωληνίσκοι, το όλο σύστημα αποκτά μια χαρακτηριστική "αστεροειδή" διαμόρφωση. Είναι σημαντικό να τονίσουμε πως ο πολυμερισμός της τουμπουλίνης γίνεται κατά τέτοιο τρόπο, ώστε το αρνητικό άκρο των μικροσωληνίσκων να βρίσκεται στο κεντρόσωμα ενώ το θετικό άκρο να είναι ελεύθερο στο κυτταρόπλασμα.

Υπάρχουν δύο κατηγορίες πρωτεϊνών οι οποίες μπορούν υδρολύοντας ATP να κινηθούν κατά μήκος των μικροσωληνίσκων: οι **κινεσίνες** (kinesins) και οι **δυνεΐνες** (dyneins). Οι κινεσίνες κινούνται προς το θετικό άκρο ενώ οι δυνεΐνες προς το αρνητικό (Εικόνα Γ). Οι διάφορες δυνεΐνες και κινεσίνες μπορούν μέσω άλλων πρωτεϊνών - προσαρμοστών (adaptors) να συνδέονται με διάφορα "φορτία" και είτε να τα μεταφέρουν προς το MTOC (οι δυνεΐνες) είτε να τα απομακρίνουν από αυτό (οι κινεσίνες). Τα "φορτία" αυτά μπορεί να είναι μεμβρανώδη σωματίδια του κυττάρου, μόρια πρωτεϊνών ή μόρια mRNA.



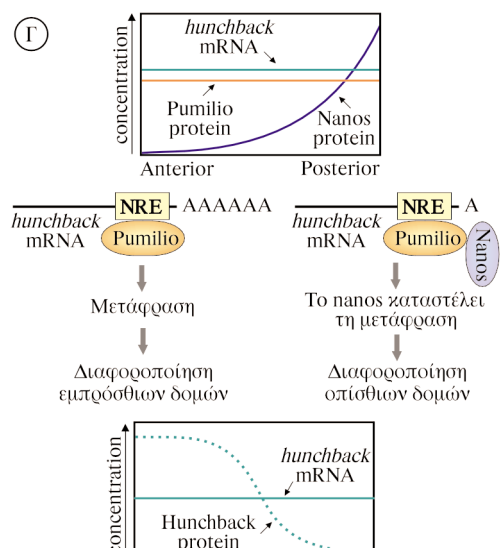
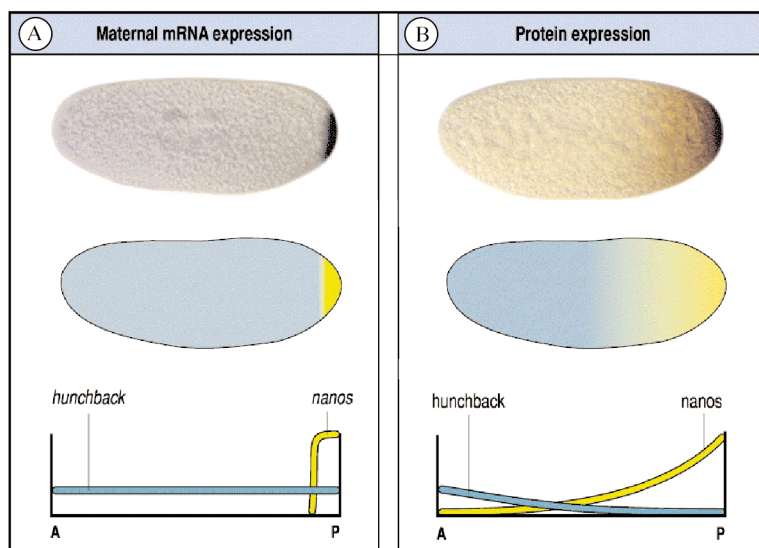
**Α.** Σχηματική απεικόνιση της δομής των μικροσωληνίσκων. Προσέξτε την πολικότητα που εμφανίζουν.  
**Β.** Σχηματική απεικόνιση της δομής ενός κεντροσώματος. Από το αριστερό σχήμα παραλείπονται οι μικροσωληνίσκοι.  
**Γ.** Απλοποιημένο μοντέλο στο οποίο απεικονίζεται ο ρόλος των κινεσινών και των δυνεϊνών στην ενδοκυτταρική μετακίνηση "φορτίων".

**Γ. Ο ρόλος του *nanos* στο σχηματισμό των εμπρόσθιων δομών.**

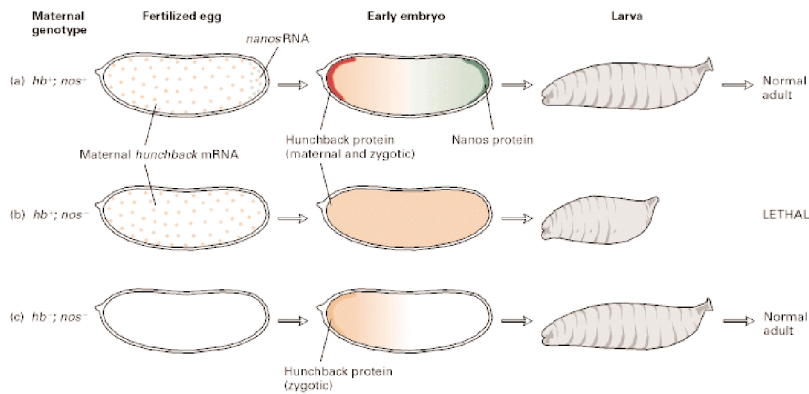
Στο σχηματισμό των κοιλιακών μεταμερών καθοριστικό ρόλο παίζει και παρουσία στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί το γονίδιο *nanos*. Το mRNA του *nanos* εντοπίζεται στο οπίσθιο άκρο ωαρίου. Η μετάφρασή του αρχίζει μετά την γονιμοποίηση και η πρωτεΐνη του διαχέεται προς το εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου. Έτσι, κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα δημιουργείται μια κλίση συγκέντρωσης της Nanos, με μέγιστο στο οπίσθιο άκρο και ελάχιστο στο εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου. (Εικόνα 2.31). Ο μηχανισμός μέσω του οποίου εξασφαλίζεται η συγκέντρωση του *nanos*-mRNA στην οπίσθια περιοχή του ωαρίου δεν είναι απόλυτα κατανοητός. Είναι πάντως γνωστό πως απαιτείται η συντονισμένη δράση μιας σειράς άλλων γονιδίων της οπίσθιας ομάδας όπως του *oskar*, του *tudor* και του *vasa*. Το ενδεχόμενο το *nanos*-mRNA να μεταφέρεται στο οπίσθιο τμήμα του ωοκυττάρου με κάποιο ενεργητικό μηχανισμό ανάλογο με αυτόν που είδαμε στην περίπτωση του *bicoid*-mRNA δεν μπορεί να αποκλειστεί. Θεωρείται όμως πιθανότερο να πρόκειται για έναν μηχανισμό παθητικής διάχυσης, σε συνδυασμό με εκλεκτική κατακράτηση του *nanos*-mRNA, από κάποια άγνωστη πρωτεΐνη που εντοπίζεται στον οπίσθιο πόλο του ωοκυττάρου (Palacios and St Johnston 2001).

Η βασικότερη λειτουργία του *nanos* έγκειται στην ρύθμιση της έκφρασης του μητρικού *hunchback*. Έχουμε ήδη αναφέρει πως το *hunchback* του ζυγωτικού γονιδιώματος ενεργοποιείται από το *bicoid*. Πέρα όμως από το ζυγωτικό *hunchback*, στο ωοκύτταρο μεταφέρεται και μητρικής προέλευσης mRNA του γονιδίου αυτού. Το μητρικό αυτό mRNA απαντά συνδεδεμένο με την πρωτεΐνη του γονιδίου Pumilio στην 3' αμετάφραστη περιοχή του και κατανέμεται ομοιόμορφα στο έμβρυο. Η Nanos συνδέεται πάνω στην Pumilio και καταστέλλει τη μετάφραση του μητρικού *hunchback*-mRNA (Εικόνα 2.31). Καθώς η συγκέντρωση της Nanos μειώνεται προοδευτικά ενώ κινούμαστε από το οπίσθιο προς το εμπρόσθιο άκρο του εμβρύου, μέσω της καταστολής του μητρικού *hunchback*-mRNA από τη Nanos, δημιουργείται μια κλίση συγκέντρωσης της μητρικής Hunchback, με μέγιστο στο εμπρόσθιο και ελάχιστο στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου. Είναι χαρακτηριστικό, πως εάν με κατάλληλους χειρισμούς απομα-

**Εικόνα 2.31: Α.** Στη φωτογραφία δείχνεται με *in situ* υβριδοποίηση, ο εντοπισμός του *nanos*-mRNA στο οπίσθιο τμήμα του ωαρίου (μαύρο χρώμα). Στο σχήμα που ακολουθεί, με κίτρινο χρώμα υποδεικνύεται η κατανομή του *nanos*-mRNA ενώ με πράσινο η κατανομή του *hunchback*-mRNA. Όπως φαίνεται το πρώτο εντοπίζεται στο οπίσθιο άκρο του ωαρίου ενώ το δεύτερο κατανέμεται ομοιόμορφα. **Β.** Στη φωτογραφία δείχνεται ο εντοπισμός της Nanos με τη βοήθεια κατάλληλου αντισώματος, στο οπίσθιο τμήμα νεαρού εμβρύου (καφέ χρώμα). Στο σχήμα που ακολουθεί, με κίτρινο χρώμα υποδεικνύεται η κατανομή της Nanos ενώ με πράσινο χρώμα η κατανομή της Hunchback. Η Nanos σχηματίζει μια κλίση συγκέντρωσης με μέγιστο στο οπίσθιο και ελάχιστο στο εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου. Η Hunchback επίσης σχηματίζει μια κλίση συγκέντρωσης κατά μήκος του εμπρόσθιου οπίσθιου άξονα, όμως με μέγιστο στο εμπρόσθιο και ελάχιστο στο οπίσθιο τμήμα. **Γ.** Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού με τον οποίο η Nanos καταστέλλει τη μετάφραση του *hunchback*-mRNA. Η Pumilio προσδέεται σε μια χαρακτηριστική αλληλουχία της 3' αμετάφραστης περιοχής του *hunchback*-mRNA, η οποία ονομάζεται στοιχείο απόκρισης στην Nanos (Nanos response element: NRE). Η Nanos συνδέεται στην Pumilio και προκαλεί την αποαδενυλλίωση του *hunchback*-mRNA, καταστέλλοντας έτσι τη μετάφρασή του. (Η μερική αποαδενυλλίωση του *hunchback*-mRNA από τη Nanos δεν φαίνεται να έχει κάποια ιδιαίτερη επίδραση στη σταθερότητά του. Για περισσότερες λεπτομέρειες βλ. Wreden et al 1997 και Johnstone O. and Lasko P. 2001).



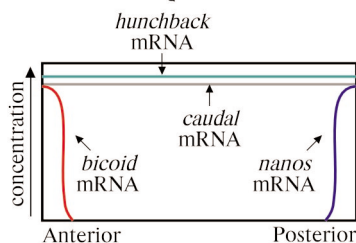
**Εικόνα 2.32:** Εμβρυα που προέρχονται από μητέρες ομόζυγες για κάποια μετάλλαξη του *nanos*, όπως έχουμε πει δεν αναπτύσσονται φυσιολογικά (βλέπε και Εικόνα 2.25). Εμβρυα όμως τα οποία στερούνται ταυτόχρονα τόσο το μητρικό *nanos*-mRNA όσο και το μητρικό *hunchback*-mRNA, δεν εμφανίζουν αναπτυξιακές ανωμαλίες. Εμβρυα τα οποία στερούνται μόνο του μητρικού *hunchback*-mRNA αναπτύσσονται επίσης φυσιολογικά, χάρη στην παρουσία του ζυγωτικού *hunchback* (το σενάριο αυτό δεν απεικονίζεται στο σχήμα). Από τα παραπάνω προκύπτει πως ο αναπτυξιακός ρόλος του μητρικού *nanos*, περιορίζεται στην καταστολή της έκφρασης του μητρικού *hunchback* στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου. Το *nanos* εκφράζεται και από το ζυγωτικό γονιδίωμα, πιθανότατα όχι νωρίτερα από το στάδιο της προνύμφης. Ο ζυγωτικός όμως ρόλος του *nanos* είναι πολύπλοκος και όχι επαρκώς κατανοητός (Verrotti and Wharton 2000).



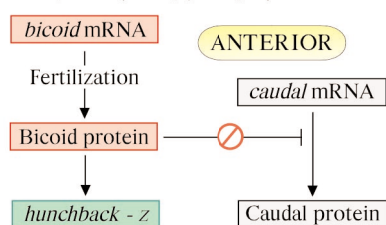
κρυνθούν ταυτόχρονα τόσο το μητρικό *hunchback*-mRNA όσο και το μητρικό *nanos*-mRNA, τότε τα έμβρυα αναπτύσσονται φυσιολογικά. Το γεγονός αυτό δείχνει, πως ο μοναδικός ρόλος του μητρικού *nanos* στη ρύθμιση της ανάπτυξης του εμβρύου, έγκειται στην καταστολή της έκφρασης του μητρικού *hunchback* στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου (Εικόνα 2.32).

Αν συγκρίνει κανείς τους μηχανισμούς με του οποίους το *bicoid* και το *nanos* ελέγχουν τον σχηματισμό του εμπρόσθιου και του οπίσθιου τμήματος, θα παρατηρήσει σημαντικές ομοιότητες αλλά και αξιοσημείωτες διαφορές (Εικόνα 2.33). Η Bicoid πρέπει να καταστείλλει τη μετάφραση του *caudal*-mRNA ενώ η Nanos πρέπει να καταστείλλει τη μετάφραση του *hunchback*-mRNA. Ενώ όμως η Bicoid αναγνωρίζει η ίδια την 3' αμετάφραστη περιοχή του *caudal*-mRNA, η Nanos συνδέεται στο *hunchback*-mRNA με τη μεσολάβηση της Pumilio. Μια άλλη σημαντική διαφορά έγκειται στο γεγονός πως ο ρόλος του μητρικού *nanos* είναι καθαρά "επιτρεπτικός" (permissive): ο μοναδικός τρόπος με τον οποίο ενέχεται στη ρύθμιση της ανάπτυξης του εμβρύου είναι μέσω της καταστολής της μετάφρασης του *hunchback*-mRNA. Πρέπει δηλαδή να καταστείλλει την έκφραση του *hunchback* στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου, ώστε να καταστεί δυνατή (να "επιτραπεί") η ανάπτυξη των κοιλιακών μεταμερών. Αντίθετα, ο μηχανισμός δράσης του *bicoid* έχει και ένα ενεργητικό σκέλος, που αφορά τη μεταγραφική ενεργοποίηση του ζυγωτικού *hunchback*.

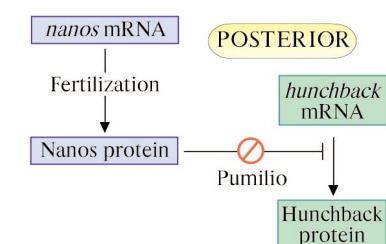
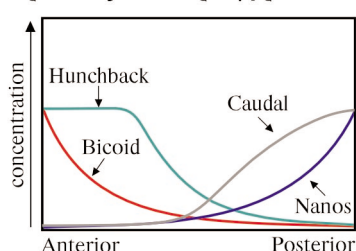
**mRNAs στο ωάριο.**



**Αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων.**



**Πρωτεΐνες στο νεαρό έμβryo.**



**Εικόνα 2.33:** Στο αριστερό τμήμα του σχήματος απεικονίζεται η κατανομή των mRNAs στο ωάριο και των πρωτεϊνών στο νεαρό έμβryo, των σημαντικότερων από τα γονίδια μητρικής επίδρασης της εμπρόσθιας και της οπίσθιας ομάδας. Στο δεξιό τμήμα του σχήματος, απεικονίζονται οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις (ως *hunchback - z* αναφέρεται το ζυγωτικό *hunchback*.)

#### Δ. Ο ρόλος του *torso* στο σχηματισμό των άκρων του εμβρύου.

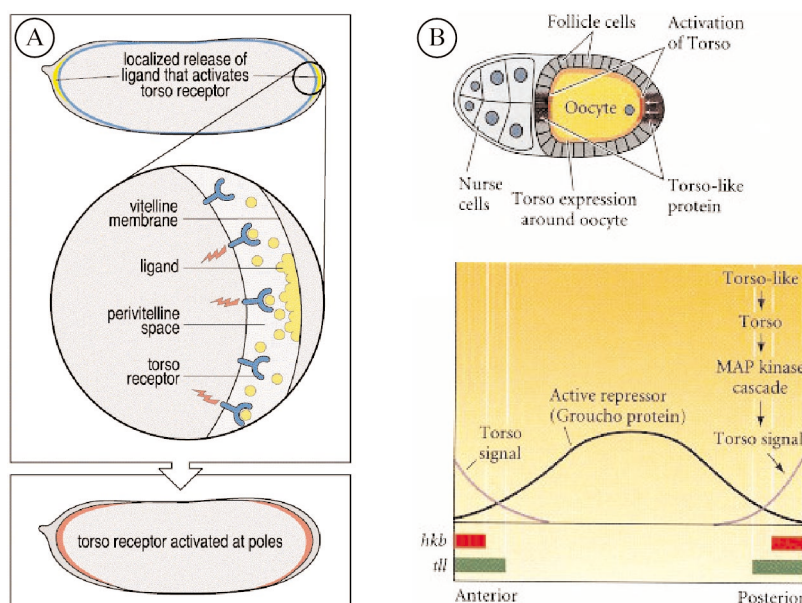
Το γονίδιο *torso* κωδικοποιεί για μία διαμεμβρανική κινάση τυροσίνης, που κατανέμεται ομοιόμορφα στην πλασματική μεμβράνη του εμβρύου, ενεργοποιείται όμως μόνο στα δύο άκρα του (Εικόνα 2.34A). Όπως έχουμε πει έμβρυα από μητέρες ομόζυγες για μεταλλάξεις του *torso*, εξελίσσονται σε προνύμφες που στερούνται των χαρακτηριστικών ακραίων δομών τους, του άκρου και του τέλους. Αντίστροφα, σε έμβρυα από μητέρες που φέρουν ένα επικρατές μεταλλαγμένο αλληλόμορφο του *torso* το οποίο κωδικοποιεί για μία διαρκώς ενεργή διαμεμβρανική κινάση τυροσίνης (constitutively active), το μισό εμπρόσθιο τμήμα διαφοροποιείται σε άκρο ενώ το μισό οπίσθιο σε τέλος. Ο υποδοχέας Torso ενεργοποιείται από κάποια πρωτεΐνη που εκκρίνουν τα ωοθυλακικά κύτταρα. Μια σειρά ενδείξεων υποδεικνύουν πως ο ενεργοποιητής του Torso είναι η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *torso-like*:

-Μεταλλάξεις του *torso-like* έχουν τον ίδιο φαινότυπο με μεταλλάξεις του *torso*.

-Το *torso-like* εκφράζεται μόνο στα ωοθυλακικά κύτταρα που βρίσκονται στο εμπρόσθιο και το οπίσθιο άκρο του θαλάμου του ωαρίου, ακριβώς δηλαδή στις περιοχές που ενεργοποιείται και ο υποδοχέας Torso.

-Εκτοπική έκφραση της *torso-like* έχει ως αποτέλεσμα την εκτοπική ενεργοποίηση του *torso*.

Το σήμα που μεταβιβάζεται στο ωκύτταρο μέσω της Torso θεωρείται ότι αδρανοποιεί την πρωτεΐνη Groucho η οποία λειτουργεί ως μεταγραφικός καταστολέας των γονιδίων *huckebein* και *tailless* (Εικόνα 2.34B). Έτσι καθίσταται δυνατή η έκφρασή τους στα δύο άκρα του εμβρύου. Η διάκριση ανάμεσα στο εμπρόσθιο και το οπίσθιο άκρο οφείλεται στην παρουσία της Bicoid. Όταν οι πρωτεΐνες Huckebein και Tailless δρουν μόνες τους (πράγμα που συμβαίνει στον οπίσθιο πόλο), καθοδηγούν την διαφοροποίηση του τέλους. Όταν δρουν σε συνδυασμό με την Bicoid (πράγμα που συμβαίνει στον εμπρόσθιο πόλο), καθοδηγούν την διαφοροποίηση του άκρου.



**Εικόνα 2.34: A.** Η διαμεμβρανική κινάση τυροσίνης που κωδικοποιεί το *torso* κατανέμεται ομοιόμορφα στην πλασματική μεμβράνη του εμβρύου, ενεργοποιείται όμως μόνο στα δύο άκρα του από την πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το γονίδιο *torso-like*. Η Torso-like εκκρίνεται από τα ωοθυλακικά κύτταρα που βρίσκονται στο εμπρόσθιο και το οπίσθιο άκρο του θαλάμου του ωαρίου, και μέχρι την γονιμοποίηση παραμένει συνδεδεμένη στη λεκιθική μεμβράνη. Μόνο μετά τη γονιμοποίηση ελευθερώνεται από τη λεκιθική μεμβράνη οπότε προσδένεται με την Torso προκαλώντας την ενεργοποίησή της. **B.** Η ενεργοποίηση της Torso στα δύο άκρα προκαλεί την αδρανοποίηση του μεταγραφικού καταστολέα Groucho με αποτέλεσμα την έκφραση των γονιδίων *huckebein* και *tailless* στους πόλους του εμβρύου. Τα δύο αυτά γονίδια παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση του άκρου και του τέλους. **Γ.** Το *groucho* εκράζεται τόσο στο έμβρυο όσο και στην προνύμφη. Μέσω της κατασταλτικής του δράσης ρυθμίζει την έκφραση ενός μεγάλου αριθμού, σημαντικών γονιδίων για την ανάπτυξη της μύγας. Ορισμένα από τα μεταλλαγμένα αλληλόμορφα του *groucho*, προκαλούν την εμφάνιση τριχιδίων γύρω από το μάτι της μύγας. Το όνομα του γονιδίου προέρχεται από τον Αμερικάνο κωμικό Julius Marx (1895 - 1977). Ο Julius Marx που στη φωτογραφία αυτή εμφανίζεται να καπνίζει πούρο, ήταν ένας έμεινε στην ιστορία του κινηματογράφου περισσότερο γνωστό ως Groucho. Η συνωνυμία του με το γονίδιο που του εξασφάλισε και μία θέση στην ιστορία της Βιολογίας, οφείλεται στα πολύ έντονα φρύδια του.



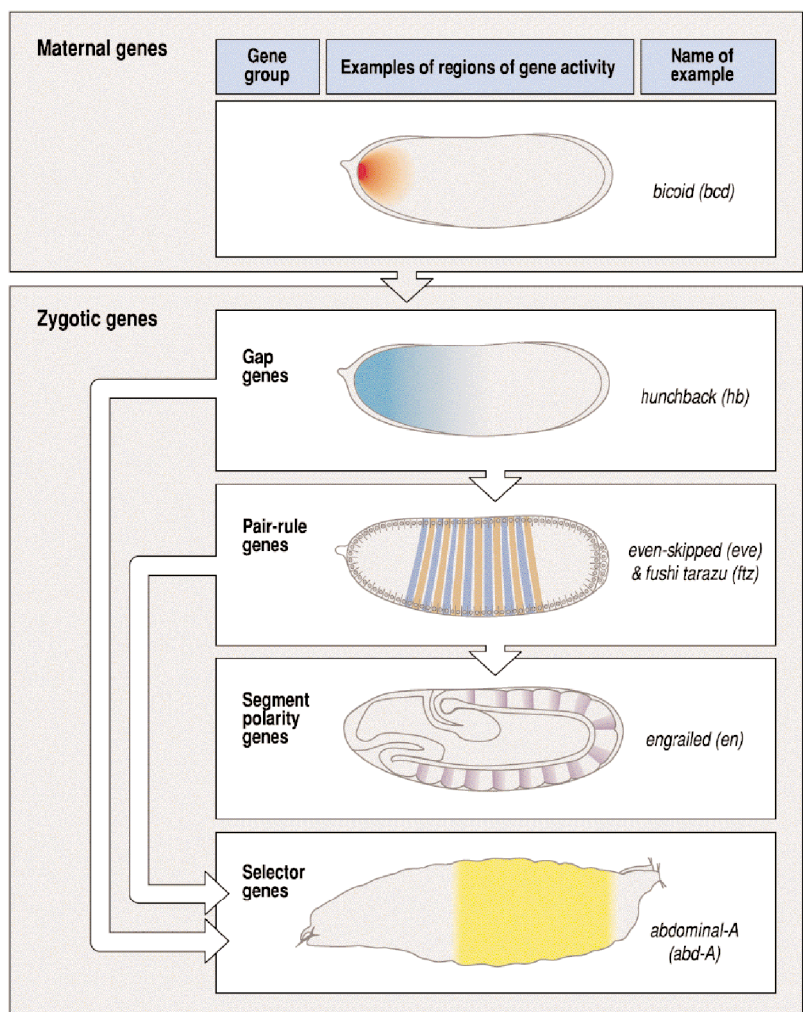
## 2.9 Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα II: Ο ρόλος των ζυγωτικών γονιδίων.

### A. Εισαγωγή.

Μέχρι τώρα έχουμε δει με ποιο τρόπο τα γονίδια μητρικής επίδρασης ρυθμίζουν το αναπτυξιακό πρόγραμμα του εμβρύου, καθορίζοντας τις περιοχές που θα εξελιχθούν σε εμπρόσθιο, οπίσθιο ή ακραίο τμήμα. Η δράση τους θέτει τις βασικές αρχές του αρχιτεκτονικού σχεδίου του σώματος του ζώου, προκειμένου όμως να σχηματιστούν στη συνέχεια τα διάφορα μεταμερή και να προσδιοριστεί με ακρίβεια η αναπτυξιακή ταυτότητά καθενός από αυτά, απαιτείται η δράση των ζυγωτικών γονιδίων. Τα γονίδια λοιπόν μητρικής επίδρασης ενεργοποιούν ορισμένα ζυγωτικά γονίδια, που με τη σειρά τους ενεργοποιούν άλλα ζυγωτικά γονίδια (Εικόνα 2.35).

Τα ζυγωτικά γονίδια που ελέγχουν την ανάπτυξη του εμβρύου διακρίνονται ανάλογα με το ρόλο τους στις ακόλουθες τέσσερις κατηγορίες:

**α)** Τα **χασματικά γονίδια** (gap genes) μεταλλάξεις στα οποία οδηγούν σε απώλεια μεγάλων τμημάτων του εμβρύου, δημιουργούν δηλαδή “χάσματα” στο σώμα του (Εικόνα 2.36A). Όλα τα χασματικά γονίδια κωδικοποιούν για μεταγραφικούς παράγοντες. Αρχίζουν να εκφράζονται στο στάδιο του συγκυτιακού βλαστοδέρματος σε μία ή



**Εικόνα 2.35:** Σχηματική απεικόνιση της διαδοχικής ενεργοποίησης συγκεκριμένων ομάδων γονιδίων, που ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα. Με τόξα υποδεικνύονται οι σημαντικότερες από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων διαφορετικών ομάδων. Δείχνεται π.χ. ότι τα γονίδια μητρικής επίδρασης ελέγχουν την έκφραση των χασματικών γονιδίων (gap genes) που με τη σειρά τους ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων εναλλασσόμενων ζωνών (pair-rule genes).

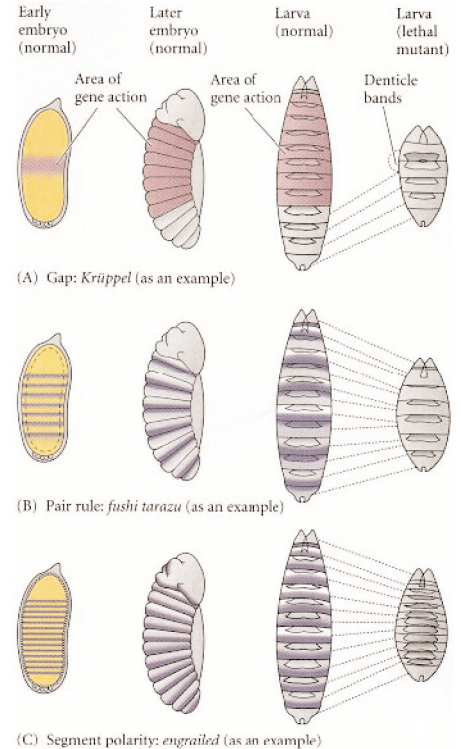
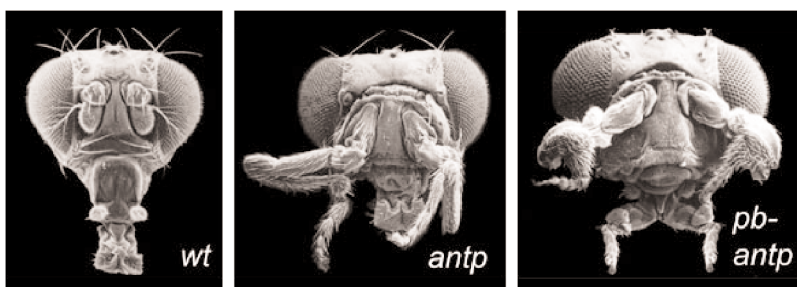
δύο περιοχές σχετικά μεγάλου εύρους (αντιστοιχούν σε περισσότερα του ενός μεταμερή), κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα. Η έκφρασή τους ρυθμίζεται από τα γονίδια μητρικής επίδρασης αλλά και από τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

β) Τα **γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών** (pair-rule genes) μεταλλάξεις στα οποία οδηγούν στην απώλεια εναλλασσόμενων τμημάτων του εμβρύου (Εικόνα 2.36B). Όλα τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών κωδικοποιούν για μεταγραφικούς παράγοντες. Αρχίζουν να εκφράζονται στο στάδιο του συγκυτιακού βλαστοδέρματος (λίγο μετά τα χασματικά γονίδια) σε επτά λωρίδες που, στην περίπτωση ορισμένων από αυτά, αντιστοιχούν σε κάθε δεύτερο παραμεταμερές. Η έκφρασή τους ρυθμίζεται από τα γονίδια μητρικής επίδρασης, από τα χασματικά γονίδια αλλά και από τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

γ) Τα **γονίδια πολικότητας των μεταμερών** (segment-polarity genes) μεταλλάξεις στα οποία προκαλούν την αντικατάσταση ενός τμήματος κάθε μεταμερούς, από το αντικατοπτρικό είδωλο του υπόλοιπου, ή τμήματος του υπόλοιπου μεταμερούς (Εικόνα 2.36Γ). Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών κωδικοποιούν για διάφορους τύπους πρωτεϊνών όπως για μεταγραφικούς παράγοντες, διαμεμβρανικούς υποδοχείς και εκκρινόμενες πρωτεΐνες. Αρχίζουν να εκφράζονται στη φάση που σχηματίζεται το κυτταρικό βλαστόδερμα. Καθένα από αυτά εκφράζεται σε 14 ζώνες, μία σε κάθε παραμεταμερές. Η έκφρασή τους ρυθμίζεται από τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών αλλά και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών (από κοινού με τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών) οριοθετούν τα παραμεταμερή. Επιπλέον, καθορίζουν σε κάθε παραμεταμερές την πορεία διαφοροποίησης των κυττάρων του. Σε αντίθεση με τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών και τα χασματικά γονίδια που στη διάρκεια του σταδίου της επιμήκυνσης της βλαστικής ζώνης παύουν να εκφράζονται, τα περισσότερα γονίδια πολικότητας των μεταμερών συνεχίζουν να εκφράζονται καθόλη την υπόλοιπη διάρκεια της ζωής του ζώου.

δ) Τα **ομοιοτικά γονίδια** (homeotic genes) μεταλλάξεις στα οποία προκαλούν την μετατροπή ενός τμήματος του σώματος σε ένα άλλο τμήμα του σώματος (Εικόνα 2.37). Τα ομοιοτικά γονίδια εκφράζονται από το στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος και καθόλη την υπόλοιπη διάρκεια της ζωής του ζώου, σε τμήματα κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα. Ο ρόλος τους έγκειται στον καθορισμό της αναπτυξιακής ταυτότητας των παραμεταμερών. Η έκφρασή τους ρυθμίζεται από τα χασματικά γονίδια, από τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών αλλά και από τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις.

Στον Πίνακα 2.1 της επόμενης σελίδας, συνοψίζεται ο ρόλος των τεσσάρων παραπάνω ομάδων γονιδίων.



**Εικόνα 2.36:** Τα χασματικά γονίδια, τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών και τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών είναι από κοινού γνωστά και ως μεταμερικά γονίδια (βλέπε και σελ. 13). Στο σχήμα αυτό έχουν επιλεγεί χαρακτηριστικά παραδείγματα των παραπάνω ομάδων γονιδίων και από αριστερά προς τα δεξιά αποδίδονται σχηματικά οι ακόλουθες πληροφορίες:

- Η περιοχή της έκφρασής τους στα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου.
- Οι αντίστοιχες περιοχές σε έμβryo που μόλις έχει ολοκληρώσει την σύμπτυξη της βλαστικής ζώνης. Σημειώστε πως στο στάδιο αυτό τα χασματικά γονίδια και τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών έχουν ήδη πάψει να εκφράζονται. Επομένως, υποδεικνύονται όχι οι περιοχές της έκφρασής τους, αλλά τα τμήματα του εμβρύου, που αντιστοιχούν στις περιοχές όπου εκφράστηκαν.
- Οι αντίστοιχες περιοχές στην προνύμφη πρώτου σταδίου.
- Ο φαινότυπος των μεταλλάξεων τους στο στάδιο της προνύμφης πρώτου σταδίου.

**Εικόνα 2.37:** Χαρακτηριστικά παραδείγματα ομοιοτικών μεταλλάξεων. Από αριστερά προς τα δεξιά απεικονίζονται:

- Κεφάλι άγριου τύπου.
- Κεφάλι μύγας που φέρει τη μετάλλαξη *antennapedia*. Οι κεραίες έχουν μετατραπεί σε πόδια.
- Κεφάλι μύγας που φέρει τις μεταλλάξεις *antennapedia* και *proboscipedia*. Τόσο οι κεραίες όσο και η προβοσκίδα έχουν μετατραπεί σε πόδια.

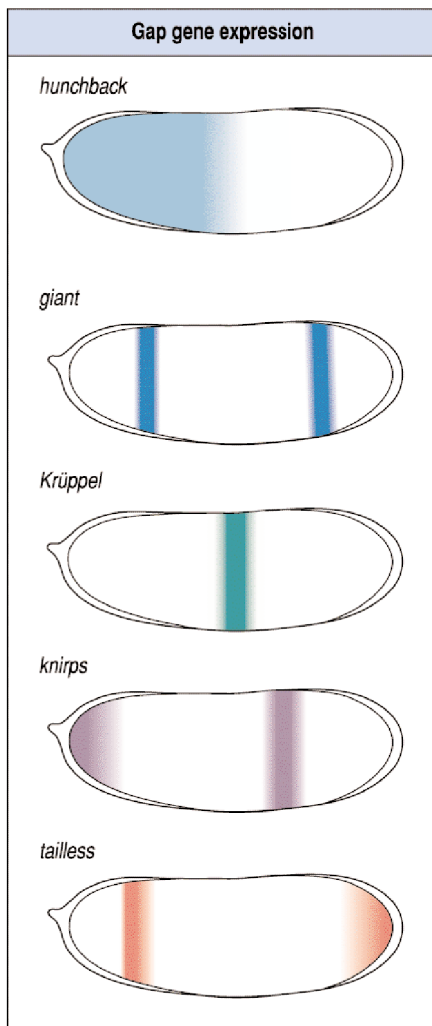


**Πίνακας 2.1:** Συνοπτική αναφορά του ρόλου καθεμιάς από τις τέσσερις ομάδες ζυγωτικών γονιδίων που ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα.

**Zygotiс Gene Systems Influencing Segmentation**

Gene system	Action	Examples
Gap genes	Establish basic outline of body plan	<i>Hunchback-z</i> <i>Krupple</i>
Pair-rule genes	Establish parasegment number, position, width	<i>fushi tarazu</i> <i>even-skipped</i>
Segment-Polarity genes	Reinforce parasegmental periodicity and establish cell fates within each parasegment	<i>wingless</i> <i>engrailed</i> <i>patched</i>
Selector Genes (Homeotic)	Specify segment identity (the characteristic structure of each segment)	<i>antennapedia</i> <i>bithorax</i>

**Εικόνα 2.38:** Σχηματική απεικόνιση των περιοχών έκφρασης ορισμένων χασματικών γονιδίων.

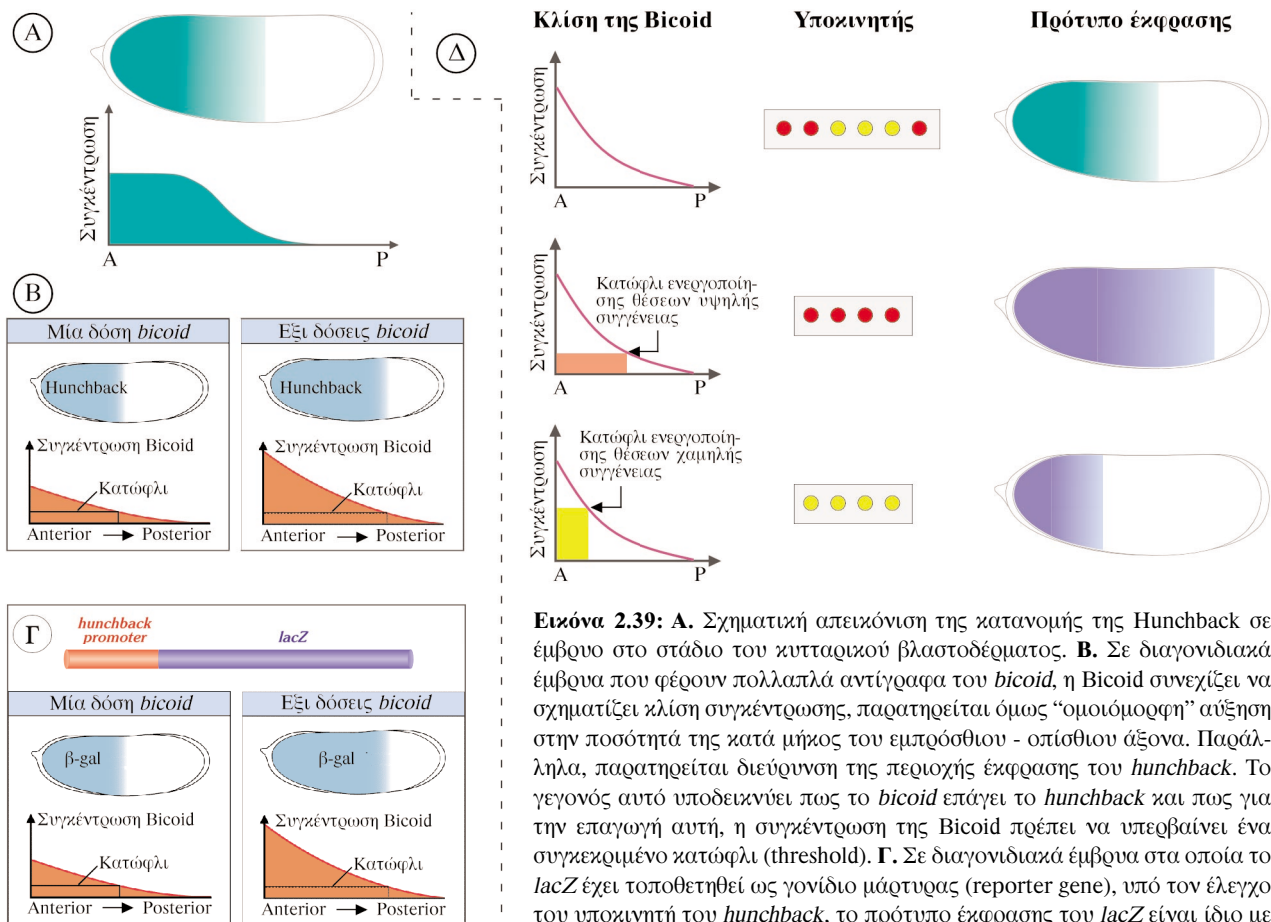


**B. Τα χασματικά γονίδια.**

Το χασματικά γονίδια είναι τα πρώτα ζυγωτικά γονίδια που εκφράζονται κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα. Από αυτά πρώτο εκφράζεται το *hunchback* που επάγεται στο μεταγραφικό επίπεδο από το *bicoid*. Ακολουθεί η έκφραση μιας σειράς άλλων χασματικών γονιδίων όπως του *giant*, του *Krüppel*, του *knirps* και του *tailless*. Τα γονίδια αυτά εκφράζονται σε μία ή δύο μεγάλες σχετικά περιοχές του εμβρύου από το στάδιο του συγκυτιακού βλαστοδέρματος (Εικόνα 2.38). Καθώς δεν έχουν σχηματιστεί ακόμα κύτταρα, οι πρωτεΐνες τους μπορούν να διαχυθούν γύρω από την περιοχή στην οποία παράγονται. Επειδή όμως οι πρωτεΐνες των χασματικών γονιδίων έχουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής (υπολογίζεται σε λίγα μόλις λεπτά), η περιοχή στην οποία ανιχνεύονται δεν είναι πολύ μεγαλύτερη από την περιοχή στην οποία παράγονται. Λόγω πάντως της ιδιότητάς τους να διαχέονται σε μικρές αποστάσεις, συνήθως η καμπύλη της συγκέντρωσής τους έχει κωδονοειδές σχήμα. Σε μια κεντρική περιοχή όπου παράγονται οι πρωτεΐνες, παρατηρείται μέγιστη συγκέντρωση. Πλευρικά της περιοχής αυτής, στην μικρή απόσταση στην οποία διαχέονται, σταδιακά η συγκέντρωσή τους μειώνεται.

Εξαίρεση στον κανόνα της κωδονοειδούς καμπύλης συγκέντρωσης αποτελεί η περίπτωση του *hunchback*. Στο στάδιο του συγκυτιακού βλαστοδέρματος η πρωτεΐνη του βρίσκεται σε σταθερά υψηλά επίπεδα, στο εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου. Από ένα όμως σημείο και μετά, καθώς κινούμαστε προς το οπίσθιο άκρο, η ποσότητά της μειώνεται βαθμηδόν σχηματίζοντας μια κλίση συγκέντρωσης (Εικόνα 2.39A). Αυτό το πρότυπο έκφρασης του *hunchback*, προκύπτει από τη συνισταμένη των ακόλουθων παραμέτρων που επηρεάζουν την τελική κατανομή της πρωτεΐνης του στο έμβρυο:

- Κατά την ωογένεση εναποτίθεται στο ωοκύτταρο μικρή ποσότητα *hunchback*-mRNA, το οποίο κατανέμεται μεν ομοιόμορφα, η μετάφραση του όμως καταστέλλεται στο οπίσθιο τμήμα του εμβρύου. Ο βαθμός της καταστολής αυτής είναι ανάλογος της τοπικής συγκέντρωσης της Nanos, η οποία όπως γνωρίζουμε σχηματίζει μια κλίση συγκέντρωσης με μέγιστο στο οπίσθιο άκρο.

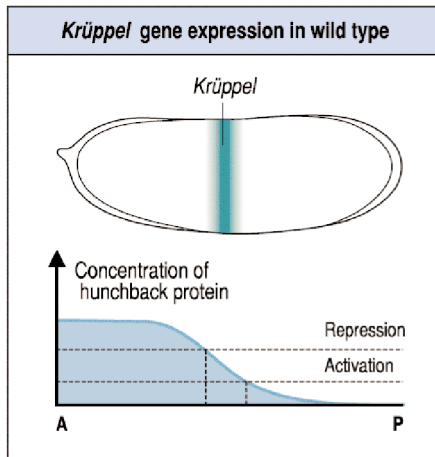


**Εικόνα 2.39:** Α. Σχηματική απεικόνιση της κατανομής της Hunchback σε έμβryo στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος. Β. Σε διαγονιδιακά έμβρυα που φέρουν πολλαπλά αντίγραφα του bicoid, η Bicoid συνεχίζει να σχηματίζει κλίση συγκέντρωσης, παρατηρείται όμως “ομοιόμορφη” αύξηση στην ποσότητά της κατά μήκος του εμπρόςθιου - οπίσθιου άξονα. Παράλληλα, παρατηρείται διεύρυνση της περιοχής έκφρασης του hunchback. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως το bicoid επάγει το hunchback και πως για την επαγωγή αυτή, η συγκέντρωση της Bicoid πρέπει να υπερβαίνει ένα συγκεκριμένο κατώφλι (threshold). Γ. Σε διαγονιδιακά έμβρυα στα οποία το lacZ έχει τοποθετηθεί ως γονίδιο μάρτυρα (reporter gene), υπό τον έλεγχο του υποκινητή του hunchback, το πρότυπο έκφρασης του lacZ είναι ίδιο με

- Στην ποσότητα της μητρικής Hunchback προστίθεται και αυτή που παράγεται από το ίδιο το έμβryo. Το ζυγωτικό hunchback επάγεται από το bicoid μέσα από έναν πολύπλοκο μεταγραφικό μηχανισμό (Εικόνα 2.39). Έχει βρεθεί πως στα cis - ρυθμιστικά στοιχεία του hunchback περιλαμβάνονται δύο τύποι θέσεων πρόσδεσης της Bicoid: θέσεις υψηλής συγγένειας (high affinity sites) και θέσεις χαμηλής συγγένειας (low affinity sites). Η Bicoid συνδέεται στις θέσεις χαμηλής συγγένειας μόνο όταν απαντά σε υψηλή συγκέντρωση, ενώ μπορεί να προσδεθεί στις θέσεις υψηλής συγγένειας ακόμα και στο τμήμα του εμβρύου που η συγκέντρωσή της είναι μειωμένη (St. Johnston and Nusslein-Volhard 1992).

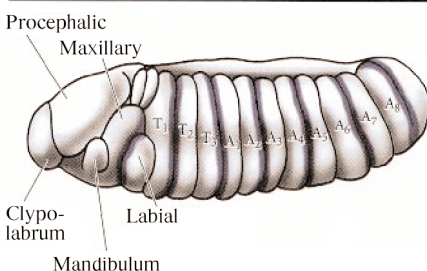
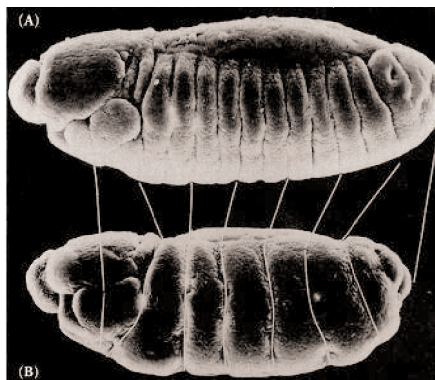
Το hunchback είναι το πρώτο χασματικό γονίδιο που μεταγράφεται και η πρωτεΐνη του ρυθμίζει στο μεταγραφικό επίπεδο την έκφραση άλλων χασματικών γονιδίων. Για την ενεργοποίηση π.χ. του Krüppel χρειάζεται Bicoid και χαμηλά επίπεδα Hunchback. Υψηλά επίπεδα Hunchback καταστέλλουν την μεταγραφή του Krüppel. Φαίνεται λοιπόν πως υπάρχει ένα συγκεκριμένο “παράθυρο” συγκέντρωσης της Hunchback μέσα στο οποίο μεταγράφεται το Krüppel (Εικόνα 2.40 - Schulz and Tautz 1994). Μερικά από τα πειράματα που οδήγησαν σε αυτό το συμπέρασμα, έγιναν επάγοντας τεχνητά αλλαγές στην κλίση συγκέντρωσης της Hunchback. Όταν με κατάλληλους πειραματικούς χειρισμούς διατηρήθηκε η κλίση στην συγκέντρωση της Hunchback, όμως μετατοπίστηκε προς το οπίσθιο άκρο του εμβρύου, παρατηρήθηκε αντίστοιχη οπίσθια μετατόπιση της ζώνης έκφρασης του Krüppel. Με ανάλογους μηχανισμούς το hunchback ελέγχει την έκφραση και άλλων χασματικών γονιδίων όπως των giant και knirps.

με το πρότυπο έκφρασης του ζυγωτικού hunchback και εξαρτάται από τον αριθμό των δόσεων του bicoid. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως ο έλεγχος που ασκεί το bicoid στο hunchback λειτουργεί στο μεταγραφικό επίπεδο. Α. Η μεταγραφική ρύθμιση του hunchback από το bicoid γίνεται μέσω των πολλαπλών θέσεων αναγνώρισης από την Bicoid που φέρει το hunchback. Άλλες από αυτές εμφανίζουν χαμηλή συγγένεια σύνδεσης (κίτρινοι κύκλοι) και άλλες υψηλή συγγένεια σύνδεσης (κόκκινοι κύκλοι) με την Bicoid. Στο άνω τμήμα του σχήματος δείχνεται ο φυσιολογικός υποκινητής του hunchback και το πρότυπο έκφρασης του γονιδίου αυτού. Η διαφορά ανάμεσα στις θέσεις υψηλής και χαμηλής συγγένειας, έχει δείξει σε διαγονιδιακές μύγες οι οποίες έφεραν το lacZ υπό τον έλεγχο τεσσάρων συνθετικών θέσεων αναγνώρισης από την Bicoid (μεσαίο και κάτω τμήμα του σχήματος). Όταν το lacZ βρίσκεται υπό τον έλεγχο των θέσεων χαμηλής συγγένειας, η περιοχή της έκφρασής του είναι περιορισμένη. Όταν βρίσκεται υπό τον έλεγχο των θέσεων υψηλής συγγένειας, η περιοχή της έκφρασής του διευρύνεται.



**Εικόνα 2.40:** Υπάρχει ένα συγκεκριμένο “παράθυρο” συγκέντρωσης της Hunchback μέσα στο οποίο μεταγράφεται το *Krüppel*. Πάνω από ένα κατώφλι συγκέντρωσης, η Hunchback λειτουργεί ως καταστολέας. Πάνω από ένα άλλο κατώφλι χαμηλότερης συγκέντρωσης λειτουργεί ως ενεργοποιητής (Schulz and Tautz 1994).

**Εικόνα 2.41:** Φωτογραφία φυσιολογικού εμβρύου και κάτω από αυτή έμβρυο από μητέρα ομόζυγη για κάποια μετάλλαξη του *fushi tarazu* (στα Ιαπωνικά σημαίνει “λίγα τμήματα”). Υποδεικνύονται οι αντίστοιχες περιοχές των δύο εμβρύων. Στο σχήμα κάτω από τη φωτογραφία, επισημαίνονται οι περιοχές έκφρασης του *fushi tarazu*, που είναι αυτές οι οποίες λείπουν από το δεύτερο έμβρυο. Το *fushi tarazu* εκφράζεται στα ζυγά παραμεταμερή.

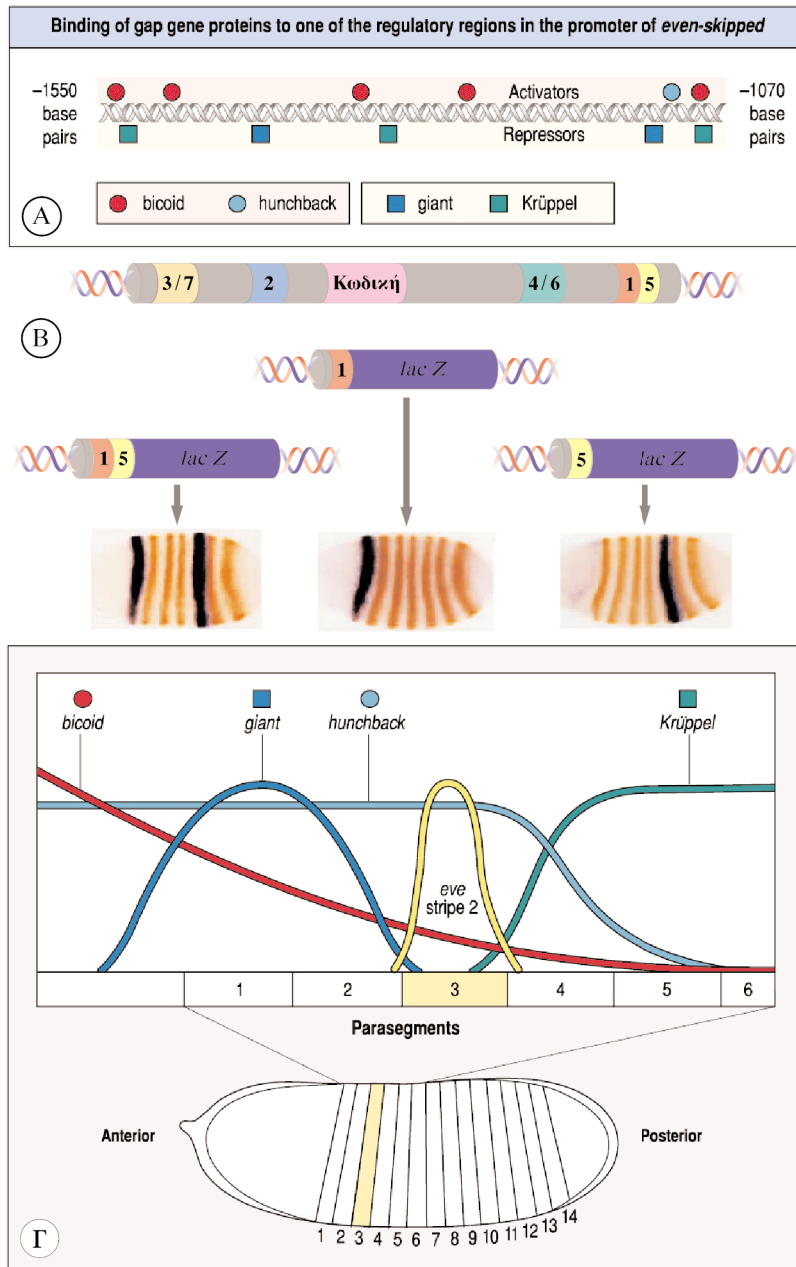


Τέλος στην ακριβή οριοθέτηση της ζώνης έκφρασης των χασματικών γονιδίων, σημαντικό ρόλο παίζει και το γεγονός, πως το ένα καταστέλλει την έκφραση του άλλου. (Rivera-Pomar and Jackle 1996) Έτσι, η οριοθέτηση της ζώνης έκφρασης του *Krüppel* γίνεται και μέσω της αλληλεπίδρασης του με τις Giant και Knirps, οι οποίες το καταστέλλουν. Η πρώτη εμποδίζει την επέκταση της περιοχής έκφρασης του *Krüppel* προς τα εμπρός ενώ η δεύτερη προς τα πίσω.

### Γ. Τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών.

Το πρότυπο έκφρασης των γονιδίων εναλλασσόμενων ζωνών αποτελεί την πρώτη ένδειξη μεταμερικής οργάνωσης του εμβρύου. Η μεταγραφή τους αρχίζει λίγο μετά την έναρξη της μεταγραφής των χασματικών γονιδίων, στο στάδιο του συγκυτιακού βλαστοδέρματος. Καθένα από αυτά εκφράζεται σε επτά ισομεγέθεις ζώνες. Σε ορισμένες περιπτώσεις όπως στην περίπτωση του γονιδίου *even-skipped* και του γονιδίου *fushi tarazu*, η περιοχή της έκφρασής τους αντιστοιχεί σε εναλλασσόμενα παραμεταμερή (βλέπε και Εικόνα 2.17), που σε αυτή τη φάση της ανάπτυξης αποτελούνται από 3-4 διαδοχικές σειρές κυττάρων. Σε άλλες όμως περιπτώσεις, οι ζώνες της έκφρασής τους περιλαμβάνουν τμήματα γειτονικών παραμεταμερών. Μεταλλάξεις στα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών προκαλούν την απώλεια των εναλλασσόμενων περιοχών του εμβρύου στις οποίες εκφράζονται (Εικόνα 2.41). Μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί οκτώ γονίδια που ανήκουν σε αυτή την ομάδα. Τα τρία από αυτά (*even-skipped*, *hairy* και *run1*) χαρακτηρίζονται ως πρωταρχικά γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών (primary pair-rule genes) γιατί εκφράζονται πρώτα, και η μεταγραφή τους ελέγχεται απευθείας από τα χασματικά γονίδια. Η έκφραση των υπόλοιπων πέντε ρυθμίζεται σε μεγάλο βαθμό από τα πρωταρχικά γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών και πιθανώς δεν ελέγχεται άμεσα από τα χασματικά γονίδια. Με την έκφραση των οκτώ γονιδίων εναλλασσόμενων ζωνών, κάθε σειρά κυττάρων των παραμεταμερών αποκτά την δικιά της “μοριακή” ταυτότητα, καθώς εκφράζει ένα συγκεκριμένο και χαρακτηριστικό συνδυασμό τους.

Ως ένα παράδειγμα των μηχανισμών που ελέγχουν την έκφραση των γονιδίων εναλλασσόμενων ζωνών θα μελετήσουμε τους μηχανισμούς ρύθμισης του *even-skipped*. Στην περίπτωση του *even-skipped* (που είναι τυπική και για τα υπόλοιπα γονίδια αυτής της κατηγορίας), οι επτά ζώνες της έκφρασής του ρυθμίζονται ανά μία ή ανά δύο, ανεξάρτητα από τις υπόλοιπες. Η ρύθμιση γίνεται στο μεταγραφικό επίπεδο μέσω διαφορετικών και αυτόνομων ρυθμιστικών περιοχών του *even-skipped*, στις οποίες απαντούν θέσεις αναγνώρισης, τόσο για γονίδια μητρικής επίδρασης όσο και για χασματικά γονίδια (Εικόνα 2.42A). Το γεγονός πως οι ζώνες έκφρασης του *even-skipped* ρυθμίζονται αυτόνομα, έχει δείχθει με διάφορα πειράματα. Έτσι, π.χ. μεταλλάξεις σε κάποια ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου που ελέγχει την έκφραση μίας μόνο συγκεκριμένης ζώνης, οδηγούν σε απώλεια της έκφρασης του *even-skipped* μόνο από τη ζώνη αυτή, χωρίς να επηρεάζεται η έκφρασή του στις υπόλοιπες. Επίσης, αν ένα γονίδιο μάρτυρας όπως π.χ. το *lacZ* τεθεί υπό τον μεταγραφικό έλεγχο μίας από τις ανεξάρτητες ρυθμιστικές περιοχές του γονιδίου, τότε η έκφρασή του περιορίζεται στη συγκεκριμένη ζώνη που ελέγχεται από τη ρυθμιστική αυτή περιοχή (Εικόνα 2.42B).



Οι μηχανισμοί ρύθμισης της μεταγραφής του *even-skipped* σε καθεμιά από τις επτά ζώνες στις οποίες εκφράζεται είναι σήμερα σε γενικές γραμμές γνωστοί. Έτσι π.χ. στη δεύτερη ζώνη η οποία αντιστοιχεί στο τρίτο παραμεταμερές, οι πρωτεΐνες Bicoid και Hunchback ενεργοποιούν το *even-skipped* χωρίς όμως να καθορίζουν τα όρια της έκφρασής του (Εικόνα 2.42Γ). Προκειμένου να περιοριστεί η έκφραση του *even-skipped* με ακρίβεια στην περιοχή που αντιστοιχεί στη δεύτερη ζώνη, χρειάζεται να κατασταλλεί η μεταγραφή του γονιδίου, στο μεν εμπρόσθιο όριο από την Giant δε οπίσθιο όριο από την Krüppel.

Οι μηχανισμοί ρύθμισης του *even-skipped* αποτελούν ενδεικτικό παράδειγμα της ρύθμισης όλων των γονιδίων εναλλασσόμενων ζωνών. Ως γενικός κανόνας ισχύει, πως η περιοδικότητα της έκφρασής τους εξασφαλίζεται με την παρουσία ρυθμιστικών στοιχείων, που λειτουργούν ανεξάρτητα για κάθε ζώνη έκφρασης (ή για μικρό αριθμό ζωνών). Τα ρυθμιστικά αυτά στοιχεία ενεργοποιούνται και καταστέλλονται από διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες.

**Εικόνα 2.42:** **A.** Ένα από τα cis ρυθμιστικά στοιχεία του *even-skipped*. (αυτό που ελέγχει την έκφρασή του στη δεύτερη ζώνη). Υποδεικνύονται οι θέσεις αναγνώρισης των μεταγραφικών παραγόντων Bicoid, Hunchback, Krüppel και Giant. Οι δύο πρώτοι ενεργοποιούν μέσω αυτού του στοιχείου την έκφραση του *even-skipped* ενώ οι δύο τελευταίοι την καταστέλλουν. **B.** Στο πάνω τμήμα του σχήματος αναπαρίσταται η οργάνωση των ρυθμιστικών στοιχείων του *even-skipped*. Υπάρχουν ανεξάρτητα ρυθμιστικά στοιχεία που ελέγχουν αυτόνομα, ανά μία ή ανά δύο, τις επτά ζώνες στις οποίες εκφράζεται το γονίδιο. Τα στοιχεία αυτά επισημαίνονται με βάση τον αύξοντα αριθμό των ζωνών τις οποίες ελέγχουν (οι ζώνες αριθμούνται ξεκινώντας από το εμπρόσθιο τμήμα του εμβρύου). Σε διαγονιδιακά έμβρυα στα οποία το *lacZ* έχει τοποθετηθεί ως γονίδιο μάρτυρας υπό τον έλεγχο των παραπάνω στοιχείων, η έκφραση της β-γαλακτοζιδάσης περιορίζεται αυστηρά στις συγκεκριμένες ζώνες που ελέγχει το καθένα από αυτά. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει πως λειτουργούν ανεξάρτητα το ένα από το άλλο. Εδώ παρουσιάζονται τρία σχετικά παραδείγματα που αφορούν την έκφραση στις ζώνες 1 και 5 (Fujioka et al 1999). Στις φωτογραφίες δείχνονται νεαρά έμβρυα στα οποία ανιχνεύεται παράλληλα, η έκφραση του *even-skipped* (πορτοκαλί χρώμα) και της β-γαλακτοζιδάσης (σκούρο μπλε προς μαύρο χρώμα). **Γ.** Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού που ρυθμίζει την έκφραση του *even-skipped* στη δεύτερη ζώνη η οποία αντιστοιχεί στο τρίτο παραμεταμερές. Το *even-skipped* ενεργοποιείται από τις Bicoid και Hunchback ενώ καταστέλλεται από τις Krüppel και Giant.

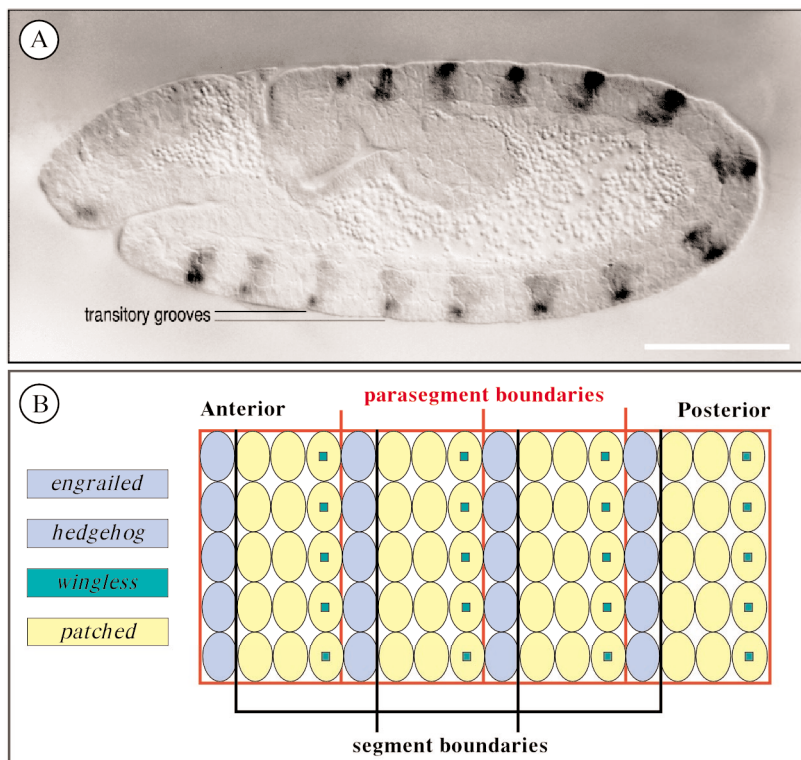
**Γ. Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών.**

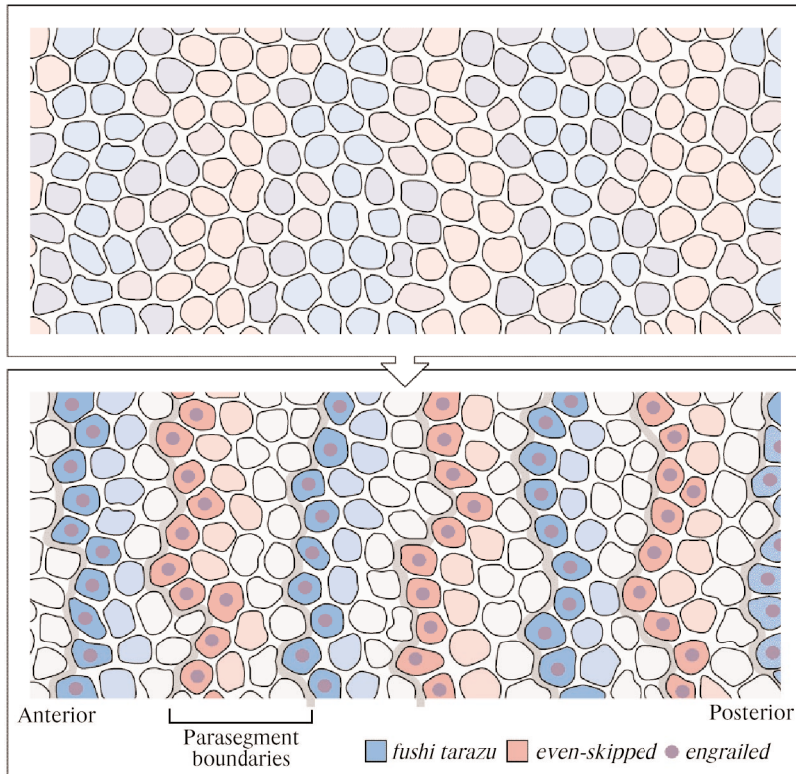
Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών ενεργοποιούνται από τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών και αρχίζουν να μεταγράφονται στη φάση που σχηματίζονται κύτταρα. Καθένα από αυτά εκφράζεται σε 14 ζώνες, μία σε κάθε παραμεταμερές (Εικόνα 2.43).

Ο ρόλος τους συνοψίζεται στα ακόλουθα:

- Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών θέτουν με ακρίβεια τα όρια μεταξύ των μεταμερών. Στη φάση του κυτταρικού βλαστοδέρματος, πρώτα τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών χωρίζουν αδρά τη βλαστική ζώνη σε επαναλαμβανόμενα τμήματα. Στο στάδιο αυτό κάθε παραμεταμερές αποτελείται από 3 - 4 σειρές κυττάρων και αρχικά τα μεταξύ τους όρια δεν είναι αυστηρά καθορισμένα (Εικόνα 2.44). Με τη δράση των γονιδίων πολικότητας των μεταμερών όπως π.χ. το *engrailed*, το *hedgehog*, το *wingless*, το *patched* κ.ά. τα όρια μεταξύ των παραμεταμερών γίνονται απολύτως σαφή. Π.χ. το *engrailed* (βλέπε και Εικόνες 2.17Δ και 2.36) εκφράζεται στην εμπρόσθια σειρά κυττάρων κάθε παραμεταμερούς (Εικόνα 2.43). Χάρη στην παρουσία του, η εμπρόσθια σειρά κυττάρων των παραμεταμερών αποκτά την ιδιότητα να λειτουργεί σαν *περιοριστικό σύνορο κυτταρικών σειρών* (boundary of cell lineage restriction). Αυτό σημαίνει πως δεν επιτρέπει στα κύτταρα κάθε παραμεταμερούς, να μετακινούνται στην περιοχή των γειτονικών προς αυτά παραμεταμερών.
- Τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών συμβάλλουν μαζί με τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών στη διαφοροποίηση μεταξύ των διαδοχικών σειρών κυττάρων κάθε μεταμερούς. Σε περιπτώσεις απώλειας της λειτουργίας τους η διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων σειρών κυττάρων κάθε μεταμερούς δεν εξελίσσεται ομαλά, και ακριβώς για αυτό το λόγο οι μεταλλάξεις τους, προκαλούν την αντικατάσταση ενός τμήματος κάθε μεταμερούς από το αντικατοπτρικό είδωλο του υπόλοιπου ή τμήματος του υπόλοιπου μεταμερούς (Εικόνα 2.45).

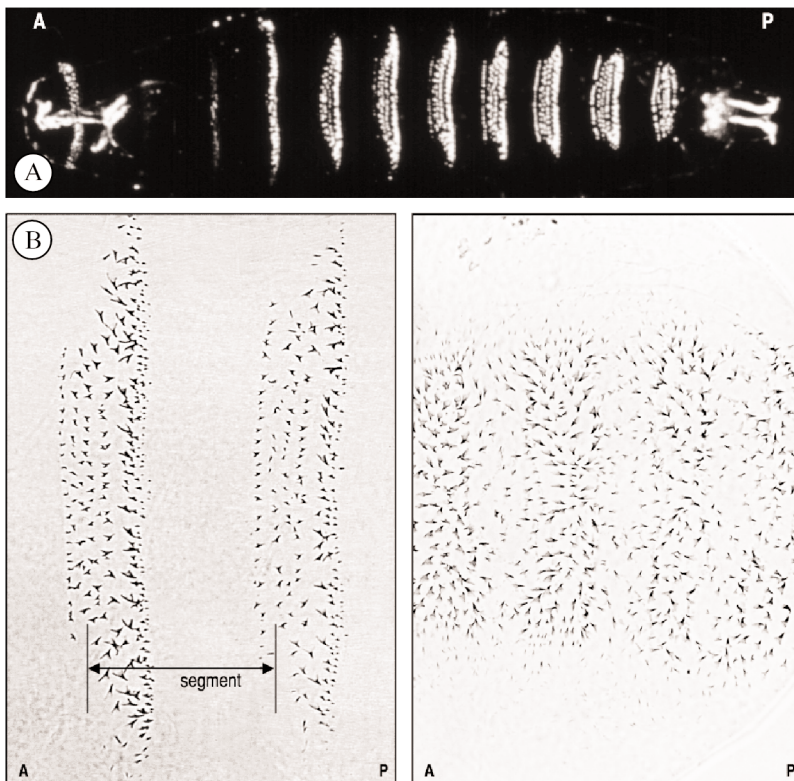
**Εικόνα 2.43: Α.** Εντοπισμός του *engrailed*-mRNA με *in situ* υβριδοποίηση, σε έμβρυο που μόλις έχει ολοκληρώσει την επιμήκυνση της βλαστικής ζώνης. Το *engrailed* εκφράζεται στο εμπρόσθιο τμήμα κάθε παραμεταμερούς. Επισημαίνονται οι αύλακες που στη φάση αυτή αναπτύσσονται μεταξύ των παραμεταμερών. Χαρακτηρίζονται μάλιστα ως παροδικές (transitory grooves) γιατί στη συνέχεια αλλάζουν θέση. Μετά τη μετακίνησή τους, οριοθετούν τα παραμεταμερή (βλέπε και Εικόνα 2.13). **Β.** Σχηματική αναπαράσταση τεσσάρων διαδοχικών παραμεταμερών στο στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος. Με διαφορετικά χρώματα υποδεικνύονται οι περιοχές έκφρασης ορισμένων γονιδίων πολικότητας των μεταμερών. Όπως φαίνεται εκφράζονται σε διαδοχικές ζώνες, μία ανά κάθε μεταμερές.





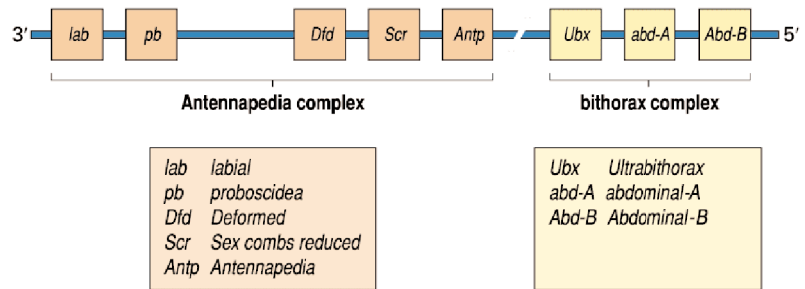
**Εικόνα 2.44:** Σχηματική αναπαράσταση διαδοχικών παραμεταμερών πριν και μετά την ενεργοποίηση των γονιδίων πολικότητας των μεταμερών. Στη φάση που εκφράζονται μόνο τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών (*fushi tarazu* - γαλάζιο χρώμα και *even-skipped* - ροζ χρώμα) τα όρια μεταξύ των παραμεταμερών δεν είναι αυστηρά καθορισμένα. Γίνονται όμως απολύτως σαφή μετά την έκφραση των γονιδίων πολικότητας των μεταμερών, όπως το *engrailed*, το οποίο εκφράζεται στην εμπρόσθια σειρά κυττάρων κάθε παραμεταμερούς (ιώδεις κύκλοι).

- Τέλος, τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών συμβάλλουν στη διατήρηση, καθόλη τη διάρκεια της ζωής του ζώου, του μεταμερικού προτύπου το οποίο τόσο αυτά όσο και οι προηγούμενες ομάδες γονιδίων έχουν εγκαθιδρύσει. Τα περισσότερα γονίδια πολικότητας των μεταμερών εκφράζονται από το στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος και καθόλη την υπόλοιπη διάρκεια της ζωής του ζώου, σε αντίθεση με τα χασματικά γονίδια και τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών, των οποίων η δράση είναι παροδική.



**Εικόνα 2.45:** **A.** Φωτογραφία φυσιολογικής προνύμφης πρώτου σταδίου στην οποία φαίνονται οι διαδοχικές ζώνες των denticles στην κοιλιακή της επιφάνεια (βλέπε Ενθετο 2.3). **B.** Αριστερά δείχνονται δύο διαδοχικά κοιλιακά μεταμερή φυσιολογικής προνύμφης πρώτου σταδίου. Δεξιά δείχνονται τα αντίστοιχα μεταμερή, προνύμφης ομόζυγης για κάποια μετάλλαξη του *wingless*. Το οπίσθιο τμήμα κάθε μεταμερούς έχει αντικατασταθεί από το αντικατοπτρικό είδολο του εμπρόσθιου (A: Anterior, P: Posterior).

**Εικόνα 2.46:** Σχηματική απεικόνιση της οργάνωσης του συμπλόκου του Antennapedia και του συμπλέγματος του bithorax τα οποία εδράζονται στο τρίτο χρωμόσωμα.



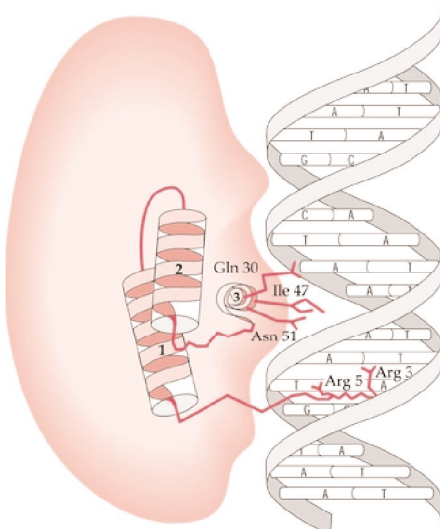
**Δ. Τα ομοιοτικά γονίδια.**

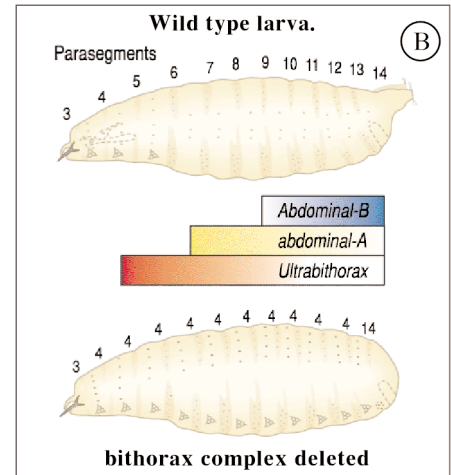
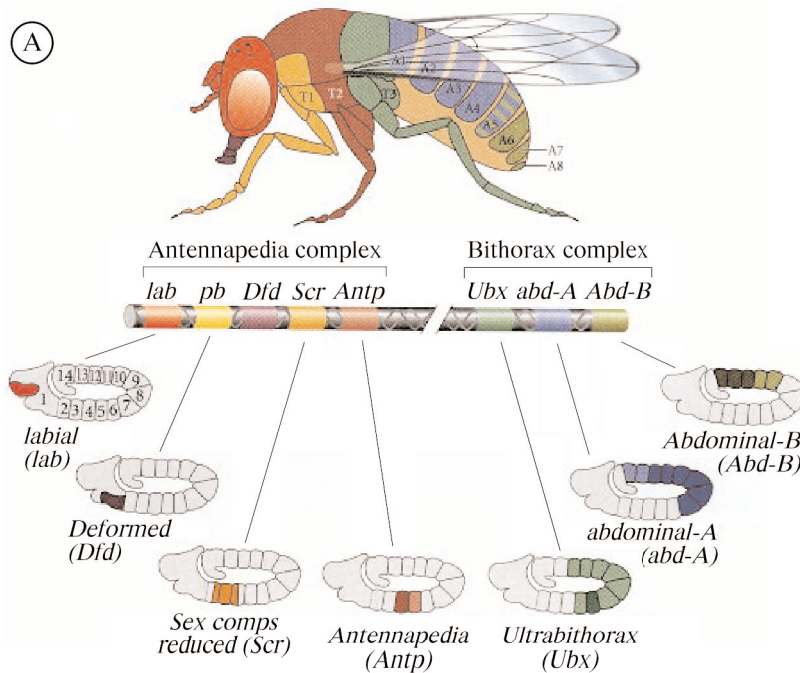
Τα ομοιοτικά γονίδια ενεργοποιούνται από τα χασματικά γονίδια και από τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών. Οργανώνονται σε δύο περιοχές του χρωμοσώματος 3 που ονομάζονται ομοιοτικά συμπλέγματα (homeotic complexes). Το ένα από αυτά ονομάζεται **συμπλέγμα του Antennapedia** και αποτελείται από πέντε γονίδια ενώ το άλλο ονομάζεται **συμπλέγμα του bithorax** και αποτελείται από τρία γονίδια (Εικόνα 2.46). Όλα τα ομοιοτικά γονίδια κωδικοποιούν για μεταγραφικούς παράγοντες που διαθέτουν μια συντηρημένη περιοχή 180 ζευγών βάσεων, το λεγόμενο homeobox. Η αλληλουχία των 60 αμινοξέων για την οποία κωδικοποιεί το homeobox ονομάζεται homeodomain. Το homeodomain οργανώνεται σε τρεις α - έλικες που αριθμούνται από 1 έως 3 ξεκινώντας από αυτή που βρίσκεται πλησιέστερα στο αμινοτελικό άκρο (Εικόνα 2.47). Οι έλικες 2 και 3 λαμβάνουν τη χαρακτηριστική διαμόρφωση έλικα - στροφή - έλικα (helix-turn-helix) που χαρακτηρίζει μία μεγάλη ποικιλία μεταγραφικών παραγόντων. Το homeodomain συνδέεται σε συντηρημένες αλληλουχίες των γονιδίων - στόχων, κυρίως μέσω επαφών της έλικας 3 στη μείζονα αύλακα του DNA (major groove) αλλά και μέσω επαφών που πραγματοποιεί στην ελάσσονα αύλακα του DNA (minor groove) ένας ευλύγιστος βραχίονας ο οποίος βρίσκεται στο αμινοτελικό άκρο του homeodomain, ακριβώς πριν από την έλικα 1.

Τα ομοιοτικά γονίδια εκφράζονται από το στάδιο του κυτταρικού βλαστοδέρματος και καθόλη την υπόλοιπη διάρκεια της ζωής του ζώου, σε τμήματα κατά μήκος του εμπόσθιου - οπίσθιου άξονα (Εικόνα 2.48A). Ενώ τα γονίδια εναλλασσόμενων ζωνών και τα γονίδια πολικότητας των μεταμερών, είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση των χαρακτηριστικών που είναι κοινά ανάμεσα στα διαφορετικά παραμεταμερή (π.χ. των denticles στο στάδιο της προνύμφης), τα ομοιοτικά γονίδια είναι αυτά που δημιουργούν τη διαφορά μεταξύ των παραμεταμερών, αποδίδοντας σε καθένα απο αυτά τη χαρακτηριστική αναπτυξιακή του ταυτότητα. Έτσι, μεταλλάξεις στα ομοιοτικά γονίδια προκαλούν τη μετατροπή ενός τμήματος του σώματος σε ένα άλλο τμήμα του σώματος (Εικόνα 2.37).

Όπως έχουμε αναφέρει (σελ. 13) τα ομοιοτικά γονίδια ασκούν τον ρυθμιστικό τους ρόλο σε επίπεδο παραμεταμερών. Το γεγονός αυτό έχει αποδειχθεί με διάφορες πειραματικές προσεγγίσεις, μεταξύ των οποίων και η συστηματική μελέτη ορισμένων μεταλλαγών τους. Έτσι π.χ. αν και η απώλεια ολόκληρου του συμπλόκου του bithorax είναι θνησιγόνος, έχουν μελετηθεί οι νεκρές προνύμφες που φέρουν τέτοιου είδους ελλείψεις. Από τη μελέτη των denticles στο χιτίνωδες περιβλήμα τους, έχει διαπιστωθεί πως τα παραμεταμερή 5 - 13 έχουν μετασχηματιστεί σε παραμεταμερές 4 (Εικόνα

**Εικόνα 2.47:** Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης του homeodomain με το DNA. Λεπτομέρειες δίνονται στο κείμενο.





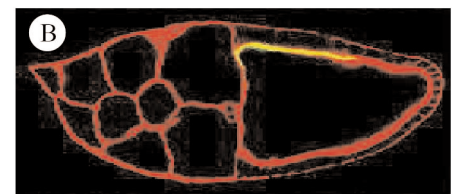
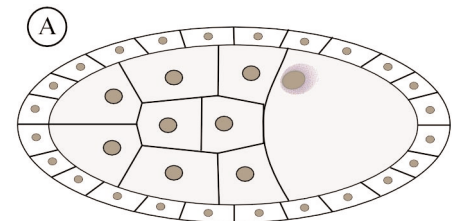
**Εικόνα 2.48:** **A.** Σχηματική απεικόνιση του προτύπου έκφρασης των ομοιοτικών γονιδίων στο στάδιο της επέκτασης της βλαστικής ζώνης και στο ενήλικο άτομο. **B.** Απώλεια ολόκληρου του συμπλέγματος του bithorax έχει ως συνέπεια το μετασχηματισμό των παραμεταμερών 5-13 σε παραμεταμερές 4.

2.48B). Το παραμεταμερές 14 αναπτύσσεται και αυτό ανώμαλα, αποκτώντας μια ιδιαίτερη μορφολογία. Σε επίπεδο μεταμερών αυτό σημαίνει πως κατά μήκος του σώματος των νεκρών προνυμφών, επαναλαμβάνεται 10 φορές το τμήμα T1p/T2a, δηλαδή το οπίσθιο τμήμα του πρώτου θωρακικού μεταμερούς και το εμπρόσθιο τμήμα του δεύτερου θωρακικού μεταμερούς (για την αντιστοιχία μεταξύ παραμεταμερών - μεταμερών, βλέπε Εικόνα 2.17Δ).

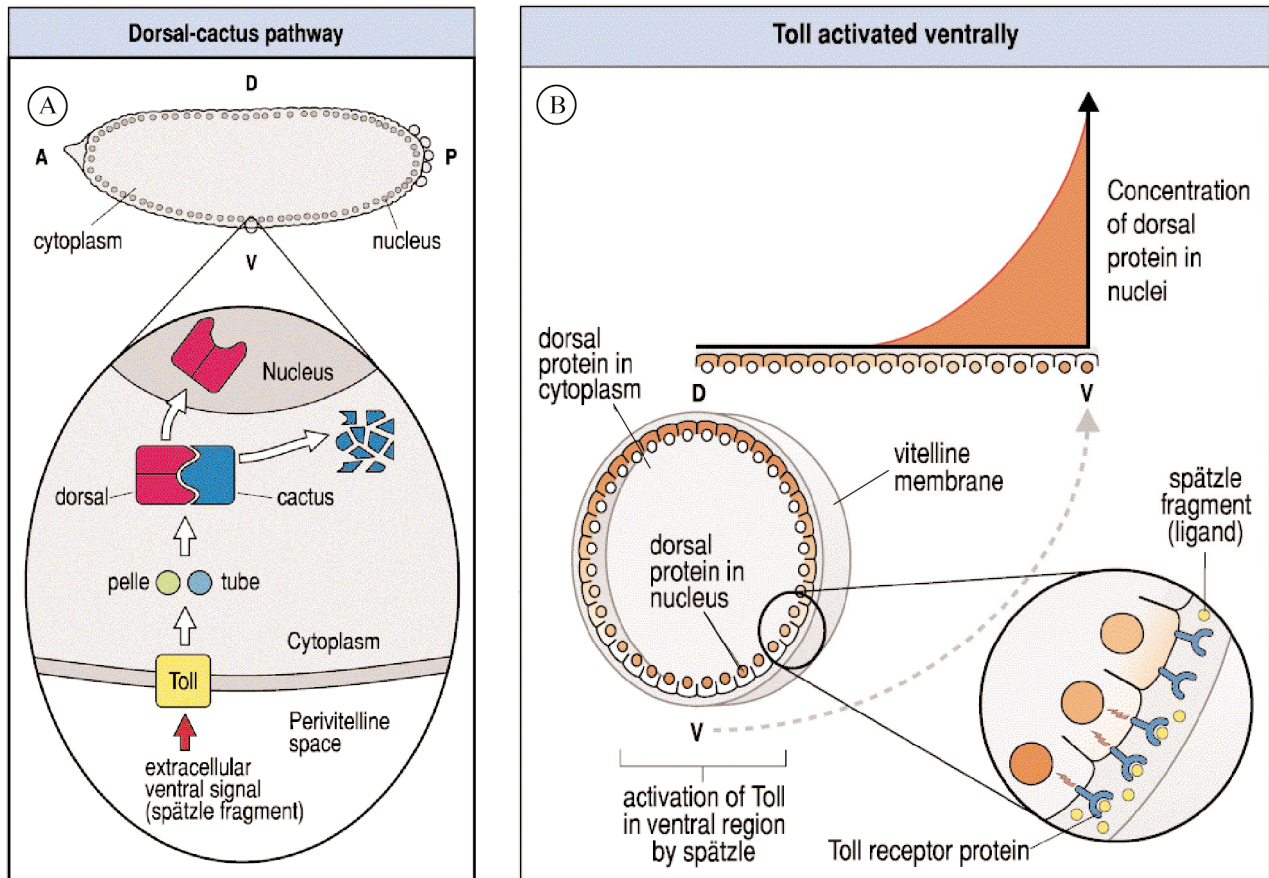
## 2.10 Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του κοιλιακού - ραχιαίου άξονα I: Ο ρόλος των μητρικών γονιδίων.

Εχουμε δει με ποιο τρόπο το γονίδιο *gurken* ενέχεται στον καθορισμό της διαφοροποίησης κατά μήκος του εμπρόσθιου - οπίσθιου άξονα (σελ. 25). Το ίδιο αυτό γονίδιο, με ανάλογο τρόπο ενέχεται και στον καθορισμό της διαφοροποίησης κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα. Λίγο μετά την ελευθέρωση της πρωτεΐνης Gurken στην οπίσθια περιοχή του θαλάμου του ωαρίου, ο πυρήνας του ωοκυττάρου μετακινείται προς την εμπρόσθια ραχιαία περιοχή (Εικόνα 2.49). Εκεί μεταγράφεται εκ νέου το *gurken* και η πρωτεΐνη που τελικά συντίθεται, εκκρίνεται και πάλι τοπικά, αυτή τη φορά στη ραχιαία περιοχή του ωοκυττάρου. Η Gurken αλληλεπιδρά με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα Torpedo, των ωοθυλακικών κυττάρων της ραχιαίας περιοχής. Το μονοπάτι μεταφοράς σήματος του Torpedo (signal transduction pathway), προκαλεί τελικά την καταστολή της έκφρασης του γονιδίου *pipe*. Καθώς ο υποδοχέας Torpedo δεν ενεργοποιείται στα ωοθυλακικά κύτταρα της κοιλιακής περιοχής, αυτά μπορούν να εκφράσουν το *pipe* (βλέπε και Εικόνα 2.24). Η έκφραση του *pipe* μέσα από ένα μηχανισμό που δεν είναι ακόμα απόλυτα κατανοητός, έχει ως αποτέλεσμα την διαδοχική ενεργοποίηση μιας σειράς πρωτεασών στον περιλεκιθικό χώρο της κοιλιακής περιοχής του ωοκυττάρου (Eeden and St Johnston 1999, LeMosy and Hashimoto 2001). Τελικά κάποια από τις ενεργοποιημένες πρωτεάσες κόβει σε δύο πεπτιδία,

**Εικόνα 2.49:** **A.** Σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης μεταξύ του ωοκυττάρου και των ωοθυλακικών κυττάρων της ραχιαίας περιοχής. Λίγο μετά την ελευθέρωση της πρωτεΐνης Gurken στην οπίσθια περιοχή του θαλάμου του ωαρίου, ο πυρήνας του ωοκυττάρου μετακινείται προς την εμπρόσθια ραχιαία περιοχή. Εκεί συντίθεται εκ νέου *gurken*-mRNA (υποδεικνύεται με κώδες χρώμα) και τελικά εκκρίνεται τοπικά στον περιλεκιθικό χώρο, η αντιστοιχη πρωτεΐνη. Μέσω της αλληλεπίδρασης Gurken - Torpedo καταστέλλεται η έκφραση του *pipe* στα ωοθυλακικά κύτταρα της ραχιαίας περιοχής. **B.** Φωτογραφία θαλάμου ωαρίου στον οποίο με τη βοήθεια κατάλληλου αντισώματος ανιχνεύεται η παρουσία της Gurken (κίτρινο χρώμα).







**Εικόνα 2.50:** **A.** Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού μεταφοράς της Dorsal στον πυρήνα. Το κομμάτι Spätzle ενεργοποιεί τον υποδοχέα Toll που με τη σειρά του ενεργοποιεί την κινάση Pelle. Η πρωτεΐνη Tube πιστεύεται πως βοηθά στη μεταφορά της Pelle στη μεμβράνη ώστε να ενεργοποιηθεί από την Toll. Η ενεργοποίηση της Pelle οδηγεί (όχι απαραίτητα άμεσα) στην φωσφορύλιωση της Cactus. Η φωσφορύλιωμένη Cactus αποικοδομείται, με αποτέλεσμα να ελευθερώνεται η Dorsal ώστε να μπορεί να εισέλθει στους πυρήνες της κοιλιακής περιοχής του εμβρύου. **B.** Μέσω του μοριακού μηχανισμού που περιγράφηκε στο προηγούμενο σχήμα, η Dorsal μεταφέρεται στους πυρήνες της κοιλιακής περιοχής, ενώ στη ραχιαία περιοχή παραμένει στο κυτταρόπλασμα. Έτσι δημιουργείται κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα μια κλίση, της ενδοπυρηνικής συγκέντρωσης του μορφογόνου Dorsal.

μια πρωτεΐνη η οποία απαντά στον περιλεκιθικό χώρο και ονομάζεται Spätzle. Το ένα από αυτά τα πεπτιδία, που συχνά αναφέρεται και ως “κομμάτι Spätzle” (Spätzle fragment), ενεργοποιεί τον διαμεμβρανικό υποδοχέα Toll. Το κομμάτι Spätzle παράγεται λίγο μετά τη γονιμοποίηση, μόνο στην κοιλιακή περιοχή. Μια μικρή όμως ποσότητα από αυτό διαχέεται ελαφρώς πλευρικά προς τη ραχιαία περιοχή, με αποτέλεσμα να σχηματίζεται τελικά μια κλίση συγκέντρωσης του κομματιού Spätzle, κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα. Έτσι, αν και ο υποδοχέας Toll κατανέμεται ομοιόμορφα στην επιφάνεια του νεαρού εμβρύου, η ενεργοποίησή του γίνεται τοπικά, και η ένταση του σήματος που μεταβιβάζει, είναι μέγιστη στην κοιλιακή περιοχή ενώ μειώνεται βαθμιαία κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα.

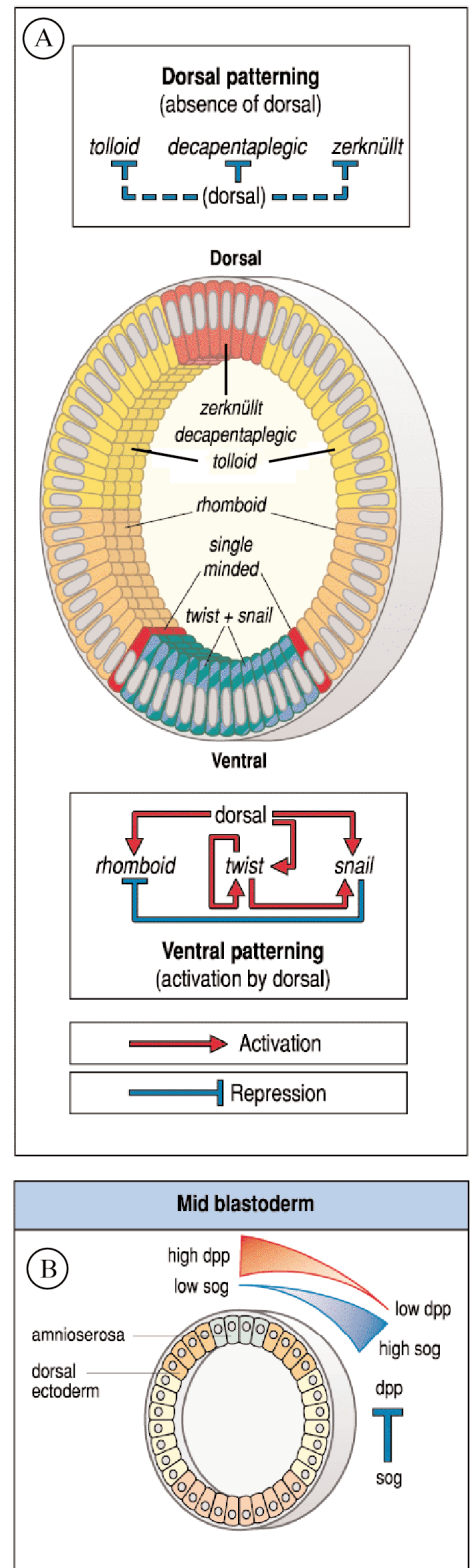
Όταν ενεργοποιείται ο υποδοχέας Toll το έμβryo έχει ακόμα τη μορφή συγκυτίου. Ο Toll ενεργοποιεί μία κινάση, την Pelle γεγονός που οδηγεί στη φωσφορύλιωση μιας κυτταροπλασματικής πρωτεΐνης της Cactus. Η Cactus απαντά συνδεδεμένη πάνω στην πρωτεΐνη Dorsal η οποία είναι το μορφογόνο που ελέγχει τη διαφοροποίηση κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα. Μέσω της σύνδεσης αυτής, η Cactus εμποδίζει την Dorsal να μπει στους πυρήνες του εμβρύου. Η φωσφορύλιωση της Cactus οδηγεί στην αποικοδόμησή της με αποτέλεσμα η ελεύθερη πλέον Dorsal να μπορεί να εισέλθει στους πυρήνες της κοιλιακής περιοχής του εμβρύου (Εικόνα 2.50A). Με τον παραπάνω μηχανισμό, η αρχική κλίση συγκέντρωσης κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα, του κομματιού Spätzle στον περιλεκιθικό χώρο, μετατρέπεται σε μια αντίστοιχη κλίση, της ενδοπυρηνικής συγκέντρωσης του μορφογόνου Dorsal στο εσωτερικό του εμβρύου (Εικόνα 2.50B).

## 2.11 Ο καθορισμός της διαφοροποίησης του εμβρύου κατά μήκος του κοιλιακού - ραχιαίου άξονα II: Ο ρόλος των ζυγωτικών γονιδίων.

κλίση, της ενδοπυρηνικής συγκέντρωσης του μορφογόνου Dorsal στο εσωτερικό του εμβρύου (Εικόνα 2.50B).

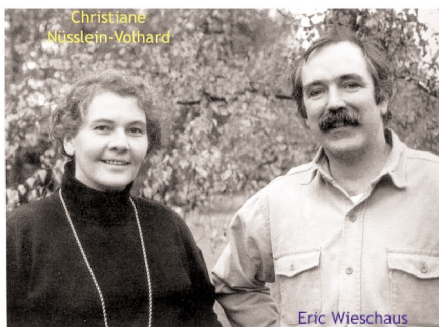
Στην Εικόνα 2.13 φαίνεται η διαφοροποίηση του εμβρύου της δροσόφιλας, στη φάση του κυτταρικού βλαστοδέρματος, κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα. Στην κοιλιακή περιοχή απαντά το μεσόδερμα. Πλευρο-κοιλιακά συναντάμε το λεγόμενο **νευροεξώδερμα** (neurectoderm) που είναι το τμήμα του εξωδέρματος από το οποίο θα προκύψει η κοιλιακή επιδερμίδα και το νευρικό σύστημα. Πλευρο-ραχιαία εδράζεται το τμήμα του εξωδέρματος από το οποίο θα προκύψει η ραχιαία επιδερμίδα και τέλος στην ραχιαία περιοχή συναντάμε τα κύτταρα που θα δώσουν την *amnioserosa*\*. Έχει βρεθεί πως η έκφραση των γονιδίων που καθορίζουν τις παραπάνω περιοχές, συνδέεται άμεσα με τη συγκέντρωση στην οποία απαντά η Dorsal στους πυρήνες του εμβρύου (Εικόνα 2.51A). Στην πιο κοιλιακή περιοχή όπου η συγκέντρωση της Dorsal στους πυρήνες είναι υψηλή, ενεργοποιούνται τα γονίδια *twist* και *snail*. Η ενεργοποίηση των δύο αυτών γονιδίων είναι απαραίτητη για τον καθορισμό του μεσοδέρματος αλλά και για τη διαδικασία της γαστριδίωσης (βλέπε και Εικόνα 2.11). Στο νευροεξώδερμα όπου η συγκέντρωση της Dorsal στους πυρήνες είναι σχετικά χαμηλή, ενεργοποιείται το γονίδιο *rhomboid*. Στην περιοχή του μεσοδέρματος το *rhomboid* δεν εκφράζεται γιατί καταστέλλεται από το *snail*. Τα γονίδια *decapentaplegic*, *tolloid* και *zerknüllt* καταστέλλονται από την Dorsal. Έτσι εκφράζονται στην περιοχή του εμβρύου όπου η εντός των πυρήνων συγκέντρωση της Dorsal είναι μηδενική ή πολύ μειωμένη. Το *decapentaplegic* κωδικοποιεί για μια εκκρινόμενη πρωτεΐνη η οποία παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση του ραχιαίου τμήματος του εμβρύου αλλά και αργότερα, στη διαφοροποίηση των δίσκων του ενήλικου. Η *Decapentaplegic* σχηματίζει μια κλίση συγκέντρωσης, με μέγιστο στην πιο ραχιαία περιοχή και ελάχιστο στη μέση γραμμή του εμβρύου (Εικόνα 2.51B). Οι μηχανισμοί μέσα από τους οποίους εδραιώνεται η κλίση αυτή δεν είναι ιδιαίτερα κατανοητοί, θεωρείται όμως ότι καθοριστικό ρόλο στη διαμόρφωσή της, παίζει η αλληλεπίδραση του *decapentaplegic* με ένα γονίδιο που εκφράζεται στο νευροεξώδερμα, το *short gastrulation (sog)*. Η *Sog* σχηματίζει επίσης μια κλίση συγκέντρωσης στην ίδια περιοχή με την *Decapentaplegic* με αντίθετη όμως φορά. Στην πιο ραχιαία περιοχή του εμβρύου όπου η συγκέντρωση της *Decapentaplegic* είναι υψηλή και εκφράζεται το *zerknüllt*, σχηματίζεται η *amnioserosa*. Η πλευρο-ραχιαία περιοχή όπου η συγκέντρωση της *Decapentaplegic* είναι χαμηλότερη, διαφοροποιείται στο τμήμα του εξωδέρματος από το οποίο θα προκύψει η ραχιαία επιδερμίδα.

\*Ο ρόλος της *amnioserosa* στην ανάπτυξη του εμβρύου δεν είναι ιδιαίτερα κατανοητός. Χαρακτηρίζεται ως εξωεμβρυϊκή μεμβράνη γιατί δεν συμμετέχει στην κατασκευή κάποιας δομής της προνύμφης της νύμφης ή του ενήλικου. Στο στάδιο 13 της εμβρυογένεσης ξεκινά μια διαδικασία που ονομάζεται ραχιαίο κλείσιμο (*dorsal closure*) κατά την οποία η *amnioserosa* καλύπτεται από επιδερμικά κύτταρα που μεταναστεύουν πάνω από αυτήν και τελικά απορροφάται από τη λέκιθο.



**Εικόνα 2.51:** Α. Σχηματική απεικόνιση των αλληλεπιδράσεων, μεταξύ του *dorsal* και των ζυγωτικών γονιδίων που καθορίζουν τη διαφοροποίηση κατά μήκος του ραχιαίου - κοιλιακού άξονα. Το *single-minded* εκφράζεται σε μια ειδική ομάδα κυττάρων από τα οποία θα προκύψουν στοιχεία του νευρικού συστήματος. Λεπτομέρειες για τα υπόλοιπα γονίδια δίνονται στο κεμμένο. Β. Σχηματική απεικόνιση των αντίστροφων κλίσεων συγκέντρωσης των *Dorsal* και *Sog*.

## 2.12 Επίλογος



**Εικόνα 2.52:** Η Christiane Nüsslein-Volhard και ο Eric Wieschaus στις αρχές της δεκαετίας του 1990.

Το 1995 απονεμήθηκε το βραβείο Νόμπελ της Φυσιολογίας και Ιατρικής στην Christiane Nüsslein-Volhard και τον Eric Wieschaus (Εικόνα 2.52) για την πρωτοποριακή τους εργασία πάνω στην κλωνοποίηση γονιδίων που ελέγχουν την ανάπτυξη της δροσόφιλας. Μοιράστηκαν το βραβείο μαζί με τον Ed Lewis ο οποίος εργάζονταν από το 1946 πάνω στη Βιολογία του συμπλέγματος του *bithorax*. Η Nüsslein-Volhard και ο Eric Wieschaus, δημοσίευσαν τα αποτελέσματα των πειραμάτων μεταλλαξογένεσης που είχαν διεξάγει, στις 30 Οκτωβρίου του 1980 στο περιοδικό *Nature* (βλέπε και Εικόνα 20). Ενδεικτική της επίδρασης που είχε η δημοσίευσή τους αυτή, είναι μία παρατήρηση του Peter Lawrence (“The making of a fly” - σελ. 203). Ο Lawrence αναφέρει πως δέκα χρόνια μετά, στο συνέδριο που γίνεται ανά διετία στην Κρήτη και είναι το σημαντικότερο στο χώρο της δροσόφιλας, οι μισές περίπου ομιλίες αφορούσαν τα γονίδια που η Nüsslein-Volhard και ο Wieschaus είχαν πρώτοι ανακαλύψει! Την ίδια εποχή, διάφοροι άλλοι ερευνητές ανακάλυπταν τις εντυπωσιακές ομοιότητες, ανάμεσα στους μηχανισμούς που ελέγχουν την ανάπτυξη της δροσόφιλας και αυτούς που ελέγχουν την ανάπτυξη των θηλαστικών.

Θα κλείσουμε τις σημειώσεις αυτές με ένα πολύ ενδιαφέρον ιστορικού περιεχομένου ερώτημα, που έθεσε ο Michael Ashburner το 1993. Σύμφωνα με τον Ashburner, τα πειράματα που διεξήγαγαν η Nüsslein-Volhard και ο Wieschaus, από τεχνικής απόψεως δεν χρειαζόντουσαν παρά μόνο “λίγες γνώσεις γενετικής, ένα μεταλλαξογόνο παράγοντα και ένα στερεοσκόπιο”. Όλα τα παραπάνω ήταν διαθέσιμα στην επιστημονική κοινότητα από τη δεκαετία του 1930. Γιατί κανένας άλλος δεν επεχείρησε να ψάξει νωρίτερα, για μεταλλάξεις στο γονιδίωμα της δροσόφιλας που να διαταράσσουν την εμβρυϊκή της ανάπτυξη; Μια κάπως κοινωνιολογικού περιεχομένου προσέγγιση στην εύλογη απορία του Ashburner, μπορείτε να βρείτε στη διεύθυνση <http://www.devbio.com/chap09/link0905.shtml>. Πέρα όμως από τις ιδιαίτερες απόψεις που μπορεί να έχει ο καθένας γύρω από το παραπάνω ερώτημα, το παράδειγμα της Nüsslein-Volhard και του Wieschaus, μας δείχνει πώς οι μεγάλες επιστημονικές ανακαλύψεις, συχνά δεν χρειάζονται πολύ περισσότερα πράγματα από την κοινή λογική.

# ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

The main genes involved in specifying pattern in the early <i>Drosophila</i> embryo					
	Gene	Maternal/ zygotic	Nature of protein	Transcription factor (T), receptor (R), or signal protein (S)	Function (where known)
<b>Antero-posterior System</b>	<i>bicoid</i>	M	Homeodomain	T	Morphogen, provides positional information along AP axis Morphogen, provides positional information along AP axis Helps to establish AP gradient of hunchback protein Involved in specifying posterior region Posterior oocyte-follicle cell signaling Pole-cell determination
	<i>hunchback</i>	M/Z	Zinc fingers	T	
	<i>nanos</i>	M	RNA-binding protein		
	<i>caudal</i>	M	Homeodomain	T	
	<i>gurken</i>	M	Secreted protein of TGF- $\alpha$ family	S	
	<i>oskar</i>	M			
Terminal system	<i>torso</i>	M	Receptor tyrosine kinase	R	Terminal specification
	<i>trunk</i>	M		S	Ligand for torso
Gap genes	<i>hunchback</i>	Z	Zinc fingers	T	} Localize pair-rule gene expression
	<i>Krüppel</i>	Z	Zinc fingers	T	
	<i>knirps</i>	Z	Zinc fingers	T	
	<i>giant</i>	Z	Leucine zipper	T	
	<i>tailless</i>	Z	Zinc fingers	T	
Pair-rule genes	<i>even-skipped</i>	Z	Homeodomain	T	} Delimits odd-numbered parasegments Delimits even-numbered parasegments
	<i>lushi tarazu</i>	Z	Homeodomain	T	
	<i>hairy</i>	Z	Helix-loop-helix	T	
Segment polarity genes	<i>engrailed</i>	Z	Homeodomain	T	} Defines anterior region of parasegment and posterior region of segment } Components of signaling pathways that pattern segments and stabilize compartment boundaries
	<i>hedgehog</i>	Z	Membrane or secreted	S	
	<i>wingless</i>	Z	Secreted	S	
	<i>gooseberry</i>	Z	Homeodomain	T	
	<i>patched</i>	Z	Membrane	R	
	<i>smoothened</i>	Z	G-protein coupled	R	
Selector genes bithorax complex	<i>Ultrabithorax</i>	Z	Homeodomain	T	} Combinatorial activity confers identity on parasegments 5-13
	<i>abdominal-A</i>	Z	Homeodomain	T	
	<i>Abdominal-B</i>	Z	Homeodomain	T	
Antennapedia complex	<i>Deformed</i>	Z	Homeodomain	T	} Combinatorial activity confers identity on parasegments anterior to 5
	<i>Sex combs</i>	Z	Homeodomain	T	
	<i>reduced</i>	Z	Homeodomain	T	
	<i>Antennapedia labial</i>	Z	Homeodomain	T	
Maintenance genes	Polycomb group	Z		T	} Maintain state of homeotic genes
	<i>Tithorax</i>	Z		T	
<b>Dorso-ventral System</b>					
Maternal genes	<i>Toll</i>	M	Membrane	R	} Activation results in dorsal protein entering nucleus } Ligand for Toll protein } Morphogen, sets dorso-ventral polarity } Binds dorsal protein and prevents it entering nucleus } Specifies oocyte axis } Part of pathway leading to spätzle processing
	<i>spätzle</i>	M	Extracellular	S	
	<i>dorsal</i>	M		T	
	<i>cactus</i>	M			
	<i>gurken</i>	M	Secreted protein of TGF- $\alpha$ family	S	
	<i>pipe</i>	M	Sulfotransferase	Enzyme	
	Zygotic genes	<i>twist</i>	Z	Helix-loop-helix	
<i>snail</i>		Z	Zinc finger	T	
<i>rhomboid</i>		Z	Membrane protein	S	
<i>single-minded</i>		Z			
<i>zerknüllt</i>		Z	Homeodomain	T	
<i>decapentaplegic</i>		Z	Secreted protein of TGF- $\beta$ family	S	
<i>tolloid</i>		Z	BMP-2 family	S	
<i>short gastrulation</i>		Z		S	

# ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

## Βιβλία:

**Principles of Development.** Wolpert L., Beddington R., Jessell T., Lawrence P., Meyerowitz E. and Smith J. Oxford University Press. 2<sup>nd</sup> Edition, 2002.

**Developmental Biology.** Gilbert S. F. Sinauer Associates, Inc. Publishers. 6<sup>th</sup> Edition, 2000.

**Molecular Biology of the Cell.** Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Walter P. Garland Publishing Inc. 4<sup>th</sup> Edition, 2002.

**Molecular Cell Biology.** Lodish H., Berk A., Zipursky S. L., Matsudaira P., Baltimore D. and Darnell J. W. H. Freeman and company. 4<sup>th</sup> Edition, 2000.

**Genes VII.** Lewin B. Oxford University Press. 7<sup>th</sup> Edition, 2000.

**Developmental Biology.** Gilbert S. F. Sinauer Associates, Inc. Publishers. 6<sup>th</sup> Edition, 2000.

**The Making of a Fly: the genetics of animal design.** Lawrence P. A. Blackwell Scientific Publications. 1<sup>st</sup> Edition, 1992.

## Άρθρα:

Edgar B.A., Kiehle C.P., and Schubiger G.  
Cell cycle control by the nucleo-cytoplasmic ratio in early *Drosophila* development.  
*Cell*. 1986 Jan 31;44(2):365-72.

Fogarty P., Kalpin R.F. and Sullivan W.  
The *Drosophila* maternal-effect mutation *grapes* causes a metaphase arrest at nuclear cycle 13.  
*Development*. 1994 Aug;120(8):2131-42.

Fujioka M., Emi-Sarker Y., Yusibova G.L., Goto T. and Jaynes J.B.  
Analysis of an *even-skipped* rescue transgene reveals both composite and discrete neuronal and early blastoderm enhancers, and multi-stripe positioning by gap gene repressor gradients.  
*Development*. 1999 Jun;126(11):2527-38.

Hays T. and Karess R.  
Swallowing dynein: a missing link in RNA localization?  
*Nat. Cell Biol*. 2000 Apr;2(4):E60-2. (Review)

Heifetz Y., Yu J., and Wolfner M.F.  
Ovulation triggers activation of *Drosophila* oocytes.  
*Dev. Biol*. 2001 Jun 15;234(2):416-24.

Irvine K.D. and Wieschaus E.  
Cell intercalation during *Drosophila* germband extension and its regulation by pair-rule segmentation genes.  
*Development*. 1994 Apr;120(4):827-41.

Jansen R.P.

RNA-cytoskeletal associations.

*FASEB J.* 1999 Mar;13(3):455-66. (Review)

Johnstone O. and Lasko P.

Translational regulation and RNA localization in *Drosophila* oocytes and embryos.

*Annu. Rev. Genet.* 2001;35:365-406. (Review)

LeMosy E.K., Tan Y.Q. and Hashimoto C.

Activation of a protease cascade involved in patterning the *Drosophila* embryo.

*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001 Apr 24;98(9):5055-60.

Loppin B, Berger F, Couble P.

Paternal chromosome incorporation into the zygote nucleus is controlled by *maternal haploid* in *Drosophila*.

*Dev. Biol.* 2001 Mar 15;231(2):383-96.

Nusslein-Volhard C. and Wieschaus E.

Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*.

*Nature.* 1980 Oct 30;287(5785):795-801.

Palacios I.M. and St Johnston D.

Getting the message across: the intracellular localization of mRNAs in higher eukaryotes.

*Annu Rev Cell Dev Biol.* 2001;17:569-614. Review.

Riechmann V. and Ephrussi A.

Axis formation during *Drosophila* oogenesis.

*Curr. Opin. Genet. Dev.* 2001 Aug;11(4):374-83. (Review)

Rivera-Pomar R. and Jackle H.

From gradients to stripes in *Drosophila* embryogenesis: filling in the gaps.

*Trends Genet.* 1996 Nov;12(11):478-83. (Review)

Schnorrer F. Bohmann K. and Nusslein-Volhard C.

The molecular motor dynein is involved in targeting swallow and *bicoid* RNA to the anterior pole of *Drosophila* oocytes.

*Nat. Cell. Biol.* 2000 Apr;2(4):185-90.

Schonbaum C.P., Perrino J.J. and Mahowald A.P.

Regulation of the vitellogenin receptor during *Drosophila melanogaster* oogenesis.

*Mol. Biol. Cell* 2000 Feb;11(2):511-21.

Schulz C. and Tautz D.

Autonomous concentration-dependent activation and repression of *Krüppel* by *hunchback* in the *Drosophila* embryo.

*Development.* 1994 Oct;120(10):3043-9.

St Johnston D. and Nusslein-Volhard C.

The origin of pattern and polarity in the *Drosophila* embryo.

*Cell.* 1992 Jan 24;68(2):201-19. (Review).

St Johnston D.

The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*.  
*Nat. Rev. Genet.* 2002 Mar;3(3):176-88. (Review)

Van Buskirk C. and Schupbach T.  
Versatility in signalling: multiple responses to EGF receptor activation during *Drosophila* oogenesis.  
*Trends Cell. Biol.* 1999 Jan;9(1):1-4. (Review)

Van Eeden F. and St Johnston D.  
The polarisation of the anterior-posterior and dorsal-ventral axes during *Drosophila* oogenesis.  
*Curr. Opin. Genet. Dev.* 1999 Aug;9(4):396-404. (Review)

Verrotti A.C. and Wharton R.P.  
*Nanos* interacts with *cup* in the female germline of *Drosophila*.  
*Development.* 2000 Dec;127(23):5225-32.

Wilkinson M.F. and Shyu A.B.  
Multifunctional regulatory proteins that control gene expression in both the nucleus and the cytoplasm.  
*Bioessays.* 2001 Sep;23(9):775-87. (Review)

Wreden C., Verrotti A.C., Schisa J.A., Lieberfarb M.E. and Strickland S.  
*Nanos* and *pumilio* establish embryonic polarity in *Drosophila* by promoting posterior deadenylation of *hunchback* mRNA.  
*Development.* 1997 Aug;124(15):3015-23.