

*Εμβρυολογία
και
Μοριακή
Βιολογία
Ανάπτυξης*

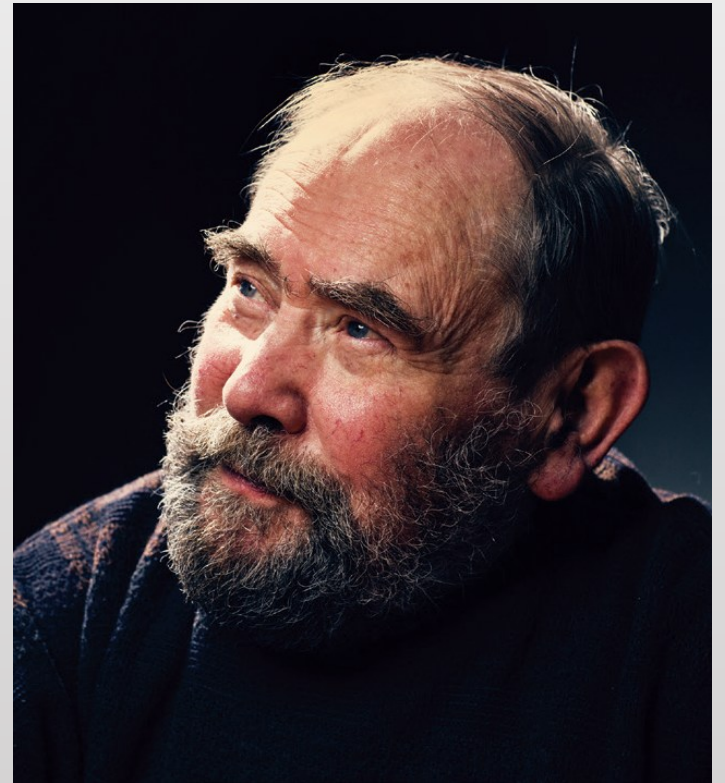


Ενότητα 3:

Ο νηματώδης *Caenorhabditis elegans*

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

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

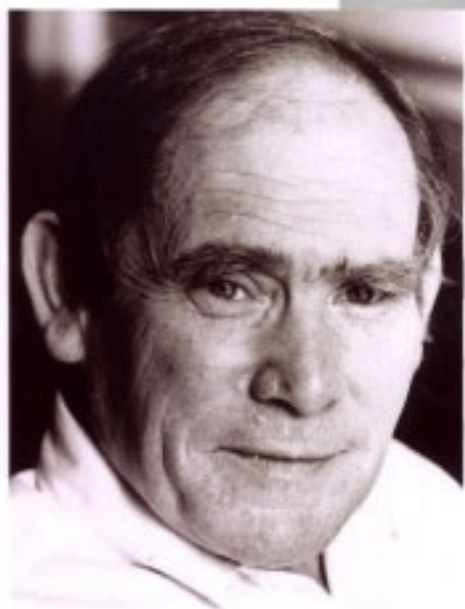
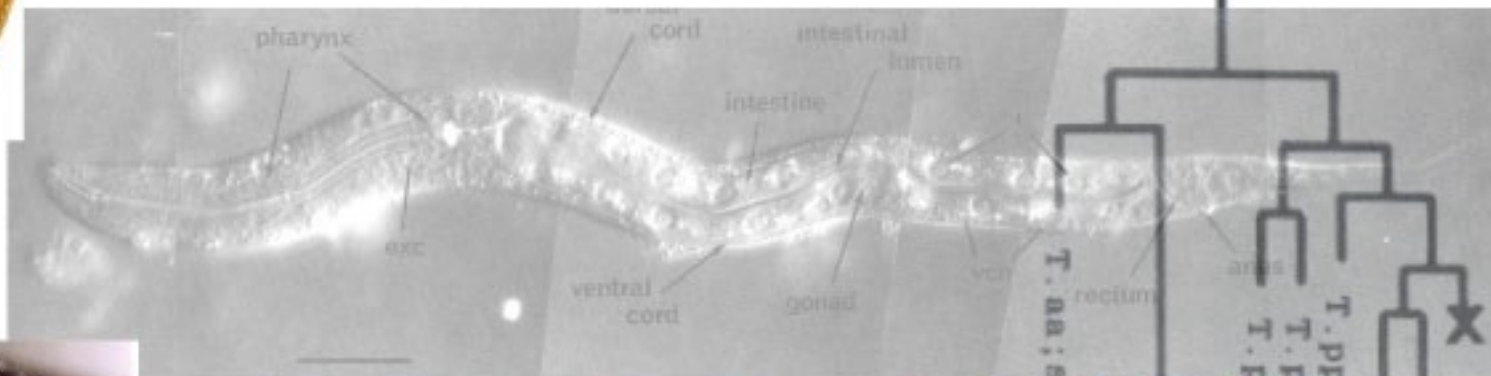


Sydney Brenner (1927-2019)

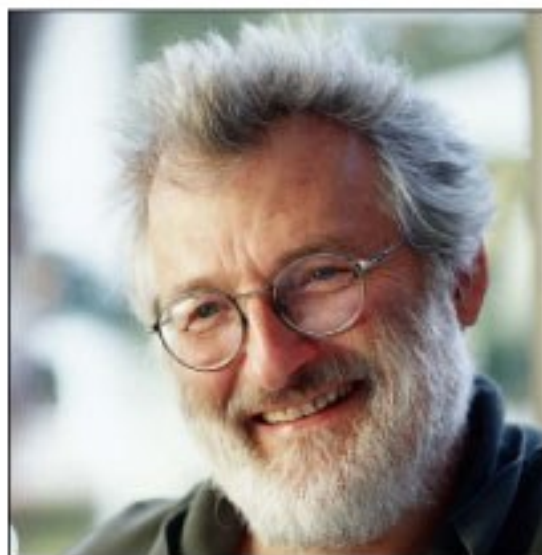
2002 Nobel Prize in Physiology or Medicine



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



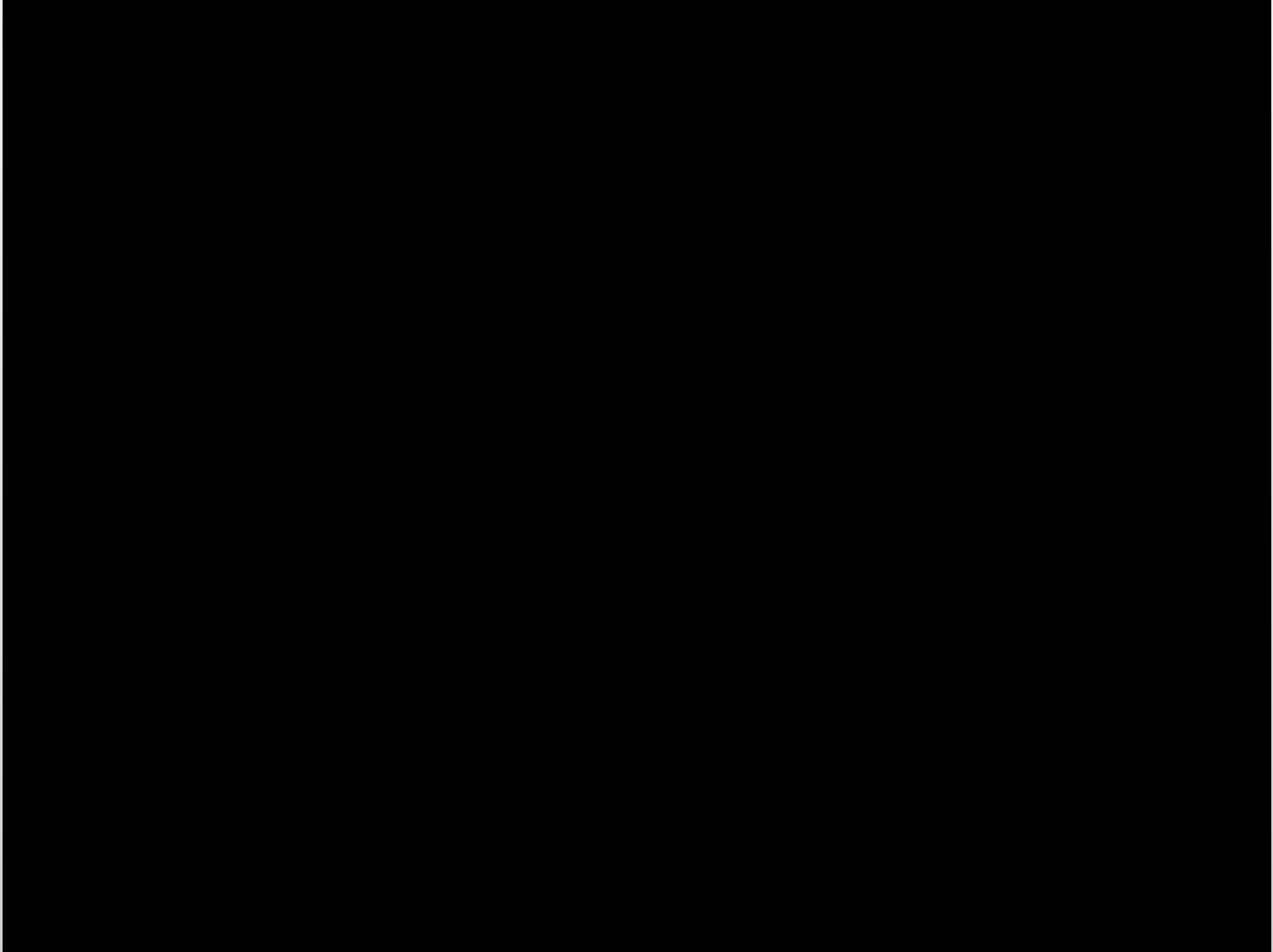
Sydney Brenner



John Sulston

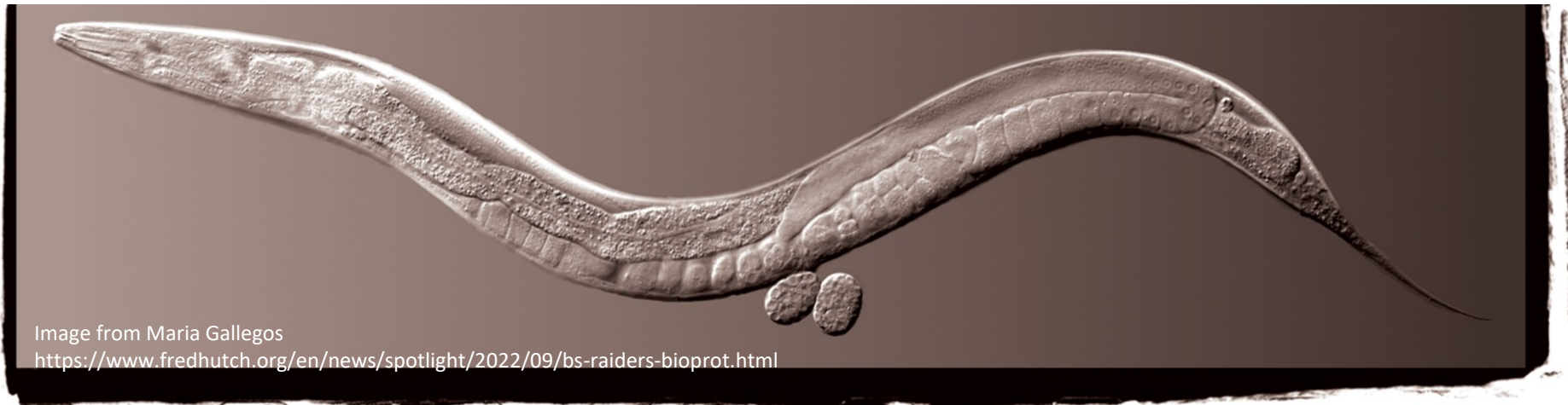
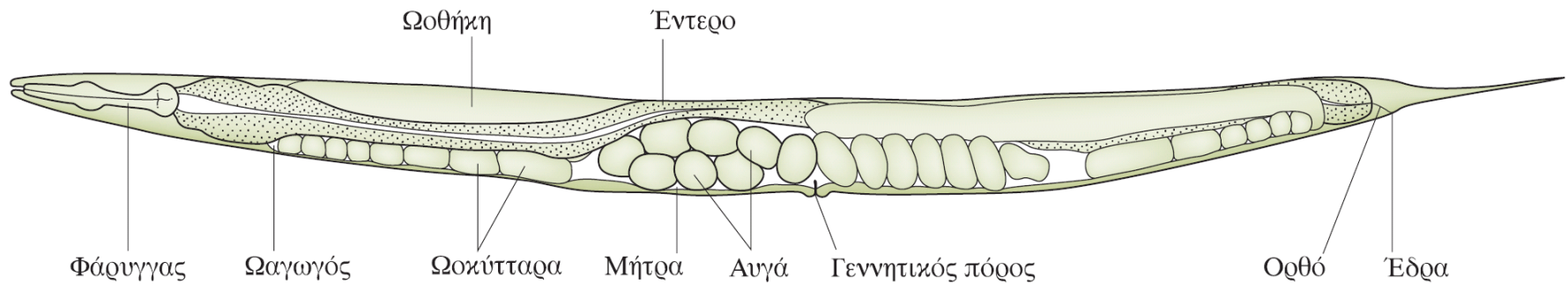


Bob Horvitz

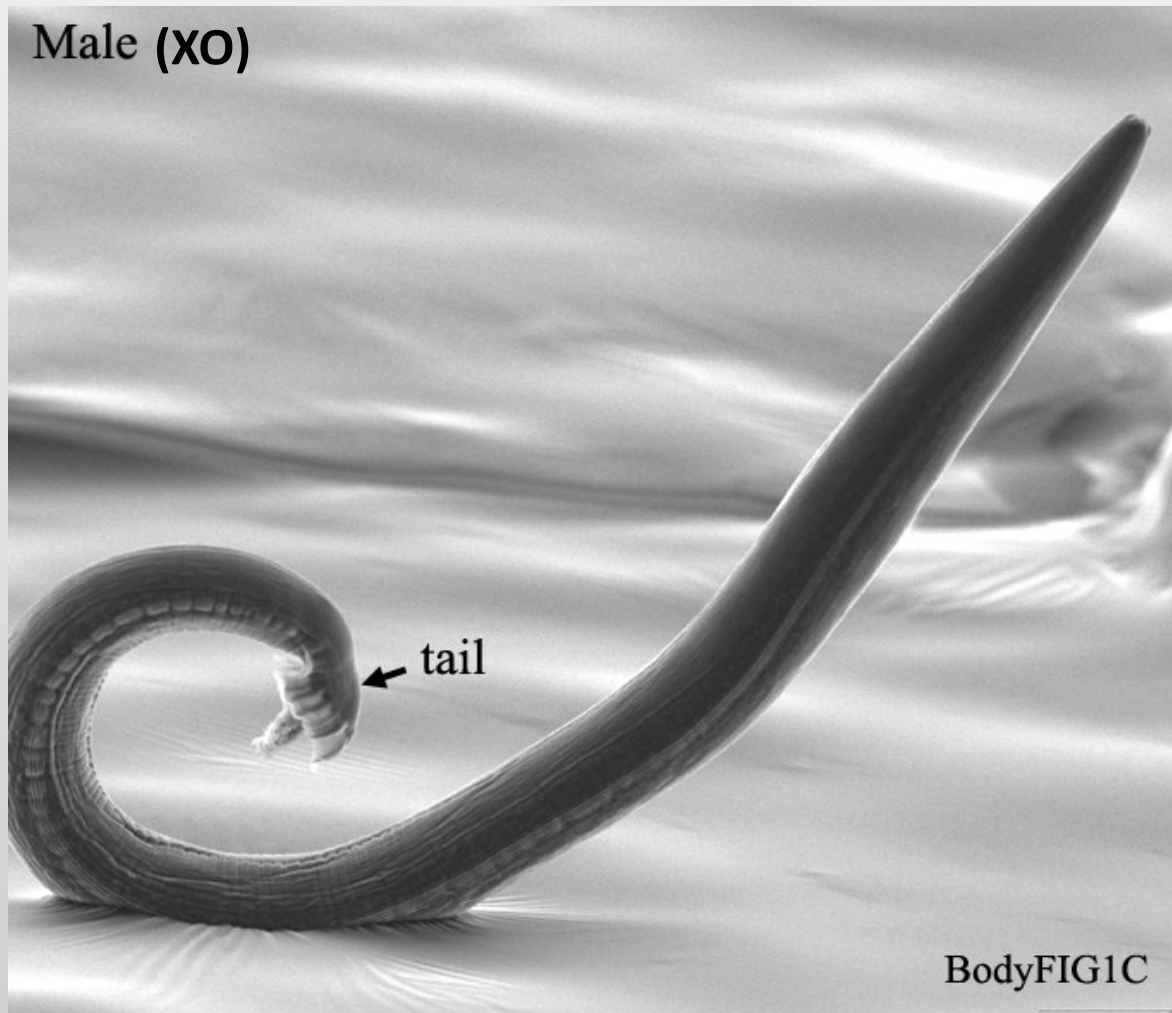


Ο *Caenorhabditis elegans*

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

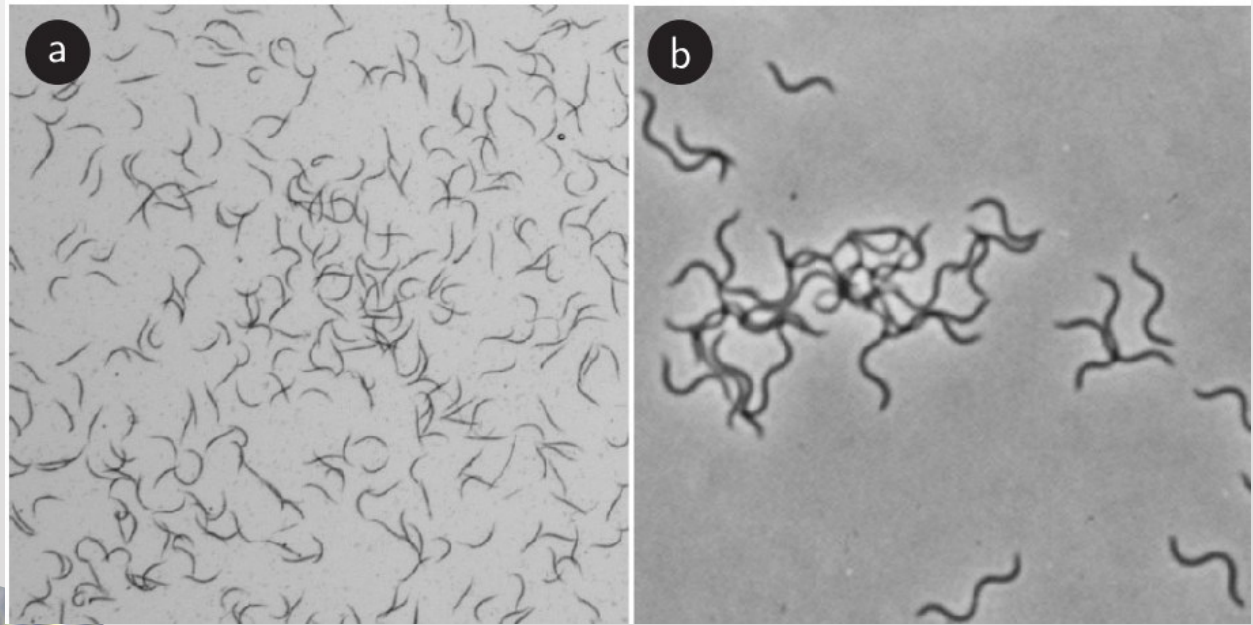


Ο αρσενικός *Caenorhabditis elegans*

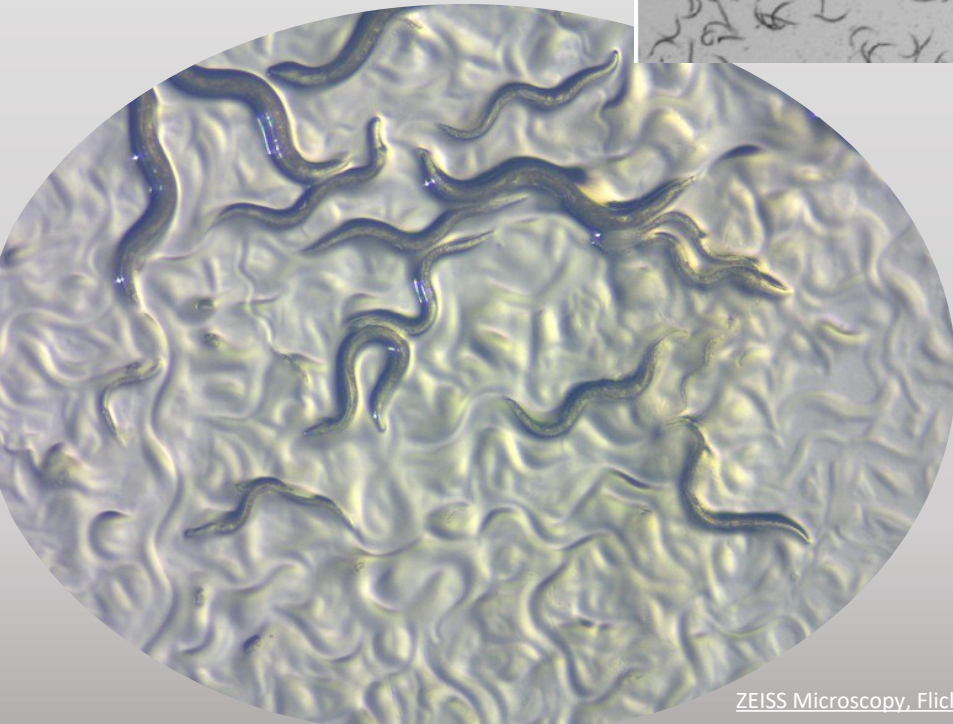


Τα αρσενικά προκύπτουν όταν χαθεί αυθόρμητα ένα Χ κατά τη μείωση
Στη φύση με συχνότητα 1:700

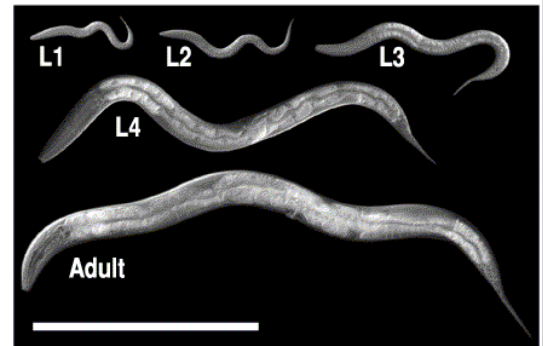
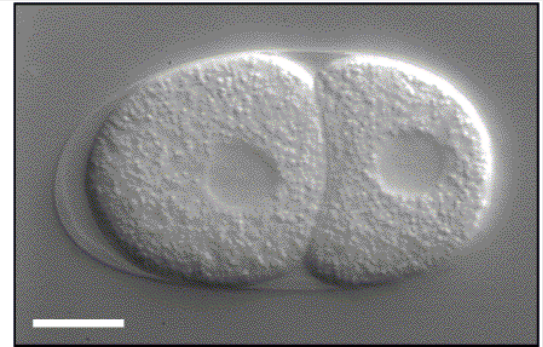
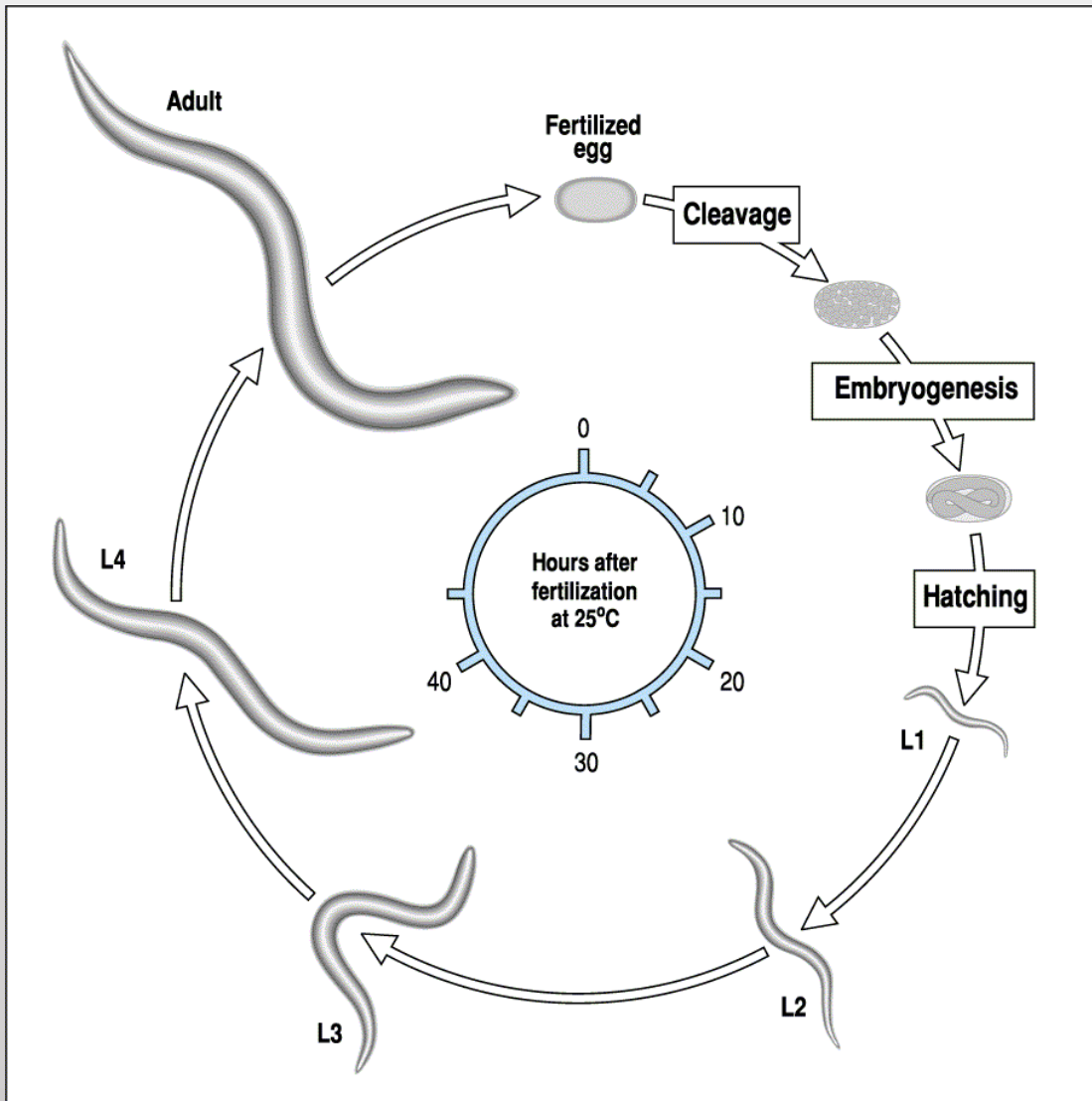
O Caenorhabditis elegans



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



Κύκλος ζωής του *Caenorhabditis elegans*



Ολοκλήρωση εμβρυογένεσης σε 15h!

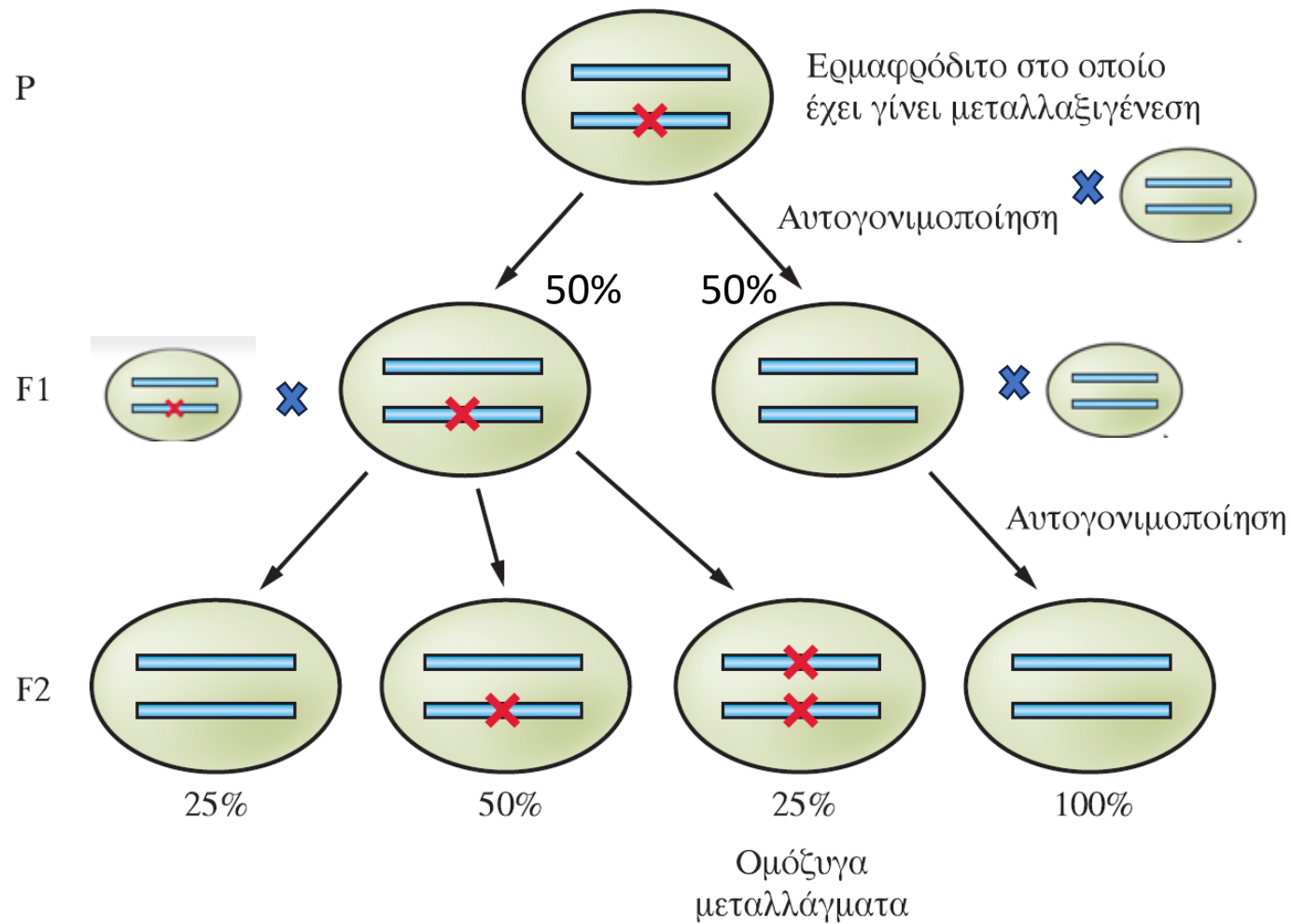
Σε περίπου 3 μέρες έχουμε ενήλικο άτομο!

Τα πλεονεκτήματα του *C. elegans*

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

Προσφέρεται για γενετική ανάλυση!!

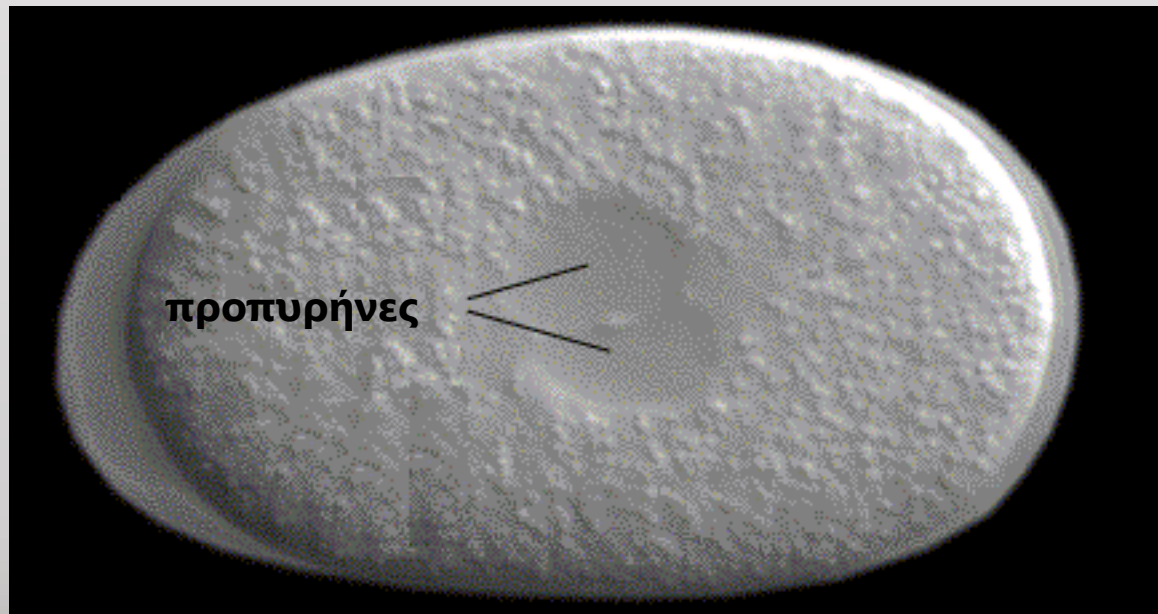
Πορεία μεταλλαξογένεσης στον *C. elegans*



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

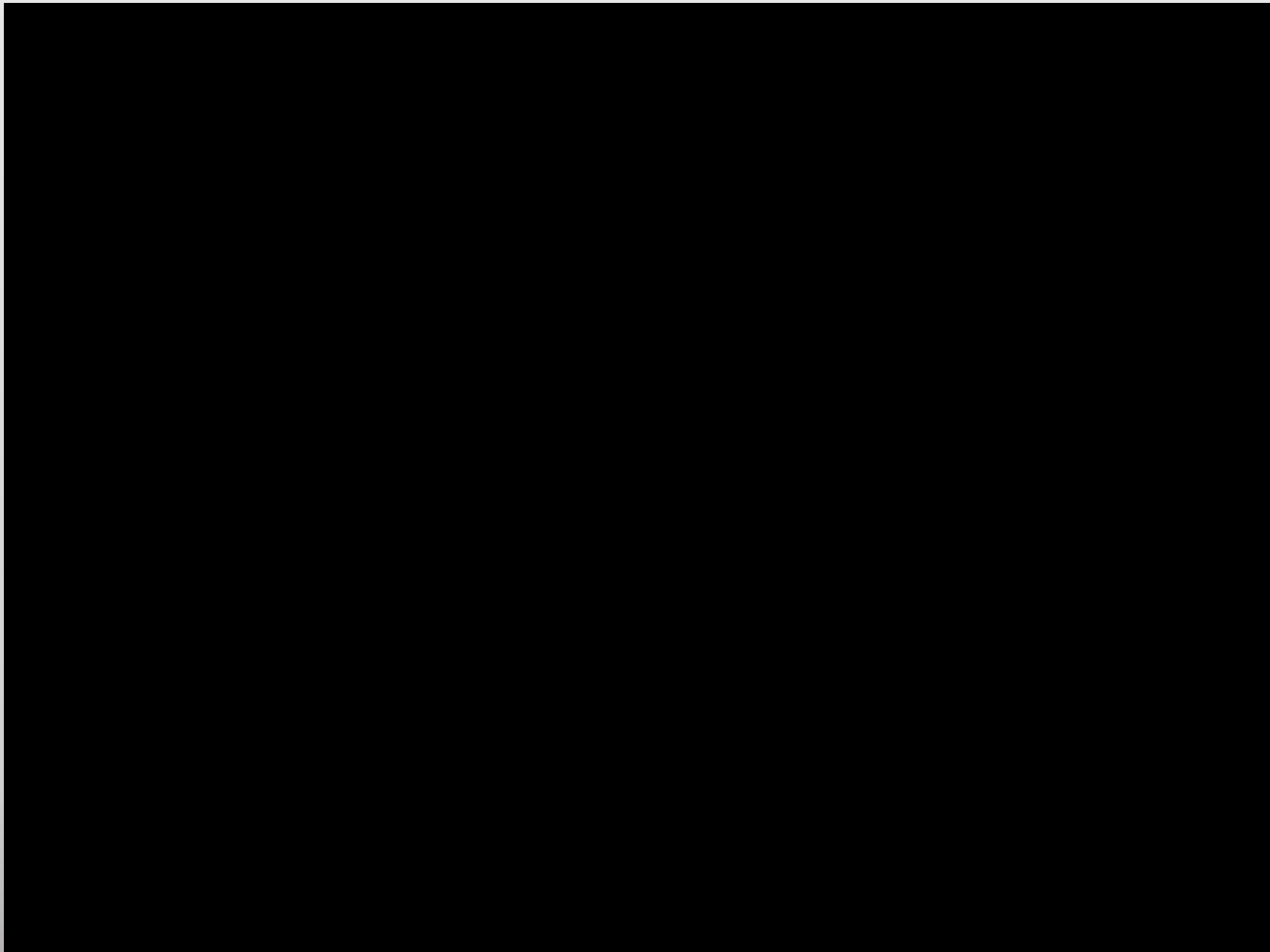
Τα μειονεκτήματα του *C. elegans*

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



Η ανάπτυξη του *C. elegans*

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

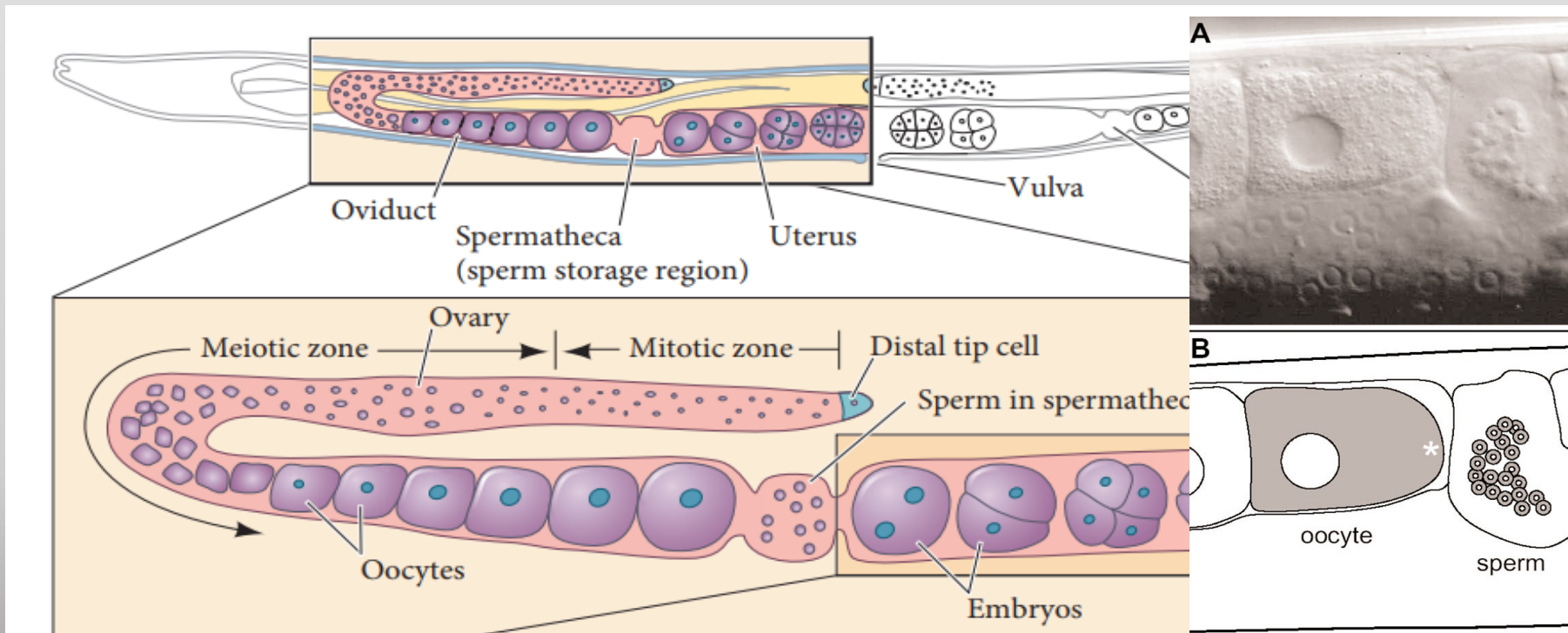


Προϋποθέσεις που πρέπει να τηρούνται προκειμένου να αποδειχθεί ότι ένα μόριο πράγματι ενέχεται σε μια συγκεκριμένη αναπτυξιακή διαδικασία

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

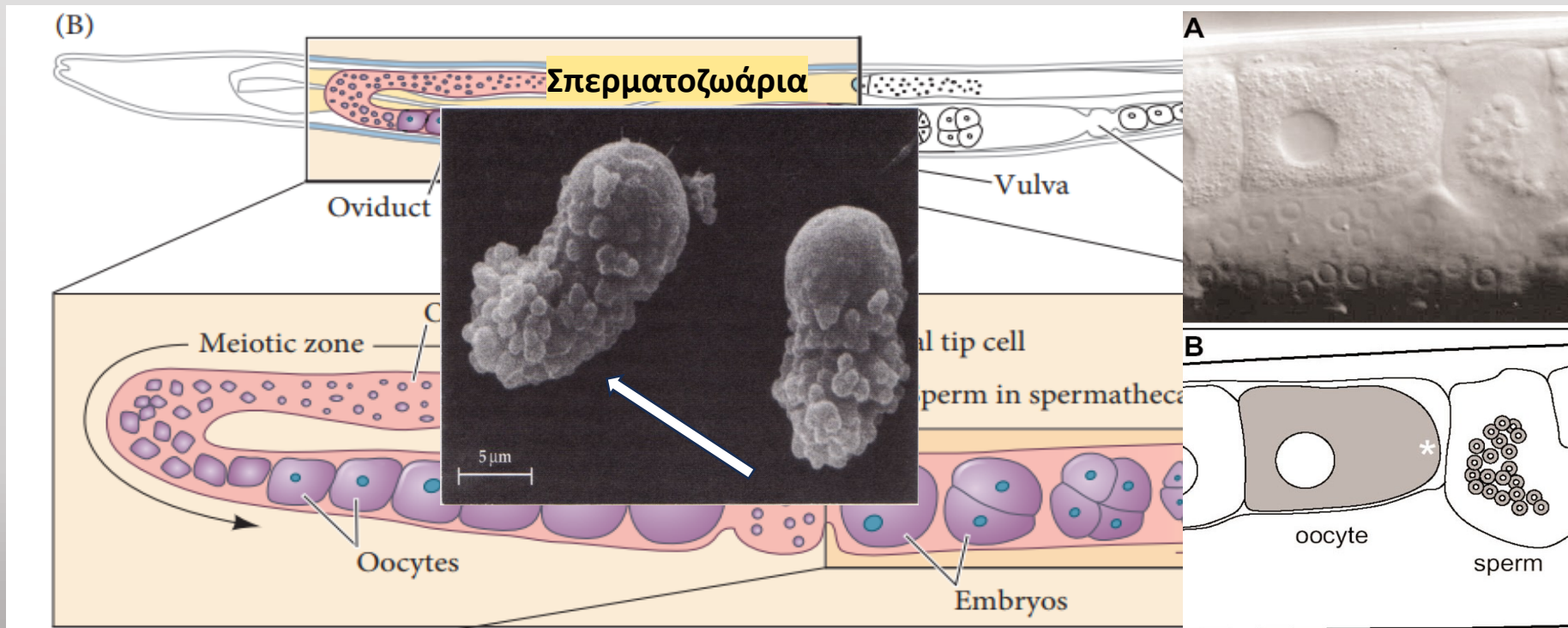
Η γονιμοποίηση στον *C. elegans*

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

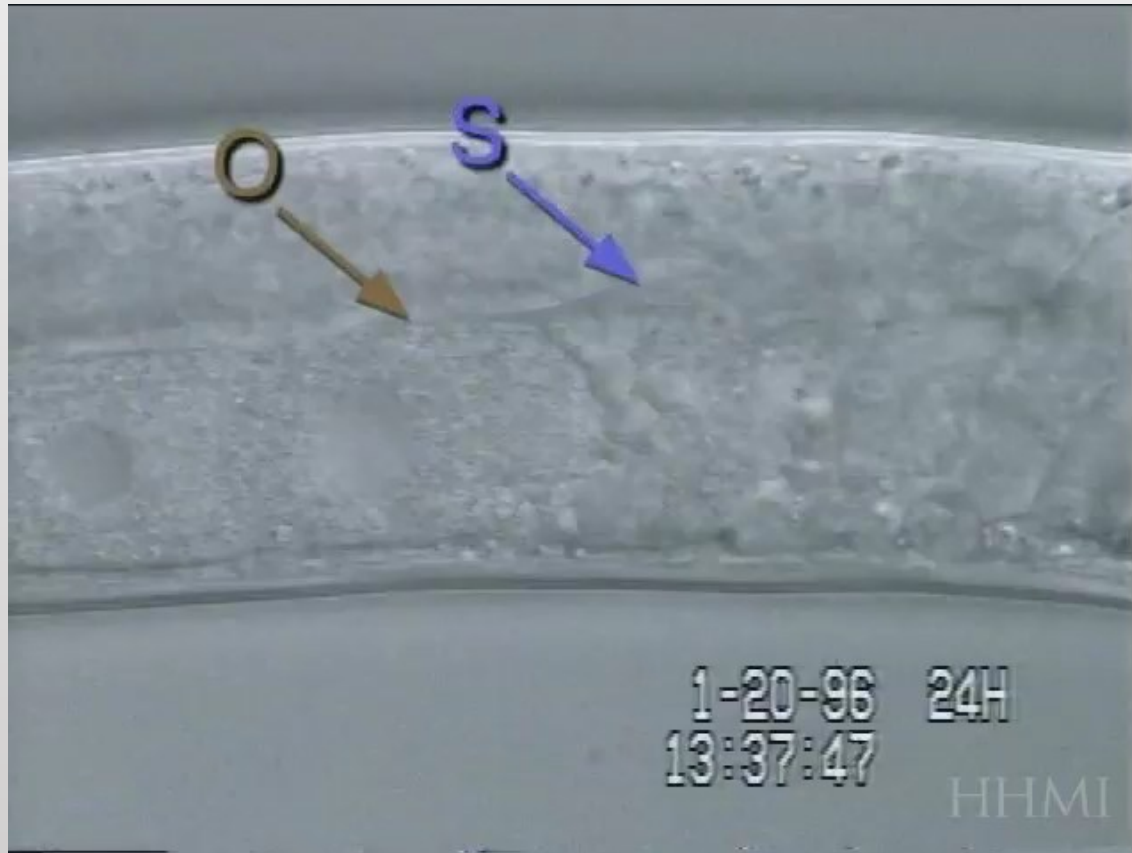


Η γονιμοποίηση στον *C. elegans*

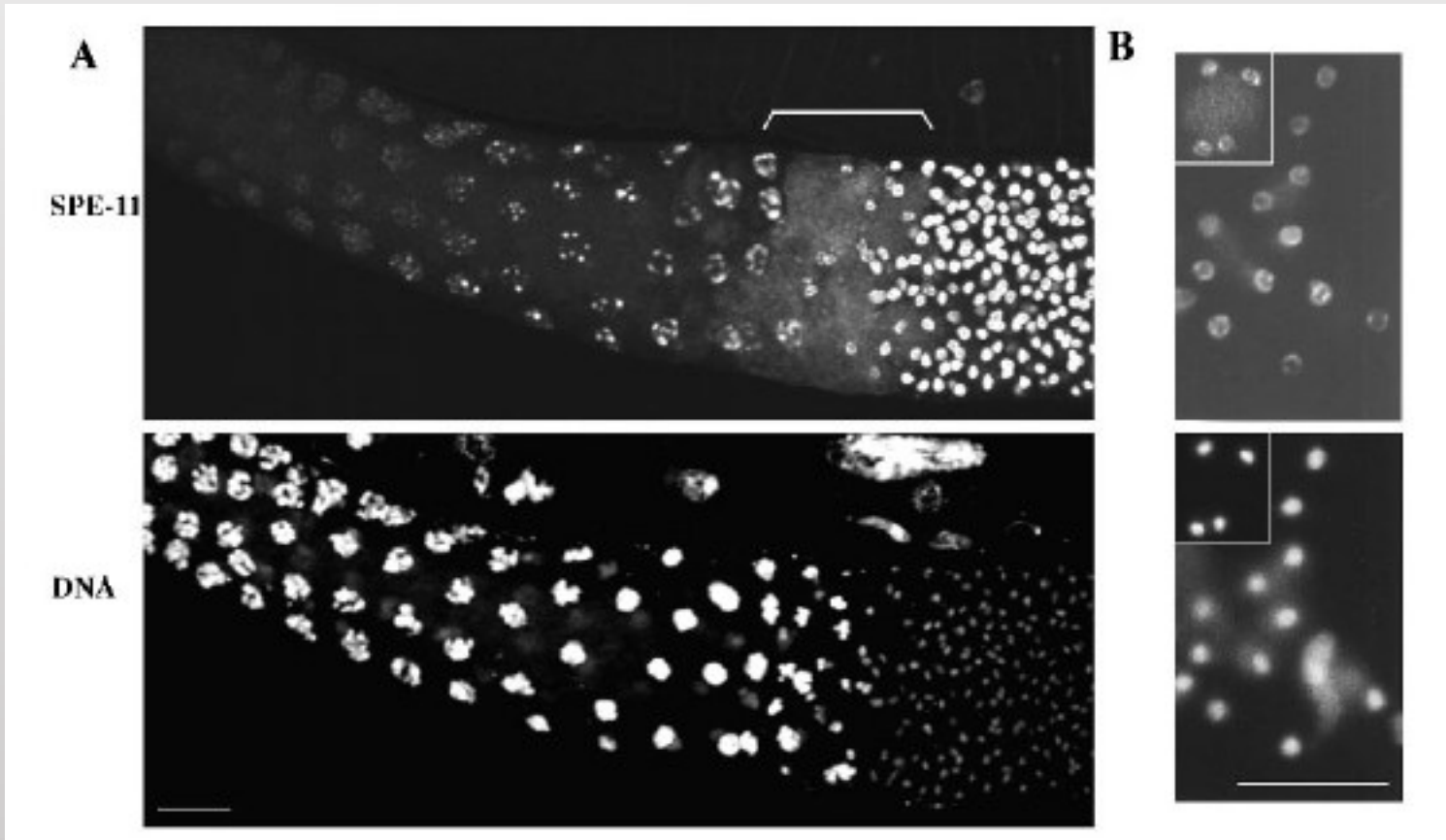
- Το αυγό δεν παρουσιάζει εμφανή ασυμμετρία.
- Με συσπάσεις της μήτρας τα ωάρια προωθούνται στη σπερματοθήκη.
- Η γονιμοποίηση λαμβάνει χώρα καθώς τα ωάρια μετακινούνται προς τη μήτρα μέσω της σπερματοθήκης.
- Η γονιμοποίηση ακολουθείται από ενεργοποίηση του αυγού (ολοκλήρωση της μείωσης και σχηματισμό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



Η γονιμοποίηση στον *C. elegans*



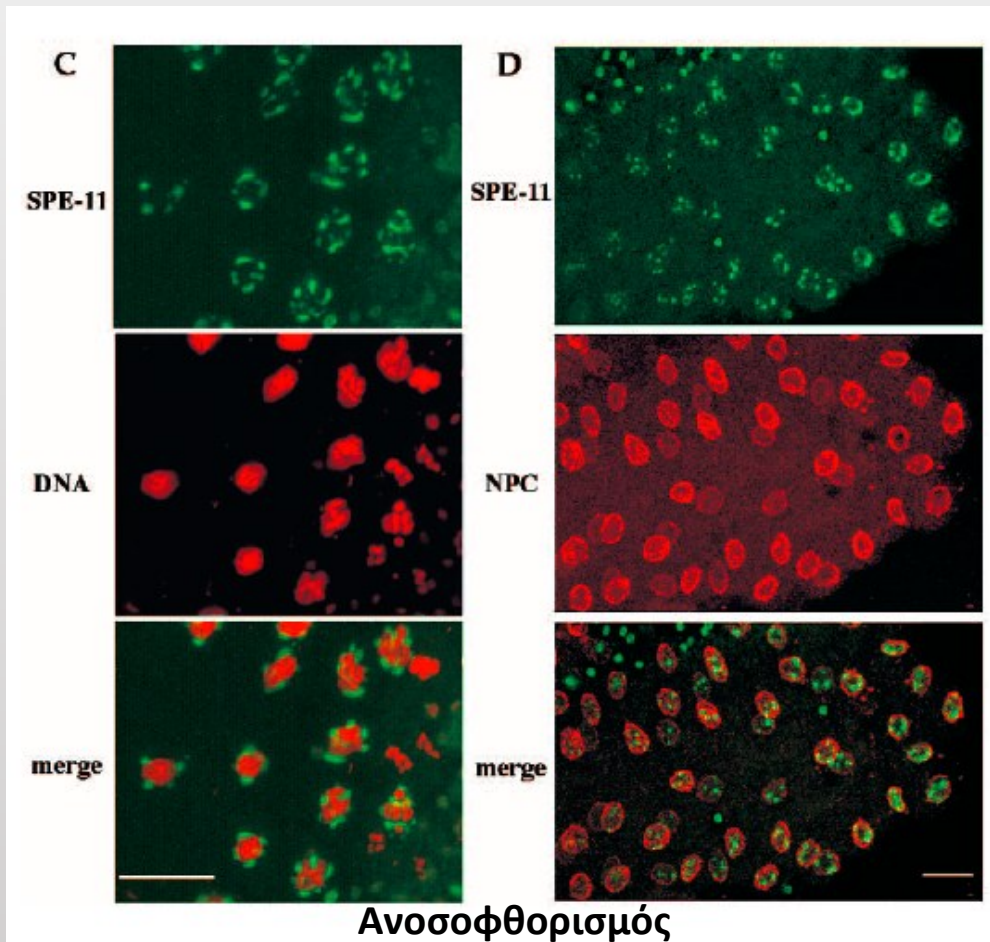
Τα έμβρυα που προέρχονται από γονιμοποίηση με σπερματοζωάρια μεταλλαγμάτων *spe-11* δεν αναπτύσσονται φυσιολογικά



Εντοπισμός
Εκτοπική Έκφραση
Αναστολή

Μεταλλάξεις πατρικής επίδρασης

Μεταλλάξεις πατρικής επίδρασης

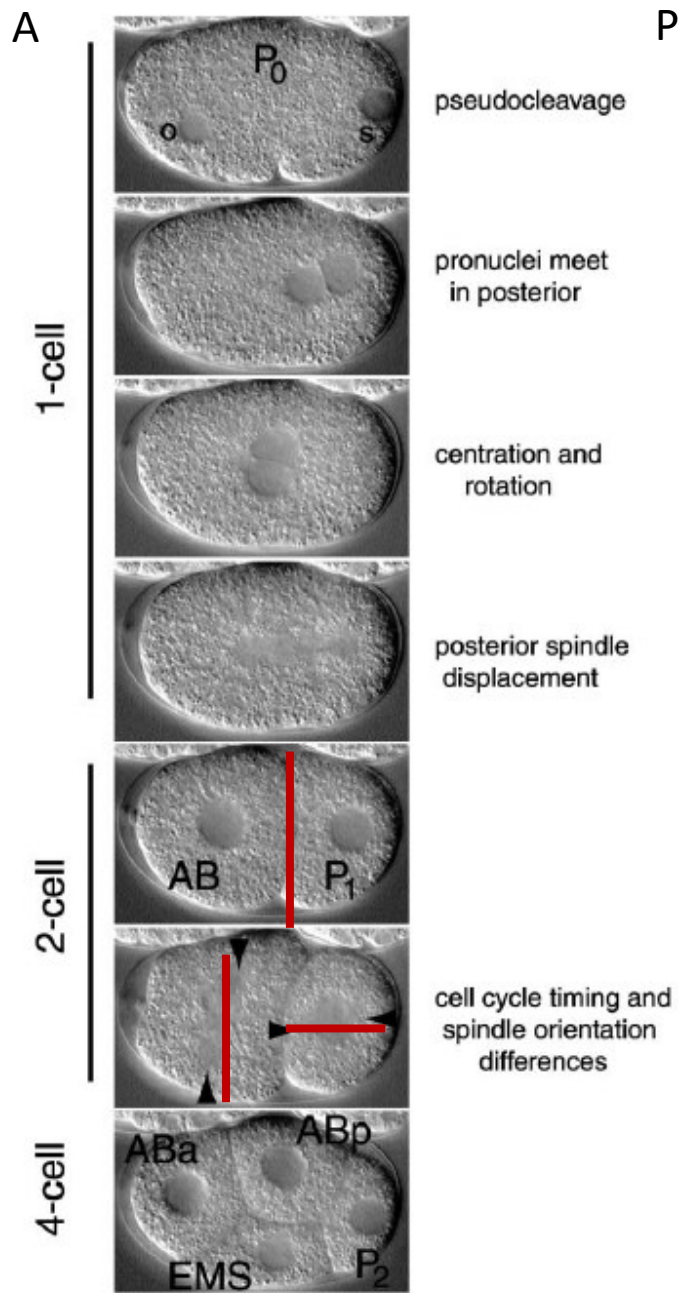


Η SPE-11:

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

Τα σπερματοζωάρια του *C. elegans* είναι πολύ μικρά σε σχέση με τα ωάρια (1%v/v). Για ποιο λόγο μια πρωτεΐνη να εκφράζεται σε αυτά και όχι στα ωάρια;

Η αυλάκωση στον *C. elegans*



- Η **πρώτη διαίρεση** είναι ασύμμετρη η αύλακα σχηματίζεται κοντύτερα προς το οπίσθιο άκρο και δημιουργούνται δυο κύτταρα το AB και το P₁. Ολοβλαστική αυλάκωση
- Οι αυλακωτικές διαιρέσεις είναι ασύμμετρες – στις διαιρέσεις της πρώϊμης αυλάκωσης σχηματίζονται ένα ιδρυτικό κύτταρο (founder cells: AB, MS, E, D, C) και ένα βλαστικό κύτταρο (stem cells: P₁ - P₄).
- Κατά τη **δεύτερη διαίρεση** το AB διαιρείται ισημερινά (κάθετα στον εμπροσθοπίσθιο άξονα) ενώ το P₁ μεσημβρινά = περιστροφική αυλάκωση.
- Από το AB προκύπτουν τα ABa και ABp, (a: anterior, p: posterior) ενώ από το P₁ το EMS και το P₂.
- Τα βλαστικά κύτταρα διαιρούνται πάντα μεσημβρινά και από κάθε διαίρεση προκύπτει ένα ιδρυτικό κύτταρο εμπρόσθια και ένα βλαστικό κύτταρο οπίσθια.
- Απο τα ιδρυτικά κύτταρα παράγονται διαφοροποιημένα κύτταρα.

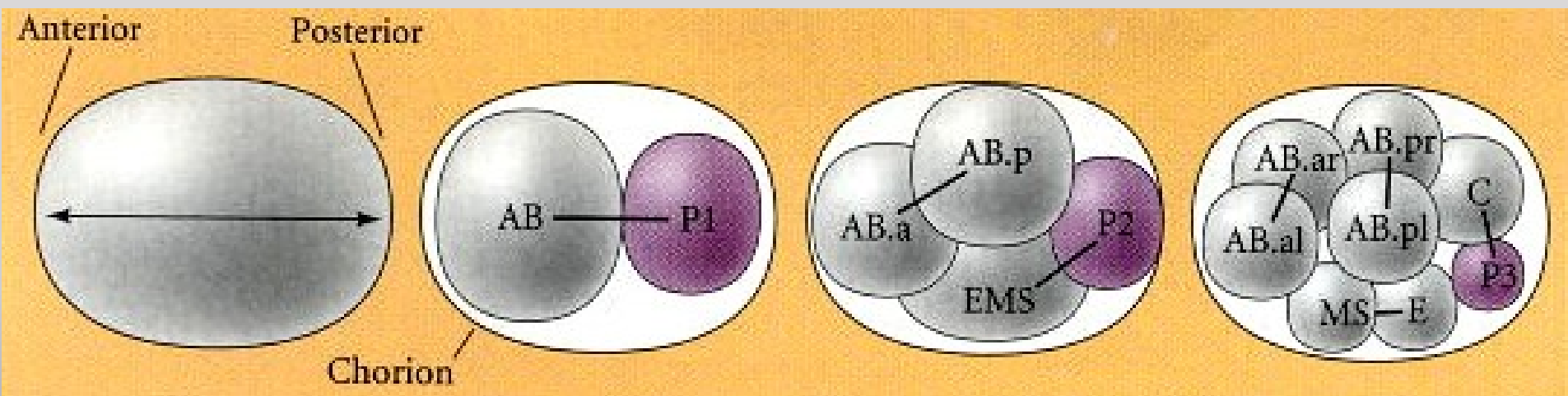
Ολοβλαστική περιστροφική αυλάκωση

Πώς ονομάζουμε τα κύτταρα του *C. elegans*

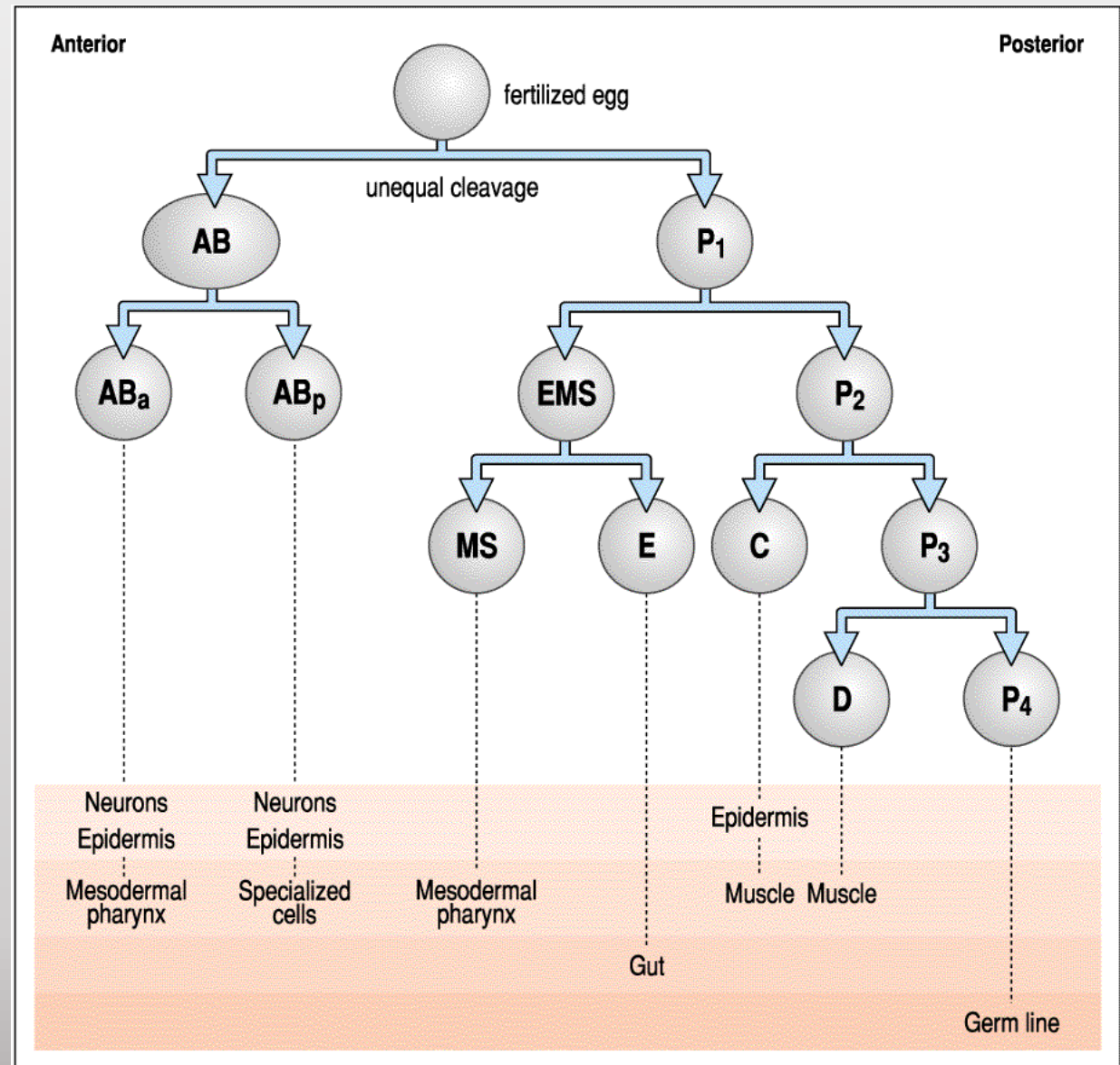
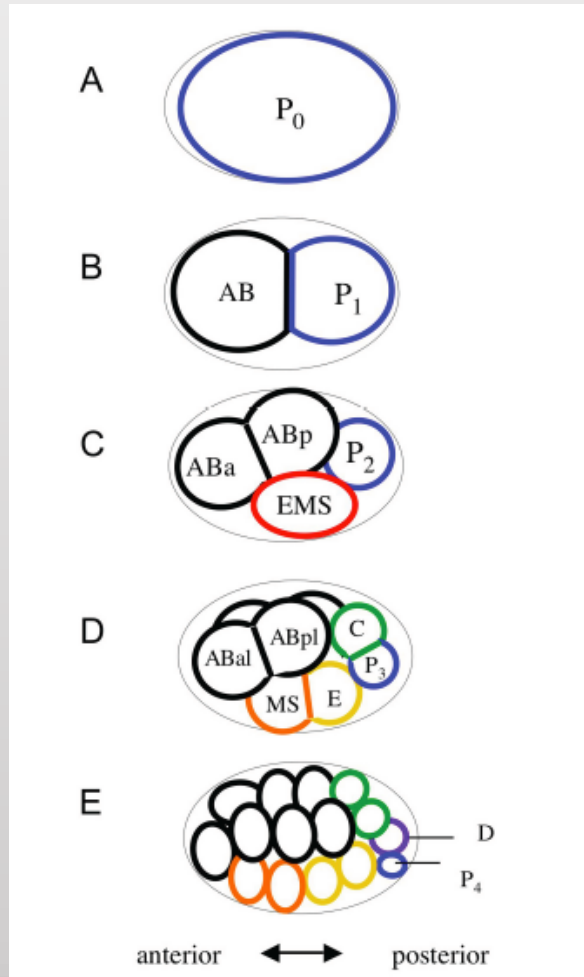
Πολλές φορές τα κύτταρα στον *C. elegans* τα ονομάζουμε με βάση τη θέση τους ως προς τα αδελφικά τους κύτταρα.

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

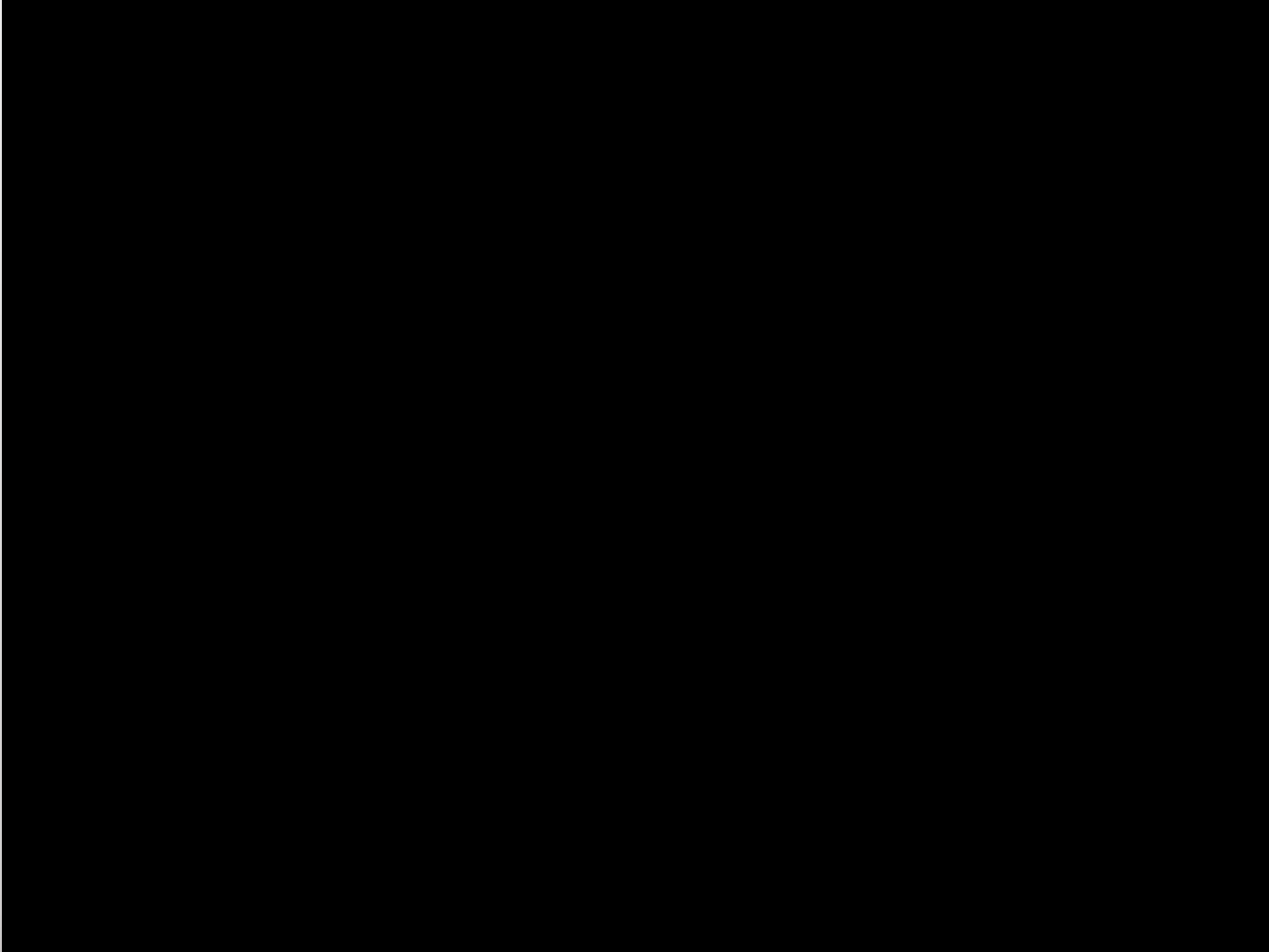
Το ABa προέρχεται από τη διαίρεση του AB και είναι το κύτταρο που βρίσκεται πλησιέστερα στο εμπρόσθιο άκρο του εμβρύου.



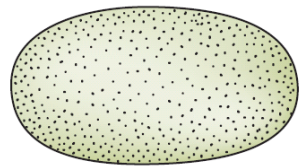
Κυτταρική γενεαλογία (cell lineage) σε πρώιμα στάδια της ανάπτυξης του *C. elegans*



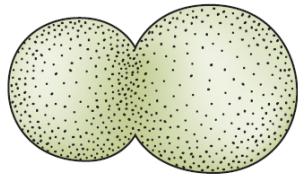
Η αυλάκωση στον *C. elegans*



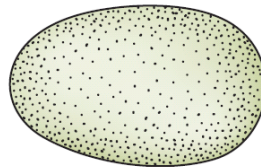
Η μεταγραφή των ζυγωτικών γονιδίων ξεκινά στο στάδιο των τεσσάρων κυττάρων όμως γονίδια μητρικής επίδρασης (περίπου 100) ελέγχουν την ανάπτυξη μέχρι την έναρξη της γαστριδίωσης (28 κύτταρα)



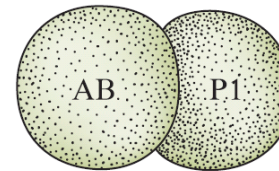
Προπυρήνες



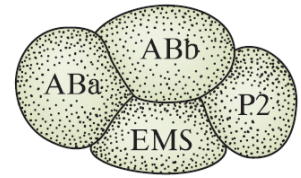
Ψευδοανόλωση



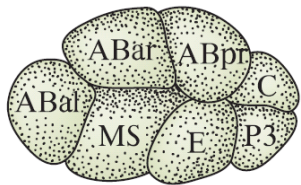
Ζυγωτό



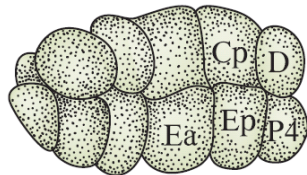
2 κύτταρα



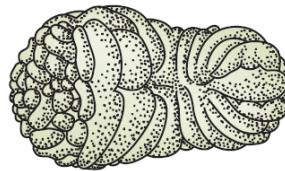
4 κύτταρα



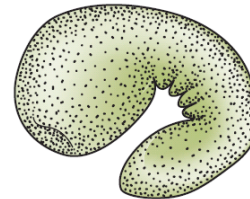
8 κύτταρα



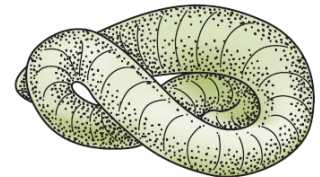
Πρώιμο γαστρίδιο



Comma



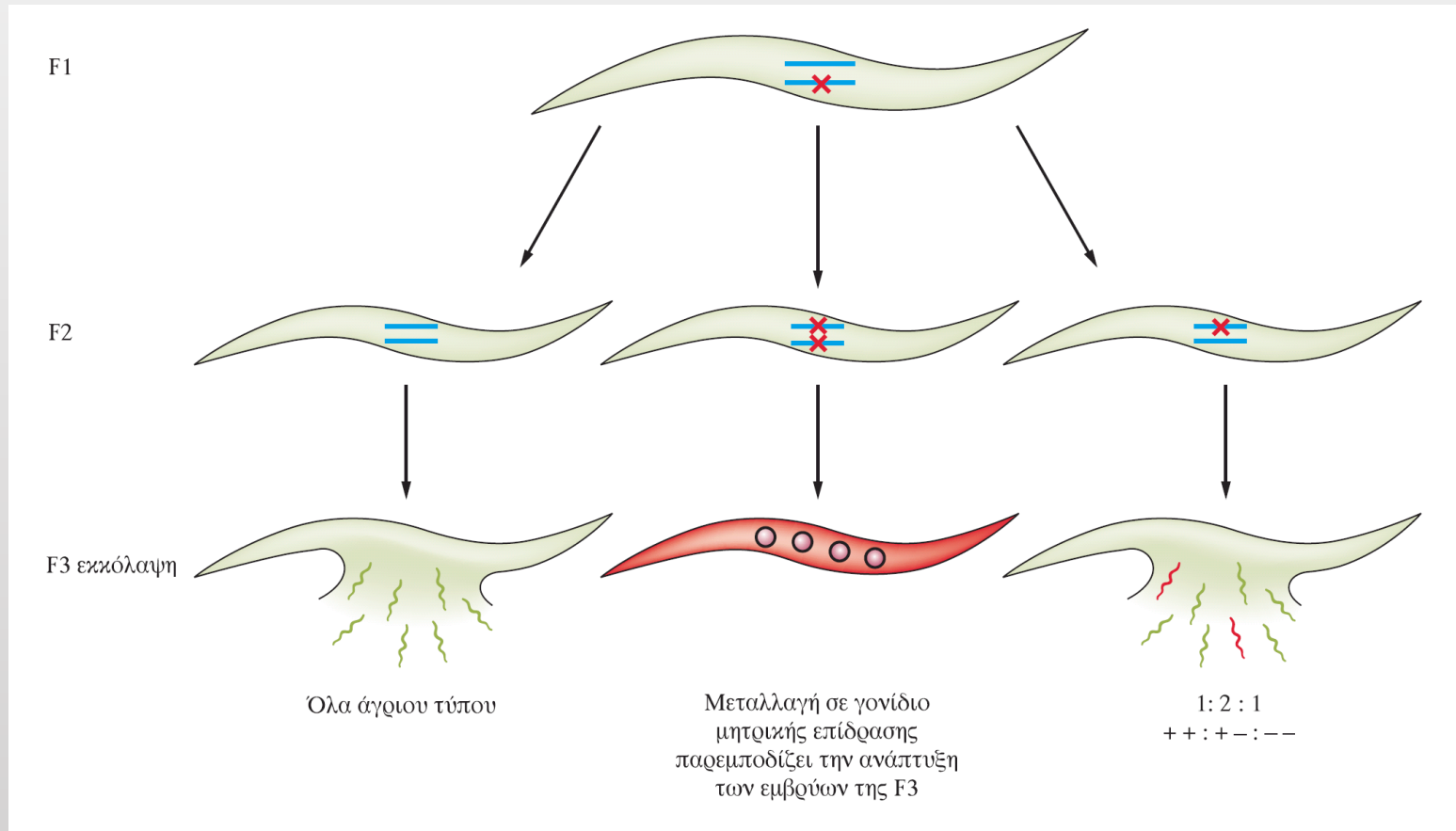
Πρώιμη επιμήκυνση



Ώριμη επιμήκυνση

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

Σάρωση μεταλλαξιγένεσης για την ανεύρεση μεταλλαγών σε γονίδια μητρικής επίδρασης



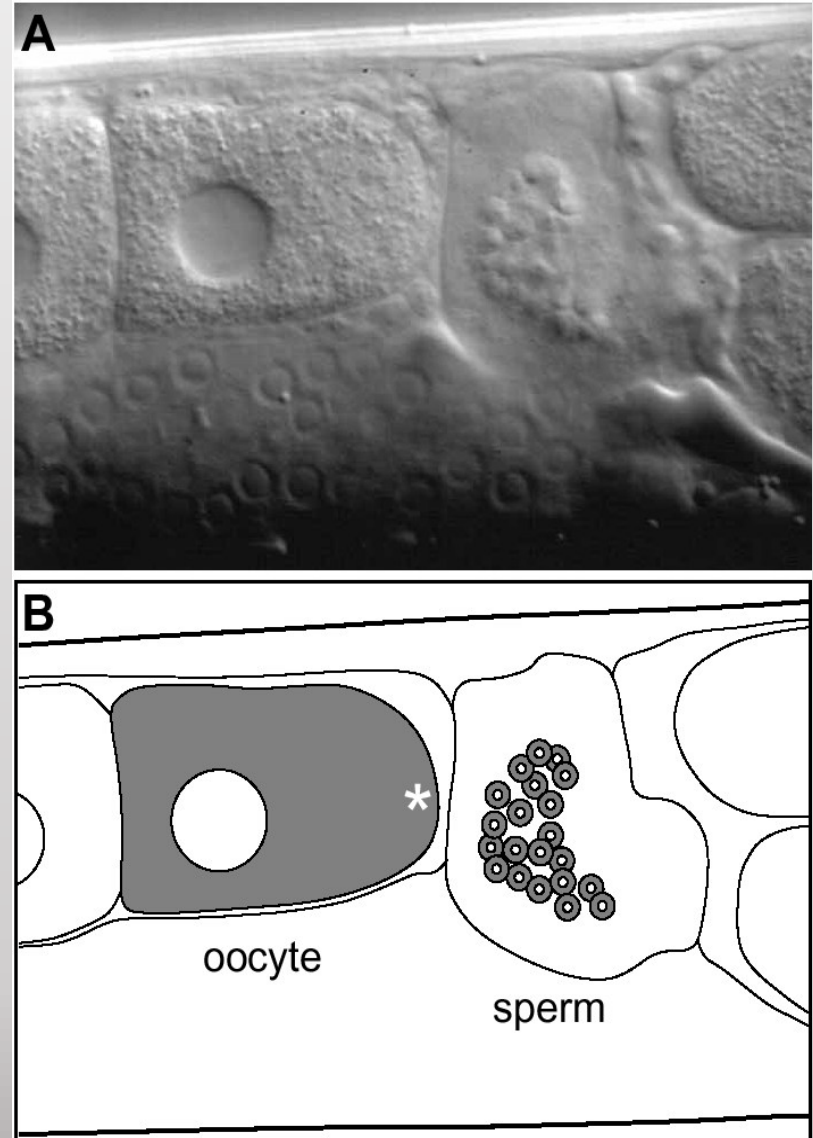
- Πειράματα σε ερμαφρόδιτα που δεν διαθέτουν γεννητικό πόρο και επομένως δεν είναι σε θέση να γεννήσουν αυγά. Προκειμένου να απελευθερωθούν οι προνύμφες κατατρώνουν το σώμα του γονέα.
- Τα άτομα της F2 τα οποία φέρουν έμβρυα των οποίων η ανάπτυξη έχει σταματήσει λόγω μεταλλαγής σε γονίδιο μητρικής επίδρασης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

Ο σχηματισμός του εμπροσθοπίσθιου άξονα στον *C. elegans*

Ο σχηματισμός του εμπροσθοπίσθιου άξονα στον *C. elegans*

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

Όμως το ωάριο παίζει κι αυτό ρόλο...



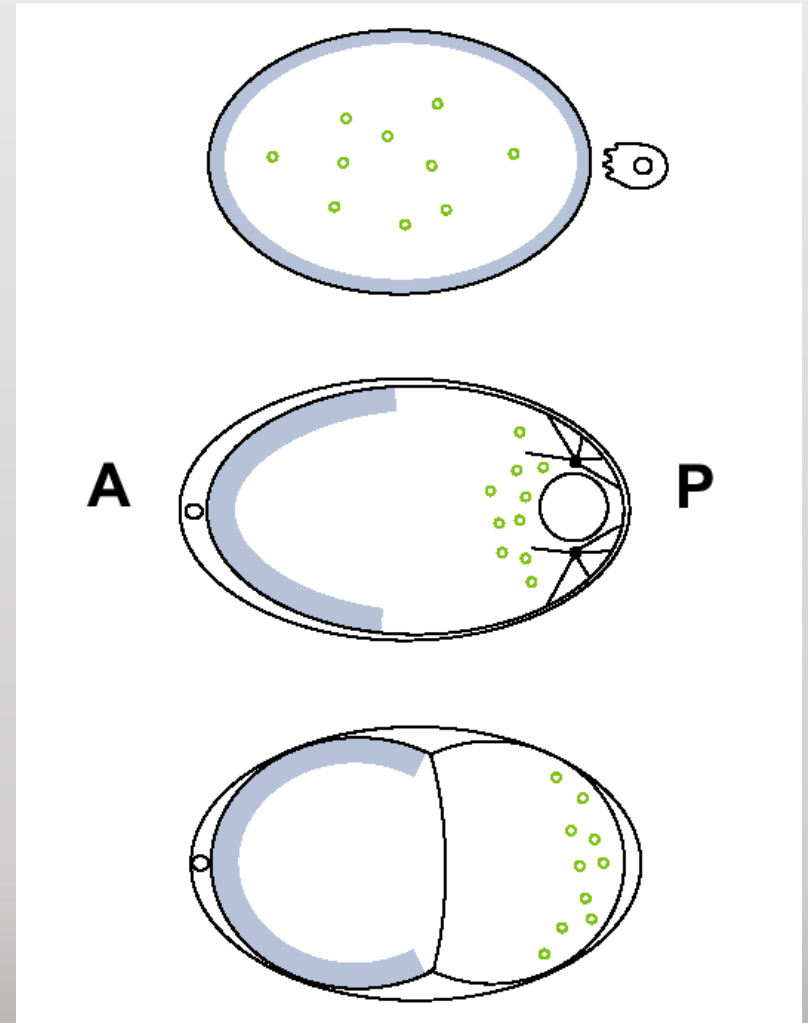
Πρώτη αυλακωτική διαίρεση

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

- Περιφερειακό κυτταρόπλασμα - ΕΠ
- Κεντρικό κυτταρόπλασμα- ΟΠ

Συμμετέχουν:

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

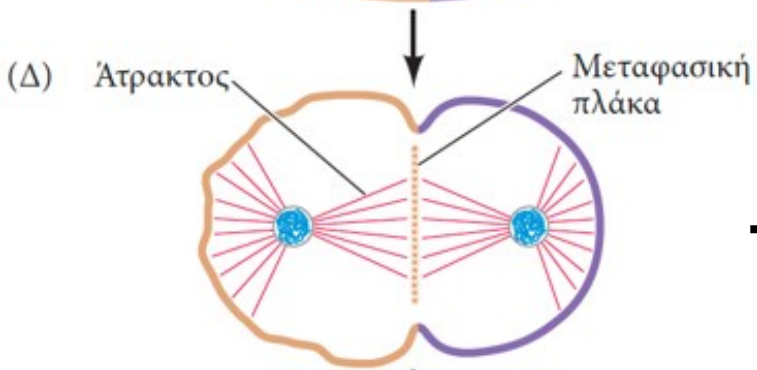
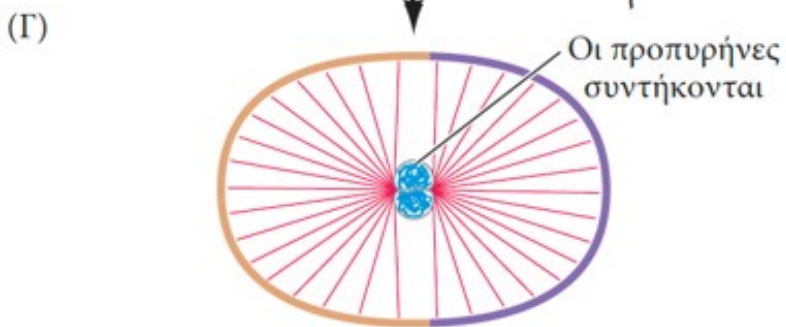
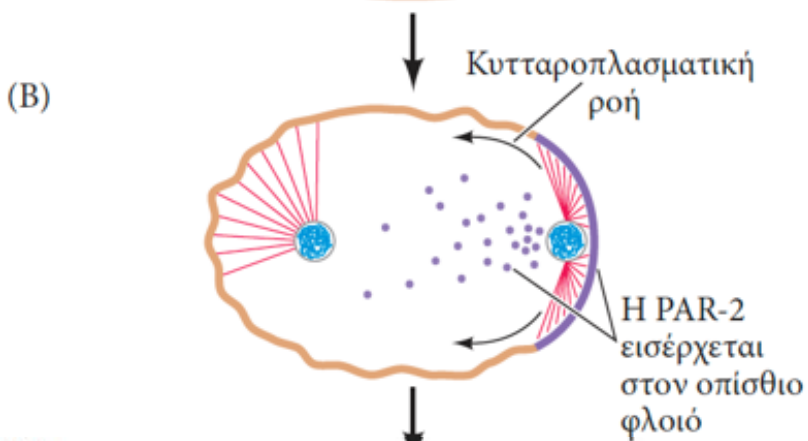
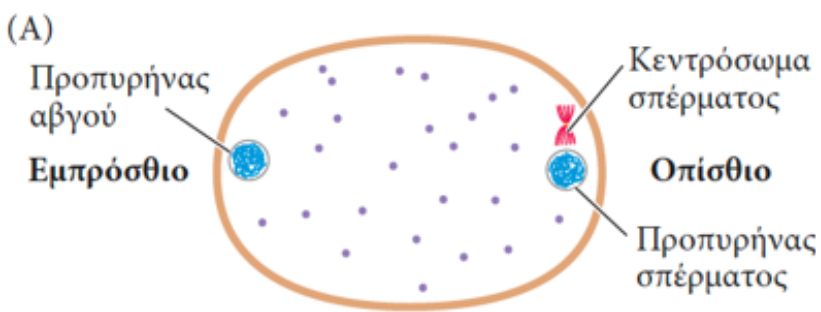


Οι πρωτεΐνες PAR

- **PAR-1:** κυτταροσκελετική MARK κινάση σερίνης-θρεονίνης
 - **PAR-2:** περιέχει δακτυλίους RING επικράτεια πρόσδεσης ATP
 - **PAR-3:** περιέχει επικράτεια PDZ, ομόλογη με πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με PKC (κινάση), - αλληλεπιδρά με PAR-6
 - **PAR-6:** περιέχει επικράτεια PDZ - αλληλεπιδρά με PAR-3
 - PAR-4: ? Ομόλογη με ανθρώπινη πρωτεΐνη
 - PAR-5: πρωτεΐνη 14-4-3
- ΟΠΙΣΘΙΑ
- ΕΜΠΡΟΣΘΙΑ

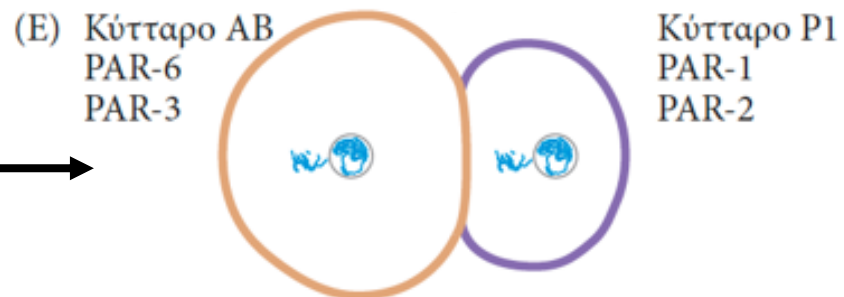
Δεν είναι απολύτως σαφής ο τρόπος με τον οποίο τα γονίδια *par* ρυθμίζουν τα επίπεδα αυλάκωσης ή την κατανομή διαφόρων μορίων στο έμβρυο.

Αλληλεπιδράσεις με τον κυτταροσκελετό (μικροσωληνίσκοι)



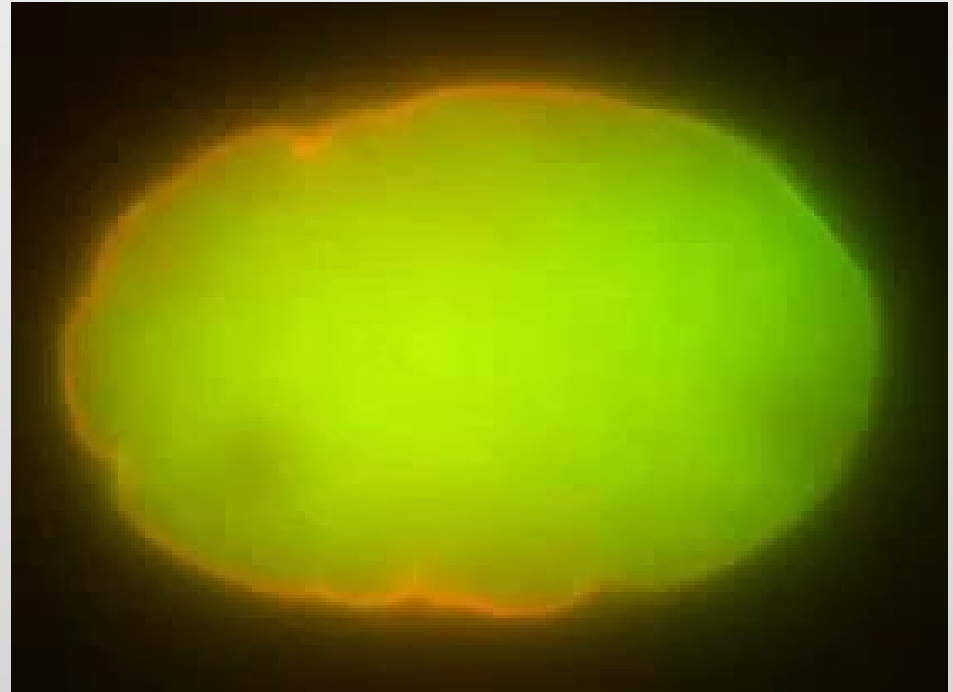
1^η διαίρεση αυλακωτική διαίρεση και Πρωτεΐνες PAR

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



Οι πρωτεΐνες PAR

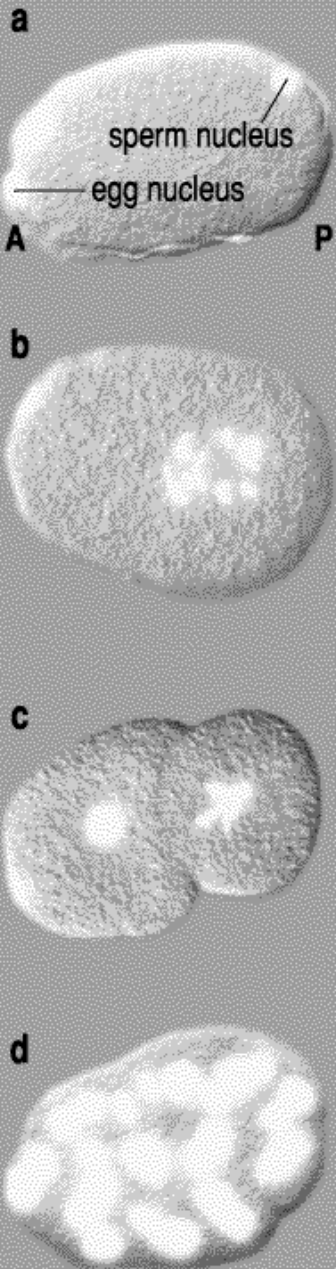
- Κατανέμονται ομοιόμορφα πριν από την γονιμοποίηση.
- Μετά την είσοδο του σπερματοζωαρίου κατανέμονται ασύμμετρα στο περιφερικό κυτταρόπλασμα (φλοιός).
- Για την κατανομή τους απαιτούνται μικροσωληνίσκοι.
- Τα γονίδια PAR συνεργάζονται για τον ορθό σχηματισμό των μιτωτικών ατράκτων και για το διαχωρισμό και την κατανομή διαφόρων παραγόντων.



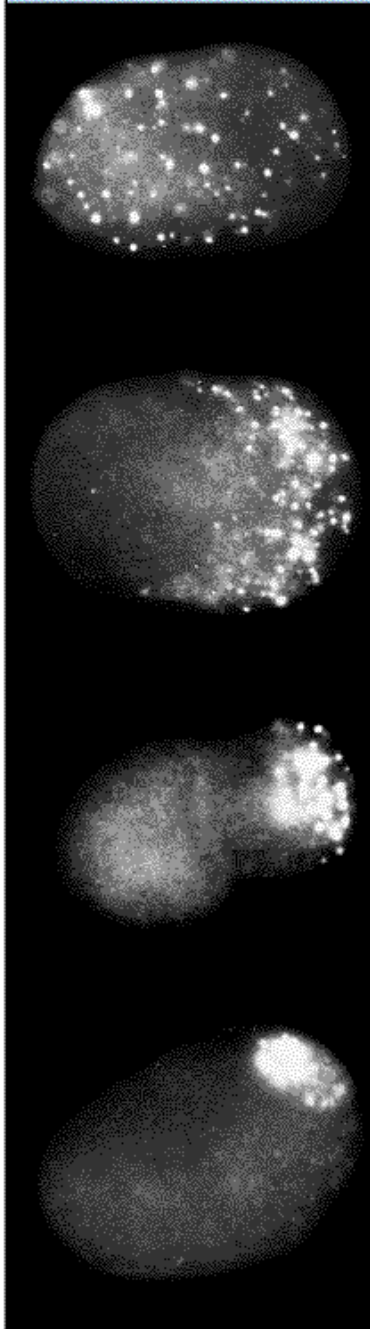
PAR-2 GFP

PAR-6 mcherry

Chromosomes



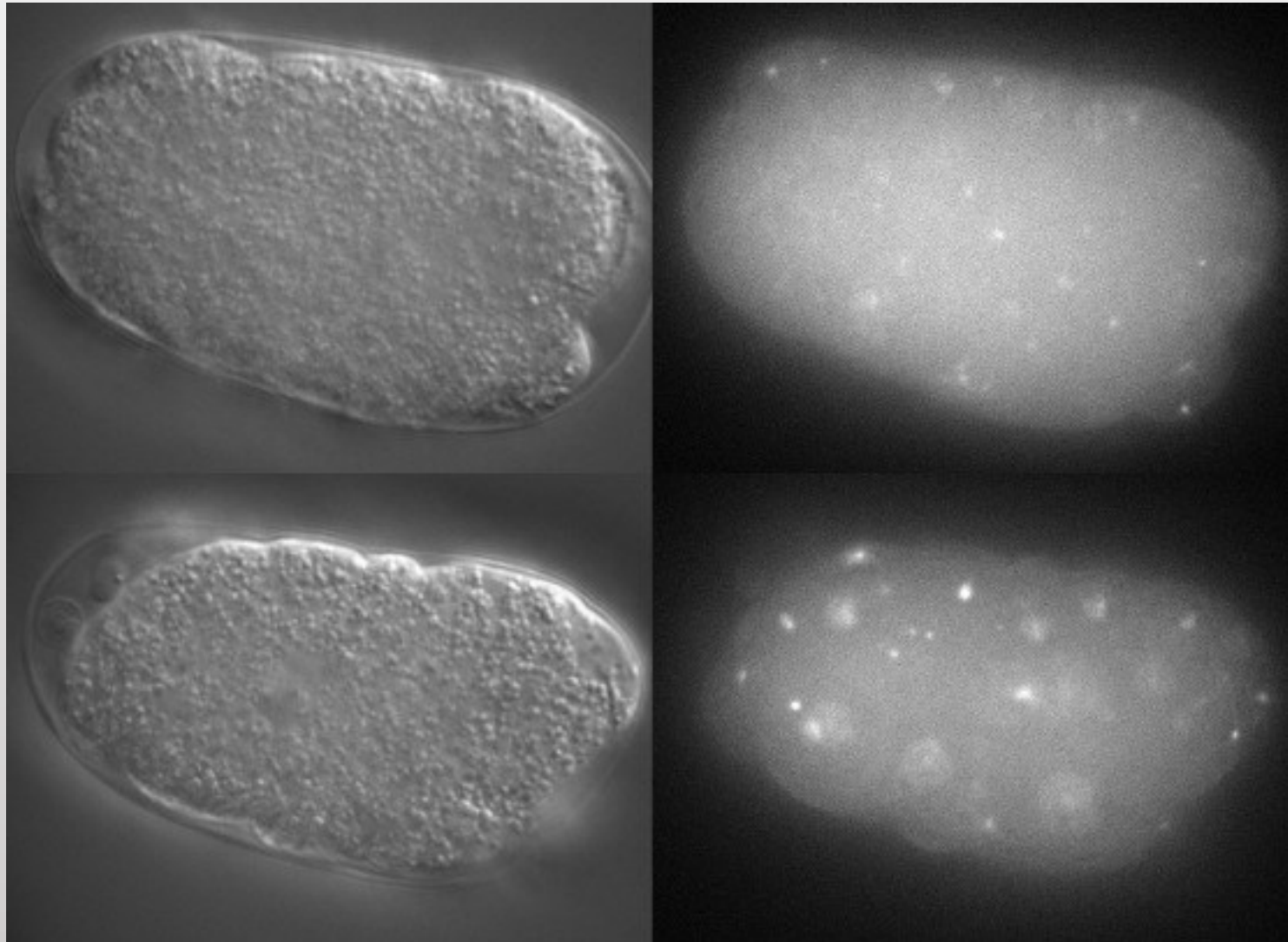
P granules



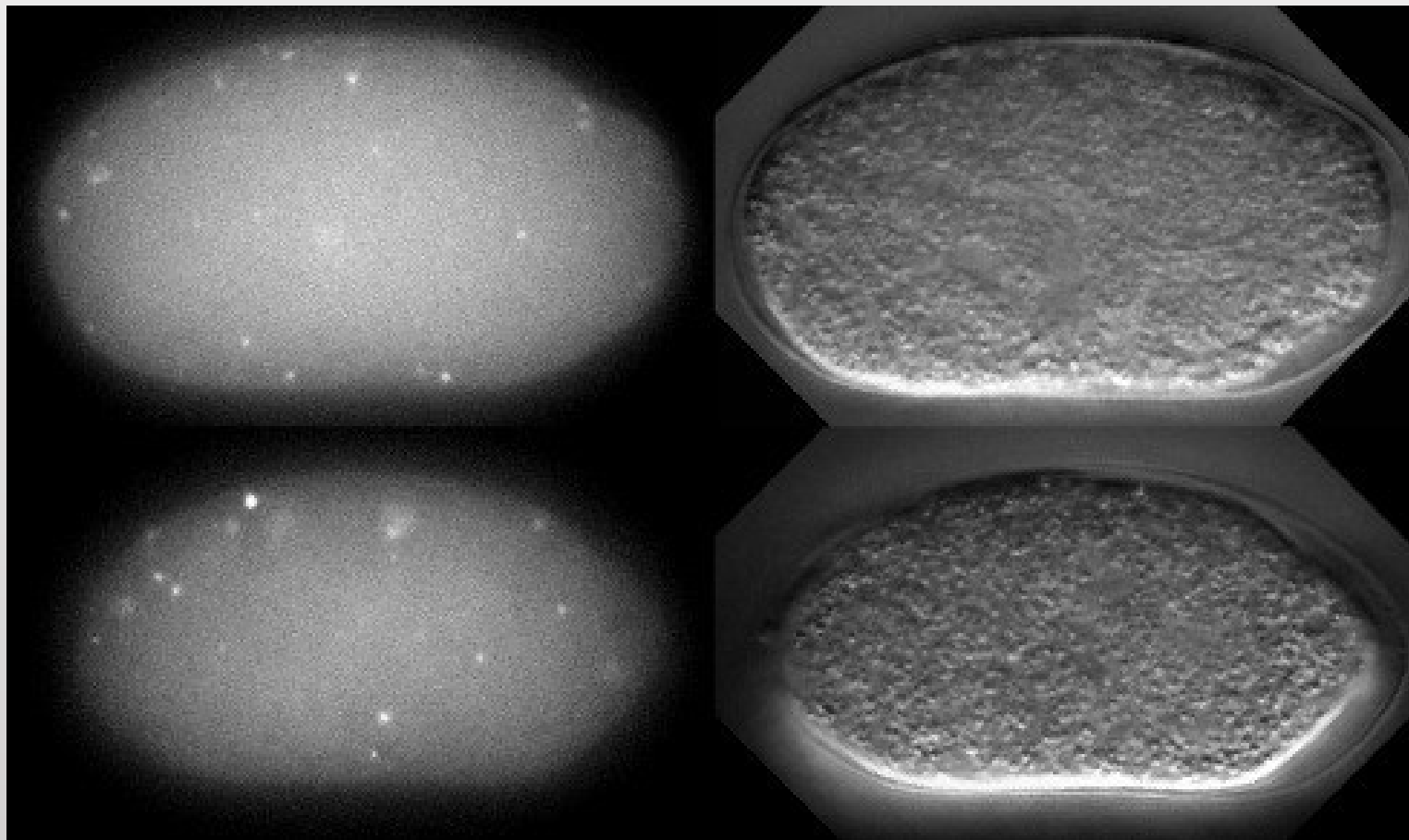
Τα κοκκία P

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

Τα κοκκία Ρ



Τα γονίδια *par* και τα κοκκία *P*



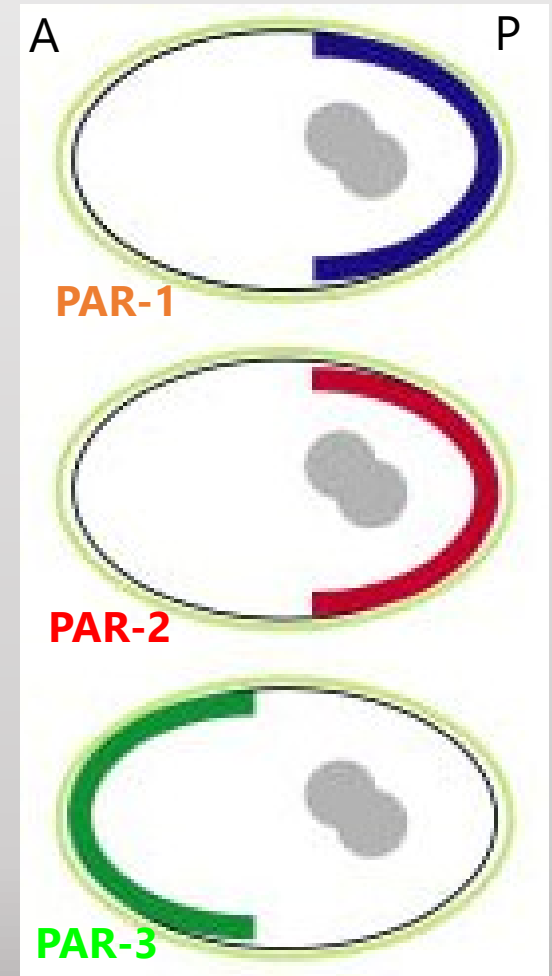
Η κατανομή των κοκκίων *P* απουσία *PAR2* και *PAR5*

Τα μεταλλάγματα *par* (partitioning defective mutants)

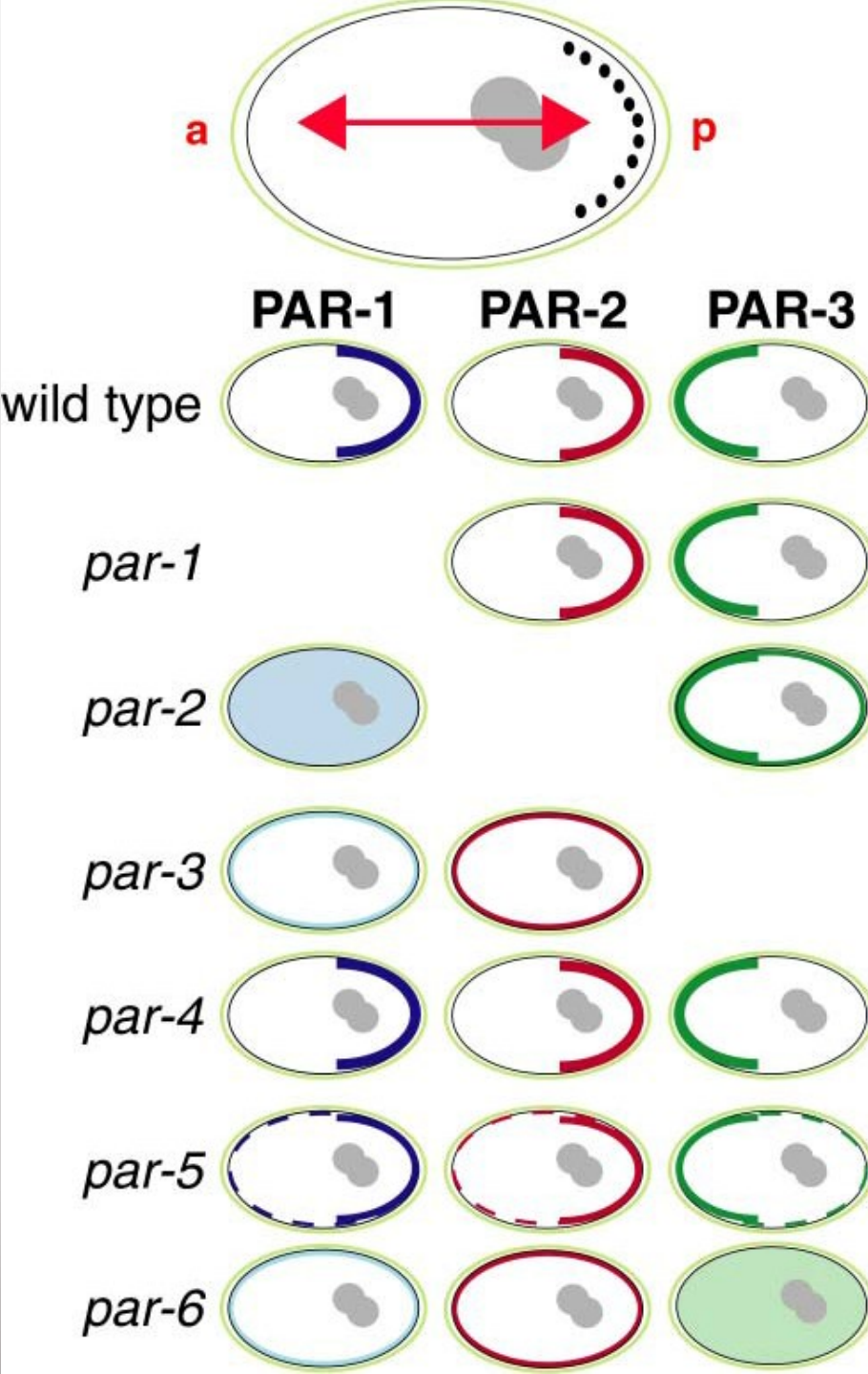
- Επηρεάζουν την κατανομή των κοκκίων P ή άλλων καθοριστών
- Αλλαγές στα επίπεδα αυλάκωσης
- Αλλαγή στο πρότυπο έκφρασης άλλων γονιδίων
- **Το έμβryo που προκύπτει χαρακτηρίζεται από συμμετρικές διαιρέσεις και απουσία διαφοροποίησης.**

Έχουν χαρακτηριστεί 6 μεταλλάξεις PAR.

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



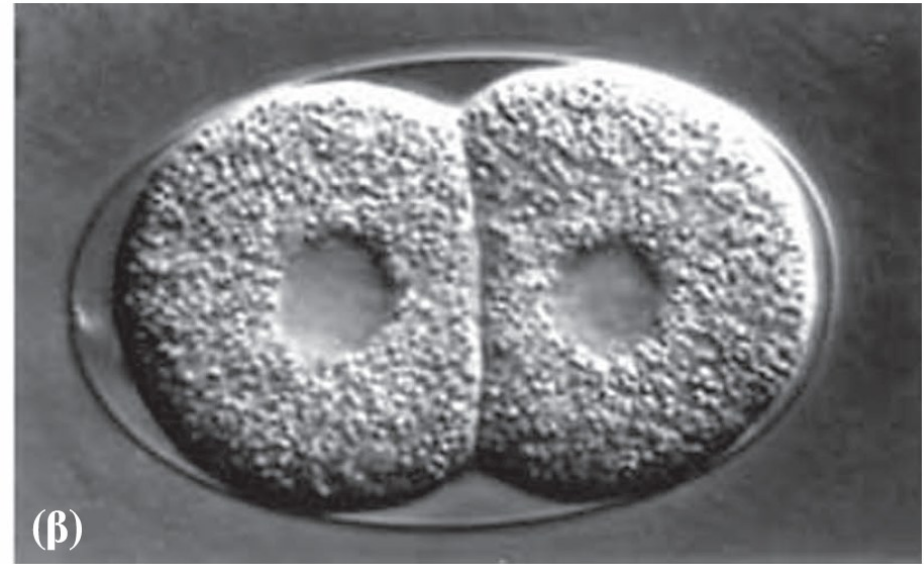
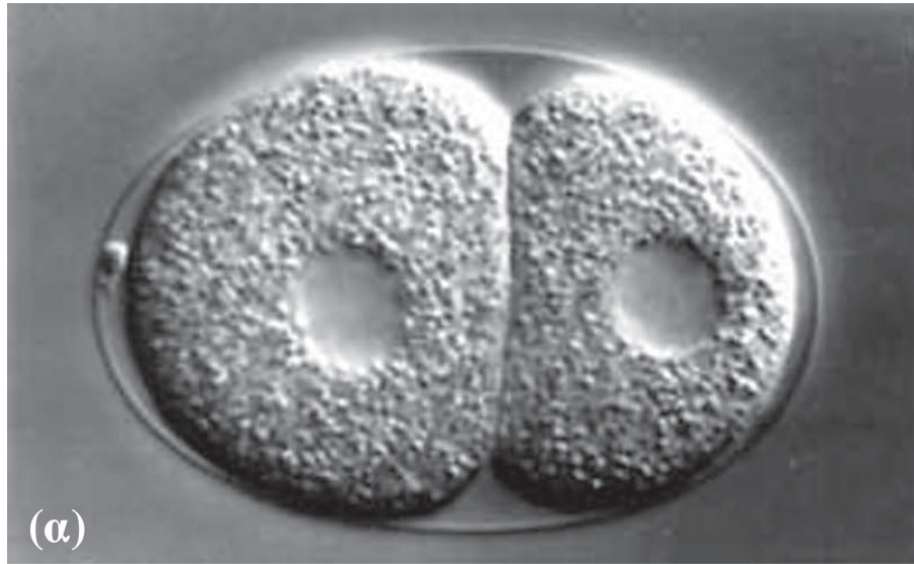
Τα μεταλλάγματα *par*



Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γονιδίων *par*.

Μεταλλάξεις του ενός επηρεάζουν την κατανομή των υπολοίπων

Ο ρόλος του γονιδίου *par-3* στην αυλάκωση



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

Πολικότητα και σχηματισμός της ατράκτου στην πρώτη αυλακωτική διαίρεση

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

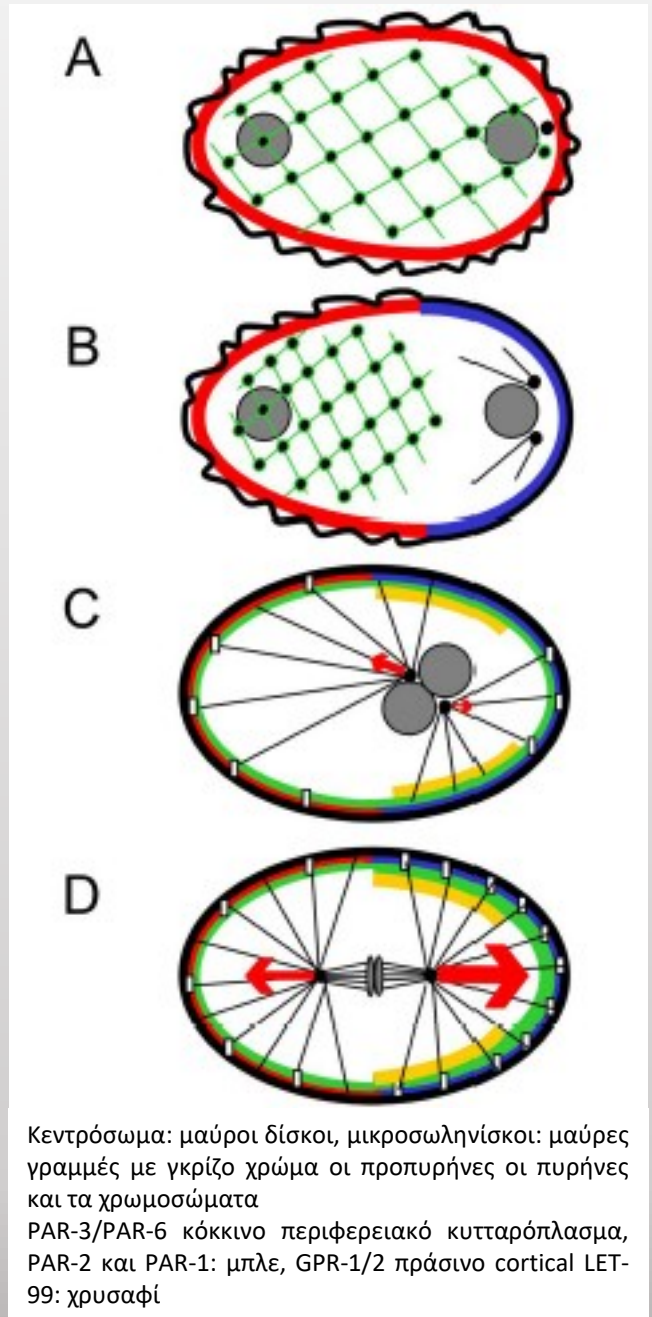
Έχειδειχθεί ότι
η μετατόπιση οφείλεται στη διαφορά των
δυνάμεων που ασκούνται στα δύο
κεντροσώματα

Απαιτούνται:

PAR-3: επηρεάζει τη σταθερότητα των MT

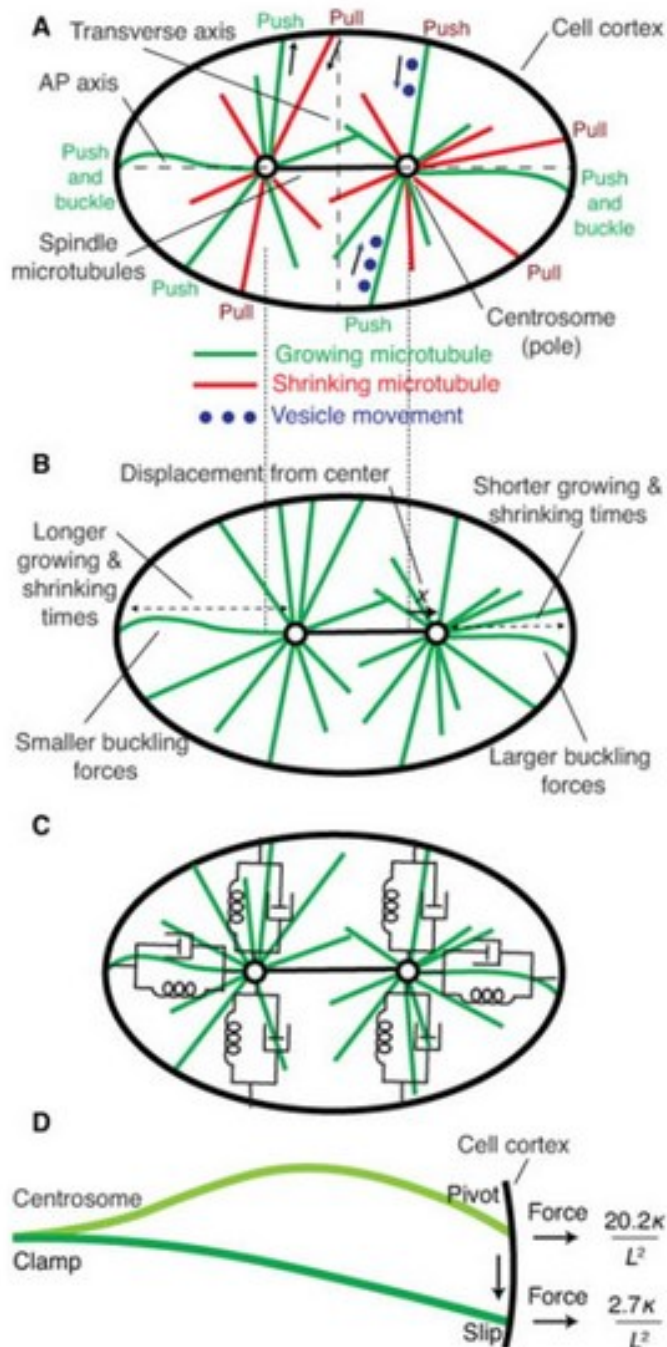
PAR-2: PAR-3 (περιορίζει την ενεργότητά
της στο εμπρόσθιο τμήμα).

par-2,3 μεταλλάγματα???



Πολικότητα και σχηματισμός της ατράκτου στην πρώτη αυλακωτική διαίρεση

Models of spindle centering

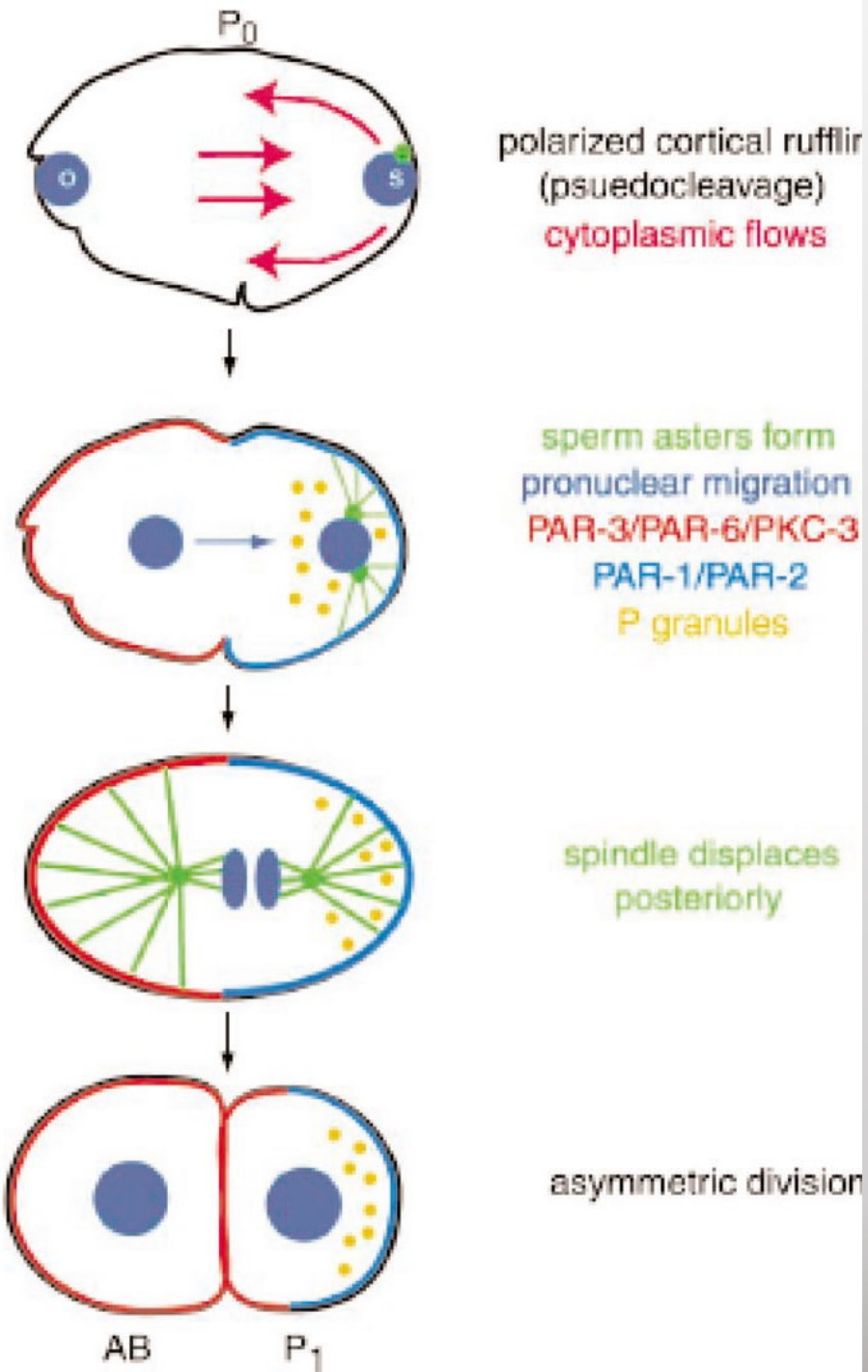


A Three force-generating mechanisms operating on astral microtubules: (i) pushing by microtubules, shown in green, growing against the cell cortex, (ii) pulling by microtubules, shown in red, shortening while maintaining contact with the cortex, and (iii) hydrodynamic force generated by movement of vesicles, shown in blue, moving towards the center of the aster. The pushing and vesicles forces are centering, meaning that they move the aster and the spindle towards the cell center. The pulling forces can be centering or anti-centering depending on the details of cell shape and cortical attachment.

B Origins of length-dependent pushing forces. Displacement of the spindle to the right leads to larger leftwards restoring force because (i) the microtubules spend less time growing and shrinking from the right-hand cortex, and (ii) the buckling forces are larger for the shorter microtubules on the right.

C Spring and dashboard model of the spindle showing the equivalent mechanical circuit for pushing microtubule arrays.

D Microtubule buckling after contact with the cortex (show cortex). Upper microtubule: clamped at the aster center and fixed at the cortex (but free to pivot). Lower microtubule: clamped at the aster center and free to slide along the cortex. If there is friction at the cortex, the microtubule will initially buckle as shown in the upper part, but then transition to the shape shown after sliding. Bioessays. 2017 Nov; 39(11): 10.1002/bies.201700122.

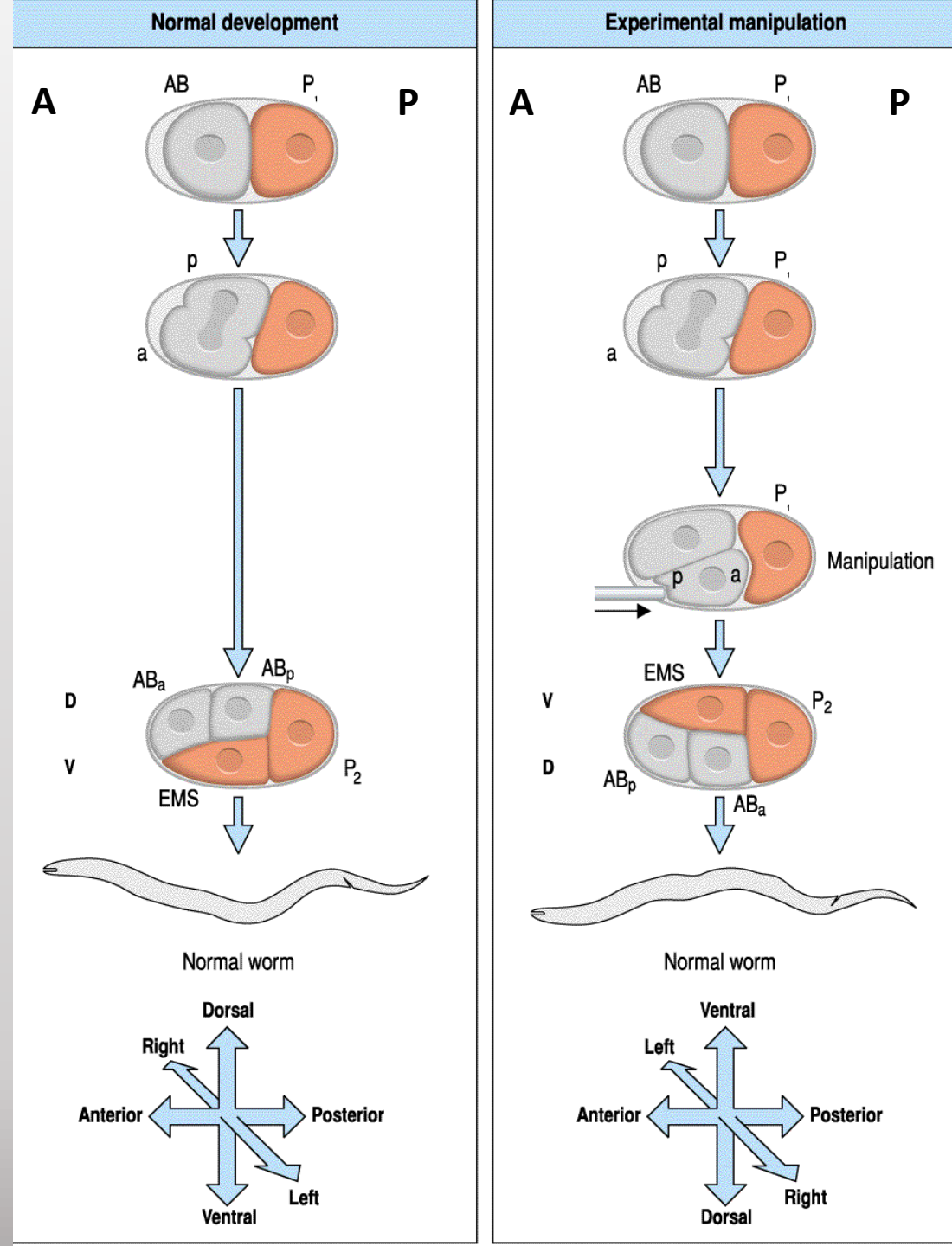


Εγκαθίδρυση Εμπροσθοπίσθιου άξονα Σύνοψη

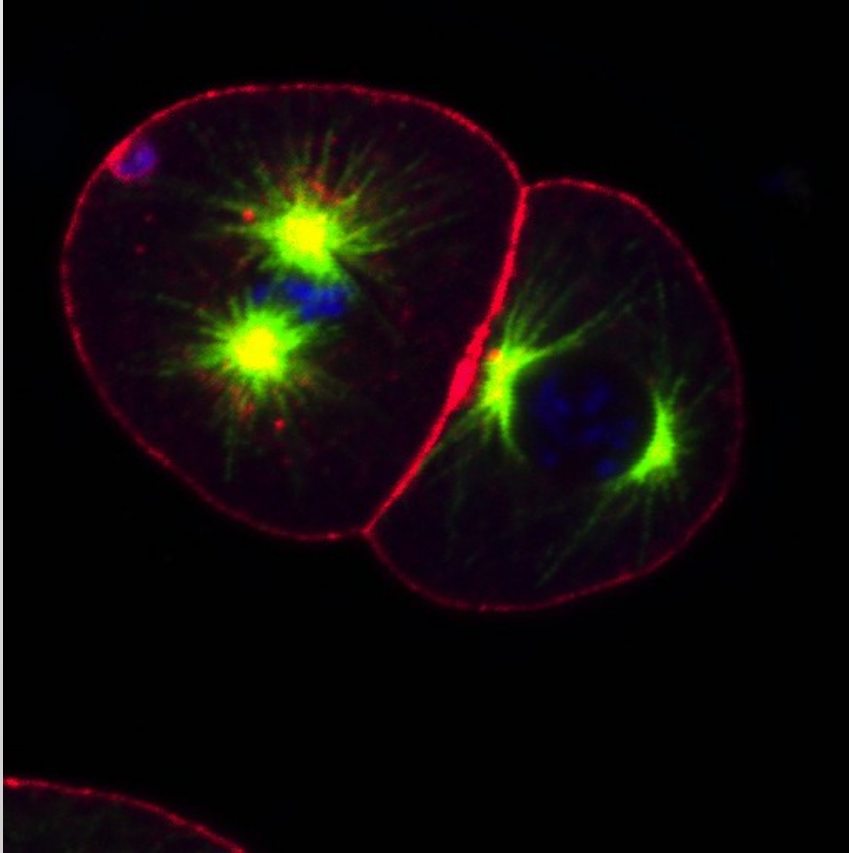
- 1) Είσοδος σπερματοζωαρίου - το κεντριόλιο του σπερματοζωαρίου οργανώνει μικροσωληνίσκους.
- 2) Δημιουργία κυτταροπλασματικών ρευμάτων – πολικότητα.
- 3) Οι **PAR-3** και **PAR-6** περιορίζονται στο εμπρόσθιο τμήμα. και οι **PAR-1** και **PAR-2** περιορίζονται στο οπίσθιο άκρο. Ασύμμετρη κατανομή των PAR (στα βλαστικά κύτταρα).
- 4) Τα κοκκία P μετακινούνται στο οπίσθιο άκρο.
- 5) Διαφορά δυνάμεων που ασκούνται στα δύο κεντροσωμάτια .

Ο σχηματισμός του ραχιοκοιλιακού άξονα

- Εγκαθιδρύεται στο στάδιο των 4-κυττάρων κατά τη διαίρεση του κυττάρου **AB**.
- Μηχανική περιστροφή του ABp αντιστρέφει τον ραχιαίο-κοιλιακό άξονα.
- **ABp**: καθορίζει τη ραχιαία πλευρά.
- **EMS**: καθορίζει την κοιλιακή πλευρά.



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



Διαχωρισμός ή καταστροφή των βλαστομεριδίων στο στάδιο των δύο κυττάρων:

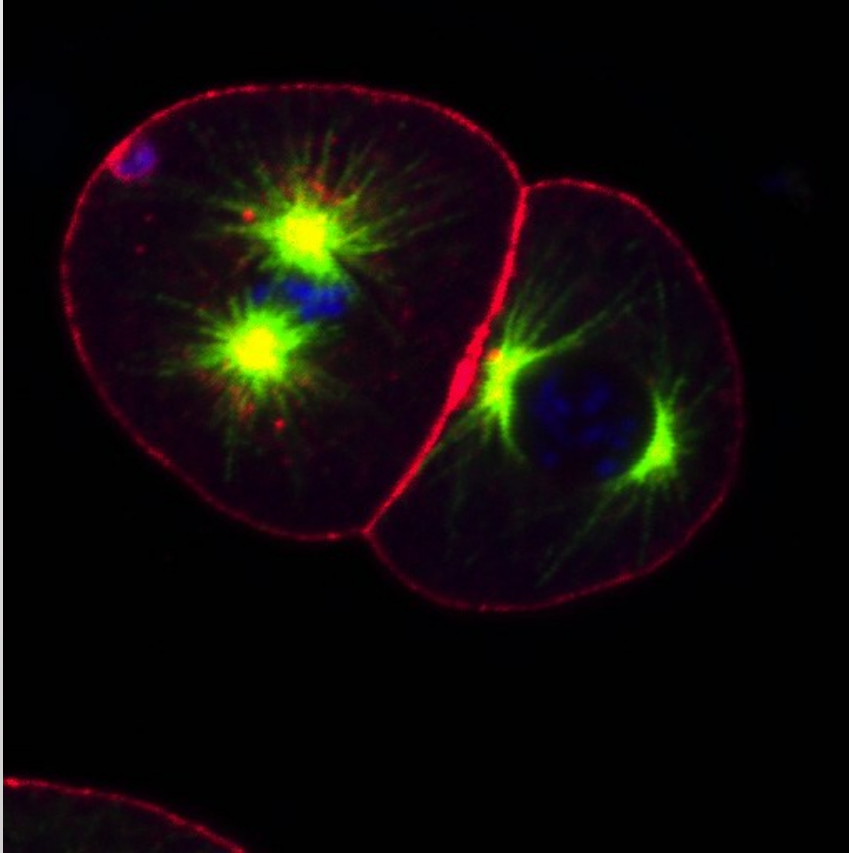
- οι απόγονοι του **P1** σχηματίζουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που θα έδιναν φυσιολογικά.
- οι απόγονοι του **AB** σχηματίζουν μόνο μερικούς από τους κυτταρικούς τύπους που θα έδινε φυσιολογικά.



P1: αυτόνομη εξειδίκευση

AB: κατά συνθήκη εξειδίκευση

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



Διαχωρισμός ή καταστροφή των βλαστομεριδίων στο στάδιο των δύο κυττάρων:

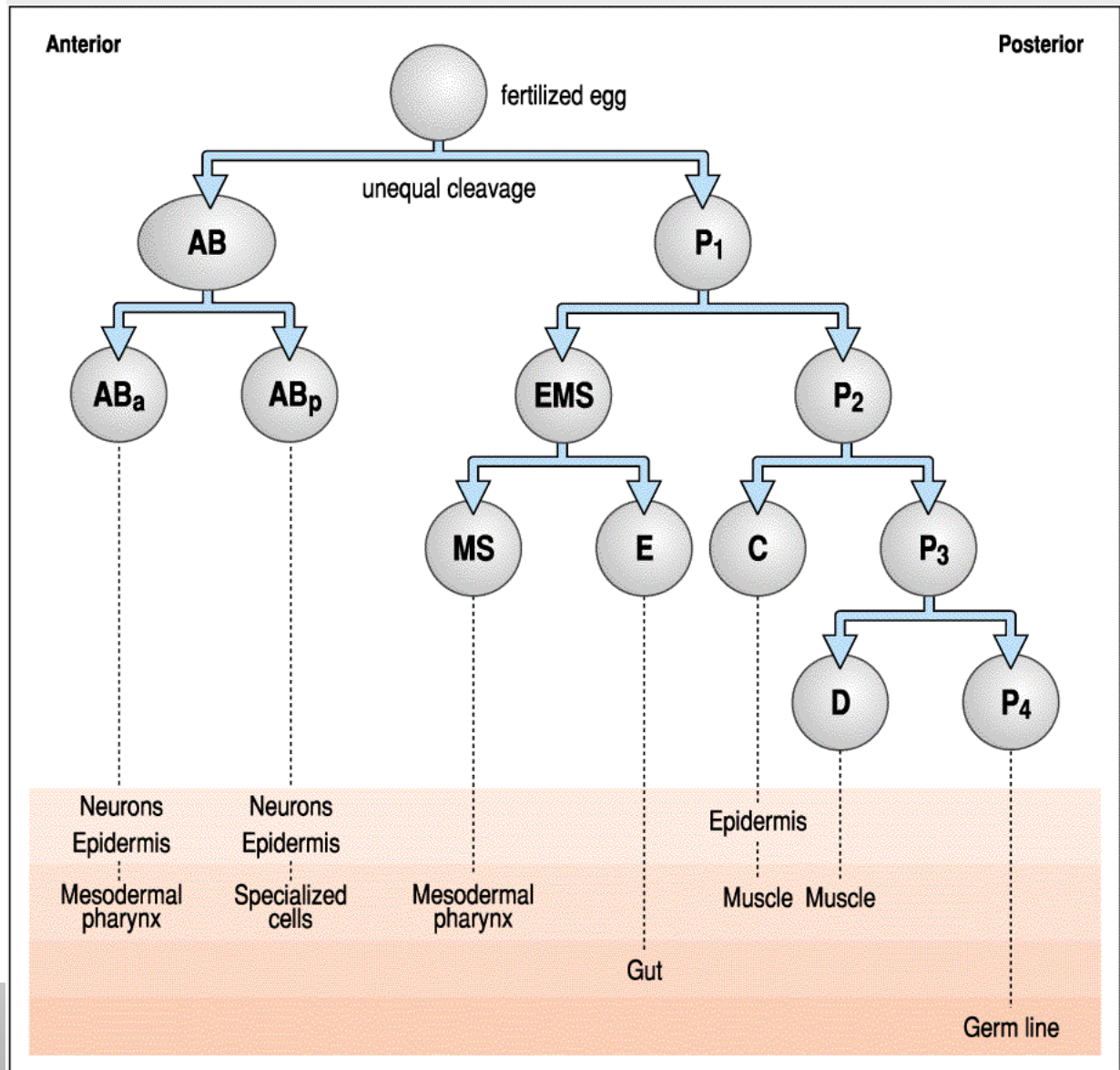
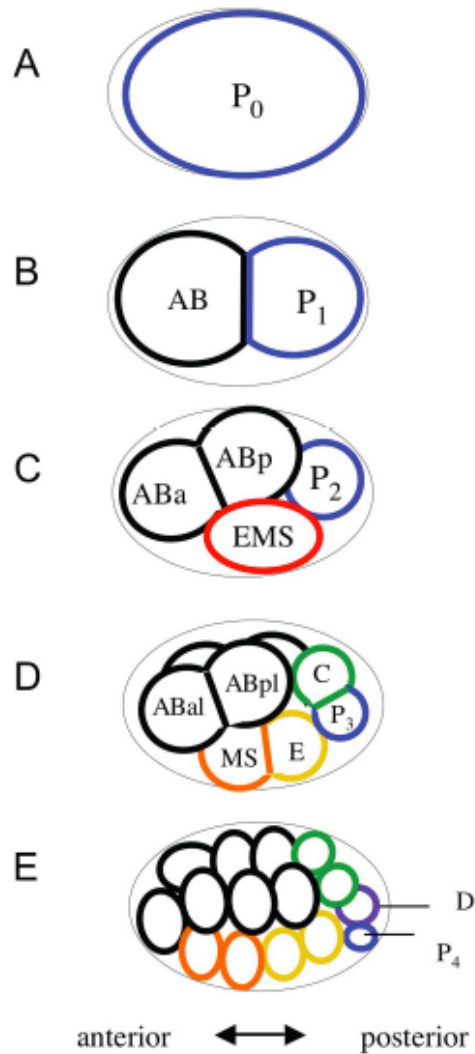
- οι απόγονοι του **P1** σχηματίζουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που θα έδιναν φυσιολογικά.
- οι απόγονοι του **AB** σχηματίζουν μόνο μερικούς από τους κυτταρικούς τύπους που θα έδινε φυσιολογικά.



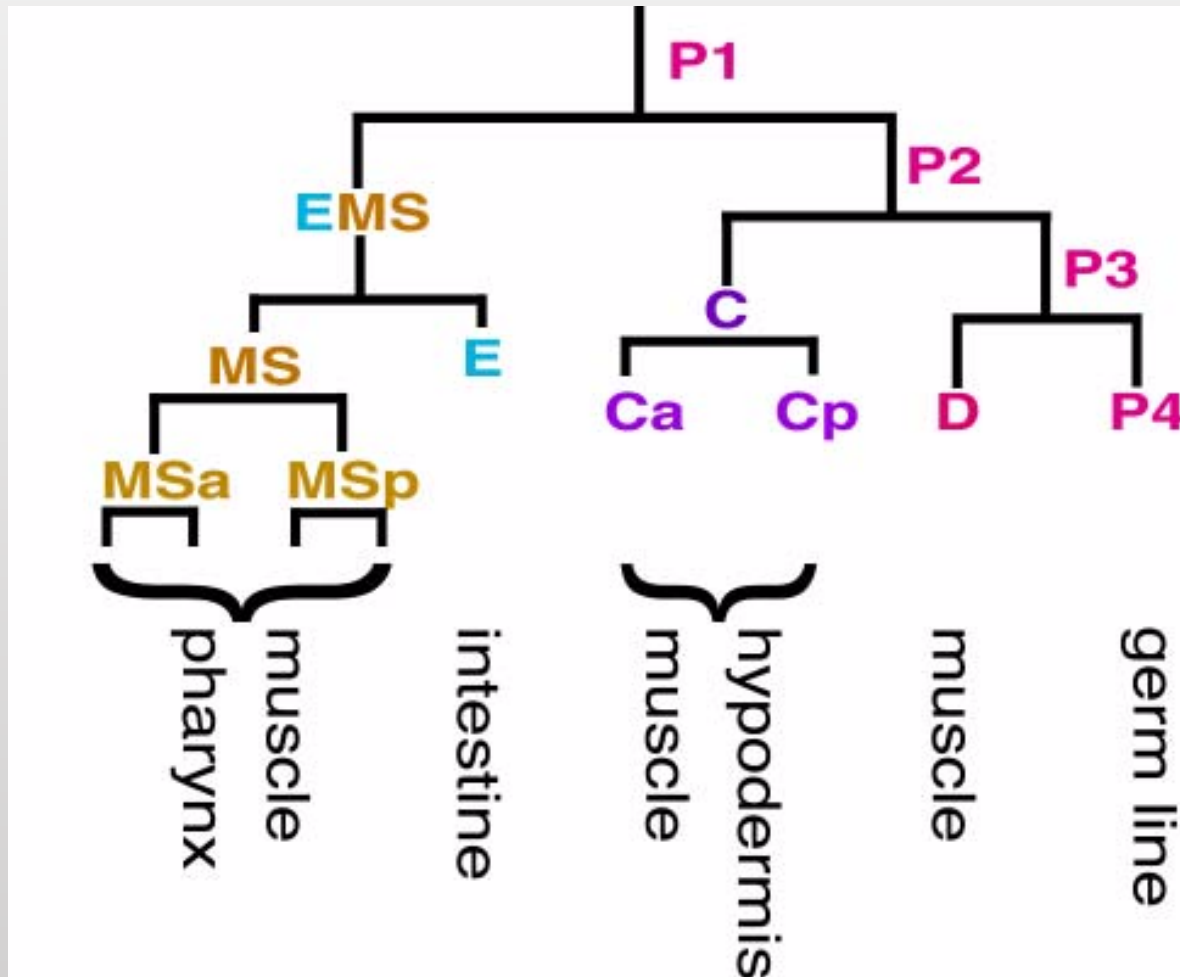
P1: αυτόνομη εξειδίκευση

AB: κατά συνθήκη εξειδίκευση

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

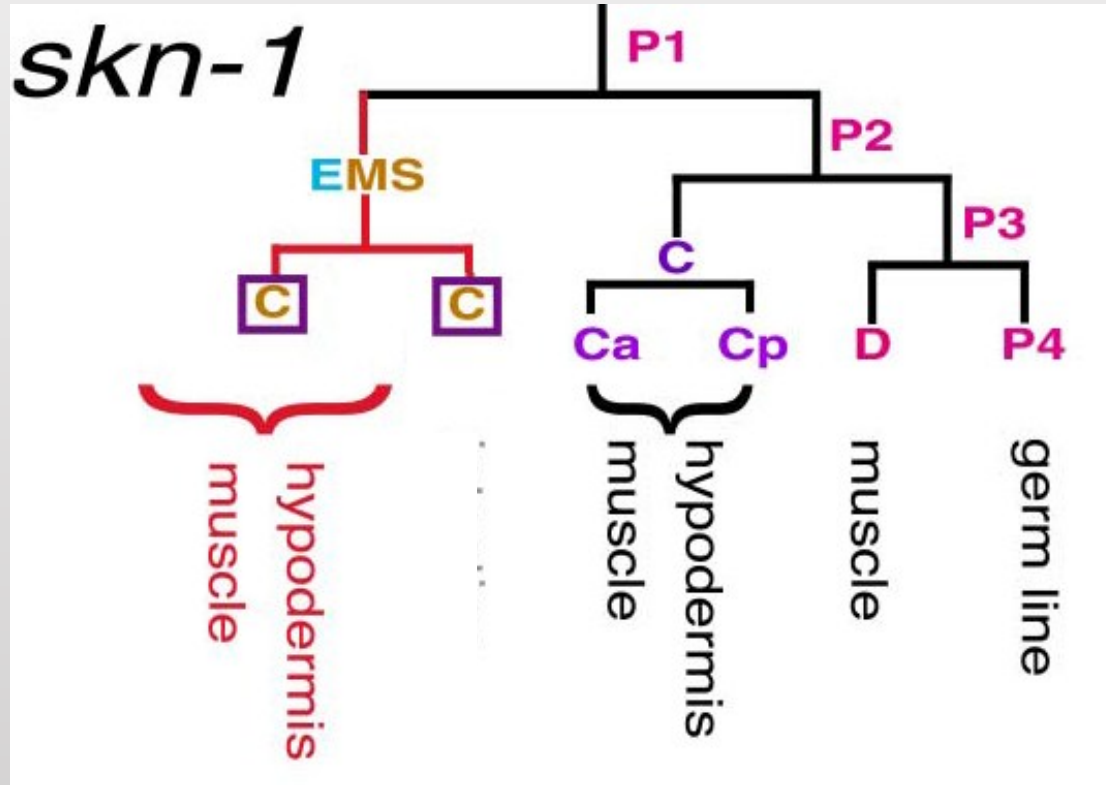


Αυτόνομη εξειδίκευση και η κυτταρική γενεαλογία του P1



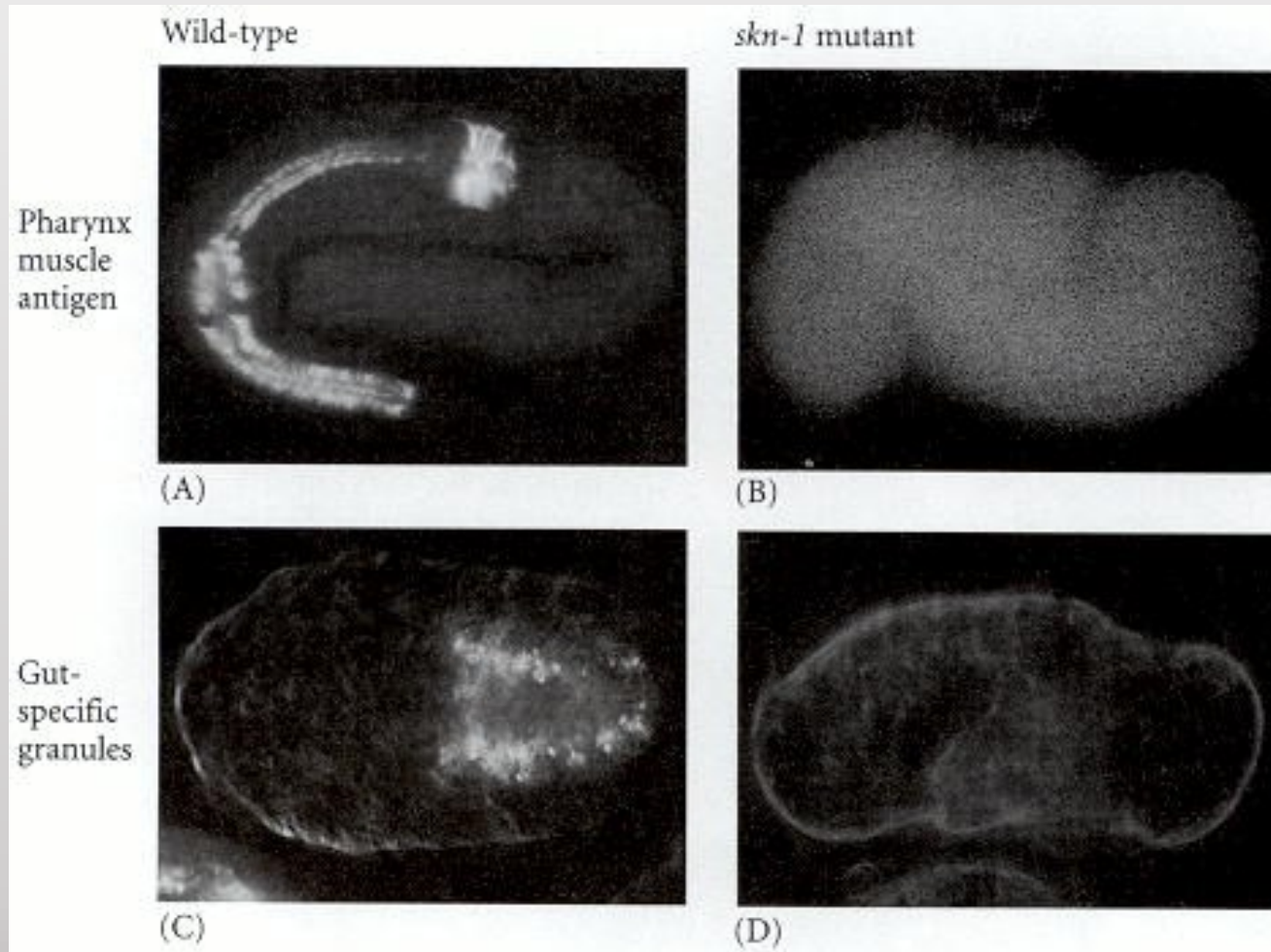
- P1, EMS και MS σε πειράματα απομόνωσης - μύες του φάρυγγα .
- SKN-1, PAL-1 και PIE-1: καθορίζουν την τύχη των ιδρυτικών MS, C, E και D (μεταγραφικοί παράγοντες).

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



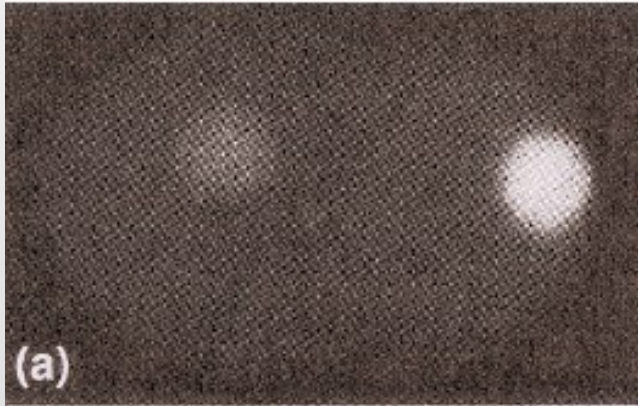
- Μητρικό mRNA, ασύμμετρη μετάφραση
- Ελέγχει την τύχη του βλαστομεριδίου EMS
- Το *skn-1* κωδικοποιεί για έναν μεταγραφικό παράγοντα της bZip/homeodomain.
- Απουσία της SKN-1: - αντί για μύες του φάρυγγα έχουμε επιδερμίδα.
- το E μετατρέπεται σε C (προβλήματα και στο έντερο) .

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



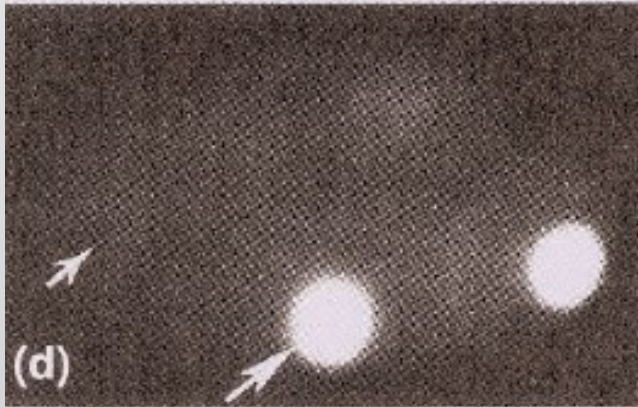
Lose it

Έμβρυα από ωάρια *skn-1* χαρακτηρίζονται από την απουσία εντέρου και φαρυγγικών μυών



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

Find it

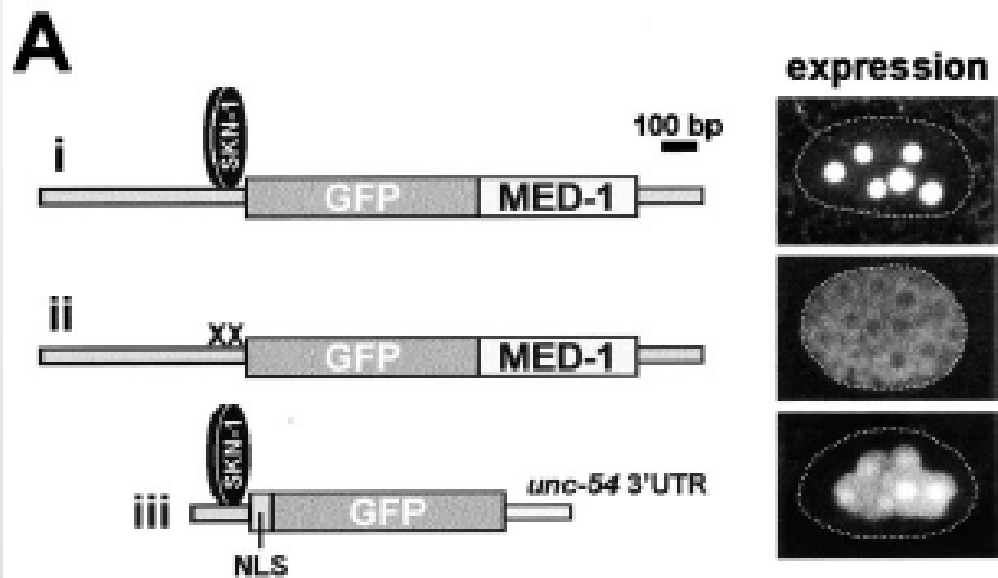


- Η έκφραση της SKN-1 εκτοπικά στο AB μεταβάλλει το πεπρωμένο του- υιοθετεί το πεπρωμένο του MS.

Move it

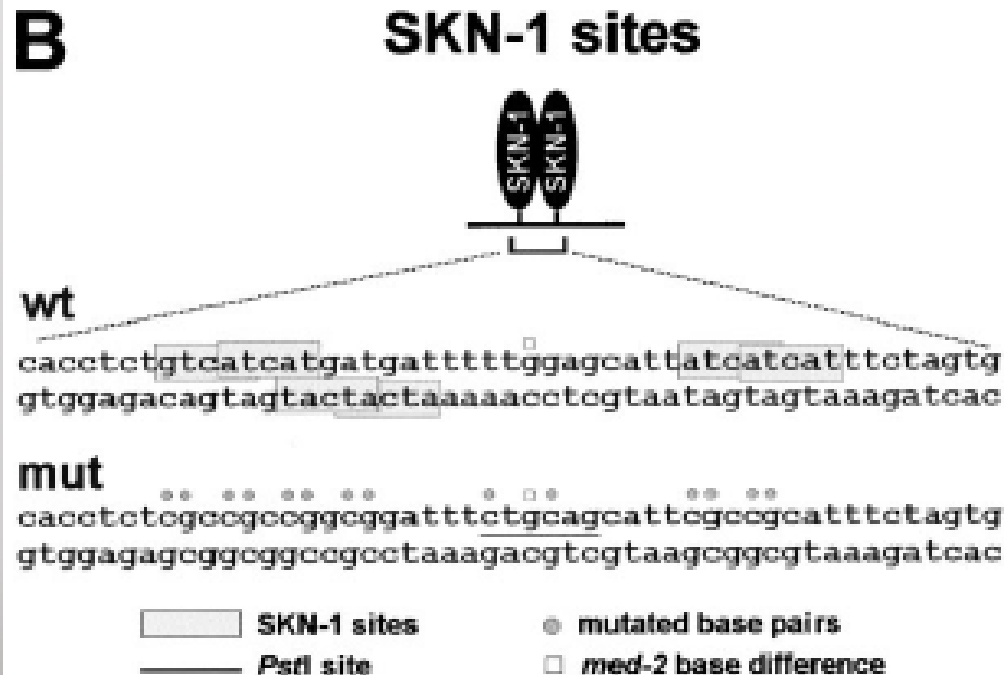


- Η SKN-1 εμπλέκεται στον καθορισμό του πεπρωμένου της γενεαλογίας του P1 (EMS).

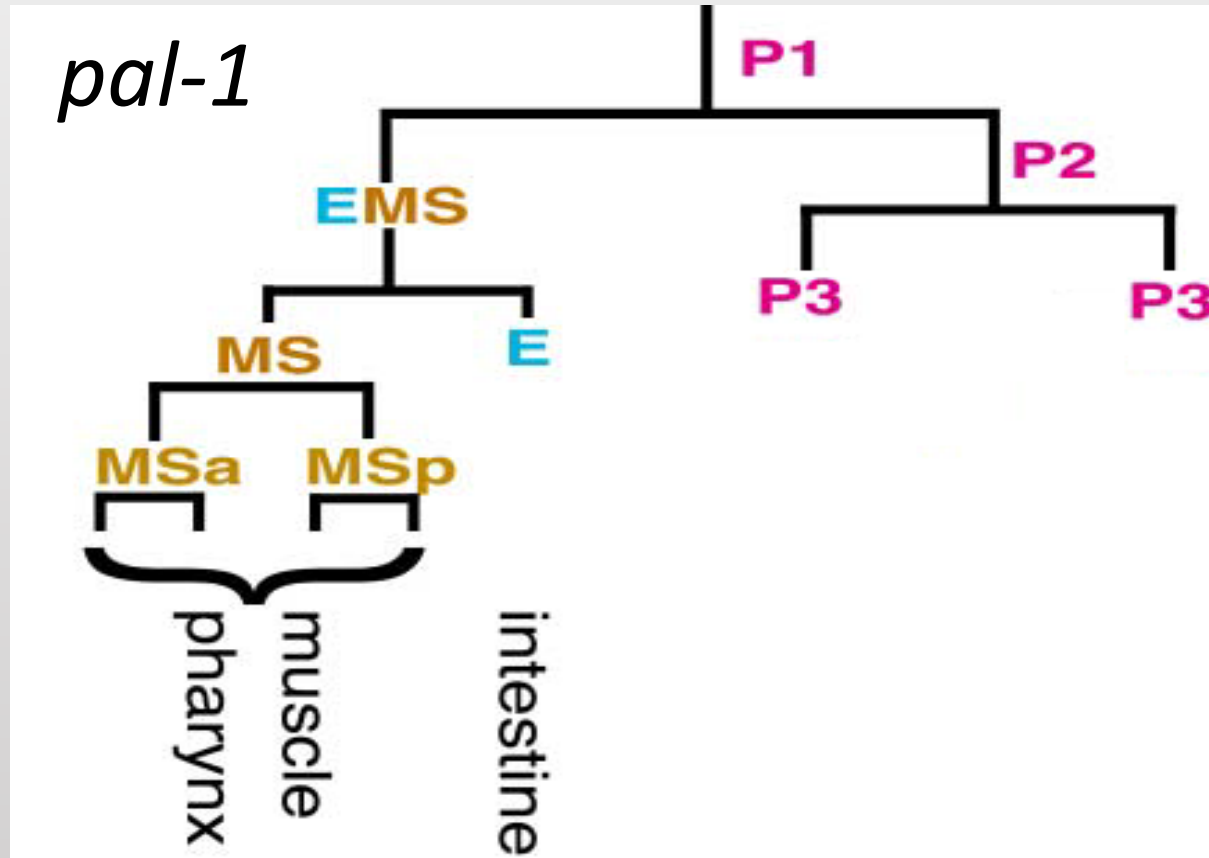


Η SKN-1 ενεργοποιεί τη μεταγραφή των *med-1* και *med-2*

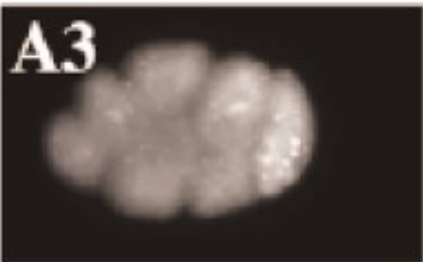
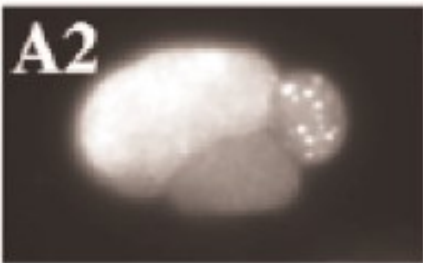
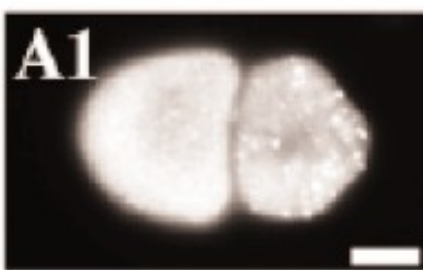
- MED-1 και MED-2 : GATA ζυγωτικοί μεταγραφικοί παράγοντες
- Η SKN-1 αναγνωρίζει ρυθμιστικά στοιχεία στον υποκινητή των MED-1 και MED-2.
- Έκτοπη έκφραση των *med* μετατρέπει μη EMS κύτταρα σε EMS απουσία της SKN-1.
- Απουσία τους – ίδιος φαινότυπος με απουσία SKN-1.



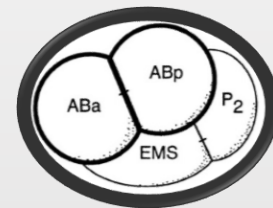
Στα έμβρυα από ωάρια από τα οποία απουσιάζει το προϊόν του *pal-1* παρατηρείται απουσία των σωματικών απογόνων του P2



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

A

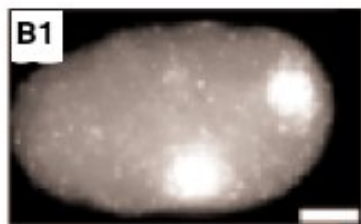
Μετάφραση μητρικών mRNA (*pal-1*)



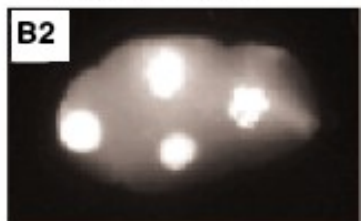
Μια σειρά από RNA-binding πρωτεΐνες ελέγχουν τη μετάφραση των μητρικών μυνημάτων.

A: έκφραση της MEX-3

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

B

uninjected

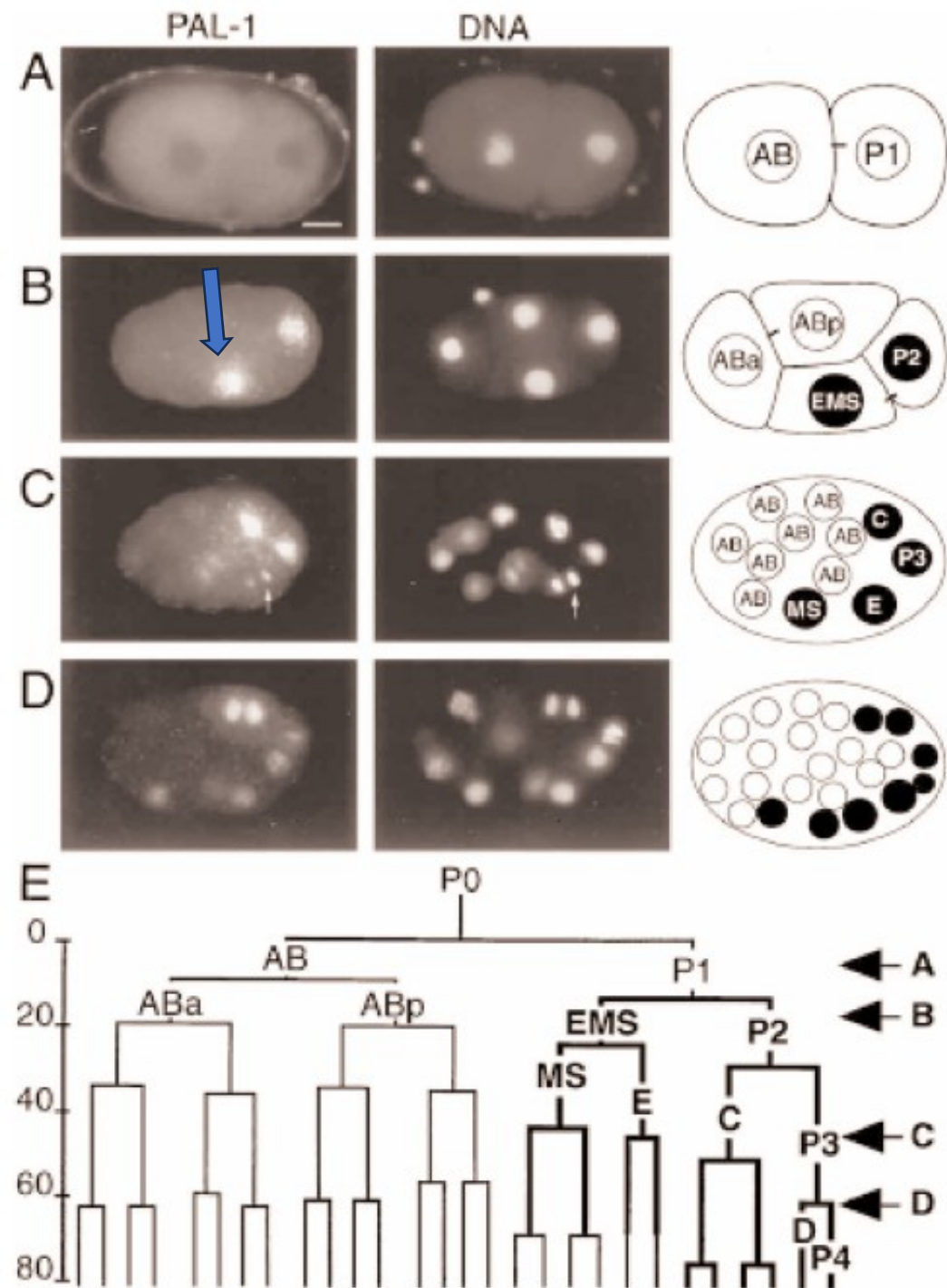


mex-3 (RNAi)

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

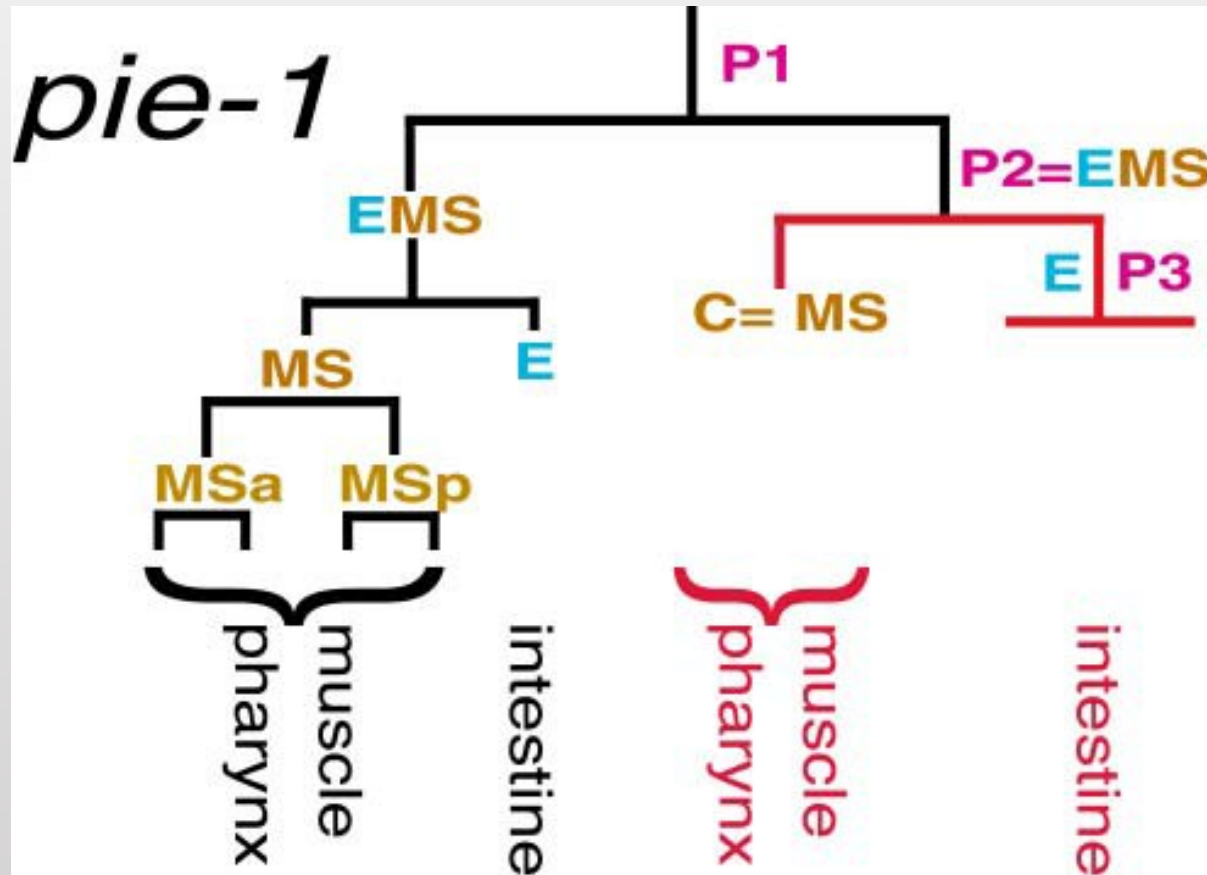
Πώς ελέγχει η MEX-3 την έκφραση της PAL-1?

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



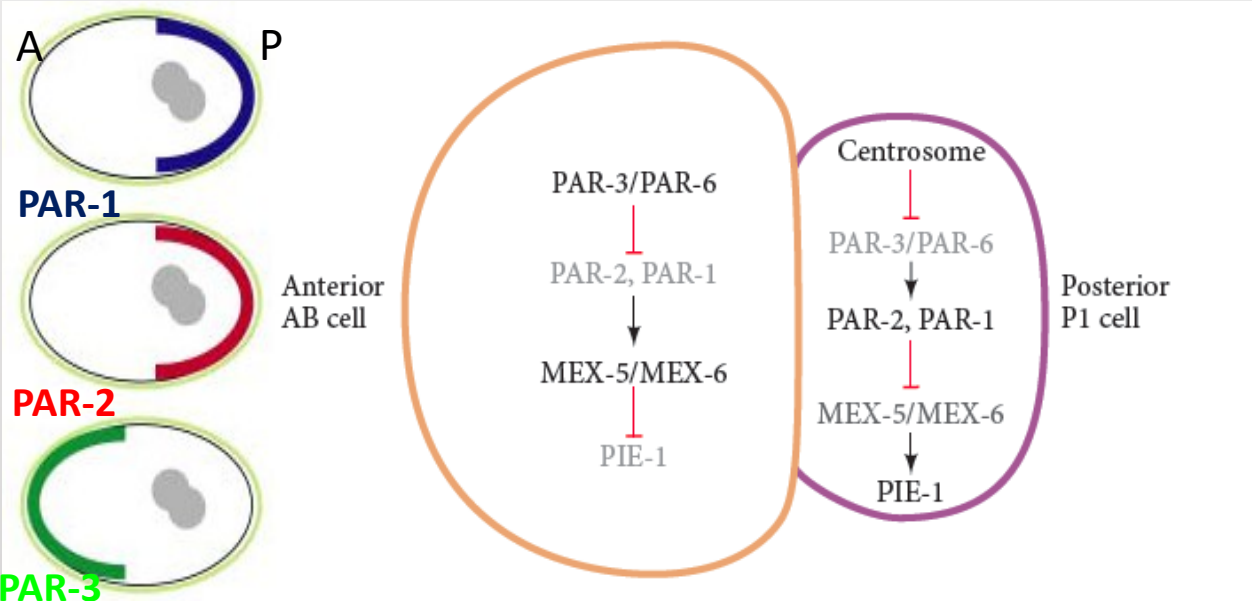
➤ Η SNK-1 αναστέλλει την PAL-1

Η PIE-1 απαιτείται για την τύχη της γαμετικής σειράς



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

Έκφραση της PIE-1 κατά την αυλάκωση

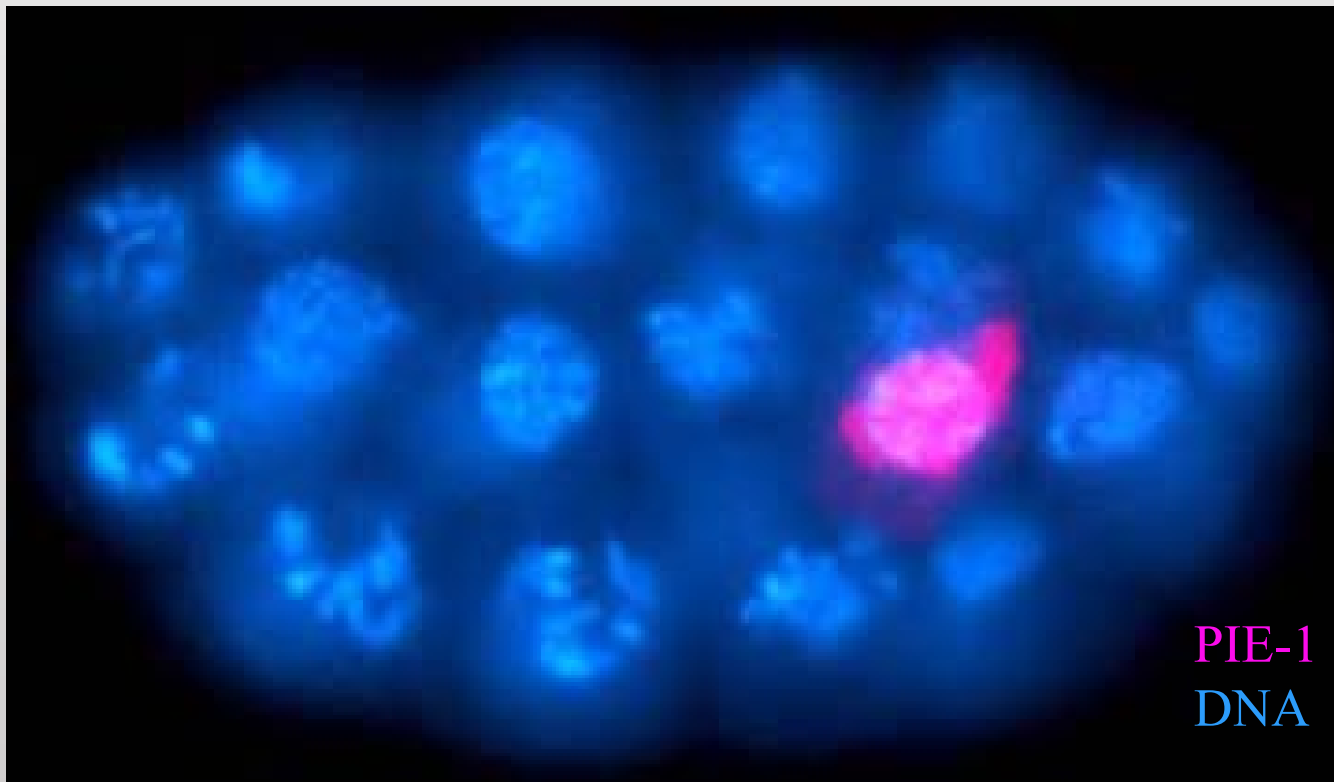


Segregation of PIE-1 determinant into the P1 blastomere at the 2-cell stage. The sperm centrosome inhibits the presence of the PAR-3/PAR-6 complex in the posterior of the egg. This allows the function of PAR-2 and PAR-1, which inhibit the MEX-5 and MEX-6 proteins that would degrade PIE-1. So while PIE-1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



PIE-1:GFP

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



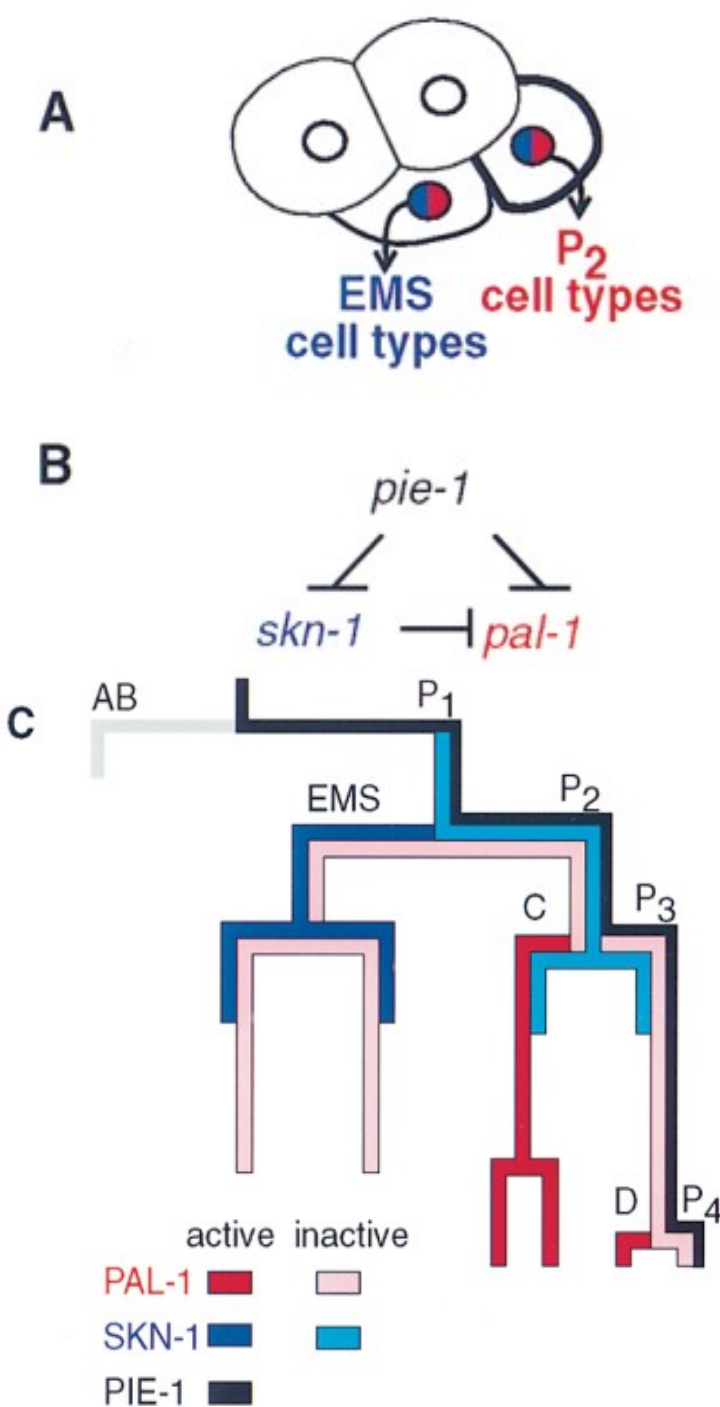
Αυτόνομη εξειδίκευση και η κυτταρική γενεαλογία του P1

Σύνοψη

SKN-1: Ελέγχει την τύχη του EMS.

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

PIE-1: απαιτείται για την τύχη της γαμετικής σειράς.

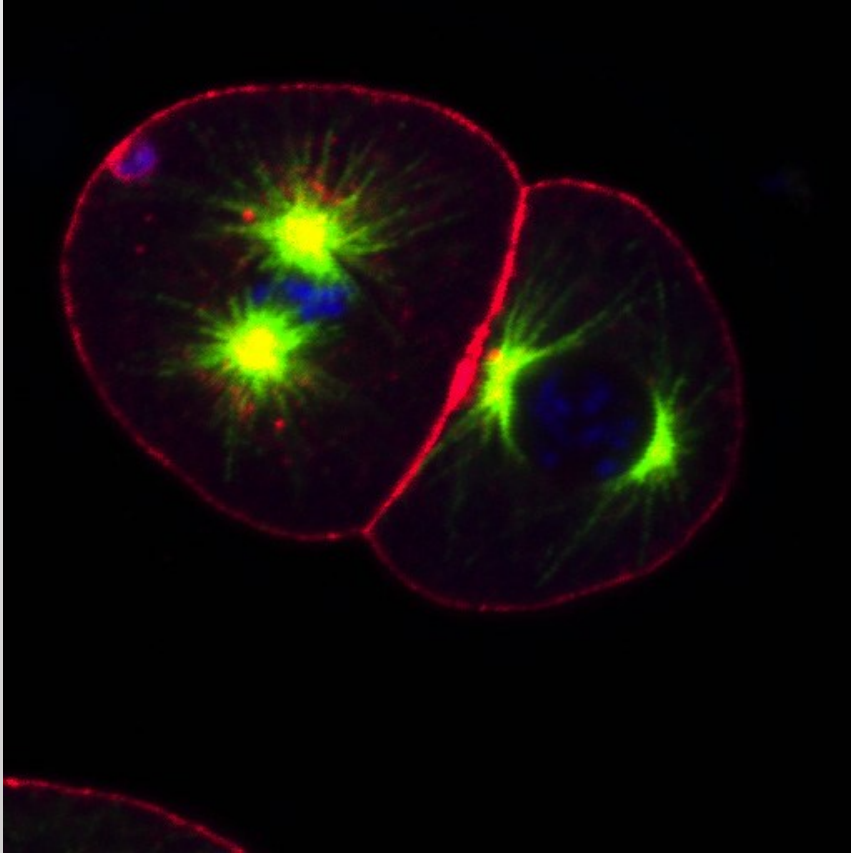


Hunter and Kenyon, Cell, Vol. 87, 217–226, October 18, 1996

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

(A) In 4 cell embryos, both SKN-1 (blue) and PAL-1 (red) are preferentially localized to the posterior blastomeres EMS and P₂, yet SKN-1 functions in EMS to promote the production of EMS fates, and PAL-1 functions in P₂ to promote the production of P₂ somatic fates. PIE-1 (black outline of P₂ blastomere) is localized to P₂ (Mello et al., 1996) and functions to promote the production of P₂ somatic and germline fates (Mello et al., 1992). In this model, regulatory interactions between *pie-1*, *skn-1*, and *pal-1* (B), in conjunction with the protein distributions diagrammed in (C), allow *skn-1* to function in the EMS descendants and *pal-1* to function in the somatic P₂ descendants (see text). In principle, the regulatory interactions could be at the level of the proteins or their targets.

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



Διαχωρισμός ή καταστροφή των βλαστομεριδίων στο στάδιο των δύο κυττάρων:

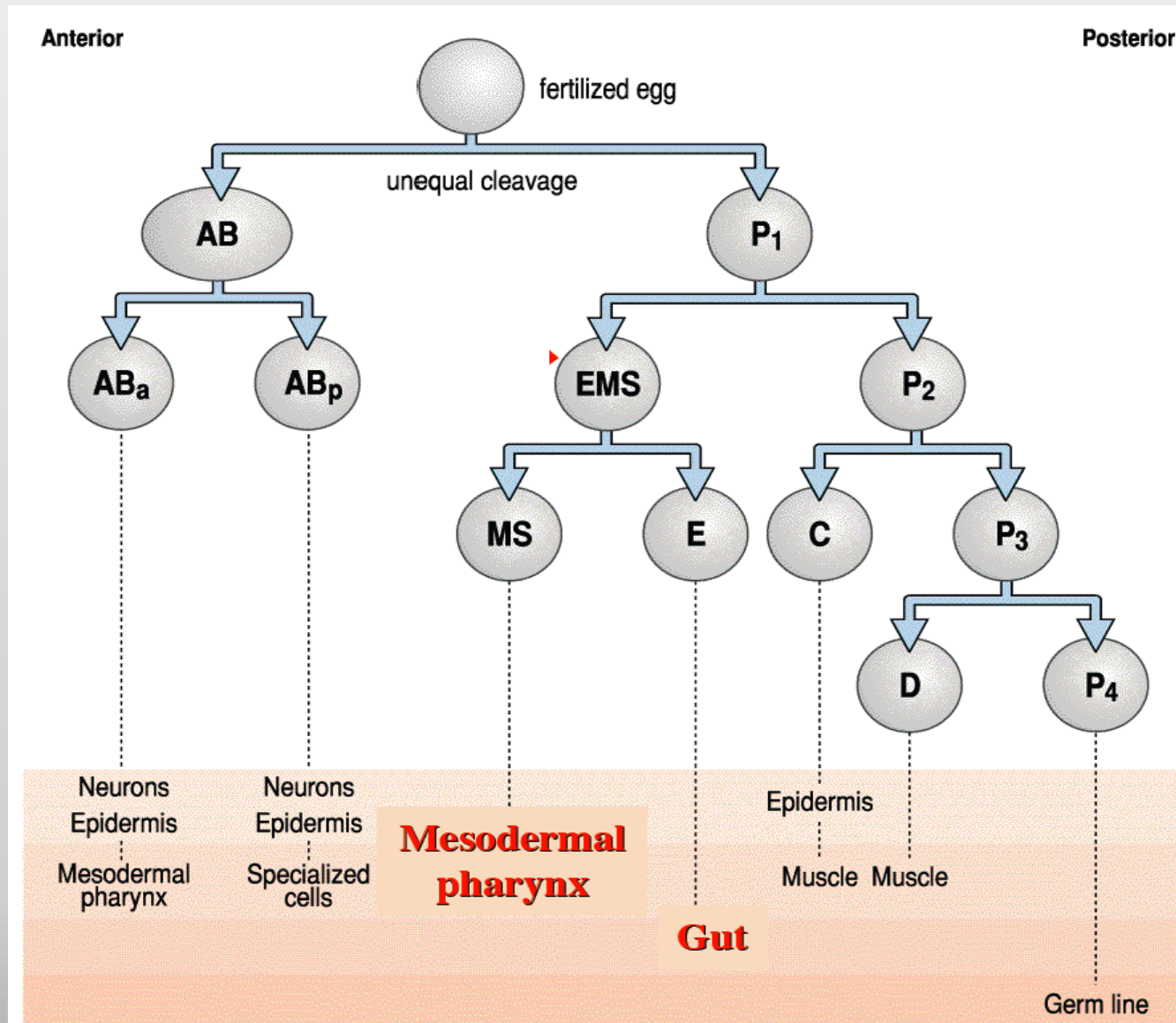
- οι απόγονοι του **P1** σχηματίζουν όλους τους κυτταρικούς τύπους που θα έδιναν φυσιολογικά.
- οι απόγονοι του **AB** σχηματίζουν μόνο μερικούς από τους κυτταρικούς τύπους που θα έδινε φυσιολογικά.



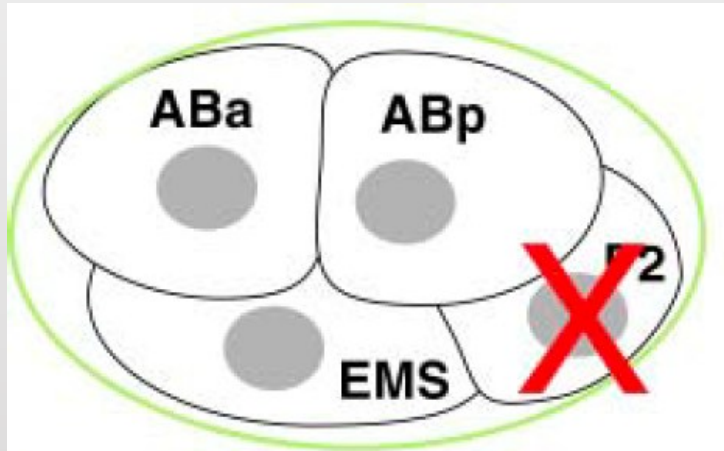
P1: αυτόνομη εξειδίκευση

AB: κατά συνθήκη εξειδίκευση

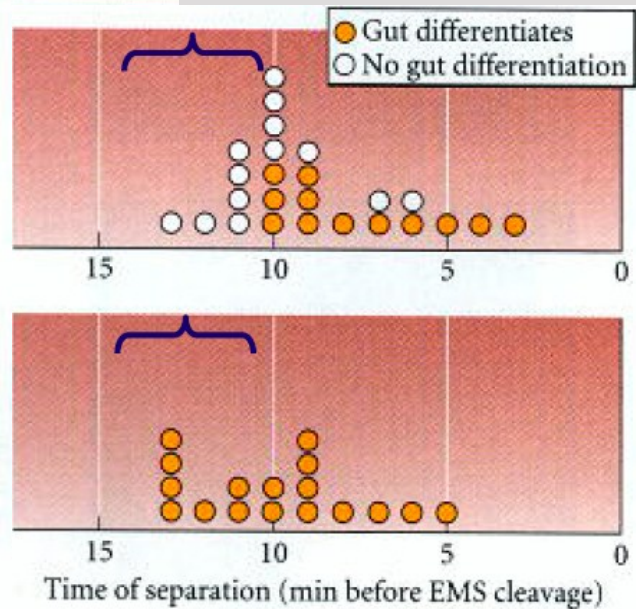
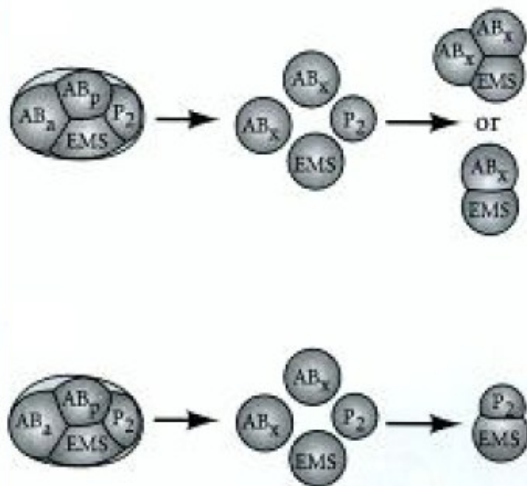
Κατά συνθήκη εξειδίκευση κατά την πρώιμη ανάπτυξη του *C. elegans*



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



Απουσία του P2 το EMS διαιρείται
συμμετρικά δίνοντας δύο MS.
Απουσιάζει.... έντερο

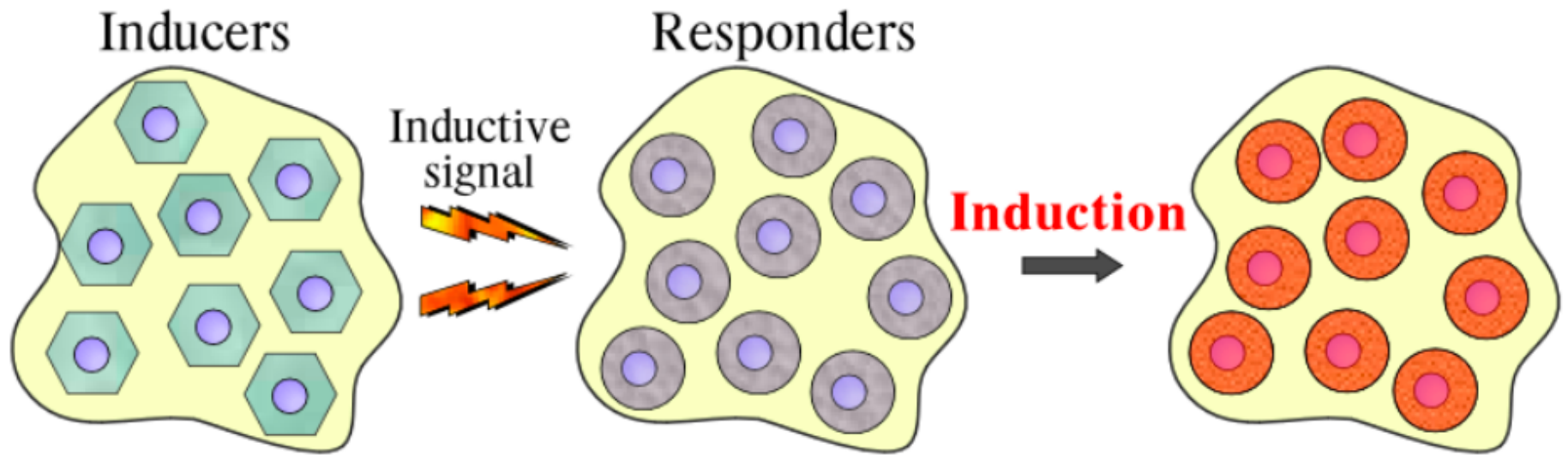


Ανασυνδυασμός EMS με ABa
ή ABp ή και τα δύο

Ανασυνδυασμός EMS με P2

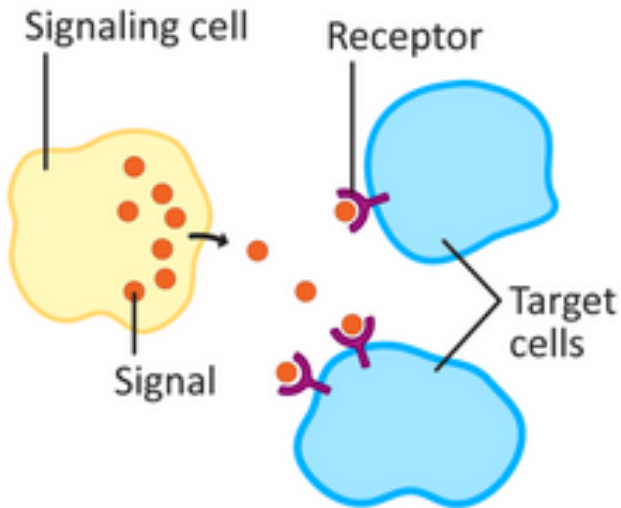
Επαγωγή

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

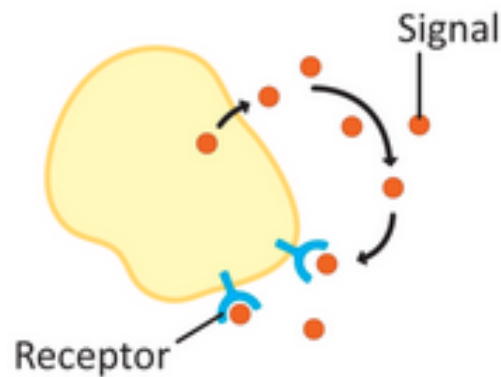


Ποια είναι η φύση των επαγωγικών σημάτων;

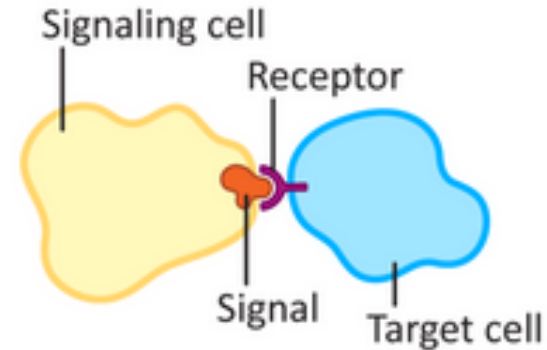
Paracrine signaling



Autocrine signaling



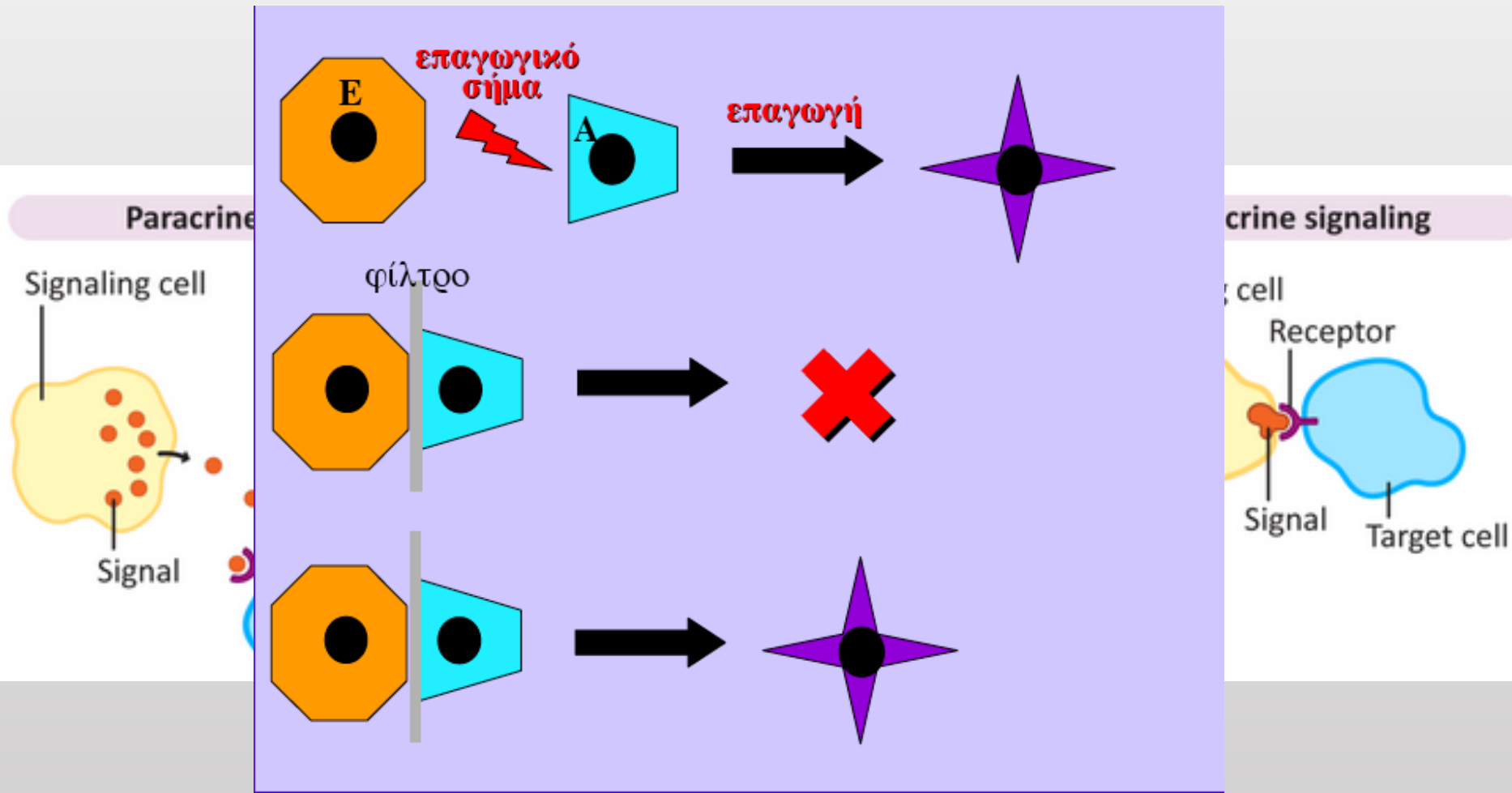
Juxtacrine signaling



Fundamentals of Cell Biology, Lauren Dalton and Robin Young

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

Ποια είναι η φύση των επαγωγικών σημάτων;



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

Ποια είναι η φύση των επαγωγικών σημάτων;

Η επαγωγή επιτελείται από συντηρημένες οικογένειες παρακρινών παραγόντων:

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

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

Ανάπτυξη και μονοπάτια μεταγωγής σήματος

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

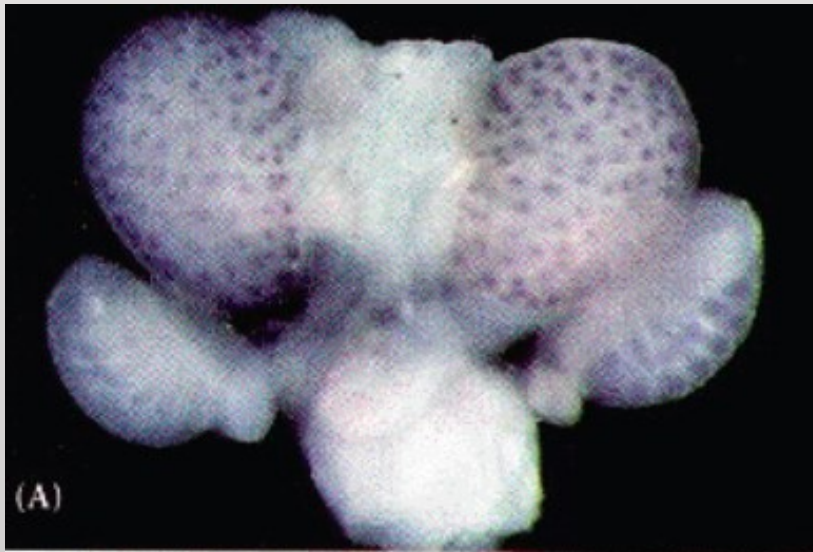
- Μονοπάτια υποδοχέων με ενεργότητα κινάσης τυροσίνης
- Μονοπάτια που ενεργοποιούν τους SMAD
- Μονοπάτια JAK-STAT

αλλά και μονοπάτια που ενέχονται κατά κύριο λόγο στην ανάπτυξη:

- Μονοπάτι Wnt
- Μονοπάτι hedgehog

Η οικογένεια παραγόντων Wnt

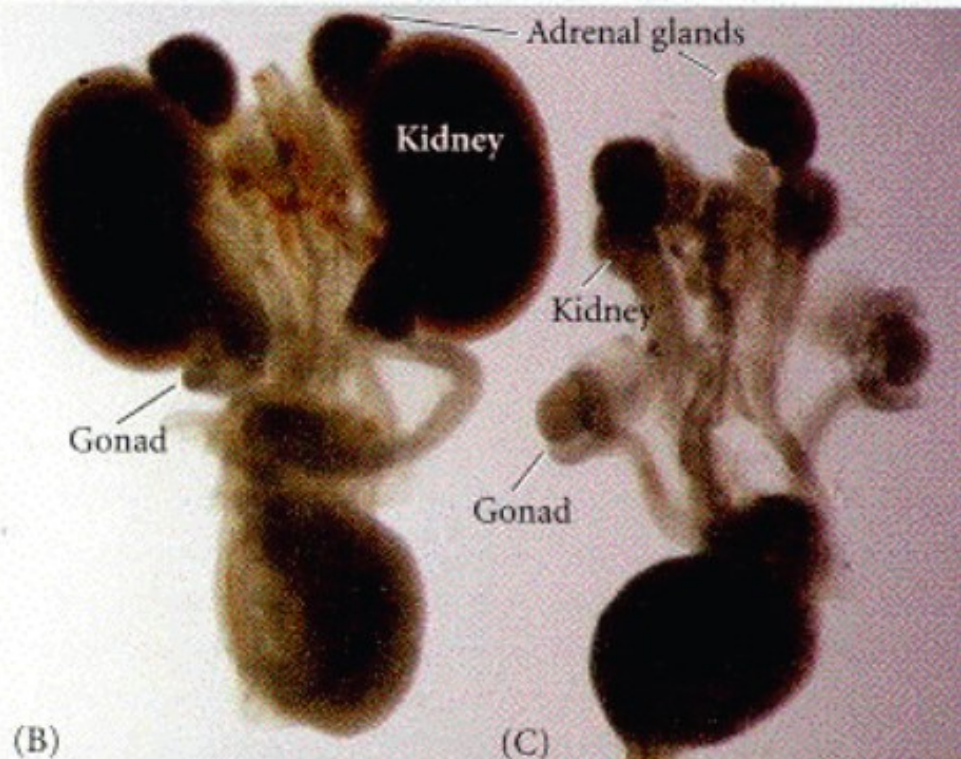
- Μεγάλη οικογένεια παραγόντων που περιλαμβάνει πάνω από 11 μέλη στα σπονδυλόζωα – πάνω από 15 στον άνθρωπο
- Παλιά οικογένεια (μέλη της απαντούν τόσο στα πρωτοστόμια όσο και τα δευτεροστόμια
- Γλυκοπρωτεΐνες με υψηλή περιεκτικότητα σε κατάλοιπα κυστεΐνης-αδιάλυτοι
- Ενέχονται σε πολλές αναπτυξιακές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



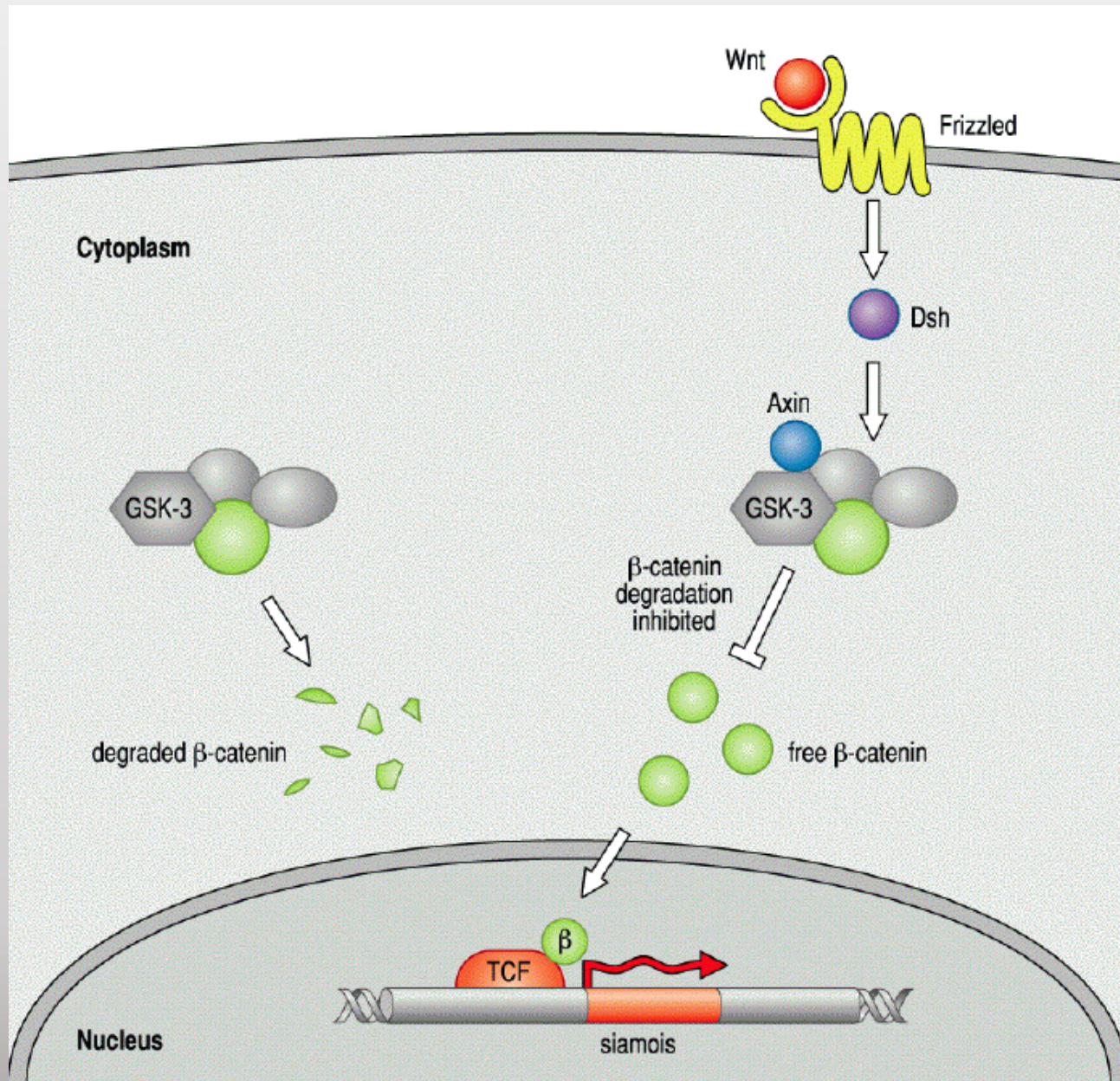
A: E14 ISH *Wnt4* urogenital organs

B: urogenital rudiment newborn wt

C: urogenital rudiment newborn *wnt4*⁻/*wnt4*⁻

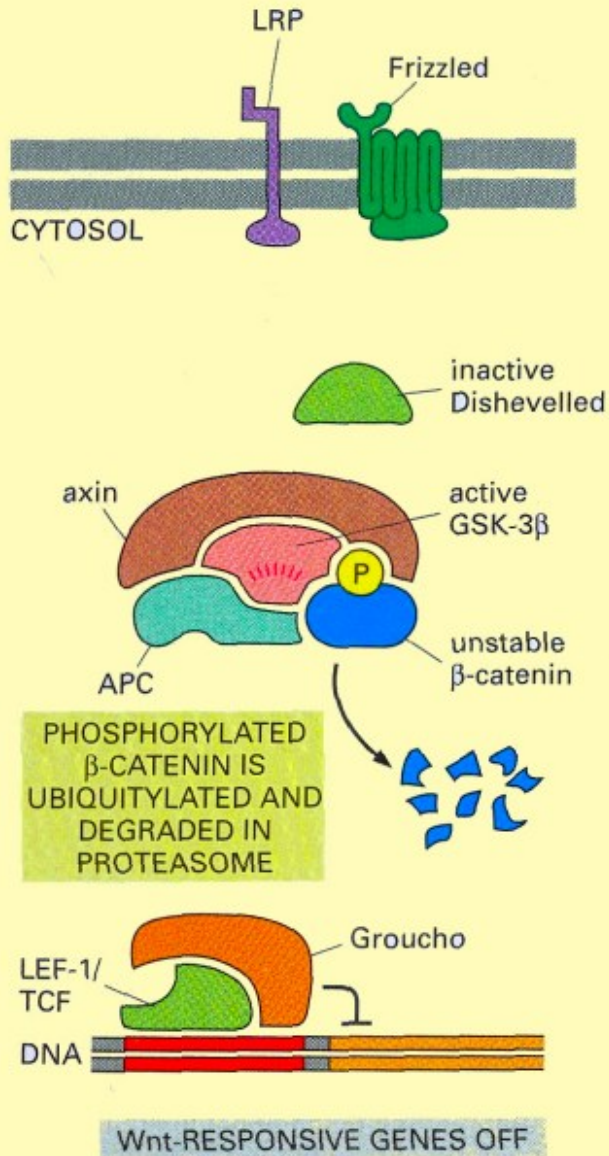


Το κανονικό μονοπάτι Wnt (παρακρινές επαγωγικό φαινόμενο)

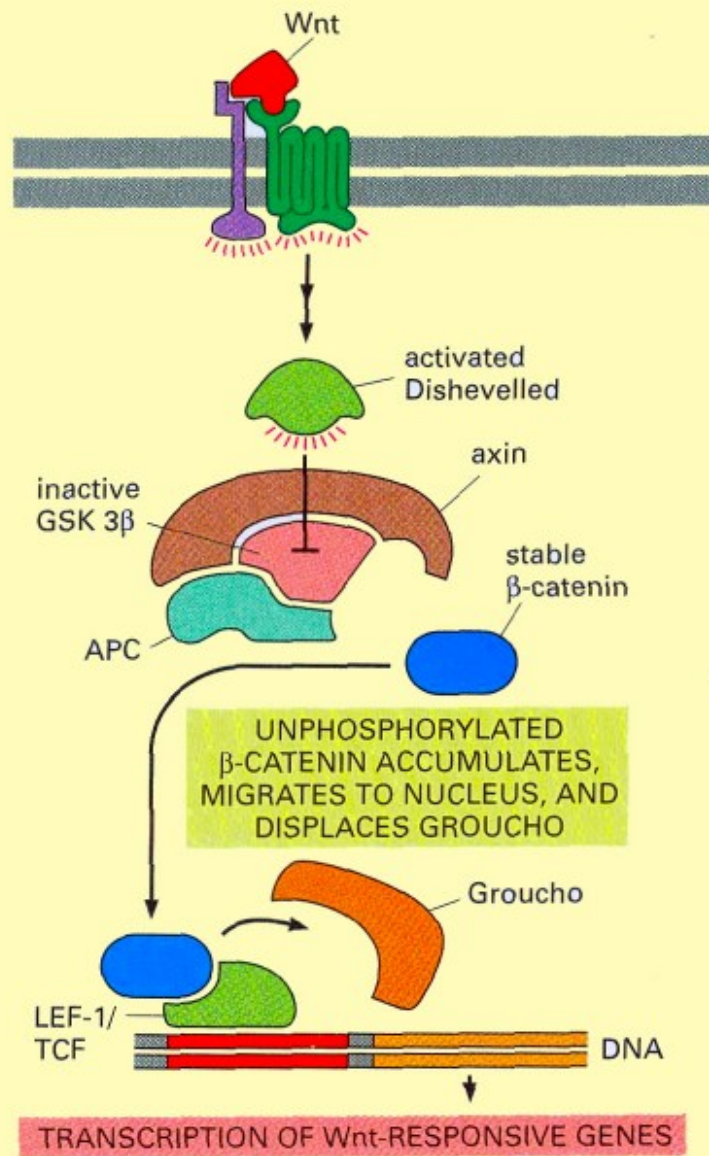


Το κανονικό μονοπάτι Wnt

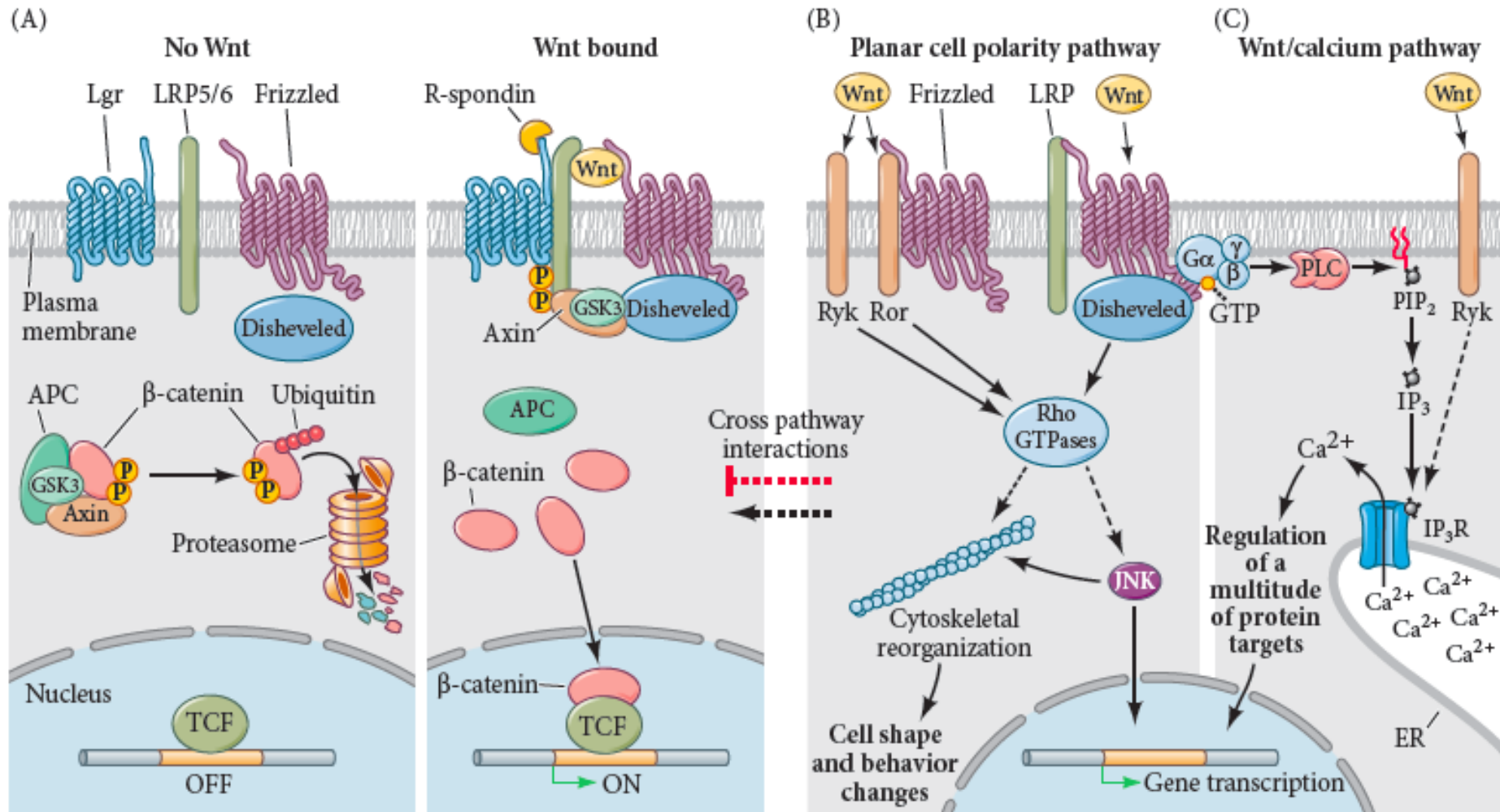
(A) WITHOUT Wnt SIGNAL



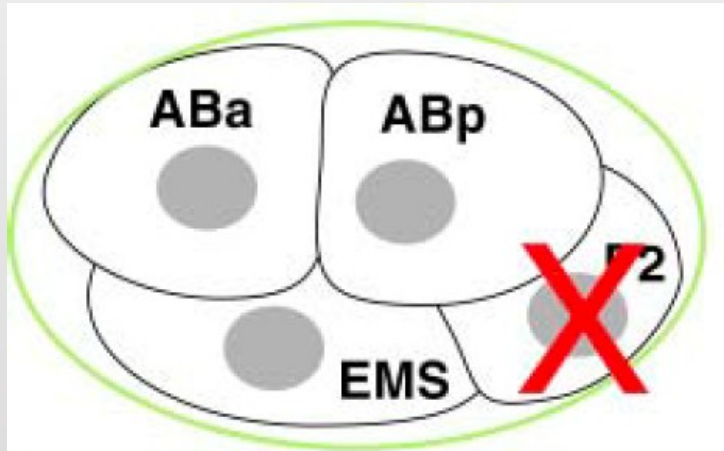
(B) WITH Wnt SIGNAL



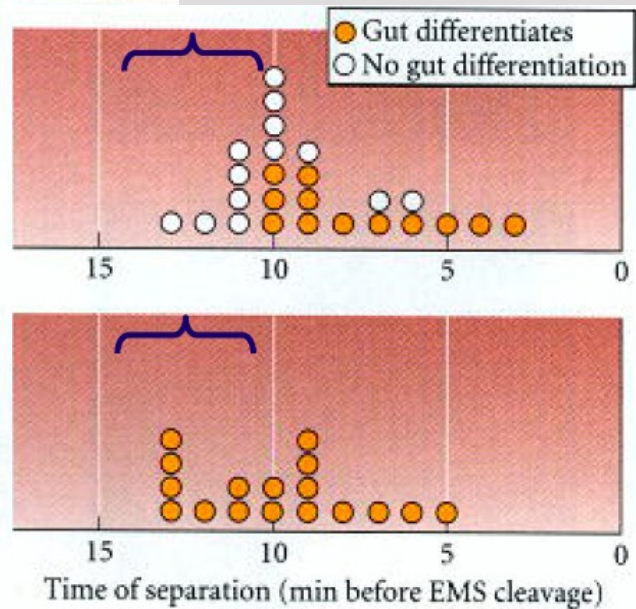
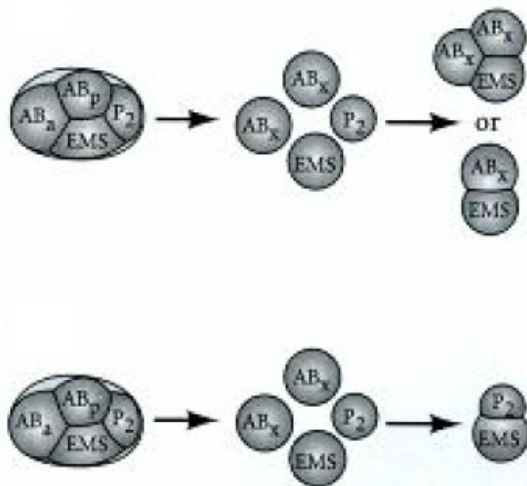
Τα μονοπάτια Wnt (κανονικό, πολικότητας, ασβεστίου)



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



Απουσία του P2 το EMS διαιρείται συμμετρικά δίνοντας δύο MS



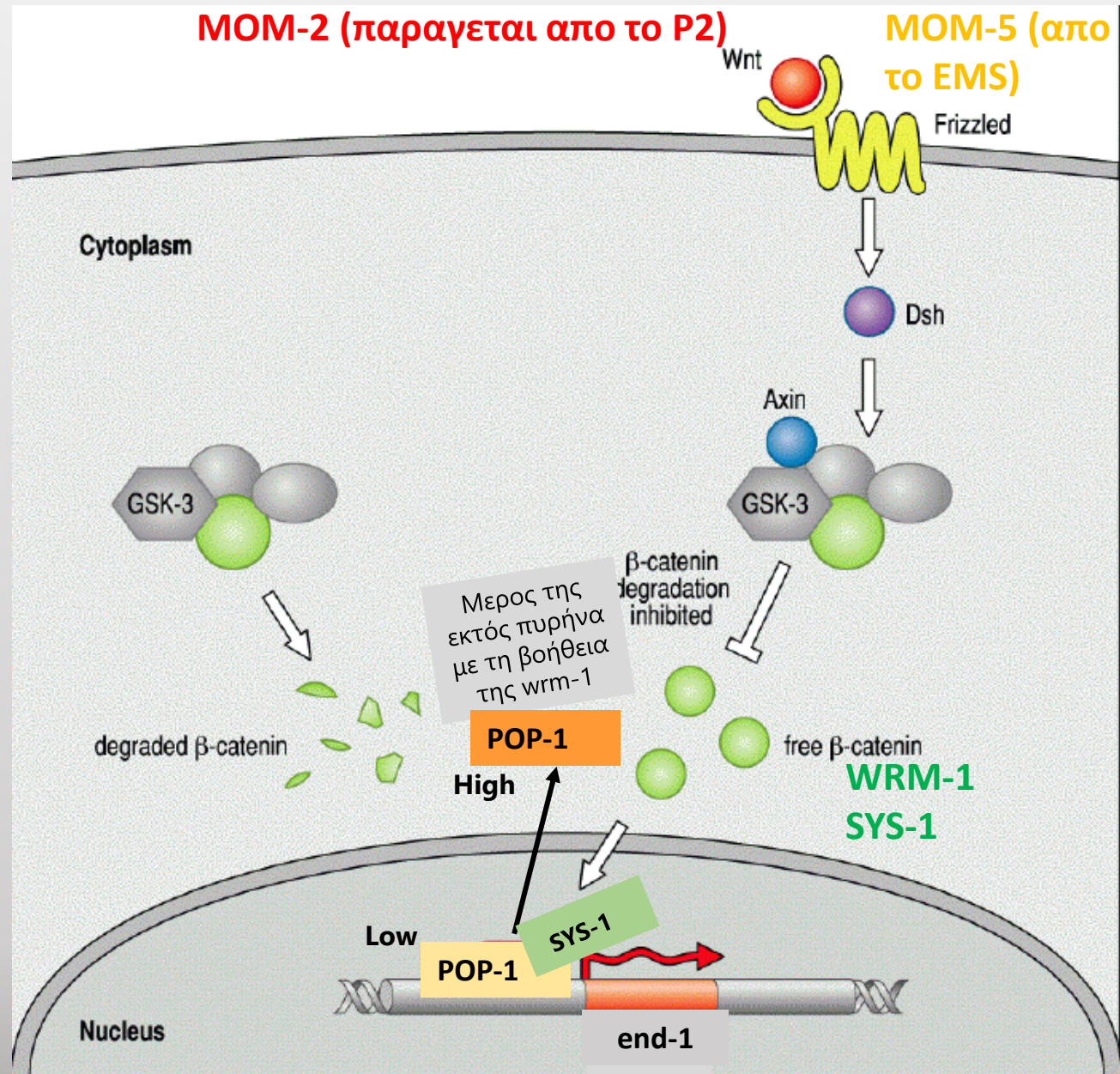
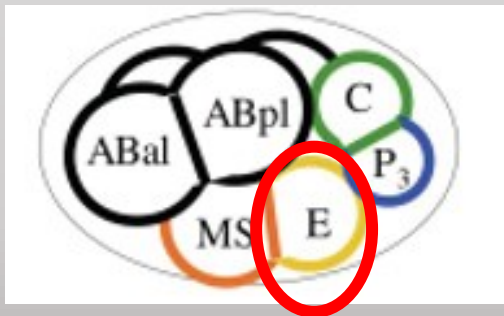
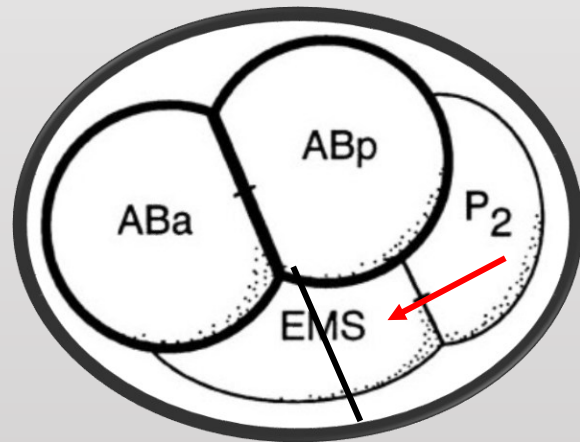
Ανασυνδυασμός EMS με ABa ή ABp ή και τα δύο

Ανασυνδυασμός EMS με P2

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

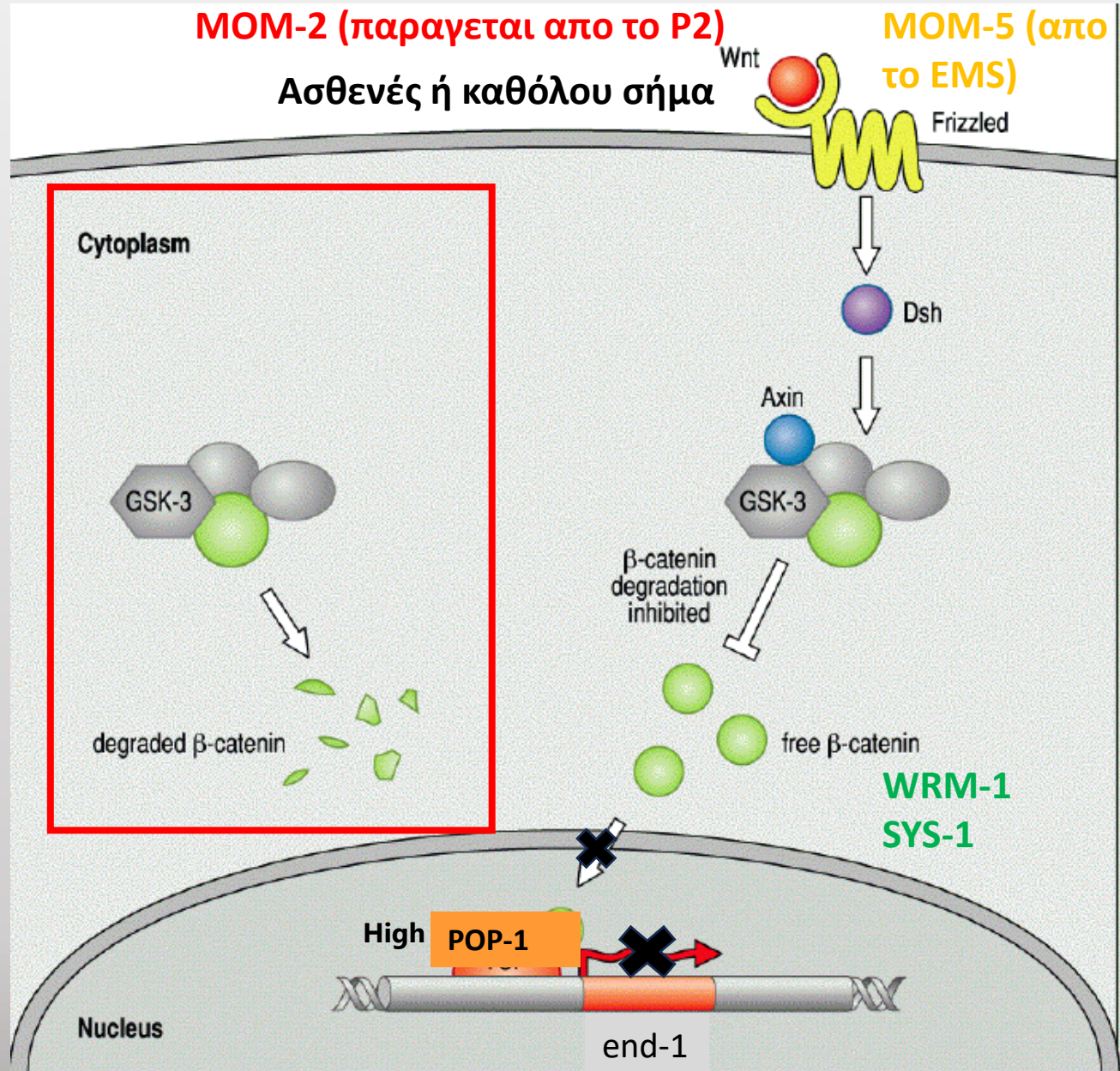
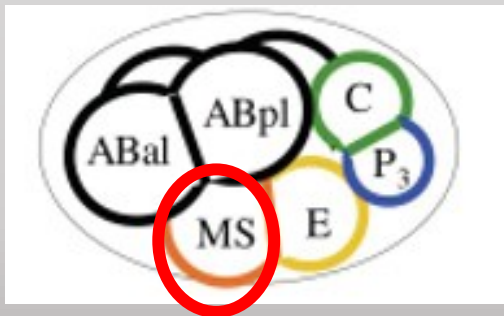
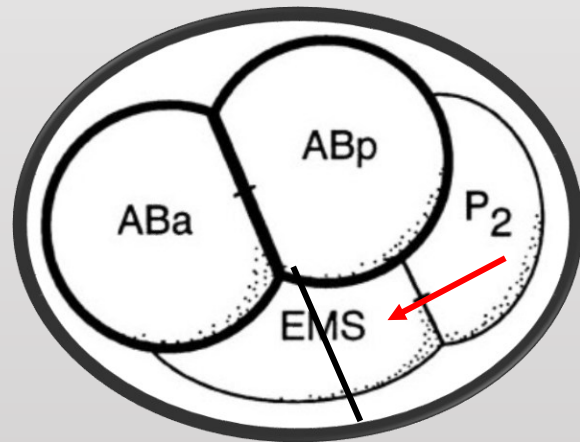
Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*

Εξειδίκευση βλαστομεριδίου E

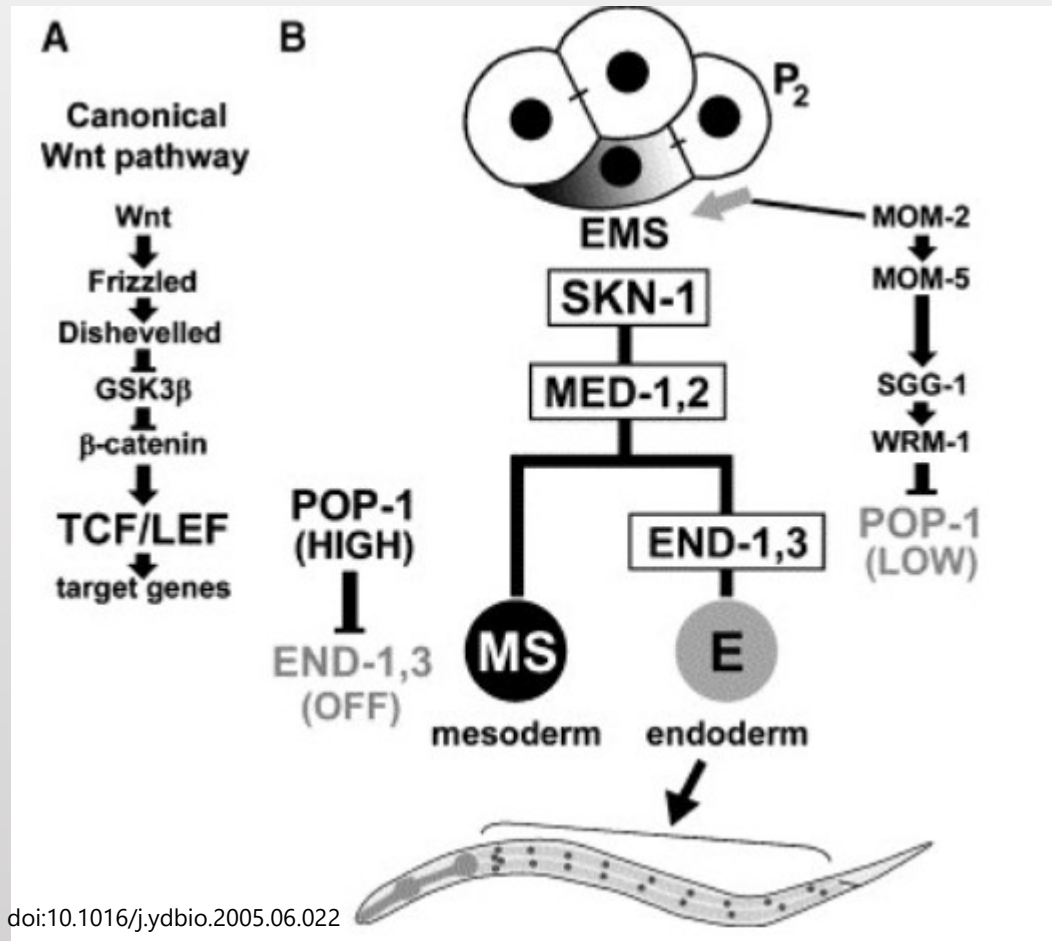


Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*

Εξειδίκευση βλαστομεριδίου MS



Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*



Εξειδίκευση
βλαστομεριδίου
EMS
ΕΟ άξονας!

Fig. 1. Canonical Wnt pathway and *C. elegans* embryonic Wnt pathway. (A) In the canonical Wnt pathway, Wnt signaling results in activation of a bipartite transcription factor consisting of h-catenin and a TCF/Lef factor, which activates target genes (reviewed in Cadigan and Nusse, 1997). In the absence of the Wnt signal, TCF/Lefs can function as repressors (not shown on the figure) (Kim et al., 2000; Merrill et al., 2001). A similar pathway is proposed to exist for postembryonic *C. elegans* signaling events (Herman, 2001; Herman and Wu, 2004; Korswagen et al., 2000). (B) The Wnt pathway as previously described for *C. elegans* E specification. At the 4-cell stage, P₂ polarizes the ventral blastomere EMS (depicted by shading of the EMS cytoplasm) such that its posterior daughter becomes E. The terminal TCF/Lef-1-like regulator, POP-1, represses E specification in MS by preventing activation of end-1,3 by the SKN-1/MED-1,2 pathway (Calvo et al., 2001; Maduro et al., 2002; Maduro et al., 2001). A newly hatched L1 animal is diagrammed showing the 20 E nuclei (dots) that constitute the intestine.

Μονοπάτι Wnt και εξειδίκευση στον *C.elegans*

Εξειδίκευση βλαστομεριδίου EMS ΕΟ άξονας!

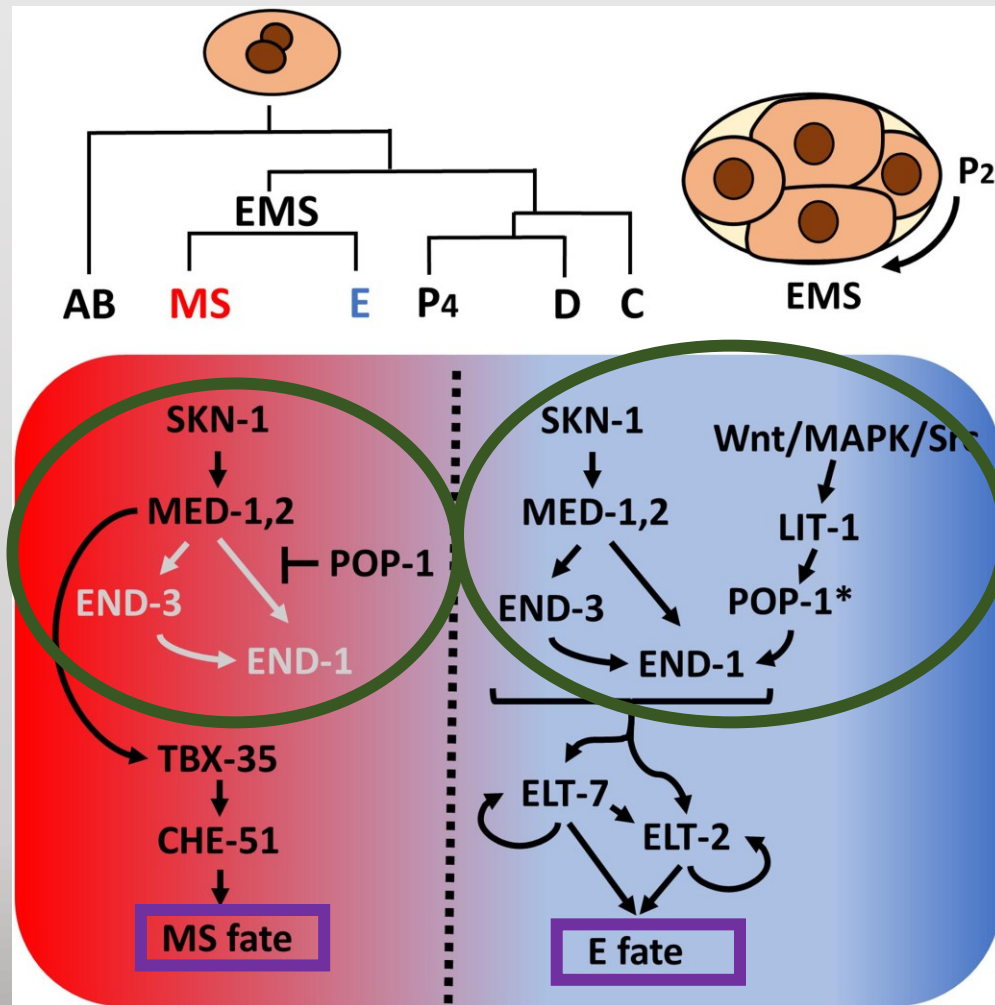
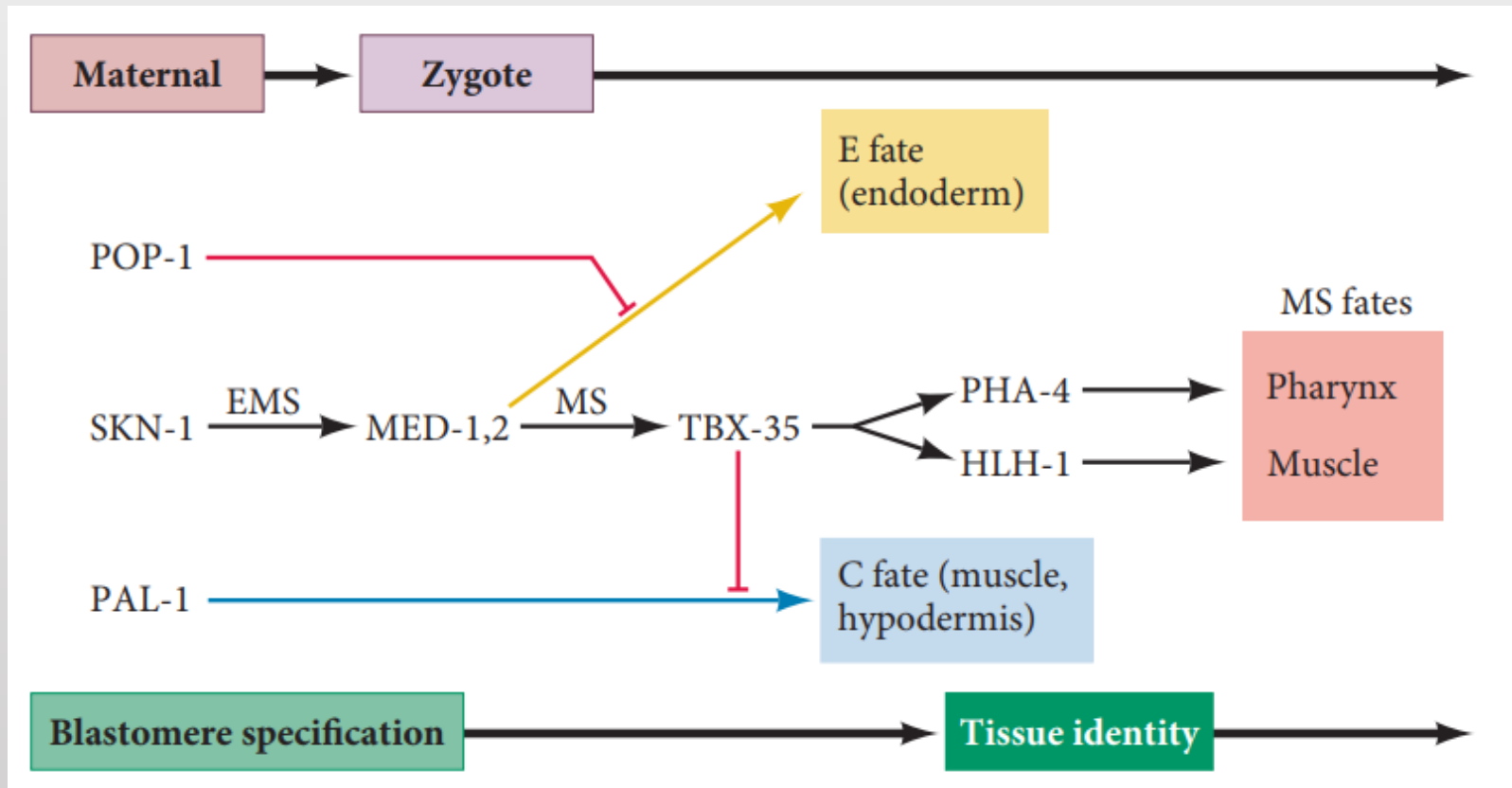
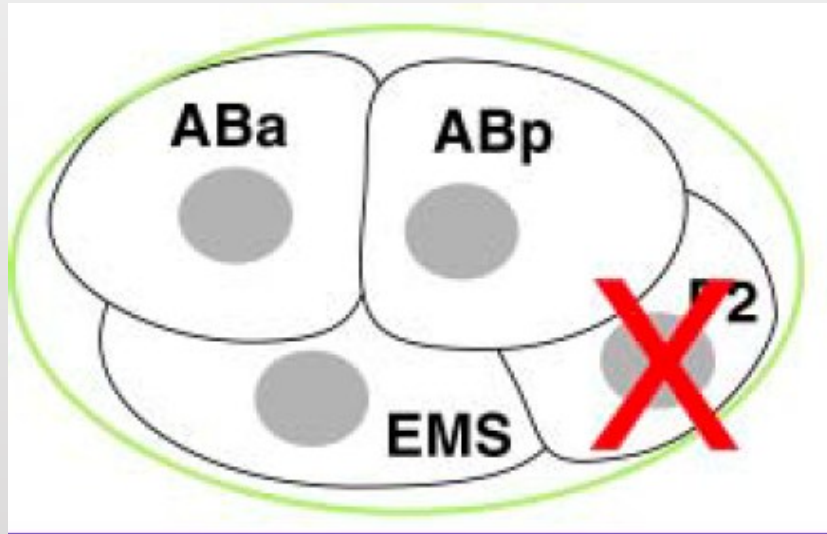


Figure 1. *Caenorhabditis elegans* founder cells and the endoderm specification network. Asymmetrical cell divisions produce six founder cells, each of which will give rise to specific tissue types. At the four-cell stage, SKN-1 activates the *med-1,2* genes, initiating mesendoderm specification. Redundant Wnt/MAPK/Src signaling arising from the neighboring P2 cell polarizes EMS. In the anterior, un-sigaled end, POP-1 represses *end-1* and *end-3* expression while MED-1,2 turn on *tbx-35*, which in turn specify mesoderm MS fate. In the posterior end, LIT-1 kinase, in response to P2 signals, phosphorylates POP-1 (indicated by *), converting it from a repressor to an activator of endoderm E fate. The two differentiation factors, ELT-7 and ELT-2, once activated, maintain their own expression through autoregulation and regulate thousands of gut genes. In E, Wnt signaling further represses *tbx-35* expression (Broitman-Maduro et al., 2006).

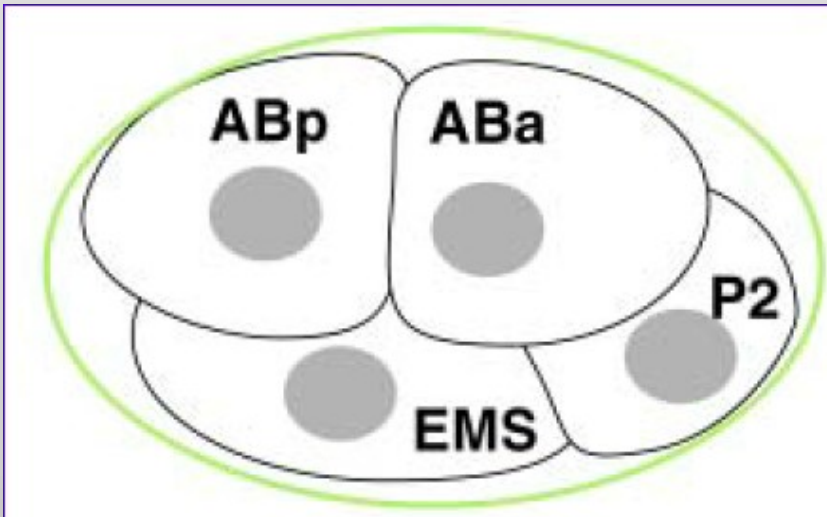


Κατά συνθήκη εξειδίκευση βλαστομεριδίων κατά την πρώιμη ανάπτυξη του *C. elegans*



Καταστροφή του P2

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



Αντιμετάθεση ABa, ABp

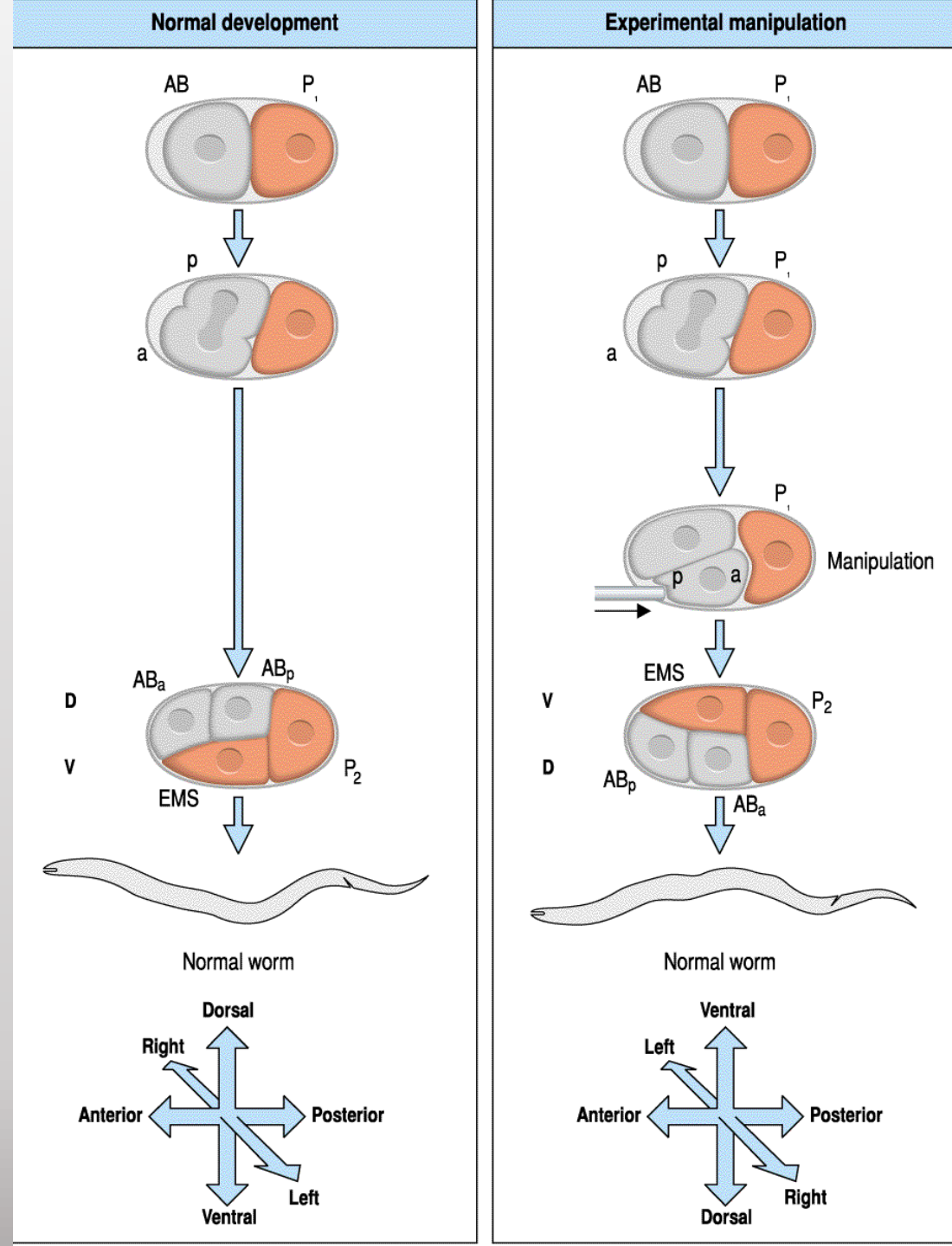
ABa δίνει όλους τους κυτταρικούς
τύπους που φυσιολογικά δίνει το ABp

Για την εξειδίκευση του ABp απαιτείται επαφή με το P2

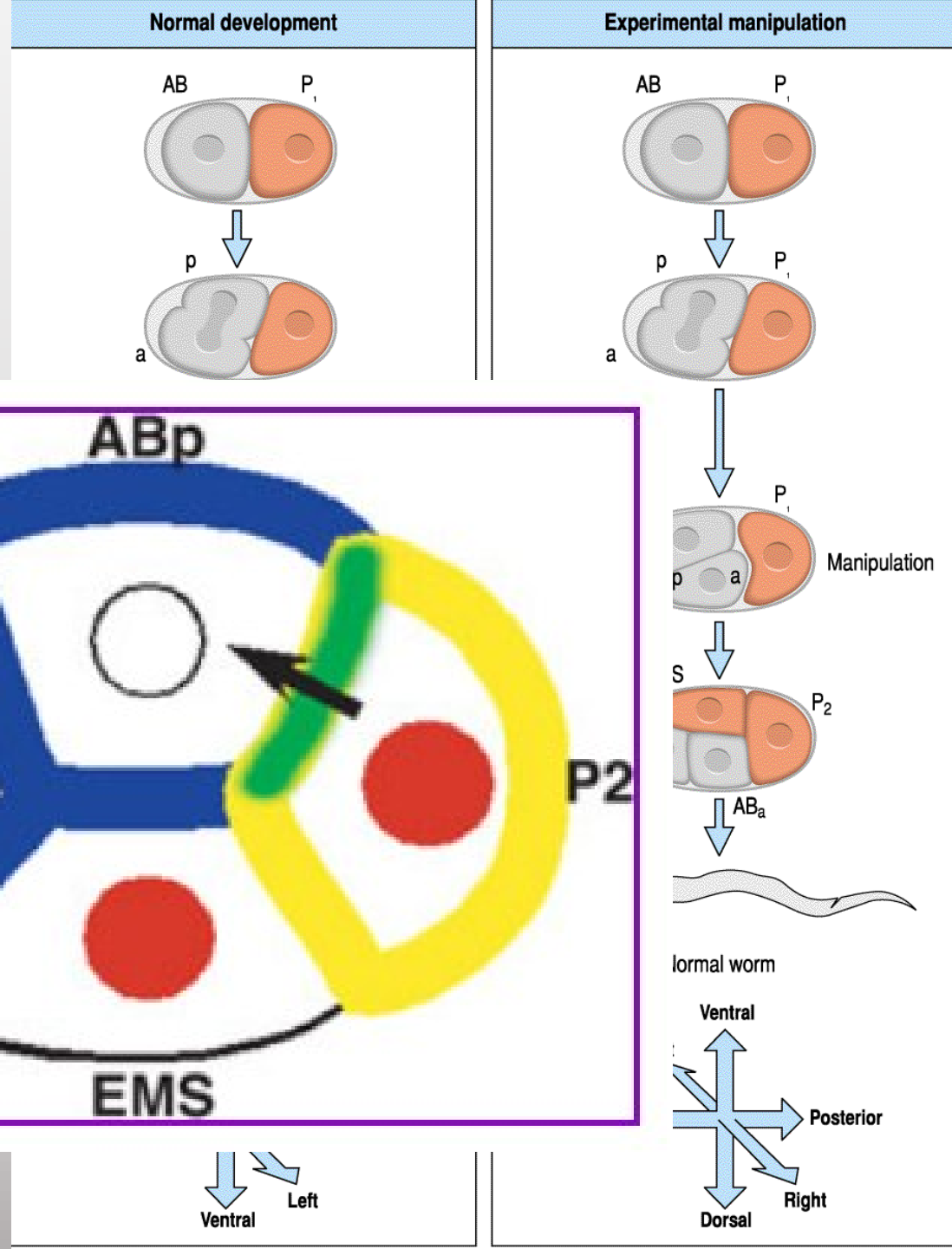
Ο σχηματισμός του ραχιοκοιλιακού άξονα

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

ABp: καθορίζει τη ραχιαία πλευρά.



Ο σχηματισμός του ραχιοκοιλιακού άξονα

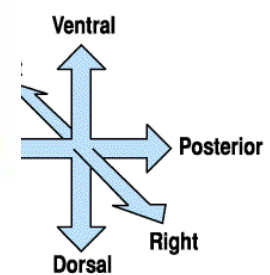
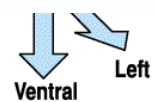


➤ Ο ραχιοκοιλιακός άξονας

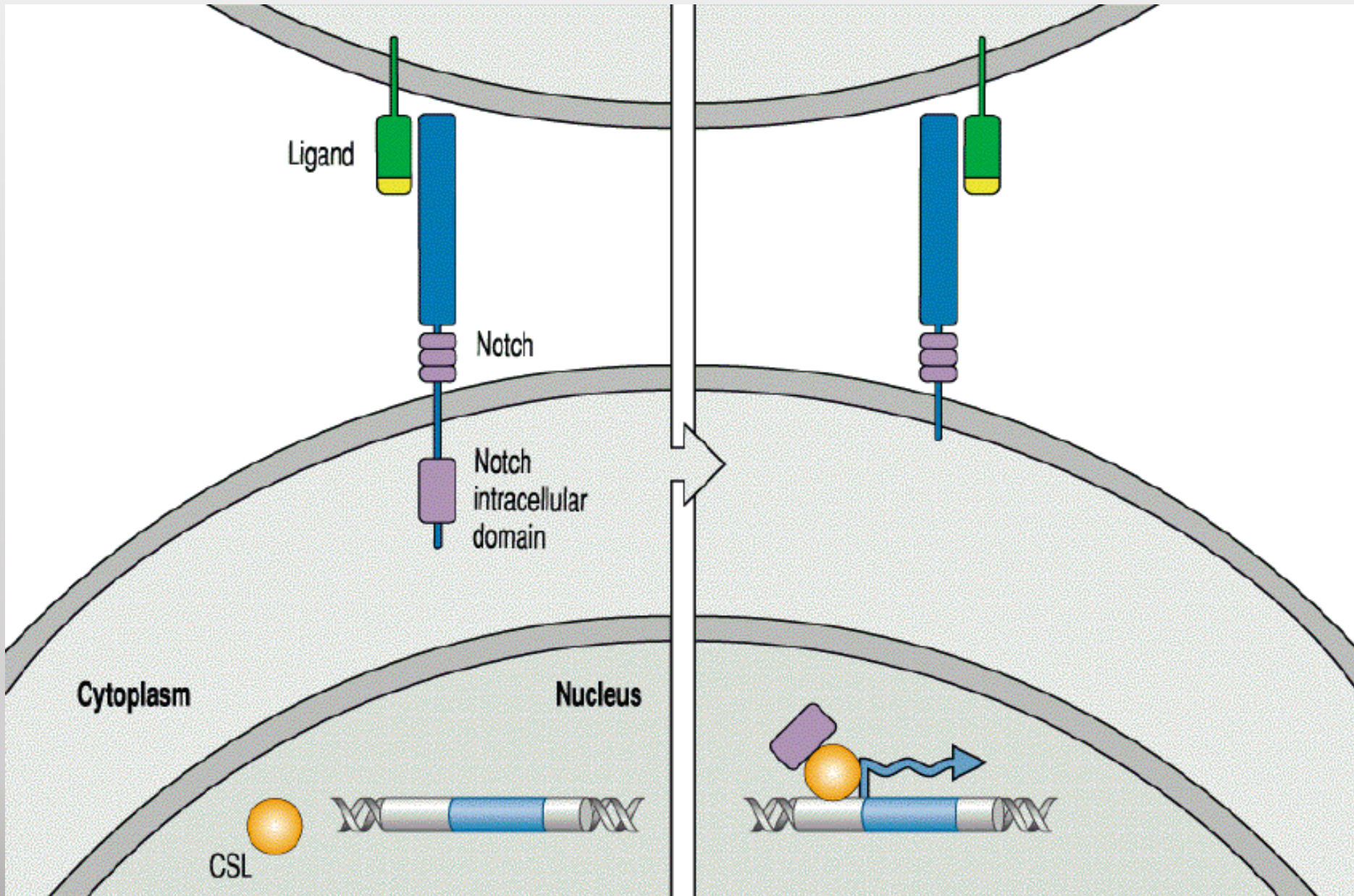
εγκαθιδρύεται
4-κυττάριο

➤ Μηχανισμός
ABp αντιστοιχεί
κοιλιακού άξονα

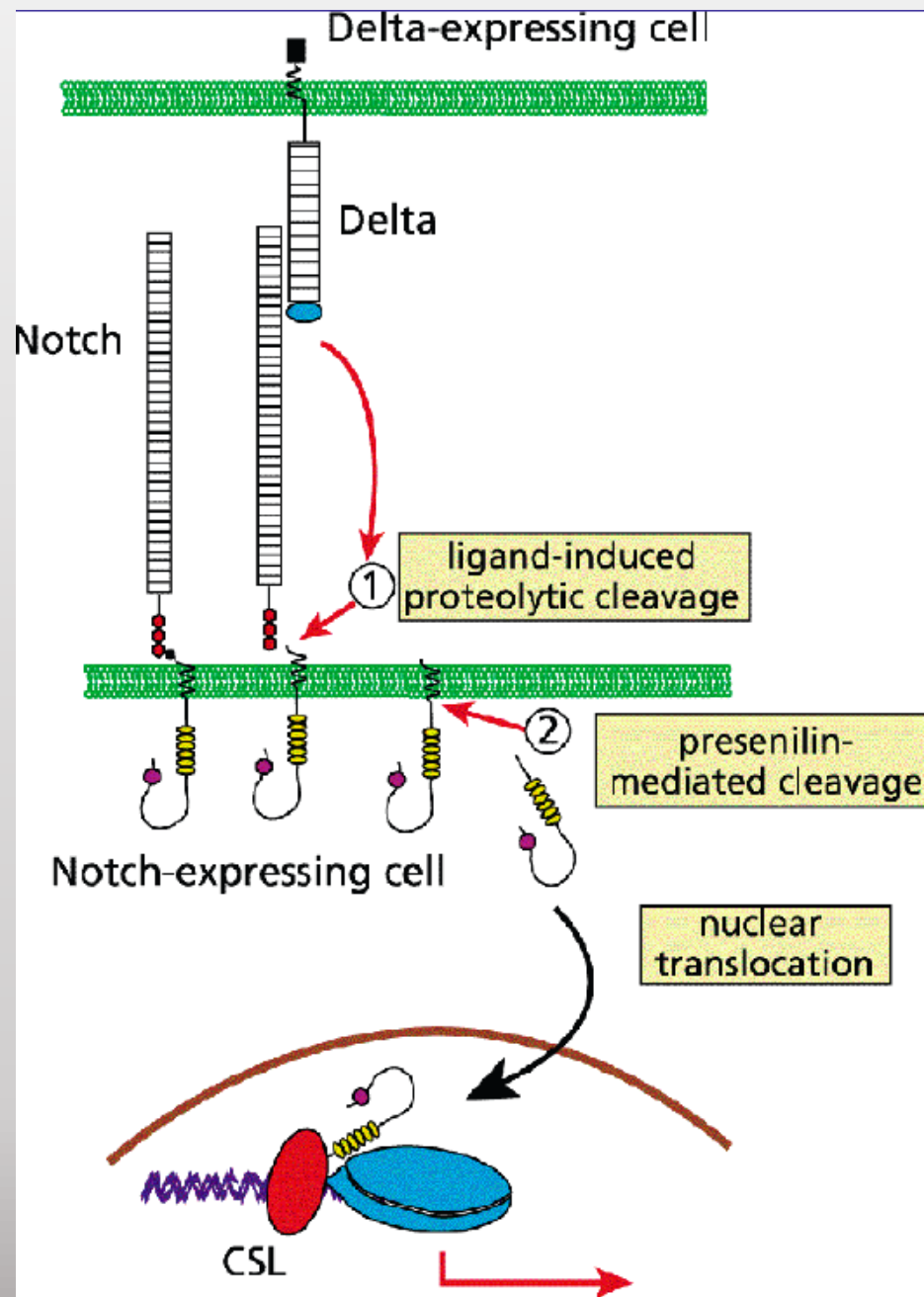
ABp: καθορίζει
πλευρά.



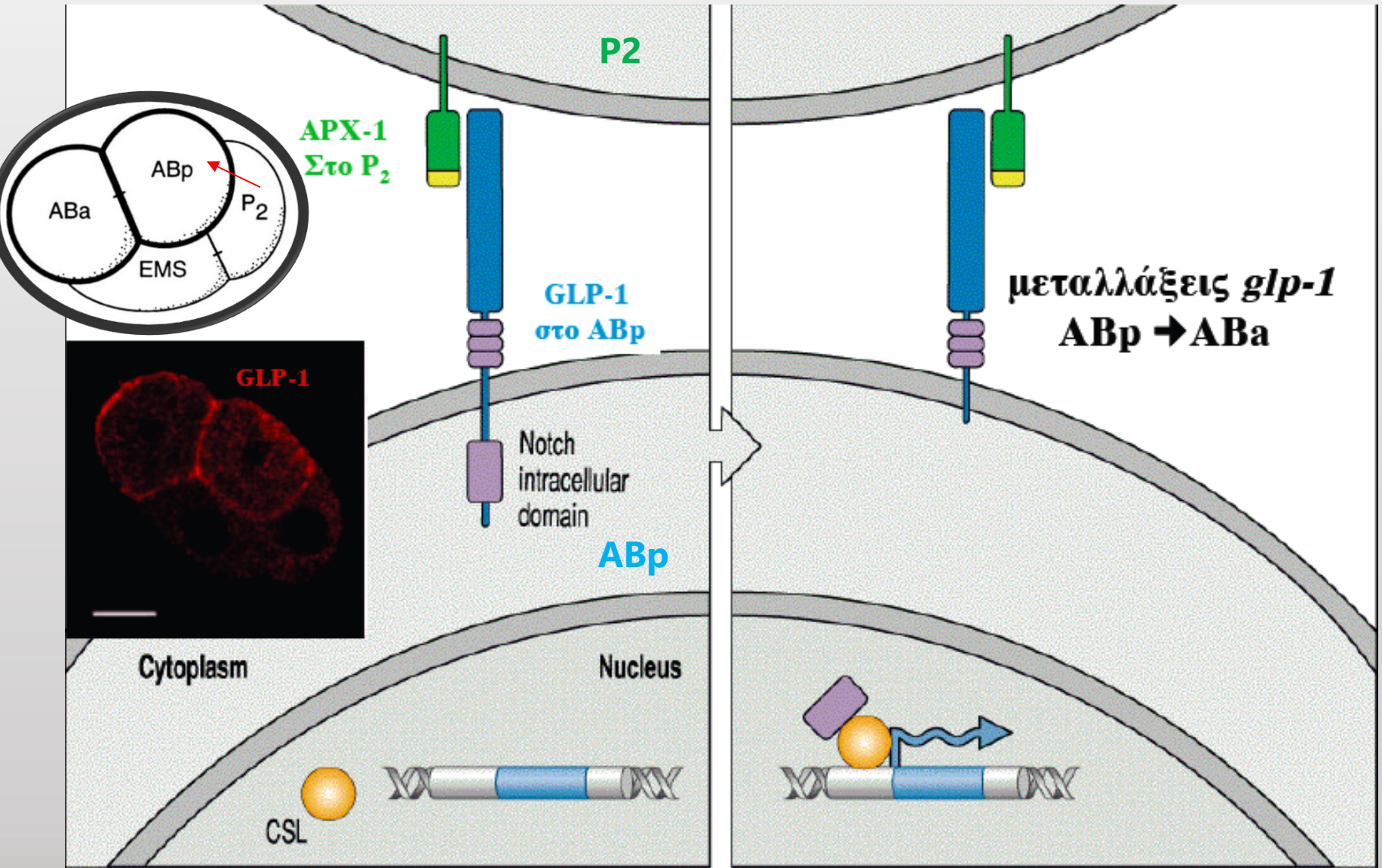
Το μονοπάτι Notch (αντικρινές επαγωγικό φαινόμενο)



Το μονοπάτι Notch

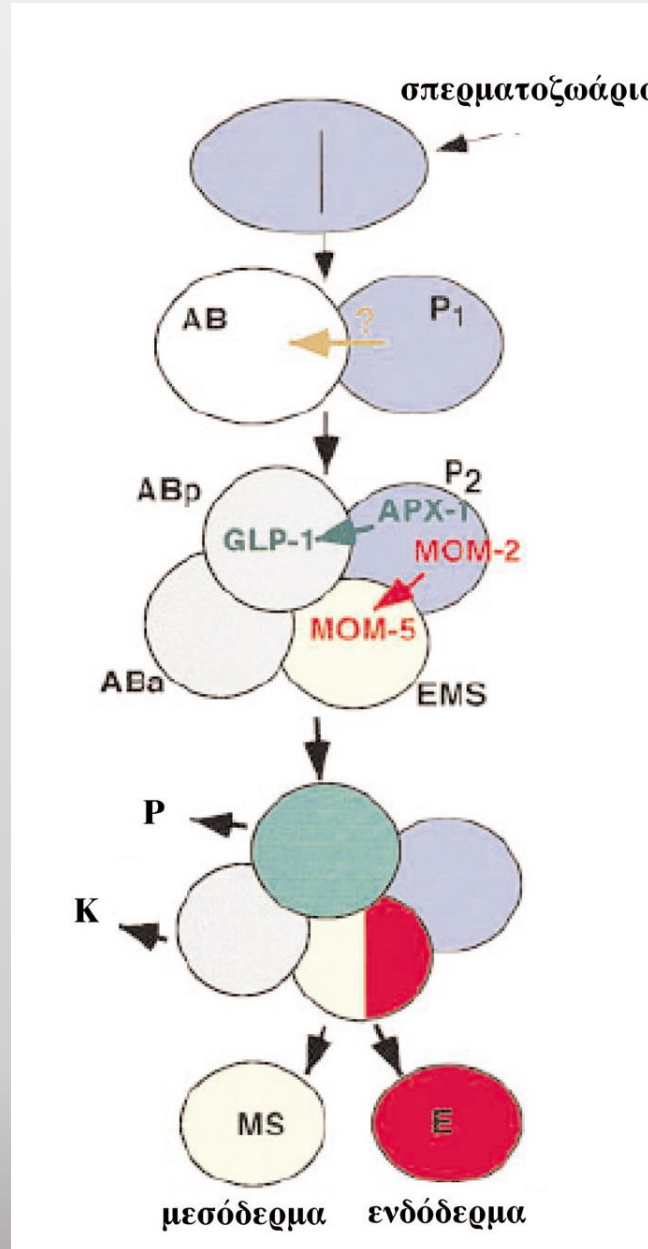
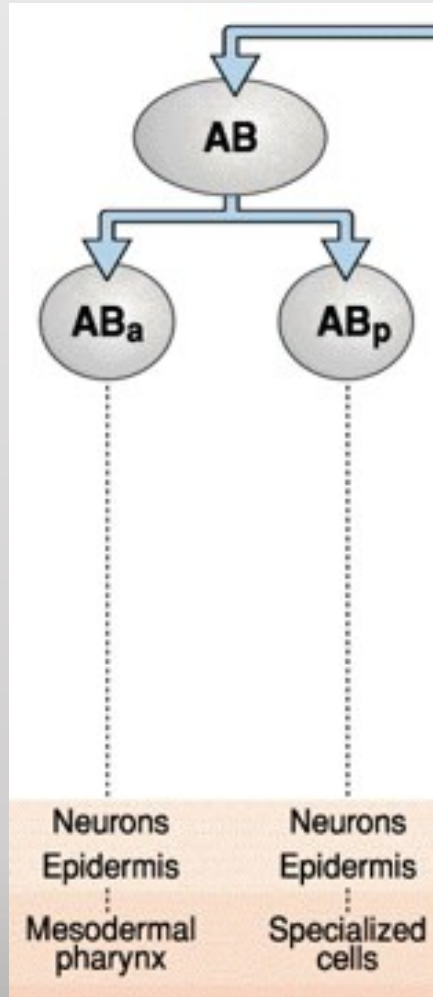


Το μονοπάτι Notch και η τύχη του ABp

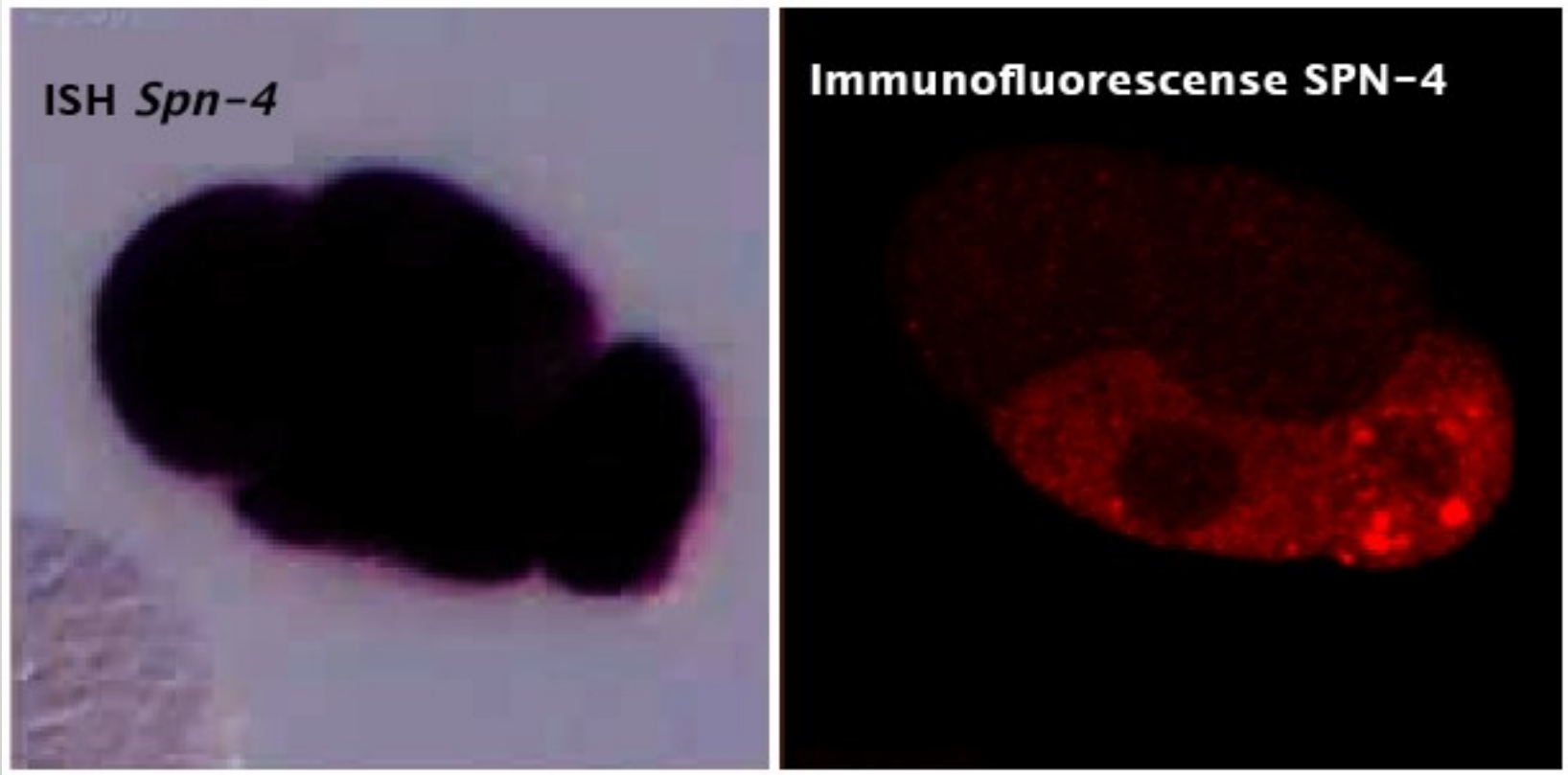


Η αλληλεπίδραση GLP-1/APX-1 δημιουργεί ασυμμετρία και καθορίζει το ραχιαίο-κοιλιακό άξονα

Εγκαθίδρυση ΕΟ και ΡΚ άξονα Σύνοψη

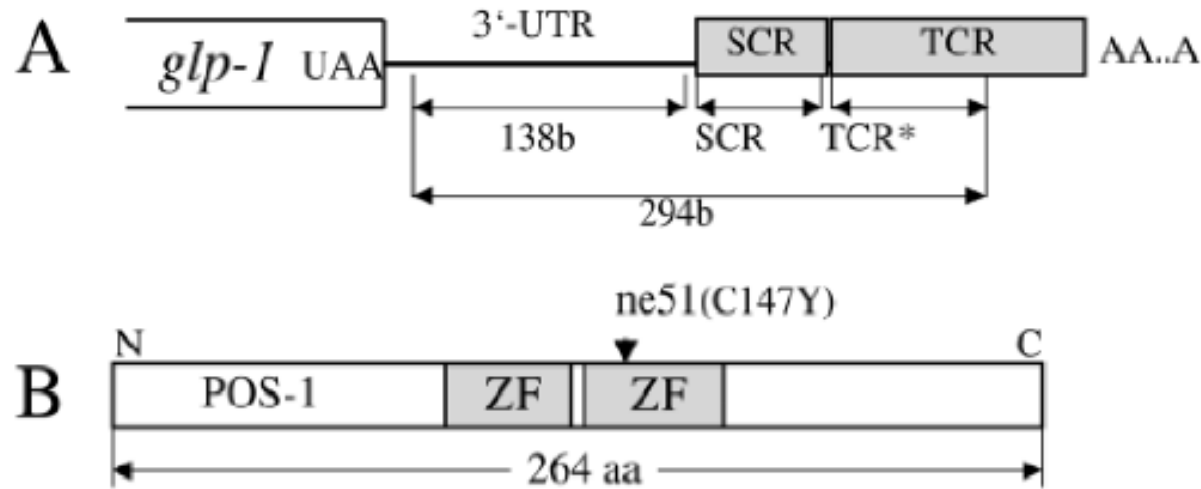


Μετάφραση μητρικών mRNA

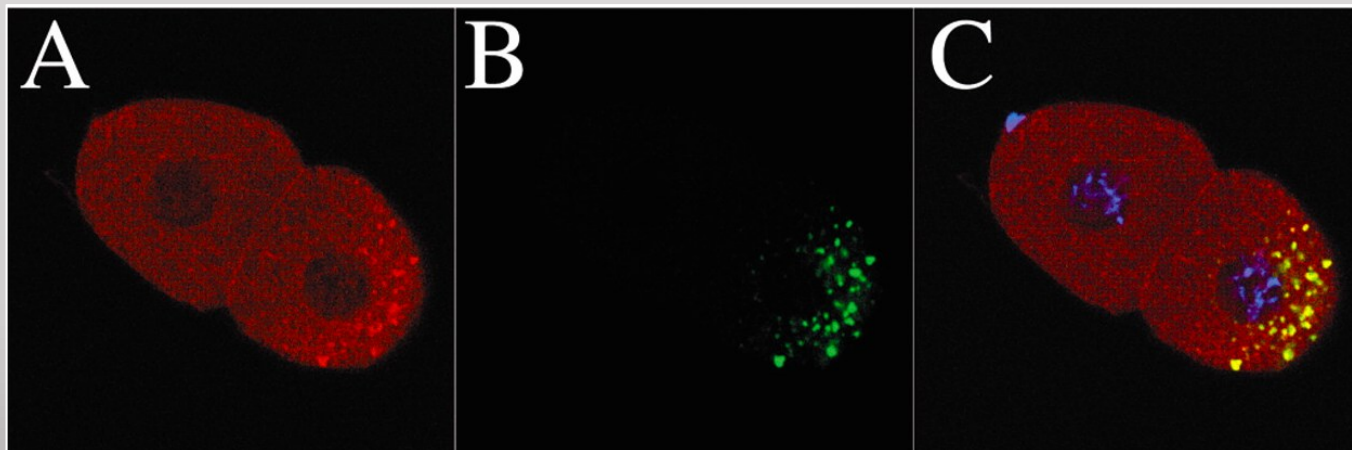


Πολλά μητρικά μηνύματα κατανέμονται ομοιόμορφα αλλά μεταφράζονται διαφορετικά στο έμβryo!

Μετάφραση μητρικών mRNA

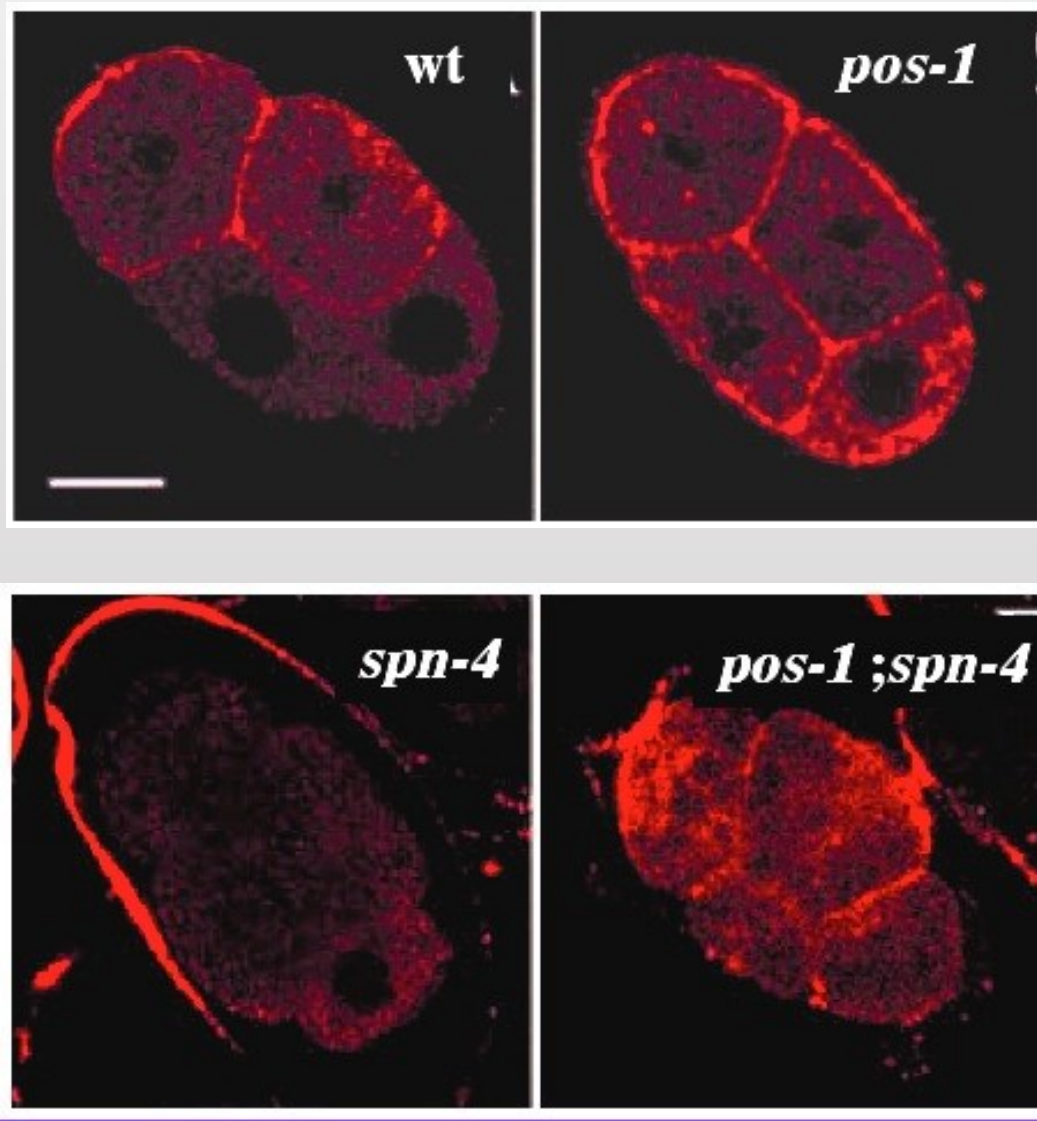


Στην 3' UTR του mRNA *glp1* εντοπίζονται ρυθμιστικές αλληλουχίες που ελέγχουν τη μετάφραση του *glp1* και αναγνωρίζονται από την POS-1 και τη SPN-4.



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

Μετάφραση μητρικών mRNA



Κατανομή της **GLP-1** σε έμβρυα:

Άγριου τύπου

Απουσία προϊόντος pos-1

Απουσία προϊόντος spn-4

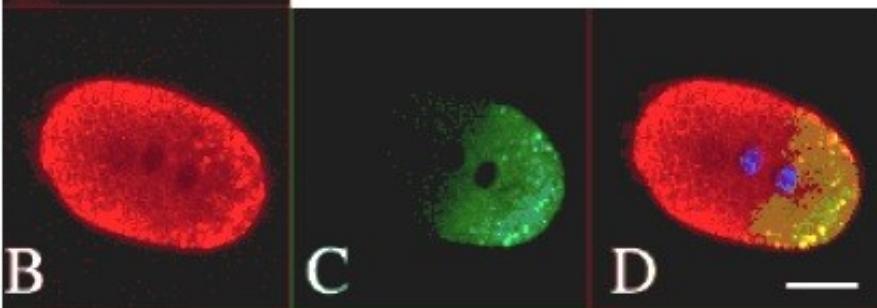
Απουσία προϊόντων pos-1 και spn-4



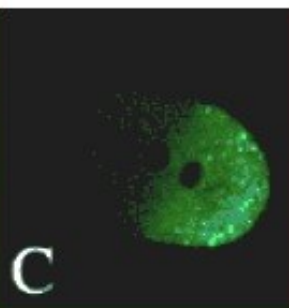
αντι-POS-1

αντι-SPN-4

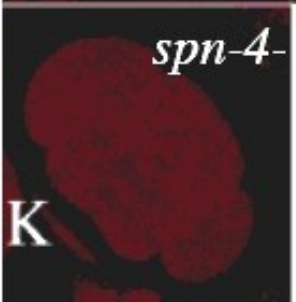
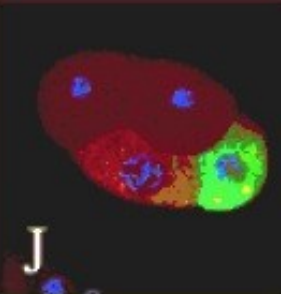
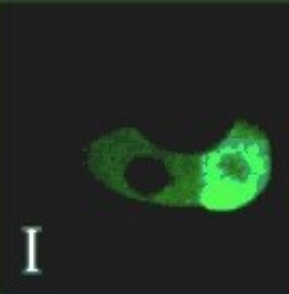
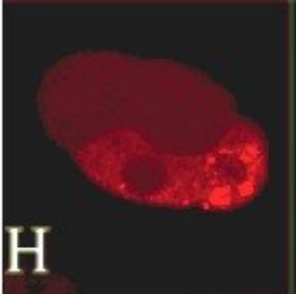
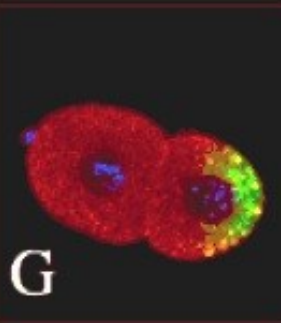
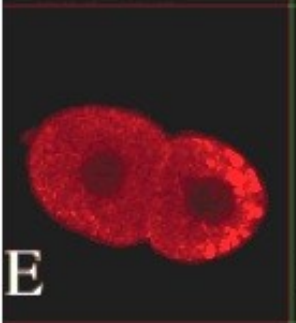
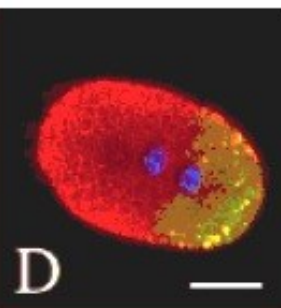
DAPI



C



D

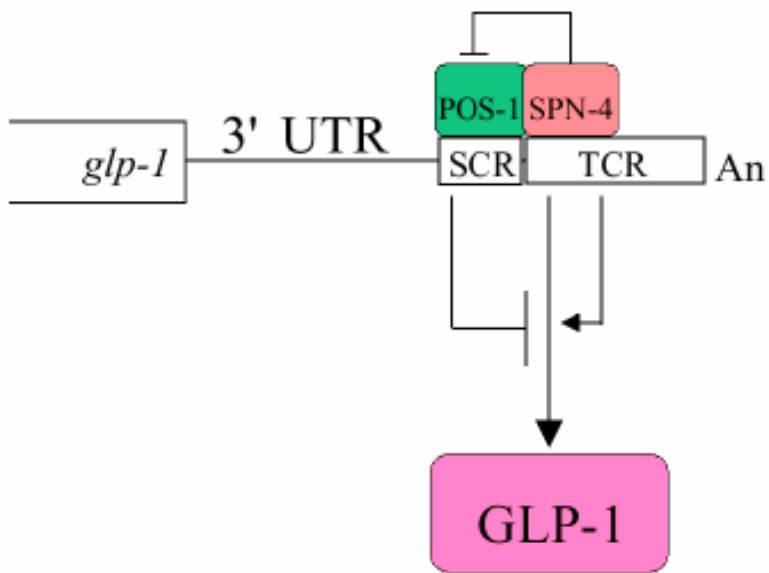


* Η POS-1 εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα και στα ABa, Abp!!

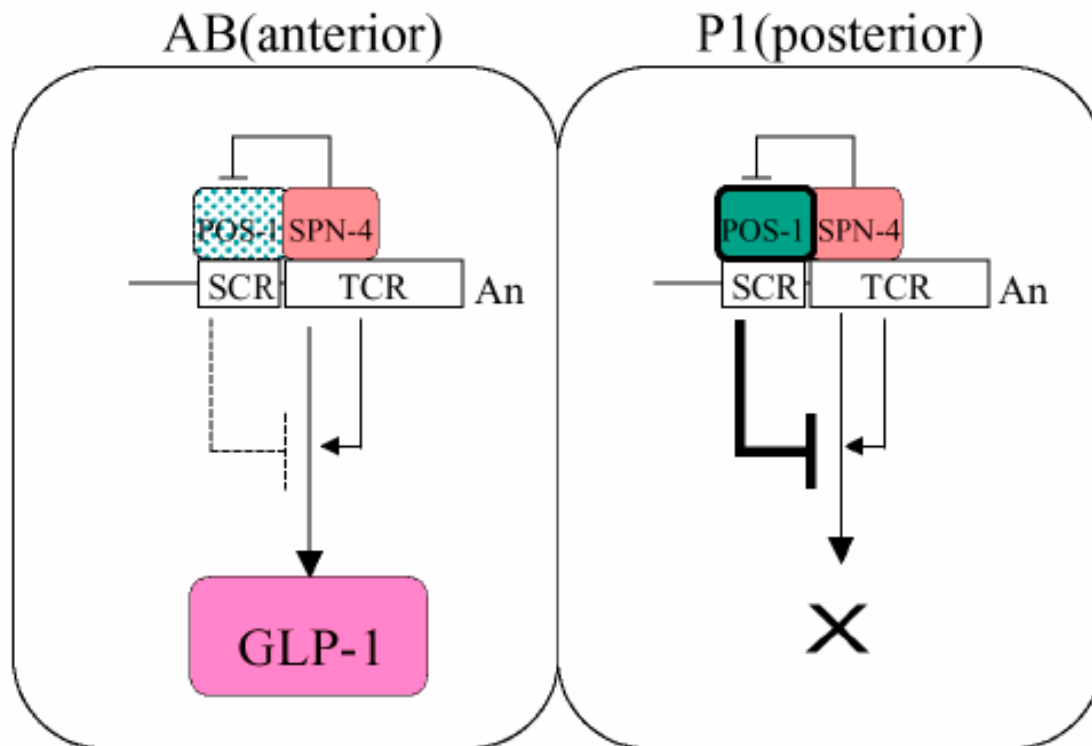
Μετάφραση μητρικών mRNA

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

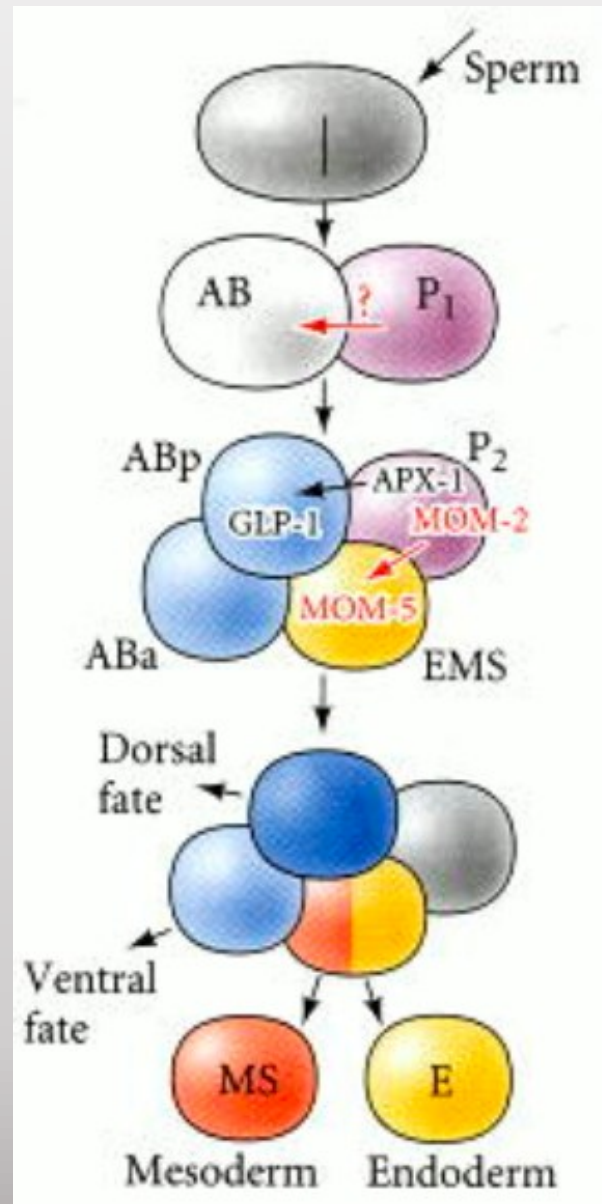
Μετάφραση μητρικών mRNA



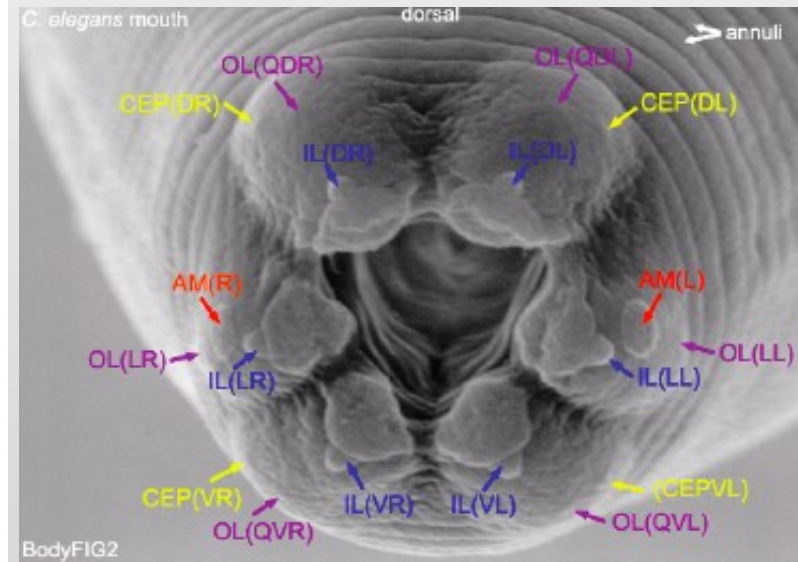
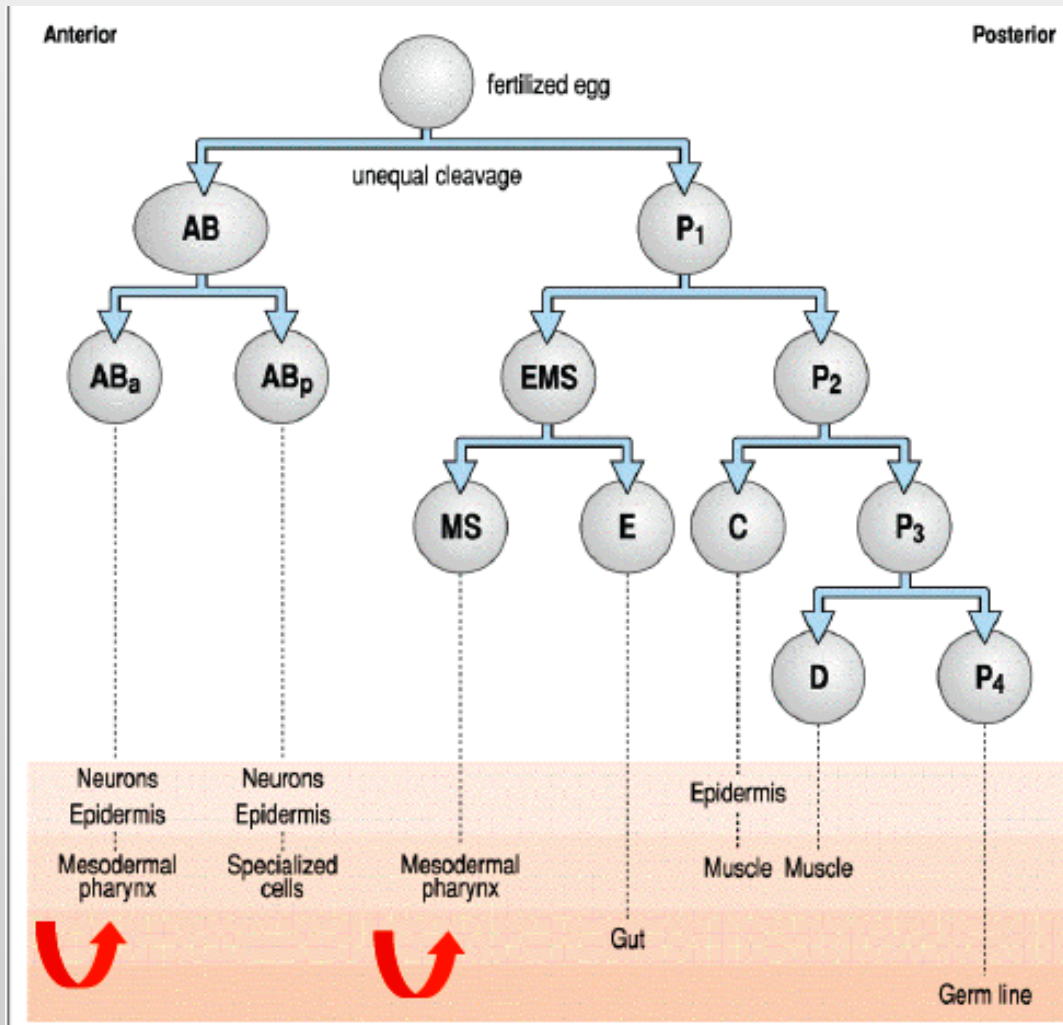
Η SPN-4 ελέγχει και τη μεταφραση των μηνυμάτων *skn-1* και *pal-1*.



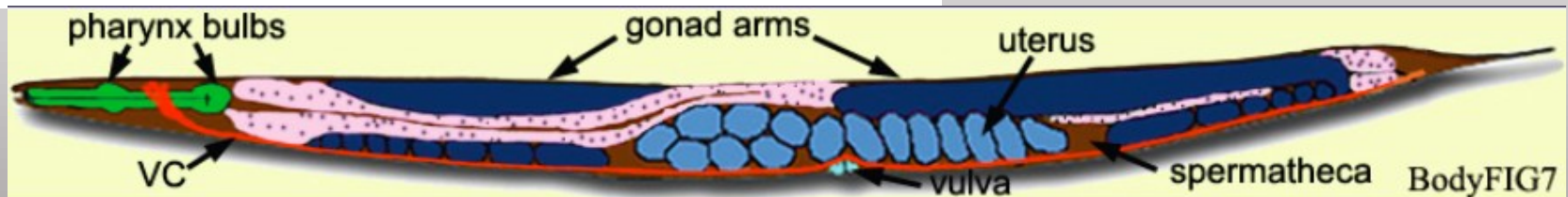
Κυτταρική επικοινωνία στο στάδιο των τεσσάρων κυττάρων



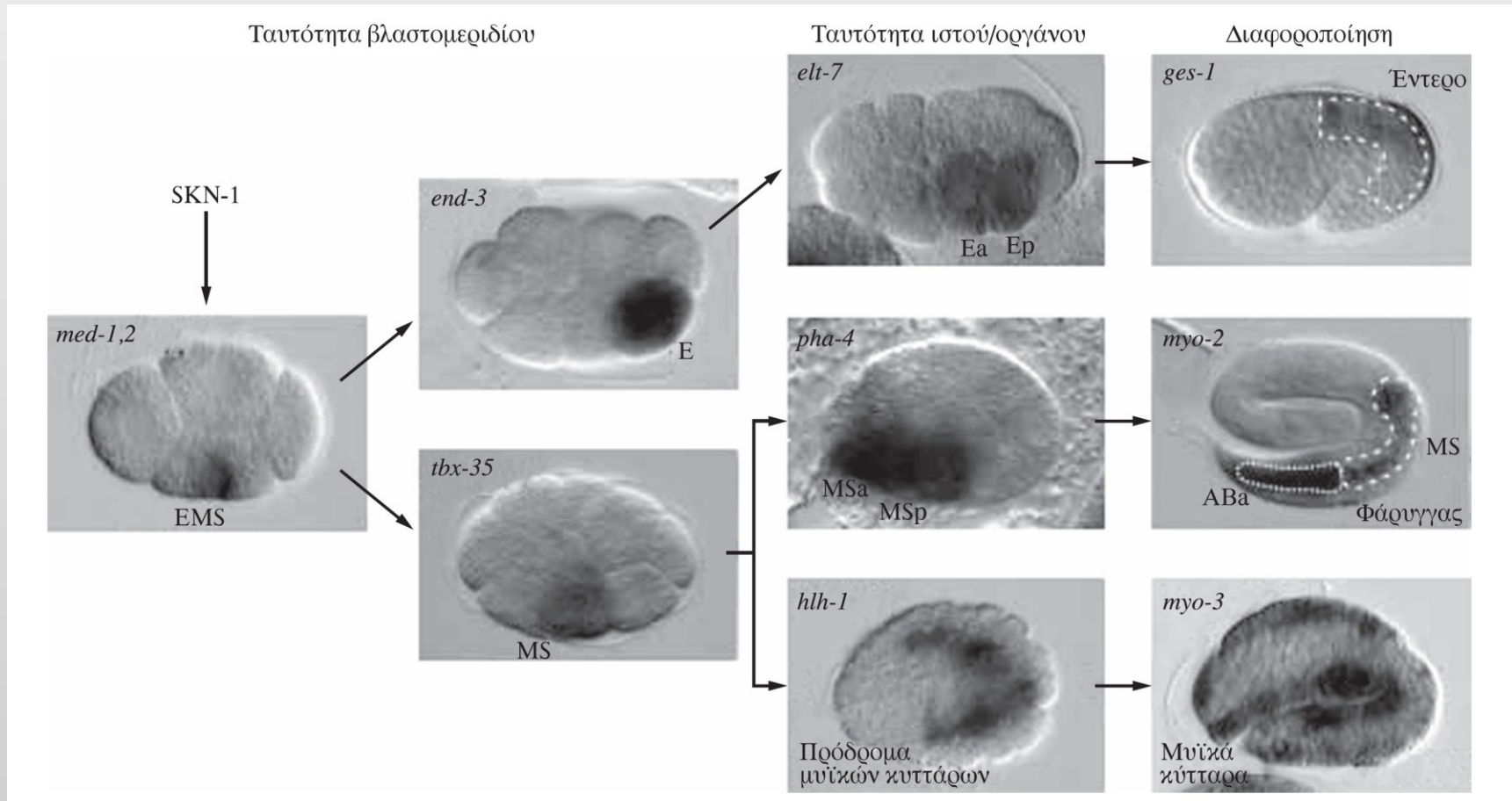
Η ανάπτυξη του φάρυγγα Από τα γονίδια μητρικής επίδρασης στα ζυγωτικά



Ο Φάρυγγας αναπτύσσεται από δύο γενεαλογίες

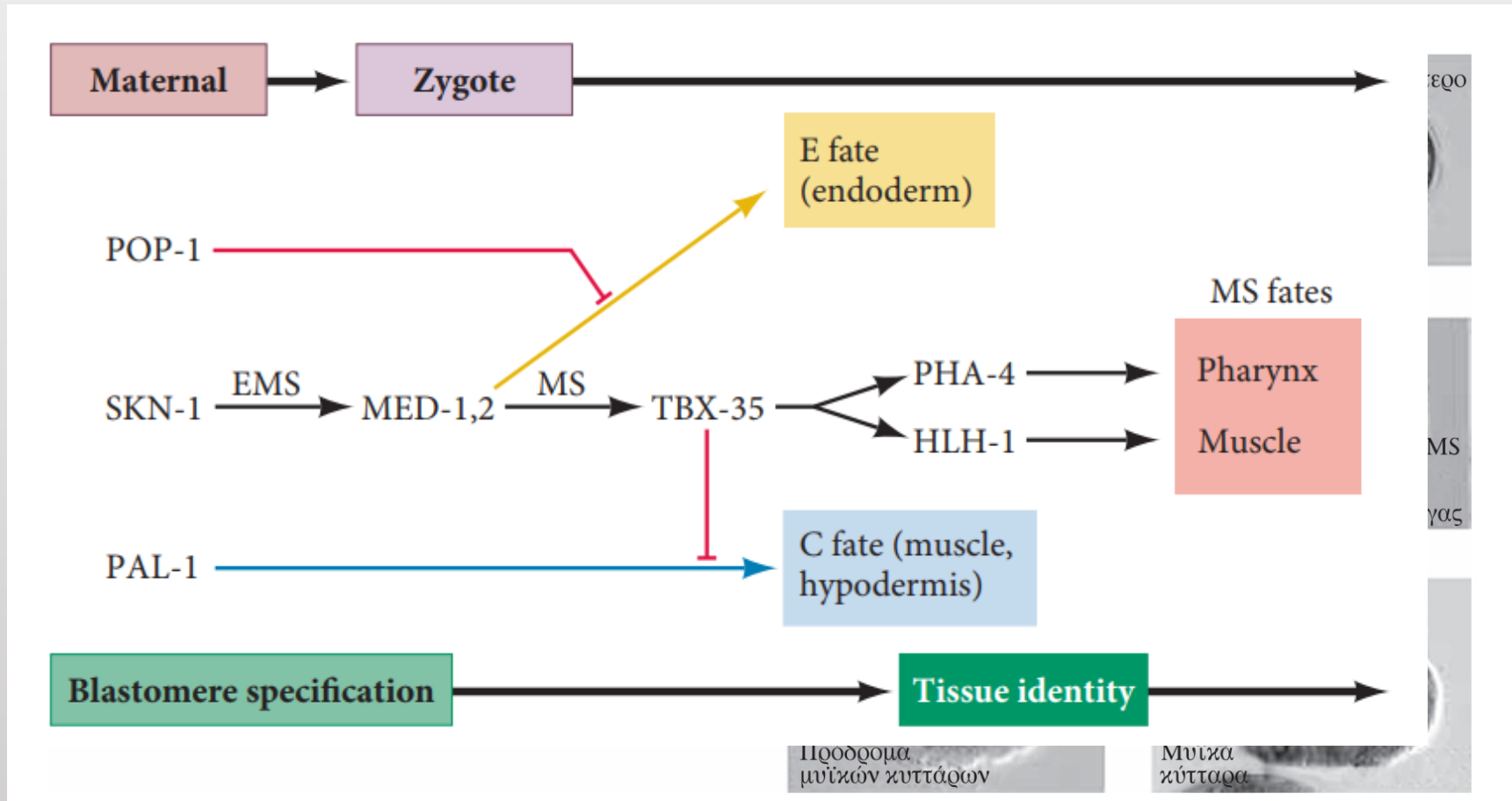


Ανάλυση της έκφρασης ζυγωτικών γονιδίων με πειράματα υβριδοποίησης *in situ*



Η έκφραση των ζυγωτικών γονιδίων είναι αποτέλεσμα του εντοπισμού καθοριστών. Από τη δημοσίευση Maduro & Rothman (2002) *Developmental Biology* **246**, 68-85, με άδεια από τον εκδοτικό οίκο Elsevier.

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



Η έκφραση των ζυγωτικών γονιδίων είναι αποτέλεσμα του εντοπισμού καθοριστών. Από τη δημοσίευση Maduro & Rothman (2002) *Developmental Biology* **246**, 68-85, με άδεια από τον εκδοτικό οίκο Elsevier.

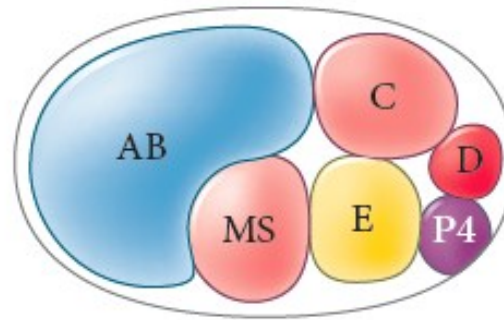
Το γονίδιο *rha-4* είναι υπεύθυνο για την ταυτότητα των κυττάρων του φάρυγγα

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

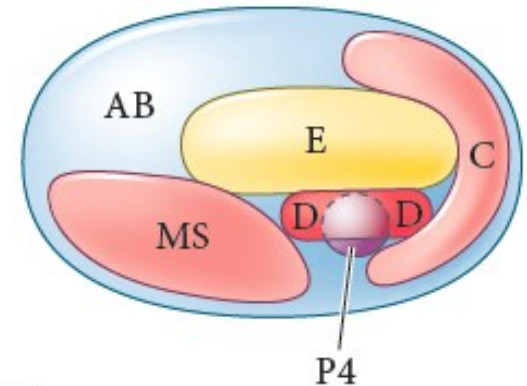
Γαστριδίωση

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

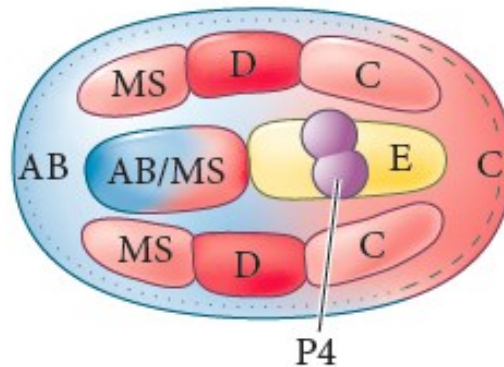
(A) 26-cell stage



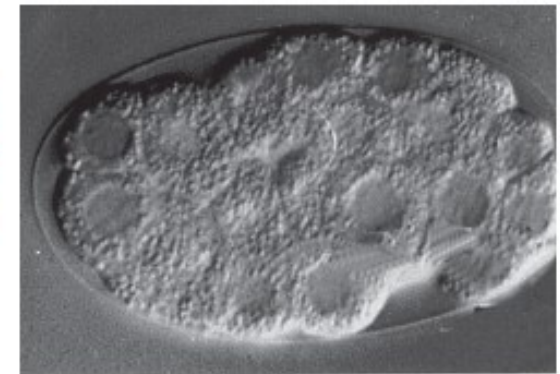
(B) 102-cell stage



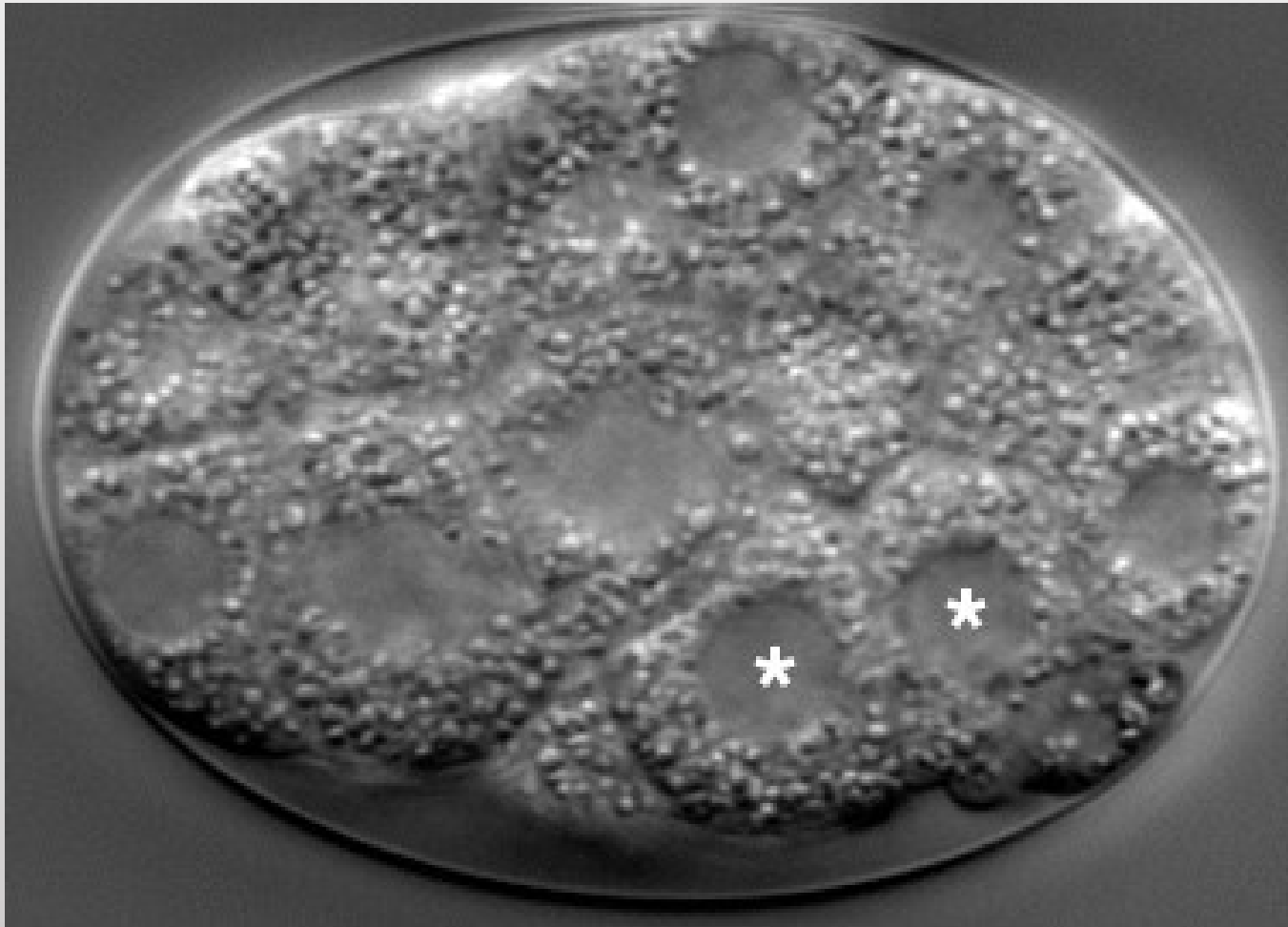
(C) end of gastrulation



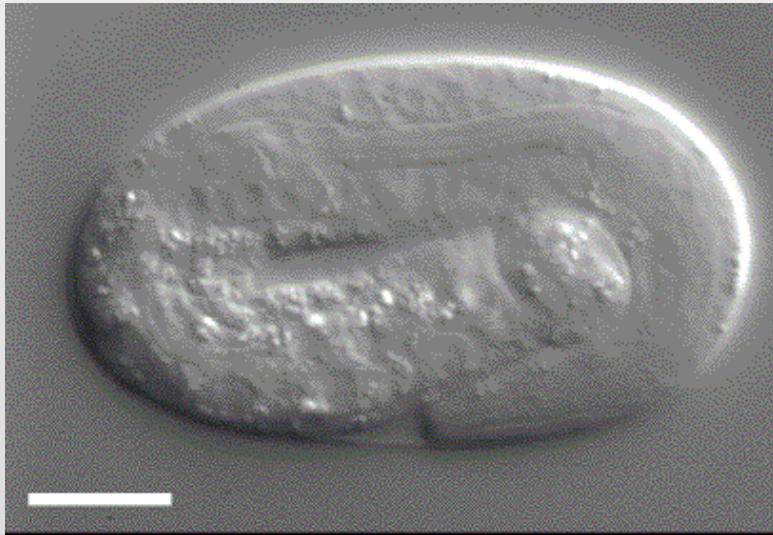
(D) 26-cell stage



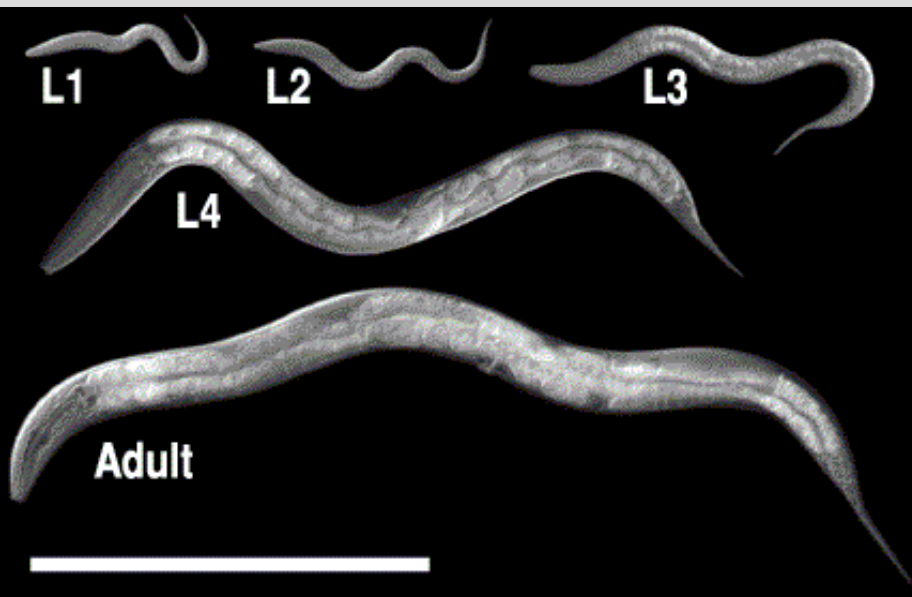
Γαστριδίωση



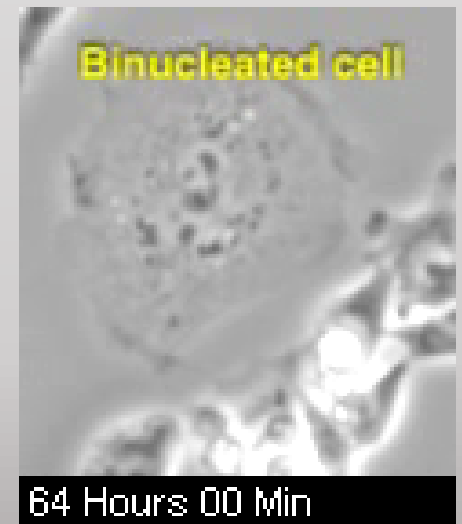
Τέλος γαστριδίωσης



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



- Τέσσερις εκδύσεις
- Όριμο άτομο



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

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

Jonathan S. Packer^{1*}, Qin Zhu^{2*}, Chau Huynh¹, Priya Sivaramakrishnan³, Elicia Preston³, Hannah Dueck^{3†}, Derek Stefanik⁴, Kai Tan^{3,5,6,7}, Cole Trapnell¹, Junhyong Kim^{4‡}, Robert H. Waterston^{1‡}, John I. Murray^{3‡}

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

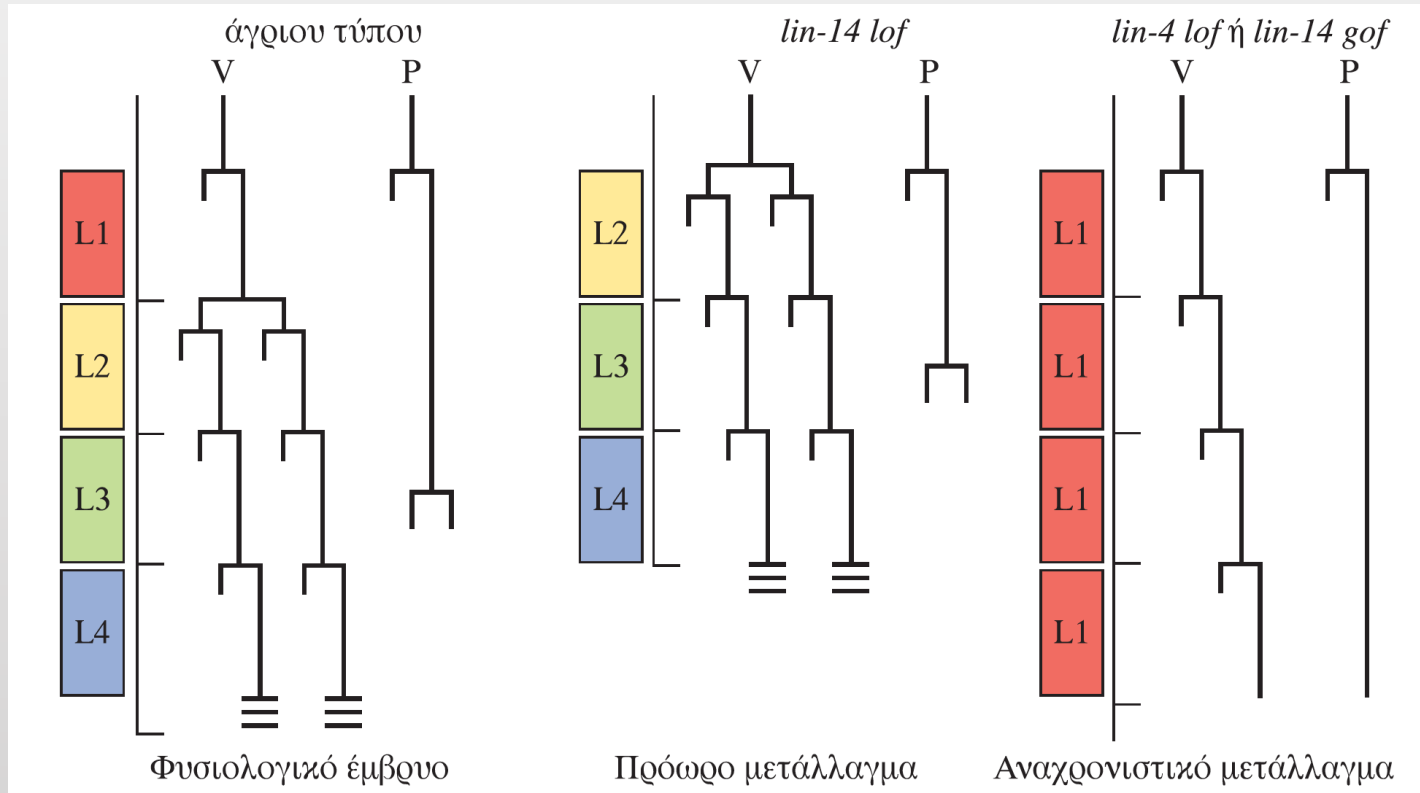
*These authors contributed equally to this work.

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

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

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

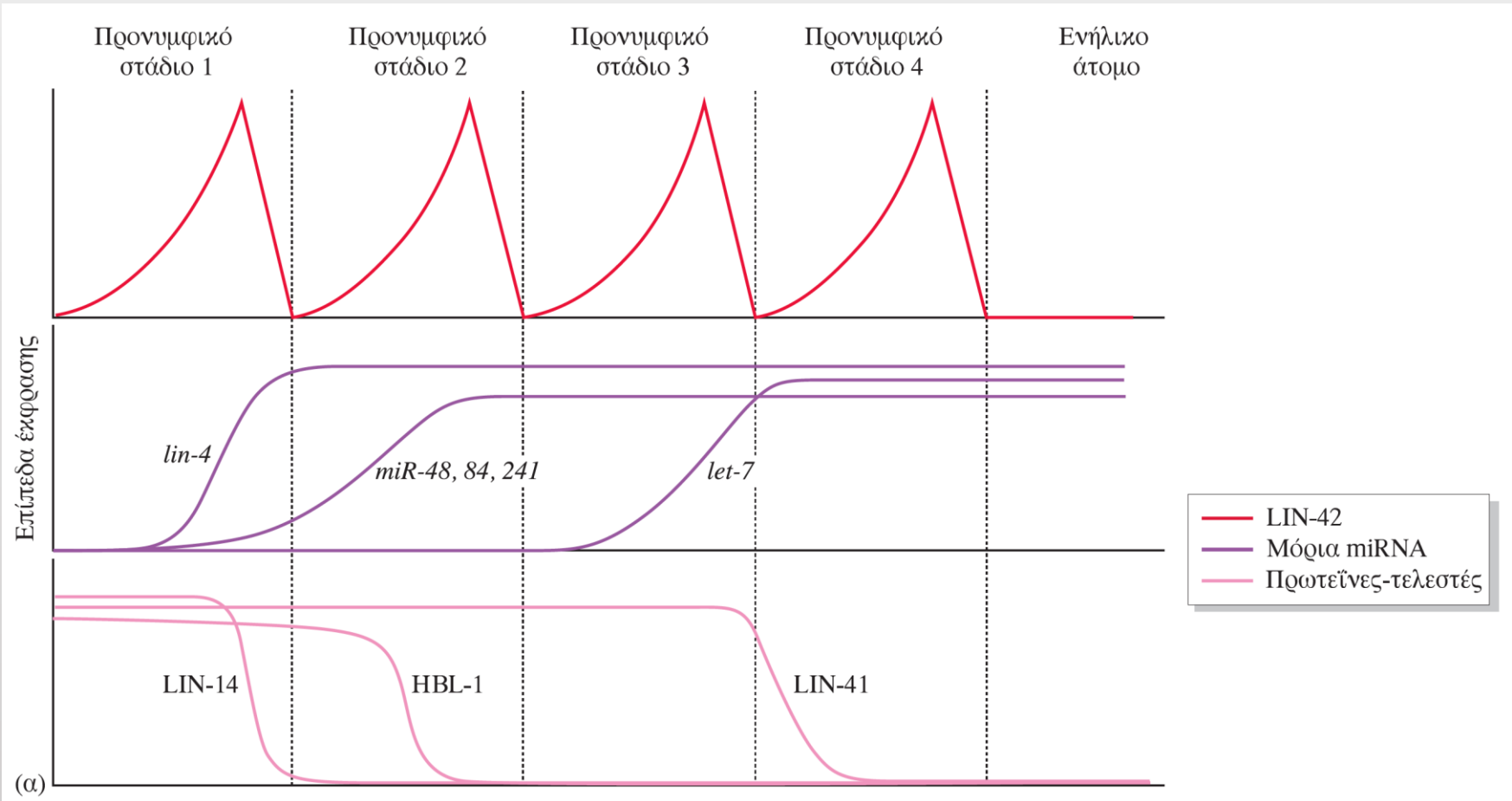
Ετεροχρονικές μεταλλαγές



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

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

Ετεροχρονικές μεταλλαγές



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



THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE 2024

Illustrations: Niklas Elmehed



Victor Ambros

Gary Ruvkun

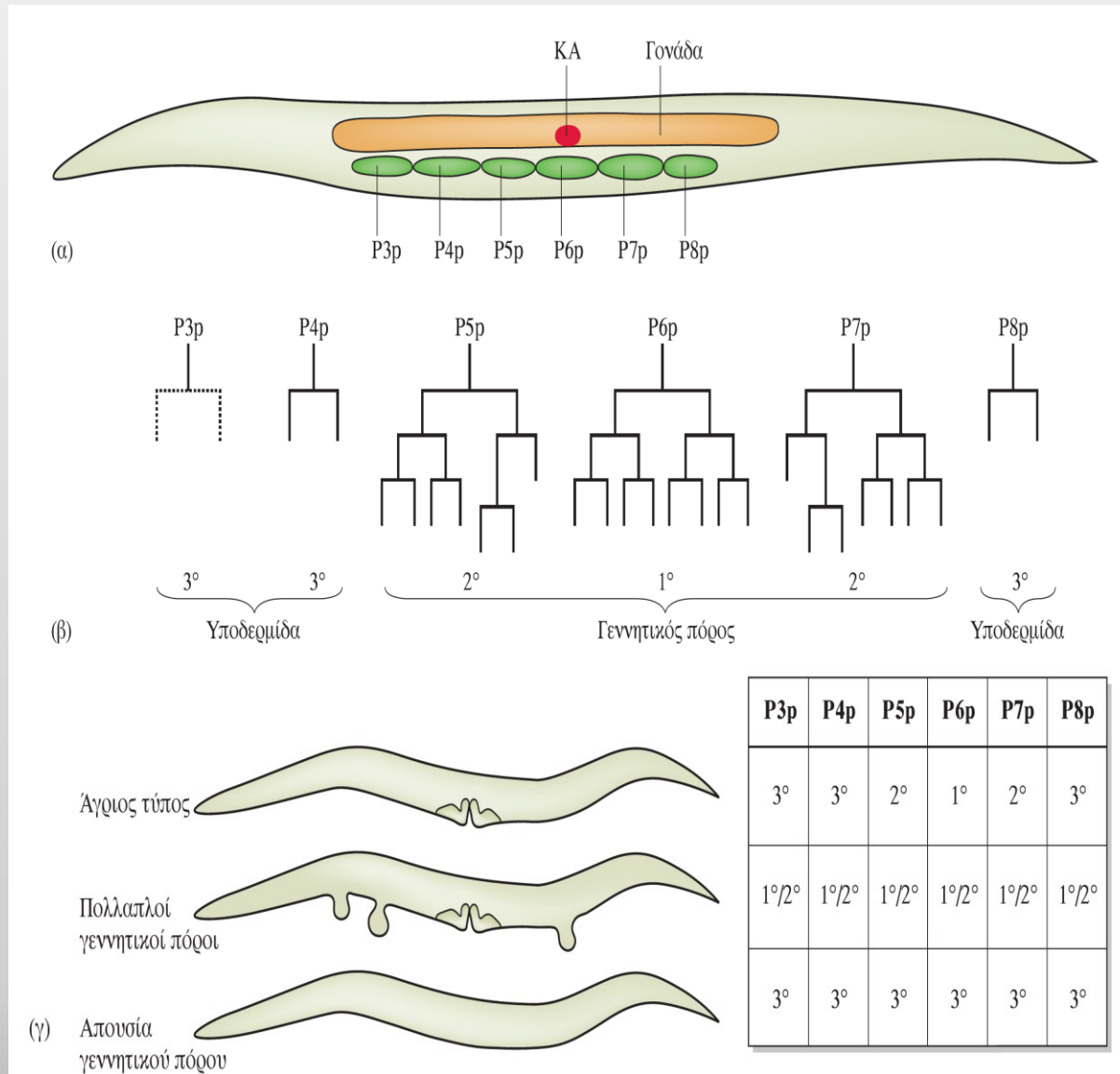
"for the discovery of microRNA and its role
in post-transcriptional gene regulation"

THE NOBEL ASSEMBLY AT KAROLINSKA INSTITUTET

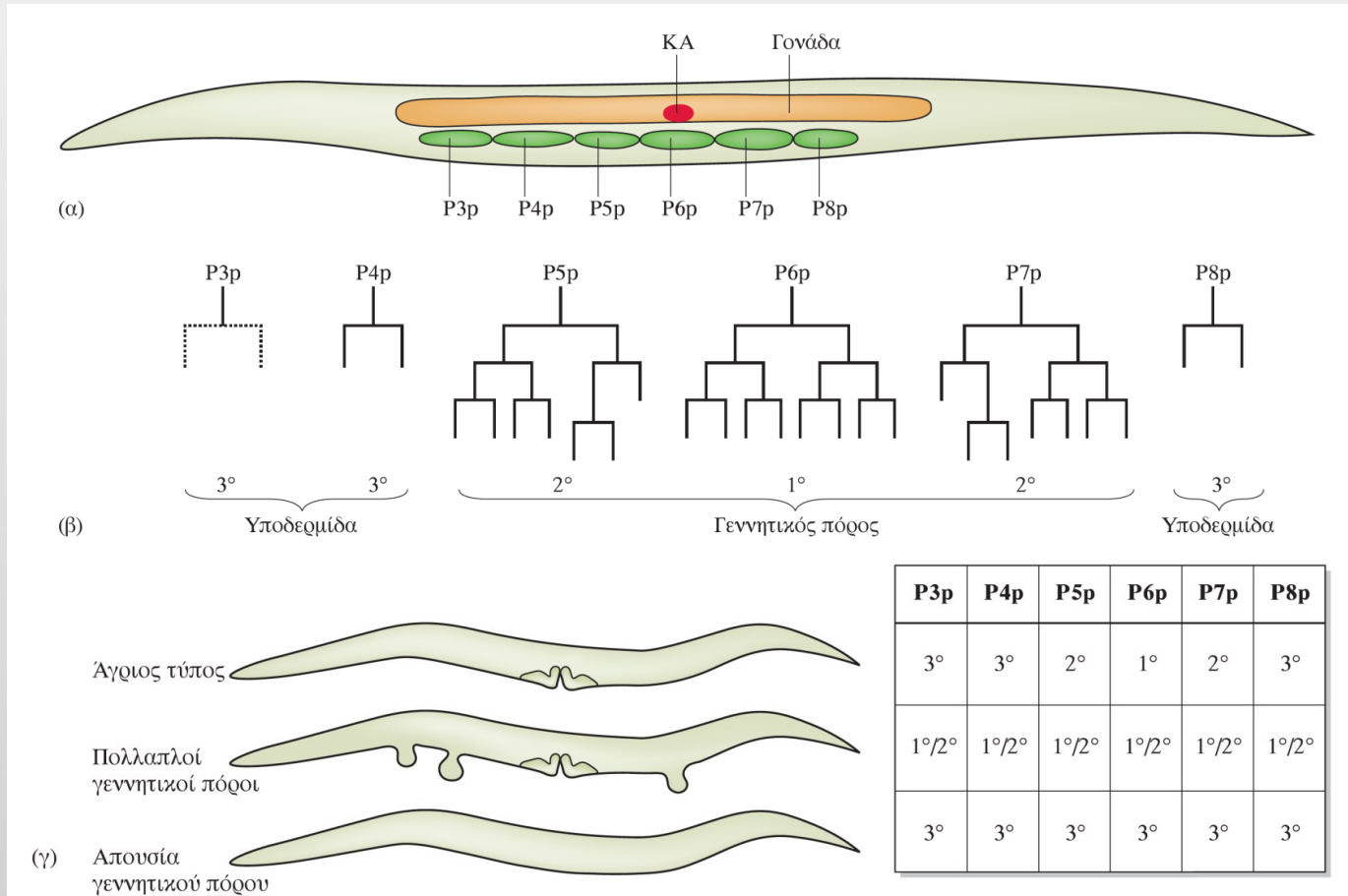


Ο γεννητικός πόρος

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

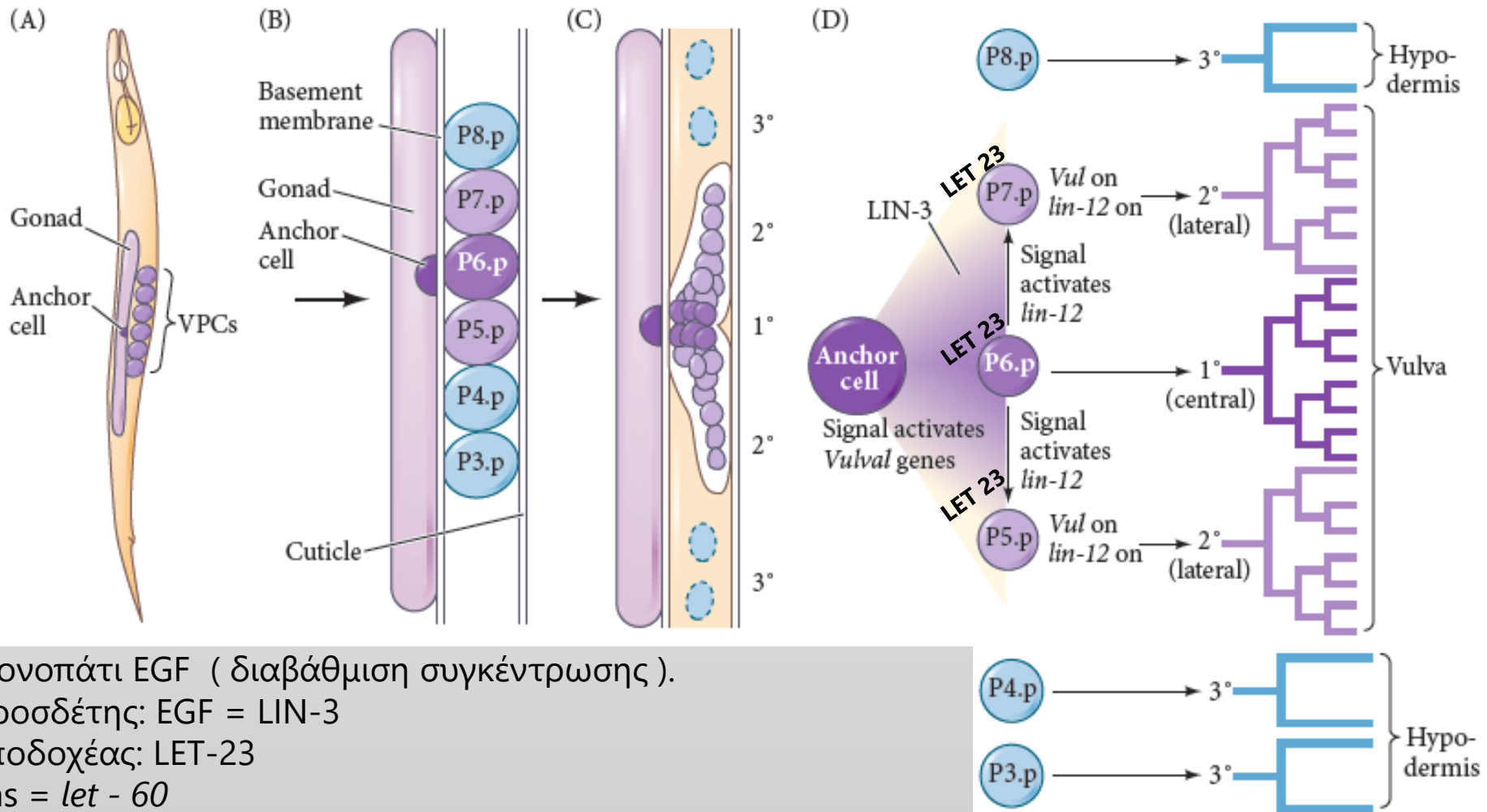


Ο γεννητικός πόρος



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

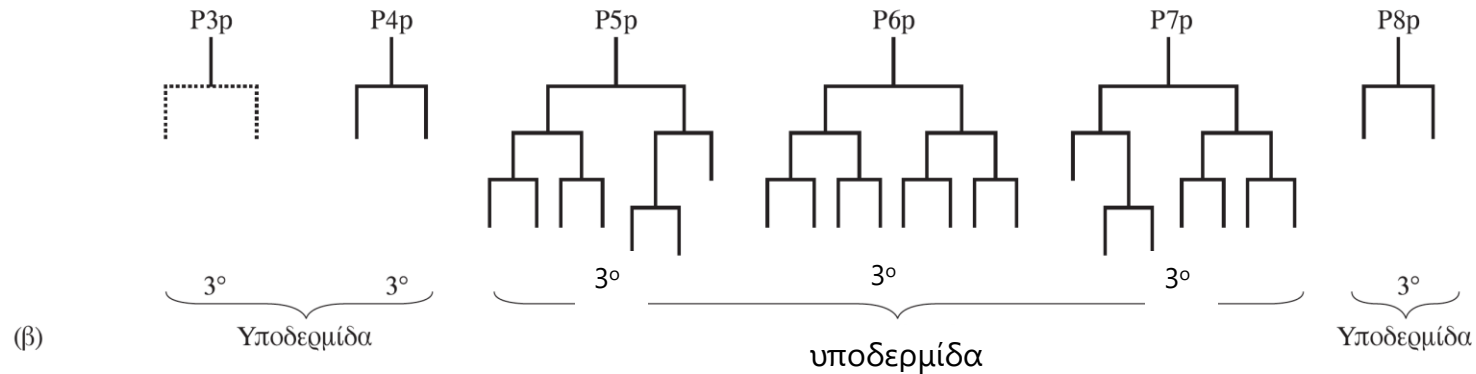
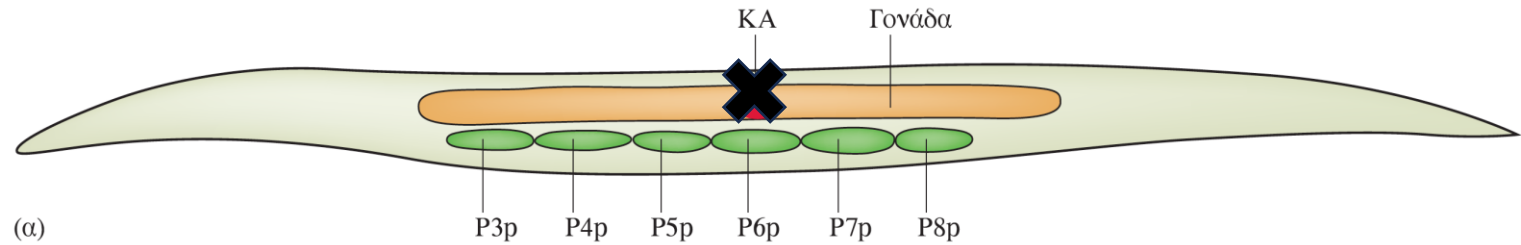
Ο γεννητικός πόρος



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

- Τα κύτταρα που βρίσκονται πιο κοντά στο ΚΑ λαμβάνουν μεγαλύτερη ποσότητα σήματος (LIN-3) και απο αυτά προκύπτει ο γεννητικός πόρος (P6p, P5p,P7p).
- Το κύτταρο που βρίσκεται πιο κοντα στο ΚΑ (P6p) λαμβάνει τη μεγαλύτερη ποσότητα σήματος και δίνει τα κεντρικά κύτταρά του.

Ο γεννητικός πόρος (μεταλλάγματα)



Άγιος τύπος

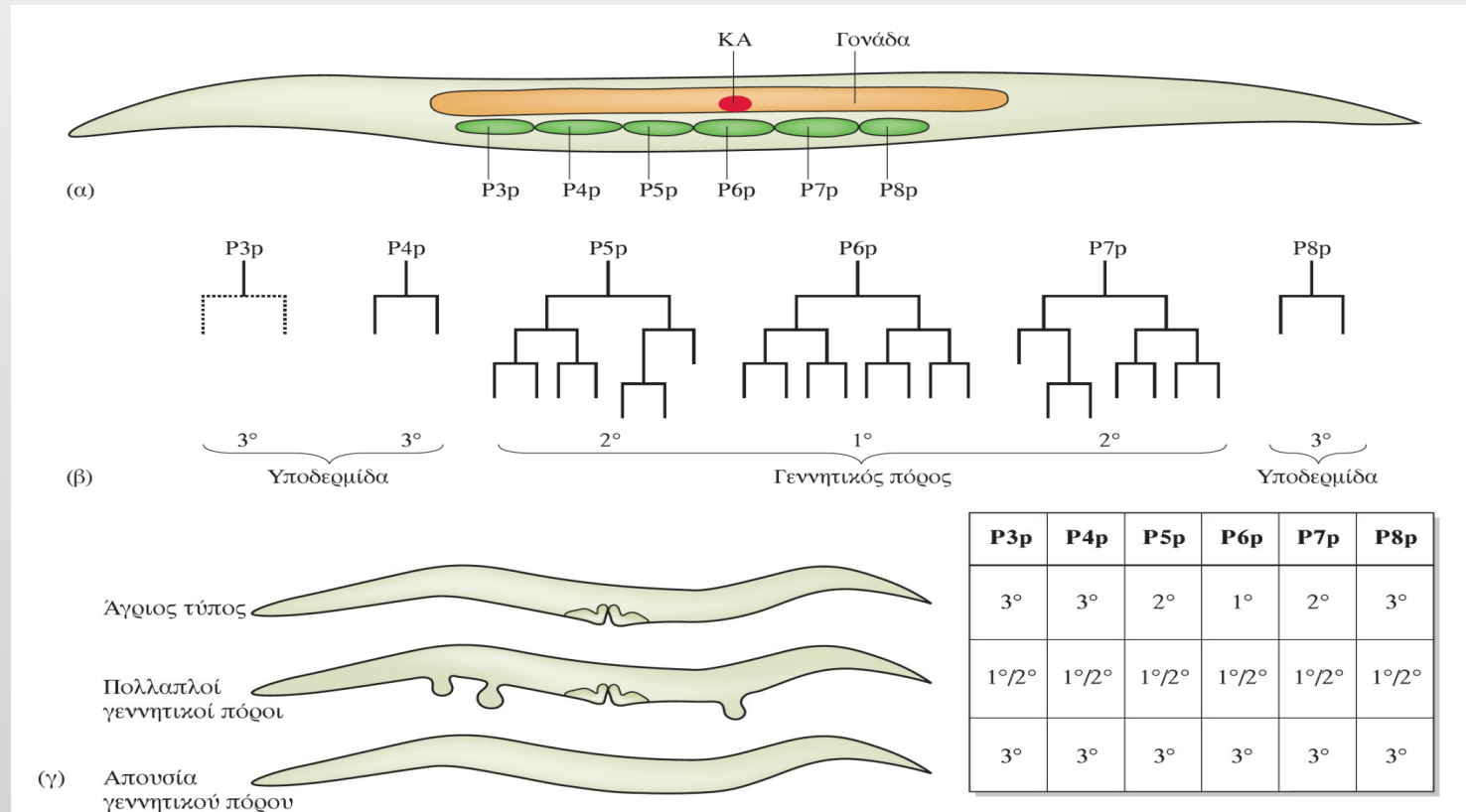
Πολλαπλοί
γεννητικοί πόροι

(γ) Απουσία
γεννητικού πόρου

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

- Θανάτωση με λείζερ του KA: Τα P3p-P8p ακολουθούν το 3°-οχι γενετικός πόρος
- Μεταλλάγματα displaced gonad = KA μετακινείται σε σχέση με τα P3p-P8p = κοντινότερο σε KA

Ο γεννητικός πόρος



Δύο κύριες ομάδες μεταλλάξεων:

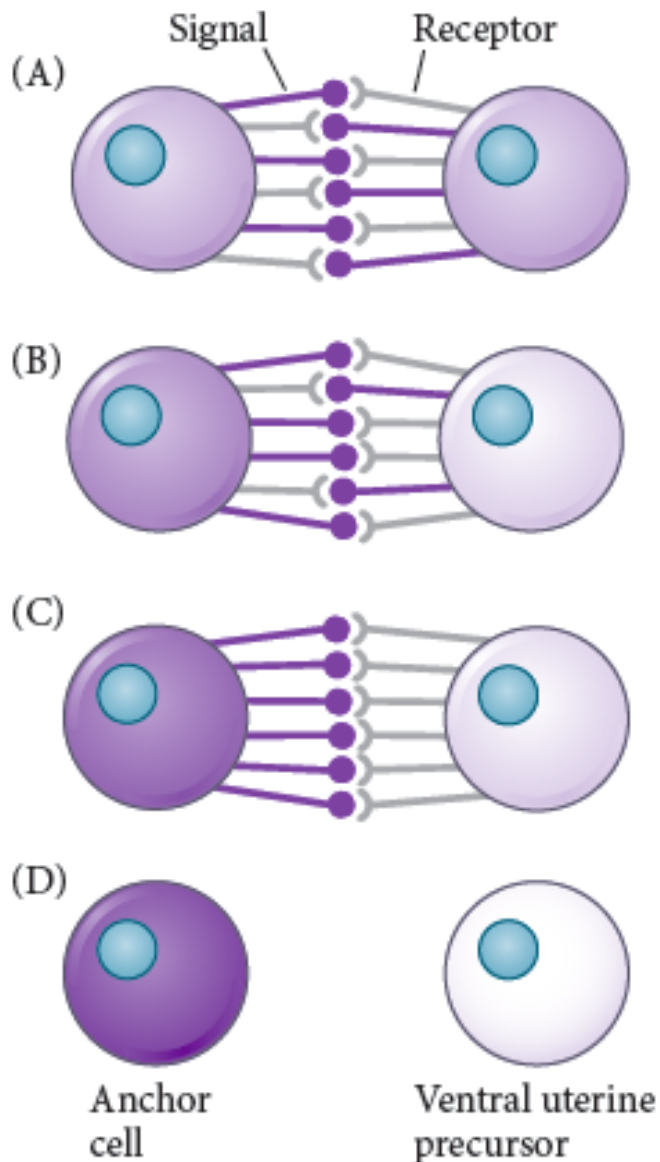
vulvaless = απουσιάζει ο γεννητικός πόρος (ιδιος φαινότυπος με καταστροφή KA).

Multivulva = πολλαπλοί γεννητικοί πόροι από την ομάδα κυττάρων P3p-P8p.

Loss - of - function let-60 = vulvaless phenotype

gain - of - function let-60 = multivulva phenotype

Ο γεννητικός πόρος (καθορισμός ΚΑ)



(Greenwald and Rubin 1992)

Πώς όμως προκύπτει το κύτταρο αγκύρωσης?

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

LIN-12 = Notch

LAG-2 = Delta

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

B) Στοχαστικά κάποιο από τα δύο θα παράγει πιο πολύ LAG-2 (Delta) και το άλλο θα αναγκαστεί να παράγει περισσότερο LIN-12.

Γ) Η ενεργοποίηση του υποδοχέα (LIN-12) καταστέλλει την έκφραση του προσδέτη (LAG-2) και επάγει την έκφραση του υποδοχέα!

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