

Εμβρυολογία

και

Μοριακή

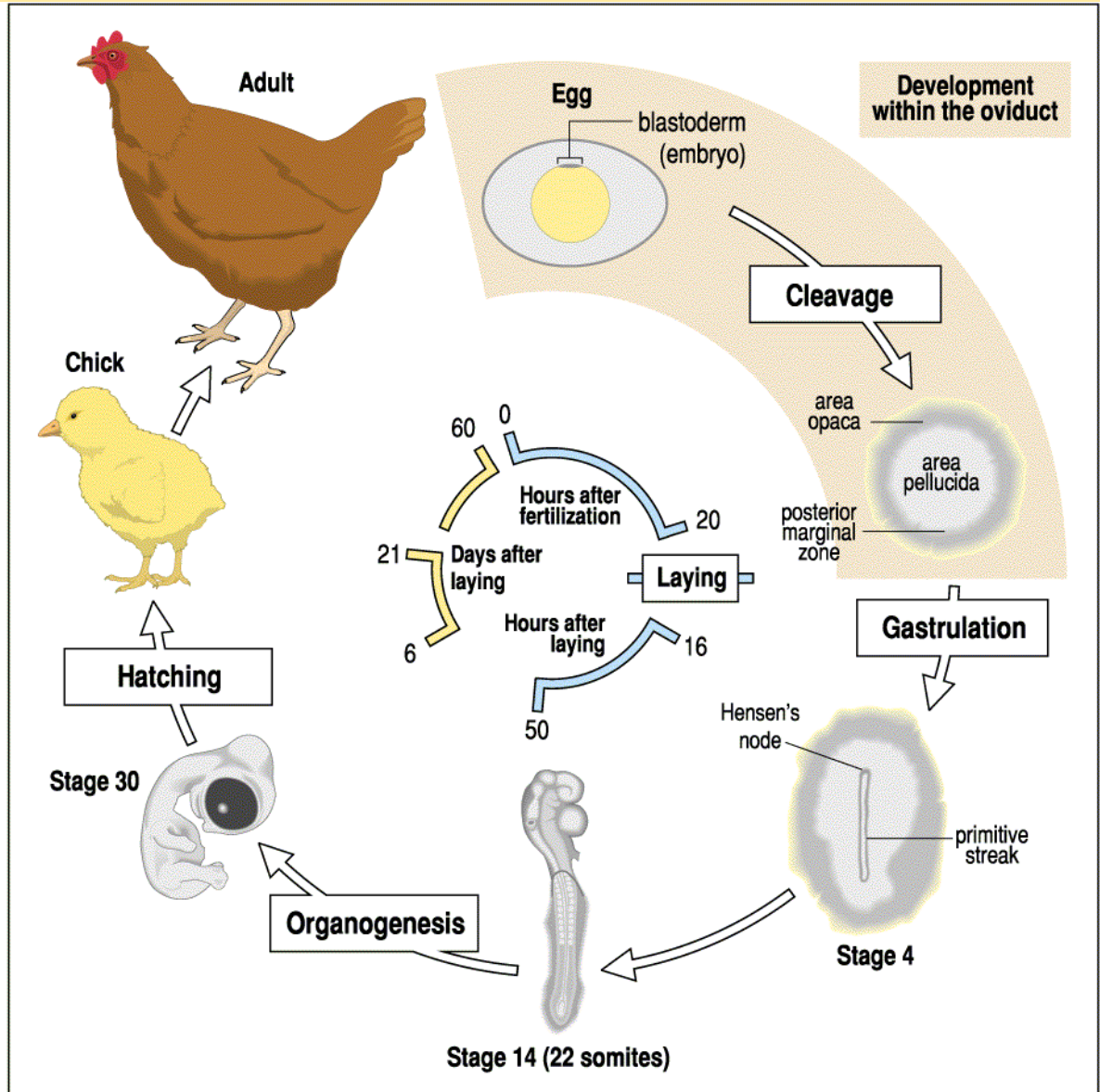
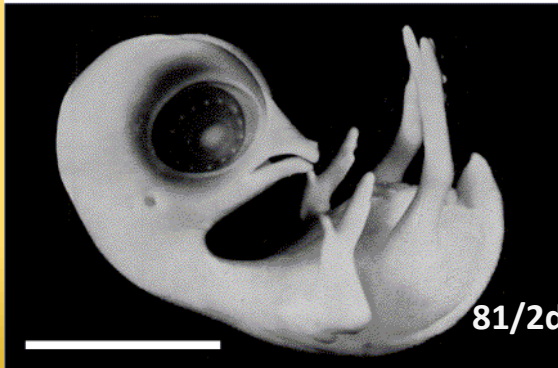
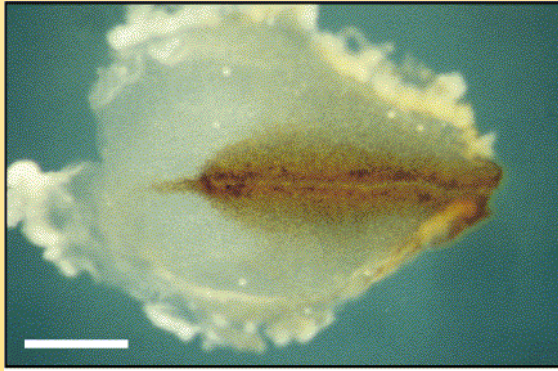
Βιολογία

Ανάπτυξης



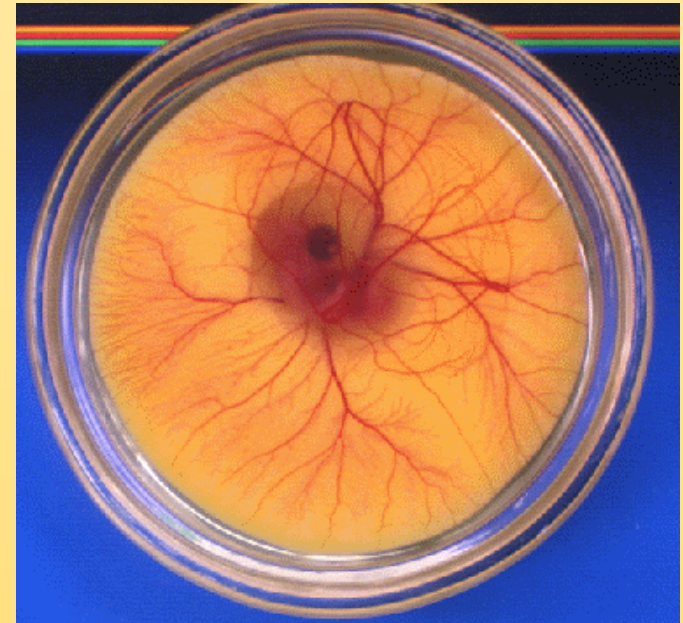
Ενότητα 6:
Η ανάπτυξη της όρνιθας

Gallus domesticus



Τα πλεονεκτήματα του *Gallus domesticus*

- Η εμβρυική ανάπτυξη του εμβρύου της όρνιθας παρουσιάζει σημαντικές ομοιότητες με αυτή των θηλαστικών.
- Τα έμβρυα προσφέρονται πολύ περισσότερο από τα θηλαστικά για μια σειρά εμβρυολογικών χειρισμών (π.χ. Μεταμοσχεύσεις εμβρυϊκών τμημάτων).
- Τα έμβρυα αναπτύσσονται γρήγορα.
- Οι χειρισμοί μπορούν να γίνουν και μέσα στο αυγό χωρίς την απομάκρυνση του εμβρύου η θρέψη εξακολουθεί και γίνεται από αυτό.
- Μπορεί κανείς να προμηθεύεται καθημερινά όσα έμβρυα θέλει σε χαμηλές τιμές από το ελεύθερο εμπόριο.
- Δεν απαιτούνται ιδιαίτερες εγκαταστάσεις (μόνο επωαστήρες).
- Αλληλούχηση γονιδιώματος, 2004.



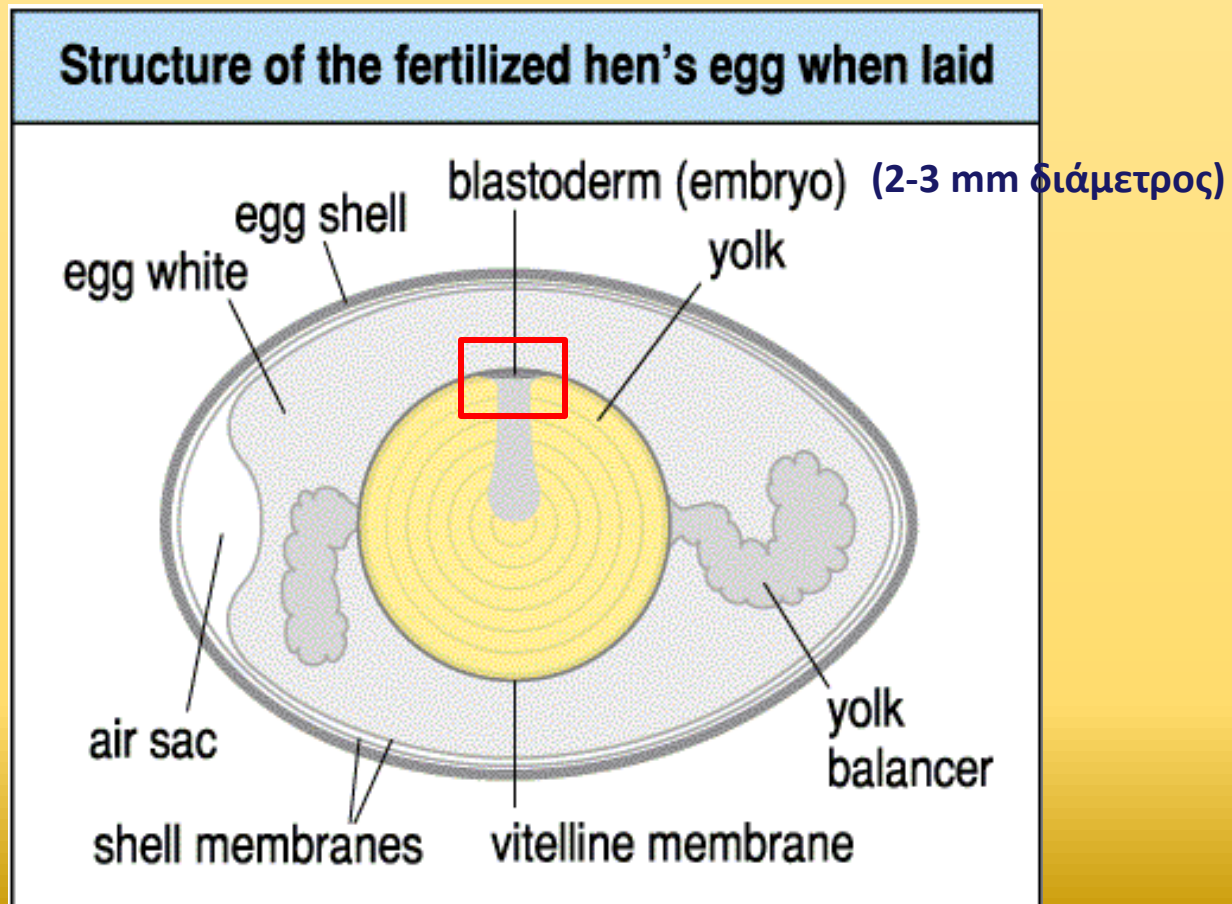
Τα μειονεκτήματα του *Gallus domesticus*

- Παντελής απουσία Γενετικής (πολύ δύσκολα πρωτόκολλα).
- Απουσία διαγονιδιακής Τεχνολογίας (υπάρχουν ωστόσο μέθοδοι υπερ/εκτοπικής έκφρασης). Crispr/Cas9 (δυσκολα πρωτόκολλα)

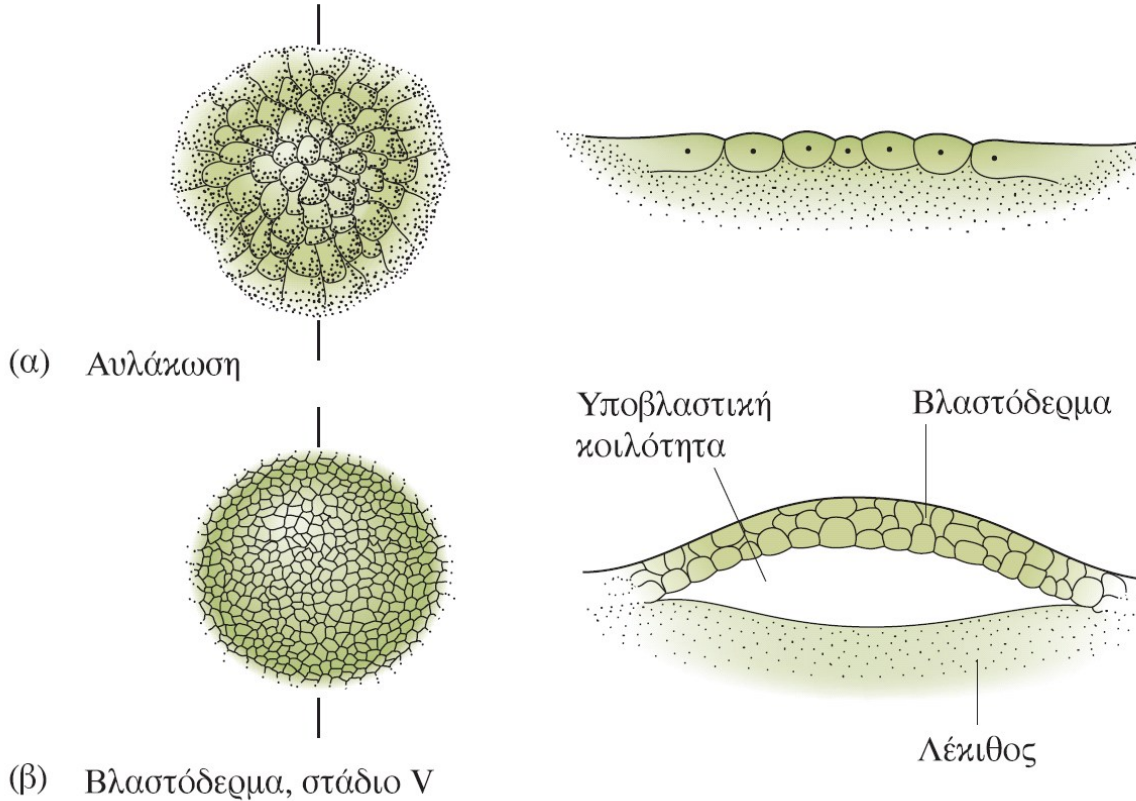


Το αυγό του *Gallus domesticus*

- Υψηλή περιεκτικότητα σε λέκιθο (Τελολεκιθικά).
- Η αλβουμίνη (ασπράδι) και το κέλυφος εναποτίθενται καθώς προωθείται στον ωαγωγό μετά τη γονιμοποίηση.
- Η αυλάκωση λαμβάνει χώρα στον ωαγωγό.



Αυλάκωση

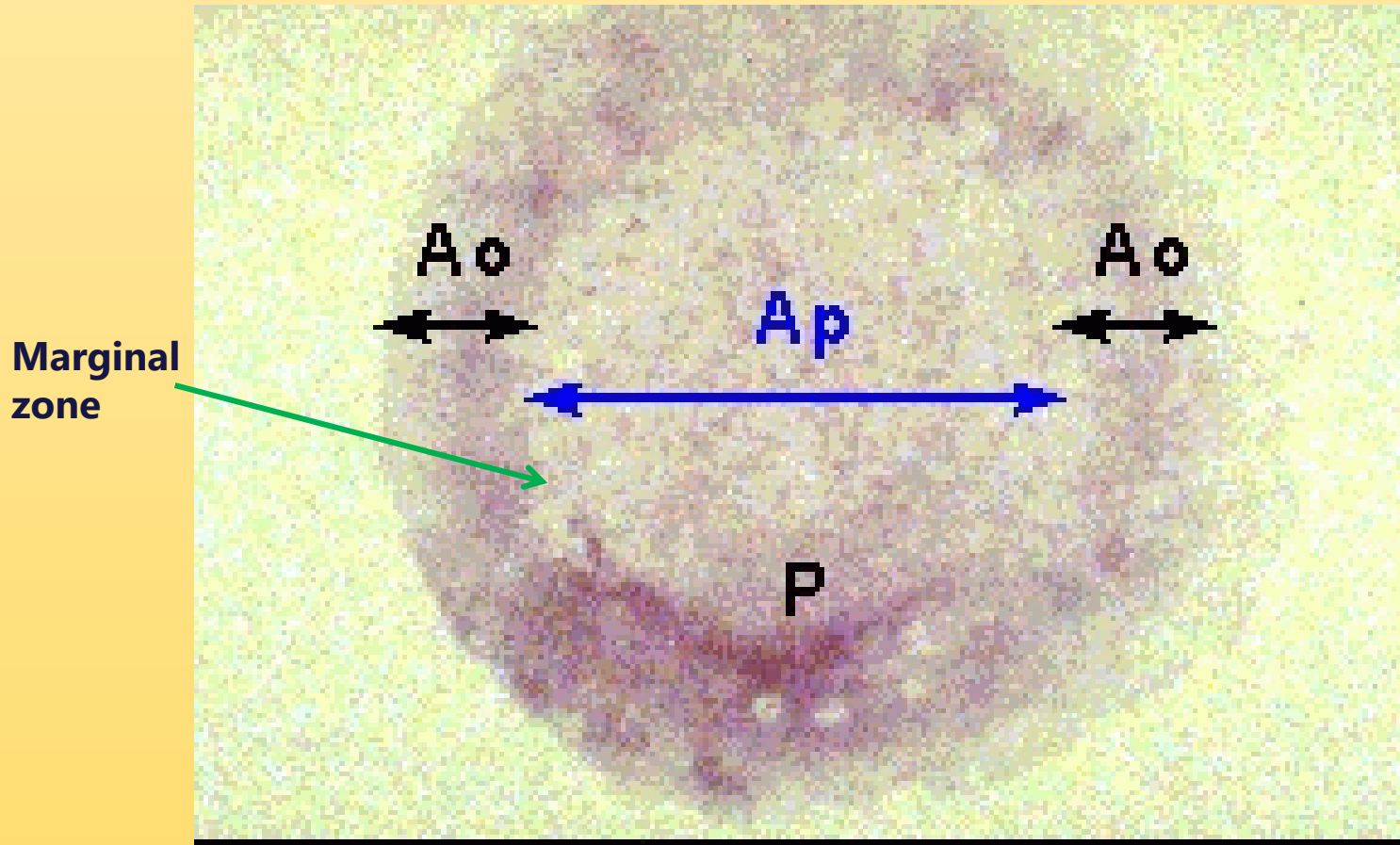


Μεροβλαστική δισκοειδής

οι κυτταρικές διαιρέσεις
περιορίζονται στο ελάχιστο
κυτταρόπλασμα που
υπάρχει στο ζωϊκό πόλο.

Η ανάπτυξη του βλαστοδέρματος στο έμβryo της όρνιθας.
Οι κατακόρυφες γραμμές απεικονίζουν τα επίπεδα στα οποία έχουν γίνει οι τομές που
παρουσιάζονται στη δεξιά πλευρά.

Αυλάκωση



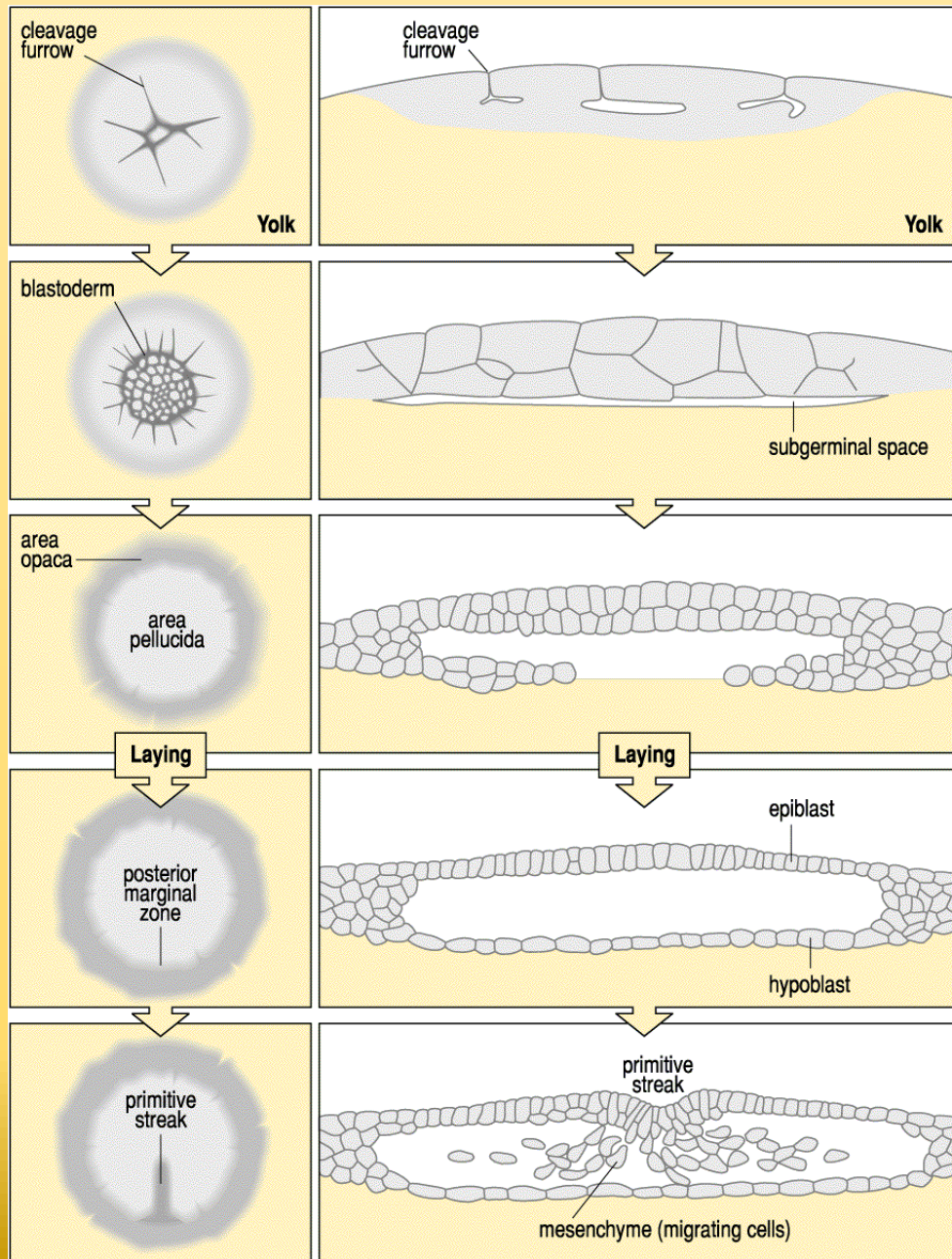
Area pellucida (διαφανής ζώνη): Το τμήμα του βλαστοδέρματος (κεντρικό) απο το οποίο προκύπτει κυρίως το έμβρυο.

Area opaca (αδιαφανής ζώνη): Το τμήμα του βλαστοδέρματος (περιφερειακό) απο το οποίο προκύπτουν εξωεμβρυϊκές δομές.

Marginal zone (οριακή ζώνη): Τμήμα ανάμεσα στις δύο περιοχές

Αυλάκωση

σχηματισμός επιβλάστης στο έμβρυο της ορνιθας

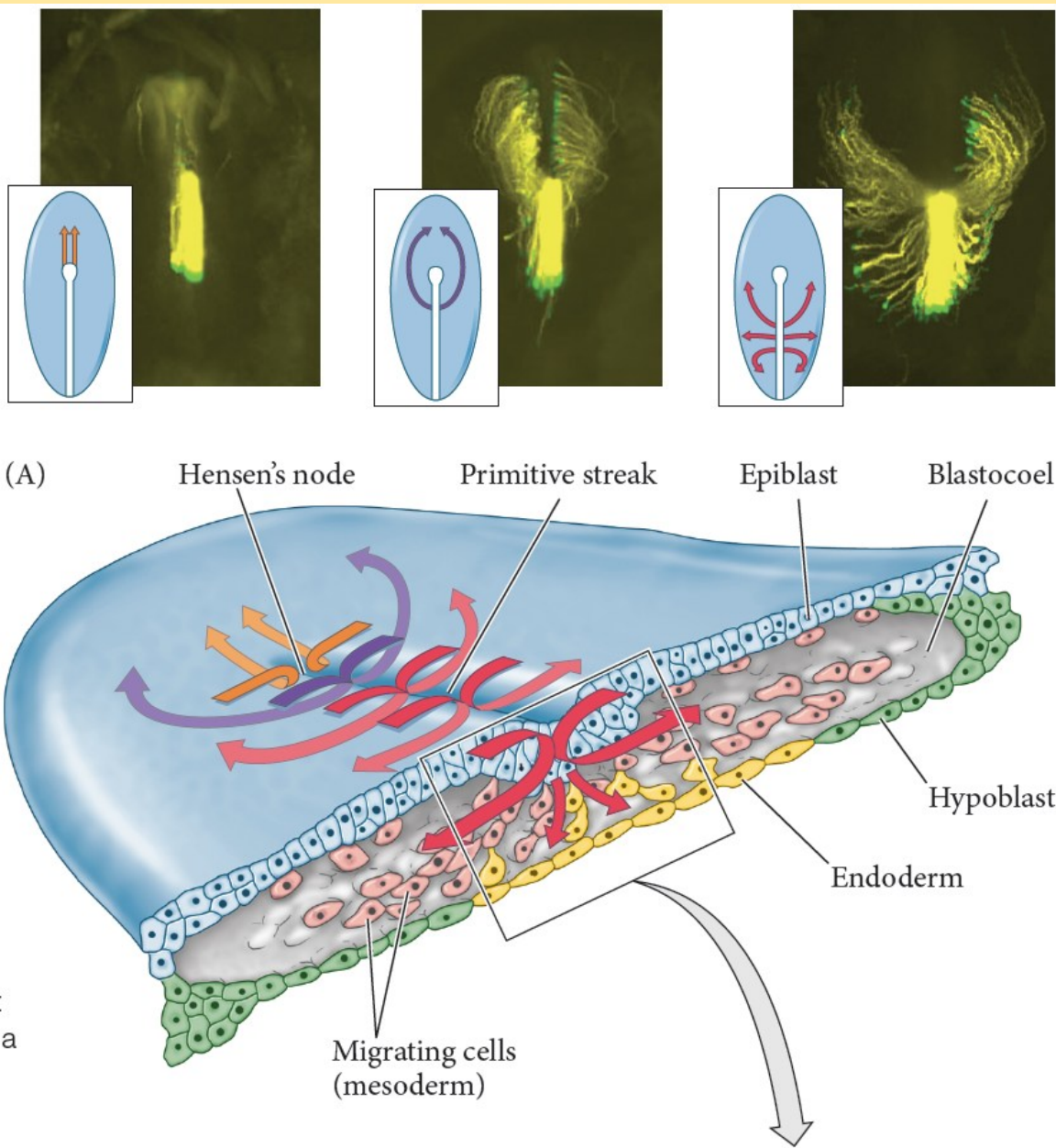


- Η πρώτη διαίρεση γίνεται κοντά στο κέντρο.
- Αρχικά τα κύτταρα είναι σε επαφή με τη λέκιθο, στη συνέχεια αποχωρίζονται (σχηματισμός υποβλαστικής κοιλότητας).
- Κατά τη γέννηση το βλαστόδερμα (βλαστίδιο) αποτελείται από 2×10^4 - 6×10^4 κύτταρα.
- Αποκόλληση - μετανάστευση κυττάρων από το βλαστόδερμα και την οπίσθια οριακή ζώνη οδηγεί στο δίστιβο έμβρυο (**υποβλάστη-επιβλάστη**).

Επιβλάστη: Προκύπτει κυρίως το έμβρυο και κάποιες εξωεμβρυϊκές δομές.

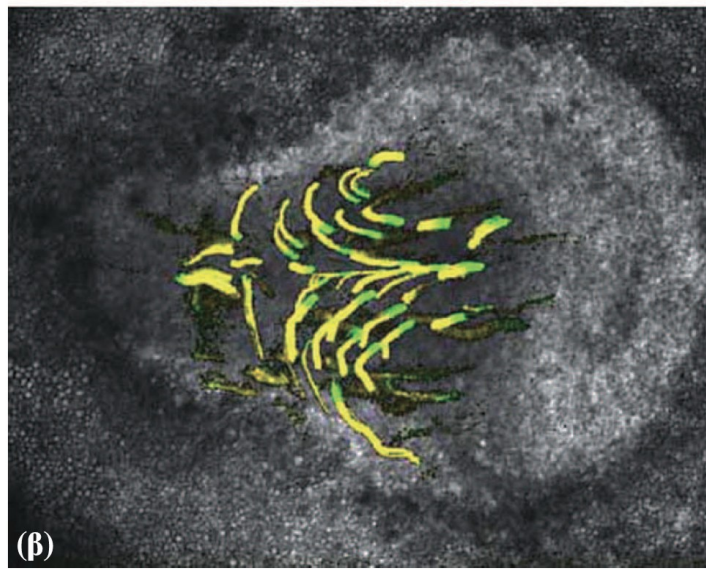
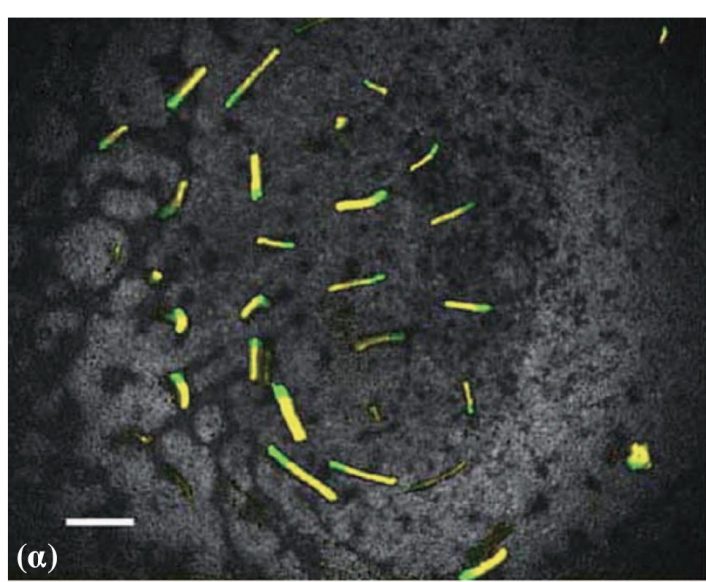
Υποβλάστη: Προκύπτουν μόνο εξωεμβρυϊκές δομές.

Γαστριδίωση στο έμβryo της ορνιθας



- Η γαστριδίωση αρχίζει με το σχηματισμό της **αρχικής γραμμής** (priminitive streak) που εκτείνεται από την οπίσθια οριακή ζώνη (απο το μελλοντικά όπισθιο τμήμα).
- Τα μελλοντικά ενδοδερμικά και μεσοδερμικά κύτταρα μεταναστεύουν μέσω της αρχικής γραμμής. Το εμπρόσθιο τμήμα της ονομάζεται **κομβος του Hensen**.
- Από τον κόμβο του Hensen διέρχονται πρώτα φαρυγγικό ενδόδερμα, προχορδιαία πλάκα, χορδομεσόδερμα (=κεφαλή και νωτοχορδή).

Οι κινήσεις του «πολωνικού χορού» των κυττάρων της επιβλάστης κατά τον σχηματισμό της αρχικής λωρίδας

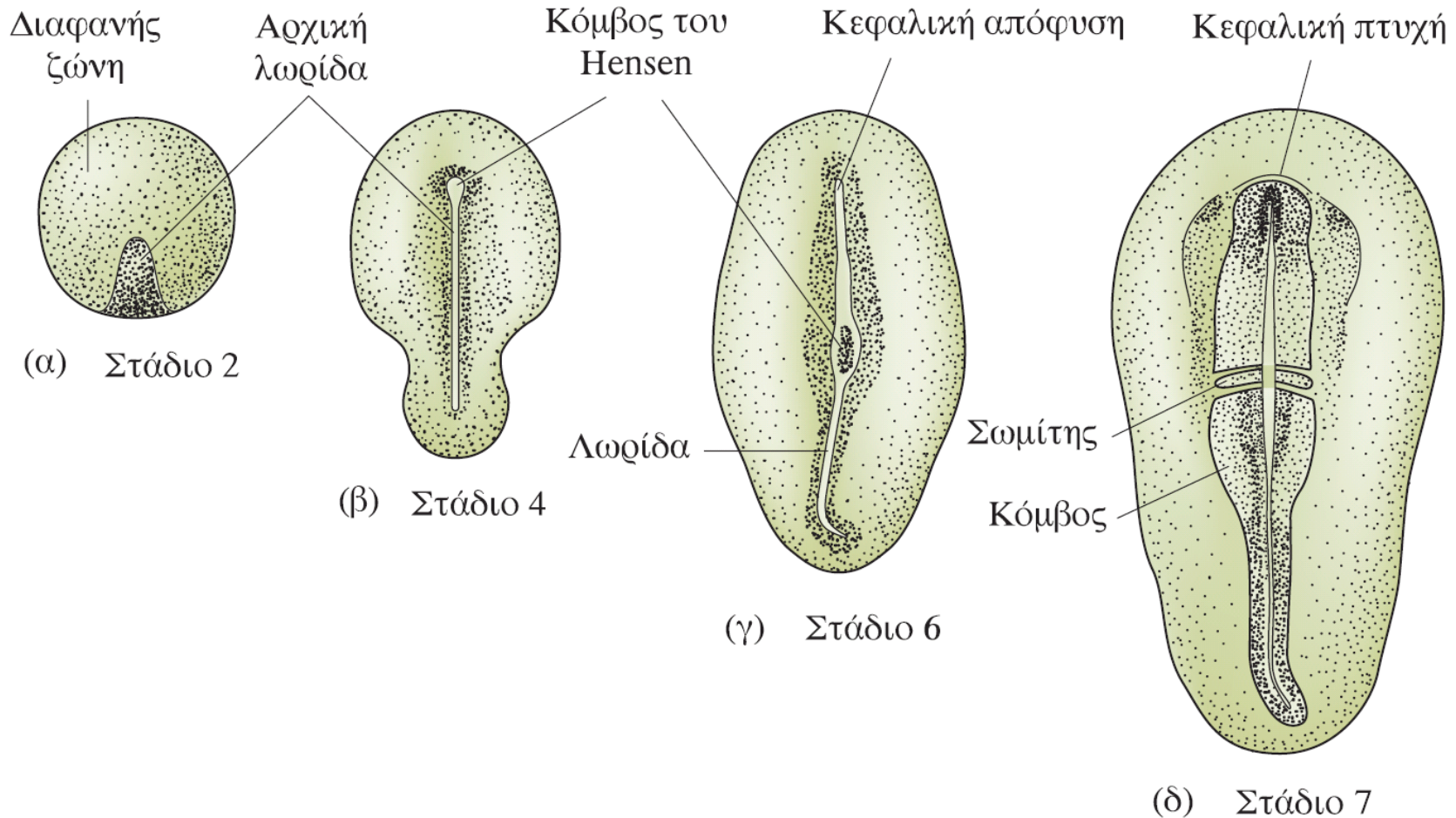


Το οπίσθιο είναι προς τα αριστερά. Στο πείραμα που παρουσιάζεται έχει γίνει σήμανση με ένεση Dil σε μικρές ομάδες κυττάρων και ακολούθησε κινηματογράφηση. Κάθε έγχρωμη γραμμή υποδεικνύει το μονοπάτι που ακολούθησε μια σημασμένη ομάδα σε διάστημα 160 λεπτών. Με πράσινο χρώμα σημειώνεται η πορεία της ομάδας τα τελευταία 40 λεπτά.

(α) Σήμανση στο στάδιο 1, (πριν τη γαστριδίωση)
(β) σήμανση στο στάδιο 3 (στη γαστριδίωση).

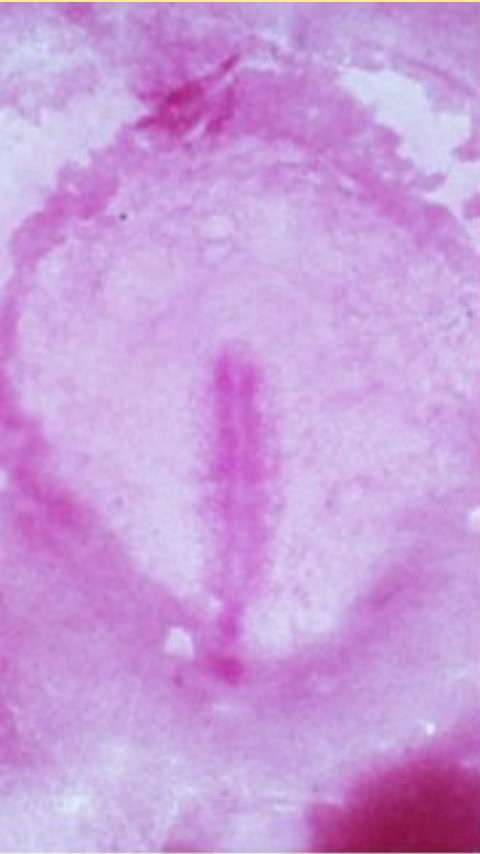
Από τη δημοσίευση Cuia *et al.* (2005) *Developmental Biology* **284**, 37-47.

Γαστριδίωση



Φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου της όρνιθας. Το έμβρυο φτάνει στο στάδιο 7 περίπου μετά από μία ημέρα επώασης. Στους παραπάνω χρόνους δεν έχει υπολογισθεί ο χρόνος παραμονής του εμβρύου στον ωαγωγό (περίπου μία ημέρα).

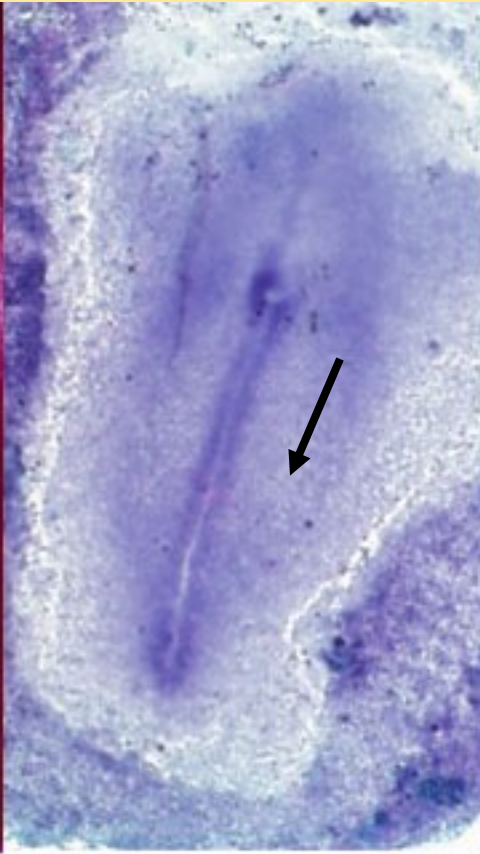
Γαστριδίωση



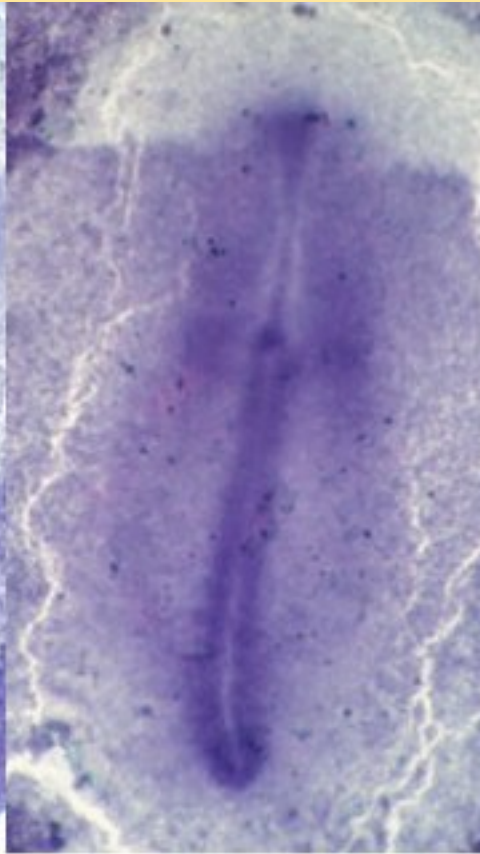
3



4



5



6

Γαστριδίωση



7



8-

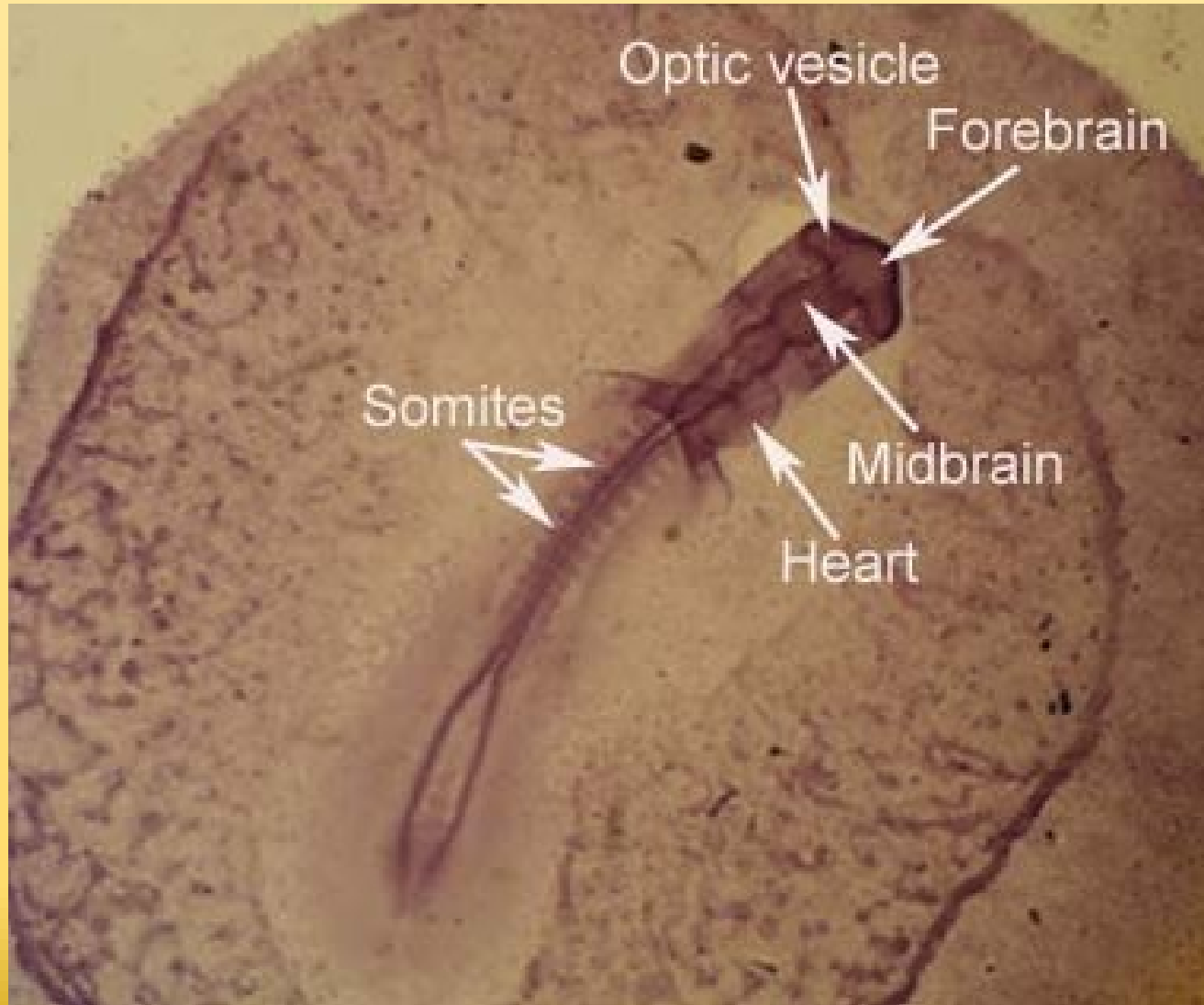


8

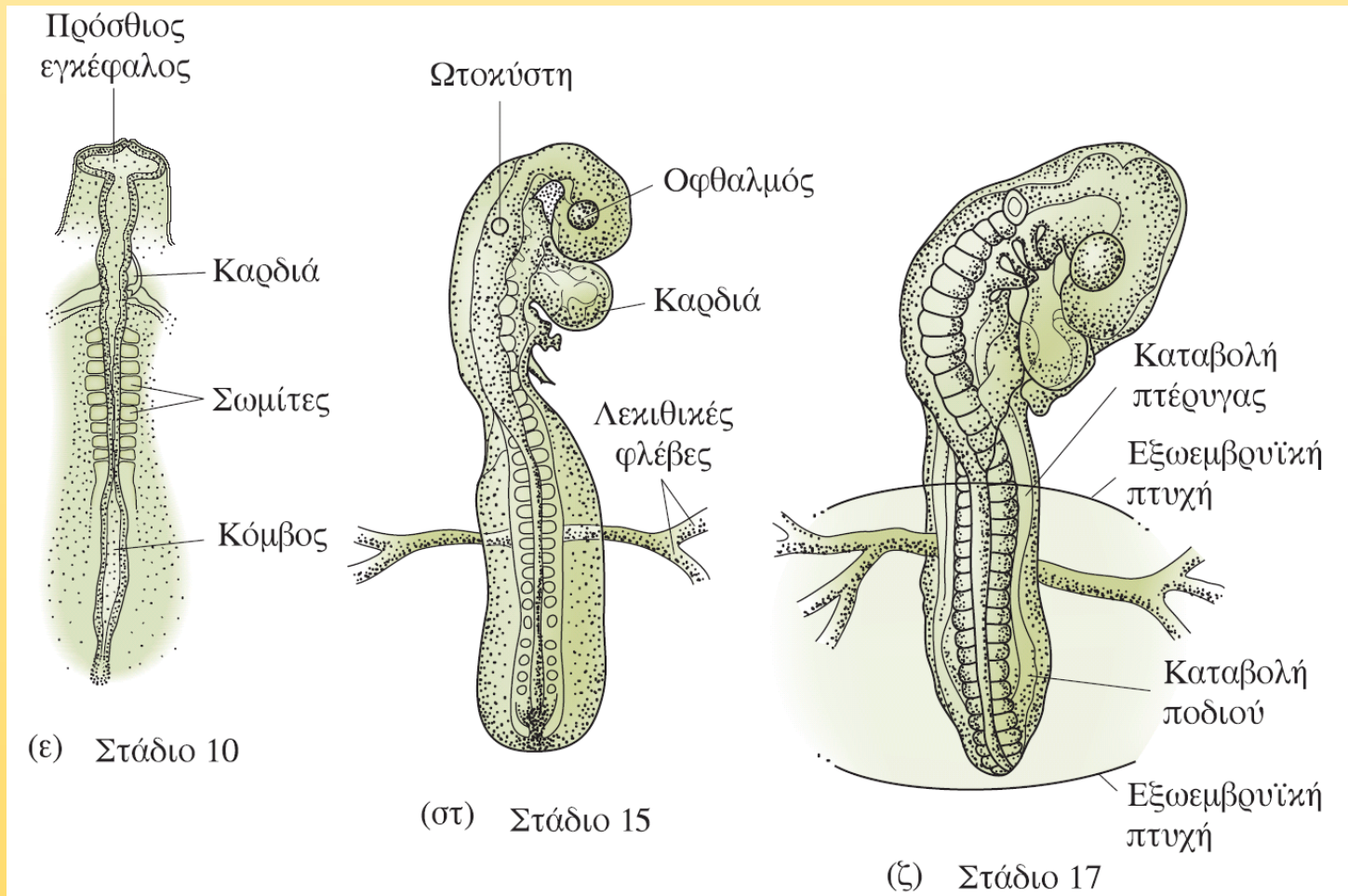


9

Γαστριδίωση



Φυσιολογική ανάπτυξη



Φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου της όρνιθας. Το έμβρυο φτάνει στο στάδιο 12 μετά από 2 ημέρες, στο στάδιο 17 μετά από 3 ημέρες. Στους παραπάνω χρόνους δεν έχει υπολογισθεί ο χρόνος παραμονής του εμβρύου στον ωαγωγό (περίπου μία ημέρα).

Φυσιολογική ανάπτυξη



14



15+

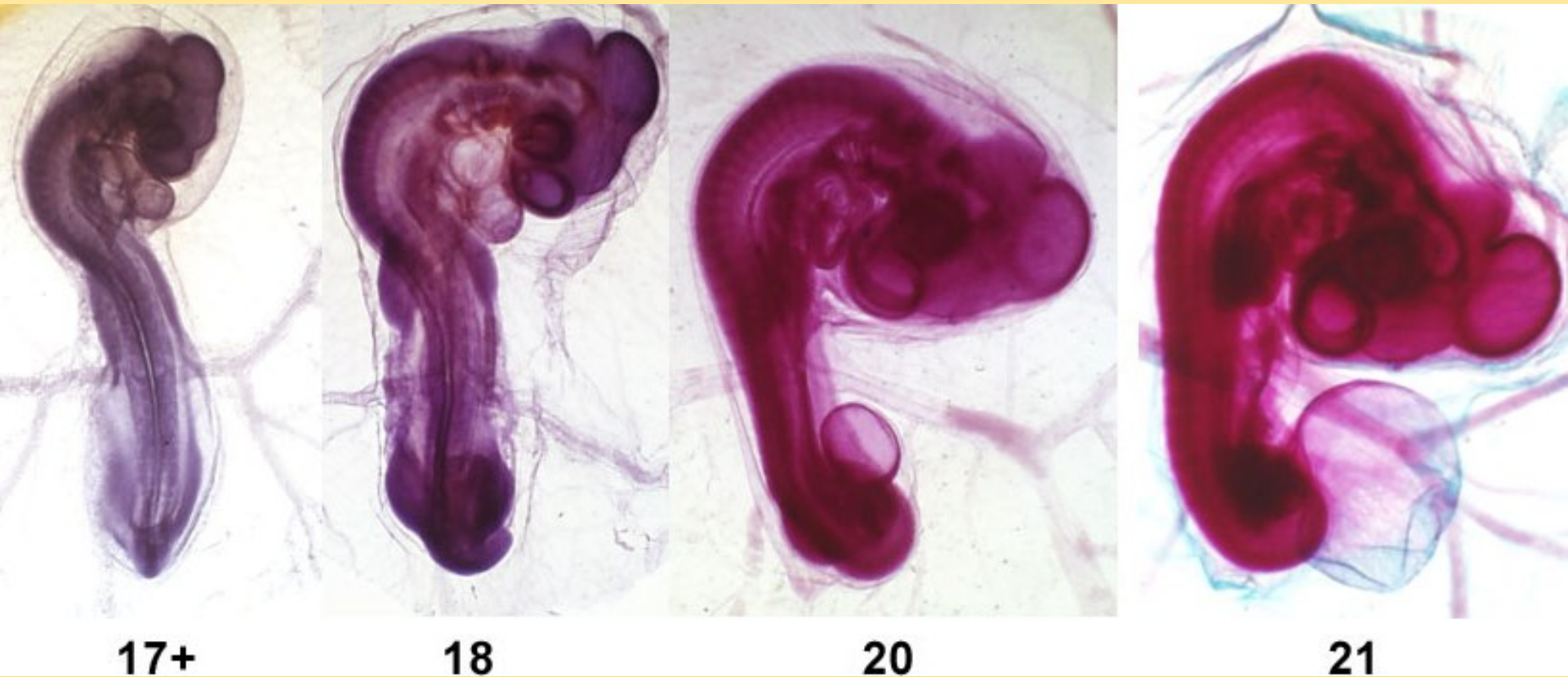


16+



17

Φυσιολογική ανάπτυξη

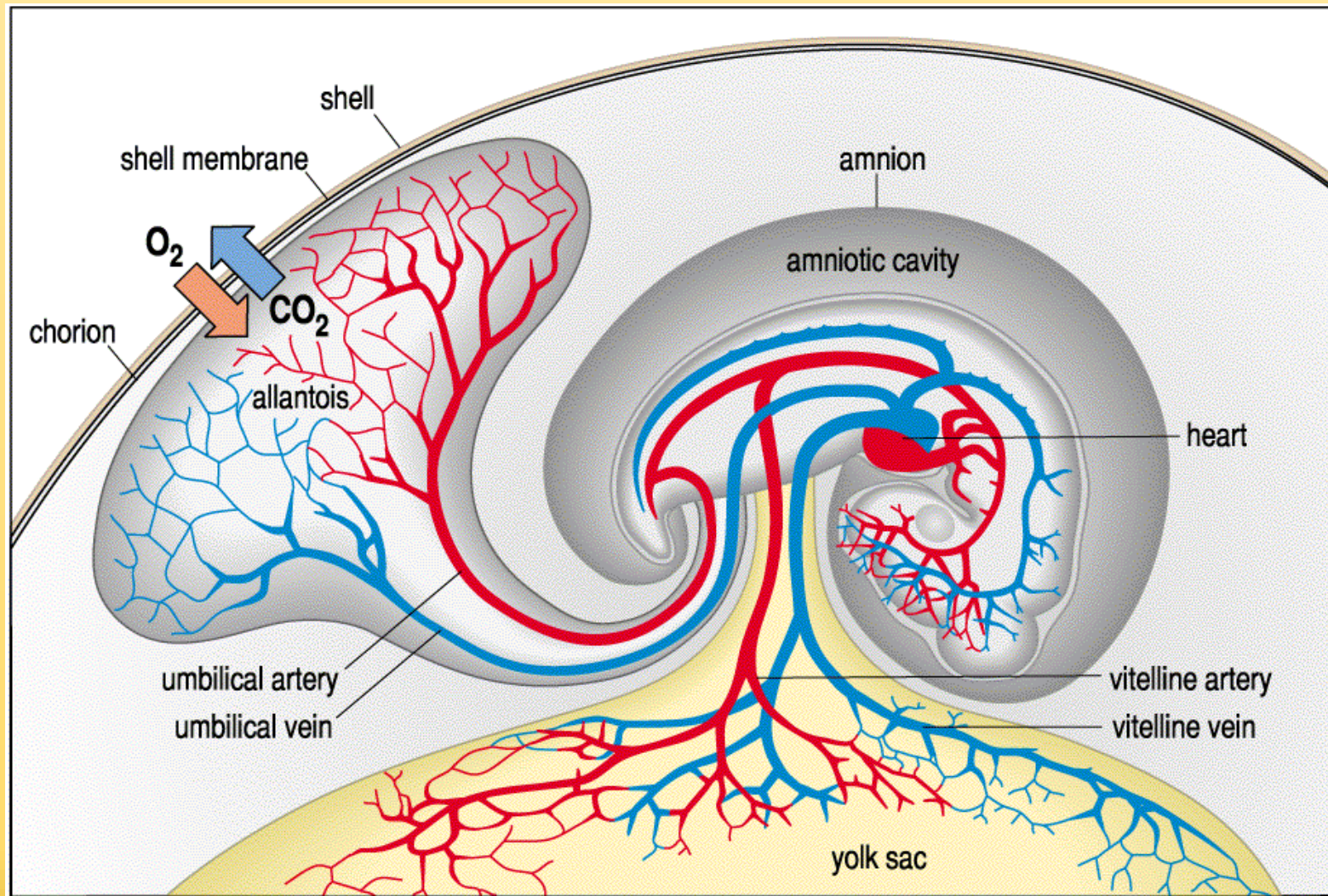


Φυσιολογική ανάπτυξη του εμβρύου της όρνιθας. Το έμβρυο φτάνει στο στάδιο 24 μετά από 4 ημέρες, στο στάδιο 35 μετά από 9 ημέρες. Στους παραπάνω χρόνους δεν έχει υπολογισθεί ο χρόνος παραμονής του εμβρύου στον ωαγωγό (περίπου μία ημέρα).

Φυσιολογική ανάπτυξη

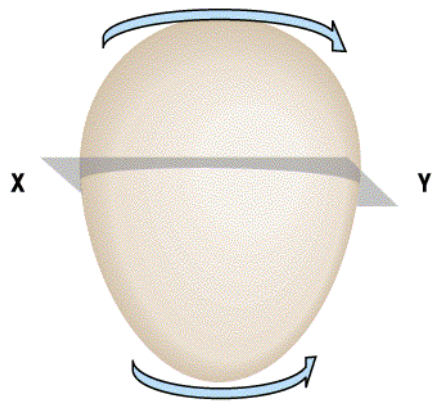


Φυσιολογική ανάπτυξη

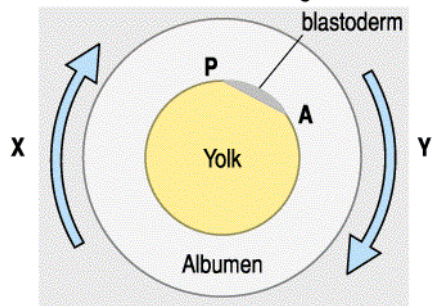


Σχηματισμός των εξωεμβρυϊκών δομών στο έμβρυο της όρνιθας.

Rotation in oviduct

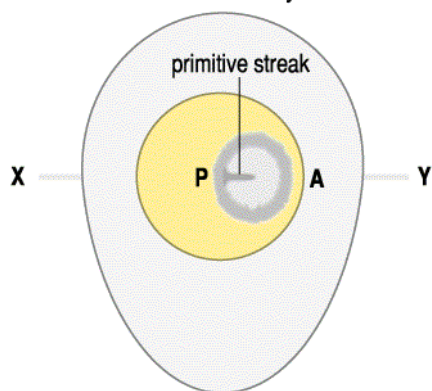


X-Y cross-section during rotation



Development after laying

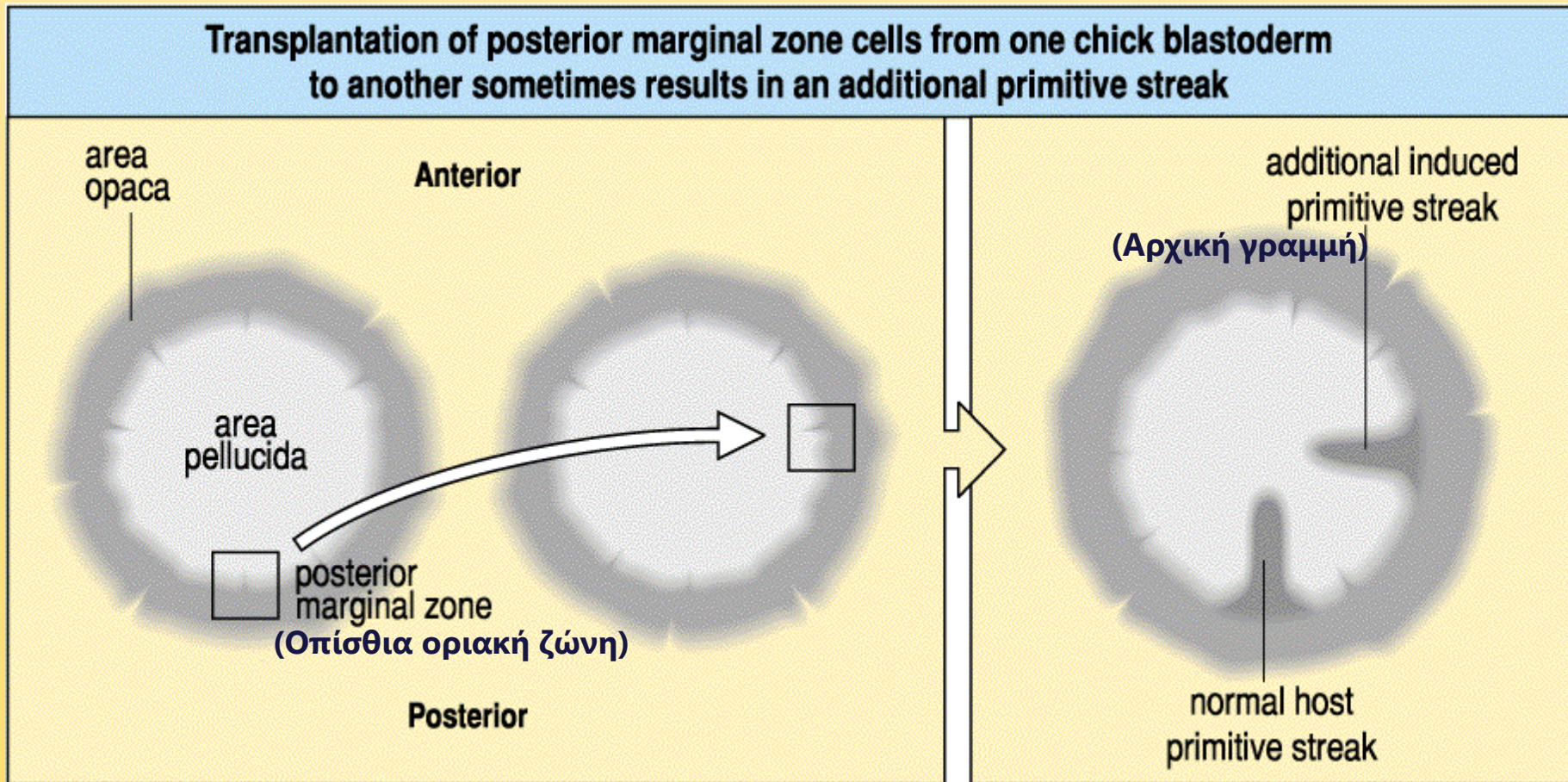
Surface view of yolk



Ο Εμπροσθοπίσθιος άξονας

- Von Baer παρατηρησε ότι είναι δυνατόν να προβλεφθεί η θέση του Ε/Ο άξονα.
- Δημιουργία πολικότητας κατά μήκος του εμπροσθοπίσθιου άξονα στο βλαστόδερμα του εμβρύου της όρνιθας ως αποτέλεσμα της ενδομήτριας περιστροφής του αυγού. Ε=εμπρόσθιο, Ο=οπίσθιο
- Κάθε στροφή διαρκεί 6 λεπτά, Ολόκληρη η διαδικασία 20 ώρες.
- Η λέκιθος με το βλαστόδερμα μένουν λίγο πιο πίσω κατα τη διάρκεια της περιστροφής.
- Το βλαστόδερμα "γλυστράει" πάνω στη λέκιθο αντίθετα απο την φορά της περιστροφής.
- Το οπίσθιο άκρο του εμβρύου είναι το μέρος που θα μετακινηθεί το βλαστόδερμα.

Ο Εμπροσθοπίσθιος άξονας

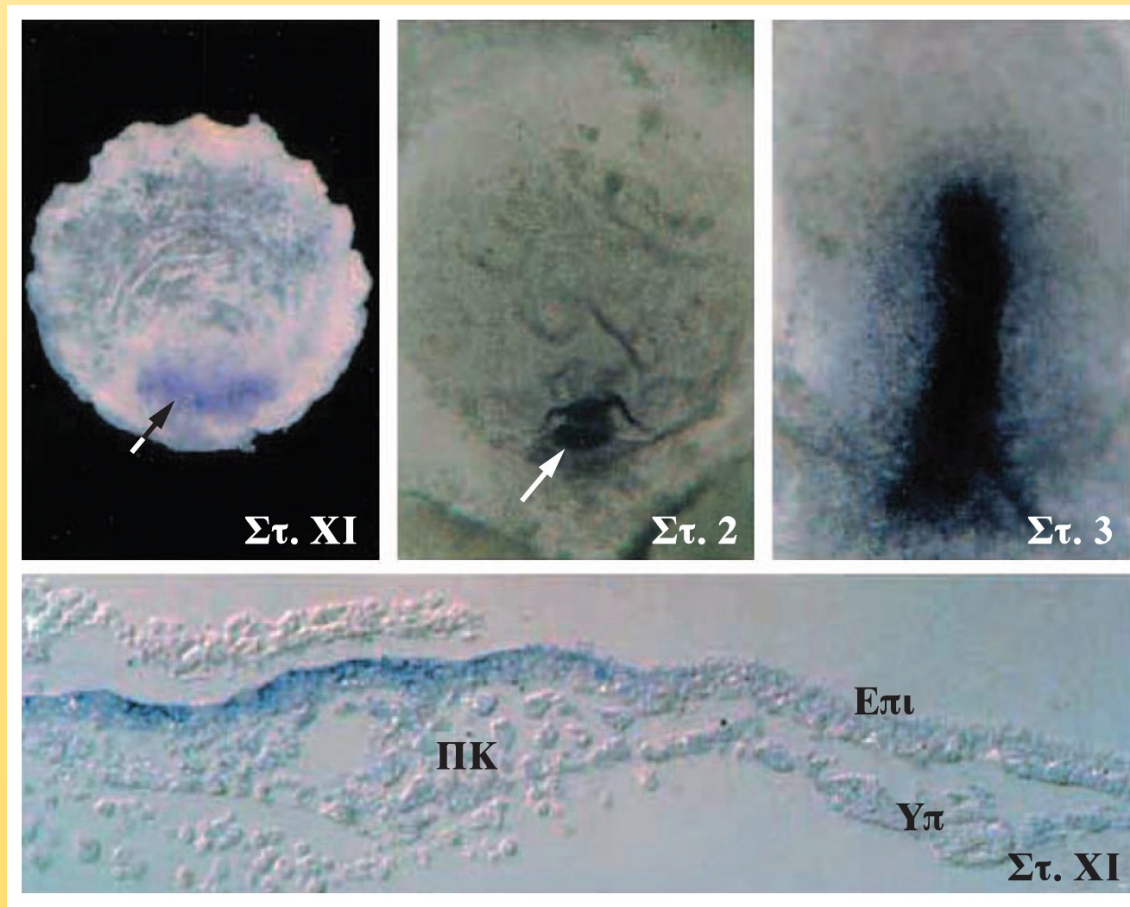


Αυλάκωση.

Μεταμόσχευση **οπίσθιας οριακής ζώνης**.

Μετατόπιση της β-κατενίνης στον πυρήνα.

Η έκφραση του *VG1* στο βλαστόδερμα του εμβρύου της όρνιθας



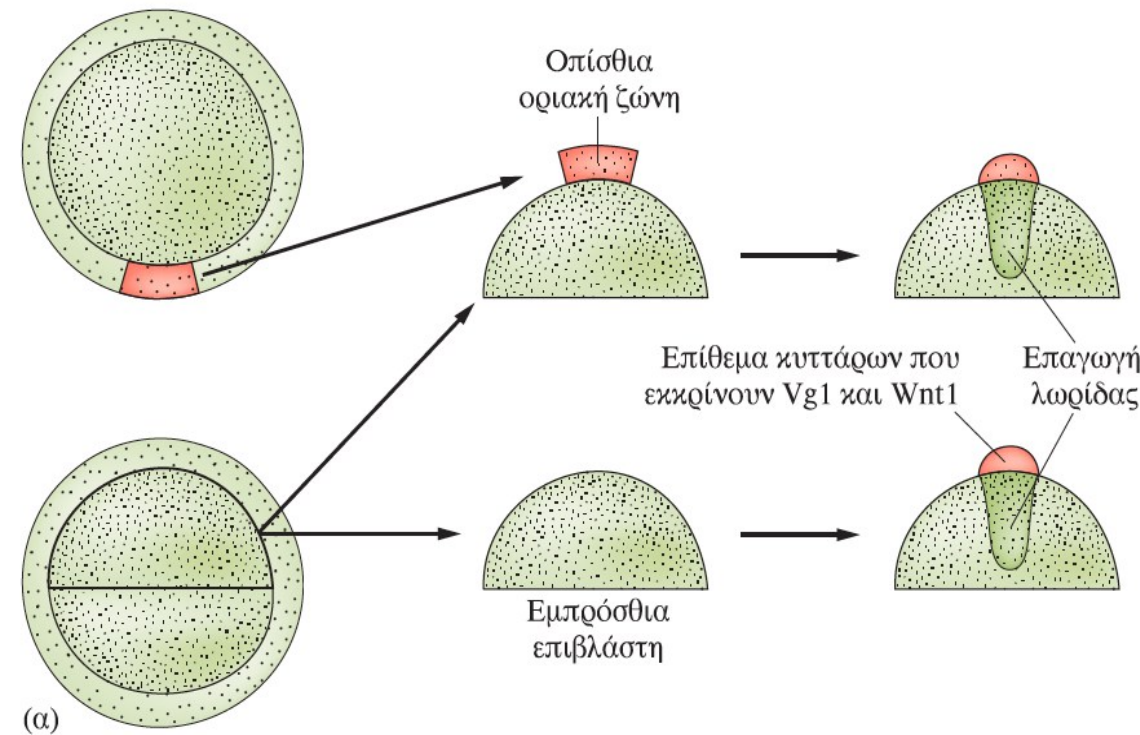
Η έκφραση ξεκινά στην επιβλάστη της οπίσθιας οριακής ζώνης (βέλη) και αργότερα επεκτείνεται στην αρχική λωρίδα. ΠΚ: Πάχυνση του Kollar, Επi: επιβλάστη, Υπ: υποβλάστη. Από τη δημοσίευση Shah *et al.* (1997) *Development* 124, 5127-5138

Επαγωγή μεσοδέρματος

(α) Επαγωγή της αρχικής λωρίδας από την οπίσθια οριακή ζώνη ή από ένα ίζημα κυττάρων που εκκρίνει Vg1 και Wnt1 = **επαγωγή της nodal**.

(β, γ) Επαγωγή σχηματισμού αρχικής λωρίδας από κυτταρικά ιζήματα που εκφράζουν Vg1 στην οριακή ζώνη, η οποία ήδη εκφράζει παράγοντες Wnt. Οι αρχικές λωρίδες φαίνονται στις 24 ώρες μετά από πείραμα υβριδοποίησης *in situ* με ιχνηθέτη το *goosecoid*.

(γ) Παρουσιάζονται αρχικές λωρίδες στις 48 ώρες μετά από πείραμα υβριδοποίησης *in situ* με ιχνηθέτη το *brachyury*. (Από τη δημοσίευση Shah *et al.* (1997) *Development* **124**, 5127.



Επαγωγή μεσοδέρματος

(α) Επαγωγή της αρχικής λωρίδας

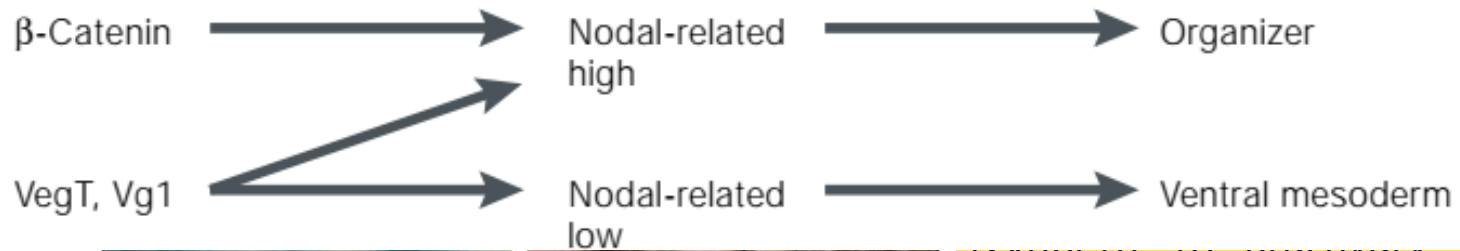
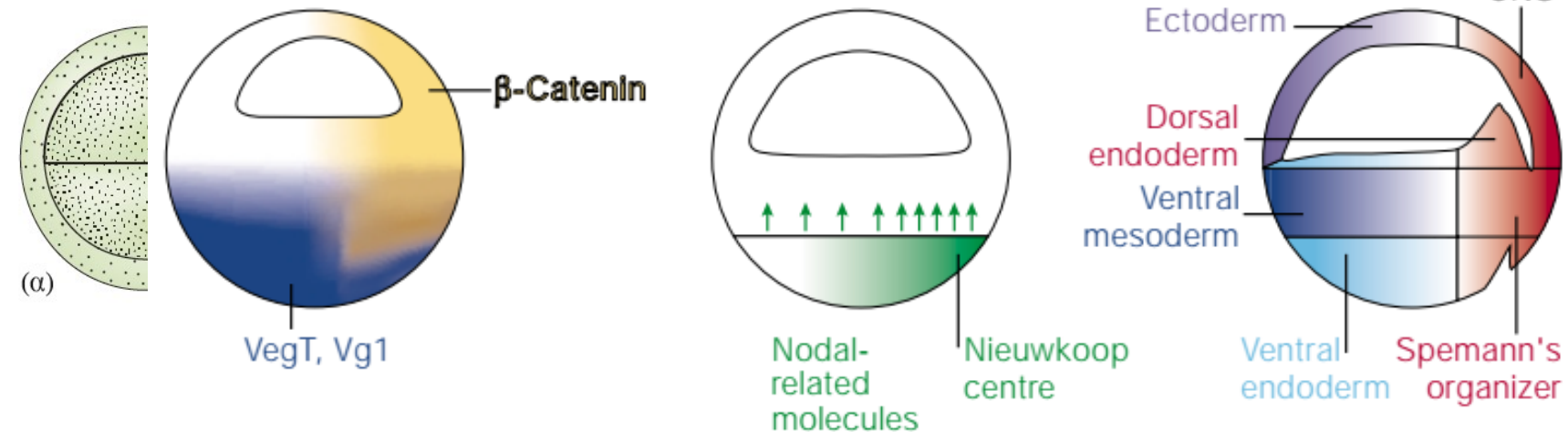
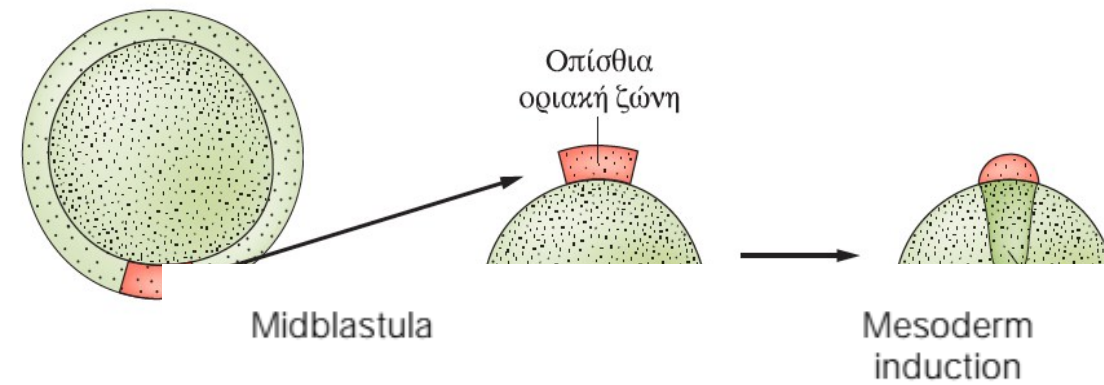
ώνη ή
ν που
αγωγή

τισμού
ταρικά
1 στην
ήδη
nt. Οι
στις 24
είραμα
νηθέτη

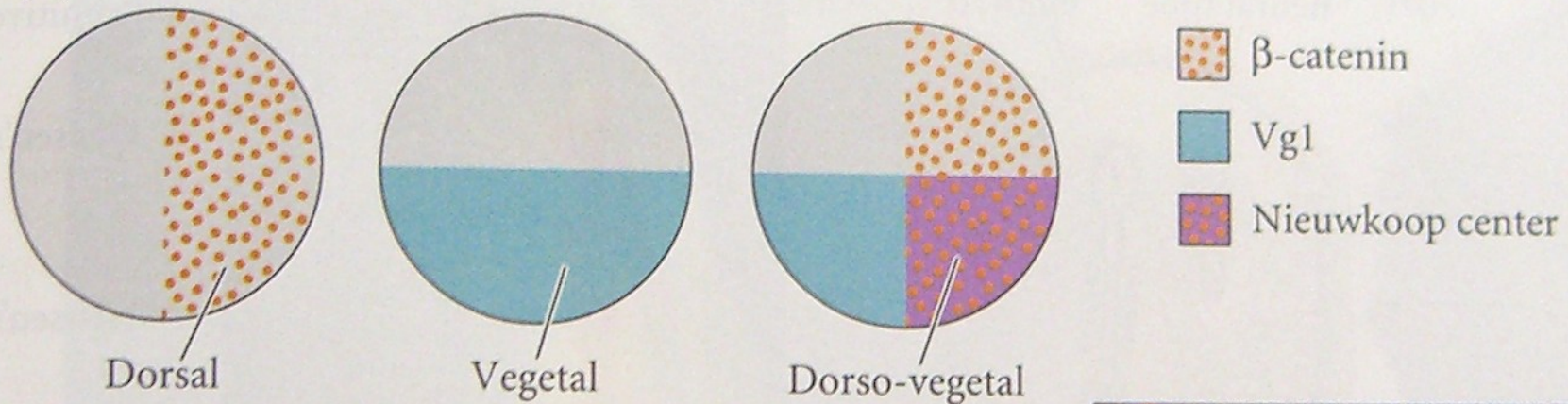
αρχικές
ά από
situ με

αφήσει το *Shah et al.* (1997)
δημοσίευση *Shah et al.* (1997)
Development **124**, 5127.

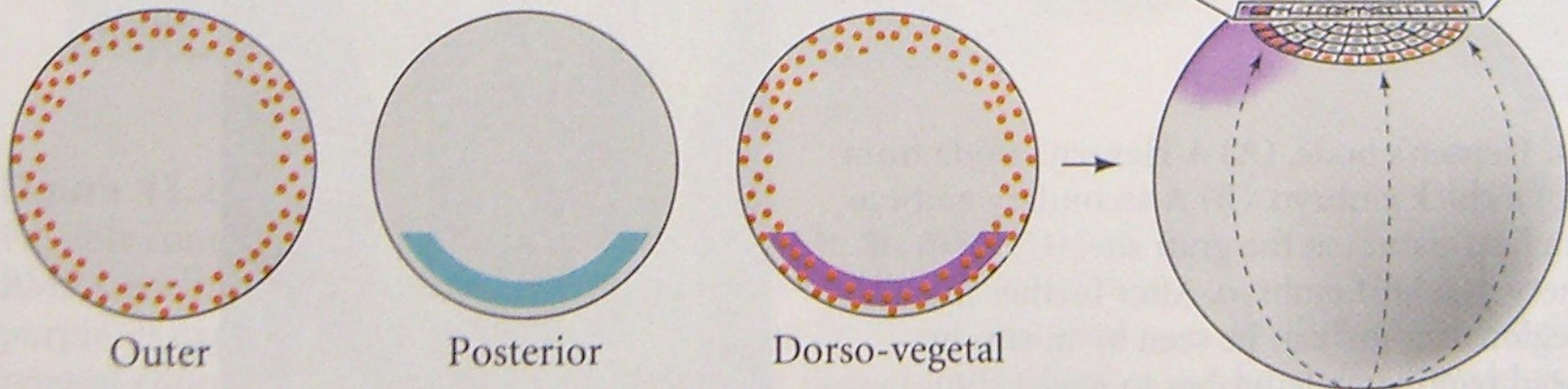
32



(A) *Xenopus laevis*

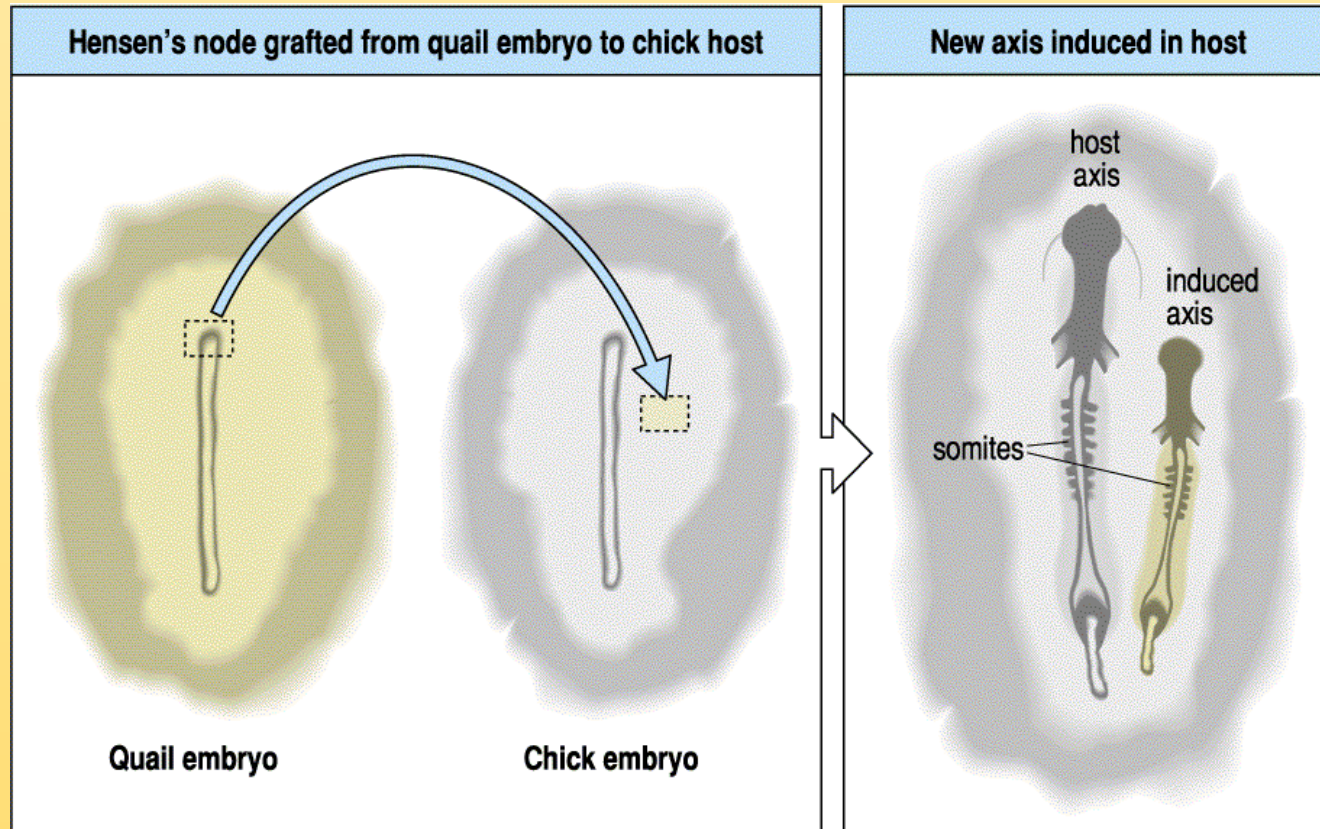


(B) *Gallus domesticus*



Οπίσθια οριακή ζώνη και κέντρο Nieuwkoop χαρακτηρίζονται από τα ίδια μόρια, τα οποία οργανώνουν τον κόμβο του Hensen και τον οργανωτή αντίστοιχα.

Ο κόμβος του Hensen επάγει το σχηματισμό νέου άξονα στο έμβρυο της ορνιθας

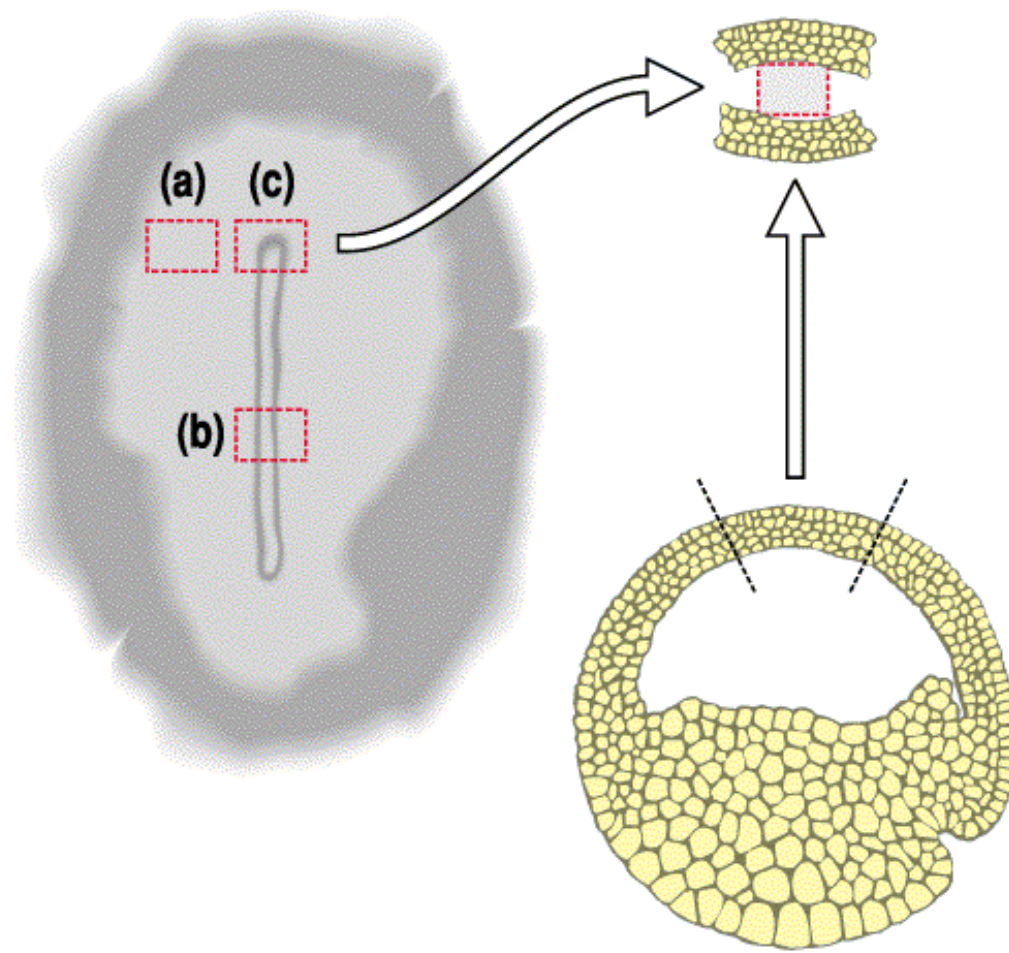


Μεταμόσχευση κόμβου του Hensen από πέρδικα σε όρνιθα.

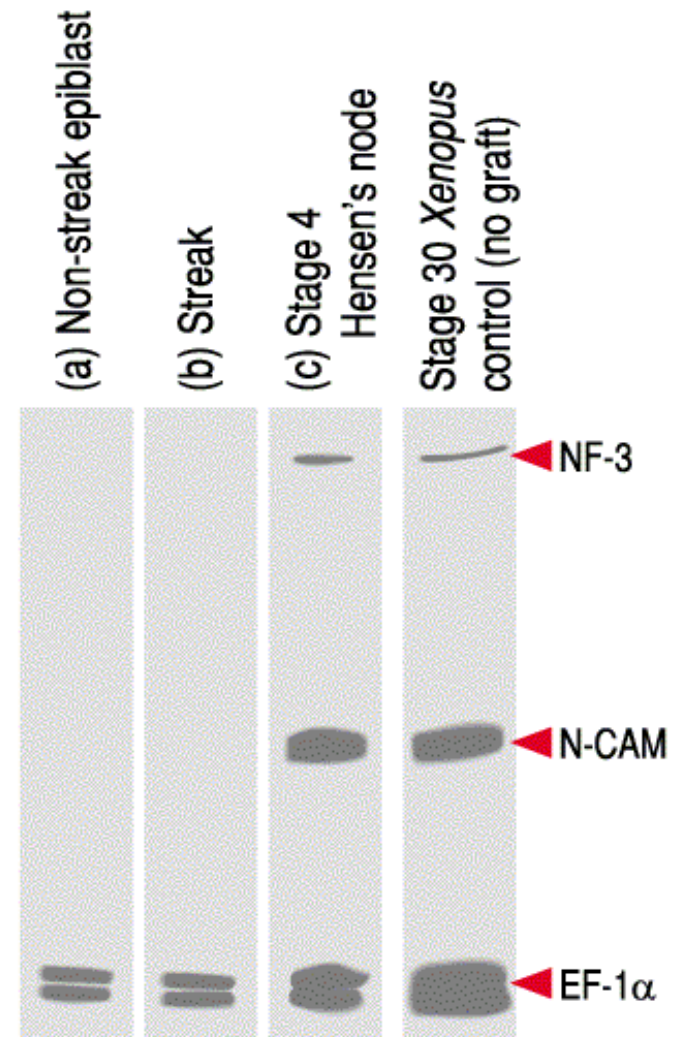
- Ο κόμβος του Hensen επάγει το σχηματισμό ενός πλήρους δεύτερου άξονα στον οποίο περιλαμβάνονται κύτταρα του κοτόπουλου των οποίων η τύχη έχει επαναπροσδιοριστεί (τα κύτταρα της πέρδικας ξεχωρίζουν από του κοτόπουλου με βάση τη μορφολογία του πυρήνα). Ο κόμβος του ποντικού δεν έχει αυτή τη δυνατότητα.

Άρα ο κόμβος του Hensen έχει τις ίδιες ιδιότητες με τον οργανωτή στον Xenopus.

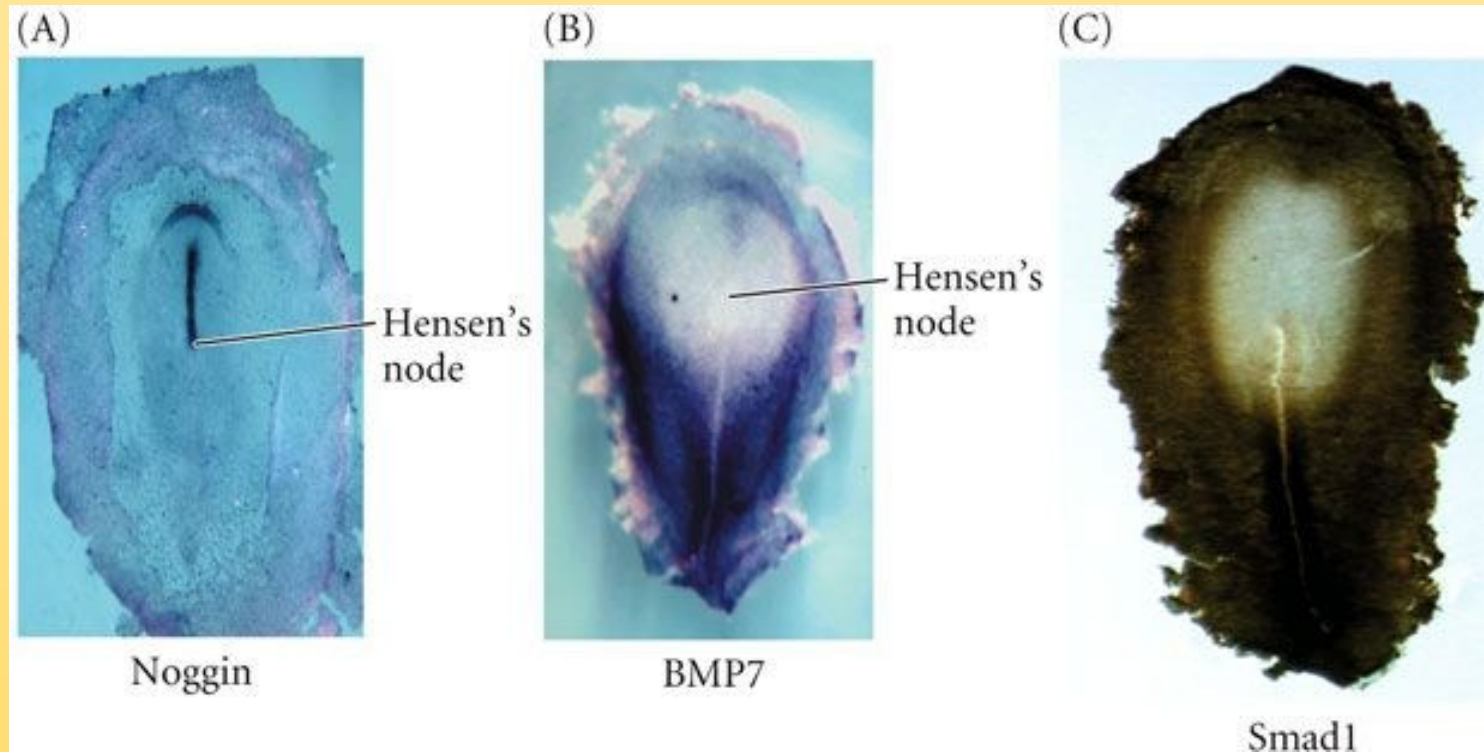
Pieces of chick epiblast are sandwiched between pieces of *Xenopus* animal cap tissue



mRNAs expressed in *Xenopus* ectoderm in response to chick grafts



Τοπική εξειδίκευση του πρώιμου εμβρύου



Επικράτειες έκφρασης: (α) ενός καταστολέα του BMP, (β) ενός παράγοντα BMP, (γ) απεικόνιση της σηματοδότησης BMP μέσω εντοπισμού φωσφορυλιωμένης smad1.

