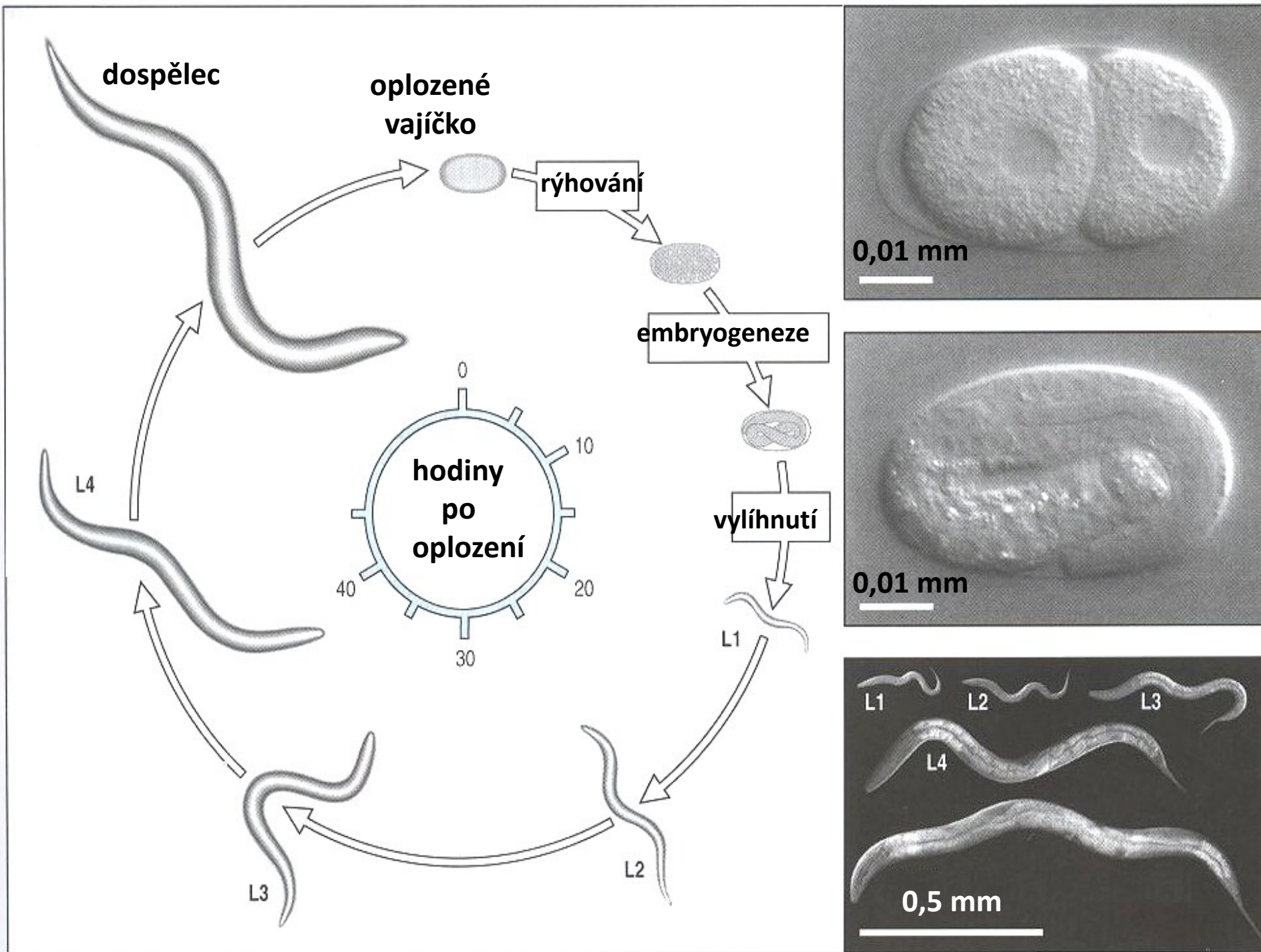
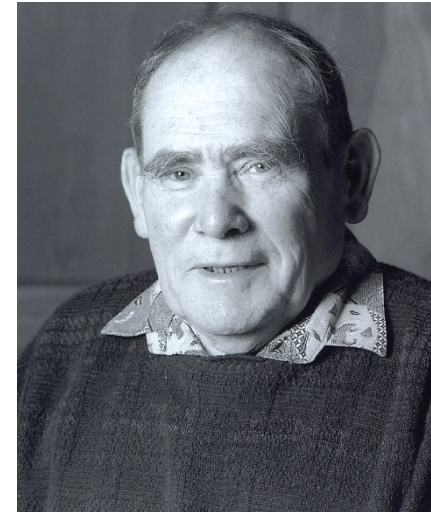
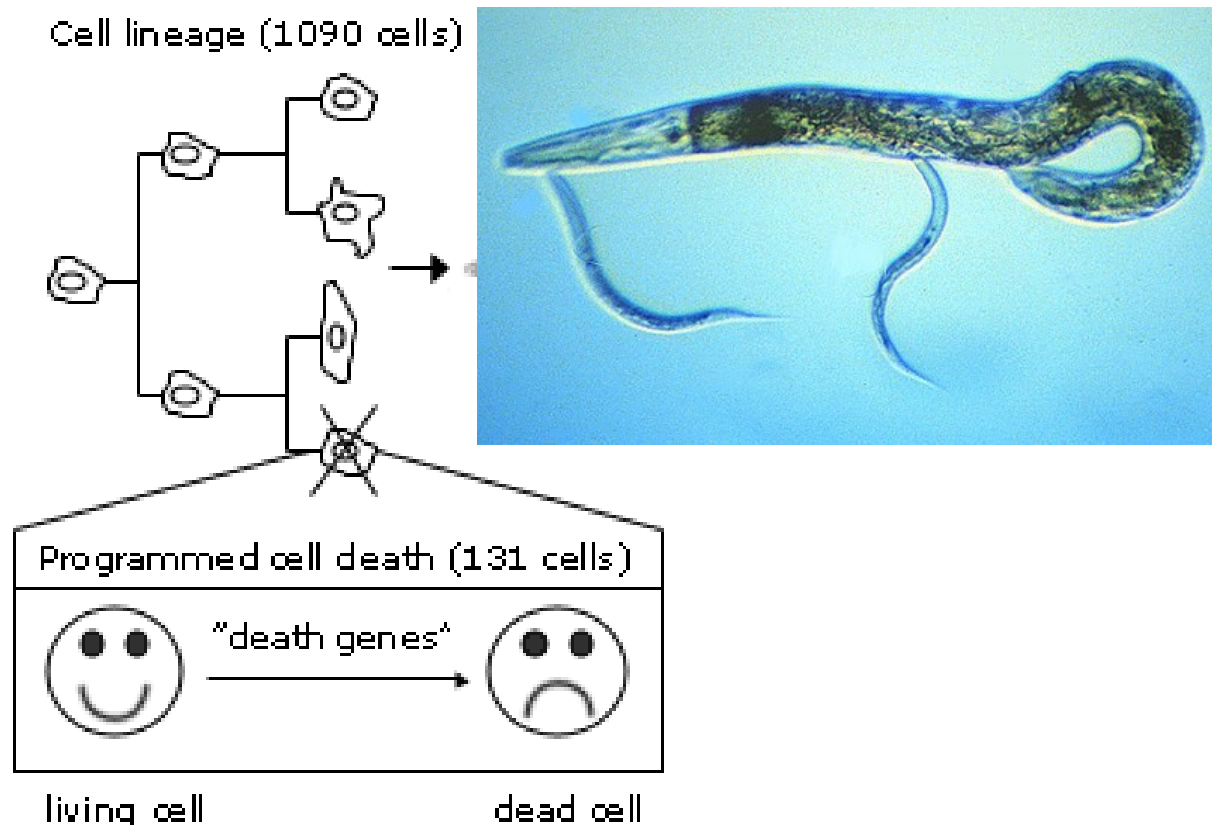


Caenorhabditis elegans



Nobelova cena 2002 za fyziologii a lékařství

za objevy genetické regulace
orgánového vývoje
a programované buněčné smrti
... na modelu *Caenorhabditis elegans*



Sydney Brenner
(1927, JAR)

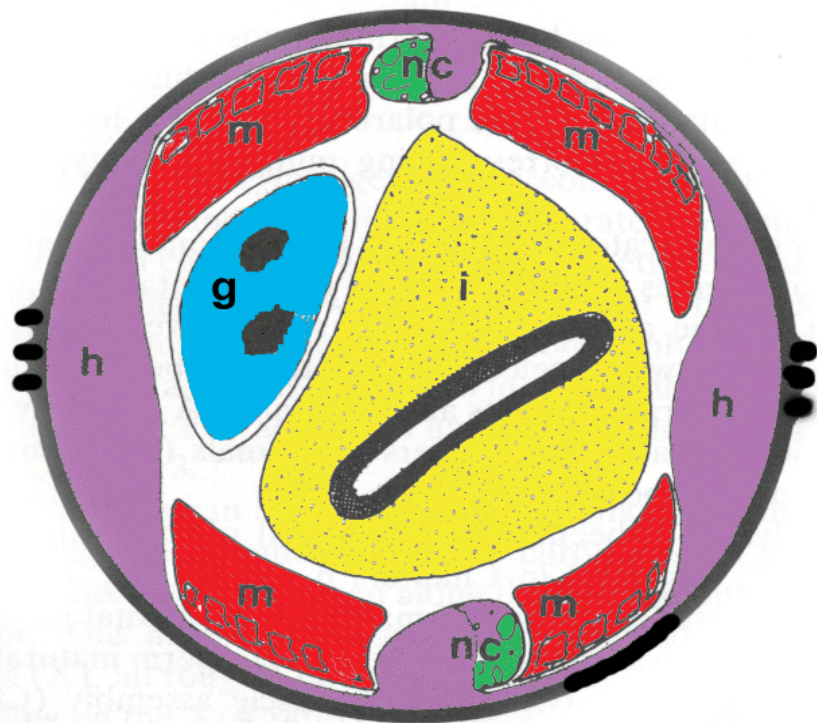
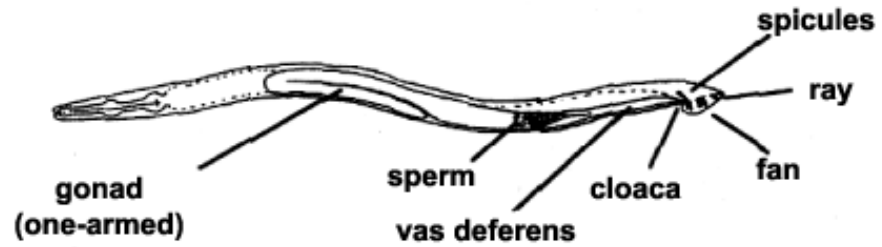
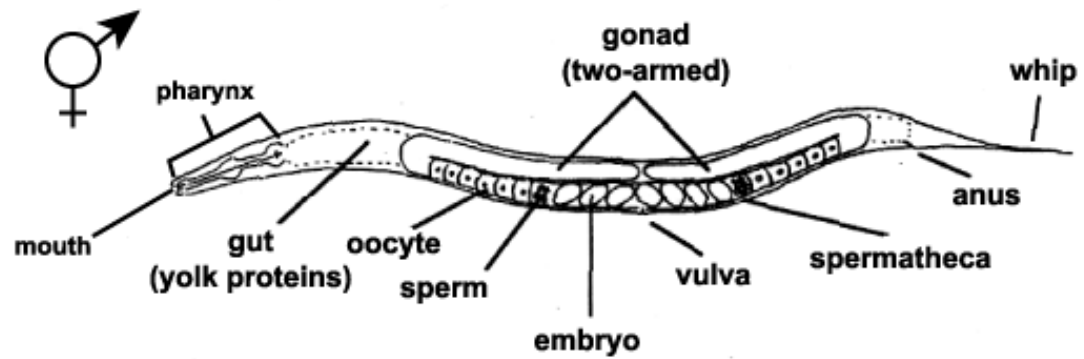


John Sulston
(1942, UK)





Robert Horvitz
(1947, USA)

Anatomie *C. elegans*



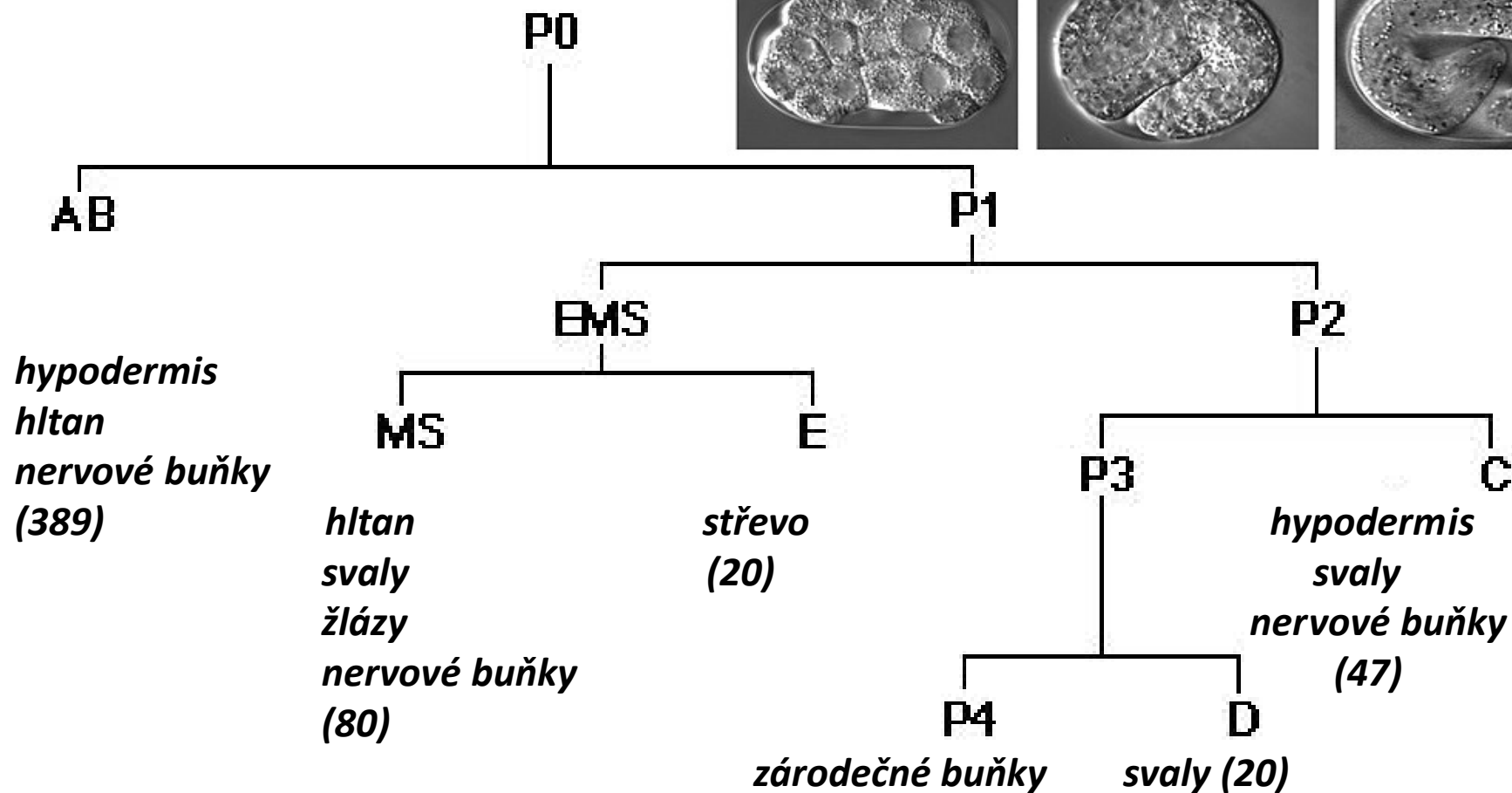
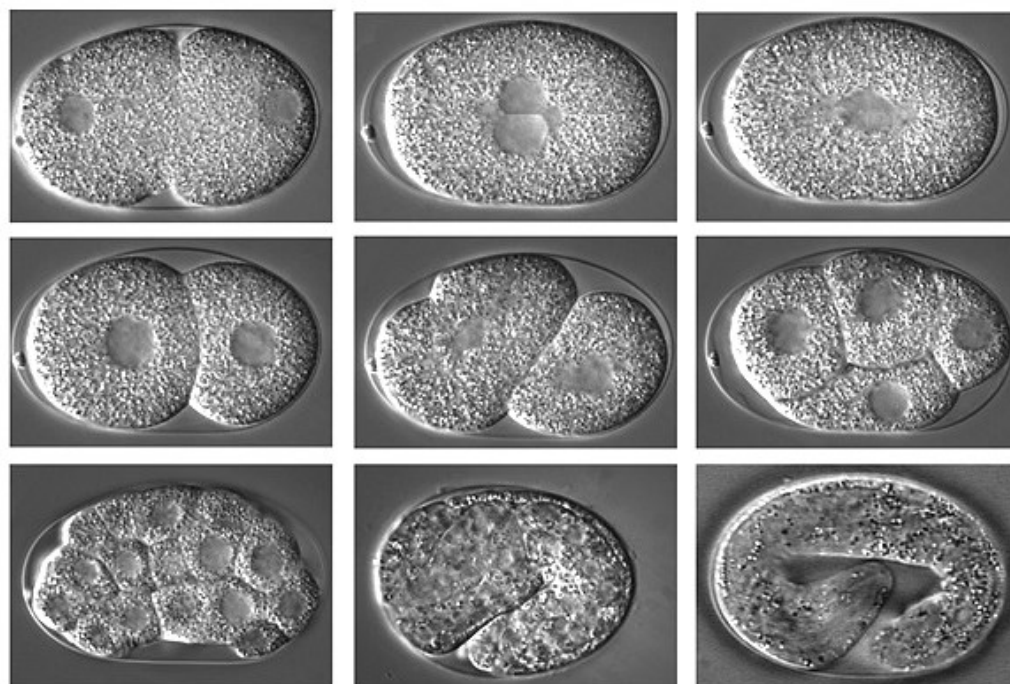
- g – gonáda
- h – hypodermis
- i – střevo
- m – svaly
- nc – nervová trubice

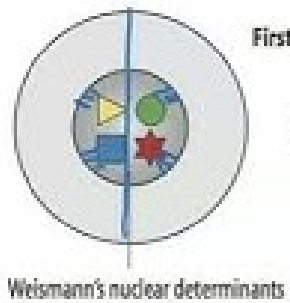
***C. elegans* – model mozaikového vývoje**

1. malá, snadno se kultivuje (živí se *E. coli*)
2. jednoduché tělo: 959 tělních buněk , 1031 u 
3. dobře diferencované tkáně včetně nervové soustavy
4. průhledné tělo po celý životní cyklus
5. krátká generační doba: 3,5 dne při 20°C
6. invariantní vývoj a anatomie
7. samooplození (a částečně křížitelná)
8. malý, již sekvencovaný genom
($\sim 10^8$ bp = 100 Mb = 0,1 pg)

Buněčná genealogie *C-elegans*

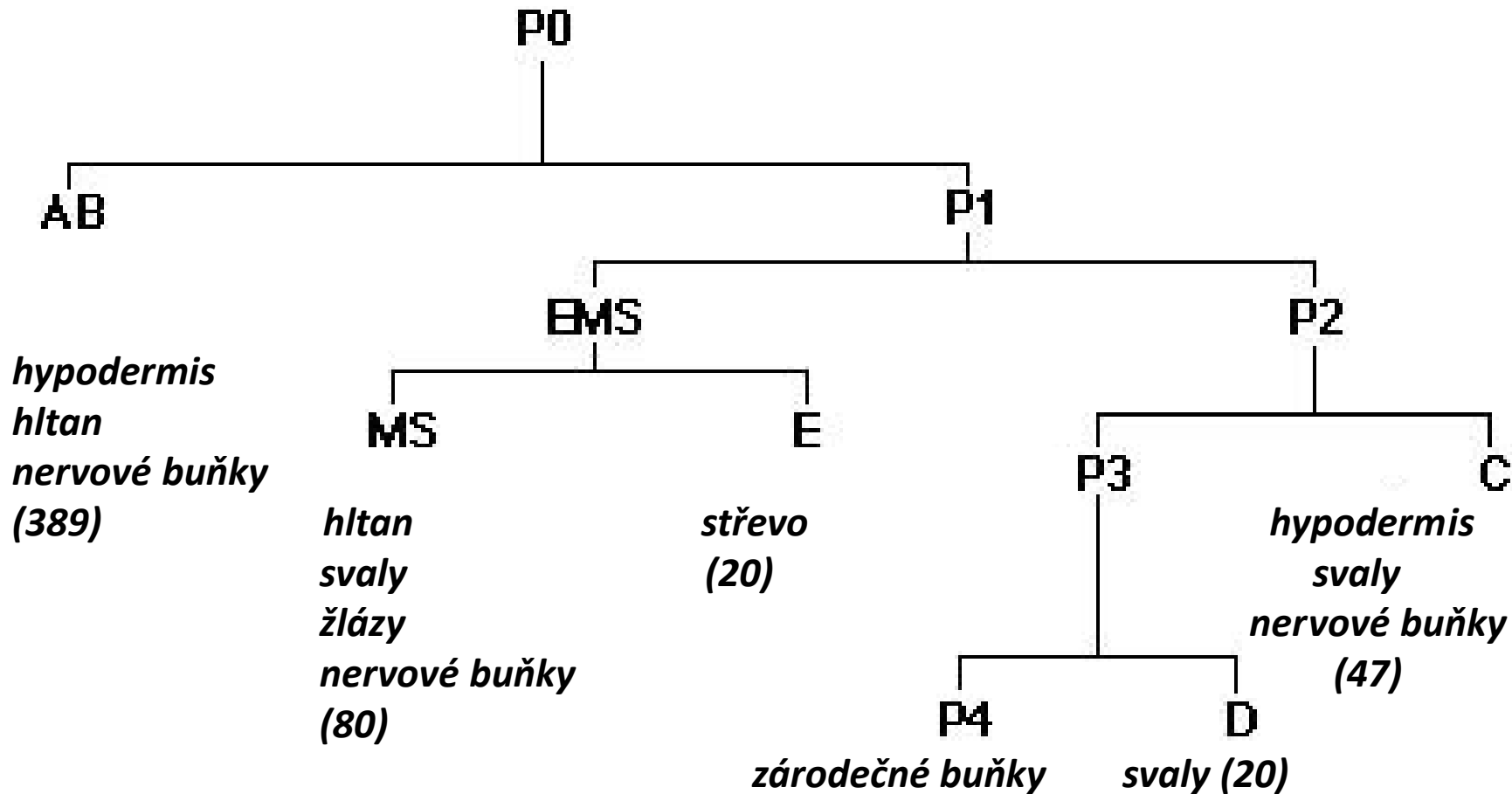
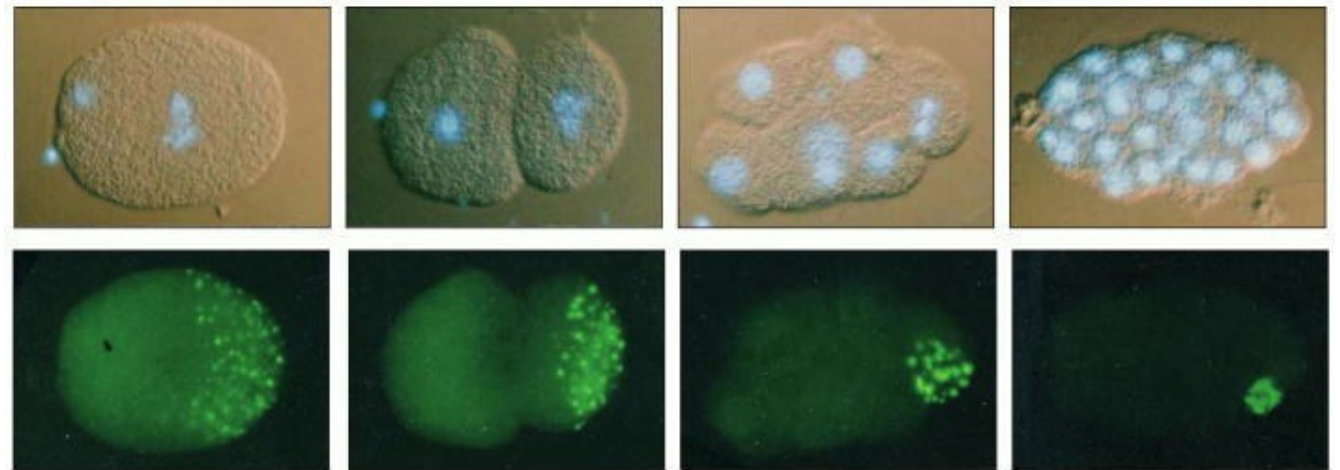
tkáně jsou polyklonálního úvodu





First cleavage

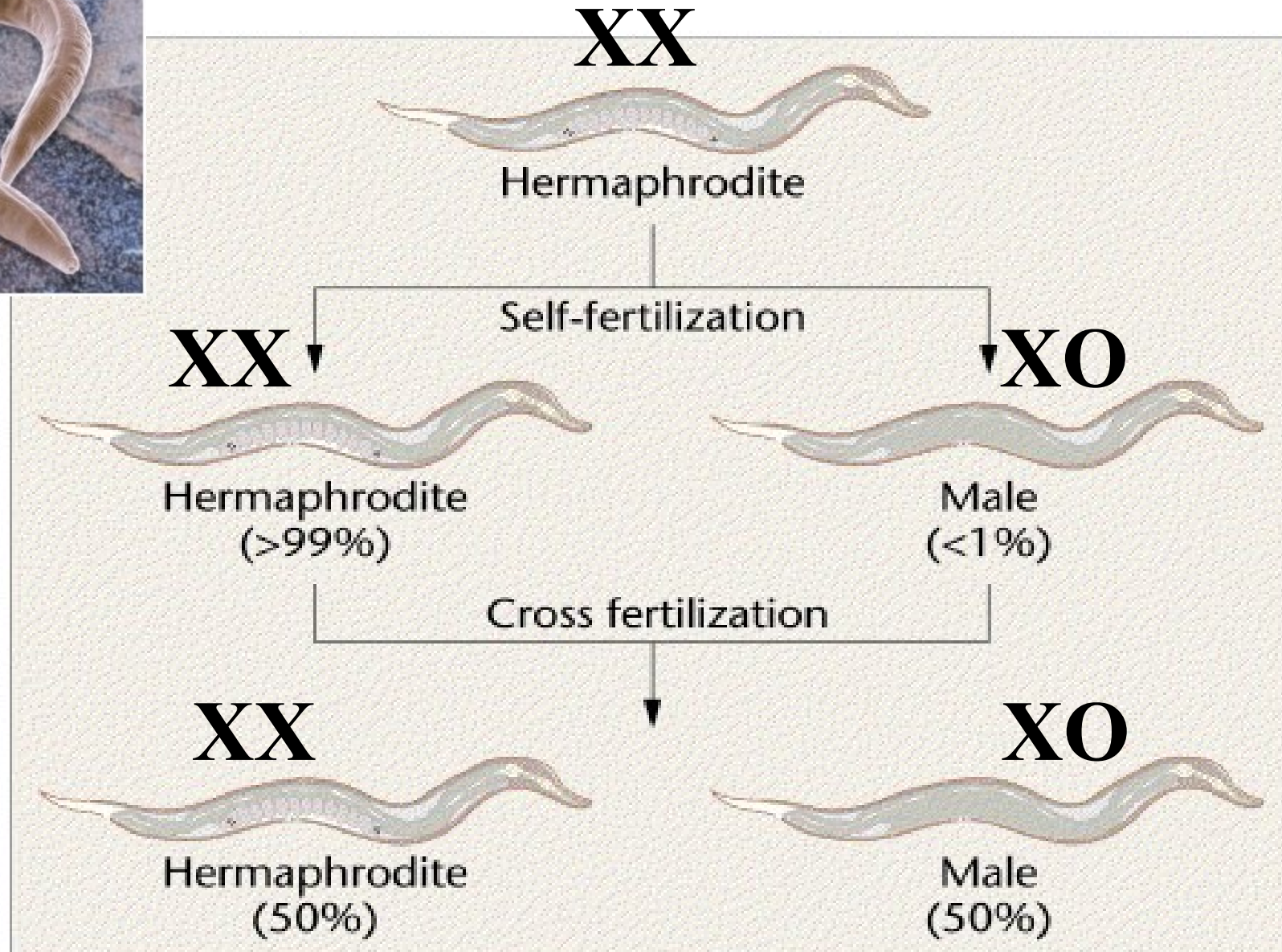
Second cleavage



Základní genetická charakteristika *C. elegans*

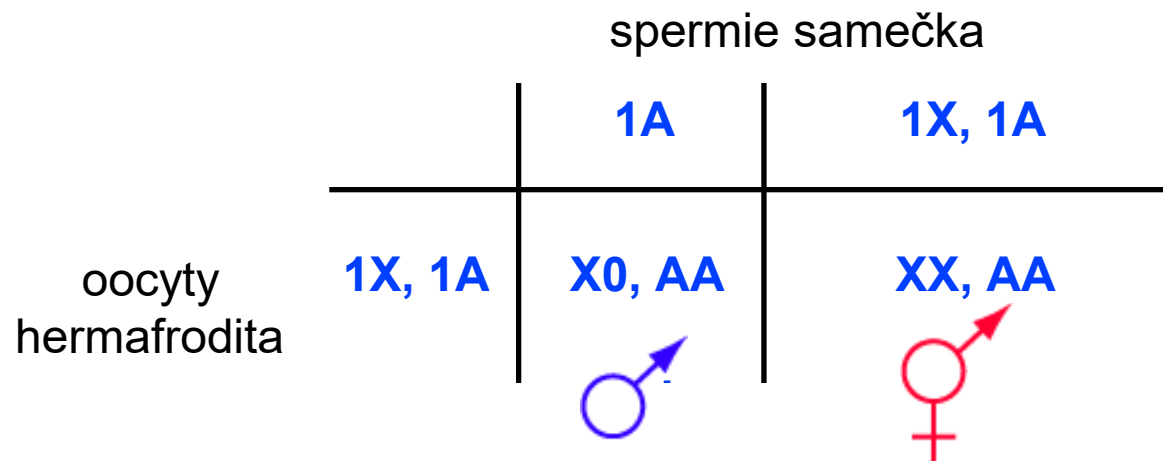
- základní životní cyklus je diploidní
- 6 vazebných skupin, odpovídá to 6 chromosomům
v haploidní sadě: 5 autosomů a 1 pohlavní chromosom X
- hermafrodit má dva chromosomy X v diploidní buňce
- hermafrodit tvoří ~ 300 spermií, pak tvoří oocyty
- meiosa u hermafrodita vytváří gamety s jednou sadou autosomů a jedním X
- samooplození obvykle dává vznik embryu $2 X : 2 A =$
hermafroditu

Caenorhabditis elegans : vznik a dědičnost pohlaví



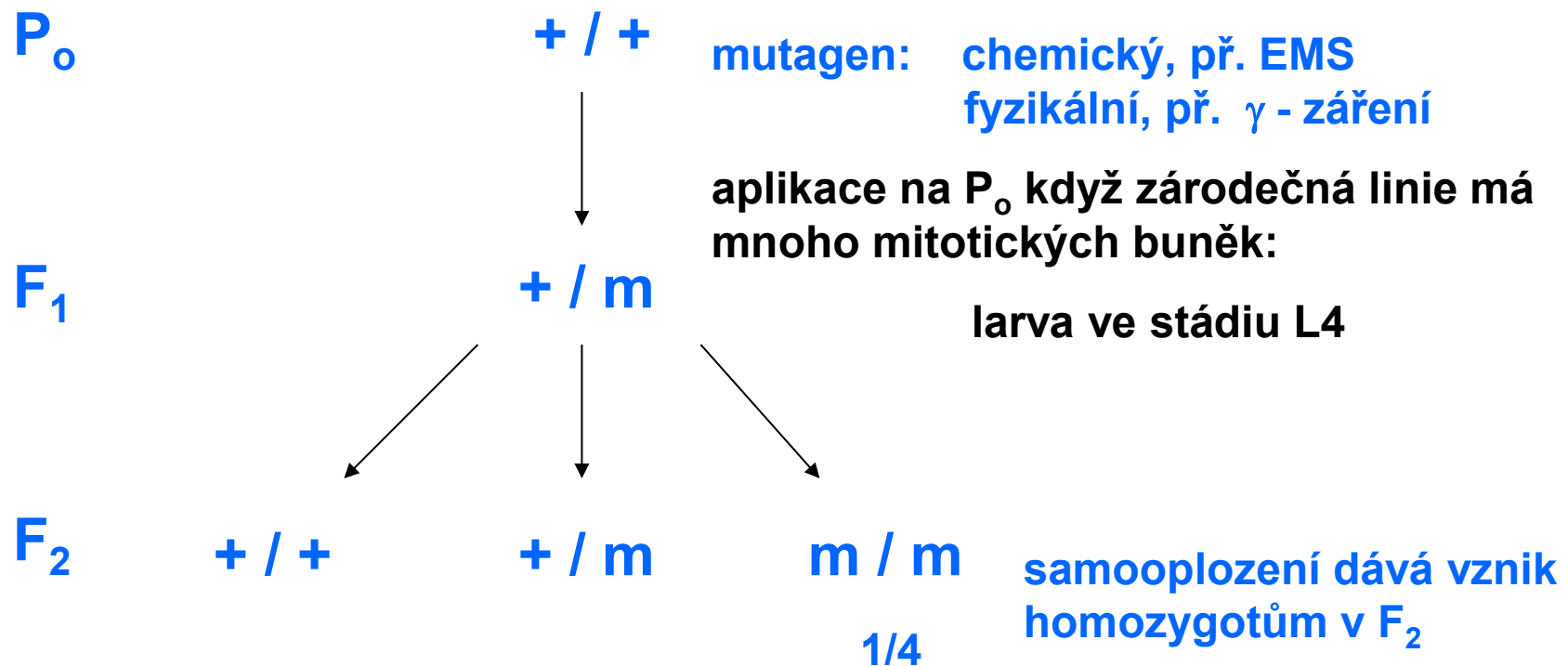
Pro genetiku jsou potřební samečci

- Příležitostná ztráta chromosomu X v průběhu meiosis u hermafrodita dává gamety bez X. Frekvence asi 1 na 500 meios. Když je gameta oplozena, výsledkem je diploidní živočich pouze s 1 X.
- Jedinec červa pouze s jedním chromosomem X v diploidní buňce se vyvíjí jako sameček.
- Žádný chromosom Y u *C. elegans* není, samečka značíme XO.
- V meiose u samečka segreguje jediný chromosom X a tvoří se dva druhy spermií: s jedním chromosomem X resp. žádným:

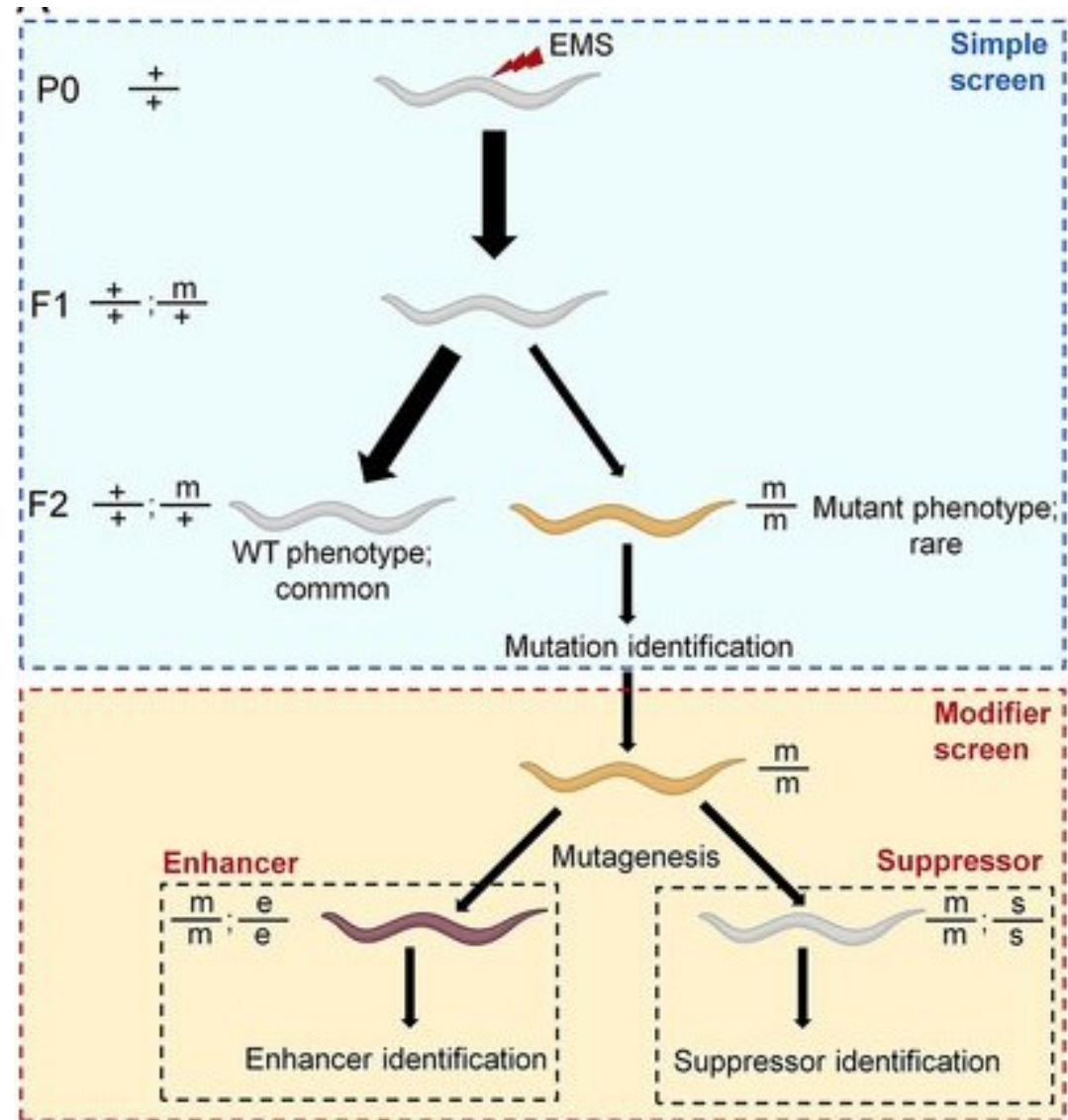


- Křížení samečka s hermafroditem dává v potomstvu stejné počty sameček a hermafroditů.

Mutagenеза *C. elegans*



Mutagenesis *C. elegans*



Jaké typy mutantů můžeme mít ?

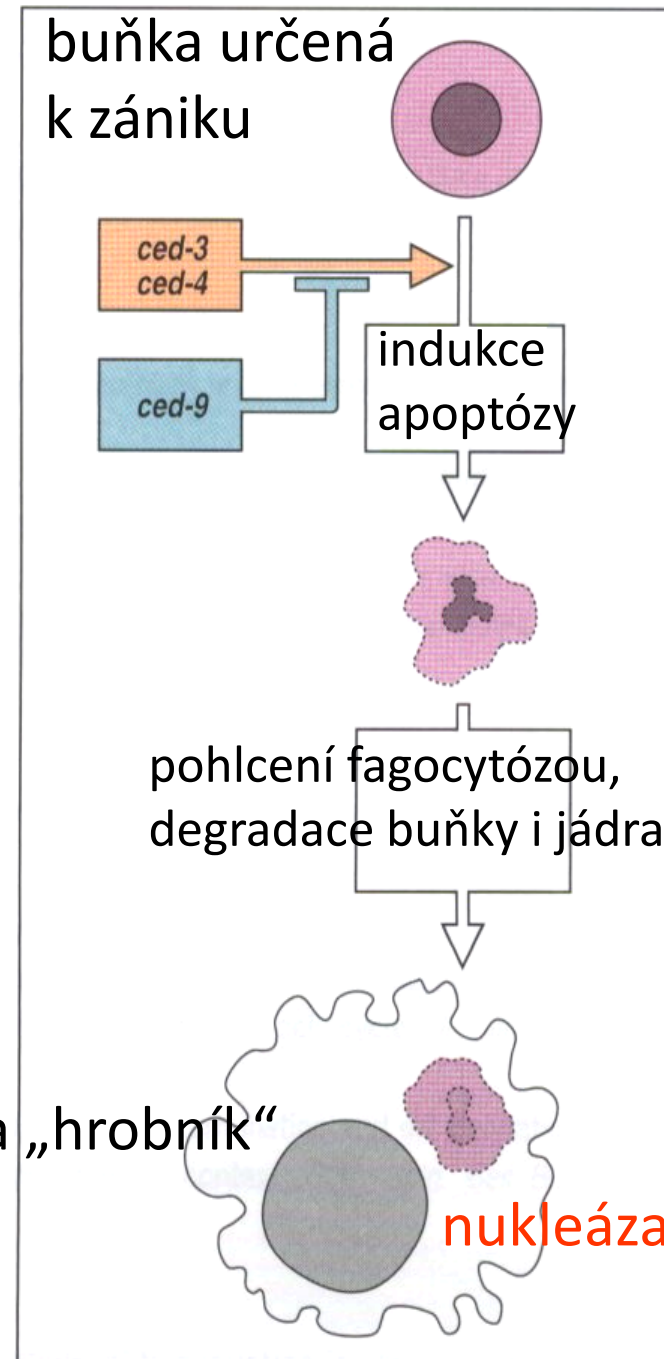
- **morfologické** př. **Dumpy (Dpy)** – krátké, tlusté tělo
Long (Lon) – delší než WT
- **chování (pohyb)** př. **Uncoordinated (Unc)**
Roller (Rol)
- **heterochronní** př. **Cell Lineage Abnormal (Lin)**
- **letální** př. **Lethal (Let)**
- **sexuální transformace** př. **Masculinizing (Tra)**
Feminizing (Fem)

Účinek genů řídících
programovanou
buněčnou smrt
u hlístice :

geny cell death *ced-3* a *ced-4*
(produkující cytotoxiny)
jsou řízeny (inhibovány)
genem *ced-9*
- jestliže je tento gen aktivní,
buňka se nepodrobí apoptóze

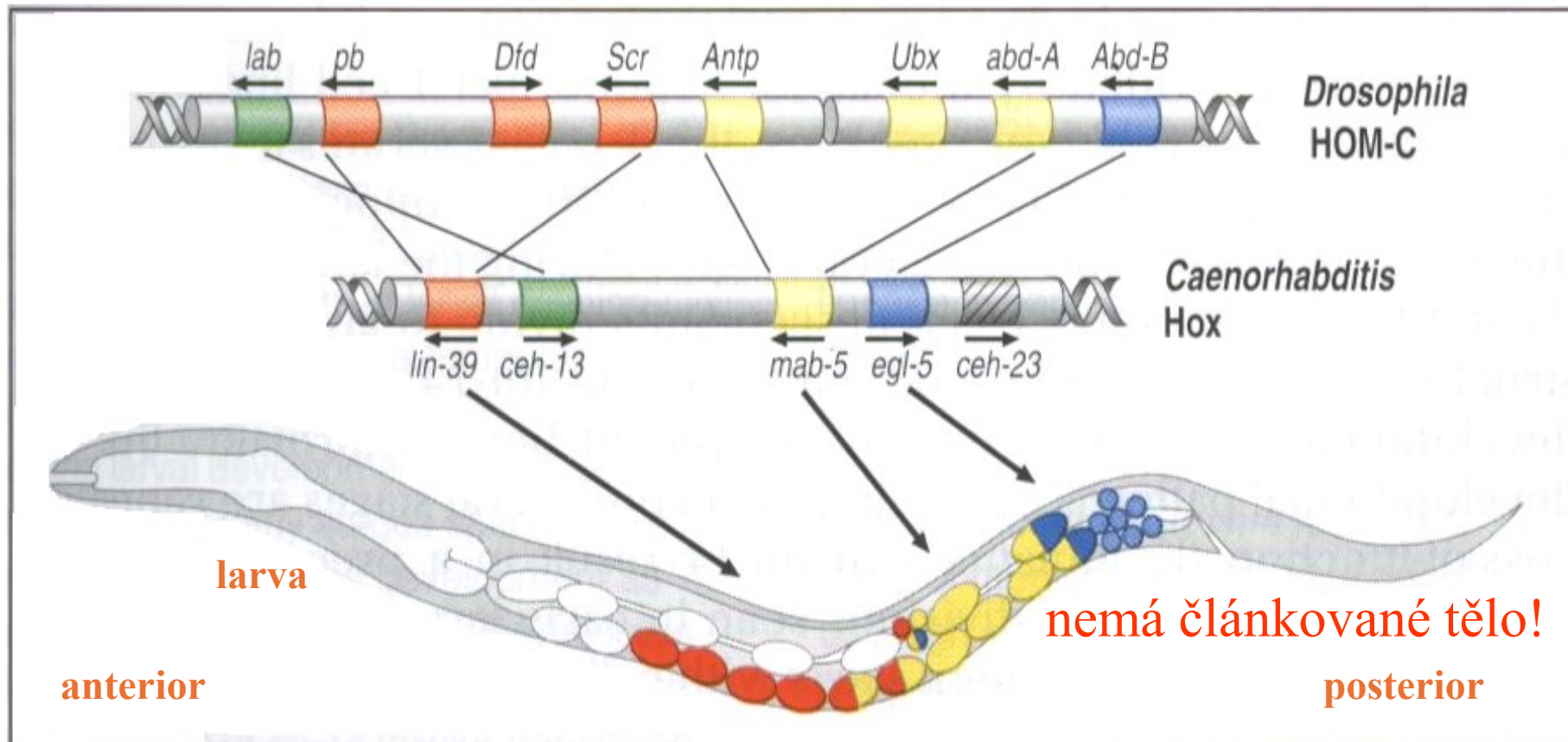
buňka „hrobník“

nukleáza



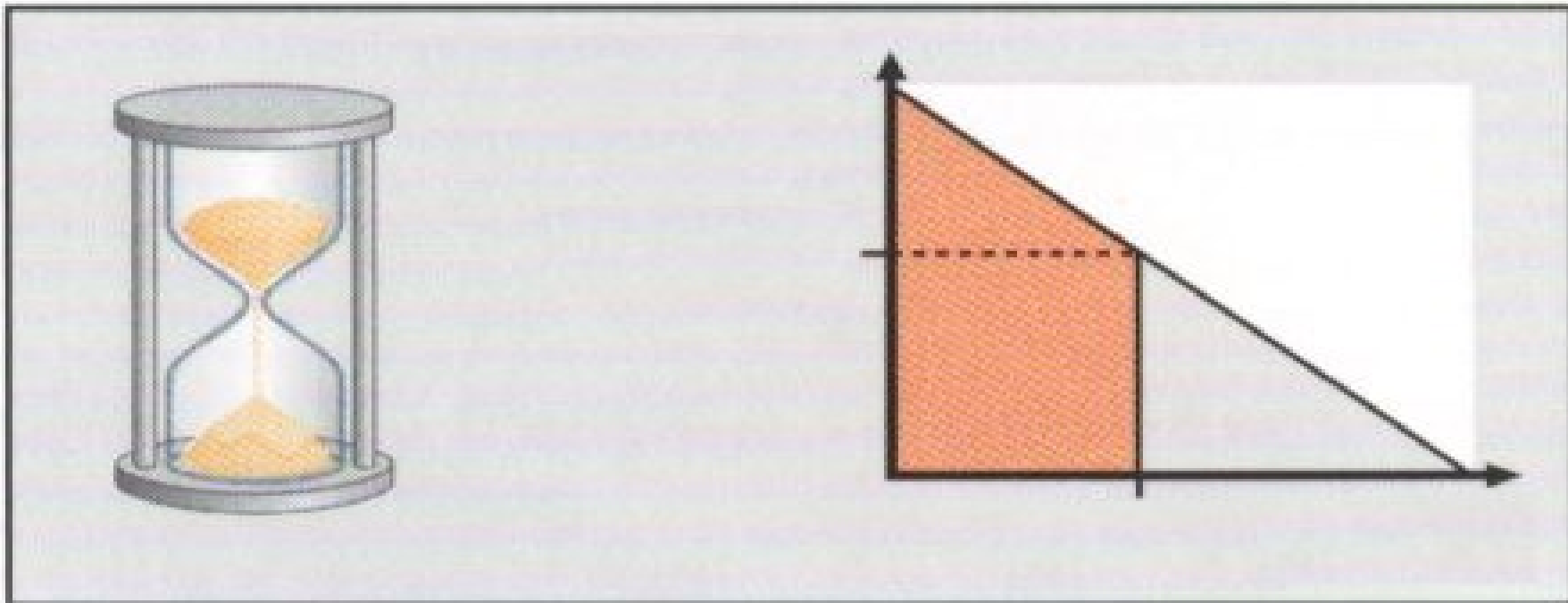
Buněčný osud hlístice podél antero-posteriorní osy je určován jediným (kolineárním) shlukem *Hox* genů

- s homologiemi ke čtyřem homeotickým genům z komplexu *Antennapedia* mouchy



**Časování vývojových procesů,
zapínání a vypínání genů v závislosti
na koncentraci a čase, prahové hodnoty**

HETEROCHRONNÍ GENY



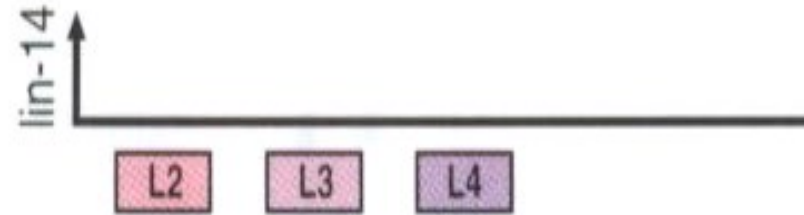
HETEROCHRONNÍ MUTACE

model řízení časového vývoje larvy C-elegans

specifická stádia larválního vývoje jsou určována hladinou proteinu lin-14

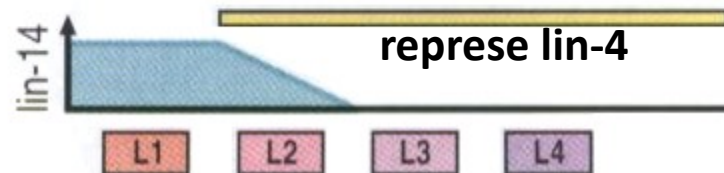


lin-14 mutace, „ztráta“ funkce

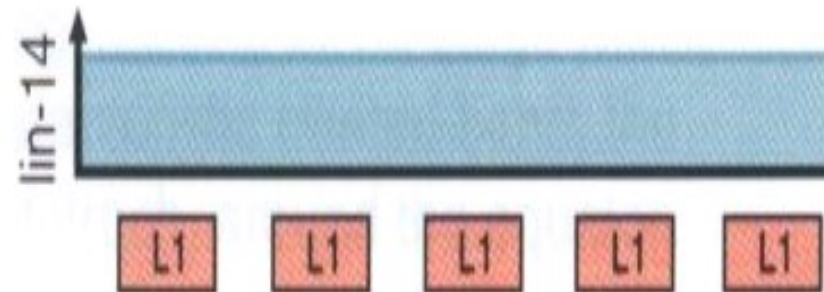


časový gradient lin-14 je výsledkem transkripční represe lin-14 proteinem lin-4, začínající při časném vývoji larvy

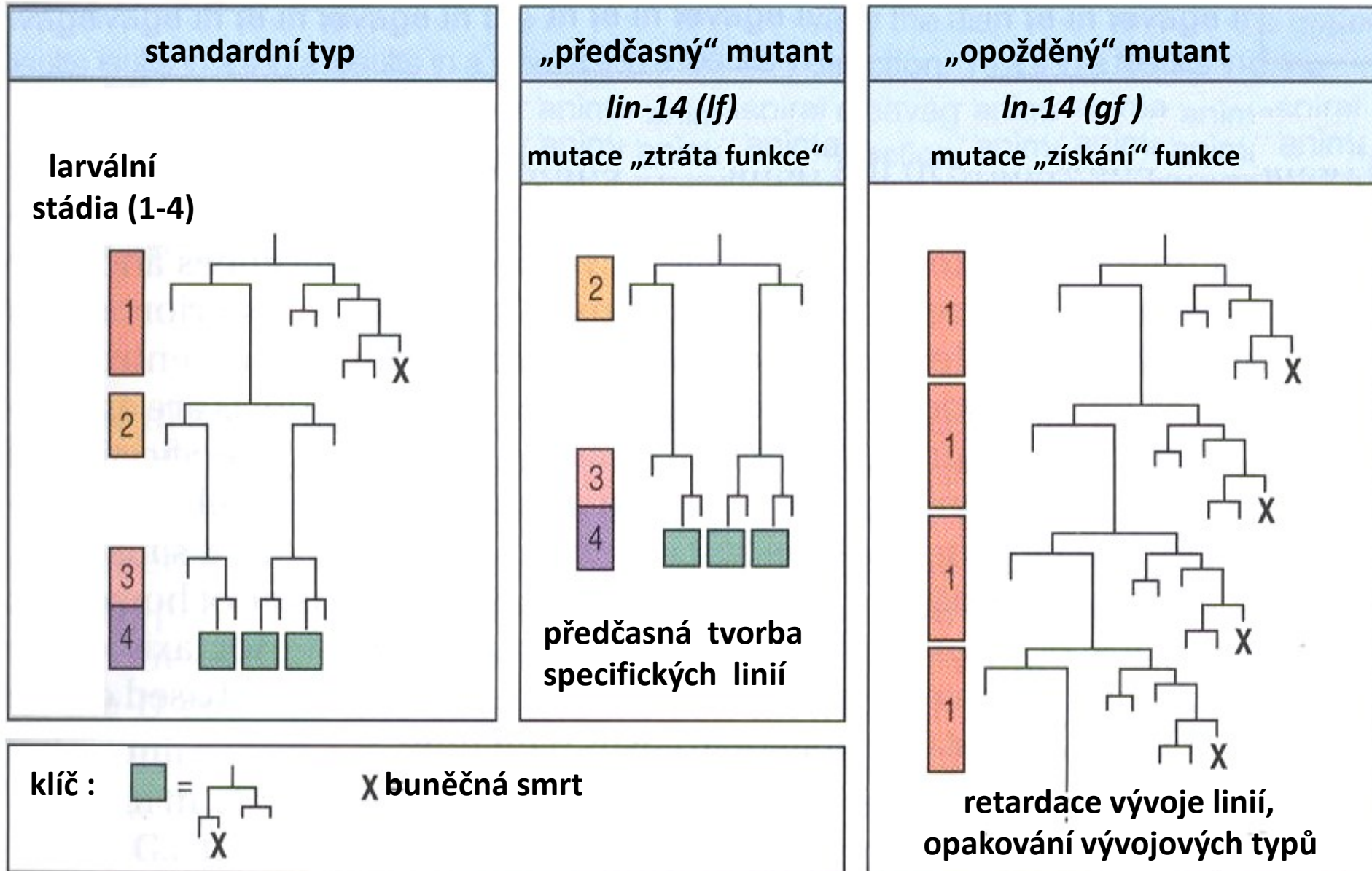
standardní typ



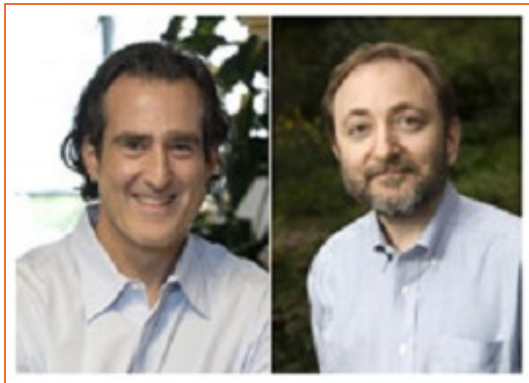
lin-14 mutace, „získání“ funkce, nebo „ztráta“ lin-4 funkce



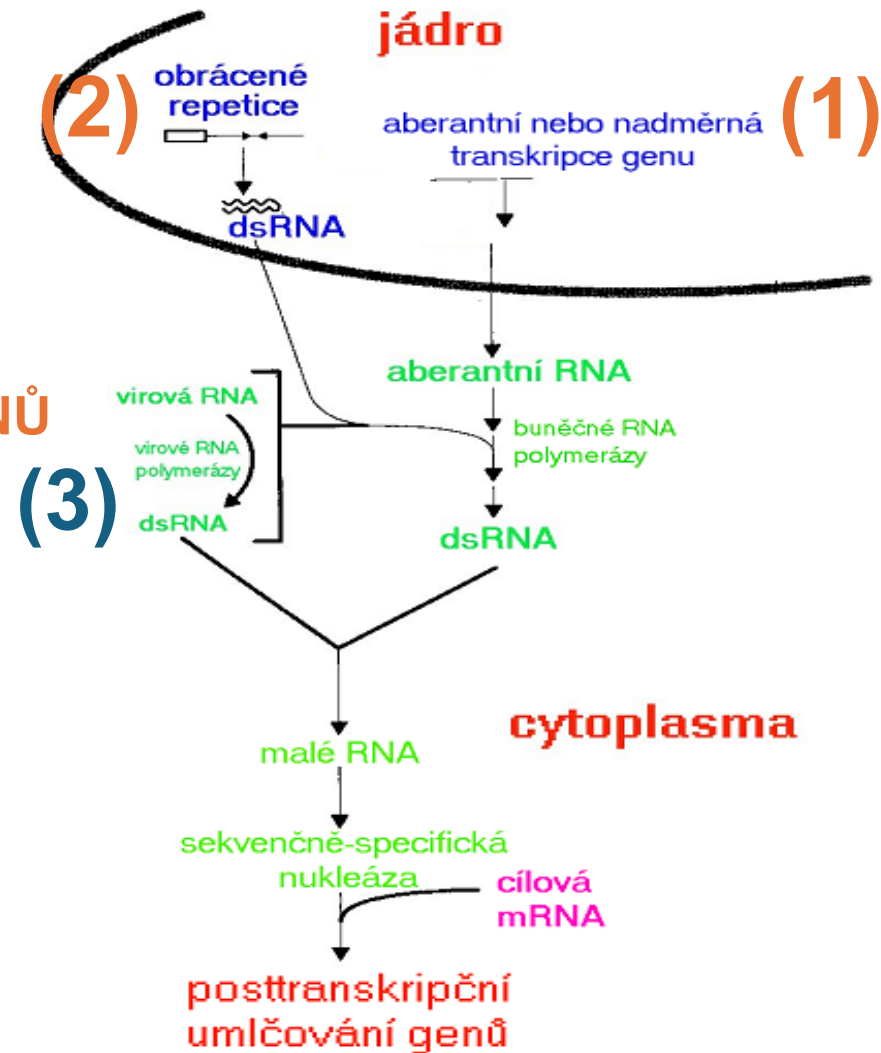
Buněčná genealogie u WT a heterochronních mutantů *C-elegans*



**2006: NOBELOVA CENA
ZA FYSIOLOGII A LÉKAŘSTVÍ
SELEKTIVNÍ UMLČOVÁNÍ GENŮ
PROSTŘEDNICTVÍM
RNA INTERFERENCE**



Craig Mello, Andrew Fire
(Carnegie Institution 1998)



-
- (i) RNA-dependentní RNA polymeráza
ss RNA → ds RNA
 - (ii) Dicer : ribonukleáza
ds RNA → malé ds RNA (~ 22 nt)
 - (iii) Argonaut (RISC) - proteiny ribonukleázového komplexu : štěpení (endogenní homologní) mRNA