

*تمایز سلول های عضلانی در c-elegans

مطالعه تمایز سلول های عضلانی در این حیوان بر اساس چگونگی حرکت کرم انجام شده است. تعدادی از موتان ها را جمع آوری کرد و حرکات متنوع در مقایسه با نژاد وحشی در آنها دید و این موتان ها را تحت عنوان **unc=uncoordinated** (ناهماهنگ) نامید. اگر چه برخی از موتان ها دارای دستگاه عصبی غیر طبیعی هم بودند و تعدادی تعدادی نیز ژن های تغییر یافته ای در ارتباط مستقیم با عضله نشان دادند. بافت عضلانی به طور کلی بافت سیار تخصص یافته ای است که به بیان هماهنگ ژن های خود عمل می کند. ژن های عمده این بافت پروتئین های اصلی نظیر اکتین، میوزین و پارامیوزین را ایجاد می کنند و به علت حفاظت تکاملی این ژن ها در جانوران و پروتئین های مربوطه و فراوانی نسبی آنها تعیین ساختار پروتئین ها و کلون ژن های مربوطه آنها کار قابل اجرا و موثری در شناخت انواع موتان ها بود. با این بررسی ها مشخص شد که چگونگی پروتئین های عضله عمل نموده و انقباض می کنند و چگونگی ژن ها در طی رشد و نمو تنظیم می شوند.

عضله بندی دیواره بدن در **c-elegans** در 4 ردیف درست در زیر هیپودرم دیده می شود. 3 عضله دارای 24 سلول و چهارمی 23 سلول دارد. سلول ها دوکی شکل هستند و به صورت 12 جفت در کنار هم در سراسر بدن به هم پیوسته و قرار دارند. هر سلول عضلانی دارای 3 منطقه جسم سلولی، زائده سلولی و شبکه میوفیلامانی است در جسم سلولی هسته، میتوکندری ها و سایر ارگانل های سلولی قرار دارد اما فاقد میوفیلا مانند در بخش توسعه یافته سلول زائده بازو قرار دارد که به طناب عصبی مجاور خود متصل می گردد جایی که با نوروں های عصبی ارتباط دارد. شبکه میوفیلامانی درست در زیر میودرم اتصال داشته و با آن ارتباط دارد. این شبکه دارای میوفلامان های نازک و ضخیم با ترتیب منظمی است. ترتیب اینها مخطط است که به سهولت با میکروسکوپ پلاریزان (قطبی) قابل مشاهده است. این حالت مخطط بودن حالت

متناوب و منظم فیلامان ها را در عضله مشخص می کند و شباهت زیادی با عضلات مخطط مهره داران ندارد. ولی بر هر حال در آنها فیلامان ها با محور گیری در طول سلول عضلانی متمرکز هستند. و فیلامان ها و عضلات با محور سلولی بدن مطابقت دارند علی رغم آرایش متفاوت ملکولی عضله در این حیوان با سایر بی مهرگان و مهرداران پروتئین های موجودات در این عضلات شباهت زیاد با جانوران دیگر دارد C- *elegans* علاوه بر عضلات ذکر شده دارای عضلات دیگر شامل سلول های پمپ حلقی برای پمپ غذا در دهان به داخل روده سلول های روده ای و مخرجی و در گوارش و دفع به علاوه تعدادی دستجات عضلانی در گناد و تخم گذاری به کار می رود. مجموعاً 95 عضله در حیوان بالغ دیده می شود که حرکات سینوزوئیدی آن را در سطح محیط کشت آگار نشان می دهد.

*آنالیز بیان ژن های تخصصی عضله در c.elegance

موتاسیون های موثر در عضلات بدن c.elegance در نوع حرکت آنها در مقایسه با نژاد وحشی اثر می گذارد. علاوه بر مشاهده حرکات رفتاری موتان هایی تحت عنوان **unc=uncoordinated** در ساختمان عضلات در صورتی که با میکروسکوپ پلاریزان سلول های عضلانی بررسی شود تغییرات را نشان می دهد فیلامان نوار A به شدت سازمان یافته است و در ریز میکروسکوپ مذکور این فیلامان ها در یک زمینه تیره - روشن هستند.

در موتانی به نام **hunt** (هانت) که در اثر تاثیر موتاژن ها تغییر در ژن های حیوان حاصل شده نوار A غیر طبیعی می شود با به کاربردن روش های ایجاد موتاسیون مشخص شد که 21 ژن مختلف در ساختمان عضله اثر می گذارند و گاهی برخی از موتاسیون ها اثرات مشابهی بر ساختمان و حرکت عضله نشان می دهند در عین حال موتاسیون های ژن های عضله دارای تنوع می باشد به عنوان مثال به کار بردن **EM** (میکروسکوپ الکترونی) و ژل الکتروفورز در ارتباط با مطالعه ترکیب پرتئین های تغییر یافته در عضلات در برخی موتاسیون ها فیلامان های میوزی و در برخی فیلامان های نازک اکتینی یا حد واسط تغییر نشان می دهد. برخی از موتان ها فلج حرکتی از خود بروز می دهند. برخی موتان ها از انواع وحشی به سختی قابل تشخیص هستند در برخی از موتاسیون ها در تمام طول عمر حیوان و در ساختمان و تحرک بدن اثر می گذارند. 3 ژن مشخص شده که در دوران لاروی ابتدایی و بالغ بر روی حرکت اثر می گذارند.

*اساس مولکولی تغییرات ژن ها در تحرک C الگانس

تا حدی که شناخته شده است پروتئین های کد شده توسط 5 ژن از 21 ژن عضله بندی دیواره بدن به قرار زیر عمل می کنند. ژن **unc54** که زنجیر سنگین میوزین را که می کند ژن ها **act₃** و **act₂** و **act₁** اکتین

را کد می کنند. ژن های **unc15** پارامیوزین را کد می کنند. موتان های **unc15** فاقد پارامیوزین هستند. زیرا که این ژن تنها ژن کد کننده این پروتئین است از دست دادن عملکرد این ژن باعث کمبود های جدی نظیر فلج حیوان می شود زیرا پارامیوزین پروتئین اصلی فیلامان های ضخیم عضله است. با به کار بردن تکنیک هیبریداسیون **RNA** محققان نشان دادند که فرم های موتان محتوی **mRNA** پارامیوزین اند. اما این **mRNA** ترجمه نمی شود این یافته نشان می دهد یک موتاسیون نقطه ای در یکی از کرون های انتهایی خاص **mRNA** این مشکل را در این ژن ایجاد می کند. ژن **unc54** پروتئین زنجیره سنگین میوزین را کد می کند. یک موتان آلل به نام **elf5** در این حیوان شناخته شده که یک پلی پپتید کوتاهتر از حد نرمال را کد می کند. و آلل دیگری به نام **e690** شناخته شده که سبب ایجاد پروتئین های کمی از میوزین سنگین را کد می کند. بر خلاف پارامیوزین پروتئین های زنجیر سنگین میوزین از یک خانواده چند ژنی ایجاد می شود از این نظر موتاسیون در یکی از آنها سبب ناپدید شدن کامل پروتئین نمی شود. تعدادی از ژن های زنجیره ای سنگین میوزین کدون ترادف یابی شده است و علاوه بر این 12 موتان آلل در ترادیف یابی آنها یافت شده آنالیز گردیده با این یافته ها ترادف **au** های میوزین سنگین کاملاً شناخته شده است. بدین ترتیب مطالعه زنجیره های سنگین میوزین ابزار ملکولی اختصاصی خوبی برای بیان اختصاصی ژن در **C** الگانس است. پارامیوزین در تمام سلول های عضلانی یافت شده اما ژن های زنجیره سنگین میوزین مختلف در گروه های اصلی عضله بیان می شود. این بیان ژن افتراقی می تواند مشخص کند کدام سلول عضلانی نرمال است و بسیاری از زنجیره های میوزین سنگین از این طریق شناخته می شوند. به عنوان مثال ژن **unc54** در حلق بیان نمی شود. بنابراین حیوانات مذکور به طور عادی غذا می خورند. اما دارای نقص در برخی حرکات هستند بدین ترتیب معلوم می شود که مطالعات مولکولی این کرم در سطح بالایی پاسخ گویی به سوالات پیچیده ای برای بیان ژن در طی اندام زایی محسوب می شود. هم اکنون با به کار بردن تکنولوژی **DNA** نو ترکیب برای مطالعه جزئیات عملکرد ژن ها تحقیق اساس ملکولی تعدادی از نقص های فنوتیپی در انواع سلول

های بدن در الگوی تقسیم در طی بلوغ دودمان های سلولی و در تولید مثل این کرم پیدا کردند. کلون کردن ژن های حیوان نسبتا ساده است زیرا موجود دارای هستند که مقدار آن کمتر از 0/2 اندازه ژنوم در پستاندار است. احتمالا 4 هزار ژن ضروری و تعدادی ژن مبهم در یک کپی منفرد DNA موجود است تاکنون 100 ژن از طریق مطالعه موتاسیون بر روی یکی از 6 کروموزوم کاریوتیپ شده C الگانس مشخص شده و تعدادی کلون گردیده. بخش پژوهش علاوه در موتان ها بر روی تشکیل ائوسیت های تغییر یافته صورت گرفته که از نظر رشد و نمو جنین اهمیت شایانی دارد. برخی از طریق عملکرد کمپلکس های سیناپسی سیستم عصبی صورت گرفته و بخشی از تحقیقات در مکانیزم های تشخیص اسپرم اووسیت و عمل متقابل آنها و انترل ژنتیکی تعیین جنسیت صورت گرفته و هنوز این تحقیقات ادامه دارد و در جدول پروتئین های اصلی عضلات در C الگانس مشخص شده است.

عملکرد مولکول ها	زیرا واحدها	وزن ملکولی	پروتئین
فیلامان های میله ای که سر آنها	2 زنجیره سنگین یا		
با اکتین مقابله کرده و دارای	230/000 D	500/000 D	میوزین
فعالیت ATase برای	2 زنجیر سبک 18/000 D		
ایجاد انقباض است	2 زنجیره سبک 16/000 D		
پروتئین میله ای که بخش مرکزی	2 زیر واحد با		
فیلامان ضخیم را ایجاد می کند.	105/000 D	210/000 D	پارامیوزین
ملکول کروی که پلمیریزه شده	1 زیر واحد با	43/000 D	اکتین
ایجاد فیلامان نازک کرده سبب	43/000 D		
فعال شدن ATPase میوزین			
شده و سیکل انقباض را ایجاد می کند.			

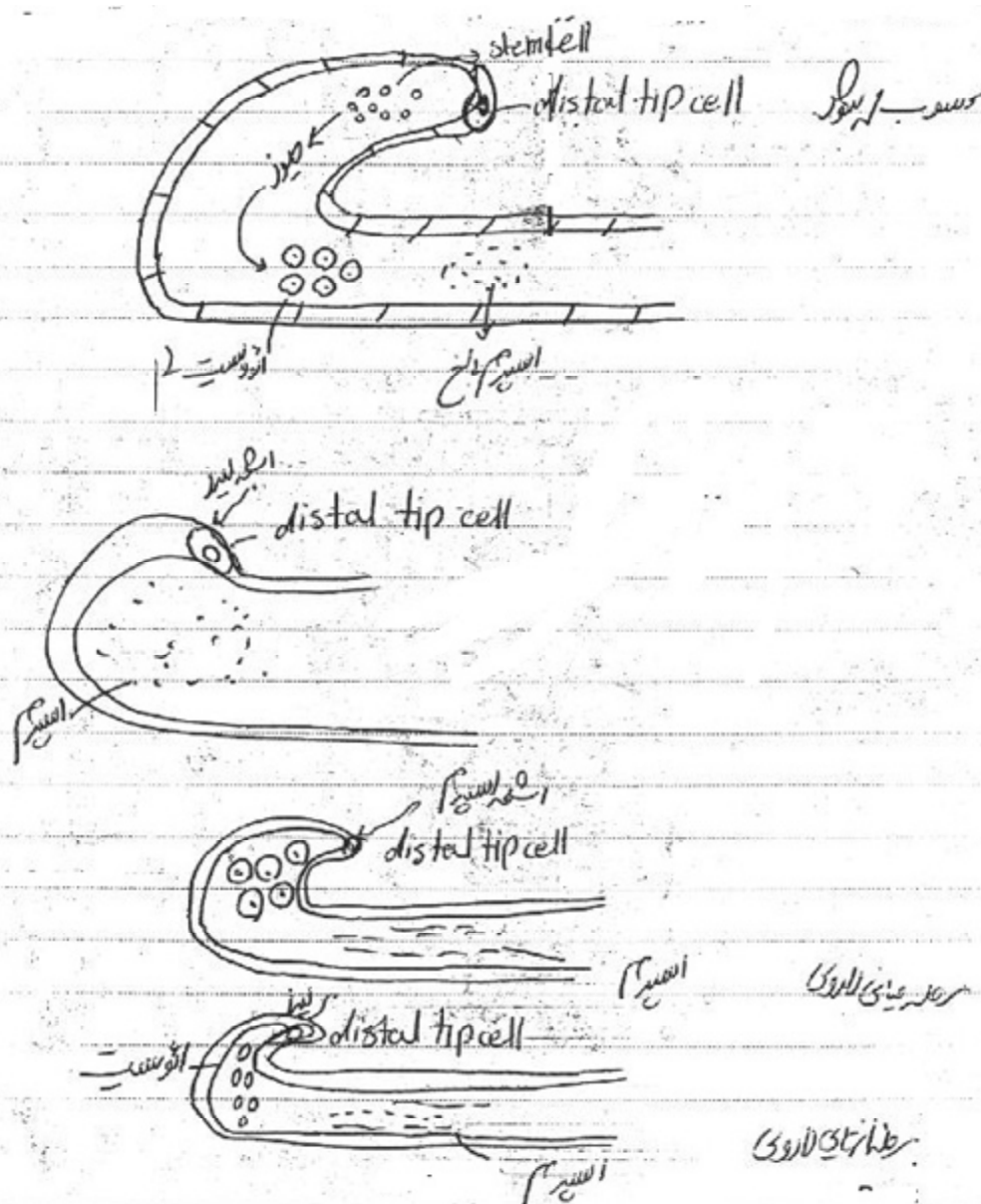
مطالعات ژنتیکی گسترده در این حیوان نشان می دهد که ژنی به نام lin_{12} در دودمان های سلولی p ، p_5 و p ، p_7 فعال است در حالیکه در موتان ها این ژن در تمام سلول p_2 ، p_3 تا p_8 فعال است در حیوانات فاقد محصول ژن lin_{12} هیچ یک از 12 محصول ژنی در سلول های P ، P_5 ، P ، P_7 یافت نمی شود. اینها $line_{12}$ کلون شده است واحد 13 اگزوزن است که 11 واحد پپتیدی همولوگ را کد می کند. مکانیسم عمل این پپتید یک هومولوژی بین مترادف پپتید های فاکتور رشد اپیدرمی یا اپتیلیالی EGF را نشان می دهد

که باعث ترمیم پوست شده بنابراین ممکن است شبیه یک فاکتور رشد عمل کرده و باعث کنترل مستمر تقسیم دقیق تعدادی از سلول ها باشد.

رشد و نمو دودمان های سلولی زاینده در C الگانس:

سلول های ژرمینال در C الگانس درون یک گناد لوله ای ایجاد شده که در حیوانات هرمافرودیت گناد دارای 2 بازو به شکل U می باشد برخی از حیوانات هرمافرودیت نبوده و نر و ماده از هم جدا هستند. جداره گناد از دودمان سلولی سوماتیک ایجاد شده و بعد به سلول زاینده تبدیل می شود ضمن رشد گناد ترادف رشد و نموی در تمایز گامت ها در سلول های زاینده ایجاد می شود. و این امر در موقعیت دیستال یا بسته گناد ایجاد می شود. ابتدا سلول های زاینده میتوز انجام داده ← جمعیت زیاد شده به سمت پایین لوله رانده می شود با افزایش جمعیت سلول های زاینده میتوز کاهش یافته و تمایز آنها منجر به ایجاد اسپرماتوسیت ها و سپس اووسیت ها می شوند. این عمل باعث تمایز مراحل بعدی یعنی انجام میوز در سلول های جنسی خواهد گردید تمایز کامل اسپرم ها در ناحیه پاراکسیمال و چین خورده گناد انجام می گیرد. به کمک تجربه با اشعه لیزر و تخریب سلولی مشخص شد که وجود یک سلول در موقعیت دیستال هر بازوی گناد ترادف رشد و نمو تشکیل گامت ها را کنترل می کند. این سلول به نام دیستال تیپ سل نام دارد سلول نوک دیستال **distaltipelli** هنگام تخریب این سلول با لیزر تمام سلول های زاینده در گناد وارد تقسیم میوز شده شروع به تمایز می کند و این سلول به عنوان یک سلول بنیادی تعداد ثابتی از سلول های زاینده را حفظ می کند و چنین به نظر می رسد که سلول انتهایی دیستال در گناد نرمال سلول ها را تا حدودی در چرخه میتوزی خود حفظ می کند و هنگامی که تعداد سلول ها زیاد شد و از حد نرمال خود افزایش پیدا می کند از موقعیت خود جا به جا شده و میوز آغاز می شود تخریب این سلول ها به کمک میوز مکانیسم تبدیل سلول بنیادی را به اسپرم یا تخمک مشخص می کند. اگر اثر لیزر در مراحل اولیه

زندگی لاروی اعمال شود تمام گامت ها اسپرم می شود و اگر تجربه در مرحله لاروی میانی انجام شود تعدادی از سلول ها به اسپرم تبدیل شده و تعدادی محدود به اووسیت تمایز می یابند اگر لیزر در مراحل لاروی انتهایی به کار رود این تجزیه موجب ایجاد تعداد زیادی اسپرم و تخمک می شود نتیجه گیری از همه این تجربیات نشان می دهد هنگامی که تعدادی معین از سلول ها به اسپرم ها تمایز می یابند سلول های زاینده دیگر با شروع به تمایز اوویست هارا به وجود می آورند بنابراین سلول های نوک انتهایی نمونه



این از کنترل با طیف وسیع در تمایز سایر سلول ها محسوب می شود.

نقش ژن های تکوینی در آن:

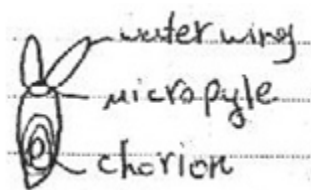
مگس سرکه یا میوه حشره ای از راسته دو بالان است که در مطالعات رشد ونموی و ژنتیکی کاربرد وسیعی دارد. مگس سرکه را می توان بر روی میوه های نرم و یا در حال فساد مشاهده نمود مثل انگور ، موز ، گوجه به خصوص اگر این میوه ها رسیده باشد. ودر حال تخمیر باشد. دوره زندگی مگس سرکه به مراحل تقسیم می گردد که در هر یک از آنها جانور شرایط رشد ونموی ویژه ای را طی می کند به این ترتیب که بعد از عمل لقاح و تشکیل تخم مراحل رشد و نمو رویانی در داخل غشاء تخم رخ می دهد که دوران جنینی است. سپس لارو از تخم خارج شده و با تغذیه و رشد ونمو در موقعیت شفیره تبدیل می شود که این مرحله دوره بعد از جنین است پس از شفیره یا pupa رشد ونمو پیدا کرده و حشره کامل یا بالغ از پوسته شفیره به بیرون راه می یابد طول مدت این مراحل تحت تاثیر دمای محیط متغیر بوده و در شرایط دمایی طبیعی رشد و نمو حیوان در 25°C در مدت 10 روز کامل می شود.

مراحل تکوین مگس سرکه

1) مرحله تخم egg stage تخم گذاری مگس ماده پس از 2 روز از بیرون آمدن شفیره آغاز می شود مگس ماده در مدت 10 روز از 400 تا 500 تخم می گذارد تخم بیضی شکل بوده و از یک لایه نازک مقاوم به نام کوریوم پوشیده شده است. در انتهای قدامی تخم دو زائده به نام های بال های آبی یا water wing نامیده می شوند که مانع فرو رفتن تخم به مایع داخل محیط کشت می شود در همین ناحیه از تخم منفذ ورود اسپرم یا میکروپیل وجود دارد. اسپرم ها از زمان جفت گیری توسط مگس ماده ذخیره می شود و با ورود اسپرم به تخم تقسیمات میوز آن کامل شده و هسته

تخمک شکل می گیرد و سپس از ترکیب با منطقه سر اسپرم زیگوت تخم کروموزوم شکل می

گیرد.



(2) مرحله لاروی:

در حدود یک روز بعد از تخم گذاری لارو ابتدایی یا لارو 1 از تخم خارج می شود که به این مرحله **hatching** یا از تخم درآمدن می گویند و مرحله لاروی آغاز می شود لارو 1 برای رسیدن به حد نهایی تکوین خود دو بار پوست اندازی می کند یک بار برای تبدیل به لارو 2 و بار دیگری برای تبدیل شدن لارو 2 به لارو 3. در حشرات فاصله بین دو پوست اندازی را **Instar** می گویند در **Instar** آخر یا شکل گیری لارو 3 طول آن تا حد $4/5 \text{ mm}$ ممکن است برسد در این حیوان در این مرحله رشد ونمو سریع بوده و غذای فراوان می خورد و از نظر شکل ظاهری کرمی شکل ، بند بند و سفید رنگ است. اندام های مختلفی در آن شکل می گیرد از جمله طناب های آرواره ای ، گانگلیون های مغزی لوله های تنفسی ، معده ، روده ، غدد مالپیگی ، غدد بزاقی و غدد جنسی. از جمله اندام های مورد استفاده لارو در مطالعات سیتولوژیکی غدد بزاقی و مالپیگی آخرین مرحله لاروی است که جهت تهیه کروموزوم های پلی تن یا غول پیکر به کار می رود. در آخرین **Instar** لارو 6 برای خارج شدن و تبدیل شدن به شفیره به خارج از محیط تغذیه می رود و اطراف خود پوشش سخت و مایل به قهوه ای ایجاد می کند به نام شفیره.

(3) pupal stage مرحله شفیدگی:

که حدودا 5 روز بعد از تخم گذاری آغاز می شود با از بین رفتن و تغییر شکل و آناتومی اندام های تشکیل شده در مرحله لاروی همراه است در شفیره ابتدایی توده سفید رنگ باقی مانده از آخرین لارو داخل پوسته

شفیره به تدریج بند بند می شود ابتدا بند سر و سینه ، سپس شکمی تبدیل می شود سپس با گذشت زمان بند های سر و سینه از هم جدا شده و چشم ها به عنوان اولین اندام بدن شکل می گیرد با شکل گیری سایر اندام ها مانند پاها و اندام ها در نهایت حشره کاملی در داخل پوشش شفیره انتهایی ظاهر می شود. انرژی و مواد لازم برای این تغییرات از تخریب بافت های دوران لاروی تامین می شود و این تخریب سلولی و بافتی نوعی از متابولیسم شفیره می باشد.

4) مرحله Imago stage

در حدود روز 10 مگس سرکه با باز کردن انتهای قدامی پوسته شفیره از پوسته خارج شده و در چند ساعت بال های آن باز و گسترده می شود مگس سرکه از نظر شکل دارای بند سری که از 3 بخش تشکیل شده و اندام های حسی در آن قرار دارد. بند سینه ای خود از 3 بخش و واجد 3 جفت پا و یک جفت بال می باشد و بند های شکمی که به تعداد 8 عدد می رسند و اندام های گوارشی ، جنسی ، دفعی و دیگر اندام های مگس قرار دارند. تشخیص جنسیت در این حیوان با 2 جفت تمایز صورت می گیرد در جنس نر وجود یک شانه جنسی به شکل پارچه ای سیاه در اولین جفت پا وجود دارد، دومین وجه تمایز تعداد و تیره بودن رنگ بند های آخر شکمی در نر است چون رنگ بدن مگس کلا آبنوسی (زرد مایل به خاکستری) است. مگس سرکه نوع وحشی دارای اختصاصات ویژه ای است که آن را از نوع جهش یافته جدا می کند. از جمله این خصوصیات رنگ بدن آبنوسی یا زرد مایل به خاکستری ، رنگ چشم های مرکب صورت قرمز تیره ، سینه تقریباً گرد و اعضای تعادلی یا هالتر ها holters در نرها کمی کشیده تر از ماده می باشد و همچنین تنوع موتان در بال حیوان دیده می شود بعضی بال تحلیل رفته دارند وستیجیال. برخی خمیده یا کرمی برخی بال بریده یا ناچ و روده ها مورد دیگر. تاکنون در حدود 5000 زن در این حیوان نقشه کشی و شناسایی شده است. و به این ترتیب تعداد موتان های آن بسیار زیاد است.