

ΑΝΘΡΩΠΟΙ ΚΑΙ ΣΚΟΥΛΗΚΙΑ

Η βιολογία του νηματώδους *Caenorhabditis elegans*

Είναι δυνατόν ένα ταπεινό σκουλήκι να αποτελέσει την πλατφόρμα στην οποία θα μελετηθούν αποτελεσματικά τα περισσότερα από τα προβλήματα της σύγχρονης βιολογίας; Ο *C. elegans* αποδεικνύει πως ναι.

Νεκτάριος Ταβερναράκης, Πόπη Συντυχάκη, Χρύσα Σαμαρά, Γιάννης Βόγλης

Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας

Η ισχυρότερη ίσως κινητήρια δύναμη πίσω από τη βιοϊατρική έρευνα στις μέρες μας είναι η προσπάθεια για τη βελτίωση της υγείας και της ποιότητας ζωής του ανθρώπου. Γιατί λοιπόν να ασχολείται κανείς με το νηματώδη *Caenorhabditis elegans*, ένα μηδαμινό σκουλήκι (Εικόνα 1), που με δυσκολία μπορεί κανείς να διακρίνει με γυμνό μάτι; Η σύντομη απάντηση στην ερώτηση αυτή είναι ότι ο *C. elegans* αποτελεί έναν εξαιρετικό "οργανισμό-μοντέλο" στον οποίο είναι δυνατό να μελετήσουμε κεντρικά ζητήματα της βιολογίας, κάνοντας κατόπιν αναγωγή σε ανώτερους οργανισμούς και τελικά στον άνθρωπο. Το ίδιο όμως μπορεί να ειπωθεί και για άλλους οργανισμούς-μοντέλα, όπως ο σακχαρομύκητας *Saccharomyces cerevisiae*, η μύγα *Drosophila melanogaster* και το ποντίκι. Στις επόμενες σελίδες θα επιχειρήσουμε να εισαγάγουμε και να περιγράψουμε τον *C. elegans*, εξηγώντας τους βασικούς λόγους για τη μεγάλη επιτυχία της χρήσης του σε όλα σχεδόν τα επίπεδα της βιολογικής έρευνας.

Ιστορική αναδρομή

Η χρησιμοποίηση του *Caenorhabditis elegans* ως οργανισμού-μοντέλου οφείλεται κατά κύριο λόγο στον Sydney

Brenner, ο οποίος αναφέρεται και ως «πατέρας» του οργανισμού (Εικόνα 2). Η βαθιά πίστη του Brenner στην αναγκαιότητα εύρεσης νέων οργανισμών προς μελέτη αποτυπώνεται με τον καλύτερο τρόπο στην επιστολή που έγραψε ο ίδιος το 1963 στον τότε διευθυντή του Εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας στο Πανεπιστήμιο Cambridge, Max Perutz, στην οποία, ανάμεσα σε άλλα, σημειώνει ότι «όλα τα κλασικά προβλήματα της μοριακής βιολογίας είτε έχουν επιλυθεί είτε πρόκειται να λυθούν την επόμενη δεκαετία ... το μέλλον της βιολογίας απλώνεται τώρα σε νέα πεδία και κυρίως στη μελέτη της αναπτυξιακής βιολογίας και του νευρικού συστήματος» (<http://elegans.sw.med.edu/Sydney.html>).

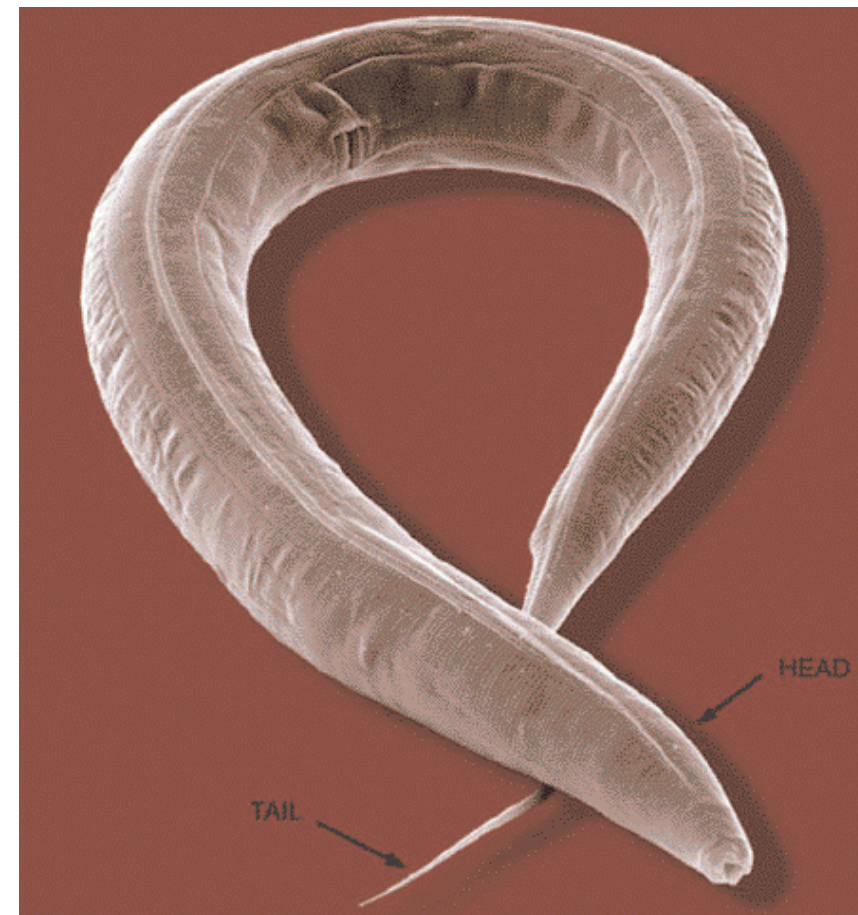
Έχοντας στόχο τη μελέτη της ανάπτυξης του νευρικού συστήματος μέσω γενετικής ανάλυσης, ο Sydney Brenner επιδόθηκε στην ανεύρεση ενός πολυκύτταρου οργανισμού, ο οποίος όμως έπρεπε να πληροί μια σειρά από κριτήρια. Ο οργανισμός αυτός θα έπρεπε να έχει μικρό κύκλο ζωής, ώστε να επιτρέπει τη μεγάλη κλίμακα αναπαραγωγή του σε σύντομο χρονικό διάστημα. Επίσης θα έπρεπε να έχει σχετικά απλό αναπαραγωγικό κύκλο, που να επιτρέπει την εύκολη εφαρμογή γενετικών αναλύσεων. Με στόχο την παρατήρηση της δομής των νευρικών κυτ-

τάρων κατά την ανάπτυξη, στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, το μικρό μέγεθος του οργανισμού υπήρξε ένα ακόμα από τα κριτήρια για την επιλογή του. Τέλος, ο Sydney Brenner πίστευε ότι ένας οργανισμός είναι «εύχρηστος» για εργαστηριακή μελέτη όταν διακρίνεται από «σταθερότητα» στην ανάπτυξη σε μεταβαλλόμενες συνθήκες. Αποτέλεσμα της αναζήτησης αυτής ήταν στο τέλος του 1963 ο Sydney Brenner να λάβει το στέλεχος Bristol-N2 του είδους *Caenorhabditis elegans* από τον Ellsworth Dougherty, ο οποίος είχε αρχίσει να αναλύει γενετικά το συγκεκριμένο οργανισμό ήδη από το 1948 (η καταγραφή του οργανισμού ως ξεχωριστό είδος είχε πραγματοποιηθεί από το 1900).

Στη στροφή του προσανατολισμού της έρευνας από τη βιοχημεία και την κλασική γενετική στη μελέτη του νευρικού συστήματος και των αρχών της αναπτυξιακής βιολογίας, ο Sydney Brenner δεν ήταν μόνος. Ήδη από τις αρχές του 1960 πολλοί επιστήμονες είχαν στρέψει το ενδιαφέρον τους στη μελέτη της συμπεριφοράς πολυκύτταρων οργανισμών και στις αρχές που διέπουν την αφομοίωση εξωτερικών ερεθισμάτων και την προσαρμογή των οργανισμών σε αυτά. Ο Julius Adler είχε αρχικά προσπαθήσει να εξηγήσει γενετικά την απόκριση κυττάρων *E.*

coli σε χημικά ερεθίσματα, φέρνοντας στο προσκήνιο την έννοια της χημειόταξης (Adler, 1966). Το 1967 ο Seymour Benzer μελέτησε το φαινόμενο της φωτοτάξης στην *Drosophila melanogaster*, ανοίγοντας νέους δρόμους για τη γενετική προσέγγιση φαινομένων συμπεριφοράς των οργανισμών (Benzer, 1971). Ήταν λοιπόν ένα ευρύτερο ερευνητικό σχέδιο βασισμένο στην πεποίθηση ότι η μελέτη του νευρικού συστήματος σε απλούς πολυκύτταρους οργανισμούς θα μπορούσε να δώσει απαντήσεις για τις αρχές που διέπουν και τις διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα σε αντίστοιχα συστήματα ανώτερων οργανισμών.

Η ερευνητική ενασχόληση του Sydney Brenner με τον *Caenorhabditis elegans* ξεκίνησε από την παρατήρηση ότι οι συνδέσεις ανάμεσα στους νευρώνες των ασπόνδυλων και ιδιαίτερα των νηματώδων παραμένουν σταθερές μεταξύ ατόμων της ίδιας ή διαφορετικών γενεών. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στην υπόθεση ότι η σταθερότητα στη δομή και τη μορφή του νευρικού συστήματος θα πρέπει να ελέγχεται γενετικά. Έτσι, από το 1967 ως το 1970 έγινε προσπάθεια μεταλλάξεων του *C. elegans* για την απομόνωση μεταλλάξιμων στελεχών που να έχουν είτε διαφορετική μορφολογία είτε διαφορετική συμπεριφορά από το στέλεχος αγρίου τύπου. Το πρώτο στέλεχος που απομονώθηκε είχε μικρότερο μήκος σώματος και ονομάστηκε "dumpy", ενώ το γονίδιο το οποίο έφερε τη μεταλλαγή ονομάστηκε *dpy-1* (Hodgkin, 1989). Σε διάστημα τριών χρόνων χαρακτηρίστηκαν περίπου 100 διαφορετικά γονίδια τα οποία έφεραν μεταλλάξεις υπεύθυνες για μια σειρά από φαινοτύπους. Τα γονίδια αυτά χαρτογραφήθηκαν στα έξι χρωμοσώματα του *C. elegans* (Brenner, 1974). Παράλληλα, η ανίχνευση φαινοτυπικών γνωρισμάτων που σχετίζονται με το νευρικό σύστημα (π.χ. παραλυσία) και η συσχέτιση αυτών με συγκεκριμένα γονίδια άνοιξαν το δρόμο για τη γενετική προσέγγιση στη μελέ-



Φωτογραφία ενήλικου ατόμου *C. elegans* με χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης. Το συνολικό μήκος του ζώου είναι λίγο πάνω από ένα χιλιοστό και το πάχος του δεν ξεπερνά τα 80-100 μm (Πηγή: Juergen Berger and Ralf Sommer, Max Planck Institute for Developmental Biology, Germany).

τη του νευρικού συστήματος. Ένα σημείο-σταθμός στη μελέτη του *C. elegans* αλλήλ και της σύγχρονης βιολογίας γενικότερα ήταν ο καθορισμός από τον John Sulston της πλήρους σειράς των κυτταρικών διαιρέσεων που οδηγούν από το ένα κύτταρο (γονιμοποιημένο ώριο) έως τα 959 του ενήλικου ατόμου (Sulston and Horvitz, 1977; Sulston et al., 1983;) (Εικόνα 3). Ο *C. elegans* είναι το μοναδικό ζώο για το οποίο έχει επιτευχθεί κάτι τέτοιο. Αυτός ο πραγματικός άθλος είναι ενδεικτικός της διεξοδικής και σε βάθος (brute-force) προσέγγισης που ακόμα και σήμερα ακολουθείται από την επιστημονική κοινότητα του *C. elegans*. Η μελέτη αυτή αποτέλεσε την απαρχή πάμπολλων σημαντικών ανακαλύψεων σχετικά με την ανάπτυξη των οργανισμών και του κυτταρικού θάνατο.

Μια ακόμα ιστορικής σημασίας συμβολή του *C. elegans* –στη νευροβιολογία αυτή τη φορά– έρχεται στο τέλος του 1984. Ο Sydney Brenner, έχοντας κατανοήσει την εξαιρετική δυναμική που έχει η μελέτη του νευρικού συστήματος του *C. elegans*, οδηγείται στη χαρτογράφηση ολόκληρου του νευρικού συστήματος του οργανισμού. Σε συνεργασία με τους John White, Eileen Southgate και Nicol Thomson, οι 302 νευρώνες του *C. elegans* αναπαρίστανται γραφικά, χωρίζονται σε 118 κλάσεις με βιοχημικά και ανατομικά κριτήρια, καθορίζεται το ακριβές τους σχήμα, και οι μεταξύ τους συνάψεις υπολογίζονται σε ~8.000 – για το σκοπό αυτό απαιτήθηκαν 8000 διαδοχικές τομές του νηματώδους και παρατήρησή τους στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Η συγκεκριμένη εργασία αποτέλεσε σπουδαίο εγχείρημα για

την εποχή και έγινε κοινώς γνωστή με τον τίτλο "The Mind of a Worm" (White et al., 1976; White et al., 1986). Ακόμα και σήμερα παραμένει γνωστή η πλήρης συνδεσμολογία του νευρικού συστήματος μόνο του οργανισμού *C. elegans*.

Η αλληλοδύση του γονιδιώματος του *Caenorhabditis elegans* το 1998 αποτέλεσε ένα νέο σταθμό όχι μόνο για την εξέλιξη στη μελέτη του οργανισμού αλλά και για το πεδίο της γενωμικής (The *C. elegans* Sequencing Consortium, 1998). Κι αυτό διότι ο νηματώδης ήταν ο πρώτος πολυκύτταρος οργανισμός του οποίου το γένωμα (με μέγεθος περίπου 100 εκατομμυρίων νουκλεοτιδίων) είχε πλήρως αλληλοδουκθεί (Hodgkin et al., 1995). Το σύνολο των γονιδίων του οργανισμού εκτιμάται ότι προσεγγίζει τα 20.000.

Το επιστέγασμα των προσπαθειών του Sydney Brenner αλλά και η πιστοποίηση της χρησιμότητας του *C. elegans* στη μελέτη της νευροβιολογίας ήρθαν το 2002, με την απονομή του βραβείου Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής στον ίδιο και τους συνεργάτες του, Robert Horvitz και John Sulston Nobel, για την προσφορά τους στη μελέτη της γενετικής ρύθμισης της ανάπτυξης και στην κατανόηση των μηχανισμών του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου.

Η μελέτη του *C. elegans* έχει οδηγήσει σε σημαντικές ανακαλύψεις που αφορούν όλα σχεδόν τα σύγχρονα προβλήματα της βιολογίας. Έχουν χαρακτηριστεί γονίδια και μηχανισμοί που εξηγούν τον τρόπο ανάπτυξης του νευρικού συστήματος. Νευροεκφυλιστικές ασθένειες που συναντώνται μέχρι και στα ανώτερα σπονδυλωτά έχουν μελετηθεί, ενώ έχουν αναγνωρισθεί πολλοί από τους μηχανισμούς μέσω των οποίων είναι δυνατή η αίσθηση περιβαλλοντικών ερεθισμάτων από το νευρικό σύστημα. Έτσι, ο νηματώδης είναι οργανισμός για τον οποίο είναι διαθέσιμη εξαιρετικά σημαντική βιολογική πληροφορία σε σχέση με οποιονδήποτε άλλο πολυκύτταρο οργανισμό-μοντέλο. Σήμερα, ένα εκτεταμένο

δίκτυο επιστημονικών ομάδων (πάνω από 500) ασχολείται κατά κύριο λόγο με το νηματώδη στο πεδίο της γενετικής, της αναπτυξιακής βιολογίας αλλά κυρίως της νευροβιολογίας. Η πληροφορία που απορρέει από την προσπάθεια αυτή διακινείται μέσω του Διαδικτύου και είναι διαθέσιμη σε ολόκληρη την επιστημονική κοινότητα. Για το σκοπό αυτό λειτουργεί ηλεκτρονική βάση δεδομένων (<http://www.wormbase.org/>) (Stein et al., 2001), στην οποία βρίσκονται καταχωρισμένες όλες οι πληροφορίες που σχετίζονται με τον νηματώδη, όπως η λειτουργία χαρακτηρισμένων γονιδίων, πληροφορίες από πειράματα μικροσυστοιχιών DNA (DNA microarrays), η γενετική θέση των γονιδίων στα χρωμοσώματα, η νουκλεοτιδική και αμινοξική αλληλουχία τους, η ομοιότητά τους με γονίδια άλλων οργανισμών, η πιθανή λειτουργία τους με βάση την αλληλουχία (gene ontology), τα ονόματα των μεταλλαγμένων αλληλομόρφων όταν είναι διαθέσιμα κ.ά. Επιπρόσθετα, υπάρχουν διαδικτυακοί τόποι όπου περιγράφονται το μοτίβο έκφρασης των περισσότερων από τα γονίδια, πληροφορίες για την ανατομία και τη φυσιολογία του οργανισμού, εργαστηριακές τεχνικές και πειραματικές διατάξεις για τη μελέτη του (<http://www.wormatlas.org/>). Η ηλεκτρονική βάση δεδομένων ανανεώνεται συνεχώς και υποστηρίζεται από σημαντικά πανεπιστήμια και ιδρύματα της Αμερικής, όπως το Cold Spring Harbor Laboratory, το California Institute of Technology, το Washington University at St. Louis και το Wellcome Trust Sanger Institute. Για την ευκολότερη διακίνηση της πληροφορίας στην περιοχή της Ευρώπης λειτουργεί στην Ελλάδα (Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας-ΙΤΕ) ο ένας από τους δύο διαδικτυακούς τόπους πρόσβασης στη βάση δεδομένων Wormbase (<http://wormbase.imbb.forth.gr/>).

Οι επιστημονικές ομάδες που δραστηριοποιούνται στον *C. elegans* σχηματίζουν

ένα επιστημονικό δίκτυο με συνεχή και αμφίδρομη ροή πληροφορίας. Στο πλαίσιο αυτό πραγματοποιείται στο Los Angeles, ανά δύο χρόνια, το παγκόσμιο συνέδριο για τον *C. elegans*, ένα από τα μεγαλύτερα συνέδρια βιολογίας στον κόσμο. Επιμέρους συνέδρια πραγματοποιούνται στην Ευρώπη, την Αμερική (ανατολική και δυτική ακτή) και την ανατολική Ασία. Η συνεχής επαφή ανάμεσα στους ερευνητές που χρησιμοποιούν τον *C. elegans* διευκολύνεται με τη λειτουργία newsgroup (<http://www.bio.net/hypermil/celegans/>) και δικτυακής πύλης (<http://elegans.swmed.edu>) από την οποία μπορεί κανείς να προσπελάσει κάθε είδους πληροφορία σχετικά με το νηματώδη. Στην Ελλάδα λειτουργεί διαδικτυακός τόπος πρόσβασης με διεύθυνση: <http://elegans.imbb.forth.gr/>.

Γιατί σκουλήκια;

Ο *Caenorhabditis elegans* είναι ένας μικρός (περίπου 1 mm σε μήκος με μέγιστη διάμετρο 80 μm) και διάφανος, μη παρασιτικός νηματώδης, που ζει στο χώμα. Ο κύκλος ζωής του περιλαμβάνει την εμβρυϊκή ανάπτυξη, η οποία ακολουθείται από τέσσερα προνυμφικά στάδια, για να προκύψει τελικά το ενήλικο άτομο (Εικόνα 4), το οποίο παράγει με αυτογονιμοποίηση περισσότερους από 300 απογόνους. Υπό αντίξοες συνθήκες, όπως υψηλές θερμοκρασίες, πείνα και υπερβολική αύξηση του πληθυσμού, ζώα που βρίσκονται στο 2ο προνυμφικό στάδιο ανάπτυξης αποκτούν μια ανθεκτική μορφή κατά την οποία σταματούν να τρέφονται, ενώ εξακολουθούν να κινούνται και καλούνται "dauer". Στην κατάσταση αυτή μπορούν να παραμείνουν για εβδομάδες ή μήνες, ωστόσο οι συνθήκες ξαναγίνουν ευνοϊκές (Klass and Hirsh, 1976). Τότε εισέρχονται στο 4ο προνυμφικό στάδιο και ολοκληρώνουν φυσιολογικά τον κύκλο ζωής.

Η χρήση του *C. elegans* ως πειραματικό μοντέλο προσφέρει πολλή και σημαντική πληροφορία. Καταρχήν, η εργαστηριακή συντήρησή του είναι εξαιρετικά εύκολη και οικονομική, εφόσον μπορεί να

αναπτύσσεται σε τρυβλία Petri με εξαιρετικά απλά θρεπτικά μέσα και να τρέφεται με βακτήρια του ευρέως χρησιμοποιούμενου είδους *E. coli*. Επιπλέον, διαθέτει μικρό αναπαραγωγικό κύκλο ζωής (περίπου 2,5 μέρες στους 25°C), ο οποίος επιταχύνει τις μελέτες. Τα ενήλικα ζουν περίπου δύο εβδομάδες. Δεδομένου ότι ο *C. elegans* μπορεί να αναπαράγεται με αυτογονιμοποίηση, είναι δυνατό να δημιουργηθούν γενετικά ταυτόσημοι πληθυσμοί. Η κυρίαρχη σεξουαλική μορφή είναι τα ερμαφρόδιτα (γονότυπος: XX), ενώ μπορούν επίσης να δημιουργηθούν αρσενικά (με γονότυπο XO). Το γεγονός ότι είναι ερμαφρόδιτος, καθιστά εύκολη την ανάκτηση και διατήρηση ομόζυγων ατόμων για οποιαδήποτε μεταλλαγή, ενώ η ικανότητα να διασταυρώνεται με αρσενικά άτομα παρέχει τη δυνατότητα δημιουργίας διπλά μεταλλαγμένων στελεχών.

Ο *C. elegans* αποτελεί ένα καλό καθορισμένο, ισχυρό γενετικό σύστημα και παρέχει τη δυνατότητα εφαρμογής μιας ποικιλίας βιοχημικών, γενετικών και μοριακών τεχνικών, η οποία διευκολύνει κι επιταχύνει την απόκτηση και αξιοποίηση πειραματικών αποτελεσμάτων. Η χρήση ποικίλων χημικών μεταλλαξογόνων μπορεί εύκολα να οδηγήσει στη δημιουργία μεταλλαγμένων στελεχών. Όταν ένας ερμαφρόδιτος γονέας εκτίθεται σε ένα μεταλλαξογόνο παράγοντα, οι απόγονοι της πρώτης γενιάς (F1) αυτογονιμοποιούνται και παράγουν ομόζυγα άτομα στη δεύτερη γενιά (F2). Κατ' αυτόν τον τρόπο, έχουν δημιουργηθεί χιλιάδες μεταλλαγές, που αναστέλλουν την ανάπτυξη ή διάφορες συμπεριφορές. Γρήγορη και ακριβής γενετική χαρτογράφηση των μεταλλαγών μπορεί να επιτευχθεί με χρήση γνωστών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (Wicks et al., 2001). Για τη δημιουργία μεταλλαγών μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν μεταθετά στοιχεία (Zwaal et al., 1993). Η χαρτογράφηση των μεταλλαγών επέτρεψε τη δημιουργία λεπτομερούς και ακριβούς γενετικού χάρτη,



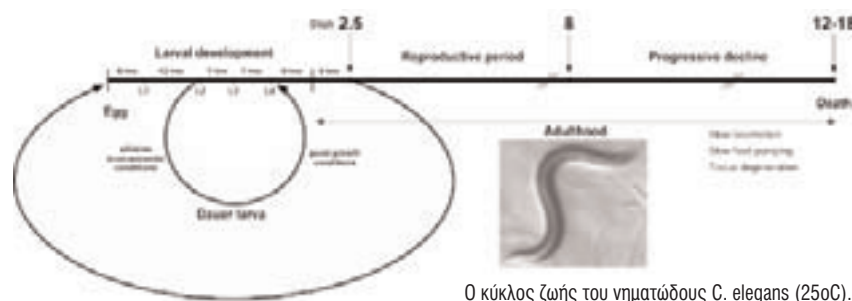
Μερικές από τις πιο καθοριστικές στιγμές στην ιστορία του *C. elegans*.

που περιλαμβάνει περισσότερες από 2.000 μεταλλαγές, καθώς και φυσικού χάρτη του γονιδιώματος του νηματώδους. Η κατασκευή του τελευταίου βασίστηκε στην υποκλωνοποίηση αλληλοεπικαλυπτόμενων τμημάτων DNA των 6 χρωμοσωμάτων του οργανισμού, σε κοσμίδια και τεχνητά χρωμοσώματα σακχαρομύκητα (Yeast Artificial Chromosomes – YACs (Coulson et al., 1988)). Η δημιουργία του φυσικού χάρτη στα τέλη της δεκαετίας του '80 συνέβαλε στην έναρξη του προγράμματος αλληλοδύσης του γονιδιώματος του *C. elegans*, που ολοκληρώθηκε το 1998 (Waterston and Sulston, 1995).

Η έρευνα με τη χρήση του *C. elegans* διευκολύνεται όμως και από το γεγονός ότι ο οργανισμός αυτός είναι πολύ καλό μελετημένο σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο. Το απλό σωματικό πρότυπο, η διαφάνεια των αυγών και της επιδερμίδας και το σχεδόν σταθερό αναπτυξιακό πρόγραμμα αυτού του νηματώδους έχουν διευκολύνει τον εξαιρετικά λεπτομερή αναπτυξιακό και ανατομικό χαρακτηρισμό του ζώου (<http://www.wormatlas.org>). Όλα τα κύτταρά του έχουν χαρακτηριστεί, έχει καταγραφεί το σύνολο των κυτταρικών διαιρέσεων που οδηγεί στα 959 κύτταρα του ενήλικου ατόμου και υπάρχει πλήρης διάγραμμα των συνδέσεων των 302 νευρώνων του. Μικροχειρουργικές επεμβάσεις με τη χρήση α-

κτίνων λείζερ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να καταστραφούν ειδικά μεμονωμένα κύτταρα (Bargmann and Avery, 1995; Kimble, 1981), ενώ ολόκληρες ομάδες κυττάρων μπορούν να καταστούν μη λειτουργικές ή να νεκρωθούν με κυτταρο-ειδική έκφραση τοξικών γονιδίων (Harbinder et al., 1997). Επιπλέον, είναι διαθέσιμες μέθοδοι πρωτογενών κυτταροκαλλιέργειών για τη μελέτη συγκεκριμένων ομάδων κυττάρων και νευρώνων ex vivo (Christensen et al., 2002). Πρόσφατα, έγινε εφικτό να πραγματοποιηθούν και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες νευρώνων και μυών του νηματώδους σε κυτταροκαλλιέργειες αλλά και in vivo (Avery et al., 1995; Strange, 2003).

Η μοριακή βιολογία του *C. elegans* επιτρέπει τη γρήγορη άντληση μεγάλου όγκου πληροφοριών σχετικά με τις δραστηριότητες των γονιδίων in vivo. Έτσι, η λήψη διαγονιδιακών στελεχών γίνεται σχετικά εύκολα με μικροενέσεις στη γονάδα του ζώου (Mello and Fire, 1995; Mello et al., 1991) και διευκολύνεται από τη διαθεσιμότητα φορέων εκτοπικής έκφρασης κι έκφρασης γονιδίων αναφοράς (όπως green fluorescent protein –GFP– και β-γαλακτοζιδάση (Chalfie et al., 1994; Fire et al., 1990a; Fire et al., 1990b; Miller et al., 1999) (Εικόνα 5)). Η εφαρμογή της μεθόδου RNAi (double-stranded RNA mediated interference) για την παροδική καταστολή της έκφρασης γονιδίων έχει



Ο κύκλος ζωής του νηματώδους *C. elegans* (25oC).

αποτελέσει εξαιρετικό “εργαλείο” για την πραγματοποίηση “αντίστροφης γενετικής” (Fire et al., 1998; Tavernarakis et al., 2000; Timmons et al., 2001). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην αποικοδόμηση του μεταγράφου ενός γονιδίου-στόχου όταν εισάγεται στο κύτταρο δίκλωνο RNA ομόλογο του γονιδίου-στόχου (Grishok et al., 2001) (Εικόνα 6). Μεθοδολογίες RNAi έχουν ήδη εφαρμοστεί εκτεταμένα για μελέτες ευρείας κλίμακας, που συμπεριλαμβάνουν όλα τα γονίδια του *C. elegans* (Barstead, 2001; Kamath et al., 2003). Τα πρότυπα έκφρασης όλων σχεδόν των 20.000 γονιδίων, υπό διάφορες συνθήκες, έχουν διερευνηθεί μέσω της τεχνολογίας των μικροσυστοιχιών DNA (Stuart et al., 2003). Οι τρέχουσες προσπάθειες για να ηηφθούν ESTs (Expressed Sequence Tags) και OSTs (Open reading frame Sequence Tags) όλων των γονιδίων του *C. elegans* έχουν οδηγήσει σε μια εκτενή συλλογή cDNAs του νηματώδους (Kim et al., 2001; Maeda et al., 2001; Reboul et al., 2001). Τέλος, βρίσκονται σε εξέλιξη συστηματικές προσπάθειες για τη δημιουργία στελεχών με ελλείψεις σε καθένα από το 20.000 γονίδια του γονιδιώματος (Edgley et al., 2002; Liu et al., 1999; Plasterk, 1992), www.grs.nig.ac.jp/c.elegans/index.jsp, celeganskoconsortium.omrf.org/), καθώς και προσπάθειες καθορισμού των αλληλεπιδράσεων ανάμεσα σε όλες τις πρωτεΐνες του οργανισμού (Li et al., 2004).

Συμπερασματικά, η απλότητα του *C. elegans* σε συνδυασμό με τη δυνατότητα εφαρμογής πλήθους γενετικών, μοριακών και βιοχημικών τεχνικών έχει επι-

τρέψει τον εντυπωσιακά γρήγορο και λεπτομερή χαρακτήρισμό του οργανισμού. Η διαθέσιμη πληροφορία σχετικά με κάθε πλευρά της βιολογίας του ζώου καθιστά τον *C. elegans* ιδανικό μοντέλο για τη μελέτη πολυάριθμων βιολογικών διεργασιών.

Προοπτική

Παρόλο που η ενασχόληση με το *C. elegans* έχει σύντομη ιστορία (35 περίπου χρόνων), ο οργανισμός αυτός αποτελεί το πιο καλή χαρακτηρισμένο ζώο στις μέρες μας. Τα μοναδικά του χαρακτηριστικά έχουν επιτρέψει τη χωρίς προηγούμενο λεπτομερή περιγραφή του σε όλα τα επίπεδα. Η ολιστική και σε βάθος προσέγγιση που υιοθετήθηκε από την αρχή στη μελέτη του οργανισμού προσφέρει σήμερα την ανεπανάληπτη ευκαιρία να κατανοήσουμε συνοδικά πώς “ηιειτουργεί” ένα ζώο. Με μοντέρνους (αλλά αμφίβολης σημασίας) όρους, η μελέτη του *C. elegans* ήταν η πρώτη πετυχημένη απόπειρα προς την κατεύθυνση της “βιολογίας συστημάτων” (systems biology). Ο λόγος πίσω από αυτή την επιτυχία είναι απλός: το σκουλήκι ήταν μια ευφυής επιλογή και όχι ένας οργανισμός πάνω στον οποίο σκοντάψαμε στην πορεία των επιστημονικών μας αναζητήσεων. Θα του ταίριαζε ο χαρακτήρισμός “designer model organism”, που δύσκολα μπορεί να αποδοθεί με ακρίβεια στα ελληνικά. Η μέχρι τώρα πορεία και η δυναμική της έρευνας στο *C. elegans* προδιαγράφουν την εξαιρετικά ενδιαφέρουσα συνέχεια. Το ταπεινό σκουλήκι μάς έχει μάθει πολλά πράγματα και σίγουρα

θα μας μάθει περισσότερα. Ο *C. elegans* προσφέρει μια άκρως ελκυστική πλατφόρμα στην οποία μπορούν να μελετηθούν αποτελεσματικά τα προβλήματα της σύγχρονης βιολογίας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Adler J. (1966). Chemotaxis in bacteria. *Science* 153.
- Avery L., Raizen D. and Lockery S. (1995). Electrophysiological methods. *Methods Cell Biol* 48.
- Bargmann C.I. and Avery L. (1995). Laser killing of cells in *C. elegans*. *Methods Cell Biol* 48.
- Barstead R. (2001). Genome-wide RNAi. *Curr Opin Chem Biol* 5.
- Benzer S. (1971). From the gene to behavior. *Jama* 218.
- Brenner S. (1974). The genetics of *C. elegans*. *Genetics* 77.
- Chalfie M., Tu Y. et al. (1994). Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science* 263.
- Christensen M., Estevez A. et al. (2002). A primary culture system for functional analysis of *C. elegans* neurons and muscle cells. *Neuron* 33.
- Coulson A., Waterston R. et al (1988). Genome linking with yeast artificial chromosomes. *Nature* 335.
- Edgley M., D'Souza A. et al. (2002). Improved detection of small deletions in complex pools of DNA. *Nucleic Acids Res* 30, e52.
- Fire A., Harrison S.W. and Dixon D. (1990a). A modular set of lacZ fusion vectors for studying gene expression in *C. elegans*. *Gene* 93.
- Fire A., Kondo K. and Waterston R. (1990b). Vectors for low copy transformation of *C. elegans*. *Nucleic Acids Res* 18.
- Fire A., Xu S. et al. (1998). Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *C. elegans*. *Nature* 391.
- Grishok A., Pasquinelli A.E. et al. (2001). Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control *C. elegans* developmental timing. *Cell* 106.
- Harbinder S., Tavernarakis N. et al. (1997). Genetically targeted cell disruption in *C. elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 94.
- Hodgkin J. (1989). Early worms. *Genetics* 121.
- Hodgkin J., Plasterk R.H. and Waterston R.H. (1995). The nematode *C. elegans* and its genome. *Science* 270.
- Kamath R.S., Fraser A.G. et al. (2003). Systematic functional analysis of the *C. elegans* genome using RNAi. *Nature* 421.
- Kim S.K., Lund J. et al. (2001). A gene expression map for *C. elegans*. *Science* 293.
- Kimble J. (1981). Alterations in cell lineage following laser ablation of cells in the somatic gonad of *C. elegans*. *Dev Biol* 87.
- Klass M. and Hirsh D. (1976). Non-ageing developmental variant of *C. elegans*. *Nature* 260.
- Li S., Armstrong C.M. et al. (2004). A Map of the Interactome Network of the Metazoan *C. elegans*. *Science*.
- Liu L.X., Spoeck J.M. et al. (1999). High-throughput isolation of *C. elegans* deletion mutants. *Genome Res* 9.
- Maeda I., Kohara Y. et al. (2001). Large-scale analysis of gene function in *C. elegans* by high-throughput RNAi. *Curr Biol* 11.
- Mello C. and Fire A. (1995). DNA transformation. *Methods Cell Biol* 48.
- Mello C.C., Kramer J.M. et al. (1991). Efficient gene transfer in *C. elegans*: extrachromosomal maintenance and integration of transforming sequences. *Embo J* 10.
- Miller D.M., 3rd, Desai N.S. et al. (1999). Two-color GFP expression system for *C. elegans*. *Biotechniques* 26, 914-918.
- Plasterk R.H. (1992). Reverse genetics of *C. elegans*. *Bioessays* 14.
- Reboul J., Vaglio P. et al. (2001). Open-reading-frame sequence tags (OSTs) support the existence of at least 17,300 genes in *C. elegans*. *Nat Genet* 27.
- Stein L., Sternberg P. et al. (2001). WormBase: network access to the genome and biology of *C. elegans*. *Nucleic Acids Res* 29.
- Strange K. (2003). From genes to integrative physiology: ion channel and transporter biology in *C. elegans*. *Physiol Rev* 83.
- Stuart J.M., Segal E. et al. (2003). A gene-coexpression network for global discovery of conserved genetic modules. *Science* 302.
- Sulston J.E. and Horvitz H.R. (1977). Post embryonic cell lineages of the nematode *C. elegans*. *Dev Biol* 56.
- Sulston J.E., Schierenberg E. et al. (1983). The embryonic cell lineage of the nematode *C. elegans*. *Dev Biol* 100.
- Tavernarakis N., Wang S.L. et al. (2000). Heritable and inducible genetic interference by double-stranded RNA encoded by transgenes. *Nat Gen* 24.
- The *C. elegans* Sequencing Consortium (1998). Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology. *Science* 282.
- Timmons L., Court D.L. et al. (2001). Ingestion of bacterially expressed dsRNAs can produce specific and potent genetic interference in *C. elegans*. *Gene* 263.
- Waterston R. and Sulston J. (1995). The genome of *C. elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92.
- White J.G., Southgate E. et al. (1976). The structure of the ventral nerve cord of *C. elegans*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 275.
- White J.G., Southgate E. et al. (1986). The structure of the nervous system of the nematode *C. elegans*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 314.
- Wicks S.R., Yeh R.T. et al. (2001). Rapid gene mapping in *C. elegans* using a high density polymorphism map. *Nat Genet* 28.
- Zwaal R.R., Broeks A. et al. (1993). Target-selected gene inactivation in *C. elegans* by using a frozen transposon insertion mutant bank. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90.