

ON AIR

Model Plant Species

Arabidopsis thaliana

Movies:

[1] βλαστικότητα σπέρματος

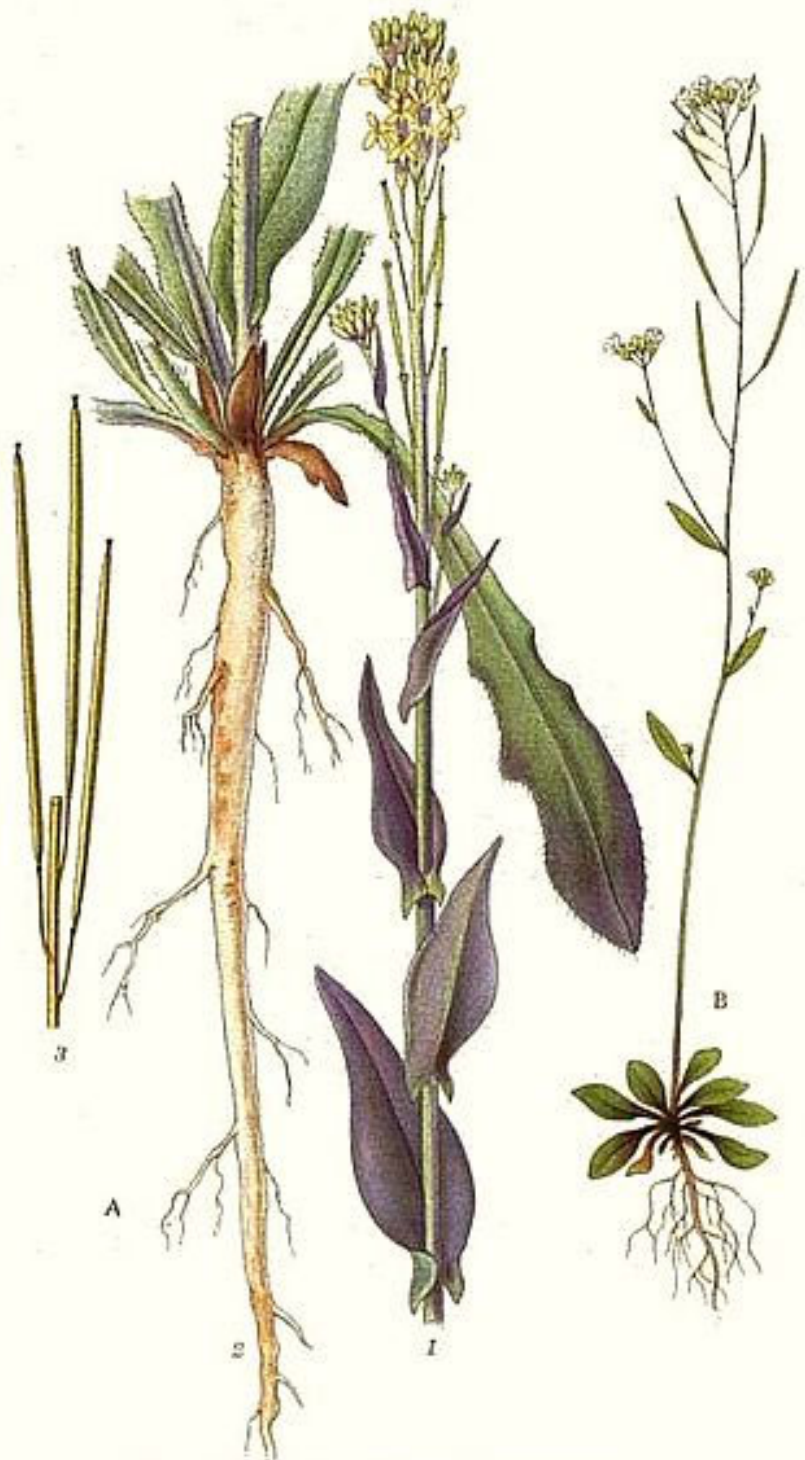
[2] ανάπτυξη φυτού

Arabidopsis thaliana

Οικογένεια *Brassicaceae*

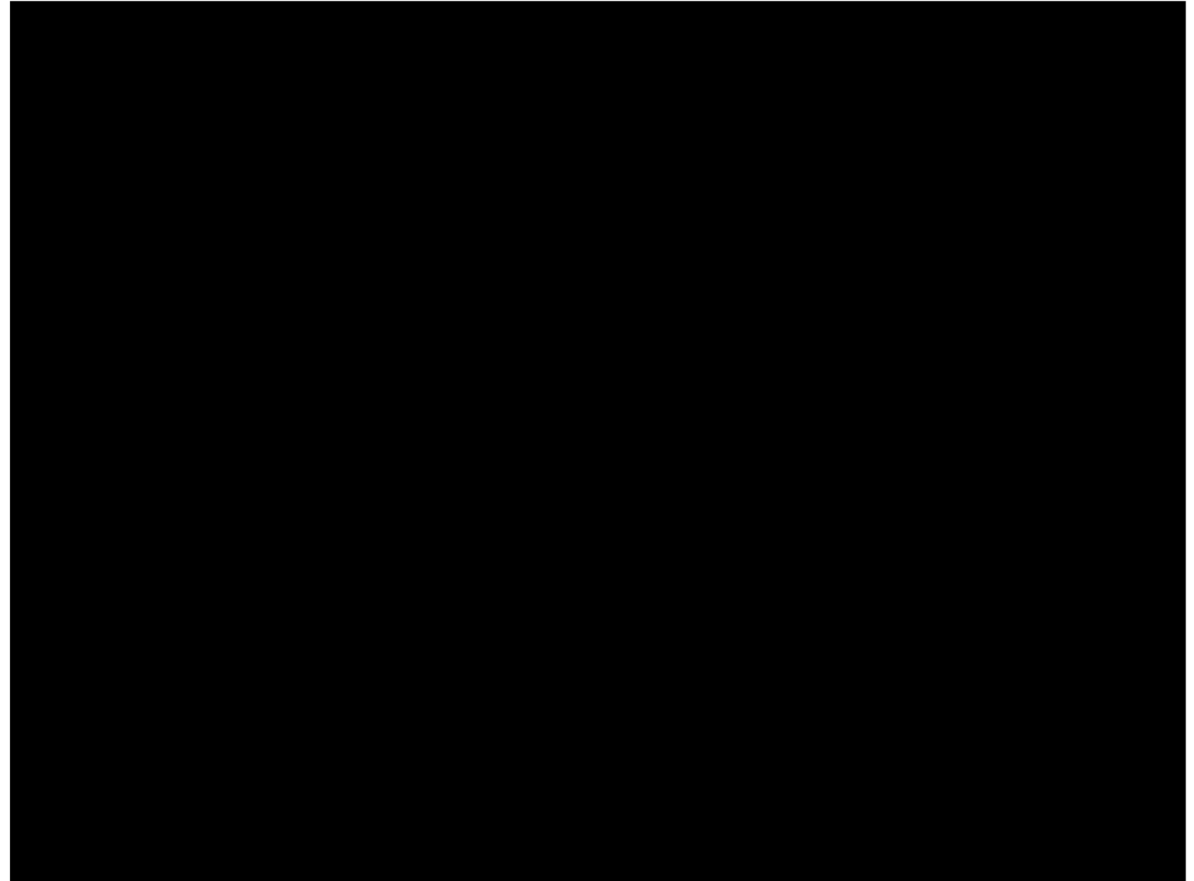
Ανάπτυξη & Βλαστικότητα Σπερμάτων

(μπρόκολο, κουνουπίδι, ελαιοκράμβη)



A. ROCKENTRAV, TURRITIS GLABRA L.

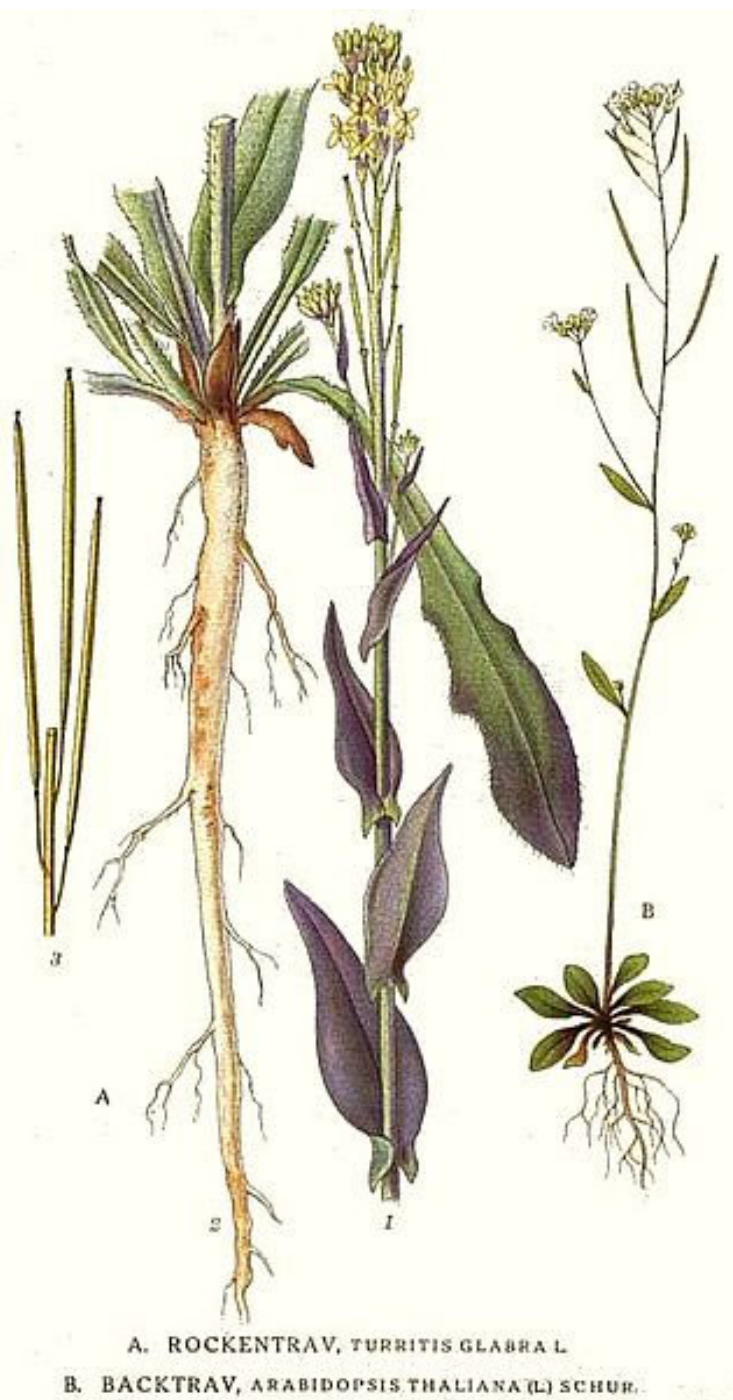
B. BACKTRAV, ARABIDOPSIS THALIANA (L.) SCHUR.



Arabidopsis thaliana

Οικογένεια *Brassicaceae*

Ανάπτυξη φυτών



Forward Genetics: Από τη μετάλλαξη στο γονίδιο

Μετάλλαξη

(Molecular genetics)



Φαινότυπος

(Developmental biology)



Γονίδιο

(Functional genomics)



Μοριακές αλληλεπιδράσεις/ λειτουργία

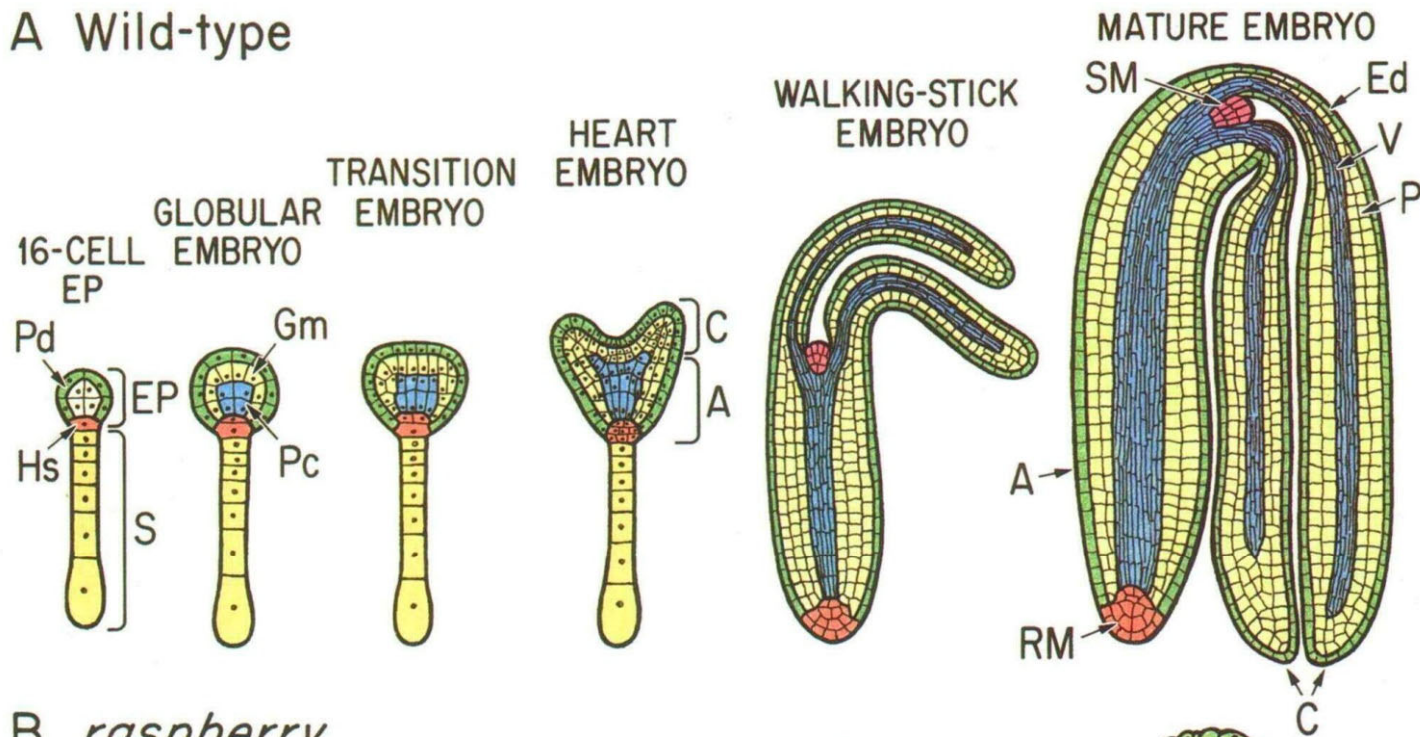
(Transcriptomics/ Proteomics/ Metabolomics/ -omics)



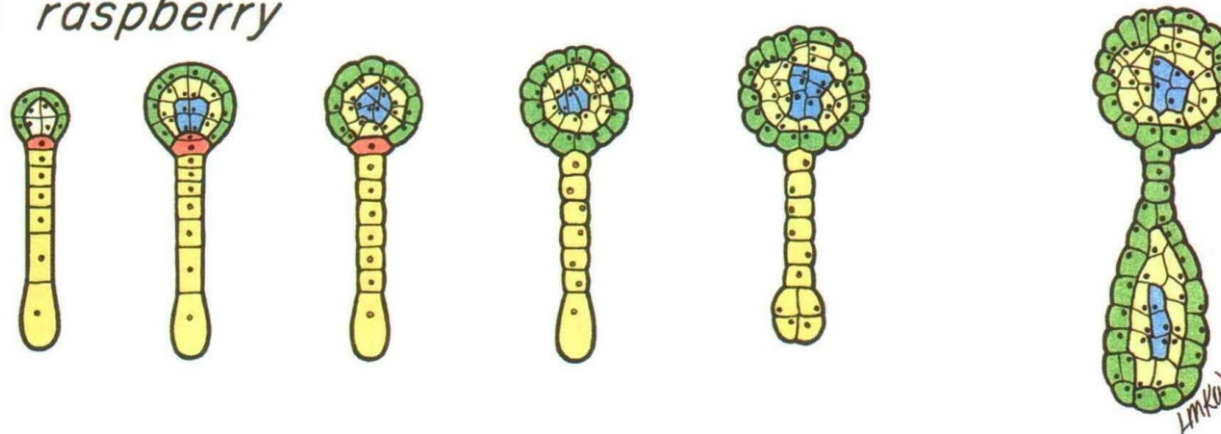
**ΑΚΡΑΙΟ ΜΕΡΙΣΤΩΜΑ ΡΙΖΑΣ
&
ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ
ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ**

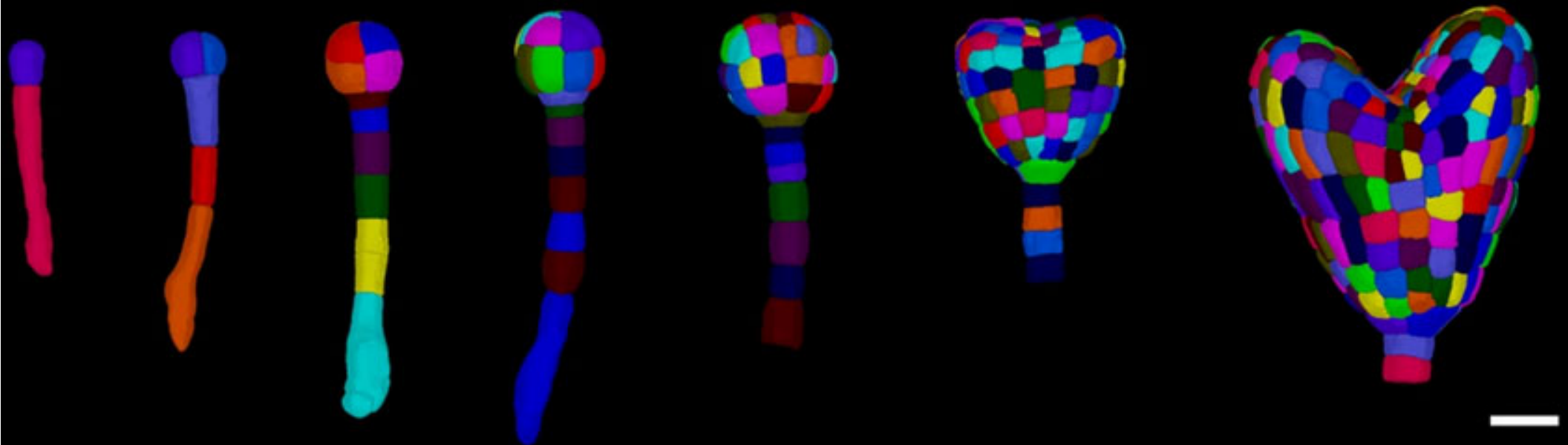
Εμβρυογένεση: Η έναρξη της ζωής

A Wild-type

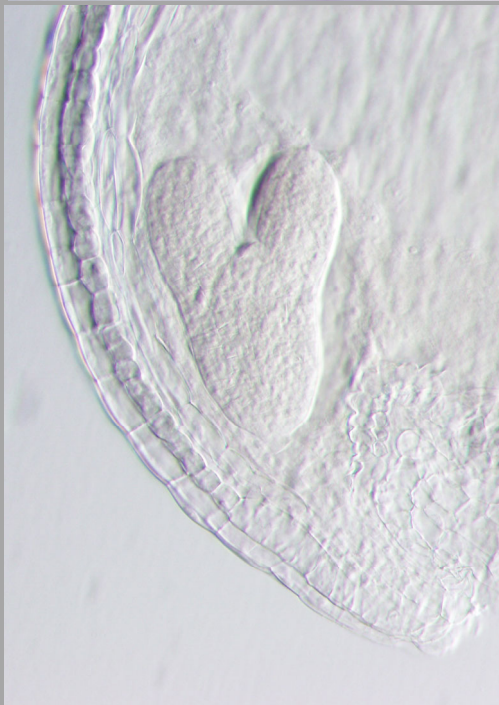


B *raspberry*

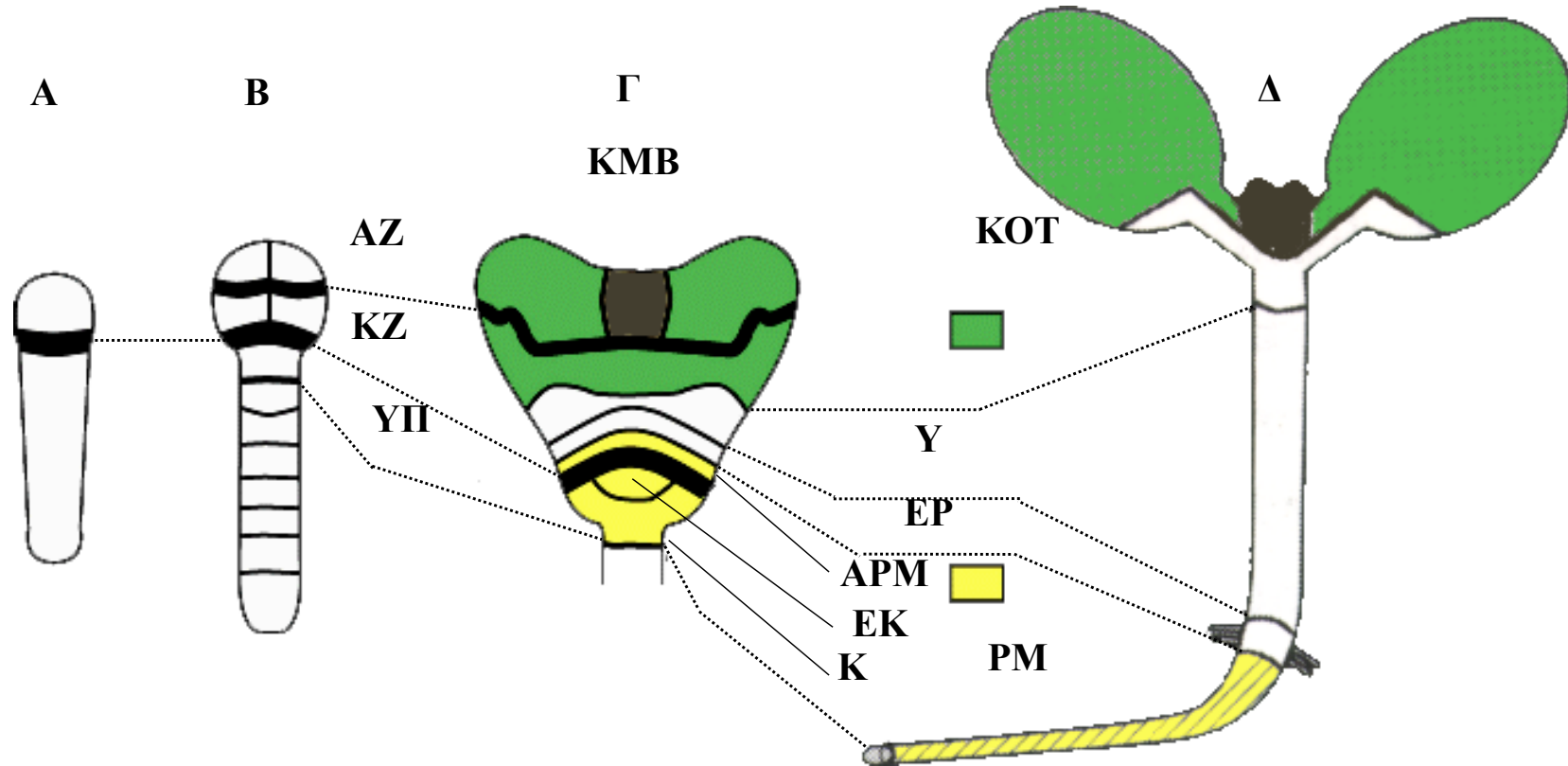




Εμβρυογένεση



Εμβρυογένεση: Η έναρξη της ζωής



KMB = Κορυφαίο μερίστωμα του βλαστού

Y = Υποκοτύλιο

APM = Αρχικά κύτταρα ριζικού μεριστώματος

EK = Εφησυχάζον κέντρο

KOT = Κοτυληδώνες

EP = Εμβρυακή ρίζα

PM = Ριζικόμερίστωμα

K = Καλύπτρα

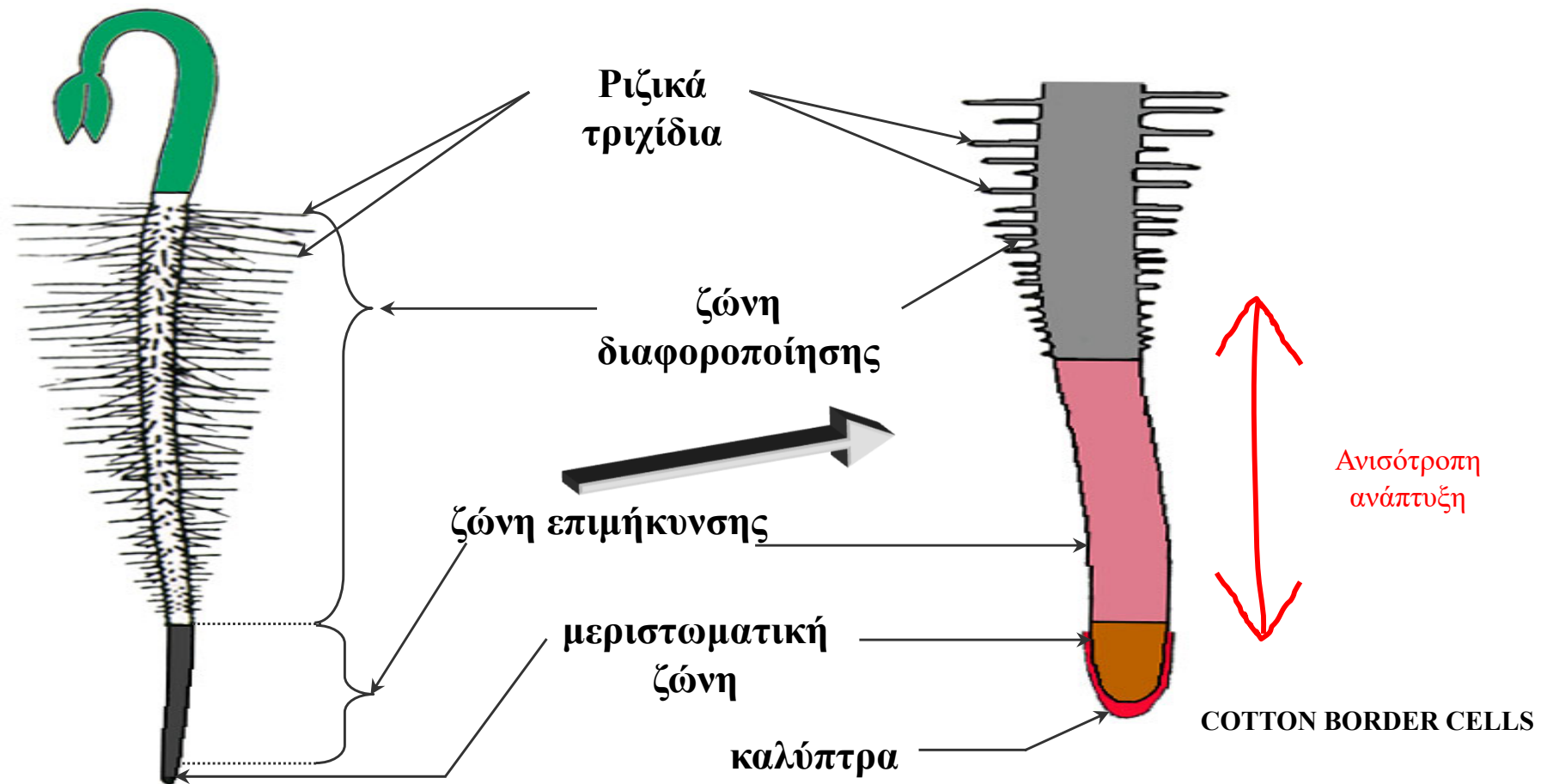
AZ = Ανώτερη ζώνη

KZ = Κατώτερη ζώνη

YΠ = Υπόφυση

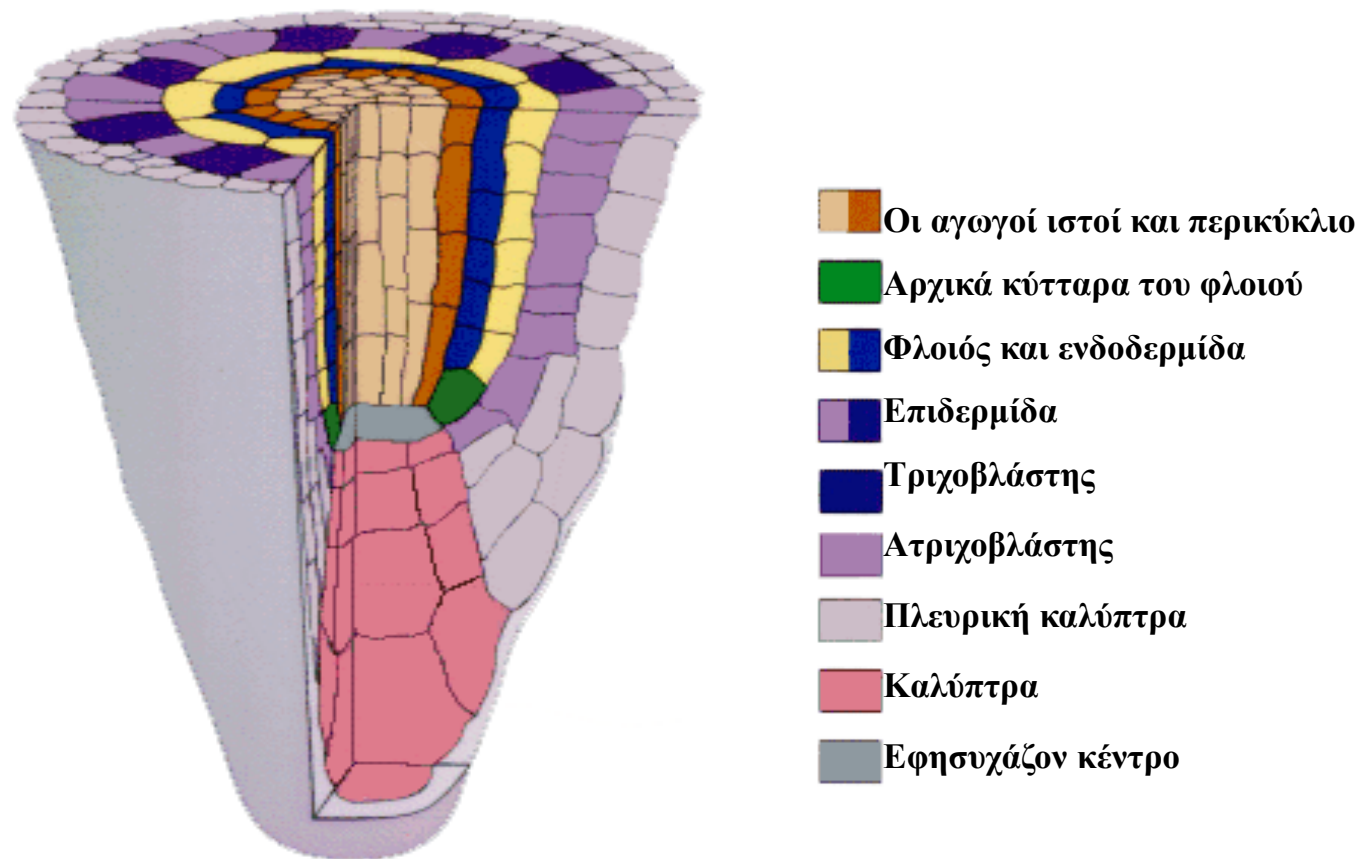
Ορισμένα στάδια της εμβρυακής ανάπτυξης του φυτού *Arabidopsis thaliana*. Παρουσιάζονται οι **τρεις εμβρυακές ζώνες** από τις οποίες προκύπτουν οι διαφορετικοί ιστοί και όργανα του φυτικού σώματος. Όπου Α= Ζυγωτό, Β= Στάδιο των οκτώ εμβρυακών κυττάρων, Γ= Καρδιάσχημο έμβρυο και Δ= Σπορόφυτο.

Ανατομικές ζώνες του ριζικού συστήματος



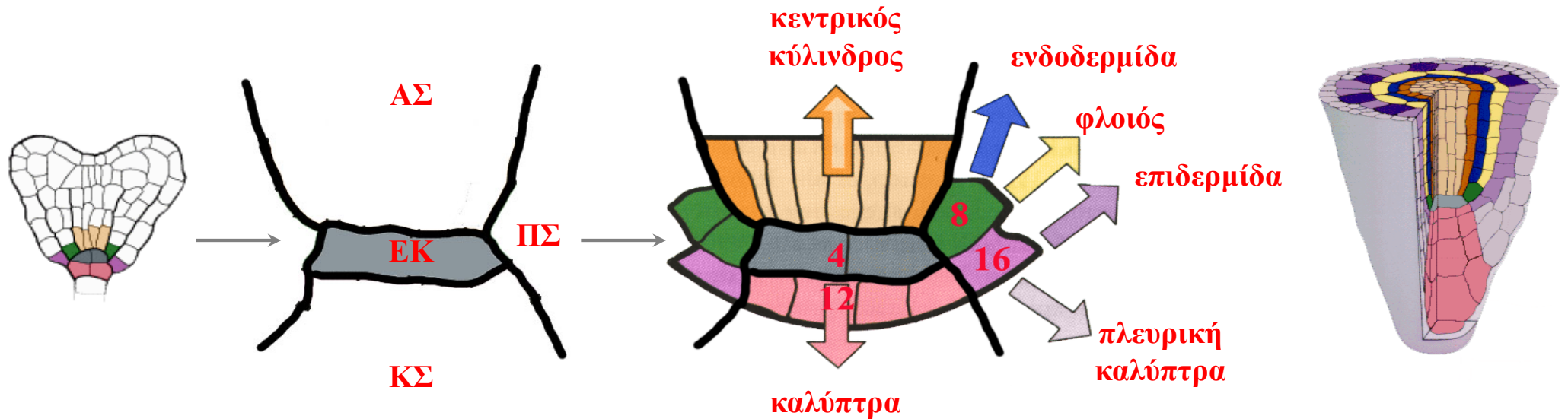
Νεαρό φυτό *Arabidopsis thaliana*. Διακρίνονται οι κύριες ανατομικές ζώνες της ρίζας: **η ζώνη διαφοροποίησης** όπου εμφανίζονται τα ριζικά τριχίδια, **η ζώνη επιμήκυνσης** και **η μεριστωματική ζώνη**. Στην βάση της ρίζας βρίσκεται η **καλύπτρα** (κεντρική καλύπτρα columella αντίληψη της βαρύτητας/ πλευρική καλύπτρα lateral root cap).

Οι κυτταρικές σειρές τους πρωτογενούς ρίζας στο *Arabidopsis*

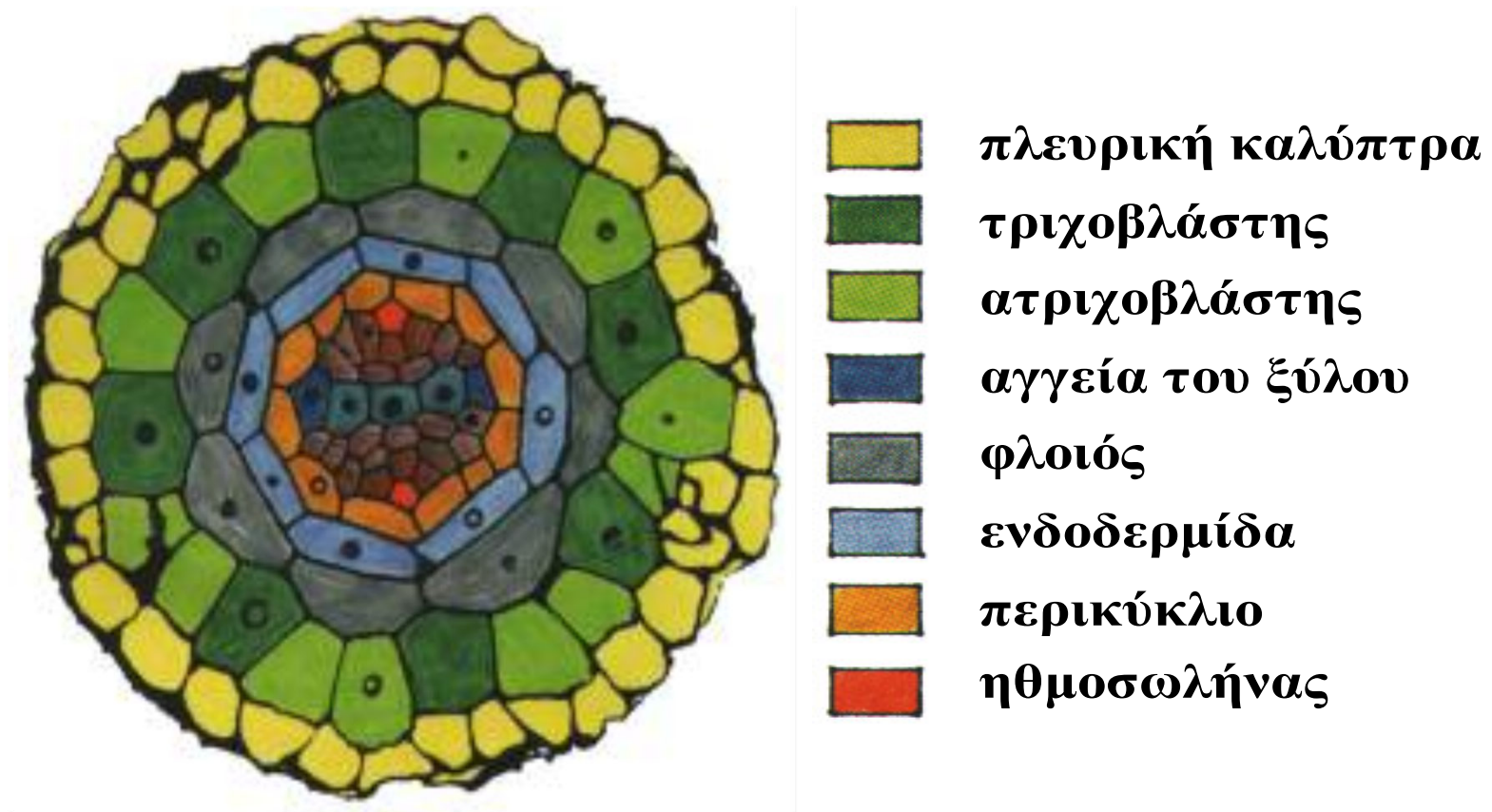


Τρισδιάστατη απεικόνιση των κυτταρικών σειρών που οργανώνονται ακτινωτά (μονοκύτταρες στοιβάδες) και αποτελούν την πρωτογενή εμβρυακή ρίζα στο φυτό *Arabidopsis thaliana*.

Τα αρχικά κύτταρα (**initials or stem cells**) του ριζικού μεριστώματος



Η εμβρυακή προέλευση των αρχικών κυττάρων του ριζικού μεριστώματος. Το ριζικό μερίστωμα παρουσιάζει οργάνωση **κλειστού τύπου** και αποτελείται από **τρεις σειρές αρχικών κυττάρων**. Στο κέντρο βρίσκεται το **εφησυχάζον κέντρο (ΕΚ)** που περιβάλλεται από την **ανώτερη σειρά (ΑΣ)**, η οποία περιλαμβάνει τα αρχικά κύτταρα που θα σχηματίσουν τον κεντρικό κύλινδρο, από την **πλευρική σειρά (ΠΣ)**, η οποία περιλαμβάνει τα αρχικά κύτταρα που θα σχηματίσουν την ενδοδερμίδα, τον φλοιό, την επιδερμίδα και την πλευρική καλύπτρα και τέλος από την **κατώτερη σειρά (ΚΣ)**, η οποία περιλαμβάνει τα αρχικά κύτταρα της καλύπτρας. Οι αριθμοί αντιστοιχούν στα αρχικά κύτταρα κάθε κυτταρικής σειράς.

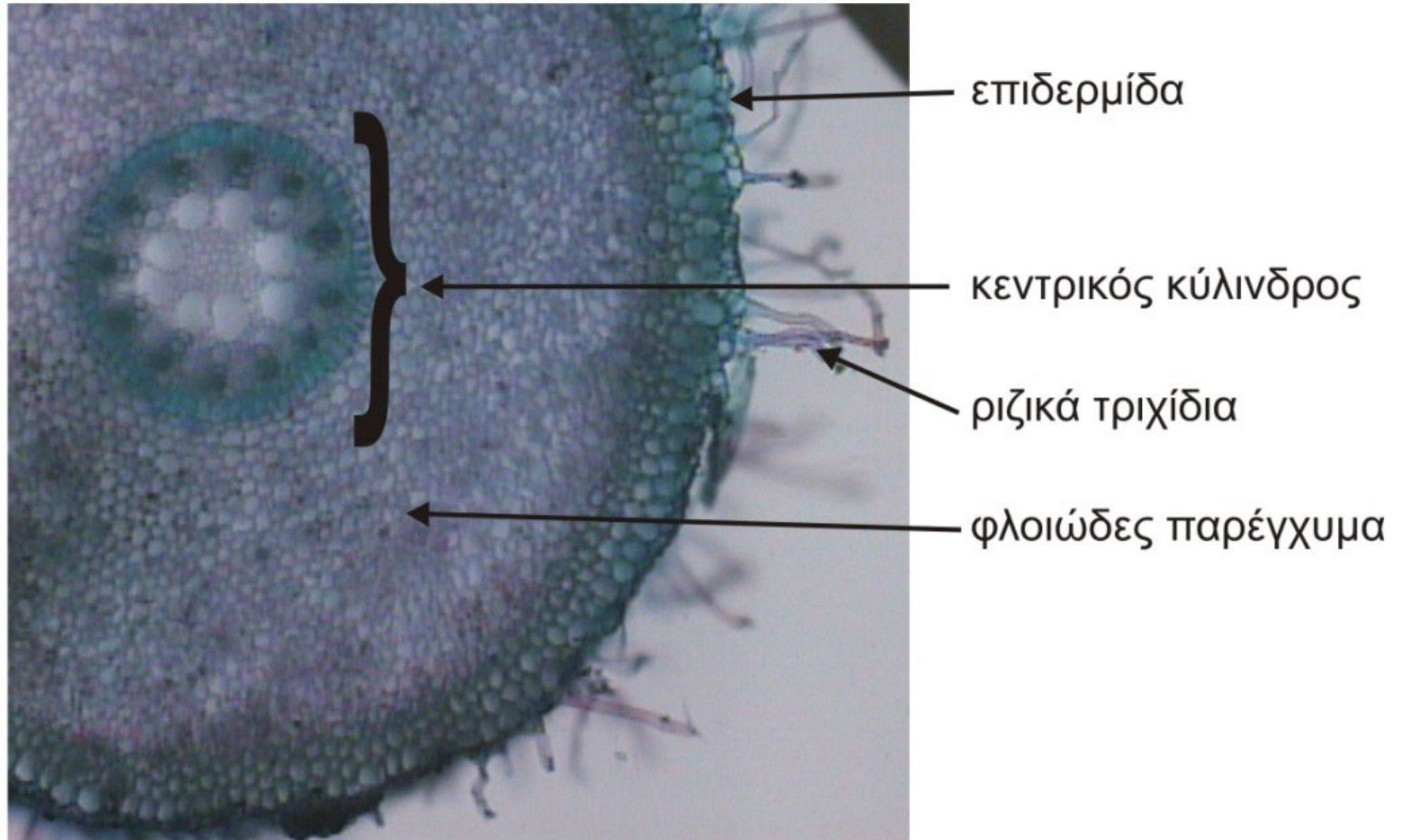


Διαφορές μεταξύ τριχοβλαστών και ατριχοβλαστών:

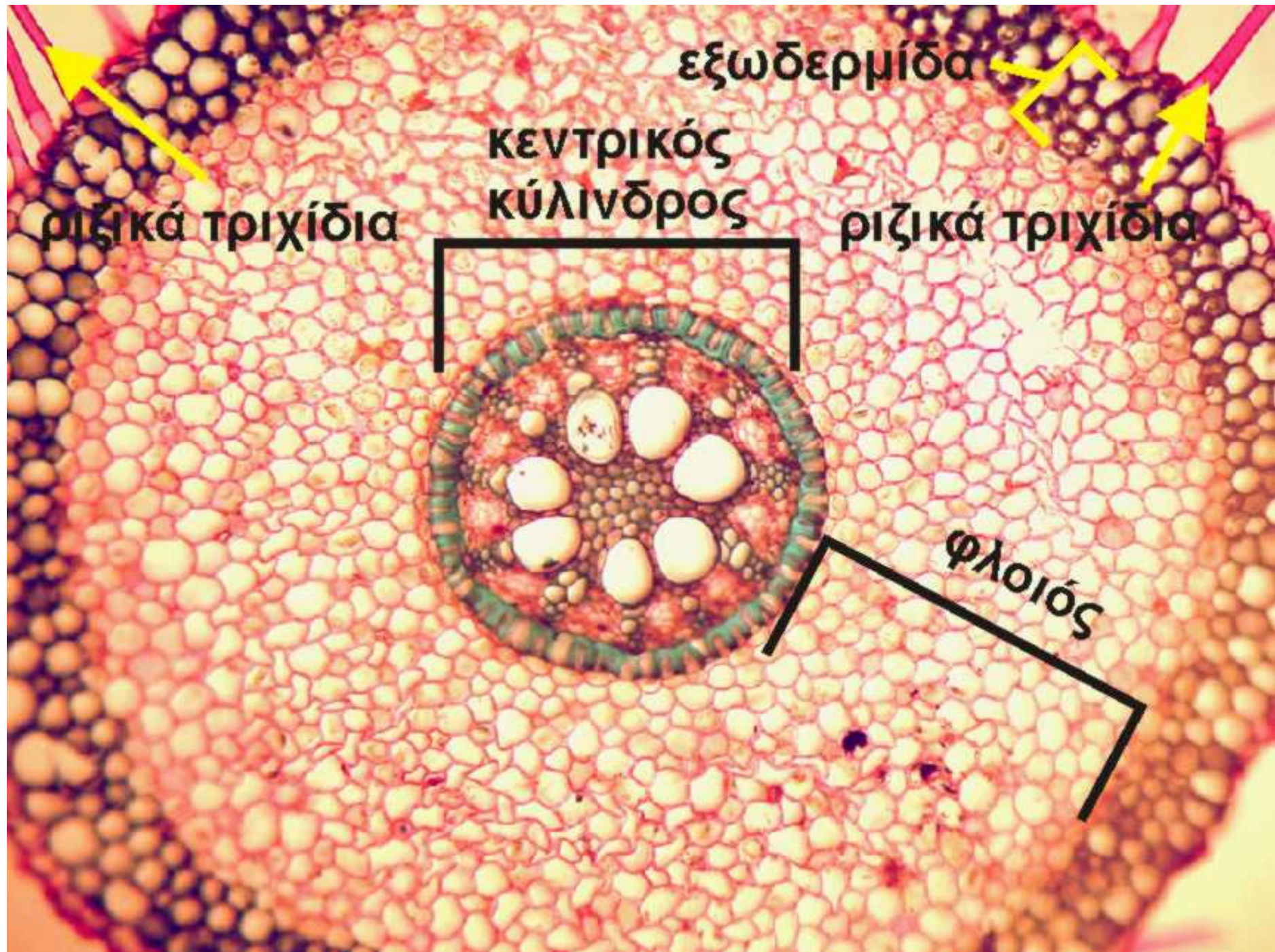
- ❶ Περισσότερες κυτταρικές διαιρέσεις
- ❷ Διαθέτουν μικρότερο μέγεθος από τους ατριχοβλάστες
- ❸ Έχουν περισσότερο εκτεταμένο κυτταρόπλασμα
- ❹ Σχηματίζουν με πιο αργό ρυθμό χυμοτόπια

Κυτταρική οργάνωση της ρίζας (μονοκοτυλήδονο φυτό)

Εγκάρσια τομή ρίζας ίριδας (*Iris germanicum*). Έχει γίνει χρώση με ερυθρό του ρουθηνίου και κυανούν του μεθυλαινίου

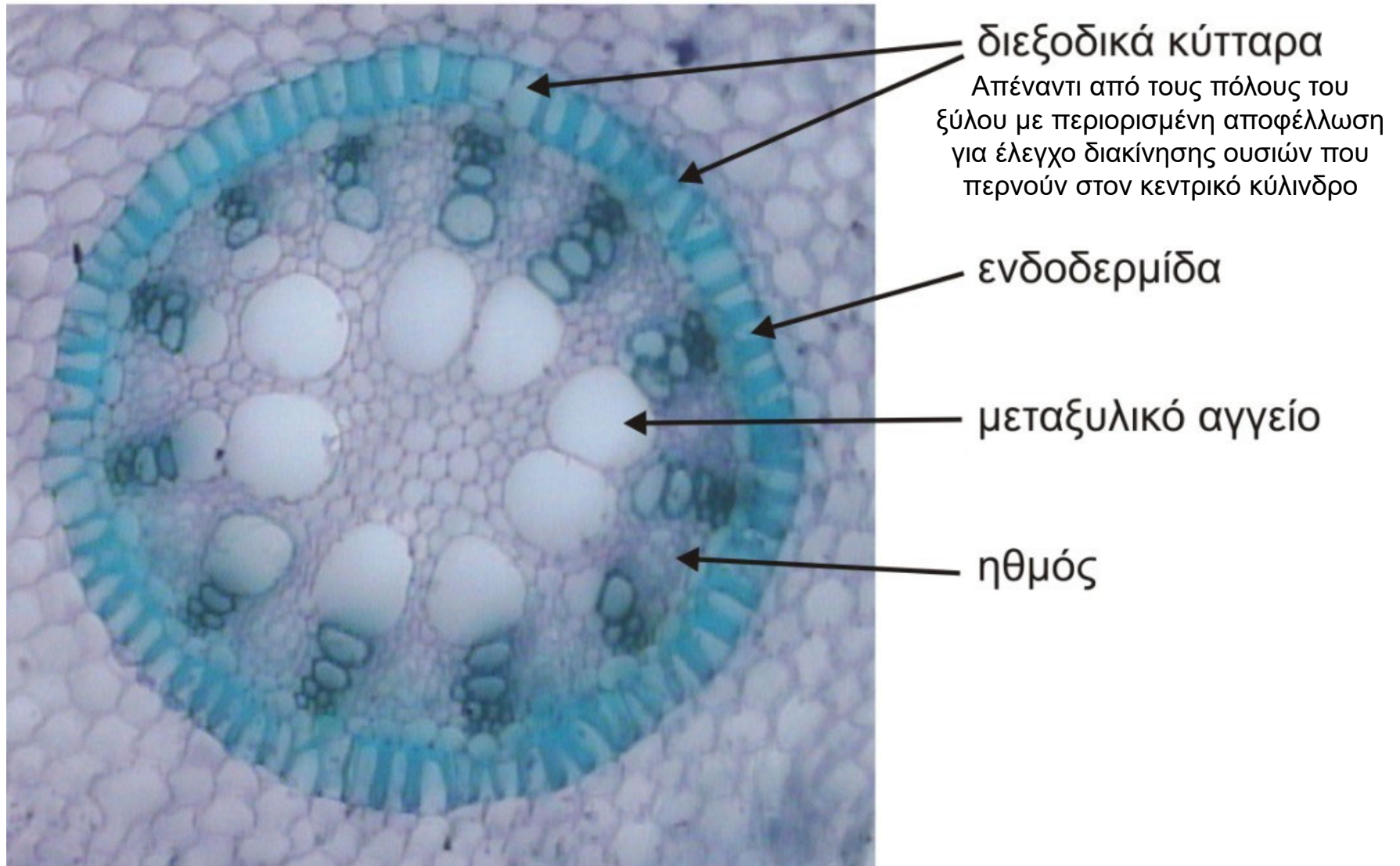


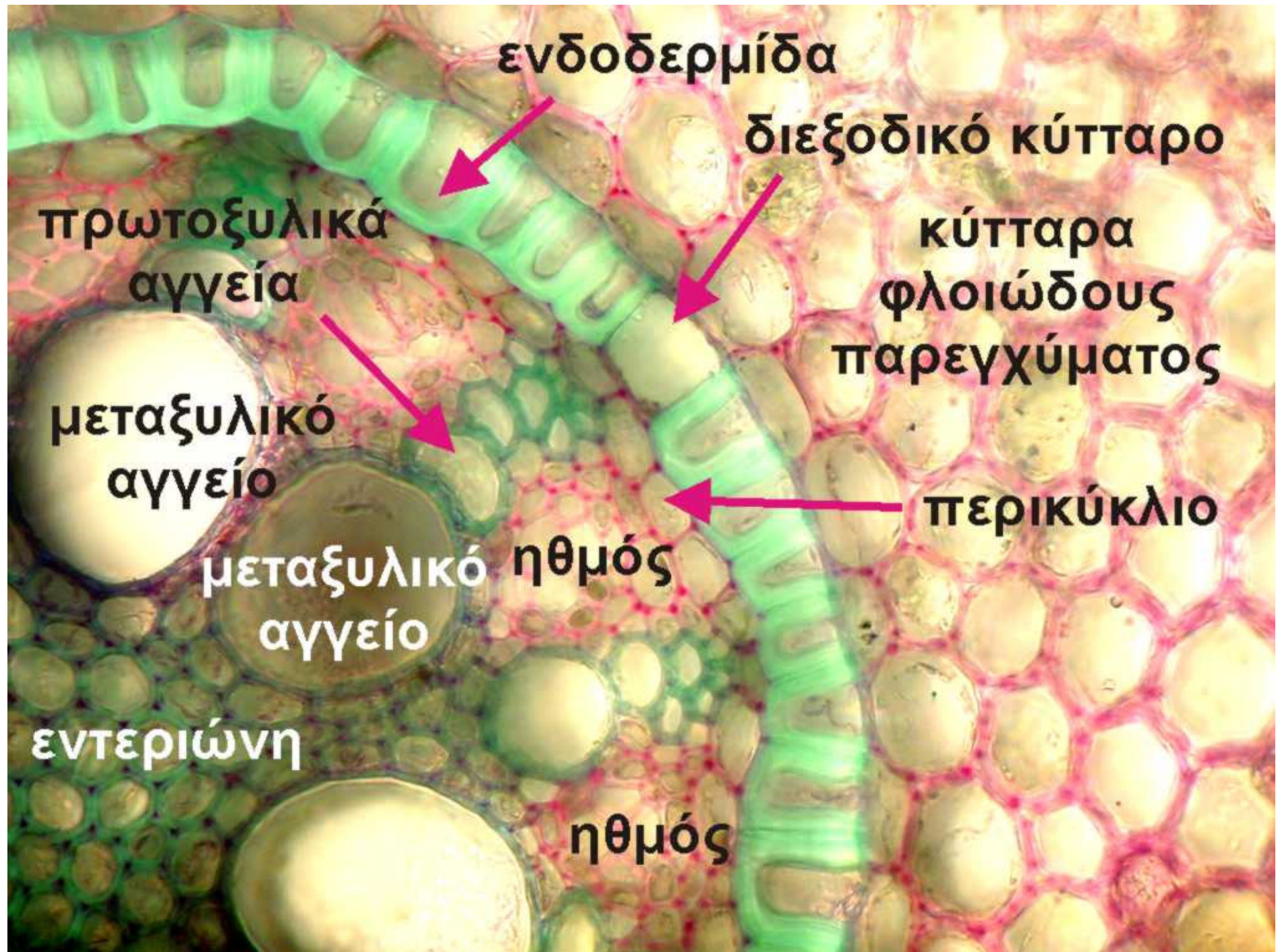
Κυτταρική οργάνωση της ρίζας (μονοκοτυλήδονο φυτό)



πολλαπλές ηθμαγγειώδεις δεσμίδες

Εγκάρσια τομή του κεντρικού κυλίνδρου ρίζας του φυτού ίρις.





Ρίζα μονοκότυλου φυτού (ίριδα)

**ΚΕΝΤΡΙΚΟΣ
ΚΥΛΙΝΔΡΟΣ**

Θεμελιώδες
παρέγχυμα

Ενδοδερμίδα

Διεξοδικό
κύτταρο

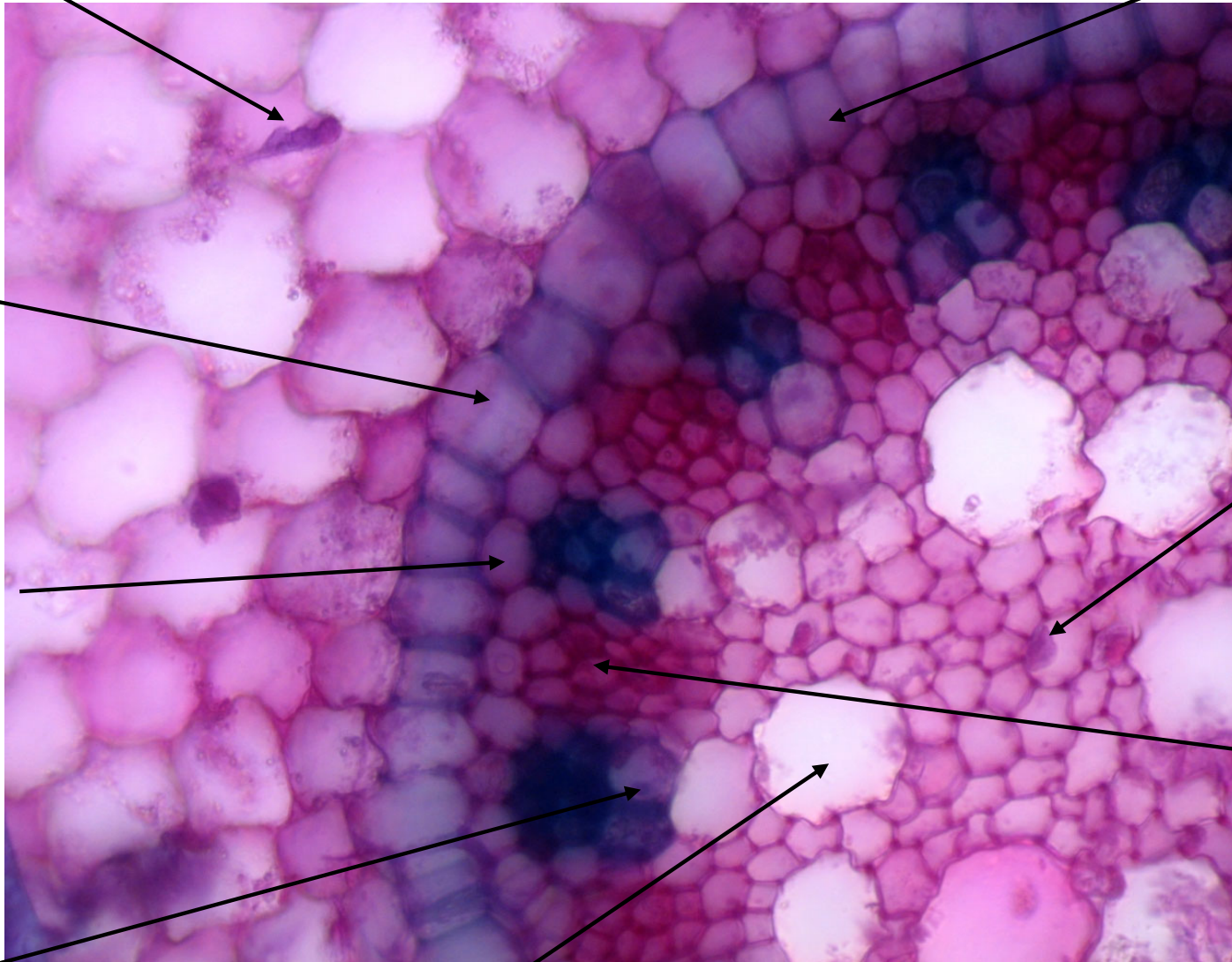
Περικύκλιο

Κύτταρα
εντεριώνης

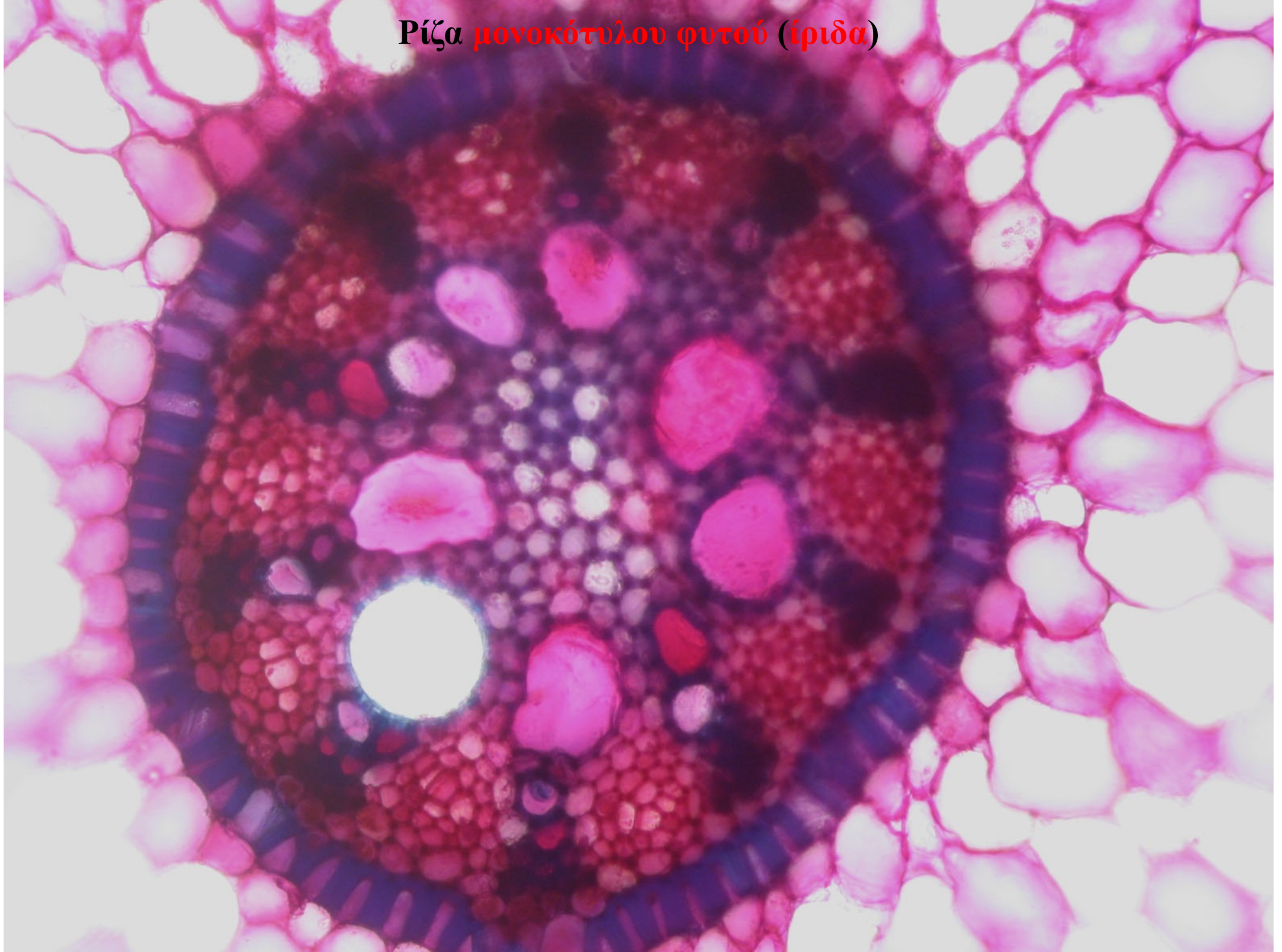
Ηθμός

Πρωτοξυλικά
αγγεία

Μεταξυλικά
αγγεία

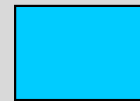
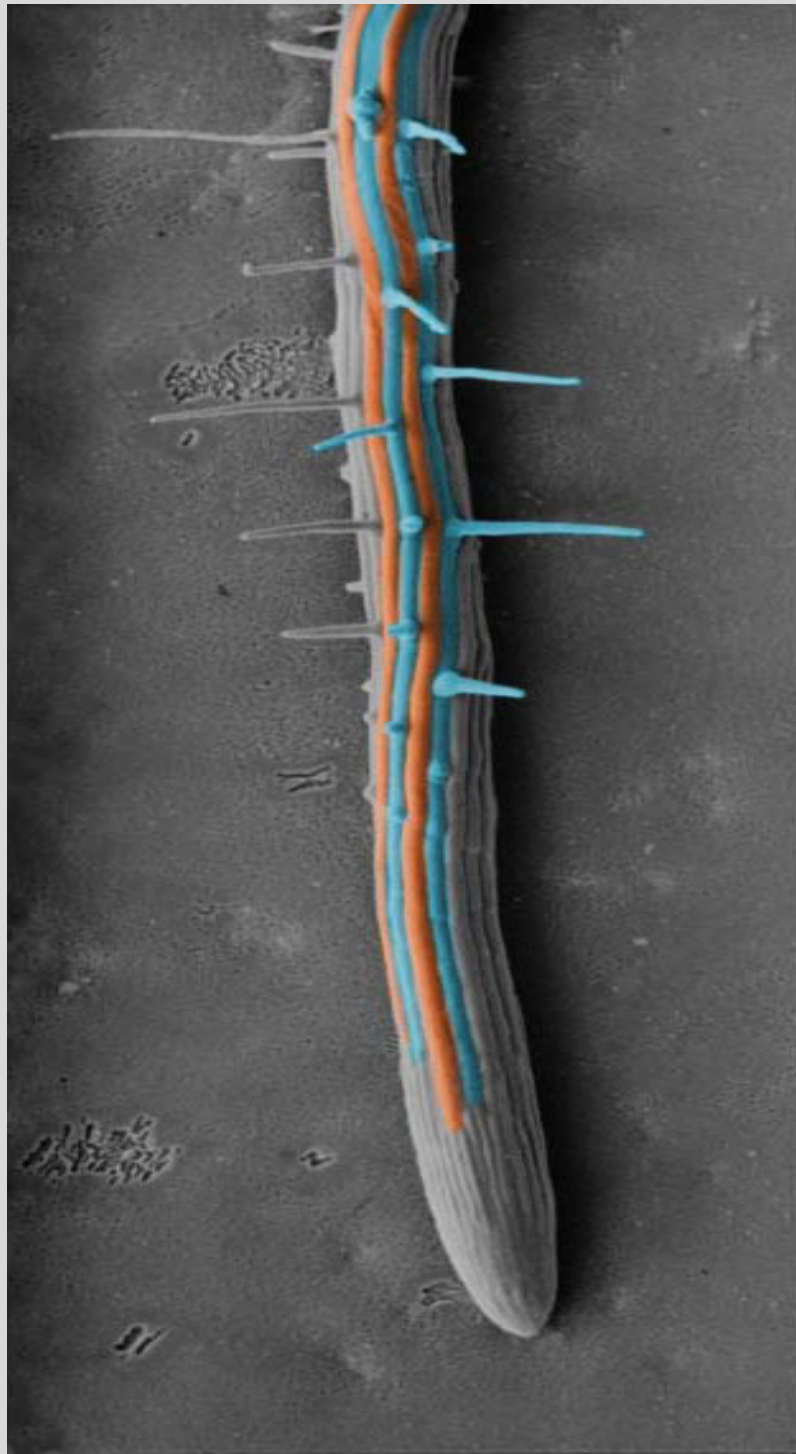


Ρίζα μονοκότυλου φυτού (ίριδα)



Ρίζα μονοκότυλου φυτού (ίριδα)





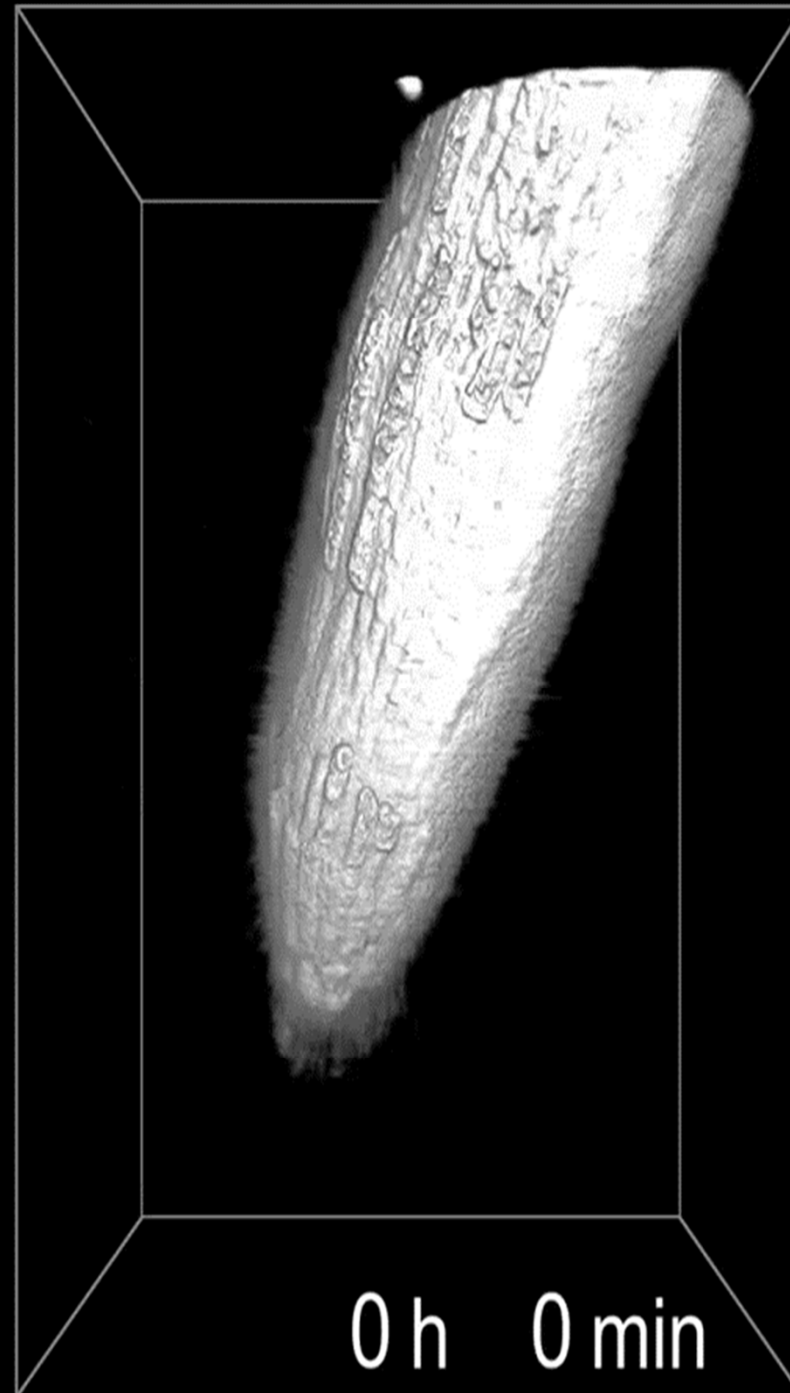
Τριχοβλάστες



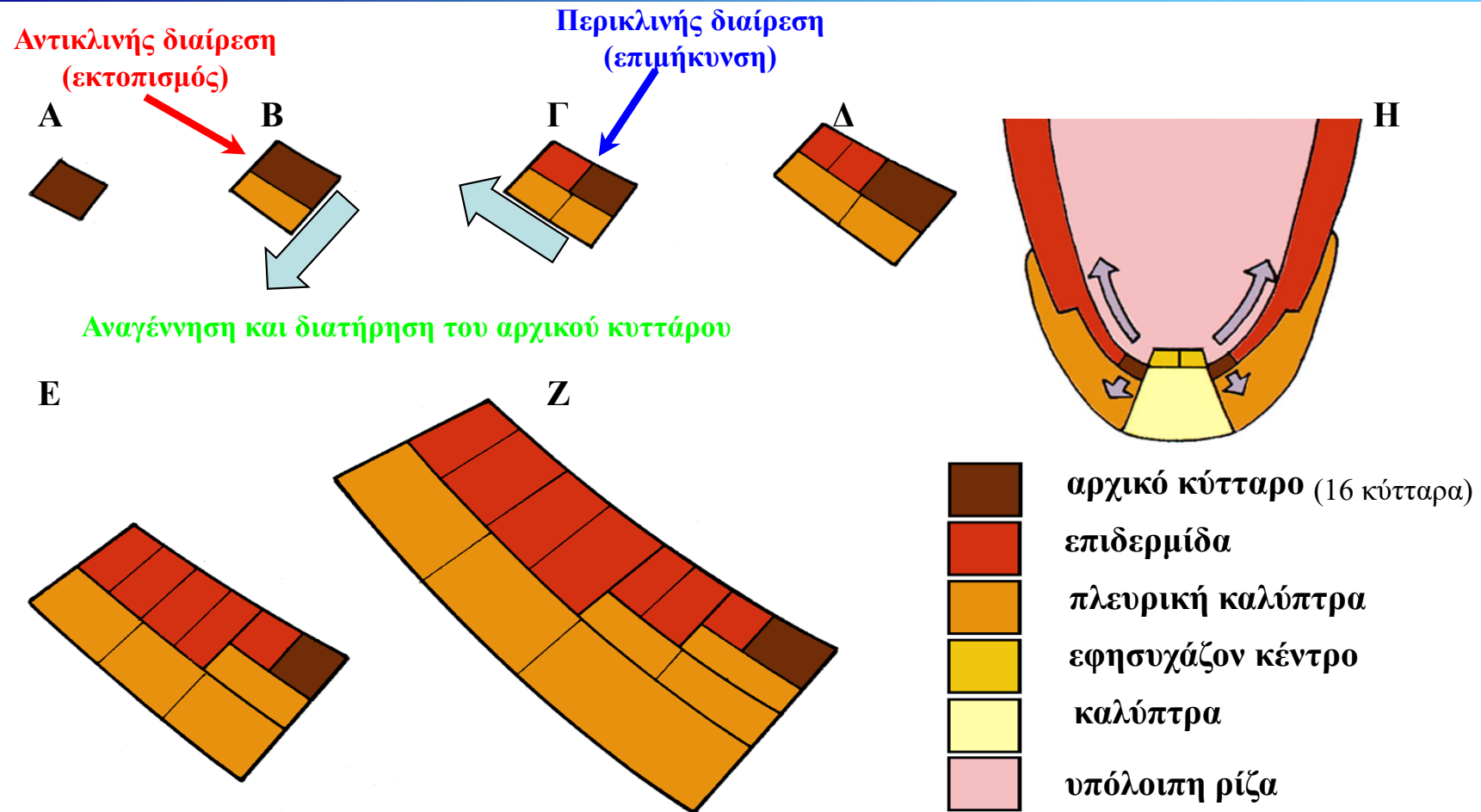
Ατριχοβλάστες

Video: 4D root hair tracking
of *Arabidopsis thaliana*

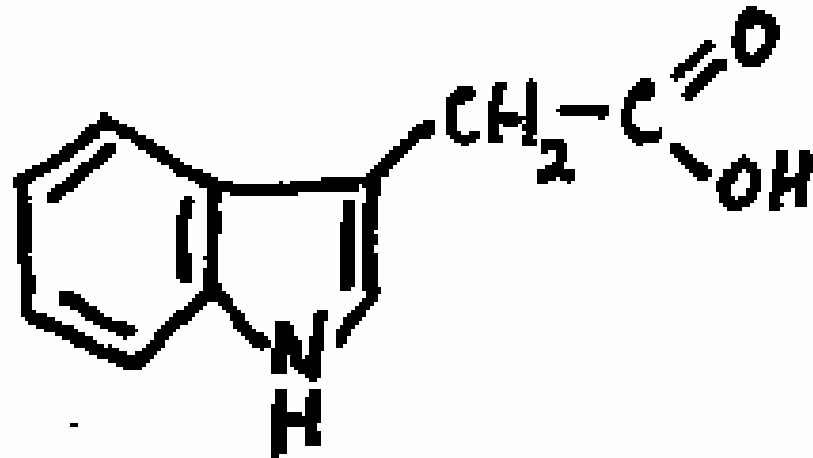
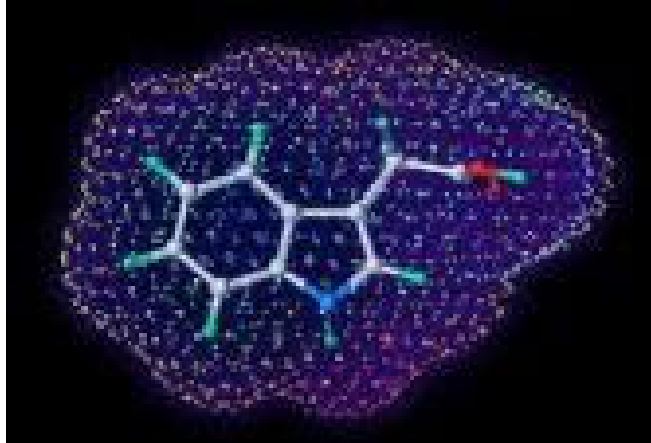
4D-απεικόνιση μορφογένεσης ριζικών τριχιδίων



Το πρότυπο των κυτταρικών διαιρέσεων στην ρίζα είναι αυστηρό



Η σειρά των κυτταρικών διαιρέσεων που οδηγούν στον σχηματισμό της επιδερμίδας και της πλευρικής καλύπτρας ξεκινώντας από ένα κοινό αρχικό κύτταρο. Το αρχικό κύτταρο διαιρείται πρώτα **αντικλινώς** (Α). Έτσι σχηματίζονται ένα **εσωτερικό** και ένα **εξωτερικό** κύτταρο (Β). Το **εσωτερικό κύτταρο** ακολουθεί μια σειρά **περικλινών** διαιρέσεων σχηματίζοντας την επιδερμίδα (Γ,Δ,Ε,Ζ). Το **εξωτερικό κύτταρο** διαιρείται με την σειρά του επίσης **περικλινώς** αλλά και ακτινωτά σχηματίζοντας την πλευρική καλύπτρα (Γ,Δ,Ε,Ζ). Με αυτό το πρότυπο διαιρέσεων το αρχικό κύτταρο αναγεννάται και διαιωνίζεται πραγματοποιώντας έτσι έναν νέο κύκλο διαιρέσεων (Ε,Ζ). Καθώς η ρίζα επιμηκύνεται τα κύτταρα που προκύπτουν από τις διαιρέσεις του αρχικού κυττάρου εκτοπίζονται και αναπτύσσονται προς τις συγκεκριμένες κατευθύνσεις που δείχνουν τα βέλη (Η).



Ινδολο-3-οξικό οξύ

(IAA)

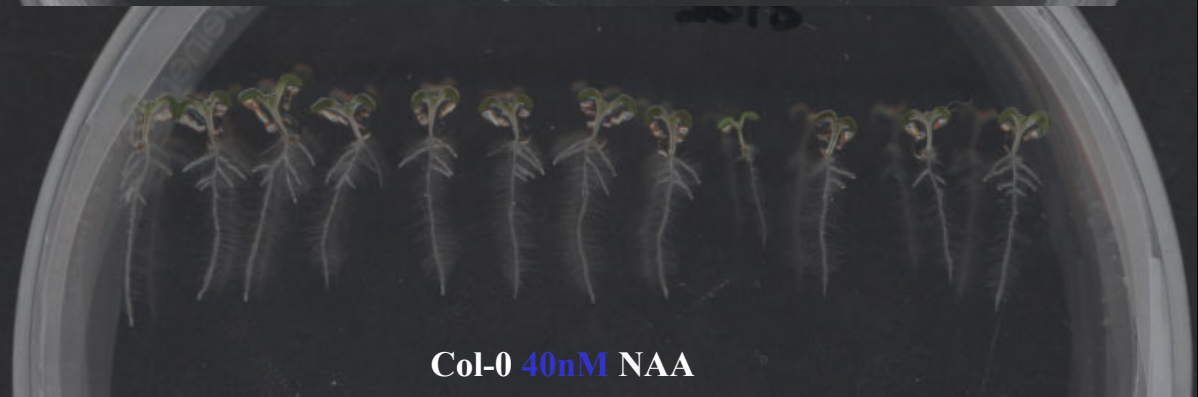
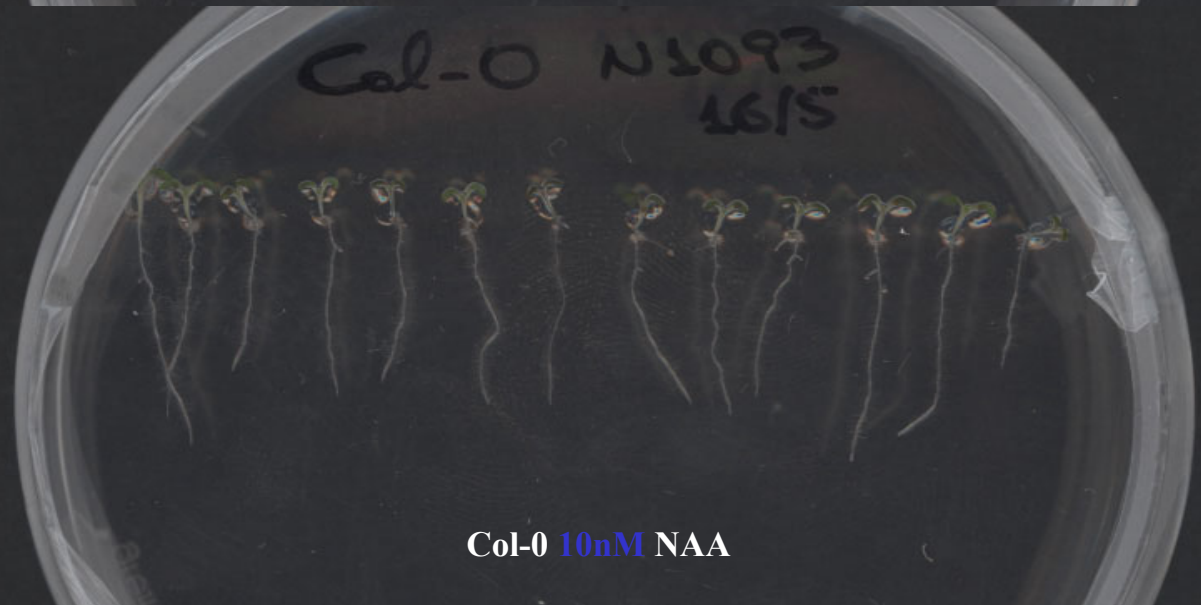
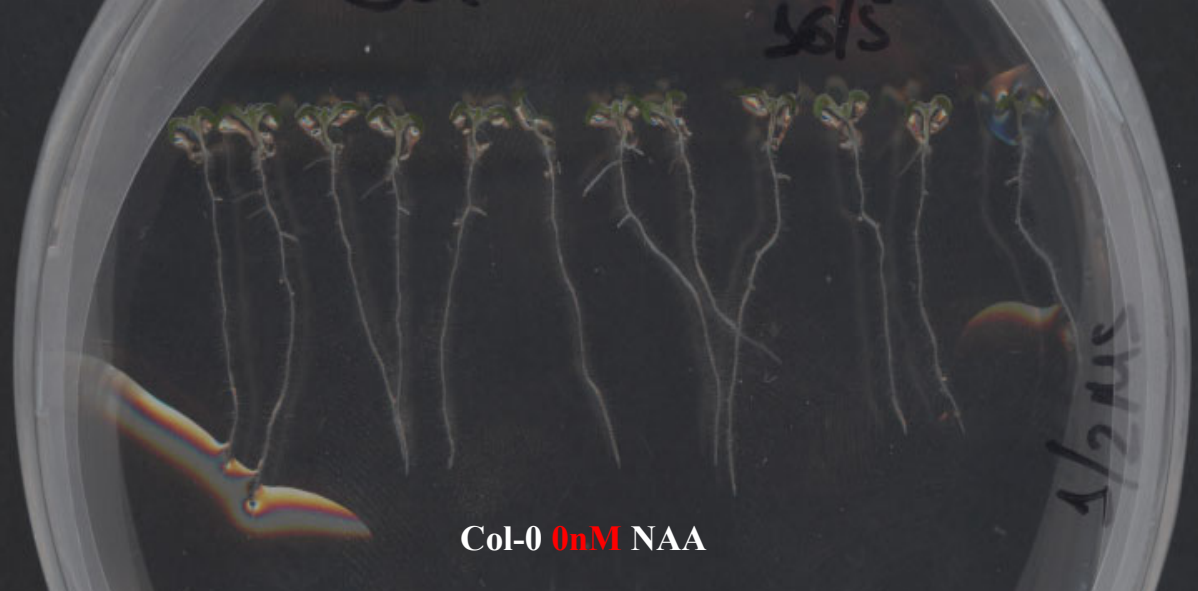
Ενδογενές μόριο Αυξίνης

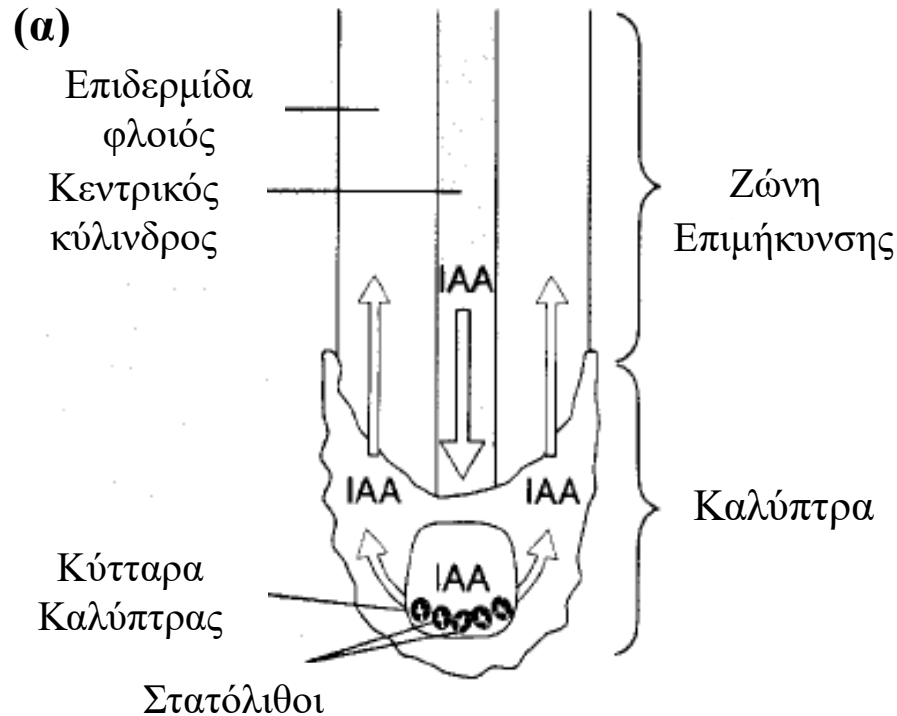
Πρόδρομο μόριο: **Τρυπτοφάνη**

Απαραίτητη για την **διατήρηση** της κυτταρικής
οργάνωσης του **ακραίου μεριστώματος της ρίζας**

“Η ανασταλτική
επίδραση της αυξίνης
(NAA) στην επιμήκυνση
της πρωτογενούς ρίζας”

“Η επαγωγή της
ανάπτυξης των II-γενών
ριζών από την επίδραση
της αυξίνης (NAA)”



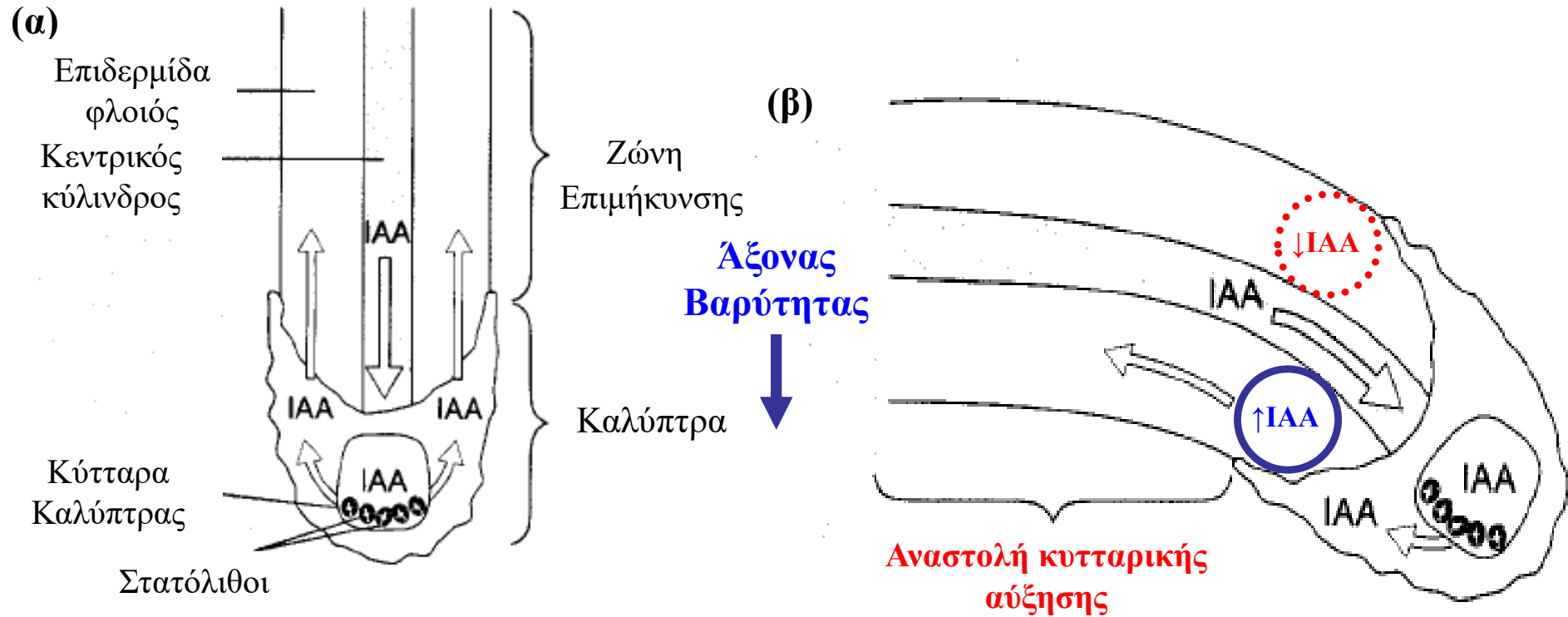


(α) Καθώς η ρίζα αναπτύσσεται παράλληλα ως προς τον άξονα της βαρύτητας η αυξίνη μεταφέρεται από το υπέργειο μέρος του φυτού στα κύτταρα της καλύπτρας όπου και συσσωρεύεται. Από εκεί γίνεται αναδιανομή με αντίθετη φορά μέσω των κυττάρων του φλοιού και της ριζικής επιδερμίδας. Έτσι η αυξίνη φτάνει στη ζώνη επιμήκυνσης όπου ελέγχει το ρυθμό αύξησης των κυττάρων

Ακροπεταλική Μεταφορά ↓ (Από Πάνω προς τα Κάτω)

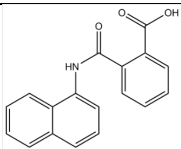
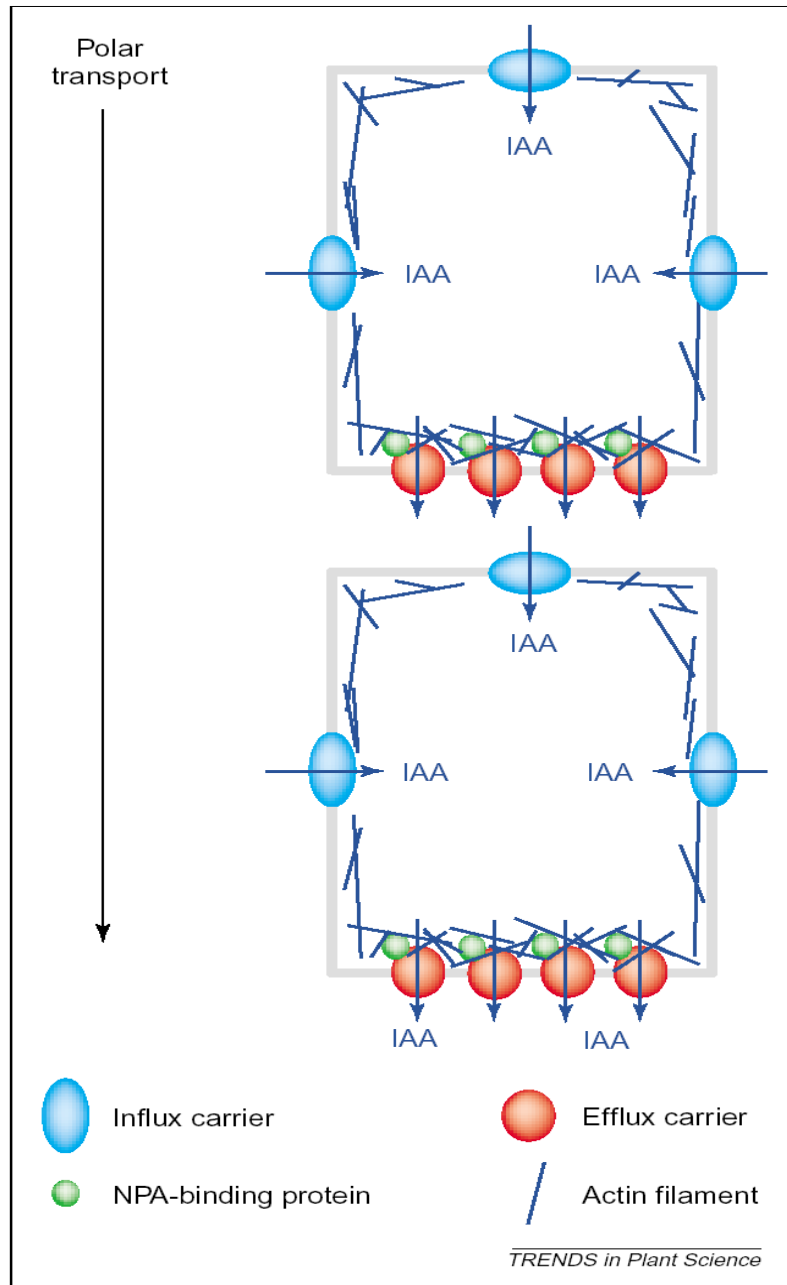
Βασιπεταλική Μεταφορά ↑ (Από Κάτω προς τα Πάνω)

Η δράση της αυξίνης στην ρίζα (Γεωτροπισμός)



(β) Η αντίληψη της μεταβολής του άξονα της βαρύτητας γίνεται με την κατακρήμνιση αμυλόκοκκων (στατόλιθοι) που βρίσκονται στα κύτταρα της καλύπτρας. Τότε στο κάτω μέρος της ρίζας παρατηρείτε ασύμμετρη μεταφορά αυξίνης. Η **συσσωρευση** της αυξίνης στο κάτω μέρος της ρίζας έχει ως αποτέλεσμα την **αναστολή** της επιμήκυνσης των κυττάρων και έτσι η ρίζα στρέφεται προς τα κάτω. Εξήγηση των τροπισμών Θεωρία **Cholodny-Went**.

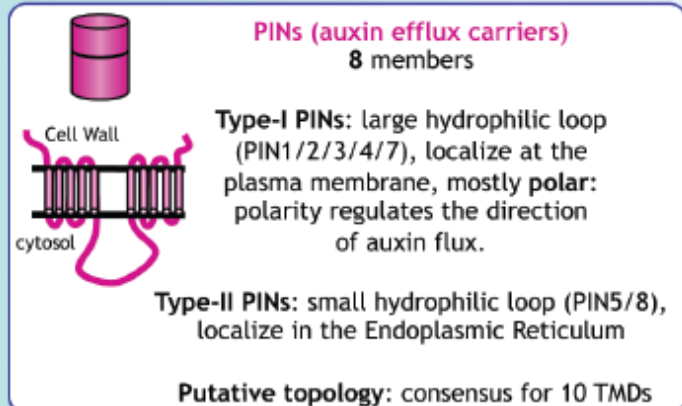
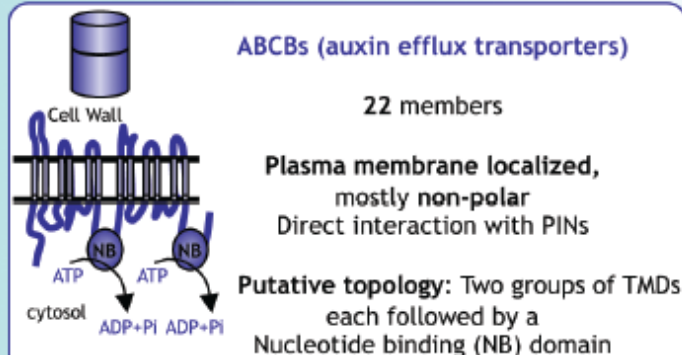
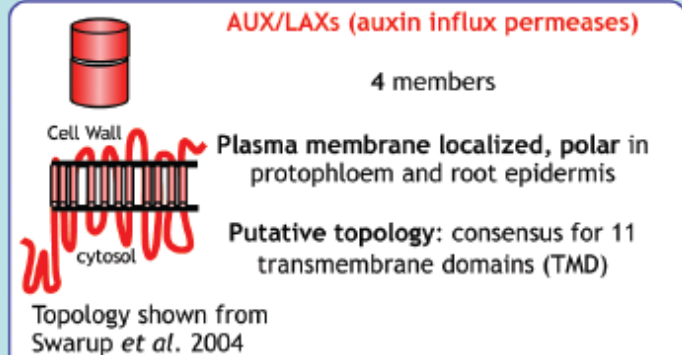
Η πολική μεταφορά της αυξίνης στην ρίζα



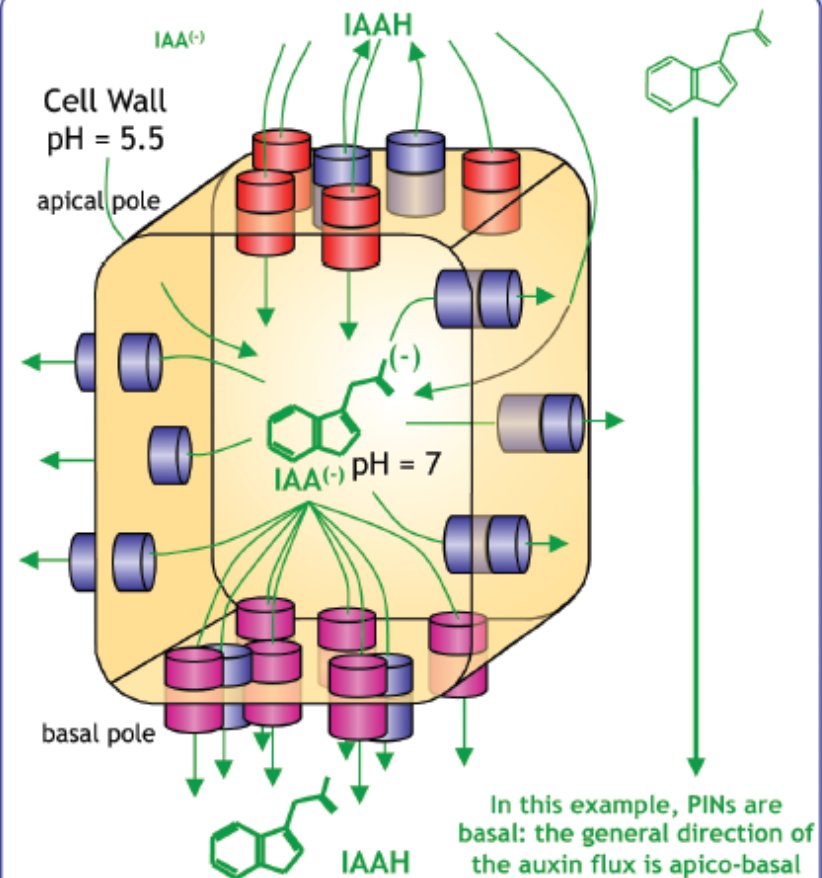
N-1-naphthylphthalamic acid (NPA)-PIN inhibitor

- Η **πολική μεταφορά αυξίνης** από τα υπέργεια μέρη του φυτού όπου αρχικά συντίθενται είναι σημαντική για την οργάνωση του ακραίου μεριστώματος της ρίζας (από τον βλαστό στην ρίζα)
- Στην ρίζα υπάρχει ένα εκλεκτικό δίκτυο διακίνησης αυξίνης που αποτελείται από **συστήματα εισροής** όπως το γονίδιο *AUX1* (influx carrier) και **τα συστήματα εκροής** της πολυγονιδιακής οικογένειας των *PIN* γονιδίων (efflux carriers)
- Η λειτουργία πρωτεϊνών PIN ως μεταφορείς αυξίνης αναστέλλεται από την δράση του αναστολέα της **πολικής μεταφοράς αυξίνης NPA** (συνθετική φλαβόνη ornaphthylphthalamic-acid)
- Η ακραίο-βασική ροή της αυξίνης στο έμβρυο οδηγεί σε μία διαβάθμιση της συγκέντρωσης της με μέγιστο στα αρχικά κύτταρα της στήλης της καλύπτρας, γεγονός που προάγει την ανάπτυξη του Ακραίου Μεριστώματος της Ρίζας. Το παράδειγμα της μετάλλαξης *monopteros (mp)*

Box 1. The chemiosmotic theory and the different families of auxin carriers.

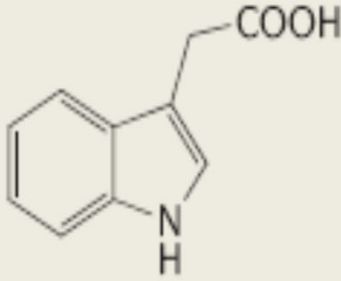
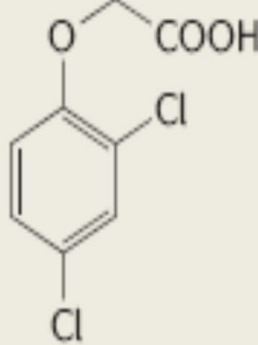
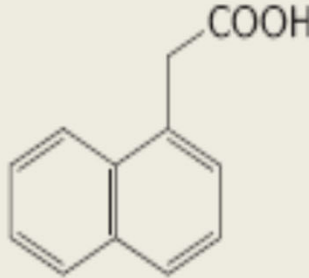


Auxin is a weak acid with a dissociation constant of $pK = 4.8$. Hence, it is present under two forms: the anion $IAA^{(-)}$ and the protonated $IAAH$ dependent on the pH compartment. In neutral compartments (cytoplasm), $IAA^{(-)}$ dominates, whereas in acidic compartments (cell wall) both $IAAH$ and $IAA^{(-)}$ are present. $IAAH$ can freely diffuse across the plasma membrane, but there is still a proportion of $IAA^{(-)}$ which needs to be transported inside the cell by the action of influx transporter (AUX/LAX). $IAA^{(-)}$ cannot pass through the plasma membrane and needs to be actively transported by efflux carriers (PINs, ABCBs), the polarity of which regulates the direction of the auxin flux (PINs).



AUX1 σύστημα εισροής αυξίνης

Table 1 | **Properties of three commonly used auxins**

Properties	Natural	Synthetic	
Chemical structure	 IAA	 2,4-D	 NAA
<i>Affinity to receptors</i>			
TIR1 binding (K_d)	High	Low	Middle
ABP1 binding (K_d)	Middle	Low	High
<i>Transport capacity</i>			
Influx carriers	Yes	Yes	No (by diffusion)
Efflux carriers	Yes	No	Yes
Indole-3-acetic acid (IAA) is considered to be the most important natural auxin, 1-naphthaleneacetic acid (NAA) is a horticulturally important auxin, and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) is a common selective herbicide.			

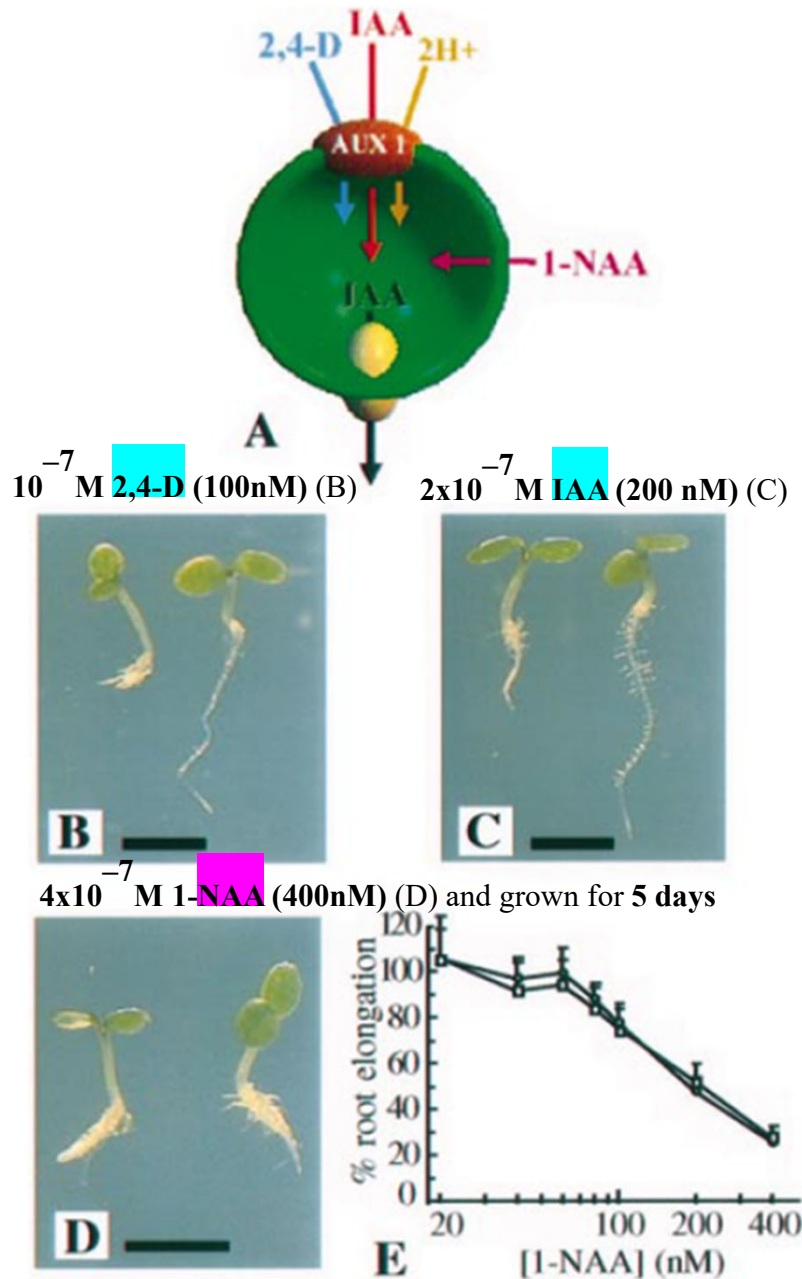
AUX1 εισροή αυξίνης

AUX1 facilitates auxin transport in *Arabidopsis*

The EMBO Journal Vol.18 No.8 pp.2066–2073, 1999

AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues

- Η διαμεμβρανική πρωτεΐνη AUX1 τοποθετείται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη
- Η AUX1 είναι σύστημα εισροής αυξίνης και ιδιαίτερα της φυσικής IAA και της συνθετικής αυξίνης 2,4-D για αυτό και στο μετάλλαγμα *aux1* δεν αναστέλλεται η ανάπτυξη της ρίζας με την εφαρμογή τους (B) και (C)
- Η λιπόφιλη συνθετική αυξίνη NAA μπαίνει παθητικά στο κύτταρο και όχι από το εισροής αυξίνης AUX1 για αυτό και επηρεάζει ανασταλτικά την επιμήκυνση της ρίζας στο μετάλλαγμα *aux1* (D) και (E)



Δοκιμή ανθεκτικότητας της των μεταλλαγμάτων *aux1* στην αυξίνη

- **Ανθεκτικότητα σε IAA και 2,4D**
- **Ευαισθησία σε NAA**

AUX1 εισροή αυξίνης



REPORTS

26 MAY 2006 VOL 312 SCIENCE

AXR4 Is Required for Localization of the Auxin Influx Facilitator AUX1

S. Dharmasiri,^{1*}† R. Swarup,^{2*} K. Mockaitis,^{1*} N. Dharmasiri,¹† S. K. Singh,³ M. Kowalchuk,³ A. Marchant,³ S. Mills,⁴ G. Sandberg,³ M. J. Bennett,²‡ M. Estelle¹‡

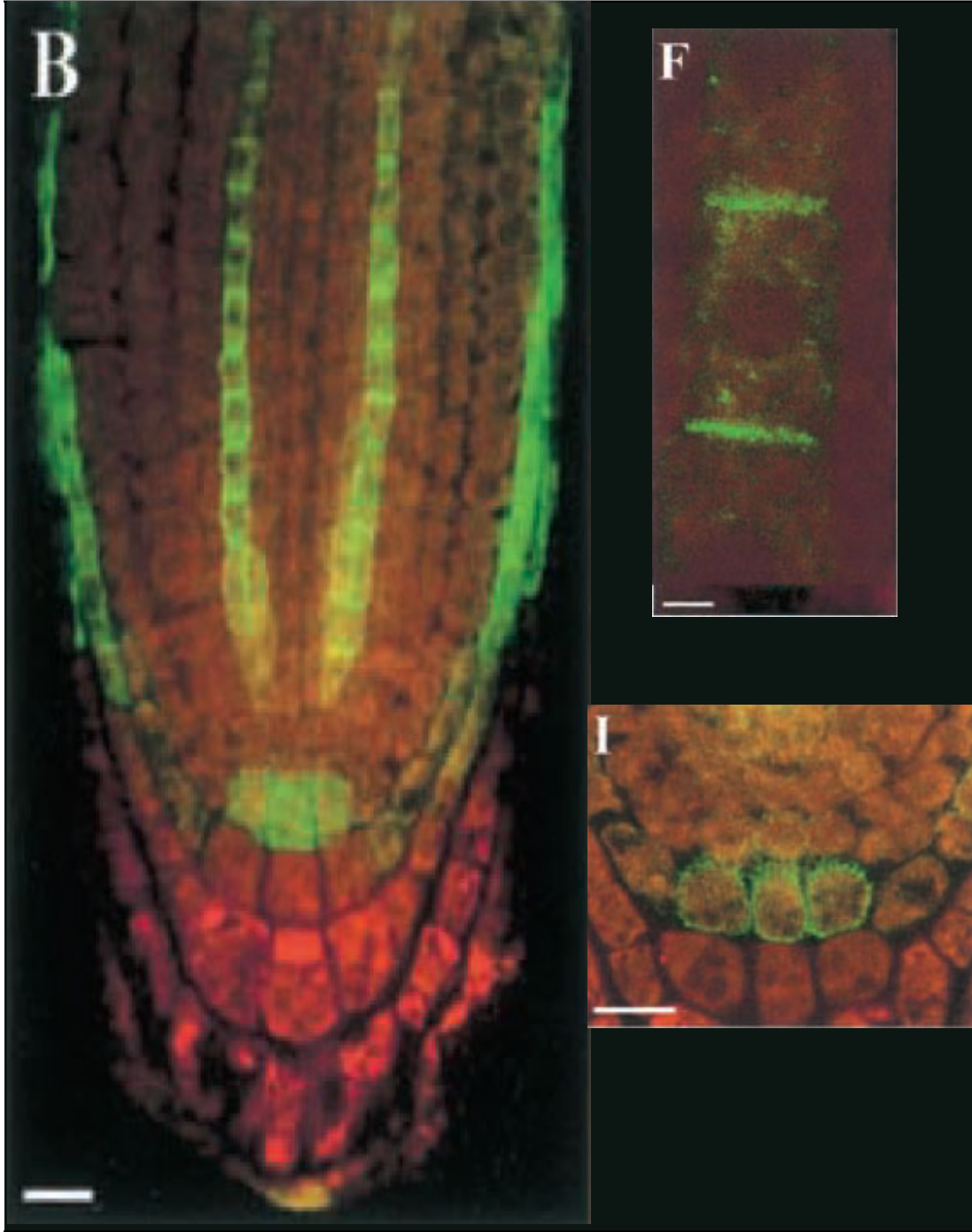
- Η ανθεκτικότητα της μετάλλαξης *aux1* στα 85nM 2,4-D

AUX1 εισροή αυξίνης

RESEARCH COMMUNICATION

Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex

Ranjan Swarup,^{1,5} Jiri Friml,^{2,3,5} Alan Marchant,¹ Karin Ljung,⁴ Goran Sandberg,⁴ Klaus Palme,² and Malcolm Bennett^{1,6}

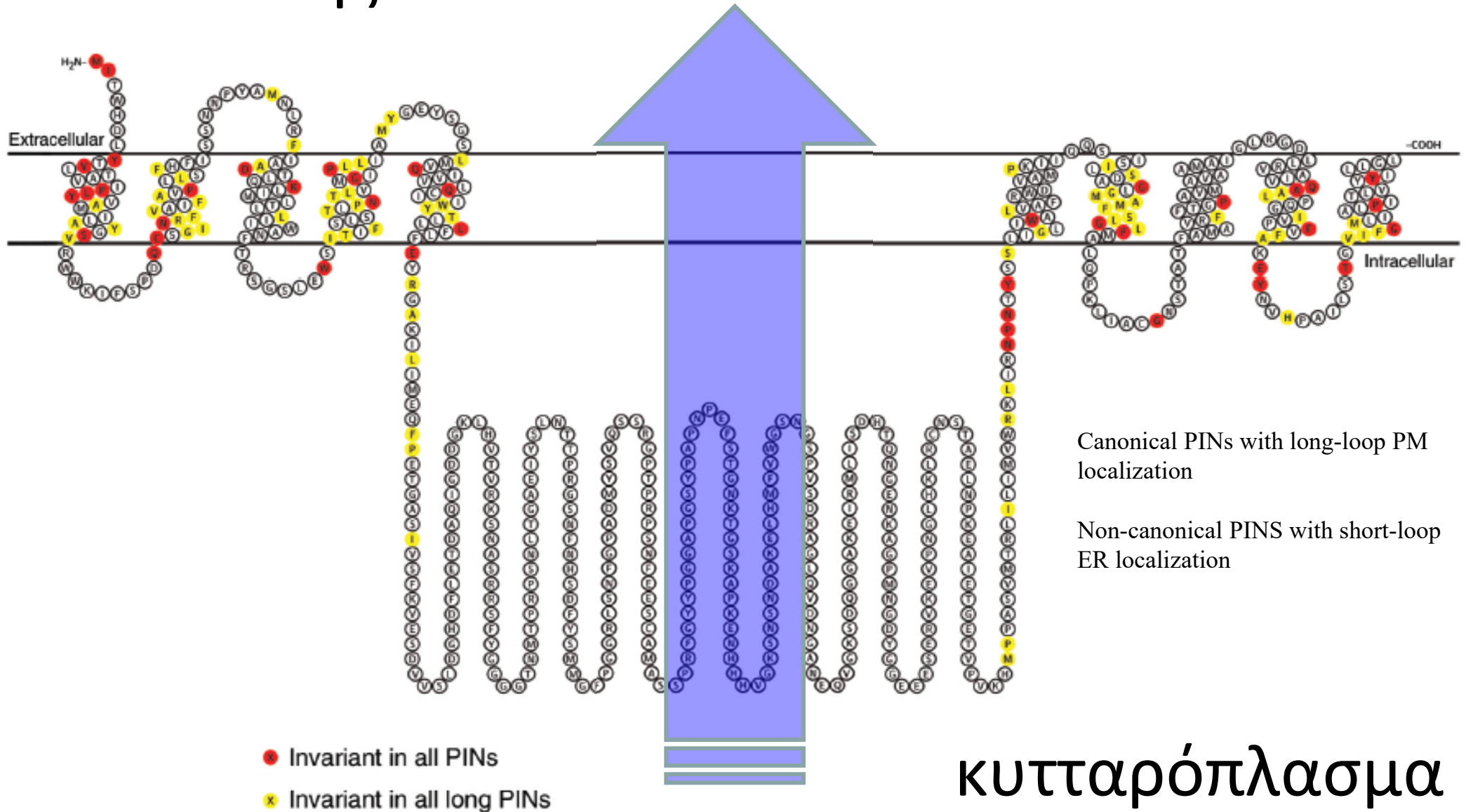


- Ασύμμετρη τοποθέτηση (πολικά πάνω) της διαμεμβρανική πρωτεΐνη AUX1 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των κυττάρων του ηθμού
- Η AUX1 τοποθετείται περιφερειακά στα κύτταρα της κεντρικής καλύπτρας (columella) και στα κύτταρα της πλευρικής καλύπτρας (lateral root cap), εξαιτίας του auxin maximum στο ακρορίζιο

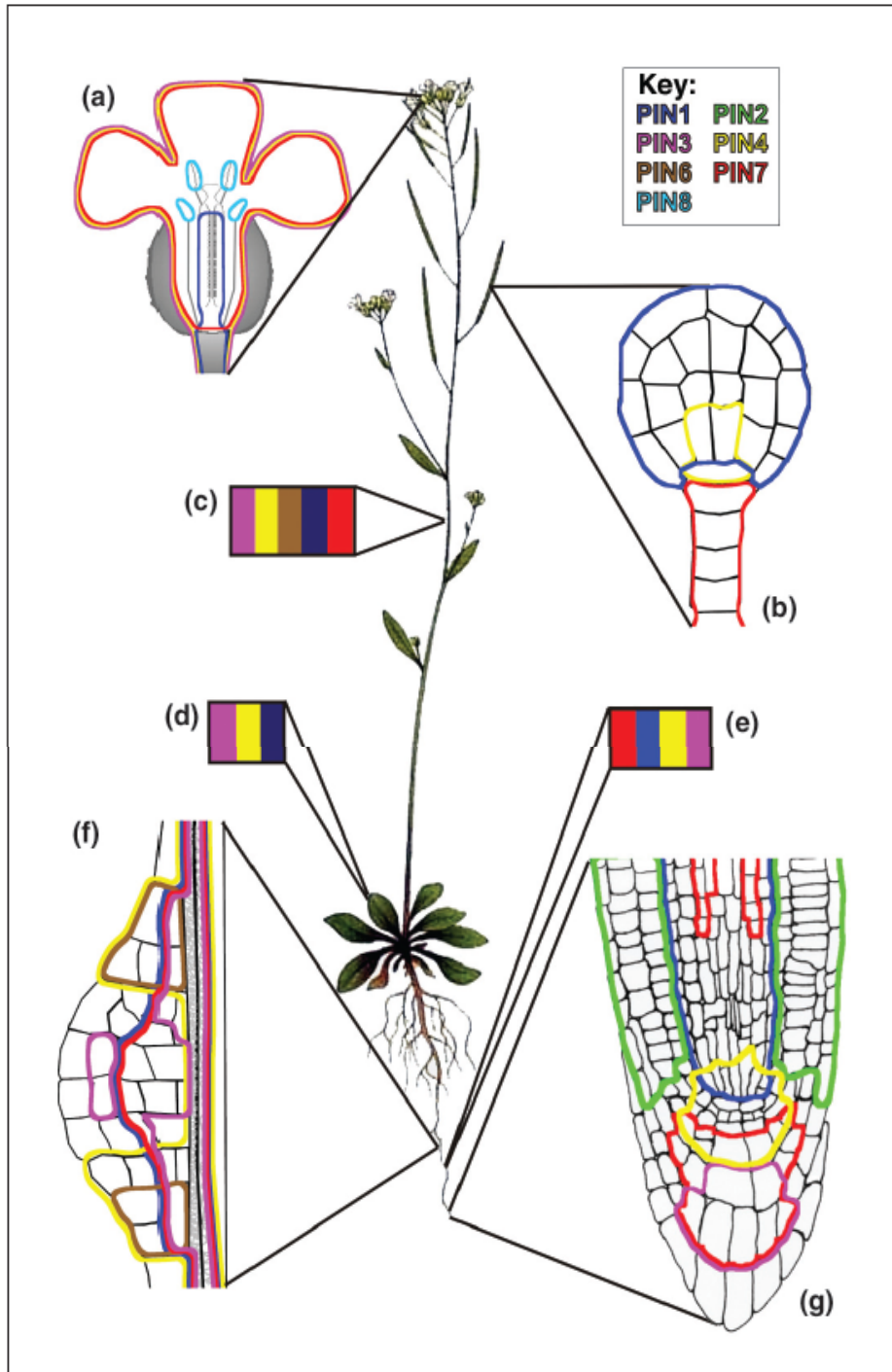
PIN συστήματα εκροής
αυξίνης

Διαμεμβρανική πρωτεΐνη/ Διαμεμβρανικές δομές

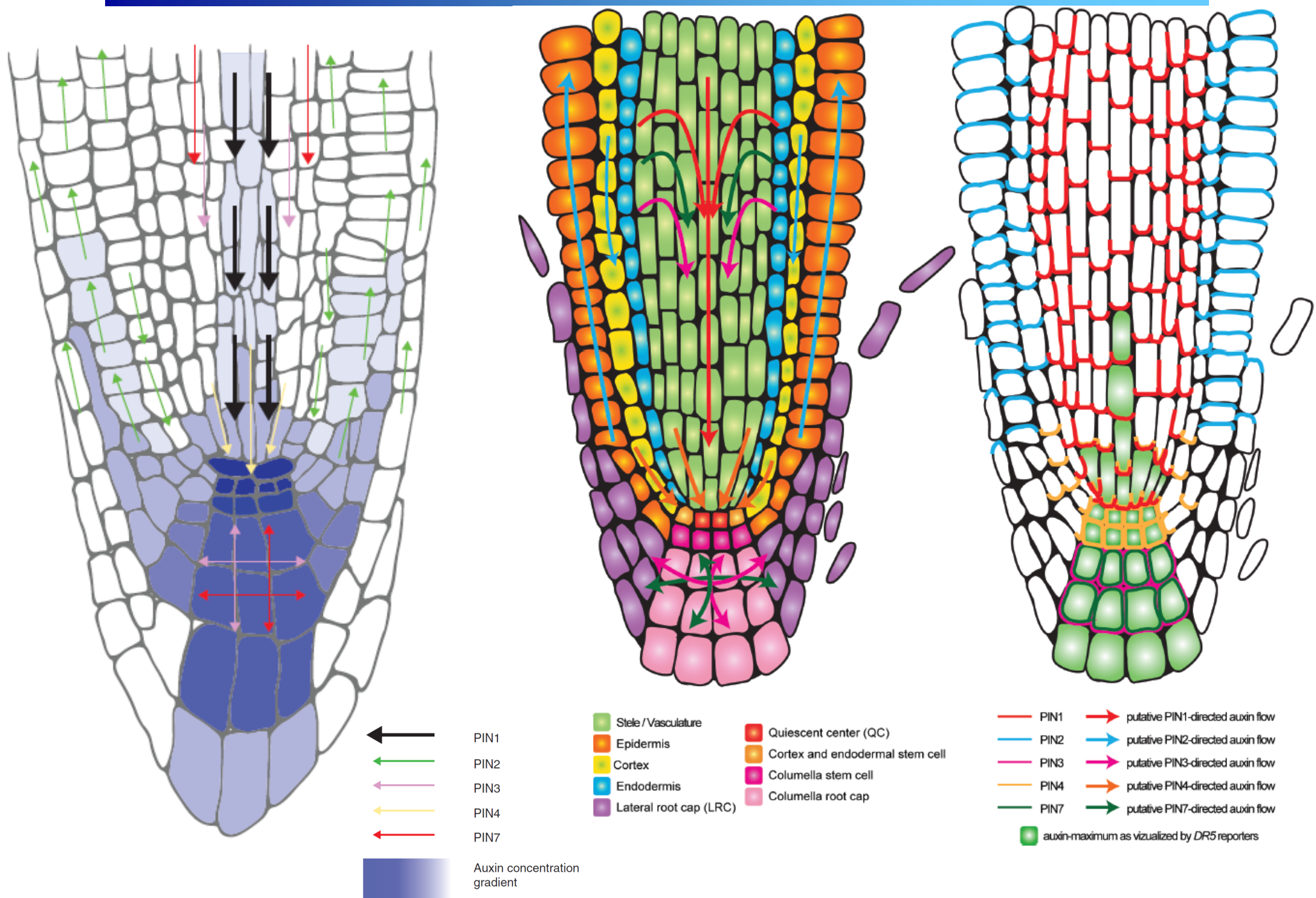
αποπλάστης



κυτταρόπλασμα

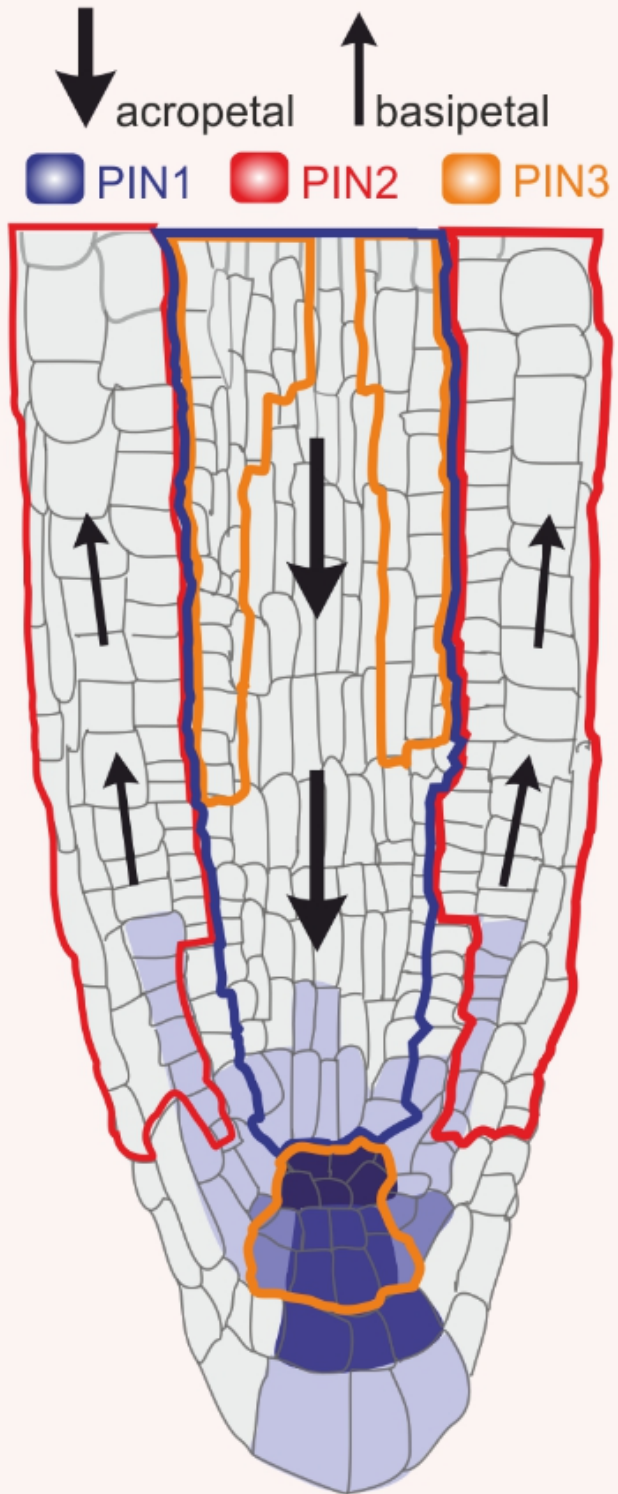


Η διακίνηση της αυξίνης στην ρίζα & η κατανομή των PINs



Οι πρωταγωνιστές χαράζουν την διαδρομή

PIN1 (ακροπεταλικό ρεύμα)
PIN2 (βασιπεταλικό ρεύμα)
PIN3 (ακροπεταλικό ρεύμα)



Update on PIN Polar Targeting

PIN Polar Targeting¹

Plant Physiology, August 2008, Vol. 147, pp. 1553–1559

Elena Feraru and Jiří Friml*

Συμβαίνει στη φύση

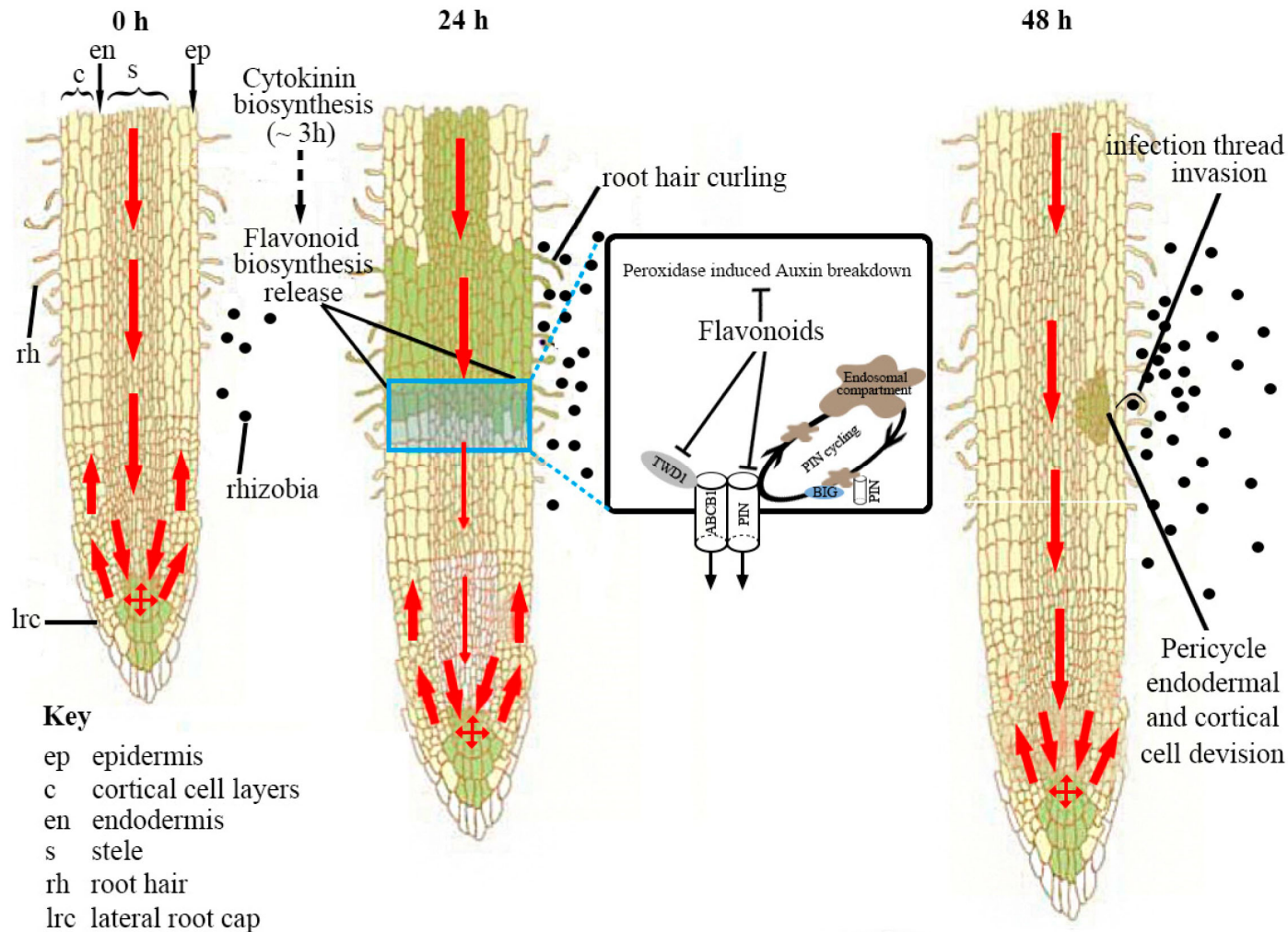
τα φλαβονοειδή είναι
φυσικοί αναστολείς της
πολικής μεταφοράς της
αυξίνης και συμβάλλουν
στον σχηματισμό των
φυματίων (αζωτοδέσμευση)

τα φλαβονοειδή είναι φυσικοί αναστολείς της πολικής μεταφοράς της αυξίνης (ακροπεταλικό ρεύμα) και συμβάλουν στον σχηματισμό των φυματίων (αζωτοδέσμευση)

The Significance of Flavonoids in the Process of Biological Nitrogen Fixation

Int. J. Mol. Sci. **2020**, *21*(16), 5926; <https://doi.org/10.3390/ijms21165926>

by  Wei Dong  and  Yuguang Song 



● **Flavonoids are auxin transport inhibitors** thought to disrupt the complex between ABCB1 (ATP-Binding Cassette Subfamily B 1) and TWD1 (TWISTED DWARF1) [63,64], affecting transport, and **by binding BIG, a protein required for PIN cycling** [65]. The reduction of acropetal auxin transport increases auxin concentration at the rhizobia infection site, the location of a future nodule primordium.

Ερώτηση: Μπορούμε να εντοπίσουμε μια πρωτεΐνη μέσα το κύτταρο
(*in vivo*)



Μια **ΜΕΓΑΛΗ** Παρένθεση πρώτα

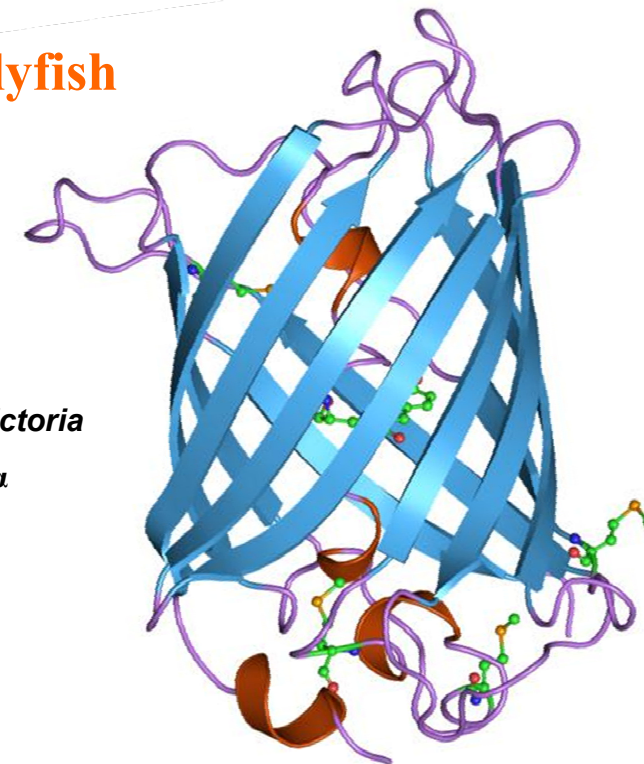


Πρωτεΐνη Πράσινου Φθορισμού-Green Fluorescent Protein (GFP)

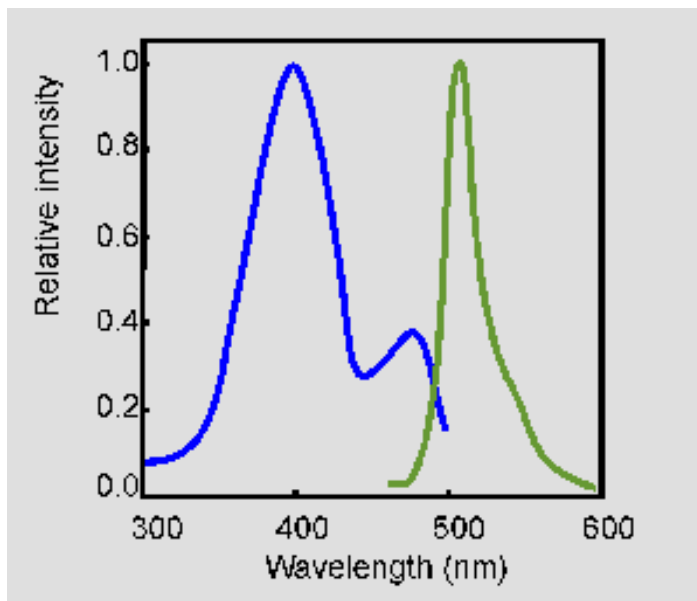


Video: Jellyfish

Aequorea victoria
μέδουσα



Πρωτεΐνη Πράσινου Φθορισμού
Green Fluorescence Protein (GFP)
φθοροφόρο κέντρο



Excitation/ Διέγερση: μέγιστο στα 395 nm και στα 470 nm

Emission/ Εκπομπή: μέγιστο στα 509 nm



The Nobel Prize in Chemistry 2008

Osamu Shimomura, Martin Chalfie, Roger Y. Tsien

The Nobel Prize in Chemistry 2008

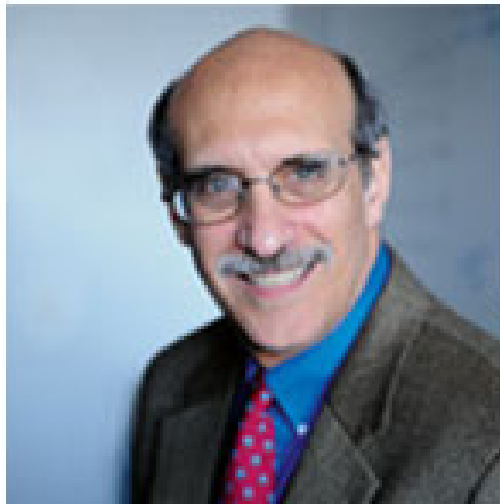
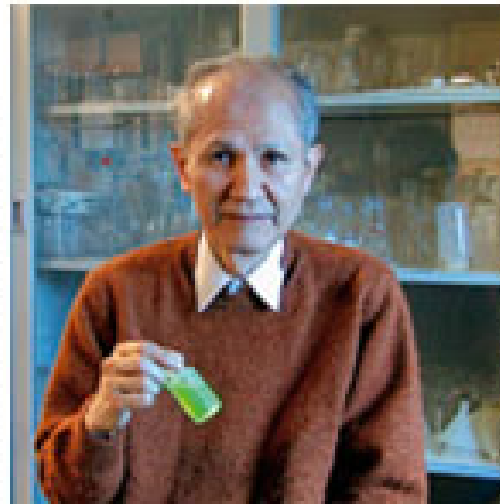


Photo: Eileen Barroso,
Columbia University, New York

Martin Chalfie

US citizen. Born 1947 in Chicago, IL, USA. Professor of Biological Sciences at Columbia University, New York, NY, USA.



© Osamu Shimomura

Osamu Shimomura

Japanese citizen. Born 1928 in Kyoto, Japan. Professor Emeritus at Marine Biological Laboratory (MBL), Woods Hole, MA, USA, and Boston University Medical School, MA, USA.

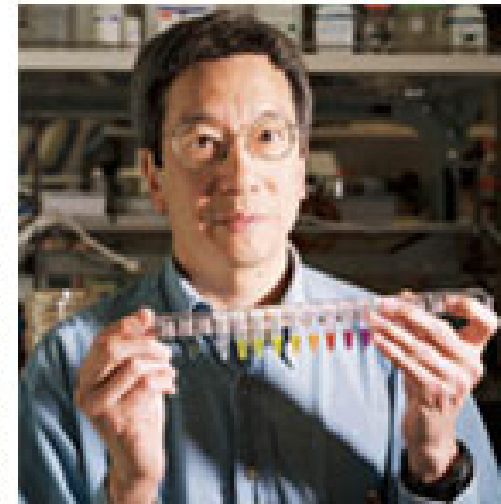
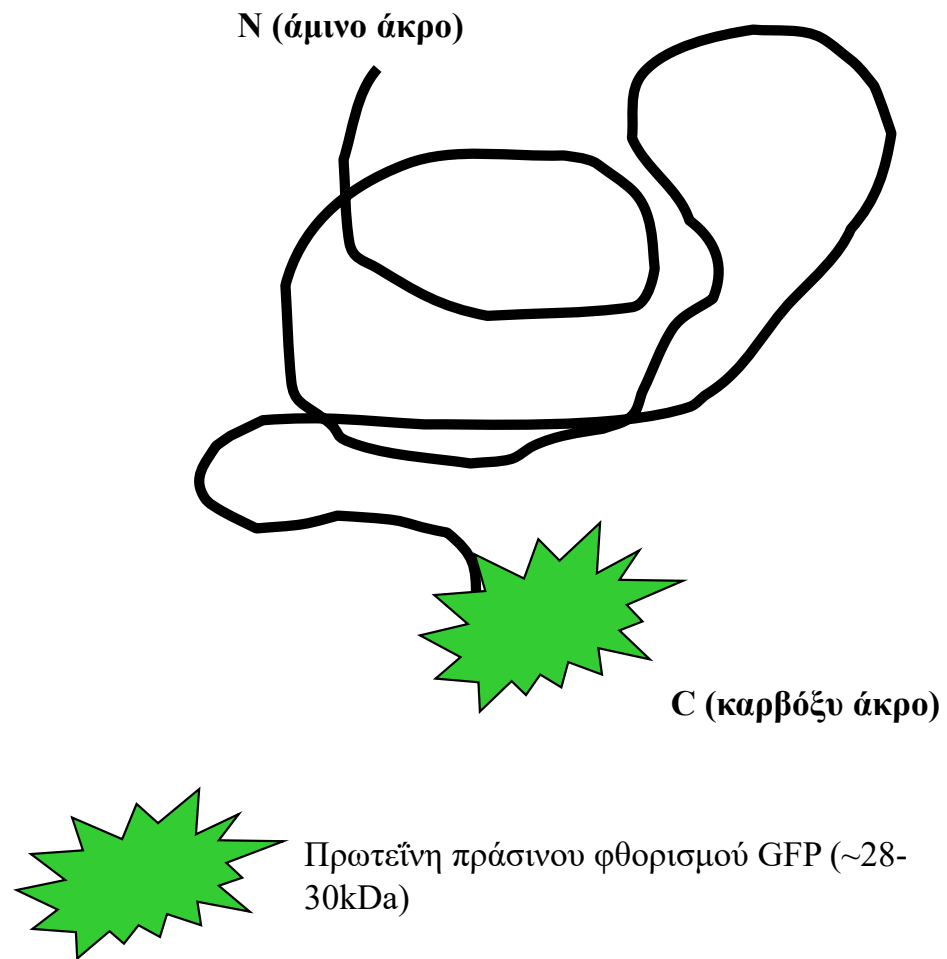


Photo: Joe Toreno for HHMI

Roger Y. Tsien

US citizen. Born 1952 in New York, NY, USA. Professor and Investigator at Howard Hughes Medical Institute, University of California, San Diego, La Jolla, CA, USA.

Επισήμανση πρωτεϊνών

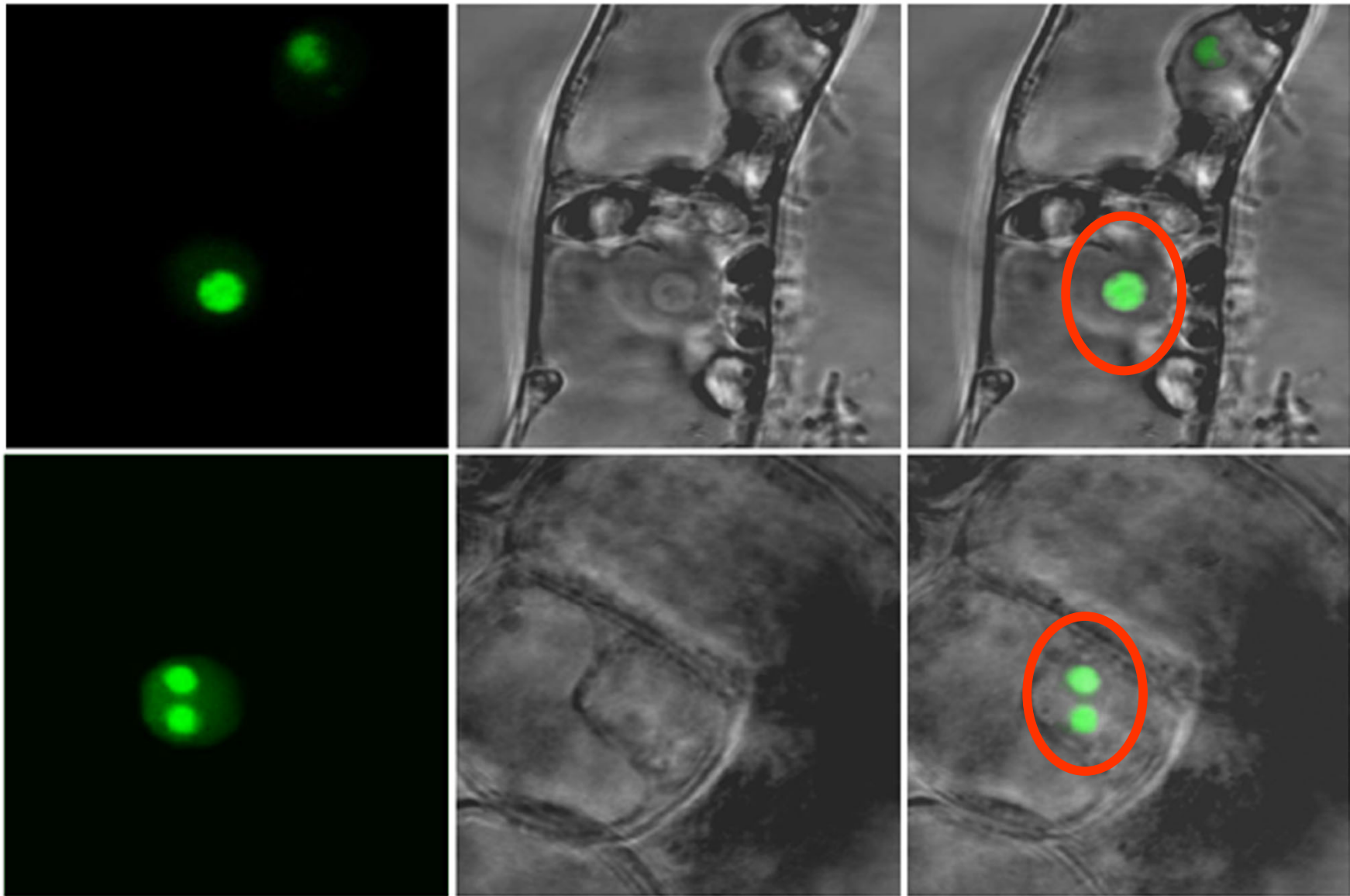


Fusion = Σύντηξη μεταγραφική και άρα μεταφραστική



Πρωτεϊνική Στόχευση

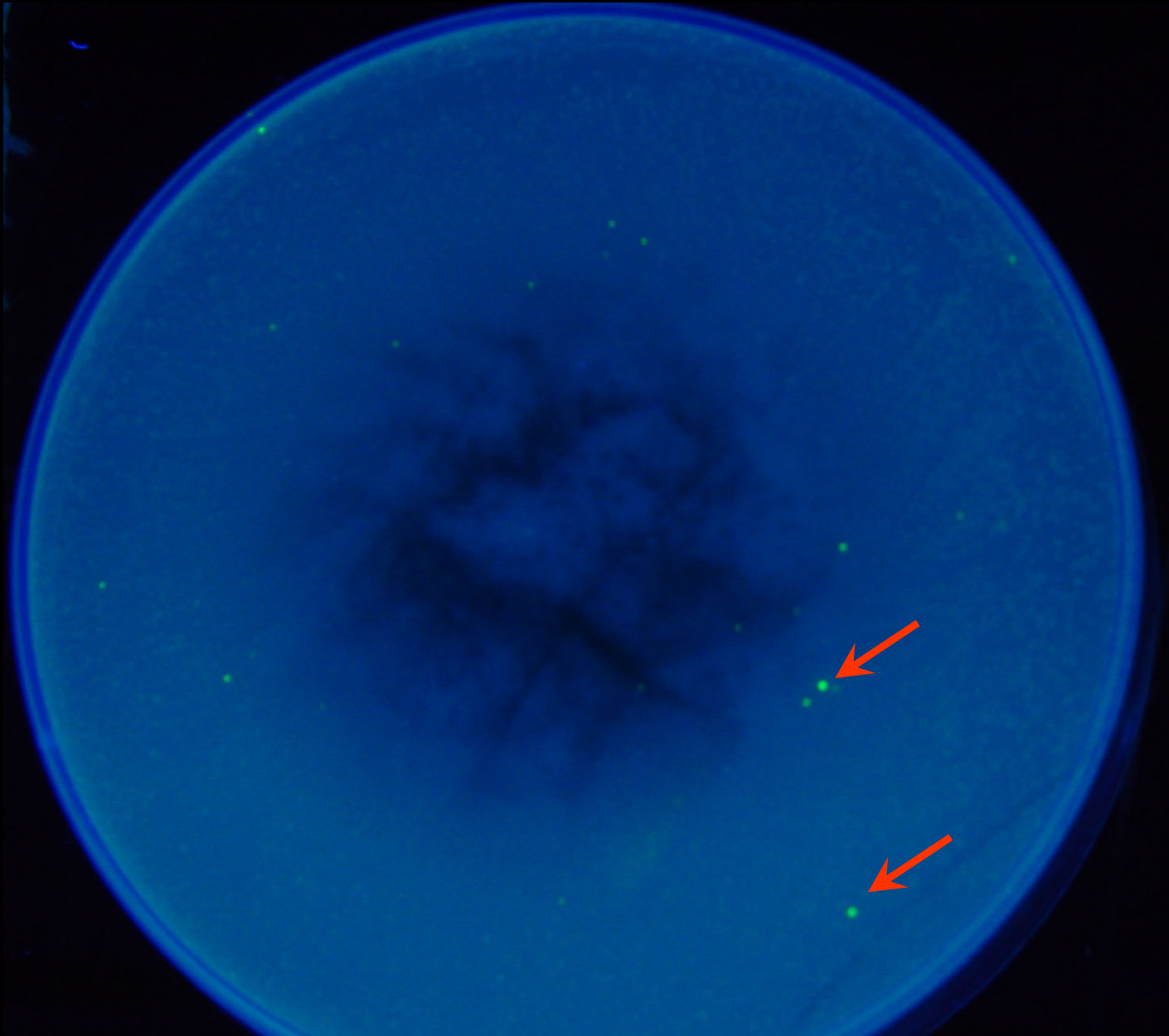
GFP

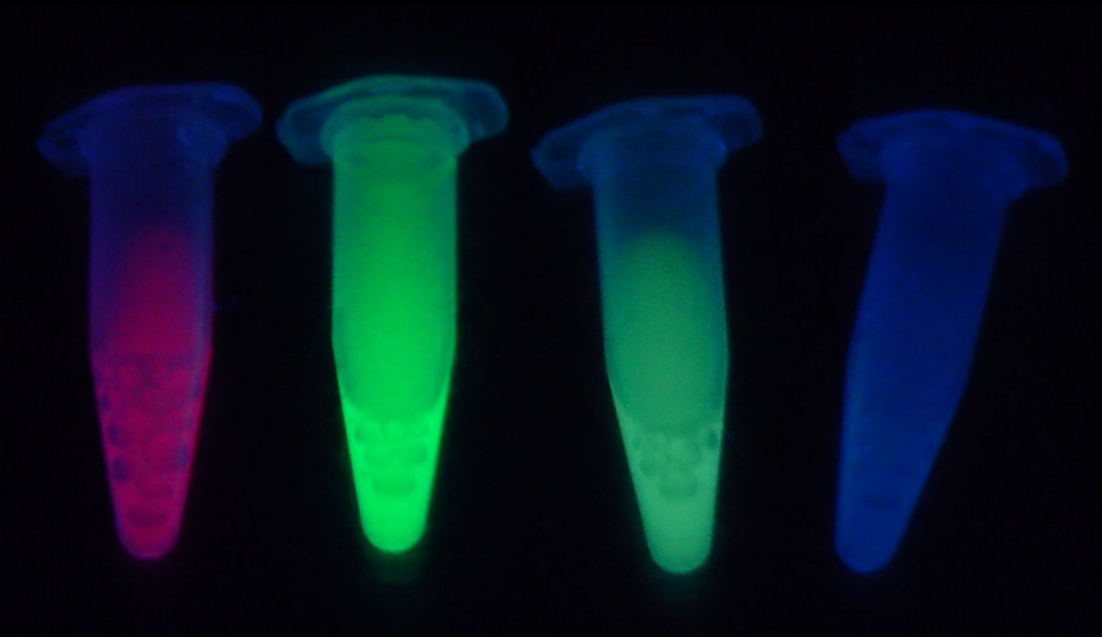
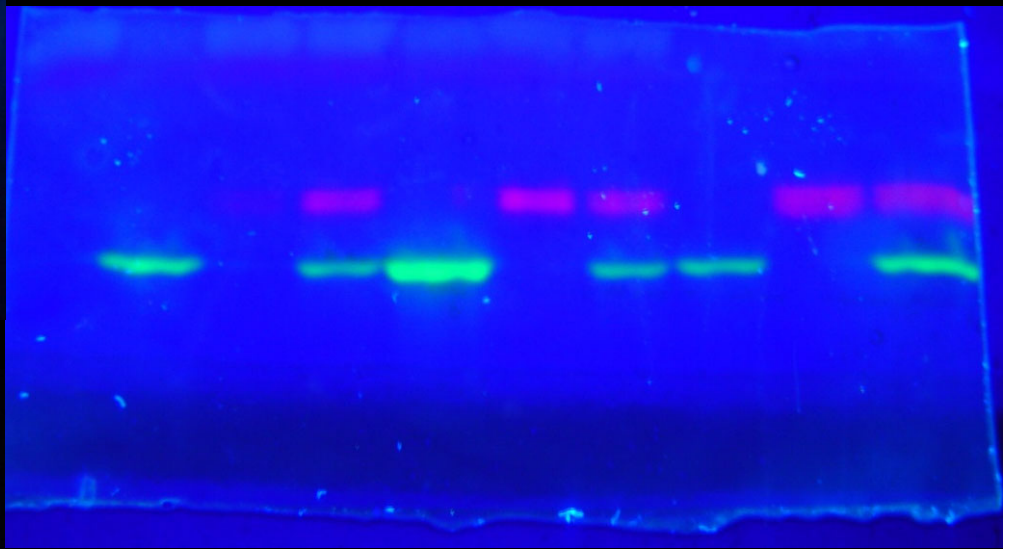
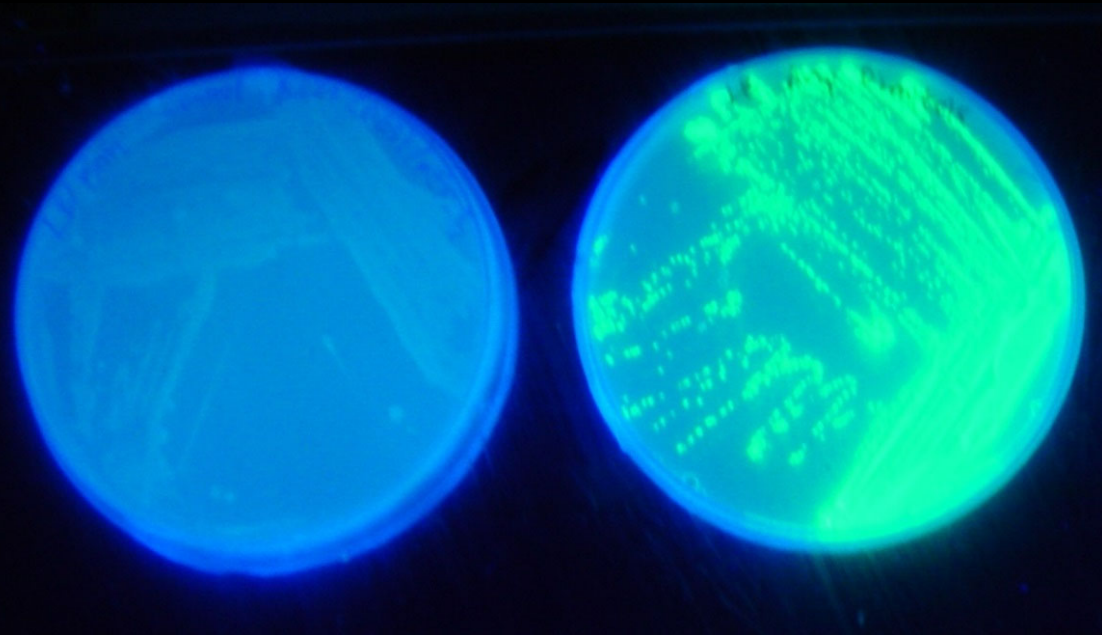


Πυρήνας

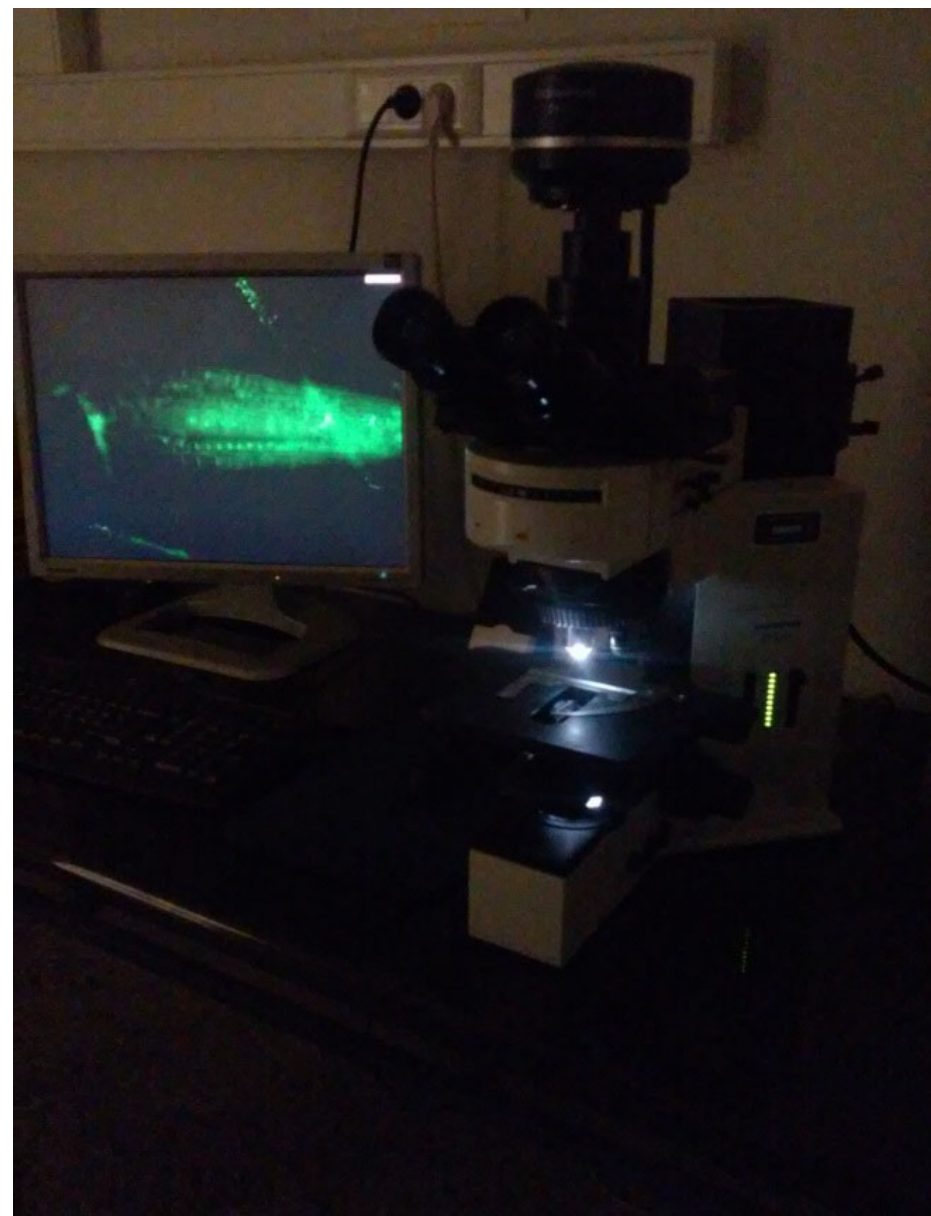


GFP σε βακτηριακά κύτταρα *Escherichia coli*

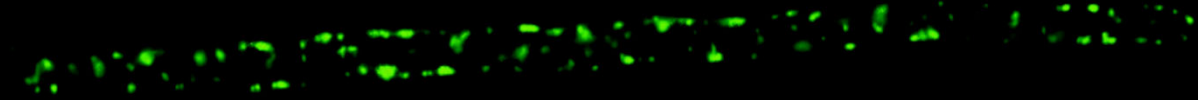




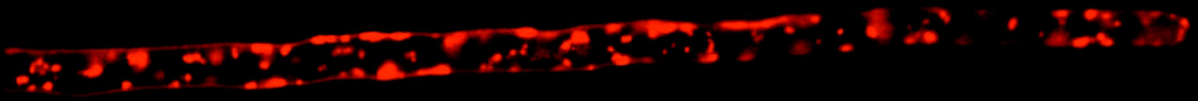
OLYMPUS BX-50



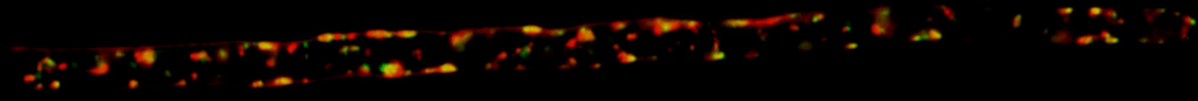
Στόχευση GFP στο μιτοχόνδριο με πεπτίδιο συνθήματος



GFP στα μιτοχόνδρια ριζικού τριχιδίου



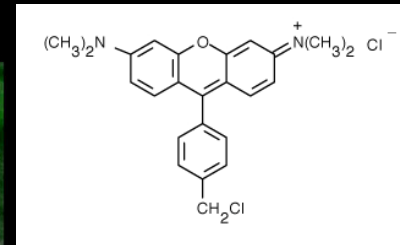
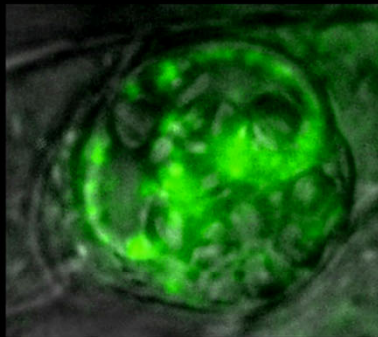
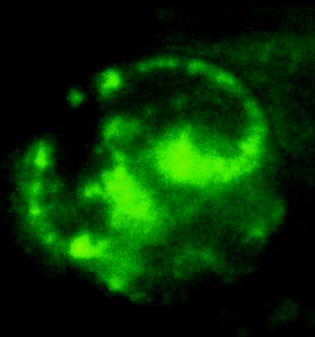
Φθορίζουσα χρωστική για ενεργά μιτοχόνδρια (mitotracker)



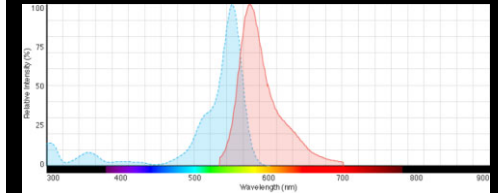
Πράσινο + Κόκκινο = Κίτρινο



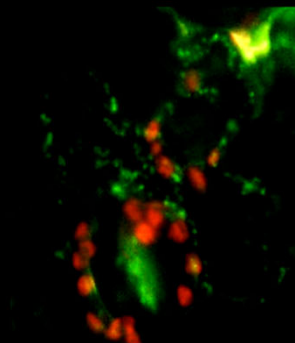
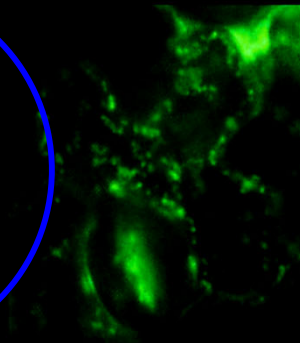
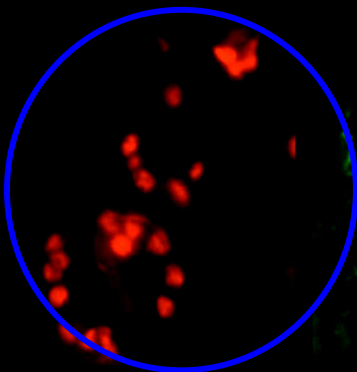
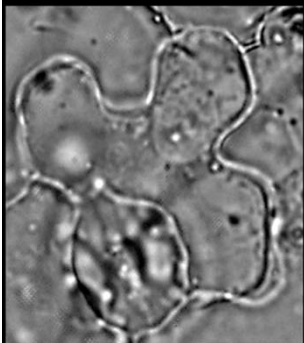
Αυτοφθορισμός χλωροφύλλης



mitotracker



GFP στα μιτοχόνδρια καταφρακτικών κυττάρων (στόματα)



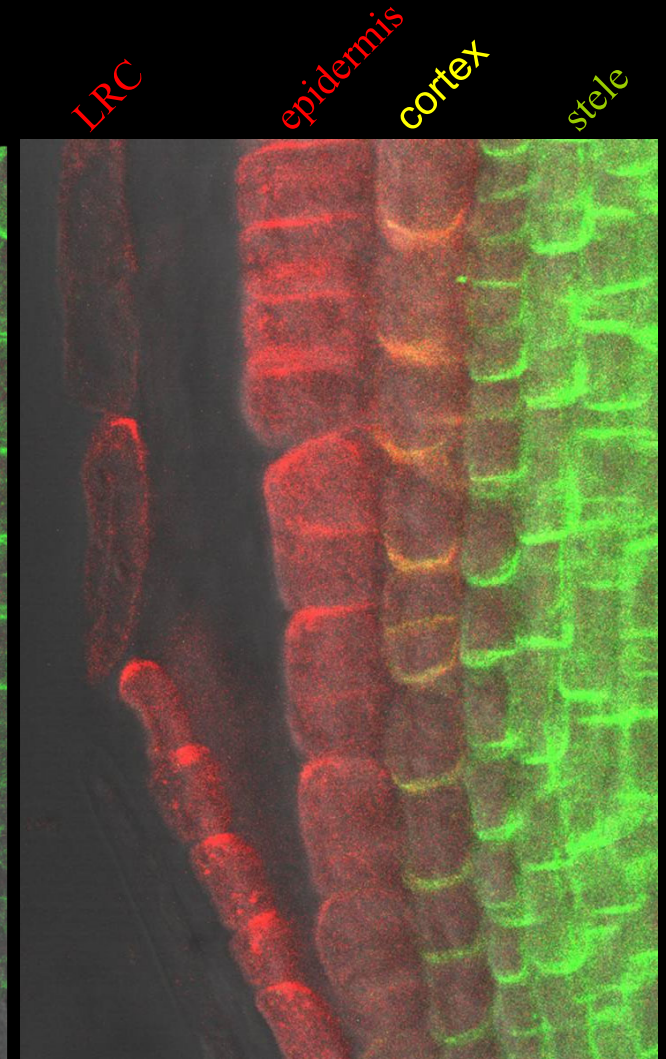
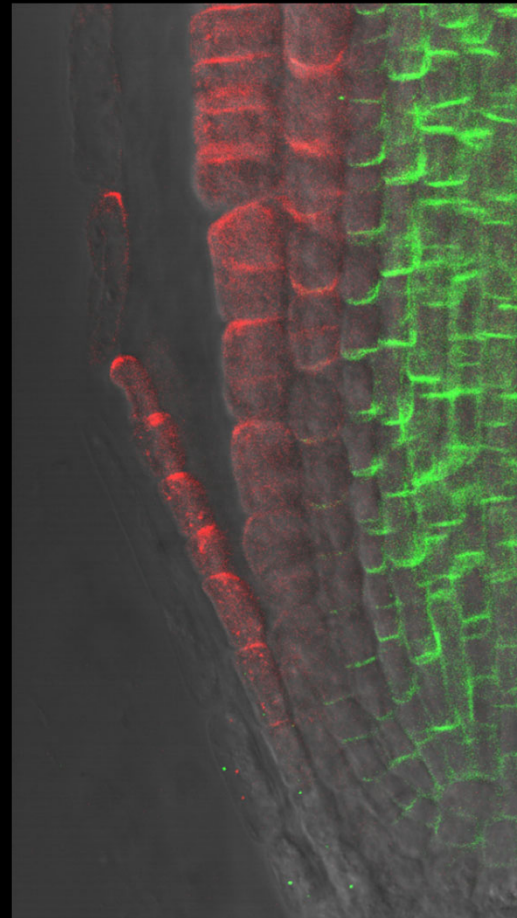
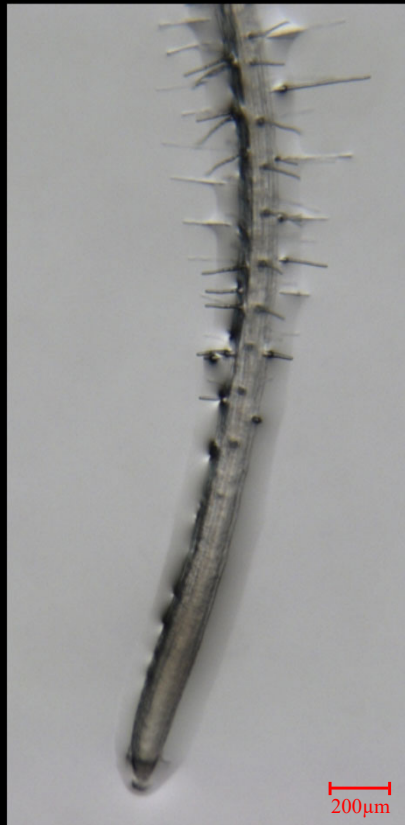
GFP στα μιτοχόνδρια επιδερμικών κυττάρων φυτών καπνού



Κλείσιμο Παρένθεσης **ΣΥΝΕΧΕΙΑ.....**

Protein Tagging

Columbia



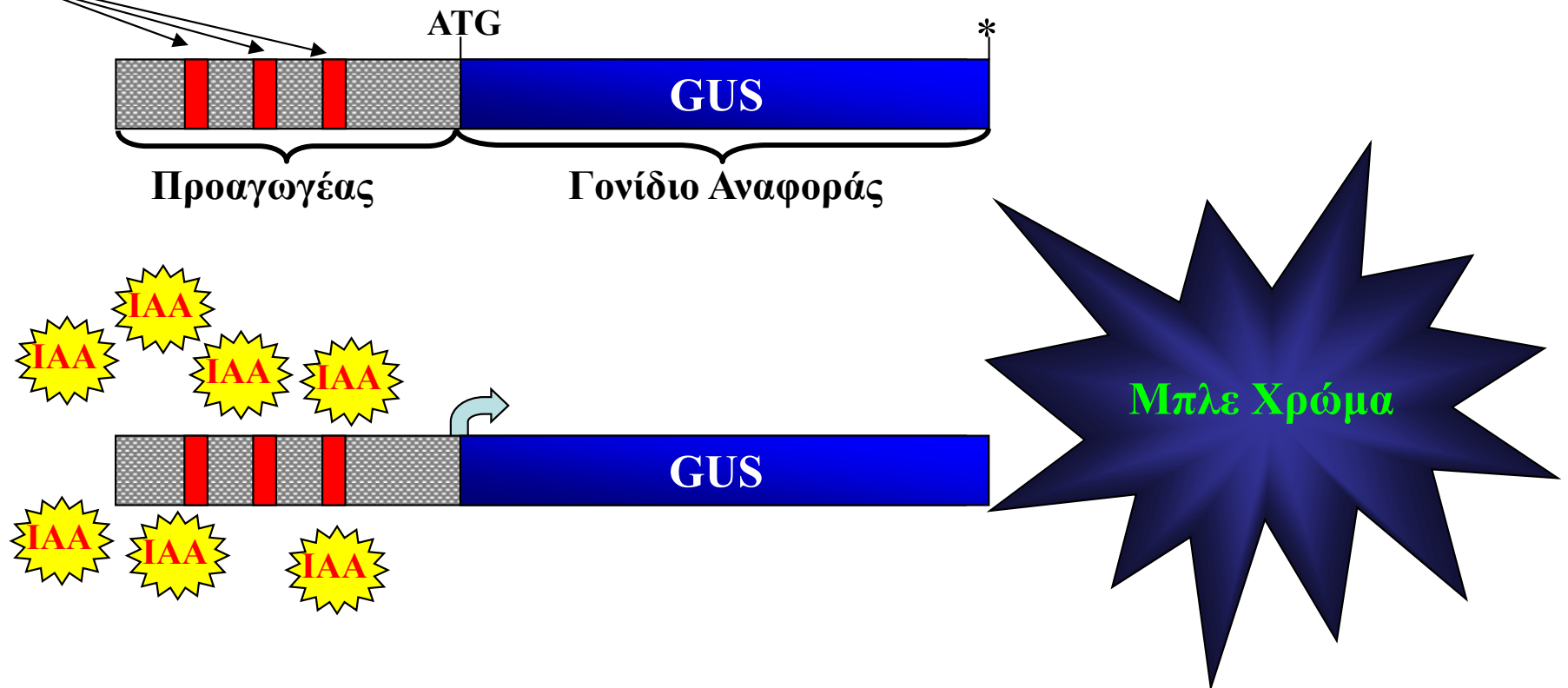
PIN1 stele↓ cortex↓

PIN2 epidermis↑ LRC↑ cortex↓

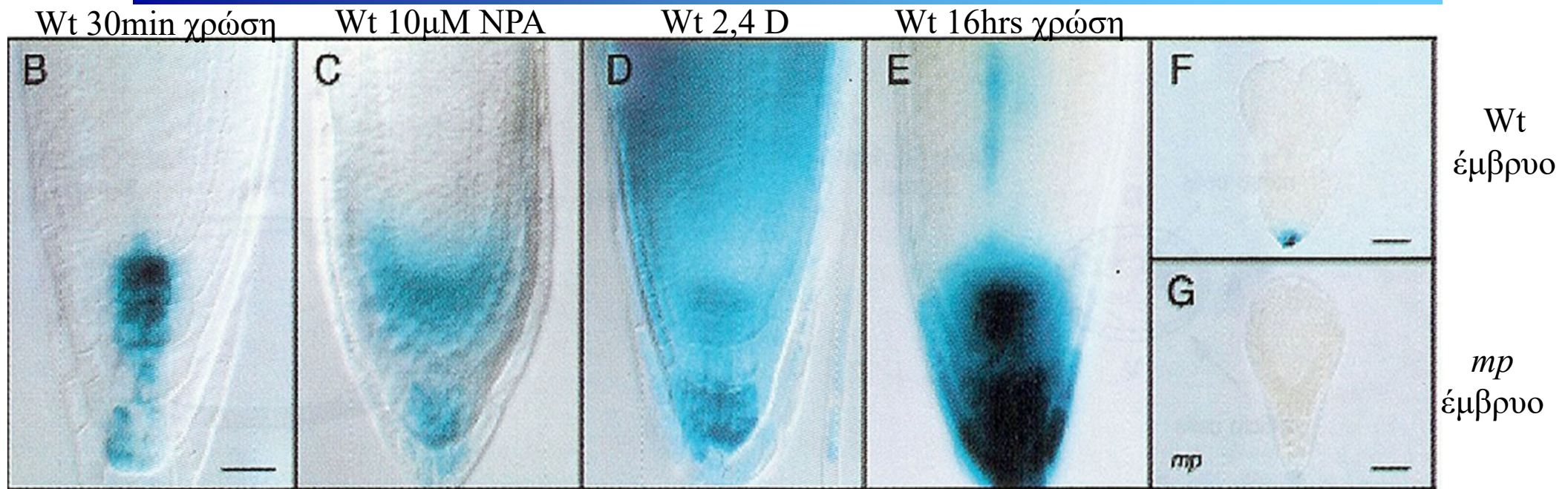
Ερώτηση: Πως μπορούμε να παρακολουθούμε το ενδογενές επίπεδο αυξίνης στη ρίζα?

Εργαλείο: Η κατασκευή *DR5:GUS* είναι δείκτης για ιστοχημικό εντοπισμό ενδογενούς Αυξίνης

Στοιχεία Απόκρισης
στην Αυξίνη



Η κατανομή αυξίνης (AUXIN MAXIMA) στο ακραίο μερίστωμα της ρίζας

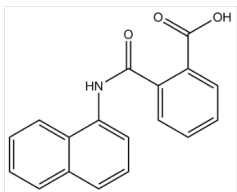
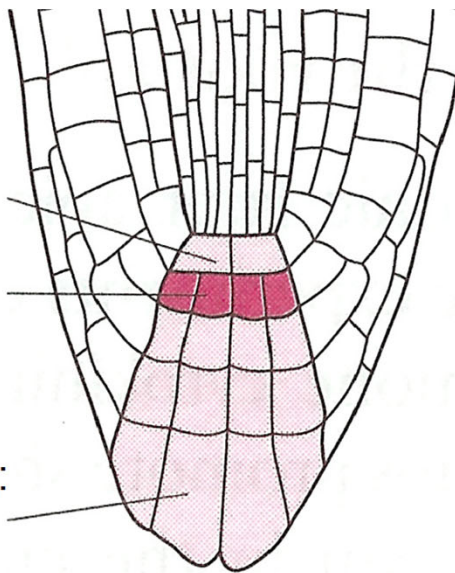


A

Εφησυχάζον
κέντρο
μέτρια έκφραση

Αρχικά κύτταρα
καλύπτρας:
υψηλή έκφραση

Στήλη καλύπτρας:
μέτρια έκφραση



N-1-naphthylphthalamic acid
(NPA)-PIN inhibitor

B & E διαφέρει ο χρόνος χρώσης για την αντίδραση GUS

C Το NPA (Polar Auxin Transport Inhibitor-PAT) μπλοκάρει τον πολικό μηχανισμό μεταφοράς αυξίνης από τον βλαστό στην ρίζα με αποτέλεσμα την βιοσύνθεση-συσσώρευση αυξίνης σε ευρύτερη περιοχή. Υπέρμετρη έκθεση στο NPA δημιουργεί **διπολική ρίζα/μερίστωμα** η οποία αναπτύσσεται αντίθετα ως προς την πρώτη. Μεταξύ τους αναπτύσσεται : **α)** αγωγός ιστός, **β)** κύτταρα με χαρακτηριστικά εφησυχάζον κέντρου και **γ)** καλύπτρα.

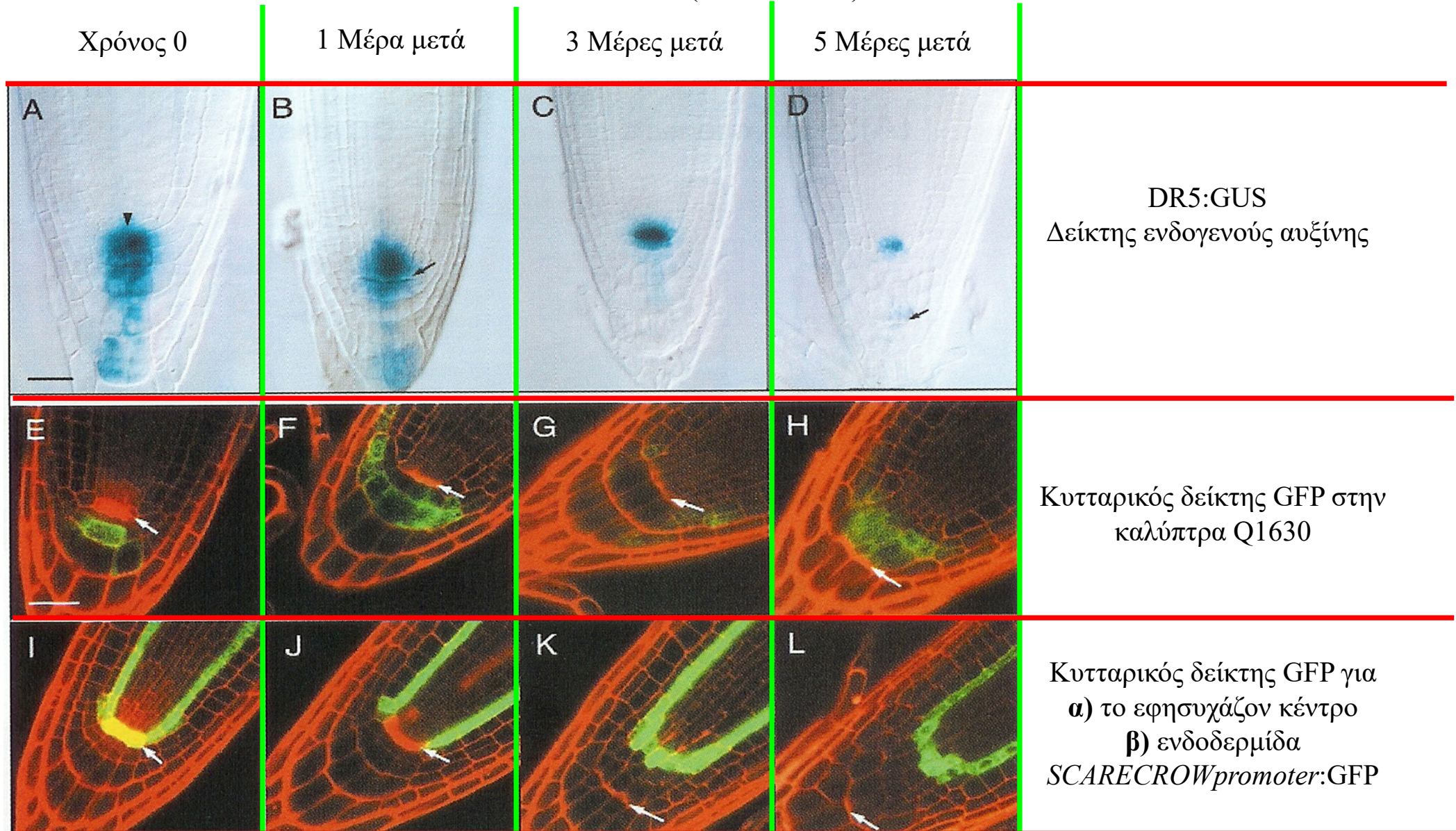
D Εφαρμογή εξωγενώς συνθετικής μορφής αυξίνης 2,4 D

F Το έμβρυο φυτών αγρίου τύπου παρουσιάζει διαβάθμιση αυξίνης στη βάση αναγκαία για τον σχηματισμό του ακραίου μεριστώματος της ρίζας

G Στο έμβρυο *monopteros* **δεν υπάρχει διαβάθμιση αυξίνης** στη βάση για να σχηματιστεί το ακραίο μερίστωμα της ρίζας

Η ικανότητα αναγέννησης των κυττάρων του εφησυχάζον κέντρου (QC)

Καταστροφή των κυττάρων του εφησυχάζον κέντρου με μικροχειρουργικές παρεμβάσεις χρησιμοποιώντας ακτίνες laser (laser ablation)

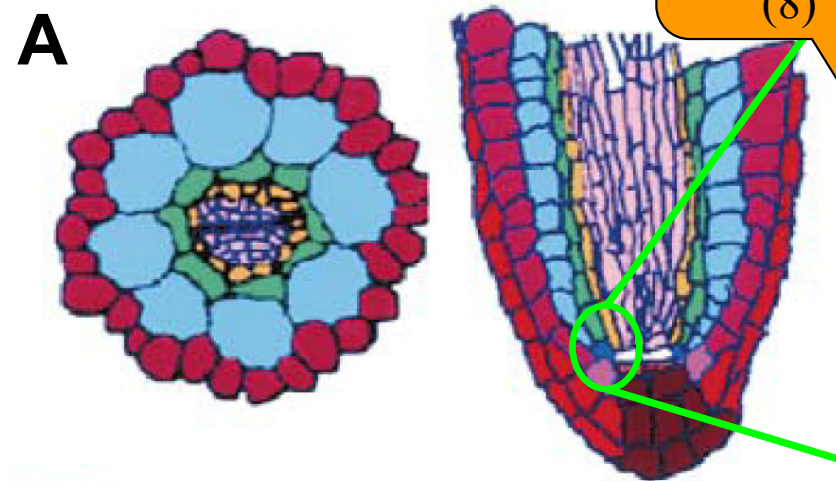


Συμπέρασμα: Το εφησυχάζον κέντρο μόλις καταστραφεί έχει την ικανότητα να αναγεννηθεί με αποδιαφοροποίηση κυττάρων του προκαμβίου από τον επικείμενο αγωγό ιστό

Σχηματισμός των κυτταρικών
σειρών **φλοιού/ενδοδερμίδας** το
παράδειγμα των μεταλλάξεων
short root (*shr*) και *scarecrow*
(*scr*)

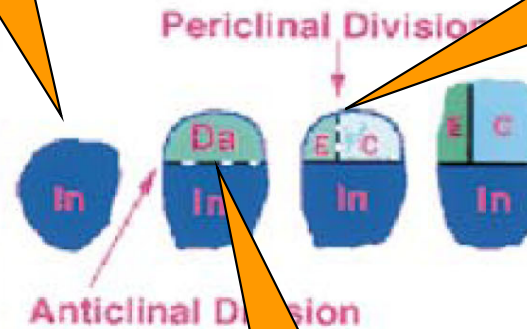
Μορφογένεση φλοιού/ενδοδερμίδας-Η ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση

A



- Epidermis
- Cortex
- Endodermis
- Pericycle
- Lateral Root Cap
- Columella Root Cap
- Vascular Tissue
- Cortex/Endodermal Initial
- Epidermal/Root Cap Initial
- Quiescent Center
- Columella Root Cap Initial

Αρχικό
κύτταρο
(8)



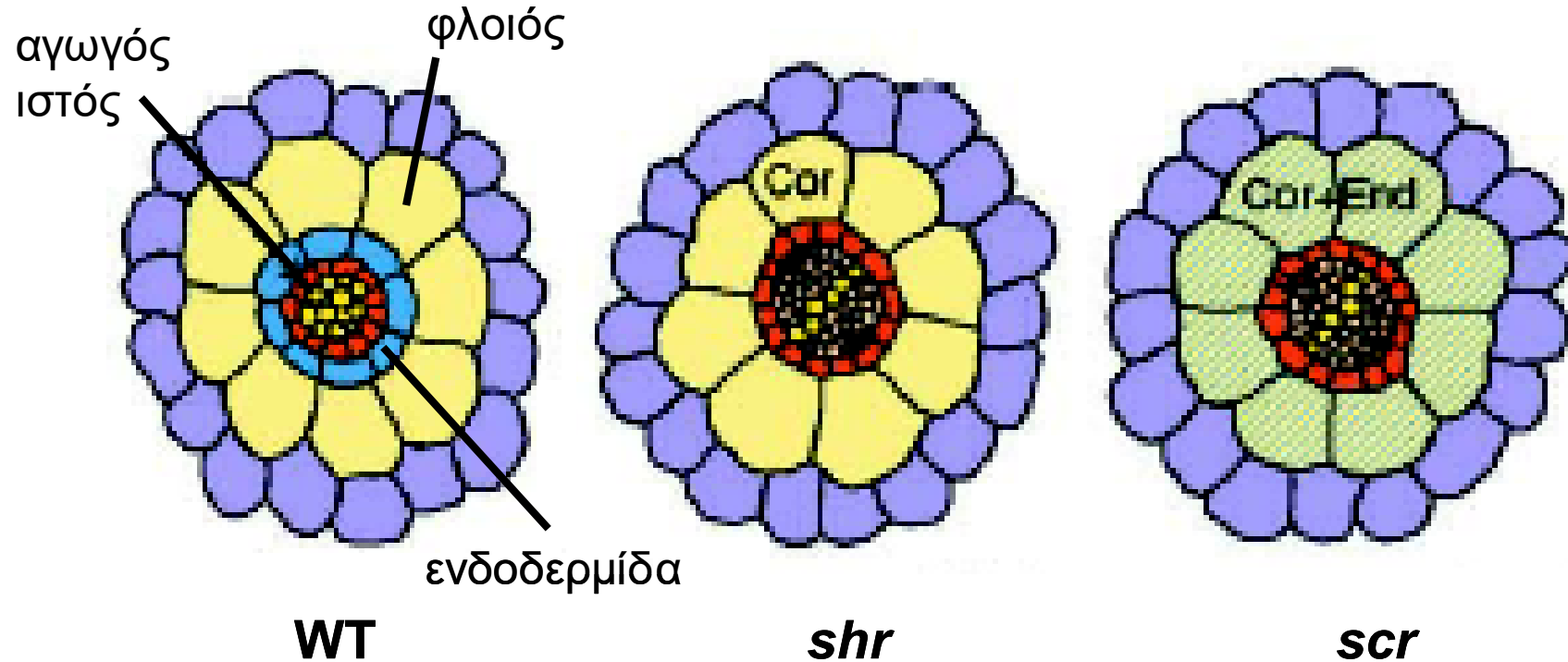
Περικλινής κυτταρική
διαίρεση το θυγατρικό
κύτταρο παρουσιάζει
ασύμμετρη διαίρεση

Από την
ασύμμετρη
διαίρεση
σχηματίζεται **η
κυτταρική σειρά
του φλοιού και
της
ενδοδερμίδας**

Αντικλινής κυτταρική
διαίρεση παραμένει το
αρχικό κύτταρο και
σχηματίζεται **θυγατρικό
κύτταρο** φλοιού /
ενδοδερμίδας

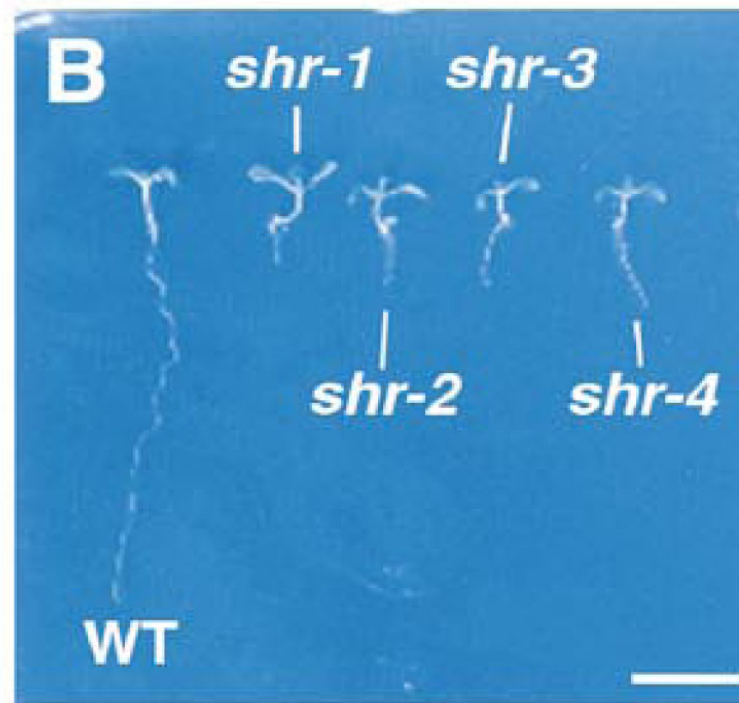
Σχηματική απεικόνιση των μεταλλάξεων *short root* (*shr*) & *scarecrow* (*scr*)

Τα φυτά των μεταλλάξεων *short root* (*shr*) και *scarecrow* (*scr*) παρουσιάζουν **ανωμαλίες στην ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση** που οδηγεί στον σχηματισμό των κυτταρικών σειρών του φλοιού και ενδοδερμίδας



* Στο μετάλλαγμα *short root* (*shr*) σχηματίζεται μόνο η κυτταρική σειρά του φλοιού ενώ **απουσιάζει εντελώς η ενδοδερμίδα**

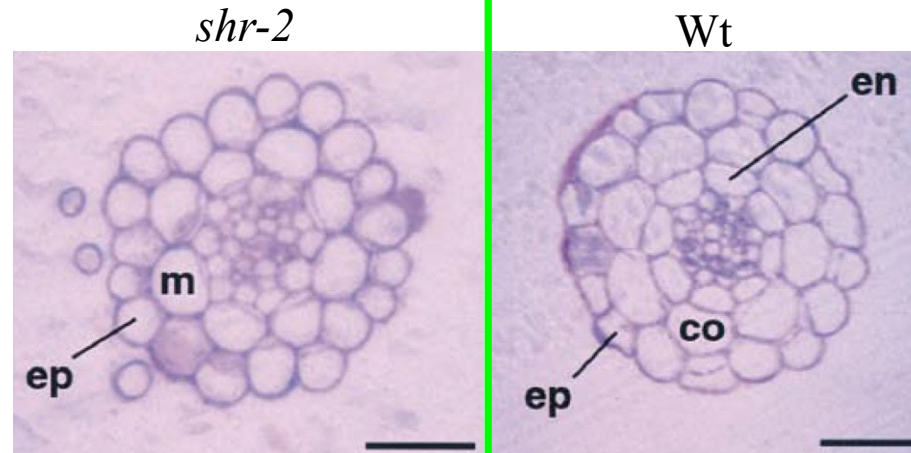
* Στο μετάλλαγμα *scarecrow* (*scr*) σχηματίζεται μια κυτταρική σειρά αντί για δυο, η μεταλλαγμένη που είναι **«ακαθόριστης ταυτότητας»** παρουσιάζοντας χαρακτηριστικά τόσο φλοιού όσο και ενδοδερμίδας



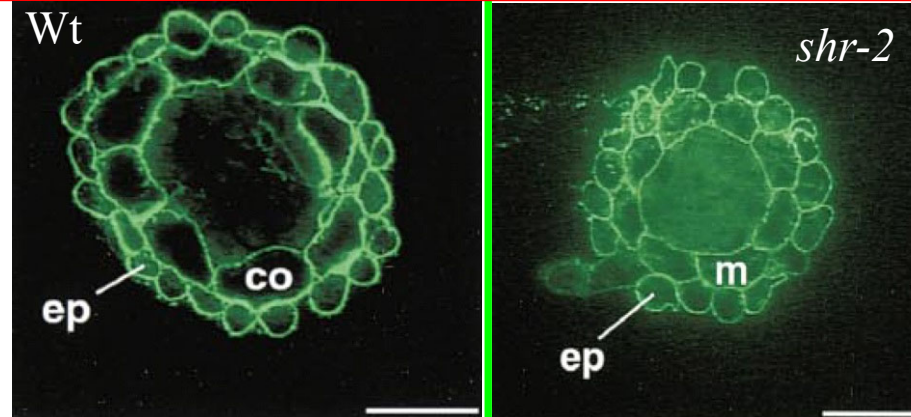
- * Στο μετάλλαγμα *short root* (*shr*) επιπλέον εμφανίζεται περιορισμένη ανάπτυξη του ριζικού συστήματος

Εντοπισμός ανατομικών ανωμαλιών στην μετάλλαξη *short root* με την χρήση δεικτών

Οπτικό μικροσκόπιο

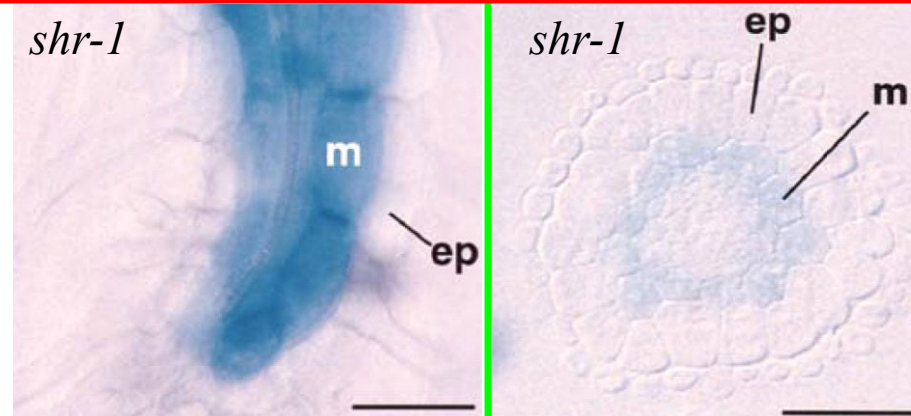


Αντίσωμα CCRC-M2 ανιχνεύει υδατάνθρακες κυτταρικού τοιχώματος στον **φλοιό** και την **επιδερμίδα**



Στην μετάλλαξη *shr-2* **φλοιός** και **επιδερμίδα** φυσιολογικές

Μοριακή κατασκευή *AX92::GUS* ανιχνεύει την λωρίδα caspari που σχηματίζεται από την εναπόθεση φελλίνης στα κυτταρικά τοιχώματα της **ενδοδερμίδας**



Στην μετάλλαξη *shr-1* ο δείκτης της λωρίδας caspari εκφράζεται στην θέση **του φλοιού** και όχι στην **ενδοδερμίδα** διότι αυτή **δεν υπάρχει**

Συμπέρασμα: Στα φυτά της μετάλλαξης *short root* (*shr*) οι κυτταρικές σειρές του **φλοιού** και της **επιδερμίδας** είναι φυσιολογικές, ενώ **η ενδοδερμίδα δεν υπάρχει**

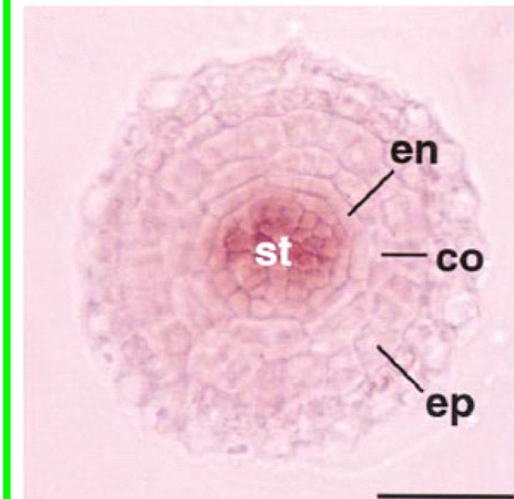
Ιστολογική ανάλυση του προτύπου έκφρασης του γονιδίου *SHORT ROOT* (*SHR*)

Υβριδισμός RNA *in situ* σε φυτά
αγρίου τύπου με ανιχνευτή το
γονίδιο *SHR*

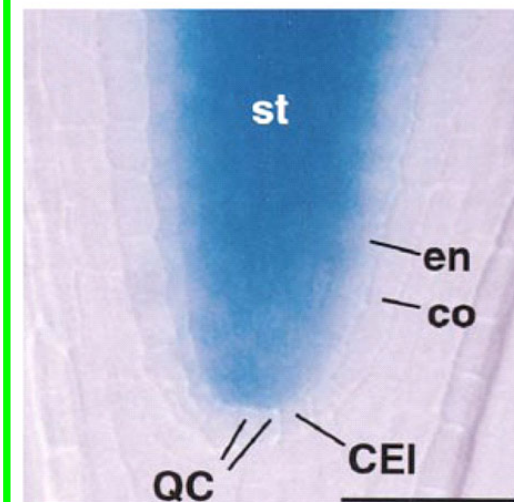
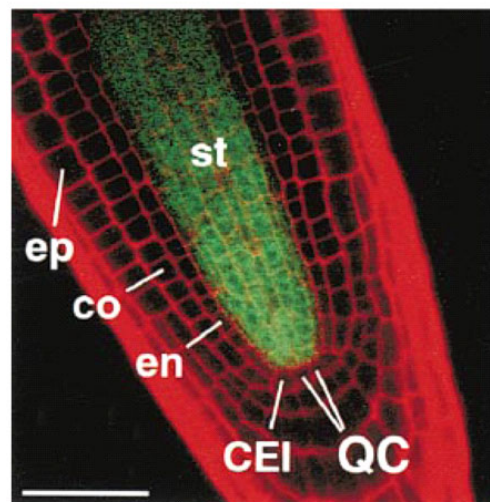
Επιμήκης



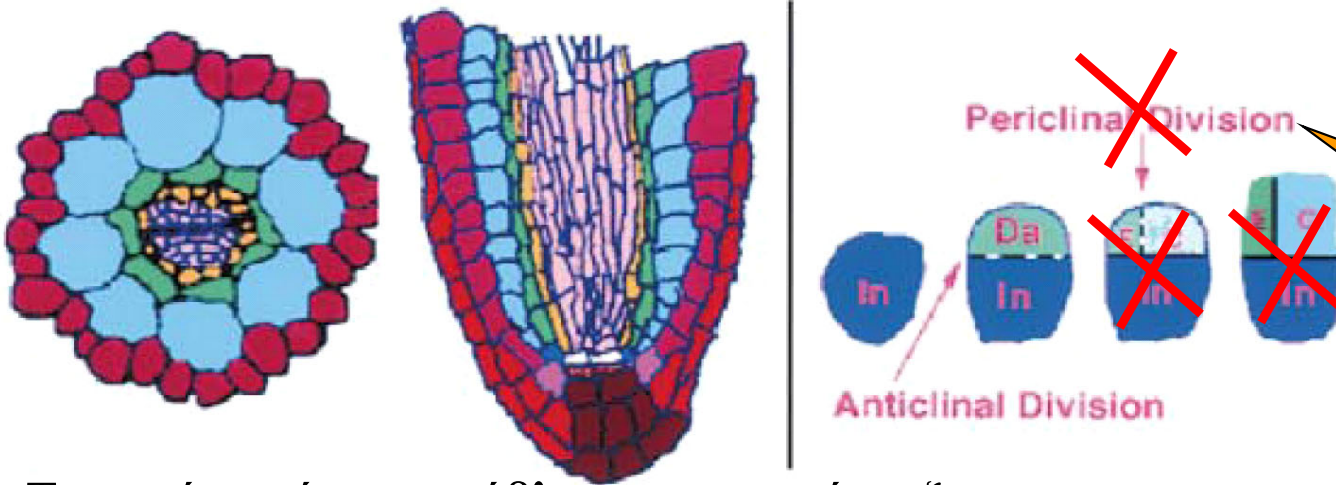
Εγκάρσια



Διαγονιδιακή κατασκευή σύντηξης
SHRpromoter::GFP
SHRpromoter::GUS



Συμπέρασμα: Έκφραση του γονιδίου *SHORT ROOT* (*SHR*) εντοπίζεται στο **περικύκλιο**
και στον **κεντρικό κύλινδρο**



Τα φυτά *scr* έχουν πρόβλημα στην ανάπτυξη της
ρίζας

Στη μετάλλαξη *scr* το θυγατρικό κύτταρο δεν διαιρείται στην συνέχεια περικλινώς με αποτέλεσμα να σχηματίζεται μια αντί για δυο κυτταρικές σειρές με «ακαθόριστη ταυτότητα»

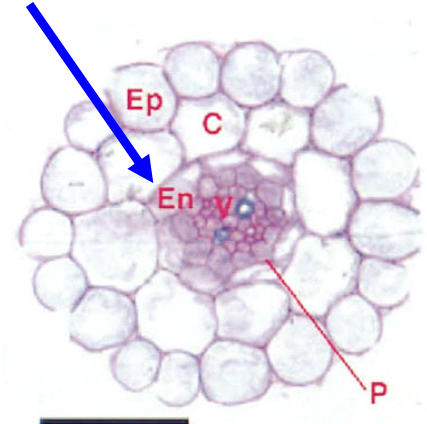
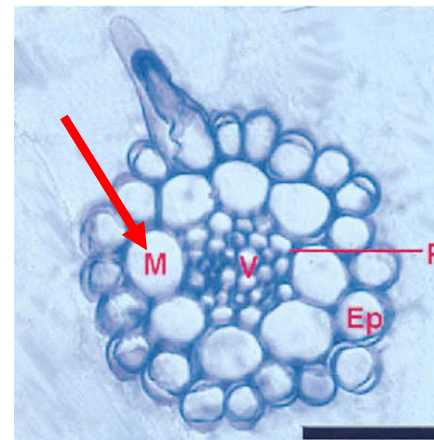
scr-1 << *scr-2*

wt

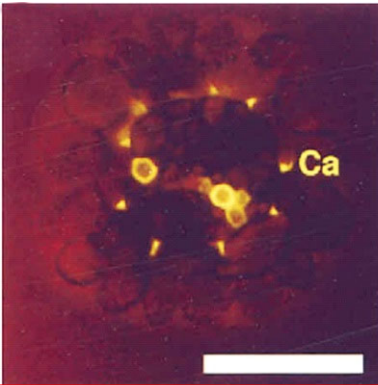
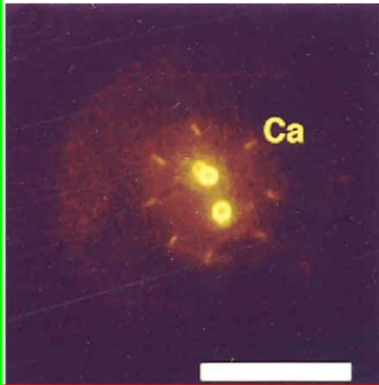
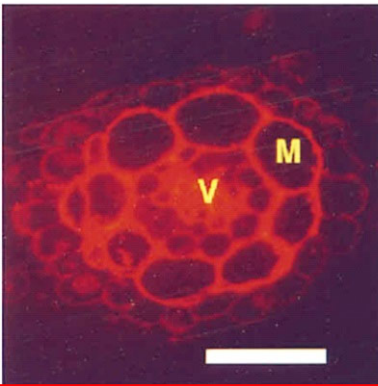
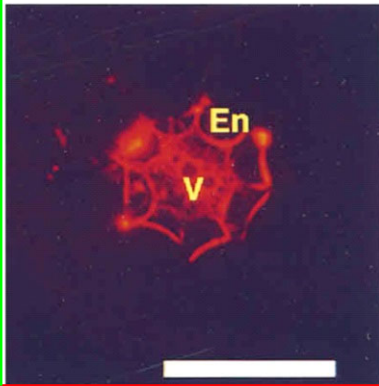
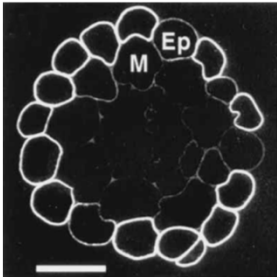
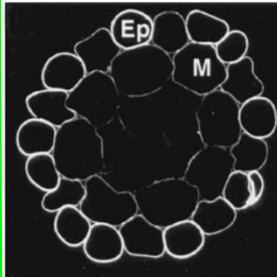
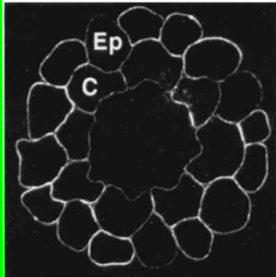
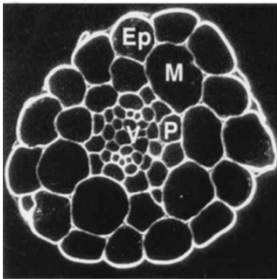
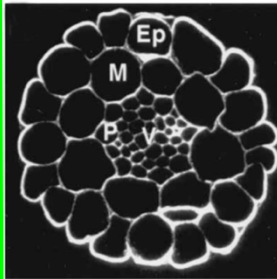
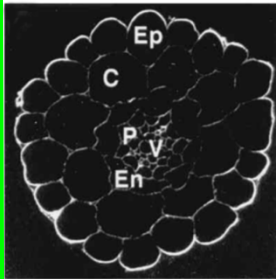
scr-2



Εγκάρσια τομή
πρωτογενούς ρίζας
scr-1 *wt*



Εντοπισμός ανατομικών ανωμαλιών στην μετάλλαξη *scarecrow* (*scr*) με την χρήση δεικτών

<p>Έλεγχος ύπαρξης λωρίδας caspari στην μετάλλαξη scr-1</p>	<p>scr-1</p> 	<p>wt</p> 	<p>ΘΕΤΙΚΟΣ</p>	
<p>Έλεγχος ύπαρξης ενδοδερμίδας με αντίσωμα JIM13</p>			<p>ΘΕΤΙΚΟΣ</p>	
<p>Έλεγχος με τον δείκτη CCRC M2 για φλοιό και επιδερμίδα</p>	<p>scr-1</p> 	<p>scr-2</p> 	<p>wt</p> 	<p>ΘΕΤΙΚΟΣ</p>
<p>Έλεγχος με τον δείκτη CCRC M1 για φλοιό και επιδερμίδα</p>				<p>ΘΕΤΙΚΟΣ</p>

Συμπέρασμα: Η μεταλλαγμένη κυτταρική σειρά στην μετάλλαξη *scarecrow* (*scr*) έχει **διπλή ταυτότητα** αφού φέρει τα χαρακτηριστικά τόσο του **φλοιού** όσο και της **ενδοδερμίδας**

Επιμήκης τομή

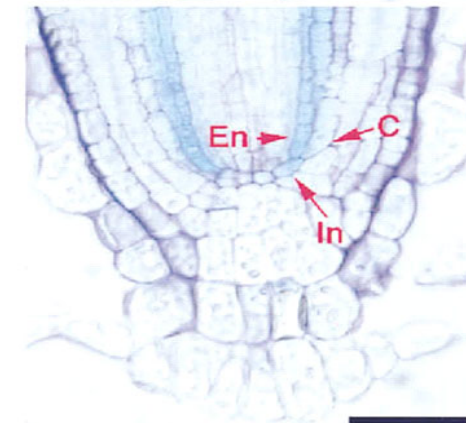


ενδοδερμίδα

Εγκάρσια τομή



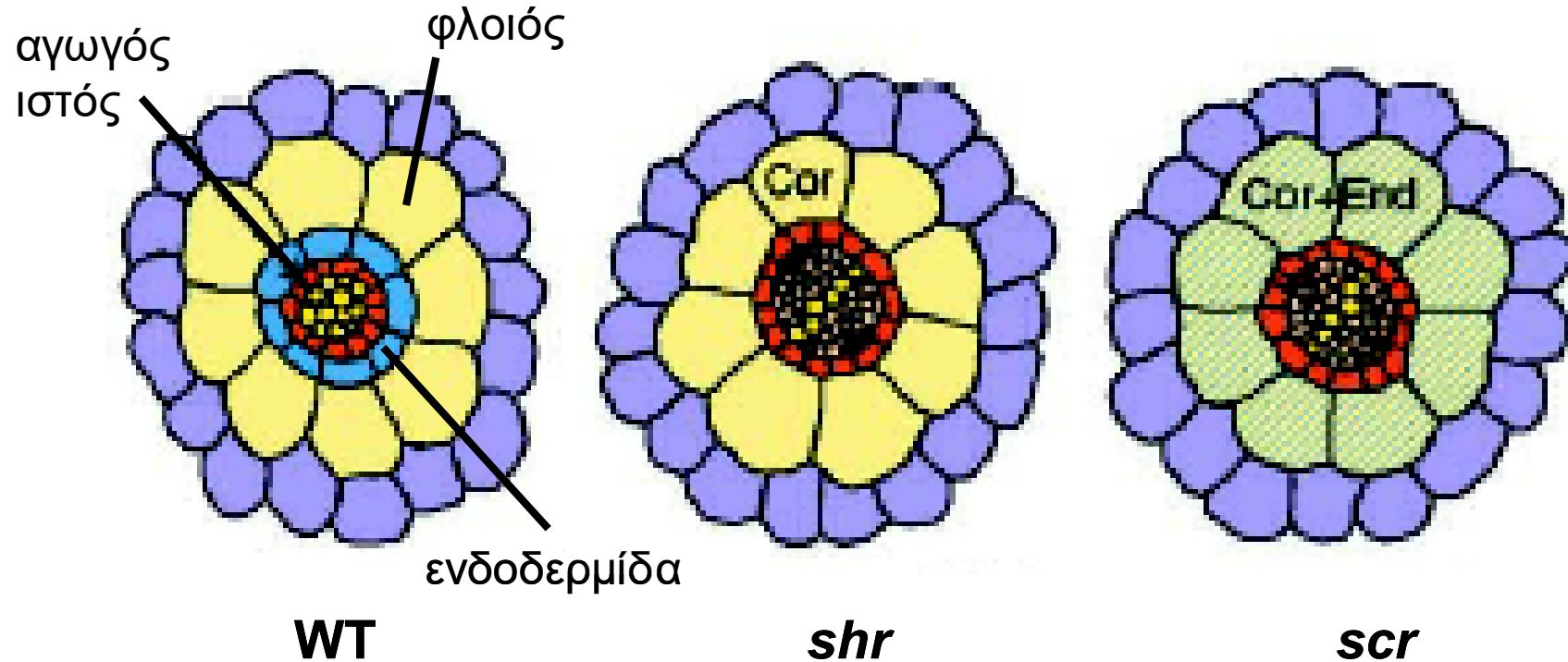
Ακραίο
μερίστωμα
ρίζας



- Οι αναλύσεις της ιστοειδικής έκφρασης του γονιδίου *scr* έγιναν χρησιμοποιώντας την διαγονιδιακή κατασκευή *SCR::GUS*
- Έκφραση εντοπίζεται **πριν την ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση** στο **αρχικό κύτταρο φλοιού/ενδοδερμίδας**
- Έκφραση εντοπίζεται **μετά την ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση** ειδική έκφραση στην **ενδοδερμίδα**

Σχηματική απεικόνιση των μεταλλάξεων *short root* (*shr*) & *scarecrow* (*scr*)

Τα φυτά των μεταλλάξεων *short root* (*shr*) και *scarecrow* (*scr*) παρουσιάζουν **ανωμαλίες στην ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση** που οδηγεί στον σχηματισμό των κυτταρικών σειρών του φλοιού και ενδοδερμίδας

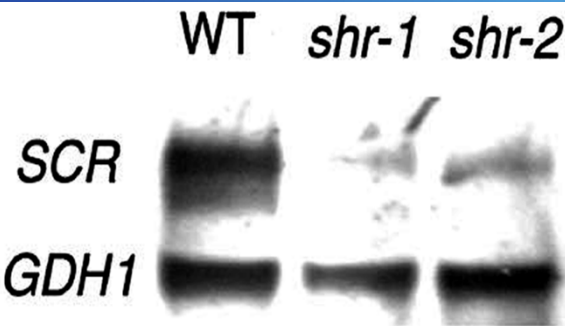


* Στο μετάλλαγμα *short root* (*shr*) σχηματίζεται μόνο η κυτταρική σειρά του φλοιού ενώ **απουσιάζει εντελώς η ενδοδερμίδα**

* Στο μετάλλαγμα *scarecrow* (*scr*) σχηματίζεται μια κυτταρική σειρά αντί για δυο, η μεταλλαγμένη που είναι **«ακαθόριστης ταυτότητας»** παρουσιάζοντας χαρακτηριστικά τόσο φλοιού όσο και ενδοδερμίδας

Λειτουργική ανάλυση-Μοριακές αλληλεπιδράσεις των γονιδίων *SHR/SCR*

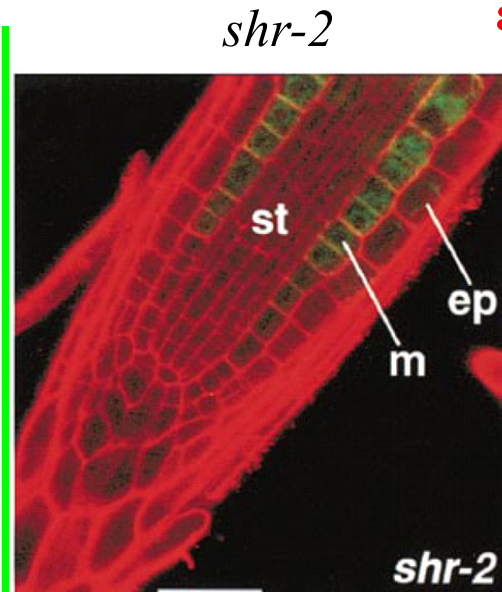
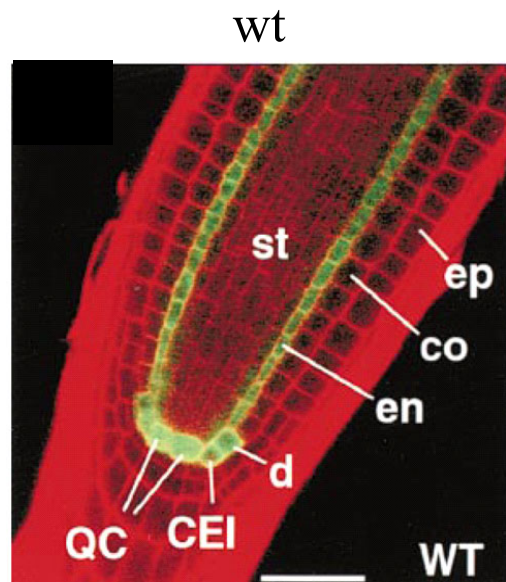
Υβριδισμός κατά Northern με RNA από αλληλομόρφους της μετάλλαξης *shr* και με ανιχνευτή το γονίδιο *scrGDH1*



Αποτέλεσμα: Στους αλληλομόρφους της μετάλλαξης *shr* δεν ανιχνεύεται έκφραση του γονιδίου *SCR*. Συνεπώς η πρωτεΐνη SHR είναι απαραίτητη για την έκφραση του γονιδίου *SCR*. Δηλαδή το γονίδιο *SHR*

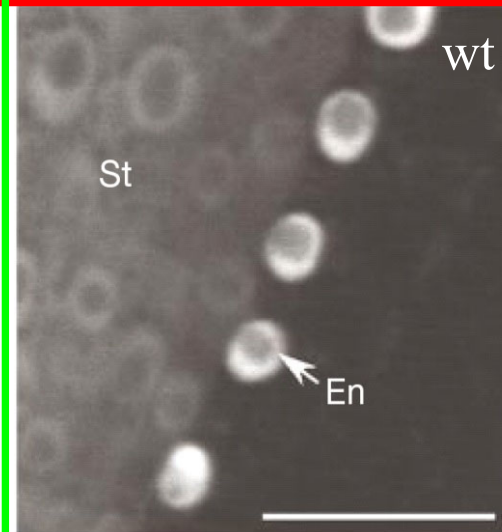
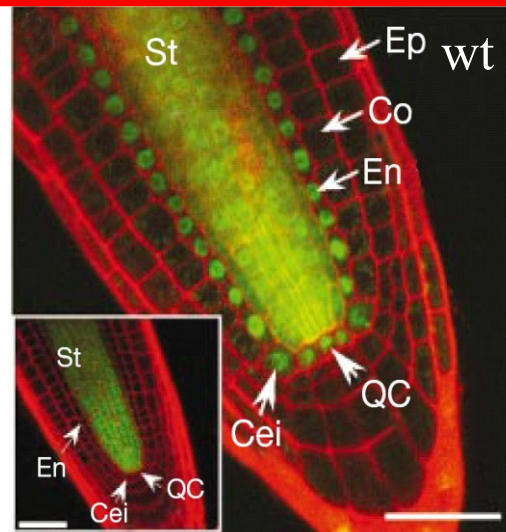
επιστατικό του *SCR*.

SCR::GFP



Αποτέλεσμα: Στη μετάλλαξη *shr* δεν ανιχνεύεται ούτε πρωτεΐνη SCR. Δραματική μείωση

SHR::GFP



Αποτέλεσμα: Η πρωτεΐνη SHR μετακινείται από τον κεντρικό κύλινδρο και εισέρχεται στον πυρήνα των κυττάρων της ενδοδερμίδας όπου ρυθμίζει την έκφραση του γονιδίου *SCR*.

Συμπεράσματα σχετικά με τις **μοριακές αλληλεπιδράσεις** μεταξύ των γονιδίων ***SHR/SCR***:

- Στη μετάλλαξη *shr* **φλοιός ΝΑΙ**, **ενδοδερμίδα ΟΧΙ**
- Στη μετάλλαξη *scr* απουσιάζει μια κυτταρική σειρά, η μεταλλαγμένη σειρά έχει **διπλή ταυτότητα** αφού φέρει τα χαρακτηριστικά τόσο του **φλοιού** όσο της **ενδοδερμίδας**
- Η **έκφραση** του γονιδίου *SHR* πραγματοποιείται στον **κεντρικό κύλινδρο** ενώ η **πρωτεΐνη** *SHR* **μετακινείται στον πυρήνα** των γειτονικών κυττάρων **της ενδοδερμίδας**
- Η **έκφραση** του γονιδίου *SCR* και η **πρωτεΐνη** *SCR* εντοπίζονται μόνο στα κύτταρα της **ενδοδερμίδας**
- Το γονίδιο ***SHR* είναι επιστατικό του *SCR***, δηλαδή για να εκφραστεί το *SCR* θα πρέπει να έχει προηγηθεί η έκφραση του *SHR*
- Οι πρωτεΐνες *SHR* και *SCR* είναι **μεταγραφικοί παράγοντες** που καθορίζουν την ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση του θυγατρικού κυττάρου φλοιού/ ενδοδερμίδας
- Η πρωτεΐνη *SHR* λειτουργεί ως **μόριο σινιάλο** που **μεταφέρεται** στην ενδοδερμίδα και εκεί **ρυθμίζει** την έκφραση του γονιδίου *SCR* ρυθμίζοντας με αυτόν τον μηχανισμό δράσης την ασύμμετρη κυτταρική διαίρεση του για την μορφογένεση φλοιού/ ενδοδερμίδας

**Ευχαριστώ
για το ενδιαφέρον σας!!!!**

