

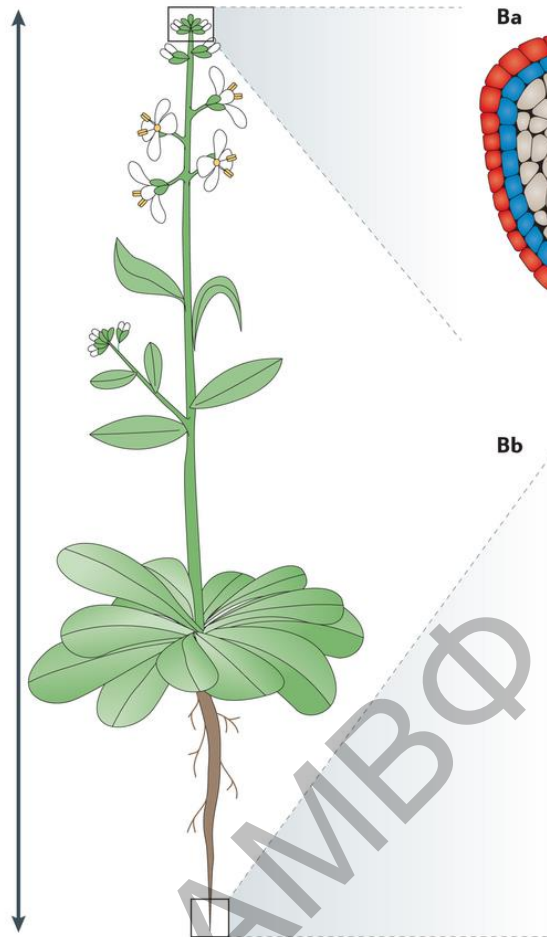
SHOOT DEVELOPMENT



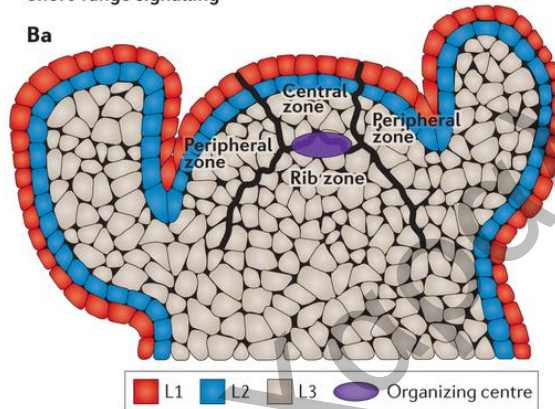
Meristem (Μερίστωμα)

Meristem (Μερίστωμα) is derived from the **Greek word** merizein (μερίζειν), meaning to divide, meristos "divisible" (μεριστός).

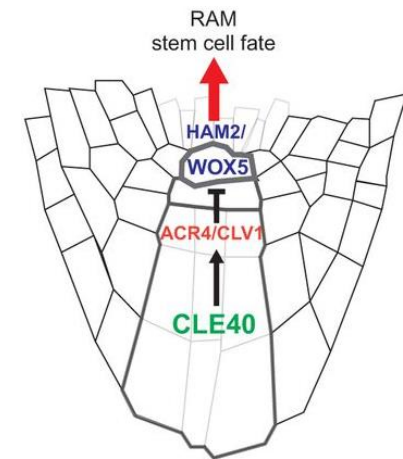
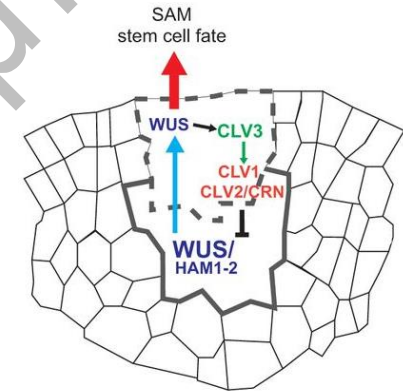
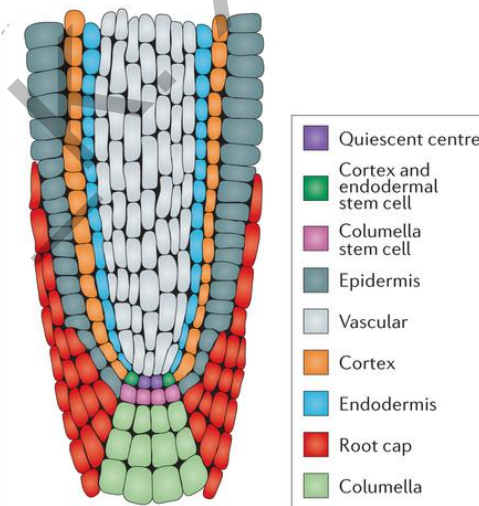
A Long-range signalling



Short-range signalling

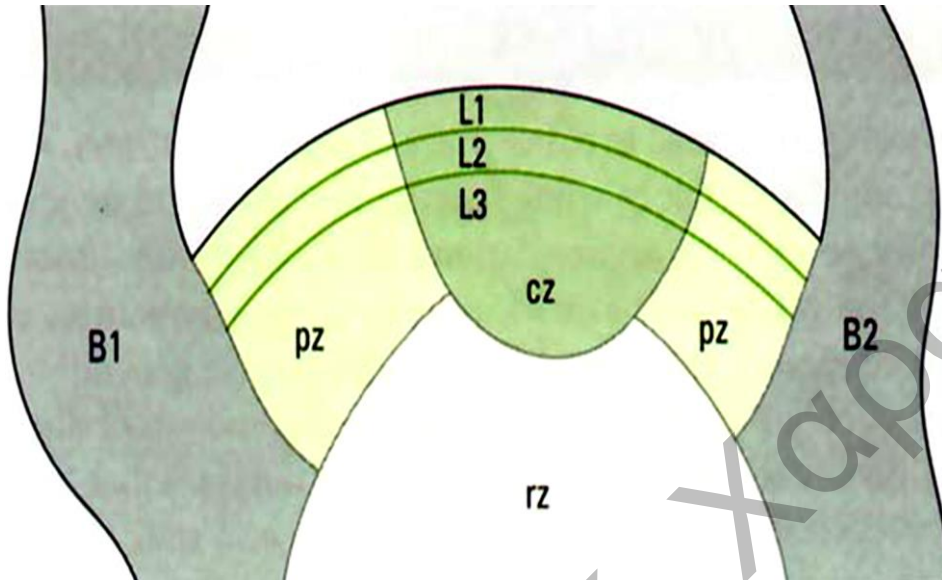


Bb

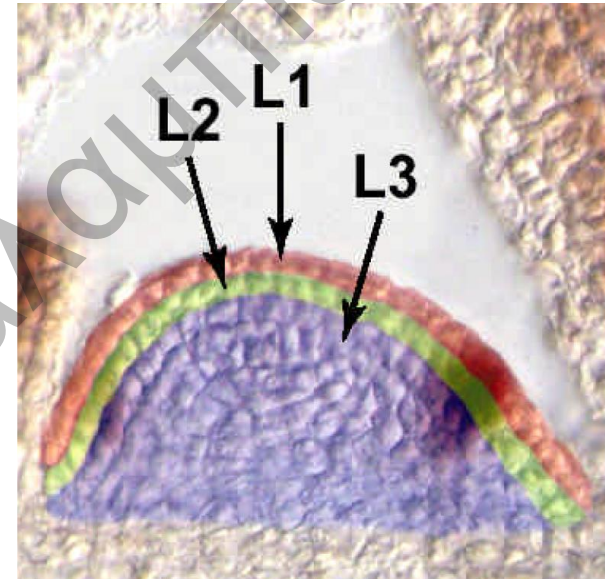


Shoot apical meristem in *Arabidopsis* (1^o επίπεδο οργάνωσης)

A



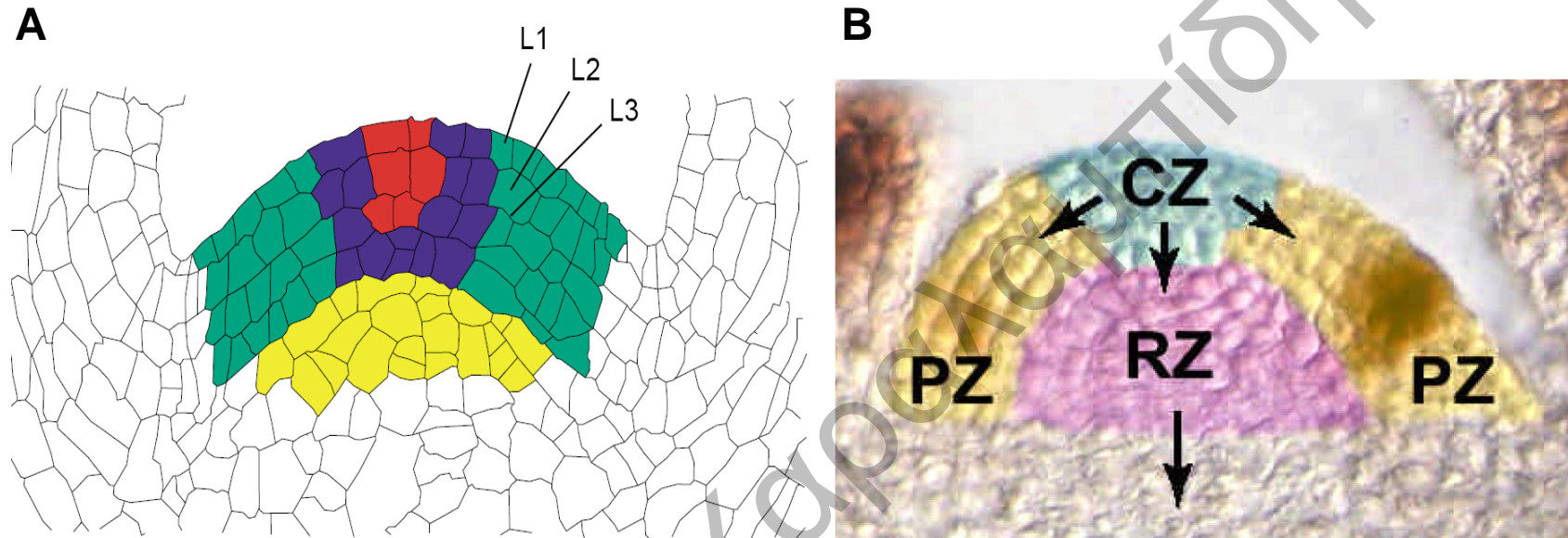
B



- Η **L1 στιβάδα** περιλαμβάνει τα κύτταρα της επιδερμίδας του βλαστού, των φύλλων, των ανθέων και γενικά ολόκληρου του φυτικού σώματος.
- Η **L2 στιβάδα** δημιουργεί τα μεσοδερμικά κύτταρα όπως το φλοιό, το πασσαλώδες παρέγχυμα και τα μητρικά κύτταρα των γυρεόκοκκων και ωαρίων.
- Η **L3 στιβάδα** είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία του αγγειακού ιστού, του κυρίως σώματος του βλαστού και των εσωτερικών δομών των φύλλων (σπογγώδες παρέγχυμα) και ανθέων.



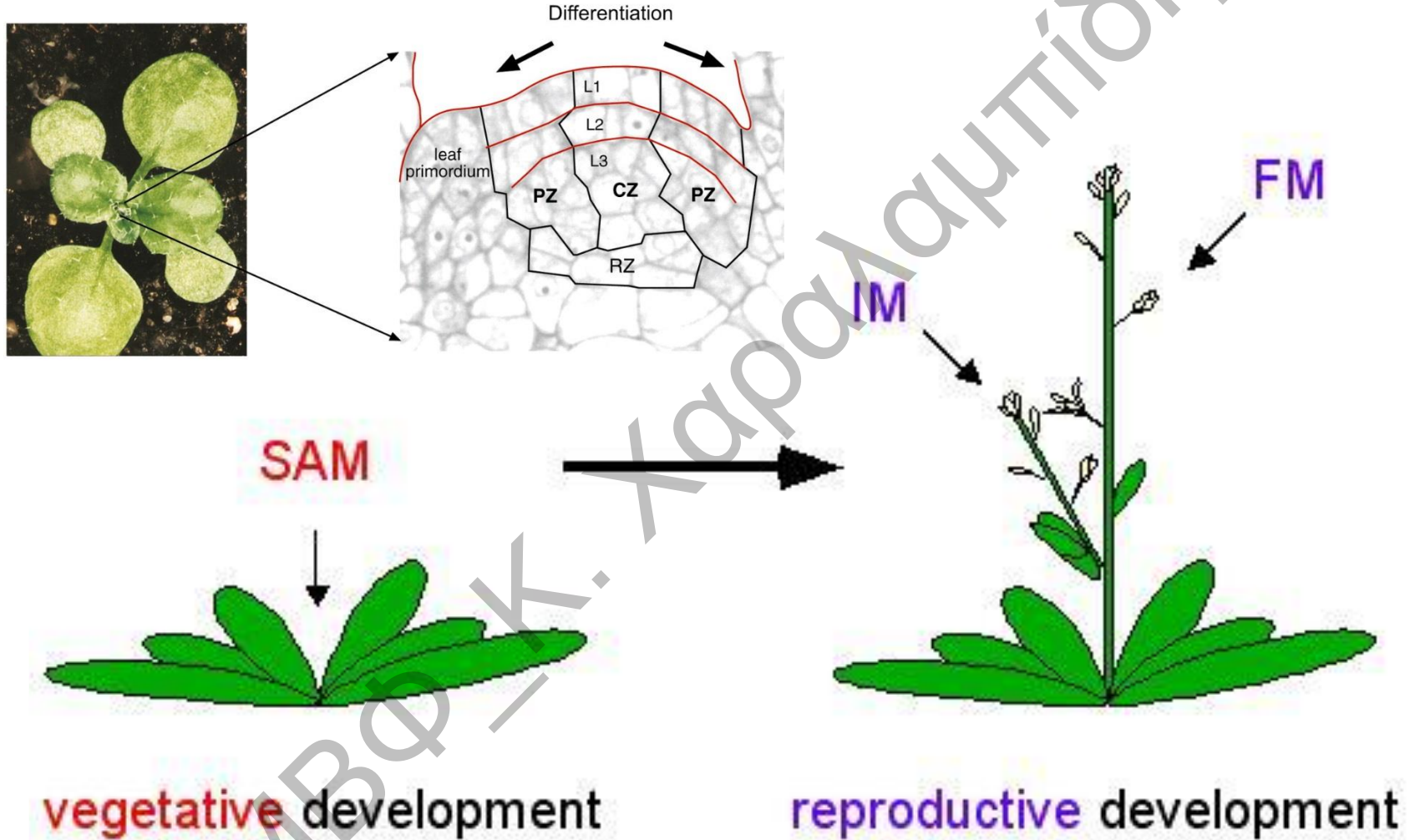
Shoot apical meristem in *Arabidopsis* (2^o επίπεδο οργάνωσης)



- Η **κεντρική ζώνη (cz)** βρίσκεται στο κορυφαίο τμήμα του AMB και περιλαμβάνει μία ομάδα σχετικά μεγάλων και αργά διαιρούμενων κυττάρων με πολυάριθμα κυστίδια.
- Τα πιο ακραία και εσωτερικά κύτταρα της κεντρικής ζώνης αποτελούν **το θύλακα των βλαστικών πολυδύναμων κυττάρων**, που συμβάλλουν στη διατήρηση του AMB.
- Η κεντρική ζώνη περιβάλλεται από την **περιφερειακή ζώνη (pz)**, τα κύτταρα της οποίας είναι πιο μικρά αλλά διαιρούνται με ρυθμό μεγαλύτερο από αυτά της cz.
- Κάτω από την κεντρική ζώνη βρίσκεται η **ραβδωτή ζώνη (rz)**, τα κύτταρα της οποίας περιέχουν πολυάριθμα κυστίδια και συμβάλλουν στο σχηματισμό του κυρίου σώματος του βλαστού.



Vegetative and reproductive development in *Arabidopsis*

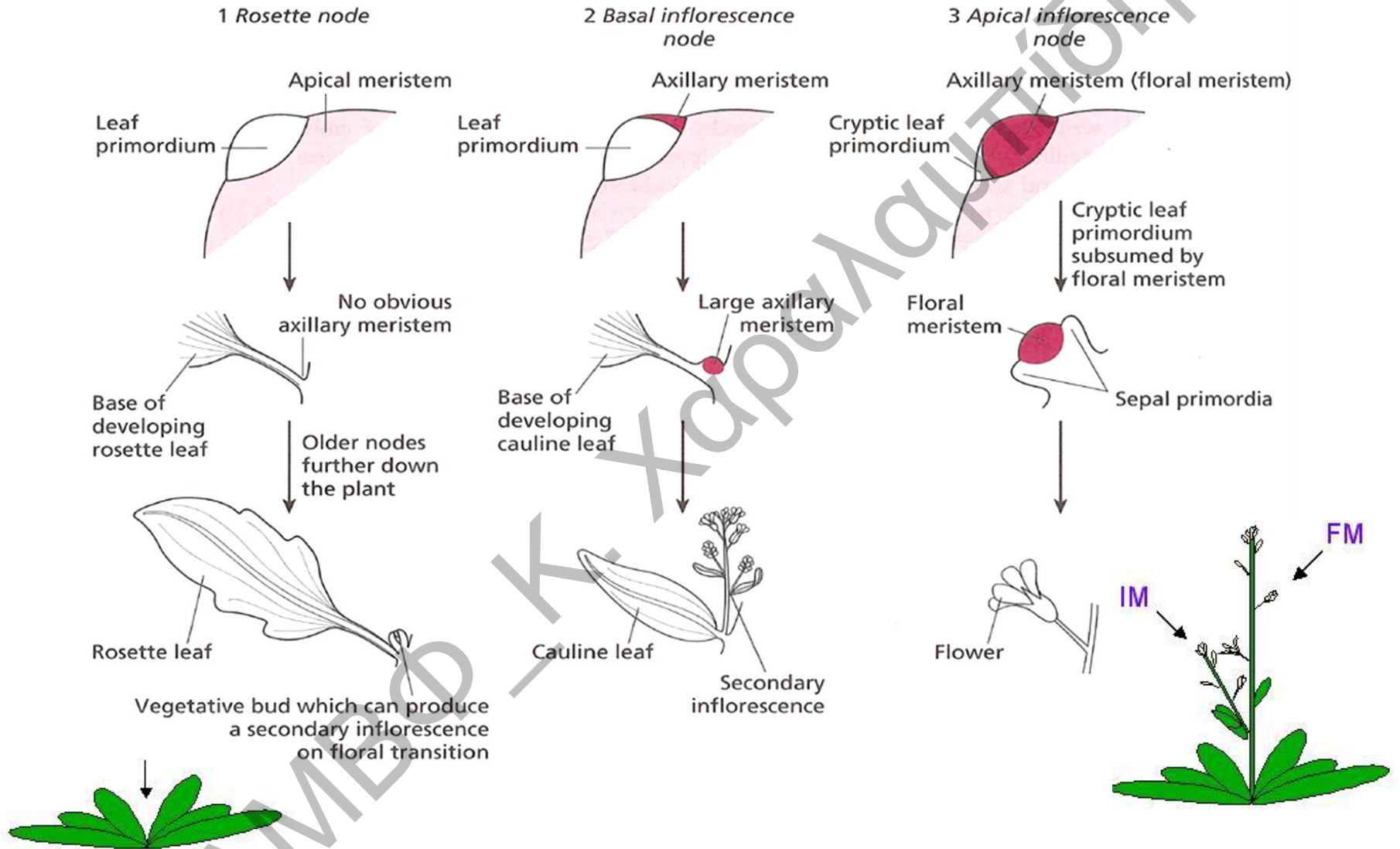


Ανάπτυξη του βλαστού

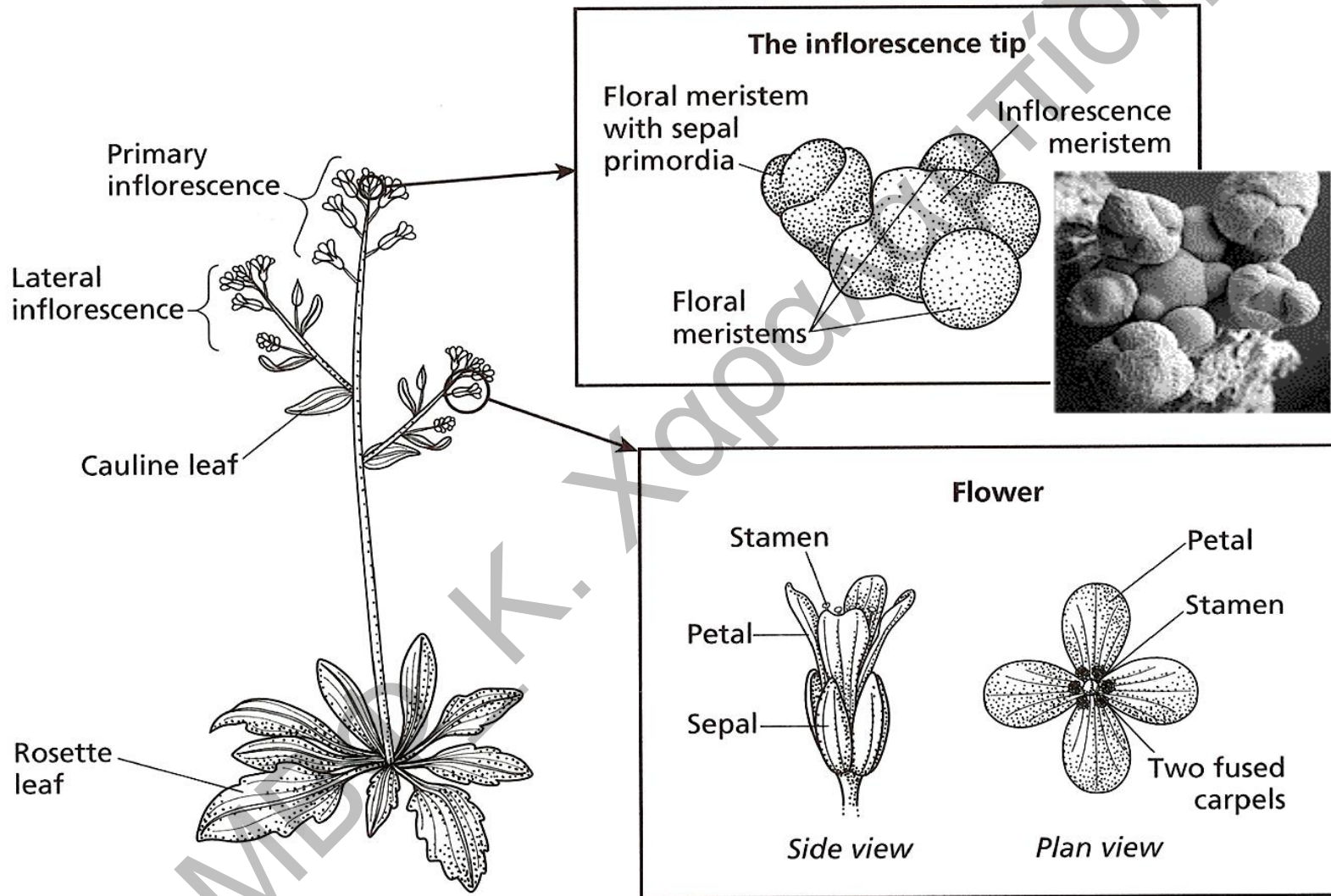
- Ο βλαστός, τα φύλλα, και τα άνθη αναπτύσσονται κατά διαδοχικό τρόπο από το **ακραίο μερίστωμα του βλαστού (AMB)**.
- Κατά τη διάρκεια της βλαστητικής ανάπτυξης έχουμε τη διατήρηση του AMB, στο οποίο οι καταβολές των φύλλων αναπτύσσονται από **τα πλάγια τμήματα** του (**περιφερειακή ζώνη**) με στερεοτυπική διάταξη.
- Κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγικής ανάπτυξης έχουμε τη δημιουργία **μασχαλιαίων μεριστωμάτων** στις μασχάλες των φύλλων τα οποία μετατρέπονται είτε σε **μεριστώματα ταξιανθίας** είτε σε **ανθικά μεριστώματα**.
- Τα μεριστώματα ταξιανθίας δημιουργούν **νέες πλάγιες ταξιανθίες**, ενώ τα ανθικά μεριστώματα οδηγούν στην ανάπτυξη ενός **τερματικού άνθους** μετά την πλήρη διαφοροποίηση των κυττάρων σε ανθικά όργανα.
- Το AMB των ανώτερων φυτών λειτουργεί ως **σημείο συνεχούς οργανογένεσης**, όπου μία μικρή ομάδα πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων τροφοδοτεί συνεχώς τα αναπτυσσόμενα όργανα με νέα κύτταρα.



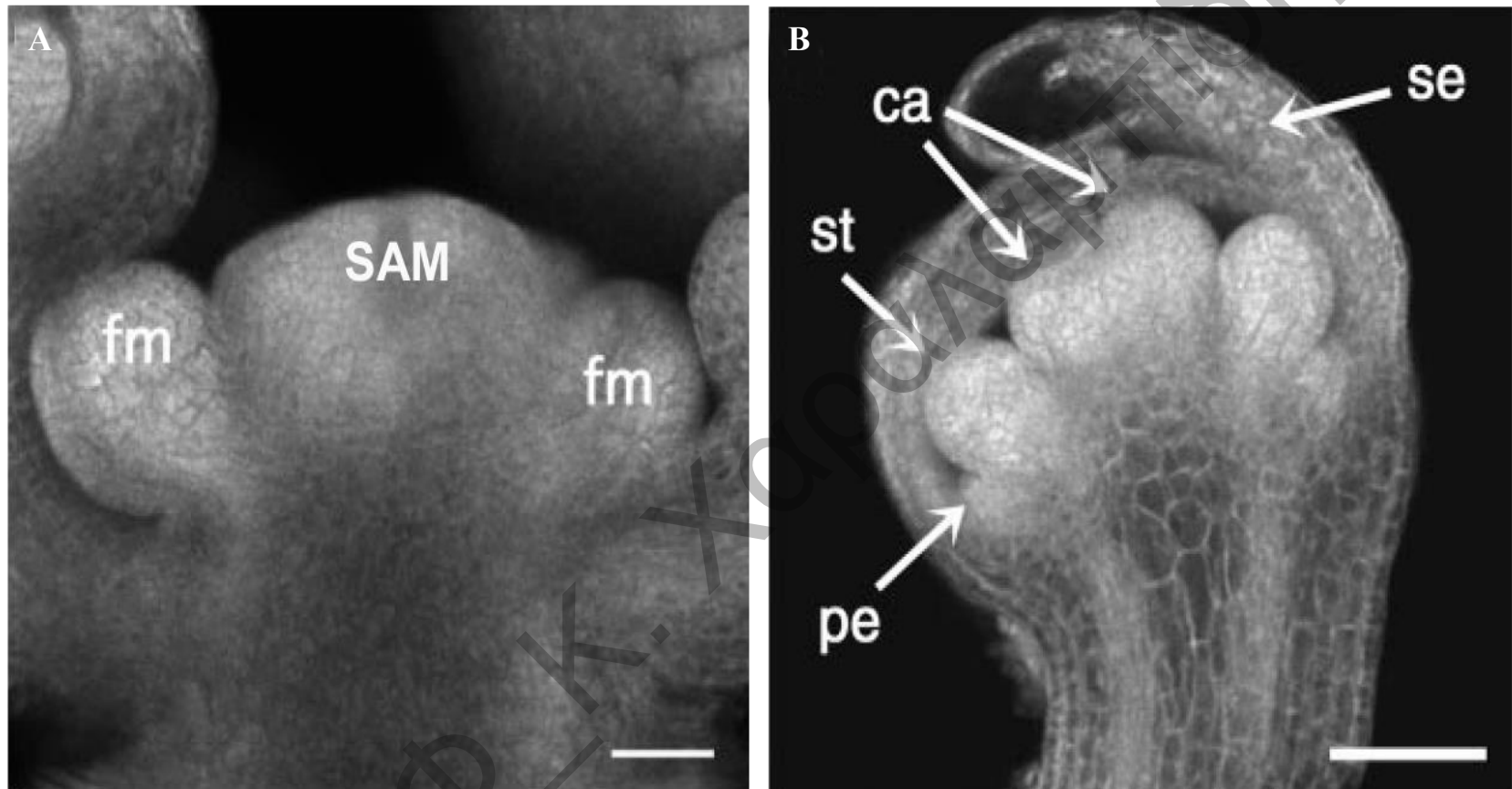
Δράση του ακραίου και αξονικού μεριστώματος του βλαστού



Inflorescence and floral meristem



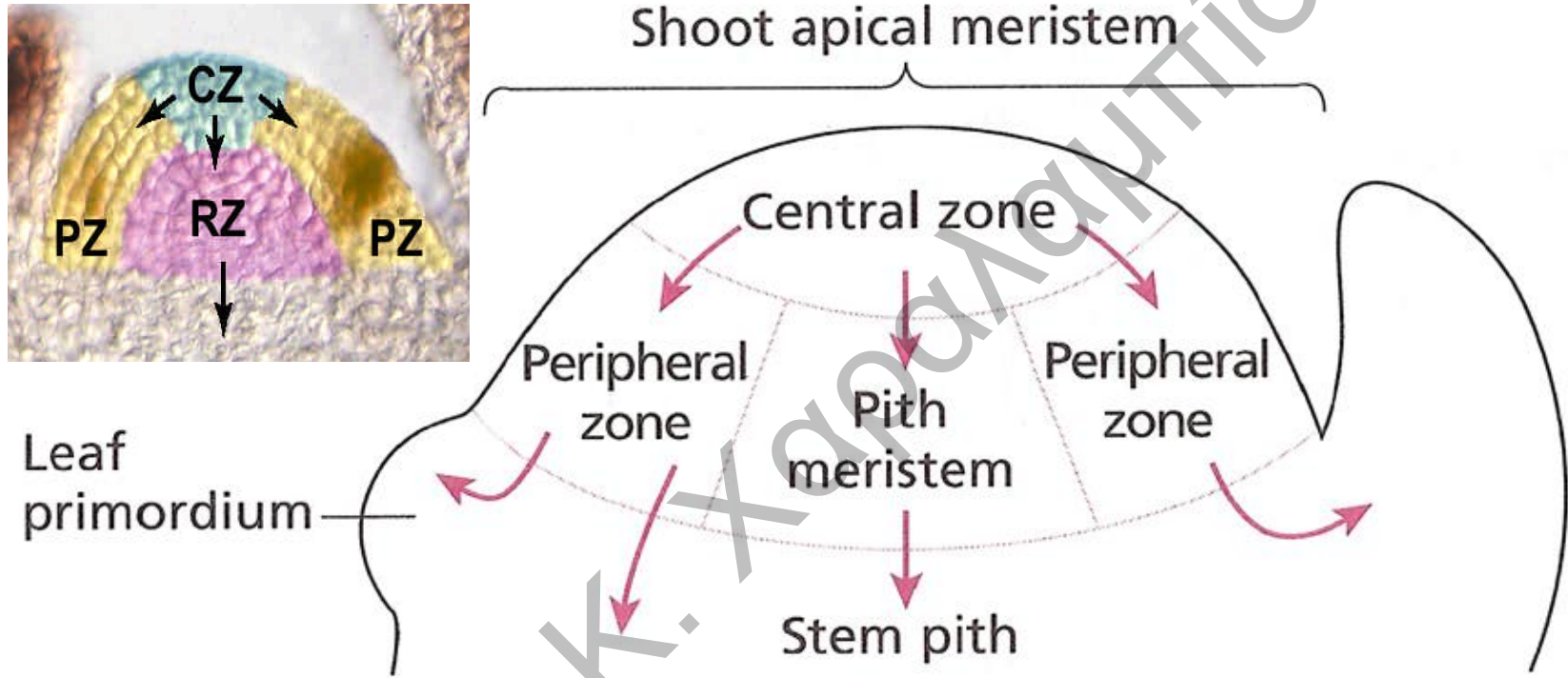
Meristem activity



Προκειμένου το AMB να λειτουργήσει ως σημείο συνεχούς οργανογένεσης, είναι αναγκαία η διατήρηση μίας ισορροπίας μεταξύ της απώλειας βλαστικών κυττάρων λόγω διαφοροποίησης και της αντικατάστασης αυτών με κυτταρικές διαιρέσεις.



Διατήρηση και δράση του AMB



Προκειμένου το AMB να λειτουργήσει ως σημείο συνεχούς οργανογένεσης, είναι αναγκαία η διατήρηση μίας ισορροπίας μεταξύ της απώλειας βλαστικών κυττάρων λόγω διαφοροποίησης και της αντικατάστασης αυτών με κυτταρικές διαιρέσεις.



Η μοριακά βάση της δημιουργίας και διατήρησης του AMB

ΚΥΡΙΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗΣ AMB

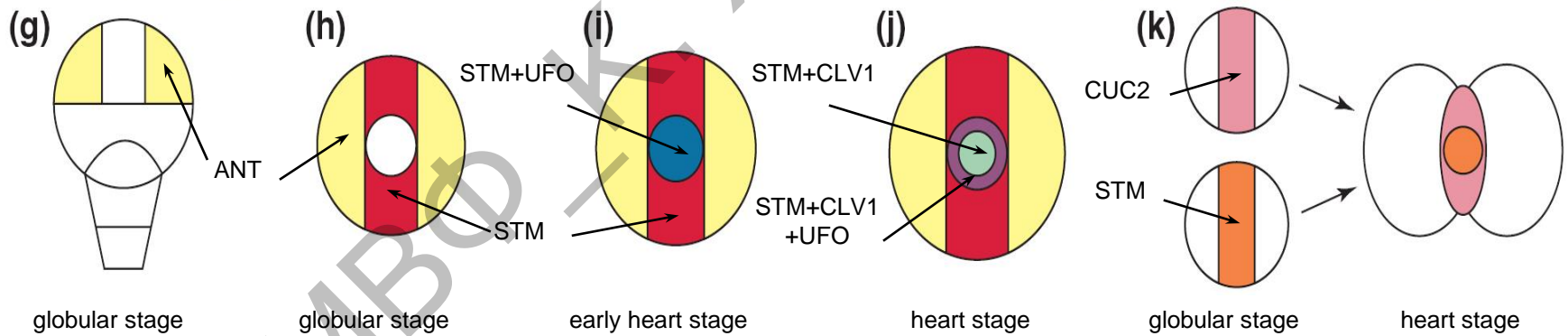
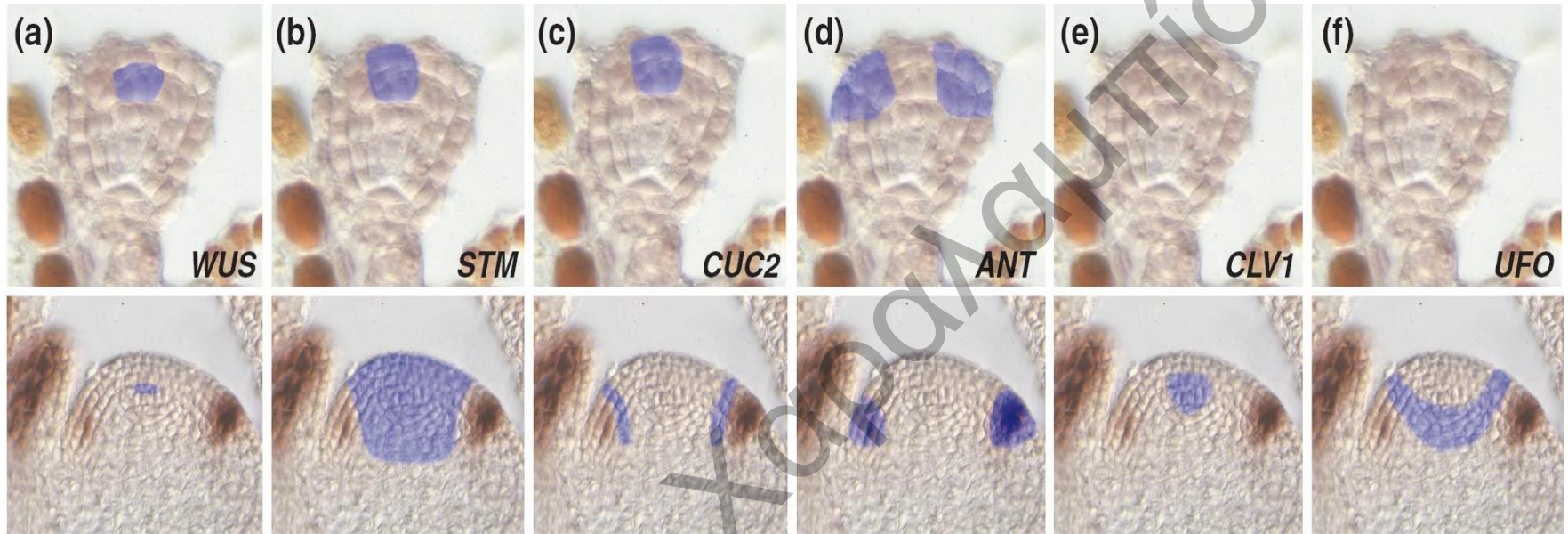
- *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*)
- *WUSCHEL* (*WUS*)
- *CLAVATA1* (*CLV1*)
- *CLAVATA2* (*CLV2*)
- *CLAVATA3* (*CLV3*)
- *ZWILLE* (*ZLL*)
- *UNUSUAL FLORAL ORGANS* (*UFO*)
- *TERMINAL FLOWER 1* (*TFL1*)

"ΕΠΙΚΟΥΡΙΚΑ" ΓΟΝΙΔΙΑ (για τη δημιουργία των επίγειων δομών)

- *CUP-SHAPED COTYLEDON1, 2* (*CUC1, CUC2*)
- *AINTEGUMENTA* (*ANT*)
- *KNOTTED-like Arabidopsis thaliana* (*KNAT1* και *KNAT2*)
- *ASYMMETRIC LEAVES 1* (*AS1*)

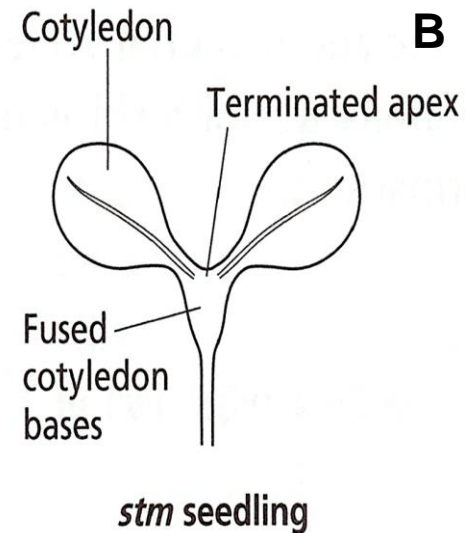
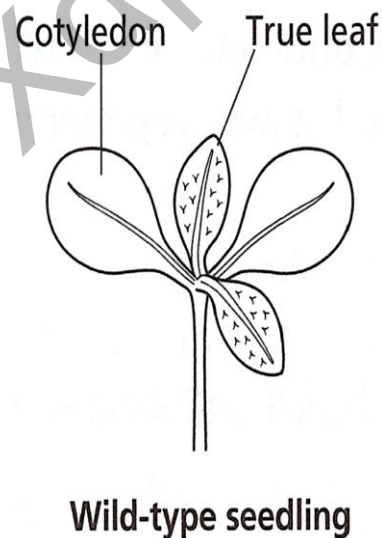


Το πρότυπο ιστοειδικής έκφρασης και αλληλεπίδρασης των γονιδίων

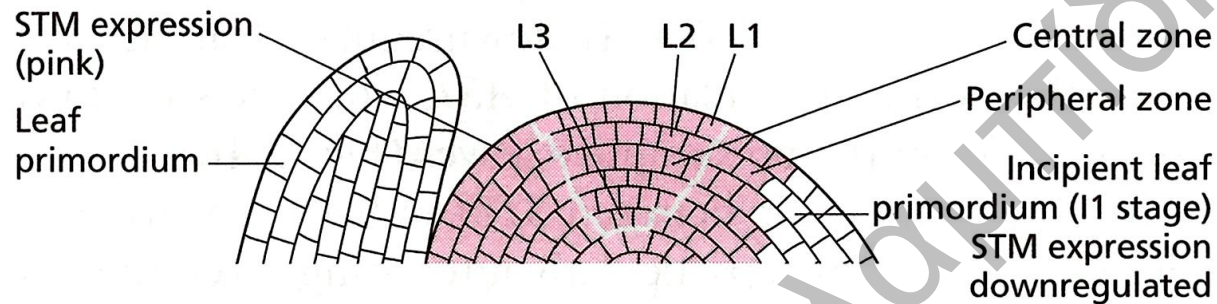


Το γονίδιο *SHOOTMERISTEMLESS (STM)*

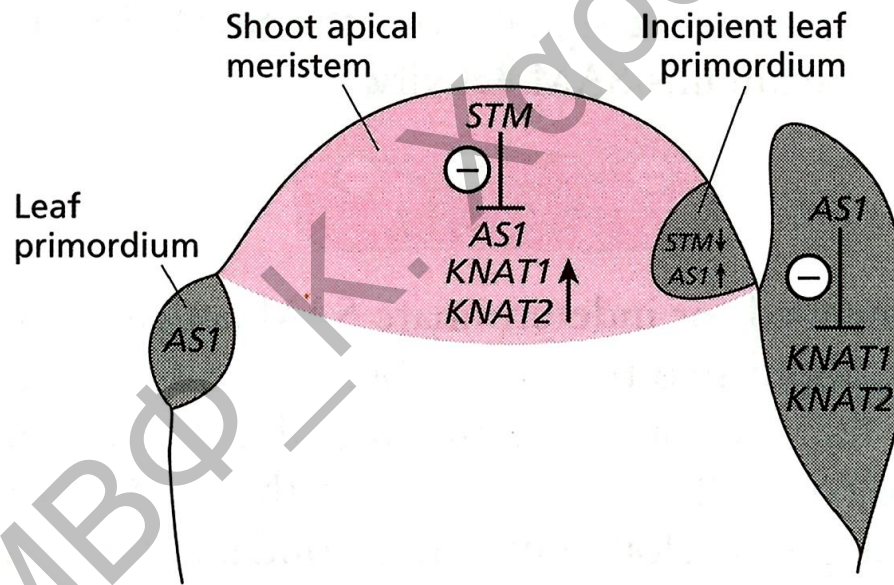
- Το γονίδιο *STM* κωδικοποιεί για έναν **ομοιοδομικό μεταγραφικό παράγοντα** (homeodomain transcription factor) της οικογένειας *KNOX*.
- Τα ολικής απώλειας λειτουργίας *stm* μεταλλαγμένα αρτίβλαστα δεν αναπτύσσουν AMB και παρουσιάζουν σύμφυση κοτυληδόνων. Παρόμοιο τερματισμό της ανάπτυξης έχουμε και στους ασθενείς φαινότυπους σε μεταγενέστερα αναπτυξιακά στάδια.



Αλληλεπίδραση του *STM* με το *AS1/PHAN* και τα *KNAT*



(a) *STM* expression in the shoot apical meristem



(b) The interactions between *AS1* and the *KNOX* genes

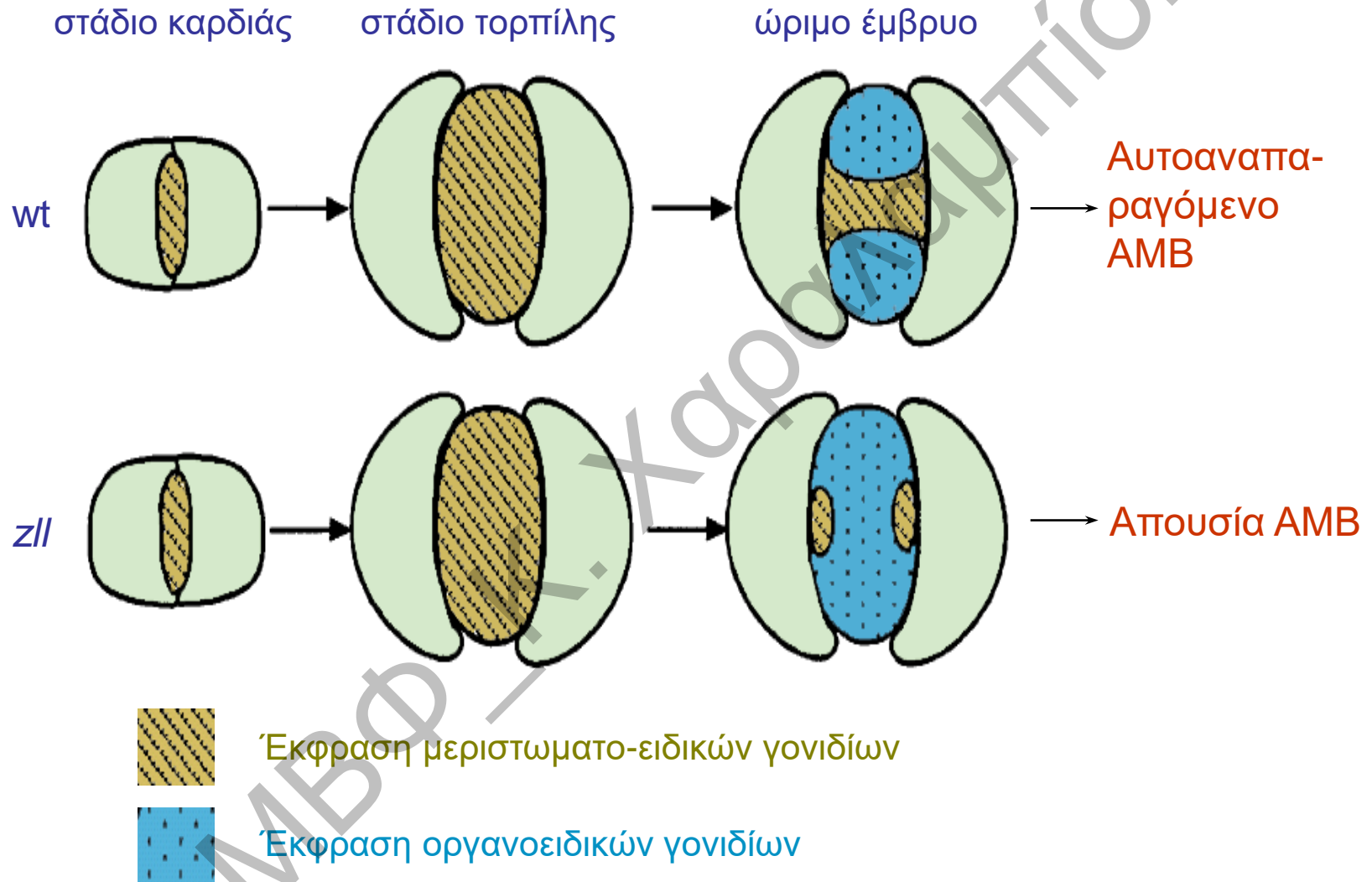


Το γονίδιο *ZWILLE (ZLL)* / *PINHEAD (PIN)* - *AGO10 (Argonaute)*

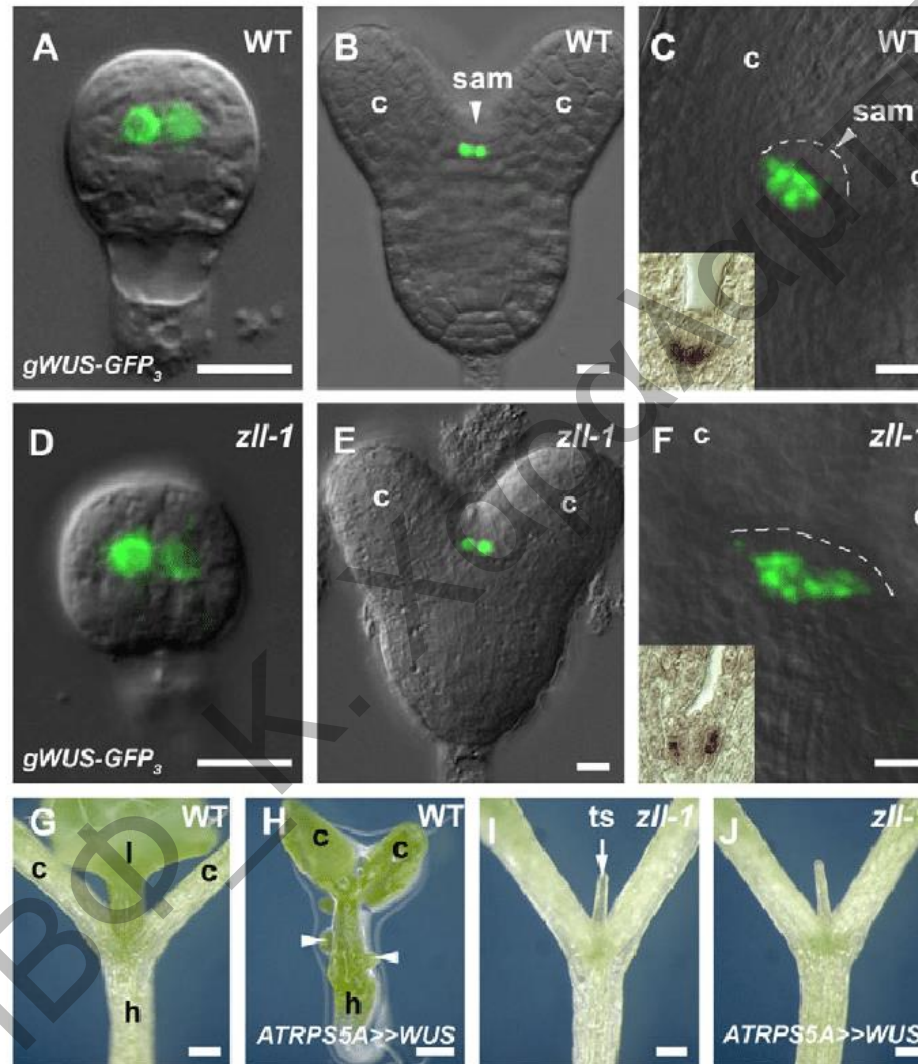
- Το γονίδιο *ZLL*, που έχει βρεθεί ότι είναι αλληλόμορφο του γονιδίου *PINHEAD (PIN)*, κωδικοποιεί για μία πρωτεΐνη 988 αμινοξέων, η οποία εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα.
- Αποτελεί μέλος μίας ομάδας (οικογένειας) όμοιων ακολουθιών, οι οποίες είναι υψηλά συντηρημένες μεταξύ των ειδών τόσο του φυτικού όσο και του ζωικού βασιλείου.
- Ο λειτουργικός ρόλος της πρωτεΐνης *ZLL* είναι η διατήρηση των βλαστικών κυττάρων σε μία αδιαφοροποίητη κατάσταση κατά τη μετάβαση του οργανισμού από την εμβryo-ειδική ανάπτυξη στην φάση ανάπτυξης των δευτερογενών οργάνων.
- Απουσία του *ZLL* σχεδόν όλα τα κύτταρα του ακραίου τμήματος, συμπεριλαμβανομένων και των κυττάρων της κεντρικής ζώνης υιοθετούν «τύχες» περιφερειακής ζώνης. Σταματούν την έκφραση των μεριστωματοειδικών γονιδίων και διαφοροποιούνται σε κύτταρα περιφερειακών οργάνων.



Λειτουργική δράση του γονιδίου *ZWILLE (ZLL) / PINHEAD (PIN) - AGO10*



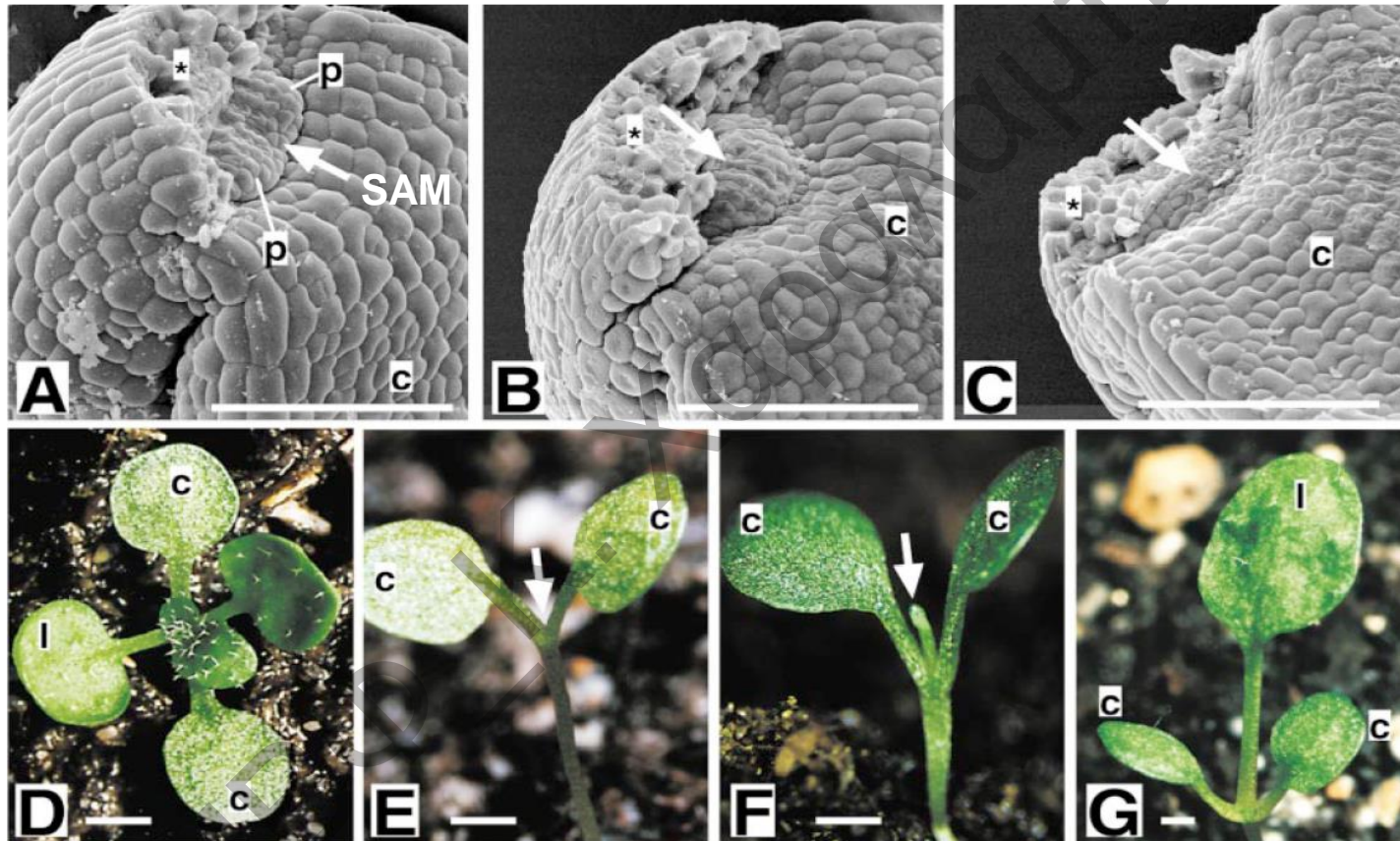
To γονίδιο *ZWILLE* (*ZLL*) / *PINHEAD* (*PIN*) / *AGO10*



Το γονίδιο *ZWILLE* (*ZLL*) / *PINHEAD* (*PIN*) / *AGO10*

AGO10 specifically sequesters miR165 and miR166

Στα ώριμα έμβρυα των μεταλλαγμένων σειρών *zll* το κορυφαίο τμήμα φαίνεται σαν ένα ενιαίο εξόγκωμα πλάτους 3-9 κυττάρων ή σαν μία μικρή πεπλατυσμένη περιοχή

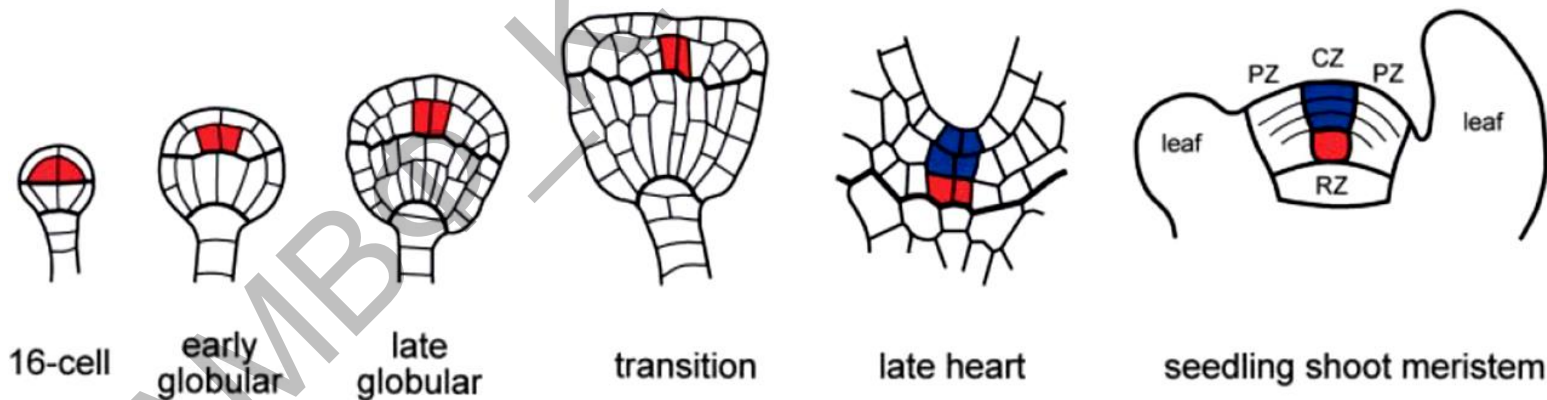


Encodes a protein required to establish the central-peripheral organization of the embryo apex along with *WUS* and *CLV* genes. Acts in embryonic provascular tissue potentiating *WUSCHEL* function during meristem development in the embryo. *AGO10* specifically sequesters miR166/165 to regulate shoot apical meristem development.

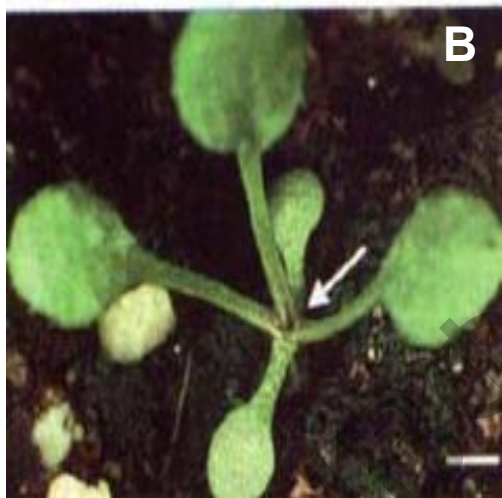


Το γονίδιο *WUSCHEL* (*WUS*)

- Τα ολικής απώλειας λειτουργίας *wus* στελέχη έχουν την ικανότητα ανάπτυξης δύο μόνο ζευγών κανονικών φύλλων. Η ανάπτυξη τους στη συνέχεια σταματά καθώς το AMB διογκώνεται και καθίσταται μη λειτουργικό.
- Σε ορισμένες περιπτώσεις έχουμε την ανάπτυξη επιγενών AMB, με πρόωρο τερματισμό της ανάπτυξης των ανθέων, τα οποία φέρουν σπονδύλους σεπάλων και πετάλων και έναν μόνο κεντρικό στήμονα.
- Το γονίδιο *WUS* κωδικοποιεί για έναν ομοιοδομικό (homeodomain) μεταγραφικό παράγοντα, ο οποίος οδηγεί στην παραγωγή ενός σινιάλου που καθορίζει την ταυτότητα των κυττάρων της κεντρικής ζώνης.



Φαινότυπος των μεταλλαγμένων σειρών *wus*

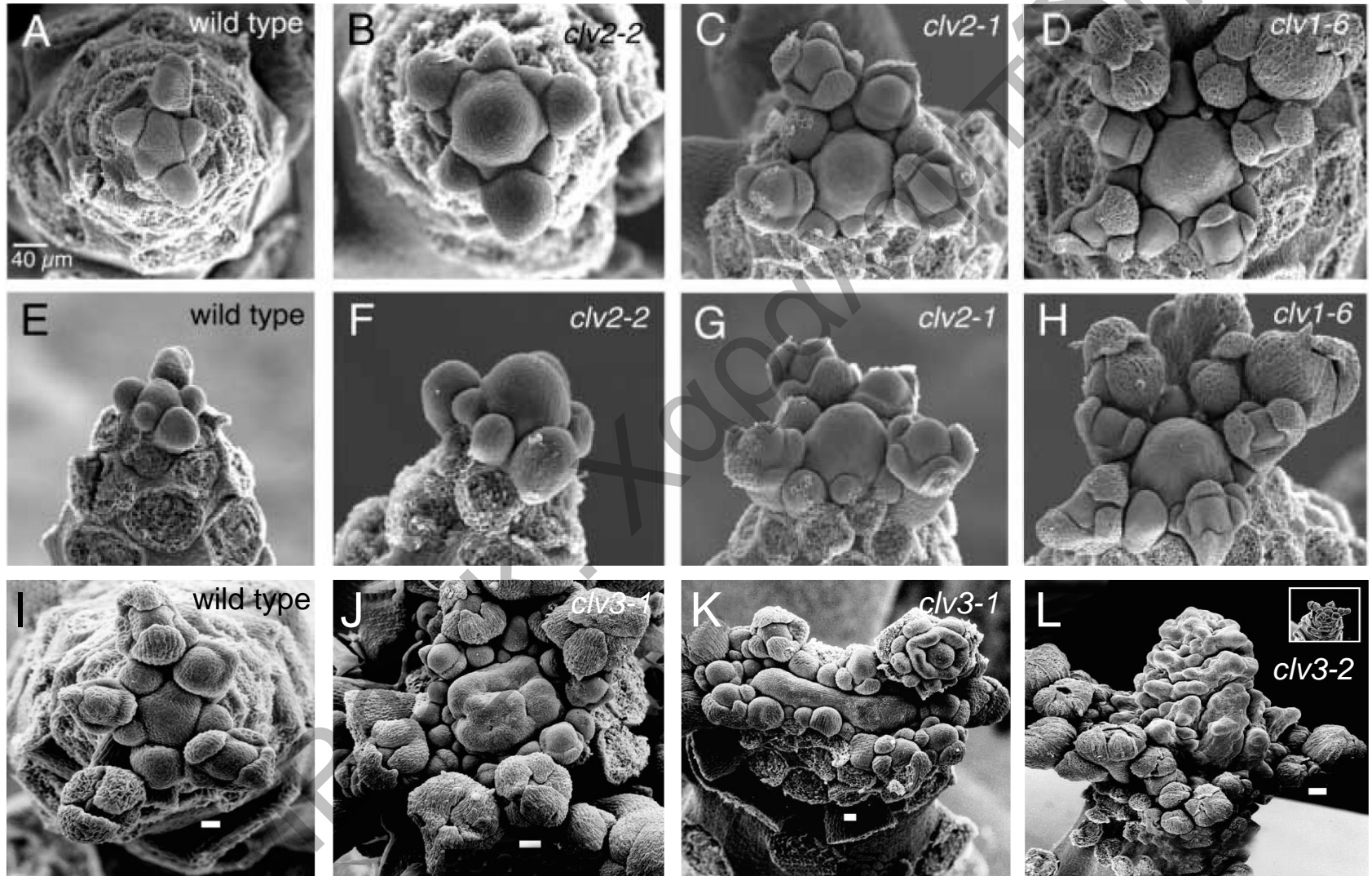


Τα γονίδια *CLAVATA* (*CLV*)

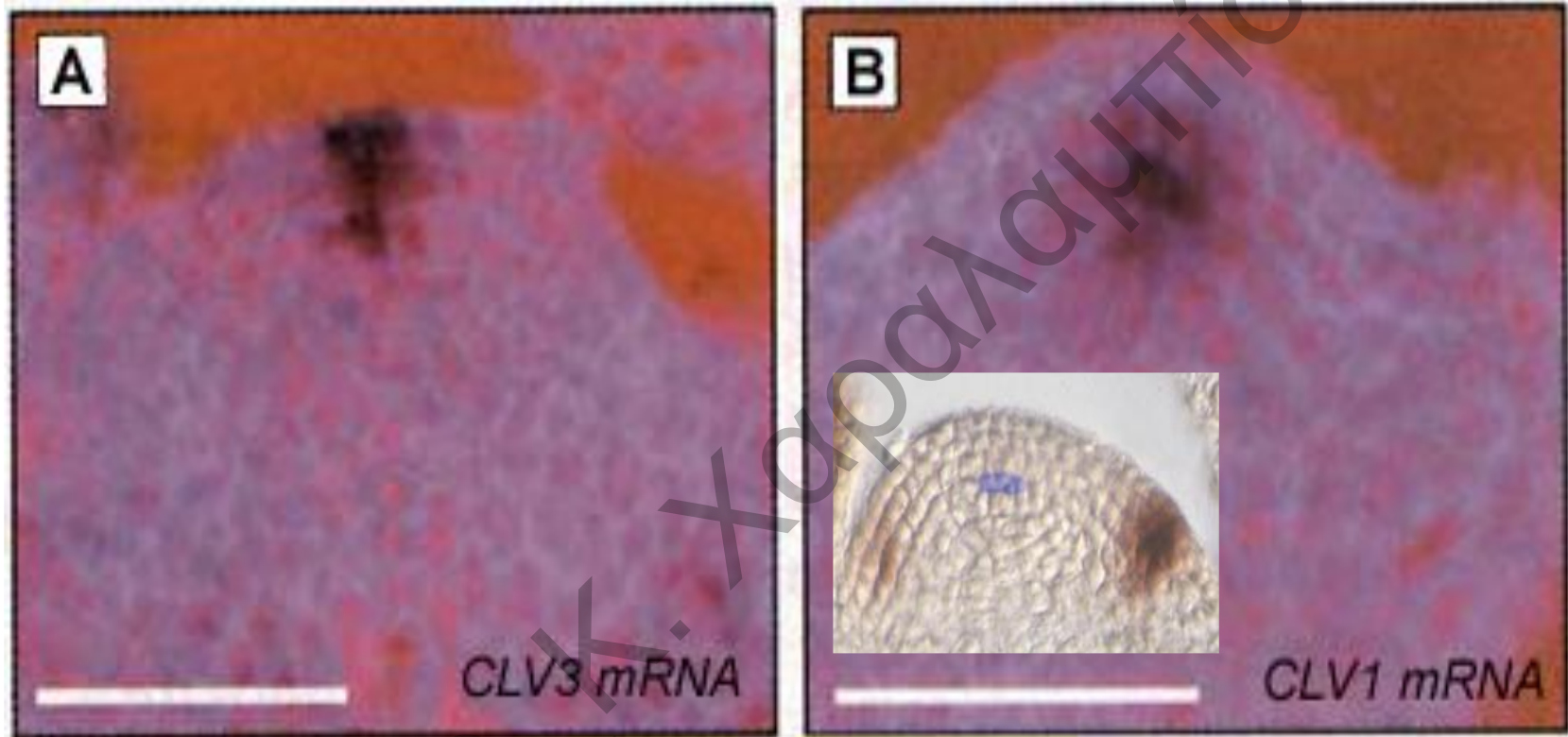
- Η λειτουργία και ρυθμιστική δράση του γονιδίου *WUS* σχετίζεται άμεσα με την επαγωγή των γονιδίων *CLAVATA*, τα οποία ελέγχουν τον αριθμό των κυττάρων που συνιστούν το θύλακα των βλαστικών κυττάρων.
- Οι ομόζυγες μεταλλαγμένες σειρές απώλειας λειτουργίας γονιδίου (loss-of-function mutants) *clv1*, *clv2* και *clv3* σχηματίζουν ένα διογκωμένο AMB από τα πρώτα κιάλας στάδια της εμβρυογένεσης.
- Η μεγέθυνση αυτή συνεχίζεται βαθμιαία καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης, με αποτέλεσμα το AMB να έχει την εμφάνιση μπαλονιού και όχι κώνου όταν τα φυτά φτάσουν στο στάδιο της αναπαραγωγικής φάσης.



Φαινότυπος των μεταλλαγμένων στελεχών *clv*



Ιστοειδική έκφραση των γονιδίων *CLV1* και *CLV3*



CLV3 mRNA: Στιβάδες L1, L2 και σε ορισμένα κύτταρα της L3

CLV1 mRNA: Στιβάδα L3 (*WUS*-εκφράζουσα δομή)



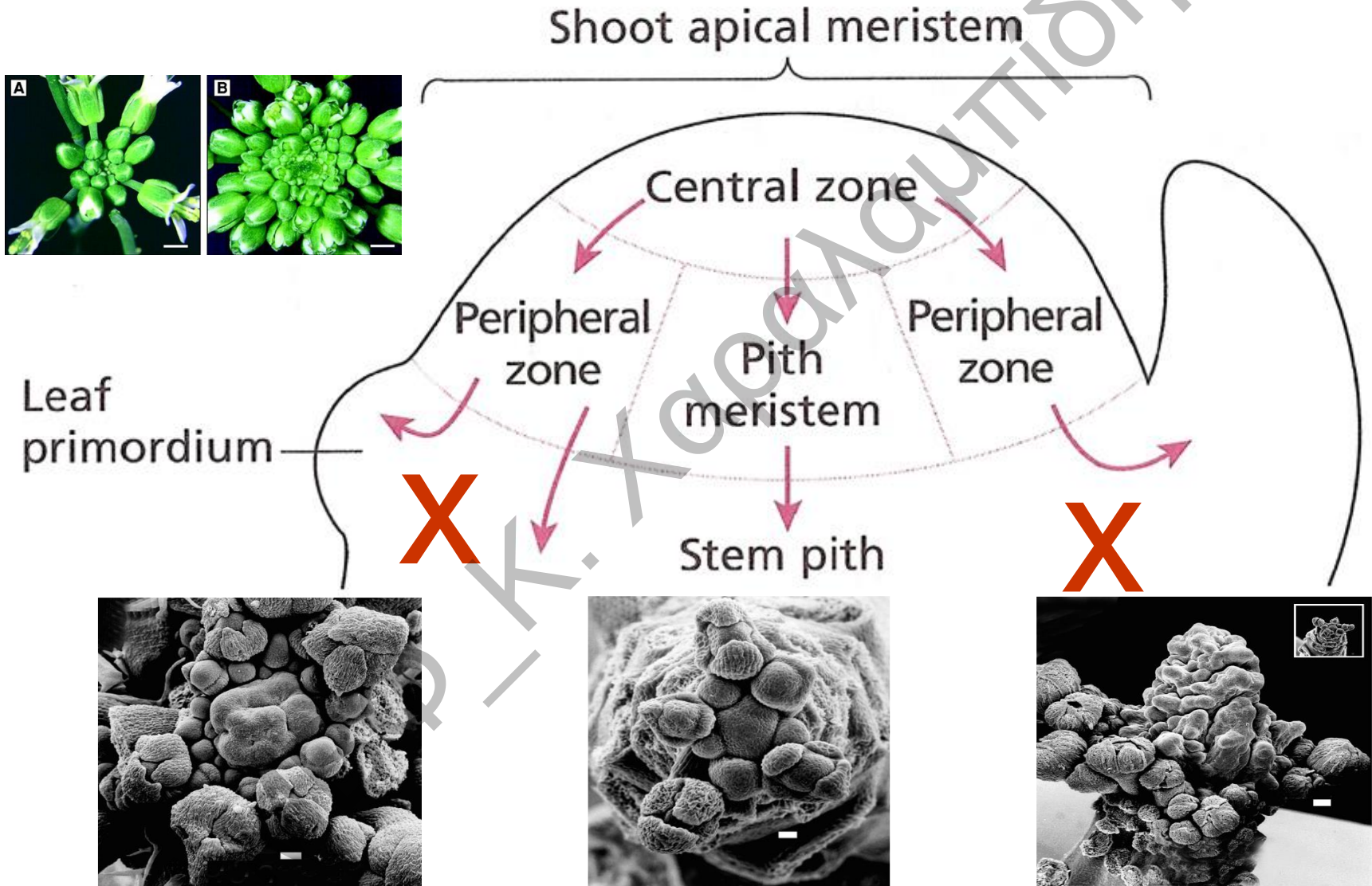
Τα γονίδια *CLAVATA* (*CLV*)

- Η διόγκωση του μεριστώματος θα μπορούσε να είναι αποτέλεσμα είτε μεγαλύτερων κυττάρων είτε μεγαλύτερου αριθμού κυττάρων.
 - Αν είναι αποτέλεσμα μεγαλύτερου αριθμού κυττάρων θα περίμενε κανείς και έναν αυξημένο ρυθμό κυτταρικών διαιρέσεων στα κύτταρα αυτά.
-

- Η διόγκωση **δεν** οφείλεται σε μεγαλύτερα κύτταρα αλλά σε μεγαλύτερο αριθμό κυττάρων, παρ' όλο που ο ρυθμός διαίρεσης είναι **μικρότερος** από αυτόν φυτών αγρίου τύπου.
- Τα γονίδια *CLV* εμπλέκονται στον περιορισμό του αριθμού των βλαστικών κυττάρων στο AMB. Η δράση τους ελέγχει τη συσσώρευση των βλαστικών κυττάρων, ρυθμίζοντας το ρυθμό μεταγωγής τους από την κεντρική στην περιφερειακή ζώνη και το ρυθμό ενσωμάτωσης τους στις καταβολές των πλάγιων οργάνων.



Διατήρηση και δράση του AMB



Φαινότυπος των μεταλλαγμένων σειρών *clv* στο άνθος



Τα γονίδια *CLAVATA* (*CLV*)

- Όλες οι σειρές με μεταλλαγμένα αλληλόμορφα γονίδια *clv1*, *clv2* και *clv3* δεν έχουν τον ίδιο φαινότυπο. Και στα τρία γονίδια υπάρχουν τόσο ασθενείς όσο και ισχυροί φαινότυποι.
- Τα διπλά μεταλλάγματα ασθενών *clv1* και *clv3* παρουσιάζουν φαινότυπους ισχυρών *clv* μεταλλαγμένων σειρών.
- Τα διπλά μεταλλάγματα ισχυρών *clv1* και *clv3* παρουσιάζουν φαινότυπους ίδιους με αυτούς των απλών μεταλλαγμάτων.
- Τα διπλά ημίζυγα (ετερόζυγα) φυτά *clv1/+ clv3/+* έχουν φαινότυπο ενδιάμεσο αυτών των *clv* σειρών.
- Η συνδυαστική αυτή, μη αλληλόμορφη, μη συμπληρωματική, αμοιβαία επιστατική δράση των *CLV*, αποτελεί ισχυρή γενετική απόδειξη ότι τα γονίδια αυτά δρουν στο ίδιο αναπτυξιακό μονοπάτι.

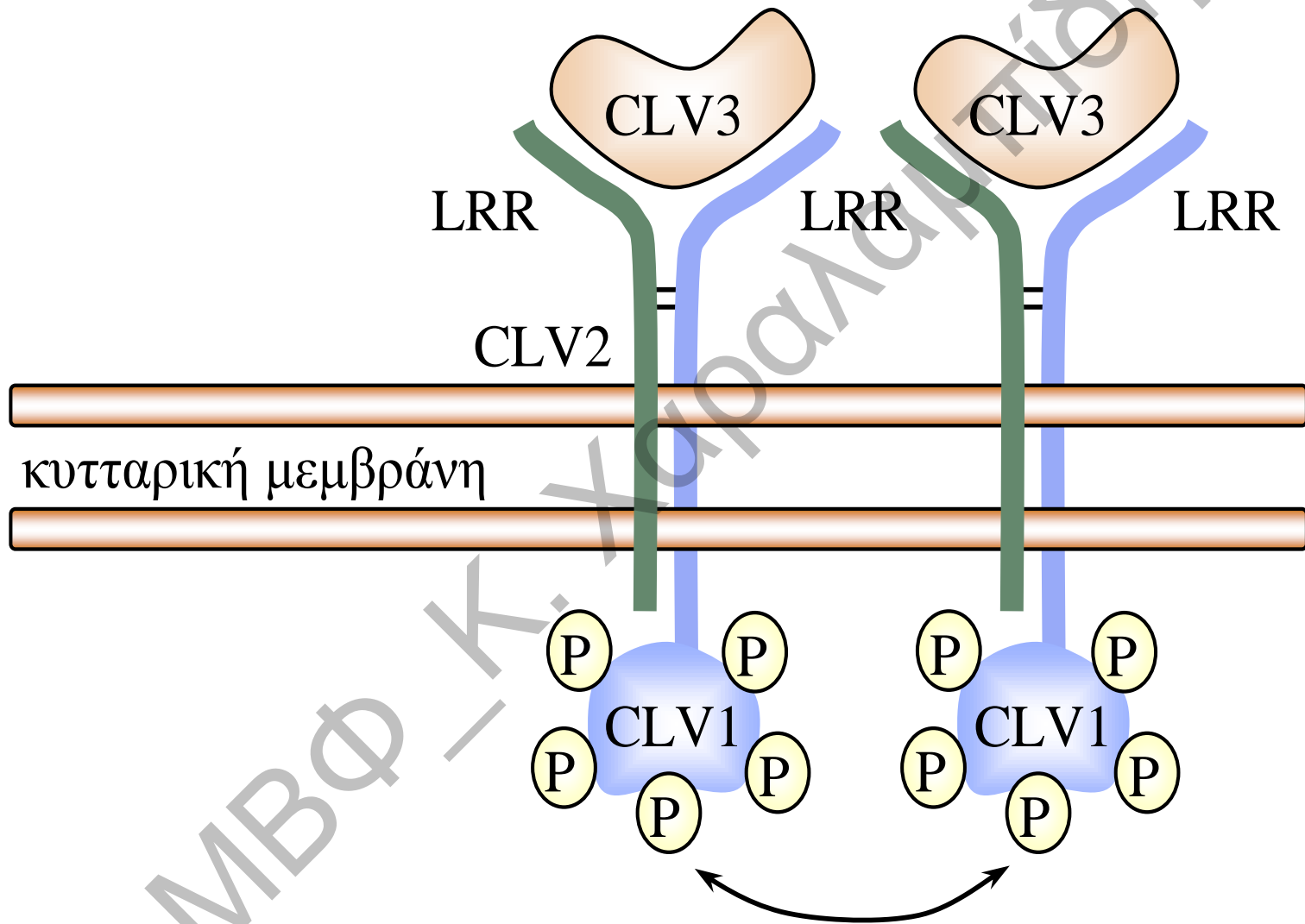


Κλωνοποίηση των γονιδίων *CLV1*, *CLV2* και *CLV3*

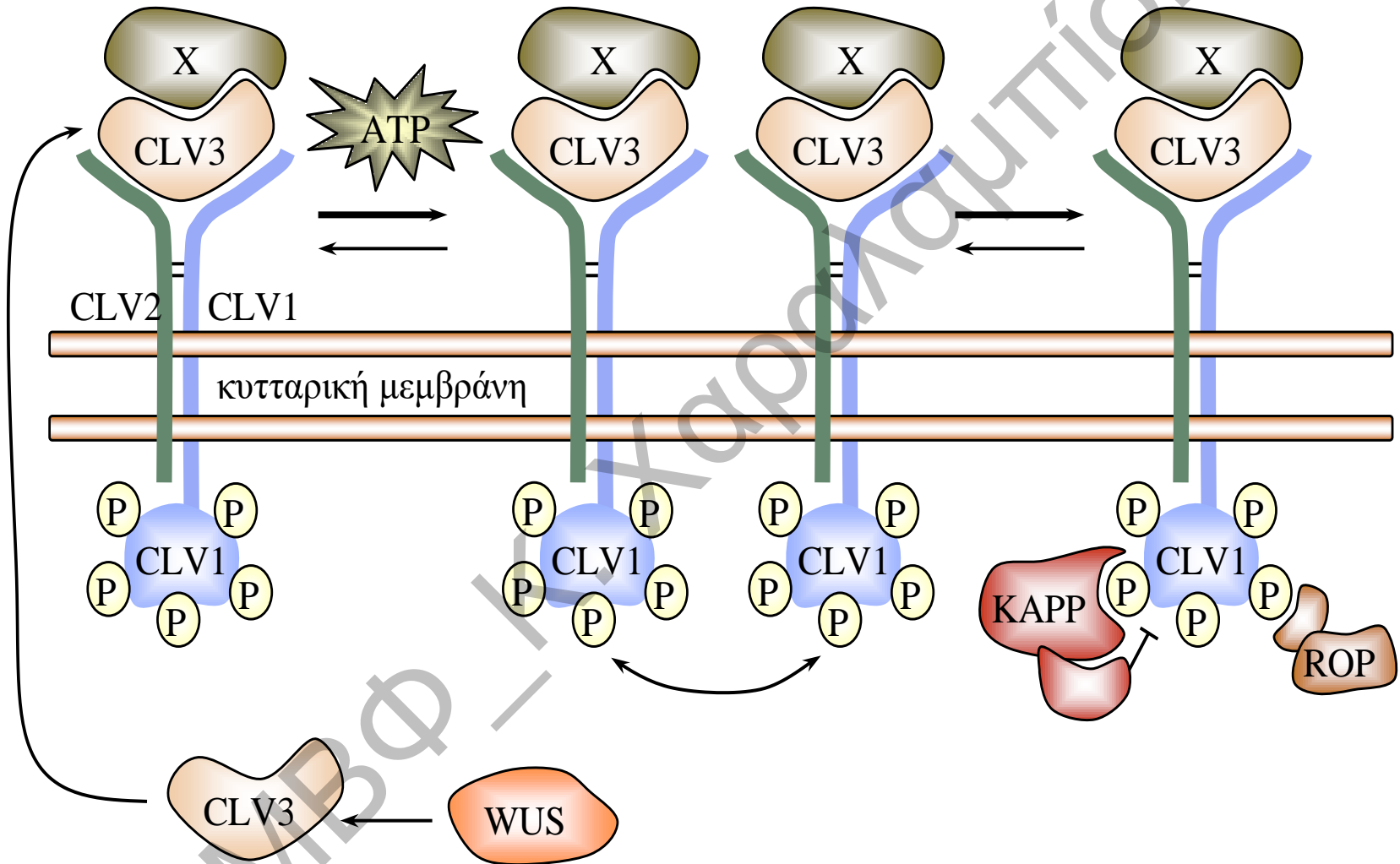
- CLV1*** : Κωδικοποιεί για μία πρωτεΐνη που περιέχει 21 εξωκυτταρικές επαναλήψεις πλούσιες σε λευκίνη (extracellular leucine-rich repeats – LRRs), ένα διαμεμβρανικό μοτίβο και ένα ενδοκυτταρικό μοτίβο κινάσης σερίνης/θρεονίνης.
- CLV2*** : Κωδικοποιεί για μία υποδοχέα-όμοια πρωτεΐνη, η οποία αποτελείται από εξωκυτταρικά LRR μοτίβα, ένα διαμεμβρανικό μοτίβο και μία κυτταροπλασματική ουρά 11 αμινοξέων.
- CLV3*** : Κωδικοποιεί για μία πρωτεΐνη 96 αμινοξέων που εντοπίζεται στον εξωκυττάριο χώρο. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η πρωτεΐνη *CLV3* έχει όλα τα χαρακτηριστικά μορίου σινιάλου και ότι πιθανότατα αποτελεί το υπόστρωμα των υποδοχέων *CLV1/CLV2*.



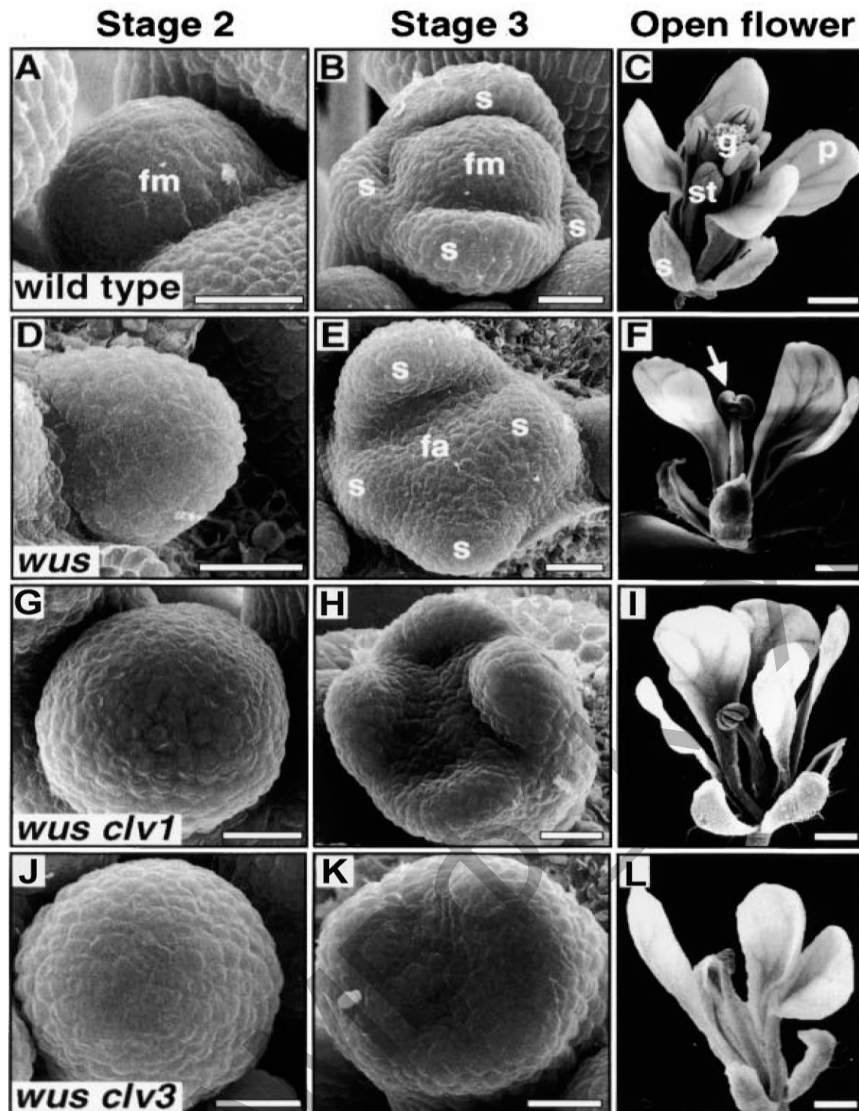
Το σύμπλοκο των CLV υποδοχέων και η ρυθμιστική του δράση



Το CLV σύμπλοκο μεταγωγής σιγιάλου



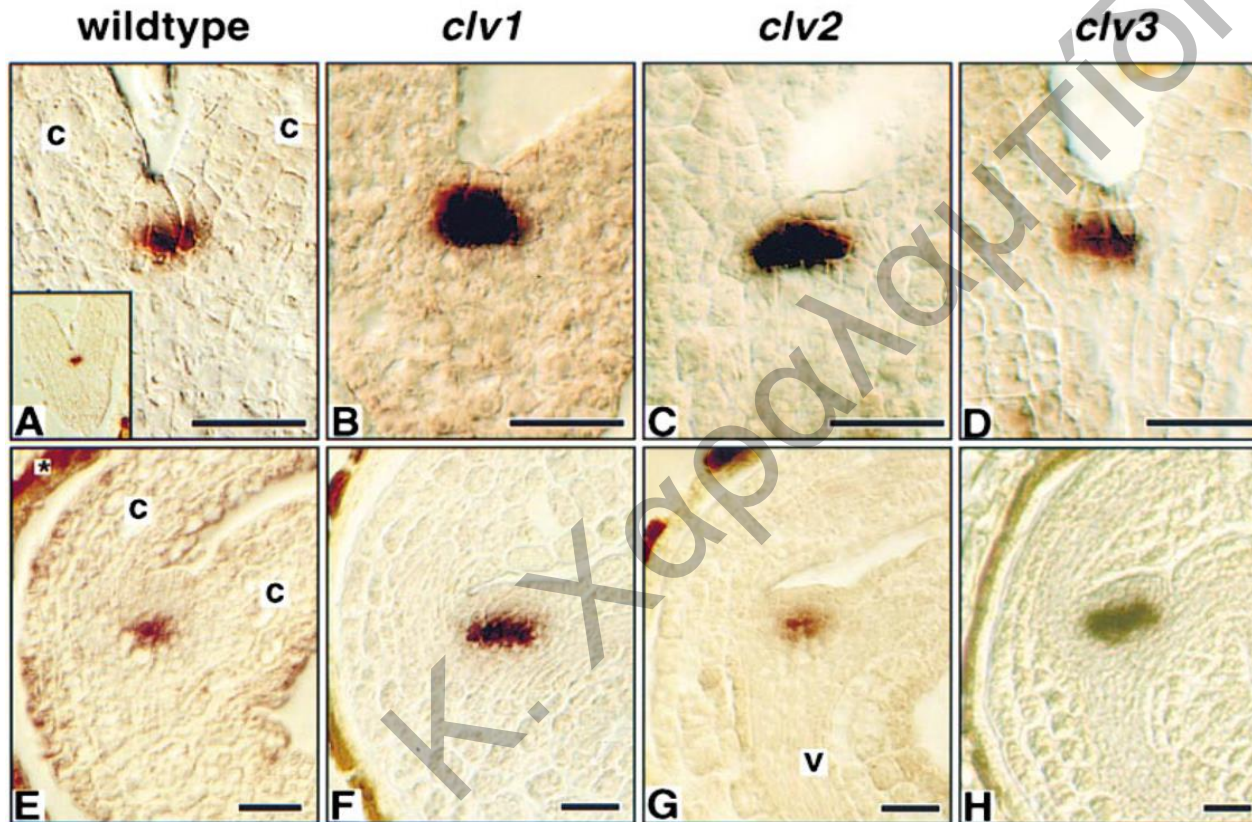
Το CLV σύμπλοκο μεταγωγής σινιάλου



- Το ότι το γονίδιο *WUS* δρα αναρροϊκά του *CLV3* και είναι απαραίτητο για την εμφάνιση του φαινότυπου του διογκωμένου μεριστώματος των *clv* μεταλλαγμάτων διαφαίνεται από τα διπλά στελέχη *wus clv3* και *wus clv1*.
- Τα διπλά μεταλλάγματα έχουν τον ίδιο φαινότυπο με αυτά των απλών *wus*. Ο φαινότυπος δηλαδή των *clv* δεν εκδηλώνεται απουσία του *WUS*.



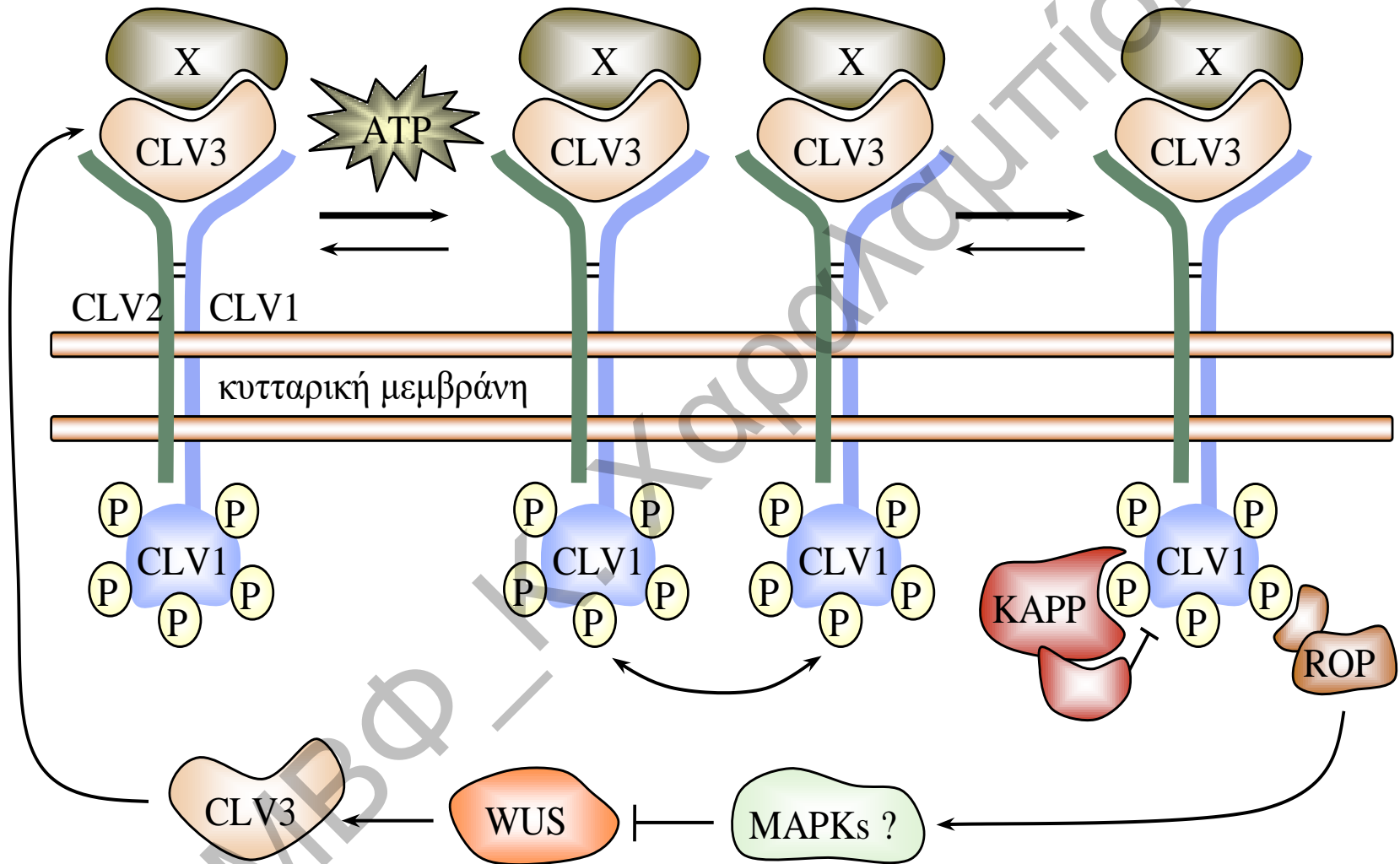
Από την άλλη μεριά όμως, η έκφραση του *WUS* στα *clv* μεταλλάγματα...



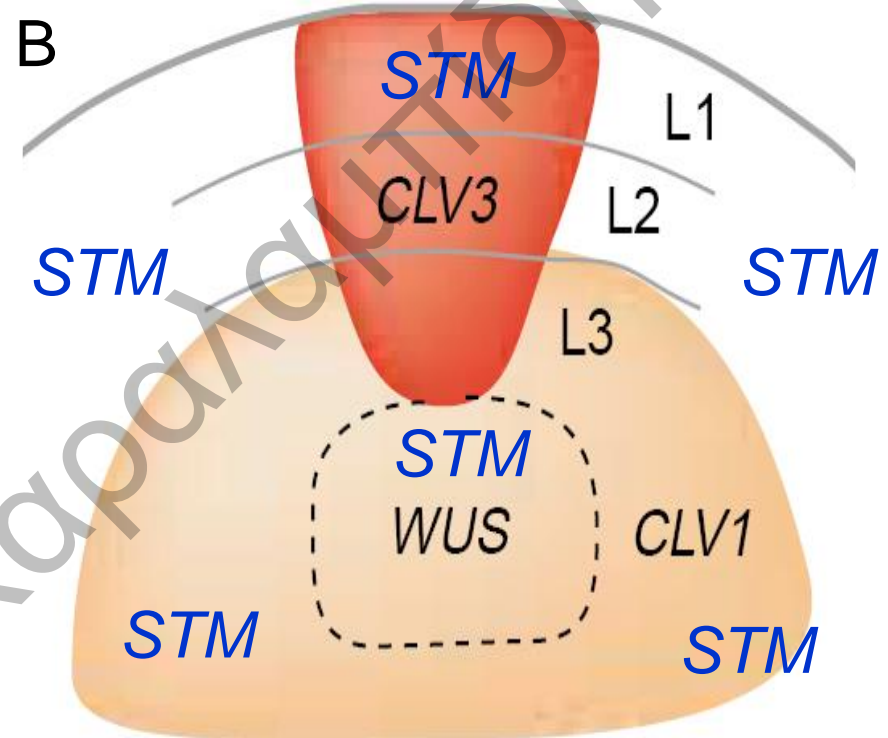
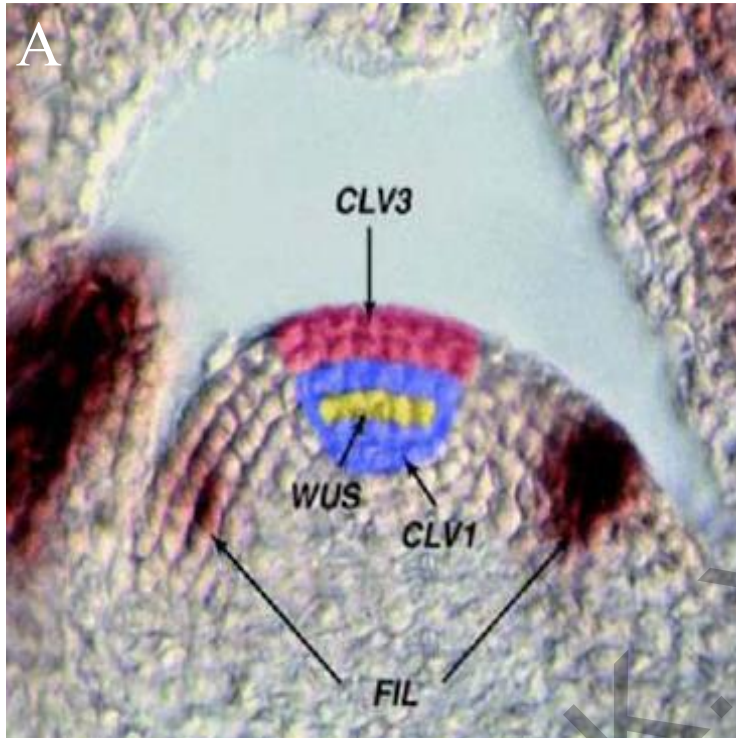
Η έκφραση του γονιδίου *WUS* εκτείνεται σε μία μεγαλύτερη περιοχή στα *clv* μεταλλαγμένα στελέχη, γεγονός που φανερώνει ότι το CLV σύμπλοκο μεταγωγής σιγιάλου εμπλέκεται στον περιορισμό της έκφρασης του γονιδίου *WUS*.



Από την άλλη μεριά όμως, η έκφραση του *WUS* στα *clv* μεταλλάγματα...



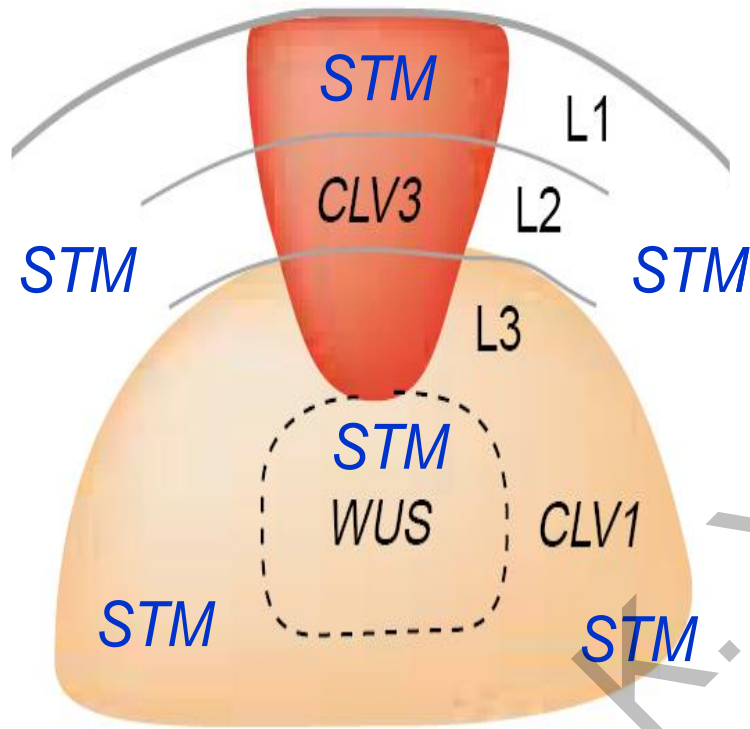
Αλληλεπίδραση των κύριων εμπλεκόμενων γονιδίων



- Τα mRNA των επιμέρους συστατικών αυτού του *CLV-WUS-STM* δικτύου μεταγωγής σιγιάλου συσσωρεύονται σε ξεχωριστές και σε μεγάλο βαθμό μη αλληλοεπικαλυπτόμενες δομές (περιοχές) του μεριστώματος.
- Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι ο συντονισμός της ομοίωσης των βλαστικών κυττάρων απαιτεί τη συμμετοχή όλων των σιβάδων της κεντρικής ζώνης.



Αλληλεπίδραση των κύριων εμπλεκόμενων γονιδίων

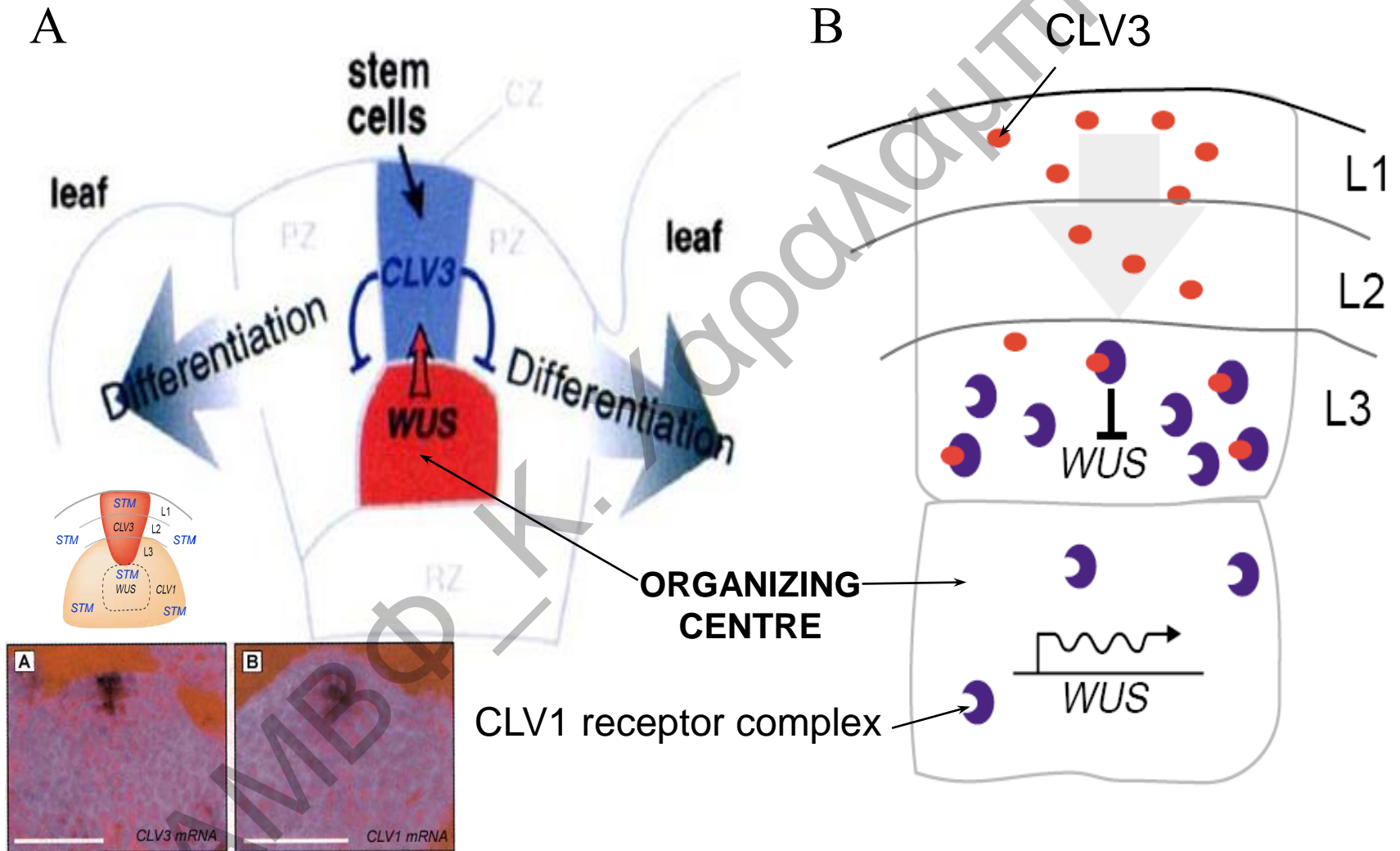


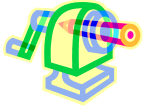
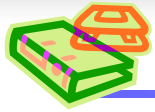
- Ο καθορισμός της ταυτότητας των βλαστικών κυττάρων εξαρτάται από τη δράση των γονιδίων *WUS* και *STM*. Το *WUS* οδηγεί στον καθορισμό ενός υποσυνόλου κυττάρων ως βλαστικά κύτταρα, ενώ η δράση του *STM* καταστέλλει την διαφοροποίησή τους.
- Χωρίς όμως την παρουσία ενός μηχανισμού αρνητικής ανάδρασης, η δράση των *WUS* και *STM* θα είχε σαν αποτέλεσμα την υπέρμετρη συσσώρευση κυττάρων στην κεντρική ζώνη
- Η διατήρηση ενός περιορισμένου αλλά ικανού αριθμού βλαστικών κυττάρων στο AMB αναλαμβάνει το CLV σύμπλοκο σιγιάλου.
- Τα *CLV* γονίδια ελέγχουν τη συσσώρευση των βλαστικών κυττάρων, ρυθμίζοντας το ρυθμό μεταγωγής τους από την κεντρική στην περιφερειακή ζώνη και το ρυθμό ενσωμάτωσής τους στις καταβολές των πλάγιων οργάνων.



Μοντέλο αρνητικής ανάδρασης για τη διατήρηση του AMB...

...το μοντέλο δράσης CLV-WUS-STM





Thanks for your attention

ΑΜΒΦ - Κ. Χαρολαμπτίδης

