Obilježja i procesi tijekom ranog razvoja beskralježnjaka

Tunuković, Tea

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:665347

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski studij biologije

Tea Tunuković

OBILJEŽJA I PROCESI TIJEKOM RANOG RAZVOJA BESKRALJEŽNJAKA

Završni rad

Mentor: Dr. sc. Dubravka Čerba, doc.

Osijek, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Završni rad

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

OBILJEŽJA I PROCESI TIJEKOM RANOG RAZVOJA BESKRALJEŽNJAKA

Tea Tunuković

Rad je izrađen na Zavodu za ekologiju voda, Odjel za biologiju

Mentor: Dr. sc. Dubravka Čerba, doc.

Kratak sažetak završnog rada

Tijekom embrionalnog i kasnijeg ontogenetskog razvoja, trajna interakcija između proteina i gena dovodi do diferencijalne aktivnosti gena koja usmjerava stanice duž različitih razvojnih linija. Oplodnja inicira proces razvoja novog organizma. Bjelančevine i mRNA koje majka pohranjuje u jajnu stanicu potrebne su za početak razvoja, dok geni u jezgri nose informacije za nove proteine koji preuzimaju razvojni proces. Između procesa oplodnje i organogeneze nalaze se dvije kritične faze, a to su brazdanje i gastrulacija. Na kraju procesa slijedi rast i morfogeneza. Povezivanje znanja o molekularnim aspektima genetike vinske mušice (*Drosophila melanogaster*), sa znanjem o njezinom razvoju, stvorilo je temelje za napredak razvojne genetike i evolucijske razvojne biologije.

Broj stranica: 22
Broj slika: 12
Broj tablica: 1
Broj literaturnih navoda: 23
Web izvor: 6
Jezik izvornika: hrvatski
Ključne riječi: razvoj, *Drosophila melanogaster*, segmentacija, geni

Rad je pohranjen u knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Biology
Bachelor's thesis
Undergraduate university study programme in Biology
Scientific Area: Natural science
Scientific Field: Biology

CHARACTERISTICS AND PROCESSES OF INVERTEBRATES EARLY DEVELOPMENT

Tea Tunuković

Thesis performed at the Subdepartment of Water Ecology, Department of Biology

Supervisor: Dr. Dubravka Čerba, Assist. Prof.

Short abstract
During embryonic and later ontogenetic development, the permanent cross-talk between proteins and genes leads to differential gene activity which directs the cells along different developmental pathways. Fertilization initiates the astonishing process of development of a new living being. The proteins and mRNAs deposited into the egg cell by the mother are necessary for the first developmental events, whereas the genes in the nucleus carry the information for new proteins, which take over the developmental process. Between fertilization and organogenesis are two critical stages: cleavage and gastrulation. At the end of process there is growth and morphogenesis. The merging of our knowledge of the molecular aspects of fruit fly (*Drosophila melanogaster*) genetics with knowledge of its development, built the foundations for progress of developmental genetics and evolutionary developmental biology.

Number of pages: 22
Number of figures: 12
Number of tables: 1
Number of references: 23
Web source: 6
Original in: Croatian
Key words: development, *Drosophila melanogaster*, segmentation, genes

Thesis deposited in the Library of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in the National university library in Zagreb in electronic form.

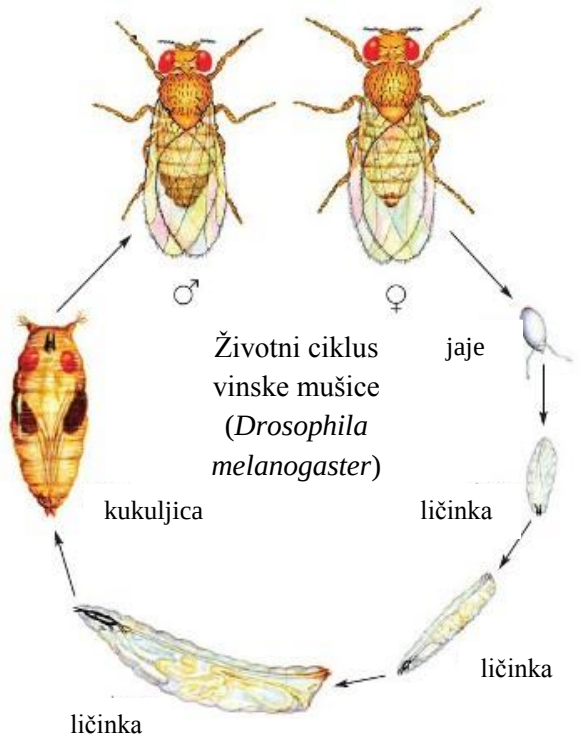
SADRŽAJ:

1. UVOD 1
2. OSNOVNI DIO 3
2.1. BRAZDANJE 3
2.2. GASTRULACIJA 5
2.3. SEGMENTIRANJE 6
2.3.1. ODREĐIVANJE ANTERIORNO-POSTERIORNE OSI 7
2.3.2. SEGMENTACIJSKI GENI (GAP, PAIR RULES I SEGMENT POLARITY GENI) 9
2.3.3. *HOMEOBOX* GENI 11
2.3.4. ODREĐIVANJE DORZO-VENTRALNE OSI 13
2.4. ODREĐIVANJE SPOLA 15
2.5. RAZVOJ POJEDINIH ORGANA 16
2.5.1. OČI 16
2.5.2. SRCE 177
2.5.3 TRAHEJE 19
3. ZAKLJUČAK 20
4. LITERATURA 21

1. UVOD

Beskralježnjaci (Avertebrata) su neformalna skupinu živih bića u koju ubrajamo većinu svih danas poznatih životinjskih vrsta. Beskralješnjaci ne tvore jedinstvenu i prirodno srodnu skupinu. Pripadaju carstvu Animalia, a pojavili su se još u paleozoiku. Budući da u beskralježnjake uvrštavamo velik broj koljena različitih životinja, pogodan rod za proučavanje ranog razvoja i procesa je rod *Drosophila*. Po sistematici ovaj rod pripada razredu Insecta, kukcima, vrstama najbrojnijem razredu u odnosu na sve životinjske skupine, redu Diptera te porodici Drosophilidae. Iako se međusobno brojni kukci razlikuju po vanjskoj i unutrašnjoj građi tijela, imaju otprilike jednaku funkcionalnu organizaciju. Kukci pripadaju člankonošcima, *Arthropoda*, a predstavljaju najbrojniju i najrasprostranjeniju skupinu beskralježnjaka u svim biotopima na Zemlji. Tijelo svih kukaca sastoji se od: glave (caput), prsa (torax) i zatka (abdomen). Razdvojena su spola, oplodnja je unutrašnja, a razvoj teče preobrazbom (Habdija i sur., 2011). Najpoznatija i najistraživanija vrsta roda *Drosophila* je *Drosophila melanogaster* Meigen. Već od prvog desetljeća 20. stoljeća znamo puno više o genetici vinske mušice nego bilo kojeg drugog mnogostaničnog organizma. Jedinke vrste *Drosophila* je lako uzgajati, izdržljive su, tolerantne na različite okolišne čimbenike te imaju politene kromosome koji se u ličinkama lako identificiraju i vrlo su pogodni za proučavanje njihove strukture. Kad su tehnike molekularne biologije omogućile istraživačima da identificiraju i manipuliraju genima i molekulama RNA kukaca mogli su povezati genetiku s njihovim razvojem. Spajanje znanja o molekularnim aspektima genetike vinske mušice sa znanjem o njezinom razvoju, sagradilo je temelje na kojima su temeljene aktualne znanosti razvojne genetike i evolucijske razvojne biologije (Gilbert, 2003). Mnogostanični organizmi se formiraju postupno, kaskadom relativno sporih procesa progresivnih promjena pod zajedničkim nazivom - razvoj organizma, koji započinje oplodnjom, tj. ulaskom spermija kroz mikropilu. Zigota sa svojim novim genetičkim materijalom i novim uređenjem citoplazme, započinje produkciju mnogostaničnog organizma. Između ovih događaja oplodnje i samog razvoja organa nalaze se dvije kritične faze, a to su brazdanje i gastrulacija. Tijekom brazdanja događa se brza stanična podjela citoplazme oplođenih jajašca u brojne stanice. Te stanice se zatim podvrgnu drastičnim promjenama za vrijeme gastrulacije, proces u kojem se stanice kreću u različitim dijelovima embrija te stječu nove susjedne stanice. Za vrijeme brazdanja i gastrulacije određena je glavna os embrija i stanice se počinju razvijati prema njihovoj sudbini. Nakon brazdanja i gastrulacije dolazi do segmentacije embrija te se izleže

ličinka koja se intenzivno hrani. Ličinka raste i prolazi kroz dva presvlačenja, prelazeći u stadij kukuljice, koja nakon metamorfoze postaje odrasla mušica (Wolpert, 2002) (Slika 1.).



Slika 1. Životni ciklus vinske mušice, *Drosophila melanogater* od jajašca do odrasle jedinke. (Izvor: web 6)

2. OSNOVNI DIO

2.1. BRAZDANJE

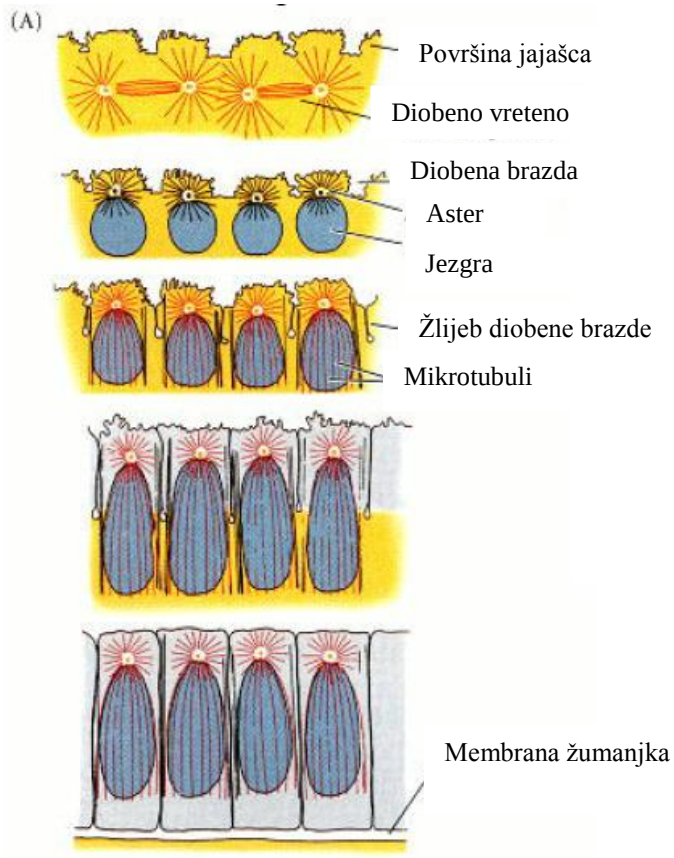
Kod većine kukaca, kao i kod vinske mušice, nakon oplodnje dolazi do superficijalnog brazdanja, s obzirom da velika masa žumanjka smještenog u središnjem dijelu jajeta (centrolecitelno), ograničava brazdanje na citoplazmatski dio jajne stanice (meroblastičko, superficijalno brazdanje). Jedna od fascinantnih karakteristika ovog tipa brazdanja je da ne dolazi do formiranja stanica sve dok se jezgra ne podijeli (Slika 2.). Jezgra zigote prolazi nekoliko mitotičkih dijeljenja unutar središnjeg dijela jajeta. Zatim dolazi do migracije jezgara na periferni dio jajeta, gdje se mitoza nastavlja, iako postepeno dolazi do smanjenja stope dijeljenja. Tijekom devetog ciklusa podjele, pet jezgara doseže površinu posteriornog pola embrija. Zatim dolazi do zatvaranja tih jezgara staničnim membranama i one postaju stanice iz kojih će nastati gamete odrasle jedinke. Većina ostalih jezgara odlazi na periferiju embrija tijekom desetog ciklusa dijeljenja i zatim prolazi kroz još četiri podjele. Tijekom ove faze podjele jezgara, embrij se naziva sincitijalni blastoderm, što znači da se sve jezgre nalaze unutar zajedničke citoplazme. Ne postoje druge membrane, osim membrane samog jajeta (Gilbert, 2003). Karr i Alberts pokazali su svom radu da svaka jezgra unutra sincitijalnog blastoderma sadržava unutar svog malenog teritorija proteine citoskeleta. Kada jezgre dosegnu periferiju jajeta tijekom desetog ciklusa dijeljenja svaka jezgra postaje okružena mikrotubulima i mikrofilamentima. Jezgre i njima pridruženi citoplazmatski otoci nazivaju se energide (Karr i Alberts, 1986)



Slika 2. Brazdanje oplođene jajne stanice vinske mušice, *Drosophila melanogater*.

(Izvor: Gilbert, 2003)

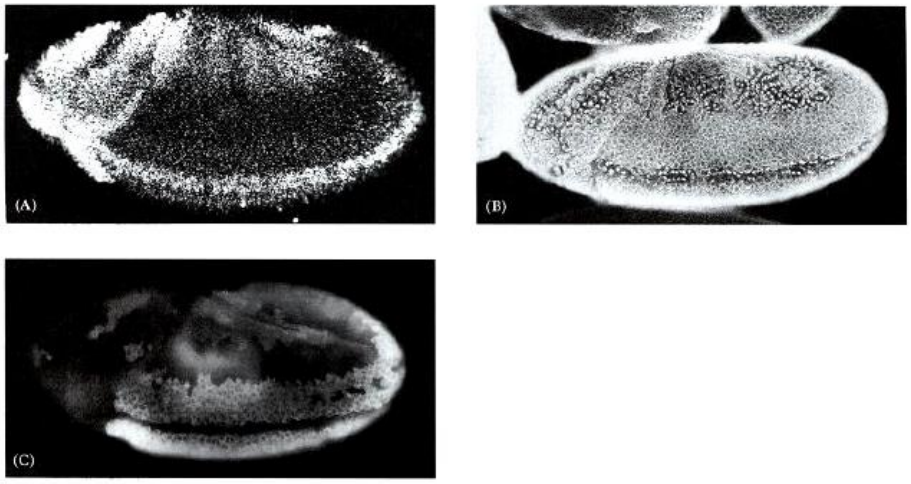
Nakon trinaestog ciklusa, plazmatska membrana oocite savija se prema unutra imeđu jezgara, a u konačnici dolazi do odvajanja svake somatske jezgre u zasebnu stanicu (Slika 3.). Tim procesom dolazi do nastanka staničnog blastoderma u kojem su stanice raspoređene u jednoslojni ovoj oko žumanjčane jezgre jajeta (Turner i Mahowald, 1977; Foe i Albetrs, 1983). Kao i kod svakog drugog procesa formiranja stanica, formiranje staničnog blastoderma uključuje blisku suradnju između mikrofilamenata i mikrotubula. Prvu fazu nastanka stanica blastoderma karakterizira invaginacija stanične membrane i aktinsko–mikrofilamentarne mreže u regiju između jezgara kako bi se formirale brazde. Zatim slijedi druga faza celularizacije. Tijekom ove faze povećava se broj invaginacija i aktin–membranski kompleks se počinje sužavati na dio koji će u konačnici činiti bazalni kraj stanice (Schejter i Wieschaus, 1993). Kod jedinki vrste *Drosophila*, stanični blastoderm sadrži približno 6000 stanica i formiran je 4 sata nakon oplodnje.



Slika 3. Proces nastanka blastoderma. (Izvor: Gilbert, 2003)

Kada se jezgre pomaknu na periferni dio stanice, vrijeme potrebno za završetak svake od četiri sljedeće podjele postaje postupno dulje. Dok je svaki ciklus od prvog do desetog dug 8 minuta, ciklusu 13, koji je zadnji ciklus u stadiju sincitijalnog blastoderma, treba 25 minuta

kako bi bio dovršen. Četrnaesti ciklus, u kojem kod *Drosophila* embrija dolazi do formiranja stanica je asinkron. Pojedine grupe stanica završavaju ovaj ciklus u 75 minuta, dok je drugim grupama stanica potrebno 175 minuta (Foe, 1989). Transkripcija koja započinje oko jedanaestog ciklusa je znatno poboljšana u ovoj fazi. Ovo usporavanje podjele jezgara i istodobno povećanje transkripcije RNA molekula često se naziva midblastula transition (prijelaz) (Slika 4.). Takav prijelaz također je vidljiv u embriju brojnih kralježnjaka i beskralježnjaka (Wolpert, 2002).

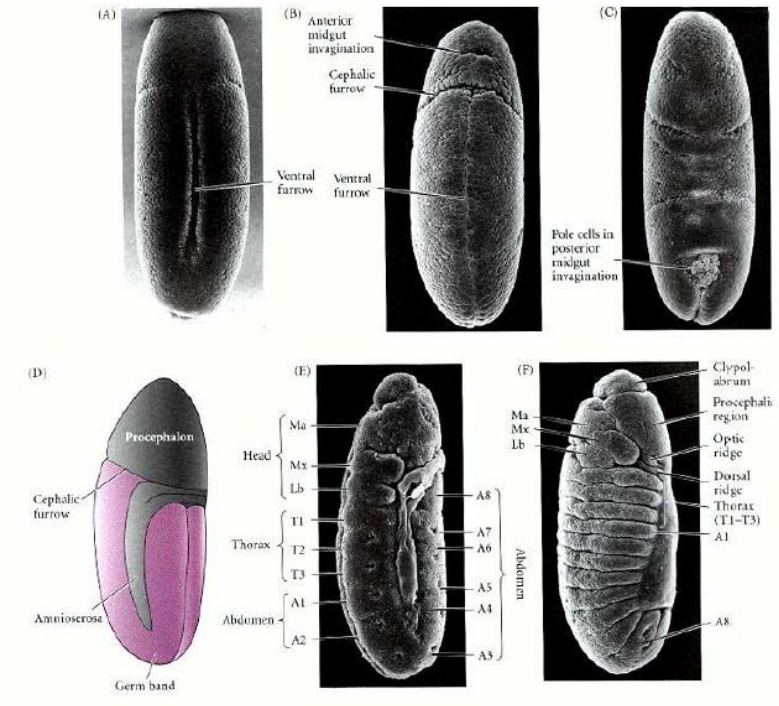


Slika 4. Prikaz midblastula prijelaza. (Izvor: Glibert, 2003)

2.2. GASTRULACIJA

U stadiju midblastula prijelaza započinje proces gastrulacije. Prva kretanja tijekom gastrulacije odjeljuju budući ektoderm, endoderm i mezoderm. Potencijalni mezoderm sadrži oko 1000 stanica koje čine središnji, ventralni dio embrija te se savija prema unutra kako bi nastala ventralna brazda. Iz ove brazde u konačnici se formira ventralna cijev unutar embrija. Potencijalni endoderm invaginira u obliku dva džepa na anteriornom i posteriornom kraju ventralne brazde. Stanice sa vršnog dijela odlaze u unutrašnji dio embrija zajedno s endodermom. U ovom trenutku dolazi do savijanja embrija tako da se formira cefalička brazda. Ektodermalne stanice na površini i stanice mezoderma prolaze kroz procese konvergencije i izduživanja, te migriraju prema središnjoj ventralnoj liniji kako bi formirale zametni sloj stanica duž središnjeg, ventralnog dijela koji uključuje stanice koje će biti

uključene u formiranje trupa embrija. Taj se sloj stanica produžuje posteriorno, vjerojatno zbog kapsule jajeta koja okružuje dorzalnu površinu embrija (Gilbert, 2003) (Slika 5.).



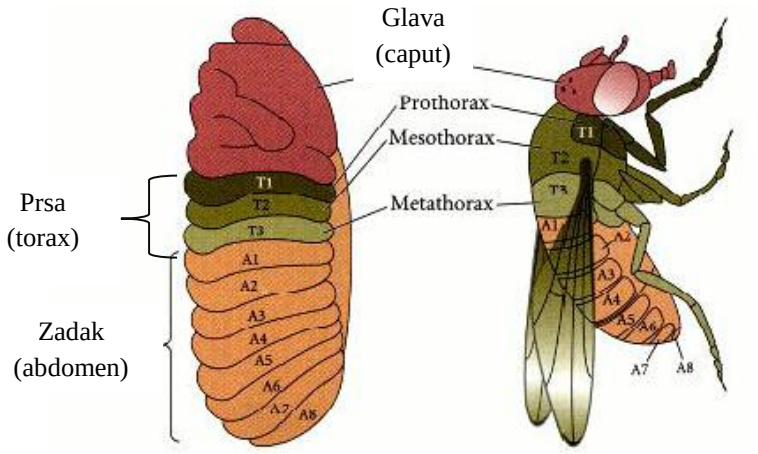
Slika 5. Proces gastrulacije. (Izvor: web 3)

Zbog toga se, pri završetku stvaranja tog zametnog sloja stanica (vrpce), stanice predodređene formiranju posteriornih ličinačkih struktura nalaze odmah iza buduće regije glave. U tom trenutku, počinju se pojavljivati segmenti tijela, razdvajajući ektoderm i mezoderm. Zametna vrpca se zatim povlači, postavljajući buduće posteriorne dijelove na stražnji vrh embrija. Dok je zametna vrpca u svom izduženom položaju, događa se nekoliko ključnih morfogenetskih događaja: organogeneza, segementacija i segregacija imaginalnih diskova. Živčani sustav formiran je iz dvije regije ventralnog ektoderma. Neuroblasti se razlikuju od neurogenog ektoderma unutra svakog segmenta. Živčani sustav vinske mušice nalazi se ventralno, dok je kod kralježnjaka izveden iz dorzalne neuralne cijev (Gilbert, 2003).

2.3. SEGMENTIRANJE

Opći plan tijela jedinki vrste *Drosophila* jednak je kod embrija, ličinačkog i odraslog stadija, gdje postoje odvojeni krajevi tijela - glava i „rep“ (stražnji kraj tijela), između kojih su

ponovljene segmentirane jedinice (Slika 6.), od kojih tri formiraju prsa (thorax), dok ostalih osam formira zadak (abdomen). Svaki segment odrasle vinske mušice ima vlastiti identitet. Prvi torakalni segment, na primjer, sadrži samo noge, drugi torakalni segment noge i krila, dok treći torakalni segment sadrži noge i organ zadužen za koordinaciju rotacije tijekom leta, haltere. Torakalni i abdominalni segmenti također se mogu razlikovati od drugih prema razlikama u kutikuli (Habdija i sur., 2011). Tijekom proteklog desetljeća, kombinacijom molekularnog, genetičkog i embrionalog pristupa razvio se detaljan model koji opisuje kako dolazi do segmentiranja duž anteriorno–posteriorne osi i kako se segmenti međusobno razlikuju. Anteriorno–posteriorna i dorzalno–ventralna os vinske mušice formira se pod pravim kutem i obje su određene položajem oocite unutar folikularnih stanica jajnika (Wolpert, 2002).

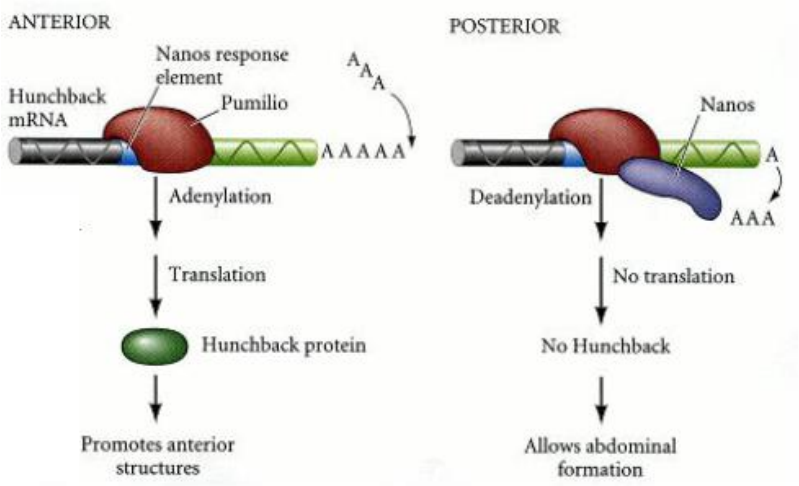


Slika 6. Opći plan raspodjele pojedinih segmenata duž anteriorno–posteriorne osi tijela, u različitim životnim stadijima vinske mušice. (Izvor: Gilbert, 2003)

2.3.1. ODREĐIVANJE ANTERIORNO-POSTERIORNE OSI

Anteriorno–posteriorna os embrija vinske mušice pojavljuje se prije nego jezgre započnu funkcionirati. Sestrinske stanice jajnika nakupljaju mRNA molekule tijekom razvoja jajnika i te mRNA molekule su razdijeljen u različite regije stanice. Četiri majčinske mRNA molekule kritične su za stvaranje anteriorno-posteriorne osi. To su *bicoid* i *hunchback* mRNA čiji su produkti ključni za formiranje glave i toraksa te *nanos* i *caudal* mRNA koje su važne pri stvaranje abdominalnih segmenata (Gilbert, 2003). *Bicoid* mRNA molekule lokalizirane su u anteriornom dijelu neoplođenog jajeta i povezane su s anteriornim mikrotubulima. *Nanos* mRNA su vezane za citoskelet posteriorne regije neoplođenog jajeta. *Hunchback* i *caudal*

mRNA molekule raspoređene su duž oocite. Nakon oplodnje te mRNA molekule mogu se translatirati u proteine. Na anteriornom dijelu, *bicoid* RNA se translatira u Bicoid protein, koji formira gradijent najintenzivniji u anteriornoj regiji. Na posteriornom dijelu *nanos* RNA molekule se translatiraju u Nanos protein koji formira gradijent najveći u poteriornoj regiji. Bicoid protein veže se na specifičnu 3´ netranslatiranu regiju *caudal* mRNA molekule i na taj način sprječava translaciju u anteriornom dijelu embrija (Dubnau i Struhl, 1996). Ukoliko dođe do stvaranja Caudal proteina u anteriornom dijelu, glava i prsa se neće pravilno oblikovati. Bicoid proteini funkcioniraju kao transkripcijski faktori tako što ulaze u jezgre embrija u stadiju ranog bradzanja gdje aktiviraju *hunchback* gene. Transkripcija *hunchback* gena vidljiva je samo u anteriornoj polovici embrija. Mutantima kojima manjkaju majčini i Hunchback proteini zigote nedostaju dijelovi usta i torakalne strukture. Hunchback protein je transkripcijski faktor koji vrši represiju abdominalnih sprecifičnih gena čime je omogućena ekspresija *hunchback* gena kako bi se formirale glava i toraks (Gilbert, 2003). Važnost Bicoid proteina u inicijaciji formacije glave i toraksa dolazi iz eksperimenata u kojima je pročišćena *bicoid* RNA injektirana u embrije tijekom rane faze brazdanja. Bilo koji dio embrija u koji je injektirana *bicoid* RNA postaje glava, a ako je ta molekula injektirana u središte embrija ta regija postaje glava, a regije s obje strane postaju torakalne strukture (Drivder i sur.,1990). Caudal protein je ključan u specifikaciji posteriornih domena embrija i aktivira gene odgovorne za invaginaciju stražnjeg dijela embrionalnog crijeva iz kojeg se razvija debelo crijevo (Wu i Lengyel, 1998). Posteriorni organizacijski centar definiran je aktivacijom *nanos* gena. Nanos mRNA vezana je za citoskelet u posteriornoj regiji jajeta preko 3´UTR regije i povezana je s produktima nekoliko drugih gena. *Nanos* gen miruje u neoplođenom jajetu zbog Smaug proteina vezanog na njegovu 3´UTR regiju. Tijekom oplodnje taj oblik represije se otklanja i omogućava se sinteza Nanos proteina. Funkcija tog proteina temelji se na inaktivaciji translacije *hunchback* mRNA (Tautz, 1988) (Slika 7.). U anteriornoj regiji embrija *hunchback* mRNA je preko svoje 3´UTR regije vezana na Pumilio protein čime je omogućena njena translacija u Hunchback protein. U posteriornoj regiji embrija u ranom stadiju vezani Pumilio može biti udružen sa Nanos proteinom, što za posljedicu ima deadenilaciju *hunchback* mRNA, odnosno sprječavanje njezine translacije. Rezultat svih interakcija je stvaranje gradijenta četiri proteina u ranom embriju.



Slika 7. Prikaz djelovanja Nanos proteina. (Izvor: Gilbert, 2003)

2.3.2. SEGMENTACIJSKI GENI (GAP, PAIR RULES I SEGMENT POLARITY GENI)

Prijelaz iz segmentacije u determinaciju kod jedinki vrste *Drosophila* je posredovan segmentacijskim genima. Upravo ti geni dijele rani embrij u ponavljajuće serije segmentalnih primordija duž anteriorno-posteriorne osi. Mutacije u segmentalnim genima uzork su nedostatka nekih segmenata ili njihovih dijelova. Segmentalni geni dijele embrij na 14 parasegmenata. Tijelo ličinke i odrasle jedinke anatomski je podijeljeno na segmente, a oni su izgrađeni prema pravilima parasegmenata koji su osnovne gradivne jedinice. Prijelaz s embrija kojeg karakterizira gradijent morfogena na embrij s različitim jedinicama ostvaren je produktima gap gena. **Gap geni** su inaktivirani ili aktivirani majčinim efektornim genima koji dijele embrij u regije od kojih svaka sadrži nekoliko parasegmentalnih primordija. Nedostatak *krüppel* gena koji je primarno izražen u parasegmentima 4 do 6, u središnjem dijelu embrija vinske mušice uzrokuje nedostatak upravo te regije embrija. Proteini, produkti gap gena, dolaze u interakciju sa susjednim proteinima gap gena i aktiviraju transkripciju **pair-rules** (parnih regulatornih) gena (Gilbert, 2003). Transkripcijski uzorci tih gena su upečatljivi po tome što dijele embrij na područja koja su prekursori segmentalnog plana tijela. Rezultat je „zebrasti uzorak“ duž anteriorno-posteriorne osi, koji dijeli embrij u 15 podjedinica (Hafen i sur., 1984). Trenutno je poznato 8 gena koji mogu podjeliti embrij na taj način (Tablica 1). Poznata su tri primarna pair-rules gena. To su *hairy, even-skipped* i *runt* geni koji su neophodni za formaciju periodičnog uzorka, a direktno ih kontroliraju proteini gap gena. Pojačivač (eng. e*nhancer*) i primarnih parnih-regulatornih gena prepoznati su pomoću

proteina gap gena i smatra se kako različite koncentracije tih proteina određuju hoće li doći do transkripcije parnih-regulatronih gena ili ne (Gilbert, 2003).

Tablica 1. Popis glavnih gena koji utječu na segmentaciju kod vinske mušice. (Izvor: Wolpert, 2002)

Category		Category	
Gap genes	*Krüppel (Kr)*	Pair-rule genes Secondary	*fushi tarazu (ftz)*
	knirps (kni)		*odd-paired (opa)*
	hunchback (hb)		*odd-skipped (slp)*
	giant (gt)		*sloppy-paired (slp)*
	tailless (tll)		*paired (prd)*
	huckendein (hkb)		
	buttonhead (btd)	Segment	*engrailed (en)*
	empty spiracles (ems)	polarity genes	*wingless (wg)*
	orthodenticle (otd)		*cubitus interruptus*^{D}(*ci*^{D})
			hedgehog (hh)
Pair-rule genes Primary	*hairy (h)*		*fused (fu)*
	even-skipped (eve)		*armadillo (arm)*
	runt (run)		*patched (ptc)*
			gooseberry (gsb)
			pangolin (pan)

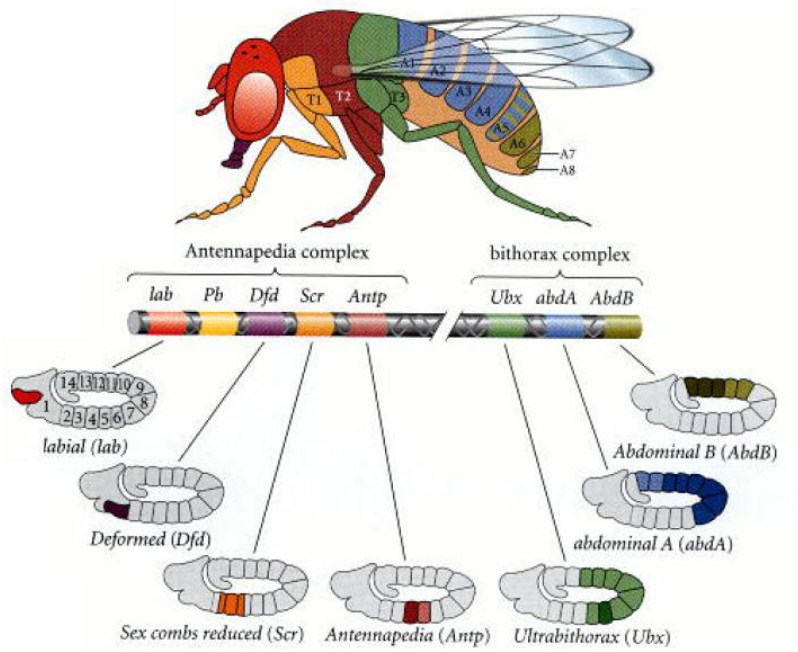
Segment polarity geni (geni polariteta) odgovorni su za održavanje određenih ponavljajućih struktura unutar svakog segmenta i kodiraju proteine koji su sastavni dijelovi Wingless i Hedgehog signalnih puteva. Razvoj normalnog rasporeda pojedinih segemenata, oslanja se na činjenicu da je samo jednom redu stanica u svakom parasegmentu dopušteno izraziti Hedgehog protein i samo jednom redu stanica u svakom parasegmentu je dopušteno izraziti Wingless protein. Ključ je aktivacija *engrailed* gena u tim stanicama koje izražavaju Hedgehog protein. *Engrailed* gen je aktiviran kada stanice imaju visoku razinu *Even-skipped, Fushi-tarazu* ili *Paired* transkripcijskog faktora, a potisnut u onim stanicama koje imaju visoku razinu Odd-skipped, Runt ili Sloppy-paired proteina. *Wingless* gen je aktivan u onim bendovima stanica koje primaju vrlo malo ili nimalo Even skipped ili Fushi tarazu proteina, ali sadrže Sloppy-paired protein. Jednom kada je uspostavljena ekspresija *wingless* i *engrailed* gena u susjednim stanicama, to se mora održati kako bi se zadržala periodična parasegmentalnost tijela uspostavljena parnim regulatornim genima. Održavanje se temelji na interakciji između stanica koje izražavaju *wingless* i onih koje izražavaju *engrailed*. Wingless protein izlučen iz stanica koje izražavaju *wingless* gen difundira u susjedne stanice (Gilbert, 2003). Stanice koje izražavaju *engrailed* mogu vezati taj protein zato što posjeduju membranski receptor za protein Wingless koji se naziva D-Frizzled-2 (Bhanot i sur., 1996).

Taj receptor aktivira Wnt signalni put, što za posljedicu ima kontinuiranu ekspresiju *engrailed* gena (Siegfried i sur., 1994). Ova aktivacija započinje još jedan dio tog puta. Engrailed protein aktivira transkripciju *hedgehog* gena u stanicama koje izražavaju *engrailed* gen. Hedgehog protein može se vezati na Hedgehog receptor susjedne stanice. Kada se veže na susjednu posteriornu stanicu, stimulira ekspresiju *wingless* gena. Kao rezultat, stanice koje sintetiziraju Engrailed protein izlučuju Hedgehog protein, koji održava ekspresiju wingless gena u susjednim stanicama, dok stanice koje izlučuju Wingless protein održavaju ekspresiju *engrailed* i *hedgehog* gena u njihovom susjedstvu. Difuzija tih proteina osigurava gradijent pomoću kojeg stanice parasegmenata stječu svoj identitet. Taj proces može se uočiti u dorzalnoj epidermi, gdje redovi ličinačkih stanica stvaraju različite kutikularne strukture ovisno o njihovom položaju unutar segmenta. Prvi red sastoji se od velikih, pigmentiranih šiljaka koji se nazivaju zubićima. Posteriorno od tih stanica drugi red stvara glatku epidermalnu kutikulu. Sljedeća dva reda stanica stvarat će manje i deblje dlake, a njih prati nekoliko redova stanica koje će stvarati fine dlačice. Stanice koje eksprimiraju *wingless* gen leže unutar regija koje proizvode dlake, dok se stanice koje izražavaju *hedgeho*g gen nalaze u blizini prvog reda stanica (Gilbert, 2003).

2.3.3. *HOMEOBOX* GENI

Naziv homeobox dolazi od činjenice da mutacije u nekima od tih gena rezultiraju u „homeotičkoj“ (homeotic) transformaciji, u kojoj jedna struktura zamjenjuje drugu. Naziv homeosis potiče iz 1940. godine, kada je primijećeno da kod vinske mušice postoji mutacija koja rezultira stvaranjem dijelova tijela na pogrešnom mjestu (noga na glavi, oko na nozi i sl.). Svaki od tih homeotičkih gena djeluje na neki drugi dio mušice, a svi su posloženi istim redom kao i dijelovi mušice na koje su djelovali. Oni predstavljaju obitelj gena koji kodiraju veliku grupu transkripcijskih faktora. Svi transkripcijski faktori sadrže sličnu DNA-vezujuću regiju od 60 aminokiselina, koja se naziva homeodomena. Ona sadrži helix-turn-helix DNA-vezujući ostatak koji je karakterističan za mnoge DNA-vezujuće proteine. Homeodomenu kodira DNA sekvenca od 180 parova baza koji se nazivaju homeobox. Dakle, mnogi homeobox geni sudjeluju u procesima razvitka, a prvotno su identificirani u genima koji kontroliraju segmentaciju tijela vinske mušice (Wolpert, 2002). Hox geni kodiraju za transkripcijske faktore koji sadrže homeodomenu. Hox proteini imaju kiselinski ostatak na C-terminalnom kraju i pentamernu regiju uzvodno od homeodomene koja se veže na TALE

(three amino acid loop extension) proteine koji imaju ulogu ko-faktora. Hox geni su organizirani u klastere koji se nalaze na različitim kromosomima, a čiji broj varira ovisno o evolucijskoj odvedenosti organizma. Uloga hox gena je najbolje istražena u embrionalnom razvoju beskralježnjaka i kralježnjaka, jer su hox geni ključni za pravilan broj i raspored segmenata embrija; od broja krila vinske mušice do broja prstiju čovjeka. Istraživanja su pokazala da za vrijeme oogeneze dolazi do ekspresije majčinih gena te se u jajnoj stanici nakon oplodnje točno zna koji će dio postati anteriorni dio tijela, a koji posteriorni. Nakon toga dolazi do ekspresije gena samog zametka, najprije gap geni, zatim slijede pair rules geni, odgovorni za stvaranje svakog drugog segmenta, i na kraju segment polarity geni. Aktivacijom tih gena aktiviraju se homeotički geni, odnosno nakon prvotne segmentacije embrija, u kasnijoj embriogenezi do izražaja dolaze hox geni. Oni u pojedinom segmentima određuju strukturu koja će se iz njih razviti npr. krila, ticala ili noge. *Drosophila melanogaster* ima jedan hox klaster (Hom-C) koji se sastoji od osam gena, od kojih svaki sudjeluje u specijalizaciji pojedinih segmenata glave, toraksa ili abdomena. Taj se klaster nalazi na trećem kromosomu te je podijeljen u dvije grupe; Antennapedia kompleks i Bithorax kompleks (Gilbert, 2003) (Slika 8.). Jedna regija koja se naziva Antennapedia kompleks sadrži homeotske gene *labial* (*lab*), *Antennapedia* (*Antp*), *sex combs reduced* (*scr*), deformed (*dfd*) i *proboscipedia* (*pb*). *Labial* i *deformed* geni specifiraju segmente glave, dok *sex combs reduced* i *Anetnnapedia* doprinose određivanju funkcija torakalnih segmenata. Druga regija homeotskih gena je Bithorax kompleks. Tri su protein kodirajuća gena u tom kompleksu: *ultrabithorax* koji je zadužen za identitet trećeg torakalnog segmeta, te *abdominal* A (abdA) i *abdominal* B (abd B) koji su odgovorni za identitet abdominalnih segmenata (Sánchez-Herrero i sur., 1985). Budući da su ovi geni odgovorni za specifikaciju dijelova tijela zaduženih za let, njihove mutacije vode do razvitka bizarnih fenotipova, npr. kada je *ultrabithorax* gen uklonjen, treći torakalni segment transformira se u drugi. Rezultat je mušica sa četiri krila (Bateson, 1894) (Slika 9.).



Slika 8. Prikaz 3. kromosoma vinske mušice podijeljen u 2 grupe. (Izvor: Gilbert, 2003)



Slika 9. Prikaz vinske mušice sa 4 krila. (Izvor: web 4)

2.3.4. ODREĐIVANJE DORZO-VENTRALNE OSI

Dorzo-ventralni polaritet uspostavlja se djelovanjem transkripcijskog faktora koji se naziva Dorsal. Za razliku od proteina Bicoid čiji je gradijent uspostavljen unutar sincitija, Dorsal stvara svoj gradijen preko polja stanica koja su nastala kao posljedica signalnih događaja između stanica. Specifikacija dorzo-ventralne osi događa se u nekoliko koraka. Ključan korak

je translokacija proteina Dorsal iz citoplazme u jezgru ventralnih stanica tijekom 14 ciklusa dijeljenja. Protein koji odjeljuje dorzalnu stranu od ventralne je produkt *dorsal* gena. RNA prijepis (transkript) majčinog *dorsal* gena smješten je u oocitu, stanicu njezina jajnika. Međutim ovaj protein ne sintetizira se sve do otprilike 90 minuta nakon oplodnje. Kada je protein sintetiziran, može se pronaći duž embrija, ne samo na ventralnoj ili dorzalnoj strani. Dorsal protein se u jezgri veže za određene gene kako bi aktivirao ili potisnuo njihovu transkripciju. Ukoliko Dorsal protein ne uđe u jezgru, geni odgovorni za specifikaciju ventralnih stanica (*snail* i *twist*) se ne transkribiraju, geni odgovorni za specifikaciju dorzalnih stanica (*decapentaplegic* i *zerknüllt)* nisu utišani i sve stanice embrija specificiraju se kao dorzalne stanice. Taj model formiranja dorzo-ventralne osi potvrđen je analizama mutacija koje daje fenotip koji je u potpunosti dorzaliziran ili ventraliziran. U onim mutantima u kojima su sve stanice dorzalizirane, Dorsal protein ne ulazi ni u jednu jezgru. Suprotno tome, u onim mutantima u kojima sve stanice imaju ventralni fenotip, Dorsal protein nalazi se u svakoj jezgri (Gilbert, 2003).

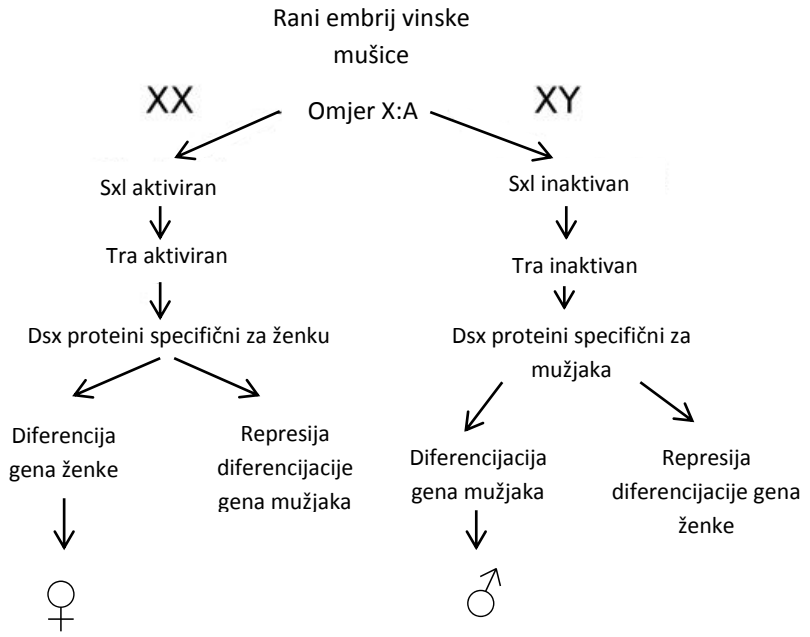
Prijenos signala posredovan je kompleksnom interakcijom između oocite i folikularnih stanica. Folikularni epitel koji okružuje oocite u razvoju u počeku je simetričan, ali ta simetrija se narušava signalima iz jezgre oocite. Jezgra oocite u početku se nalazi na posteriornom kraju, zatim se pomiče u prednju, dorzalnu poziciju i signalizira folikularnim stanicama da postanu stupičaste, dorzalne, folikularne stanice (Schüpbach i sur., 1991). Signal dorzalizacije iz jezgre oocite produkt je *gurken* gena (Forlani i sur., 1993). *Gurken* mRNA lokalizirana je između jezgre i plazmatske membrane oocite, a protein, produkt tog gena, formira anteriorno-posteriorni gradijent duž dorzalne površine oocite (Neuman-Silberberg i Schüpbach, 1993). Gurken signal primaju folikularne stanice preko receptora kojeg kodira *torpedo* gen. Molekularnom analizom utvrđeno je kako *gurken* kodira homolog epidremalnog faktora rasta (EGF) kod kralježnjaka, dok gen *torpedo* kodira homolog EGF receptora. *Torpedo* gen aktivan je u folikularnim stanicama jajnika, ne unutar embrija. Nizom kaskada različitih gena uviđa se da je bitan Cactus protein koji blokira dio Dorsal proteina koji mu omogućuje da uđe u jezgru. Dokle god je Cactus protein vezan na njega, on ostaje u citoplazmi. Dakle, cijeli taj kompleksni signalni sistem organiziran je kako bi odvojio Cactus protein od Dorsal proteina u ventralnu regiju jajeta.

Šesnaest ventralnih stanica s najvećom koncentracijom Dorsal proteina sudjeluje u generiranju mezoderma. Sljedeća stanica iznad te regije generira specijalizirane glija i neuralne stanice. Slijedeće dvije stanice razvijaju se u ventralni epidermis, dok devet stanica iznad njih daju dorzlnu epidermu. Svi mišići tijela, masno tkivo i gonade, nastali su iz

mezodermalnih stanica. Kao posljedica odgovora na gradijent Dorsal proteina os se podjeli na mezoderm, mezektoderm, živčani ektoderm, epidermu i aminoserozu (Gilbert, 2003).

2.4. ODREĐIVANJE SPOLA

Određivanje spola kod vinske mušice regulirano je kaskadom događaja obrade RNA (Baker i sur., 1987; MacDougall i sur., 1995). Razvoj spolnog fenotipa u vinskoj mušici je posredovan odnosom X kromosoma s autosomima. X kromosomi proizvode transkripcijske čimbenike koji aktiviraju *Sex-lethal* gen (Sxl), dok autosomi proizvode transkripcijske čimbenike koji se natječu za ove aktivatore. Kada je omjer X kromosoma i autosoma 1, tj. kada postoje dva X kromosoma po diploidnoj stanici, Sxl gen je aktivan, a embrij se razvija u ženku. Kada je omjer 0.5, zapravo kada postoji samo jedan X kromosomom po diploidnoj stanici, Sxl gen nije aktivan, a embrij se razvija u mužjaka (Slika 10.). Protein Sxl djeluje kao diferencijalni faktor spajanja na nRNA gena *transformatora* (tra). Tijekom ličinačkog stadija, tra gen aktivno sintetizira transkript koji se obrađuje ili u opću mRNA (pronađeno kod ženki i mužjaka) ili u mRNA specifičnu za ženke. mRNA specifična za ženke se sintetizira kada se Sxl veže na nRNA i inhibira formiranje spliceosoma na općem mjestu 3' prvog introna (Sosnowski et al., 1989). Umjesto toga, spliceosomi se formiraju na drugom, manje učinkovitom mjestu 3' i omogućuju prekrajanje. Kao rezultat toga, oblik transformatorske mRNA ženke nema dio RNA koji se nalazi u općem obliku. Ovo je presudna razlika, jer ovaj dio sadrži translacijski stop kodon (UGA) koji uzrokuje da poruka napravi mali, nefunkcionalni protein. Stoga, opći transkript nema utjecaja na određivanje spola (Belote i sur., 1989). Međutim, u mRNA specifičnoj za ženke, UGA kodon je izbačen tijekom stvaranja mRNA i ne ometa prijevod poruke. Transkript transformatora ženke je jedini funkcionalni prijepis tog gena. Transformer protein je alternativni faktor spajanja koji regulira spajanje nuklearnog transkripta gena *doublesex* (dsx). Ovaj gen je neophodan za proizvodnju bilo kojeg spolnog fenotipa, a mutacije dsx gena mogu promijeniti očekivana spolna obilježja, uzrokujući da embriji XX postanu mužjaci ili XY embriji da postanu ženke.



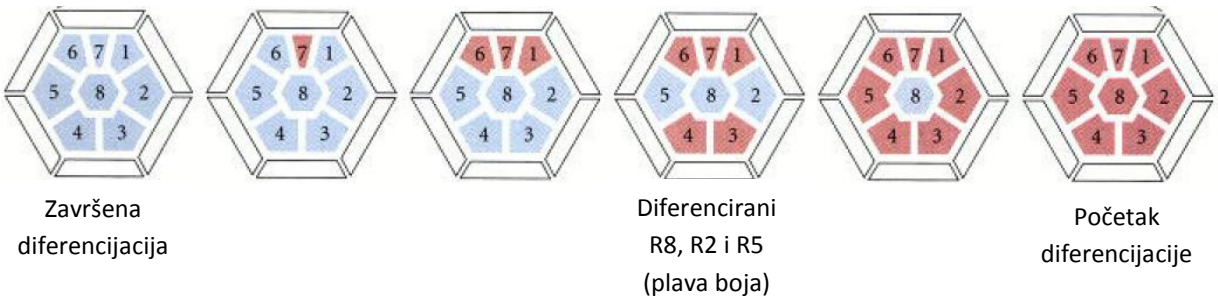
Slika 10. Prikaz gena koji su aktivirani u embriju pri stvaranju pojedinog spola. (Izvor: web 5)

2.5. RAZVOJ POJEDINIH ORGANA

2.5.1. OČI

Mrežnica jedinki vrste *Drosophila* se sastoji od oko 800 jedinica nazvanih omatidijima. Svaki omatidij se sastoji od 20 stanica, postavljenih u preciznom uzorku. Osam od tih stanica su fotoreceptori; ostatak su stanice leća. Oko se razvija u ravnom epitelnom sloju imaginalnog diska oka ličinke. Nema stanica izravno iznad ili ispod tog sloja, tako da su interakcije ograničene na susjedne stanice u istoj ravnini. Razlučivanje ovih slučajno raspoređenih epitelnih stanica u retinalne fotoreceptore i njihove okolne leće događa se tijekom posljednjeg (trećeg) stadija ličinke. Na stražnjem rubu imaginalnog diska nastaje utiskivanje, a ta morfogenetska brazda počinje kretati naprijed prema prednjem dijelu epitela. Kretanje brazde ovisi o interakciji dvaju parakrinih čimbenika, Hedgehog i Decapentaplegic. Hedgehog se stvara iz stanica koje su neposredno iza brazde i inducira ekspresiju Decapentaplegic proteina unutar brazde (Heberlein et al., 1993). Budući da se retinalne stanice počinju diferencirati iza brazde, oni luče Hedgehog protein koji potiče pomicanje brazde anteriorno. Kako morfogenetska brazda prolazi kroz pojedinu regiju stanica, te se stanice počinju diferencirati određenim redom. Prvo se diferenciraju stanice središnjeg fotoreceptora (R8). Još nije poznato kako brazda određuje da neke stanice postanu fotoreceptori R8, ali je moguće da

bjelančevine Decapentaplegic i Hedgehog u brazdi potiču diferencijaciju R8. Smatra se da R8 potiče stanicu prije i nakon njega (jedan nasuprot drugog) da postanu R2 i R5 fotoreceptori (Slika 11.). Fotoreceptori R2 i R5 su funkcionalno ekvivalentni, tako da je signal iz R8 vjerojatno isti za obje stanice (Tomlinson i Ready, 1987). Signali iz ovih stanica potiču još četiri susjedne stanice da postanu R3, R4, a zatim fotoreceptori Rl i R6 (Slika 11.). Posljednji se pojavljuje fotoreceptor R7. Druge stanice oko ovih fotoreceptora postaju stanice leća. Ako stanice nisu inducirane, uvijek nastaje leća. Za normalno formiranje leće, važna je indukcija optičke vezikule, koja nastaje u određenom području neuralne ektoderme. Čini se da se skupina transkripcijskih faktora Six3, Pax6 i Rx1 stvara zajedno u samom prednjem vrhu neuralne ploče. Ova jedinstvena domena kasnije će se podijeliti u bilateralne regije koje će oblikovati optičke vezikule. Uviđa se sličnost između vinske mušice i živčanog sustava kralježnjaka, jer su ta tri proteina potrebna za formiranje oka vodozemaca (*Xenopus* sp.), sisavaca (miš, štakor) te vinske mušice. Pax6 protein ima osobito važnu ulogu u razvoju leće i mrežnice. Na primjer, ako je mišji Pax6 gen umetnut u genom vinske mušice i aktiviran slučajno, oči mušice nastaju u onim stanicama u kojima se eksprimira mišji Pax6 (Halder i sur., 1995). Poznat je i *White* gen u vinske mušice koji može biti uključen u heterokromatin ili izvan njega te time stvarati crvene ili bijele oči u mušice (Cooper i Hausman, 2004.)

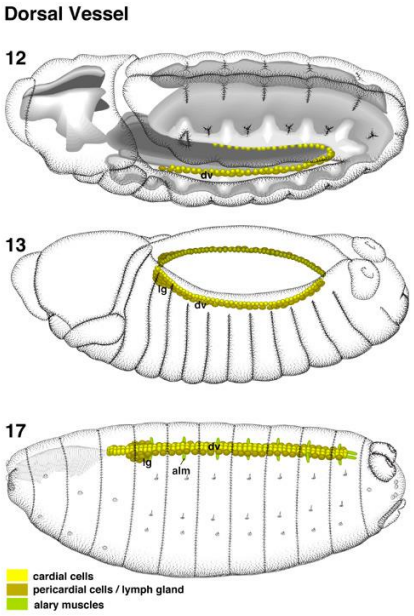


Slika 11. Diferencijacija fotoreceptornih stanica. (Izvor: Gilbert, 2003)

2.5.2. SRCE

Srce vinske mušice ili stežljiva leđna žila je jednostavna cijevasta struktura koja se formira na dorzalnoj sredini embrija i pumpa hemolimfu kroz tjelesnu šupljinu u otvorenom optjecajnom sustavu. Srce se sastoji od dvije glavne vrste stanica: unutrašnjih - kontraktilnih mišićnih stanica koje se poravnavaju u dva reda na svakoj strani ("kardijalne" ili "miokardijalne"

stanice) i vanjskih - koje čine perikardijalne stanice. Dva reda kardijalnih stanica čine središnju šupljinu, stvarajući unutrašnji atrij srca (Slika 12.), dok anteriorne perikardijalne stanice tvore organe koji stvaraju krv tijekom ličinačkih stadija. Dvije signalne molekule - decapentaplegic, dpp i wingless, wg, su potrebne za specifikaciju srčanih stanica. Također, one su važne za specifikaciju i drugih stanica unutar mezoderma. Različit omjer koncentracija dpp i wg u različitim dijelovima embrionalnog mezoderma utječe na razvoj i specifikaciju stanica u tim regijama. Pokazalo se da je homeobox gen, *tinman*, ključan za formiranje srca vinske mušice, na čiju ekspresiju dpp i wg imaju ključan utjecaj. Nekoliko gena sa sekvencom sličnom u *tinmanu* izražava se u primarnom srčanom tkivu kralježnjaka i vjerojatno su potrebni za razvoj srca viših organizama. Uz kontrolne transkripcijske faktore, razvoj srca također može ovisiti o induktivnim signalima. Gen *wingless* (wg), za koji je poznato da određuje segmentalnu polarnost i identitet neuroblasta u vinskoj mušici ima ulogu i u razvoju mezoderma. Funkcija wg gena je posebno potrebna za razvoj srca. Temperaturno osjetljiva mutacija wg korištena je za inaktivaciju gena wg tijekom preciznih razvojnih vremenskih razdoblja. Uklanjanje funkcije wg tijekom kratkog vremenskog perioda nakon gastrulacije rezultira selektivnim gubitkom srčanih prekursora, bez značajnog utjecaja na formiranje tjelesnih pregrada ili viscelarnih mišića, iako se uočavaju određeni defekti uzoraka. Ovaj razvojni zahtjev gena wg za kardijalnu organogenezu razlikuje se od funkcije u segmentaciji i neurogenezi. Zaključujemo da je signalizacija gena *wingless* ključna komponenta formiranja srca (Tao i sur, 2007).



Slika 12. Prikaz stanica koje formiranju leđnu žilu. (Izvor: web 1)

2.5.3 TRAHEJE

Trahealni sustav razgranatih cjevčica potječe od niza strukturnih pločica koje se projiciraju na blastodermu u 5. ciklusu i stvaraju dorzalni ektoderm. Iz skupine stanica na segmentima T2 do A8 razvija se po par trahealnih plakoda (zadebljanja ishodišnih stanica) na svakom segmentu. Trahealne plakode počinju invaginirati tijekom kasne faze 10. ciklusa. U ciklusu 11 formiraju sferne vezikule koje se otvaraju izvana neposredno iza razvodnih brazda. Ti vanjski otvori trahealnih udubljenja nestaju oko 14. ciklusa. Na položaju prethodnih otvora ostaju stanice koje tvore stalnu vezu između epiderme i lateralnih segmentalnih traheja (Hartenstein i Jan, 1992). Stanice formiraju trahealne histoblaste koje tijekom ličinačkog stadija proizvode zrele traheje. Tijekom 12. ciklusa, trahealna udubljenja se produljuju i oblikuju dorzalnu i ventralnu cjevastu strukturu, koja se grana na prednji i stražnji ogranak. Dorzalna cijev se grana na dvije bočne grane: jedna prema prednjem dijelu, a druga prema unutrašnjosti embrija. Sustav cjevčica obuhvaća abdominalne segmente od 1 do 8, dorzalni ektoderm, mesoderm; prsni segment (T1) te ventralne neurogene regije (web 1).

3. ZAKLJUČAK

Mnogostanični organizmi se postupno formiraju tijekom relativno sporih procesa progresivnih promjena koje nazivamo razvojem. S obzirom da se razvojni proces odvija po principu zajedničkom za sve organizme, vinska mušica, *Drosophila melanogaster*, čiji je embrionalni razvoj dobro proučen, može poslužiti kao modelni organizam za mnoge beskralježnjake. Brazdanje opođene jajne stanice vinske mušice, je superficijalno, a jezgra se podijeli 13 puta prije nego dođe do formiranja stanica te se jezgre nalaze unutar sincitijalnog blasoderma. Kada su stanice formirane, embrij vinske mušice prolazi kroz miblastula transition (prijelaz), gdje brazdanje postaje asinkrono i stvorena je nova mRNA. Gastrulacija započinje invaginacijom budućeg mezoderma te se formira ventralna brazda. Zametna vrpca se proširuje tako da se budući stražnji segmenti saviju neposredno iza buduće glave. Nakon određivanja anteriorno–posteriorne osi i „identiteta" svakog segmenta, određuje se dorzo–ventralna strana tijela interakcijom oocite i folikularnih stanica, a na kraju se određuju pojedini dijelovi embrionalnog tkiva koji će postati određeni organi postavljanjem tih dviju osi. Majčini efektorni geni zaduženi su za inicijaciju anteriorno-posteriorne polarnosti. Kada su određene parasegmentalne granice, dolazi do interakcije pair-rules gena i gap gena koji reguliraju selektorne homeotske (hox) gene, koji određuju identitet svakog pojedinog segmenta. Visok stupanj homologije je vidljiv između ljudskih hox gena i Hom-C gena vinske mušice. Mnogobrojni geni prvotno identificirani u vinske mušice, čiji su geni od svih životinjskih vrsta najbolje proučeni, imaju svoje kopije uključene u razvitak većine skupine beskralježnjaka i kralježnjaka. Mnogi razvojni procesi nevjerojatno su slični u različitih vrsta, stoga istraživači rade s drugim (modelnim) organizmima, da bi naučili više o razvitku čovjeka.

4. LITERATURA

Casanova, J., Sánchez-Herrero, E., & Morata, G. (1986). Identification and characterization of a parasegment specific regulatory element of the abdominal-B gene of *Drosophila*. *Cell*, *47*(4), 627-636.

Cooper, C. M., & Hausman, R. E. (2004). The cell: a molecular approach Washington. *DC: ASM*.

Driver, R., Asoko, H., Leach, J., Scott, P., & Mortimer, E. (1994). Constructing scientific knowledge in the classroom. *Educational researcher*, *23*(7), 5-12.

Dubnau, J., & Struhl, G. (1996). RNA recognition and translational regulation by a homeodomain protein. *Nature*, *379*(6567), 694-699.

Foe, V. E., & Alberts, B. M. (1983). Studies of nuclear and cytoplasmic behaviour during the five mitotic cycles that precede gastrulation in *Drosophila* embryogenesis. *Journal of cell science*, *61*(1), 31-70.

Foe, V. E. (1989). Mitotic domains reveal early commitment of cells in *Drosophila* embryos. *Development*, *107*(1), 1-22.

Gilbert, S. F. (2003). Developmental Biology, 6th ed. Sinauer, Sunderland, MA.

Hafen, E., McGinnis, W., Levine, M. S., Kuroiwa, A., & Gehring, W. J. (1984). A conserved DNA sequence in homoeotic genes of the *Drosophila* Antennapedia and bithorax complexes. *Nature*, *308*(5958), 428-433.

Halder, G., Callaerts, P., & Gehring, W. J. (1995). Induction of ectopic eyes by targeted expression of the eyeless gene in *Drosophila*. *SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON-*, 1788-1788.

Hartenstein, V., & Jan, Y. N. (1992). Studying Drosophila embryogenesis with P-lacZ enhancer trap lines. *Development Genes and Evolution*, *201*(4), 194-220.

Heberlein, U., Wolff, T., & Rubin, G. M. (1993). The TGFβ homolog dpp and the segment polarity gene hedgehog are required for propagation of a morphogenetic wave in the *Drosophila* retina. *Cell*, *75*(5), 913-926.

Karr, T. L., & Alberts, B. M. (1986). Organization of the cytoskeleton in early *Drosophila* embryos. *The Journal of Cell Biology*, *102*(4), 1494-1509.

Levine, M., Harding, K., Hoey, T. & Warrior, R. (1989). Autoregulatory and gap gene response elements of the even-skipped promoter of *Drosophila*. *The EMBO journal*, *8*(4), 1205.

Moses, K. (Ed.). (2002). *Drosophila* eye development (Vol. 37). Springer Science & Business Media.

Neuman-Silberberg, F. S., & Schüpbach, T. (1993). The Drosophila dorsoventral patterning gene gurken produces a dorsally localized RNA and encodes a TGFα-like protein. *Cell*, *75*(1), 165-174.

Schejter, E. D., & Wieschaus, E. (1993). Functional elements of the cytoskeleton in the early Drosophila embryo. *Annual review of cell biology*,*9*(1), 67-99.

Sosnowski, B. A., Belote, J. M., & McKeown, M. (1989). Sex-specific alternative splicing of RNA from the transformer gene results from sequence-dependent splice site blockage. *Cell*, *58*(3), 449-459.

Tao, Y., Christiansen, A. E., & Schulz, R. A. (2007). Second chromosome genes required for heart development in Drosophila melanogaster. *Genesis*,*45*(10), 607-617.

Tautz, D., & Pfeifle, C. (1989). A non-radioactive in situ hybridization method for the localization of specific RNAs in Drosophila embryos reveals translational control of the segmentation gene hunchback. *Chromosoma*, *98*(2), 81-85.

Tomlinson, A., & Ready, D. F. (1987). Neuronal differentiation in the Drosophila ommatidium. *Developmental biology*, *120*(2), 366-376.

Turner, F. R., & Mahowald, A. P. (1977). Scanning electron microscopy of Drosophila melanogaster embryogenesis: II. Gastrulation and segmentation.*Developmental biology*, *57*(2), 403-416.

Wolpert, Lewis, Cheryll Tickle, and Alfonso Martinez Arias. *Principles of development*. Oxford University Press, USA, 2002.

Wu, L. H., & Lengyel, J. A. (1998). Role of caudal in hindgut specification and gastrulation suggests homology between Drosophila amnioproctodeal invagination and vertebrate blastopore. *Development*, *125*(13), 2433-2442.

WEB izvori:

1. https://www.sdbonline.org/sites/fly/atlas/00atlas.htm preuzeto: 8.09.2017.
2. https://en.wikipedia.org/wiki/Drosophila preuzeto: 30.08.2017.
3. https://en.wikipedia.org/wiki/Drosophila_embryogenesis preuzeto: 1.09.2017.
4. http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/pogl3.html preuzeto: 15.09.2017.
5. https://www.researchgate.net/figure/49694718_fig3_The-genetic-sex-determination-cascade-in-Drosophila-Sexual-development-in-Drosophila-is preuzeto: 4.09.2017.
6. http://modencode.sciencemag.org/img/drosophila/introduction/F1.jpg preuzeto: 21.09.2017.