

# El organismo modelo

## *Caenorhabditis elegans*

“the worm”

-Curso Biología del Desarrollo 2022-  
Facultad de Ciencias, PEDECIBA



Inés Carrera

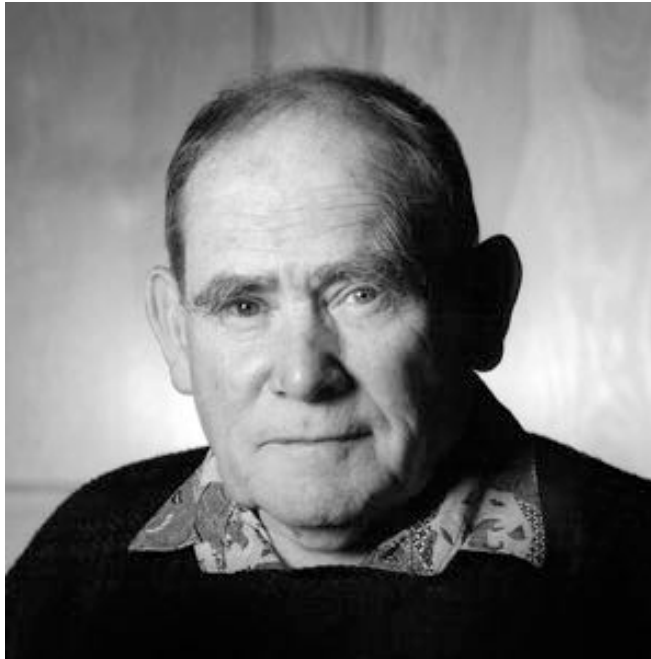
Laboratorio de Experimentación Animal  
Área Farmacología, Departamento de Ciencias Farmacéuticas  
Facultad de Química



# Hoja de ruta



## *C.elegans* como organismo modelo (1963)



**Sydney Brenner**  
**1927-2019**

Premio Nobel 2002

- Casi todos los problemas de la biología molecular ya están resueltos o se resolverán en los próximos 10 años. El futuro está en la extensión de la investigación a otras áreas
- Preguntas más importantes para Brenner: **mecanismos desarrollo de un organismo multicelular y el sistema nervioso**
- **Utilizar las ventajas de un organismo simple multicelular y aplicar el enfoque de la genética microbiana**

# *Caenorhabditis elegans* en la naturaleza

Pequeño nematodo de vida libre

**Largo:** ~1 mm adulto

**Habitat natural:** materia en descomposición, suelo.

**Alimentacion:** bacterívoro



# Caenorhabditis elegans en el laboratorio

**Alimentación:** *E. coli*.

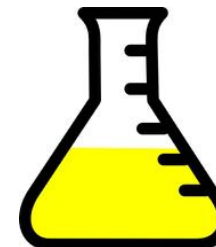
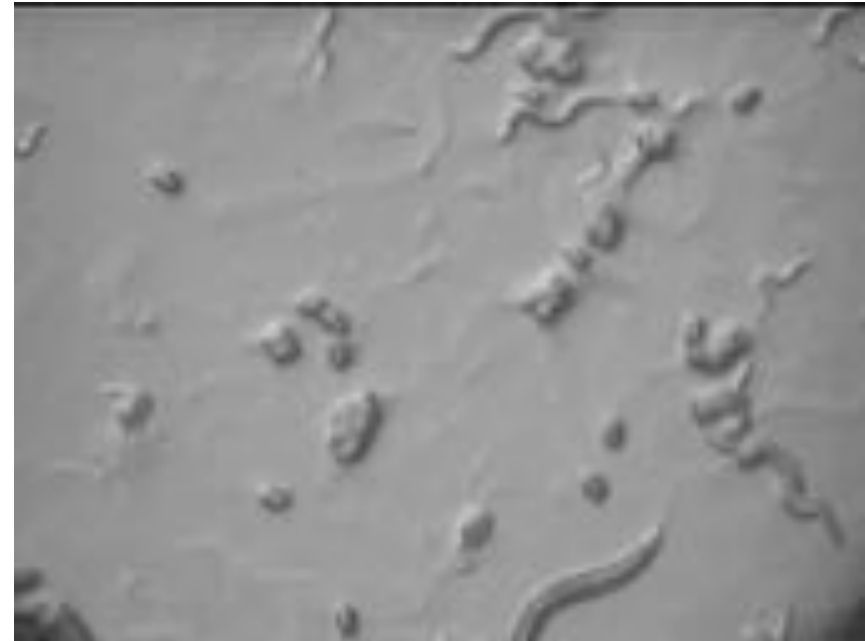
**Ciclo de vida:** ~3 días. Incluye 4 estadios larvarios con mudas.

**Reproducción:** Hermafrodita (XX)/ machos (X0)

**Progenie:** >300 embriones de una hermafrodita

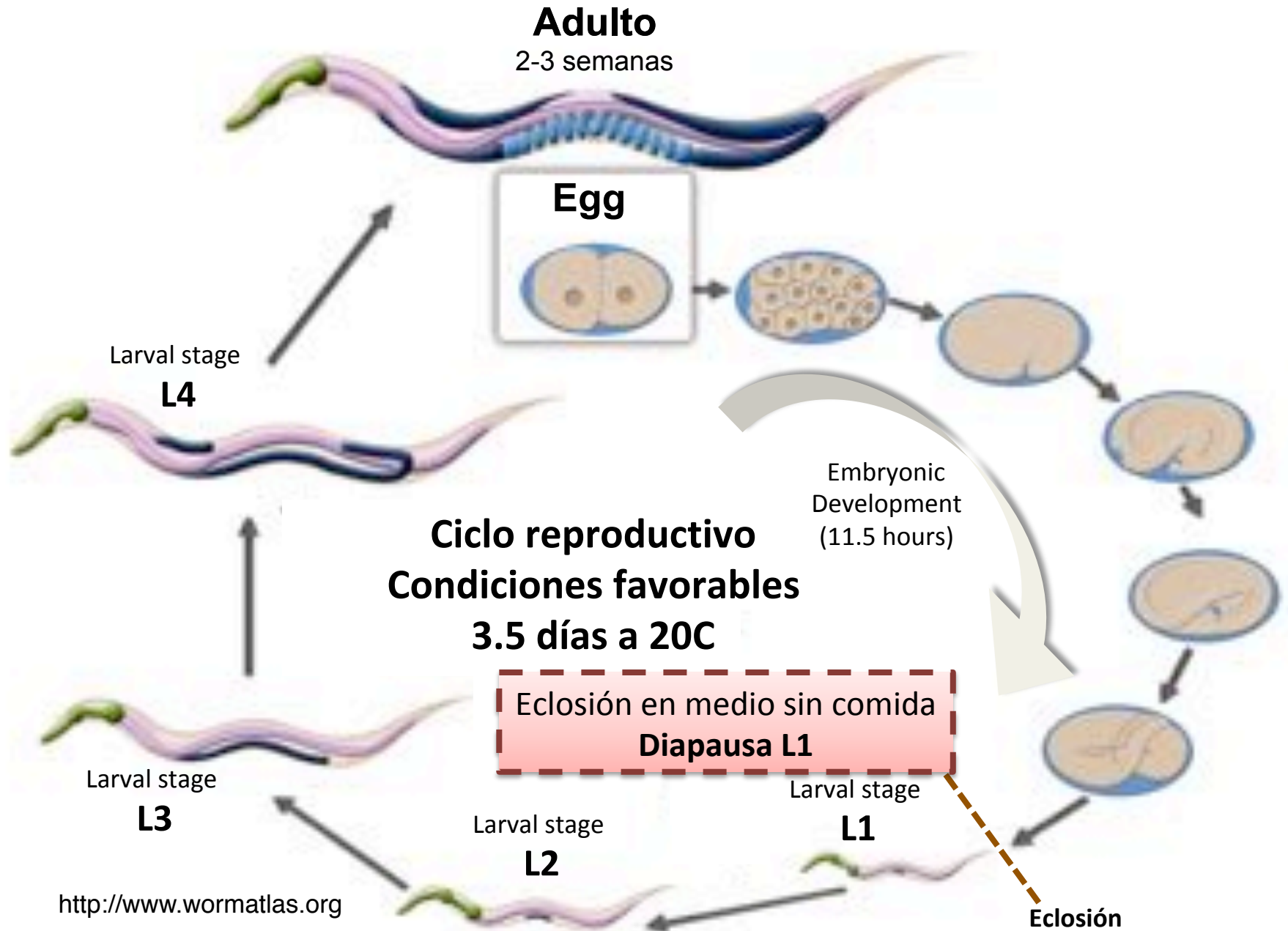
**Genoma:** ~19,000 genes, 100Mb.  
5 autosomas, 1 sexual

**Anatomía:** 959 células hermafrodita adulto.

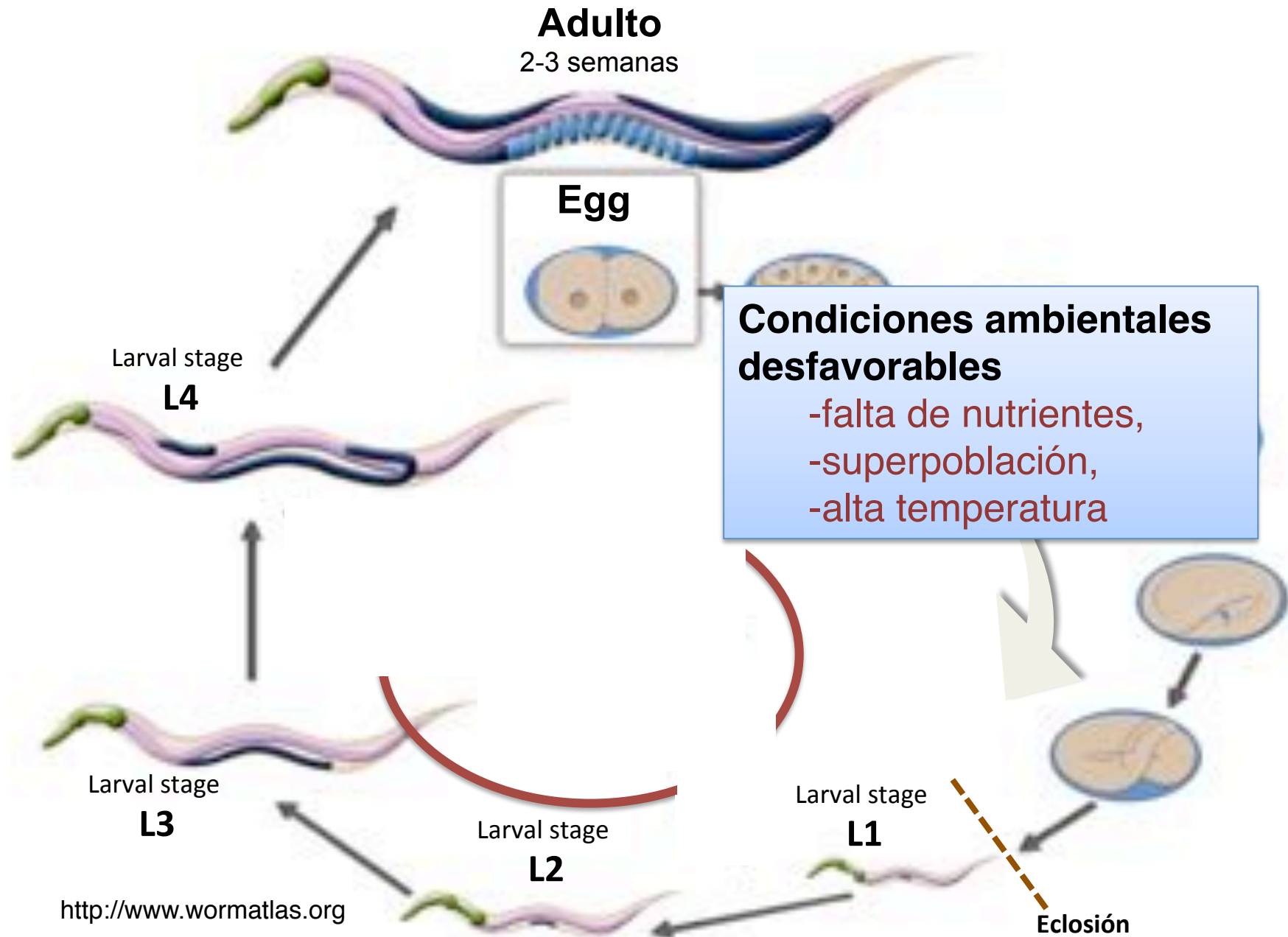


**Mantenimiento a largo plazo:** cepas se congelan en viales.

# Ciclo de vida

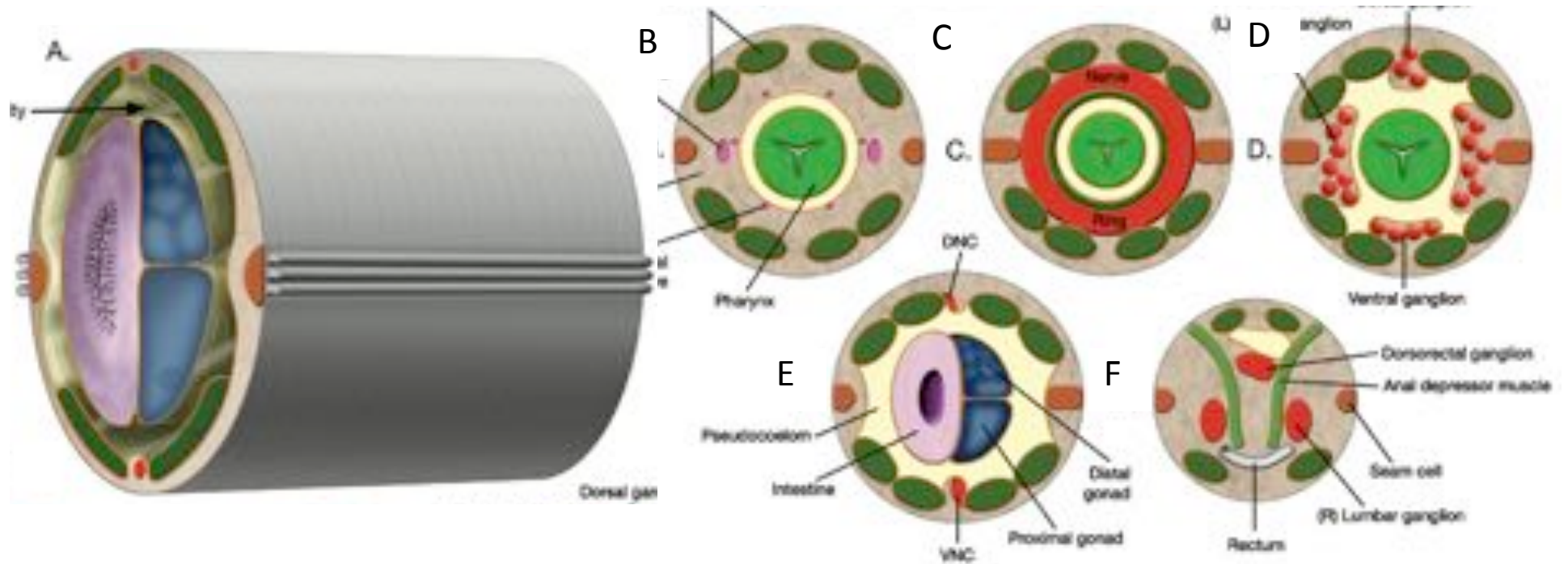
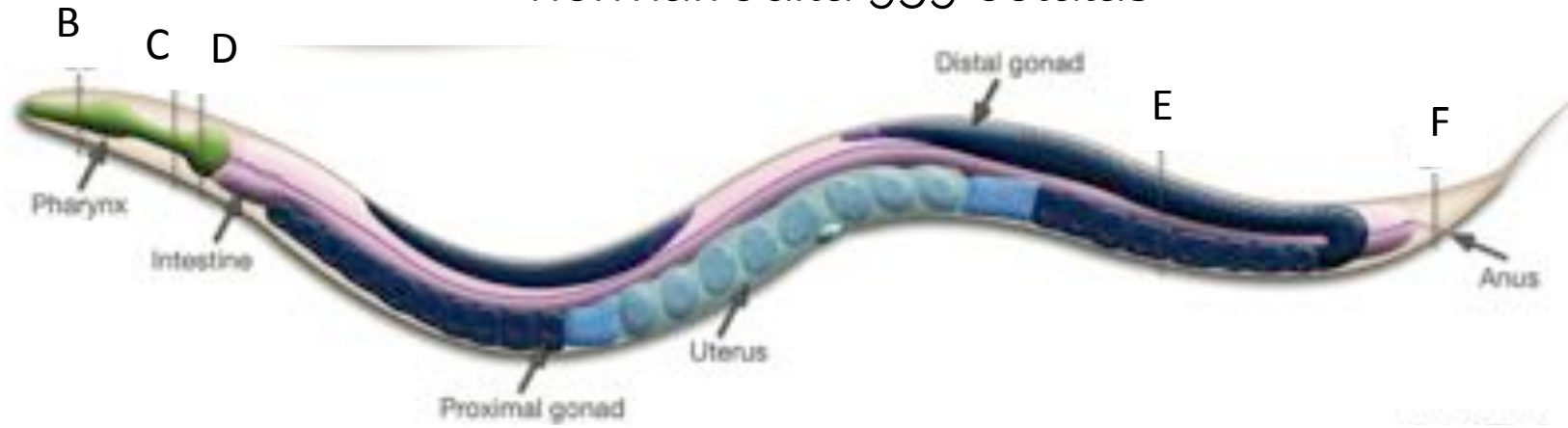


# Ciclo de vida



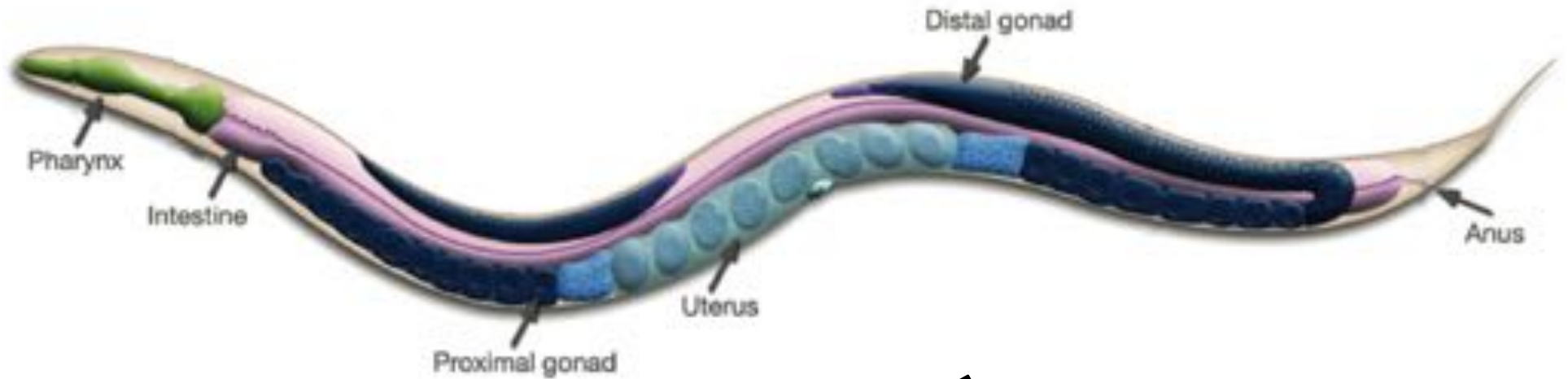
# ANATOMIA:

hermafrodita 959 células

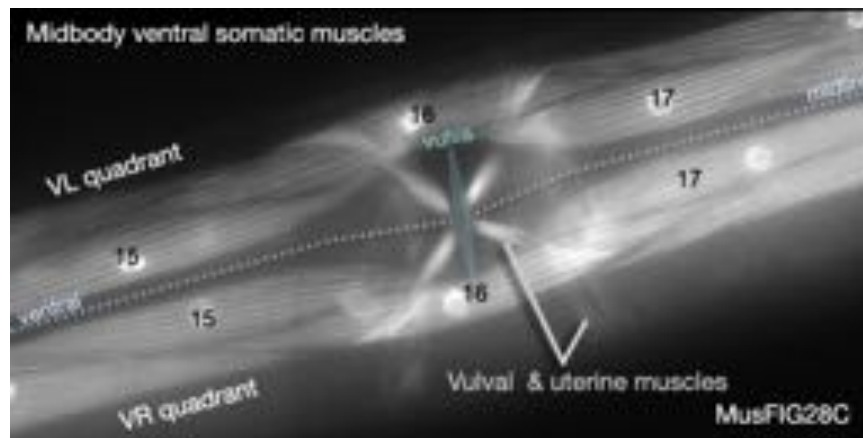




# *C. elegans* “lo tiene todo”



## Muscles

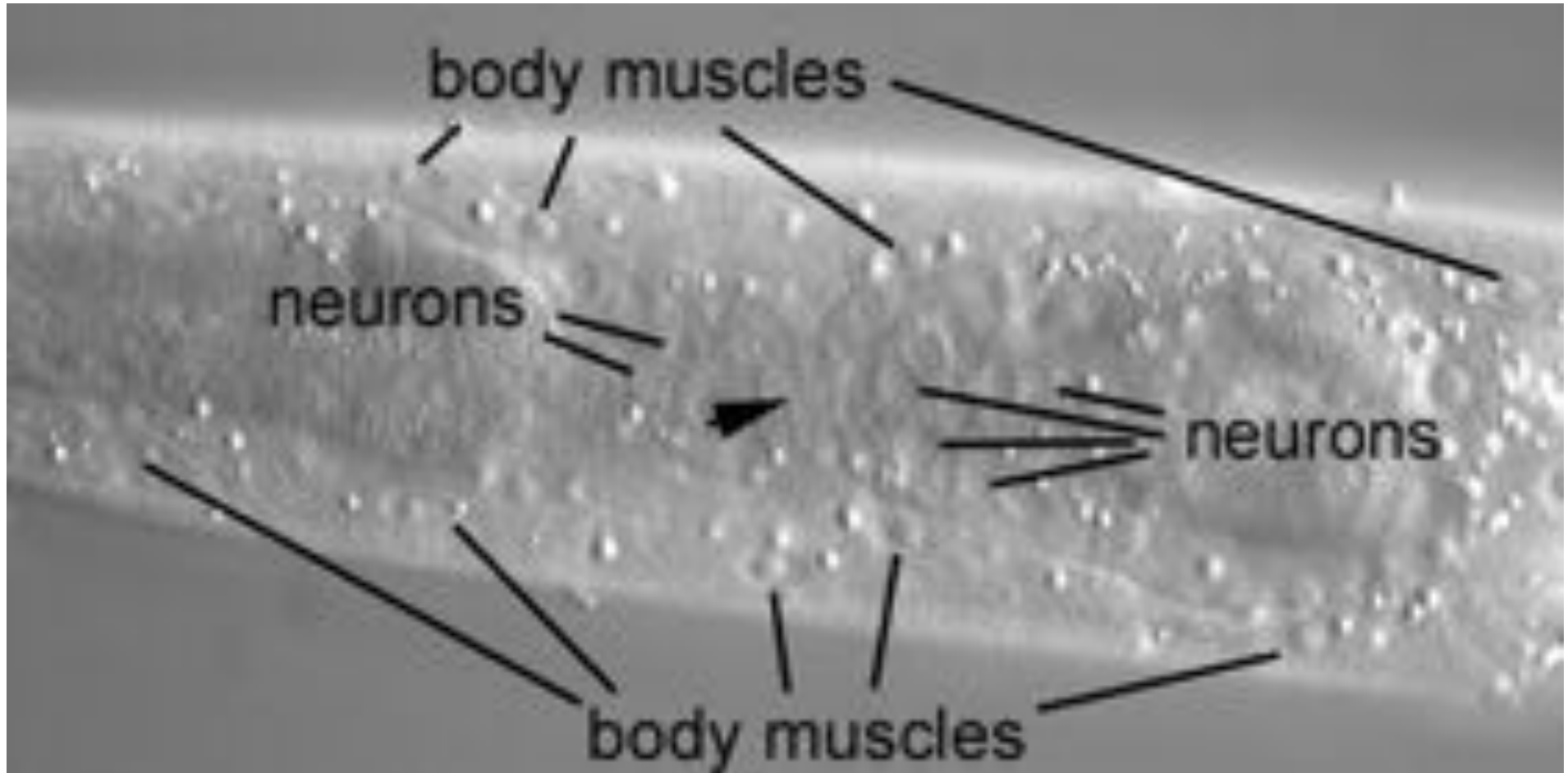


<http://www.wormatlas.org>

## Órganos y tejidos

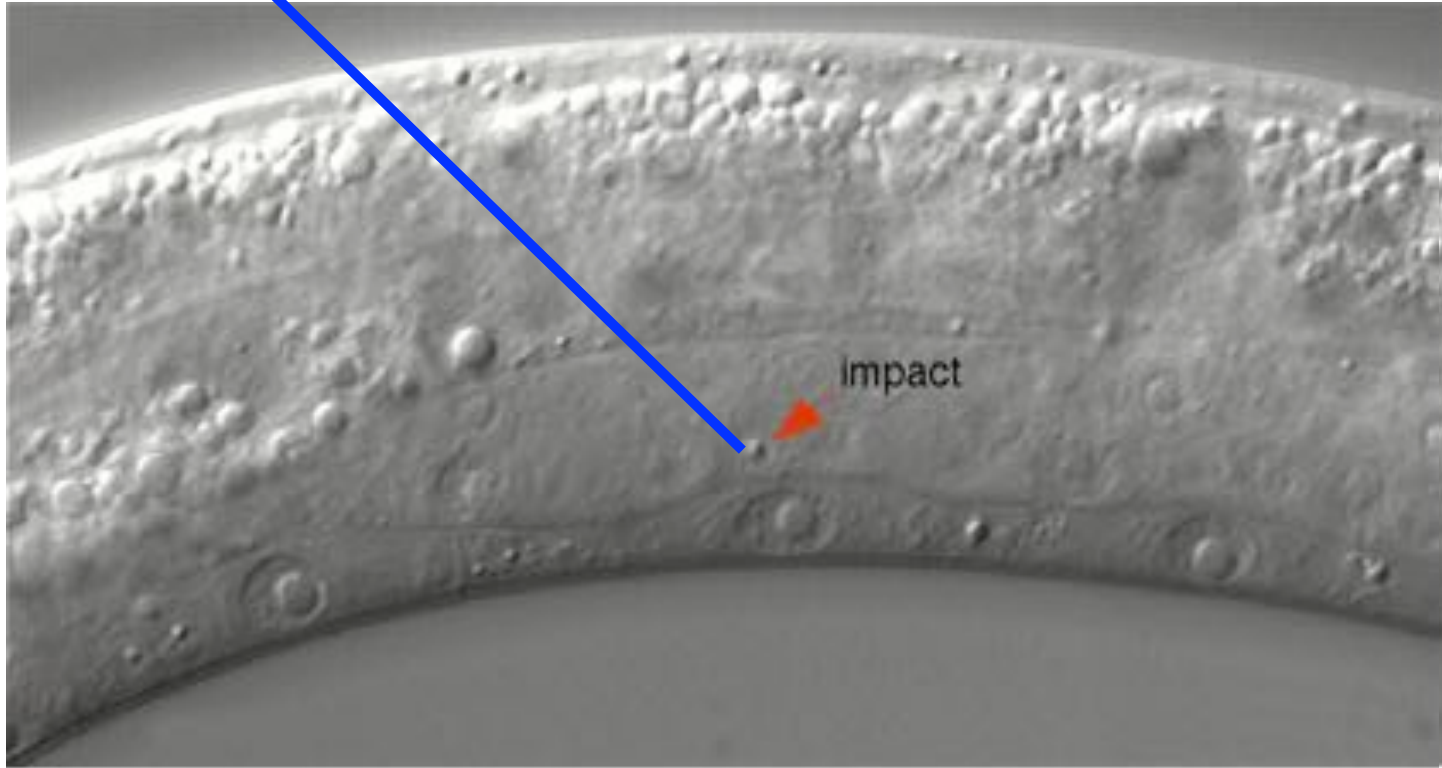
Epidermis  
Sistema Digestivo  
Sistema Reproductor  
Sistema Muscular  
Sistema Excretor  
Sistema Nervioso

# Microscopía Nomarski para identificar tipos celulares

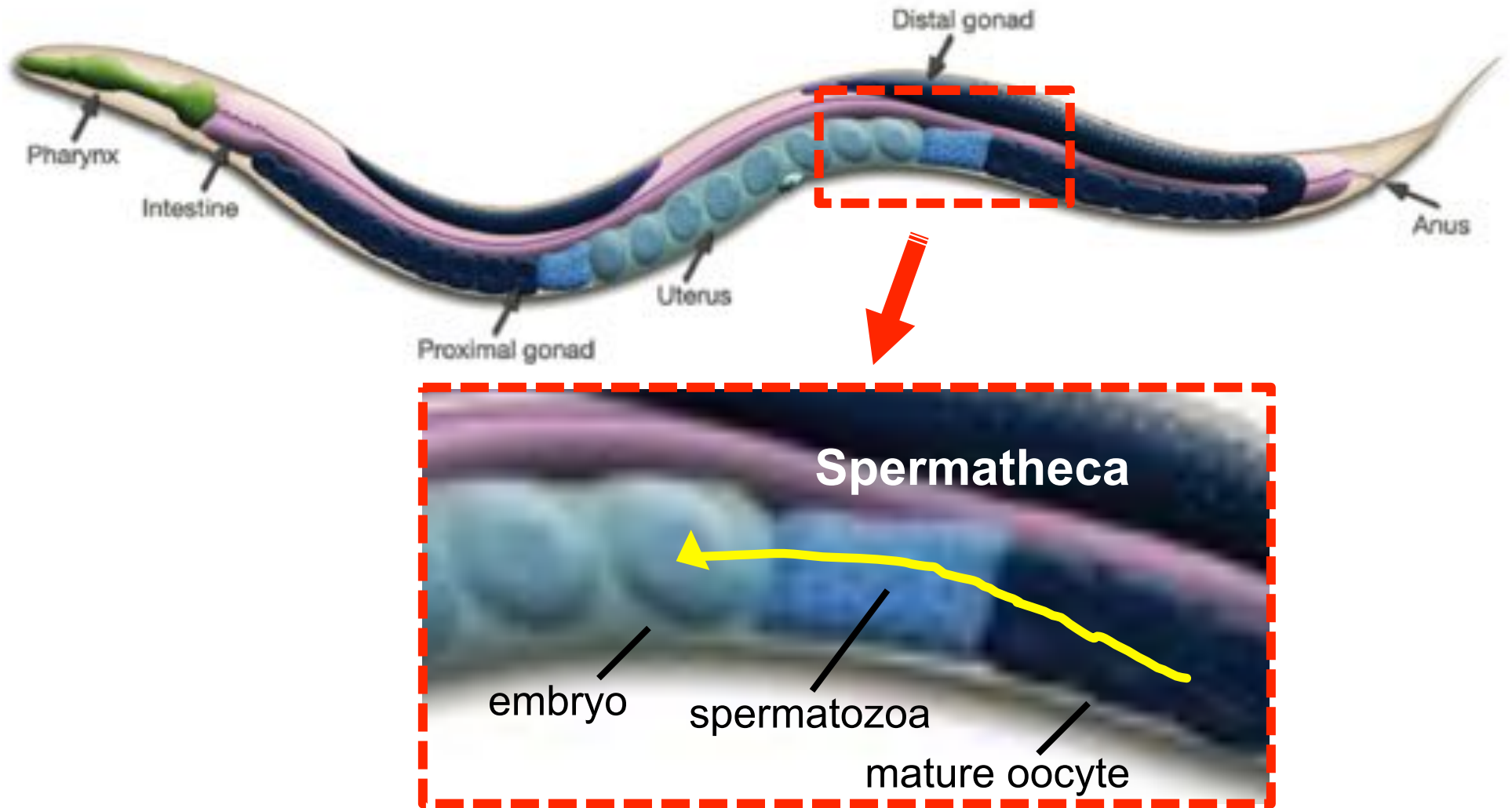


# Ablación de células con láser

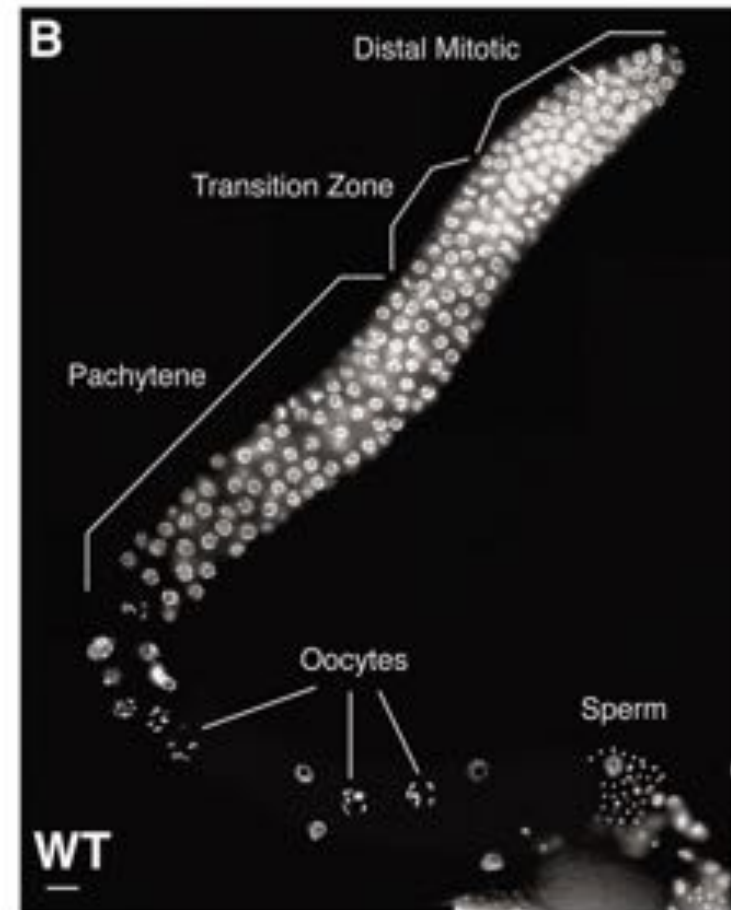
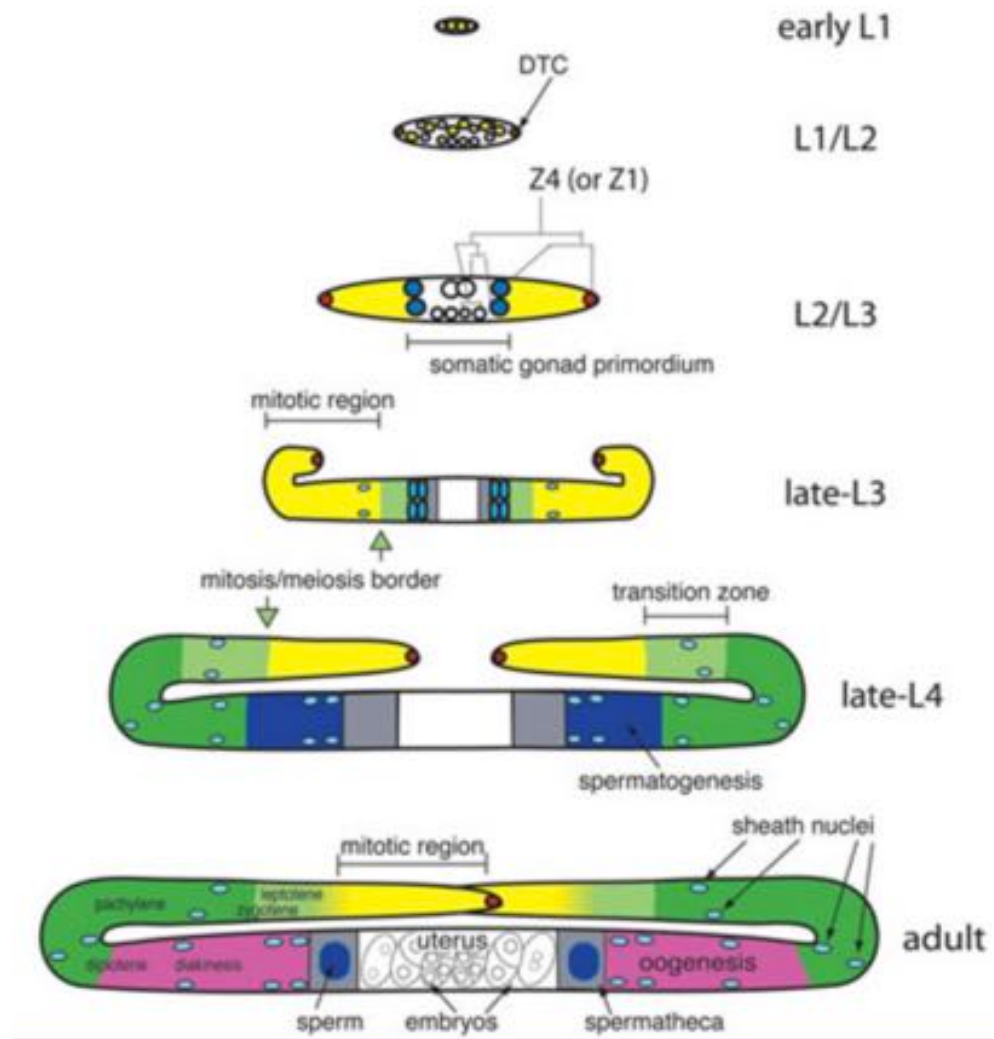
Rol de las células en el desarrollo (interacciones celulares),  
en comportamiento (neuronas)...



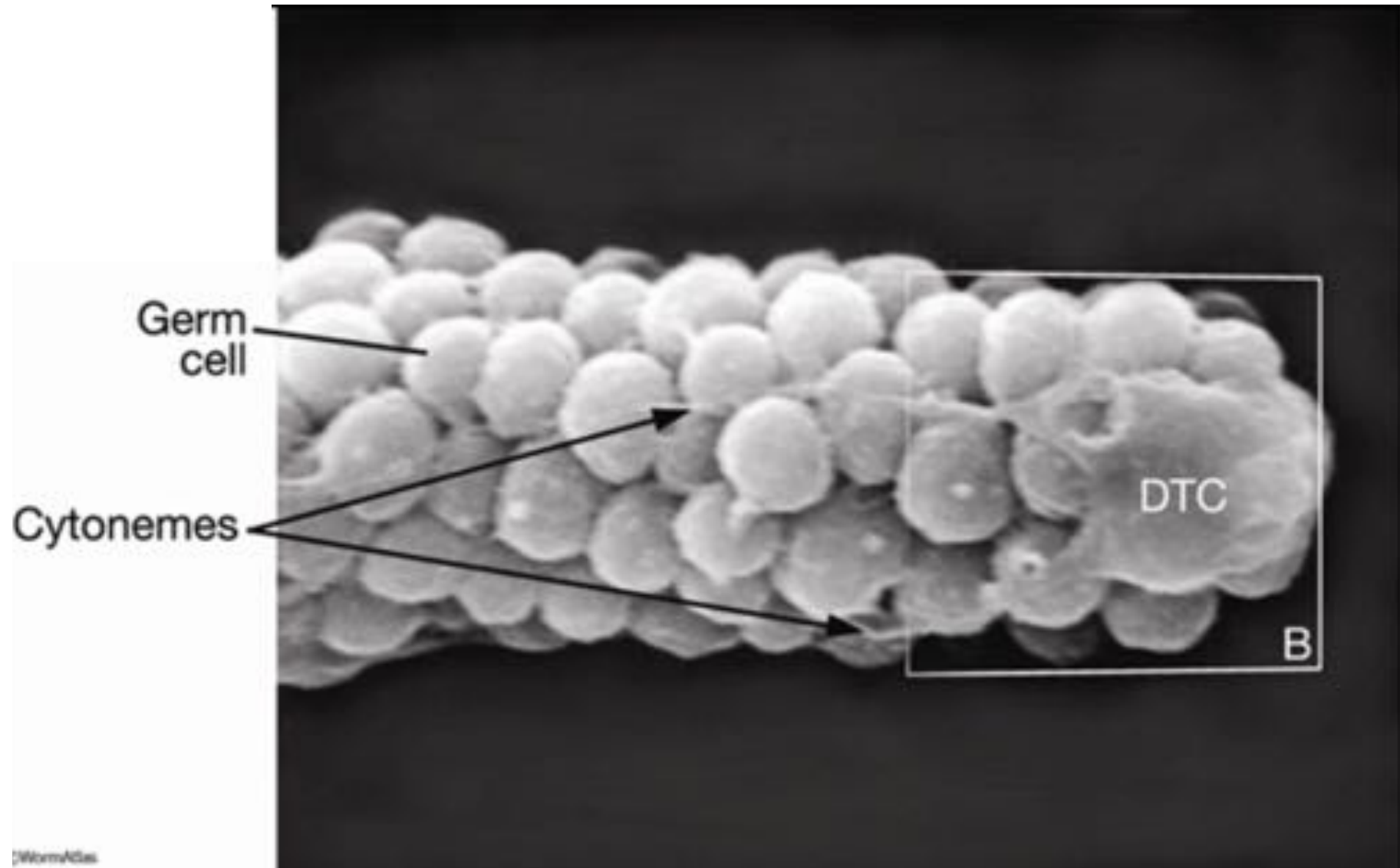
# Hermafroditas suficientes



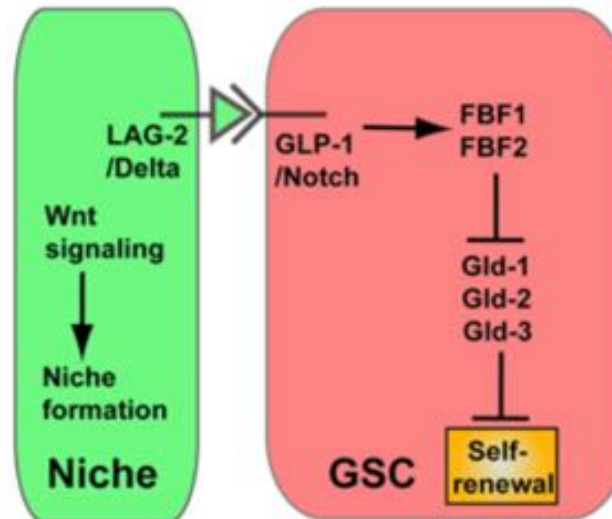
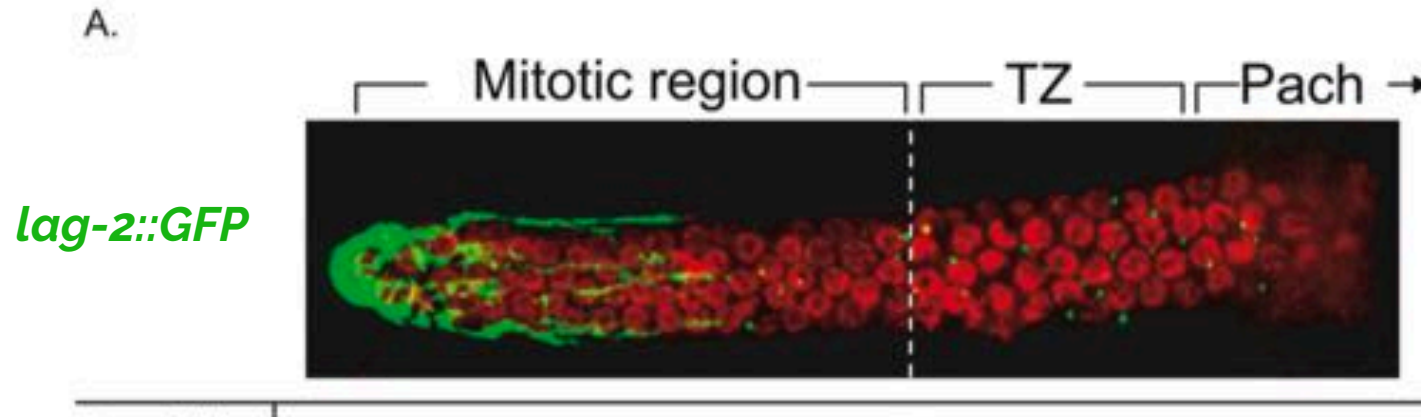
# Desarrollo de la línea germinal



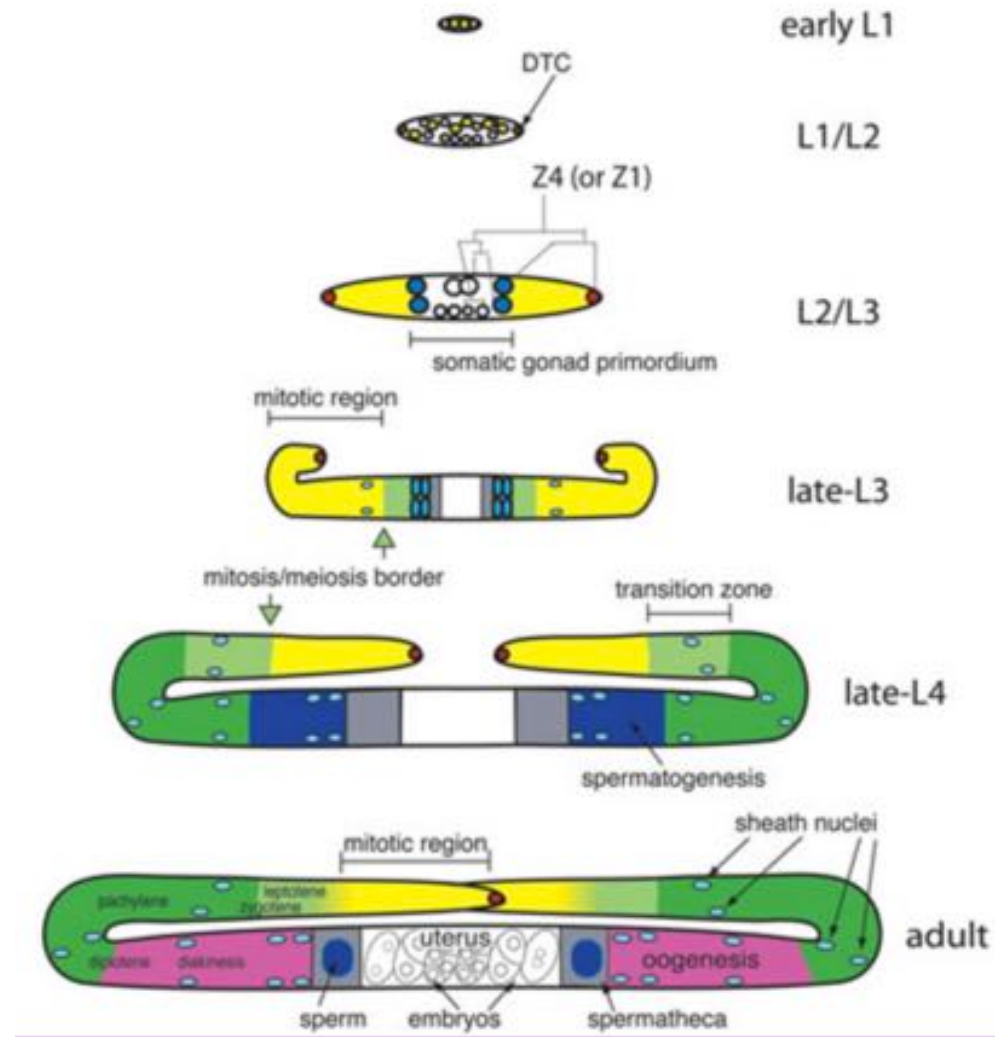
## Célula de la punta distal (DTC) mantiene núcleos mitóticos



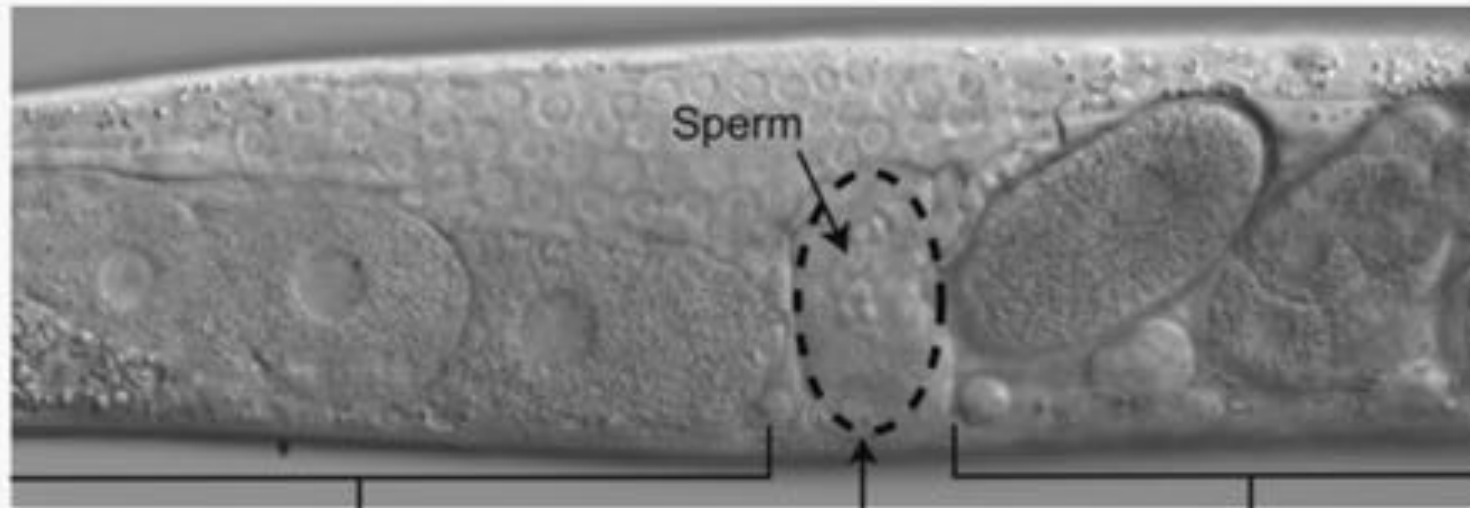
## Célula de la punta distal (DTC) mantiene núcleos mitóticos a través de la vía de Notch



# Desarrollo de la línea germinal (II)



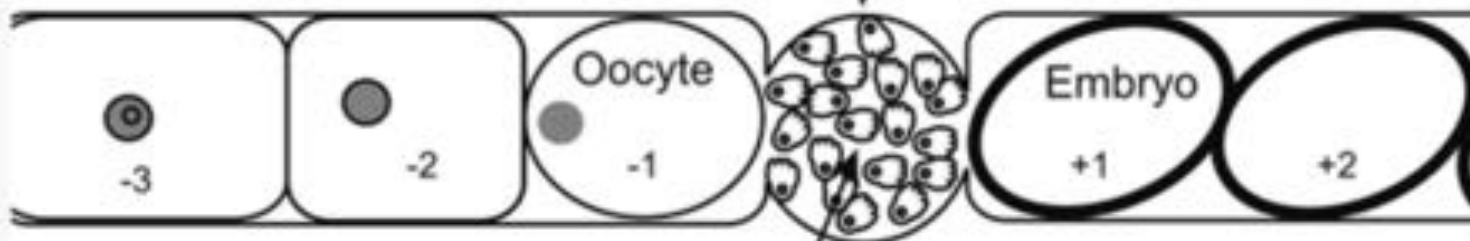




Oviduct

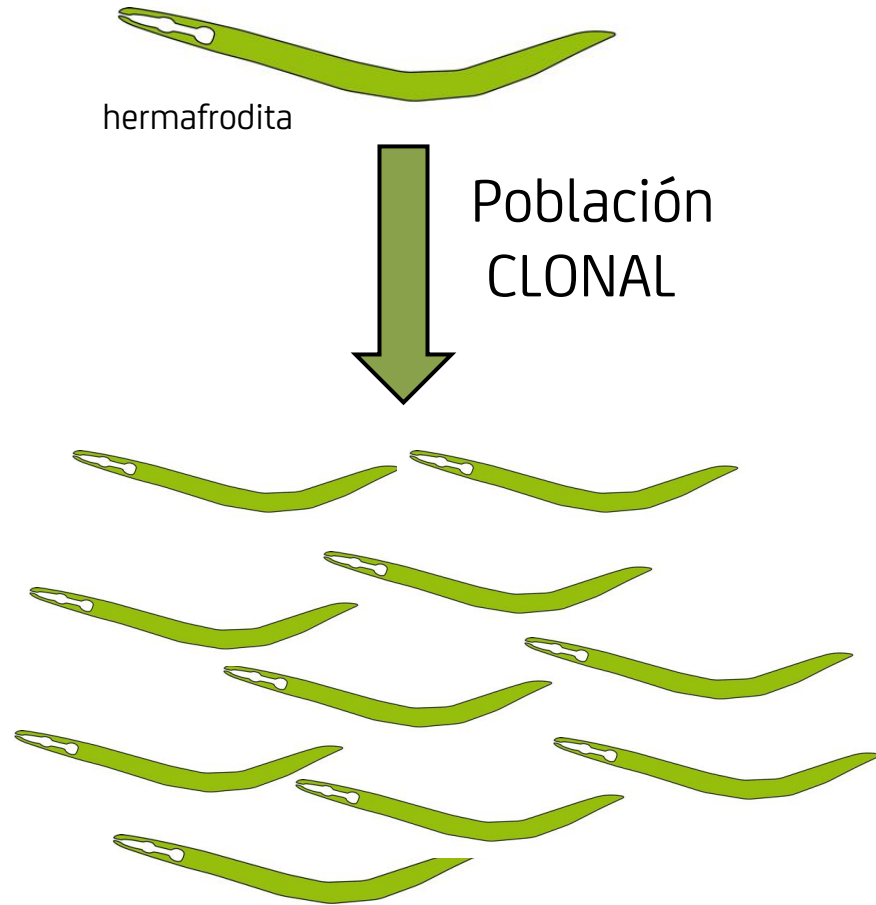
Spermatheca

Uterus



Sperm

# Hermafroditas suficientes



# *C. elegans* machos (<0.1%)

1033 células

Chromosomes

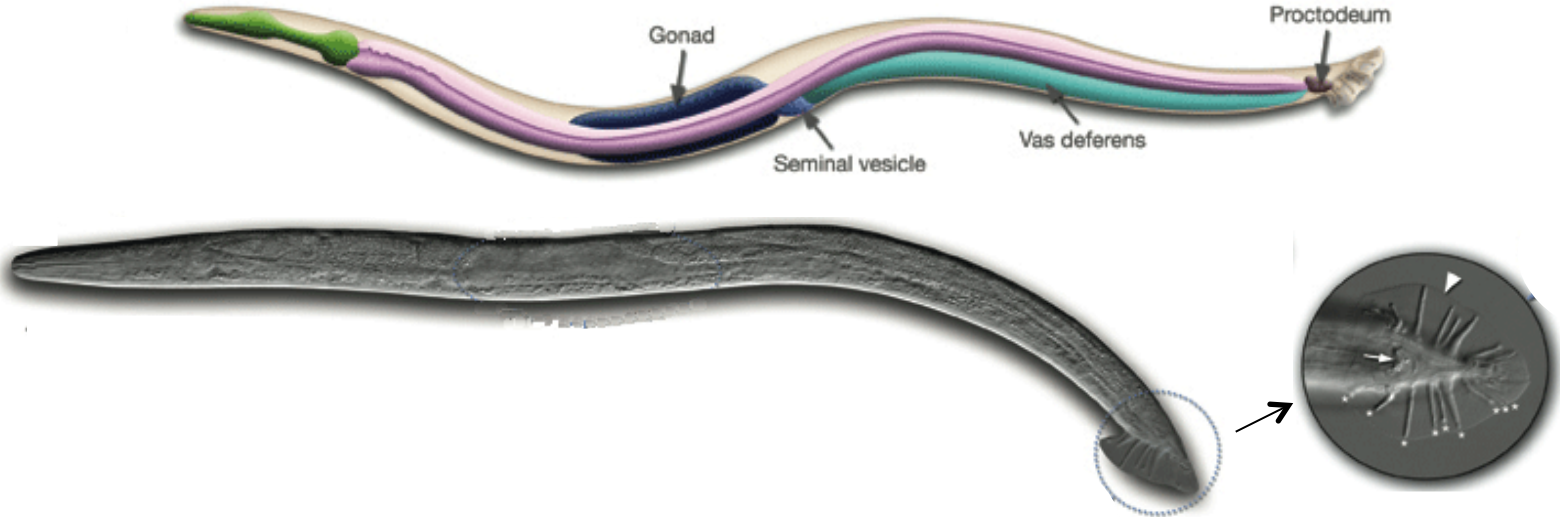


**Hermaphrodite: XX**

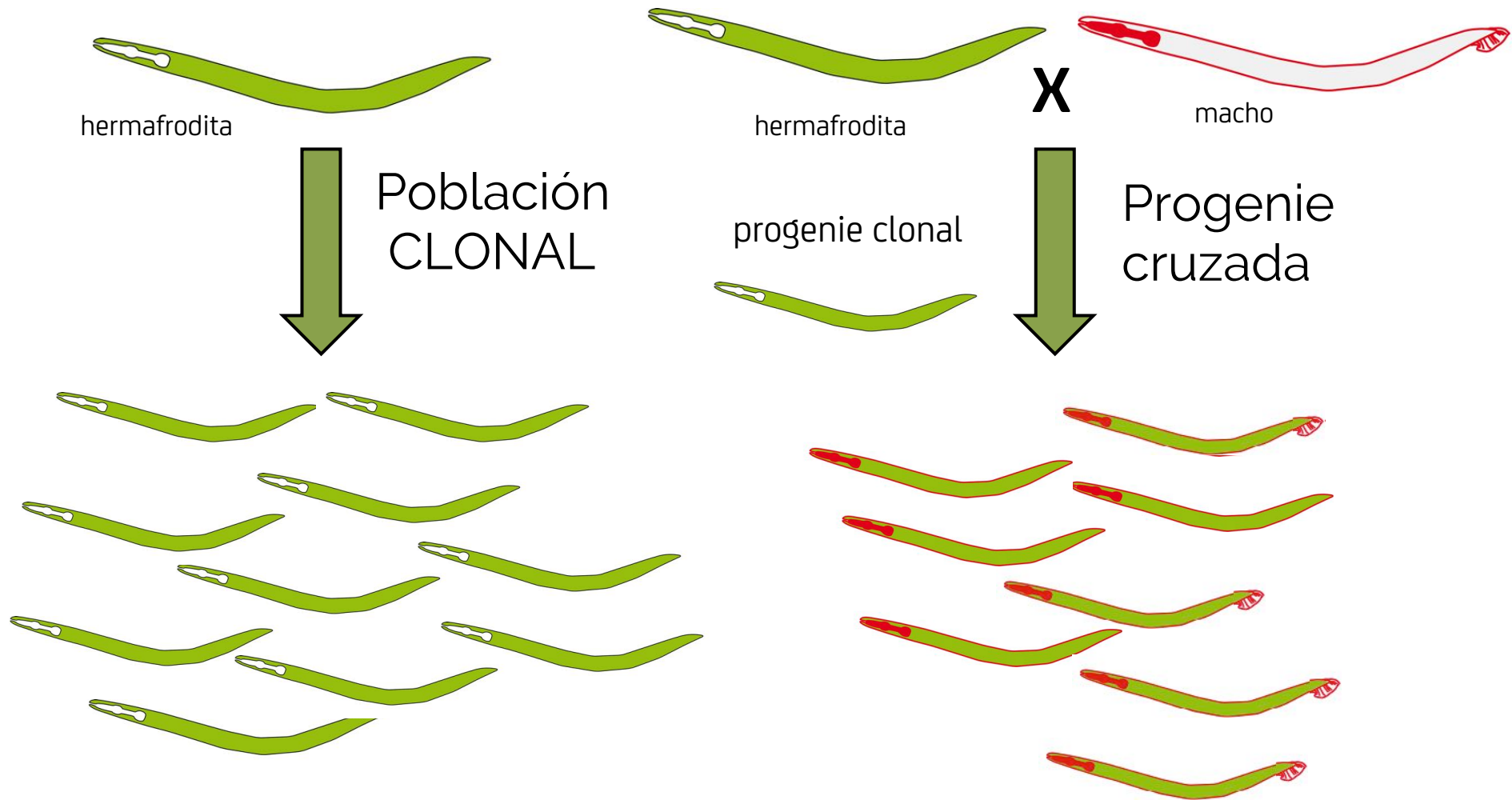
Chromosomes



**Male: XØ**



# Hermafroditas suficientes y machos: lo mejor de los dos mundos para genética



# LINAJE celular invariante

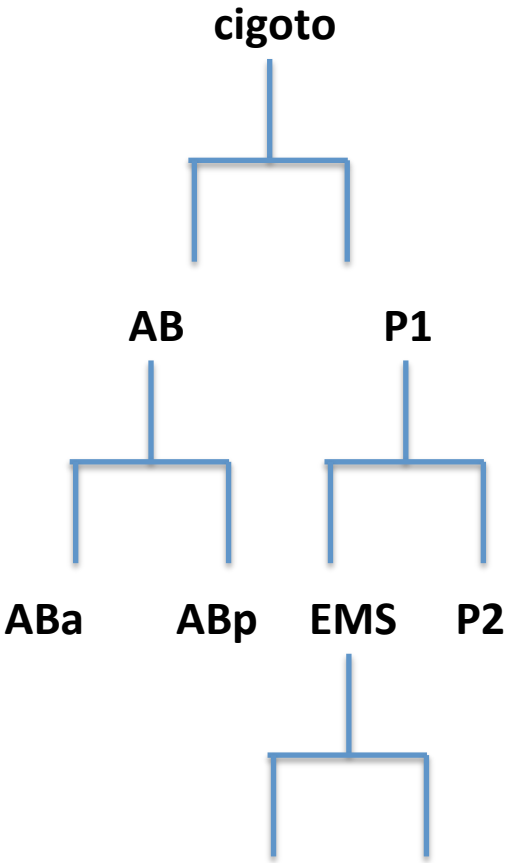
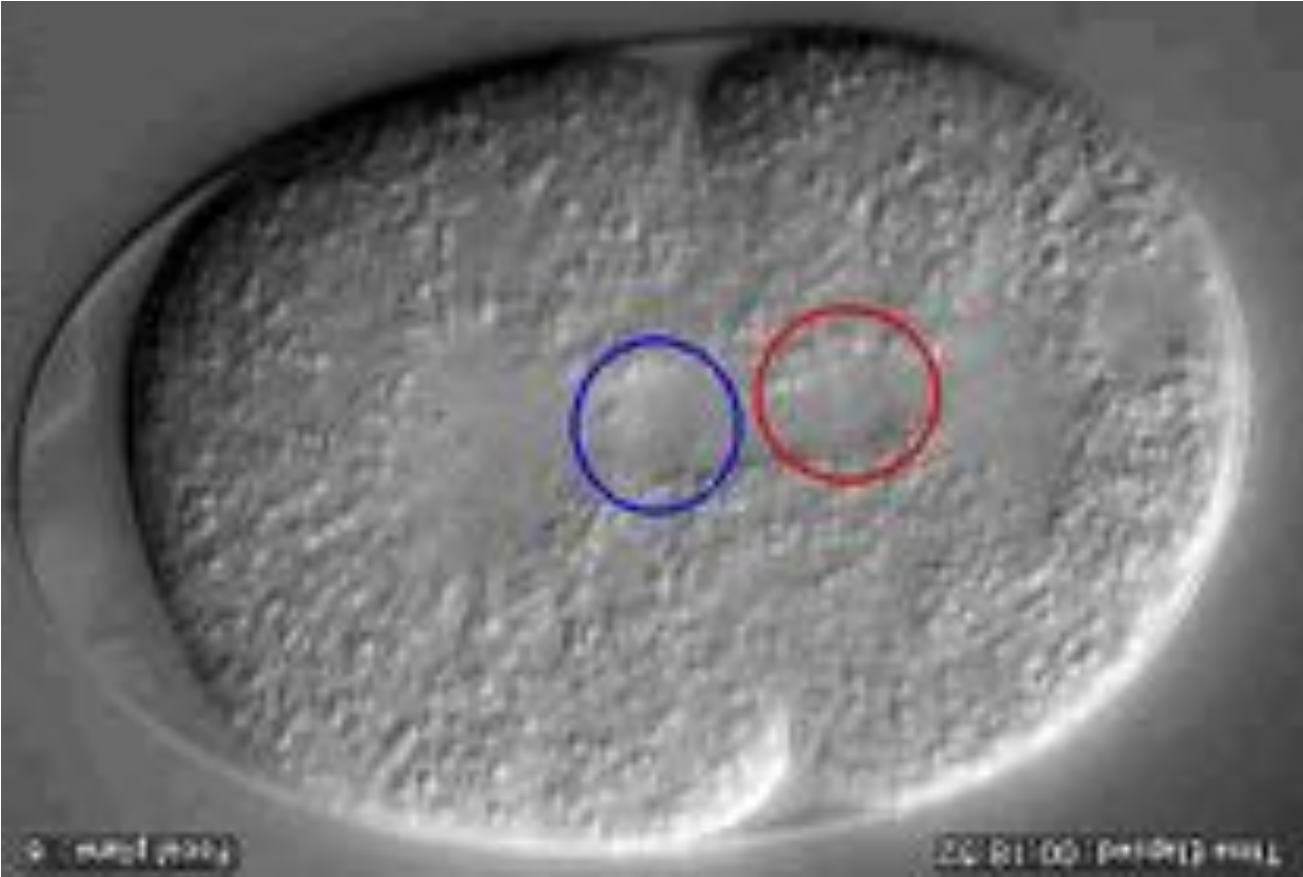
*Historia completa durante el desarrollo de cada célula desde la primera división celular*



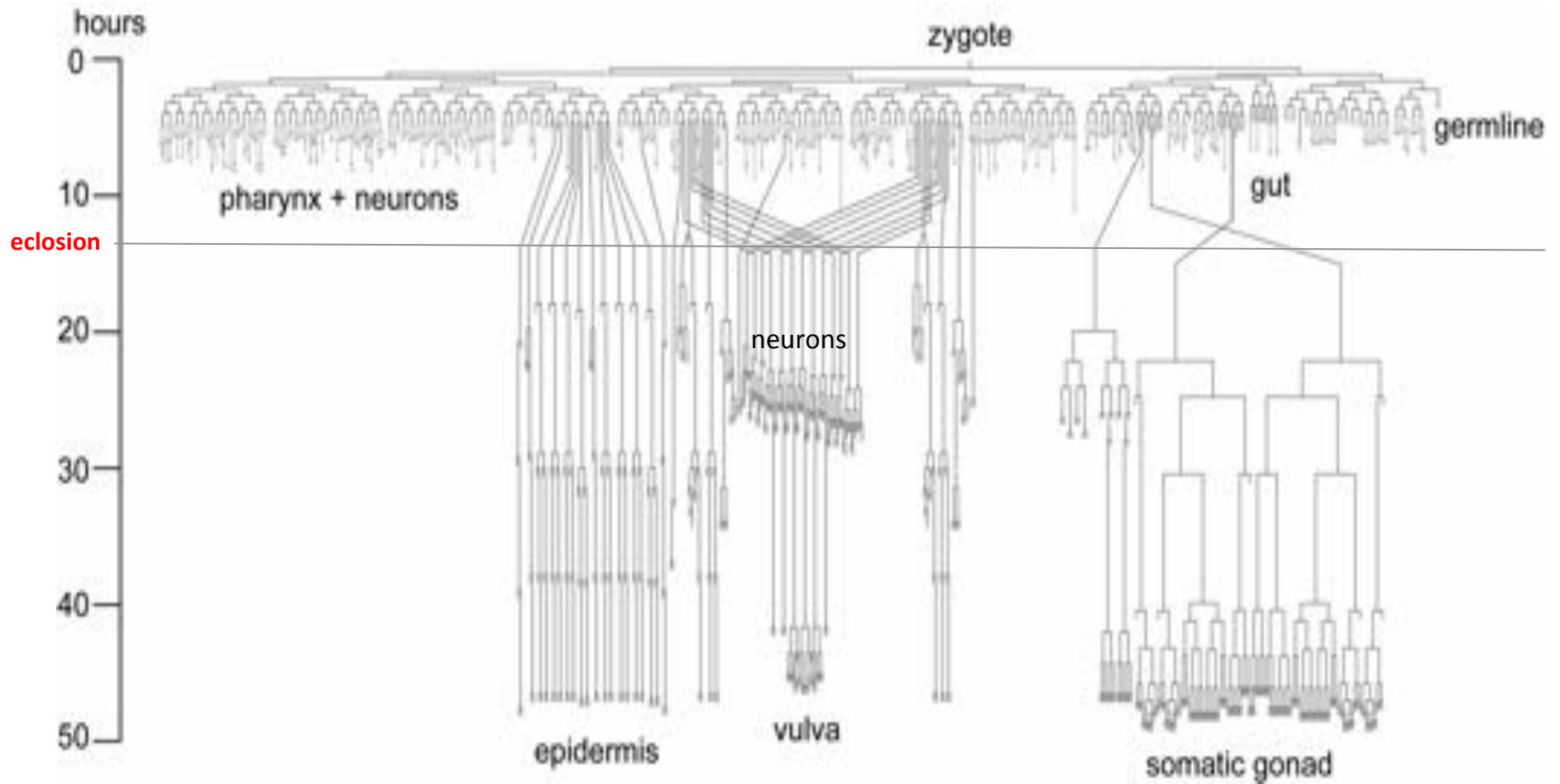
**John Sulston**  
**1942-2018**

Premio Nobel 2002

Cómo John Sulston pasaba sus días:



# Linaje celular invariante

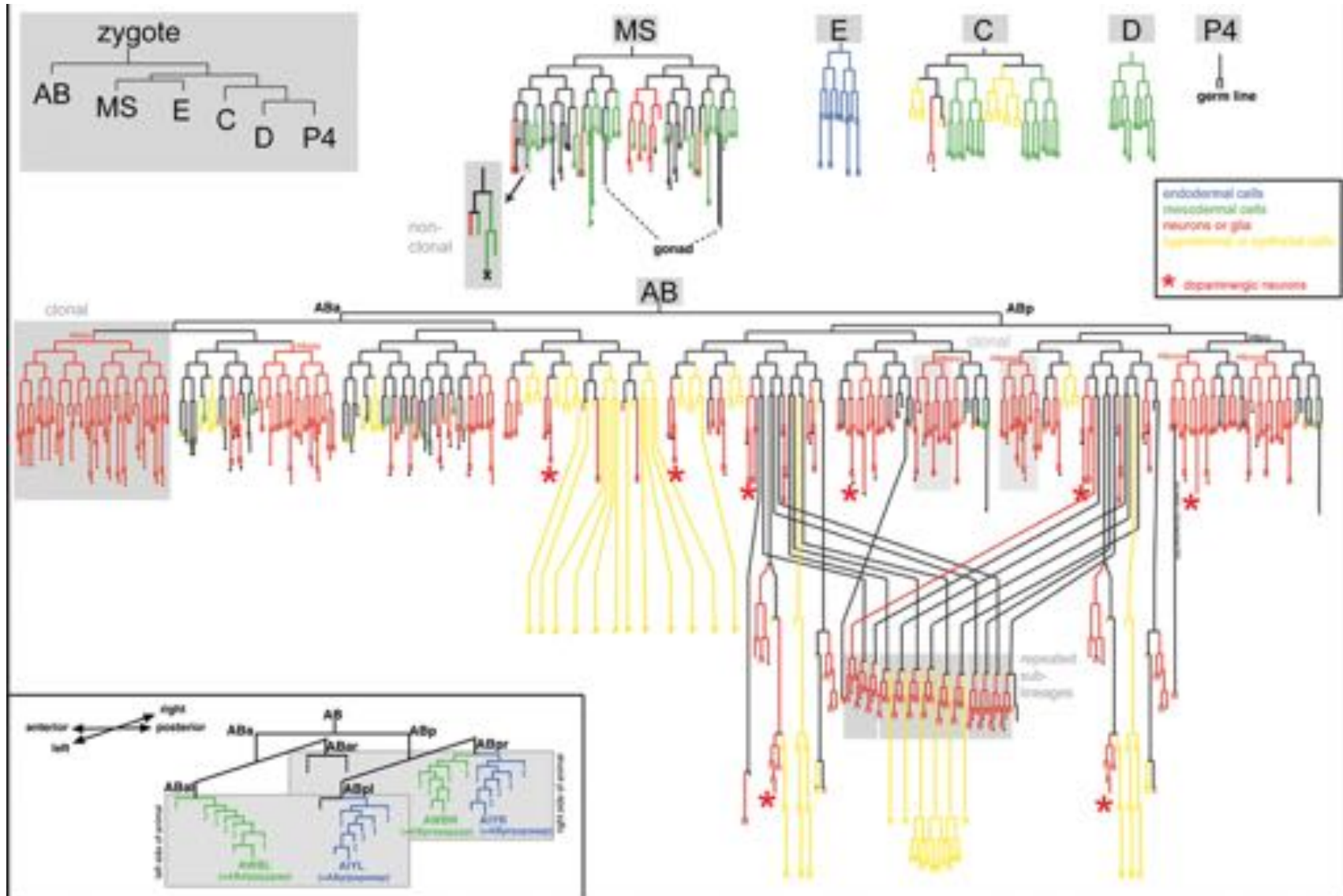


**Brenner & Horvitz**- Linaje post-embrionario (1976)



Robert Horvitz Premio Nobel 2002,  
muerte celular programada  
(apoptosis)

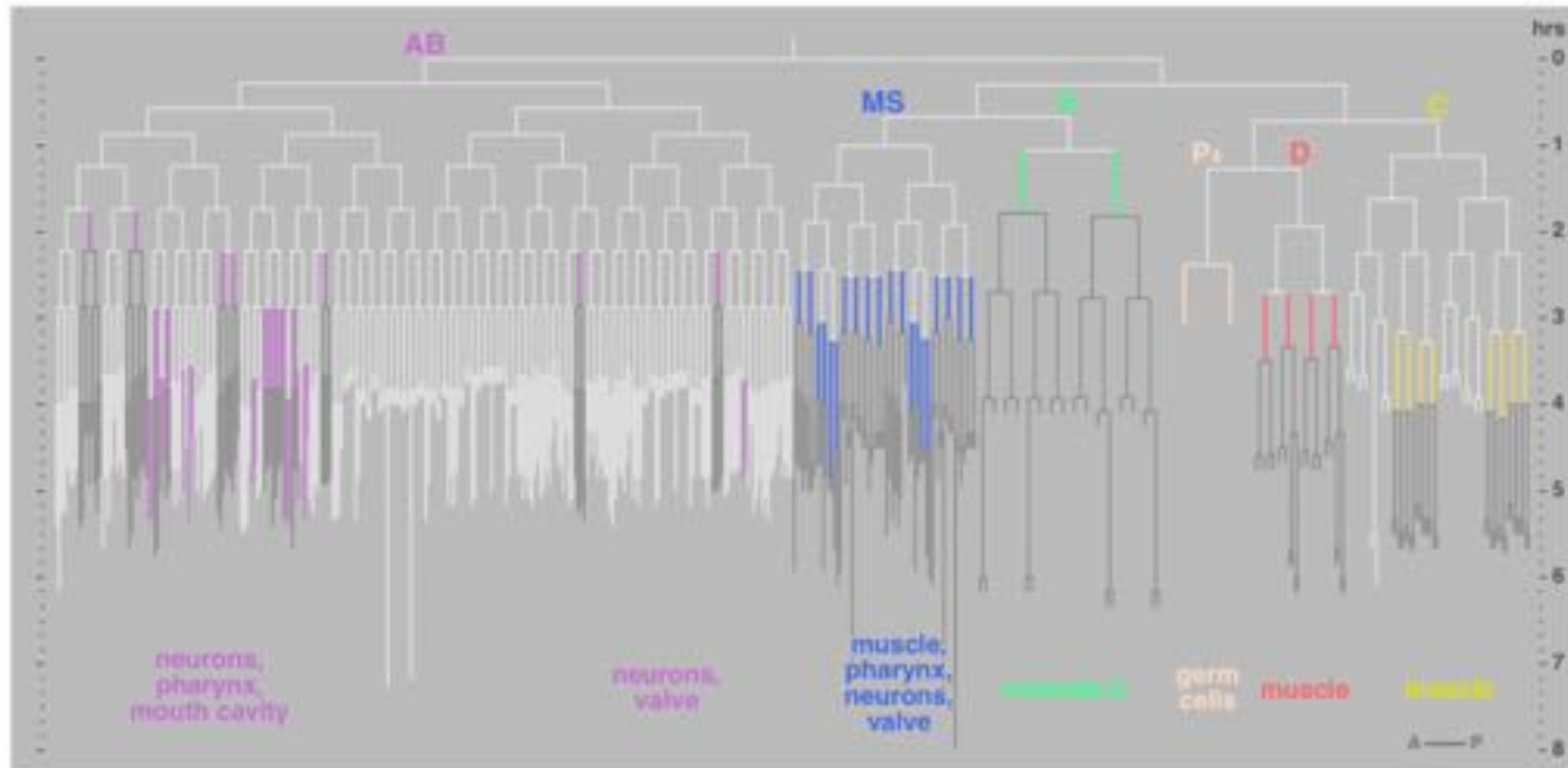
# Linaje celular invariante





# Gastrulación

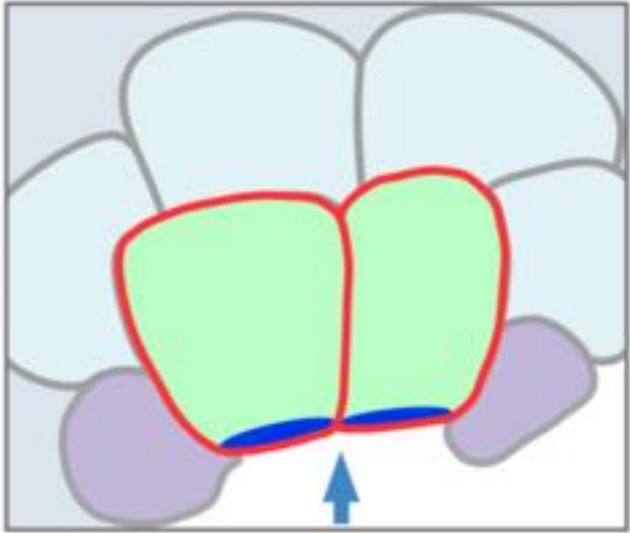
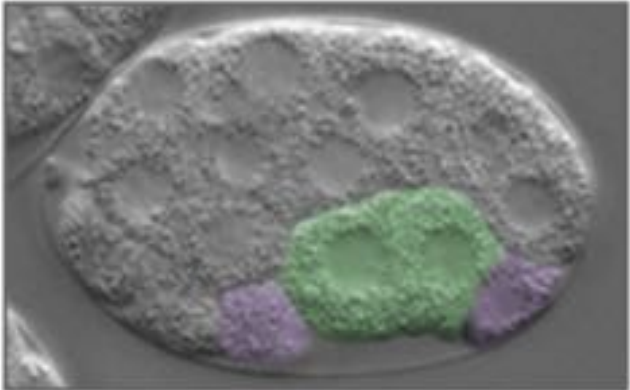
Precursores del endodermo, células musculares, germinales y neuronas deben ingresar al interior del embrión



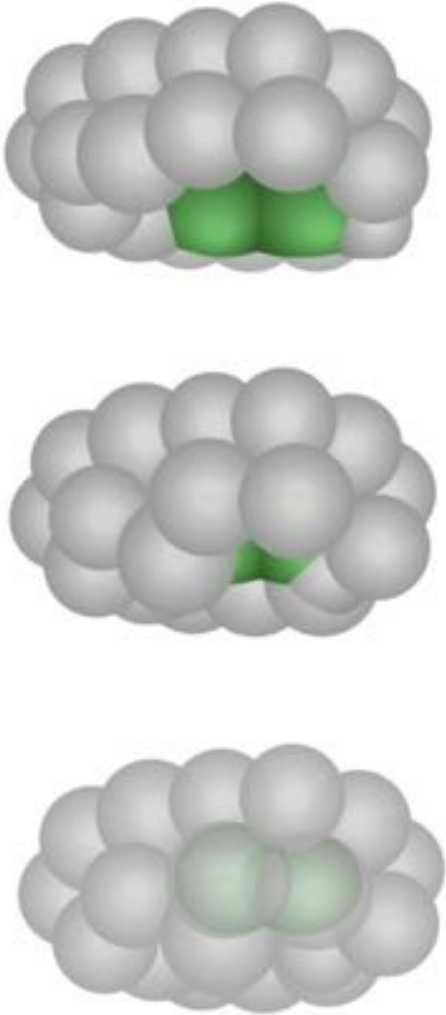
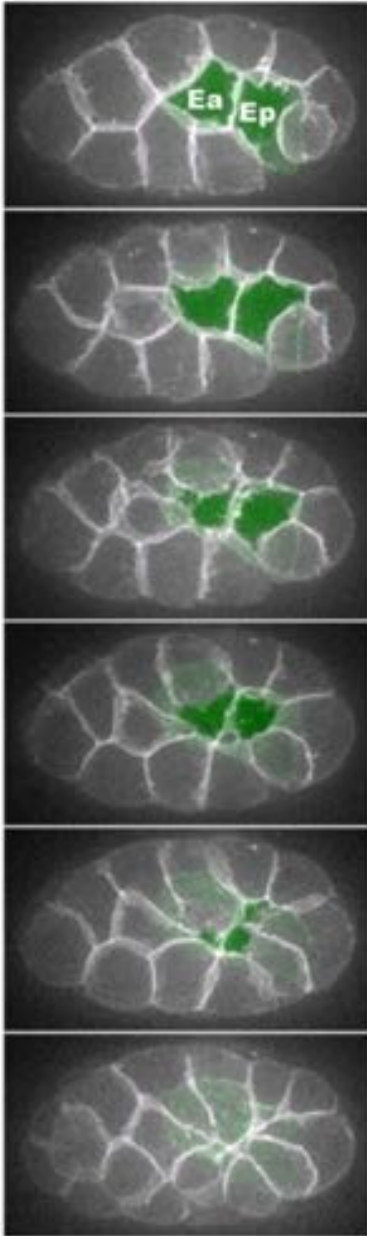
66 células se internalizan durante la gastrulación (150min)

# Gastrulación

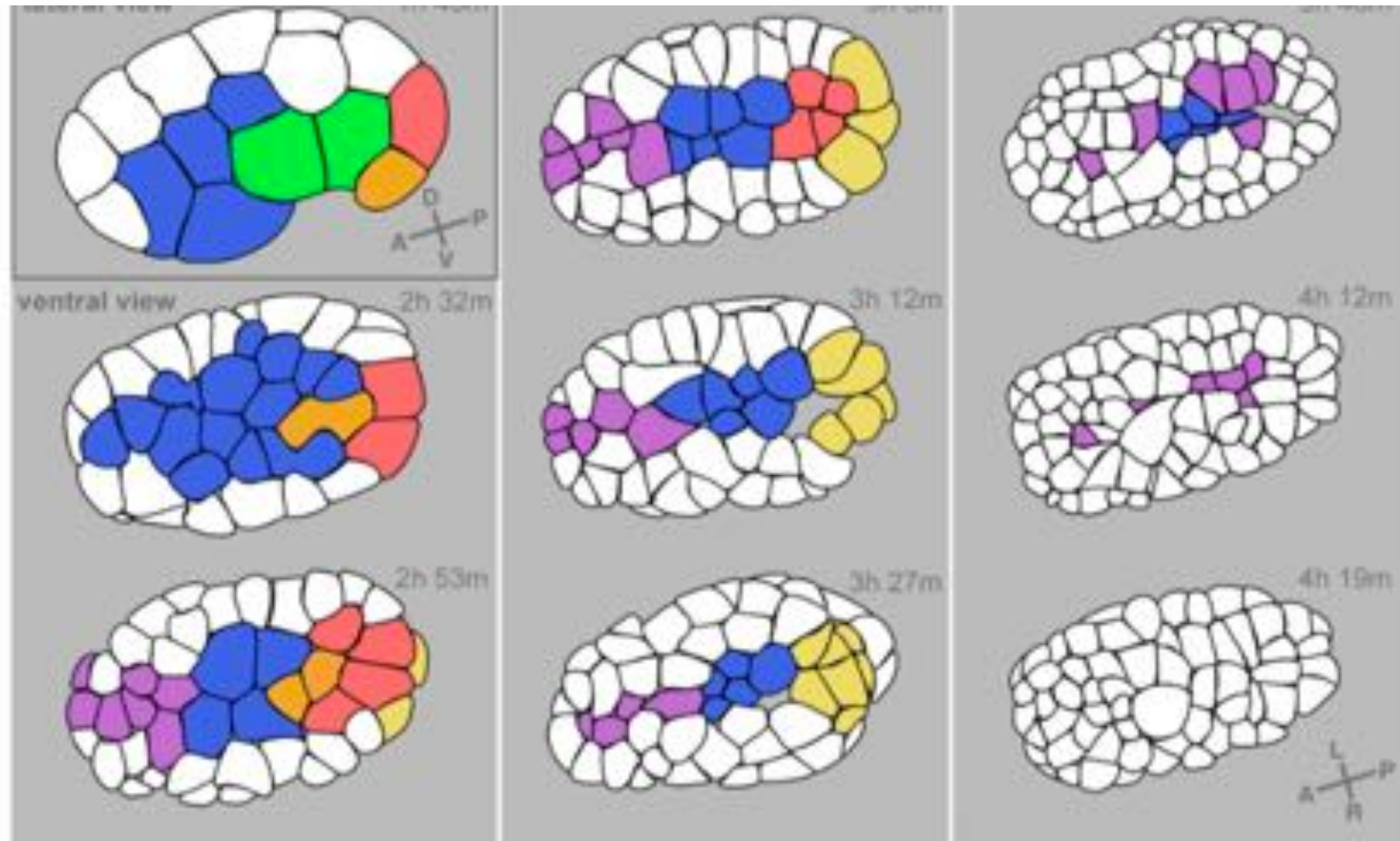
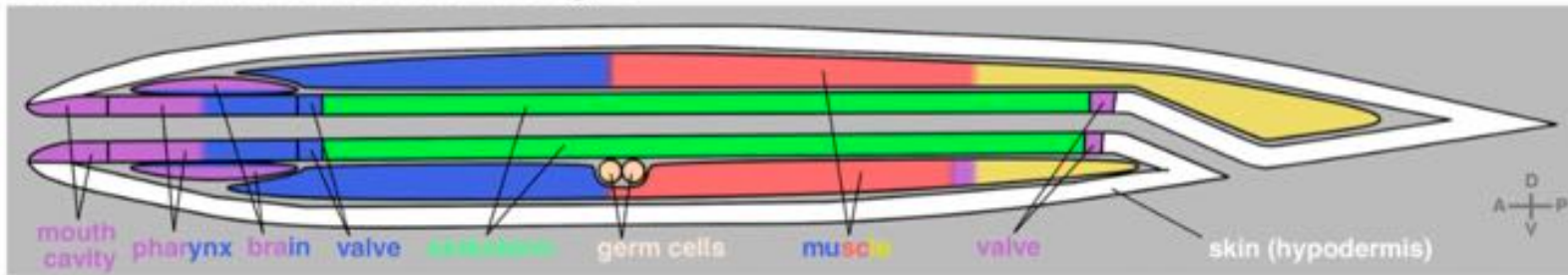
*C. elegans* gastrulation



E founder cell

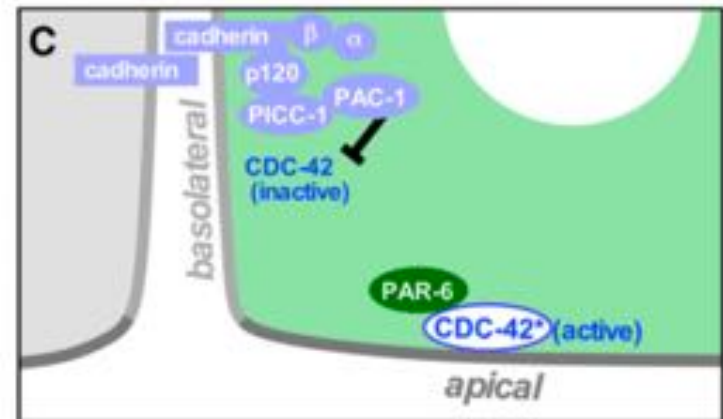
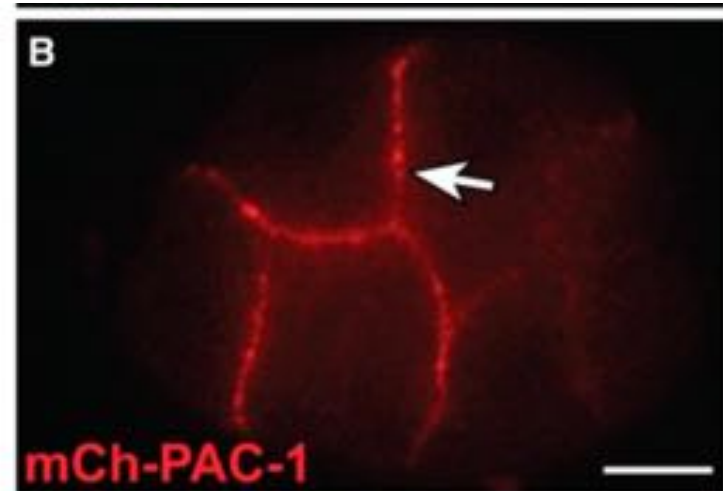
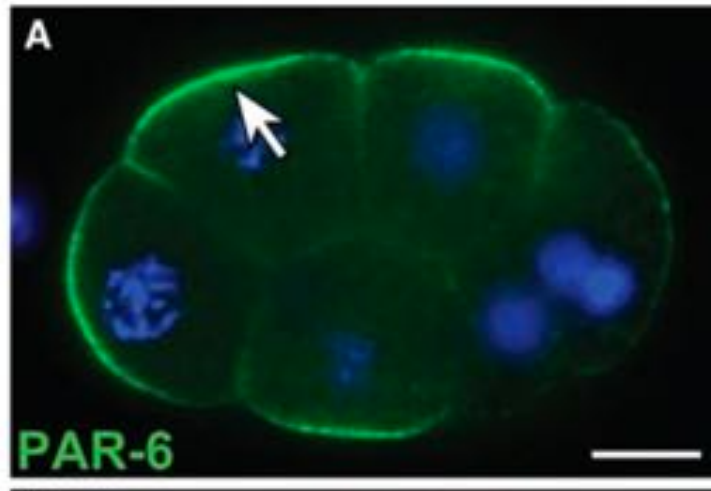


# Gastrulación



# Gastrulación

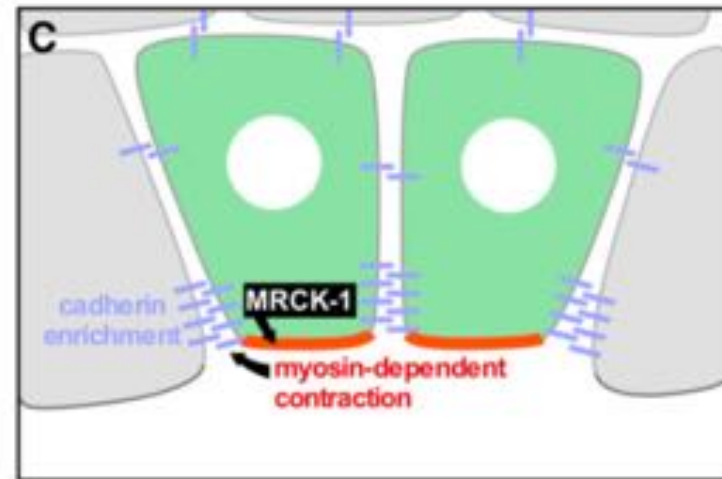
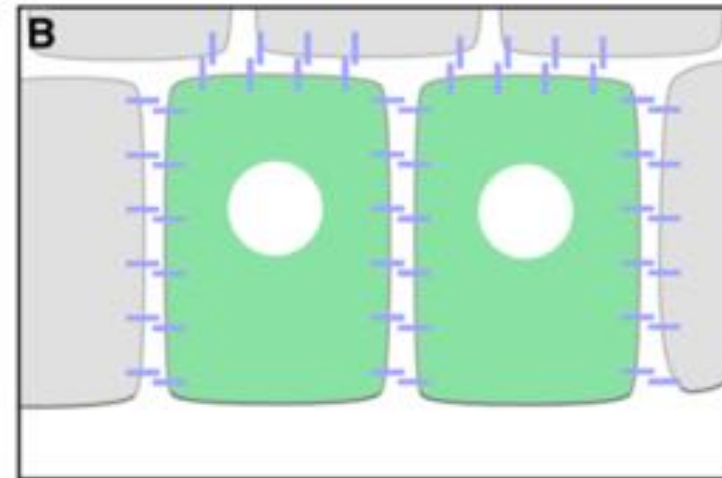
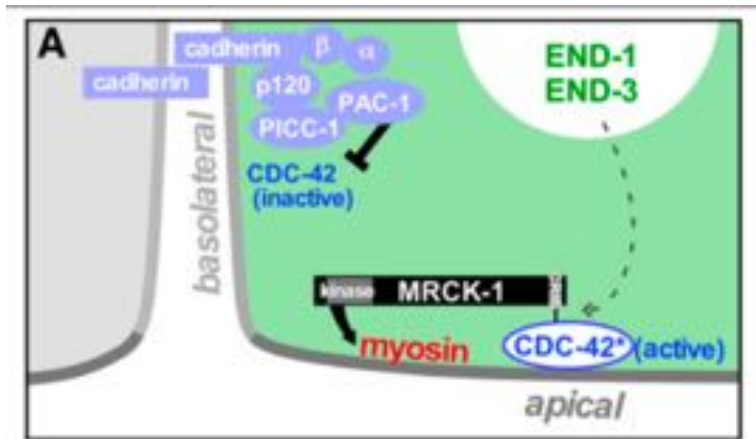
¿Como identificar hacia dentro o hacia afuera en el embrión?



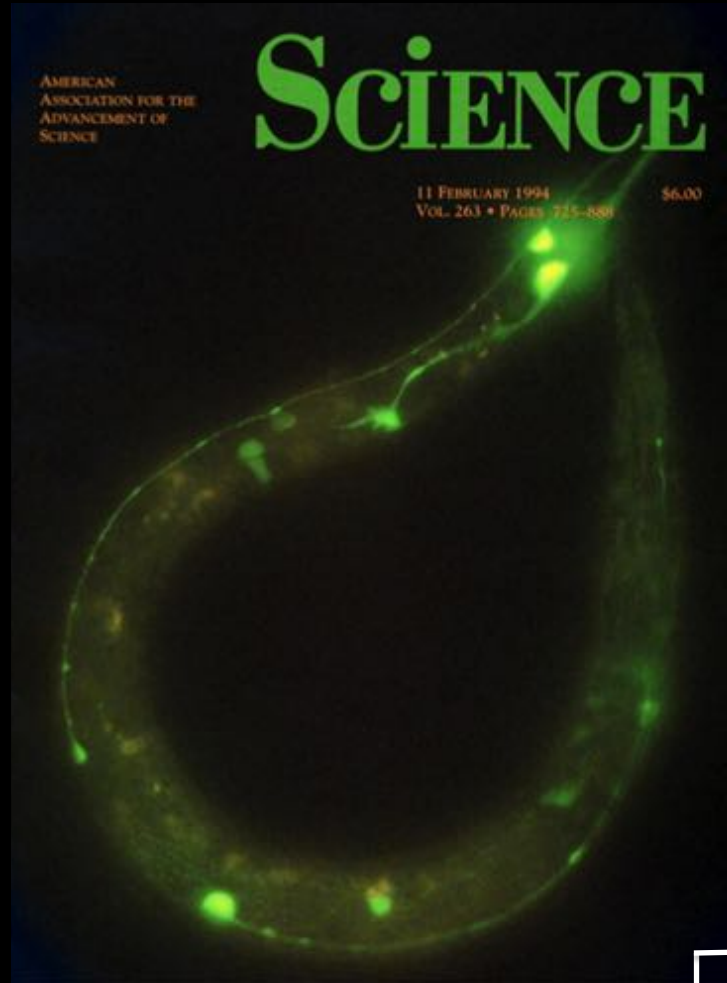
Screen genéticos: PAC-1

# Gastrulación

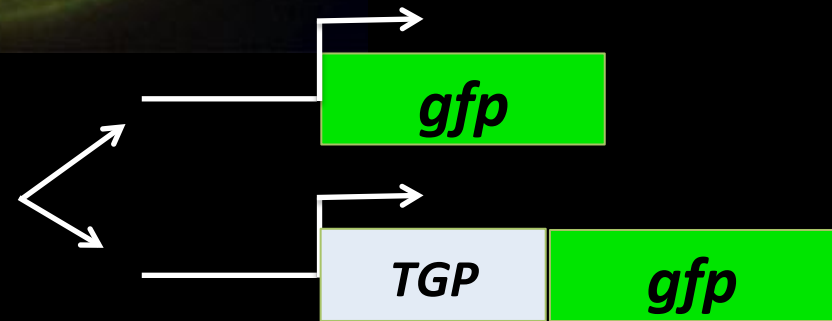
Constricción apical empuja a precursores Ea y Ep hacia adentro



# Reporteros fluorescentes



Secuencias regulatorias

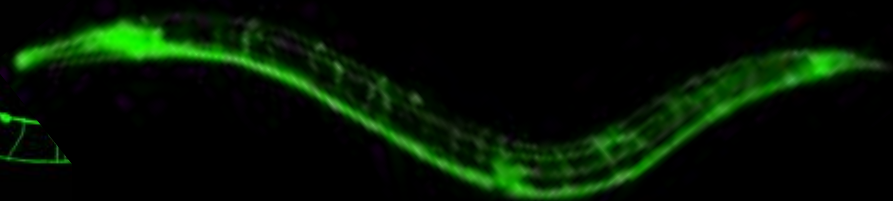
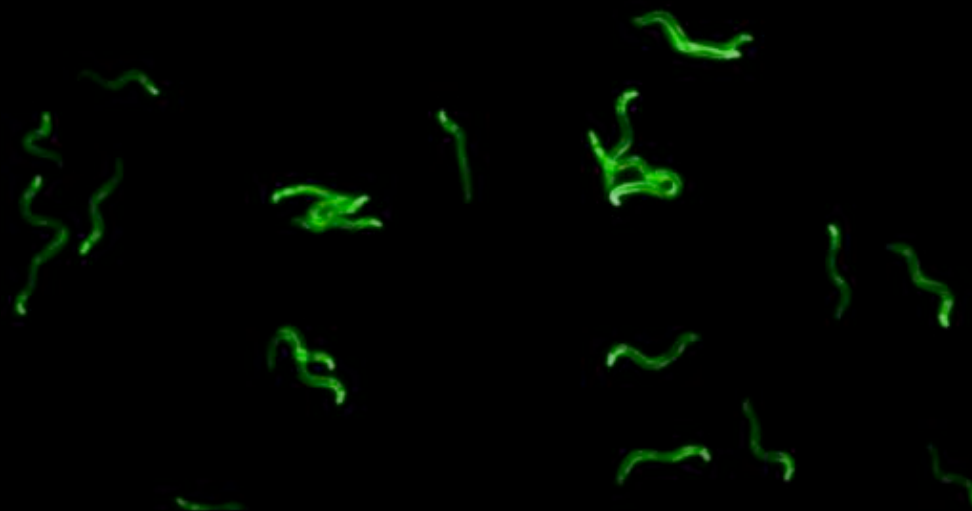
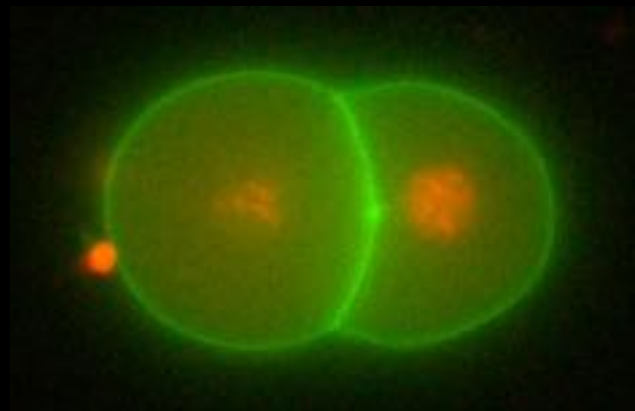


**Martin Chalfie**

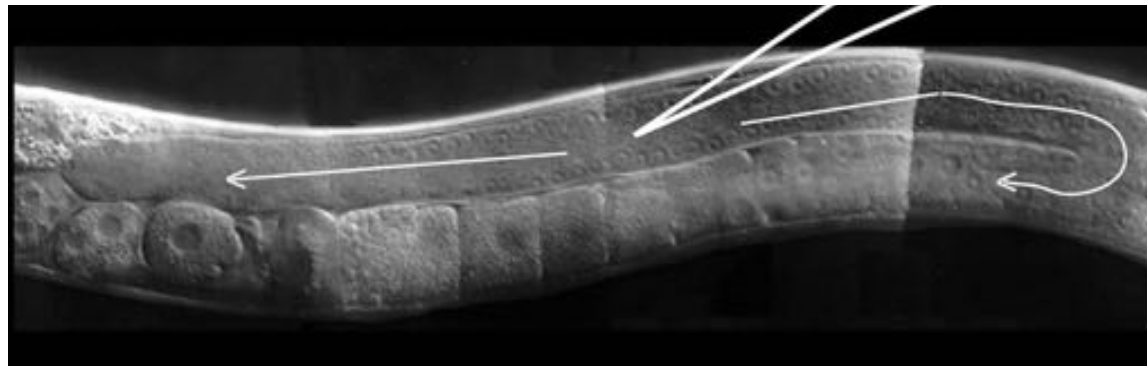
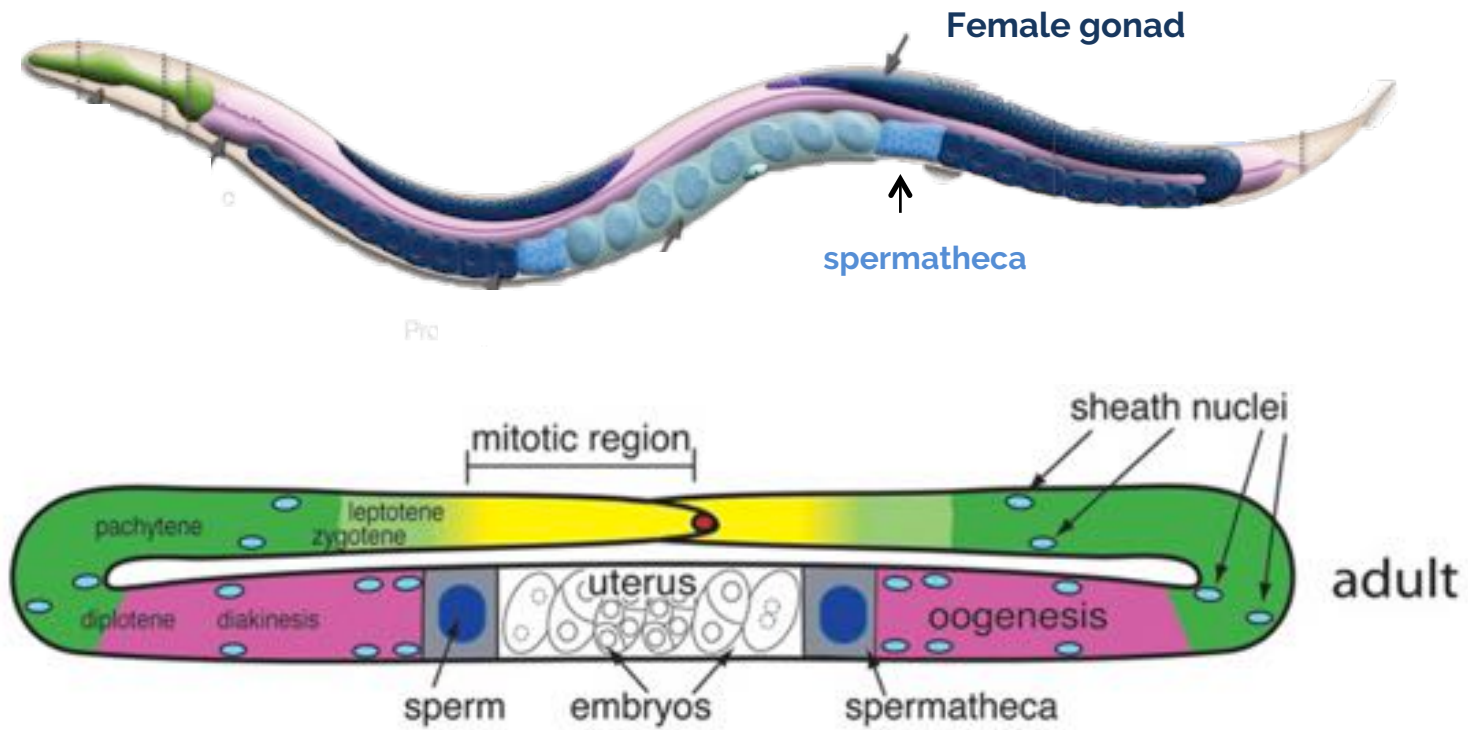
Premio Nobel Quimica 2008

Visita a FQ 2017: <https://bit.ly/2qDSC4y>

# Proteínas Fluorescentes



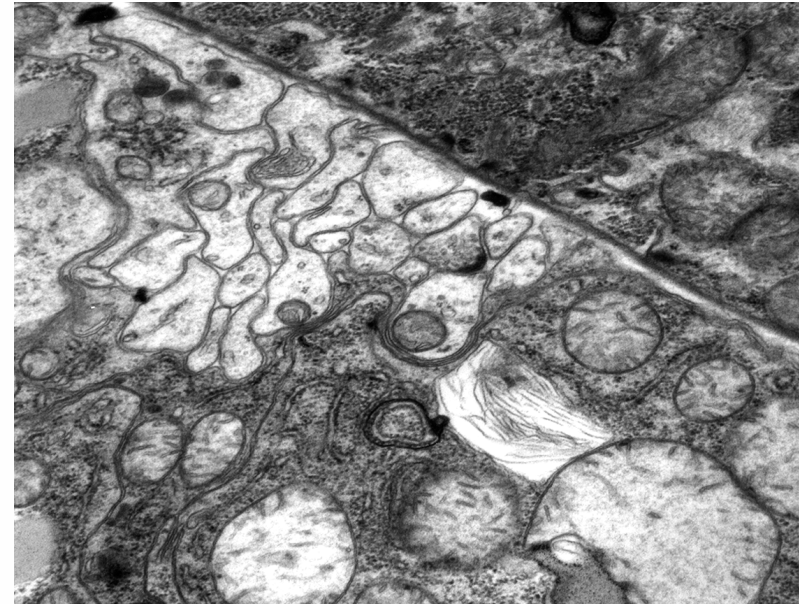
# Transgénesis utilizando microinyección







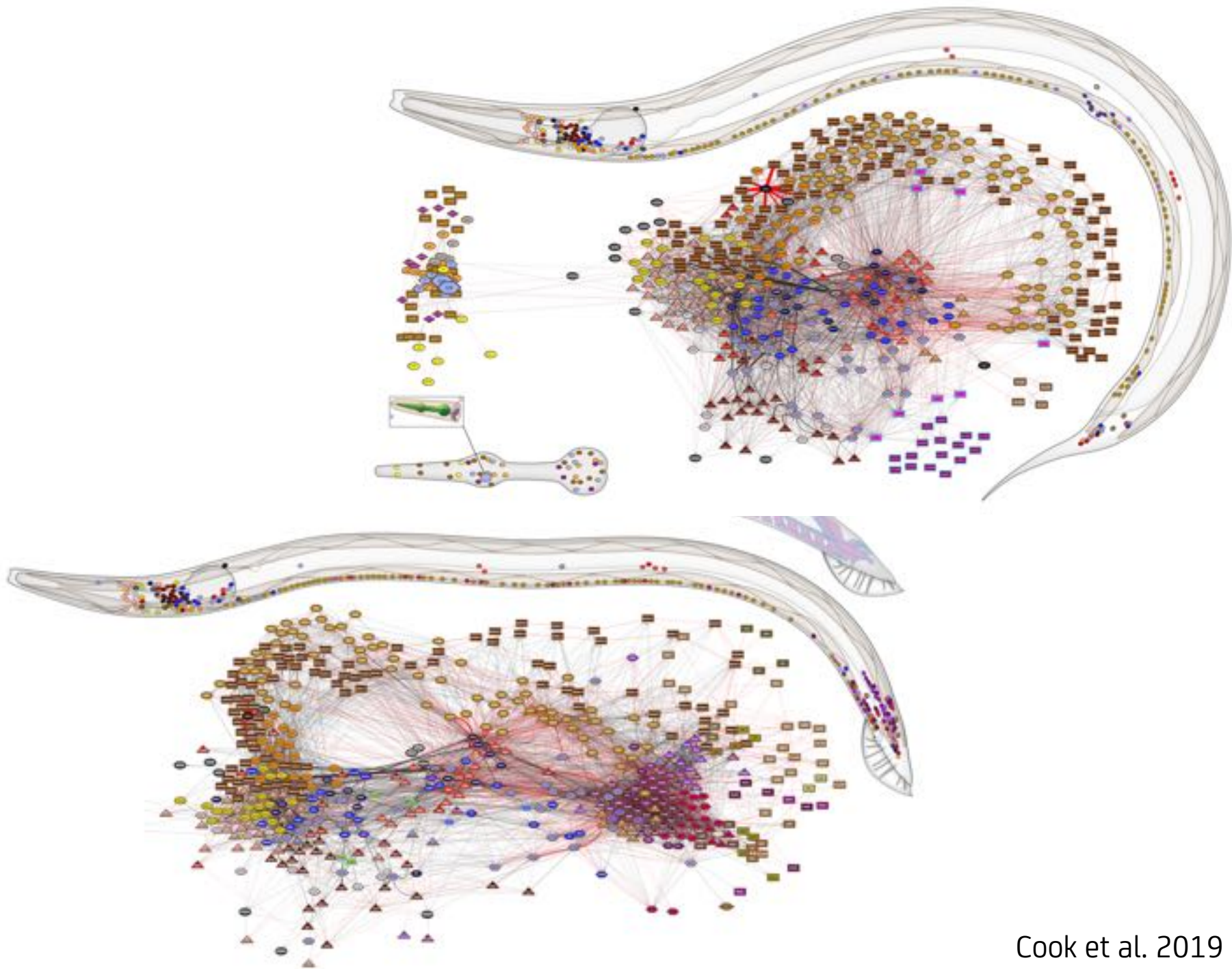
## Conectoma completo



**The Mind of a Worm**  
White, Southgate, Thomson & Brenner (1986)

**339 páginas!**

**Julio 2019**



# Sistema Nervioso

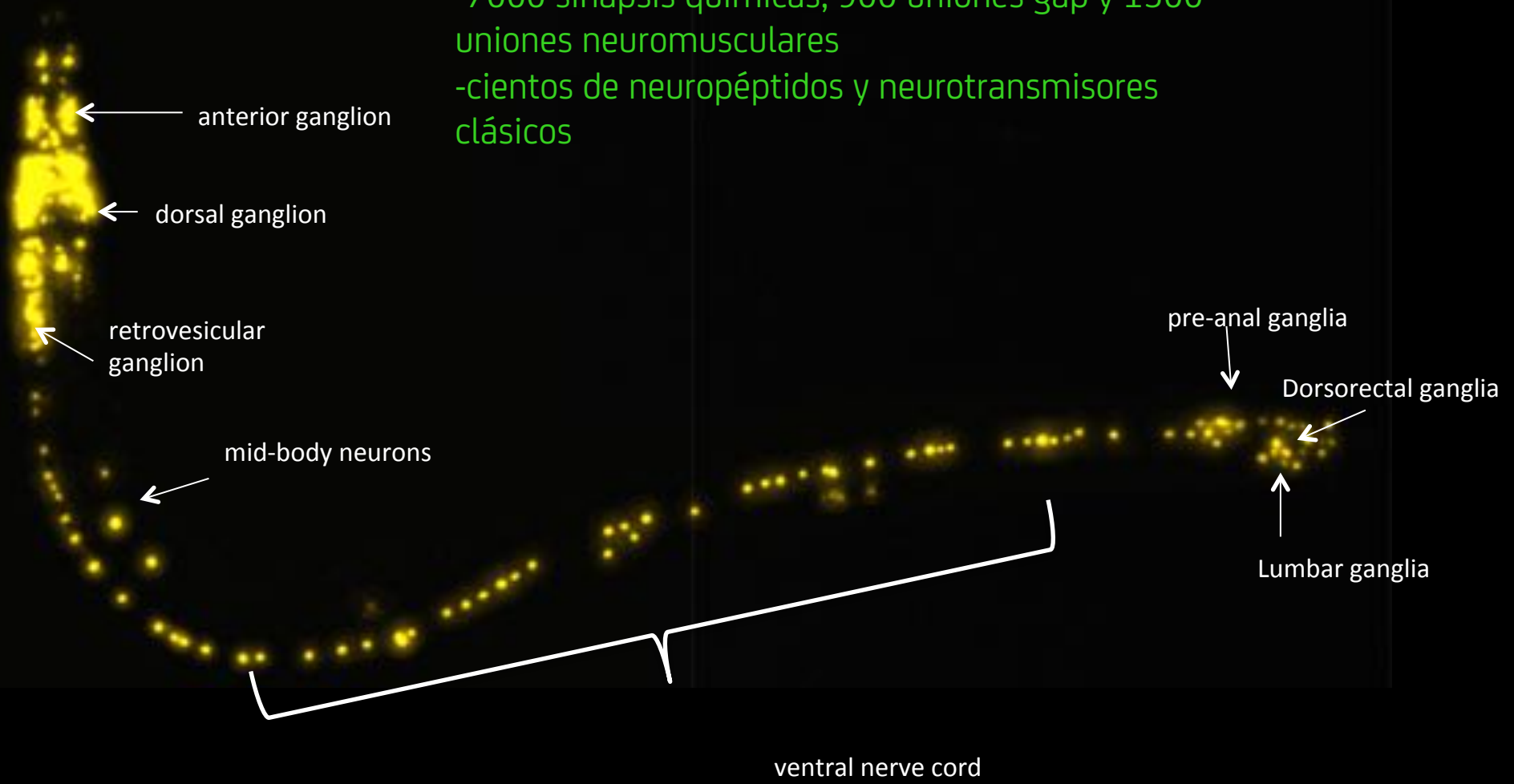
-302 neuronas

-118 clases anatómicas

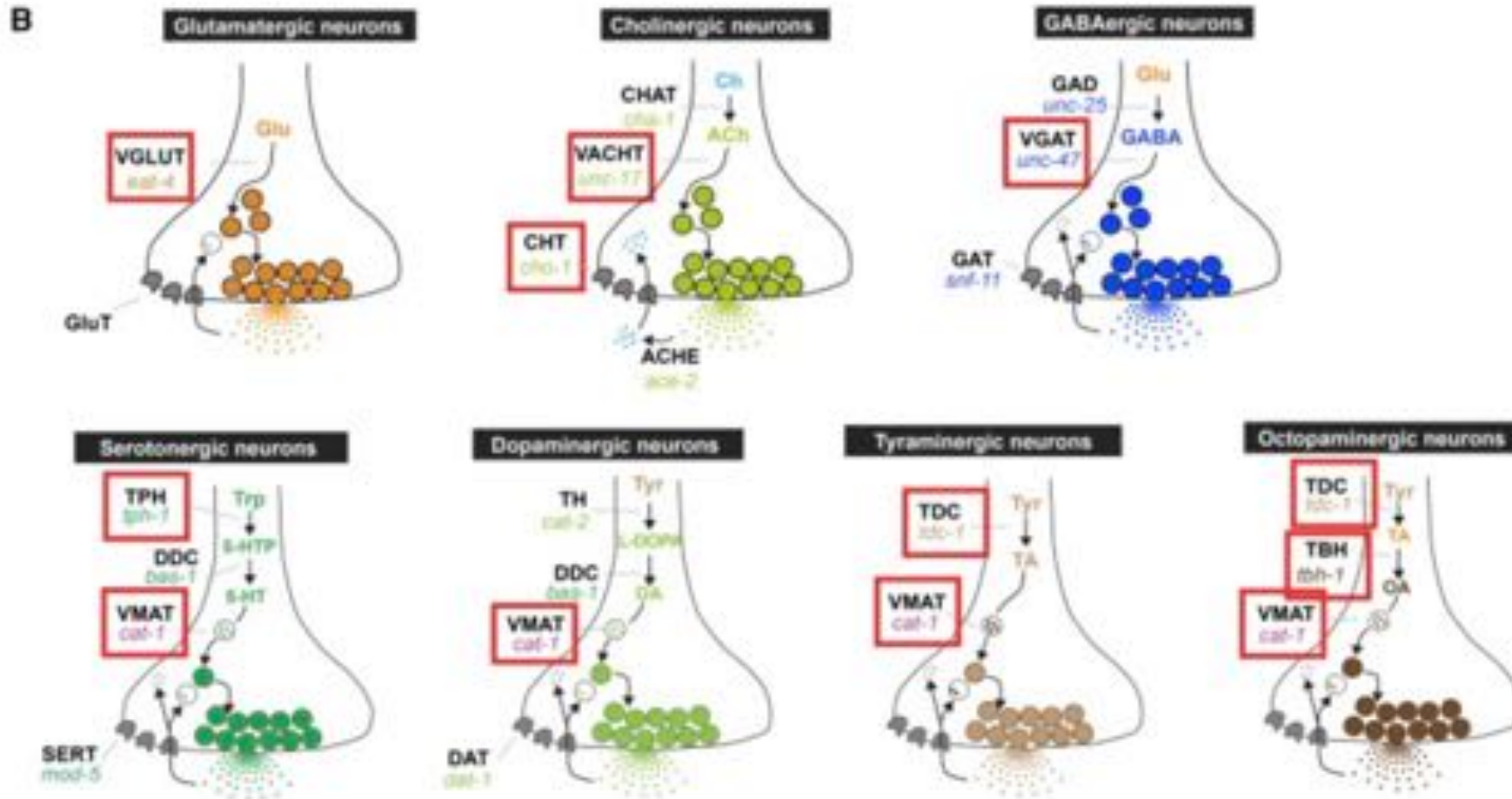
-7000 sinapsis químicas, 900 uniones gap y 1500 uniones neuromusculares

-cientos de neuropéptidos y neurotransmisores clásicos

*rab-3p::NLS-YFP*



## *C. elegans* presenta sistemas de transmisión por neurotransmisores clásicos



# Otras ventajas de *C. elegans* :

Conocemos la secuencia completa del genoma



- 100 Mb, ~19 000 genes,
- 70-80% genes humanos tiene ortólogo en *C. elegans*
- 40% de genes asociados con enfermedades humanas tienen ortólogo en el genoma de *C.elegans*

Kaletta and Hengartner, 2006  
Culetto and Sattelle, 2000

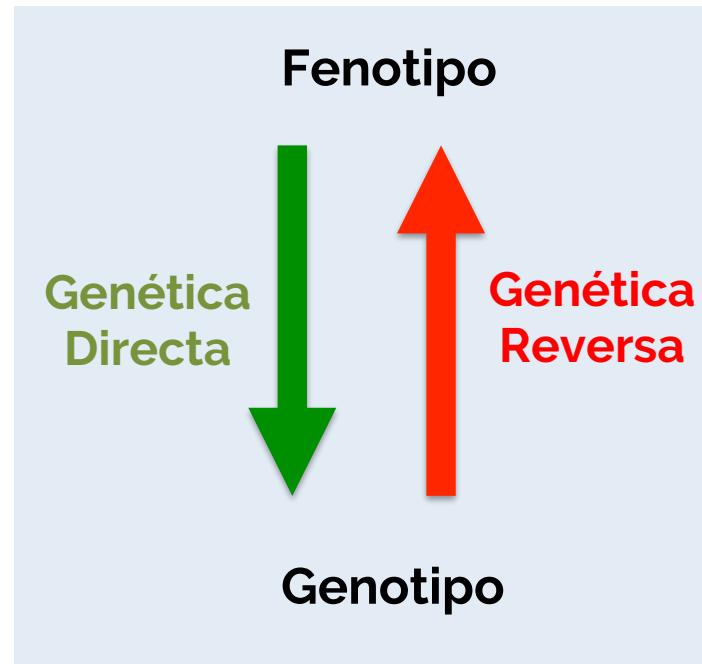
# Caja de herramientas genéticas

Random chemical mutagenesis (manual or worm sorter)

WGS mapping

Transposon mutagenesis (*Mos1*)

RNAi



RNAi (Fire & Mello 1998)

Chemical deletion libraries

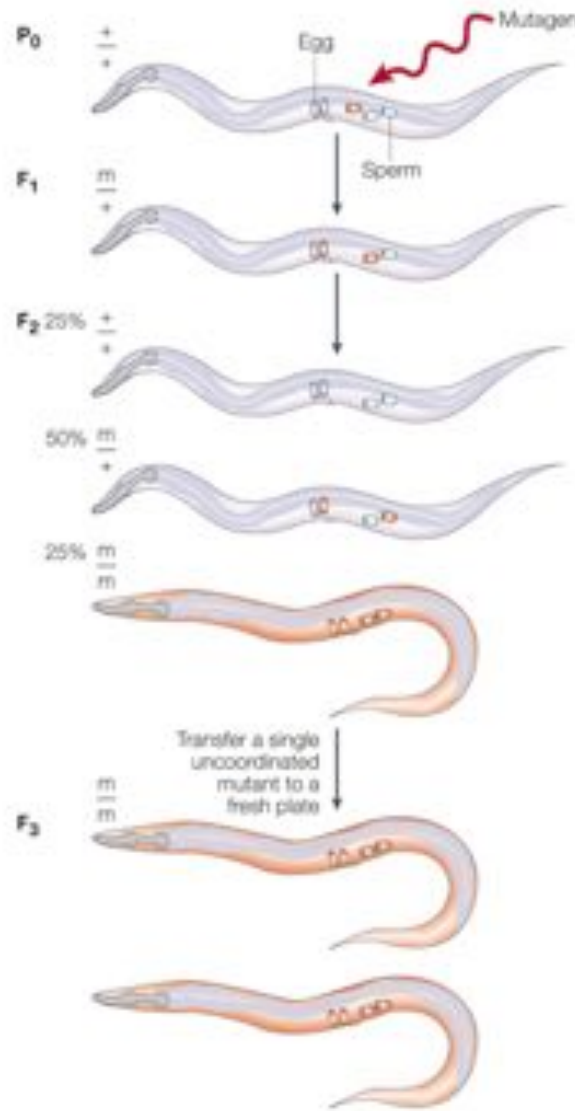
Genome editing  
-CRISPR

# **Genética directa:**

## **mutagénesis**

Identificar todos los genes  
que producen un fenotipo  
que queremos estudiar

# Screens genéticos para la locomoción



**Uncoordinated**

**Mutantes *unc***

*unc-1*

*unc-2*

*unc-3*

*unc-4*

•

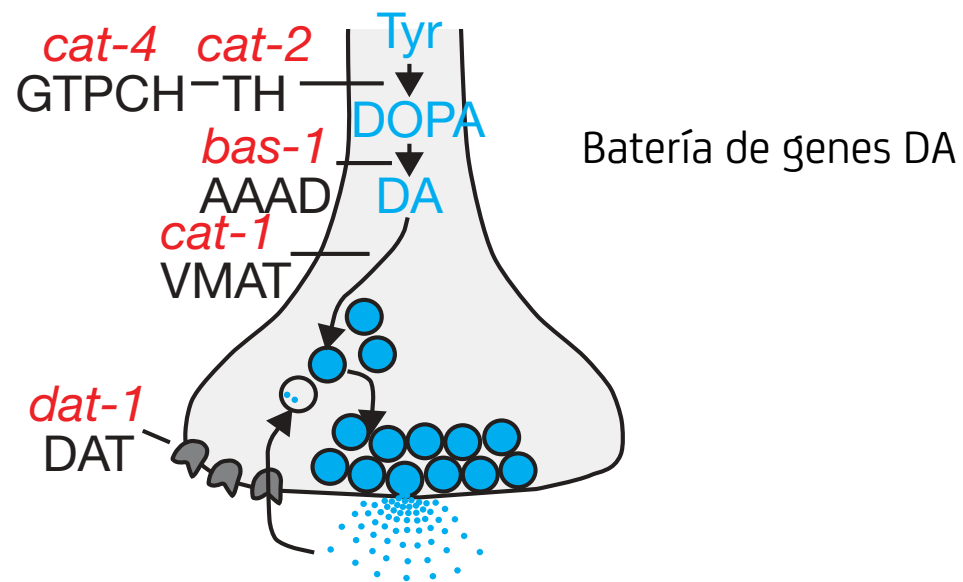
•

•

•



# Screens basados en reporteros fluorescentes

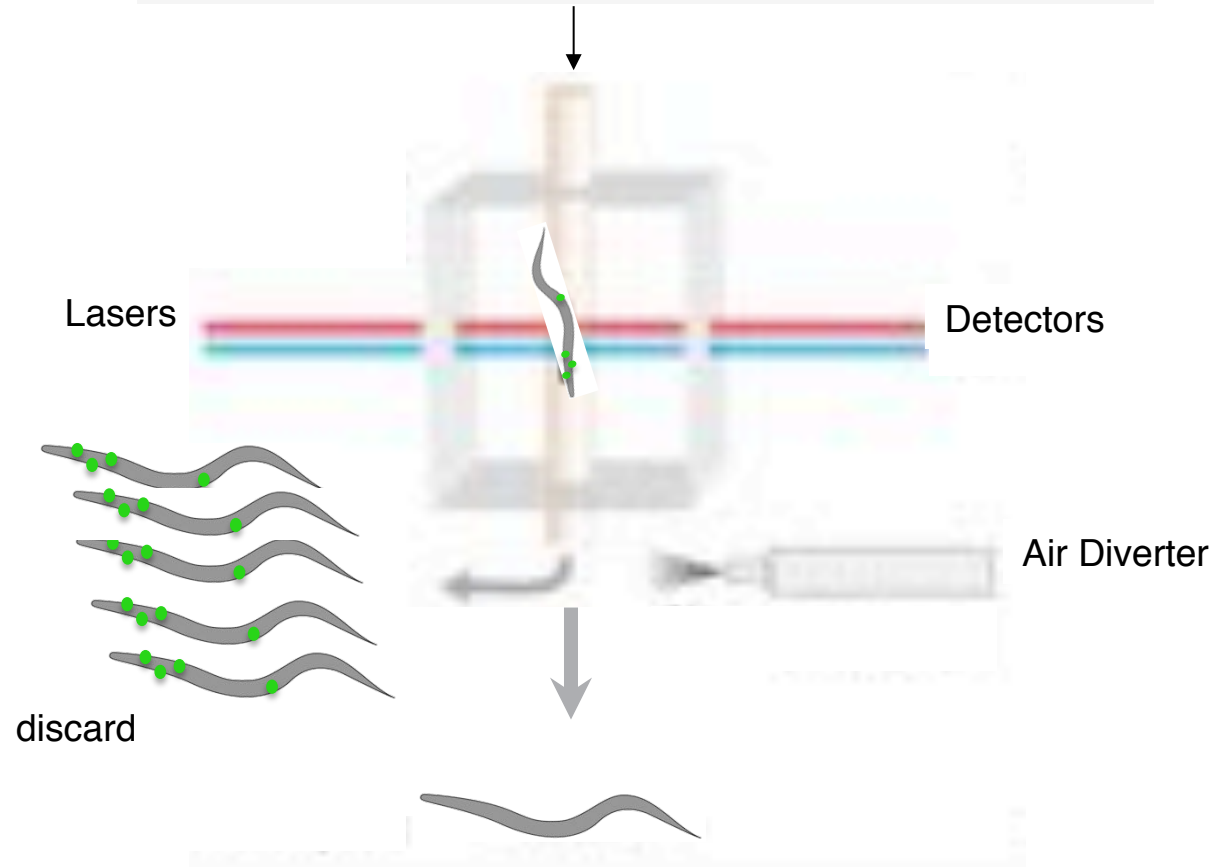


(Flames and Hobert Nature 2009)

# Screens genéticos con reporteros fluorescentes

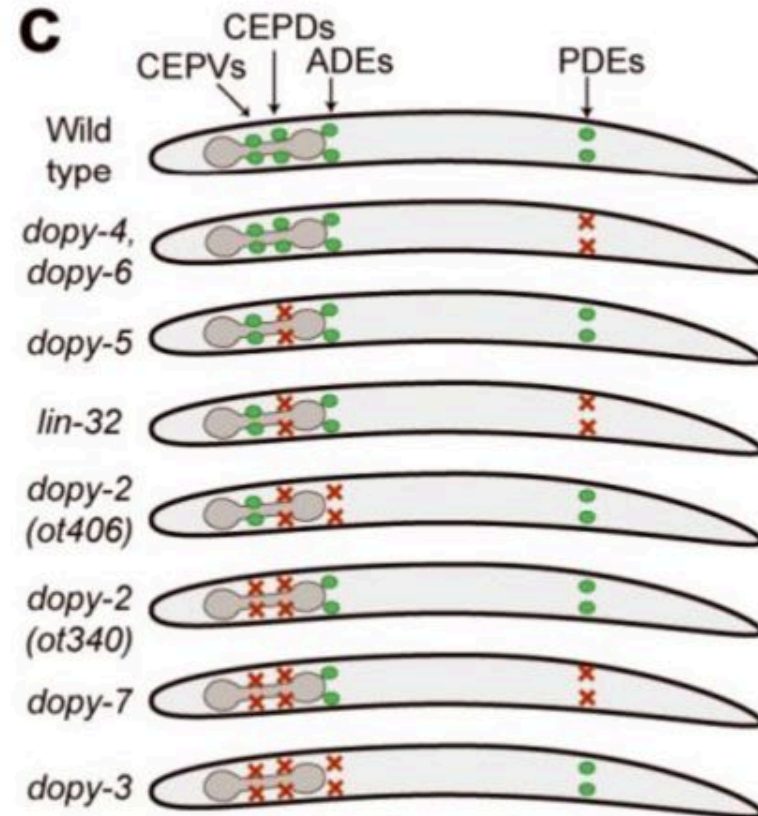
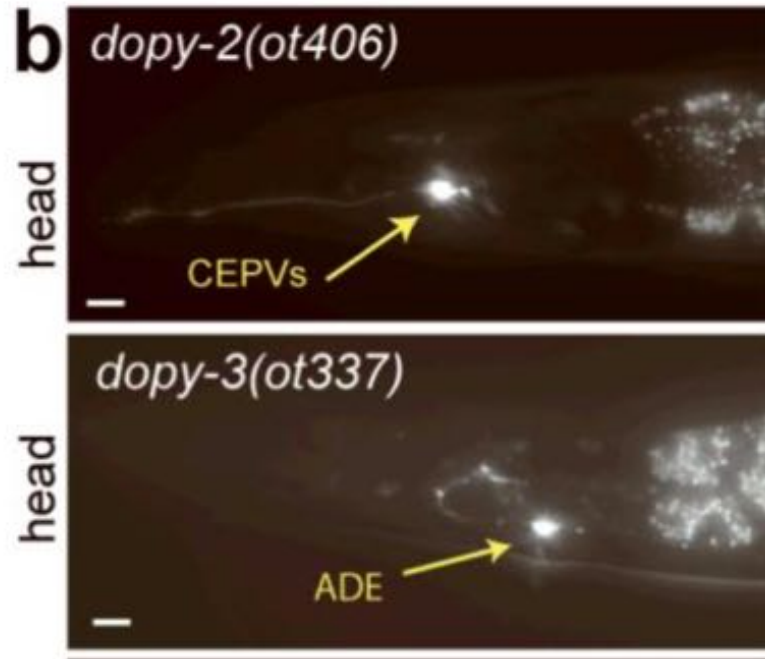
The COPAS Biosort system  
(Union Biometrica)

**Gusanos mutagenizados “adentro”**



**Mutante deseado “afuera”**

## Factores que especifican y mantienen neuronas dopaminérgicas



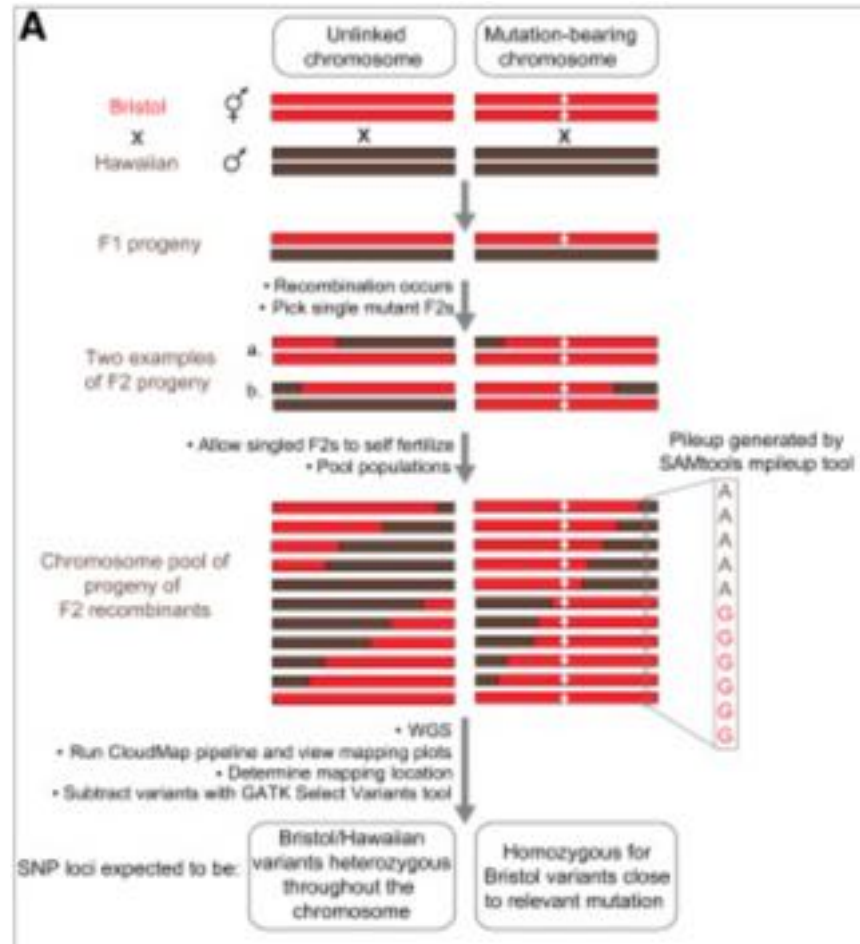
DOPY-3 = Trp-4 (Transient Receptor Potential (TRP) mechanosensory channel)

# Como identifico el gen mutado?

-Whole Genome Sequencing  
(secuenciación del genoma completo)

Basado en SNPs

# Mapeo de mutaciones por WGS



# **Genética Reversa:**

**RNAi**

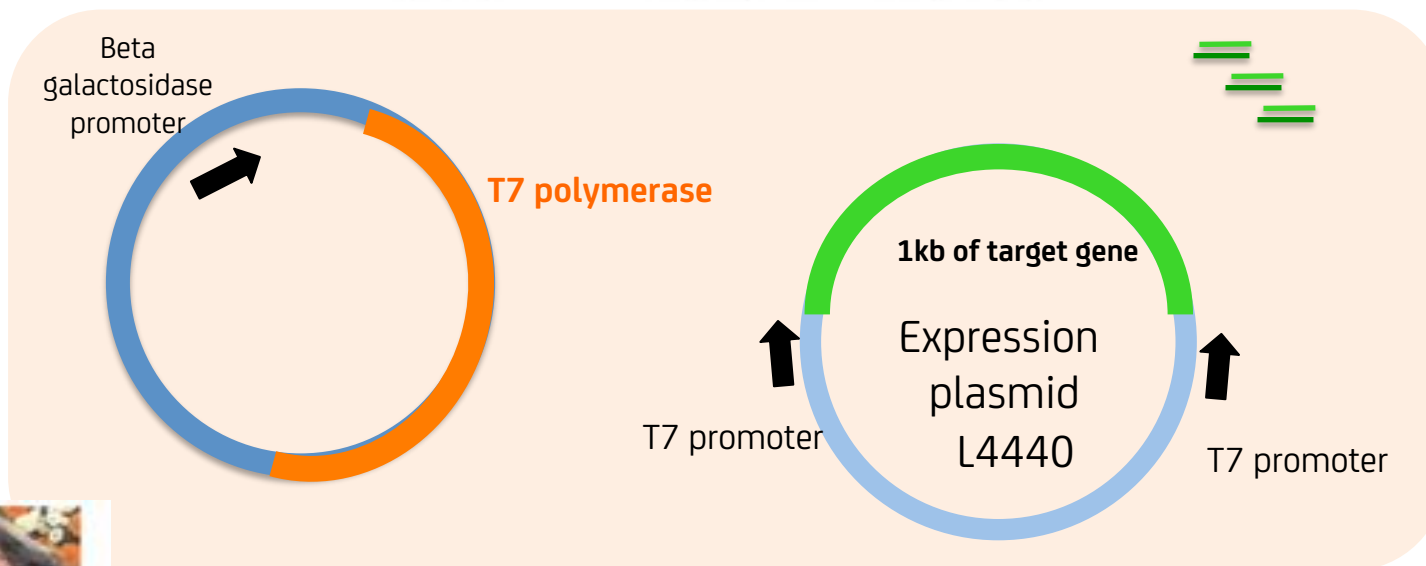
**CRISPR**

# ARN de interferencia (ARNi)

gusanos alimentados con bacterias que tienen solo vector

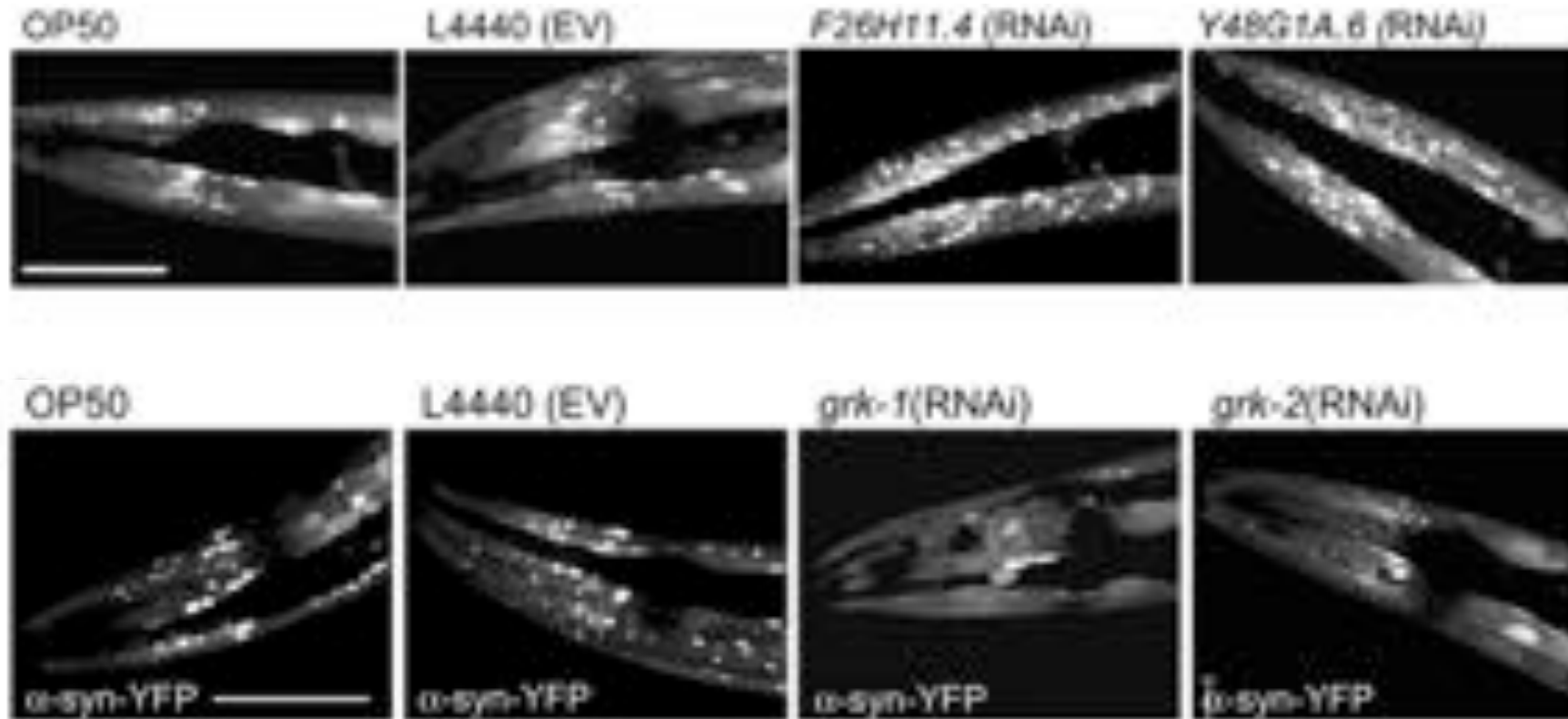


gusanos alimentados con bacterias que expresan RNA doble hebra de GFP



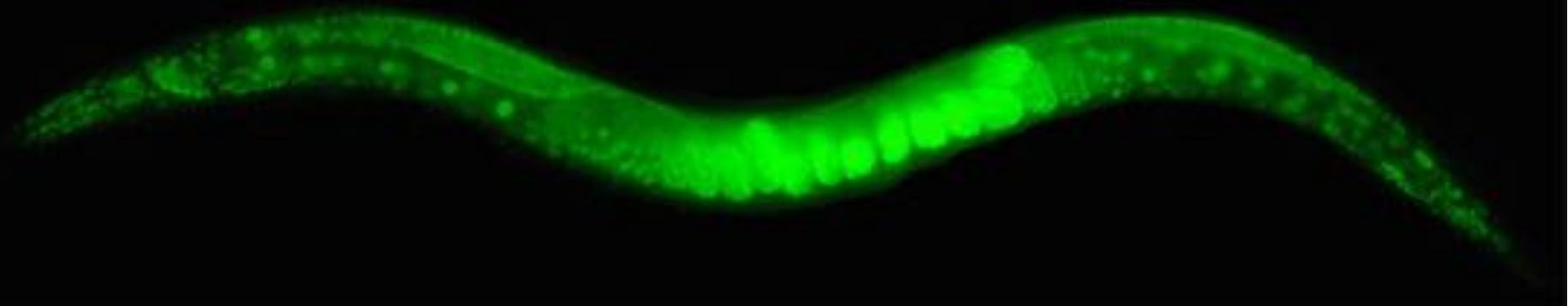
Premio Nobel en Fisiología o Medicina 2006  
A. Fire-C.Mello

# RNAi screen para buscar potenciadores o supresores de la agregación





*his-72* marcada endógenamente por CRISPR



*his72::gfp*

## Ideas para llevarse....

-*C.elegans* es un excelente organismo modelo: facilidades de trabajar con organismos unicelulares pero en uno multicelular.

-Ha contribuido al desarrollo de nuevas técnicas que han sido aplicadas a otros organismos (RNAi, GFP)

-Un poco mas de 50 años de su introducción 3 premios Nobel (2002, 2006, 2008) (Brenner, Sulston, Horvitz, Fire, Mello, Chalfie).

-Excelente modelo genético para screens y descubrir genes involucrados en procesos básicos de biología celular y desarrollo o en modelos de enfermedades (~ 70% de genes humanos tienen un homólogo claro en el gusano)

- Vías y moléculas conservadas en el desarrollo de *C.elegans* como en el de otros animales (por ej. Notch). También otras no tan conservadas....queda para la próxima..

# Referencias

## **WORMBASE**

<http://www.wormbase.org/>

## **WORMATLAS**

<http://www.wormatlas.org/>

## **WORMBOOK**

<http://www.wormbook.org/>



Openworm.org

**Comentarios, consultas, quejas.....**

**[inescarrera@fq.edu.uy](mailto:inescarrera@fq.edu.uy)**