

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Xenopus laevis – MODELNI ORGANIZAM RAZVOJNE
BIOLOGIJE

Xenopus laevis – MODEL ORGANISM IN DEVELOPMENTAL
BIOLOGY

SEMINARSKI RAD

Margarita Batović

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular biology)

Mentor: prof. dr. sc. Gordana Lacković-Venturin

Zagreb, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. MODELNI ORGANIZAM	4
2.1. PREDNOSTI <i>X. LAEVIS</i> KAO MODELNOG ORGANIZMA	4
2.2. POVIJEST <i>X. LAEVIS</i> U RAZVOJNOJ BIOLOGIJI	5
3. KORIŠTENJE <i>X. LAEVIS</i> U NOVIJIM ISTRAŽIVANJIMA	9
3.1. ISTRAŽIVANJA SPOLNOG RAZVOJA	9
3.2. ISTRAŽIVANJA NA PODRUČJU EMBRIONALNOG RAZVOJA	10
3.3. MODEL U ISTRAŽIVANJU NEURULACIJE	11
3.4. BIOLOŠKA ISTRAŽIVANJA U SVEMIRU	12
4. LITERATURA	13
5. SAŽETAK	15
6. SUMMARY	15

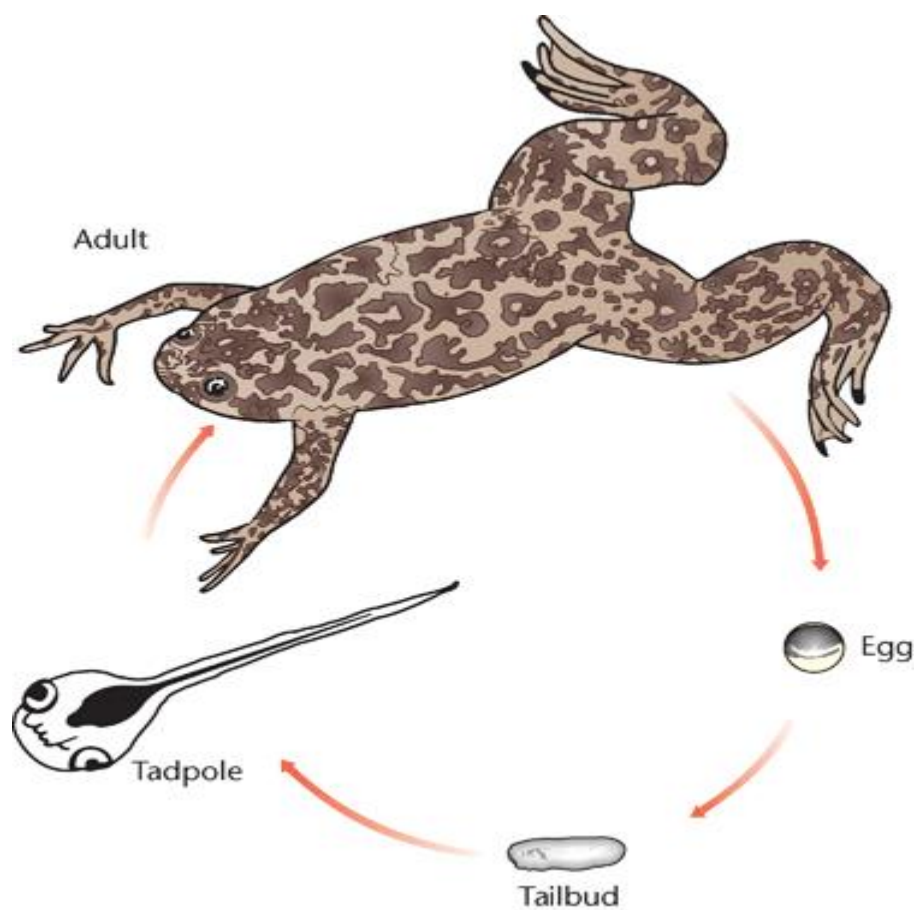
1. UVOD

Xenopus laevis (Daudin, 1802.) ili afrička pandžašica je vrsta žabe koja spada u porodicu Pipidae, a ime je dobila prema trima kratkim kandžama koje posjeduje na stražnjim nogama; iz latinskih riječi „xenopus“, koja znači čudnovata noga i „laevis“, koja znači gladak (Green, 2010).

Prirodno stanište *Xenopus laevis* je u južnoj Africi. Uvedene su i značajnije populacije u Kaliforniju, Čile, Veliku Britaniju i vjerojatno mnoge druge lokacije po svijetu. Živi u toplim, ustajalim travnatim jezerima, kao i u potocima suhих i polusuhih regija. Jezera su često lišena visoke vegetacije i ispunjena zelenim algama. Dobro podnosi široke varijacije pH vode, ali se prisutnost metalnih iona pokazala toksičnom. Optimalna temperatura za život joj je između 15 i 26°C. Gotovo je potpuno akvatična vrsta koja napušta vodu jedino u slučaju migracije (Nieuwkoop i Faber, 1994).

Porodicu Pipidae krase unikatna morfologija jer ne posjeduje jezik, zube niti vidljive uši, nego lateralne linije uzduž tijela pomoću kojih osjeća vibracije i pokrete u vodi. Zbog nedostatka jezika, prehranjuje se guranjem hrane prednjim nogama kroz usta i niz grlo (Green, 2010). Tijelo *Xenopus laevis* je plosnato, glava klinastog oblika i manja od tijela. Ima dva mala oka bez kapaka koja se nalaze na vrhu glave. Dok su prednji udovi manji i bez plivaćih kožica, stražnji su robusniji, duži i imaju karakteristične tri crne kandže na nožnim prstima kojima trga veće komade hrane (**Slika 1.**). Koža je glatka s maslinasto sivim ili smeđim mrljama dorzalno, dok je ventralno kremasto bijela. Izražen je spolni dimorfizam mužjaka koji su dužine od 4.5 do 9.7 cm i nemaju vokalnu vrećicu koju većina mužjaka žaba posjeduje. Ženke su veće, dužine od 5.7 do 14 cm (Trueb, 2003).

Xenopus laevis postaje spolno zrela između desetog i dvanaestog mjeseca života. Oplodnja je vanjska i zbiva se u vodi. Jaja su dužine do 1.3 mm, brzo se razvijaju u embrije duge do 3 mm i potom u punoglavce (**Slika 1.**). Metamorfoza punoglavaca u odrasle žabe traje oko dva mjeseca. Mlade žabe su otprilike 2 cm dugačke (Tadjuidje i Heasman, 2010). Unutar 48 sati embrio postaje punoglavac koji se može hraniti, sa svim obilježjima tipičnog kralježnjaka. Potpuni razvitak od embrija do mlade žabe traje oko 6 do 8 tjedana (Wolpert i sur. 2002).



Slika 1. Prikaz i shema životnog ciklusa *Xenopus laevis* (preuzeto iz Tadjuidje i Heasman, 2010).

2. MODELNI ORGANIZAM

Uspostava sustava modelnih organizama u istraživanjima, vidljivo izvanrednog i snažnog načina analize razvoja organizama, počiva na određenim pretpostavkama. Jedna je mogućnost ekstrapolacije saznanja dobivenih od par modelnih vrsta na mnoge druge organizme; druga je da su sami modeli reprezentativni primjerci današnje raznolikosti. Dakako, utjecaja imaju i brojni drugi faktori, poput ubrzanog razvoja, kratkog generacijskog vremena, razvojne kanalizacije i povijesnih okolnosti slučajnosti i dostupnosti. Zbog praktičnih i ekonomskih razloga, razvojni biolozi vole raditi s vrstama koje imaju brz razvoj i kratko generacijsko vrijeme. Organizmi koji dijele željene karakteristike brzog embrionalnog razvoja mogu također i dijeliti embrionalne adaptacije i ograničenja povezana s ovim svojstvima. Kritična za razvojne biologe je i uniformnost razvoja, s minimalnim varijacijama između individualnih jedinki i serija embrija. Tako proizlazi da je još jedan važan kriterij relativna neosjetljivost razvoja na okolišne uvjete (Bolker, 1995).

2.1. PREDNOSTI *X. laevis* KAO MODELNOG ORGANIZMA

Svaki modelni organizam ima svoje prednosti i mane pri korištenju (**Tablica 1.**) te se, ovisno o potrebama vlastitog istraživanja, izabire najpogodniji organizam. Kao grupa, vodozemci (Amphibia), su filogenetički dobro pozicionirani za uspoređivanje s drugim kralježnjacima, pošto su divergirali iz amniotske loze (sisavci, ptice, gmazovi) oko prije 360 milijuna godina. Usporedba s genomima sisavaca i ptica daje priliku za analizu dinamike tetrapodne kromosomalne evolucije. Genomi obje vrste, i *X. laevis*, i *X. tropicalis*, su sekvencirani i pokazuju naročite sličnosti u strukturi s ljudskim genomom, što znači da pronalasci na *X. laevis* daju uvid u stanja i bolesti kod ljudi kao i na funkcije i etape embrionalnog razvoja kod ljudi (Wheeler i Brändli, 2009).

Xenopus laevis se naširoko koristi u istraživanjima razvojne biologije kao modelni organizam. Ima visoki stupanj konzerviranosti esencijalnih staničnih i molekularnih mehanizama, lako se održava kao rasplodna kolonija, ženke je moguće potaknuti na polijeganje jaja tijekom cijele godine te je moguće generirati stotine simultano rastućih embrija iz jedne jedine fertilizacije. Embriji su pogodni za mikrokirurške zahvate u bilo kojem razvojnom stadiju, a odrasle žabe preživljavaju operacije provedene pri limitirajućim

aseptičkim uvjetima. Lakoća injektiranja oligonukleotida ili glasničke ribonukleinske kiseline (mRNA) u embrije *Xenopus laevis* je doprinijela otkriću gena s ključnim funkcijama u razvoju. Još jedna posebnost *Xenopus laevis* je i lakoća manipulacije oocitama prije oplodnje: to je snažan alat za identifikaciju funkcija majčinski pohranjene mRNA tijekom razvoja organizma (Tadjuidje i Heasman, 2010).

Nakon svega navedenog može se reći da je *Xenopus laevis* dragocjen alat za istraživanja jer je izdržljiv, potpuno akvatični organizam, jednostavan za održavanje u laboratoriju. Stvara jaja tijekom cijele godine, koja su pouzdan i fleksibilan materijal za istraživanje, dok su mu embriji dobar model za razvoj kralježnjaka. Naposljetku, nađene su genetičke sličnosti s ljudima pa je tako dobar model i za ljudske bolesti (**Tablica 1.**).

Tablica 1. Usporedba i karakteristike nekih modelnih organizama.

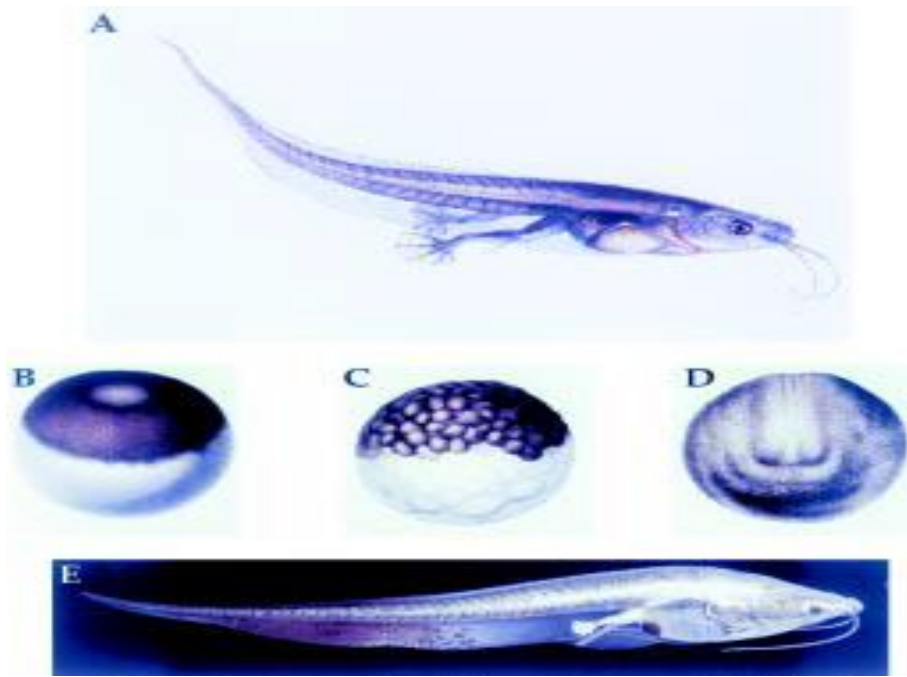
Category:	<i>C. elegans</i>	<i>Drosophila</i>	Zebrafish	<i>Xenopus</i>	Chicken	Mouse
Broodsize	250-300	80-100	100-200	500-3000+	1	5-8
Cost per embryo	low	low	low	low	medium	high
High-throughput multiwell-format screening	good	good	good	good	poor	poor
Access to embryos	good	good	good	good	poor	poor
Micro-manipulation of embryos	limited	limited	fair	good	good	poor
Genome	known	known	known	known	known	known
Genetics	good	good	good	fair	none	good
Knockdowns (RNAi, morpholinos)	good	good	good	good	limited	limited
Transgenesis	good	good	good	good	poor	good
Evolutionary distance to human	very distant	very distant	distant	intermediate	intermediate	close

Legenda boja: a) zeleno – najbolji u kategoriji, b) crveno - najgori u skupini (preuzeto iz Wheeler i Brändli, 2009).

2.2. POVIJEST *X. laevis* U RAZVOJNOJ BIOLOGIJI

Xenopus laevis je prvi put opisao francuski prirodoslovac François Marie Daudin, na početku devetnaestog stoljeća; na prijelazu u dvadeseto stoljeće britanski zoolog Edward J. Bles je prvi uveo njezine embrije u laboratorij. Europske znanstvenike je u početku samo interesirala prirodna povijest i usporedba anatomije s onom drugih vodozemaca. Bles je tako s vremenom proširio proučavanje i na razvoj *Xenopus*, pritom objavivši članak, koji nije

sadržavao samo A.K. Maxwellove sjajne crteže od neoplođenog jaja pa sve do kasnog stadija punoglavca (**Slika 2.**), nego i precizno opisane uvjete za uspostavu ovulacije, fertilizacije i uzgoj *Xenopusa* u laboratoriju (Gurdon i Hopwood, 2003).



Slika 2. Prve objavljene slike embrija i punoglavca *Xenopus laevis*: a) punoglavac *Dactylethra* (poslije *Xenopus laevis*), (Gray, 1864); b-e) A.K. Maxwellovi crteži embrija (Bles, 1905); e) kasni stadij punoglavca. Obrađeno s dozvolom Syndics of Cambridge University Library (Gurdon i Hopwood, 2003).

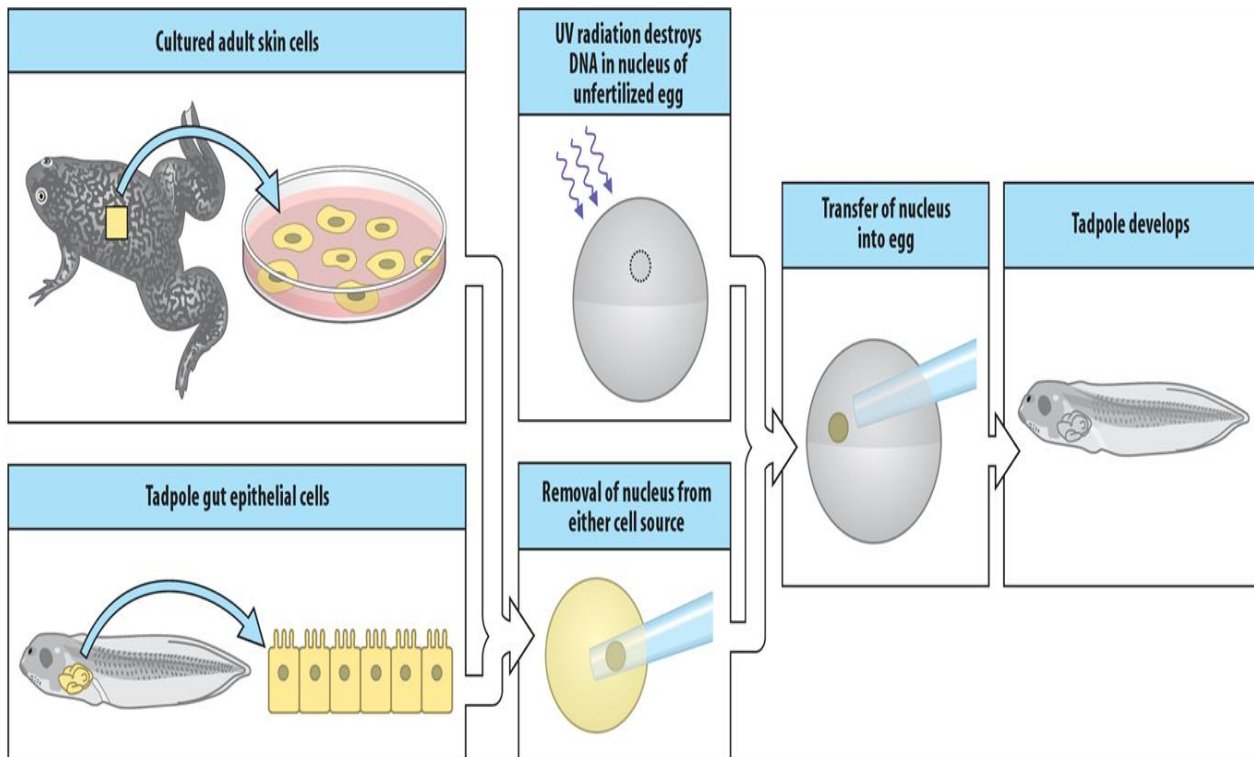
Zahvaljujući endokrinološkim istraživanjima južnoafričkog znanstvenika Lancelota Hogben, a tridesetih godina prošlog stoljeća, *Xenopus* je naveliko ušao u europske znanstvene vode. Hogben je istražujući utjecaje uklanjanja hipofize iz *Xenopusa* vidio kako dolazi do pojačane aktivnosti ovarija što je kasnije dovelo do zaključka da se može koristiti kao indikator prisutnosti korionskog gonadotropina u urinu trudnica. Tijekom četrdesetih i pedesetih godina prošlog stoljeća medicinska potražnja za testiranjem trudnoće je učinila *Xenopus* široko dostupnim u europskim i sjevernoameričkim laboratorijima. Prvi testovi trudnoće su se temeljili na injektiranju urina trudnica u žabe te naknadnom pregledavanju žabljih ovarija u potrazi za punima i povećanima, dok se kasnije pratilo izlaganje jaja. Počela je rasti potražnja za vrstom *Xenopus* među razvojnim biologima, koji su je koristili za tradicionalnu mikrokirurgiju te, pogotovo, za biokemijske studije razvoja koje su zahtijevale

velike količine ekvivalentnog biološkog materijala, a u tom vremenu to je bilo najmodernije područje. Ključnu ulogu u pravljenju *Xenopusa* efektivnim alatom u embriologiji imao je nizozemski zoolog Pieter D. Nieuwkoop. Već tijekom rata, zajedno s van der Kamerom, je ukazao na njegove prednosti (i neke mane) u mikrokirurgiji, ističući lakoću dekapulacije ranih stadija u odnosu na druge žabe, pogodnu konzistenciju tkiva za rezanje, ornost pri odvajanju zametnih listića i odlično preživljenje nakon operacija. Pokazao je i da se pretpostavljene mezodermalne stanice nalaze u unutrašnjem sloju, čak prije negoli gastrulacija uopće započne (Nieuwkoop i Florschütz, 1950). Kako bi povećao dostupnost embrija kralježnjaka embriolozima, izdao je 1956. godine „Normal Tables“, u kojem je iznio standarde koji igraju važnu ulogu u domestikaciji životinja za embriološke laboratorije (Hopwood, 2000). Time je utvrdio da je *Xenopus* pogodan za eksperimentalni rad (Gurdon i Hopwood, 2003).

Sredinom dvadesetog stoljeća je djelovao i Michail Fischberg koji je sa svojim kolegama u vlastitim kolonijama naišao na postojanje diploidnih embrija s jednom jezgrom (umjesto dvije), i zatim generirao homozigotnu žabu koja je postavila temelje nuklearnoj transplantaciji, pošto se ta O-nu mutacija mogla koristiti kao genetički marker u nuklearnoj transplantaciji (Gurdon i sur, 1958). Fischbergov student i eksperimentalni biolog John Gurdon je otkrio da je O-nu mutacija zapravo rezultat kompletne delecije nekoliko ribosomalnih gena (Brown i Gurdon, 1964). Na primjer, koncept da se diferencirane stanice mogu reprogramirati tako da ponovno postanu pluripotentne je inicijalno uveo 1962. Gurdon, koji je uzeo jezgru razvijene probavne stanice punoglavca i unio ju u jajnu stanicu, čija je jezgra prethodno bila uklonjena (**Slika 3.**). Poslije je uočio da se ta jajna stanica razvila u zdravog punoglavca (Gurdon, 1962.) Za ovo inovativno otkriće u staničnom reprogramiranju Gurdon je nagrađen Nobelovom nagradom na području fiziologije ili medicine 2012. godine, zajedno sa S. Yamanaka.

Široka rasprostranjenost *Xenopusa* u laboratorijima i mogućnost pouzdanog nabavljanja jaja tijekom svih sezona može sasvim zadovoljavajuće objasniti njegovu povećanu upotrebljivost u razvojnoj biologiji. Međutim, dominaciju nad drugim vodozemcima su osigurali znanstvenici s primarno biokemijskim, staničnim i/ili genetičkim interesima, koji su se šezdesetih godina prošlog stoljeća počeli opsežnije baviti ovim područjem. Uz Sir John Gurdon, takav znanstvenik je bio i Igor Dawid koji je publicirao jedan od kapitalnijih radova o mitohondrijskoj DNA *Xenopusa* (Dawid, 1965). Dawid, Gurdon i drugi značajniji biolozi su već početkom šezdesetih godina osnovali neovisne

laboratorije, čime je prikladnost *X. laevis* u kombiniranju eksperimentalnih embrioloških metoda s molekularnim i genetičkim tehnikama postala vrlo jasna. Od tada pa sve do danas korištenje *Xenopus laevis* kao laboratorijskog organizma je dramatično poraslo (Gurdon i Hopwood, 2003).



Slika 3. Shema nuklearne transplantacije u izvađenim oocitima *Xenopusa* (Preuzeto sa www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DEVO_10/devo_10.html).

3. KORIŠTENJE *X. laevis* U NOVIJIM ISTRAŽIVANJIMA

Kao modelni organizam *X. laevis* se koristi u mnoštvu današnjih istraživanja u razvojnoj biologiji, pogotovo u proučavanju još nekih nerazjašnjenih mehanizama i utjecaja gena na odvijanje procesa embrionalnog razvoja kralježnjaka, poput gastrulacije, neurulacije, spolnog razvitka i razvitka organa, poput srca i mozga. Njegove primjene također nalazimo i u razumijevanju neurodegenerativnih bolesti, kognitivnoj znanosti, imunologiji, epigenetici i histonskoj modifikaciji. Značajan je i doprinos embrija *Xenopus* istraživanjima vida i očiju, kojima je otkriveno nekoliko gena i signalnih puteva presudnih za razvoj oka i mrežice, provedenih na temelju embrionalnih analiza oka nakon manipuliranja ekspresijom očnih gena pomoću mikroinjektiranja blastomera (*Xenopus* Community White Paper, 2009).

3.1. ISTRAŽIVANJA SPOLNOG RAZVOJA

Brojna su istraživanja koja doprinose ne samo razvojnoj biologiji, nego i drugim biološkim granama, kao što je u navedenom slučaju s evolucijskom biologijom. Naime, spolni razvoj je ključan za sve populacije, jer upravo o njemu ovisi njihov opstanak, tako da je međusobno pomaganje u razrješenju nekih još neodgovorenih pitanja od velike važnosti za ove obje discipline. Jedan takav primjer su i iznijeta saznanja dobivena o represiji ekspresije zigotnih gena u germinativnim stanicama *Xenopus*: „Primordijalne germinativne stanice (PGCs) kod *Xenopus* se specijaliziraju putem nasljeđivanja germinativne plazme. Tijekom gastrulacije, PGCs ostaju totipotentne dok se okolne stanice u vegetativnoj masi posvećuju endodermu uslijed aktivacije vegetativno lokaliziranog majčinskog transkripcijskog faktora VegT. Pronađeno je da, iako PGCs sadrže majčinsku VegT RNA, ne utječu na ekspresiju svojih nizvodnih ciljeva u stadiju tranzicije srednje faze blastule (MBT). Naši pronalasci ukazuju da PGCs nemaju mogućnost odgovora na majčinski naslijeđene endodermalne determinante, jer je aktivnost RNAPII privremeno blokirana zbog prisutnosti ovih determinanti. Daljnji rezultati u kralježnjaka podalje podupiru koncept da je zapravo jedna strategija korištena u više navrata tokom evolucije za konzerviranost germinativnih stanica, a to je represija RNAPII“ (Venkatarama i sur. 2010).

Razvojni biolozi se i dalje ponajviše bave istraživanjima mehanizama nastajanja i kontrole spolnih stanica i oplodnje, a to je uvelike olakšano otkad su se počele primjenjivati

molekularne metode u istraživanjima. Tako su u 2011. godini otkriveni molekularni i biokemijski mehanizmi apoptoze neoplođenih jajnih stanica žaba nakon izlaza iz mejoze. „Donosimo da velika većina prirodno izlegnutih neoplođenih jajnih stanica afričke pandžašice, *Xenopus laevis*, spontano izlazi iz metafazne zakočenosti pod utjecajem različitih okolišnih čimbenika te se degradira dobro profiliranim apoptotičkim procesom unutar 48 sati nakon ovulacije. Glavne sastavnice ovog procesa uključuju oslobađanje citokrom c kompleksa, aktivaciju kaspaza, utrošak ATP-a, povećanje ADP/ATP omjera, apoptotičnu morfologiju jezgre, progresivnu intracelularnu acidifikaciju i otjecanje jajnih stanica. Izgleda da je izlazak iz mejoze preduvjet za izvršavanje apoptotičkog programa“ (Tokmakov i sur. 2011).

3.2. ISTRAŽIVANJA NA PODRUČJU EMBRIONALNOG RAZVOJA

Održavanje pravilnog embrionalnog razvitka je ključno za razvoj zdravog živog bića te se stoga temeljito proučavaju faktori koji utječu na njega, pogotovo kada je riječ o zdravstvenim poremećajima. *Xenopus* se često koristi u istraživanju utjecaja različitih signalnih molekula na procese gastrulacije i organogeneze pa je tako nedavno provedeno istraživanje o utjecaju neurotransmitera, signalnih molekula u raznovrsnim staničnim tipovima, a ponajviše u mozgu. „Rezultati su dobiveni ispitivanjima gubitka i stjecanja funkcija pomoću korištenja farmakoloških modulatora nekoliko neurotransmiterskih puteva da bi se proučila moguća uloga ovih puteva u normalnoj embriogenezi. Primjenom reagensa, a koji ciljaju glutamatergične, adrenergične i dopaminergične puteve embrija *Xenopus laevis* od stadija gastrulacije do organogeneze, opažene su i kvantificirane brojne malformacije, uključujući kraniofacijalni defekti, hiperpigmentacija, pogreške u strukturiranju mišića i uvijanja probavne cijevi. Ovi podaci ukazuju na nekoliko ključnih neurotransmitera u novoj embrionalnoj uspostavi uzorka, otkrivaju nove ranije stadije procesa uključenih u razvoj očiju, predlažu nova ciljna mjesta za molekularno-genetička istraživanja i ističu neophodnost toksikoloških studija psihoaktivnih tvari kojima bi ljudski embriji mogli biti izloženi tijekom trudnoće“ (Sullivan i Levin, 2016).

Iako su već duže vrijeme otkriveni mehanizmi gastrulacije, i dalje se dolazi do novih spoznaja o kontrolnim točkama ovog zahtjevnog procesa. Tako je 2011. godina bila plodno razdoblje za nova saznanja o dorzo-ventralnoj uspostavi uzorka u kojoj je zaključeno da je

sivi polumjesec dorzalno izlučujući SFRP 1 (eng. secreted frizzled-related protein 1) koji kompetitivno inhibira toluid proteaza. „U *Xenopusa*, dorzo-ventralna (D-V) uspostava uzorka se može autoregulirati nakon disekcije embrija. Posredovana je ekstracelularnom mrežom proteina koje izlučuju dorzalni i ventralni centri gastrule. ...Ukratko, polumjesec je nova komponenta D-V puta, koji funkcionira kao dvojniki dorzalnog *sizzled* proteina putem regulacije *chordinaza* Toloidne familije“ (Ploper i sur. 2011).

3.3. MODEL U ISTRAŽIVANJU NEURULACIJE

Jedan od važnijih predmeta interesa embriologizma je uvijek bila neurulacija pa se tako i dalje traže nove spoznaje o njenoj uspostavi, regulaciji i signalizaciji, a upravo je ovdje *X. laevis* čest izbor znanstvenika. Mnogima je danas izrazito zanimljiva povezanost između neuralnog grebena i kadherina tako da postoje brojni članci i zapažanja o ovim strukturama. Kadherini su transmembranski proteini ovisni o kalciju s distinktnom vremensko-prostornom ekspresijom tijekom razvitka važnog tipa stanica kralježnjaka, neuralnog grebena. Multipotentne stanice neuralnog grebena migriraju kroz embrionalno tijelo i zatim se diferenciraju u različite derivate na već preddeterminiranim destinacijama (Taneyhill i Schiffmacher, 2013).

U jednom od takvih istraživanja je otkriveno kako je u *X. laevisu* potreban E-kadherin za migraciju kranijalnih stanica neuralnog grebena. „Kranijalni neuralni greben (CNC) je visoko pokretna i multipotentna populacija embrionalnih stanica, koja migrira u skladu s već definiranim rutama širom embrija i pritom doprinosi uspostavi facijalnih struktura, uključujući i hrskavicu, kosti i ganglije. Kadherinom posredovana adhezija stanica igra ključnu ulogu u usmjerenj migraciji CNC stanica. ...Kadherinska koekspresija tijekom CNC migracije u *Xenopusu*, kontradiktira klasičnom epitelno-mezenhimskom modelu tranzicije koji zahtijeva postojanje prekidača u ekspresiji kadherina. Eksperimenti gubitka funkcije dalje ukazuju da je E-kadherin potreban za pravilnu migraciju CNC stanica *in vivo*, kao i za formaciju staničnih izbočina *in vitro*. Na kraju, putem rekonstrukcijskih eksperimenata s različitim E-kadherin delecijским mutantima u kadherin morfogenim embrijima, demonstrirano je da je ekstracelularna domena, ali ne i citoplazmatska, E-kadherina dovoljna za spašavanje CNC migracije *in vivo*“ (Huang i sur. 2016).

3.4. BIOLOŠKA ISTRAŽIVANJA U SVEMIRU

Xenopus laevis je uobičajeni eksperimentalni organizam u raznovrsnim biološkim područjima, poput razvojne i molekularne biologije, a u zadnjih trideset godina je ušao u jedno, slabije istraženo, ali uvelike zanimljivo područje – svemir. Iako su biološka istraživanja u svemiru slabije zastupljena u odnosu na druge grane, to ne znači da ne plijene pažnju i zanimanje (**Slika 4.**). „Većina studija *Xenopusa* u svemiru su bila mahom usredotočena na embriogenezu i razvoj. Važne prekretnice su 1975. godina, kada su embriji *Xenopusa* poletjeli do svemira do ruske svemirske stanice Salut-4 i 1994. godina, kada su jajne stanice *Xenopusa* po prvi put uspješno fertilizirane u svemiru tijekom japanske „Spacelab“ misije STS-47 i razvijene do vitalnih punoglavaca u mikrogravitaciji. Promatranja tijekom i poslije alterirane gravitacije su otkrila promjene poput zadebljanja blastocelnog pokrova, dorzalizaciju repa te modifikacije vestibularnih refleksa, fiktivnog i slobodnog plivanja. Mnoge promjene su bile reverzibilne čak i tijekom izlaganja mikrogravitaciji. Studije o vestibularnookularnom refleksu ili formaciji sinapse su otkrile *age-related* osjetljivost na alteraciju gravitacije. *Xenopus* pruža korisne alate za proučavanje efekata mikrogravitacije na živućim sistemima. Njegove oocite su pogodan model za istraživanje funkcioniranja ionskih kanala u svemiru; dorzalizacijski model se može primijeniti na analizu osjetljivosti faktora rasta. *Hardware* za održavanje na životu odraslih jedinki, punoglavaca i embrija, kao i kontrolirani eksperimenti u svemiru, su preduvjeti za proširenje istraživanja sa *Xenopusom*“ (Horn, 2006).



Slika 4. Pokus NASA-e nad *Xenopus laevis* u svemiru

(preuzeto s www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2012575.html)

4. LITERATURA

- Bles E. J., 1905. The life-history of *Xenopus laevis* Daud. Trans. R. Soc. Edin. 41:789-821
- Bolker J. A., 1995. Model systems in developmental biology. Bioessays 17, 451-455
- Brown D., Gurdon J. B., 1964. Absence of ribosomal rna synthesis in the anucleolate mutant of *Xenopus laevis*. Proc Natl Acad Sci USA. 1964;51:139-46
- Dawid I. B. 1965. Deoxyribonucleic acid in amphibian eggs. J. Mol. Biol. 12: 581-599
- Gray J. E., 1864. Notes on the clawed toad (*Dactylethra*) of Africa. Proc. Zool. Soc. Lond. 1864: 458-464
- Green Sherril L. 2010. The laboratory *Xenopus sp.*, Chapter 1, Taylor and Francis group, LLC
- Gurdon J. B., Hopwood N., 2003. The introduction of *Xenopus laevis* into developmental biology: of empire, pregnancy testing and ribosomal genes. International Journal of Developmental Biology, 2003
- Gurdon J. B., 1962. The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. J Embryol Exp Morphol. 1962;10:622-40
- Gurdon J. B., Elsdale T., Fischberg M., 1958. Sexually mature individuals of *Xenopus laevis* from the transplanted of single somatic nuclei. Nature. 1958;182:64-5
- Hopwood N., 2000. The anatomy of human embryos and the norms of Wilhem His. Bull. Hist. Med. 74: (In press)
- Horn E. R., 2006. *Xenopus laevis* – a success story of biological research in space. Advances in Space Research 38(6):1059-1070
- Huang C., Kratzer M. C., Wedlich D., Kashef J., 2016. E-cadherin is required for cranial neural crest migration in *Xenopus laevis*. Dev Biol. 2016 Mar 15;411(2):159-71
- Nieuwkoop P. D. and Faber J., 1994. Normal Table of *Xenopus Laevis* (Daudin). Garland Publishing, Inc., New York and London
- Nieuwkoop P. D. and Florschütz P. A., 1950. Quelques caractères spéciaux de la gastrulation et de la neurulation de l'oeuf de *Xenopus laevis*, Daud. et de quelques autres *Anoures*. 1ère partie. Étude descriptive. Arch. Biol. 61: 113-150
- Ploper D., Lee H. X., De Robertis E. M., 2011. Dorsal-ventral patterning: Crescent is a dorsally secreted Frizzled-related protein that competitively inhibits Tolloid proteases. Dev Biol. 2011 Apr 15;352(2):317-28

- Sullivan K. G., Levin M., 2016. Neurotransmitter signaling pathways required for normal development in *Xenopus laevis* embryos: a pharmacological survey screen, *Journal of Anatomy*, in press
- Tadjuidje E., Heasman J., 2010. *Xenopus* as an Experimental Organism. John Wiley & Sons, Ltd.
- Taneyhill L. A., Schiffmacher A. T., 2013. Cadherin dynamics during neural crest cell ontogeny. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2013;116:291-315
- Tokmakov Alexander A., Iguchi Sho, Iwasaki Tetsushi, Fukami Yatsuo, 2011. Unfertilized frog eggs die by apoptosis following meiotic exit. *BMC Cell Biol.*: 2011, 12;56
- Trueb L. 2003. "Common platanna, *Xenopus laevis*." *Grzimek's Animal Life Encyclopedia*, Volume 6, Amphibians. 2nd edition. M. Hutchins, W. E. Duellman, and N. Schlager, eds., Gale Group, Farmington Hills, Michigan
- Venkatarama T., Lai F., Luo X., Zhou Y., Newman K., King M. L., 2010. Repression of zygotic gene expression in the *Xenopus* germline. *Development*: 2010, 137(4);651-60
- Wheeler G. N., Brändli A. W., 2009. Simple vertebrate models for chemical genetics and drug discovery screens: lessons from zebrafish and *Xenopus*. *Dev Dyn* 238:1287-1308.
- Wolpert Louis, Beddington Rosa, Jessell Thomas, Lawrence Peter, Meyerowitz Elliot, Smith Jim, 2002. *Principles of Development*, Second Edition, Oxford University Press
- Xenopus* Community White Paper, 2009; www.xenbase.org/community/static/xenopuswhitepaper/2009/xenopuswhitepaper.jsp
- <http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2012575.html>
- http://www.en.wikipedia.org/wiki/African_clawed_frog
- http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DEVO_10/devo_10.html

5. SAŽETAK

Xenopus laevis, afrička pandžašica, je vodozemac koji živi u slatkim vodama. Postao je modelni organizam za kralježnjake u razvojnoj biologiji zahvaljujući visokom stupnju konzerviranosti vlastitih esencijalnih staničnih i molekularnih mehanizama, kao i ekonomičnosti, jednostavnoj manipulaciji te nabavi velike količine materijala za različita eksperimentalna istraživanja. Neke od ključnih spoznaja u razvojnoj biologiji, dobivene uz pomoć ovog organizma, uključuju dešifriranje mehanizama gastrulacije, neurulacije, organogeneze i razvoja spolnih stanica kod kralježnjaka. Koliko je velika značajnost ovog vodozemca za znanost vidljivo je na primjeru otkrića staničnog reprogramiranja koje je nagrađeno Nobelovom nagradom.

6. SUMMARY

Xenopus laevis, african clawed frog, is a amphibian which lives in fresh water. It became a model organism for vertebrates in developmental biology because of its high degree of conservation of most essential cellular and molecular mechanisms, it is inexpensive, easily manipulated and large amounts of material can be readily obtained for a variety of experimental research. Some of the key cognitions in developmental biology of vertebrates produced with the help of this organism include decoding of mechanisms of gastrulation, neurulation, organogenesis and development of germ cells. Just how significant is this amphibian for science can be seen on an example of the discovery of cell reprogramming, which was awarded by the Nobel prize.