

Niektóre z możliwych zastosowań systemu GAL4/UAS

Zastosowanie systemu GAL4/UAS jest bardzo szerokie. Umożliwia on ingerencję w procesy komórkowe pojedynczych komórek lub różnych typów komórek *in vivo*, a także mikroskopową wizualizację badanych typów komórek w organizmie.

Gdy genem docelowym dla GAL4 jest gen reporterowy, taki jak np. gen kodujący białko zielonej fluorescencji (GFP, ang. Green Fluorescent Protein; szczep: UAS-GFP), wówczas komórki organizmu transgenicznego, w których doszło do jego ekspresji są widoczne w świetle niebieskim (Ryc. 4). Pod wpływem światła niebieskiego ulega wzbudzeniu zielona fluorescencja obecnego w nich GFP. Jeżeli z muszkami szczepu REPO-GAL4 (promotor genu REPO kieruje ekspresję GAL4 do komórek glejowych układu nerwowego) skojarzymy muszki linii UAS-GFP, wówczas w układzie nerwowym ich potomstwa – tylko w jego komórkach glejowych, będzie obecne białko GFP. W ten sposób komórki te zostaną specyficznie wyznakowane (Ryc. 4B). Co ciekawe, linię transgeniczną REPO-GAL4 można krzyżować z różnego rodzaju liniami UAS-GFP, które pozwolą skierować ekspresję GFP do różnych miejsc w komórce. W przypadku krzyżowania z linią UAS-S65T-GFP (cytoplazmatyczna lokalizacja GFP), GFP będzie występować w cytoplazmie komórek glejowych, natomiast w przypadku krzyżówki z linią UAS-mCD8-GFP (błonowa lokalizacja GFP), GFP pojawi się w błonie komórkowej komórek glejowych. Gdy linią, z którą skrzyżujemy REPO-GAL4 będzie linia UAS-Act-GFP, wówczas reporterowe GFP uwidoczni cytoskielet aktynowy gleju, natomiast w przypadku

linii UAS-mito-GFP (GFP z sygnałem lokalizacji mitochondrialnej), zielona fluorescencja GFP wyznakuje mitochondria komórek glejowych.

Połączenie systemu GAL4/UAS z wyciszającą ekspresję genów interferencją RNA (iRNA), umożliwia wyciszenie ekspresji wybranego genu *in vivo*, w danym typie komórki czy tkanki, za pomocą małych, interferujących cząsteczek RNA (siRNA). Aby to osiągnąć wystarczy skrzyżować z odpowiednią linią GAL4 (zapewniającą tkankowo-specyficzne działanie całego systemu) linię UAS-iRNA, która jest nośnikiem siRNA dla tego genu. Na przykład, u muszek transgeniczných REPO-GAL4 – UAS-iRNA *badanego genu* ekspresja interesującego nas genu będzie wyciszona tylko w komórkach glejowych układu nerwowego. Kontrolujący transkrypcję GAL4 promotor genu REPO zmobilizuje system GAL4/UAS tylko w komórkach glejowych, natomiast iRNA *badanego genu* dokona w nich wyciszenia ekspresji tylko tego genu.

Oczywiście, aby generowanie określonych fenotypów komórkowych było jedynie prostą krzyżówką genetyczną, wyjściowe szczepy transgeniczne typu GAL4 i UAS muszą być ogólnie dostępne. Tak przeważnie się dzieje. Dzięki wspaniałomyślności wielu laboratoriów, głównie genetycznych, wyprowadzone przez nie szczepy są przekazywane do banków szczepów, gdzie są przechowywane i za niewielką opłatą udostępniane badaczom na całym świecie. W Bloomington Drosophila Stock Center (<http://flystocks.bio.indiana.edu/>) można kupić różnorodne linie transgeniczne typu GAL4 i UAS. Lista tych linii jest zamieszczona w katalogu „Common Tools”, czyli powszechnie stosowanych narzędzi badawczych, gdyż do takich niewątpliwie zalicza się dziś system GAL4/UAS.

Dr Jolanta Górską-Andrzejak jest adiunktem w Zakładzie Biologii i Obrazowania Komórki, Instytutu Zoologii, Uniwersytetu Jagiellońskiego. E-mail: j.gorska-andrzejak@uj.edu.pl.

PYŁ KSIĘŻYCOWY I JEGO DZIWNE WŁASNOŚCI

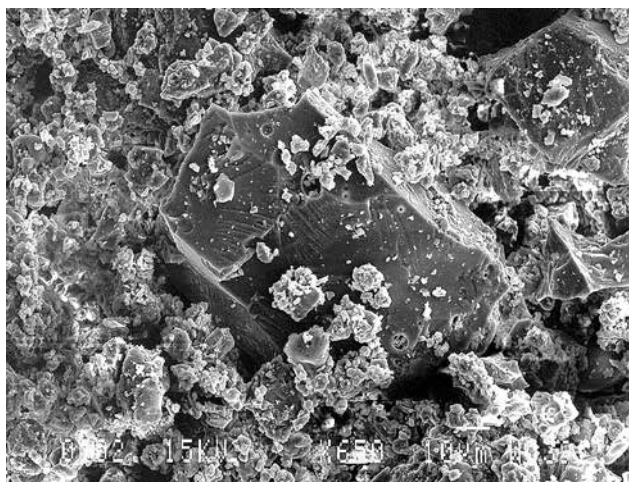
Marek S. Żbik (Queensland)

Księżyc fascynował ludzi od zarania dziejów i znalazł swoje miejsce w wielu wierzeniach, podaniach i opowieściach. Jeszcze nie tak dawno temu snuto spekulacje na temat natury powierzchni księżyca, jak również o tym, co kryje się po drugiej niewidocznej z Ziemi stronie srebrnego globu.

Pierwsze naukowo sprecyzowane dane na temat natury powierzchni księżyca pojawiły się jeszcze

przed początkiem ery kosmicznej. Oto w 1948 roku w biuletynie holenderskiego instytutu astronomicznego pojawił się artykuł (Wesselink 1948) gdzie w oparciu o pomiary fizyczne udowodniono, że na powierzchni księżyca występuje warstwa luźnego materiału okruskowego czyli gruntu. Wesselink przy pomocy teleskopu wrażliwego na zmiany temperatury badał reakcję termiczną gruntu księżycowego

podczas zaćmienia Księżyca. Z powodu braku atmosfery, temperatury na powierzchni, pomiędzy oświetloną częścią a pozostającą w cieniu, są ekstremalnie różne i te różnice dochodzą do 200°C. Przesuwająca się w czasie zaćmienia strefa cienia po powierzchni księżycy pozwoliła pomierzyć, jak szybko powierzchnia ochładza się przechodząc ze strefy oświetlonej w strefę cienia i na odwrót. Prędkość ta związana jest z pojemnością cieplną skał, a to z kolei z przewodnictwem cieplnym. Znając przewodnictwo cieplne podstawowych skał, można było obliczyć model rozdrobnienia tych skał, by zbliżony był do danych otrzymanych z pomiarów wykonanych bezpośrednio dla gruntu księżycowego. Po przeprowadzeniu niezbędnych obliczeń okazało się, że powierzchnia księżycy pokryta jest warstwą rozdrobnionych skał o średniej średnicy ziaren poniżej 0,3 mm. Późniejsze pomiary radarowe potwierdziły istnienie wielometrowej grubości warstwy gruntu księżycowego. Długo jeszcze nie znano własności gruntu księżycy i obawiano się czy aparaty i ludzie wysłani na księżyc nie zapadną się w gruncie jakby wciągnięci do bagna.



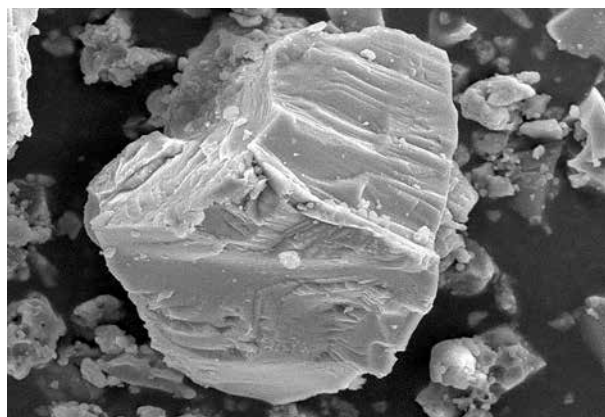
Ryc. 1. Mikrografia SEM gruntu księżycowego ukazuje współwystępowanie większych fragmentów skalnych i bardzo drobnego pyłu (długość kadru w przybliżeniu 0,5 mm).

Z odpowiedzią na powyższy dylemat trzeba było poczekać aż do okresu rozpoczęcia bezpośrednich badań powierzchni księżycy. Początek tej ery datować należy na 3 lutego 1966 roku, kiedy to po raz pierwszy w dziejach ludzkości wytwór technologii człowieka wylądował miękko na srebrnym globie. Tym pierwszym obiektem była sonda kosmiczna Łuna-9 która wylądowała na Oceanie Burz i przesłała drogą radiową pierwsze obrazy z powierzchni Księżyca. Pierwsze badania fizyczne powierzchni przeprowadziła następna z kolei sonda Łuna-13 pod koniec 1966 roku. Dodatkowe badania przeprowadzone przy pomocy sondy Surveyor-1 upewniły ludzi o możliwości

bezpiecznego lądowania i pracy na Księżycu. Pierwsi ludzie wylądowali na Księżycu 21 lipca 1969 roku, a pierwszy w historii ludzkości powrót z Księżyca automatycznej sondy kosmicznej Łuna-16 z próbką gruntu wylądował na Ziemi 24 września 1970 r.

W wyniku początkowego etapu eksploracji Księżyca uzyskano dane z badań bezpośrednio prowadzonych na jego powierzchni, jak i zgromadzono sporą masę gruntu i skał zebranych w czasie poszczególnych misji i poddanych najrozmaitszym testom w ziemskich laboratoriach. Wiele książek (Czerkasow, Schwarew 1979) i artykułów (Simon, Papike, Laul 1981, Grabowska-Olszewska 1984, Żbik 1991 i wiele innych) na temat składu i własności tego gruntu wydano w wielu językach na całym świecie. Pomimo jednak dobrze poznanych charakterystyk tego materiału wiele zagadek czeka jeszcze wyjaśnienia, a inne wciąż pojawiają się w zupełnie nieoczekiwanych okolicznościach (O'Brien 2009).

Czym zatem jest grunt księżycowy? Trzeba na samym początku wyjaśnić, że grunt ten nazywany jest powszechnie regolitem i wyglądem przypomina



Ryc. 2. Ziarno minerału anortytu wchodzące w skład gruntu księżycowego (długość kadru w przybliżeniu 0,2 mm).

ciemny sproszkowany grafit czy bazalt. Jest bardzo drobny, tak jak to przewidywał we wnioskach ze swoich badań Wesselink. Ma zapach, pachnie jak proch strzelniczy po wystrzeleniu pocisku ze strzelby. Jedynie 10% wagowych regolitu stanowią ziarna powyżej 0,25 mm średnicy, a większość to bardzo rozdrobniony pył o średnicach ziarenek poniżej 10 mikronów, jak widać to na mikrografii SEM (Ryc. 1). Tak małe ziarenka nie są już zauważalne dla oka ludzkiego i stanowią jedną zwartą i ciemną masę. Ze względu na te niezwykle małe rozmiary ziarenek księżycowego regolitu podstawowym narzędziem dla badań jest skaningowy mikroskop elektronowy (SEM). Przy

pomocy tego mikroskopu wyraźnie można studiować najmniejsze nawet fragmenty przy powiększeniach czasami ponad pół miliona krotnymi.

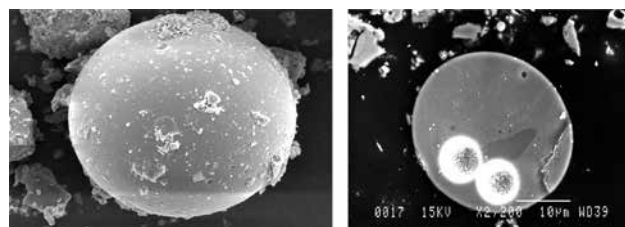
Na fotografiach mikrografiach SEM widoczne są większe fragmenty skał i minerałów oraz bardzo drobna masa ziarenek. Wśród skał dominuje anortozyt i bazalt. Anortozyt to dominująca skała budująca wyżyny i górskie rejony srebrnego globu widoczna na mikrografii SEM (Ryc. 2). Głównym składnikiem tej skały jest anortyt, minerał z rzędu plagioklazów. Jest to skała krystaliczna i zdecydowanie jaśniejsza od bazaltu, buduje ona jaśniejsze obszary Księżyca obserwowanego gołym okiem. Bazalty to skały wylewne, ciemniejszego koloru i budują księżycowe morza, widoczne jako ciemne plamy na oglądanym gołym okiem Księżyca. Do większych ziarenek również można zaliczyć brekcje księżycowe złożone ze spojonych ze sobą fragmentów bodajże wszystkich rodzajów ziaren, jakie można znaleźć na powierzchni Księżyca. We frakcji drobniejszej dominują fragmenty szkliska i rodzaju szlaki szklistej nazywanej aglutynatami.

Jak dotąd skład gruntu nie jest tak odmienny od spotykanego w niektórych rejonach Ziemi. Plagioklasy i ziarna bazaltowe są składnikami wielu podobnych regolitów ziemskich szczególnie w rejonach kojarzonych z wulkanizmem charakteru zasadowego jak przykładowo na Hawajach. Szkliska tam również występują, a szczególnie są częste w popiołach wulkanicznych i związanych z nimi utworami piroklastycznymi. W regolicie księżycowym jest jednak jeden zasadniczy składnik, którego brak jest w regolitach ziemskich – to chondry księżycowe. Chondry księżycowe, jak przedstawione na mikrografii SEM (Ryc. 3), to małe mniej lub bardziej kuliste ziarenka o rozmiarach poczynając od mikronowych do nawet 0,5 mm. Powstały one w wyniku uderzeniowego topienia skał podczas upadku na powierzchnię Księżyca meteorów. Formy morfologiczne podobne do chondr księżycowych nieznane są na Ziemi. Genetycznie nieco do nich podobne mogą być tektyty osiągające znacznie jednak większe rozmiary. Występowanie zatem submikronowych ziarenek szkliska i chondr księżycowych jest charakterystycznym rysem morfologicznym wyróżniającym grunt księżycowy od gruntu ziemskiego. Czego w gruncie księżycowym brak w porównaniu do gruntu ziemskiego to kwarcu i minerałów ilastych. Obie te grupy mineralne są niezwykle rozprzestrzenione na Ziemi w gruntach, skałach osadowych i glebach.

Chemicznie grunt księżycowy wyróżnia się wysoką zawartością żelaza metalicznego oraz tytanu wchodzącego w skład licznie tu występującego

minerału ilmenitu. Charakterystycznym jest również niska zawartość wody (jak w tektytach) oraz wysoka zawartość tak egzotycznego na Ziemi helu, w dodatku, z kompletnie do niedawna nieznanym na Ziemi izotopem helu ^3H . Gazy te zostały implementowane w ziarenka gruntu księżycowego z wiatru słonecznego, który z prędkością około 400 km/s bombarduje regolit na Księżycu nie osłonięty tarczą atmosfery. Gazy te planuje się w przyszłości przemysłowo wydobywać z regolitu księżycowego.

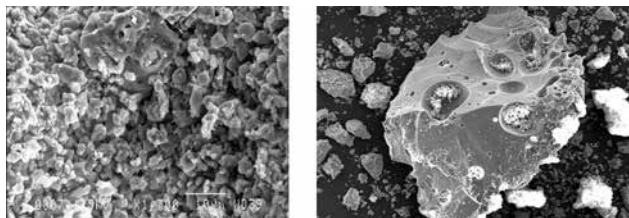
Niezwykłe własności gruntu księżycowego zaczęły dawać o sobie świadectwo już w czasie początków eksploracji srebrnego globu, kiedy to załogi Apollo wspominały o trudnościach z pozbyciem się pyłu księżycowego przylegającego do powierzchni ich skafandrów. Z czasem pojawiło się szereg artykułów, gdzie wyniki badań wskazywały na bardzo niezwykle własności regolitu (O'Brien 2009). Jedną z nich jest słabe przewodnictwo cieplne na skutek którego, pomimo bardzo zróżnicowanej temperatury na powierzchni, parę metrów pod powierzchnią regolitu panuje stała temperatura -40°C . Regolit księżycowy charakteryzuje się



Ryc. 3. Mikrografie SEM chondr księżycowych, na powierzchni chondry z lewej (o średnicy około 0,1 mm) widoczny jest drobny materiał przylgnięty do jej powierzchni, jak również małe kraterki prawdopodobnie od uderzeń mikrometeoroidów. W przekroju chondry z prawej widoczne są dwa większe bąbelki, o bardzo nierównych ściankach wewnętrznych.

niezwykle silną adhezją i przylepia się mocno do rozmaitych powierzchni. Bardzo trudno jest go potem usunąć. Co gorsza ma wyjątkowo silne własności ściernie, to znaczy jest niezwykle abrazyjny. Jeśli przylgnie do poruszających się powierzchni mechanizmów lub części optyki, grozi to zatarciami i prędkim uszkodzeniem aparatury. Jest niezwykle aktywny chemicznie, może działać jako katalizator reakcji. Jak wspomniałem już wcześniej, ma ciemny kolor i wysoką zawartość żelaza metalicznego. Potrafi unosić się ponad powierzchnią gruntu w postaci mgiełki i pozostawać w tak lewitującej postaci przez długi okres. Stwierdzono jego obecność nie tylko tuż przy powierzchni, ale nawet na wysokościach dochodzących do stu kilometrów ponad powierzchnią Księżyca. To pewnie jeszcze nie koniec listy wszystkich dziwnych własności regolitu i wiele jeszcze nie jest odkrytych. Ta garstka wymienionych powyżej własności już niepokoi ludzi odpowiedzialnych

za przyszłe misje kosmiczne. Opracowuje się specjalne metody pozbycia się pyłu przylegającego do powierzchni, bowiem w przypadku aparatury zwykle przecieranie jedynie pogarszałoby sytuację i zwiększałoby prawdopodobieństwo uszkodzenia. Utworzono przy NASA specjalną komisję badającą toksyczność pyłu księżycowego dla oddychania i to nie z uwagi na możliwość występowania nieznanych mikroorganizmów, ale na ostrość reaktywności i silną adhezję cząsteczek. Komisja ta ma zająć się przedstawieniem rekomendacji dla zabezpieczenia przyszłych pomieszczeń stacji księżycowych przed wszechobecnym pyłem.



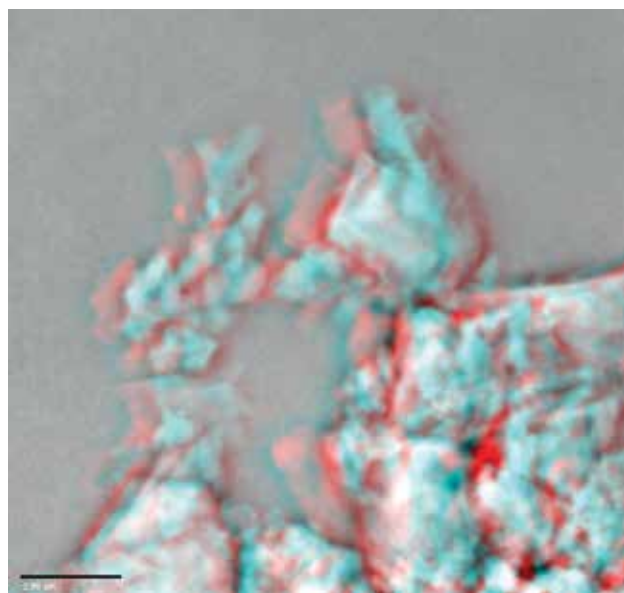
Ryc. 4. Mikrografie SEM, (z lewej) drobna frakcja pyłu księżycowego (z prawej), ziarno szklane z gruntu księżycowego z otwartymi bąbelkami, w których widoczne są porowate struktury złożone z submikronowych cząsteczek.

Wydaje się, że wszystkie te niezwykle własności gruntu księżycowego wynikają z równie niezwykle warunków środowiska naturalnego, w którym grunt ten powstaje i podlega przemianom. Jedną z przyczyn jest niezwykle rozdrobnienie materiału regolitu widoczne na mikrografiach SEM (Ryc. 4). Rozdrobnienie to przypisać należy czynnikom takim jak silne zmiany temperatury i to w bardzo szerokim zakresie. Powoduje to fizyczne rozdrabnianie większych ziarenek na skutek nieustająco powtarzających się cykli rozszerzania i skurczu. Innym czynnikiem jest uderzanie o powierzchnię Księżyca meteoroidów pędzących w przestrzeni kosmicznej z prędkościami wielu kilometrów na sekundę, a często nawet 20 do 70 km/s. Takie niezwykle katastroficzne zdarzenia, częste na Księżycu w wyniku braku atmosfery niewątpliwie powiększają rozdrobnienie regolitu. W dodatku niezwykle wysokie temperatury i ciśnienia wywoływane w czasie tych wysoko energetycznych zderzeń powodują redukcję żelaza występującego w minerałach w formie utlenionej do żelaza metalicznego rozproszonego w formie nanometrowej wielkości wtrąceń. Wtrącenia te wpływają z kolei na pociemnienie koloru składników regolitu oraz powierzchni większych ziaren często kontaminowanych szlakiem szklawa uderzeniowego (Żbik 1991).

Czarny kolor i reaktywność ziarenek regolitu księżycowego odnosić można również do amorfizacji ich powierzchni w wyniku oddziaływania z wysoko energetycznymi jonami wiatru słonecznego. Jony te

wbijając się w powierzchnię ziaren powodują stopniową erozję struktury ich materiału i pozostawiają ślady które można obserwować w mikroskopie.

Lewitacja drobnych ziaren regolitu ponad powierzchnią gruntu oraz do znacznych wysokości, jak to było obserwowane z pokładu misji Apollo 17, tłumaczy się elektryzacją cząsteczek na skutek oddziaływania światła słonecznego i lokalnego środowiska plazmy przypowierzchniowej (zjawisko niespotykane na Ziemi) z gruntem. Prowadzi to do znacznej elektryzacji drobnych, mikronowej średnicy cząsteczek i ich odpychaniem ponad powierzchnię prowadzącą do lewitacji, czy wyrzucaniem ich strumieniami na znaczne wysokości ponad powierzchnię Księżyca.

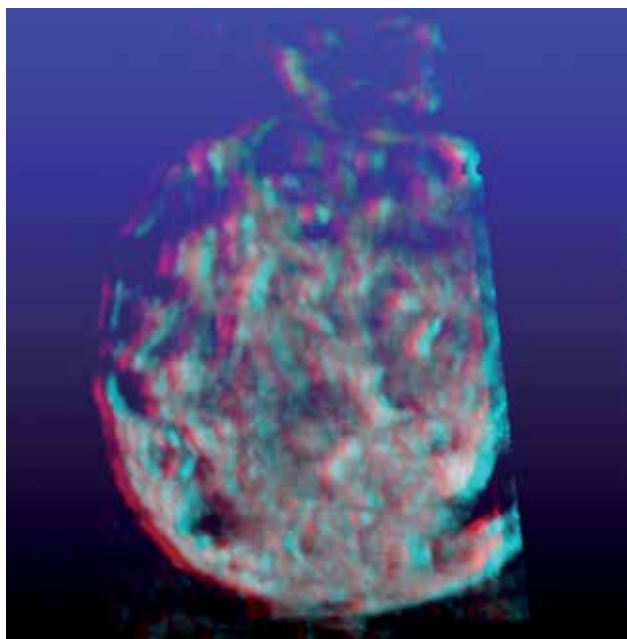


Ryc. 5. Trójwymiarowy anaglif tomograficznej rekonstrukcji komputerowej z TXM przedstawiający porowatą strukturę fragmentu agregatu pyłu księżycowego.

Można dziś zaryzykować twierdzenie, że za niezwykle zachowanie się gruntu księżycowego odpowiedzialna jest najdrobniejsza frakcja składowa. Jej rola i geneza nie jest jeszcze w pełni zrozumiana i pewnie wiele nowych faktów w tej dziedzinie będzie przedmiotem odkryć w niedalekiej przyszłości. Pewne jednak światło na niektóre zagadnienia niosą wyniki badań ostatnich lat. Dla wyjaśnienia bardzo słabego przewodnictwa cieplnego regolitu oraz genezy frakcji najdrobniejszej zastosowano najnowsze osiągnięcie techniki mikroskopowej – transmisyjny mikroskop rentgenowski (TXM). Mikroskop ten oparty jest na synchrotronowym źródle promieniowania i tomograficznym odwzorowaniu mikrostruktury agregatów drobnych ziarenek w przestrzeni trójwymiarowej (Attwood 2006).

Badania prowadzone na drobnej frakcji regolitu księżycowego przedstawione zostało na trójwymiarowym

anaglifie (oglądać go należy przez czerwono-niebieskie okulary, Ryc. 5). Submikronowe cząsteczki gruntu układają się w łańcuchy i budują wysoko porowate komórkowe struktury (Żbik i inni 2009). Prześtrzenie wewnątrz tych komórek wypełnia próżnia i ciepło przewodzone jest jedynie poprzez promieniowanie. Ponadto kontakty pomiędzy ziarnami, które



Ryc. 6. Trójwymiarowy anaglif tomograficznej rekonstrukcji komputerowej z TXM przedstawiający delikatną strukturę wewnętrzną bąbelka w szkliwie księżycowym (szerokość kadru 7 μm).

mogłyby przewodzić ciepło, jeśli w ogóle istnieją, są niezwykle małe, mniejsze niż 60 nm, co jest poniżej progu rozdzielczości mikroskopu. Na przedstawionej mikrografii ziarna wydają się nie stykać ze sobą. Jest to zatem rodzaj termosu przez który ciepło praktycznie nie jest w stanie się przedostać. Tak dobre właściwości termalne gruntu księżycowego będzie można w przyszłości wykorzystać dla naturalnej ochrony przyszłych baz księżycowych od nadmiernego przegrzania czy wychłodzenia jak i również przeciw promieniowaniu kosmicznemu i mikrometeoritom.

Literatura

1. Wesselink A.J. *Bulletin of the Astronomical Institutes of the Netherlands*, X, 390, 351–363 (1948).
2. O'Brien B. *Geophys. Res. Lett.*, 36, (2009) L09201.
3. Simon S.B., Papike J.J., Laul J.C. *Proc. Lunar Planet. Sci.*, 12B (1981).
4. Czerkasow I.I., Schwarew W.W. *Gruntoviedienie Luni*, Nauka, Moscow (1979).
5. Żbik M.S., Frost R. L., Song Y.-F., Chen Y.-M. *Proc. 9th Aust. Space Sc. Conf. 2009*. 55–65 (2010).
6. Grabowska-Olszewska B., Żbik M. *Przegląd Geologiczny*. PIG Warsaw Nr 7, 418–420 (1984).
7. Żbik M. *Bull. Pol. Ac. Sc. Earth Sc.* 39, Warsaw p. 299–309 (1991).
8. Attwood D. *Nature*, 442, 642–643 (2006).

Część prawdy o pochodzeniu najdrobniejszej frakcji regolitu tkwi wewnątrz bąbelków szkliwa księżycowego. Jak wspominałem uprzednio, szkliwo jest bardzo ważnym składnikiem regolitu. Szkliwo to jest porowate i zawiera liczne pęcherzyki. Dobrze to widać na fotografii SEM (Ryc. 2) gdzie wewnątrz pęcherzyków nie jest puste i gładkie, ale wypełnione masą bardzo drobnego materiału. Dotychczas mało kto na ten fakt zwrócił uwagę, pewnie uważając, że jest to zanieczyszczenie drobną frakcją regolitu. Ostatnie jednak wyniki badań bąbelków w stanie zamkniętym wewnątrz szkliwa, prowadzonych metodą TXM wykazały, że wypełnione są one wysoko porowatą pajęczyną sieci, w której cząsteczki szkliwa i innych składników o rozmiarach średnich 100 nm budują dyskretną sieć przestrzenną. Widać to dobrze na przestrzennym trójwymiarowym anaglifie Ryc. 6. Wyniki tych badań są dopiero przesłane do publikacji (Żbik i inni w druku). Rycina 6, przedstawia odwzorowanie tomograficzne z TXM jako trójwymiarowy anaglif wnętrza bąbelka o średnicy około 5 mikronów. Jak można zobaczyć na tej rycinie wewnętrzna struktura jakby pajęczej sieci jest niezwykle skomplikowana. Jest to zupełnie nowe odkrycie i przypuszczać można, że ten drobny materiał powstały wewnątrz bąbelków szkliwa księżycowego po ich rozbiciu wydostaje się na zewnątrz wzbogacając grunt w składową najdrobniejszych ziaren. Dalsze fascynujące badania tego fenomenu pewnie w niedalekiej przyszłości ujawnią jeszcze wiele niespodzianek i wyjaśnić pomogą przyczyny dziwnych właściwości gruntu księżycowego.