

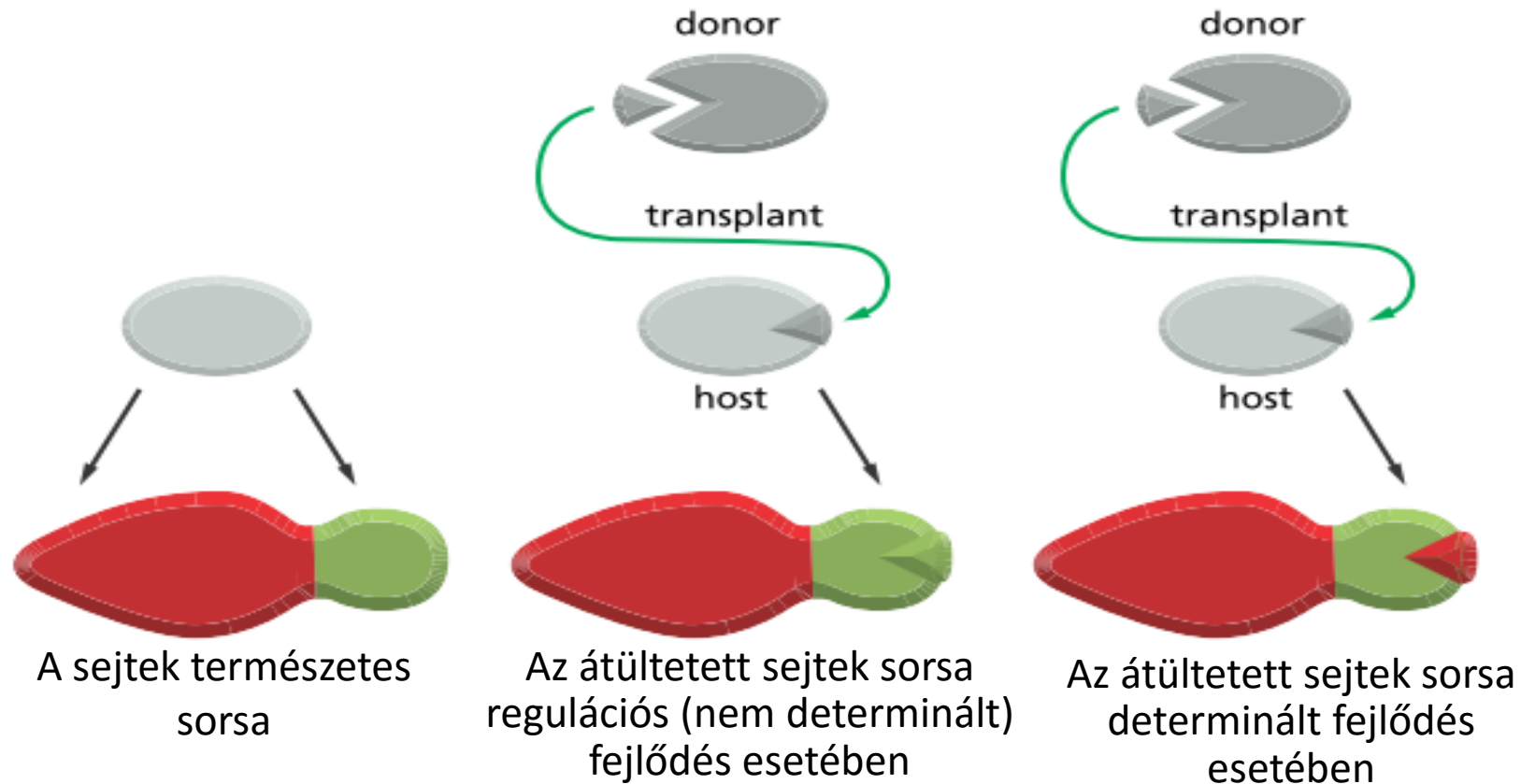
Az egyedfejlődés szabályozása

2016. május 12.

Lippai Mónika

Transzplantációs kísérletek

Az embrió sejtjeinek fejlődése lehet determinált vagy regulációs (nem determinált)

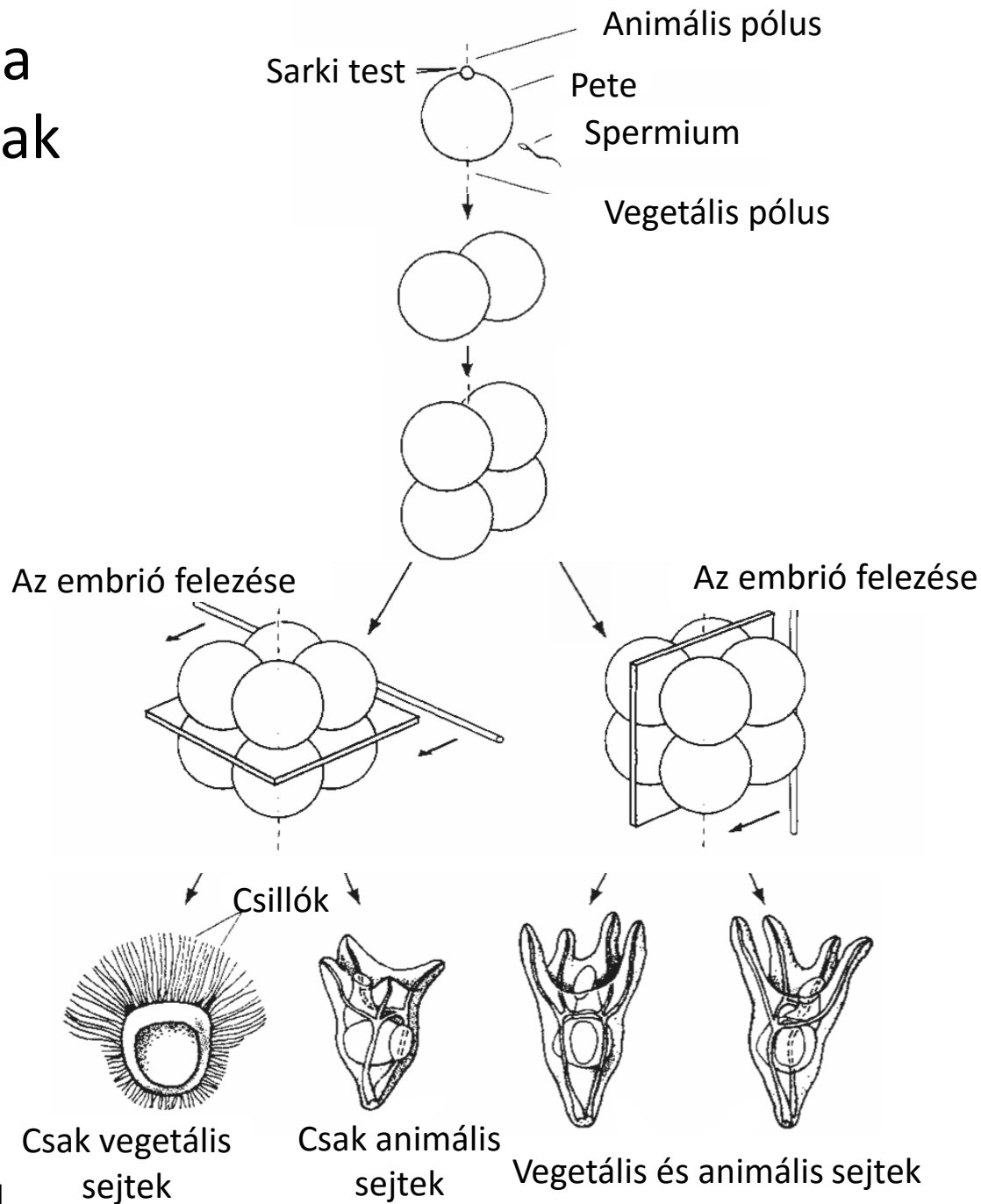


A sejt determináltsági foka **transzplantációs kísérletekkel** vizsgálható: ha idegen környezetbe jutva követi az új helynek megfelelő fejlődési programot, (még) **szabályozható** állapotban van, nem determinált a sorsa. Ha az új helyen is a korábbi helyzetének megfelelő programot követi: **determinált**.

Egy sejt sorsa sokkal korábban eldőlhethet, mielőtt ez külső jelekben megmutatkozna (sejtmemória!).

Az embrió fejlődésében a sejtek kommunikációjának óriási szerepe van

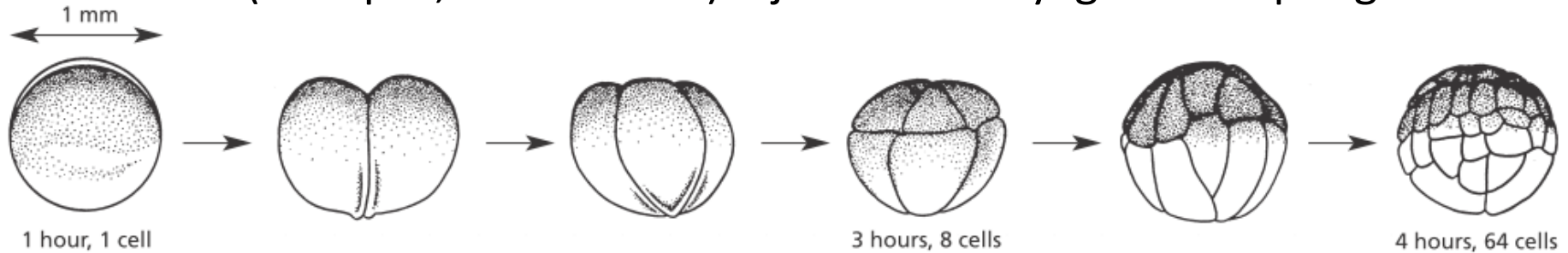
Bizonyos sejtek kapcsolata lehet olyan szoros, hogy szükségük van egymásra a további fejlődéshez, mások kapcsolata viszont a későbbi egyedfejlődés szempontjából még nem meghatározó.



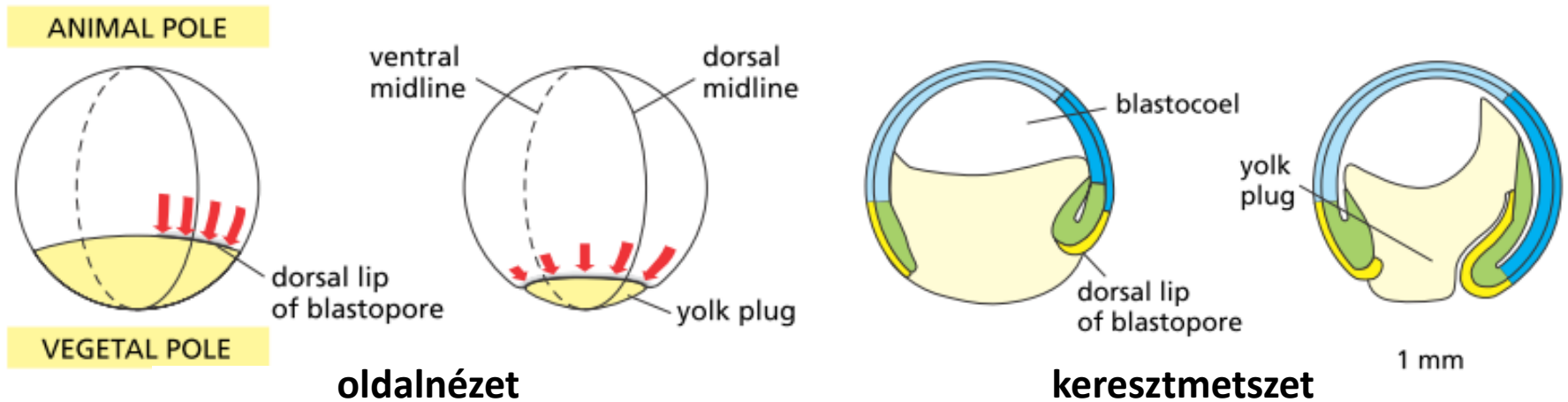
kísérletek tengeri sün embrióval

A kétéltűek (béka, gőte) embriójával is régóta kísérleteznek

A kétéltűek (Xenopus, karmosbéka) fejlődése a hólyagcsíra állapotig

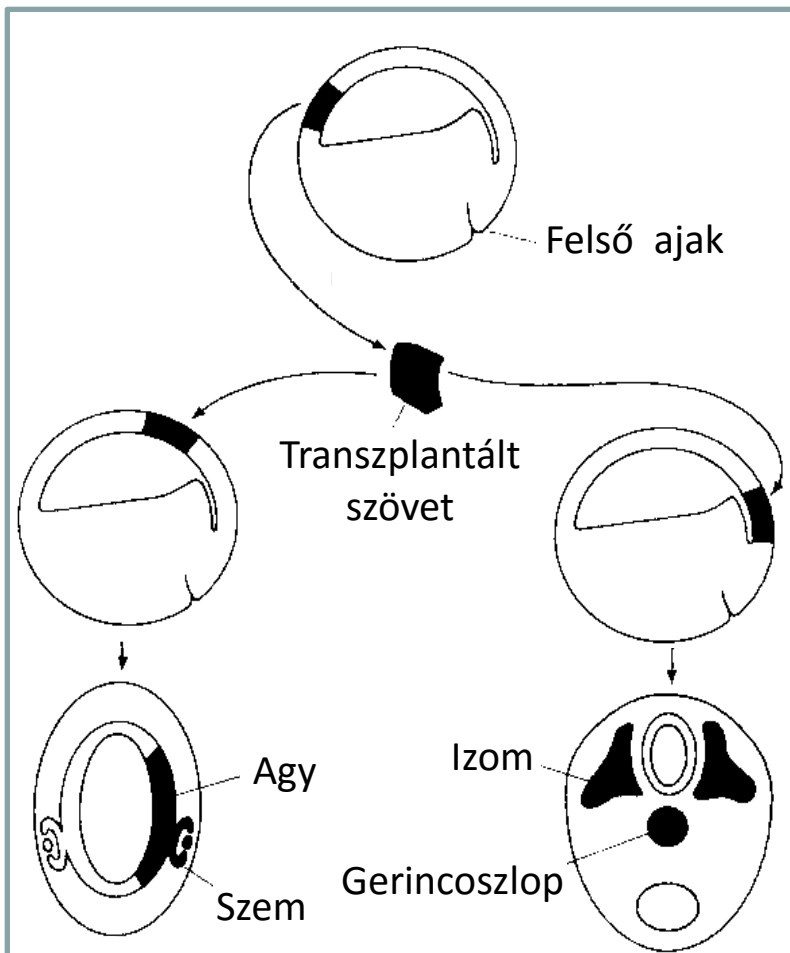


A kétéltűek gasztrulációja (bélcsíra kialakulása)

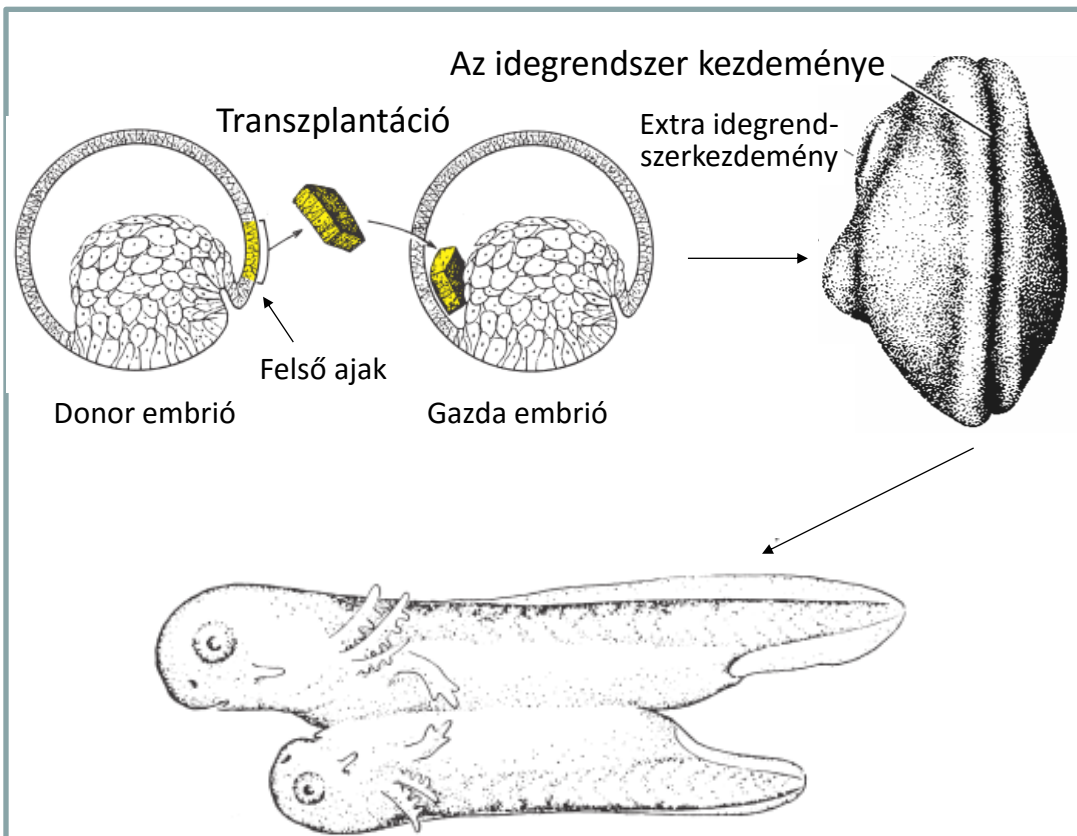


A kétéltűek petesejtje óriási. Megtermékenyítés után igen gyors sejtosztódások következnek (embrionális sejtciklus, $S \rightarrow M \rightarrow S \rightarrow M$), a sejtek egyre kisebbek lesznek. Nincs idő zigotikus génátírásra az első 12 osztódás során, minden, az embrió életéhez szükséges anyag a petesejtből származik.

Transzplantációs kísérletek I. Az embrionális indukció



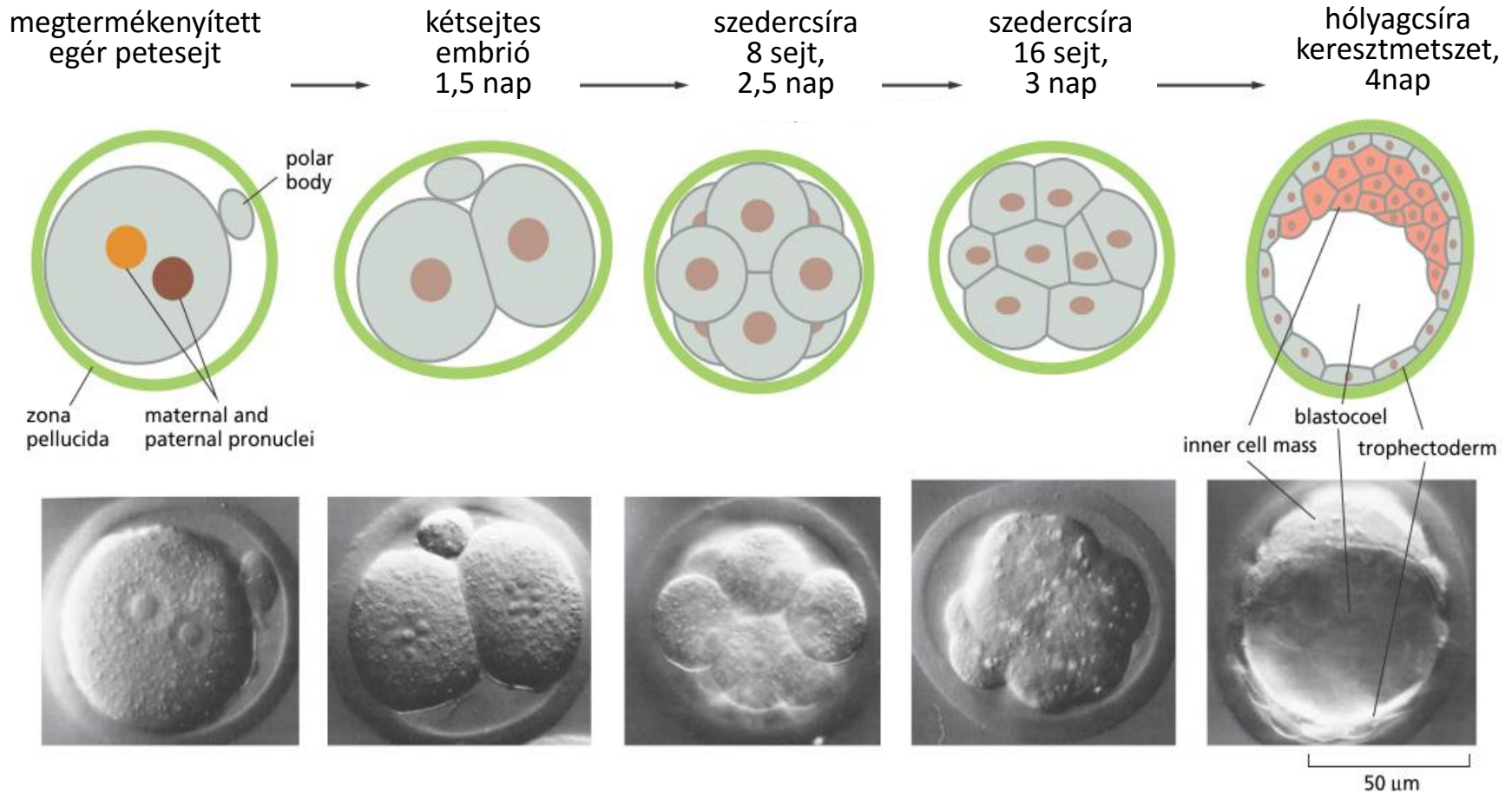
Bizonyos sejtcsoportok átültetés után követik az új helynek megfelelő fejlődési programot: pl. szem, izomszövet lesz belőlük



Más sejtcsoportok átültetés után is saját programjukat követik, és speciális esetekben a **környezetük sorsát is befolyásolják**. Ilyen a kételtű embriók felső ajka (dorsal lip; a sejtek bevándorlásának helyénél).

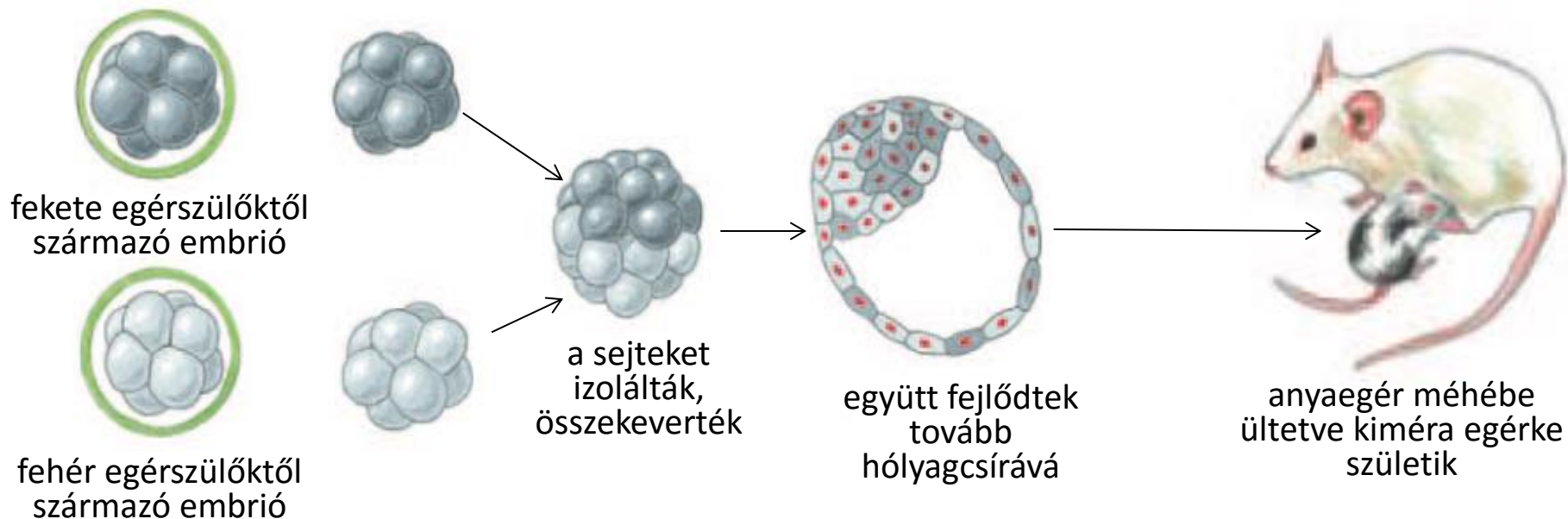
Ez az **embrionális indukció**.

Az emlősök petesejtje viszonylag kicsi, első sejtosztódásai jóval lassabbak - az egér fejlődésének első lépései



Az emberi zigóta saját génjei már a kétsejtes állapotban bekapcsolódhatnak.

Transzplantációs kísérletek II. Totipotens embriósejtek emlősökben



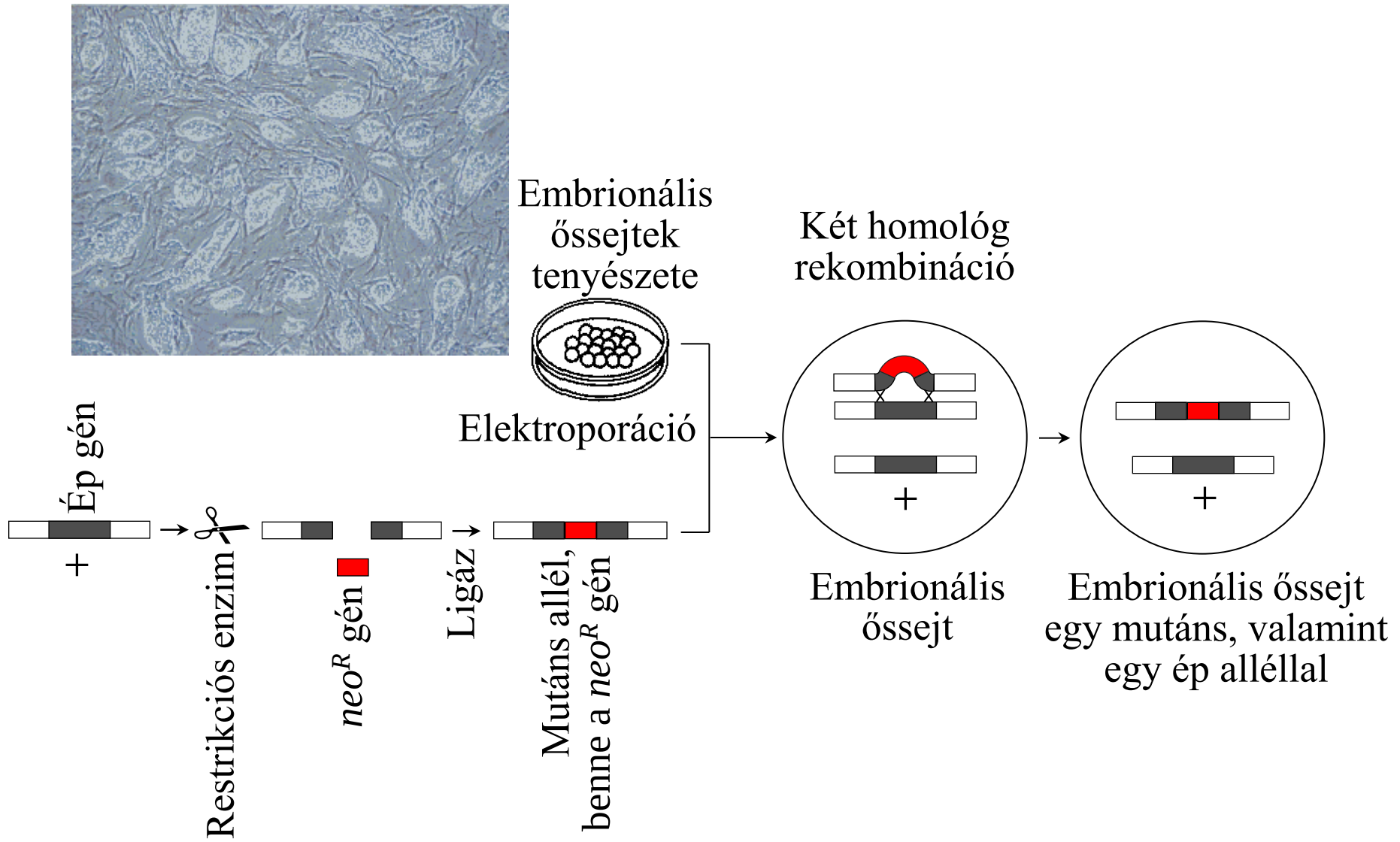
A korai emlős embrió **egyik sejtjének fejlődése sem determinált** még , és az egyes sejtek kezdetben ***totipotensek***.

Egy 8-sejtes embrió (vagy akár a hólyagcsíra belső sejtcsomójának) bármely sejtje képes a kiméra bármely sejttypusát , akár ősvarsejteket is létrehozni.

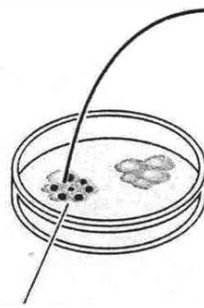
Teratóma: embrionális sejtől származó, kifejlődött szövetben burjánzásnak induló daganat-féleség

Embrionális őssejt (ES sejt): embrióból származó, megfelelő környezetben fenntartott, bármeddig osztódóképes, pluripotens sejt ($\leftrightarrow$ szöveti őssejtek!)

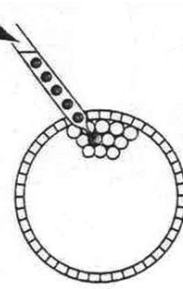
Génfunkció megismerése „knock-out” technikával



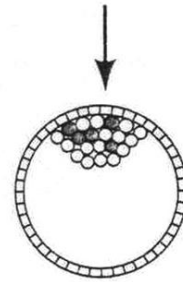
Módszer knock-out élőlény készítésére



Rekombináns embrionális
össejtek gyűjtése
sejttenyészetből (neomicin
tartalmú táptalajon)



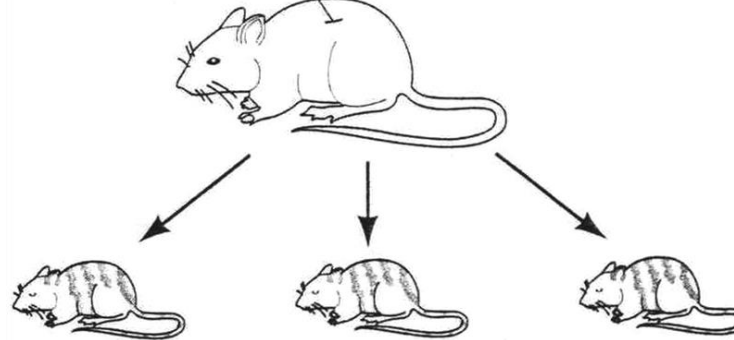
Sejtek injektálása
gazdaembrióba



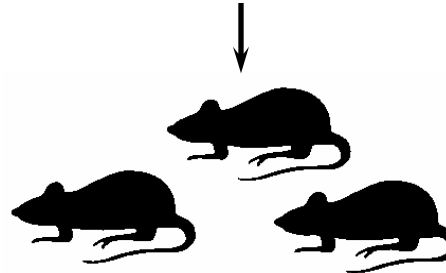
A beültetett sejtek az
embrió részévé válnak,
injekciós kiméra képződik



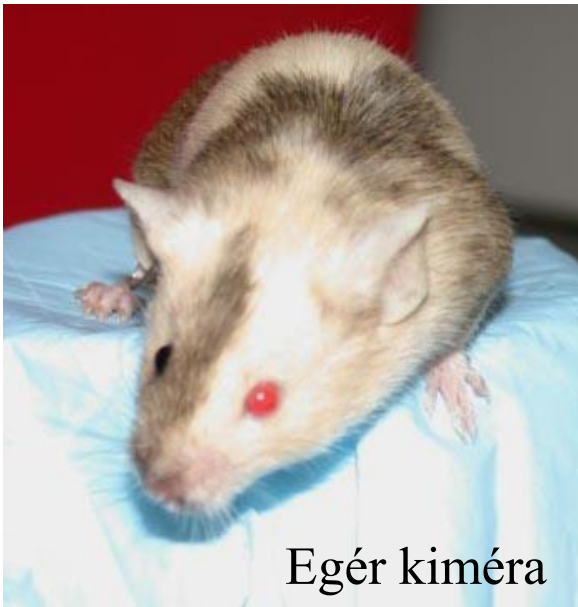
Az embriókat gazda
nőstények méhében ültetik



Injekciós kimérák



Megfelelő keresztezések nyomán
olyan egerek születnek, amelyek
a beültetett sejtekből származnak.



Egér kiméra

Az első knock-out egér
1989-ben született

Nobel-díj 2007: *"for their discoveries of principles for introducing specific gene modifications in mice by the use of embryonic stem cells"*.



Oliver Smithies

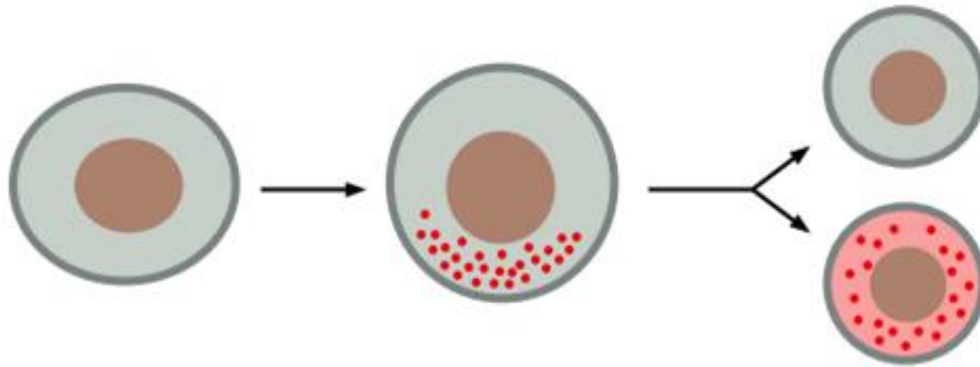
Mario R. Capecchi

Martin J. Evans

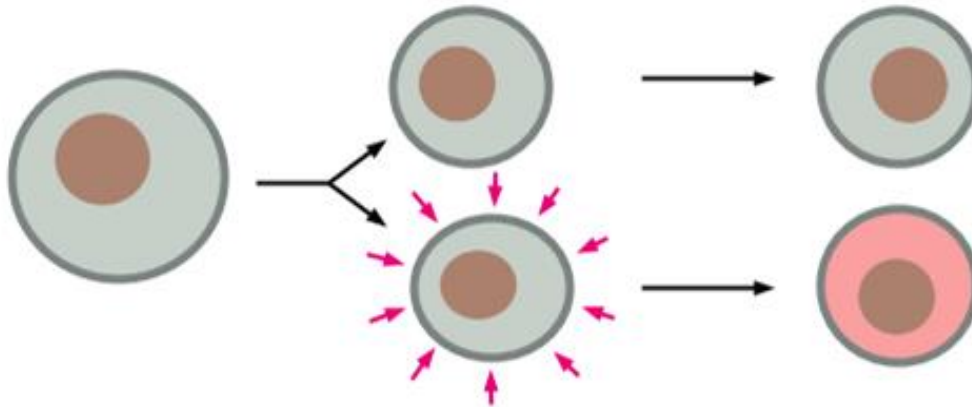
Hogyan jöhet létre egyetlen sejt
osztódásából a többsejtűeket jellemző
rengeteg sejtféleség?

Az utódsejtek különbözőek lehetnek, mert:

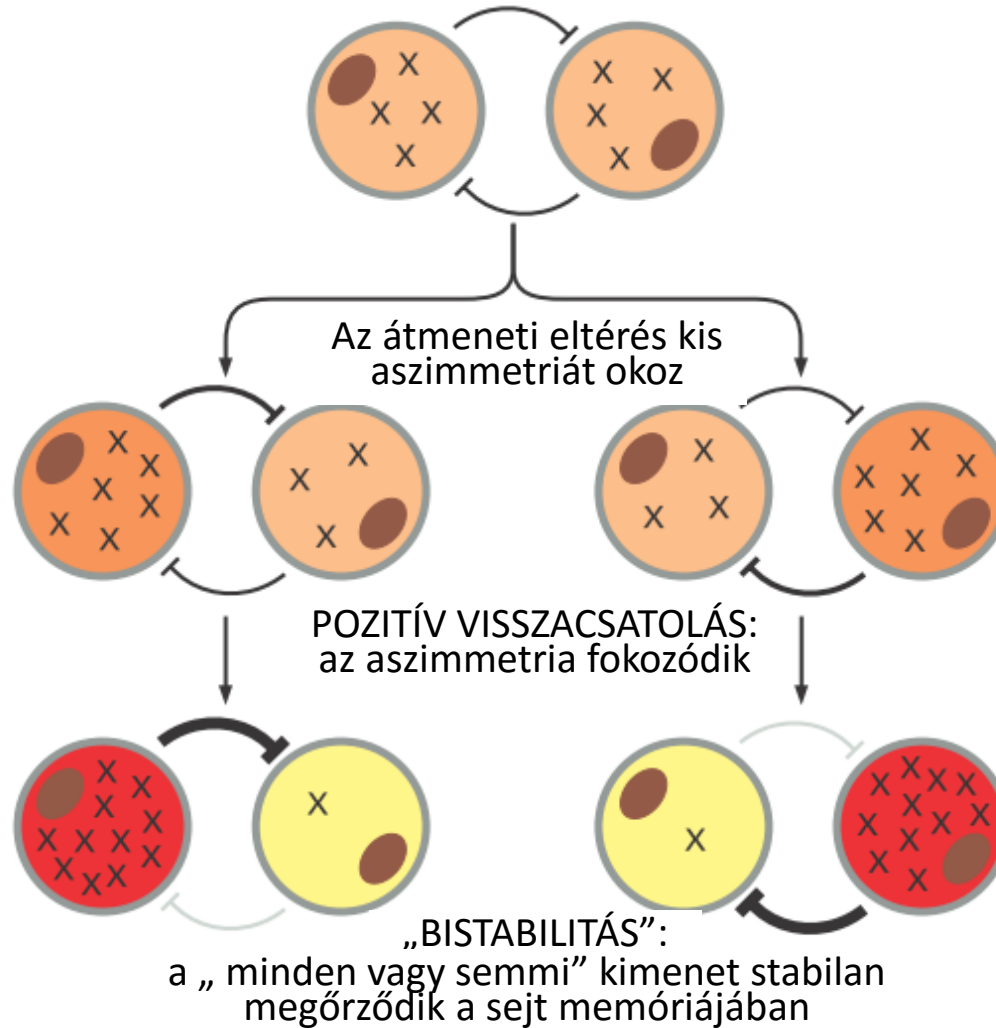
1. aszimmetrikus a sejtosztódás: az „anyasejt” citoplazmájában nem egyenletesen oszlanak meg egyes molekulák. Ekkor eleve eltérő sejtek jönnek létre.



2. a sejtosztódás szimmetrikus, de az utódsejteket eltérő hatások érik



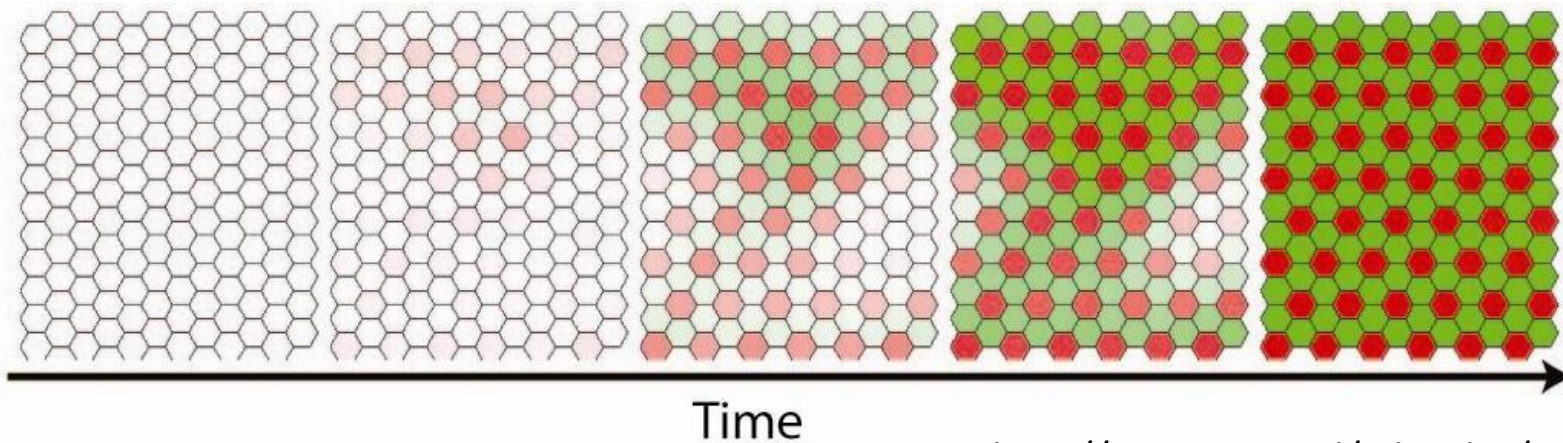
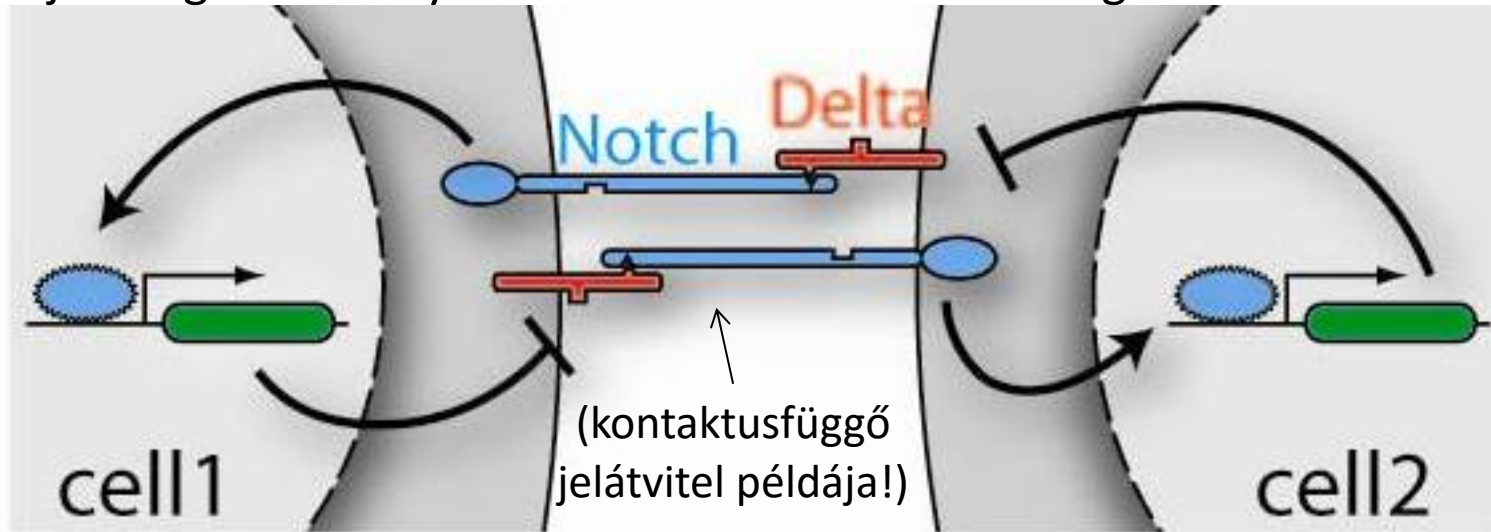
A szomszédos sejtek közötti, eredetileg csekély különbség felerősödhet a *laterális gátlás* által



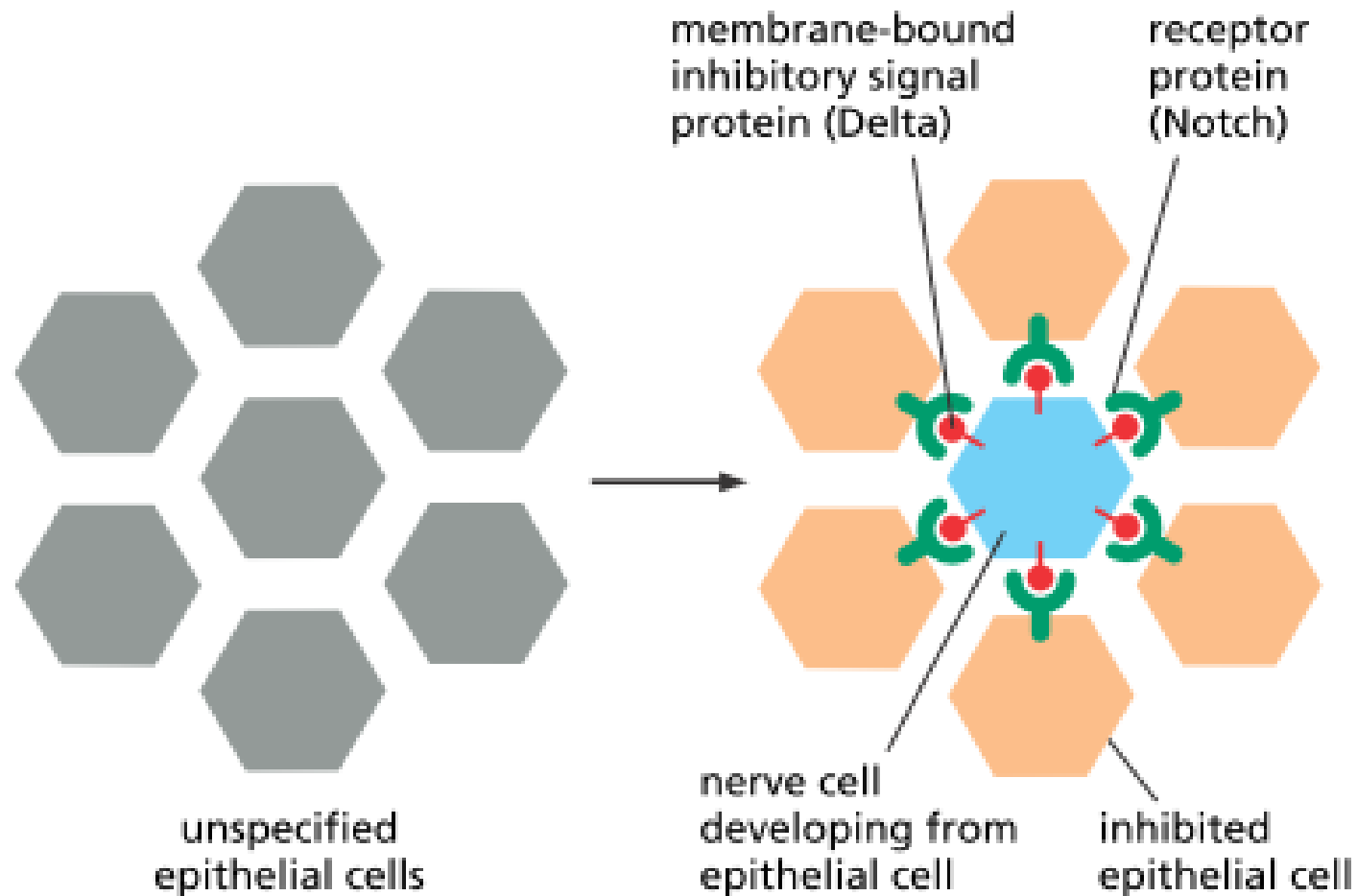
A laterális gátlást biztosító szabályozó rendszer még egyforma utódsejtek között is kialakíthatja az aszimmetriát! (A biológiai rendszerek sohasem állandóak, minimális fluktuáció is felerősödhet így).

A Notch-Delta jelátvitel a laterális gátlás klasszikus példája, az egyik legáltalánosabb szabályozási útvonal a sejtek/szövetek differenciálódása során

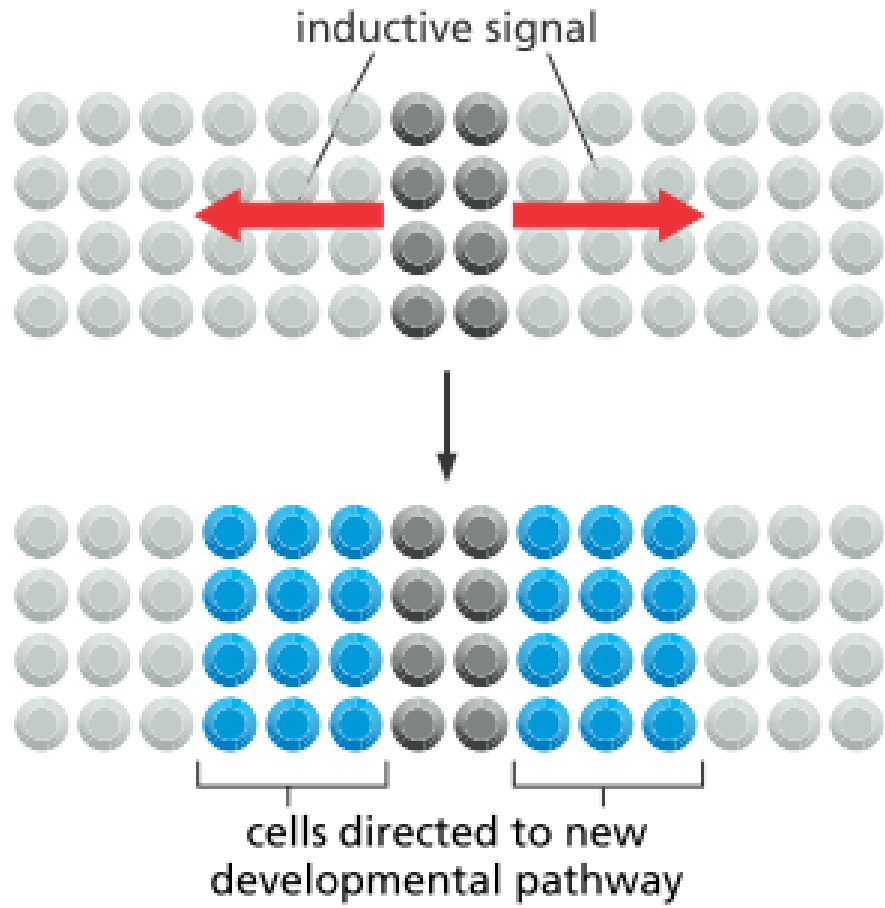
Notch: transzmembrán receptor; az innen kiinduló jelátvitel sok egyedfejlődésben szerepet játszó gént szabályoz!! **Delta:** transzmembrán ligand



A Notch-Delta jelátvitel a laterális gátlás klasszikus példája, az egyik legáltalánosabb szabályozási útvonal a sejtek/szövetek differenciálódása során

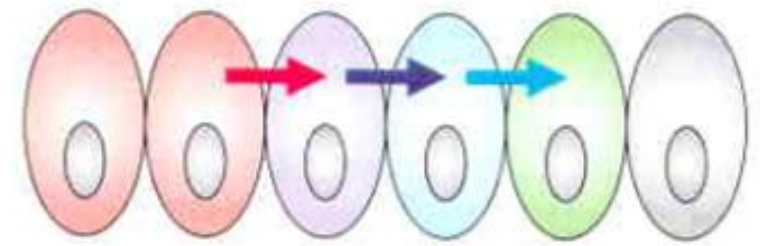


Ha az eredetileg egyforma sejtek különböző mértékű induktív hatásoknak vannak kitéve, már eltérő fejlődési utakra térnek



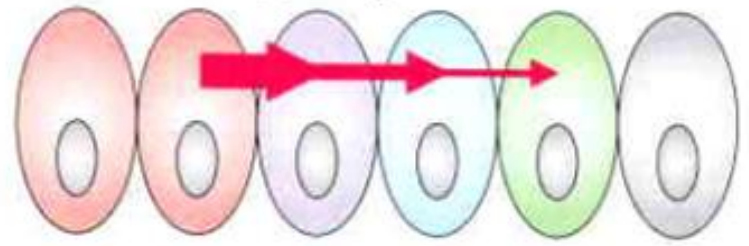
Ha a sejtek egy kis csoportja jelet kezd kibocsájtani, megváltoztathatja közeli szomszédainak sorsát, míg a jelet nem fogadó sejtek más utat követnek

(a) Relay signaling



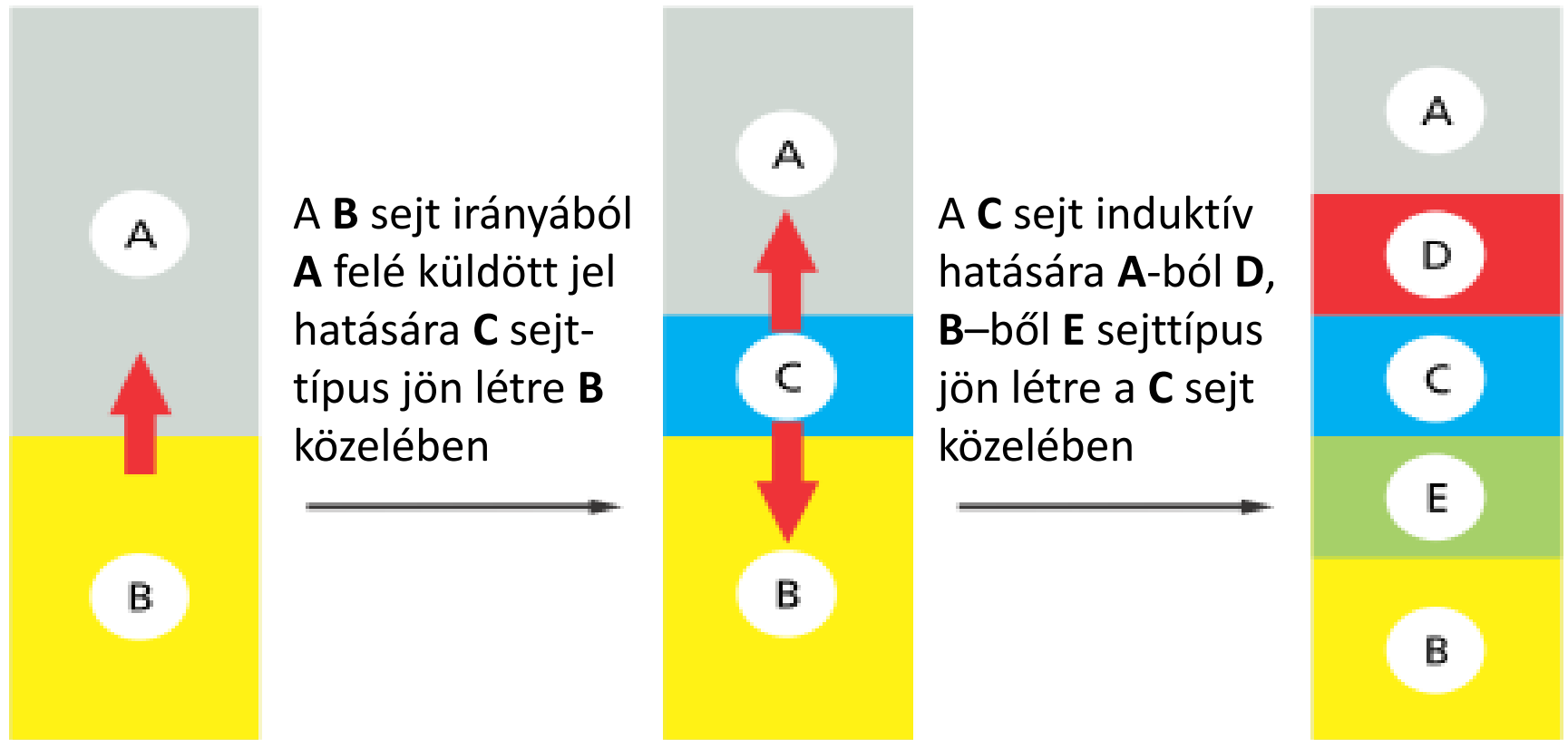
A **kapcsoló (relay) jelátadás** során rövid-távú hatások alakulnak ki, a közeli fogadó sejt kibocsát egy másik jelet, ezáltal „bekapcsolja” a következő sejtet, stb.

(b) Gradient signaling



A **grádiens jelátadás** során a jel hosszabb távon hat, a fogadó sejtek pedig eltérően reagálnak a jel különböző koncentrációira.

A szekvenciális indukció

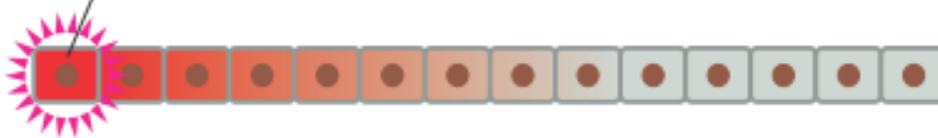


Az embrió korai sejt mintázatát kialakító morfogén-hatások rövid hatótávolságúak ($< 1\text{mm}$), és csak kis számú eltérő útvonalat indíthatnak el. Ugyanakkor ha már kialakult néhány különböző sejt, amelyek osztódnak, ezekből kiindulva, **egymást követő és egymásra épülő lokalizált szabályozások révén** - ez a **szekvenciális indukció** - fokozatosan egyre többféle sejttípus alakulhat ki.

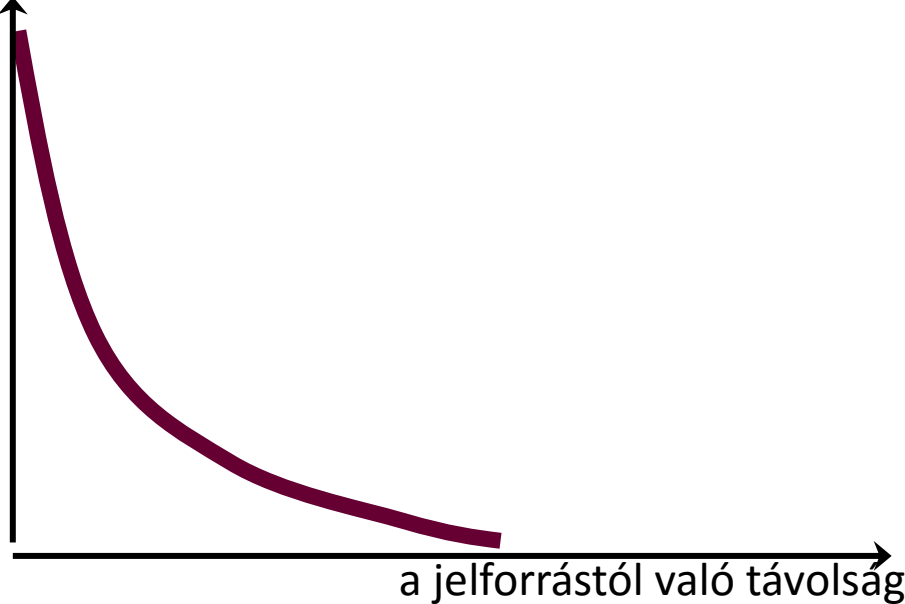
A morfogének

Morfogének: a **sejtek fejlődési programját közvetlenül** meghatározó jelmolekulák, amelyek egy **központból** (ez lehet egy sejt vagy sejtcsoport is) kiinduló **koncentráció-grádiensük** mentén **más-más irányba** terelik a rájuk reagáló sejtek sorsát.

morfogén-forrás



jel cc.



A morfogén-grádiens kialakulhat úgy, hogy az őt termelő sejt(csoport) lokalizált,



a morfogén egyenletesen oszlik szét



az inhibitor grádiens alakot

inhibitor-forrás



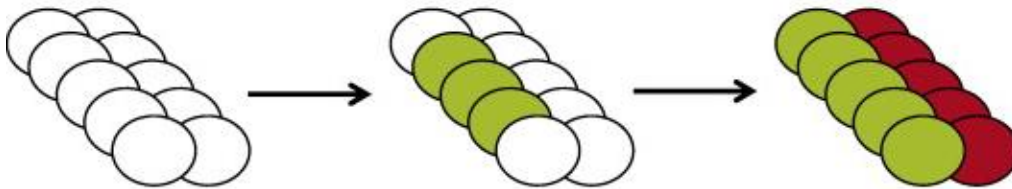
morfogén-grádiens alakul ki

vagy: egy inhibitor-termelő sejtcsoport lokalizált, és az inhibitor koncentrációjának arányában gátolja a morfogént, és alakítja ki az ellentétes grádiens

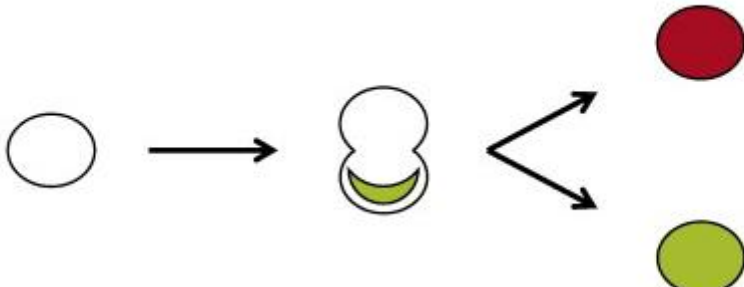
Laterális gátlás



Induktív hatások, határok kialakulása



Aszimmetrikus osztódások

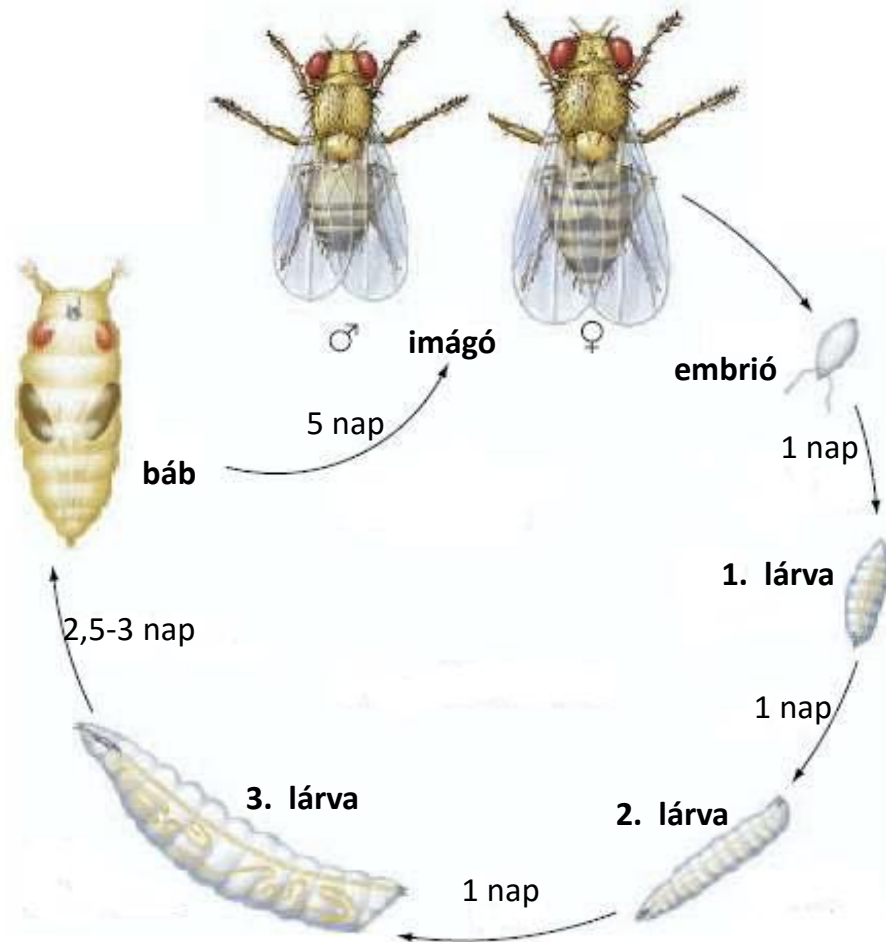


Őssejtek szerepe



Összegzés: néhány speciális mechanizmus az embrionális fejlődés során különböző utódsejtek létrejöttét teszi lehetővé

A test szerveződését szabályozó gének felderítése: a muslica-modell



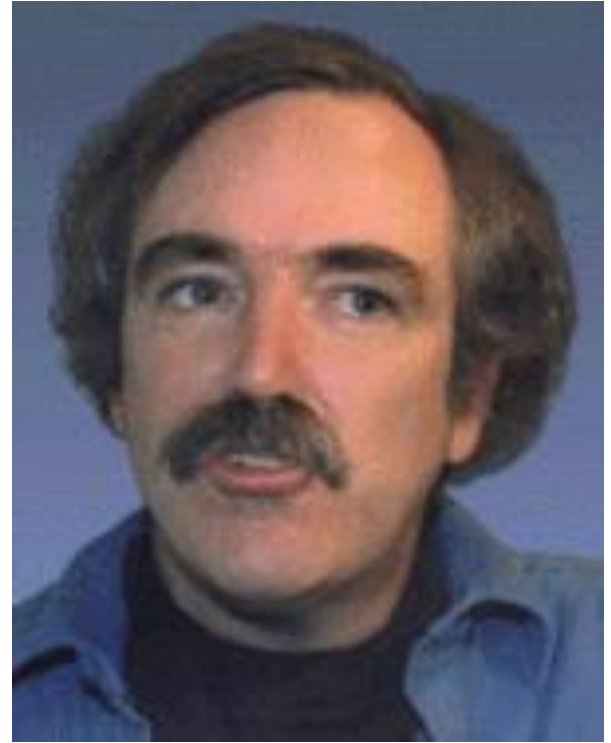
Nobel-díj 1995: „*a korai egyedfejlődés genetikai szabályozása*”



Edward B. Lewis
1918 - 2004

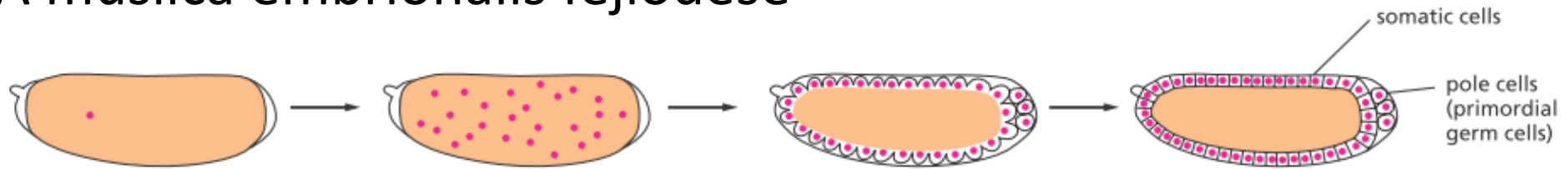


Christiane
Nüsslein-Volhard
1942 -



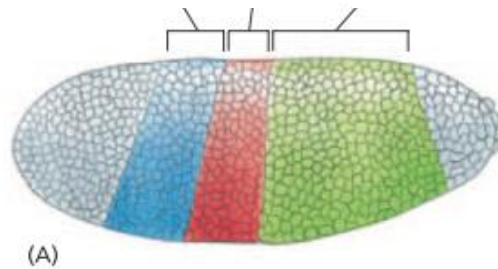
Eric F. Wieschaus
1947 -

A muslica embrionális fejlődése

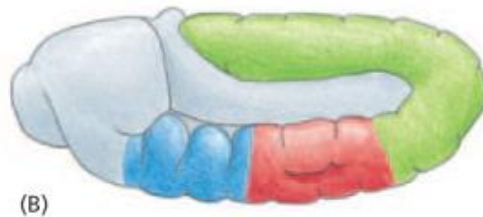
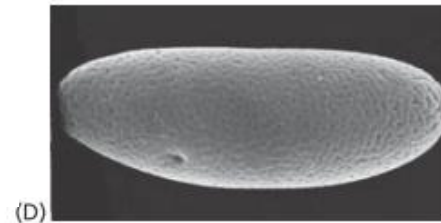


9 osztódáson keresztül (az első két órában) nem alakulnak ki a sejthatárok („szinciciális blasztoderma”). Csak ezután kezdenek kifejeződni az embrió saját (zigótikus) génjei.

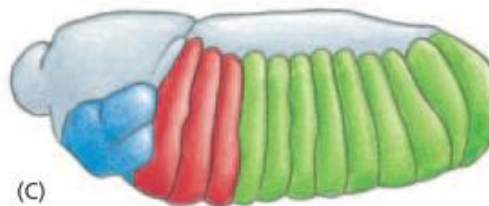
leendő fej tor potroh



2 órás embrió



5-8 órás embrió



10 órás embrió

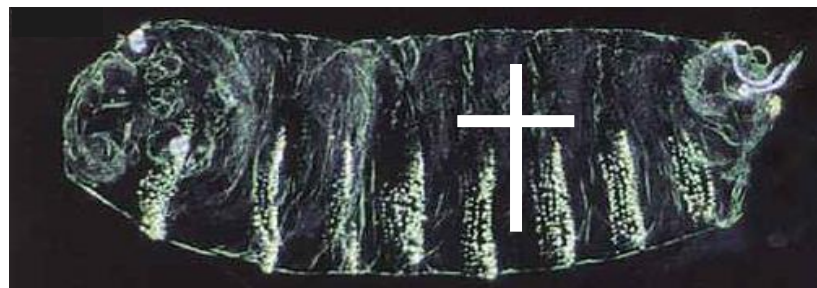
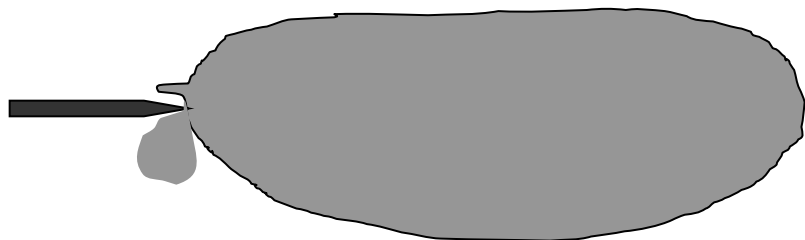
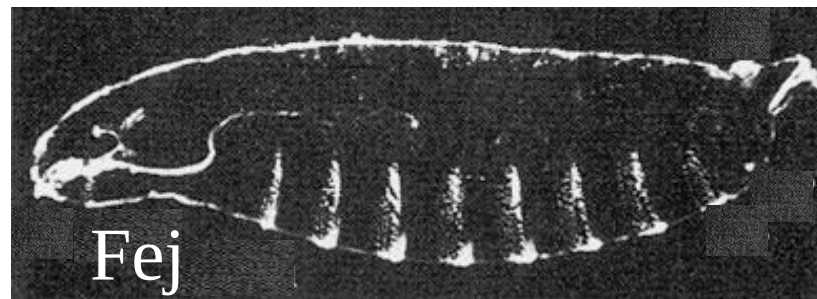
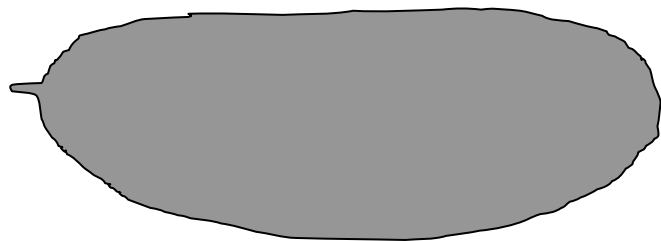


Az embrió sejtjeinek leendő sorsa alapján **sorstérkép** készíthető (azaz: a lárva vagy a kifejlett állat mely testrészei származnak belőlük)

A fejlődő muslica elülső részének kialakulásáért a petében elől található, az anya testéből származó anyag felelős – anyai hatás



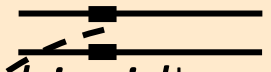
petesejt



Nem képződik fej, az embrió elpusztul

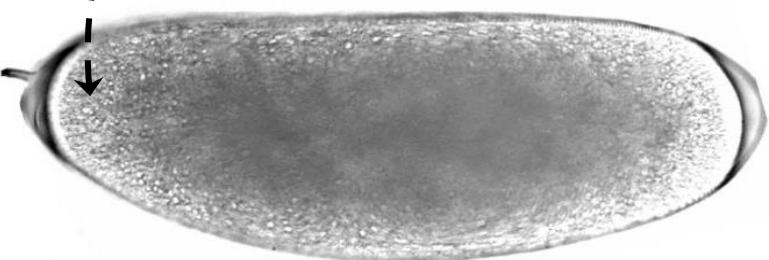
Genetikai „boncolás”: melyek lehetnek azon gének, amelyek terméke felelős az elülső testtájak kialakulásáért?

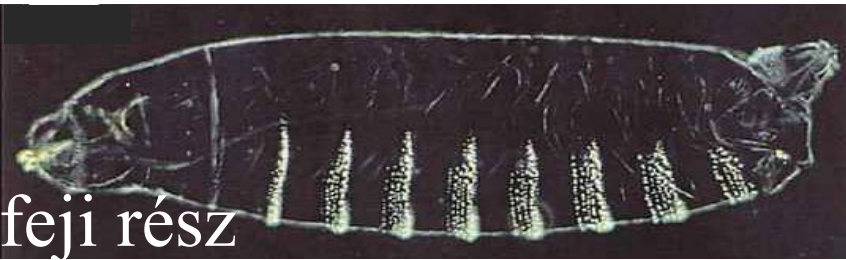
bicoid⁺



bicoid⁺

+

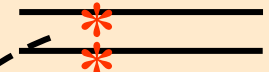




feji rész

ép lárva

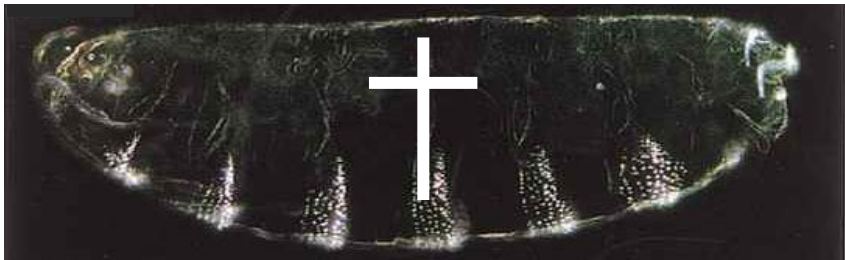
bicoid



bicoid

+ STERIL





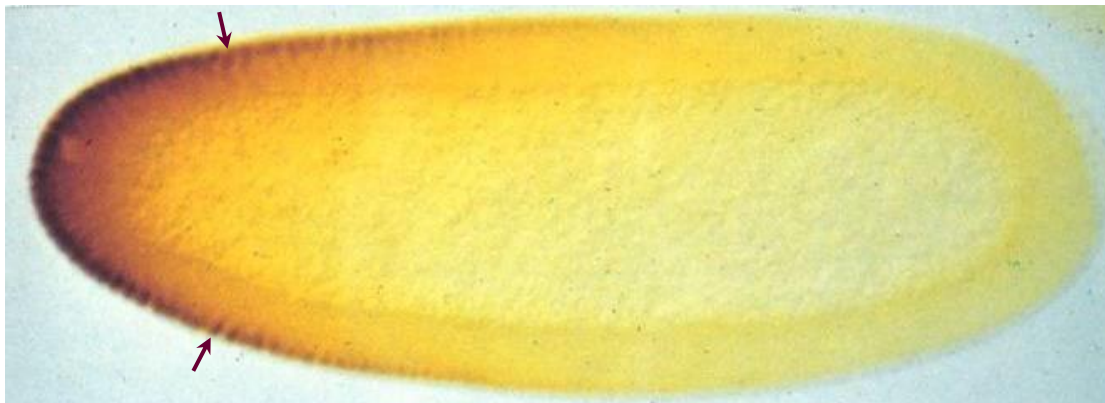
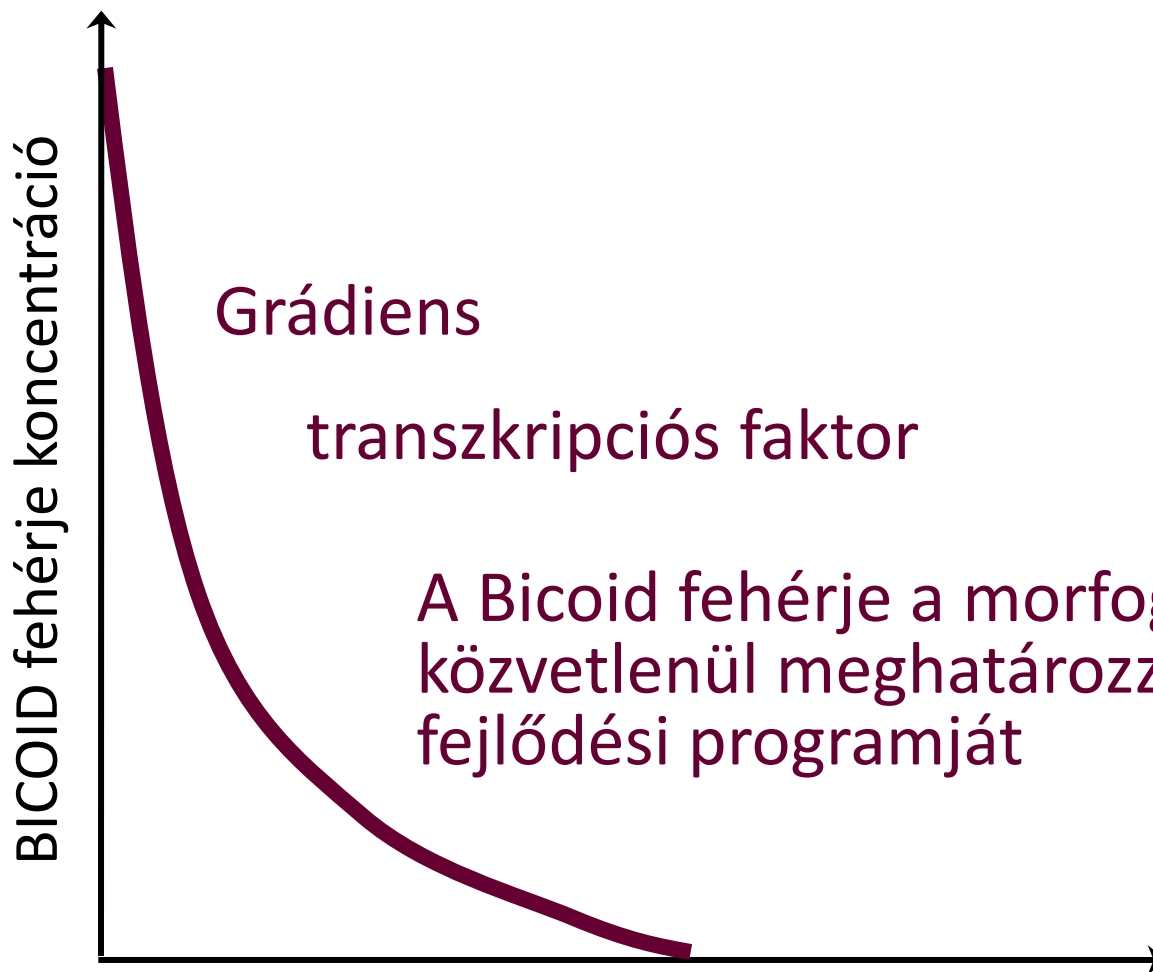
Nem képződik feji rész, az embriók elpusztulnak → a nőstény steril

bicoid mRNS

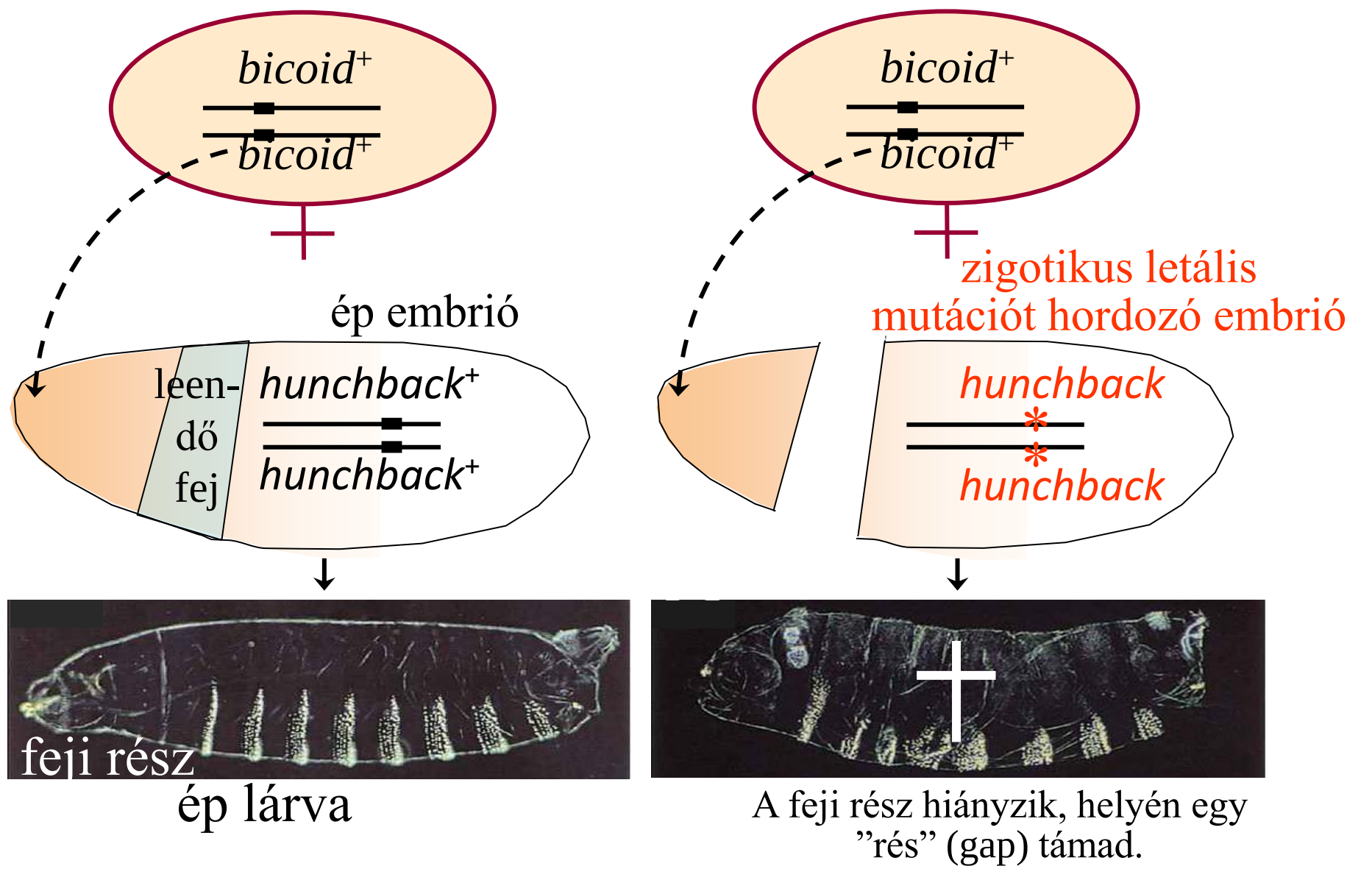


BICOID fehérje

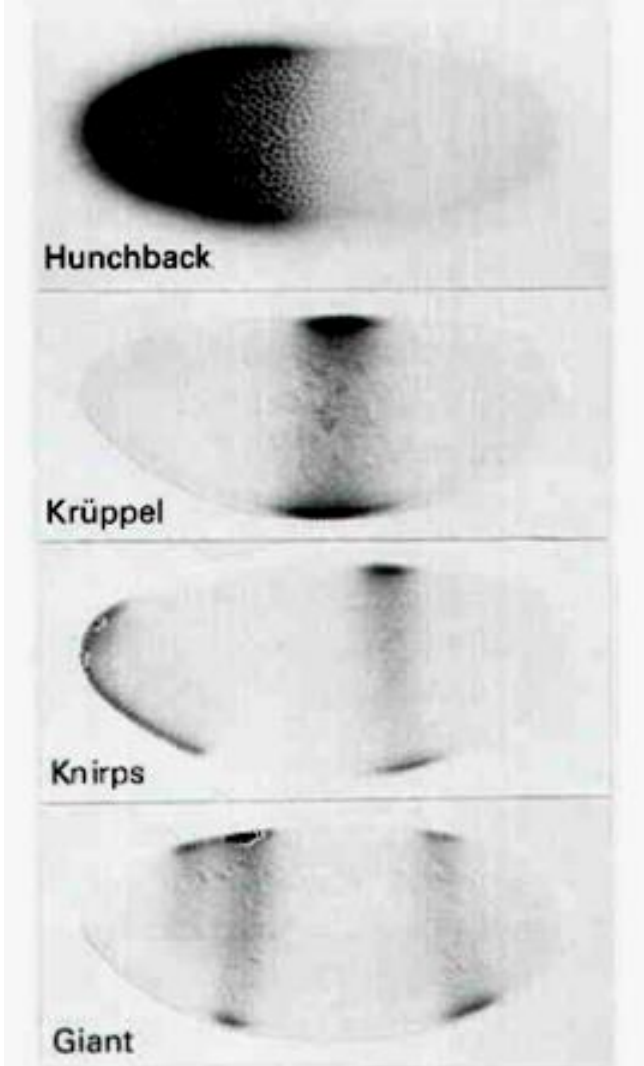




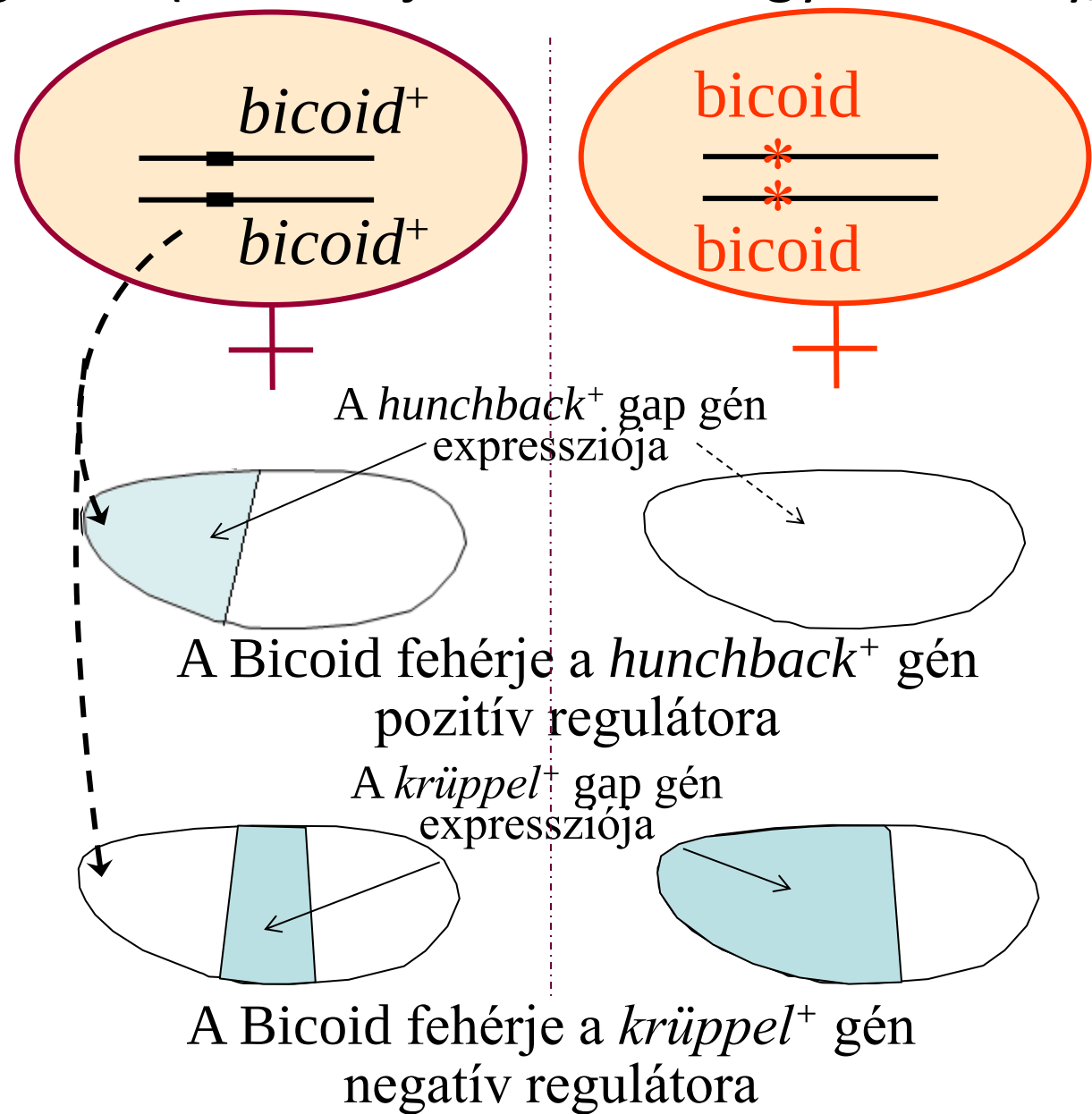
Genetikai „boncolás”: melyek lehetnek azok a gének, amelyeket a bicoid morfogén szabályoz?



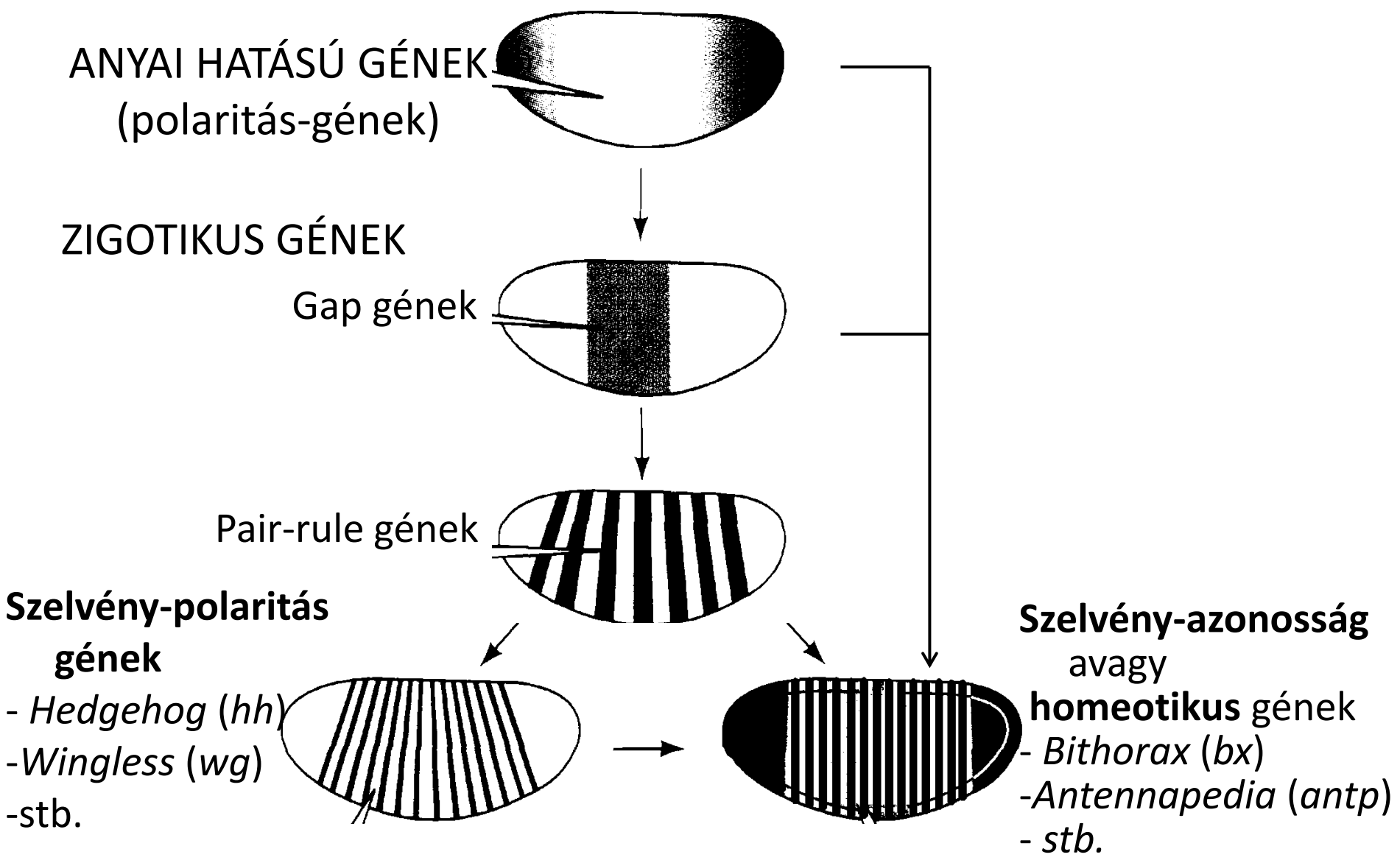
Melyek azok a gének, amelyeket a bicoid morfogén szabályoz?
Ezek a zigótikus *gap-gének* (mutációjuk esetén nagyobb hiány, „rés” keletkezik).



Különböző gap-gének expressziós mintázata (in situ hibridizáció)



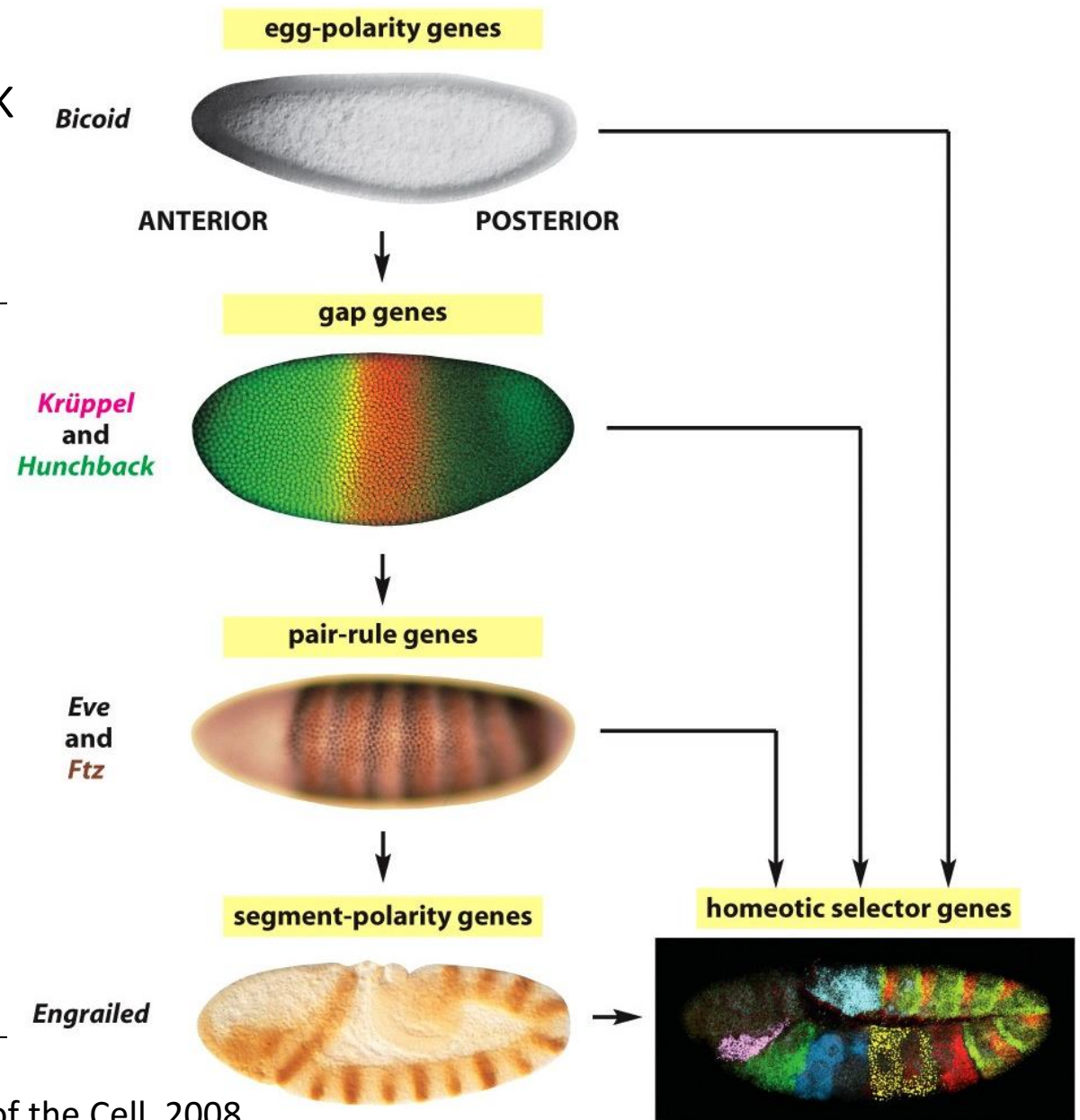
Az egyre kifinomultabb fejlődési mintázat egymásra épülő génaktivitáson (szekvenciális indukció) alapul



Az egyre kifinomultabb fejlődési mintázat egymásra épülő génaktivitáson (szekvenciális indukció) alapul

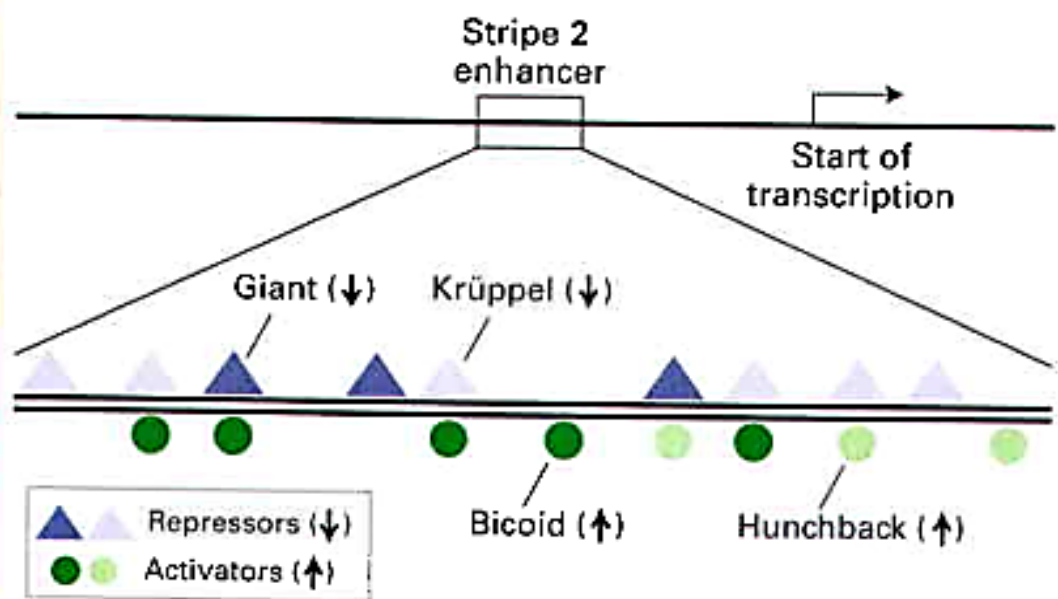
ANYAI HATÁSÚ GÉNEK
(polaritás-gének)

ZIGOTIKUS GÉNEK

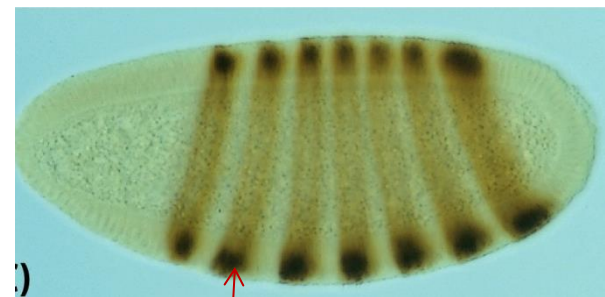
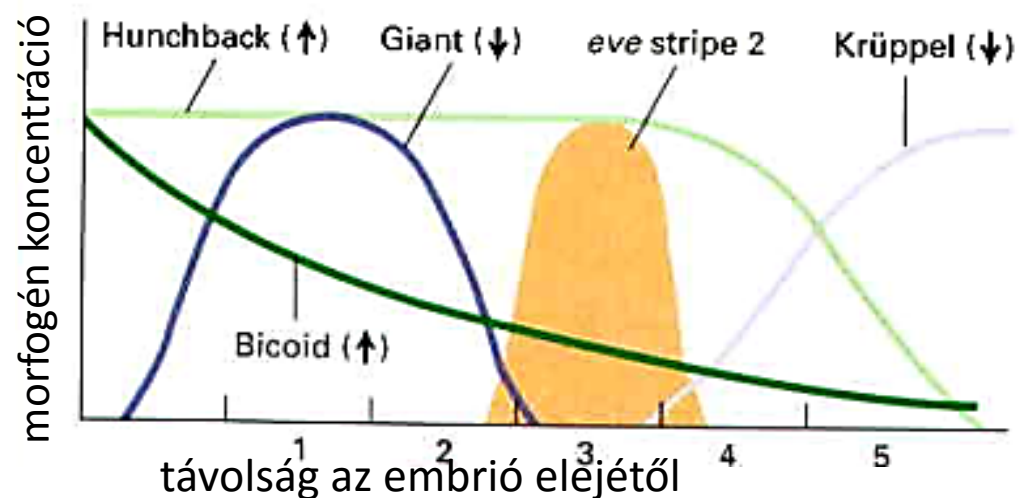


Példa: hogyan szabályozzák anyai hatású és gap-gének az *eve* (*evenless*) pair-rule gén 2. sávjában történő kifejeződését?

(a) *eve* gene transcription regulation



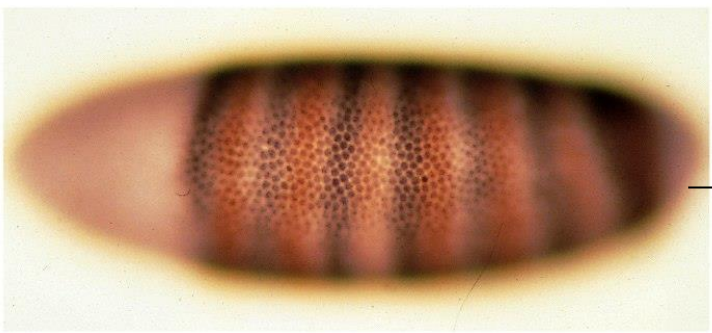
(b) *eve* stripe 2 regulation



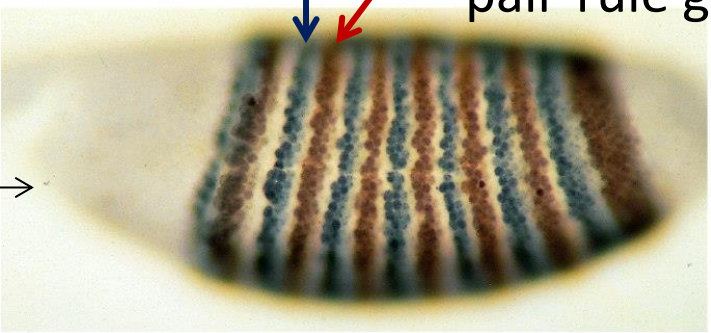
az *eve* kifejeződése az embrióban

a 2. sáv

A különböző géneket kifejező sejtek néhány óra alatt éles határ mentén különülnek el.

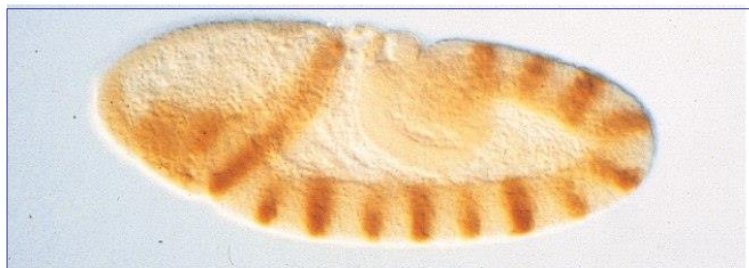


2.7 hours after fertilization



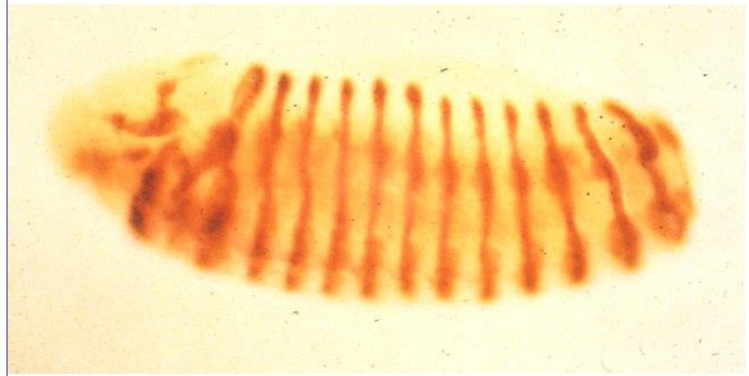
3.5 hours after fertilization

eve ftz alternálva kifejeződő pair-rule gének



5-hour embryo

100 μm



10-hour embryo

100 μm

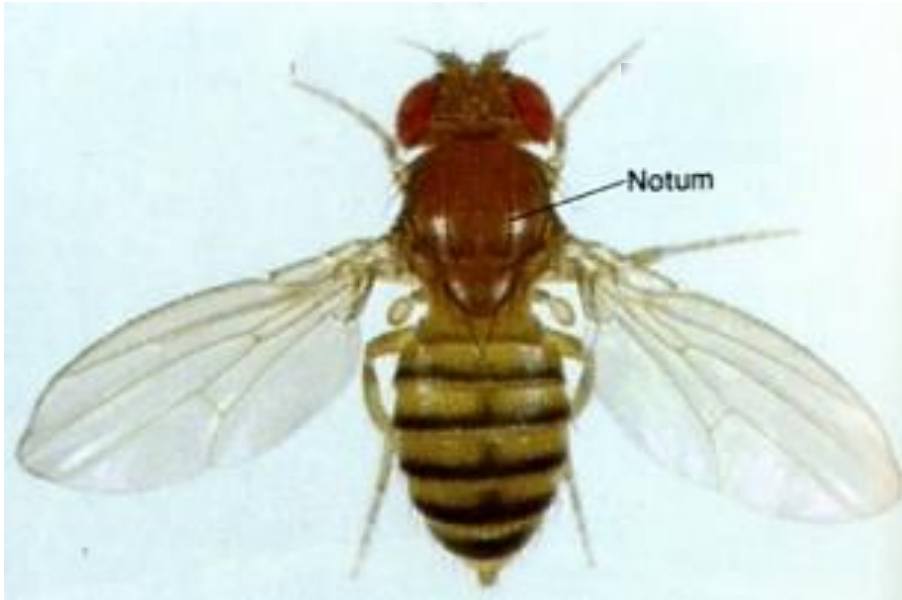


adult

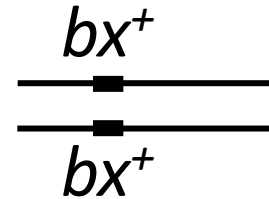
500 μm

az *engrailed* szegment-polaritás gén kifejeződési mintázata

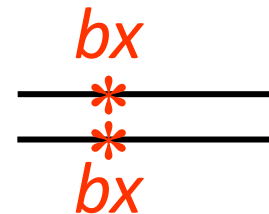
A homeotikus mutációk a szelvény-azonosság géneket azonosítják



Vadtípusú

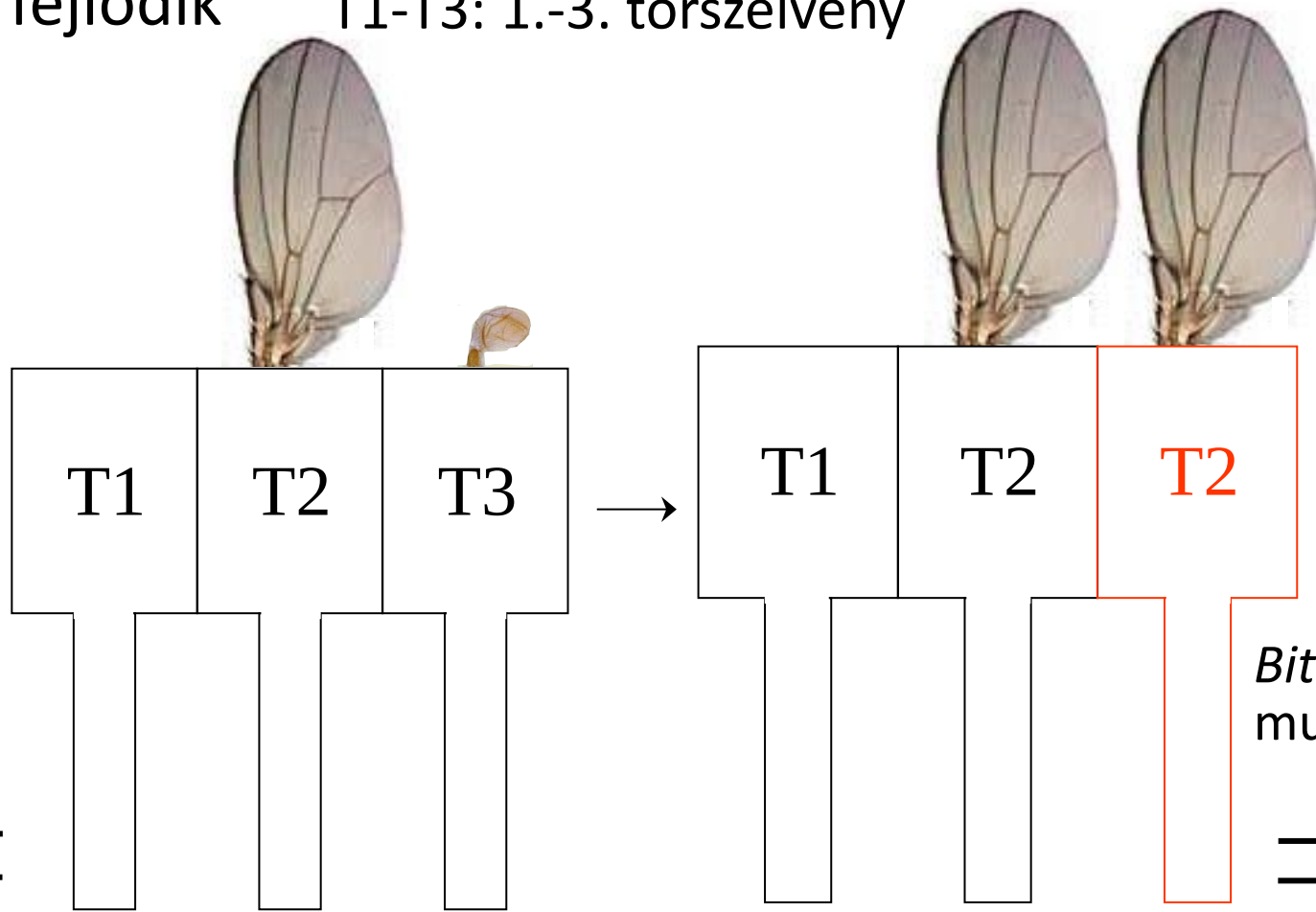


Bithorax (*bx*) mutáns

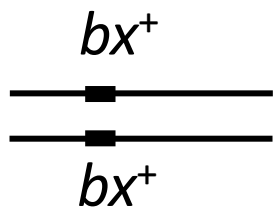


Homeózis: egy testtáj helyett egy másik testtájra jellemző struktúra fejlődik

T1-T3: 1.-3. torsiárvény



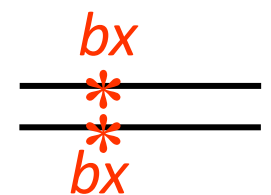
Vadtípusú



A kétszárnyú rovarokban normálisan csak a 2. torsiárvényen van szárny, mert evolúciójuk során a 3. szelvényen eredetileg meglévő szárnpár elcsökevényesedett.

A *bithorax* mutáns muslicákban a 3. torsiárvényen is szárny fejlődik, hasonlóan rovarőseikhez.

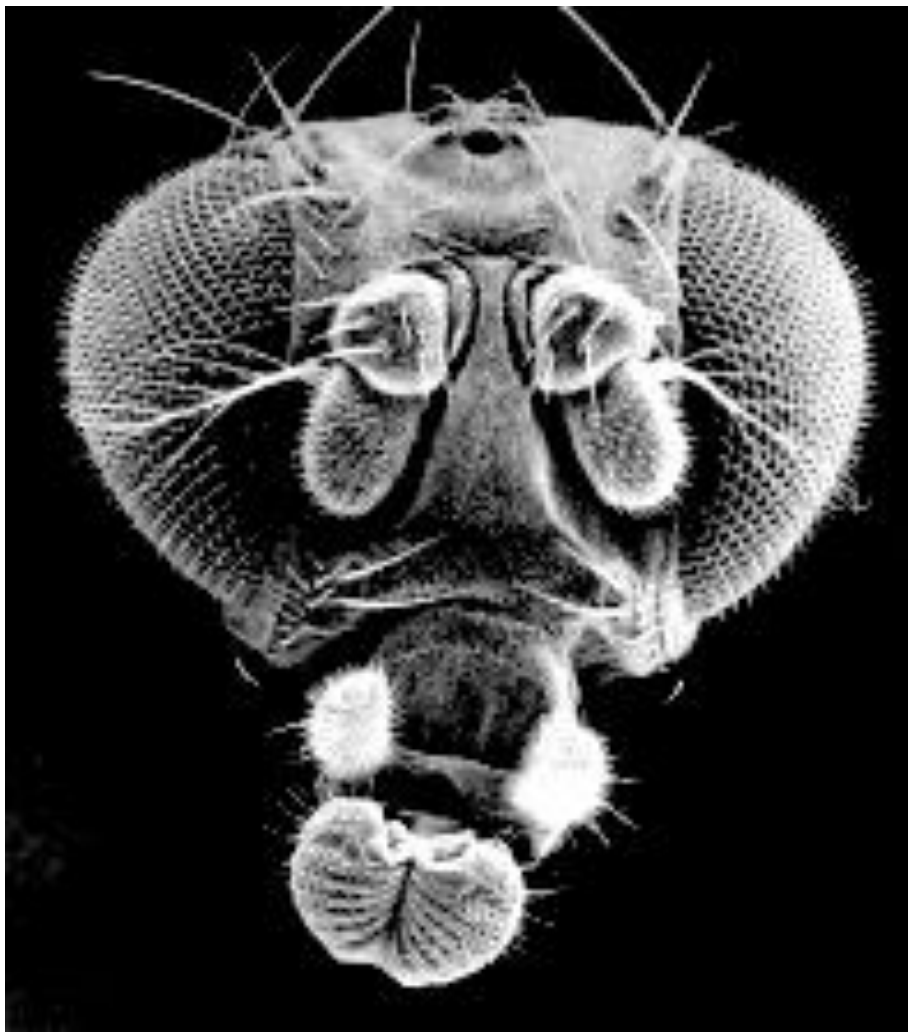
Bithorax (bx) mutáns



Atavizmus:
a törzsfejlődés korábbi
állapotának megjelenése
mutáció következtében



Vadtípusú



Antennapedia mutáns



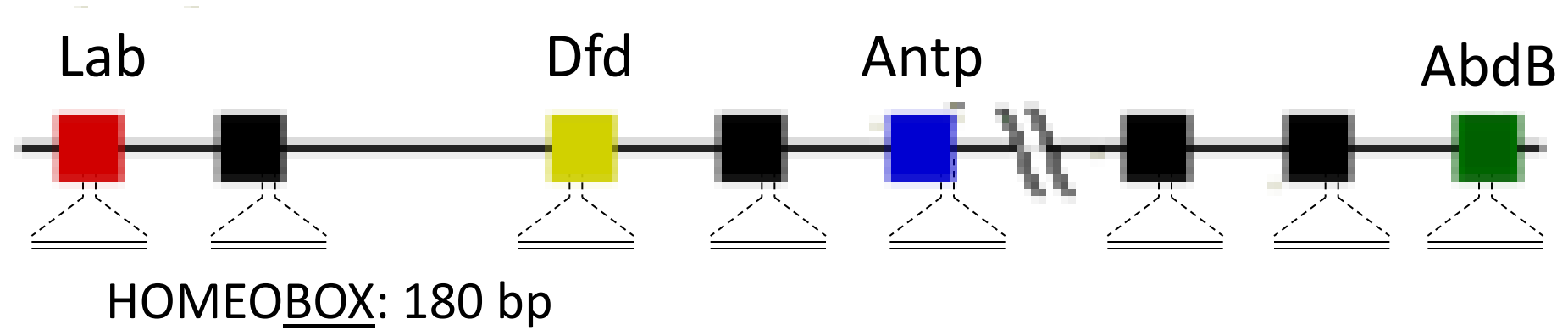
Vadtípusú



Proboscipedia mutáns

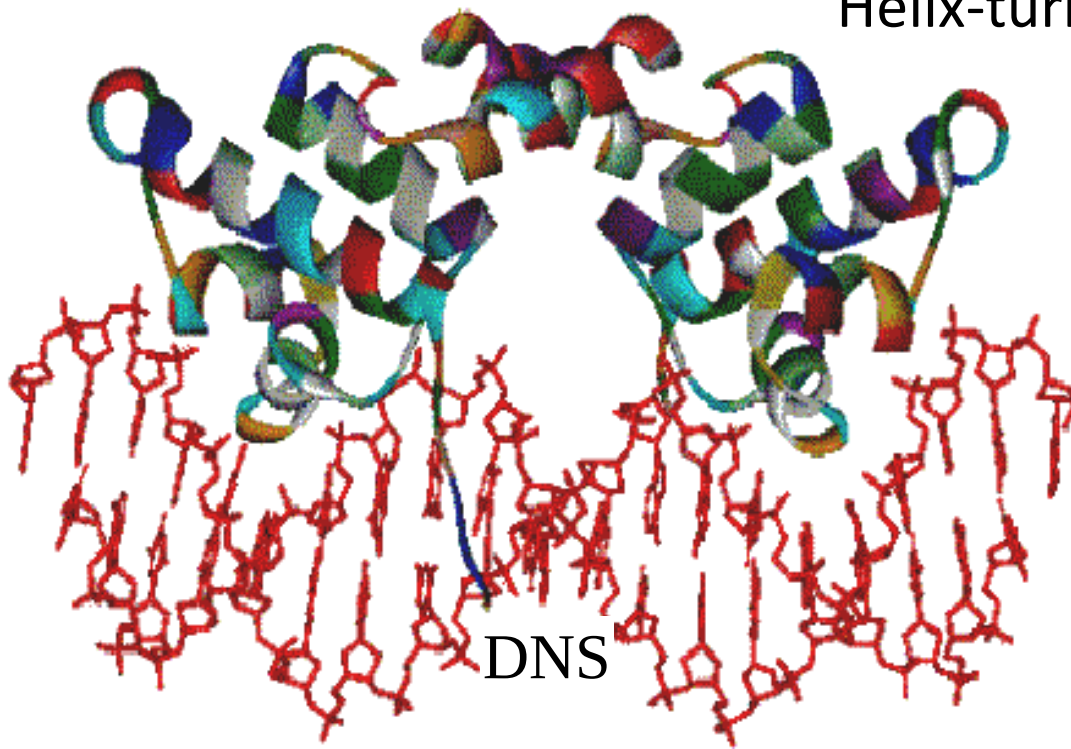


A homeotikus gének szekvenciájában közös elem a homeobox



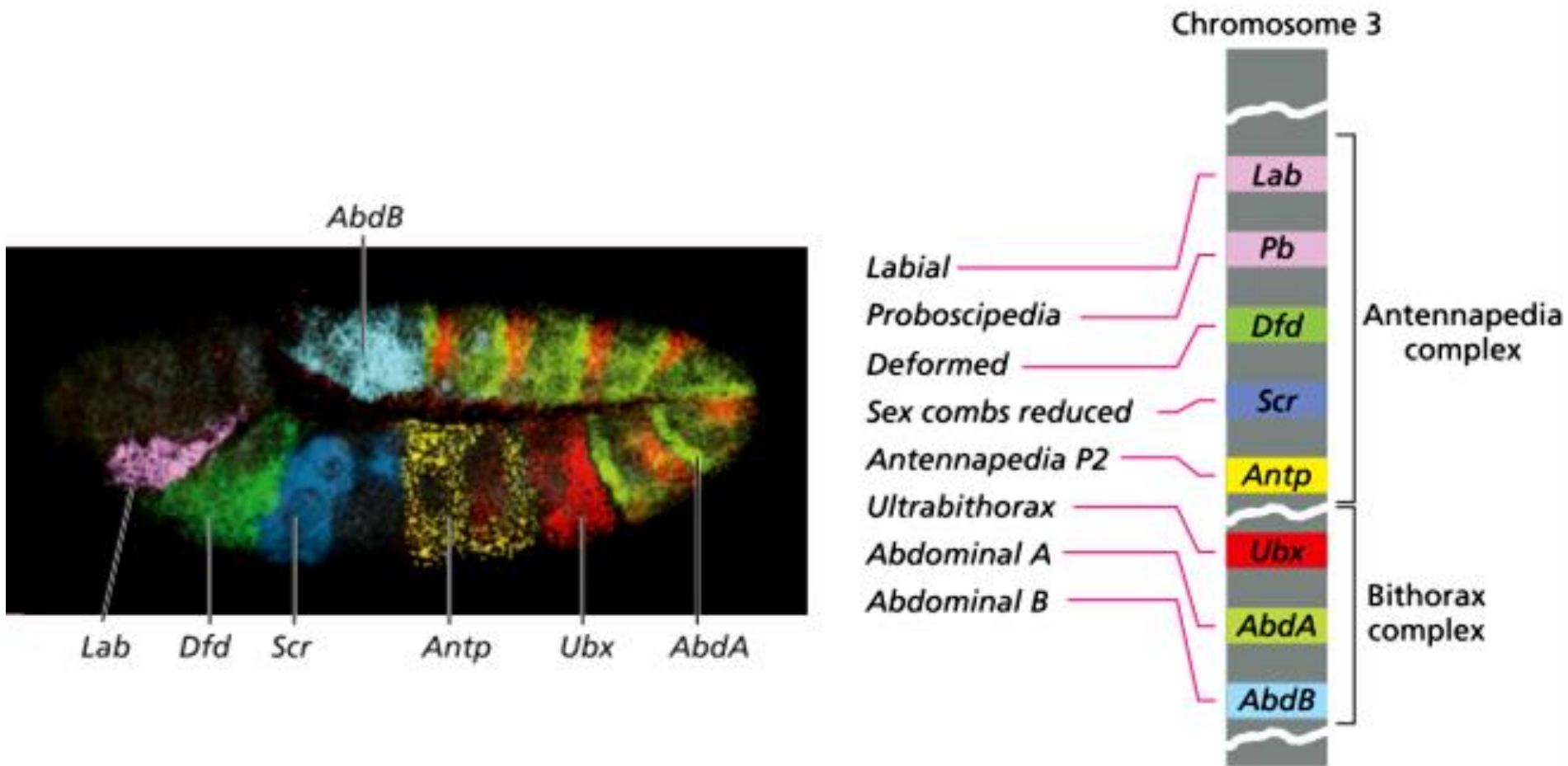
↓
HOMEODOMAIN: 60 aminosav

Helix-turn-helix motívum

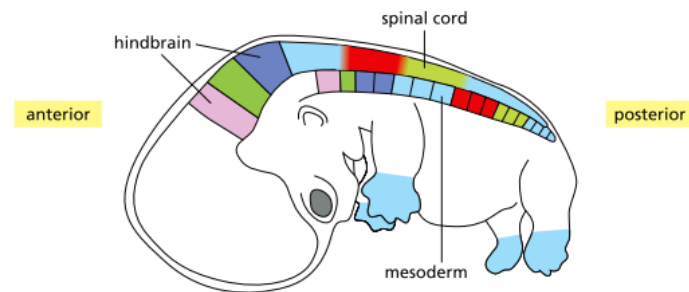
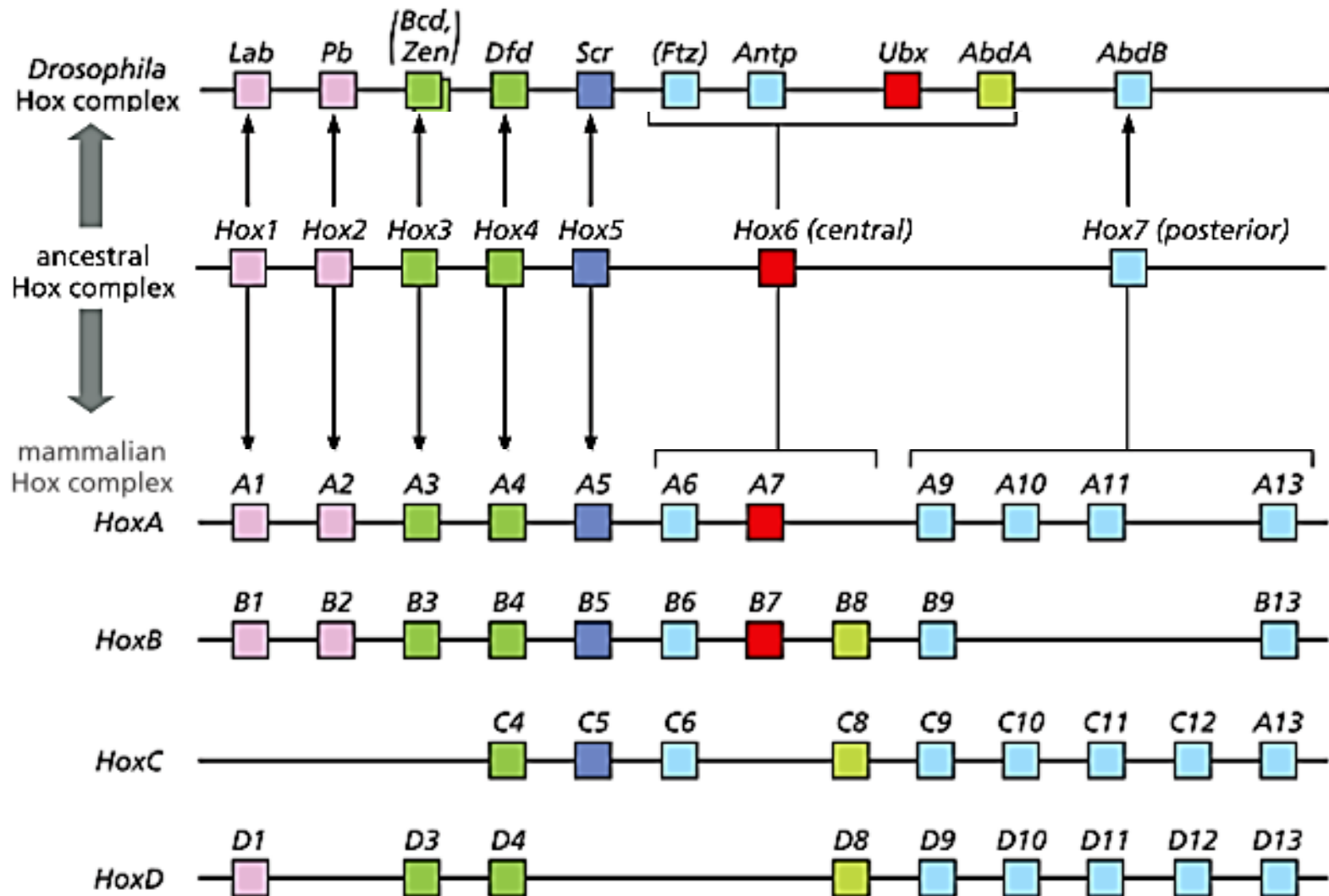
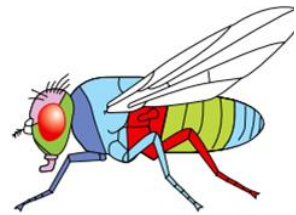


A homeotikus gének valamennyien **transzkripciós faktorként** működnek, újabb gének kifejeződésével indítják el az adott sejt fejlődési programját.

A muslica homeotikus génjei egy kromoszómán találhatóak, két nagy komplexbe rendeződtek, és sorrendjük megegyezik a térbeli kifejeződésük sorrendjével



A testszervények azonosságát meghatározó homeotikus gének



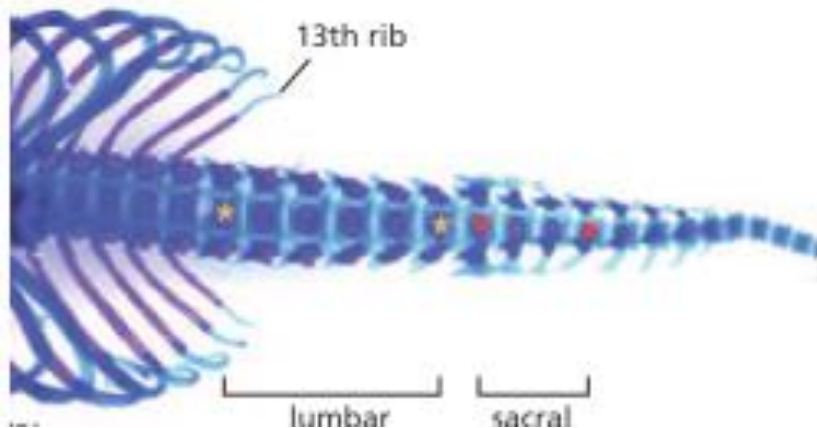
Az emlős Hox gének mutációja is homeózishoz vezethet



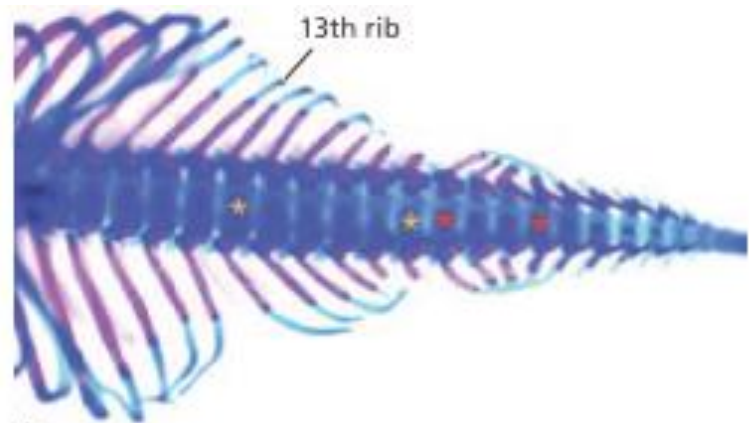
Ép egérben a Hox10 gének az ágyéki régióban aktívak.



Ha mesterségesen kifejeztetik a Hox10 géneket teljes gerinc hosszában, mindenhol ágyéki csigolyák képződnek.

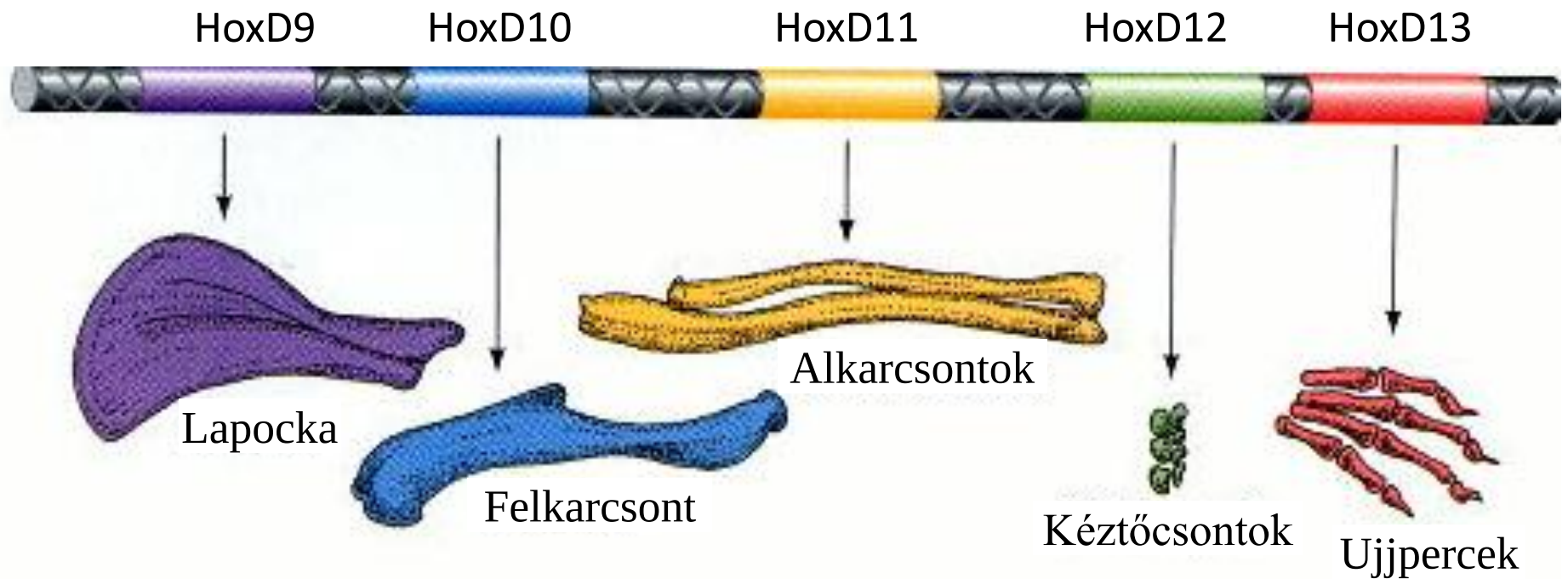


Ép egér, felülnézet

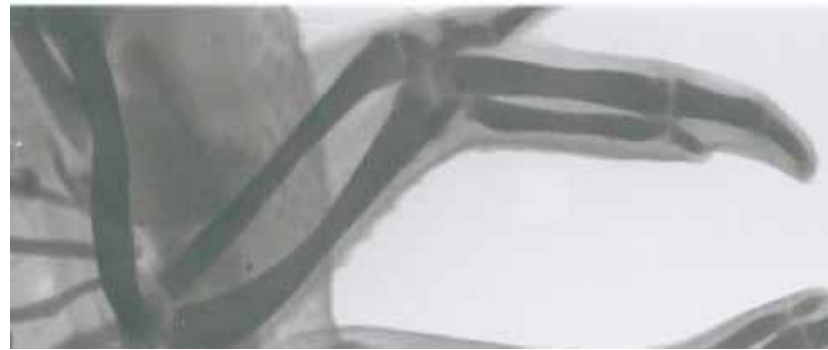
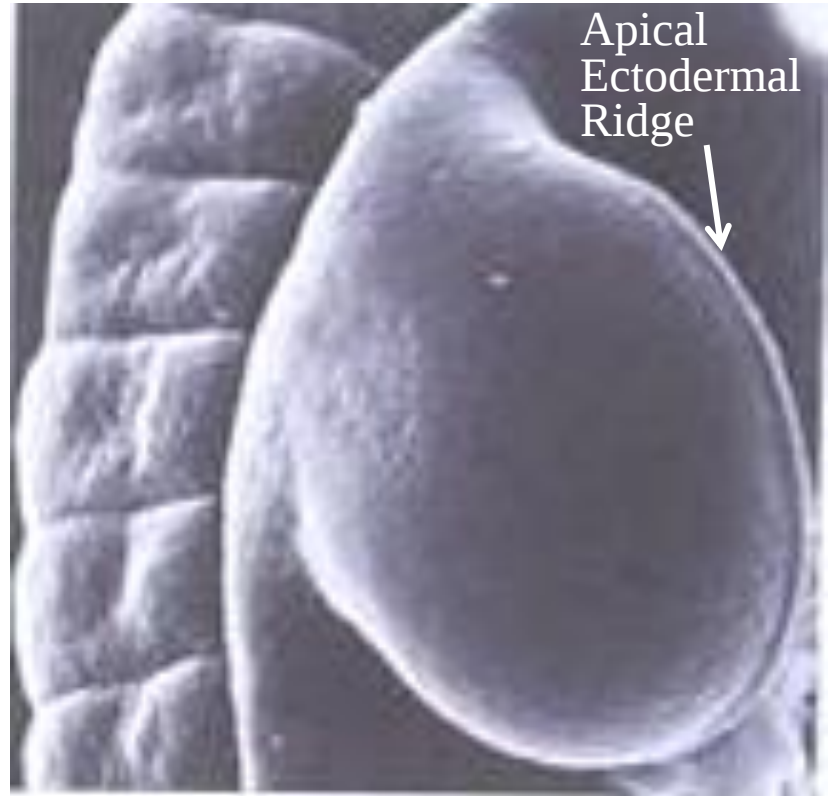


Hox10 knock-out egerekben az ágyéki és keresztcsonti csigolyák is törzscsigolyaként fejlődnek: bordákat hordanak

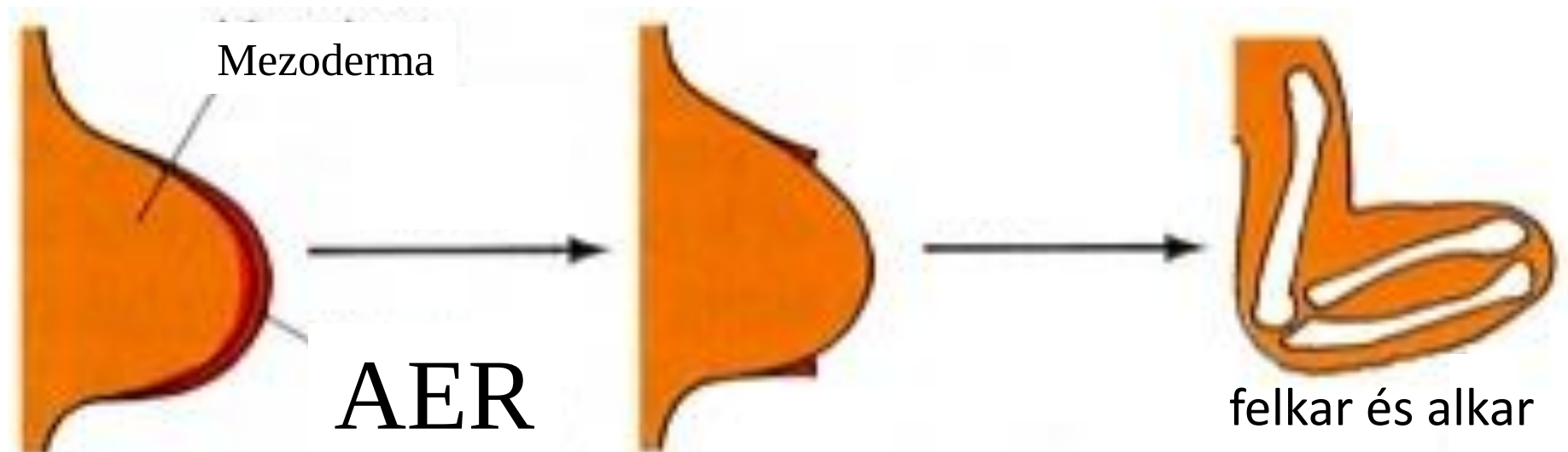
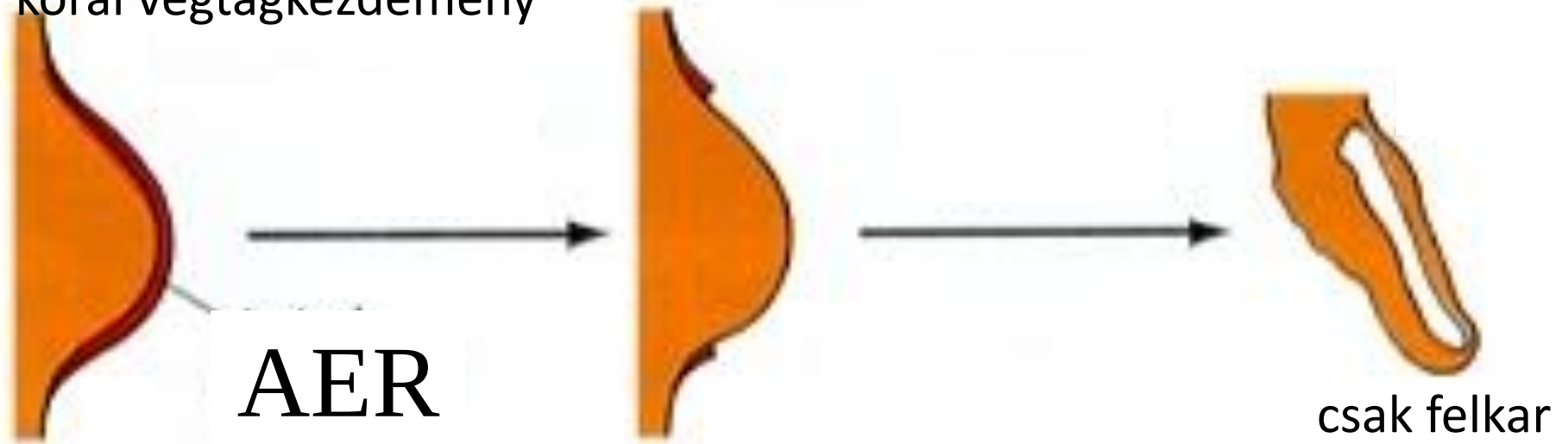
A homeotikus gének a végtagképződésben is szerepet játszanak



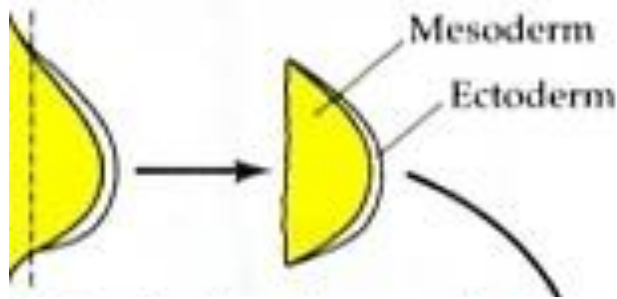
A gerinces végtagkezdemények kialakulása: kísérletek csirkeembriókkal (nagy, könnyen „hozzáférhető”)



Az „Apical Ectodermal Ridge” szerepe a végtagképződésben:
a proximális-disztális (közeli-távoli) tengely kialakítása
korai végtagkezdemény

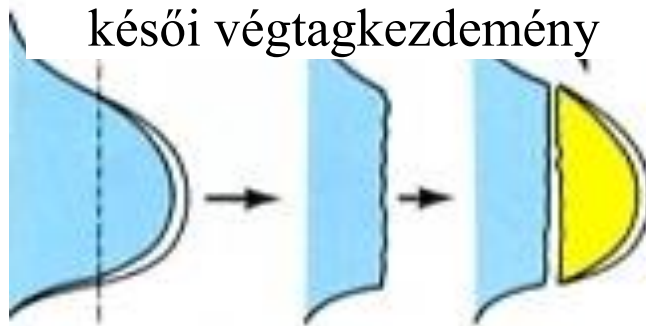


korai végtagkezdemény



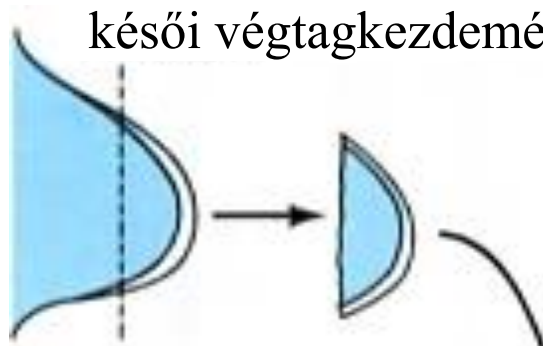
Az „Apical Ectodermal Ridge” szerepe a végtagképződésben: a proximális-disztális tengely kialakítása

késői végtagkezdemény



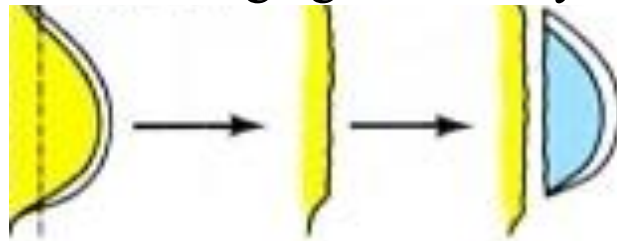
felkar, alkar, alkar, „kéz”

késői végtagkezdemény



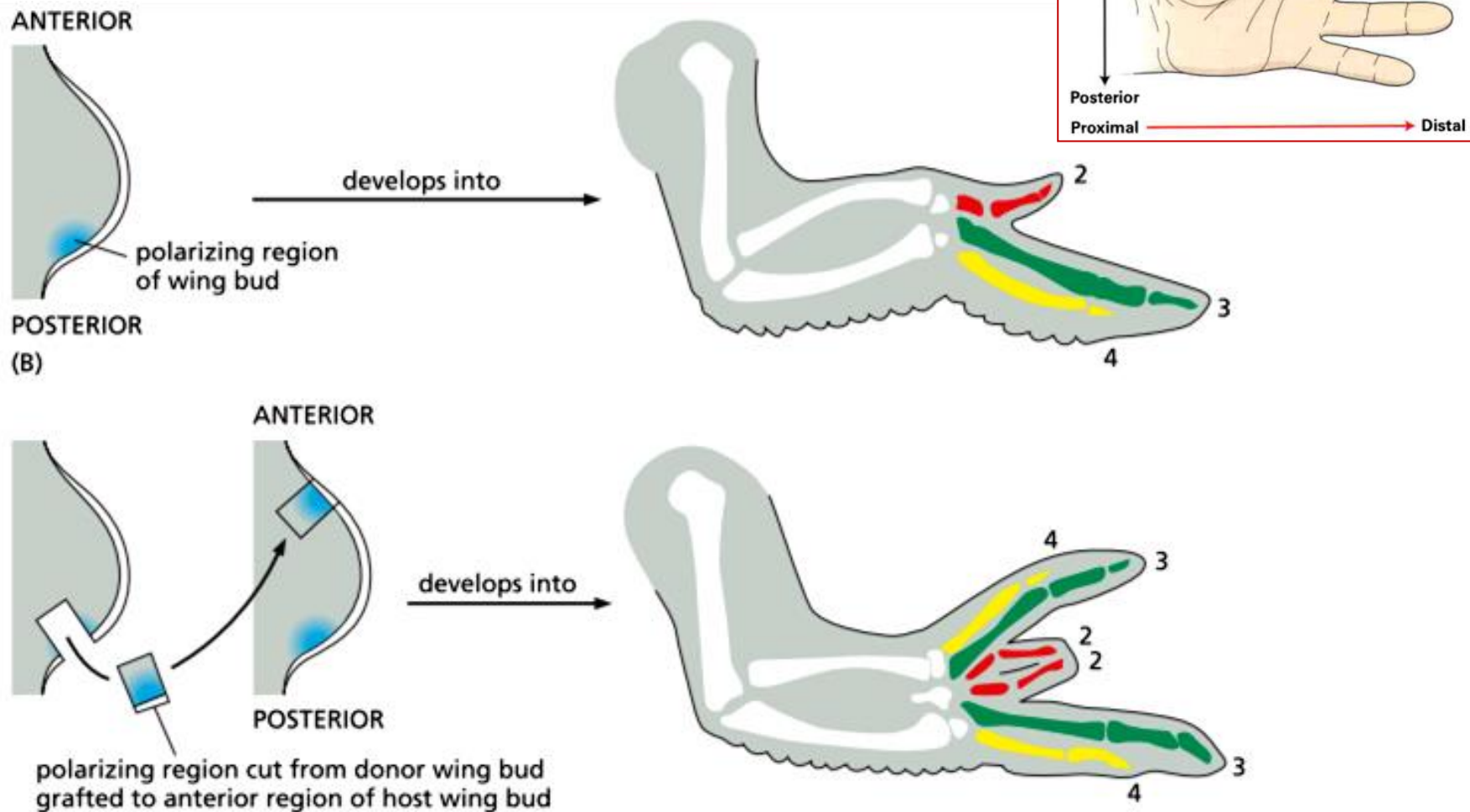
Az AER-ből egy morfogén-grádiens indul ki. A kifejlődő végtagrészlet minősége attól függ, hogy a létrehozó sejtek az AER-hez képest a kezdemény melyik pozíciójában helyezkednek el.

korai végtagkezdemény



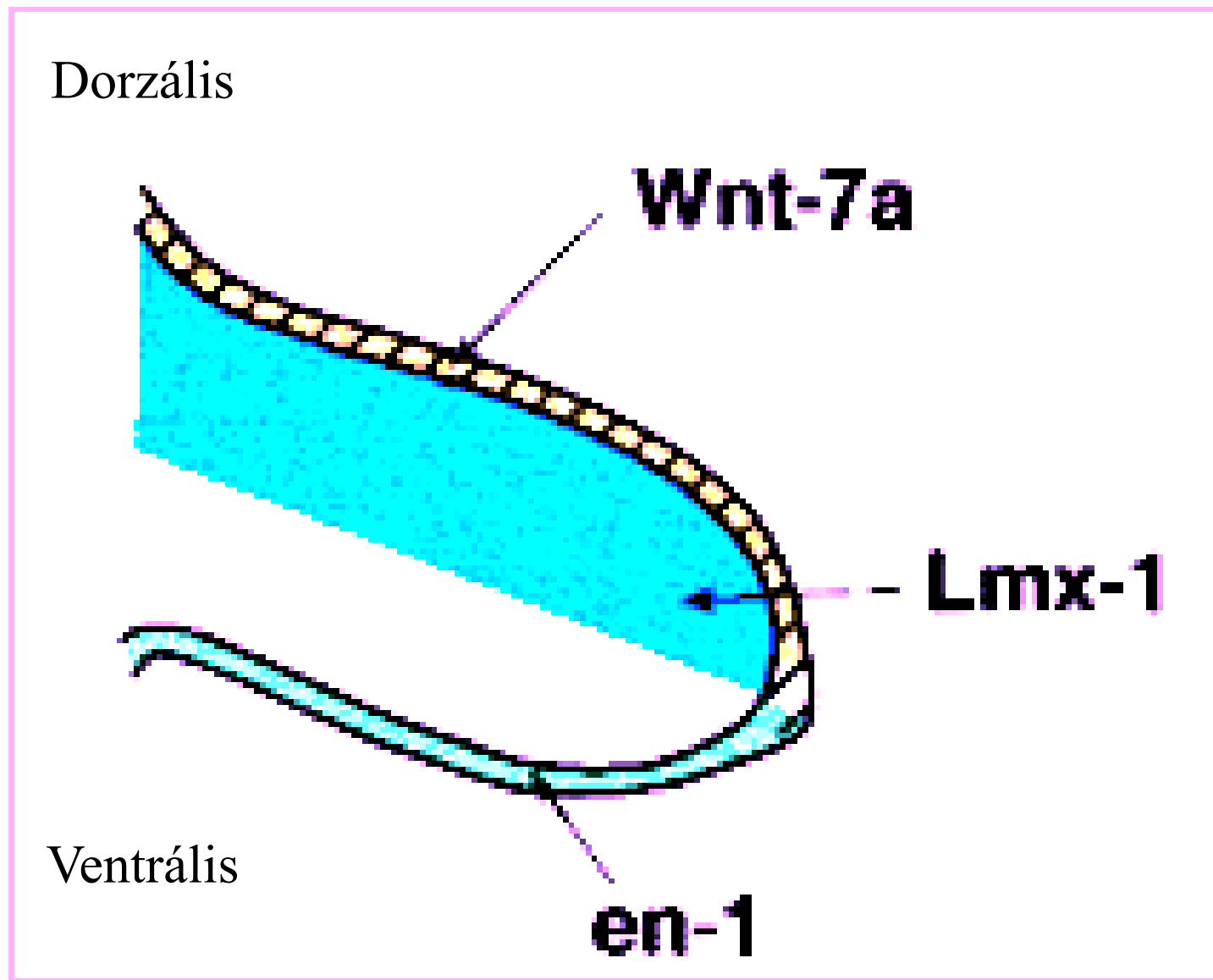
felkar, „kéz”

A ZPA (zone of polarizing activity) szerepe az elülső/hátulsó differenciációban



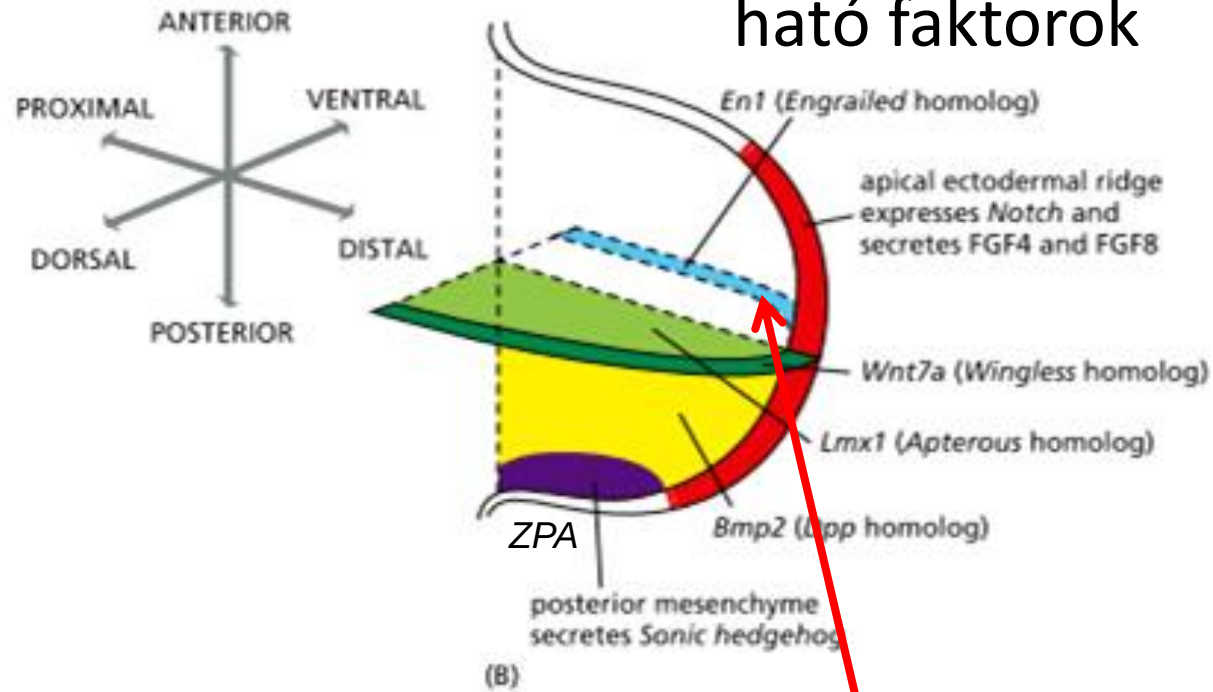
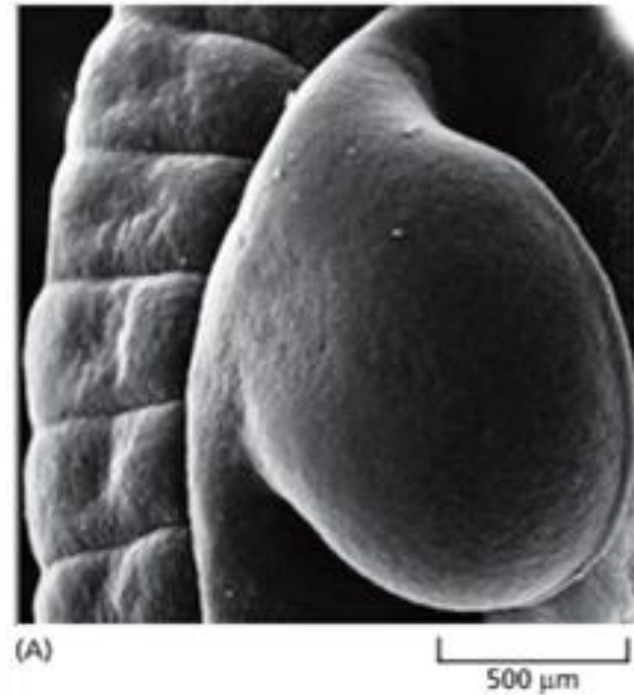
A ZPA-ban kifejeződő legfontosabb morfogén: *sonic hedgehog* (a *musica hedgehog* szegment-polaritás génjének homológja)

A dorzális/ventrális polaritás meghatározottsága



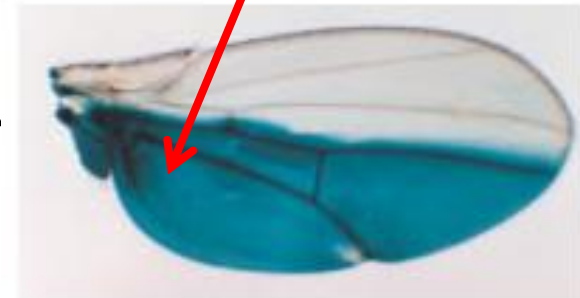
A hátsó illetve elülső felszínen (az ektodermában) különböző morfogének expresszálódnak

Összegzésül: a gerinces végtagfejlődés tengelyei mentén ható faktorok

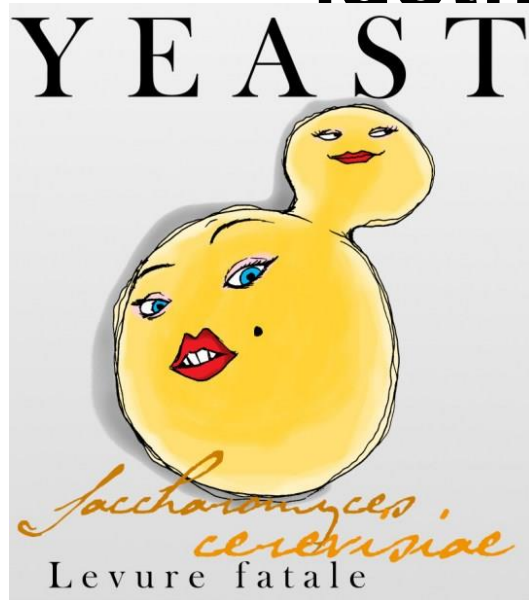


- A végtagfejlődésben szerepet játszó, a szimmetria-tengelyeket kialakító folyamatokat irányító gének morfogénekként viselkednek. Ezeknek a géneknek döntő többségét eredetileg muslicában azonosították, ahol hasonló szerepet játszanak (pl. szárnyfejlődés!)
- Jellemző, hogy gének kis csoportja aktiválódik újra és újra az egyedfejlődés egymást követő szakaszaiban

engrailed szelvény-polaritás gén



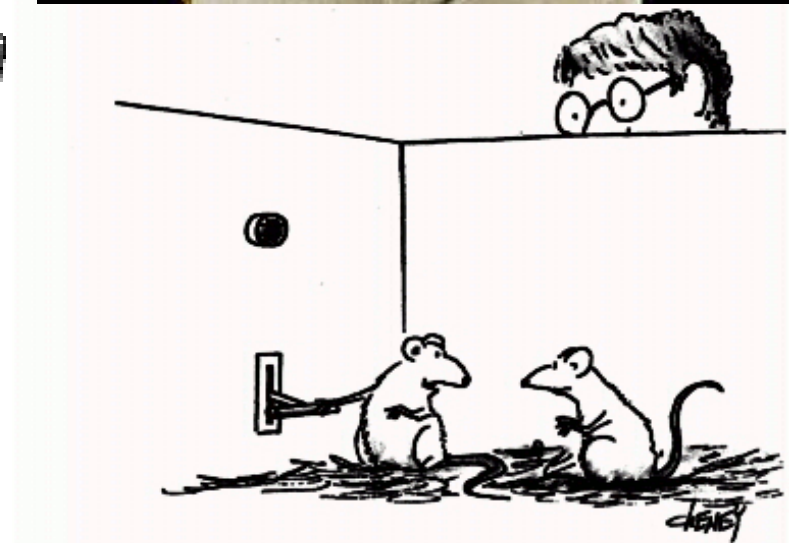
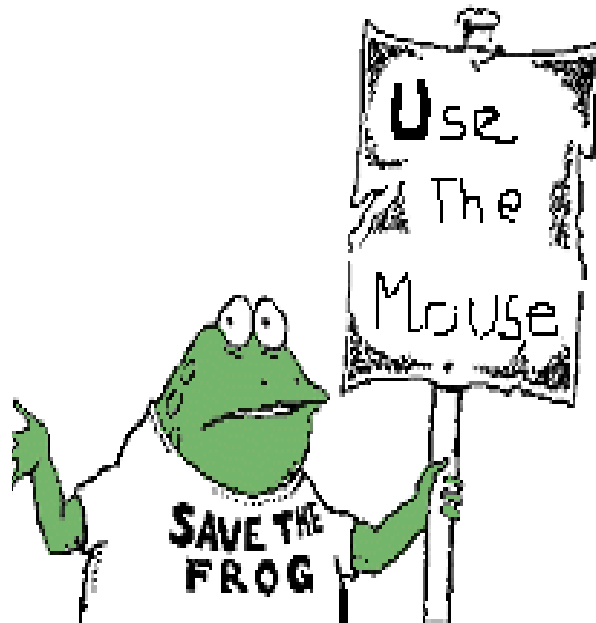
Valamennyien köszönjük az együtt töltött időt!!



Personals: ♂ FF, Se/E/Dp, seeks ♂ FF, +/-/+ for short term relationship. Enjoys romance, fermentation, swarms and long walks on the peach...



C. elegans



It's a rather interesting phenomenon. Every time I press this lever, that post-graduate student breathes a sigh of relief.