

Vorbereitung «Achsenbestimmung»

- Jedem Tier liegt Körperplan zugrunde
- Achsen des Körpers: immer in rechtem Winkel zueinander
 - ⇒ In allen multizellulären Organismen kann anteriores und posteriores Ende definiert werde
 - ⇒ Viele Tiere haben auch unterschiedliche Vorder- und Rückseite, die ventrale und dorsale Seite
 - ⇒ Grundachsen des Embryos während Furchung und Gastrulation festgelegt
 - ⇒ Unterschiedliche Organismen bestimmen Achsen zu unterschiedlichen Zeitpunkten in Entwicklung und benutzen teilweise unterschiedliche Mechanismen

Frühe Entwicklung bei Invertebraten (Bsp: Drosophila)

- Die meisten Gene, welche Musterbildung im Körper von *Drosophila* beeinflussen, haben in anderen Tieren eng verwandtes Gegenstück
- Adultes Tier: aus verschiedenen Segmenten aufgebaut
 - ⇒ Kopf (mit Mundöffnung, Augen, Antennen)
 - ⇒ 3 Thorakalsegmenten (T1-T3): Tragen jeweils ein Beinpaar, auf T2: ein Paar Flügel, auf T3: ein Paar Halteren
 - ⇒ 8-9 Abdominalsegmente (A1-A8/A9)
- Segmente unterscheiden sich, sind aber nach ähnlichem Grundplan gebaut
- Segmentierung entwickelt sich im frühen Embryo im Verlauf der ersten Stunden nach der Befruchtung

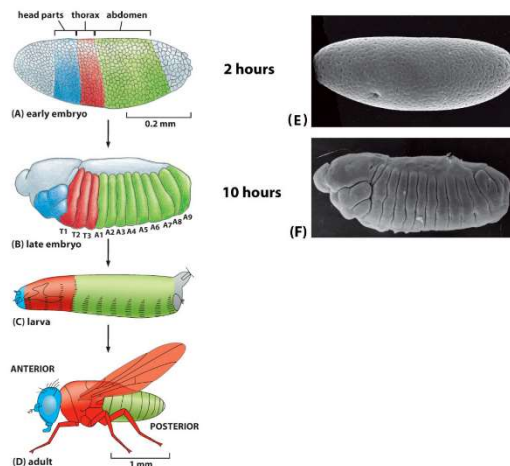


Abbildung 21-18 Der Ursprung der *Drosophila*-Körpersegmente.

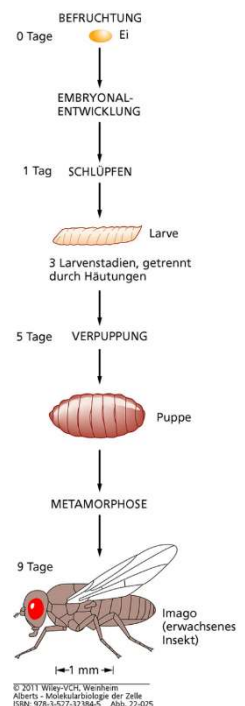


Abbildung 22-25 Zusammenfassung der *Drosophila*-Entwicklung vom Ei zur adulten Fliege.

- Beginnt Entwicklung als Syncytium (wie bei vielen anderen Insekten): durch Serie von Kernteilungen ohne Zellteilung entsteht grosse, mehrkernige Zelle
 - ⇒ Kerne wandern in Peripherie der Zelle und bilden eine Schicht: syncytiales Blastoderm
 - ⇒ Zellkerne, die am posterioren Pol abgesetzt: werden zur Keimbahn und bilden später Spermien/Eizellen
 - ⇒ Plasmamembran des Eies invaginiert und schliesst jeden Kern in eigene Zelle ein
 - Blastoderm ist jetzt nicht mehr syncytial, sondern zellulär
- Nach diesem Stadium: Transkriptionsrate des Embryogenoms nimmt rasch zu (vorher: Entwicklung von maternalen mRNA und Proteinen gesteuert) → Gastrulation setzt ein
- Nach Gastrulation: erscheinen auf Oberfläche schon Strukturen, die die Untergliederung des Körpers in Segmente entlang der antero-posterioren Achse markieren

Kontrolle der Achsenbildung

- In Drosophila: Hauptachsen (anterior-posterior und dorsal-ventral) bereits in unbefruchteter Eizelle festgelegt (→ erste Entwicklungsschritte unterscheiden sich bei vielen Tieren)
- Unbefruchtete Eier gehen durch mehrere Reifungsstadien
 - ⇒ In fortgeschrittenem Zustand besteht Ei aus 1 Eizelle (Oocyte), mehreren Nährzellen, umgeben von einzelliger Schicht (Follikelzellen)
 - ⇒ Eizelle und Nährzellen stammen von Keimzellen ab, Follikelzellen von somatischen Zellen der Ovarien.
 - ⇒ Aus Nährzellen werden mütterliche mRNAs in Eizelle transportiert und dort an unterschiedlichen Enden der Eizelle abgelagert
 - 5'UTRs (untranslated regions) der mRNA sind für Lokalisierung am einen oder anderen Pol wichtig. Durch sie werden mRNAs an unterschiedliche Proteinkomplexe an den Enden lokalisiert

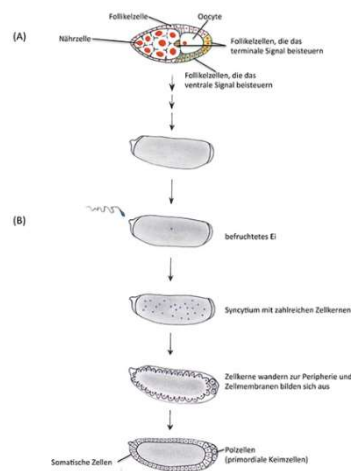


Abbildung 22-32 Entwicklung von Drosophila von der Befruchtung bis zum Stadium des zellulären Blastoderms (adaptiert von Abb. 22-28 und 22-32, Alberts et al.)

- ⇒ mRNAs codieren für Proteine Bicoid (am anterioren Ende der Eizelle) und Nanos (am posterioren Ende).
 - mRNAs nach Befruchtung abgelesen und translatiert
 - Entstehung eines Proteingradienten entlang der **anterior-posterioren** Achse im Ei
 - Gradient bewirkt an unterschiedlichen Stellen des Embryos die Aktivierung von unterschiedlichen Genen → Einleitung der Segmentierung
 - Bicoid ist Transkriptionsfaktor: Da zu diesem Zeitpunkt die sich teilenden Zellkerne noch nicht von Zellmembranen umgeben sind, kann Bicoid in Zellkerne diffundieren und abhängig von seiner Konzentration unterschiedliche Gene aktivieren
- ⇒ Auch **dorsoventrale** Achse wird in unbefruchteter Eizelle durch mütterliche Determinanten festgelegt.
 - Follikelzellen sind daran beteiligt
 - In später Eireifung: Nährzellen und Follikelzellen werden abgebaut, nur Oocyte bleibt bestehen
 - Follikelzellen sezernieren Vitellinmembran (eine die Oocyte umgebende wachsartige Schicht)
 - Vitellinmembran schützt nach Eiablage den Embryo vor Austrocknen
 - Follikelzellen in einer bestimmten Region im Ei produzieren Proteine, die an dieser Stelle in die Vitellinmembran eingelagert werden

- ⇒ Nach Befruchtung (Ei im syncytialen Stadium): Proteine bewirken Aktivierung von Transmembranrezeptor Toll (sitzt in Zellmembran des Eis) auf einer Seite
 - Aktivierung von Toll führt zur Aufnahme vom Protein Dorsal in die Zellkerne, die an ventralen Seite des Eis liegen. (Dorsal ist auch maternales Genprodukt)

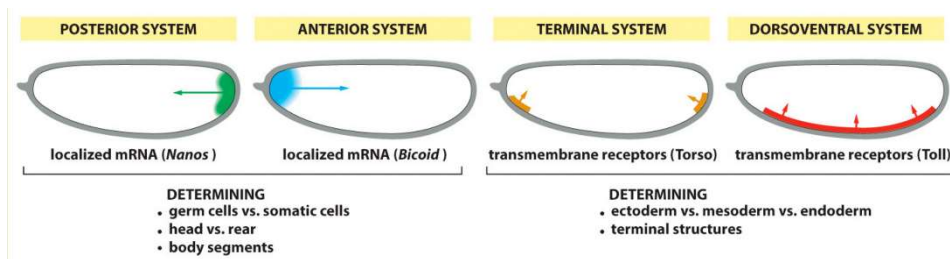


Figure 21-17 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-17 Die Organisation der vier das Ei polarisierenden Gradientensysteme.

Bicoid ist ein Transkriptionsfaktor, der den Kopf des Embryos bestimmt. Nanos wirkt als Translationsrepressor, der die Bildung des Abdomens reguliert. Die Rezeptoren Toll und Torso sind über die gesamte Cytoplasmamembran verteilt, werden aber nur an den farblich gekennzeichneten Bereichen durch extrazelluläre Signale aktiviert.

- ⇒ Enden der Embryos auch schon während Entwicklung der Eizelle festgelegt
 - Durch das Ablegen von bestimmten Proteinen durch die Follikelzellen an beiden Enden des Eis
 - Dies Proteine aktivieren Transmembranrezeptor Torso und bestimmen so die beiden Enden
- Maternaleffekt:
 - ⇒ Alle Ei-Polaritäts-Gene werden vom mütterlichen Genom kodiert und werden während der Eireifung im Oval der Mutter in den Nährzellen transkribiert.
 - ⇒ Dazugehörige Gene: Maternaleffekt-Gene
 - ⇒ Sehr ausgeprägt bei Insekten, weil sie die grundlegende Achsenbildung kontrollieren
 - ⇒ Auch bei Wirbeltieren hat Mutter grossen Einfluss auf Embryonalentwicklung
- Verwendung der Proteine Bicoid, Nanos, Torso und Toll zur Bestimmung der Achsen ist **kein** allgemeines Merkmal früherer Entwicklung bei Tieren:
 - ⇒ Bicoid-Gen z.B. existiert nur in Drosophila und verwandten Insektenarten
 - ⇒ Später in der Entwicklung, wenn das Genom der Zygote abgelesen wird, zeichnen sich mehr Ähnlichkeiten zu anderen Tiergruppen ab
- Proteingradient entlang anterior-posterioren Achse sind Ausgangspunkt für Bestimmung der Segmente des Embryos
 - ⇒ Proteine kontrollieren die Transkription weiterer Gene (Segmentierungs-Gene)
 - Segmentierungs-Gene sind erste Gene, die von Zygote exprimiert werden (und nicht von Mutter im Ei abgelegt)
 - Einteilung aufgrund ihres mutanten Phänotyps in Lücken-Gene (gap genes), Paarregel-Gene (pair rule genes), Segmentpolaritätsgene (segment polarity genes)
 - Diese Gene wurden in Suche nach *Drosophila*-Mutanten, die Änderungen in ihrer Entwicklung aufwiesen, gefunden. Gene, deren mutanter Phänotyp ähnlich aussieht, fallen in dieselbe Klasse.

- Hierarchie unter den Genen, welche frühe Embryonalentwicklung von Drosophila steuern (ist in Wirklichkeit nicht so linear und Funktion von verschiedenen Klassen ist teilweise überlappend):

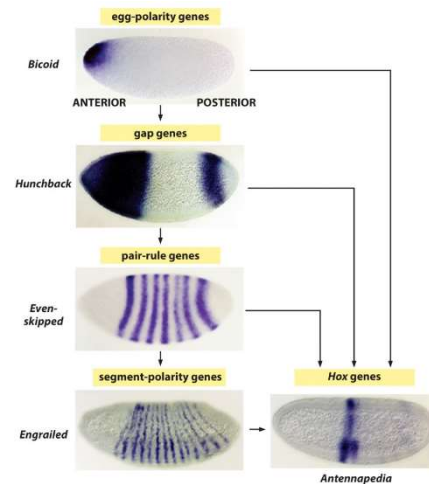


Figure 21-20 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-20 Die regulatorische Hierarchie der Ei-Polaritäts-, Segmentierungs- und Hox-Gene.

- Musterung der anterior-posterioren Achse durch Segmentierungs-Gene (Insektenspezifisch)
 - ⇒ Als erstes 6 Lücken-Gene exprimiert → Produkte davon bilden grobe Einteilung der anterior-posterioren Achse
 - Mutationen in Lücken-Gen unterdrücken Ausbildung eines oder mehrerer angrenzenden Segmente:
 - ⇒ Als nächstes 8 Paarregel-Gene exprimiert → bestimmen weitere Unterteilung des Embryos in Segmente
 - Mutation in Paarregel-Gen führen dazu, dass alternierende Segmente nicht gebildet werden → Embryo mit nur der Hälfte der üblichen Segmente entsteht → Bsp: *Even-skipped*: jedes geradzahlige Segment nicht gebildet
 - ⇒ Schliesslich Segmentpolaritäts-Gene exprimiert → sorgt für innere Musterbildung innerhalb eines Segments (jedes Segment bekommt so richtige Polarität)
 - Mutationen in Segmentpolaritäts-Genen führen zu Embryo mit normalen Anzahl an Segmenten, aber jedes Segment wird durch ein spiegelbildliches Duplikat eines anderen Teils des Segments ersetzt. (Segmente haben keine Polarität mehr) → Cuticula der Larven nimmt zusammengezogene, igelartige Form an

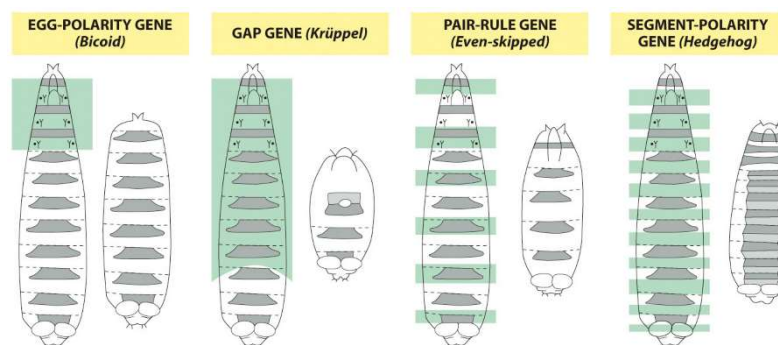


Figure 21-19 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-19 Beispiele für die Phänotypen, die aus Mutationen in den drei Klassen von Segmentierungsgenen resultieren. In jedem der dargestellten Fälle sind Bereiche, die in der normalen Larve grün unterlegt sind (ganz links), in der Mutante deletiert oder durch ein spiegelbildliches Duplikat der nicht betroffenen Region ersetzt.

- Bildung der dorsoventralen Achse
 - ⇒ Aktivierung des Transmembranrezeptors Toll (maternales Genprodukt) auf der ventralen Seite des Embryos führt zur Verteilung des Transkriptionsregulators Dorsal (ebenfalls maternal)

- Dorsal: Protein der NFκB-Familie
- ⇒ Dorsal geht (wie NFκB) nach Aktivierung im ventralen Teil des Embryos in Zellkern und reguliert dort Zielgene. Auf dorsalen Seite verbleibt Dorsal im Cytosol (weil es dort nicht durch Toll-Rezeptor aktiviert wurde)
- ⇒ Dorsal wirkt im Nucleus als Morphogen: Abhängig von Dorsal-Konzentration werden an unterschiedlichen Stellen im Embryo nun unterschiedliche (zygotische) Gene aktiviert
 - regulatorische Sequenz der Gene ausschlaggebend dafür, wie stark Gen durch Anwesenheit von Dorsal exprimiert wird
 - regulatorische Sequenzen enthalten unterschiedlich viele Bindungsstellen mit unterschiedlich hoher Affinität zum Dorsal-Protein
 - Diese Gene aktivieren wiederum andere Gene und erzeugen so lokale Signale, die die dorsal-ventrale Achse weiter unterteilen

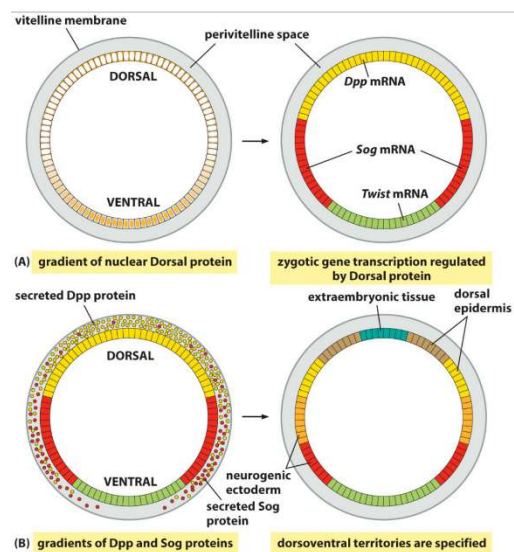


Figure 21-27 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-27 Morphogen-Gradienten führen entlang der dorso-ventralen Achse des *Drosophila*-Embryos zur Musterbildung.

(A) Der Gradient des Proteins Dorsal legt drei grobe Genexpressionsbereiche fest, die in der Abbildung durch die drei repräsentativen Gene Dpp, Sog und Twist wiedergegeben sind. (B) Kurze Zeit später sezernieren die Zellen, die Dpp oder Sog exprimieren, die Signalproteine Dpp (ein Mitglied der TGFβ-Familie) bzw. Sog (ein Antagonist von Dpp). Diese beiden Proteine diffundieren vom Ursprungsort weg und interagieren miteinander und mit bestimmten anderen Faktoren, und erzeugen so einen Dpp-Aktivitätsgradienten, der einen detaillierteren Musterbildungsprozess einleitet.

- Zu fast all diesen Genen (in Bild) gibt es ein Analog in Wirbeltieren

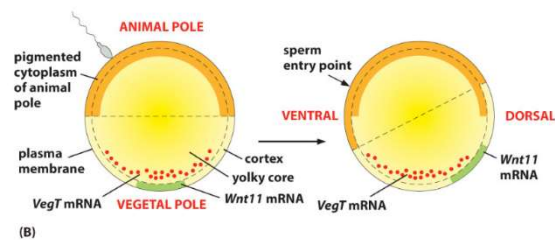
Achsenbildung bei Wirbeltieren

- Alle Wirbeltiere nach ähnlichem Bauplan aufgebaut:
 - ⇒ anterior-posteriore Achse gebildet durch: segmentierte Wirbelsäule umgibt Rückenmark mit einem Gehirn am anterioren Ende, das von einem knöchernen oder knorpeligen Schädel umgeben ist.
 - ⇒ Definierte dorsoventrale Achse mit Mund auf ventralen Seite
 - ⇒ Embryos durchlaufen gemeinsames Entwicklungsstadium
- Unterschiede vor Gastrulation:
 - ⇒ Wie und wann Körperachsen definiert werden
 - ⇒ Wie frühe Musterbildung geschieht
 - ⇒ Grund für diese Unterschiede: Unterschiedliche Fortpflanzungsarten

Achsenbildung am Bsp. *Xenopus laevis*

- Die beiden Hemisphären der Zelle enthalten eine unterschiedliche Auswahl von mRNA-Molekülen (→ mütterlichen Ursprungs (Maternaleffekt))
 - ⇒ Im vegetativen Teil: VegT und Wnt11

- ⇒ Animal-vegetale Achse des Eies entspricht circa der antero-posterioren Achse des entstehenden Embryos (Achse also bereits vor Befruchtung festgelegt)



- Die Befruchtung bewirkt eine entscheidende Veränderung im Embryo: Das Eindringen des Spermiums löst Corticalrotation aus
 - ⇒ Verschiedene Komponente des vegetativen Pols (z.B. mRNA von Wnt11) in Richtung der zukünftigen Dorsalseite hin verschoben und beginnen dorsoventrale Achse (90° zur animal-vegetativer Achse) zu organisieren
 - So wird in dorsaler Region Wnt11-Protein produziert
 - Wnt11: entscheidend für Auslösung verschiedener Kaskaden, die die dorso-ventrale Achse des Körpers bestimmen
 - ⇒ Nötig, um dorsoventrale Achse festzulegen
 - ⇒ Ort des Spermieintritts: definiert ventralen Pol des Eies
- Während Furchungsteilung
 - ⇒ verschiedenen mRNAs werden in unterschiedlichen Konzentrationen auf die Tochterzellen verteilt
 - ⇒ Zahlreiche Zellbewegungen finden statt: so werden Achsen vollständig ausgebildet (anterior-posterior, dorsoventral, medio-lateral)
 - vegetative Zellen und Zellen um die Mittelregion der vegetalen-animalen Achse zwingen sich in Cytoplasma ein
 - animale Zellen bilden Aussengewebe
- Während Gastrulation
 - ⇒ Achsenbildung geht während Gastrulation weiter (nicht so bei Drosophila)
- Reihenfolge der Achsenbildung:
 - ⇒ Animal-vegetal (A-V)
 - ⇒ Dorso-ventral (D-V)
 - ⇒ Anterior-posterior (A-P)