

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.

Die Segmentierungsgene werden in drei Klassen (Gap, pair-rule und segment-polarity genes) eingeteilt. Die Photos zeigen die Expressionsmuster repräsentativer Beispiele von Genen jeder Kategorie. Die Hox-Gene, die später in dieser Vorlesung besprochen werden, legen die bleibenden Unterschiede zwischen einem Segment und dem nächsten fest.

Diese Art der Musterbildung ist insektenspezifisch, die aufgrund des Syncytiums in Insekten möglich ist. Aus der Lektion "Achsenbildung" wissen Sie, dass sich das *Drosophila*-Ei in den ersten Stunden der Embryonalentwicklung in eine mehrkernige Zelle verwandelt, deren Zellkerne nicht durch Membranen voneinander abgegrenzt sind. Dies erlaubt, dass Morphogene (z.B. Bicoid) frei zu allen Zellkernen im Embryo diffundieren können, ohne Zellmembranen überwinden zu müssen.

Die ersten Schritte der Musterbildung passieren in *Drosophila* also bereits vor der Zellularisierung. Die Segmentpolaritäts-Gene können dann nach der Zellularisierung den Embryo in noch kleinere Einheiten unterteilen. Viele der Segmentpolaritäts-Gene codieren für Komponenten von Signaltransduktionswegen, die meisten davon gehören zum Wnt- oder zum Hedgehog-Signalweg, die Sie bereits in den Vorlesungen von Prof. Werner kennengelernt haben.

Die Produkte der Segmentpolaritäts-Gene codieren für Komponenten von Signalwegen

Die Expression der Wnt- und Hedgehog-Signalproteine dient nun wiederum der Regulierung der Expression bestimmter Gene in ganz bestimmten Zellen des Embryos: *Wingless* (eine Komponente des Wnt-Signalwegs) und *Hedgehog* werden in benachbarten Streifen von Zellen exprimiert und induzieren gemeinsam die Expression des Proteins Engrailed (Abb. 21-21).

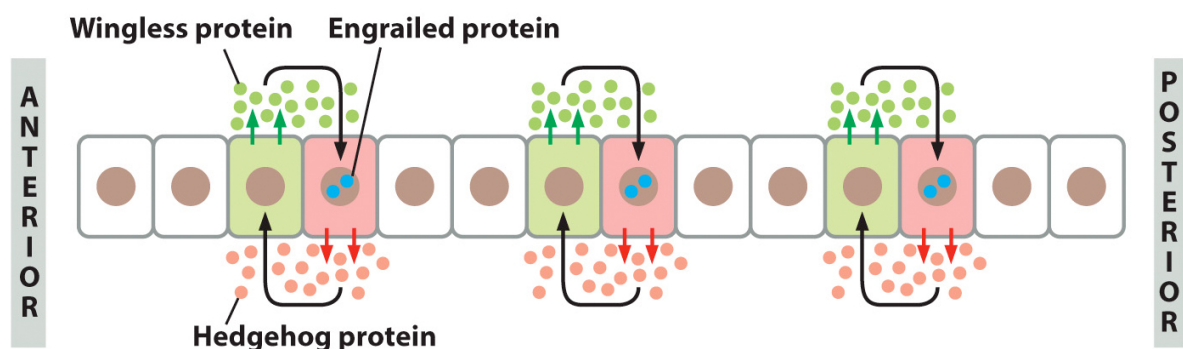


Abbildung 21-21 Gegenseitige Aufrechterhaltung der Expression von *Hedgehog* und *Wingless* durch sequentielle Induktion. Engrailed ist ein Transkriptionsregulator (blau), der die Expression von *Hedgehog* antreibt. *Hedgehog* codiert für ein sekretiertes Protein (rot), das seinen eigenen Signalweg in den Nachbarzellen aktiviert und diese dazu bringt, das Gen *Wingless* zu exprimieren. *Wingless* wiederum codiert für ein sekretiertes Protein (grün), das auf die Nachbarzellen wirkt und dort die Expression von *Engrailed* und *Hedgehog* aufrechterhält. Diese Art der Kontrollschleife wiederholt sich entlang der A-P-Achse.

Zusammenfassend können wir folgendes festhalten: Im Verlauf der ersten Stunden nach der Befruchtung werden die Lücken- und Paarregel-Gene aktiviert, deren Expression ein scharf abgegrenztes System von Streifen entstehen lässt. Dieses regelmässige Muster ist aber instabil und nur vorübergehend vorhanden, denn wenn der Embryo nach der Zellularisierung durch die Gastrulation geht, finden zahlreiche Zellwanderungen statt, so dass das regelmässige Muster zerfällt. Um dauerhaft zu speichern, wo die Segmentgrenzen sind, wird die Positionsinformation der Ei-Polaritäts-, Lücken- und Paarregel-Gene durch die dauerhafte Aktivierung bestimmter Segmentpolaritäts-Gene und homöotischer Auswahl-Gene (*Hox*-

Regulatorische Module in den Segmentierungsgenen erlauben komplexe Genexpressionsmuster

Diagram illustrating the structure of the *even-skipped* gene and its expression patterns in *Drosophila* embryos.

The gene structure is shown as a linear sequence of exons (orange boxes) and introns (grey lines). A scale bar indicates 3000 Nucleotidpaare (nucleotide pairs).

Key features and expression patterns are labeled:

- Streifen 3 und 7**: Expression pattern corresponding to exons 1 and 7.
- Streifen 2**: Expression pattern corresponding to exon 2.
- codierend**: Coding region corresponding to exon 3.
- Streifen 4 und 6**: Expression pattern corresponding to exon 4.
- Streifen 1**: Expression pattern corresponding to exon 5.
- Muskel-vorläufer**: Expression pattern corresponding to exon 6.
- Streifen 5**: Expression pattern corresponding to exon 7.

Micrographs show the expression of these stripes in Drosophila embryos, with labels for Neuronengruppe, Streifen 4 und 6, Streifen 1, Streifen 5, and Streifen 1 und 5.

Im hier gezeigten Experiment wurden Fragmente regulatorischer DNA mit dem Reporter-Gen *LacZ* verknüpft, sodass das *LacZ*-Gen unter der Kontrolle der regulatorischen DNA-Abschnitte steht. Transgene Embryonen, die solche Konstrukte enthalten, wurden angefärbt, um das Muster der *LacZ*-Expression (blau) nachzuweisen. Die orangefarbenen Streifen zeigen die Bereiche der normalen *Eve*-Expression. Verschiedene Abschnitte der regulatorischen Bereiche des *Eve*-Gens (ocker) konnten gefunden werden, die die *Eve*-Expression in unterschiedlichen Regionen anschalteten. Werden zwei Regulationsbereiche der DNA direkt hintereinander vor das Reporter-Gen platziert, so entsteht ein Expressionsmuster, das der Summe der Einzelaktivitäten der Regulatorsequenzen entspricht (z. B. die Streifen 1 und 5, Photo unten rechts). Getrennte und voneinander unabhängige Regulatormodule sind für die Expression des Gens zu verschiedenen Zeitpunkten und an verschiedenen Orten verantwortlich. Das Bild ganz links zeigt die Wirkung eines DNA-Elements, dessen Wirkung erst nach den anderen gezeigten Stadien einsetzt und das die Expression von *Eve* in einer Neuronengruppe kontrolliert.

CAL center for active learning

An jeden dieser CREs binden unterschiedliche Kombinationen von Transkriptionsfaktoren und steuern so die Expression des Gens *Eve*. Die Transkriptionsfaktoren sind die Produkte der Ei-Polaritäts- und Lücken-Gene. Ein konkretes Beispiel hierfür ist in Abb. 7-30 dargestellt, wo gezeigt wird, wie die verschiedenen Konzentrationen der Proteine Bicoid, Giant, Hunchback und Krüppel im 2. Streifen die Expression des *Eve*-Gens beeinflussen. Sie werden diese Regulation nochmals genauer in der Vorlesung besprechen wo Sie auch lernen, wie ein solcher CRE molekular aussehen kann.

The diagram illustrates the spatial expression of key transcription regulators in the *Drosophila* embryo. The vertical axis represents the 'concentration of transcription regulator', and the horizontal axis represents the 'position along embryo' from 'anterior' to 'posterior'. A central yellow vertical band is labeled 'Eve stripe 2 forms here'. The expression patterns are as follows:

- Giant** (dashed green line): High in the anterior, decreases to a minimum in the center, and increases again in the posterior. It is marked with a minus sign (−) in the anterior region.
- Hunchback** (solid red line): High in the anterior, decreases to a minimum in the center, and increases again in the posterior. It is marked with a plus sign (+) in the anterior region.
- Krüppel** (dashed green line): Low in the anterior, increases to a peak in the center, and decreases again in the posterior. It is marked with a minus sign (−) in the posterior region.
- Bicoid** (solid red line): High in the anterior, decreases to a minimum in the center, and increases again in the posterior. It is marked with a plus sign (+) in the anterior region.

Abbildung 7-30 Verteilung der Transkriptionsregulatoren, die für die Expression von *Eve* im Streifen 2 verantwortlich sind.

Die Verteilung der Proteine wurde durch Anfärbung des Embryos mit Antikörpern gegen die vier Proteine sichtbar gemacht. Die Expression von *Eve* im 2. Streifen geschieht nur dort, wo die beiden Aktivatoren (Bicoid und Hunchback) vorhanden sind und die beiden Repressoren (Giant und Krüppel) fehlen. In Fliegenembryonen, denen Krüppel fehlt, wird sich der 2. Streifen in die posteriore Richtung ausdehnen. Ebenso wird der 2. Streifen sich posterior erweitern, wenn die DNA-Bindungsstellen für Krüppel im regulatorischen Element (CRE) für den 2. Streifen durch eine Mutation inaktiviert wurden.

Segmentierung bei Wirbeltieren

Einer der kennzeichnendsten Vorgänge, die in der Entwicklung eines Wirbeltiers vonstattengehen, ist die Bildung der Segmente - sich wiederholende Einheiten aus Wirbeln, Rippen und Muskelsegmenten - entlang der Körperachse. Diese Einheiten werden aus dem Mesoderm gebildet. Wir werden uns nun einen kurzen Überblick darüber verschaffen, wie diese Segmente gebildet werden.

Die Segmentierung des Mesoderms führt zur Bildung der Somiten

Die segmentierten Strukturen, die für Wirbeltiere charakteristisch sind, stammen von den zwei, auf beiden Seiten des Neuralrohrs liegenden, Mesodermblöcken ab (Abb. 21-3). Diese Zellblöcke aus mesodermalen Zellen gliedern sich nach und nach, von Kopf zum Schwanz, in abgegrenzte Einheiten, den Somiten, ab.

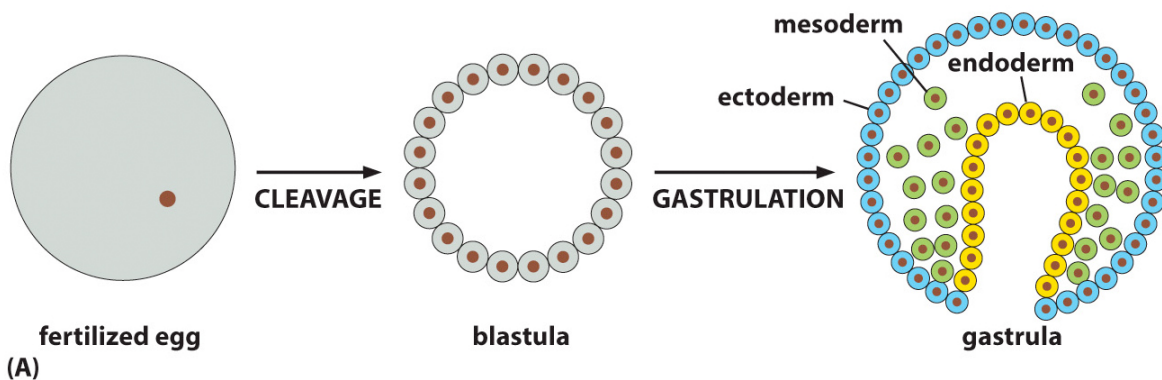


Figure 21-3 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-3 Die frühen Stadien der Embryonalentwicklung am Beispiel Frosch.

(A) Ein befruchtetes Ei teilt sich und bildet die Blastula – eine Hohlkugel aus Epithelzellen. Im anschließenden Prozess der Gastrulation senken sich einige der Zellen in den Hohlraum ein, um dort das Mesoderm (grün) und das Endoderm (gelb) zu bilden. Ectodermale Zellen (blau) bleiben an der Aussenseite.

Die Zellblöcke der Somiten bestehen aus epithelialen Zellen, die ein Stück Mesoderm umhüllen. Die Blöcke sind durch Spalten voneinander getrennt (Abb. 21-38). Die meisten Zellen der Somiten bilden sich zu Muskeln aus. Andere Untergruppen von Somitenzellen entwickeln sich zu Wirbeln oder zur Unterhaut. Eine andere Zellgruppe löst sich vom Somitenkörper ab und die Zellen bewegen sich durch den Körper, um die Skelettmuskulatur zu bilden.

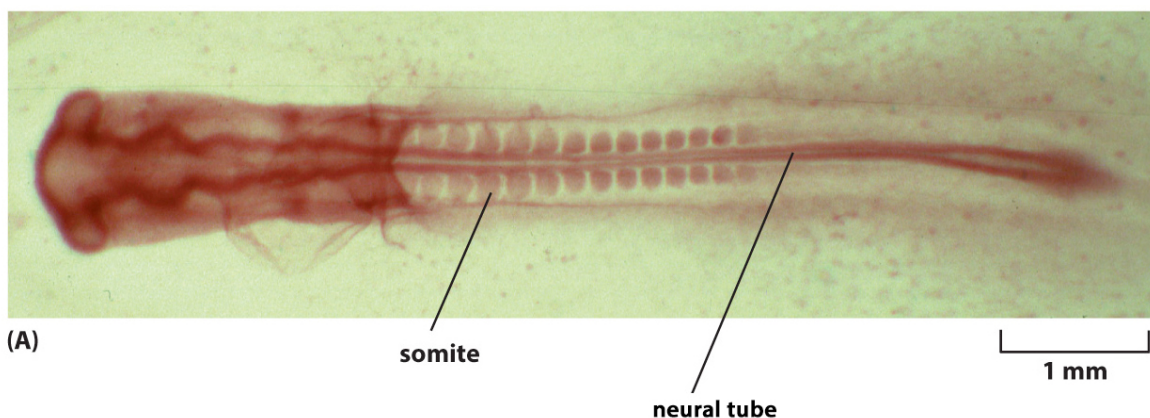


Abbildung 21-38 Somiten im Hühnerembryo nach 40 Stunden Brutzeit. (adaptiert von Molecular Biology of the Cell, Alberts *et al.*, 6th edition)

Die Somiten werden einer nach dem anderen, vom Kopf in Richtung Schwanz, gebildet. Der am weitesten posterior (d.h. in Richtung Schwanz) liegende Mesodermblock wird Präsomitenmesoderm genannt. Durch die Proliferation der hier liegenden Zellen bewegt sich das Mesoderm in Richtung des zukünftigen Schwanzendes und die Somiten werden am anterioren (Kopfende) einer nach dem anderen in Richtung Schwanzende gebildet.