

einem ähnlichen Grundbauplan gebaut. Die Segmentierung entwickelt sich im frühen Embryo im Verlauf der ersten Stunden nach der Befruchtung und ist besonders bei der Larve gut von Auge zu erkennen (Abb. 21-18).

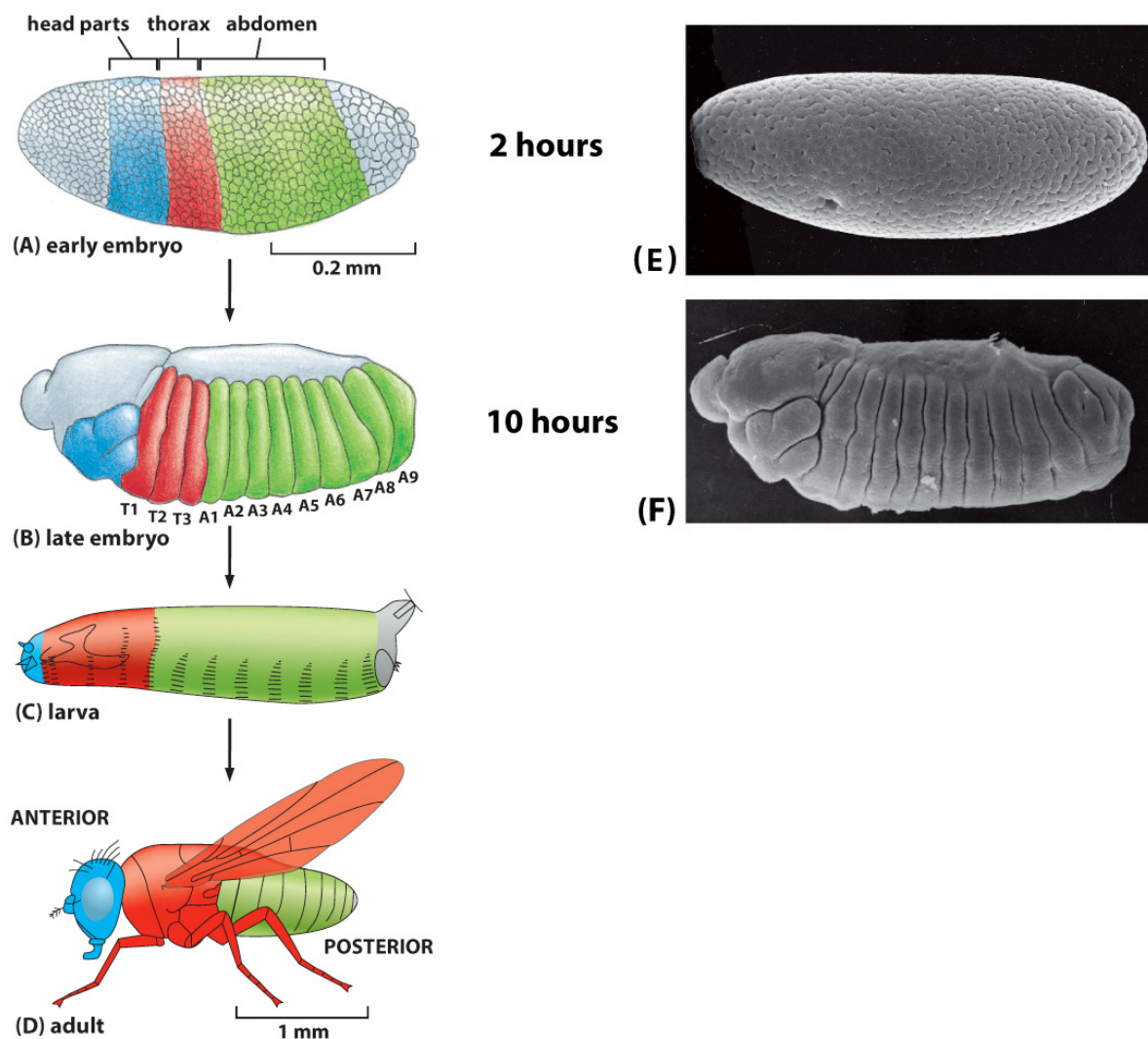


Figure 21-18 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

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

Die Embryonen in der Abbildung werden in Seitenansicht gezeigt; in (A–D) in Form von Zeichnungen, in (E–F) als rasterelektronenmikroskopische Photos. (A und E) Zwei Stunden nach der Eiablage befindet sich der Embryo im Zustand eines syncytialen Blastoderms (grosse, mehrkernige Zelle). Zu diesem Zeitpunkt ist keine Segmentierung des Körpers sichtbar, es können jedoch bereits Bereiche identifiziert werden, die die zukünftigen Segmentbereiche voraussagen (farblich hervorgehobene Bereiche in A). (B und F) Nach 10 Stunden sind alle Segmente nun klar definiert. (C) Die Segmente der Larve, die den Segmenten im Embryo entsprechen. (D) Die Segmentierung der adulten Fliege, die den Segmenten der Larve entsprechen.

Drosophila beginnt ihre Entwicklung als Syncytium

In der Lektion "von 2D zu 3D" haben Sie bereits gelernt, dass der *Drosophila*-Embryo seine Entwicklung als Syncytium beginnt, also als eine grosse, mehrkernige Zelle. Bis zum zellulären Blastoderm-Stadium (Abb. 21-15) hängt die Entwicklung vor allem von mütterlicher mRNA und Proteinen ab. Danach werden verstärkt zygotische Gene transkribiert und die Gastrulation setzt ein.

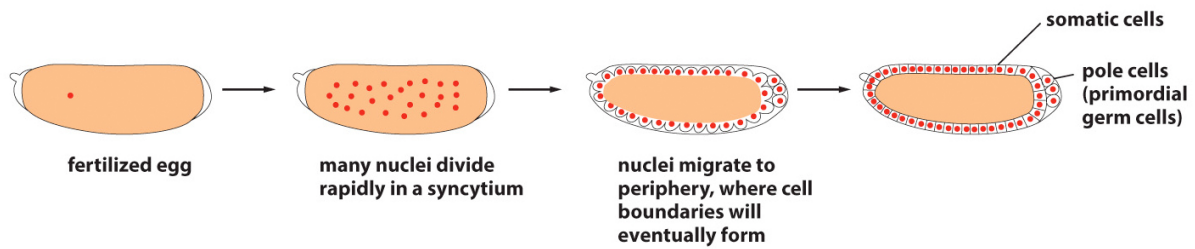


Figure 21-15 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-15 Entwicklung des *Drosophila*-Eies von der Befruchtung bis zum Stadium des zellulären Blastoderms.

Gegen Ende der Gastrulation ist der Körper des Embryos bereits in Segmente gegliedert. Ein Kopf- und ein Hinterende, eine Ventral- und eine Dorsalseite, ein Darm, ein Nervensystem, eine Folge von Körpersegmenten: Dies alles sind Merkmale des Körperbauplans, den *Drosophila* mit vielen anderen Tieren – uns selbst eingeschlossen- gemeinsam hat. Wir beginnen unseren Abriss der Mechanismen der *Drosophila*- Entwicklung mit Betrachtungen dazu, wie dieser Körperbauplan aufgestellt wird.

Die Achsenbildung bei *Drosophila* wird durch die Ei-Polaritäts-Gene bereits vor der Befruchtung kontrolliert

Obwohl spätere Entwicklungsphasen bei vielen Tieren sehr ähnlich verlaufen, unterscheiden sich die allerersten Entwicklungsschritte, ausgehend von der Zygote, manchmal sehr stark. In *Drosophila* werden interessanterweise die Hauptachsen der Fliege (anterior-posterior und dorsal-ventral) schon in der unbefruchteten Eizelle festgelegt. Dazu müssen wir uns die Entwicklung des Eis in der Fliege etwas genauer anschauen:

Die Eier von *Drosophila* gehen durch mehrere Reifungsstadien. In einem fortgeschrittenen Stadium besteht das Ei aus einer Eizelle (Oocyte) und mehreren Nährzellen (*engl.* nurse cells), umgeben von einer einzelligen Schicht, den Follikelzellen (Abb. 22-32). Eizelle und Nährzellen stammen von den Keimzellen ab, die Follikelzellen jedoch von den somatischen Zellen der Ovarien. Aus den Nährzellen werden mRNAs in die Eizelle transportiert und dort an unterschiedlichen Enden der Eizelle abgelagert. Für die Lokalisierung am einen oder anderen Pol spielen die 5'UTRs (UTR: *engl.* untranslated regions) der mRNAs eine Rolle. Durch sie werden die mRNAs an unterschiedliche Proteinkomplexe an den Enden lokalisiert. Das Ei ist in diesem Stadium noch unbefruchtet, d.h. die mRNAs sind mütterlichen Ursprungs.

Die mRNAs codieren für die Proteine Bicoid (am anterioren Ende der Eizelle) und Nanos (am posterioren Ende). Diese mRNAs werden nach der Befruchtung abgelesen und in Protein translatiert, so dass ein Proteingradient im Ei entsteht (am anterioren Pol viel Bicoid, am posterioren wenig, usw.). Durch diesen Gradienten werden dann an unterschiedlichen Stellen im Embryo unterschiedliche Gene aktiviert und so die Segmentierung des Embryos eingeleitet. Bicoid ist ein Transkriptionsfaktor. Es bildet sich also ein Transkriptionsfaktor-Konzentrationsgradient entlang der anterior-posterioren Achse. Da zu diesem Zeitpunkt die sich teilenden Zellkerne noch nicht von Zellmembranen umgeben sind, kann Bicoid in die Zellkerne diffundieren und abhängig von seiner Konzentration unterschiedliche Gene aktivieren.

Auch die dorsoventrale Achse wird bei *Drosophila* bereits in der unbefruchteten Eizelle durch mütterliche Determinanten festgelegt. Daran sind die Follikelzellen im Ei beteiligt. Bei der späten Eireifung werden Nährzellen und Follikelzellen abgebaut, so dass im befruchtungsfähigen Ei nur noch die Oocyte bestehen bleibt. Die Follikelzellen sezernieren eine die Oocyte umgebende wachartige Schicht, die Vitellinmembran. Die Vitellinmembran schützt nach der Eiablage den Embryo vor dem Austrocknen. Follikelzellen in einer bestimmten Region im Ei (siehe Abb. 22-32) produzieren Proteine, die an dieser Stelle in die Vitellinmembran eingelagert werden. Nach der Befruchtung, wenn das Ei im syncytialen Stadium vorliegt (viele Zellkerne, die am Rand des Eis angelagert werden) bewirken diese Proteine, dass an dieser Seite des Eis ein Transmembranrezeptor namens Toll, der in der Zellmembran des Eis sitzt, aktiviert wird (Abb. 21-17). Die Aktivierung von Toll wiederum führt dazu, dass das Protein Dorsal in die Zellkerne, die an der ventralen Seite des Eis liegen, eindringt. Auch Dorsal ist ein maternales Genprodukt (die mRNA für das Protein stammt aus der Eizelle).

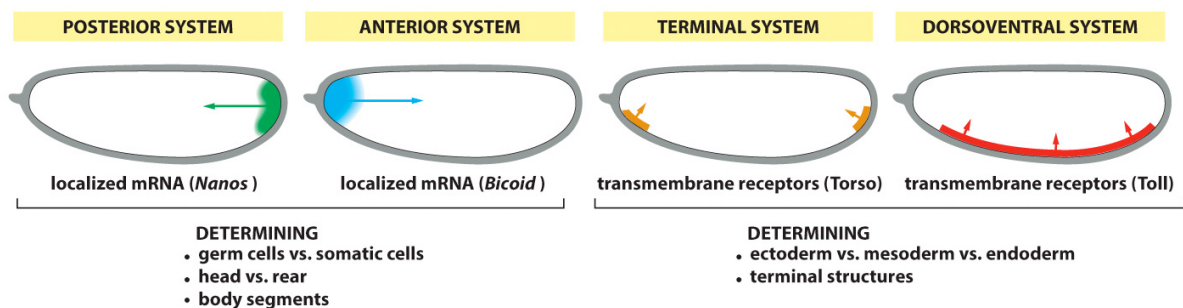


Figure 21-17 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

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.

Die Enden des Embryos werden ebenfalls bereits während der Entwicklung der Eizelle festgelegt. Auch hier legen bestimmte Follikelzellen an beiden Enden des Eies Proteine ab, die dann den Transmembranrezeptor Torso aktivieren und so die Enden des Embryos bestimmen (Abb. 21-17).

Alle Ei-Polaritäts-Gene werden also vom mütterlichen Genom kodiert und werden während der Eireifung im Oval der Mutter in den Nährzellen transkribiert. Man nennt dieses Phänomen auch Maternaleffekt (und die dazugehörigen Gene Maternaleffekt-Gene). Maternaleffekte sind sehr ausgeprägt bei Insekten, da sie hier die grundlegende Achsenbildung kontrollieren; aber auch bei Wirbeltieren hat die Mutter einen grossen Einfluss auf die Embryonalentwicklung.

Die Verwendung der Proteine Bicoid, Nanos, Torso und Toll zur Bestimmung der Achsen ist kein allgemeines Merkmal früherer Entwicklung bei Tieren. Das *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. Diese Schritte werden wir in den nächsten Kapiteln besprechen.

Die Ei-Polaritäts-Gene stehen am Anfang eines hierarchisch aufgebauten Systems, das den Embryo schrittweise immer stärker gestaltet. Diesen Gestaltungsprozess nennt man Musterung (*engl.* patterning). Auf der nächsten Seite werden Sie sehen, durch welche Gene der Musterungsprozess gesteuert wird.

Hierarchisch geordnete Gengruppen kontrollieren die Musterbildung entlang der anterior-posterioren Achse in *Drosophila*

Die Gradienten, die die Produkte der Ei-Polaritäts-Gene entlang der anterior-posterioren Achse gelegt haben, sind der Ausgangspunkt, von dem aus die Segmente des Embryos bestimmt werden. Sie kontrollieren die Transkription weiterer Gene, die man Segmentierungs-Gene nennt. Die Segmentierungs-Gene sind die ersten Gene, die von der Zygote exprimiert werden (also nicht von der Mutter im Ei abgelegt worden sind).

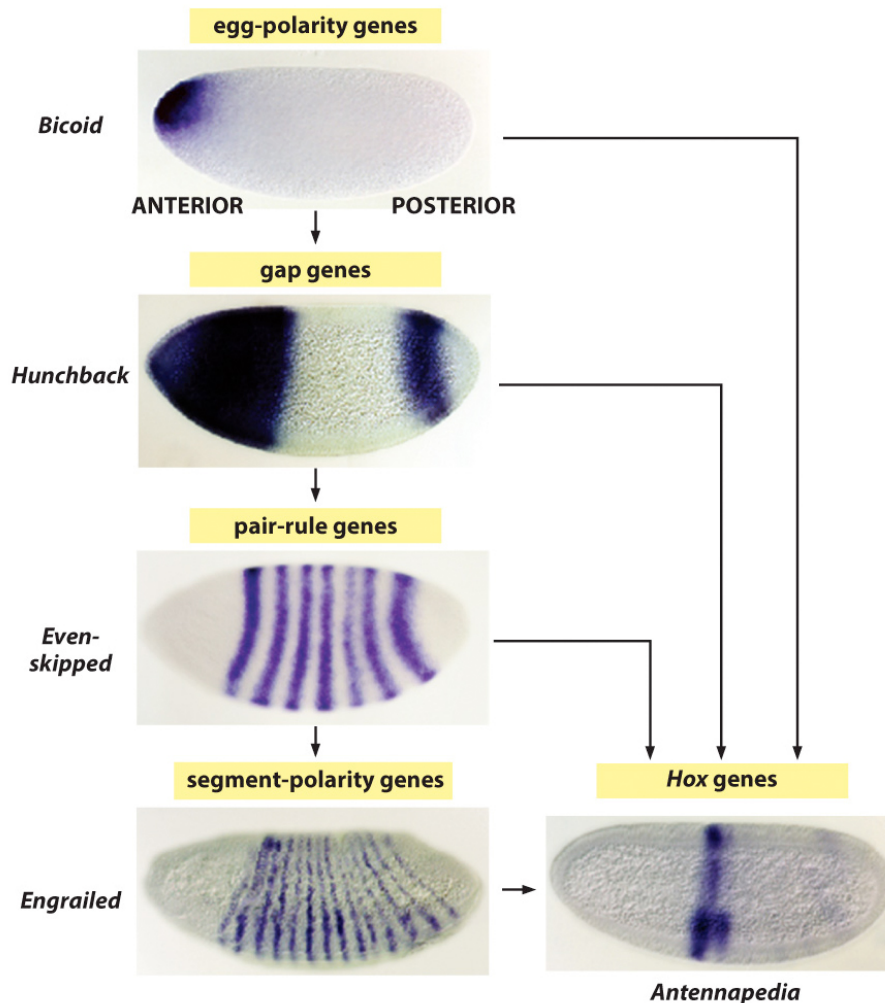


Figure 21-20 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

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.

Die Segmentierungs-Gene fallen in drei Klassen, die man aufgrund ihres mutanten Phänotyps in **Lücken-Gene (engl. gap genes)**, **Paarregel-Gene (engl. pair rule genes)** und die **Segmentpolaritätsgene (engl. segment polarity genes)** eingeteilt hat. Die Genprodukte der

Diese für *Drosophila* detailliert untersuchte Art der frühen Embryonalentwicklung ist insektenspezifisch. Einige der Vorgänge verdeutlichen jedoch allgemeine Prinzipien der Entwicklung von Vielzellern, auf die wir am Ende der Lektion eingehen werden.

Genau wie bei der anterior-posterioren Achse wird auch die Bildung der dorso-ventralen Achse bei *Drosophila* durch maternale Genprodukte ausgelöst. Die Aktivierung des Transmembranrezeptors Toll (maternales Genprodukt) auf der ventralen Seite des Embryos führt zu einer Verteilung des Transkriptionsregulators Dorsal (ebenfalls maternal). Dorsal ist ein Protein der NFκB-Familie, ein Signalweg, die Sie im Teil von Prof. Werner als Teil der Entzündungsreaktionen kennengelernt haben. Wie NFκB geht auch Dorsal nach der Aktivierung in den Zellkern und reguliert dort Zielgene. Nach der Aktivierung des Toll-Rezeptors auf der ventralen Seite des Embryos gelangt also Dorsal im ventralen Teil des Embryos in die Zellkerne, während Dorsal auf der dorsalen Seite im Cytosol verbleibt, da hier keine Aktivierung von Dorsal durch den Toll-Rezeptor erfolgte.

Die maternale Kontrolle der dorso-ventralen Achse über Toll und Dorsal ist eine Besonderheit der *Drosophila*-Entwicklung. Die späteren Abläufe der Entwicklung sind jedoch stark konserviert. Fast alle der in der Abbildung genannten Gene haben auch im Wirbeltierkörper ihre Entsprechung (Dpp ist ein TGF β -homologes Signalprotein, Sog ist analog zu Chordin, etc.) und sind auch bei Wirbeltieren für die Kontrolle der dorsoventralen Musterung zuständig. Dies werden Sie im folgenden Teil zur Achsenbestimmung bei Wirbeltieren erkennen.

Vögeln sind die Eier sehr dotterreich und ernähren den Embryo. Bei Säugetieren dagegen sind die Eier klein und ohne Dotter, und der Embryo wird durch Strukturen der Mutter (über die Plazenta) ernährt.

Wir betrachten die Achsenbildung in Wirbeltieren am Beispiel *Xenopus*, da bei ihm die Mechanismen der Achsenbestimmung gut untersucht sind.

Achsenbildung bei *Xenopus*

In der Lektion "Von 2D zu 3D" haben Sie bereits das *Xenopus*-Ei als eine sehr grosse Zelle, die bereits vor der Befruchtung eine Polarität aufweist, kennengelernt. Ein heller gefärbtes, unteres Ende (vegetativer Pol) und ein dunkler gefärbtes, oberes Ende (animaler Pol, siehe Abb. 21-14) können im Froschei bereits per Auge unterschieden werden. Die beiden Hemisphären der Zelle enthalten eine unterschiedliche mRNA-Moleküle, die mütterlichen Ursprungs sind (Maternaleffekt), z.B. im vegetativen Teil des Eies VegT und Wnt11 mRNA (Abb. 21-14). Die animal-vegetale Achse des Eies entspricht in etwa der anterior-posterioren Achse des entstehenden Embryos. Die anterior-posteriore Achse ist also bereits vor der Befruchtung festgelegt.

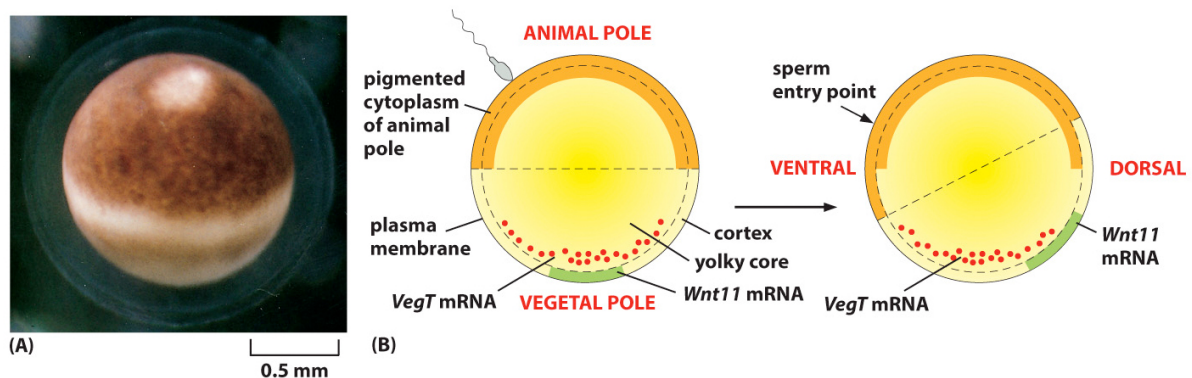


Figure 21-14 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Abbildung 21-14 Das *Xenopus*-Ei und seine Asymmetrien.

(A) Seitenansicht eines Froscheis kurz vor der Befruchtung. (B) Die asymmetrische Verteilung von Molekülen (vor allem mRNAs) im Ei und wie diese nach der Befruchtung verändert werden. Die Befruchtung löst durch Reorganisation des Mikrotubulus-Cytoskeletts eine Rotation der Eirinde (Cortex, eine wenige μm dicke Schicht) aus. Die Richtung der Rotation wird durch die Stelle des Spermieintritts festgelegt. Einige Komponenten werden durch aktiven Transport entlang der Mikrotubuli noch weiter zur zukünftigen dorsalen Seite transportiert (z.B. in dieser Abbildung Wnt11-mRNA). Dadurch erhält die dorsale Seite des Embryos eine spezifische Identität.

Die Befruchtung bewirkt eine Reorganisation des Mikrotubuliapparates, wodurch die äusseren Cytoplasmaschichten rotieren. In der Lektion "Von 2D zu 3D" haben Sie diesen als Corticalrotation bezeichneten Vorgang und seine Rolle bei der Bildung des Organisators der Gastrulation bereits kennengelernt. Auf die Corticalrotation hin werden verschiedene Komponenten des vegetativen Pols (wie z.B. Wnt11 mRNA) in Richtung der zukünftigen Dorsalseite hin verschoben und die Bildung der dorso-ventrale Achse beginnt. In der dorsalen Region wird nun das Wnt11-Protein produziert, das verschiedene Kaskaden auslöst, die die dorso-ventrale Achse des Körpers bestimmen. Die corticale Rotation ist also nötig, um die dorso-ventrale Achse festzulegen. Die Richtung der corticalen Rotation wird dabei durch den Eintrittsort des Spermiums bestimmt (Abb. 21-14). Der Ort, an dem das Spermium eintritt, definiert den ventralen Pol des Eies.

Die Befruchtung setzt eine Abfolge von Zellteilungen, die Furchungsteilungen, in Gang, bei denen die verschiedenen mRNAs in unterschiedlichen Konzentrationen auf die Tochterzellen verteilt werden. Jetzt finden zahlreiche Zellbewegungen statt: Die vegetativen Zellen zwingen

sich in das Cytoplasma ein, die animalen Zellen bilden das Aussengewebe. Bei diesen Zellbewegungen werden die Achsen vollständig ausgebildet: die anterior- posteriore, dorso-ventrale und medio-laterale (links-rechts).

Anders als bei *Drosophila* ist die Achsenbestimmung bei *Xenopus* nicht vor der Gastrulation (also den einsetzenden Zellbewegungen, die die drei Keimblätter festlegen), abgeschlossen, sondern geht noch während der Gastrulation weiter. Zusammenfassend kann man sagen, dass bei *Xenopus* die anterior-posteriore Achse maternal bestimmt ist (unterschiedliche mRNA Einlagerungen durch die Mutter). Die dorso-ventrale Achse wird durch die Eintrittsstelle des Spermiums und der Corticalrotation bestimmt.