

25. AZ EGYEDFEJLŐDÉS GENETIKAI SZABÁLYOZÁSA.

Az anyai hatású gének szerepe. A sejtek közötti kölcsönhatás és a sejtek fejlődési programja. Embriónális indukció. Homeózis és atavizmus. Gének és a végtagok fejlődése.

A fejezetet Szabad János egyetemi tanár állította össze, átdolgozta Lippai Mónika.

BEVEZETÉS

A soksejtű élőlények génjei egy részének legfontosabb feladata annak a fejlődési programnak a kibontakoztatása, amelynek eredményeként egyetlen sejtől, a zigótától multicelluláris élőlény fejlődik - olyan élőlény, amely testét teljes harmóniában alkotják a különféle típusú és funkciójú sejtek milliárdjai. Ebben a fejezetben először azokat az anyával és az apával kapcsolatos előfeltételeket tekintjük át, amelyek lehetőséget teremtenek a zigóta létrejöttéhez és fejlődéséhez. Majd példákat említünk a sejtek közötti kommunikáció fontosságára. Különösen hangsúlyosak a testszervek azonosságát meghatározó homeotikus gének, és áttekintjük az atavizmus genetikai alapjait. A fejezet végén a végtagok kialakulásának genetikai szabályozását is érintjük.

A kromoszóma imprinting

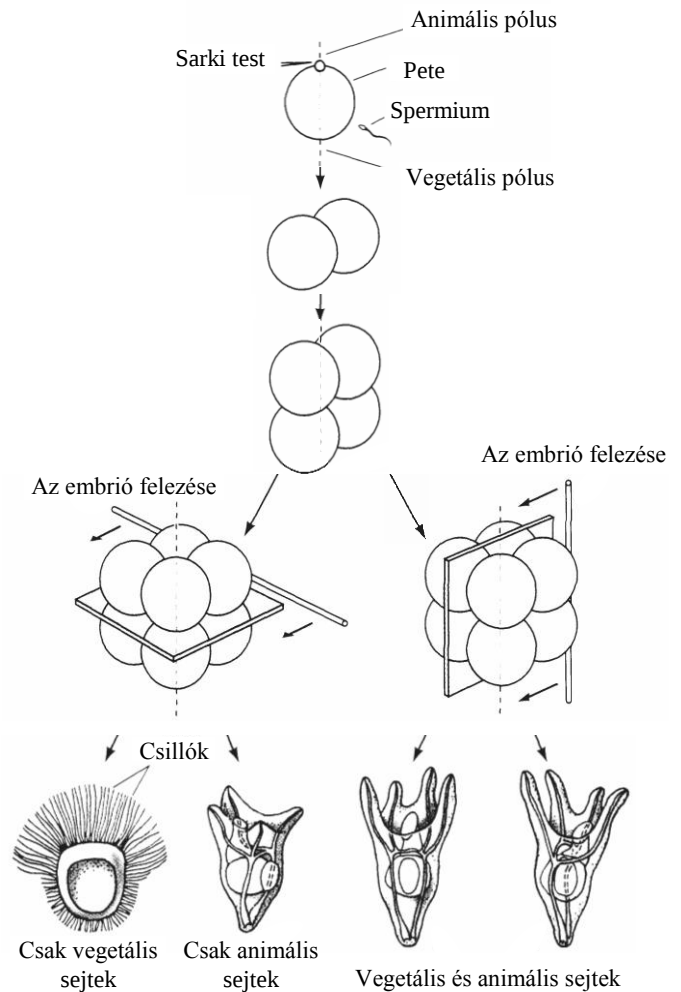
Az imprinting jelenségét a 15. fejezetben már megismerhettük (15.16. ábra). Az imprinting néha teljes kromoszómákra vagy kromoszómahatárokra, olykor csak egy-egy génre terjed ki. Mind a nemi, mind pedig az autoszómákra levő gének imprintálódhatnak. Az imprinting a hímekben és a nőstényekben egyaránt megtörténik, és a gének időleges vagy állandó inaktiválását eredményezi - egy olyan mechanizmust, amely az egyedfejlődés adott szakaszában biztosítja az imprintált gének expressziójának gátlását. Az imprinting alapja a DNS metilálása és specifikus fehérjék kapcsolódása a kromoszóma megfelelő szakaszaihoz. Az imprinting jelensége akadályozza meg emlősökben az önmegtermékenyítést: ha mindkét ivarsejt ugyanattól a szülőtől származna, bizonyos gének csak imprintált állapotban lennének jelen, és az adott géntermék egyáltalán nem jelenne meg a fejlődő embrióban.

Sejtkommunikáció és embrionális indukció

A soksejtű élőlények fejlődésének alapvető és elengedhetetlen jellegzetessége a sejtek közötti kommunikáció. A tengeri sün embriója két részre osztható: az úgynevezett *animális pólus* azokat a sejteket tartalmazza, amelyek a kifejlett állatban is megjelennek, míg a *vegetatív pólus* sejtei csak az embrióban működnek, a tápanyagot biztosítják a fejlődéshez. A leendő animális pólus helyét a sarki testek - az egyenlőtlen meiotikus osztódás során a nagyméretű petesejt mellett képződő, igen kisméretű utódsejtek -

helyezete határozza meg.

A kettéválasztott tengeri sün embrióból képződő fél embriókból csak akkor fejlődnek ép tengeri sünek, ha animális és vegetatív pólusról származó sejteket is tartalmaznak. Abnormálisan fejlődnek azok az embriók, amelyek vagy csak az animális, vagy csak a vegetatív pólusról származó sejtekből állnak. Az embrió sejtjei nyilvánvalóan érzékelik, hogy környezetükből bizonyos, az eltávolított „ellentétes” pólusról származó jelek hiányoznak (25.1. ábra).



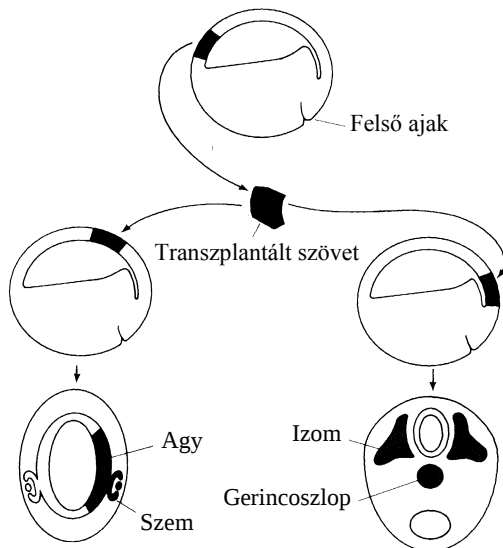
25.1. ábra. A sejtkommunikáció szerepe a tengeri sün embriójának fejlődésében.

A sejtkommunikáció fontosságát Hans Spemann és Hilde Mangold 1924-ben göteembriókkal folytatott kísérletei is elegánsan illusztrálták. Ők a sötét pigmentált *Triturus taeniatus* és a nem pigmentált *Triturus cristatus* götefajok embrióit használták transzplantációs kísérleteikben. Az eltérő pigmentátságnak köszönhetően jól meg lehetett különböztetni a transzplantált embrió eltérő eredetű részeit (25.2. ábra).

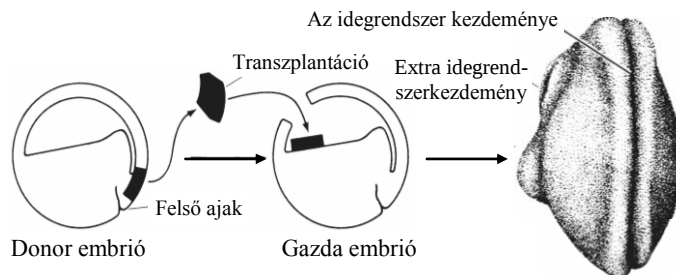
A göteembrióknak vannak olyan sejtcsoportjaik, amelyek a normális helyükhöz képest eltérő (úgyneve-

zett ektopikus) helyre ültetve az új helyüknek (pozicionális információjuknak) megfelelő fejlődési programot követik (25.2. ábra).

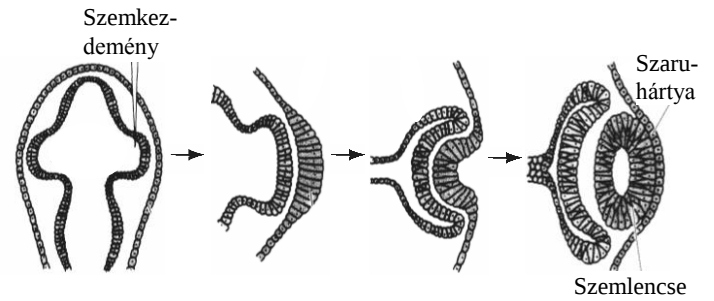
Ugyanakkor vannak olyan sejtek is, amelyek szokatlan helyre ültetve is az eredeti fejlődési programjukat valósítják meg; sőt, legtöbbször a szomszédos sejtek fejlődési programját is meghatározzák. Közismert példa erre a göteembriók felső ajak nevű része, amely ektopikus helyre ültetve extra velőcső képződését indukálja (25.3. ábra). A jelenség az úgynevezett *embrionális indukció* klasszikus példája, alapját pedig azok a sejtek képezik, amelyek valamilyen ligandot termelnek, és valamilyen jelátviteli folyamat beindításával határozzák meg a környező sejtek fejlődési programját. Az embrionális indukció másik jól ismert példája a szemlencse kialakulása (25.4. ábra).



25.2. ábra. Vannak olyan sejtcsoportok, amelyek az átültetést követően az új pozíciójuknak megfelelő programot követik.



25.3. ábra. Egy göteembrió felső ajka ektopikus helyre ültetve megtartja eredeti képességét, és az új helyével szomszédos sejtekben is velőcső képződését indukálja, a transzplantált embrióban így extra idegrendszer fejlődik.



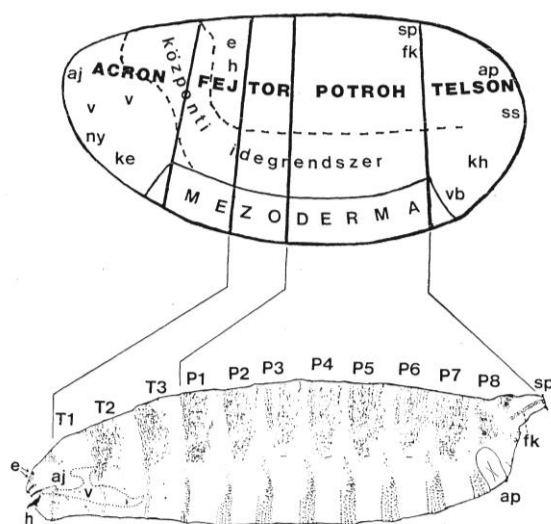
25.4. ábra. A szemlencse képződése az embrionális indukció jellegzetes példája. A fejlődő agyhólyagból kitüremkedő szemserleg (amelyből többek között a retina idegsejtjei származnak majd) azokban a felszíni sejtekben, amelyek közelébe kerül, a szemlencse képződését, majd lefűződését serkenti.

Anyai hatás és az egyedfejlődés szabályozása

Az *anyai hatás*, amint azt a 6. fejezet bemutatta, azt jelenti, hogy a petesejtek citoplazmája olyan tényezőket (elsősorban mRNS-eket és fehérjéket) tartalmaz, amelyek az oogenezis folyamán képződnek, és a megtermékenyítés után az embriogenezis kezdeti szakaszát irányítják. Az anyai hatás tényezőinek szintézisét tehát az anya génjei szabályozzák, és döntő szerepük van az embrionális sejtek fejlődési programjának meghatározásában. Az anyai hatás fontosságát mutatja az a tény is, hogy sok állatfaj esetében az embrió génjei az embriogenezis kezdetén nem is expresszálódnak. Például a sejtmagjától (azaz valamennyi sejtben található génjétől) megfosztott megtermékenyített békapetéből néhány száz magnélküli „sejtből” álló „lény” képződhet, amely ráadásul ebihalra emlékeztet. Magasabbrendű gerincesek, különösen emlősök esetében a zigóta saját génjeire már sokkal korábban szükség van. Az emberi embrió néhány génje már a kétsejtes állapotban expresszálódik; ez azonban természetesen nem jelenti azt, hogy az ember esetében az anyai hatás csupán a kétsejtes állapotig tart!

A muslica (*Drosophila melanogaster*) embriók génjei csupán a blasztoderma (a hólyagsírának megfelelő) stádiumban kezdenek expresszálódni, az egyedfejlődésnek abban a stádiumában, amelyben az embrió teste már kb. 5600 sejtéből áll, az egyes sejtek fejlődési programja pedig már többé-kevésbé eldőlt. Nyilvánvaló, hogy a sejtek fejlődési programját a zigotikus génkifejeződés hiányában anyai eredetű tényezőknek kell meghatározni. Melyek ezek a tényezők? Mikor és hogyan kerülnek a petesejt citoplazmájába? Hogyan határozzák meg az embrió sejtek fejlődési programját?

Ha egy blasztoderma stádiumú *Drosophila* embrió néhány sejtjét UV-fénnyel elpusztítják, a kifejlődő lárvák testének megfelelő része hiányzik. Az elpusztított sejtek és a hiányzó lárvális struktúrák összevetésével lehetett megszerkeszteni az úgynevezett *blasztoderma sors térképet*: egy olyan térképet, amely megmutatja, hogy mely blasztoderma-sejtből a lárvá vagy a kifejllett állat (az imágó) testének mely része fog kifejlődni (25.5. ábra).



25.5. ábra. A *Drosophila* blasztoderma sorstérképe. Érdeemes megfigyelni, hogy a sorstérképen a fej- és a torszelvények olyan sejtekből fejlődnek, amelyek távol esnek a blasztoderma elülső végétől.

Ahogy erről a 6. fejezetben már szó volt, ha egy *Drosophila* pete elülső részébe beleszúrunk, és egy kevés citoplazmát kiengedünk a pete legelülső részéből, a „meglékelt” petében olyan embrió fejlődik, amelynek hiányoznak azok a szelvények, amelyekből a leendő fej és a tor fejlődne (6.4. és 25.6. ábra). A „lélekéses” kísérlet eredménye azt jelzi, hogy (i) a pete elülső részében olyan anyai eredetű tényező van, amely meghatározza a leendő fej és a tor fejlődését, valamint azt is, hogy (ii) a tényező hatása messze terjed – nemcsak az embrió legelülső részei, hanem a középső területek sem fejlődnek normálisan.

Ha valóban van a muslicapeték elülső részében a „fejséget” meghatározó anyag, akkor azt az anya valamely génje szintetizálja. A „fejség”-et kialakító gén funkcióját pedig mutációval meg lehet szüntetni. A mutációra homozigóta nőstényektől várhatóan olyan, külsőleg ép peték származnak, amelyekből azonban hiányzik a „fejséget” meghatározó tényező. Az ilyen nőstény petéiben fejlődő embrióknak nem képződik fejük, ezért ők még a peteburkon belül elpusztulnak – a mutáns nőstények tehát sterilek lesznek. A gondolatmenet megfordítható: azokat a géneket, amelyek az anyai hatás anyagait kódolják, a nőstények sterilizálását okozó úgynevezett nőstény-steril (*fs*) mutációkkal lehet azonosítani. A „fejséget” kódoló gén(ek)et pedig olyan *fs* mutációkkal, amelyek bár nem zavarják meg a peték kialakulását, a megtermékenyített petékben a fej hiánya miatt elpusztulnak az embriók.

A *Drosophila*-nak három olyan génje van, amelyek mutációi megfelelnek a fenti elvárásnak: a *bicoid*, az *exuperantia* és a *swallow*. Közülük a *bicoid* (*bcd*) mutációk által azonosított *bcd* gén szerepe kulcsfontosságú.

A *bcd* gén klónozása után derült ki, hogy a *bicoid* mRNS az ép peték citoplazmájának elülső részében lokalizálódik: ott, ahonnan a petékből a szúrást követően kifolyt egy

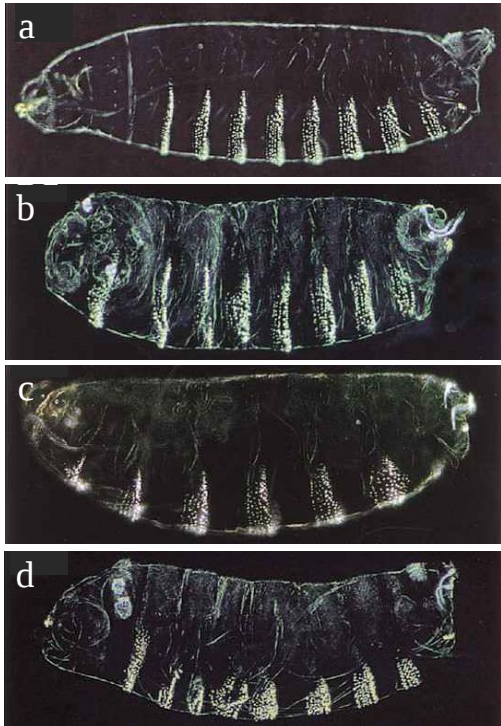
csepp citoplazma (lásd 6.6. ábra). A *bicoid* mRNS alapján röviddel a blasztoderma stádium előtt képződnek a Bicoid fehérjék – éppen akkor, amikor eldől a blasztoderma sejtek sorsa. A Bicoid fehérje koncentrációja magas a pete elülső részében, fokozatosan csökken – egy *grádiens* mentén – a pete közepe felé (6.6. és 6.7. ábra). A pete hátsó harmadában nincs Bicoid fehérje. A Bicoid fehérje az embriókon belül kifejezetten a sejtmagokban van jelen, ez azt sugallja, hogy ott tölti be szerepét. Valóban: a Bicoid fehérje egy olyan transzkripciósfaktor, amely már a zigóta saját génjeinek expresszióját szabályozza. A Bicoid fehérje tehát az úgynevezett *morfogének* egyike, olyan molekula, amely grádiens mentén hat, és koncentrációjától függően közvetlenül meghatározza a sejtek fejlődési programját.

A zigóta génjei

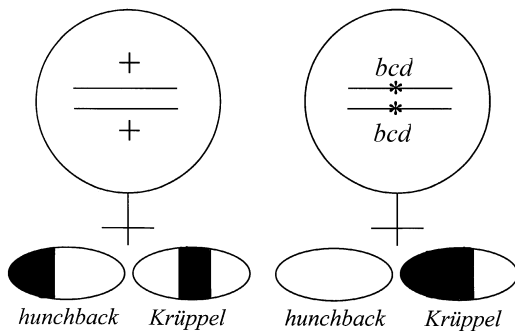
Ha a Bicoid fehérje valóban szabályozza a zigóta valamely génjének expresszióját, akkor az általa szabályozott gén funkcióját mutációval meg lehet szüntetni. A Bicoid-szabályozta gén funkciójának hiányában arra lehet számítani, hogy a mutáns embrióknak nem képződik feje, és elpusztul. A fejnélküliség fenotípusa ebben az esetben azonban nem az anya, hanem az embrió genotípusától függ. A *Drosophila* génjei között mindössze egy olyan van, az ún. *hunchback* (*hb*) gén, amelynek mutációi megfelelnek a fenti elvárásnak: a *hb/hb* mutáns embrióknak nem képződik fejük és elpusztulnak (25.6. ábra). A *hb* mutáció az ún. *zigotikus letális mutációk* jellegzetes példája: a zigóta valamely génfunciójának hiánya a zigóta pusztulásához vezet.

A *hb* gén azokban a sejtekben fejeződik ki, amelyekből a fej és a tor fejlődik (25.7. ábra). A *bcd/bcd* mutáns nőstények embrióiban nem expresszálódik a *hb* gén, jelezve, hogy a Bicoid fehérje valóban „bekapcsolja” a *hb* gént, azaz annak pozitív regulátora. A *Krüppel* gén, amelynek funkciója a fej és a tor mögötti szelvények képződéséhez szükséges, a *bcd/bcd* mutáns nőstények embrióiban abnormalis módon az elülső sejtekben is expresszálódik, jelezve, hogy az ép Bicoid fehérje a vad típusú embriókban megakadályozza a *Krüppel* gén expresszióját, annak negatív regulátora (25.7. ábra).

A *hunchback* és a *Krüppel* géneket, és még néhány további „*gap*” géneknek nevezik, mert működésük hiányában az embrió testének nagy szakaszai hiányoznak. A *gap* gének termékei is transzkripciósfaktorok, amelyek az úgynevezett „*pair-rule*” gének expresszióját szabályozzák. A *pair-rule* gének testszelvény-párok kialakulását szabályozzák. Bármely *pair-rule* gén funkciójának hiányában testszelvény-párok hiányoznak. A *pair-rule* gének termékei pedig olyan transzkripciósfaktorok, amelyek a *szelvény-polaritás* gének expresszióját szabályozzák. A *szelvény-polaritás* gének a szelvényeket elülső és hátulsó részekre osztják. Végül a szegment-polaritás gének szabályozzák a *homeotikus gének* expresszióját. A *homeotikus gének* termékei határozzák meg az egyes testszelvények azonosságát. Tehát az embrionális sejtek fejlődési programja fokozatosan specifikálódik, egymásra épülő génaktivitást szabályozó lépések eredményeként (25.8. ábra).



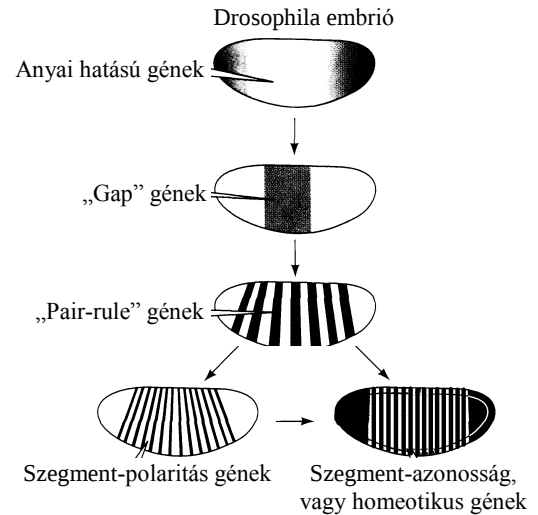
25.6. ábra. Egy vad típusú *Drosophila* embrió kutikulája, elől a fej a jellegzetes struktúrákkal (a). Fejnélküli embriók fejlődnek a pete elején „meglélt” vad típusú (b), valamint a *bcd/bcd* mutáns nőstények petéiben (c). Nem képződik fejük a *hb/hb* zigotikus letális mutációra homozigóta *Drosophila* embrióknak sem (d).



25.7. ábra. A *hunchback* és a *Krüppel* gének expressziójának mintázata vad típusú és *bcd/bcd* mutáns nőstények embrióiban.

Homeózis és atavizmus

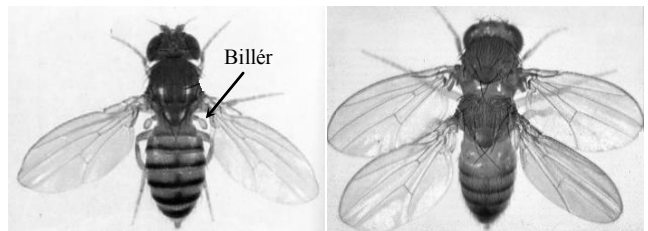
A homeotikus gének létére azoknak a muslica mutánsoknak a vizsgálata nyomán derült fény, amelyeknek két pár szárnyuk van (25.9. ábra). A Kétszárnyúak rendjébe tartozó vad típusú muslica második torszelvényéből egy pár szárny, a harmadikból egy pár billér (rezgő, haltéra) fejlődik. Az ún. *Bithorax* génkomplexben bekövetkező mutációk egyike hatására



25.8 ábra. A testszelvények azonossága egymást követő génaktivitás-mintázat alapján fokozatosan alakul ki.

$T_3 \rightarrow T_2$ transzformáció történik: a harmadik torszelvény sejtjei második torszelvényként viselkednek, ezért négyszárnyú muslica fejlődik (25.8. ábra). A négyszárnyúságot okozó mutáció a muslicának azt a génjét azonosítja, amely meghatározza a T_3 szelvény sejtjeinek azonosságát. A mutáns muslicákban, az ép gén hiányában, a sejtek azt a fejlődési programot hajtják végre, amelyhez nincs szükség az ép gén funkciójára - itt a második torszelvényre jellemzőt (a homeo görög szó hasonlót jelent).

Azt a jelenséget, amikor valamelyik testtáj helyett egy másik testtájra jellemző fejlődik, *homeózisnak* nevezik. A *bithorax* mutációk a *homeotikus mutációk* jellegzetes példái, a homeotikus mutációk pedig azokat a *homeotikus géneket* azonosítják, amelyek a testszelvények azonosságát határozzák meg.

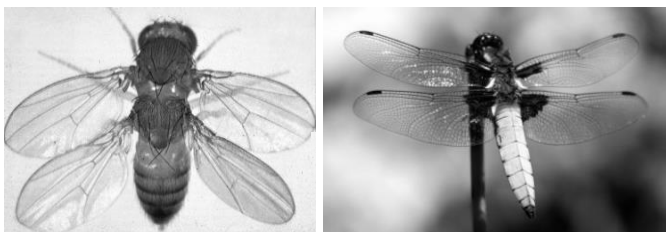


25.9. ábra. A vad típusú *Drosophila* harmadik torszelvényéből billérek fejlődnek. A *bithorax* mutációk következtében a harmadik torszelvény sejtjei a második torszelvényre jellemző fejlődési utat követik, a mutáns muslicáknak két pár szárnyuk képződik.

A négyszárnyú muslicák emlékeztetnek a muslicák őseire (25.10. ábra), azokra a négyszárnyú rovarokra, amelyekből a kétszárnyúak (köztük a *Drosophila* fajok) a törzsfejlődés során kialakultak. A négyszárnyúságot

eredményező mutáció az *atavizmus* klasszikus példája: a törzsfjlődés korábbi szakaszára jellemző állapot kialakulása valamilyen mutáció miatt.

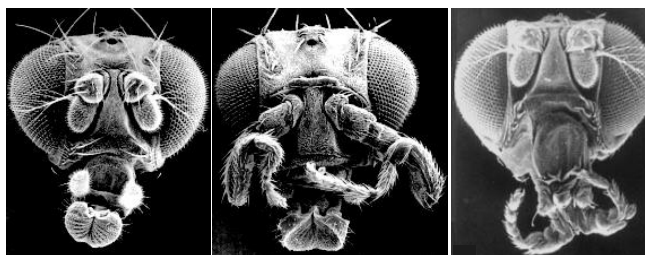
Természetesen az atavizmus az emberekben is előforduló jelenség. A polythelia (többmellbimbóúság), az uterus bicornis (a kétszarvú méh), farok kifejlődése az atavizmus jellegzetes példái emberben.



25.10. ábra. A négyszárnyú mutáns muslica egyik négyszárnyú ösére emlékeztet, és egyben példa az atavizmus jelenségére.

Homeobox és a homeodomén

A muslica homeotikus génjeit tehát úgy ismerték meg, hogy mutációkkal azonosították őket (25.11. ábra). A homeotikus mutációk genetikai analízise során kiderült, hogy a muslicának nyolc homeotikus génje van. A nyolc gén két génkomplexbbe szerveződött: az *Antennapédia* (*ANT-C*) és a *Bithorax* (*BX-C*) komplexekbe (25.12. ábra). Az *ANT-C* komplexet öt, a *BX-C* komplexet három gén alkotja. A kromoszómának azt a részét, amely az *Antennapédia* és a *Bithorax* komplexeket tartalmazza, szokták homeotikus génkomplexbnek (*Hox*) is nevezni. Érdekes, hogy a testszervények kialakulását szabályozó homeotikus gének ugyanabban a sorrendben helyezkednek el a kromoszómán, mint amilyen sorrendben azok a testszervények követik egymást, amelyek képződését szabályozzák (25.12. ábra).



Vadtípusú

Antennapedia
mutáns

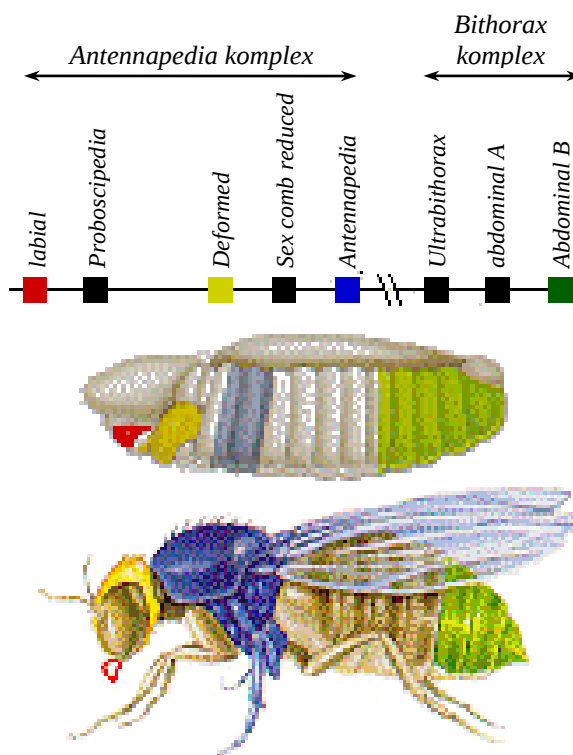
Proboscipedia
mutáns

25.11. ábra. A muslica *ANT-C* komplexbe tartozó *Antennapedia* és *Proboscipedia* mutációi homeotikus géneket azonosítanak. *Antennapedia*: a csáp helyén láb képződik. *Proboscipedia*: szájszerv helyett láb fejlődik.

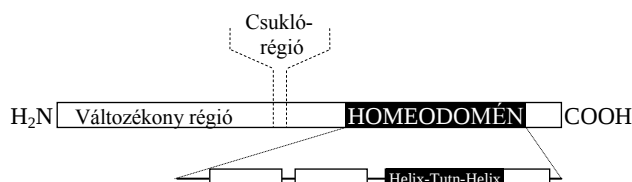
A muslica minden homeotikus génjét megklónozták,

majd meghatározták az őket alkotó bázispárok szekvenciáját. A szekvenciák összehasonlítása során derült arra fény, hogy minden homeotikus gén tartalmaz egy 180 bázispárból álló szakaszt, az úgynevezett *homeobox*-ot („box”, mert evolúciósan erősen konzervált DNS-szakasz, „homeo”, mert a homeotikus gének része).

A homeobox a homeotikus fehérjék 60 aminosavból álló funkcionális motívumát kódolja, a *homeodomén* (25.13. ábra). A további vizsgálatok során kiderült, hogy a homeodomén a homeotikus fehérjéknek éppen az a része, amellyel a DNS-hez kötődnek - a homeodomén ugyanis tartalmaz egy hélix-turn-hélix motívumot (erről a 15. fejezetben már szó volt). Tehát a homeotikus fehérjék is transzkripciós faktorok, és az embrió sejtjeiben olyan gének expresszióját szabályozzák, amelyek nyomán a szervényeket alkotó sejtek elnyerik azonosságukat.



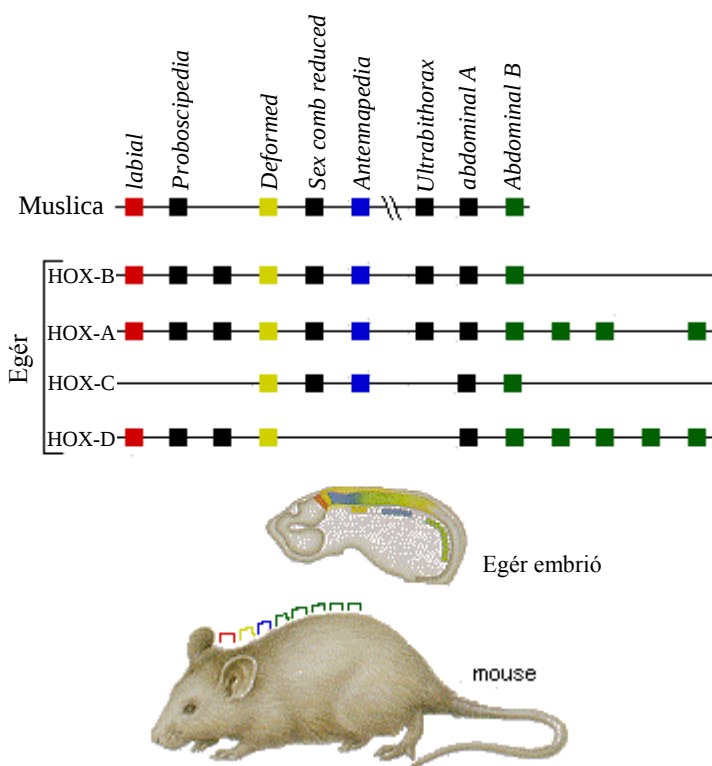
25.12. ábra. A muslica homeotikus génjei, és azok a testtájak (embrióban, valamint a kifejlett imágóban), amelyek azonosságát meghatározzák.



25.13. ábra. A homeoproteinek szerveződési sémája.

A gerincesek homeotikus génjei

A *Drosophila*-ban azonosított homeoboxot DNS-próbaként használva derült ki (Southern analízisek során), hogy a homeobox csaknem változatlan formában jelen van a gerincesek genomjaiban is. A homeoboxból kiindulva megismerték a gerincesek homeotikus génjeit, a *Hox* géneket, amelyek az emlősökben négy kópiában vannak jelen: *HOX-A/B/C/D* (25.14. ábra). Feltűnő, hogy a *HOX*-komplexeken belül nemcsak a gének sorrendje ugyanaz, mint a *Drosophila*-ban, hanem a gének testtáj szerinti expresszió-mintázata is. A *Drosophila* és a gerincesek homeotikus génjeinek szerveződése szép példa a testszerveződés evolúciós konzerváltságára.

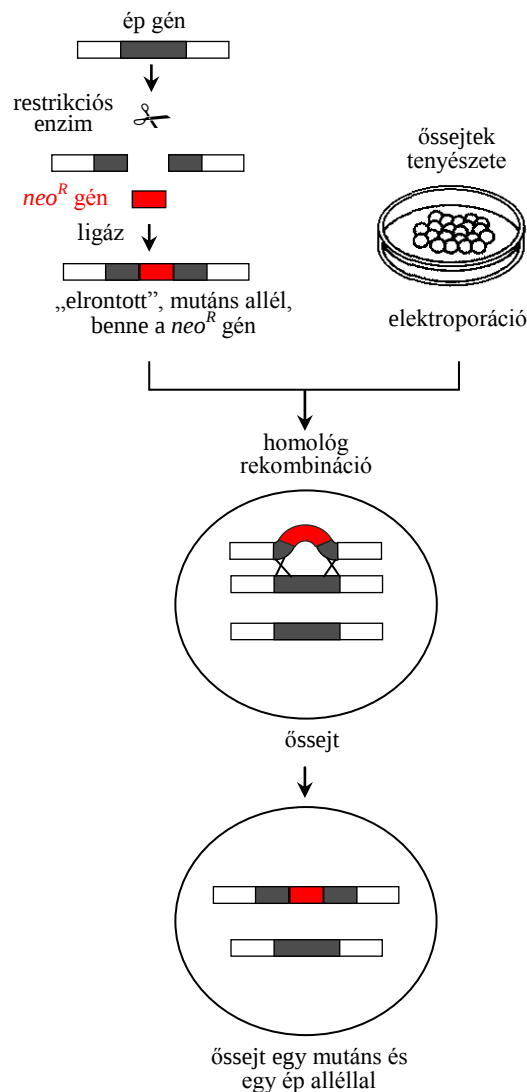


25.14. ábra. A testszervények azonosságát meghatározó gének szerveződése muslicában (felül) és egérben (alul). Az egér *Hox* génjei négy komplexbe szerveződtek.

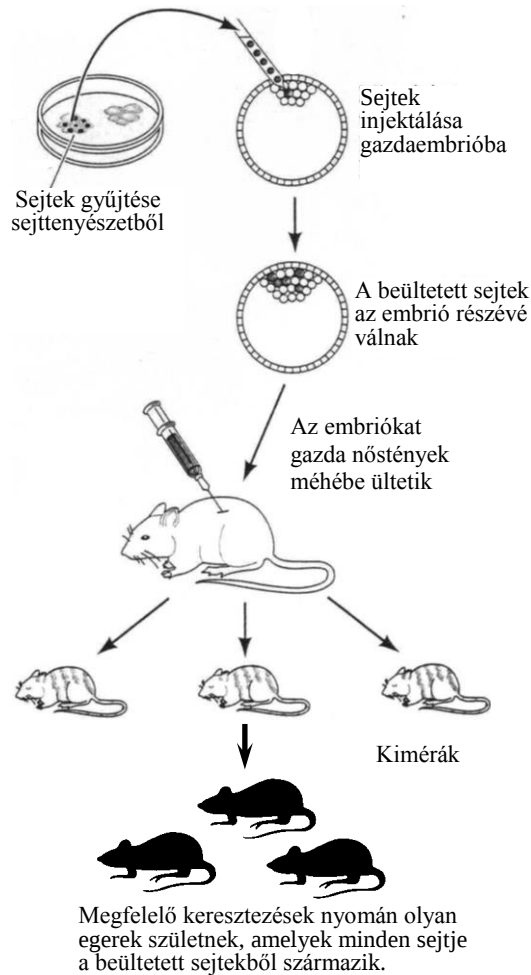
In vitro mutagenézis, géncserés egerek és fejlődési rendellenességek

A homeotikus gének funkciójának megértését nagyban segítette azoknak a technikának a kidolgozása, amellyel *géncserés* és *knock out* (génkiütött) egerek készíthetők. Azokban a *knock out* egerekben, amelyekben valamelyik ép homeotikus gént eltávolították, vagy funkcióképtelen mutáns alléljára cseréltek, jellegzetes fejlődési rendellenességek alakulnak ki (25.15 – 25.17. ábrák). A mutánsok vizsgálata alapján olyan fejlődési rendellenességek genetikai alapjaira derült fény, amelyeket bár régről ismernek a szakemberek, de nem értették kialakulásuk mechanizmusát. Egy adott

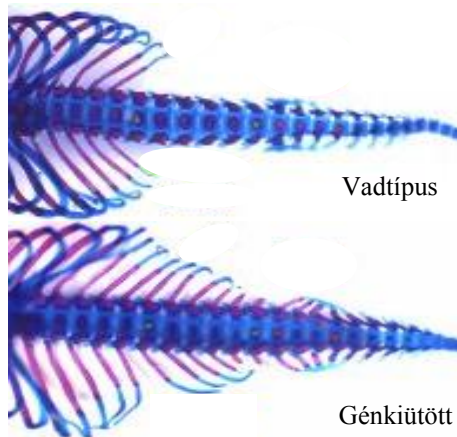
homeotikus gén mutációjával kapcsolatos fejlődési rendellenesség vizsgálata során nemcsak a fejlődési rendellenesség molekuláris alapjaira derült fény, hanem lehetőség nyílt a rendellenességet okozó mutációk prenatális diagnosztikájára is.



25.15. ábra. Az úgynevezett knock-out (génkiütés) technika. *In vitro* mutagenézis során valamelyik ép gén funkcióját úgy szüntetik meg, hogy egy másik gént illesztnek bele (itt a *neo^R* gént, amely neomicinnel szembeni rezisztenciát biztosít). A rekombináns, elrontott gént tartalmazó DNS-t embrionális őssejtek tenyészetébe viszik, és elérik (pl. elektroporációval), hogy a DNS-molekulák a sejtekbe jussanak. Ha valamelyik sejtben kettős rekombináció következik be, és a sejt saját ép génje a mutáns allélra cserélődik ki, akkor a sejt neomicinre rezisztenssé válik - utódsejtjeit ki lehet szelektálni.



25.16. ábra. A beültetett embrionális sejtekkel injekciós kimérákat (lásd 8. fejezet) hoznak létre, majd keresztezéssel olyan egereket, amelyek a homozigóták a „kiütött” allélra.



25.17. ábra. Jellemzős, a vázrendszert érintő rendellenességek fejlődnek ki azokban a knock out egerekben, amelyekből hiányzik a *HoxC10* gén funkciója.

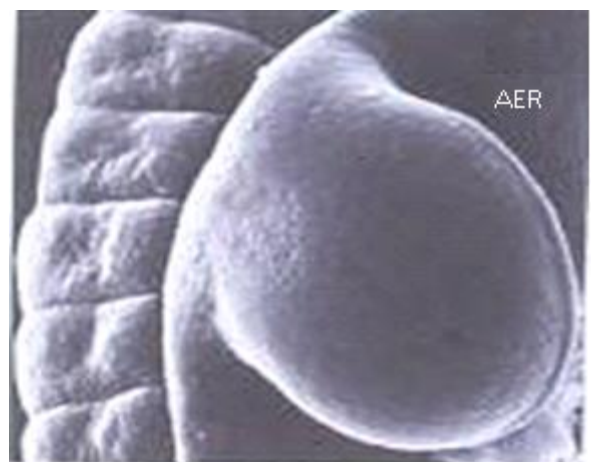
A végtagok fejlődése

Azt, hogy a végtagkezdemények az embriók elülső-hátulsó tengelyének mely pontján alakulnak ki, szintén a *Hox* gének határozzák meg: az elülső végtagok például az első törzsszelvényben – ott, ahol a *Hox6* gén expresszálódik. A *Hox* gének termékeinek hatására a laterális mezoderma (középső csíralemezhez tartozó) sejtek egyfajta fibroblaszt növekedési faktort, FGF10-et választanak ki (FGF = fibroblast growth factor). Hatásukra a testszelvényekből izom-össsejtek, mioblasztok vándorolnak a végtag-kezdeménybe. A mezoderma- és a mioblaszt-sejtek az ektoderma (külső csíralemez) alatt gyülekeznek, és együttesen egy végtagkezdeményt képeznek. Extra végtagok képződnek azokban az embriókban, amelyek ektodermája alá *Hox6*-tal vagy FGF10-el töltött apró műanyag gyöngyöket ültettek.

A végtagok képződése során a sejtek jellegzetesen differenciálódnak a (1) közeli-távoli (proximális-disztális), (2) az elülső-hátulsó (anterior-poszterior) és (3) a felső-alsó (dorzális-ventrális) tengelyek mentén. Az elmúlt néhány évben váltak ismertté azok a molekulák és mechanizmusok, amelyek nyomán a végtagokat alkotó sejtek differenciálódnak, és vált világossá néhány fejlődési rendellenesség molekuláris mechanizmusa.

(1) Differenciáció proximális-disztális irányban

A proximális-disztális irányú differenciációt csirkeembriók mellső végtagja, azaz a szárnykezdemény fejlődésének vizsgálatával ismerték meg. A folyamatot a végtag-kezdeményt övező úgynevezett apikális ektodermális perem (AER, apical ectodermal ridge, 25.18. ábra), valamint az FGF fehérjecsalád különféle típusai szabályozzák.

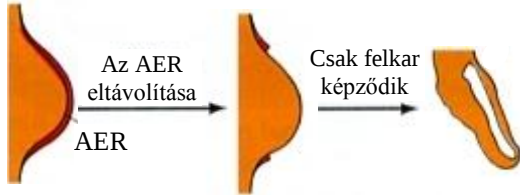


25.18. ábra. Egy végtagkezdemény, peremén az AER (apical ectodermal ridge).

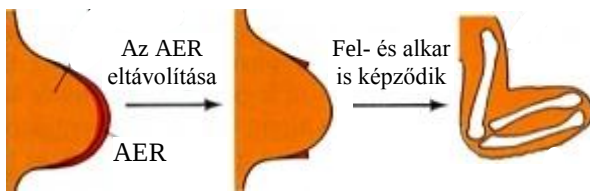
Az AER szerepét két megfigyelés bizonyítja. (i) Minél idősebb végtagkezdemény AER-jét távolítják el, a végtag disztális elemeiből annál több képződik (25.19.

ábra). (ii) A különböző korú végtagkezdemények egymásra történő transzplantációja nyomán olyan végtagkezdemények képződnek, amelyek azt mutatják, hogy minél több időt töltenek a perem alatti mezodermális eredetű sejtek az AER hatása alatt, a végtag annál nagyobb részének szintézisére válnak képessé (25.20. ábra).

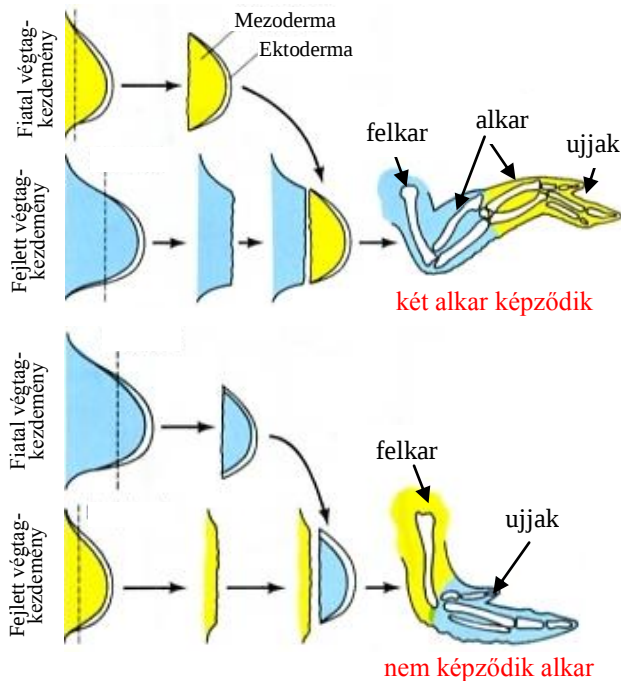
Fiatal végtagkezdemény



Fejlett végtagkezdemény



25.19. ábra. A végtagok proximális-disztális irányú differenciációját az AER szabályozza.



25.20. ábra. A különböző korú végtagkezdemény-részek átültetése után a csirkeembrióban rendellenes szerkezetű végtagok képződnek, jelezve az AER szerepét.

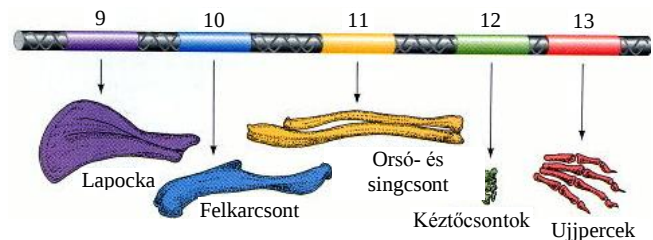
A gátolt, és/vagy hibás AER funkció nyomán születtek az 1950-es évek végén a Contergan-bébik (25.21. ábra). Contergan néven forgalmaztak egy thalidomid hatóanyagú nyugtatót, amelyről néhány év alatt bebizonyosodott, hogy súlyos végtagfejlődési és idegrendszeri zavarokat okoz. Később csirkeembriókon kísérletezték ki a thalidomid biztonságos származékait.

Az AER középső részének hibás fejlődése vagy hiánya okozza az úgynevezett „split hand – split foot” szindrómát, amikor egy vagy több ujj fejlődése elmarad és abnormális kéz és/vagy láb alakul ki.



25.21. ábra. Contergan bábák, és „split hand – split foot” szindrómás kéz- illetve lábfej.

Azt, hogy egy végtagkezdemény mely részében milyen sejtek differenciálódjanak, legelőször a *Hox* gének határozzák meg (25.22. ábra). Arra, hogy mely *Hox* génnek mi a szerepe valamely végtag kialakulásában, két megközelítés nyomán derült fény. (i) *In situ* hibridizációval meghatározták, hogy mely *Hox* gén a végtagkezdemény mely részében expresszálódik. (ii) A *Hox* gének expressziós mintázata alapján olyan knock-out egereket készítettek, amelyekből hiányzott a valamelyik *Hox* gén aktivitása. A *Hox*ok szerepére vannak „emberi” példák is: a *Hox D13*-as mutáns allélra homozigóta emberek ujjai rövidek, összeolvadtak.



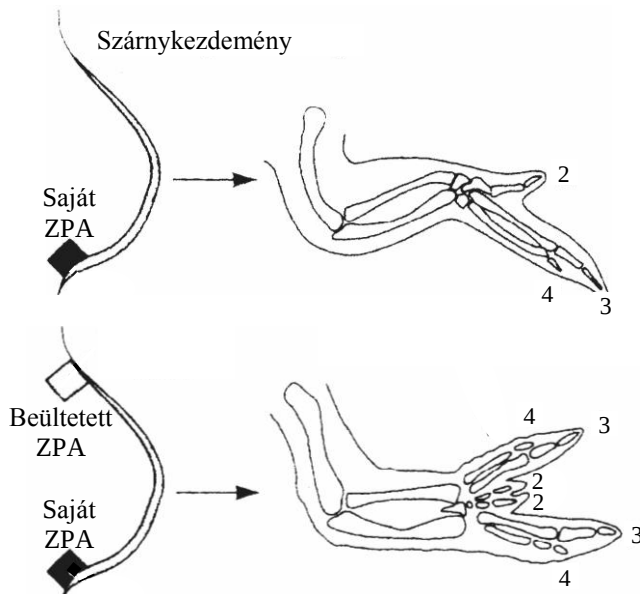
25.22. ábra. Összefüggés a *Hox* gének expressziója és a felkar egyes alkotóinak képződése között.

(2) Differenciáció az elülső-hátulsó irányban

Az elülső-hátulsó irányú differenciációt az úgynevezett polarizáló aktivitású sejtcsoport (ZPA, zone of polarizing activity) irányítja. A ZPA egy kis mezodermális eredetű sejtcsoport a végtagkezdemény

hátsó sarkában (25.23. ábra).

Az ujjakat képező sejtek sorsa attól függ, hogy a végtag-kezdeményben milyen helyet foglalnak el, milyen a *pozicionális információ* azon a helyen, ahol a sejtek vannak. Lesznek olyan sejtek, amelyek majd apoptózissal elhalnak, másokból ujjak fejlődnek. Az ujjak típusát a ZPA-tól mért távolság határozza meg. Ha ugyanis a végtagkezdemény elülső tövébe is egy ZPA-t ültetnek, a végtagon tükröszimmetria szerint képződnek ujjak (25.23. ábra).



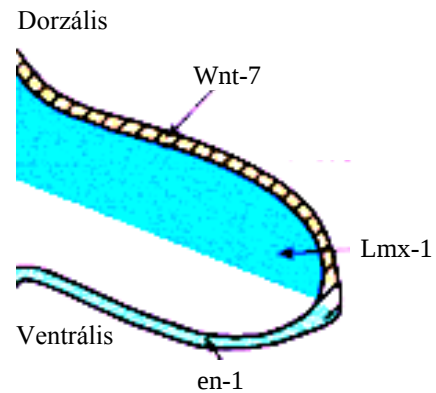
25.23. ábra. Az ujjak differenciációját a ZPA sejtcsoport szabályozza. A saját és a beültetett ZPA hatására két negyedik, két harmadik és két második, tükröszimmetrikusan elrendezett ujj képződik a csirkeszárnnyban.

A ZPA sejteiben a *Sonic hedgehog* (*shh*) gén expresszálódik, amely a *Drosophila hedgehog* génjének (amely a szegment-polaritás gének egyike) gerincesekben meglevő homológja. A *Sonic hedgehog* gén csak azokban a sejtekben expresszálódik, amelyekben a *Hox6*-os gén is aktív, vagyis csak a ZPA-sejtekben. A ZPA-sejtekben képződő *shh* fehérje hatására képződnek végül a BMP2 és BMP7 jelmolekulák (morfogének), amelyek diffúziója meghatározza a sejtek pozícióját és sorsát a végtag-kezdeményekben. A BMP - *bone morphogenetic proteins* – fehérjék arról a tulajdonságukról kapták nevüket, hogy csontképződést is képesek indukálni. Ma már ismert, hogy a BMP fehérjéknek más funkcióik is vannak: a sejtosztódás szabályozása, apoptózis, sejtáttörés és sejttranszformáció.

(3) Differenciáció a dorzális-ventrális irányban

A háti-hasi vagy felső-alsó (tenyer-kézfaj, lábfej-talp) irányú differenciációt a végtag-kezdemény hátsó (felső) felszínét borító ektoderma határozza meg. Két alsó felszín képződik annak a végtagnak, amelynek kezdeményéről eltávolítják a felső réteget, és két felső felszín képződik, ha a kezdeményben a ventrális epidermiszt dorzálisra cserélik.

A háti-hasi irányú differenciáció kulcsfontosságú tényezője a Wnt-7 jelű fehérje (25.24. ábra): azoknak a knock-out egereknek, amelyek a *Wnt-7* gén funkcióvesztéses típusú mutáns alléljaira homozigóták, a „kézfajuk” helyett is „tenyerük” képződik. A Wnt fehérjecsald és a róluk elnevezett jelátviteli út tagjai a sejtek közötti jelátvitelt egyik legösibb eszközei. A Wnt fehérjék nevüket a *Drosophila wingless* (*wg*) szegment-polaritás génje és annak humán *integrated* (*int*) nevű homológja nevének összevonásával kapták.



25.24. ábra. A végtagkezdemény felső-alsó irányú differenciációját szabályozó fehérjék.

A Wnt-7 fehérje az *Lmx1* gént aktiválja a dorzális epidermisz alatti mezodermális sejtekben. Az *Lmx-1* fehérje egy olyan transzkripciós faktor, amely a végtagkezdemény sejtek felső-alsó irányú differenciációját szabályozza. Az *Lmx1* gén funkcióvesztéses alléljaira homozigóta emberek az ún. köröm-patella szindrómát mutatják: végtagjaik dorzális sejtjei ventrálisoként viselkednek, ami miatt nem képződnek körmeik és térdkalácsaik.

Ma már nagyrészt ismertek azok a molekulák, amelyek meghatározzák a végtagkezdemény-sejtek azonosságát, sorsát. A végtagkezdemény egyes részein a BMP fehérjék hatására sejtek csoportjai pusztulnak el apoptózissal, hogy szomszédságukban ujjak képződjének.

ÖSSZEFOGLALÁS

Bár az ivaros szaporodással létrejövő élőlények élete a megtermékenyüléssel kezdődik, az egyedfejlődés feltételei már az ivarsejtek képződése folyamán megteremtődnek: (i) az anyai hatás tényezői alapvető fontosságúak az embrionális sejtek fejlődési programjának meghatározásában, (ii) a kromoszóma imprinting pedig előre programozza sok gén expresszióját. A sejtek fejlődési potenciálja fokozatosan bontakozik ki a sejtek differenciációja folyamán. A sejtek közötti kölcsönhatás és a morfogének szerepe alapvető fontosságú a sejtek fejlődési programjának meghatározásában. A testszerveződést befolyásoló *Drosophila* mutációk alapján derült fény a szelvényezettség molekuláris és evolúciós vonatkozásaira. A knock-out egerekkel kapcsolatos mutáns fenotípus alapján meg lehetett ismerni néhány fejlődési rendellenesség genetikai alapjait. A soksejtű élőlény testének kialakulása rendkívül szövevényes génaktivitás-mintázat nyomán képződik, de ma már ismerjük néhány mozzanatát. Az itt leírtak természetesen csak rövid bepillantást nyújtanak a fejlődésbiológia egyik gyorsan fejlődő ágába.