

Úvod do ontogeneze člověka



Vladimír Rotrekl
vrotrekl@med.muni.cz

Department of Biology, Medical Faculty, Masaryk University

2024

VÝVOJOVÁ BIOLOGIE

je věda studující:

Proces **budování a organizování organismu**
od oplozeného vajíčka po plně vyvinutého jedince
na základě **zdeděných (genetických) informací**
a epigenetiky

Paradox vývojové biologie

V genomu není tolik genů, aby byla zajištěna obrovská komplexita a diverzita dospělého organismu

Geny jsou ve vývoji „recyklovány“

- Časování, lokalizace, kombinace, dávky genu, regulace genové exprese
- Historický koncept „jeden gen = jedna vlastnost“ je chybný!

Složité mechanismy vlastní organizace

- Mezibuněčné komunikace
- Formování komplexních struktur – orgánů a tkání

Základní princip vývojové biologie

Buňky vytvářejí **intenzivně komunikující společenství**, ve kterém se jednotlivé buňky navzájem ovlivňují, a formují mnohobuněčné tkáně a orgány **v identickém časovém a prostorovém vzoru** z generace na generaci

Základní princip vývojové biologie

Buňky vytvářejí **intenzivně komunikující společenství**, ve kterém se jednotlivé buňky navzájem ovlivňují, a formují mnohobuněčné tkáně a orgány **v identickém časovém a prostorovém vzoru** z generace na generaci

K tomuto účelu buňky využívají:

Genetické mechanismy

♣ **jaderná a mitochondriální DNA**, geny významné pro vývoj

Negenetické mechanismy

♣ **epigenetika**, vnitrobuněčné přestavby, fyzikální síly, adhezní molekuly, mezibuněčné interakce, mezibuněčná komunikace – takzvaná **buněčná sociologie**

...a přetrvávající záhady vývojové biologie

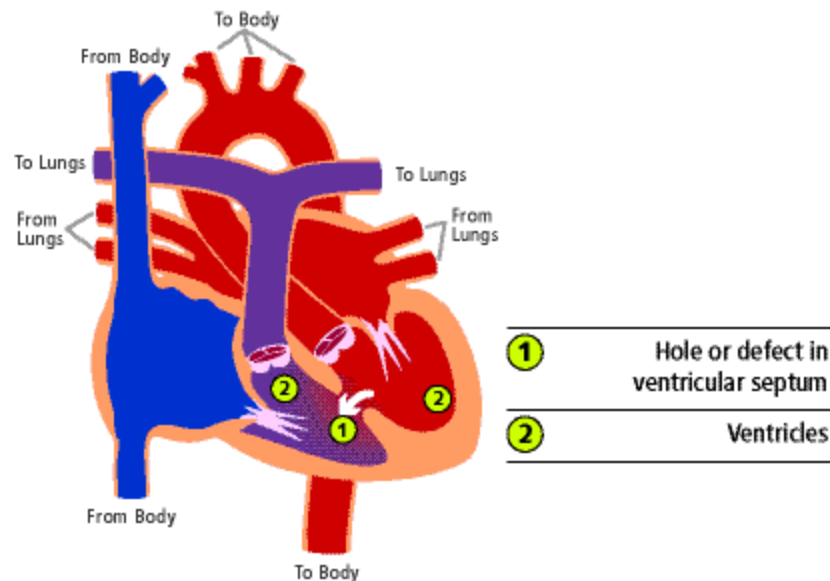
Proč učit vývojovou biologii na LF?

Česká republika v roce 2014:

4794 dětí s vývojovou vadou (441 dětí na 10 000 narozených)

307 mrtvě narozených dětí v důsledku vývojové vady (0,03%)

Nejčastější vývojová vada dětí: Ventrikulární septální defekt



Proč učit vývojevou biologii na LF?

Ilustrační příklady množství a rozmanitosti vývojových vad – nejčastější vývojové vady srdce:

[Aortic Valve Stenosis \(AVS\)](#)

[Atrial Septal Defect \(ASD\)](#)

[Coarctation of the Aorta \(CoA\)](#)

[Complete Atrioventricular Canal defect \(CAVC\)](#)

[d-Transposition of the great arteries](#)

[Ebstein's Anomaly](#)

[l-transposition of the great arteries](#)

[Patent Ductus Arteriosus \(PDA\)](#)

[Pulmonary Valve Stenosis](#)

[Single Ventricle Defects](#)

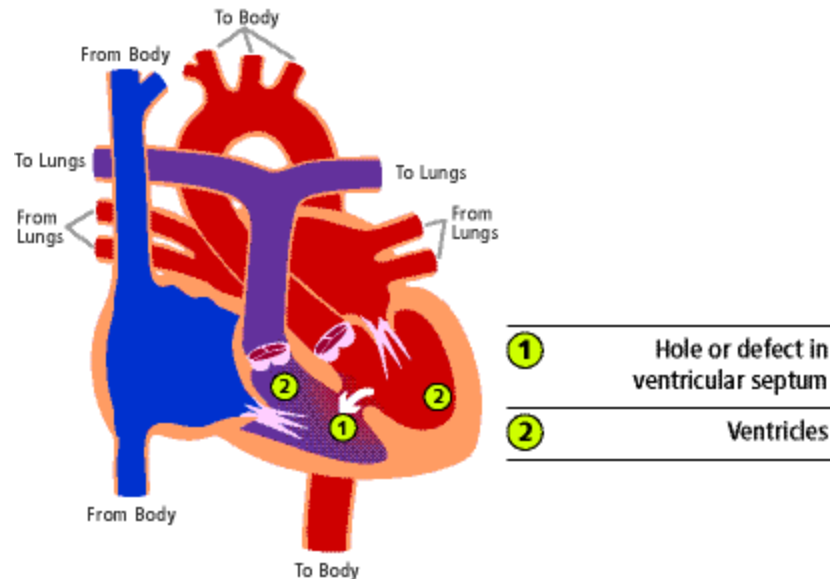
[Tetralogy of Fallot](#)

[Total Anomalous Pulmonary Venous Connection \(TAPVC\)](#)

[Truncus Arteriosus](#)

[Ventricular Septal Defect \(VSD\)](#)

Nejčastější vývojová vada dětí: Ventrikulární septální defekt



Proč učit vývojovou biologii na LF?

Vývojové vady postihují zhruba 3% novorozenců a jsou **hlavní příčinou novorozenecké mortality** v ČR

Vývojové vady vznikají jako následek:

- molekulárních a strukturních defektů (genetika a epigenetika)
- metabolických a endokrinních defektů (genetické, maternální a environmentální faktory)
- působení teratogenů (environmentální faktory)

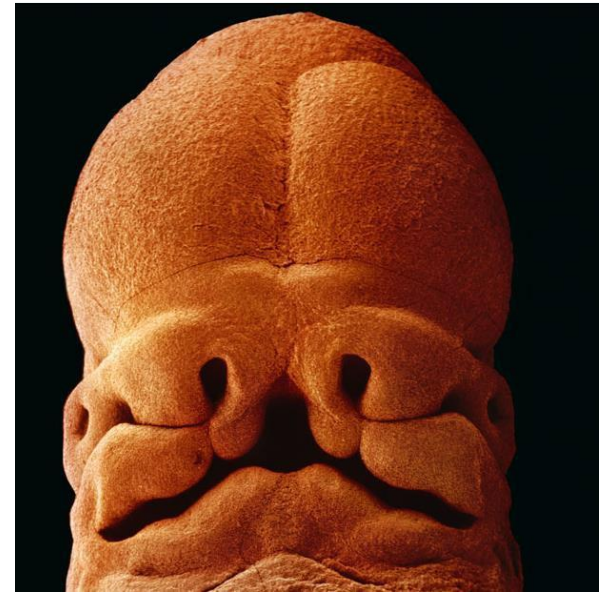
ALE..!!!

Etiologie vývojových vad je většinou **nejasná** a tedy prevence téměř nemožná.

Proč učit vývojovou biologii na LF?

Pochopení molekulárních mechanismů

- Velmi časná diagnostika (nejlépe na úrovni časného embrya)
- Případná intervence *in utero* (prenatální chirurgie, ale i molekulární intervence a zásah do vývoje)



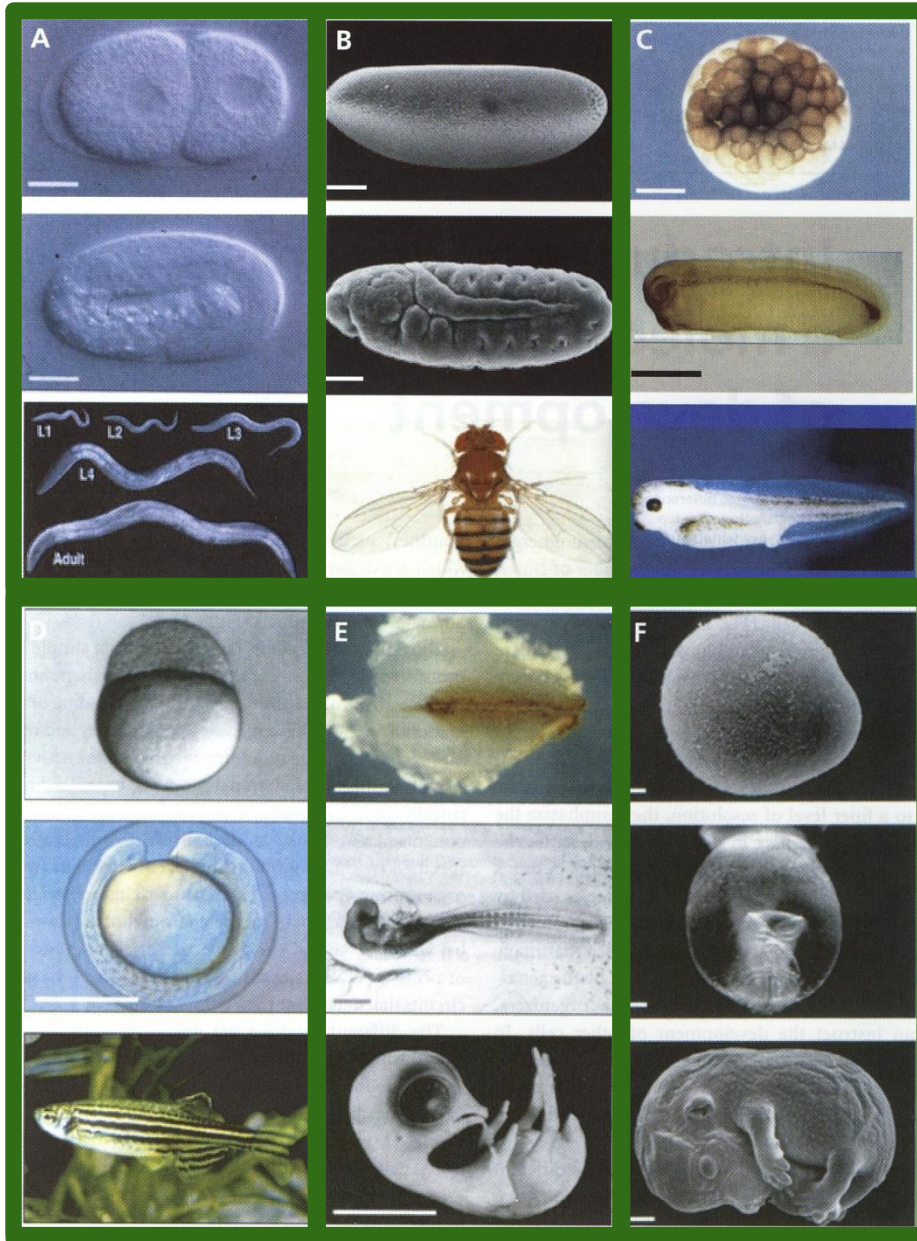
Lidské embryo, 5 týdnů
(Lennart Nilsson)

Proč učit vývojovou biologii na LF?

Abychom vývojovým vadám mohli zabránit nebo je včas detekovat, musíme pochopit jejich molekulární mechanismus:

- Poznání mechanismů na modelových organismech
- Odhad rizika a strategie prevence

Vývojová biologie profituje z mnoha modelových organismů



A. Červ *Caenorhabditis elegans*

B. Muška *Drosophila melanogaster*

C. Žába *Xenopus laevis*

D. Rybka *Danio rerio*

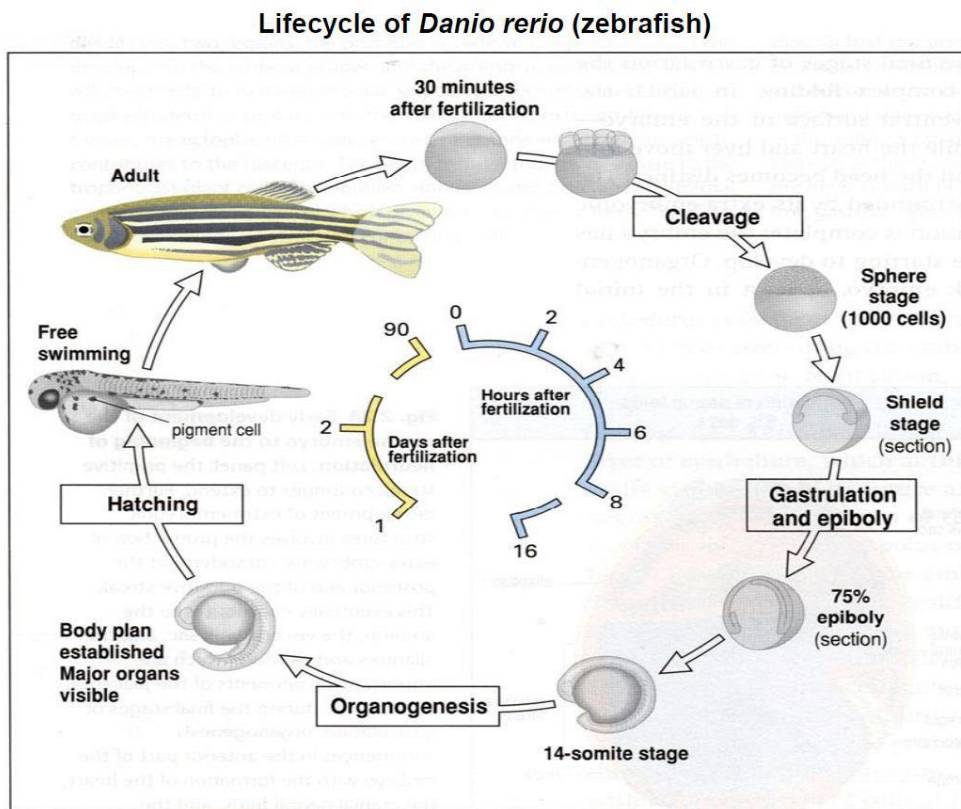
E. Kur

F. Myš

Proč modelové organismy?

- Etické důvody
- Rychle rostou
- Rychle se množí a mají mnoho embryí
- Některé se vyvíjí mimo mateřský organismus
- **Vývojové procesy jsou vysoce evolučně konzervovány**

Vývojová biologie profituje z mnoha modelových organismů



A. Červ *Caenorhabditis elegans*

B. Muška *Drosophila melanogaster*

C. Žába *Xenopus laevis*

D. Rybka *Danio rerio*

E. Kur

F. Myš

Proč modelové organismy?

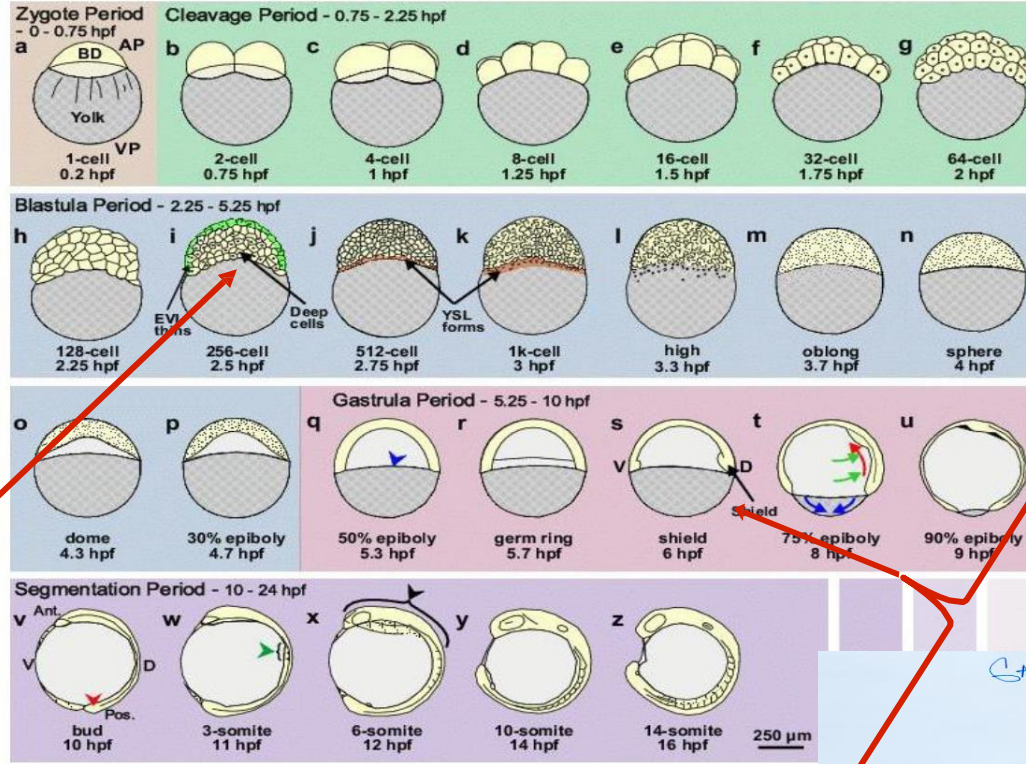
- Etické důvody
- Rychle rostou
- Rychle se množí a mají mnoho embryí
- Některé se vyvíjí mimo mateřský organismus
- **Vývojové procesy jsou vysoce evolučně konzervovány**

Migrace a diferenciaci buněk v časném embryu:

Kdo je tady šéf?!

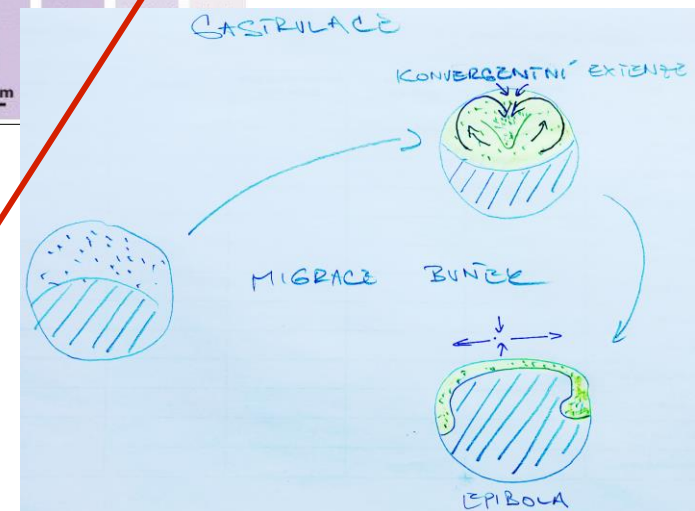
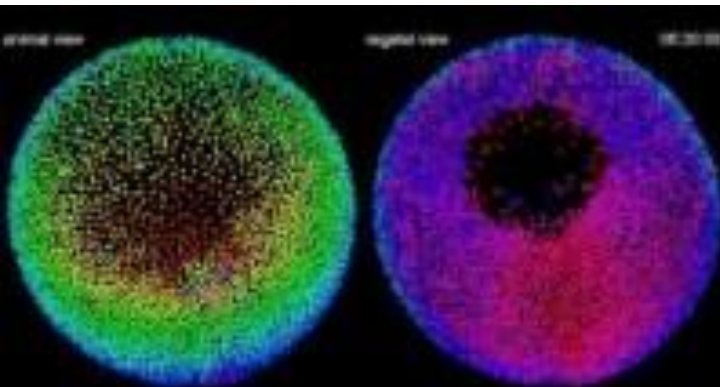
Prvních 16 hodin po opodnění – Dánio pruhované

Tvorba Blastodermu



Dorzo-Ventrální polarizace
 Tvorba ektodermu a endodermu

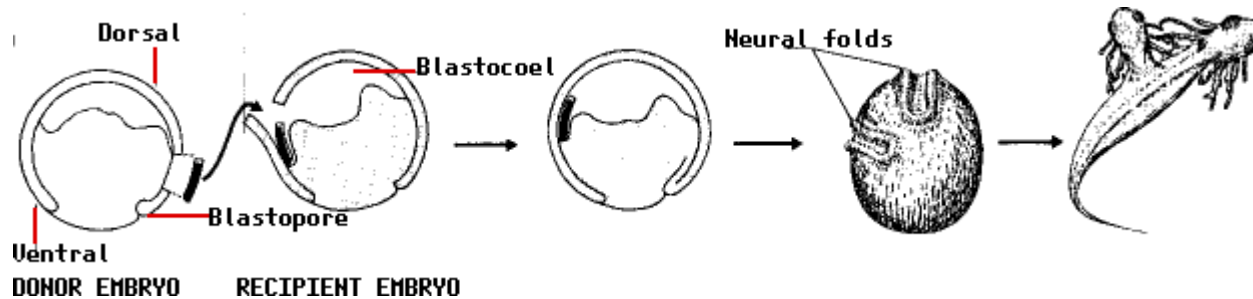
Anterior-posteriorní polarizace



Migrace a diferenciacie buněk v časném embryu: Kdo je tady šéf?!

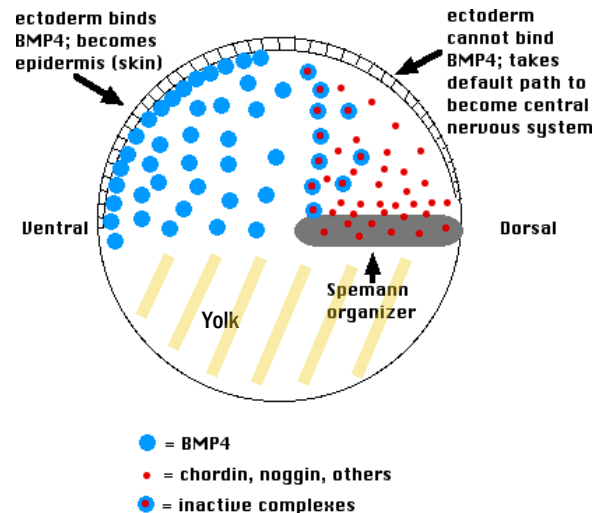
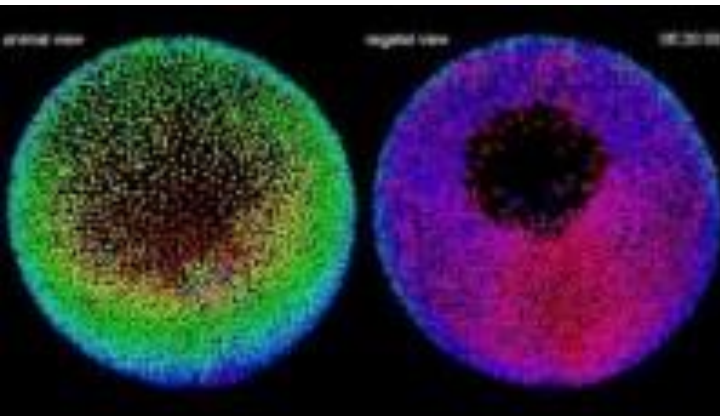
1924: Hilde Mangold v laboratoři Hanse Spemanna-

Tkáň z dorzální části mebrya transplantována do ventrální oblasti:



Organizér – dynamicky umístěná skupina buněk se schopností ovlivnit osud okolních buněk uvolněním morfogenu

Morfogen – sloučenina uvolněná organizérem, která vytváří gradient koncentrace signálu



Základní stádia embryonálního vývoje savců a epigenetika

- **(Gametogeneze)** genomický imprinting
 - **(Oplození)** paternální/maternální epigenetický imprinting
-

- **Aktivace embryonálního genomu**
- **Embryonální dělení** inaktivace chromozomu X
- **Časná polarizace embryí**
- **Gastrulace**
- **Neurální indukce**
- **Hlavní vlna organogeneze**

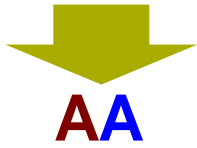
Genomický imprinting – epigenetický proces umožňující expresi genů důležitých pro vývoj **jen z JEDNÉ parentální alely** (buď mateřské, nebo otcovské)

Genomický imprinting je charakteristický pro savce, probíhá “až” **během maturace gamet**, tedy vajíček a spermií, a imprintované geny jsou klíčové v nejčasnějších vývojových stádiích

Běžné geny: každý gen - 2 alely
(samčí A samičí)

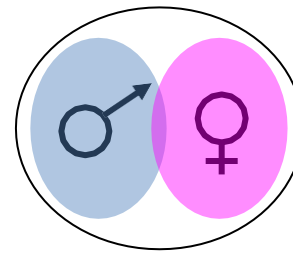
Mateřská alela genu A

Otcovská alela genu A



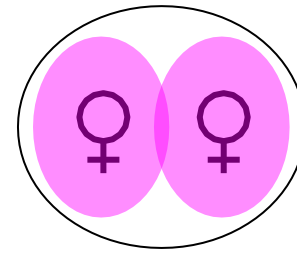
Fenotyp (dávkování genu)

otcovská i mateřská
sada genomu

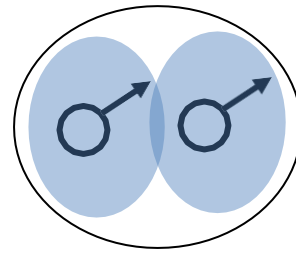


normální vývoj

dvě mateřské
sady genomu



dvě otcovské
sady genomu



umělý přenos jadra
- **embryo zaniká** už před
implantací do děložní stěny

[McGrath, Cell 1987]

Genomický imprinting – epigenetický proces umožňující expresi genů důležitých pro vývoj **jen z JEDNÉ parentální alely** (buď mateřské, nebo otcovské)

Genomický imprinting je charakteristický pro savce, probíhá “až” **během maturace gamet**, tedy vajíček a spermií, a imprintované geny jsou klíčové v nejčasnějších vývojových stádiích

Běžné geny: každý gen - 2 alely (samčí A samičí)

Mateřská alela genu A

Otcovská alela genu A



AA

Fenotyp (dávkování genu)

Imprintované geny: 1 alela umlčena (samčí NEBO samičí)

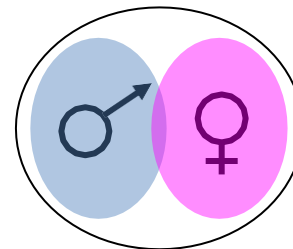


~~AA~~ or ~~AA~~

~96 genes

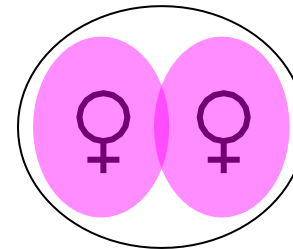
54 : 42

otcovská i mateřská
sada genomu



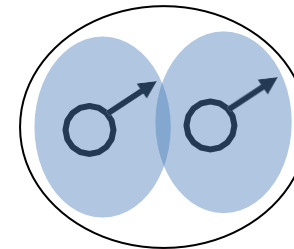
normální vývoj

dvě mateřské
sady genomu



umělý přenos jádra
- **embryo zaniká** už před
implantací do děložní stěny

dvě otcovské
sady genomu



[McGrath, Cell 1987]

Imprintované geny:

- Zřejmě náhodně rozmístěny v genomu, ale přibližně polovina je na chromozomu 7
- Často souvisí s dělením buněk (růstem) a metabolickými aktivitami buněk (*Igf2*, *Ins2*..)

Genomický imprinting – epigenetický proces umožňující expresi genů důležitých pro vývoj **jen z JEDNÉ parentální alely** (buď mateřské, nebo otcovské)

Genomický imprinting je charakteristický pro savce, probíhá “až” **během maturace gamet**, tedy vajíček a spermií, a imprintované geny jsou klíčové v nejčasnějších vývojových stádiích

Běžné geny: každý gen - 2 alely
(samčí A samičí)

Mateřská alela genu A

Otcovská alela genu A



AA

Fenotyp (dávkování genu)

Imprintované geny: 1 alela umlčena
(samčí NEBO samičí)



~~AA~~ or ~~AA~~

~96 genes

54 : 42

Biologické důvody imprintingu:

- **ovarian time bomb hypothesis:**
(zabránění vývoje vajíček bez oplození)
Obrana před partenogenezí a teratocarcinomy
- **parentální konflikt a regulace metabolismu embrya**
Zvýšení maternálního reprodukčního potenciálu a zabránění nadměrného růstu embrya na úkor matky)

Genomický imprinting – epigenetický proces umožňující expresi genů důležitých pro vývoj **jen z JEDNÉ parentální alely** (buď mateřské, nebo otcovské)

Genomický imprinting je charakteristický pro savce, probíhá “až” **během maturace gamet**, tedy vajíček a spermií, a imprintované geny jsou klíčové v nejčasnějších vývojových stádiích

Abnormality epigenetického imprintingu jsou spojeny s vývojovými poruchami a rakovinou

Syndromes, such as e.g.:

Beckwith-Wiedemann's
Silver-Russell's
Prader-Willi's
Angelman's..



Silver-Russell syndrom

Biologické důvody imprintingu:

- **ovarian time bomb hypothesis:** (zabránění vývoje vajíček bez oplození)
Obrana před partenogenezí a teratocarcinomy
- **parentální konflikt a regulace metabolismu embrya**
Zvýšení maternálního reprodukčního potenciálu a zabránění nadměrného růstu embrya na úkor matky)



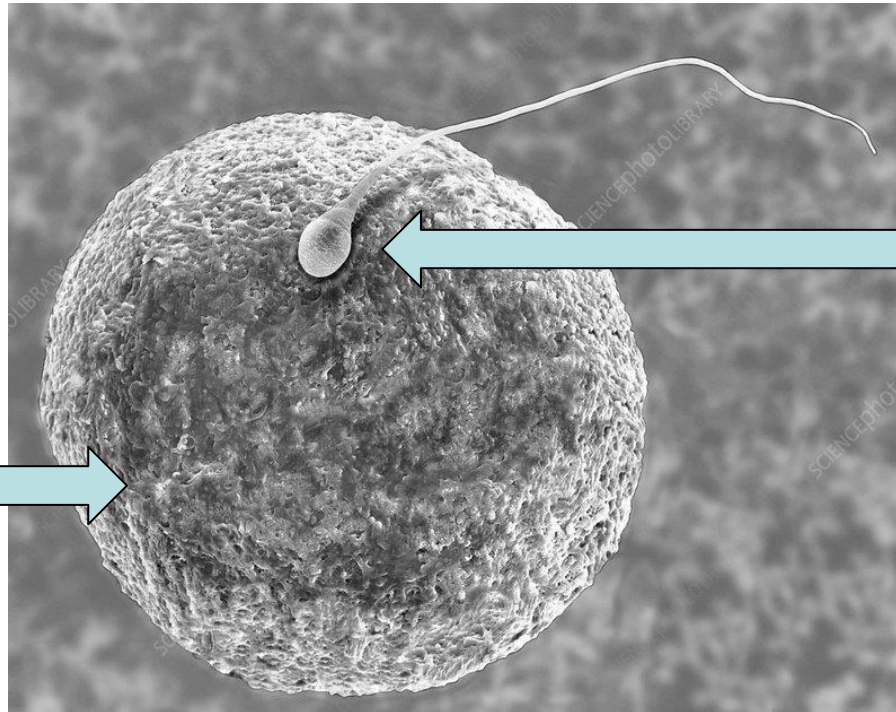
Prader-Willi syndrom

Základní stádia embryonálního vývoje savců a epigenetika

- Gametogeneze
- Oplození
- Aktivace embryonálního genomu
- Embryonální dělení inaktivace chromozomu X
- Časná polarizace embryí
- Gastrulace
- Neurální indukce
- Hlavní vlna organogeneze

K aktivaci embryonálního genomu dojde už během preimplantačního vývoje embrya

Vajíčko obsahuje v cytoplazmě velké množství transkriptů (mRNA)

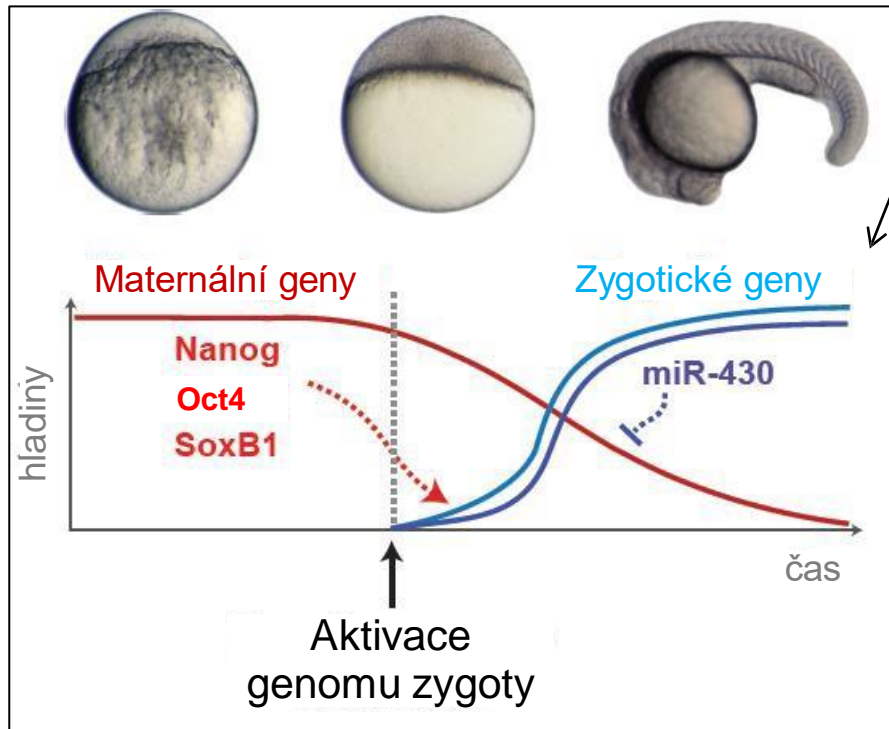


Spermie je transkripčně neaktivní a nevnáší do embrya cytoplazmu s transkripty

Po vzniku zygoty je potřeba maternální mRNA deaktivovat, a naopak aktivovat expresi genů nutných pro zygotu a časný vývoj embrya – **aktivace genomu**

Kdy probíhá epigenetická deaktivace rodičovských genomů a začne docházet k expresi “nového” genomu potomka?

Mechanismus aktivace embryonálního genomu



Embryo (rybka zebřička)
21 hodin po oplození

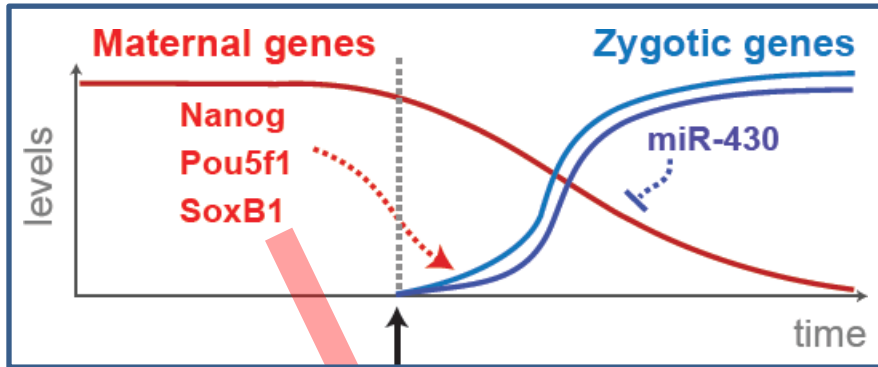
Prvních několik hodin produkuje zygot proteiny z molekul mRNA přítomných ve vajíčku už před oplozením, ale produkované proteiny Oct4 a Nanog brání vývoji embrya (například z neoplozeného vajíčka partenogenezí).

Poté jsou maternální mRNA degradovány pomocí **microRNA**, která je jedním z prvních transkriptů genomu zygoty.

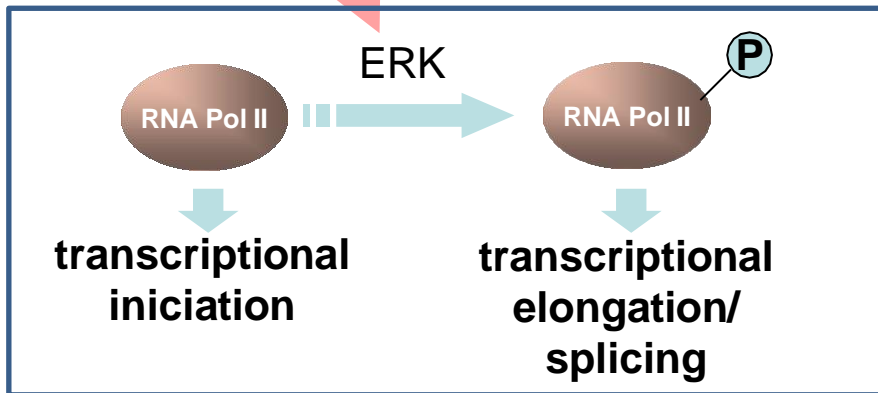
[Miler Lee, 2014, upraveno]

Mechanismus aktivace embryonálního genomu

[Lee Nature 2013]



[Bonnet NAR 1999]

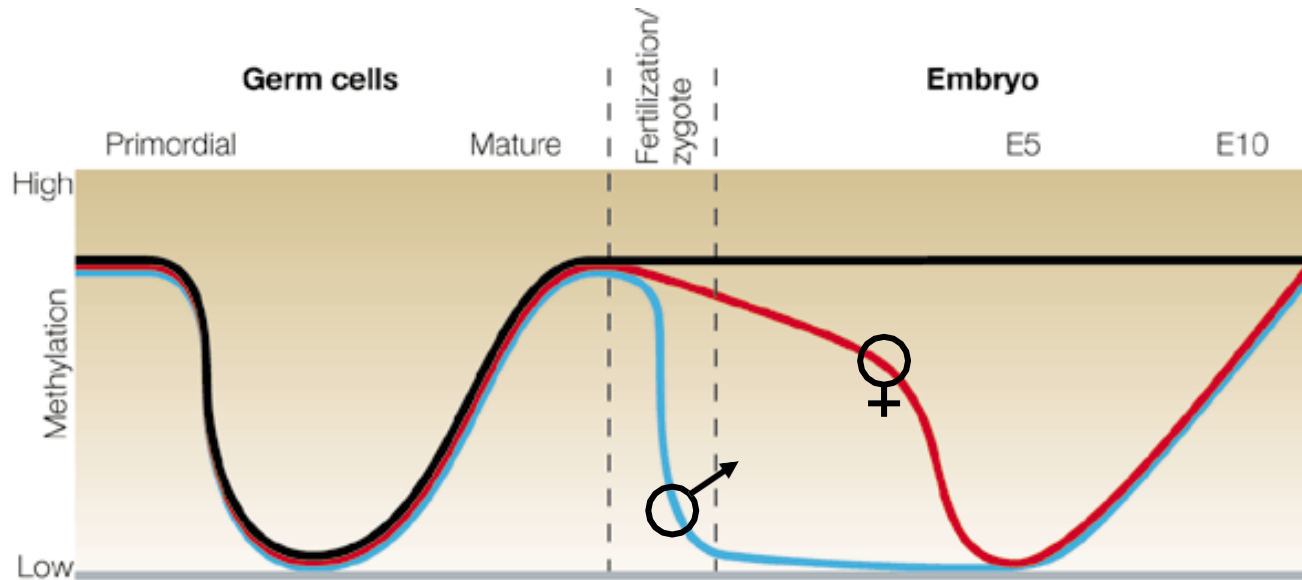


Autodestrukce maternálních transkriptů:

- Mateřské transkripty (NANOG, Oct4, SoxB1) aktivují RNA Pol II z embryonálního genomu
- Aktivovaná RNA Pol II procesuje mikro RNA miR-430
- miR-430 zprostředkovává deadenylaci mateřských transkriptů.

Výsledek: Nový buněčný cyklus řízený genomem embrya

Mechanismus aktivace embryonálního genomu



Reik, 2001

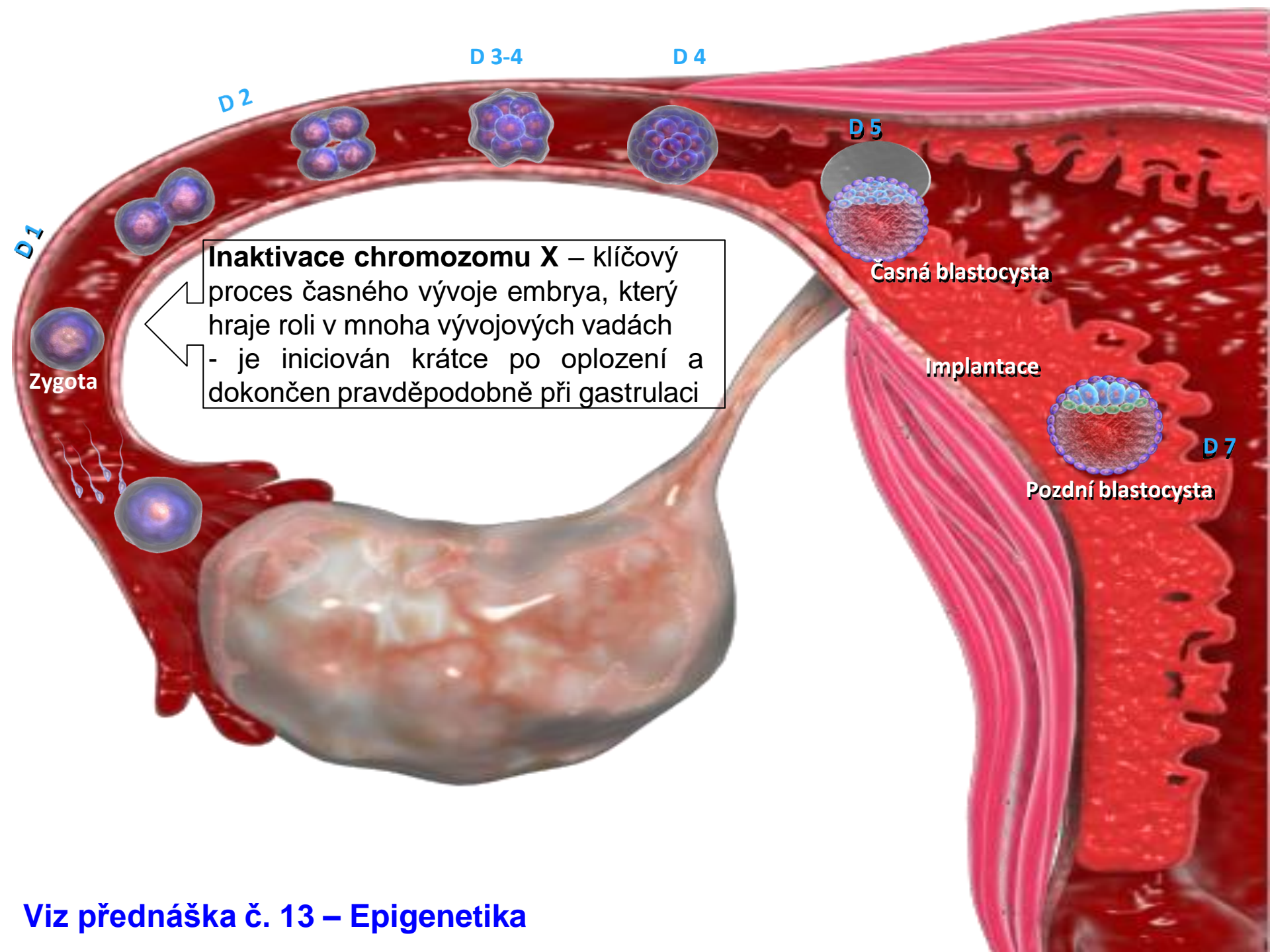
Nature Reviews | **Genetics**

- ➡ Acetylace histonů (demetylace, fosphorylace)
- ➡ Demetylace DNA

Maternální a paternální genom mají různou kinetiku epigenetických změn
Demetylace paternálního genomu velmi rychle, maternálního cca 4 dny
Aktivace embryonálního genomu pak má společnou dynamiku pro maternální i paternální DNA

Základní stádia embryonálního vývoje savců a epigenetika

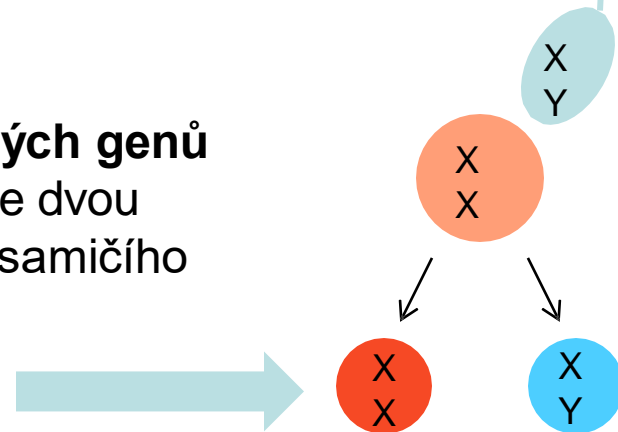
- **Gametogeneze** genomický imprinting
- **Oplození** paternální/maternální epigenetický imprinting
- **Aktivace embryonálního genomu**
- **Embryonální dělení** inaktivace chromozomu X
- **Časná polarizace embryí**
- **Gastrulace**
- **Neurální indukce**
- **Hlavní vlna organogeneze**



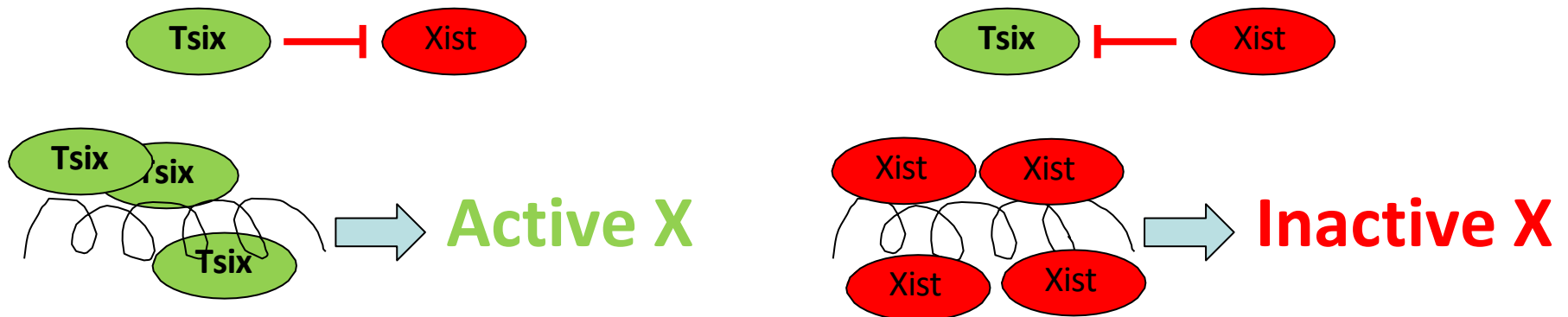
Inaktivace chromozomu X – klíčový proces časného vývoje embrya, který hraje roli v mnoha vývojových vadách - je iniciován krátce po oplození a dokončen pravděpodobně při gastrulaci

Inaktivace chromozomu X – epigenetické transkripční umlčení jednoho ze dvou X chromozomů u samic savců

U samic **savců** je **dvojnásobná dávka X-vázaných genů** kompenzována inaktivací (umlčením) jednoho ze dvou chromozomů X, ke které dochází už v buňkách samicího embrya (XX)..



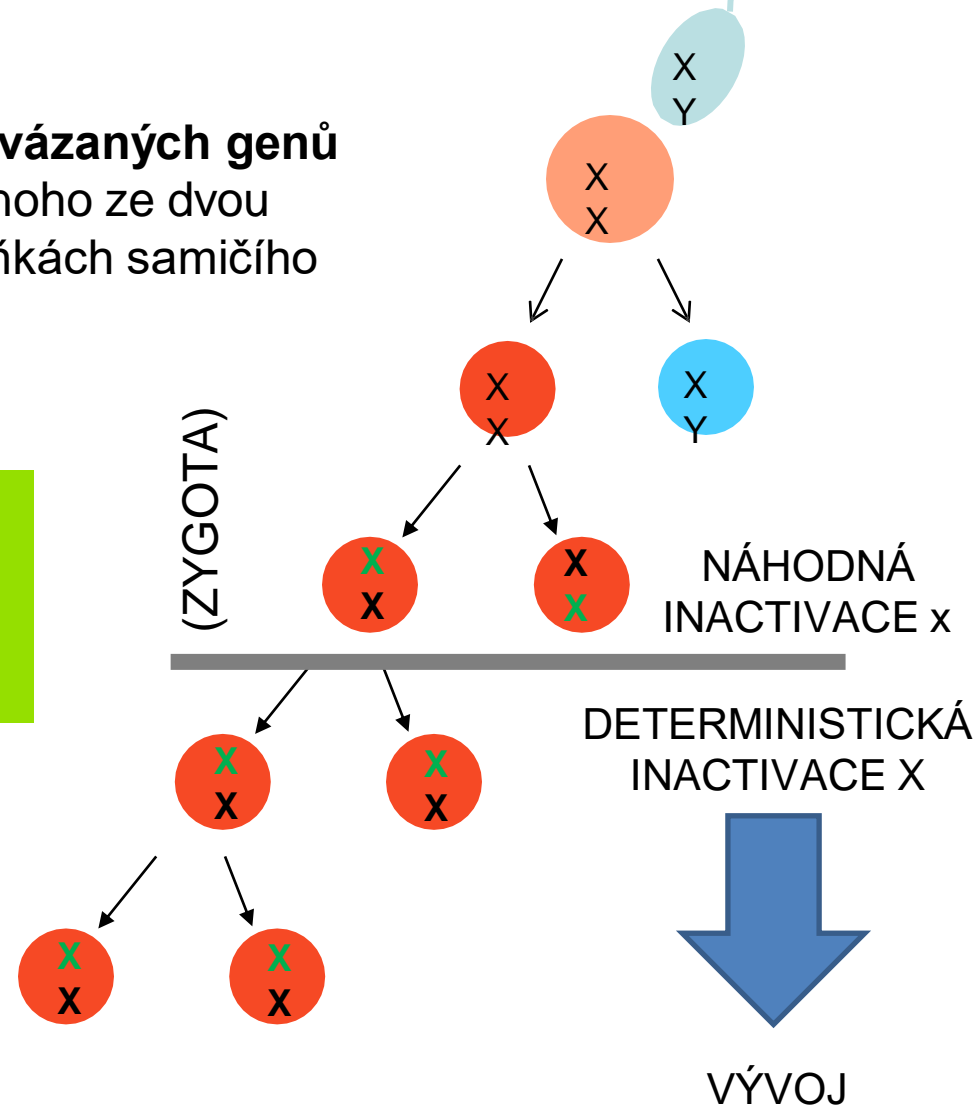
Nekódující geny *Xist* a *Tsix* jsou aktivovány v savčích embryích krátce po oplození. Vzájemná komplementarita long non coding RNA (lncRNA) epigenetický proces vedoucí k umlčení genů na jednom z chromozomů X a naopak k aktivaci genů na druhém chromozomu X.



Inaktivace chromozomu X – epigenetické transkripční umlčení jednoho ze dvou X chromozomů u samic savců

U samic **savců** je **dvojnásobná dávka X-vázaných genů** kompenzována inaktivací (umlčením) jednoho ze dvou chromozomů X, ke které dochází už v buňkách samičího embrya (XX)..

Inaktivace chromozomu X je **NÁHODNÝ** proces nicméně **PERMANENTNÍ** pro dceřinné buňky



Inaktivace chromozomu X – epigenetické transkripční umlčení jednoho ze dvou X chromozomů u samic savců

JE VŽDY NÁHODNÉ?

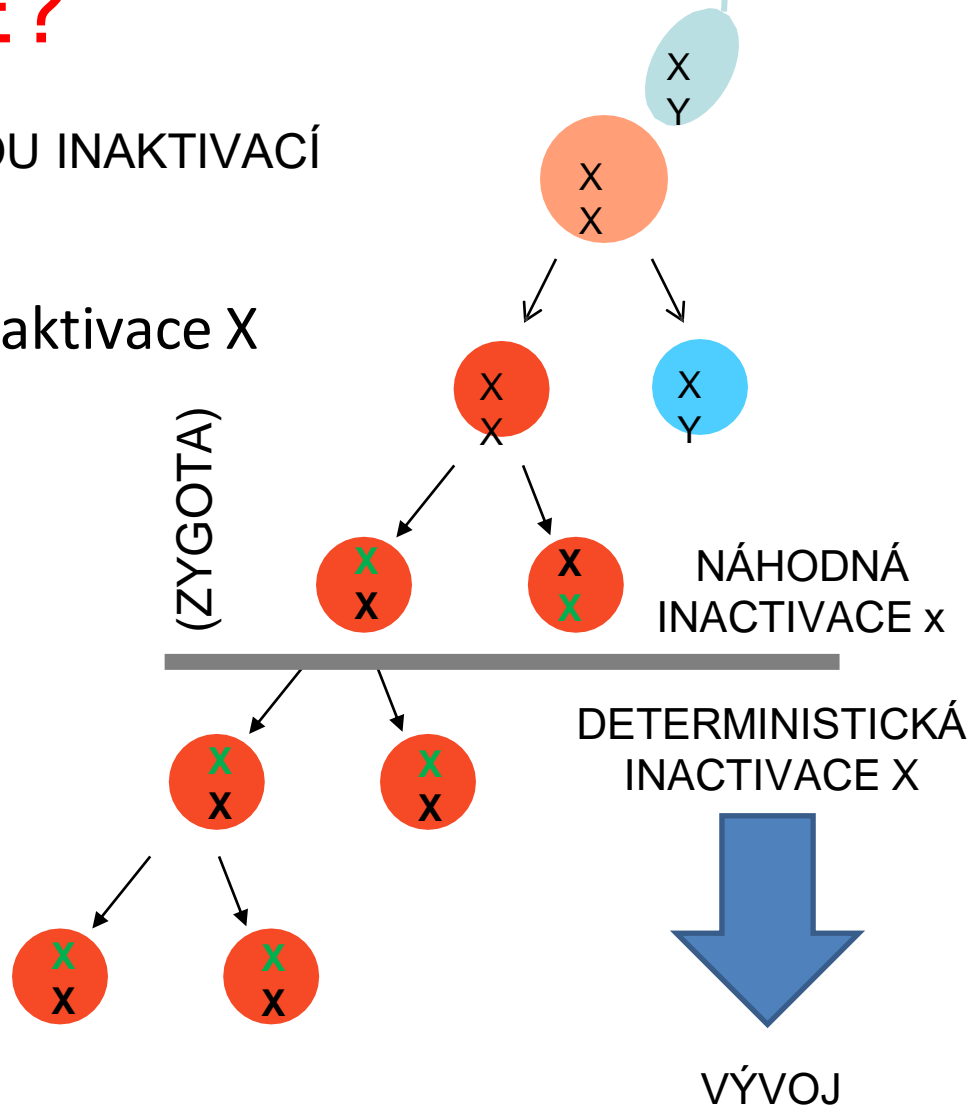
..X-VÁZANÉ CHOROBY S NENÁHODNOU INAKTIVACÍ

Muži: 100% penetrance

Ženy heterozygotky: nenáhodná inaktivace X


PŘÍKLADY NENÁHODNÉ INAKTIVACE U CHOROB:

- Duchennova svalová dystrofie
- Syndrom předčasného stárnutí
- Immunodeficiencie
- Rakovina
- Hemofilie



Nenáhodná inaktivace X u heterozygotek?

Disease (<i>gene</i> or protein)	Male		Female	
	Penetrance	Severity index	Penetrance	Severity index
Adrenoleukodystrophy (<i>ABCD1</i>)	90	39	20	Low
Alpha-thalassemia/mental retardation (<i>XH2</i>)	100	100	Low	Low
Alport syndrome (<i>COL4A5</i>)	100	100	15	Low
Amelogenesis imperfecta (<i>AMELX</i>)	100	100	100	No data
Androgen insensitivity syndrome (<i>AR</i>)	100	70	10	Low
Chondrodysplasia punctata (<i>ARSE</i>)	100	100	Low	Low
Chondrodysplasia punctata (<i>CDPX2</i>)	100	100	93	29
Chronic granulomatous disease (<i>CYBB</i>)	High	94	10	Low
Duchenne and Becker muscular dystrophy (dystrophin)	96	65	22	Low
Emery-Dreifuss muscular dystrophy (Emerin)	100	58	Low	Low
Fabry disease (alpha-galactosidase)	100	84	70	4
Fragile X syndrome (<i>FMR1</i>)	>95	87	53	47
Glycerol kinase deficiency	56	78	Low	Low
Hemolytic anemia (<i>G6PD</i>)	41	10	Low	Low
Hemophilia A (<i>F8</i>) or Hemophilia B (<i>F9</i>)	100	68	10	Low
Hunter syndrome (<i>IDS</i>)	100	81	Low	Low
Hydrocephalus with aqueductal stenosis, X-linked spastic paraplegia (<i>LICAM</i>)	100	97	Low	Low
Ichthyosis, steroid sulfatase deficiency (<i>STS</i>)	100	90	24	Low
Kallmann syndrome (<i>KALI</i>)	100	83	67	Low
Kennedy disease (<i>AR</i>)	100	10	58	Low
Lesch-Nyhan syndrome (<i>HPRT</i>)	100	76	Low	Low
Lissencephaly and subcortical band heterotopia (<i>DCX</i>)	100	66	>90%	<5
Lowe oculocerebrorenal syndrome (<i>OCRL1</i>)	100	75	95	Low
Myotubular myopathy (<i>MTM1</i>)	100	95	Low	Low
Norrie disease (<i>NDP</i>)	100	30	Low	Low
Ocular albinism, Nettleship-Falls (<i>OAI</i>)	100	96	85	Low
Ornithine transcarbamylase deficiency (<i>OTC</i>)	100	50	20	Low
Oro-facial-digital syndrome 1 (<i>OFD1</i>)	100	100	100	33
Periventricular nodular heterotopia (<i>FLN1</i>)	100	<100	95	29
Pyruvate dehydrogenase deficiency (E1 α)	100	78	100	72
Vitamin D resistant rickets, hypophosphatemia (<i>PHEX</i>)	100	93	100	80
Xg blood group (<i>PBDX</i>)	100	35	100	100

 dominantní X-vázaná onemocnění

 recesivní X-vázaná onemocnění

Základní stádia embryonálního vývoje savců a epigenetika

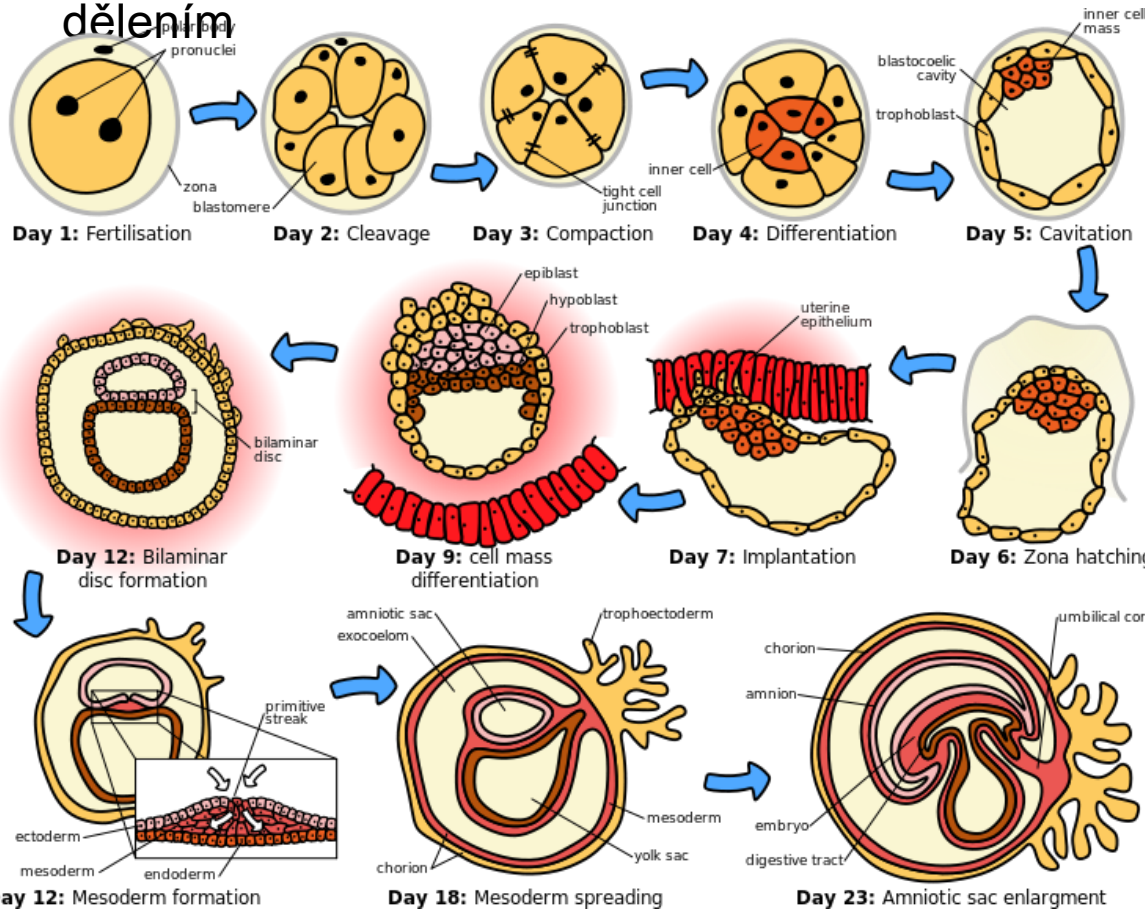
- **Gametogeneze** genomický imprinting
- **Oplození** paternální/maternální epigenetický imprinting
- **Aktivace embryonálního genomu**
- **Embryonální dělení** inaktivace chromozomu X
- **Časná polarizace embryí**
- **Gastrulace**
- **Neurální indukce**
- **Hlavní vlna organogeneze**

Polarizace embrya

Ustavení prostorové strukturní a funkční architektury embrya

předo-zadní (Anterior-Posterální) a dorzo-ventrální osy těla jsou ustaveny

1. diferenciace buněk, **2.** migrace buněk, a **3.** asymetrickým buněčným dělením



přední – anteriální
(cefalická, kraniální, hlava)

dorzální
(záda)

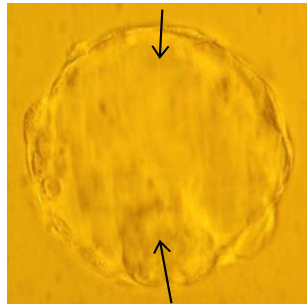
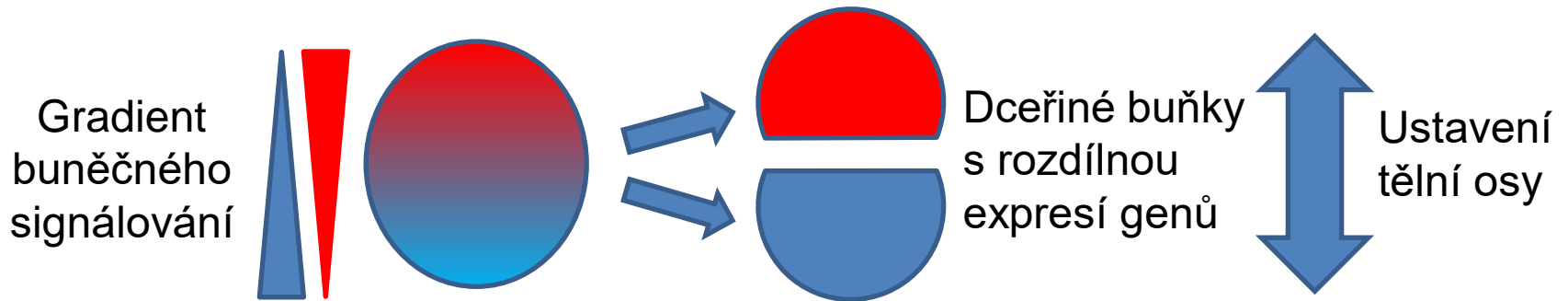
ventrální
(břicho)



zadní – posteriální
(kaudální, kostrč)

Polarizace embrya

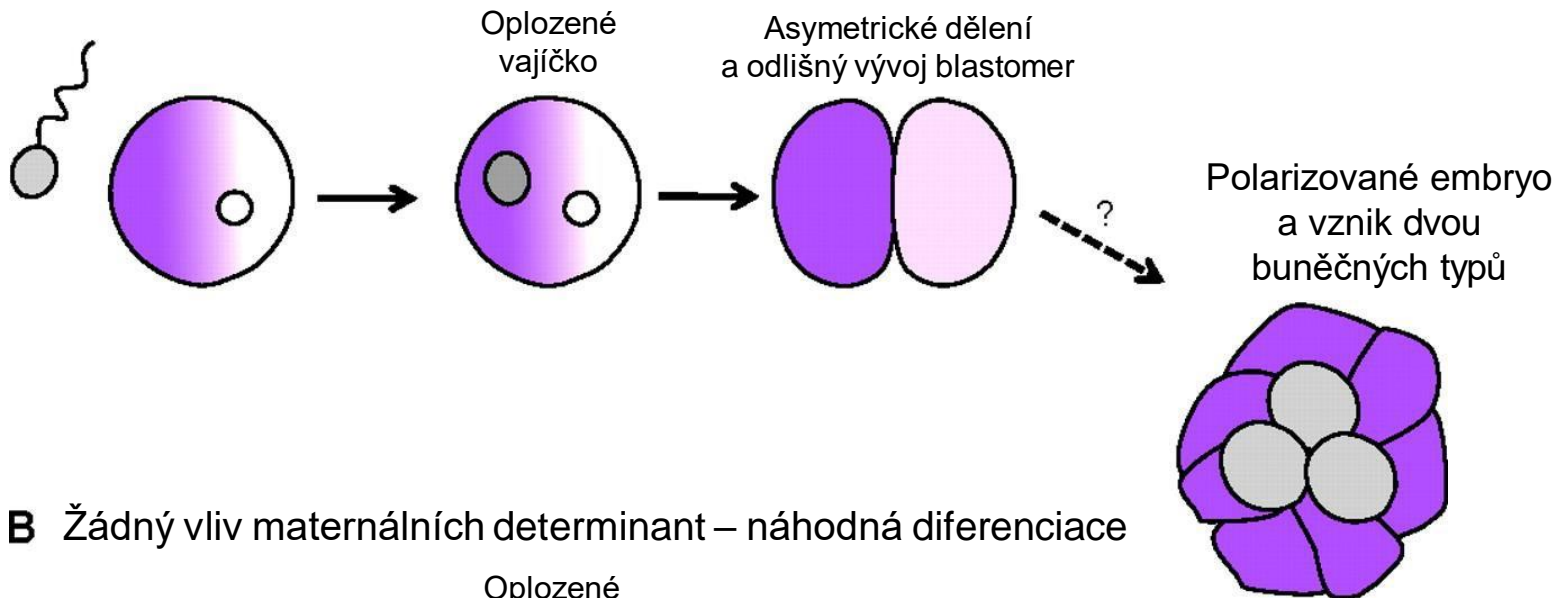
Polarizace: Proces ve vývoji, při kterém jednotlivé buňky (blastomery) získají vlastní identitu (odlišnou od ostatních blastomer)



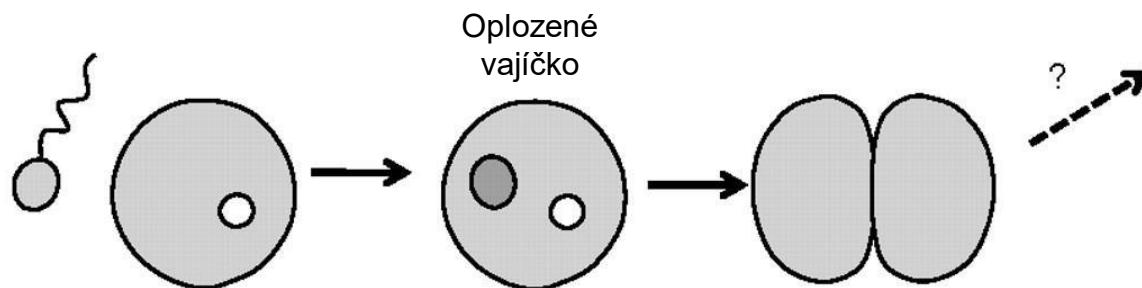
Dvě buňky (vzniklé diferenciací nebo asymerickým dělením) produkují také **různé receptory, signální přenašeče** a **transkripční faktory**, a proto také **reagují na jiné signály** – to umožňuje další diferenciaci do specializovanějších buněčných typů a formování složitějších struktur, tkání a orgánů.

Časná polarizace embrya – dva možné scénáře

A Definovaná lokalizace maternálních determinant (●)



B Žádný vliv maternálních determinant – náhodná diferenciacce

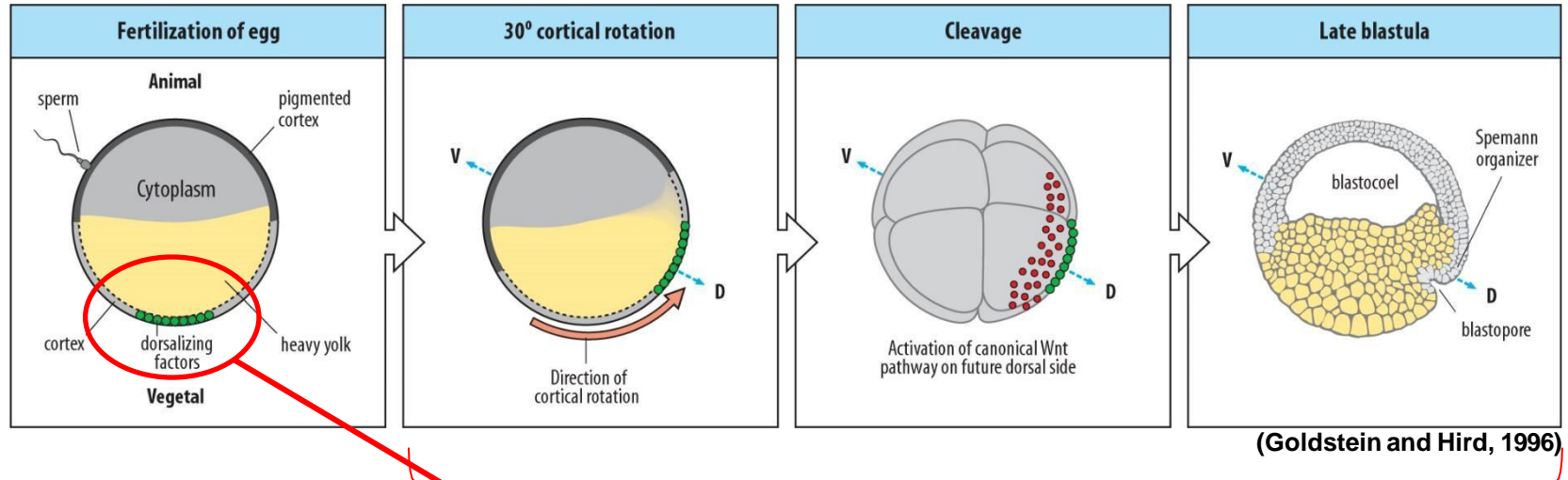


Adaptováno z: Takaoka K, and Hamada H Development 2012;139:3-14

Už první dělení zygoty je u mnoha modelových organismů polarizované (u lidského embrya jsou možnosti výzkumu omezené a tak není dostatek informací)

Dělení embrya a časná polarizace

Už od prvního mitotického dělení dochází k řízené (řízeně náhodné) asymetrii embrya



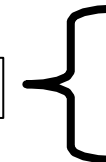
Dorzo-Ventrální osa předurčena (plasticky)

Principy polarizace:

- 1) Gravitace** – žloutek klesá na spodní stranu vajíčka spolu s mRNA a proteiny obsaženými ve vajíčku

Příklad: Bone morphogenic protein (BMP) antagonists

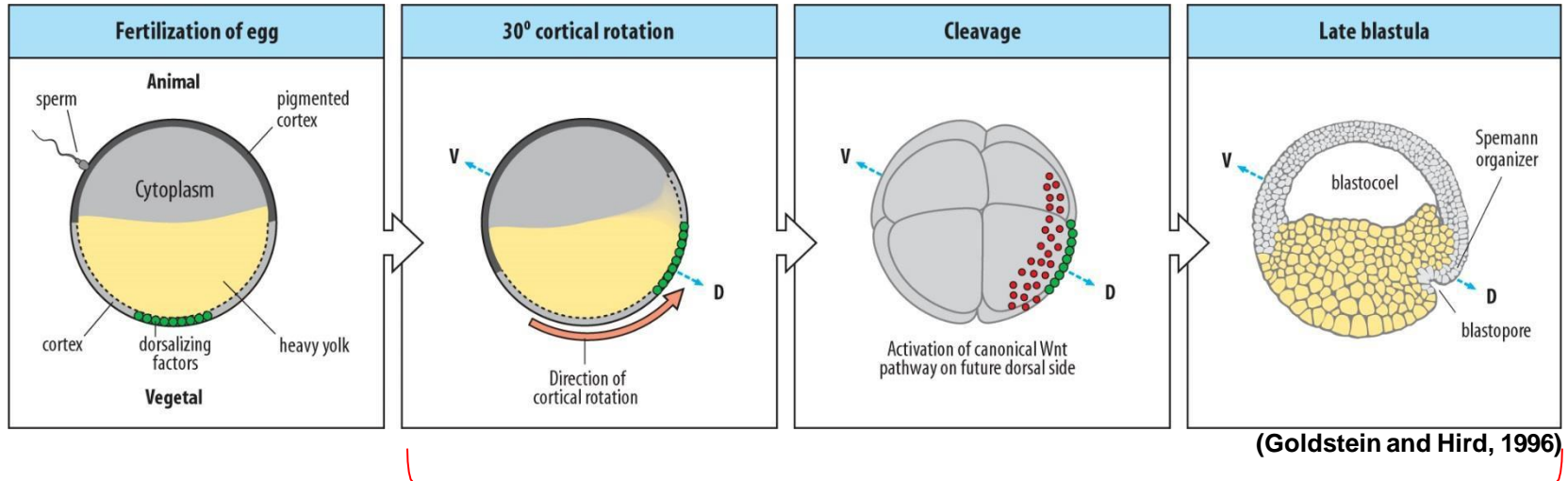
(kostní morfogenní protein)



**Dorzalizační
factory:**

**NOGGIN
CHORDIN
GREMLIN**

Dělení embrya a časná polarizace



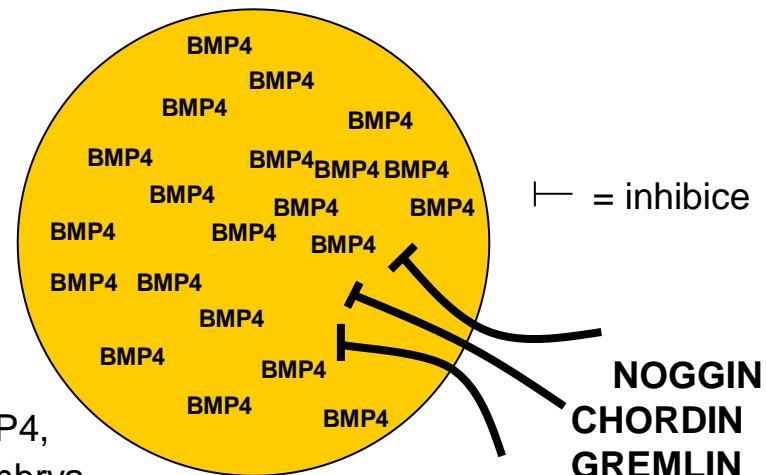
Dorzo-Ventrální osa předurčena (plasticky)

Principy polarizace:

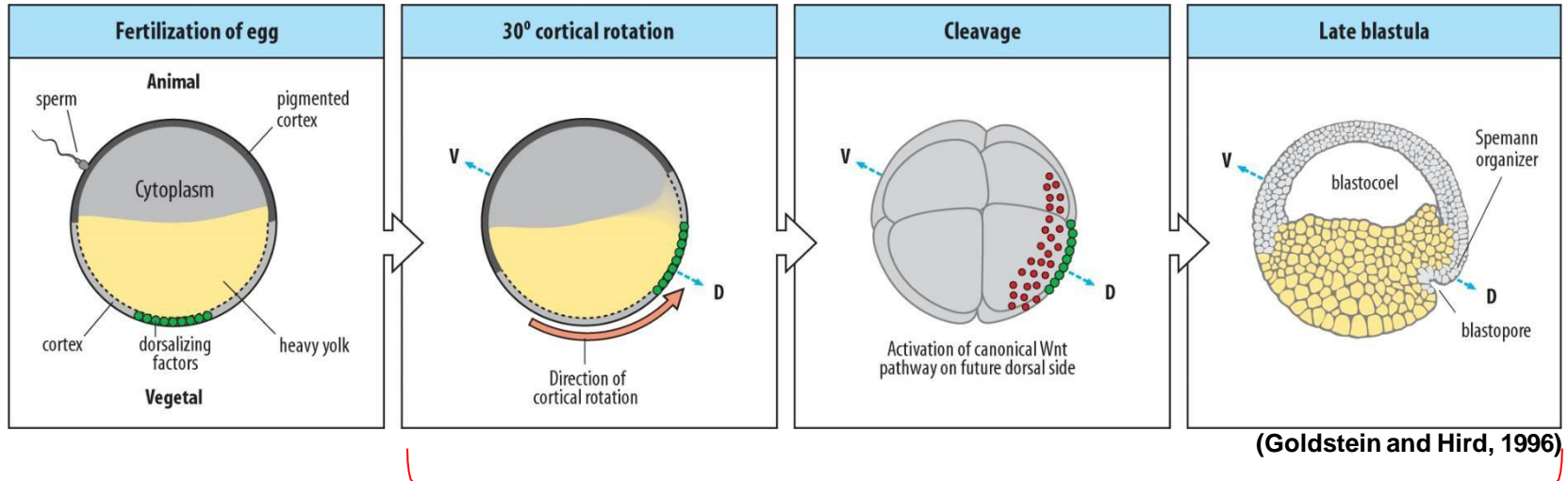
1) **Gravitace** – žloutek klesá na spodní stranu vajíčka spolu s mRNA a proteiny obsaženými ve vajíčku

Už prvním dělením zygoty tedy vzniknou dvě buňky s rozdílným obsahem mRNA a proteinů

- tam, kde jsou přítomné dorzalizační faktory a není přítomný BMP4, vznikne v budoucnu **neurální trubice** a **páteř** – dorzální strana embrya



Dělení embrya a časná polarizace

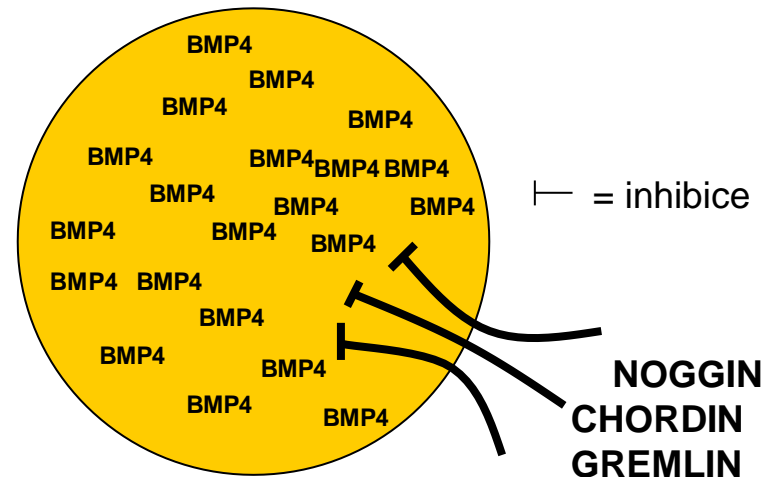


Dorzo-Ventrální osa předurčena (plasticky)

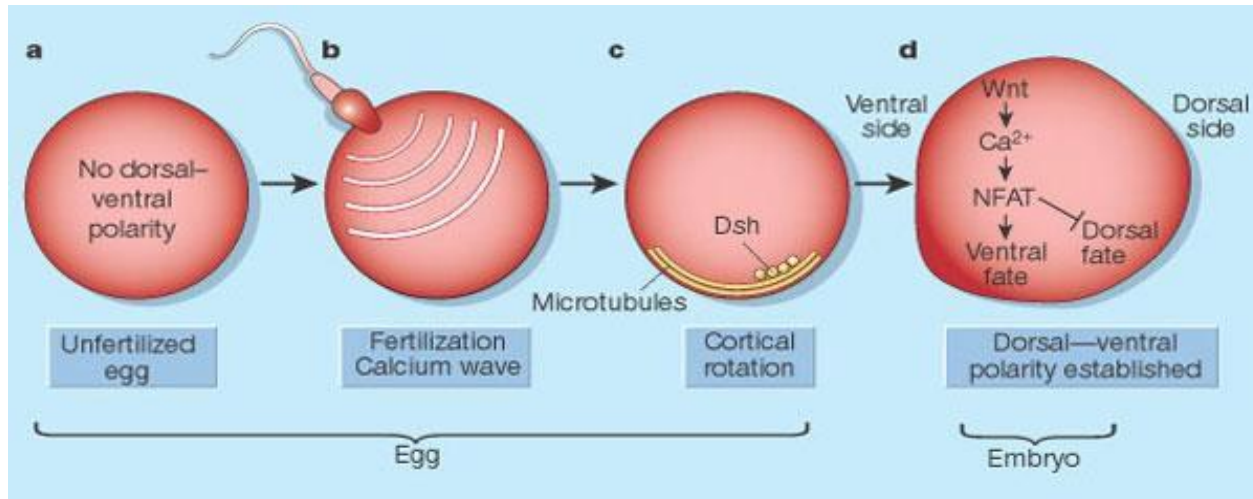
Principy polarizace:

1) **Gravitace** – žloutek klesá na spodní stranu vajíčka spolu s mRNA a proteiny obsaženými ve vajíčku

„Recyklace“ genu BMP4:
 V časném embryu BMP4 indukuje diferenciaci do trofoblastu
 Později BMP4 indukuje časnou neurulaci (tvorbu míchy a dorzalizaci embrya)
 Ještě později BMP4 inhibuje růst chrupavku a podporuje tvorbu kostí



Dělení embrya a časná polarizace



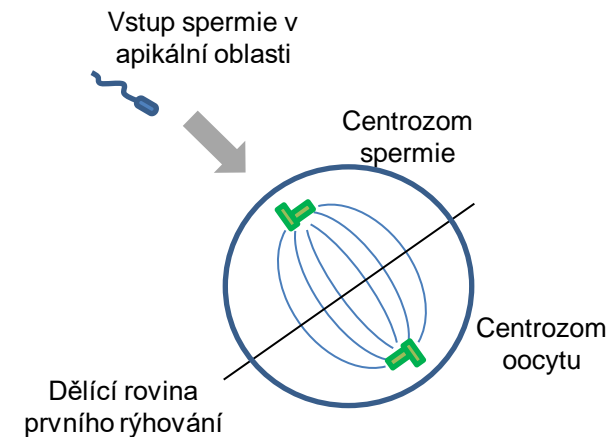
(Randall, Nature 2002)

Dorzo-Ventrální osa předurčena (plasticky)

Principy polarizace:

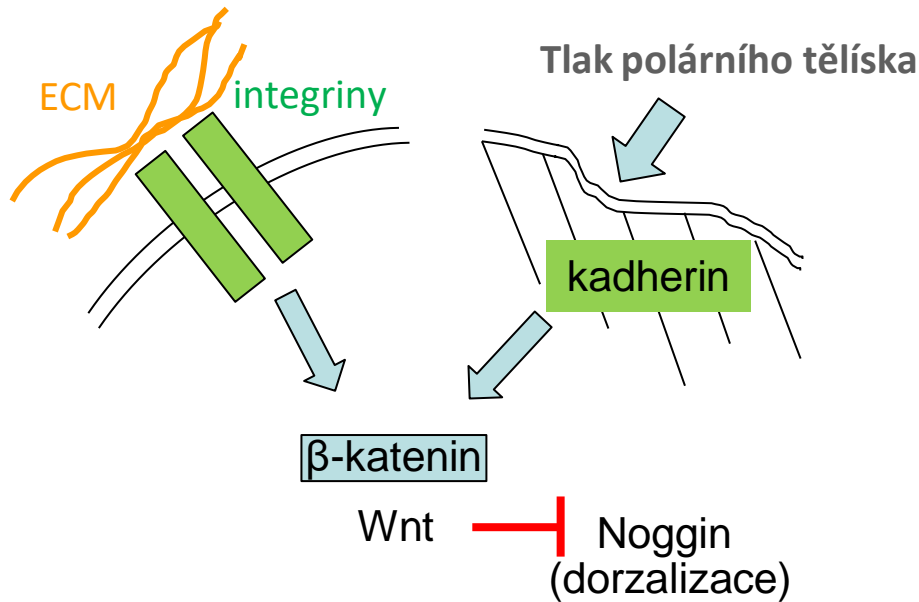
- 1) **Gravitace** – žloutek klesá na spodní stranu vajíčka spolu s mRNA a proteiny obsaženými ve vajíčku
- 2) Určení roviny prvního dělení tím, že spermie vnese do zygoty druhý **centrozom**

Lokalizace sperma vázajících glykoproteinů ZP v apikální části oocytu a vstup spermie z této strany předurčuje rovinu prvního rýhování..



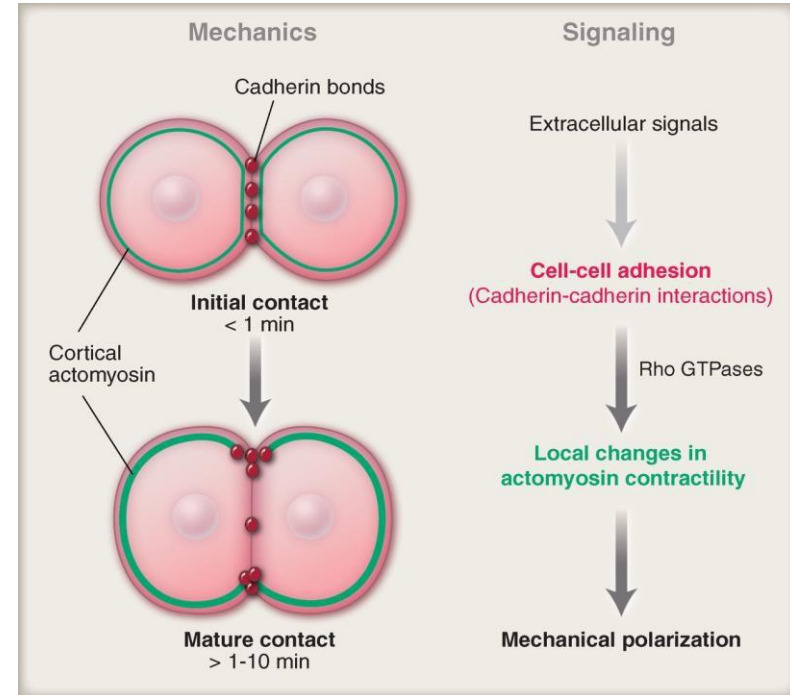
Adhezní molekuly spouštějí reorganizaci cytoskeletu a udržují polarizaci

Vazba na další blastomeru



Principy polarizace:

- 1) **Gravitace** – žloutek klesá na spodní stranu vajíčka spolu s mRNA a proteiny obsaženými ve vajíčku
- 2) Určení roviny prvního dělení tím, že spermie vnese do zygoty druhý **centrozom**
- 3) **Mechanicky** (deformace cytoskeletu např. tlakem polárního tělíska)



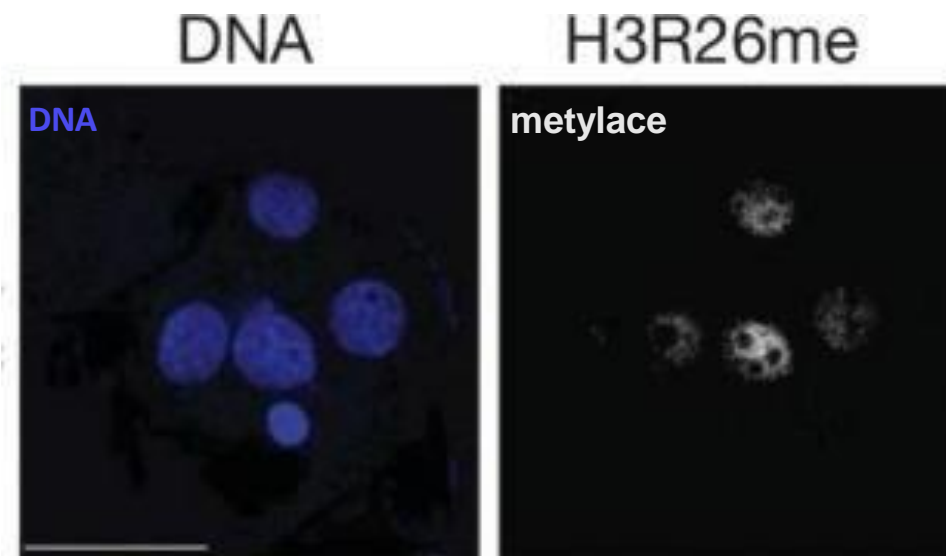
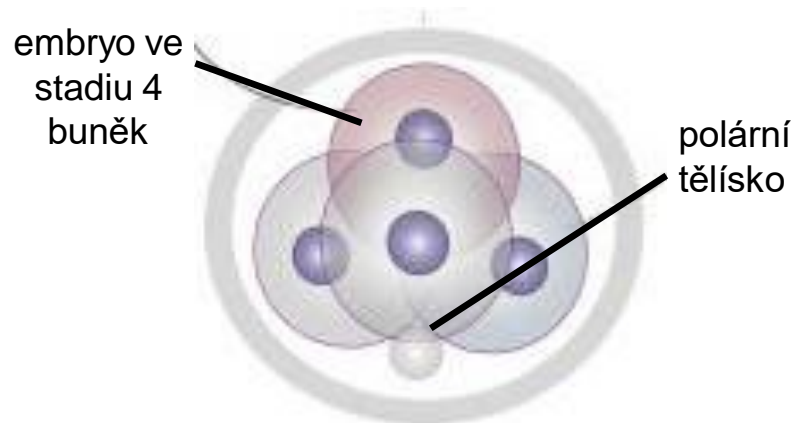
Amack & Manning, Science, 2012

Adhezní molekuly nejen drží buňky u sebe, ale **podílí se i na signalizaci:**

- **Integriny** – stabilizují **beta-katenin** po vazbě s **extracelulární hmotou (ECM)**
- **Kadherin** – uvolňují **beta-katenin** v důsledku přestavby cytoskeletu buňky

β -katenin – viz signálování WNT (slajd 56)

Následná epigenetická modifikace specifických histonů



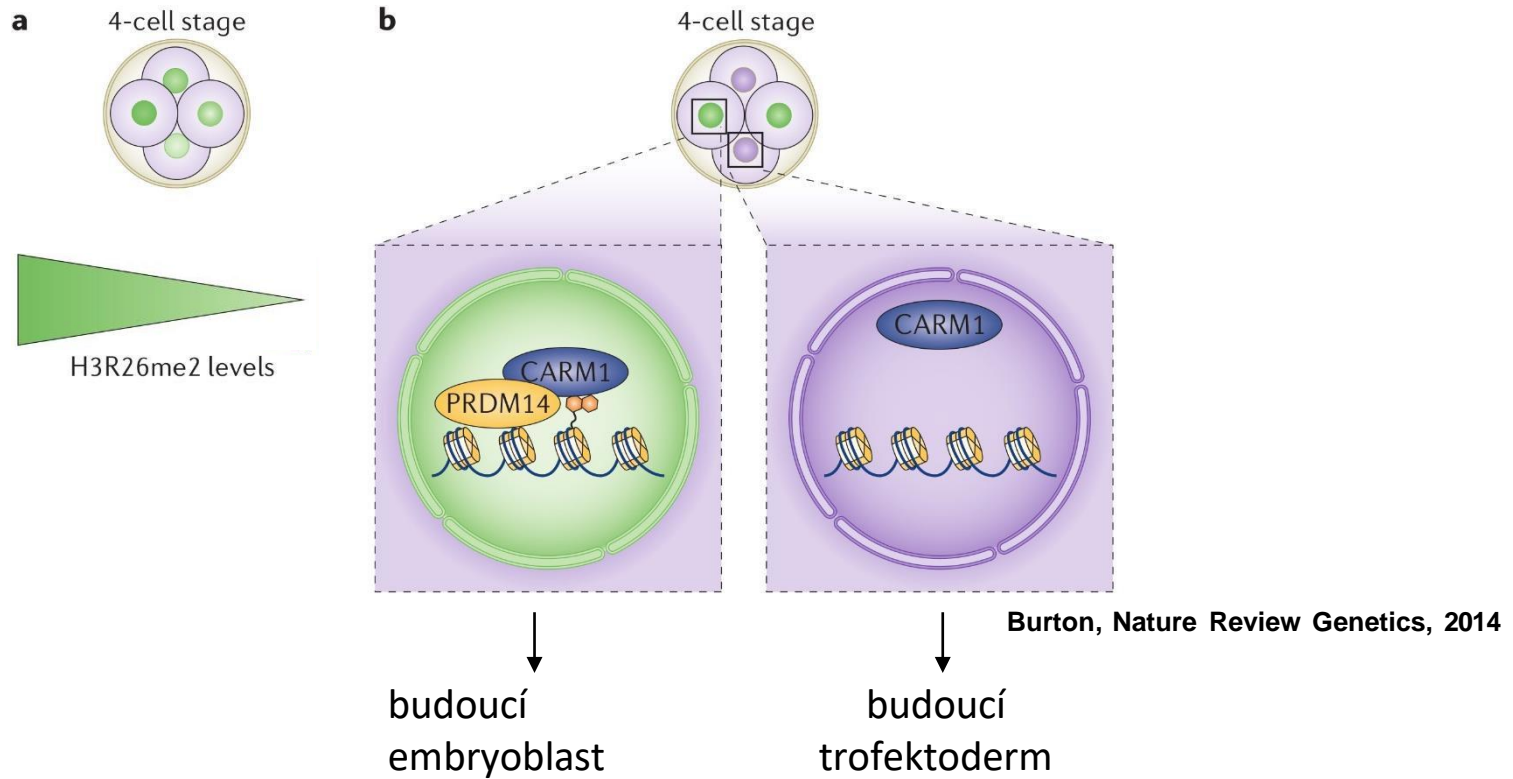
Torres-Padilla et al. Nature, 2007

Modifikace histonu H3 metylací specifických argininů:

- **metylace** histonu H3 je silnější v blastomerách, ze kterých vzniká **embryoblast**, a zanedbatelná v blastomerách, ze kterých vzniká extraembryonální tkáň **trofoblast**
- rozdíly v metylaci jsou patrné už ve 4-buněčném embryu

Prispívají epigenetické změny k polarizaci embrya a předurčení osudu buněk ???

Regulace genové exprese preimplantačního embrya



Gradient specifické metylace histonu H3 polarizuje časná embrya po prvním rýhování

Vysoká hladina H3R26me2:

- exprese PRDM14
- budoucí pluripotentní buňky embryoblastu

Nízká hladina H3R26me2:

- budoucí trofektoderm (diferencuje dříve než buňky embryoblastu)

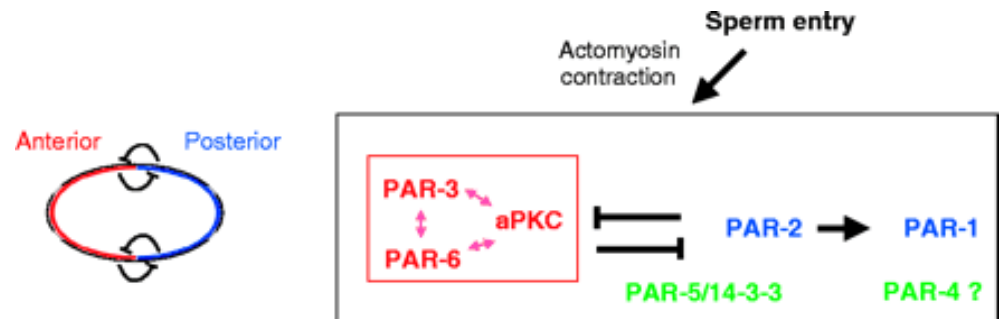
Dělení embrya a časná polarizace

Ustavení anterior-posteriální osy embrya:

- Gradient PAR1 je vytvořen vzájemným antagonistickým působením PAR2 a PAR6

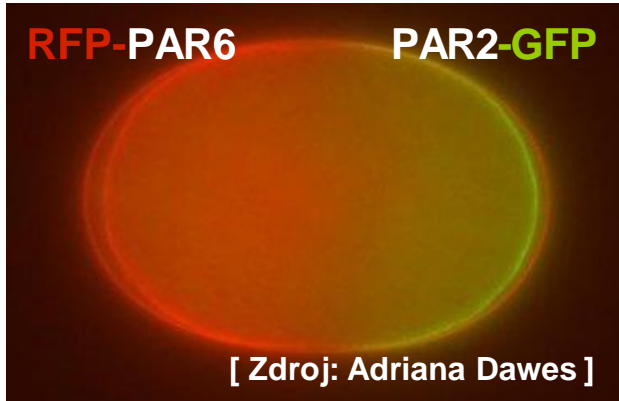


anterior-posteriální osa
(určující umístění hlavové a ocasní strany budoucího embrya)

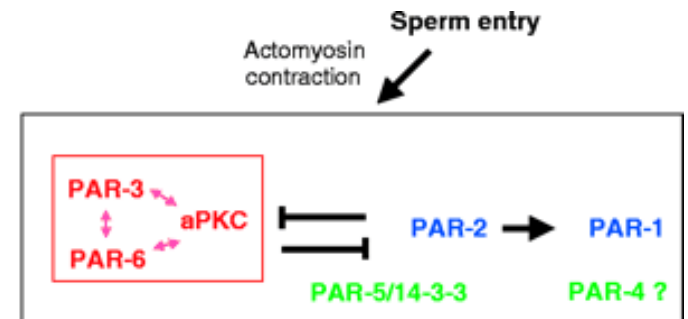
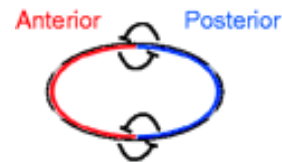
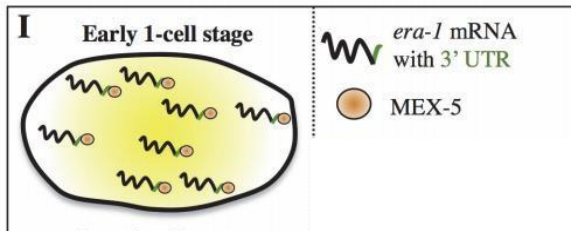


Dělení embrya a časná polarizace

Ustavení anterior-posteriální osy embrya:



- Gradient PAR1 je vytvořen vzájemným antagonistickým působením PAR2 a PAR6
- Protein Mex5 váže maternální transkripty



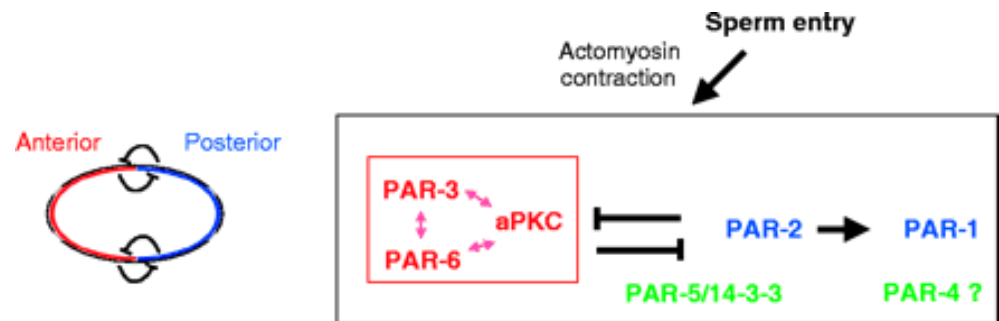
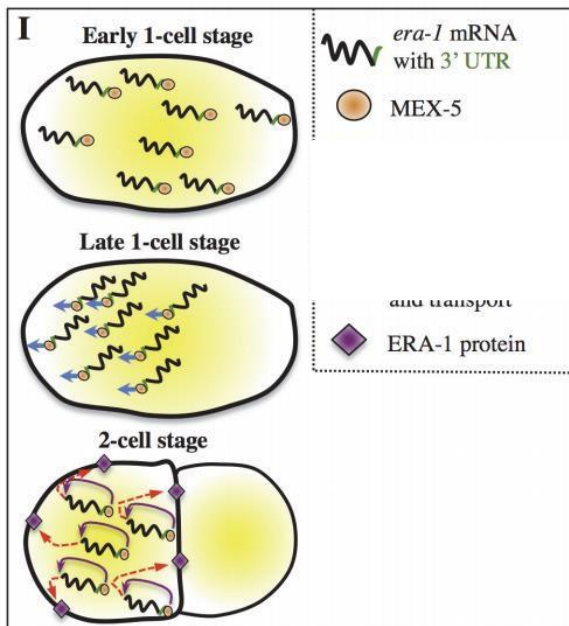
Suzuki, Journal of Cell Science, 2006

Dělení embrya a časná polarizace

Ustavení anterior-posteriální osy embrya:



- Gradient PAR1 je vytvořen vzájemným antagonistickým působením PAR2 a PAR6
- Protein Mex5 váže maternální transkripty
- Kináza PAR1 fosforyluje Mex5
- Fosforylovaná forma mRNA-Mex5 má nižší mobilitu než nefosforylovaná forma
- Výsledek – hromadění maternálního transkriptu v místě aktivní PAR1

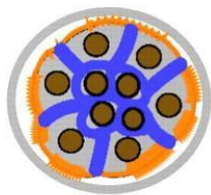
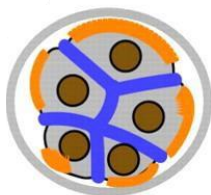


Geny definující polarizaci/diferenciaci embrya

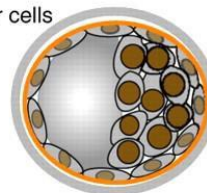
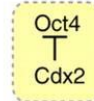
Maternální determinace vs. náhodná diferenciace – podílí se obě

Maternálně determinované

(A) Homogenní exprese
maternálního a
zygotického genu
Oct4

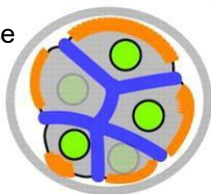


Repression in outer cells

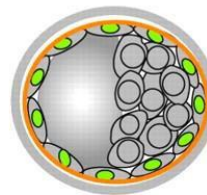
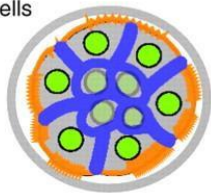
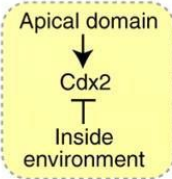


Specifická exprese
v epiblastu
(budoucí **embryo**)

(B) Apikálně
determinovaná exprese
Cdx2

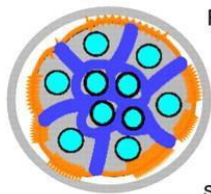


Restriction to outer cells

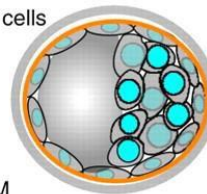


Specifická exprese
v **trofektodermu**
(budoucí placenta)

(C) Stochastická
exprese genu
Nanog



Repression in outer cells

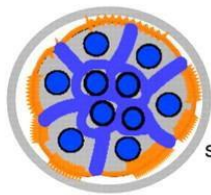
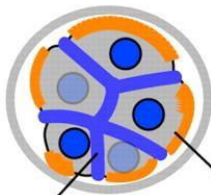


Náhodná exprese
v epiblastu
(budoucí **embryo**)

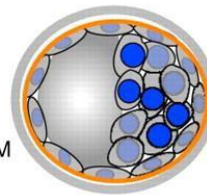
Repression in
subpopulation of ICM



(D) Stochastická
exprese genu
Gata6



Expression in
subpopulation of ICM



Náhodná exprese
v epiblastu
(budoucí **embryo**)

Bazolaterální a apikální exprese adhezních proteinů

Náhodná polarizace

Časná polarizace embryí *versus* plasticita blastomer

(Kdy dochází k prvnímu asymetrickému dělení?)

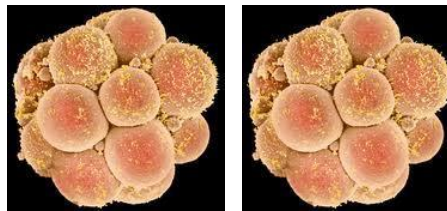
Jedna blastomera 2- až 4-buněčného embrya může vytvořit úplnou a normální blastocystu – **plasticita**



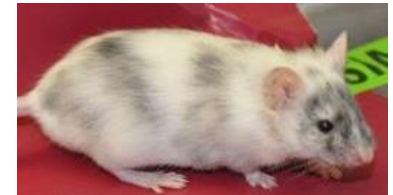
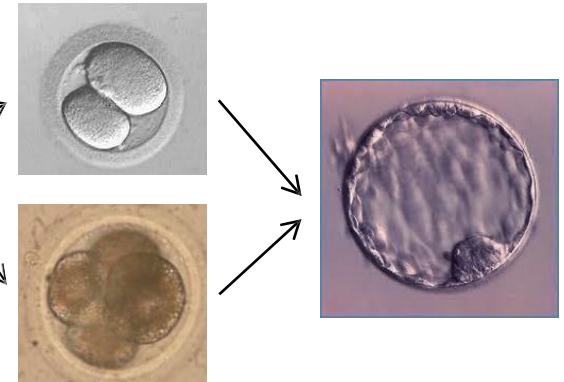
Jednotlivé blastomery nebo dokonce buňky epiblastu se po vnesení do časného embrya jiného jedince podílí na tvorbě tohoto nového jedince – tvoří chiméru



injekční vnesení blastomer



agregační chiméra



Genetická chiméra vzniklá z buněk jednoho druhu



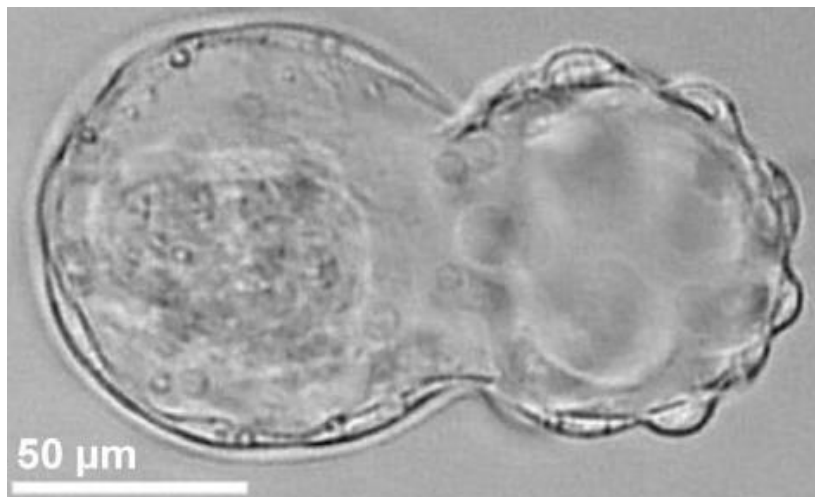
Mezidruhové chiméry

..plasticita blastomer má mnoho aplikací v biomedicíně..

Plasticita blastomer a vznik monozygotických dvojčat

zona pellucida

blastocysta



<https://embryology.med.unsw.edu.au>

Blastocysta opouštějí degenerující *zonu pellucidu* a připravují se na implantaci do děložní sliznice.

- pokud v této fázi dojde k rozpadu blastocysty– vzniknou dvě **geneticky identická** embrya – **monozygotická (identická) dvojčata**

(blastomery blastocysty jsou dostatečně plastické a vytvoří plně vyvinuté organizmy)

Identická (monozygotická) dvojčata

Z vaječníku se uvolňuje **jedno vajíčko**, a je oplodněno jednou spermií

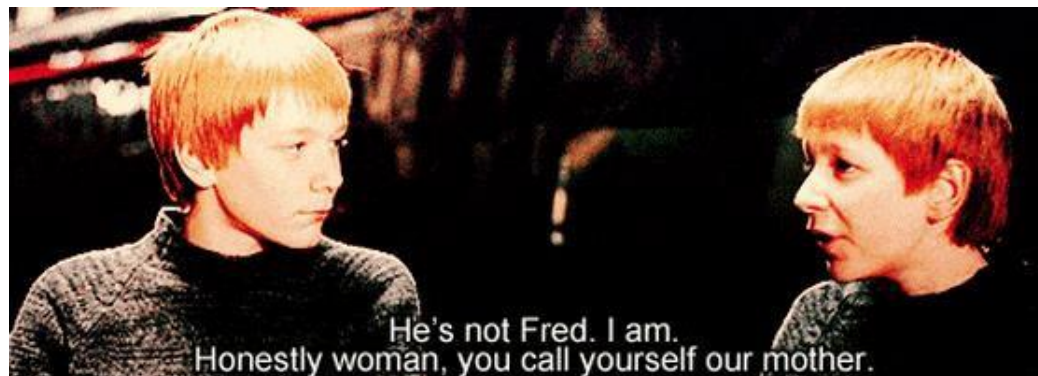
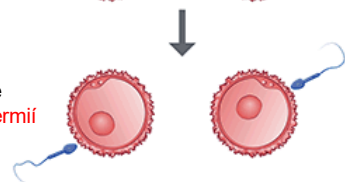


Neidentická (dizygotická) dvojčata

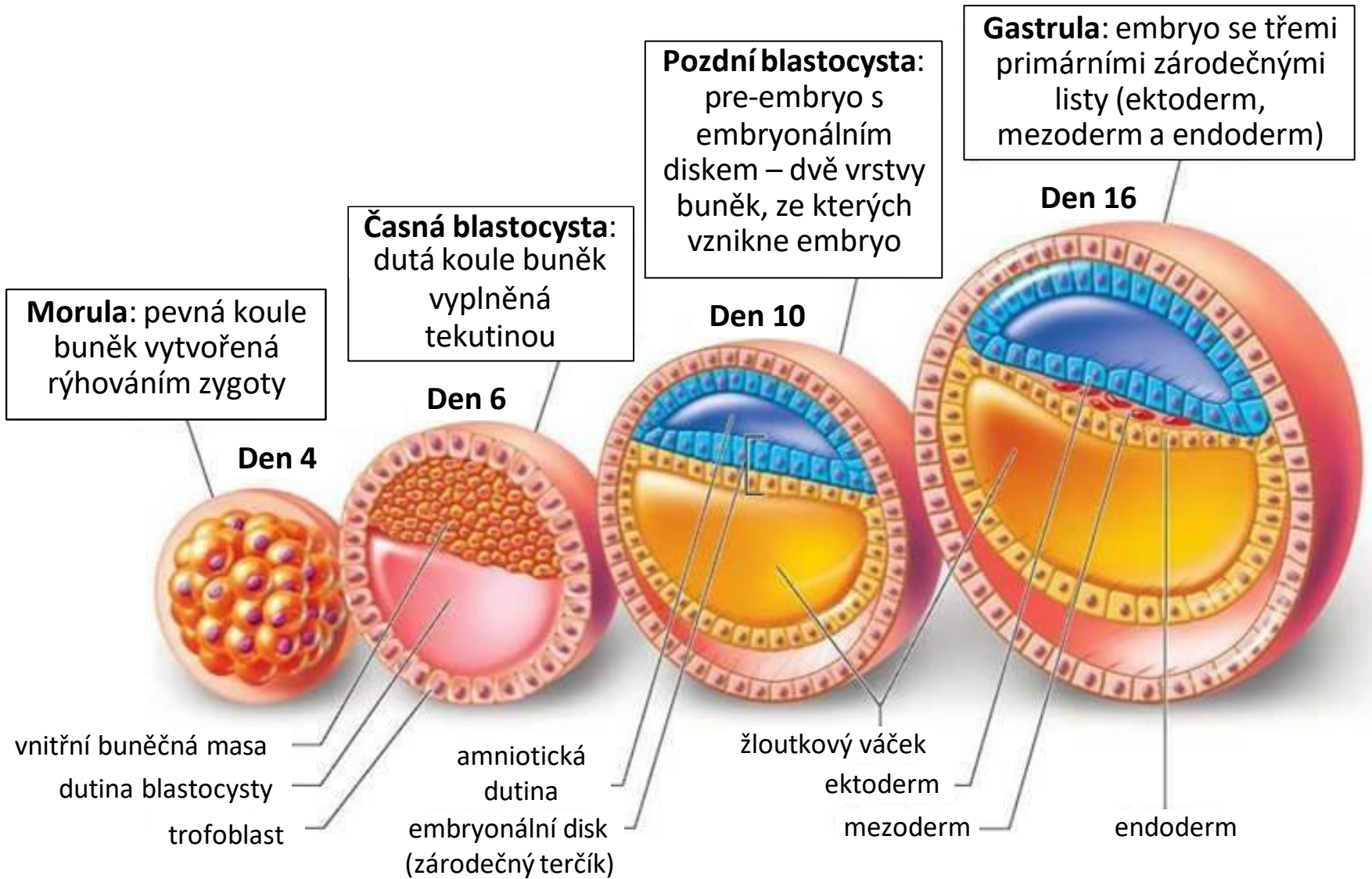
Z vaječníku se uvolňují **dvě vajíčka**



Každé vajíčko je oplodněno **jinou spermií**



Další diferenciací a migrací buněk se tvoří nejprve dvě a poté tři zárodečné vrstvy – ektoderm, mezoderm a endoderm



Původ tkání a orgánů z blastocysty

Primitivní ektoderm

Primitivní endoderm

Trofektoderm

GASTRULACE

Ektoderm

- **epidermis** kůže, **vlas**y, **nehty**, **zuby**
- **oční čočka**, rohovka, sítnice
- **nervový systém** (mozek, mícha, nervy)
- dřeň nadledvin
- prsní žlázy

Mezoderm

- **svaly**, **kosti**, **chrupavka**, **pojivová tkáň**
- tuková tkáň, **dermis** kůže, většina urogenitálního traktu
- **oběhová soustava**, **lymfatický systém**
- notochord, meta-, mezo-, pro-nefros)
- hlavový mezenchym

Endoderm

- **epiteliální výstelky** vnitřních orgánů
- **trávicí soustava** (hltan, jícn, žaludek, játra, slinivka, střeva, atd.), prvostřevo
- **dýchací soustava** (plíce, epitheliální výstelka trachey a průdušek)
- močový měchýř, štítná žláza a příštítná tělíska, epitel sluchové trubice

Zárodečné buňky

- gamety

Viscerální endoderm

Parietální endoderm

Polární trofektoderm

Extraembryonální ektoderm

Choriový ektoderm

Trofoblast placenty

Placenta

Murální trofektoderm

Ektoplacentální konus

Obří buňky trofoblastu

Parietální

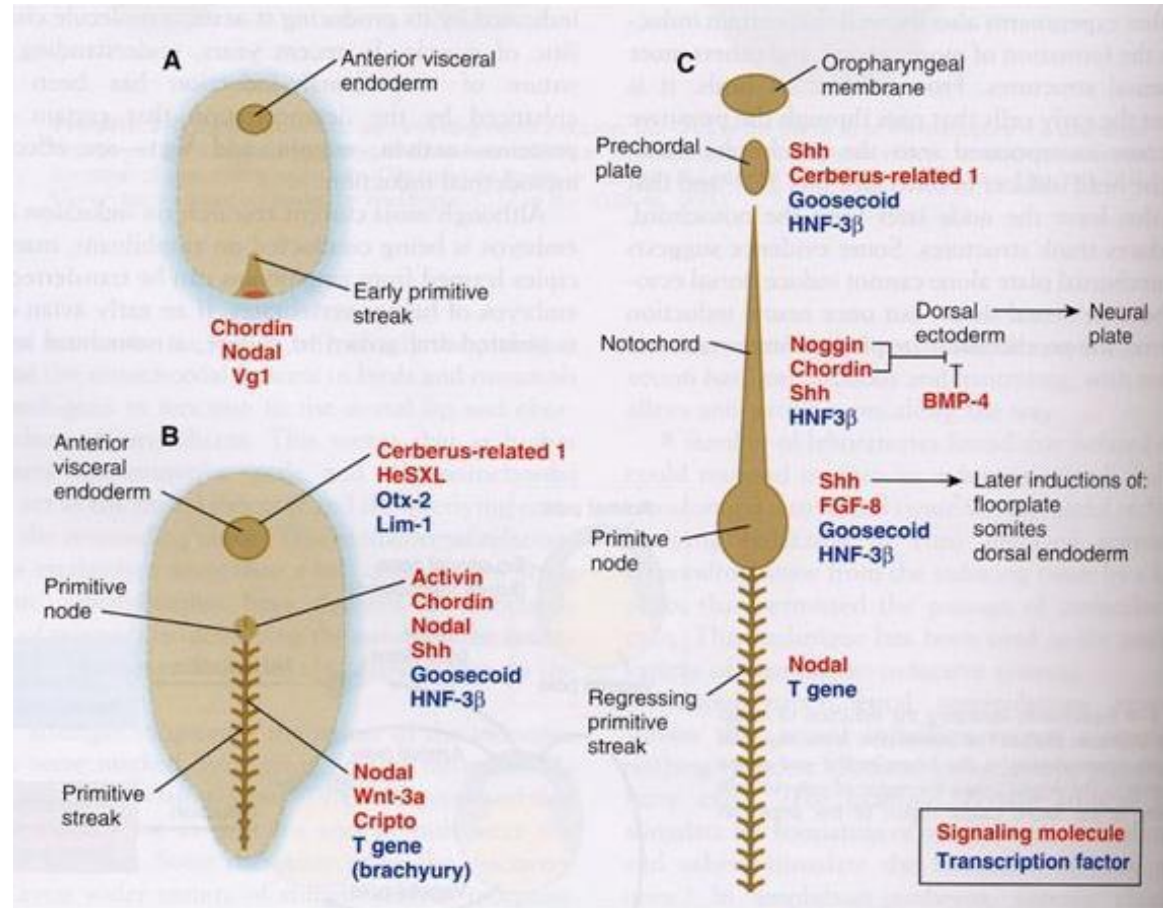
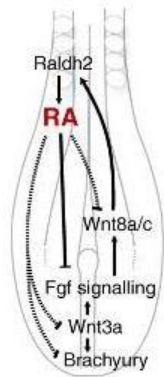
žloutkový

váček

Předtím, než dojde k implantaci blastocysty, diferencují buňky **vnitřní buněčné masy** do primitivního ektodermu (epiblastu), ze kterého později vzniknou vešteré tkáně embrya, a do primitivního endodermu (hypoblastu), který přispívá k tvorbě extraembryonálních tkání. Hlavním zdrojem budoucích extraembryonálních tkání (například placenty) je nicméně trofektoderm (pocházející z **trofoblastu**).

Morphogeny v průběhu embryonálního vývoje

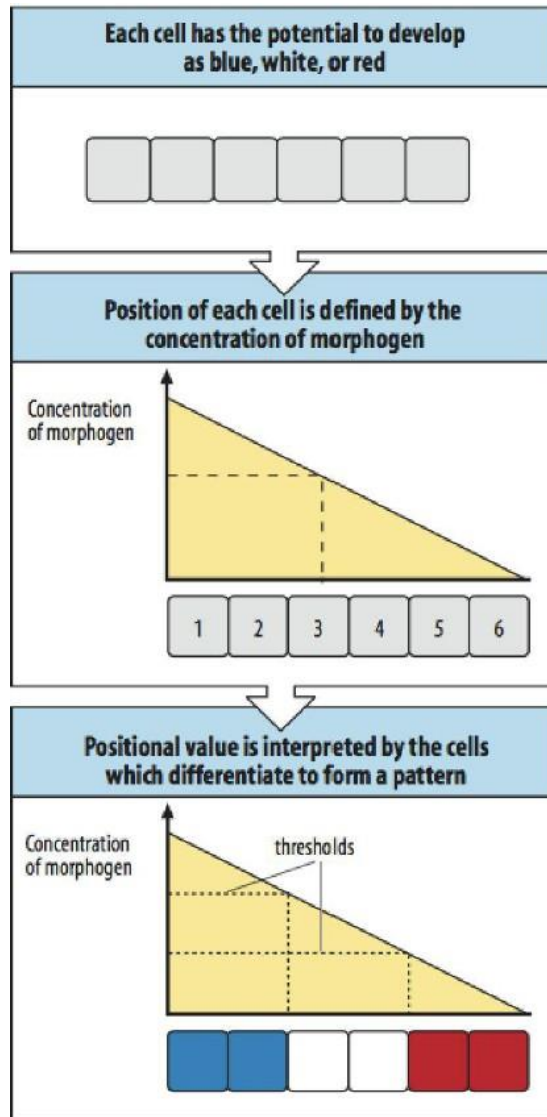
Extracelulární matrix; ligandy FGF, BMP, WNT, NOTCH, SSH signálování a jejich inhibitory, Retinová kyselina, inhibitory histone deacetyláz (kyselina askorbová) a mnoho dalších..



Jak mohou organizovat vývoj složitého organismu?

Morphogeny v průběhu embryonálního vývoje

Model francouzské vlajky



Různé transkripční programy jsou aktivovány v závislosti na koncentraci morfogenu..

Morfogen – signální molekula vyskytující se v různých částech embrya v různé koncentraci (většinou gradient)

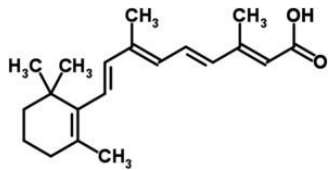
**-je schopný indukovat buněčné signálování
-a tedy expresi genů kontrolujících vývoj mebrya**

Různé koncentrace – různé geny

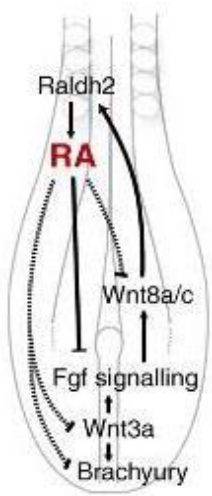
Příklady: Retinová kyselina, WNT, Shh, TGF-b, FGF)

Osud kmenových buněk v morfogenezi: Morphogeny a tvorba organizéru

Retinoic acid



AP axis establishment



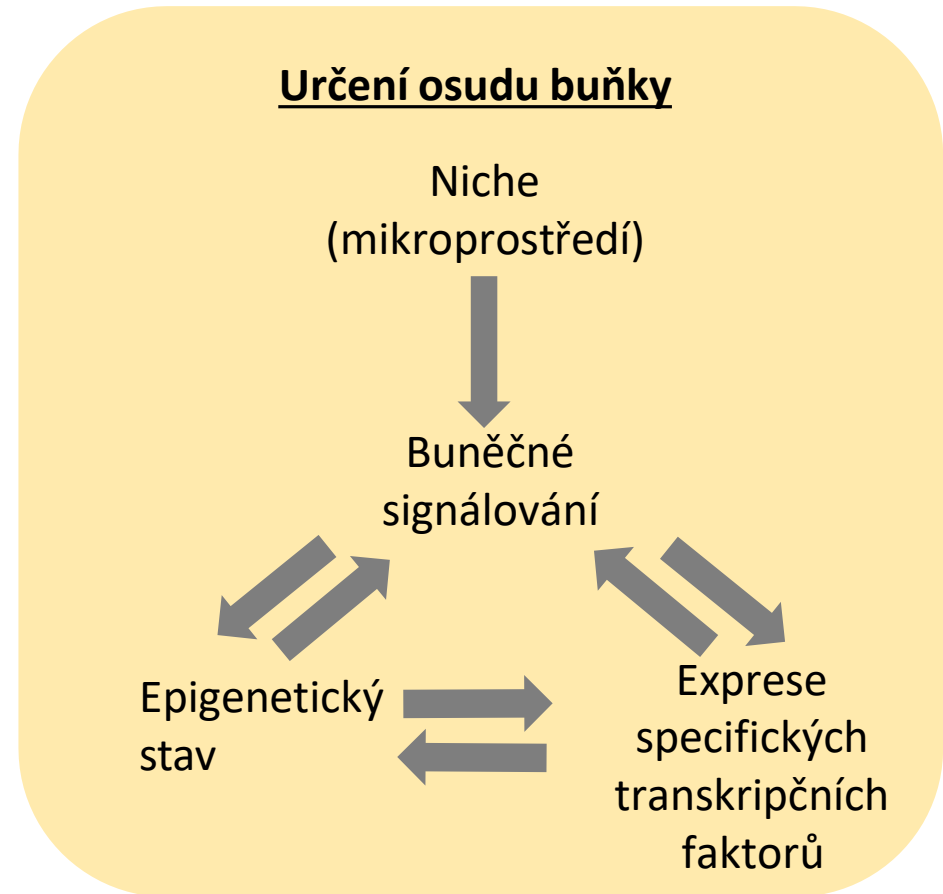
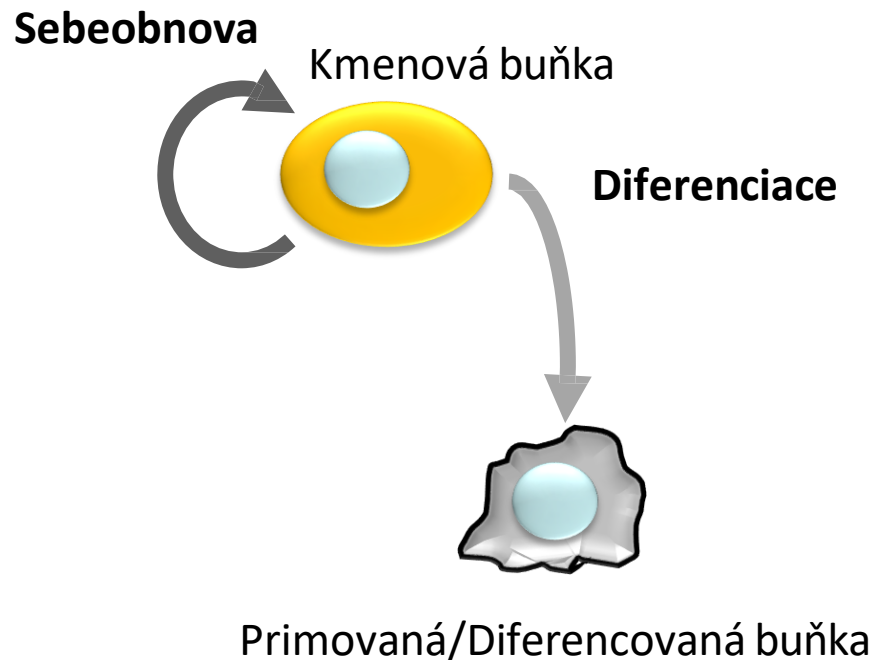
Morfogeny tedy ovlivňují buněčné signálování...

Úvod do ontogeneze člověka

- I. Úvod do vývojové biologie
- II. Molekulární podstata řízení vývoje savců v normě a patologii
- III. Růstové faktory a přenos signálu ve vývoji a patologii
- IV. Morfogeny a hlavní transkripční faktory v savším vývoji a patologii

Určení osudu buněk a jejich diferenciace

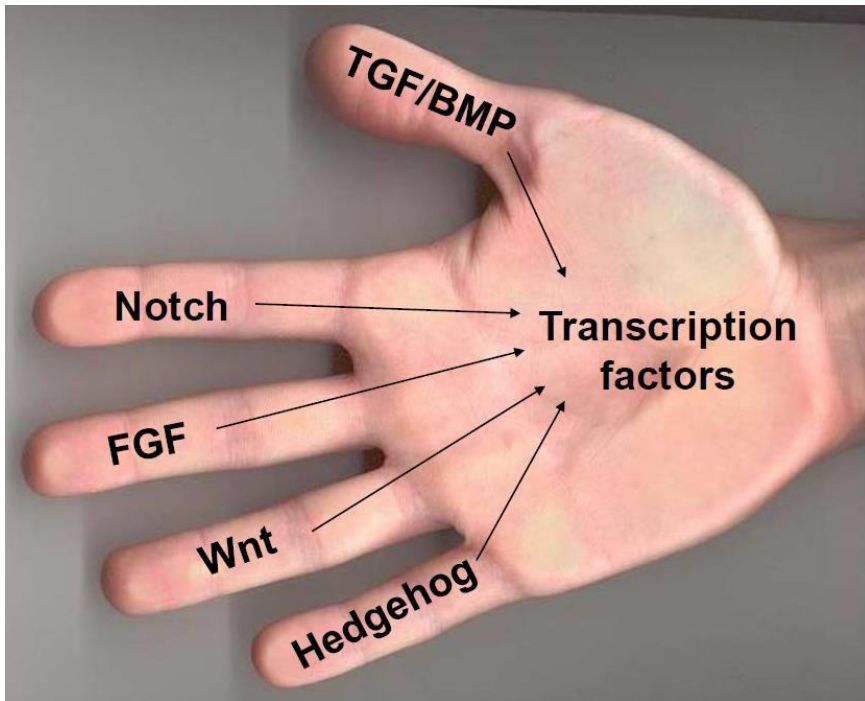
Osud kmenové buňky je určen mikroprostředím (niche) cílového orgánu, nebo prostorově časovou lokalizací v embryu



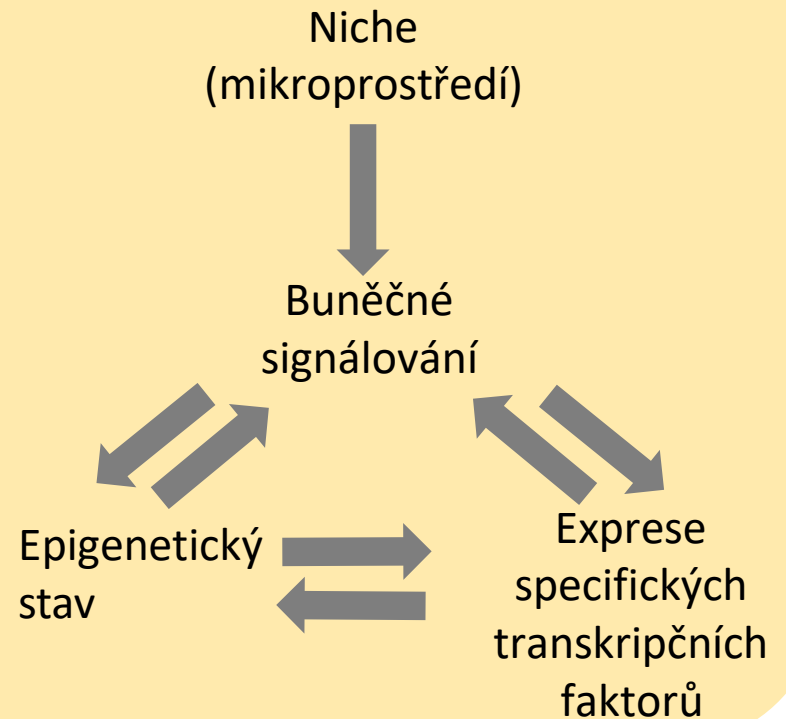
Jaké signálování ?????

Určení osudu buněk a jejich diferenciaci

5 základních vývojových signálních drah přenáší signál z niche do jádra buňky

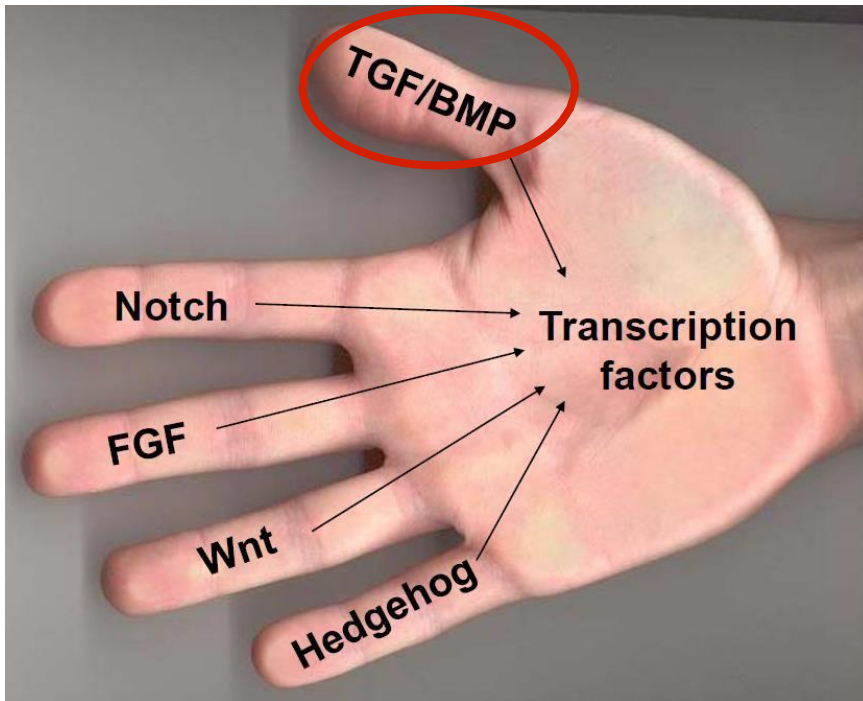


Určení osudu buňky

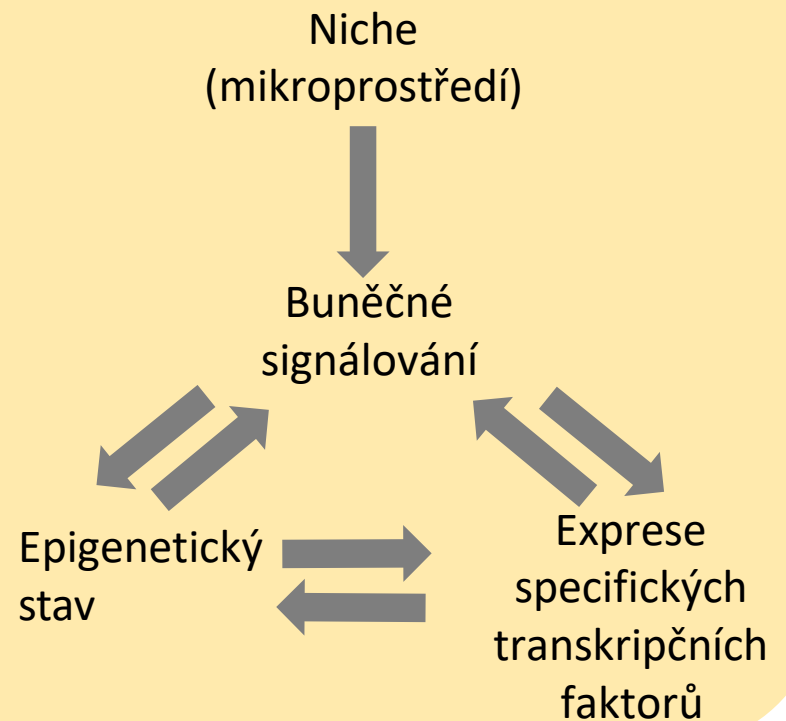


Určení osudu buněk a jejich diferenciace

5 základních vývojových signálních drah přenáší signál z niche do jádra buňky



Určení osudu buňky



Mutace signální dráhy BMP a TGFβ v patologii

TGF-β/BMP mutations involved in bone diseases

Gene	Disease	MIM	Bone defects	Reference
<i>Acvr1</i>	Fibrodysplasia ossificans progressive (FOP)	135000	Ectopic bone formation	91,92,231-233
<i>Bmp2</i>	Brachydactyly type A2 (BDA2)	112600	Hypoplasia of finger	239
<i>Bmpr1b</i>	Brachydactyly type A2 (BDA2)	112600	Hypoplasia of finger	235,236
<i>Gdf5</i>	Brachydactyly type A2 (BDA2)	112600	Hypoplasia of finger	237,238
	Symphalangism		Joint disorder	238
	Chondrodysplasia, Greve type	200700	Severe abnormality of the limbs and limb joints	240
	Osteoarthritis, susceptibility	612400	Hip osteoarthritis	16
<i>Smad4</i>	Myhre syndrome	139210	Short stature, facial dysmorphism	118,241
<i>Nog</i>	Brachydactyly type B 2 (BDB2)	611377	Distal symphalangism, multiple joint fusion of distal bones	242
	Tarsal-Carpal coalition syndrome (TCC)	186570	Brachydactyly, multiple joint fusion of distal bones	243
	Stapes ankylosis with broad thumbs and toes	184460	Stapes ankylosis with broad thumbs and toes, hyperopia, and skeletal anomalies	244
	Segregating proximal symphalangism (SYM1)	185800	Multiple joint fusion of distal bones	138
	Segregating multiple synostoses syndrome (SYNS1)	186500	Multiple joint fusion of distal bones	138
	<i>Tgfb1</i>	Camurati-Engelmann disease (CED)	131300	Osteosclerosis affecting diaphysis of long bone, hyperostosis, bone pain
<i>Smad3</i>	Aneurysms osteoarthritis (AOS)	613795	Mild craniofacial feature, skeletal	15,60,61

Mutace signální dráhy BMP a TGFβ v patologii

TGF-β/BMP mutations involved in bone diseases

Gene	Disease	MIM	Bone defects	Reference
<i>Acvr1</i>	Fibrodysplasia ossificans progressive (FOP)	135000	Ectopic bone formation	91,92,231-233
<i>Bmp2</i>	Brachydactyly type A2 (BDA2)	112600	Hypoplasia of finger	239
<i>Bmpr1b</i>	Brachydactyly type A2 (BDA2)	112600	Hypoplasia of finger	235,236
<i>Gdf5</i>	Brachydactyly type A2 (BDA2)	112600	Hypoplasia of finger	237,238
	Symphalangism		Joint disorder	238
	Chondrodysplasia, Greve type	200700	Severe abnormality of the limbs and limb joints	240
	Osteoarthritis, susceptibility	612400	Hip osteoarthritis	16
<i>Smad4</i>	Myhre syndrome	139210	Short stature, facial dysmorphism	118,241
<i>Nog</i>	Brachydactyly type B 2 (BDB2)	611377	Distal symphalangism, multiple joint fusion	242



(CED)

bone, hyperostosis, bone pain

Smad3 Aneurysms osteoarthritis (AOS) 613795 Mild craniofacial feature, skeletal

[15,60,61](#)

doi: [10.1038/boneres.2016.9](https://doi.org/10.1038/boneres.2016.9)

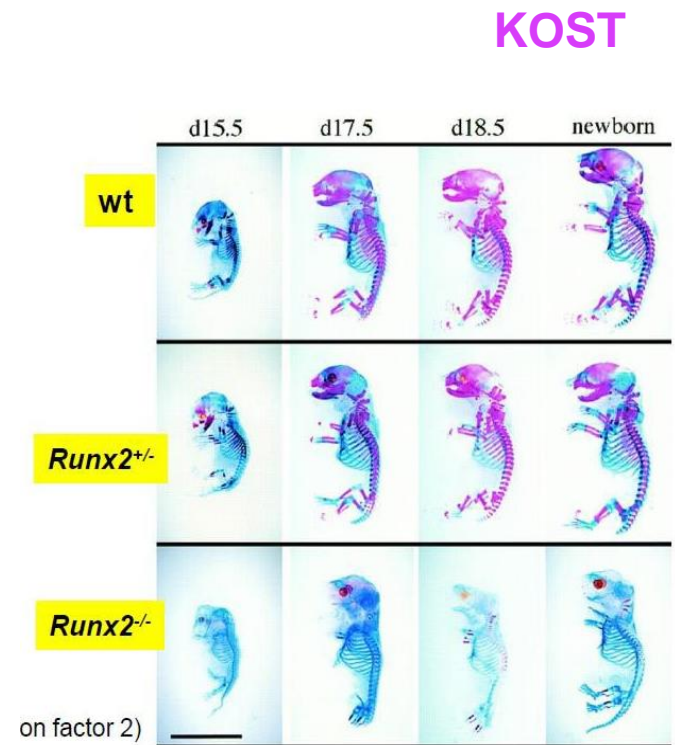
Mutace signální dráhy BMP a TGFβ v patologii

Transkripční faktor RUNX2 je zodpovědný za osifikaci

Sučástí rodiny transkripčních faktorů RUNT

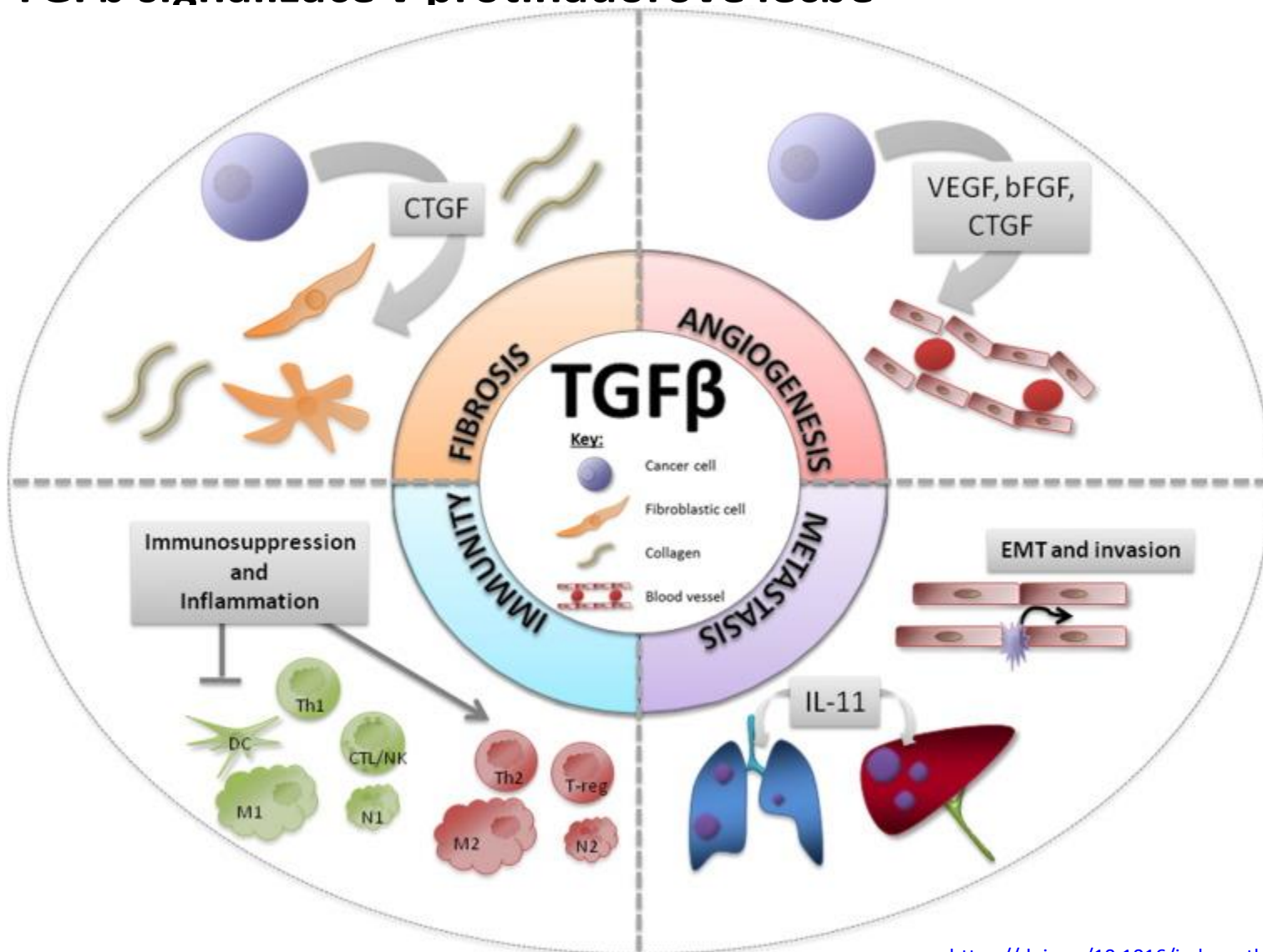
Absence RUNX2:

- chrupavka neosifikuje
- letální krátce po narození (chrupavčitá žebra nejsou schopna podpory dýchání)



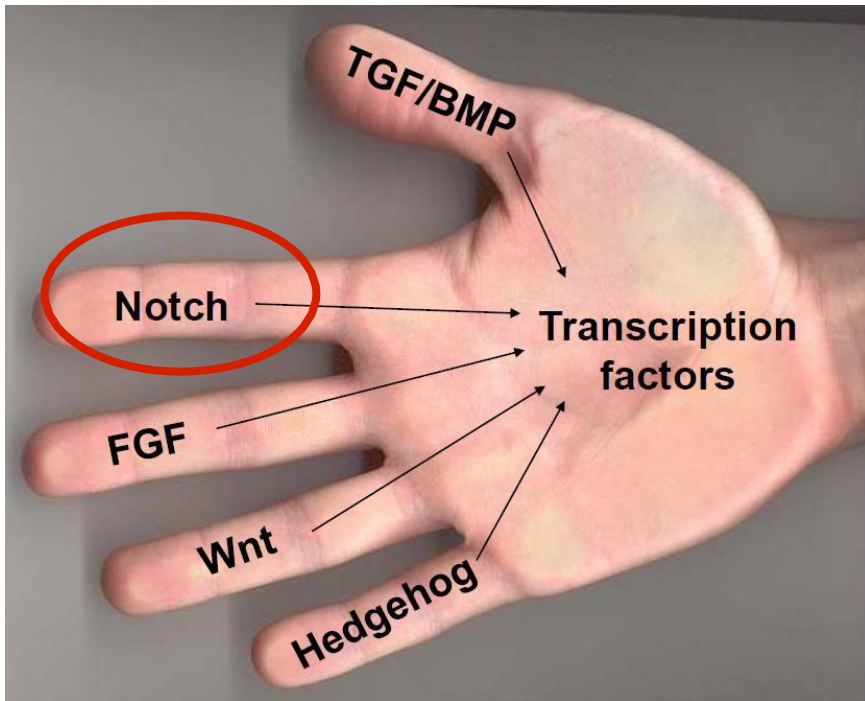
Mutace signální dráhy BMP a TGFβ v patologii

Cílení TGFβ signalizace v protinádorové léčbě

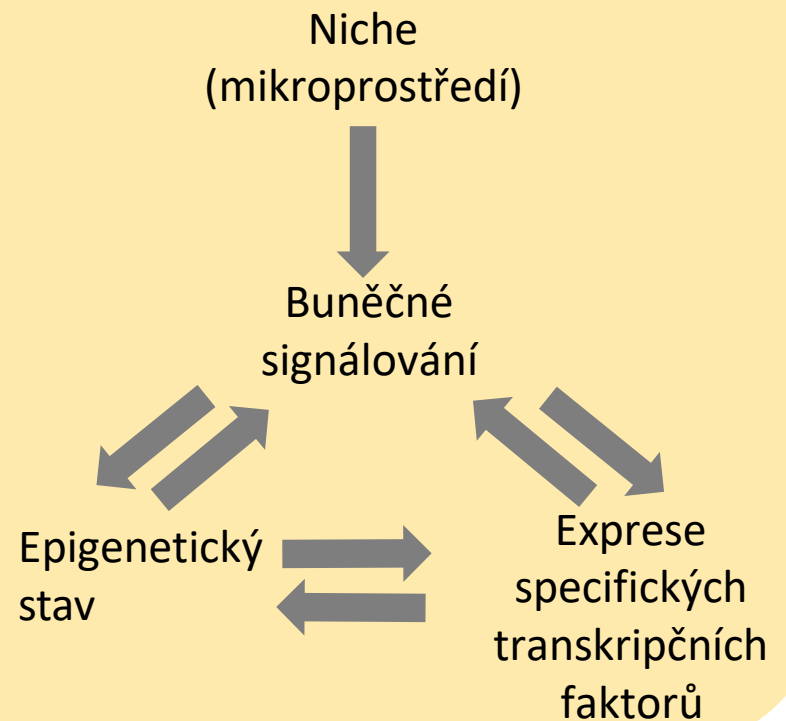


Určení osudu buněk a jejich diferenciace

5 základních vývojových signálních drah přenáší signál z niche do jádra buňky



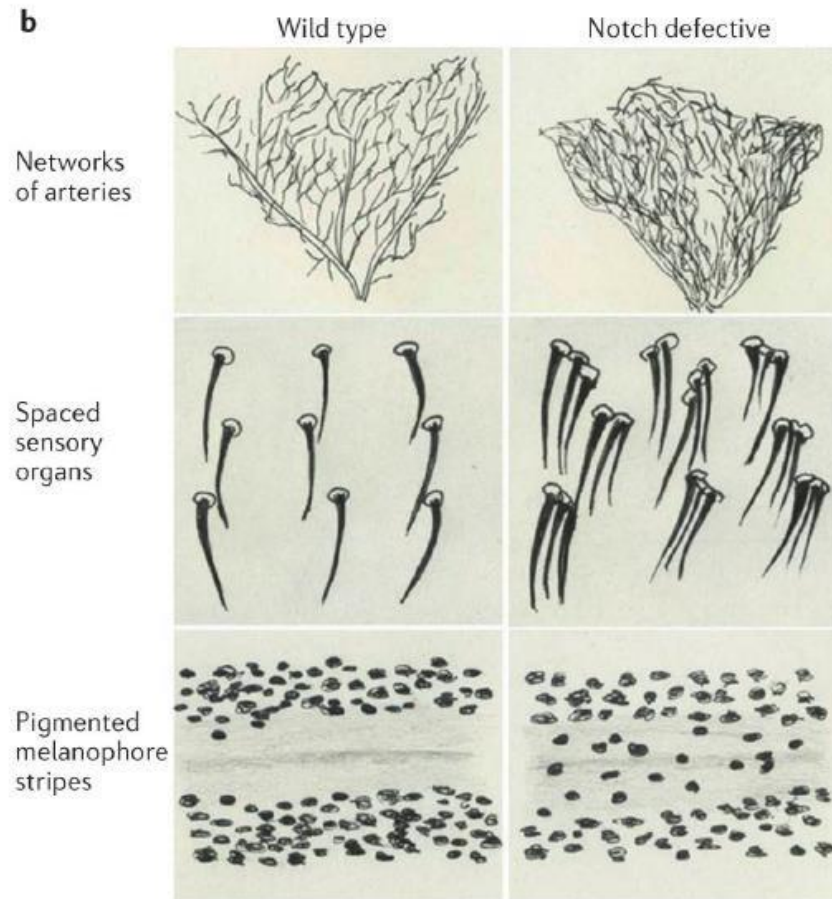
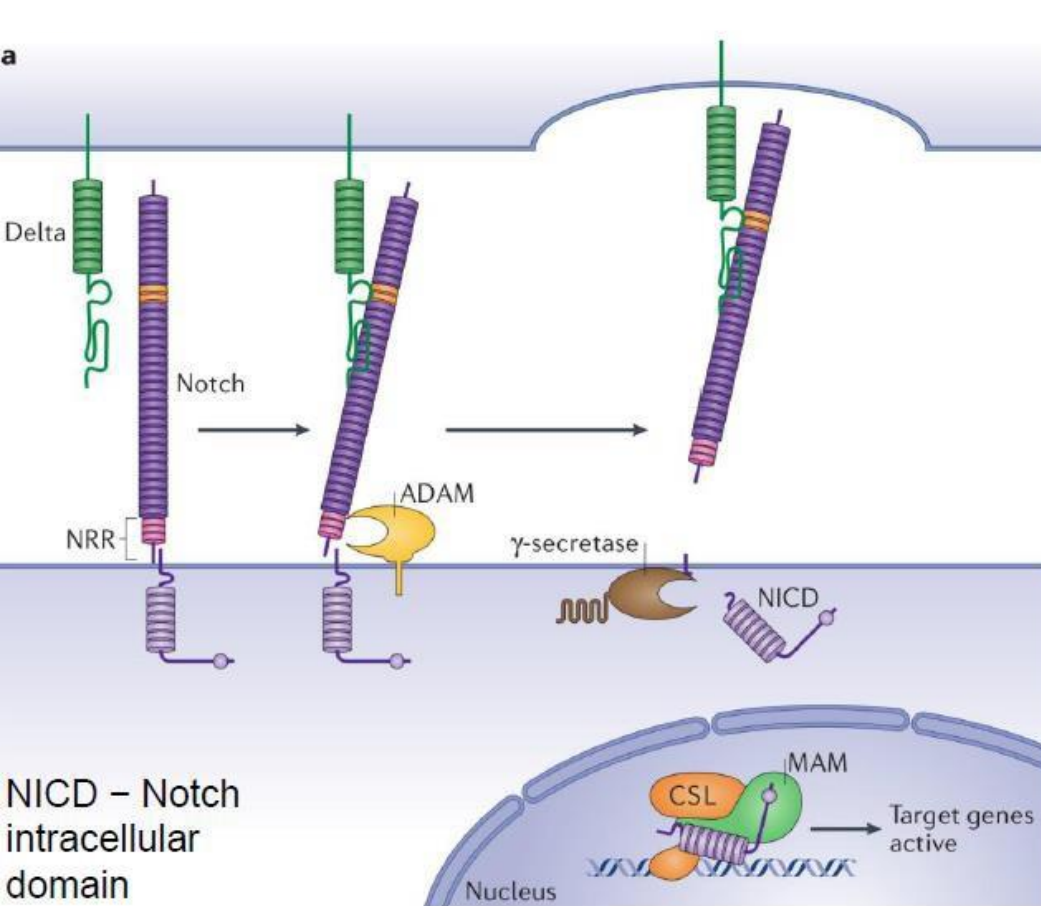
Určení osudu buňky



Notch signální dráha

- Notch není aktivováno rozpustným ligandem
- Sousední buňky se váží ligandem (Delta, Jagged) a receptorem (Notch), jehož štěpením a transportem do jádra je aktivován transkripční faktor CSL

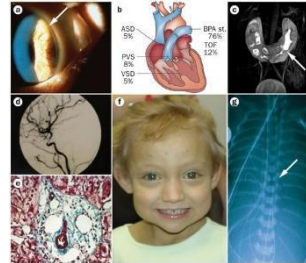
Notch signálování je esenciální například pro:
vývoj cév, sensorických chloupků u drozofily, nebo pruhů zebřičky (Danio)



Notch signální dráha

Mutace v ligandech Delta, Jagged a receptorech Notch...

Algilův syndrom



Recesivní spondylokostální dystóza

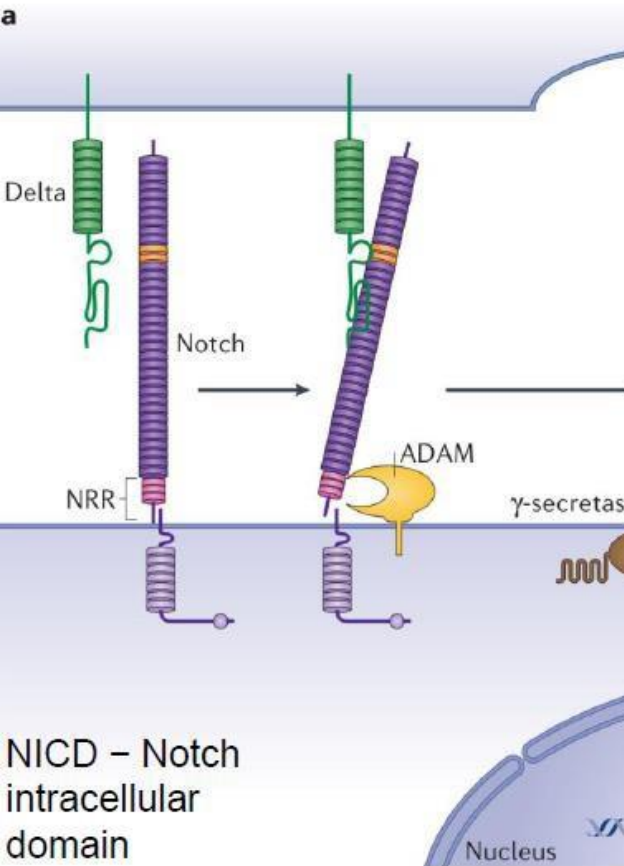


Hajdu-Cheney syndrom



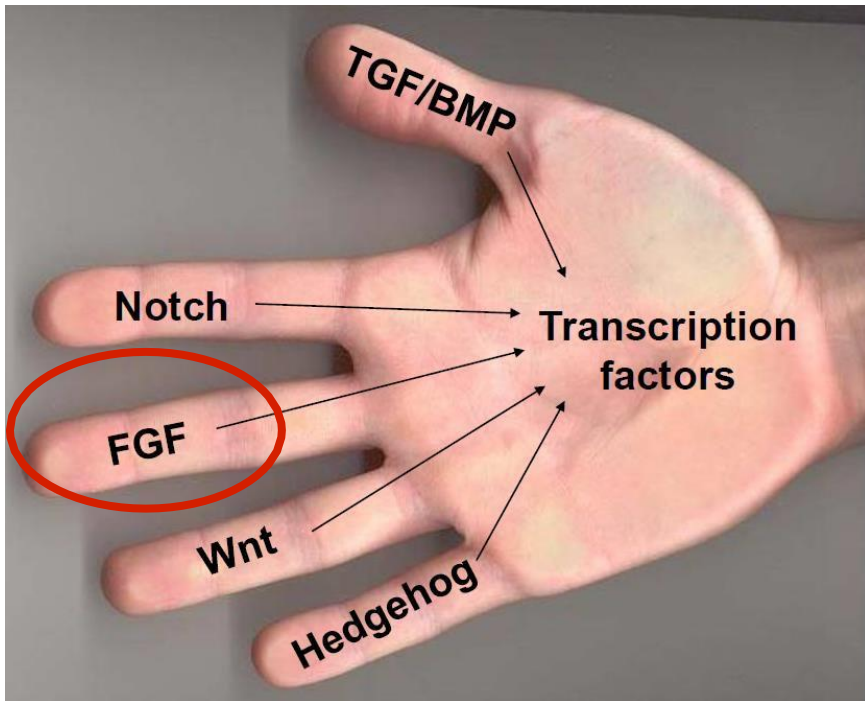
Dědičná kardiomyopatie

CADASIL (Leukodystrofie – postižení bílé hmoty mozkové)

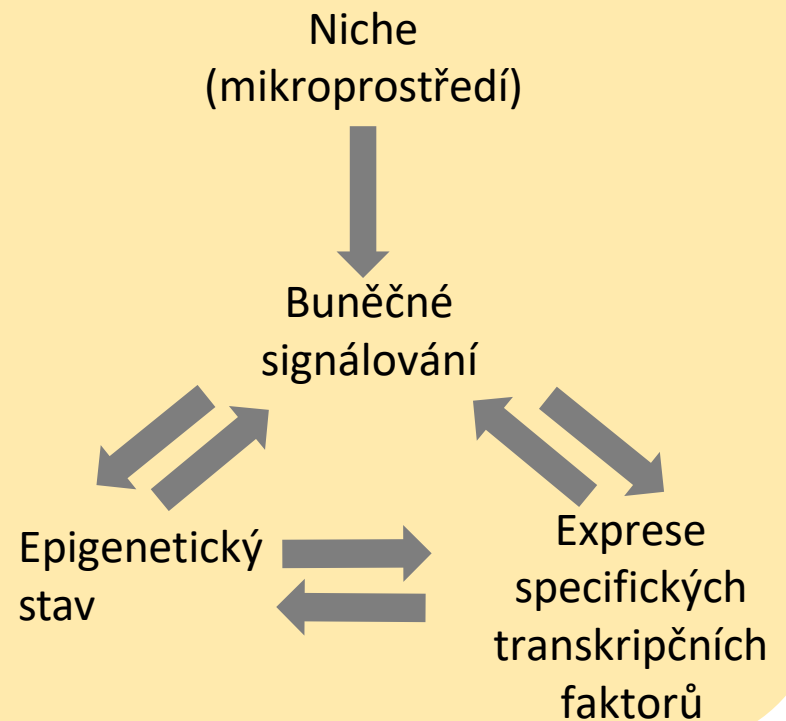


Určení osudu buněk a jejich diferenciace

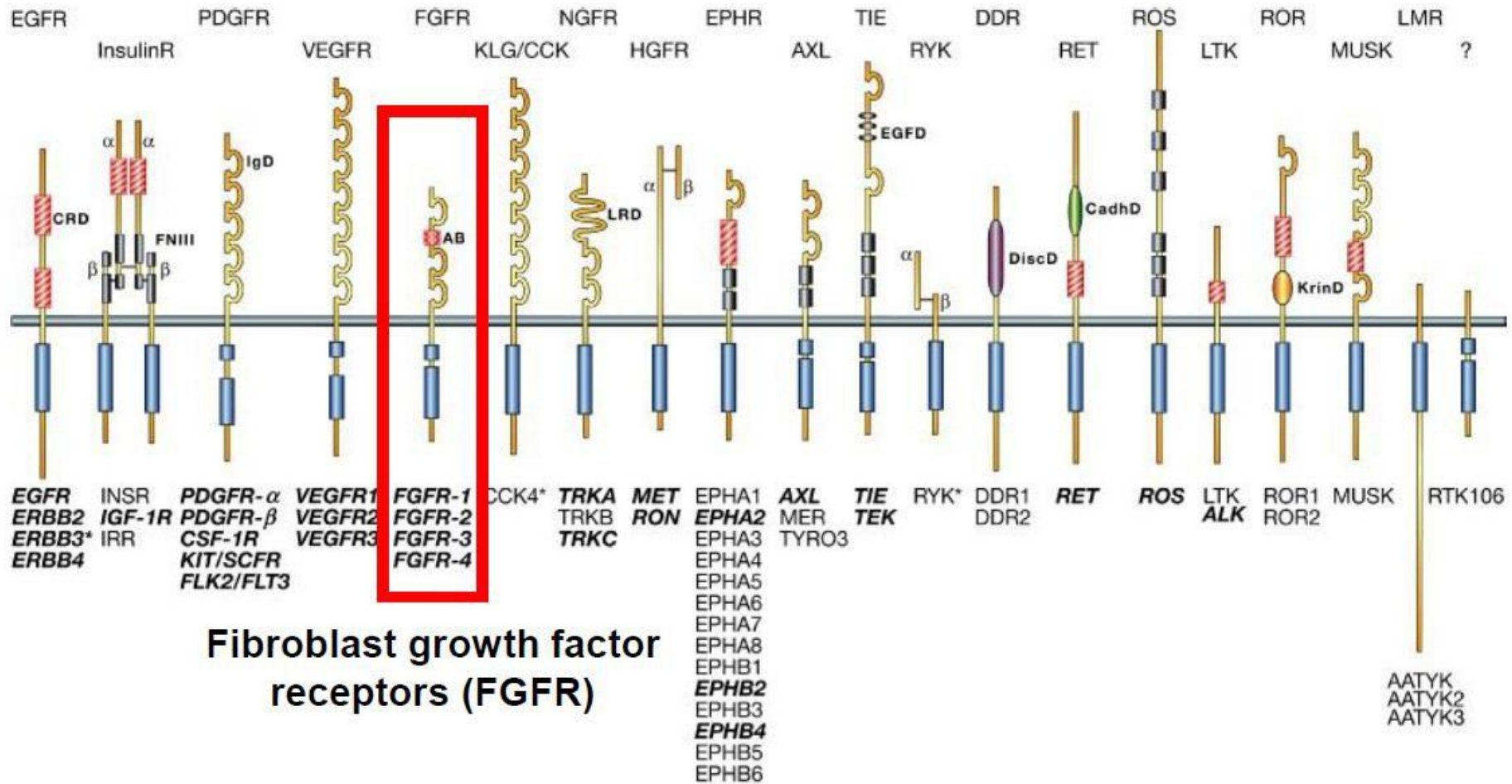
5 základních vývojových signálních drah přenáší signál z niche do jádra buňky



Určení osudu buňky



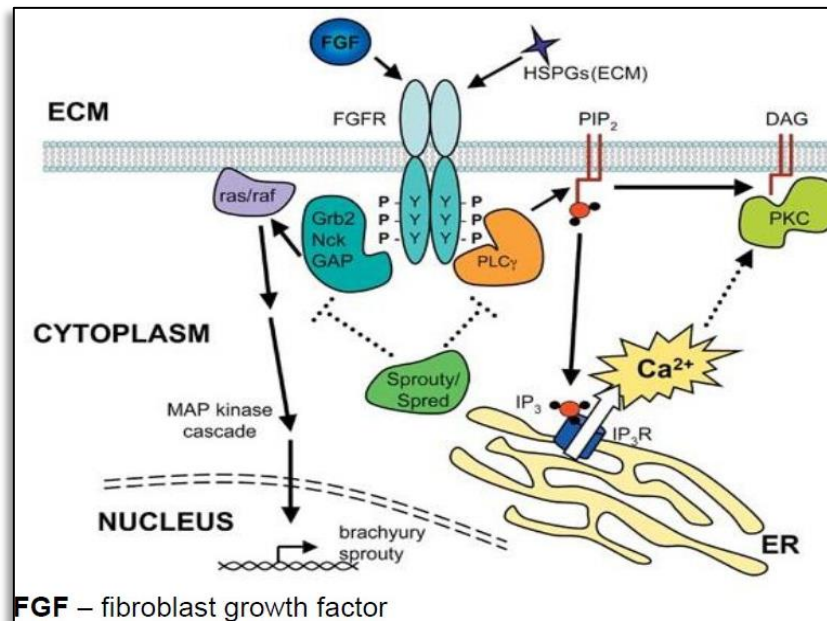
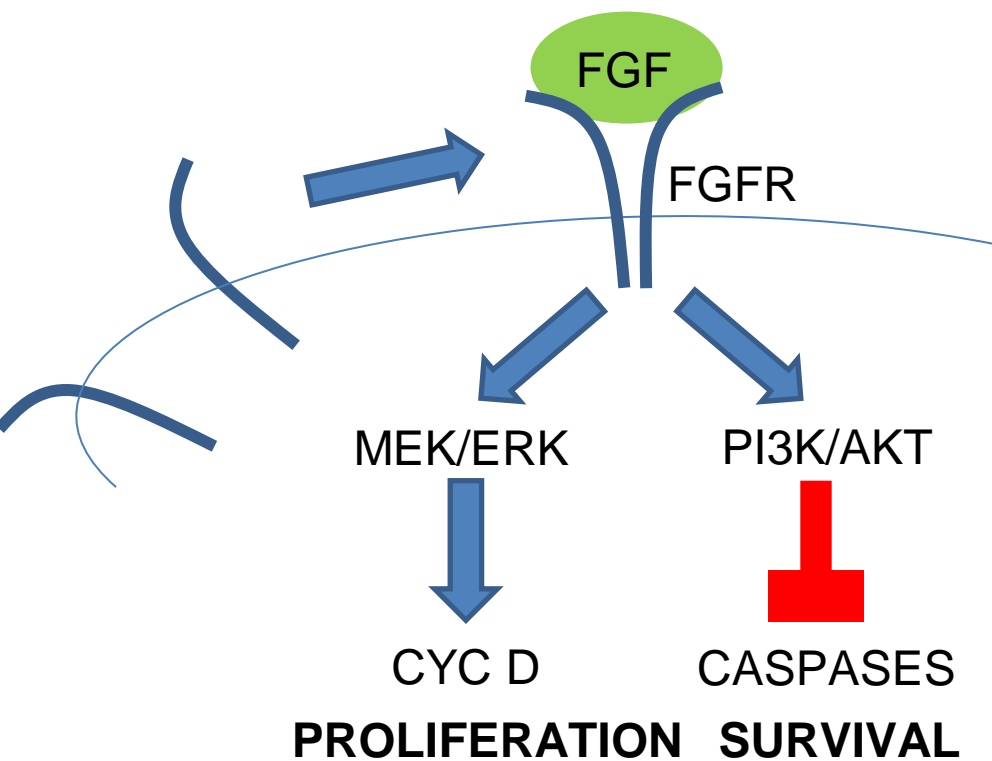
Receptor tyrosine kinase (RTK) family



- ✓ In the human genome, there are 58 genes coding for receptor tyrosine kinases
- ✓ Overactivity of receptor tyrosine kinases is involved in the development of many diseases, particularly cancer. Several RTK receptors were identified as products of oncogenes causing tumour transformation of cells

Signální dráha fibroblastového růstového faktoru

Aktivovaný receptor signáluje MAP kinázovou (mitotickou) a PI3K/AKT dráhou (antiapoptotickou)..



FGF signální dráhy jsou zapojeny v embryonálním vývoji do:

- Proliferace buněk
- Diferenciace buněk
- Migrace buněk
- Změna morfolgie buněk

Gradient morfogenu jako architekt vývoje

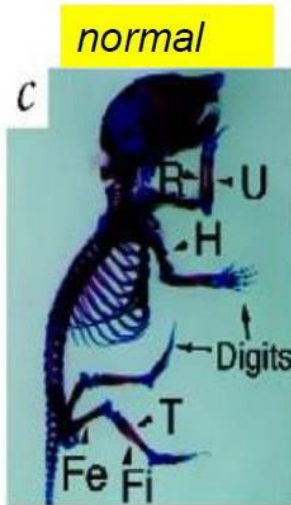
FGF10

FGF10 → mesoderm proliferation → limb bud growth

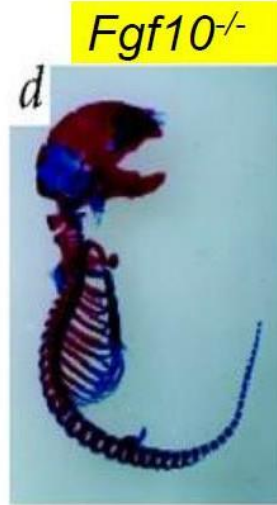


When gene for FGF10 is inactivated in mouse embryo, development of tracheas and growth of limb buds stops, and an individual without lungs and forelimbs is developed.

Expression of FGF10 is triggered by the Tbx transcription factors, and FGF10 expression then maintains the expression of FGF8 which is required for further growth and development of limb bud.



normal



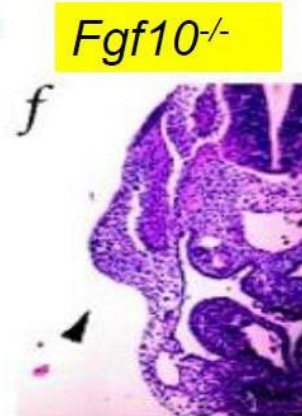
Fgf10^{-/-}

Fgf-10* is required for both limb and lung development and exhibits striking functional similarity to *Drosophila branchless

Hosung Min,¹ Dimitry M. Danilenko,² Sheila A. Scully,² Brad Bolon,² Brian D. Ring,² John E. Tarpley,² Margaret DeRose,¹ and W. Scott Simonet^{1,3}



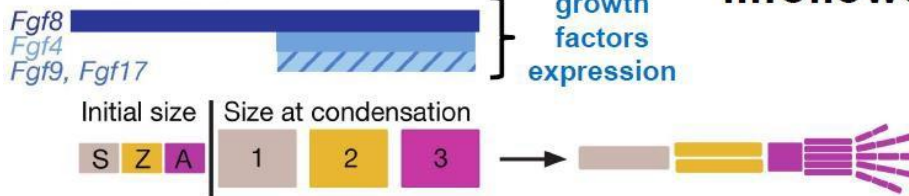
normal



Fgf10^{-/-}

arrow – limb bud

a Normal FL and HL

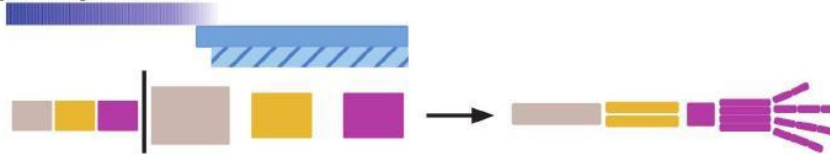


...followed by other FGFs

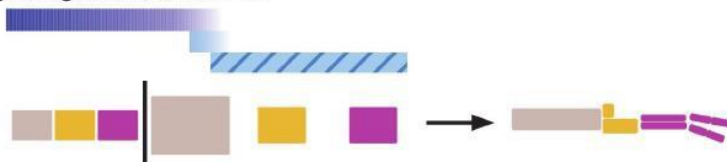
Specific expression of proteins from FGF family controls the development of three parts of vertebrate limbs (S/stylopod, Z/zeugopod, A/autopod) by affecting chondrocyte progenitors required for developing the individual limb components. FGF affects both the initial size of population of these progenitors and the speed of their proliferation, thus determining the final size of limbs.

AER KO mutant phenotypes

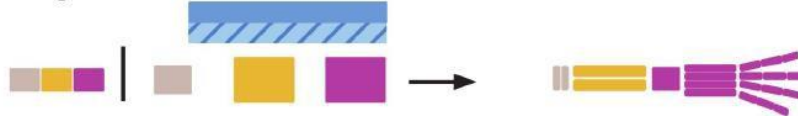
b *Fgf8* single KO FL



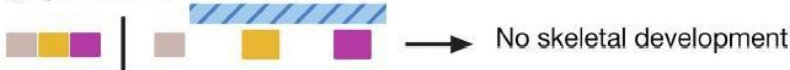
c *Fgf4; Fgf8* double KO FL



d *Fgf8* single KO HL



e *Fgf4; Fgf8* double KO HL



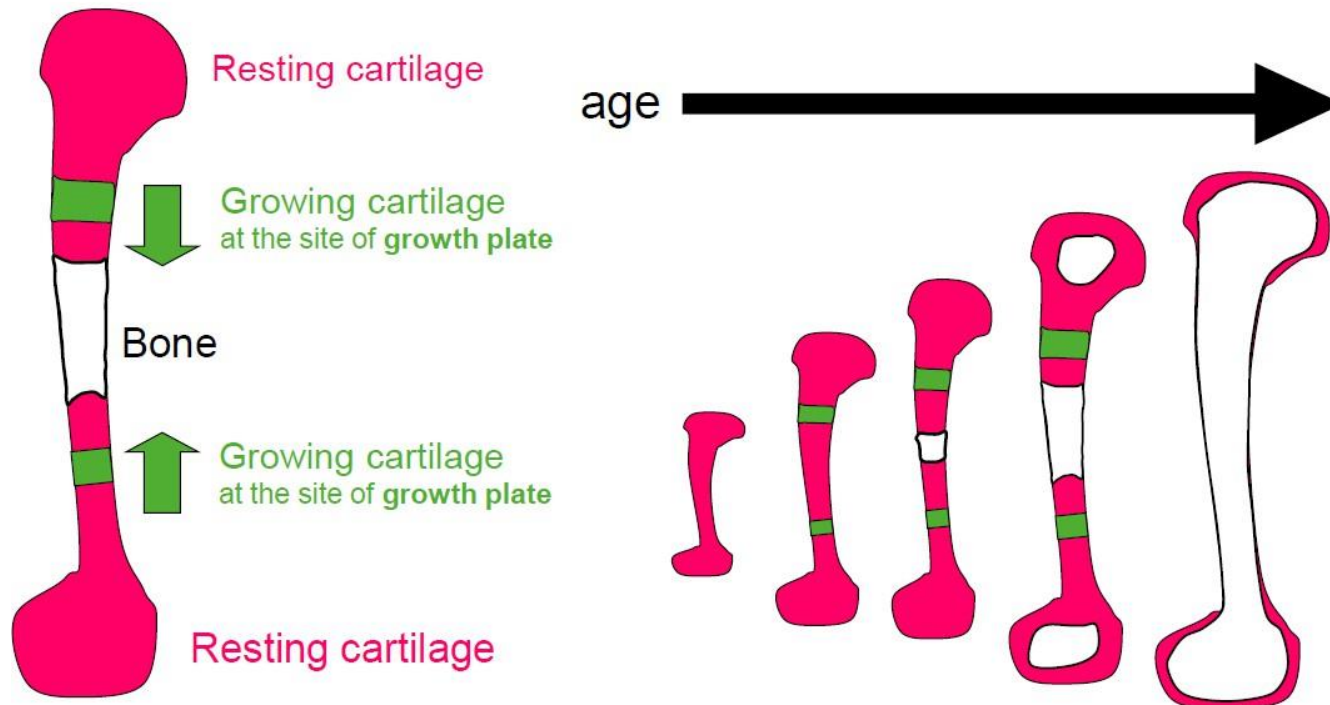
HL – hindlimb; FL – forelimb

Gail Martin (1944) is famous for isolation and cultivation of embryonic stem cells and her research on the function of FGF – fibroblast growth factor – during vertebrate organogenesis.



How the limbs grow and what happens when something in the growth goes wrong

In mammals and reptiles, growth of long bones is provided by two cartilaginous growth plates. In each plate there is a proliferation zone, where chondrocytes intensively divide, then follows hypertrophic zone, where chondrocytes increase in size and subsequently in the ossification zone they are eliminated and in their place, osteoblasts form new bone tissue.



Signální dráha fibroblastového růstového faktoru



Počet kopií retrogenu FGF4

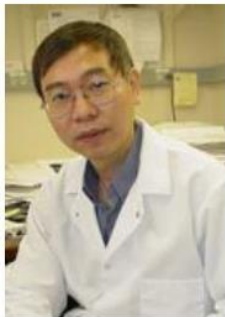
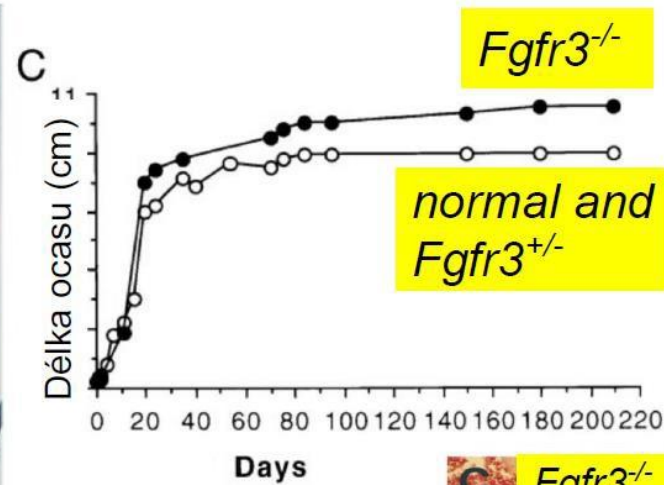
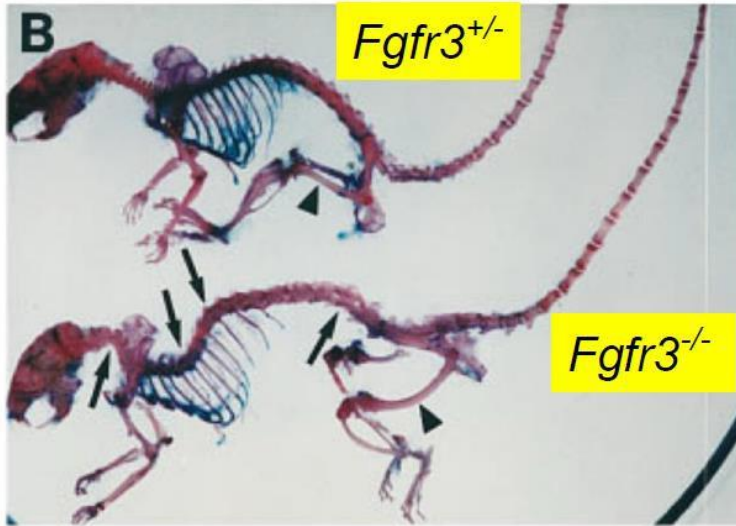


Achondroplazie – (bodová) mutace receptoru FGFR3



FGF signální dráhy jsou zapojeny v embryonálním vývoji do:

- Proliferace buněk
- Diferenciace buněk
- Migrace buněk
- Změna morfologie buněk



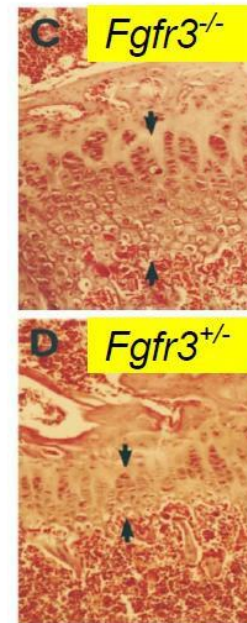
Chuxia Deng

Cell 1996,
84(6):911-21.

FGFR3 codes for receptor, the function of which is to limit ossification, and therefore inhibit growth of bones. When gene for *FGFR3* is inactivated in developing mouse embryo, bone dysplasia occurs (characterized by kyphotic spinal bend, long and bended femurs and prolonged tail).

Histological sections show that in mice with both *FGFR3* alleles inactivated, the hypertrophic cartilage zone is wider.

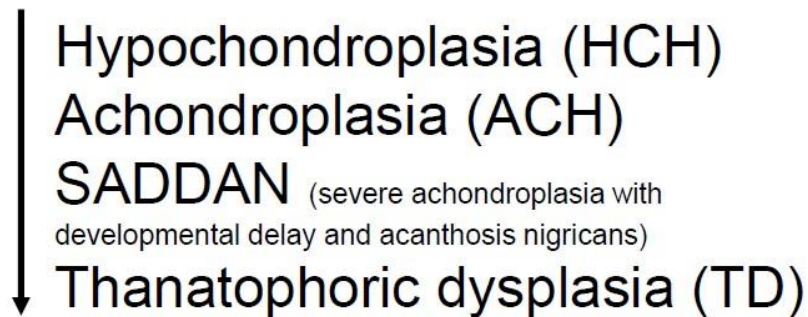
Heterozygotes show standard phenotype comparable with dominant homozygotes, affected are only recessive homozygotes – one functional *FGFR3* allele is sufficient for standard embryonic development.



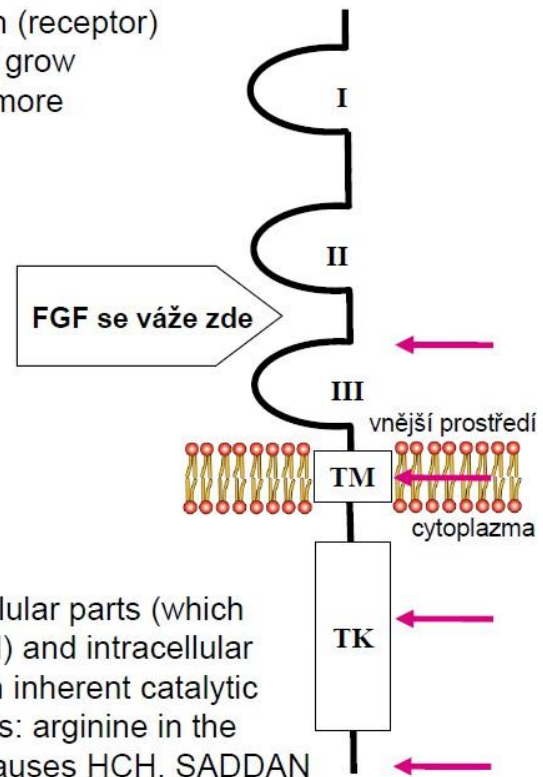
FGFR3 and bone dysplasias

When FGFR3 is mutated in such way that the resulting protein (receptor) is overly activated, the individual affected in this way does not grow sufficiently. The more a given mutation activates FGFR3, the more affected the individual is.

Height of stature



Right: Scheme of FGFR3 receptor containing several extracellular parts (which contain also binding site for FGF), transmembrane region (TM) and intracellular region the part of which are tyrosine-kinase domains (TK) with inherent catalytic activity. The scheme contains sites of some frequent mutations: arginine in the position of 248 (causes TD), glycine 380 (ACH), lysine 650 (causes HCH, SADDAN or TD, depending on the amino acid which substitutes the original lysine). When stop-codon 807 is mutated (usually substituted for arginine), receptor longer by 141 amino acids gets formed (and affected individual suffers from TD).



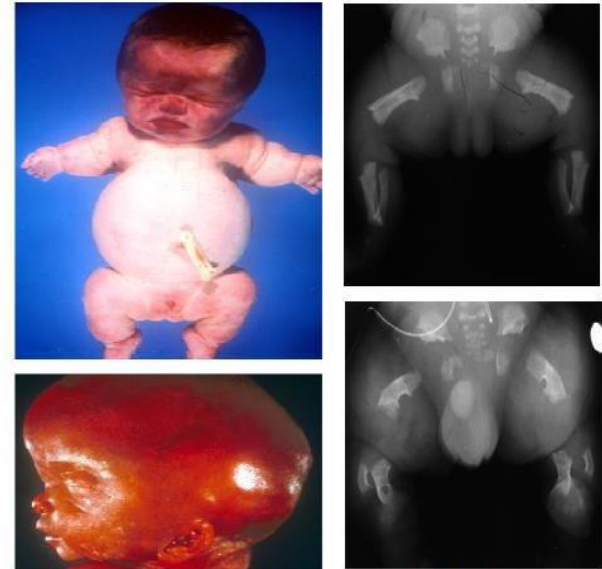
FGFR3 and bone dysplasia

Achondroplasia



Achondroplasia is an autosomal dominant (AD) disease characterized by short height of stature (men are 131 cm tall in average), short limbs, enlarged head and prominent forehead. It occurs in 1 new-born out of 15 000 up to 40 000 (depending on the population), 99% cases occur due to G380 mutation, in 80% cases due to *de novo* mutation.

Thanatophoric dysplasia

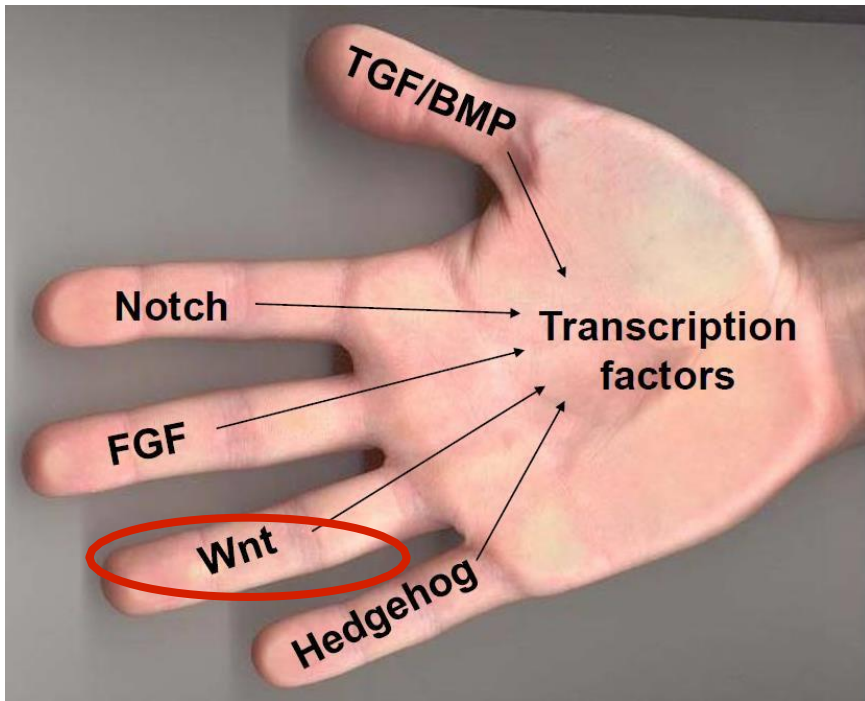


Nat Genet 1995, 9:321-8.

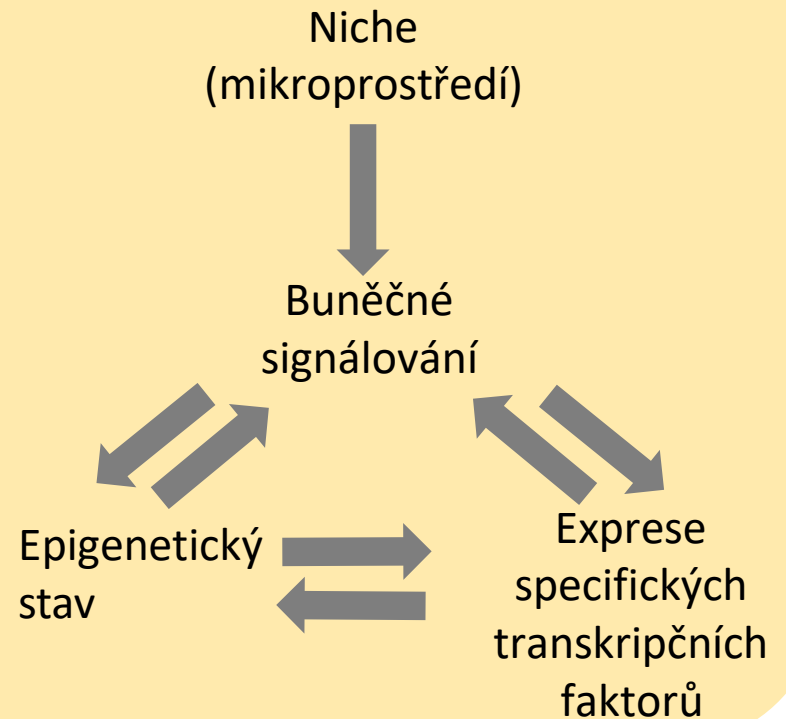
Thanatophoric dysplasia (type I and II) is an AD disease, where skeletal development is affected in even more serious way, usually affected individuals are stillborn or die shortly after birth due to respiration failure. It occurs in 1 newborn out of 20 - 50 000.

Určení osudu buněk a jejich diferenciace

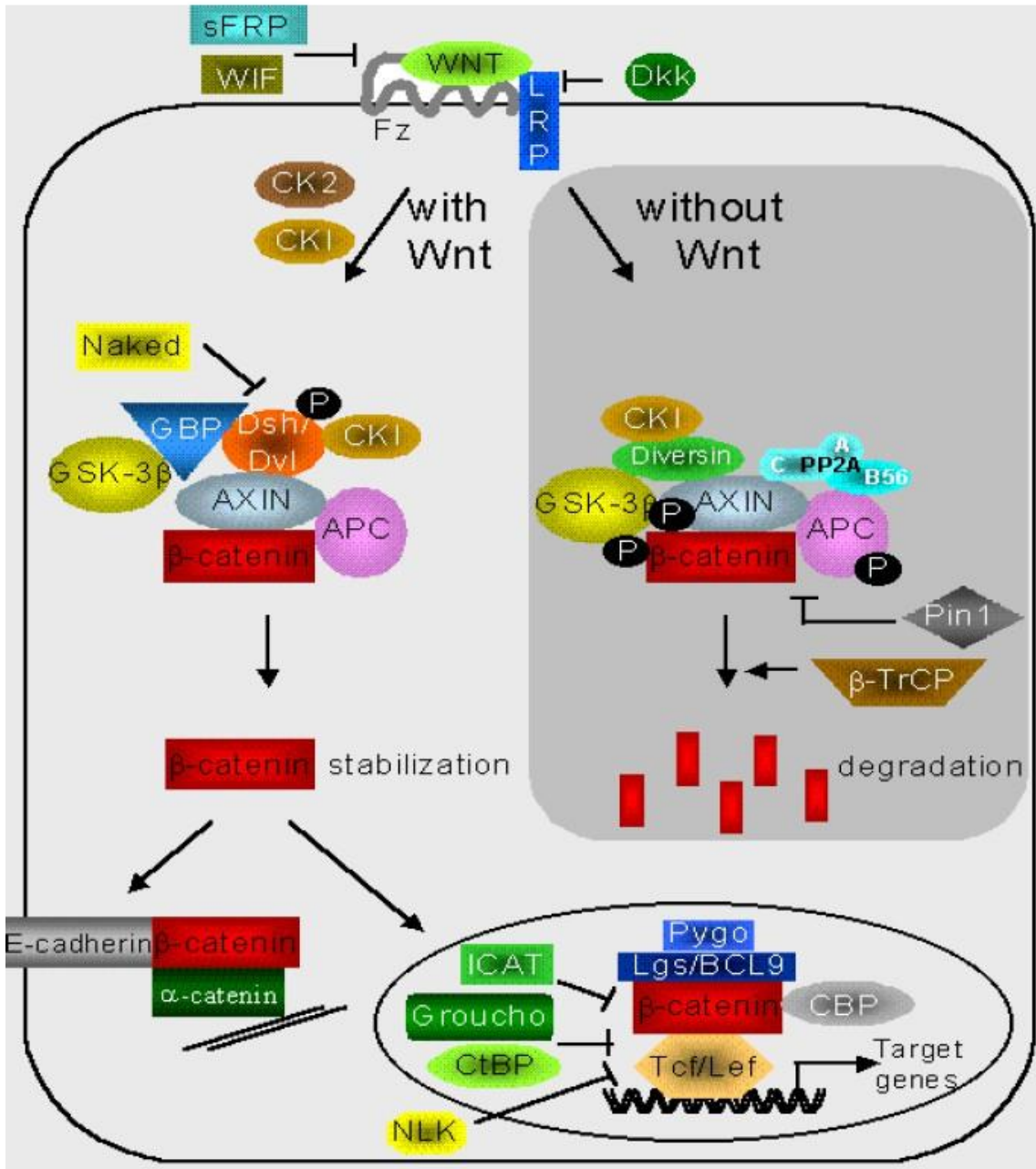
5 základních vývojových signálních drah přenáší signál z niche do jádra buňky



Určení osudu buňky



Wnt/ β -kateninová d'áha



VYPNUTO:

aktivní „destrukční komplex“ ničí transkripční faktor β -katenin

ZAPNUTO:

Vazba ligandu (WNT) na receptor FRIZZLED (FZ) vede ke zničení destrukčního komplexu, **stabilizaci β -kateninu** a jeho transportu do jádra, kde se váže na transkripční faktory TCF/LEF a **spouští transkripci**

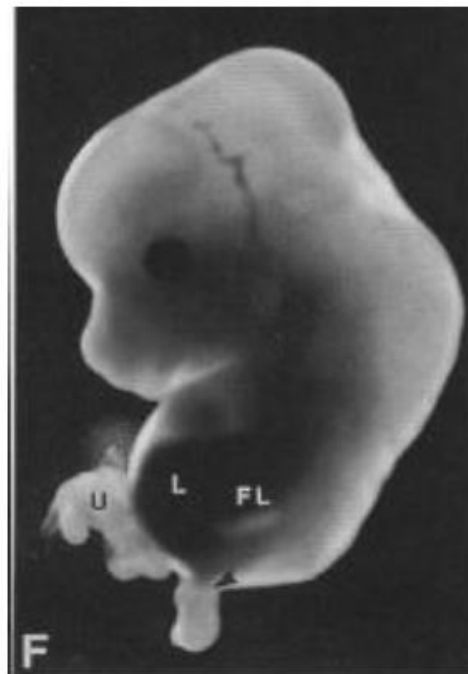
Recyklace WNT signálování v embryogenezi:

- První polarizace embrya (D-V osa)
- Ustavení dalších os
- Gastrulace
- Udržování pluripotence a diferenciaci (v kontextu niche)
- Epiteliální-Mezenchymální tranzice

Nedostatečné Wnt/ β -kateninové signálování v průběhu gastrulace = ztráta zadní části těla



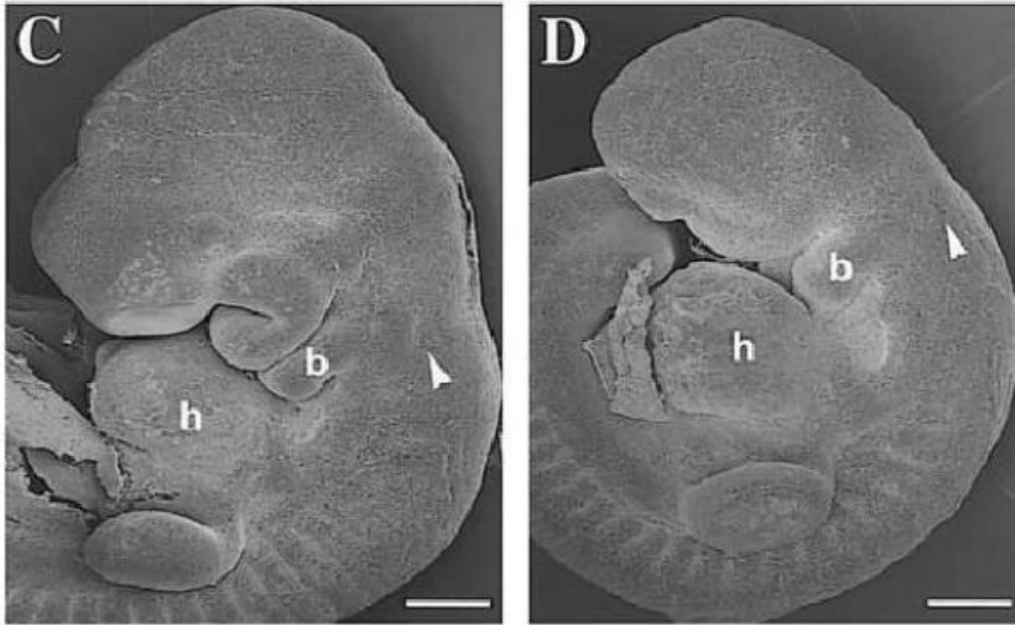
wild type (wt)
control healthy embryo



***Wnt-3a* knockout (KO)**
gene for WNT-3a inactivated

Umlčení WNT-3A (člen rodiny WNT) u myši vedlo k nedostatečnému vývoji posteriorní části embrya.

Absence inhibitoru Wnt/ β -kateninové signalizace v průběhu gastrulace = ztráta anteriorní části embrya



Buňky v anteriorní části embrya produkují WNT inhibitor Dkk1 (dickkopf 1). U myši s umlčeným Dkk1 se nevyvine přední část embrya



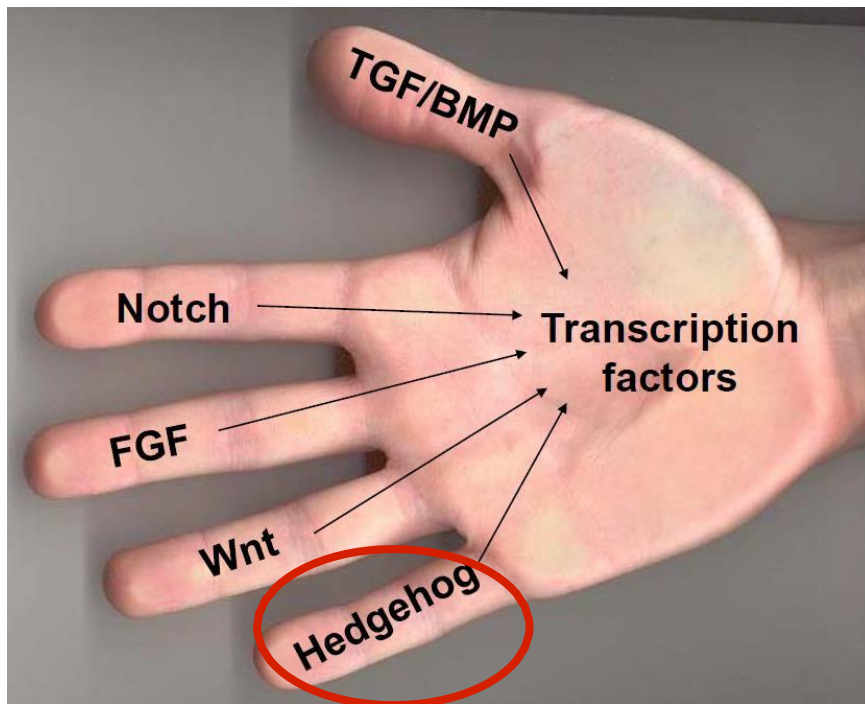
wild type

Dkk1 knockout

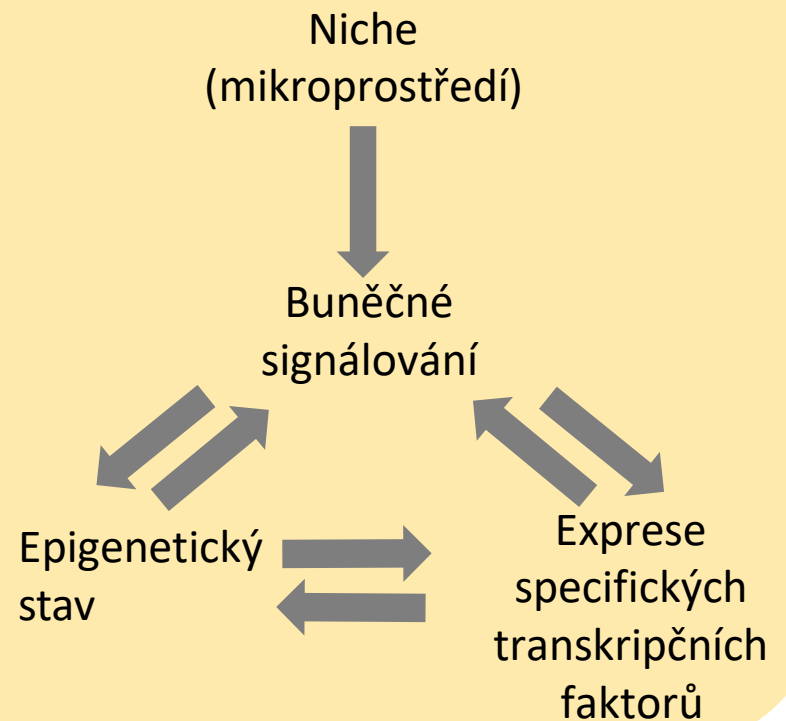
V. Brvja

Určení osudu buněk a jejich diferenciace

5 základních vývojových signálních drah přenáší signál z niche do jádra buňky



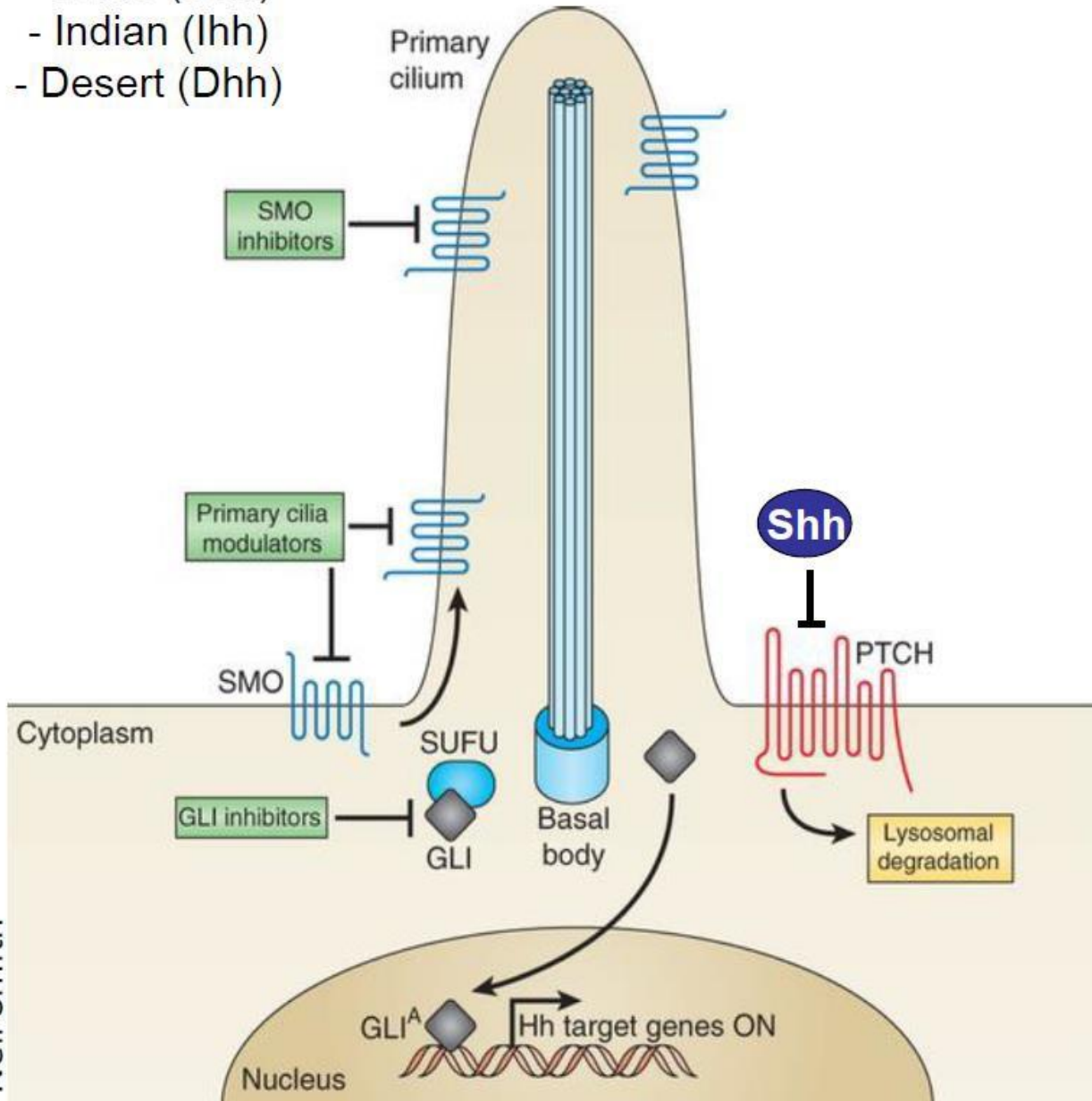
Určení osudu buňky



Ligandy z rodiny
Hedgehog u savců

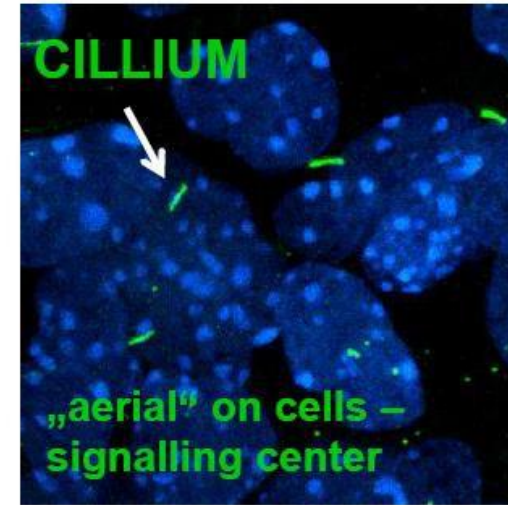
- Sonic (Shh)
- Indian (Ihh)
- Desert (Dhh)

Hedgehog signální dráha



Neil Smith

DNA
ciliary protein ARL13B

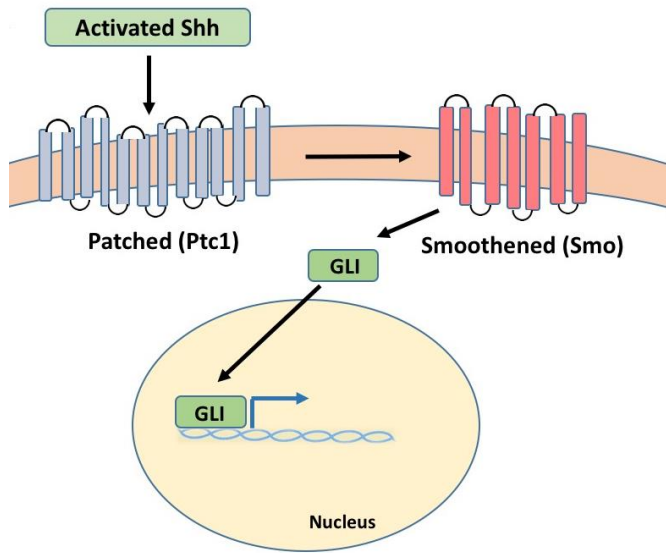


- GLI funguje jako transkripční represor
- Vazba SHH transformuje GLI na transkripční aktivátor

Hedgehog ve vývoji embrya:

Správné členění těla
Organogeneze
Např. vývoj končetin

Hedgehog (SHH) signální dráha



BEZ HEDGEHOG LIGANDU:

Patched inhibits Smoothened which
GLI is repressor → no transcription

HEDGEHOG LIGAND:

GLI is TF → transcription

Ligandy hedgehog rodiny u savců:
Desert hedgehog



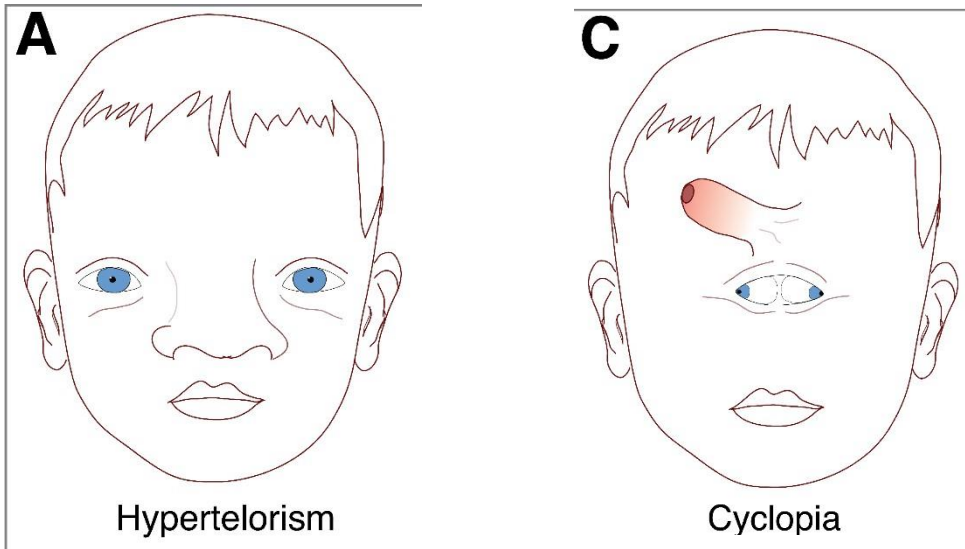
Indian hedgehog



Sonic Hedgehog



Hedgehog signální dráha



Zvýšené Shh signálování

Snížené Shh signálování

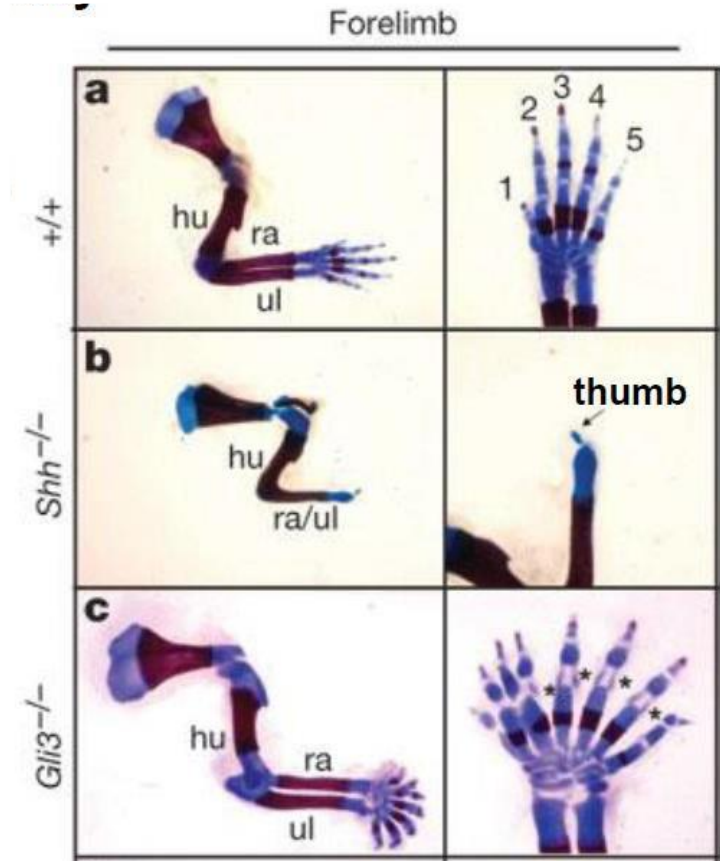
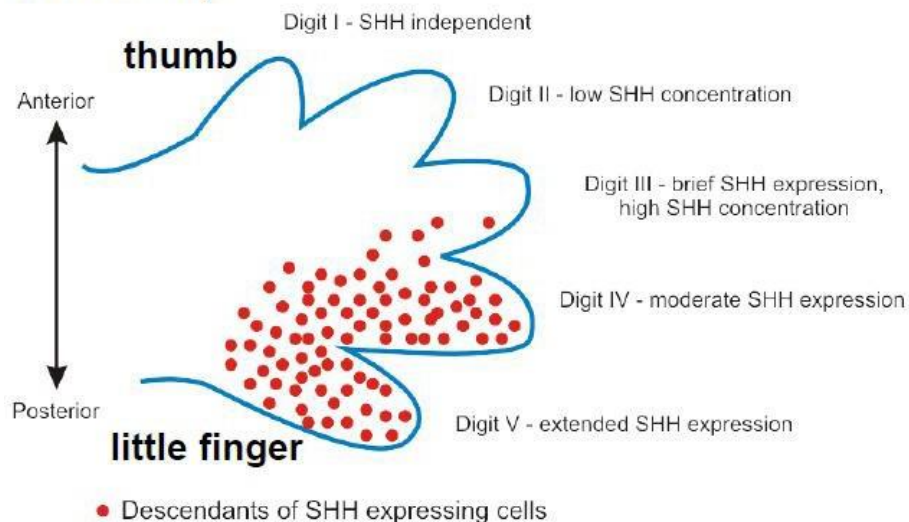
Rozštěp (rtu a patra), polydaktylie atd..

Gradient morfogenu jako architekt vývoje

Př.: Shh určuje počet prstů na končetinách a jejich identitu

Organizér na posteriorní straně pupenu produkuje Sonic Hedgehog (Shh):

- Malíček – potřebuje nejvíce Shh (inaktivní Gli)
- Palec – nepotřebuje Shh – aktivní Gli

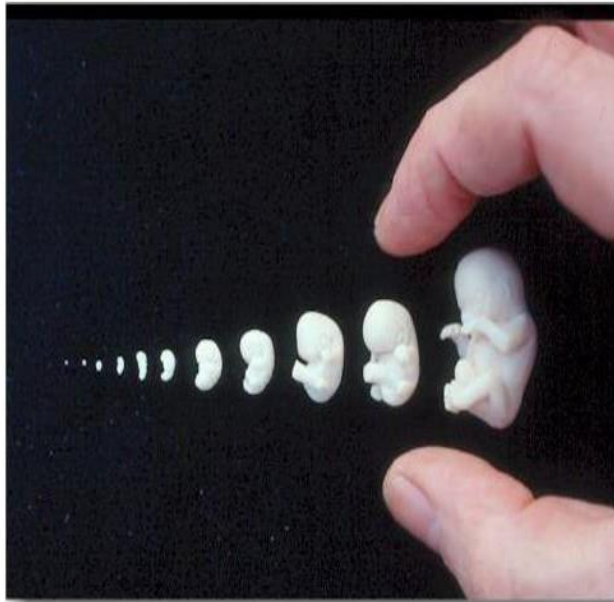


Right: (a) standard limb, (b) *Shh* gene knockout leads to development of limb with one finger – thumb, (c) *Gli3* gene knockout leads to development of limb with multiple fingers, moreover the fingers have altered identity.

Úvod do ontogeneze člověka

- I. Úvod do vývojové biologie
- II. Molekulární podstata řízení vývoje savců v normě a patologii
- III. Růstové faktory a přenos signálu ve vývoji a patologii
- IV. Morfogeny a hlavní transkripční faktory v savším vývoji a patologii

Form and shape *versus* Growth and proportion



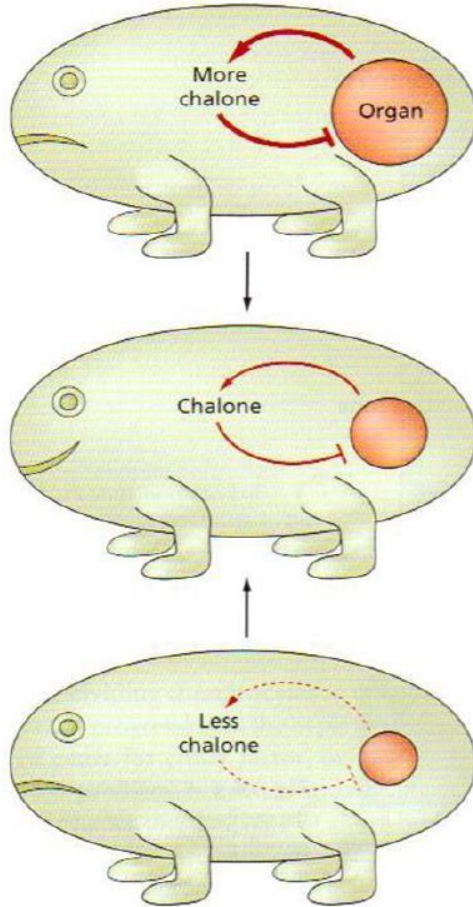
$\times 10^9 =$



To properly develop a whole individual, it is not enough to ensure "only" a proper shape of developing organs. All the organs also have to be properly sized so that they are mutually compatible.

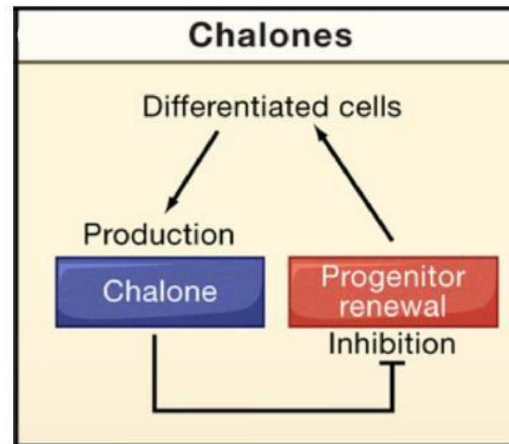
Example: If length of cell cycle is decreased by 2% in a population of cells, size of the whole population is increased by 50% after 30 cell cycles !

Form and shape *versus* Growth and proportion



Left: Chalones are peptides, which are expressed in a strictly tissue-specific manner and they inhibit the growth of organs by whose tissues they are produced. They represent a feedback loop which regulates organ growth – the bigger an organ is, the more specific chalone it produces, and the more its growth is inhibited.

Bottom: Chalones are produced by differentiated cells and they specifically silence cell division and differentiation of stem/progenitor cells of a given tissue.



The best known chalone includes myostatin (GDF8), but similar peptides were discovered also in neural tissue (GDF11, activin) or in liver.

Form and shape *versus* Growth and proportion

Myostatin Mutation Associated with Gross Muscle Hypertrophy in a Child

Markus Schuelke, M.D., Kathryn R. Wagner, M.D., Ph.D., Leslie E. Stolz, Ph.D., Christoph Hübner, M.D., Thomas Riebel, M.D., Wolfgang Kömen, M.D., Thomas Braun, M.D., Ph.D., James F. Tobin, Ph.D., and Se-Jin Lee, M.D., Ph.D.

N ENGL J MED 350;26 WWW.NEJM.ORG JUNE 24, 2004

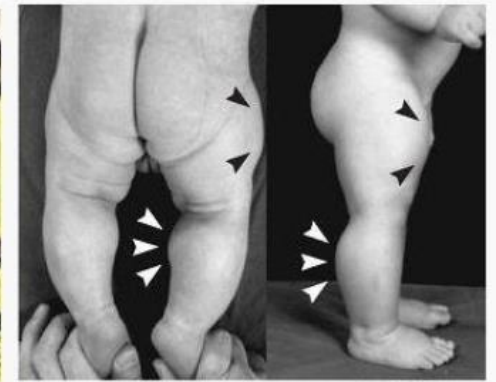
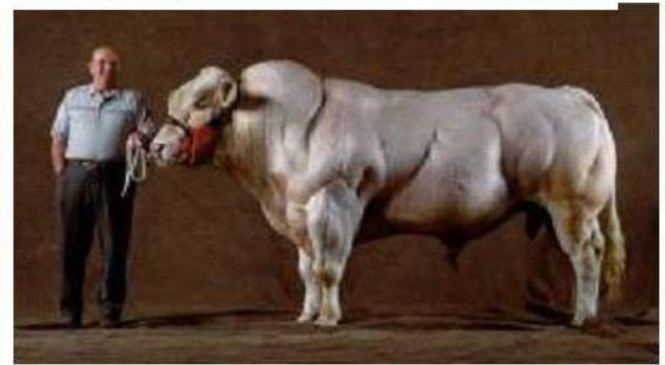
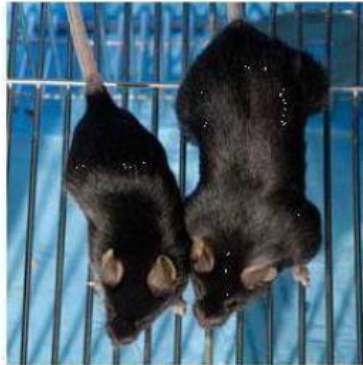
Folistatin



Myosatin (GDF8 z rodiny TGFbeta)



Proliferace satelitních buněk



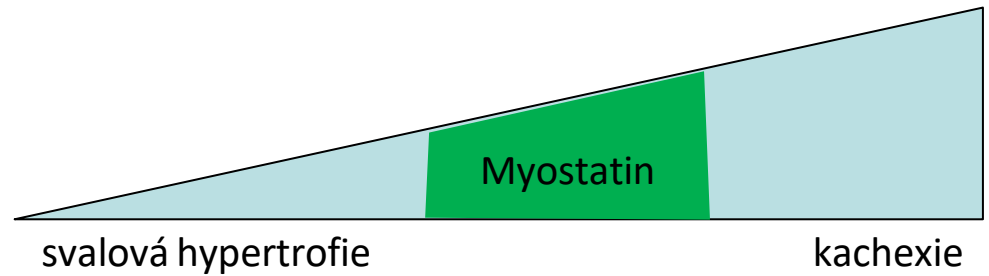
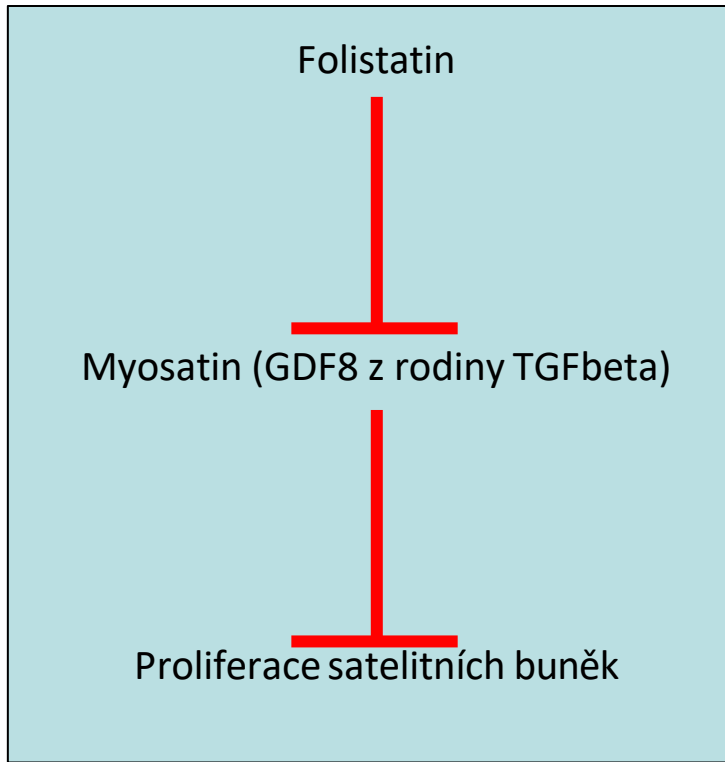
Neonate

7 Months

Form and shape *versus* Growth and proportion

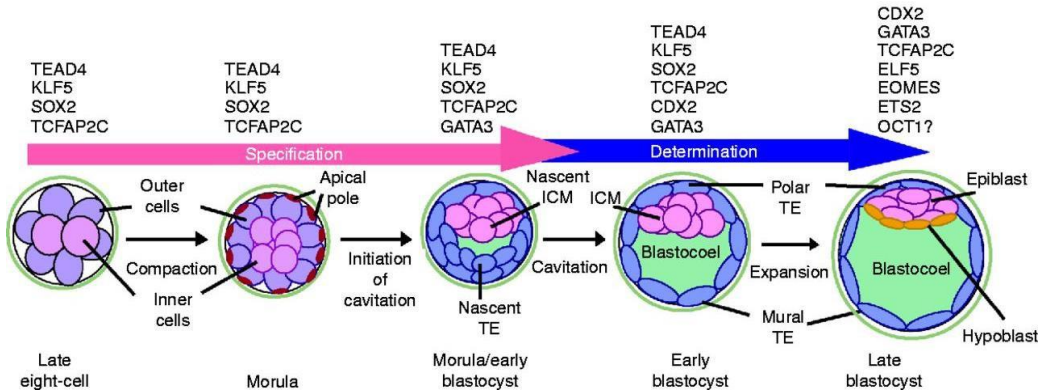
Užití folistatinu proti kachexii, a svalové dystrofii (zneužití u atletů – dopingové kontroly na rekombinantní folistatin)

...ale také vyšší hladina folistatinu asociována s mortalitou u kardiometab. chorob

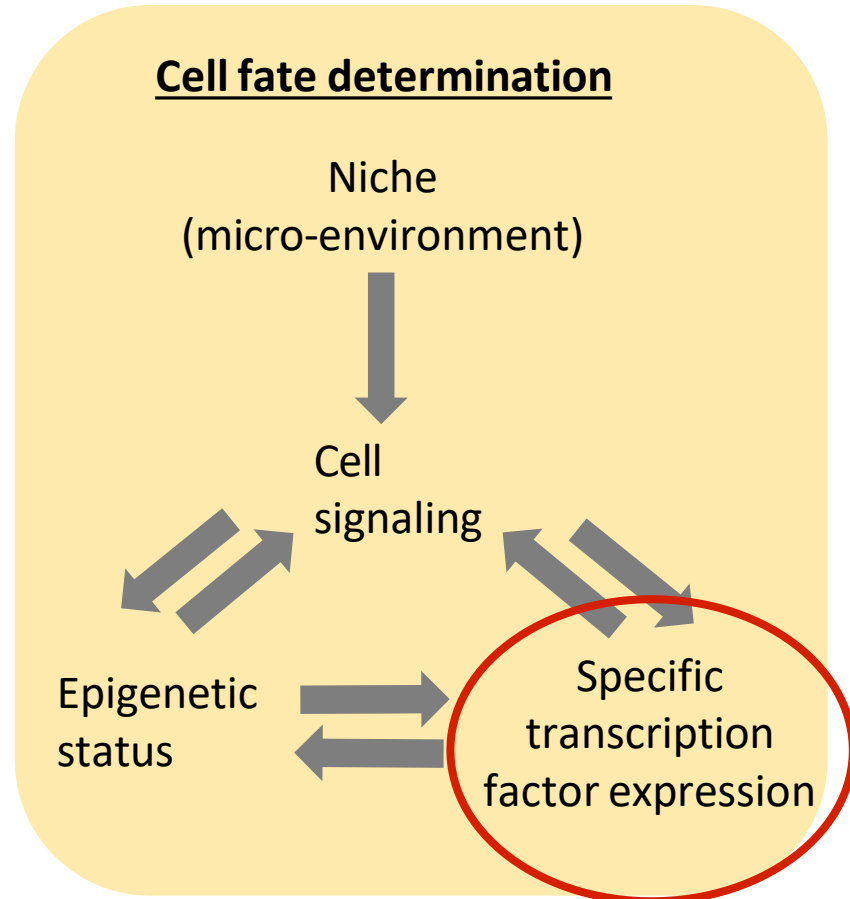


Role transkripčních faktorů ve vývoji

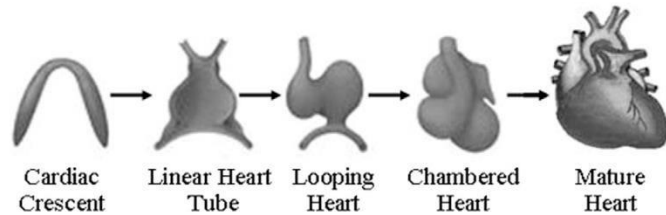
Transcription regulators in the trophoblast lineage



Cell fate determination



Transcription regulators in cardiac development



Stage of development	Day15	Day20	Day30	Day40-birth
Genes	NKX2-5 GATA4 MEF2C SRF <u>FOXP1</u>	GATA4/5/6 MESP1/2 TBX5 miles-apart	NKX2-5 SNAI1 PITX2 HAND1/2 XIRP1 LEFTY1/2 <u>FOXH1</u> FOXP1	NKX2-5 GATA4 MEF2C HAND1/2 TBX5 PAX3 <u>FOXC1/C2</u> FOXP1

Role transkripčních faktorů ve vývoji

Příklady důležitých (rodin) transkripčních faktorů ve vývoji a patogenezi:

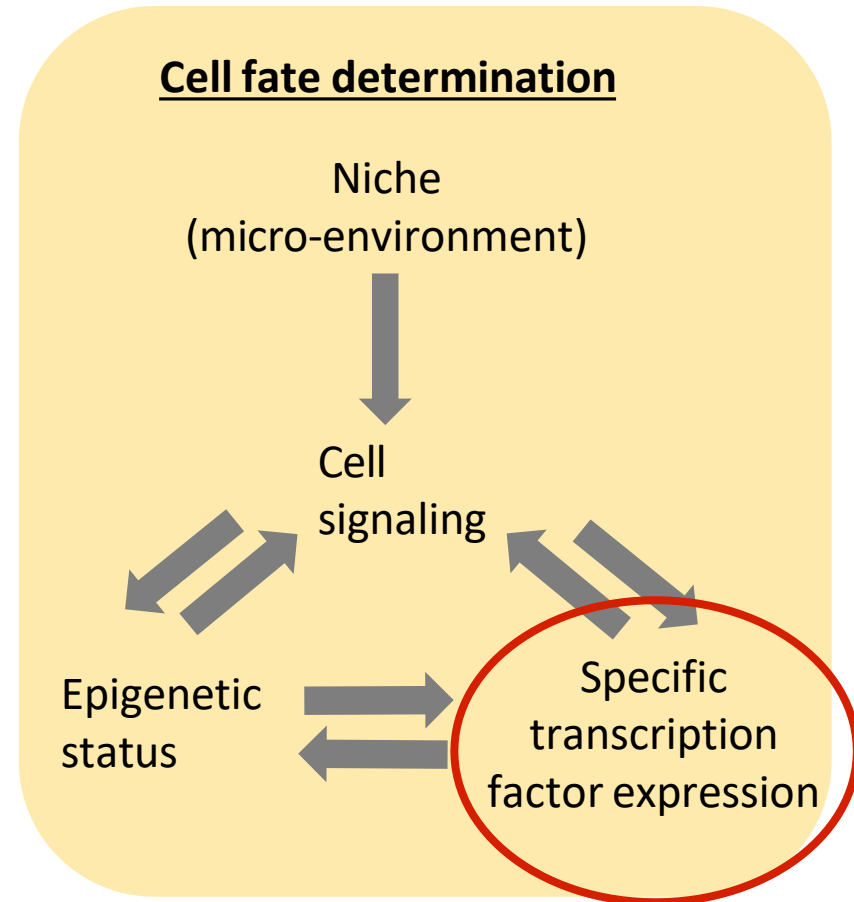
homeobox TF (př NANOG – viz stem cells)

RUNT rodina (viz TGFb signálování)

Rodina TBX

Rodina PAX

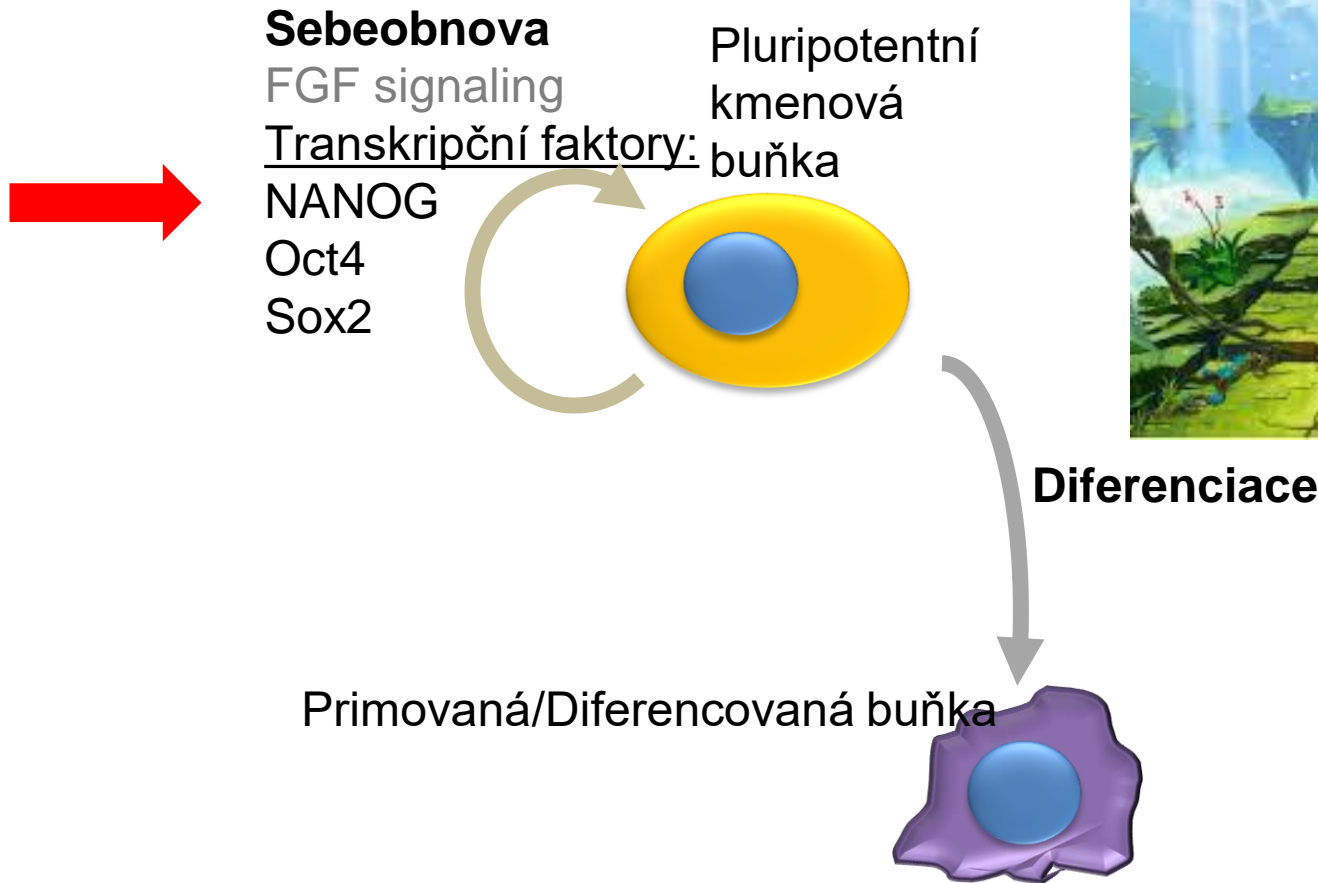
Rodina obsahující HMG doménu



NK2 rodina homeobox transkripčních faktorů

Př. NANOG

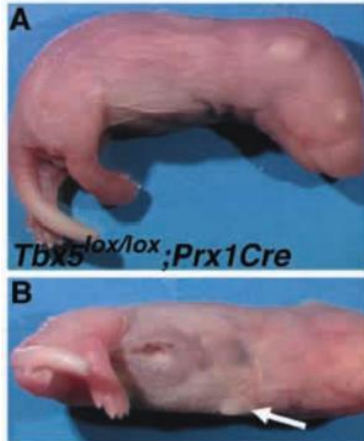
..irská mýtická země
věčného života Tír **na nÓg**



Mutations: (embryonically lethal), Teratocarcinoma, Germ cell and embryonal cancer..

Klíčové transkripční faktory v embryonálním vývoji

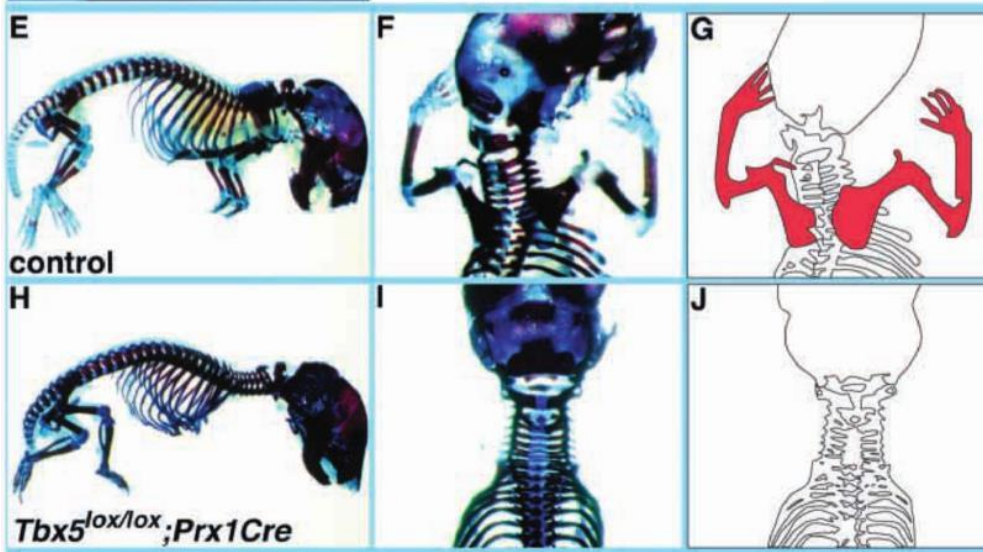
Transkripční faktory TBX rodiny



Tbx5 – transkripční faktor

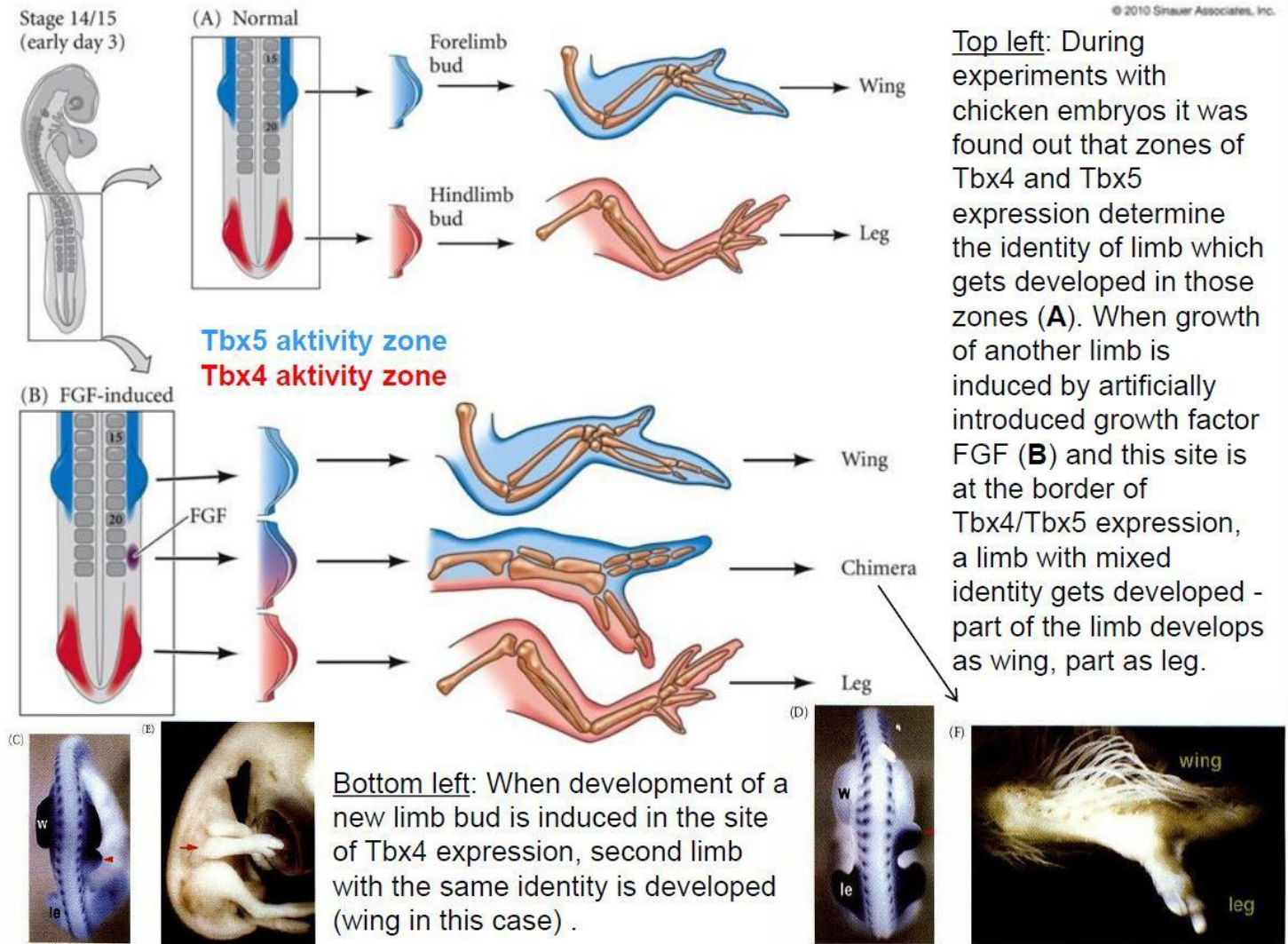
- Zodpovědný za vývoj předních končetin
- Myš *Tbx5*^{-/-} nemá vyvynuty přední končetiny

Tbx4 – dtto pro zadní končetiny



Klíčové transkripční faktory v embryonálním vývoji

Transkripční faktory TBX rodiny – určují identitu končetin (křídla/nohy)



Transcription factors of PAX family (PAX – paired box genes)

In developing embryo, PAX transcription factors control differentiation of specific progenitors, and in this way they are involved in embryo morphogenesis; they are important also for tissue regeneration.

There are 9 members of PAX family in mammals (Pax1-Pax9) and their diversity is further increased by alternative splicing (due to that, different protein products can bind different DNA regulatory sequences), allowing for the complex regulation of developmental processes

Pax6 is the most explored member of PAX family, it is the main regulator of development of sensory organs and it is required for proper development of pancreas (together with Pax4). In the picture you can see halted development of eye in an embryo with both copies of Pax6 gene inactivated.

se – surface ectoderm

ms – mesenchymal-like cells

rpe – pigmented retinal epithelium

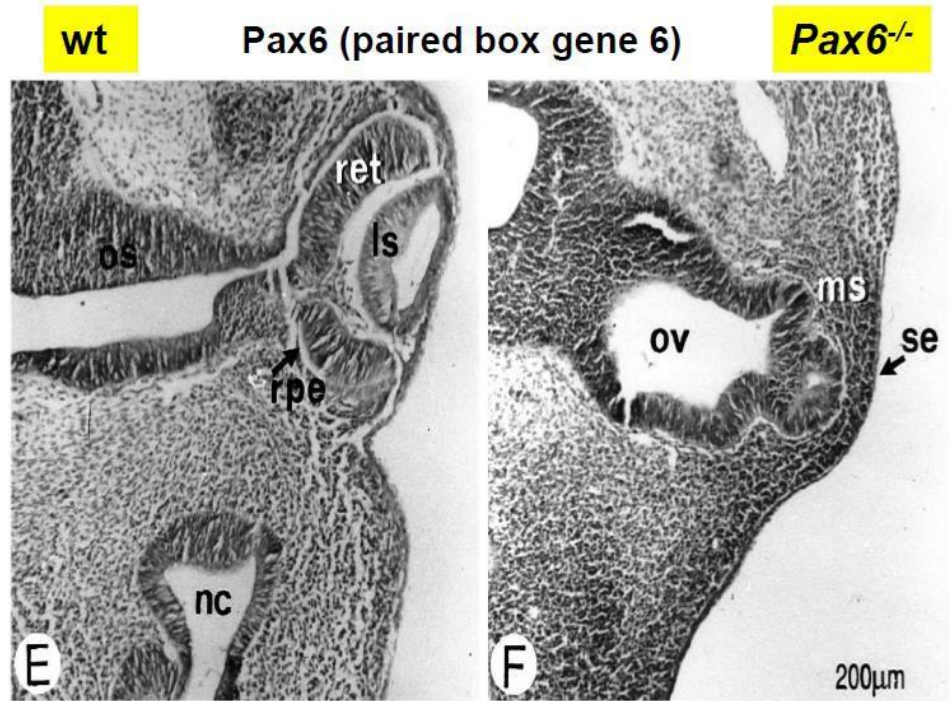
ret – retina

os – optic stalk

ov – optic vesicle

nc – nasal cavity

ls – lens



Transcription factors of PAX family (PAX – paired box genes)

Pax6 mutations cause aniridia in humans



<https://doi.org/10.1038/hgv.2017.53>

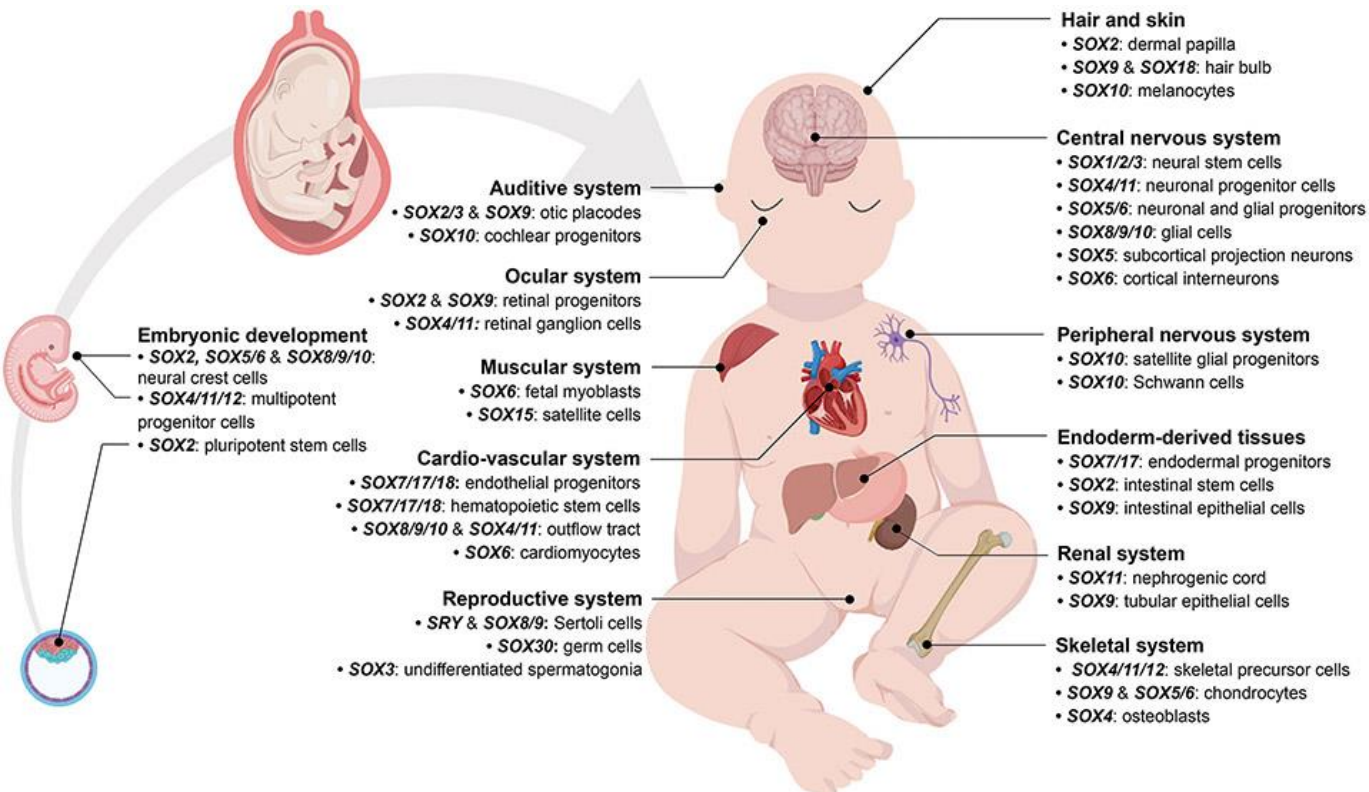
Transkripční faktory obsahující HMG doménu

Rodina obsahuje transkripční faktory důležité pro vývoj:

SRY – vývoj pohlavních orgánů (mutace: Swyerův syndrom-kompletní dysgeneze gonád)

LEF1, TCF1 – vývoj somitů, nervového systému a lymfocytů (mutace: leukémie u dětí, dětská diabetes 3 typu)

SOX rodina:



Mutace SOX:
Mentální retardace
XX male sex reversal
Coffin-Sirisův
syndrom
Lamb-Shafferův
syndrom
Campomelická
dysplazie
A mnoho dalších..

Thank you for your attention...



Vladimír Rotrekl
vrotrekl@med.muni.cz

Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University