

A colorful, stylized illustration of Noah's Ark. The ark is a large wooden structure with a red hull and a yellow upper section. A man with a beard and a white robe is lying on a yellow rug inside the ark. Various animals are depicted around the ark, including lions, giraffes, elephants, and sheep. The background is a green landscape with trees, flowers, and a blue sky with white clouds.

# VÝVOJOVÁ GENETIKA

Prof. RNDr. Boris Vyskot, DrSc.  
Biofyzikální ústav AV Brno

# VÝVOJOVÁ BIOLOGIE

- je multidisciplinárním přístupem ke studiu individuálního vývoje (**ontogeneze**) jako integrace **embryologie** s **cytologií** a chronologicky později i s **genetikou** a **molekulární biologii**
- **embryologie** je definována jako popisné (deskriptivní) studium embryonálního vývoje
- **cytologie** studuje buněčnou strukturu a funkci
- **genetika** je vědou o dědičnosti
- **molekulární biologie** představuje především analytický přístup myšlenkový i metodický

# Historické pozadí embryologie

- **Deskriptivní embryologie** - detailní analýzy vývojových událostí  
(4. st. př.n.l. Aristoteles, mikroskopicky od 17. st. M. Malpighi, A. van Leewenhoek)
- **Komparativní embryologie** – studium anatomických změn v průběhu vývoje odlišných organismů  
(od 19. st. – E. von Baer, W. Haeckel, T. Boveri)
- **Experimentální embryologie** – studium kauzálních faktorů či mechanismů vývoje postavením hypotéz a jejich testováním manipulací s embryi  
(od 19. st. - W. Roux, H. Driesch, H. Spemann)
- **Molekulární embryologie** – studium embryonálních procesů na molekulárně-genetické bázi (od 2. pol. 20. st. – S. Brenner aj.)

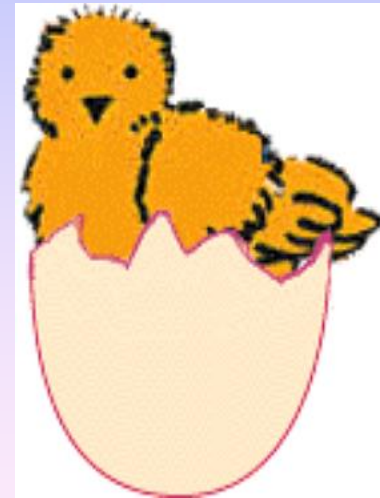
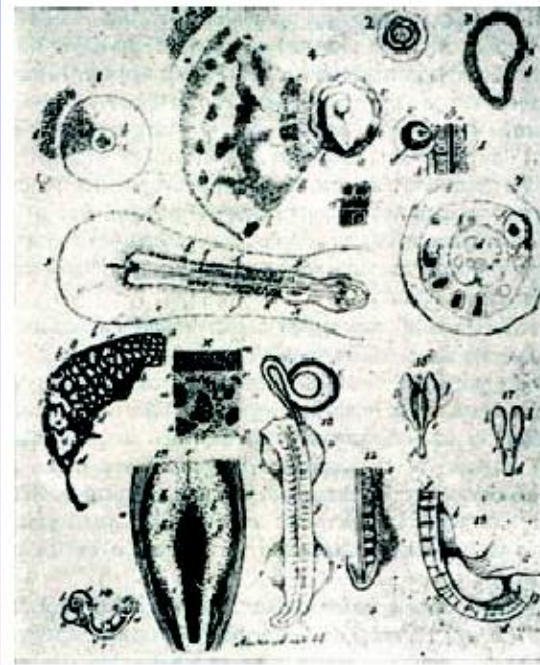
# Klasická embryologie se zabývá hamletovskými otázkami biologie

**Caspar Friedrich Wolff** (1733-1794) studiem embrya kuřete potvrzuje vznik nových struktur z „bezstrukturního“ vejce, teorie epigeneze:

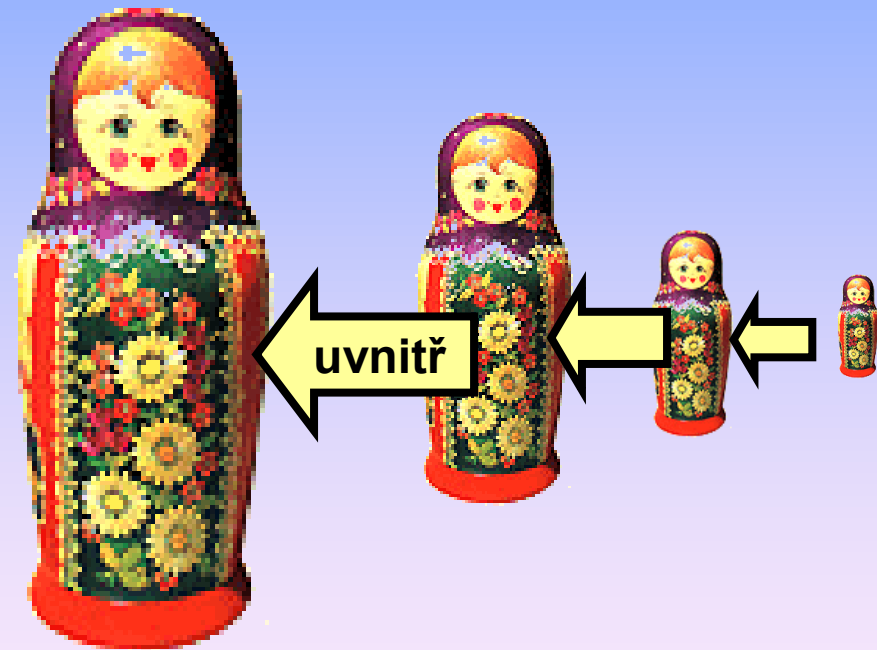
- odkud však pocházejí instrukce k budování složitého embrya ?
- jsou tyto instrukce vnitřního či vnějšího původu ?
- je nutné vysvětlovat embryonální organizaci magickou silou [vis essentialis] ?

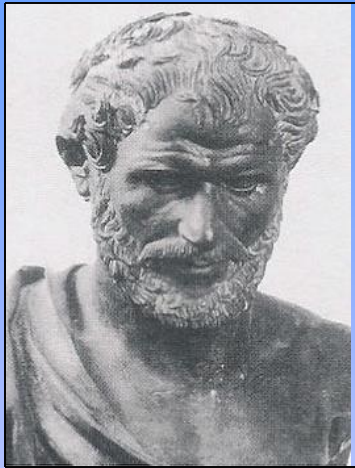


*Theoria generationis ( 1759 )*



# Preformismus či epigeneze ?





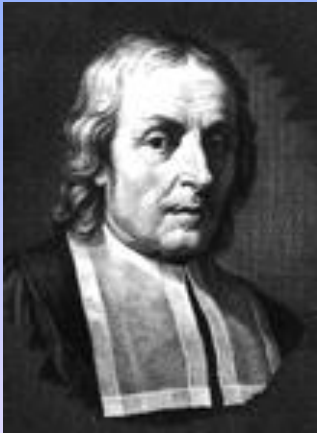
**EPIGENEZE** vysvětluje princip  
individuálního vývoje : výsledný  
organismus není preformován,  
nýbrž vzniká kreativně na základě  
zdeděné informace a vnitřních  
i vnějších vlivů

**Aristoteles**  
(384-322 př.Kr.)

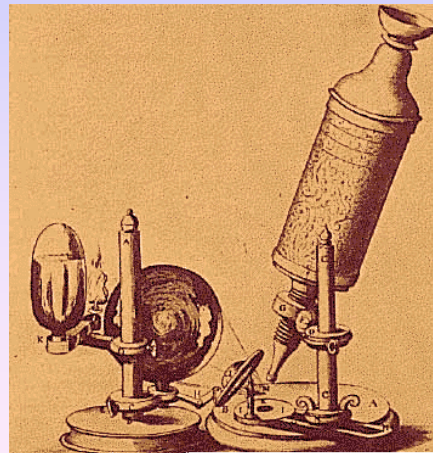
- první pozorování vývojové biologie (kuřecí vejce)
- napsal první učebnici reprodukční biologie
- otec teorií vitalismu a epigeneze
- představy o vzniku nových organismů : ze substrátu, pučením, hermafroditismem a bisexuální reprodukci

# Preformismus a mechanicismus :

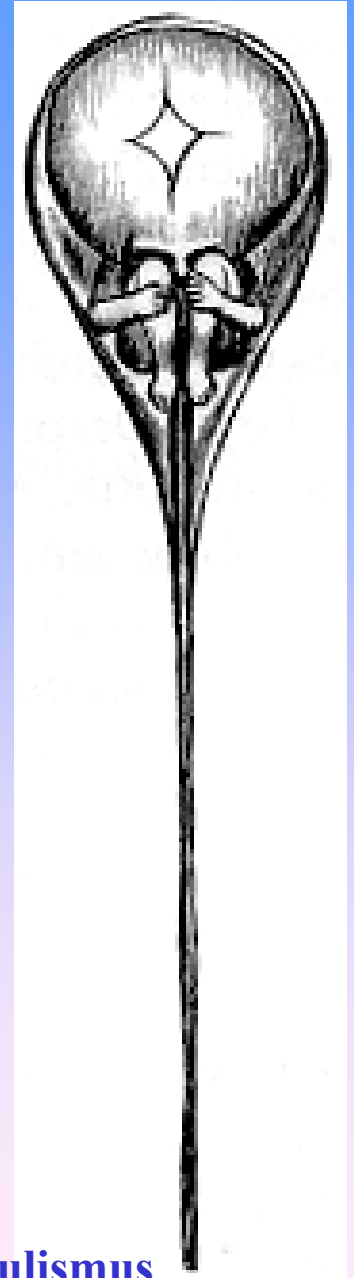
*... lidský zárodek je již vybaven všemi orgány ...*



**Marcello Malpighi (1 628 - 1 694) ... ovismus**

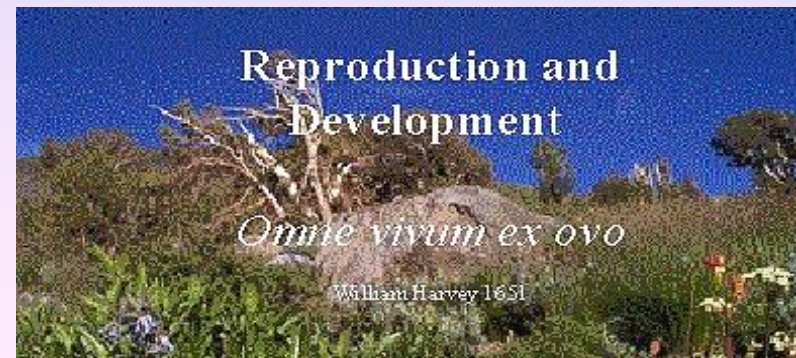
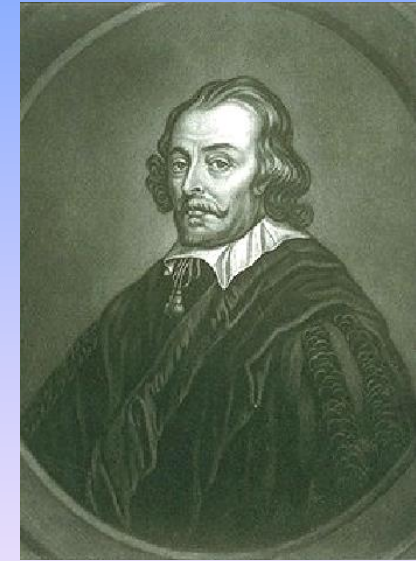
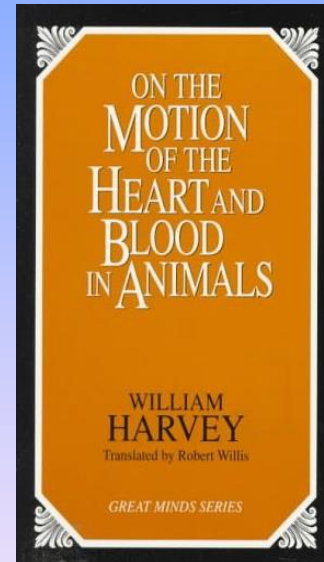
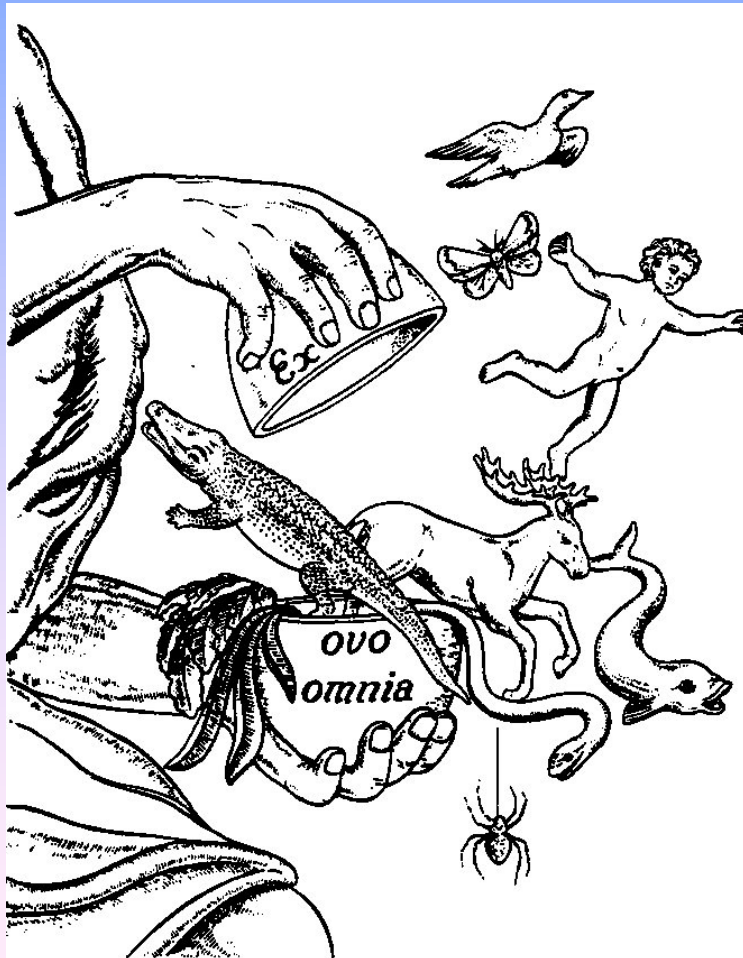


**Antoni van Leeuwenhoek (1 632 – 1 723) ... animalculismus**



# William Harvey (London 1578-1657)

- autor moderní teorie epigeneze
- objevitel krevního oběhu

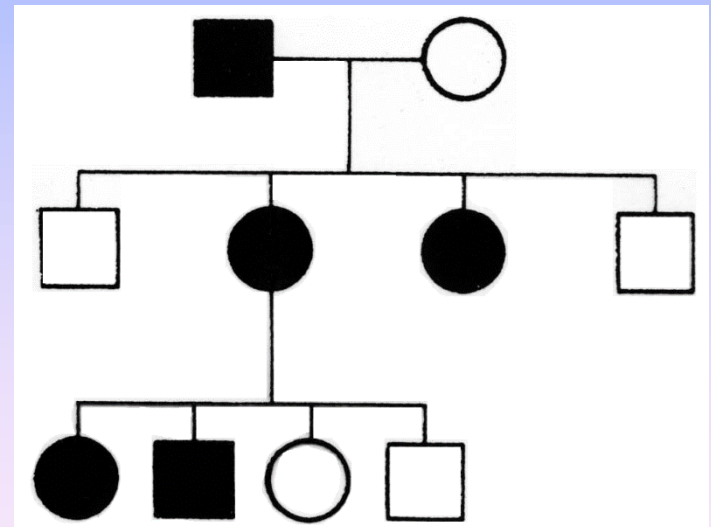




# Pierre-Louis Moreau de Maupertuis (1698-1759)



genealogickou analýzou polydaktylie  
vyvrátil teorii preformismu

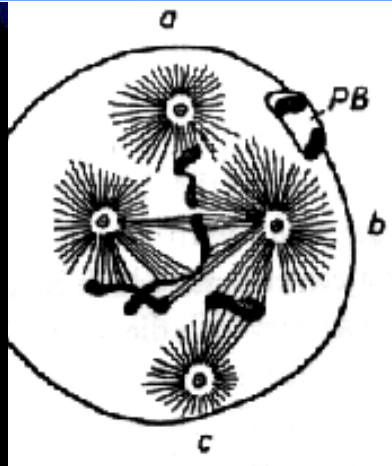
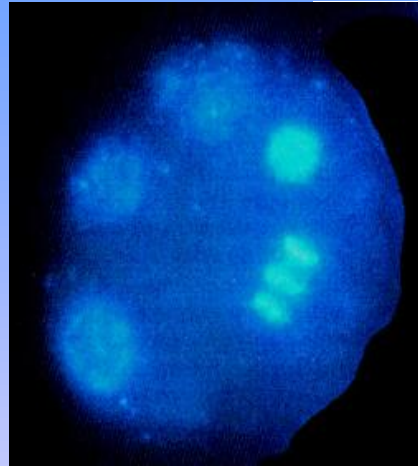


Joseph Koelreuter (2. pol. 18. století) :  
hybridizací dvou druhů tabáku prokázal  
význam obou rodičů v potomstvu

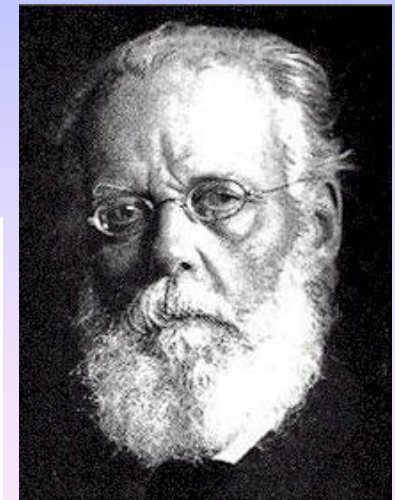
# DIFERENCIACE ZÁRODEČNÉ DRÁHY A TEORIE MOZAIKOVÉHO VÝVOJE



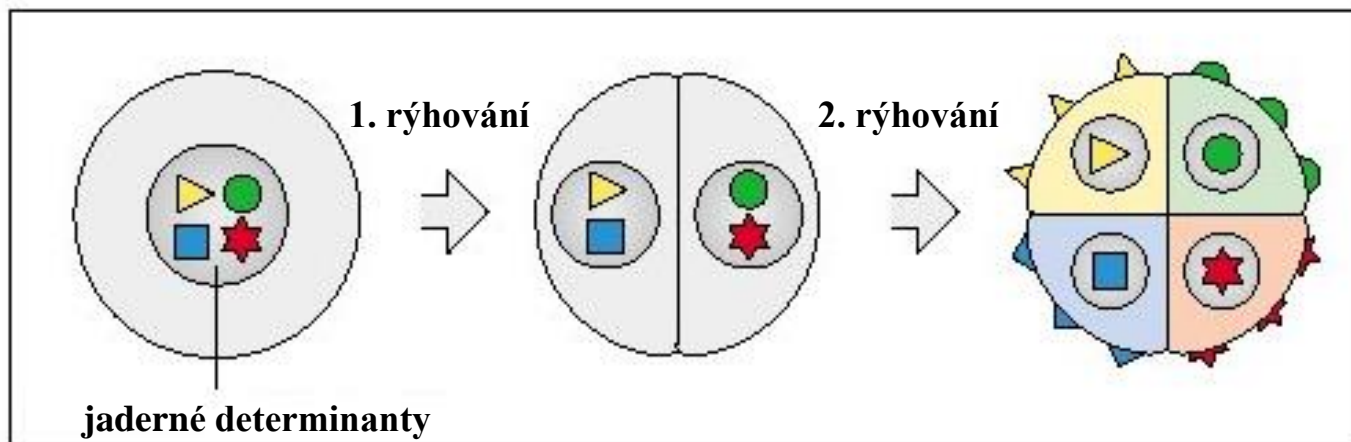
Theodor Boveri (1862-1915)



*Ascaris*



Augustin  
Weizmann  
(1834-1914)

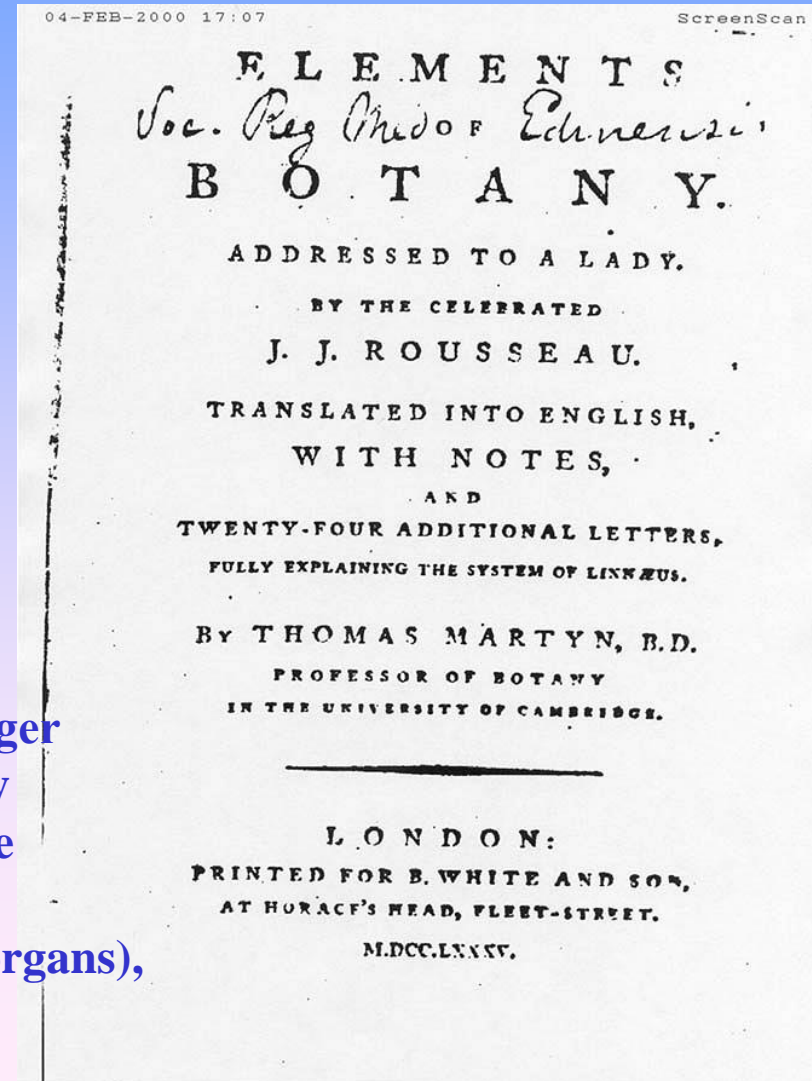


# Jean-Jacques Rousseau (1712-1778)

## *Letters on the Elements of Botany* (1773)



... Whenever you find them double, do not meddle with them, they are disfigured... Nature will no longer be found among them. She refuses to reproduce any thing from monsters thus mutilated: for if the more brilliant parts of the corolla (petals), be multiplied, it is at the expense of the more essential parts (sex organs), which disappear under this addition of brilliancy...



# Johann Wolfgang von Goethe (1747-1832)

## *The Metamorphosis of Plants (1790)*

... From first to last,  
the plant is nothing but leaf ...



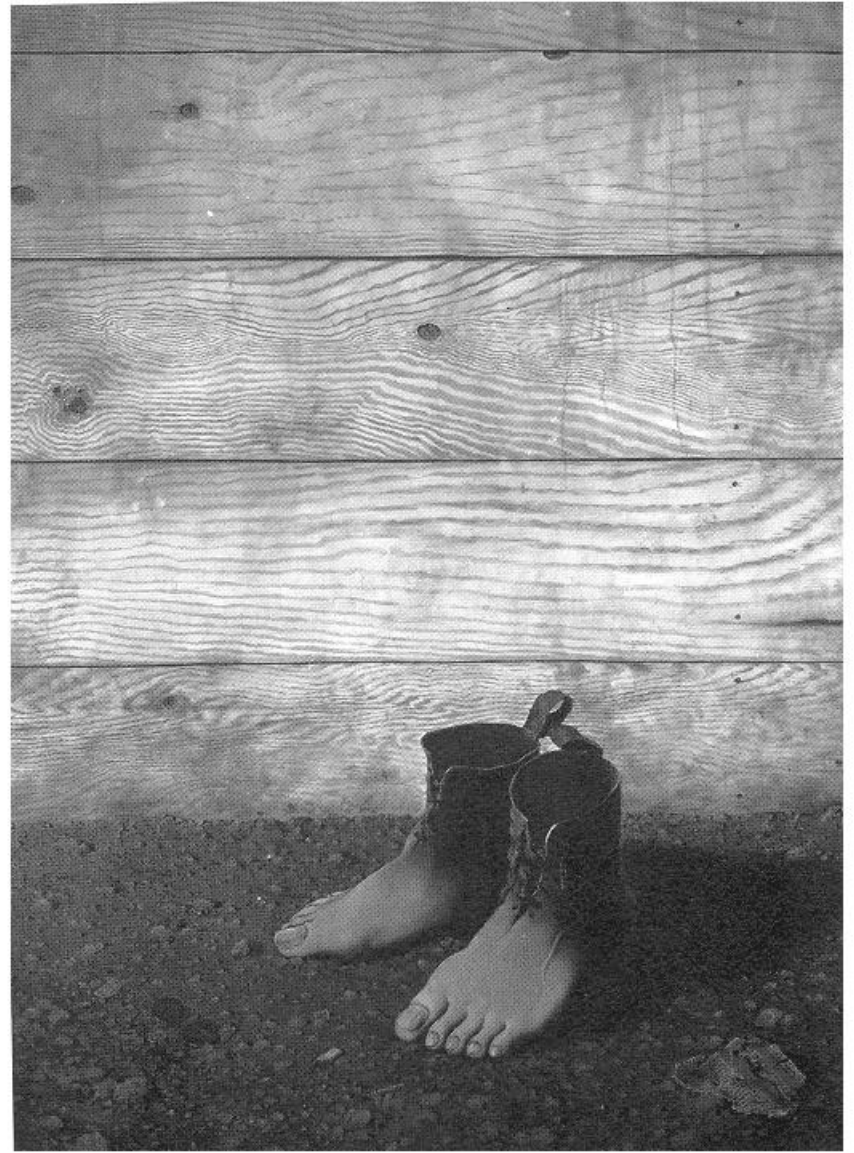


**William Bateson**

(1861-1926)

*Materials for the Study of  
Variation (1894)*

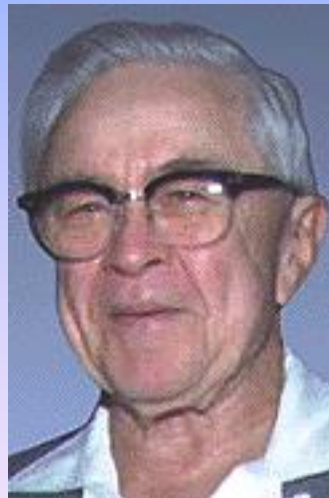
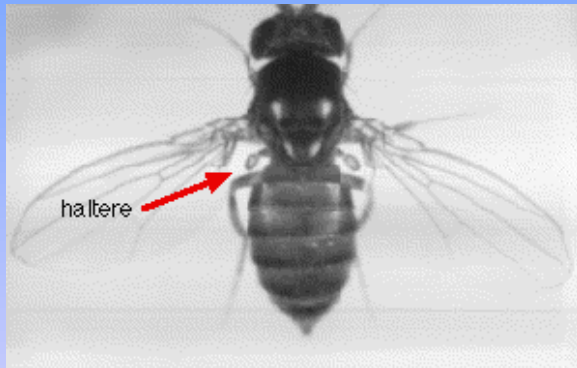
*... HOMEOSIS is a particular  
type of variation, in which  
one member of a repeating  
series assumes features that  
are normally associated with  
a different number ...*



**The Red Model, René Margritte (1935)**

# HOMEOTICKÉ GENY

jeden z klíčů specifikace a diferenciacce



**BITHORAX** specifikuje třetí článek hrudi a zadeček: ztráta funkce – místo kyvadélek se tvoří druhý pár křídel  
( *more anterior phenotype* )

embryo

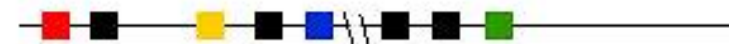
dospělec



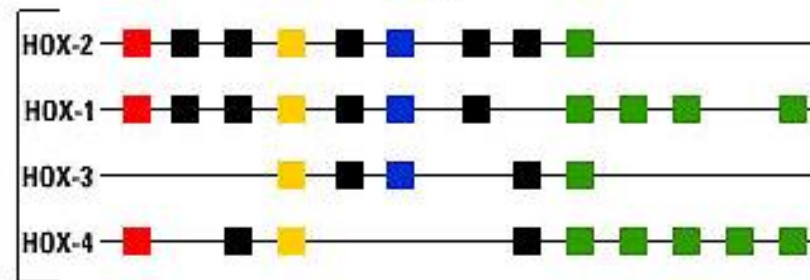
Antennapedia  
komplex (anterior)

Bithorax komplex  
(posterior)

moucha

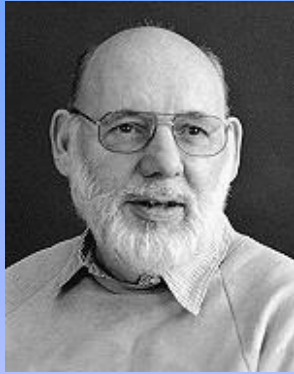


myš

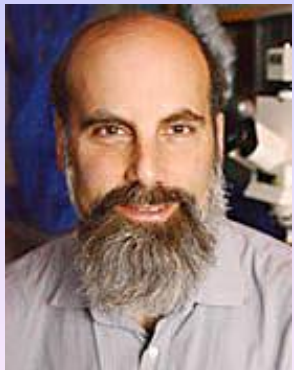


**Edward Lewis (1963) : pravidlo spacio-temporální kolinearity**

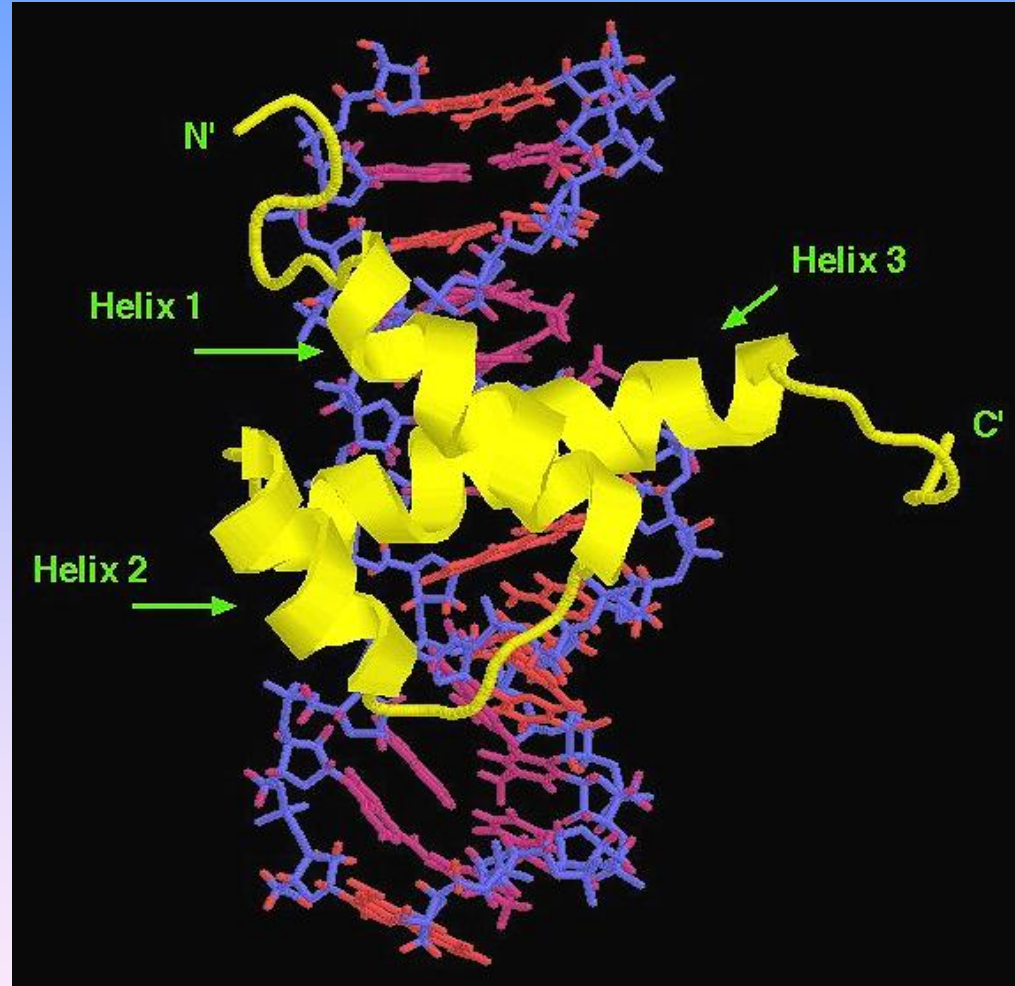
# Objev homeoboxu (1982)



Walter Gehring  
(Basel)

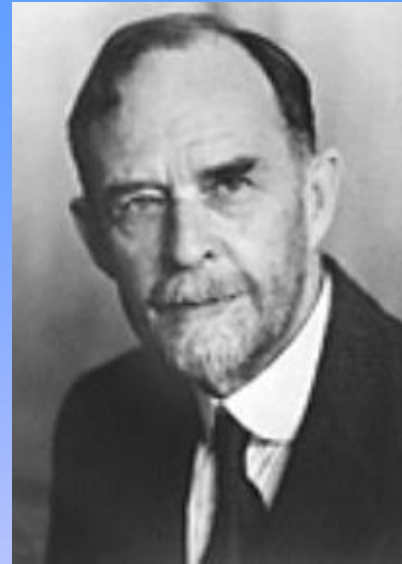


Matthew Scott  
(Stanford)

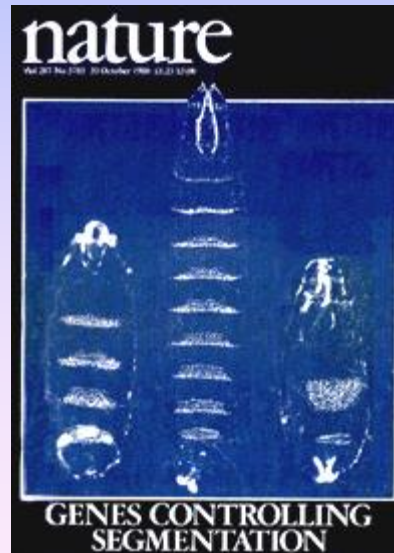


vazba homeodomény *Antennapedia* na DNA

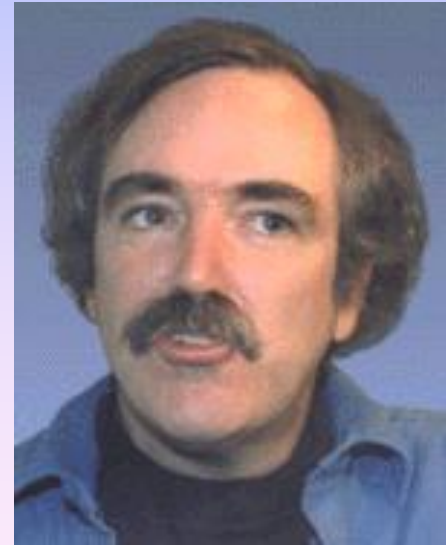
**Thomas Hunt Morgan  
(1866-1945)**



**Christiane Nüsslein  
(\*1942)**



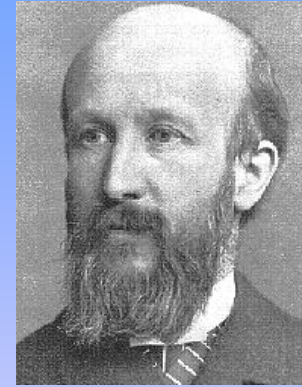
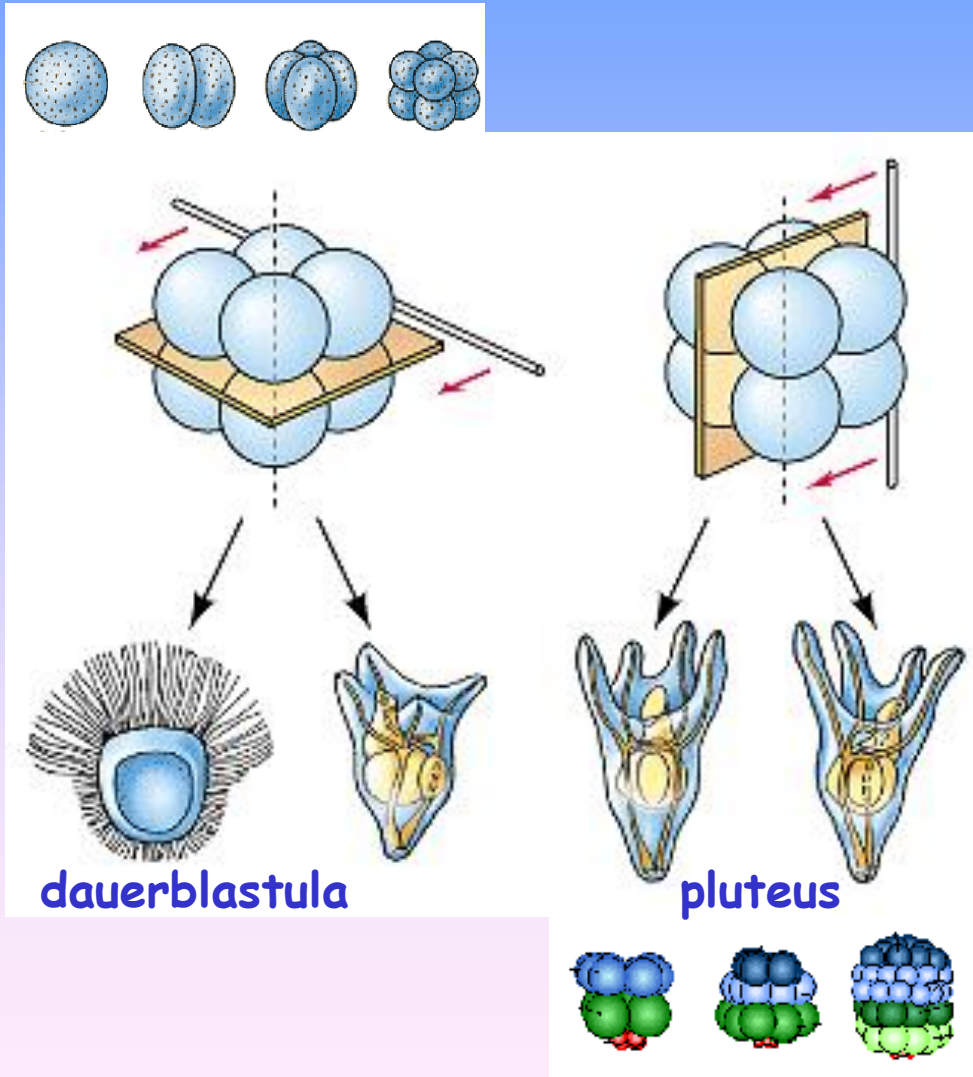
**Nature (1980)**



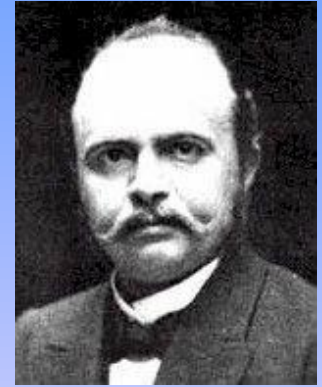
**Eric Wieschaus  
(\*1947)**



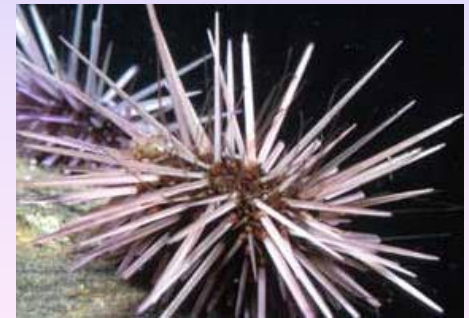
# Mořská ježovka : historický model fertilizace, embryologie a buněčného klonování



Oscar Hertwig  
(1849-1922)

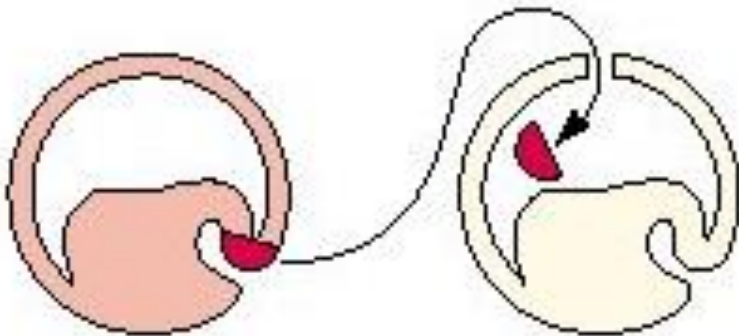


Hans Driesch  
(1876-1941)



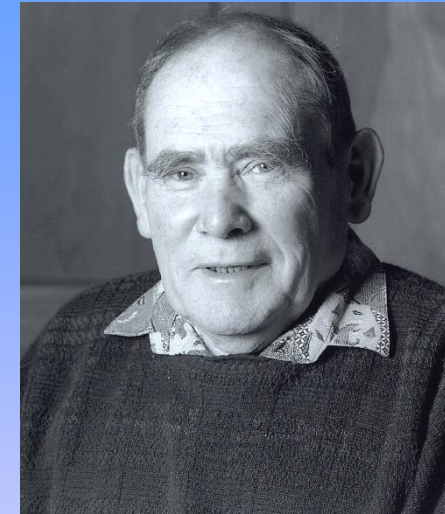
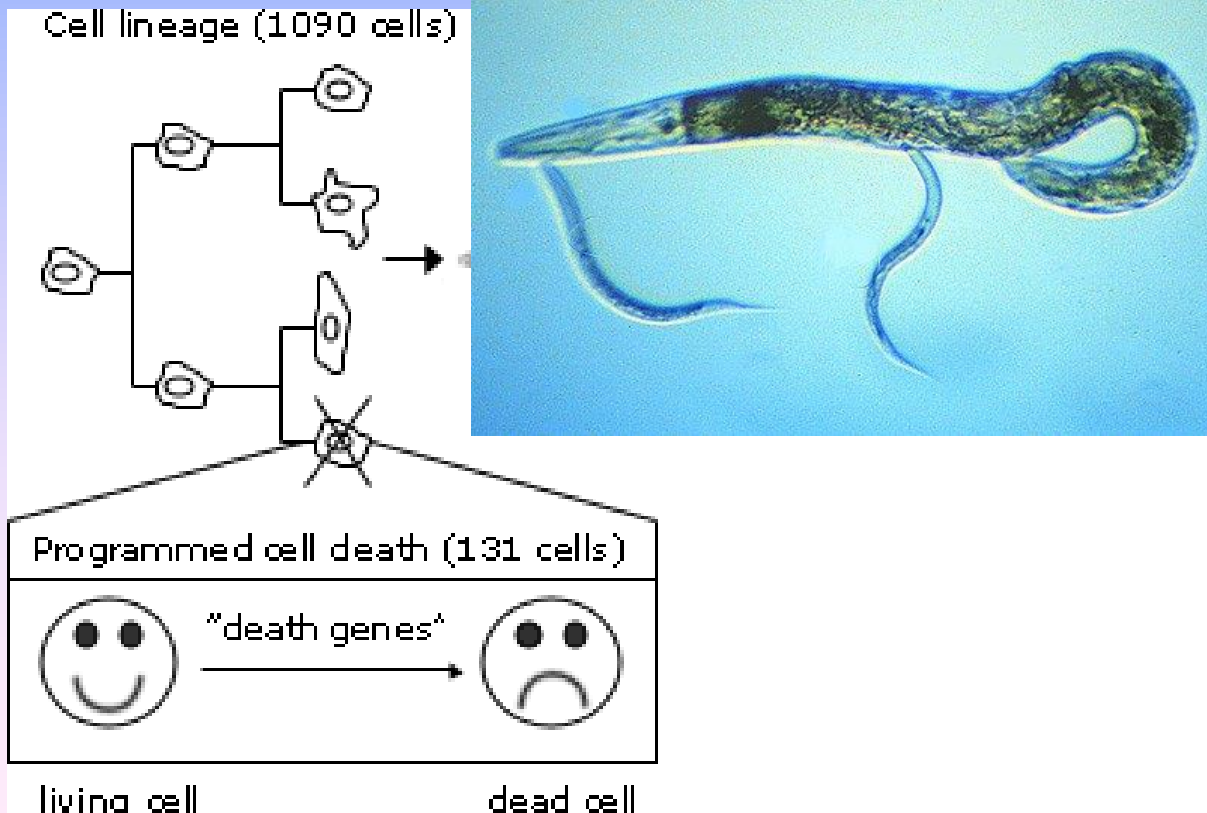
# HISTORICKÉ KOŘENY VÝVOJOVÉ BIOLOGIE :

*Hans Spemann a Hilde Mangoldová (1924)*



# Nobelova cena 2002 za fyziologii a lékařství

za objevy genetické regulace  
orgánového vývoje  
a programované buněčné smrti  
... na modelu *Caenorhabditis elegans*



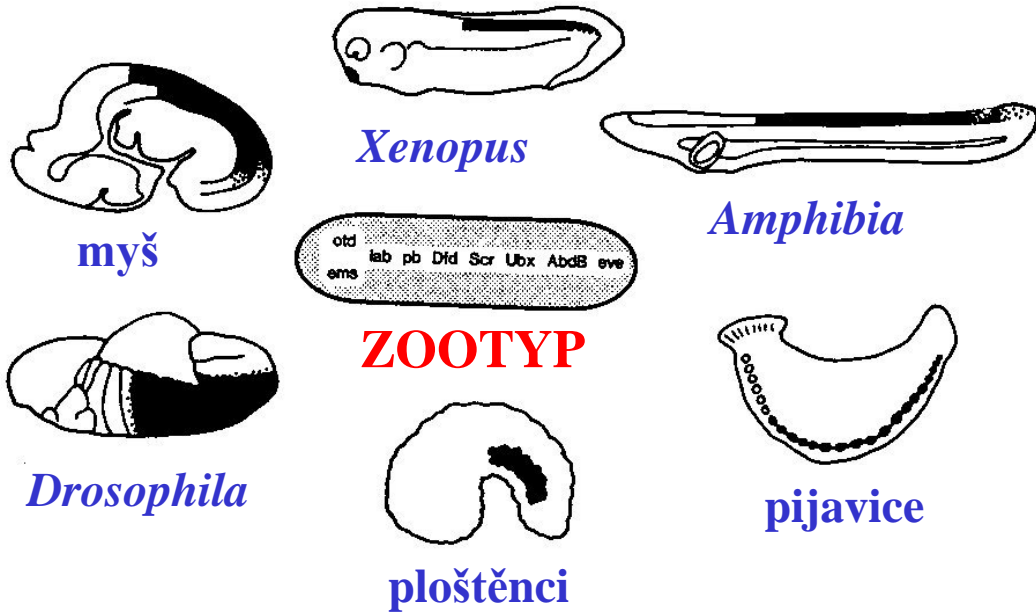
Sydney Brenner  
(1927, JAR)



John Sulston  
(1942, UK)



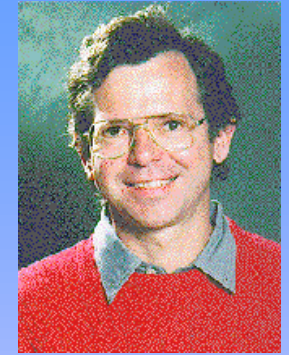
Robert Horvitz  
(1947, USA)



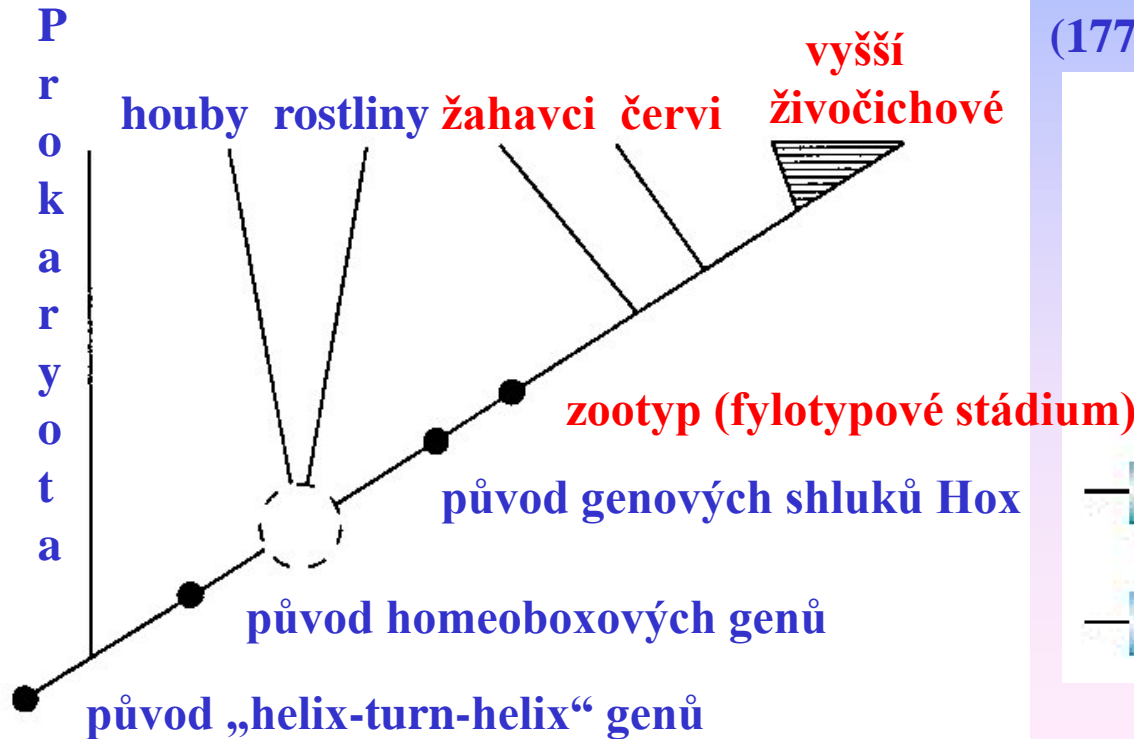
# ZOOTYP ???



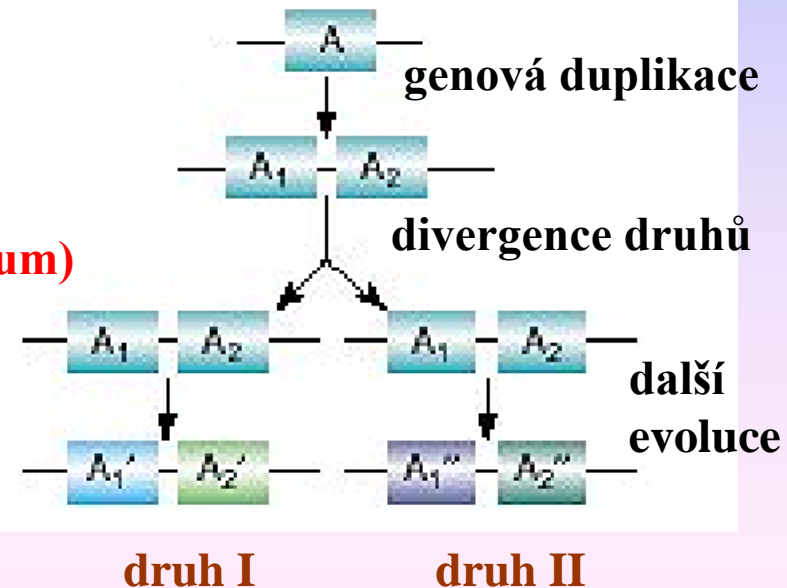
Étienne Geoffroy  
Saint-Hilaire  
(1772-1844, Paris)



Jonathan Slack  
(\*1949, Bath)



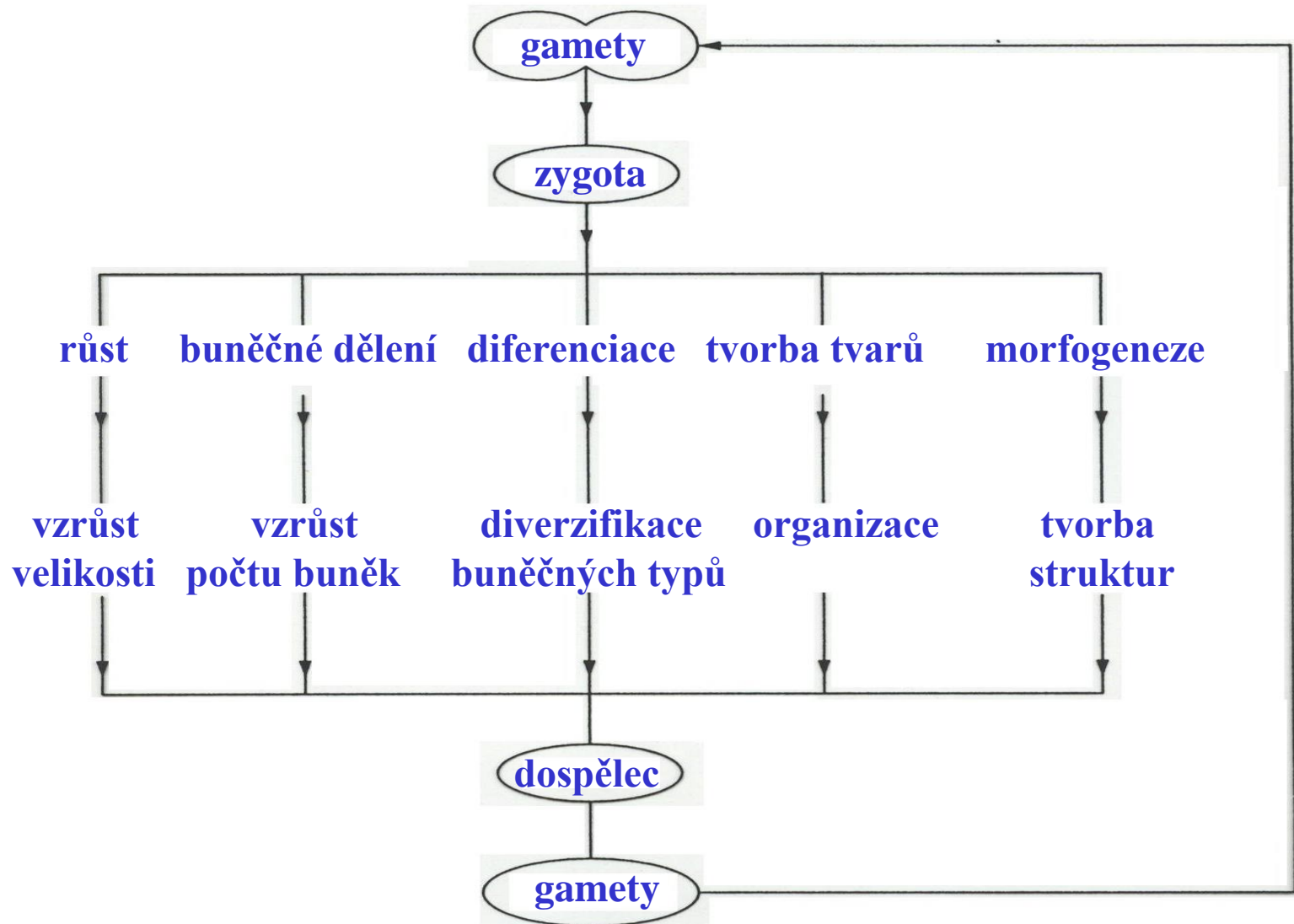
## paralogní geny



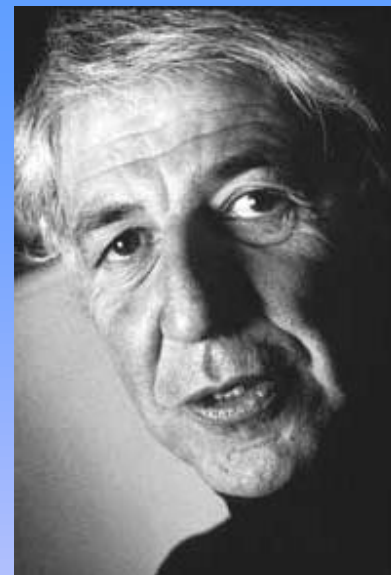
# OBEČNÉ VÝVOJOVÉ PRINCIPY

- **buněčná proliferace, tj. opakovaná buněčná dělení**
- **buněčná diferenciace,**  
**vyskytující se v definovaném prostorovém pořádku**
- **tvorba tvarů, různé buněčné typy se vyskytují**  
**v definovaných tvarech**
- **vývoj je určován i buněčnými pohyby**  
**a buněčnou migrací**
- **programovaná buněčná smrt je také důležitým**  
**ontogenickým faktorem**

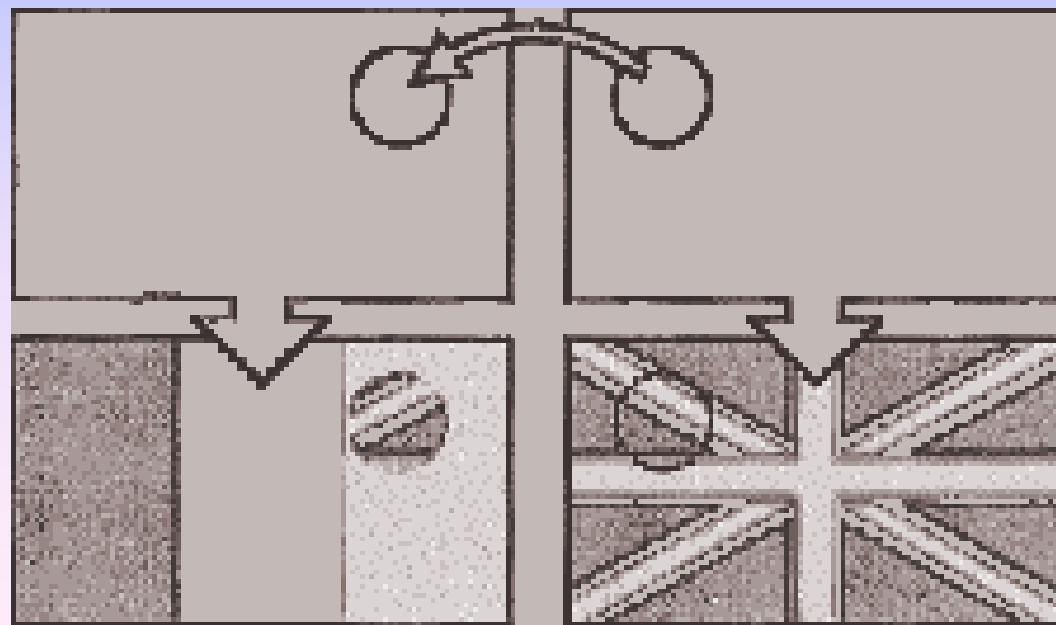
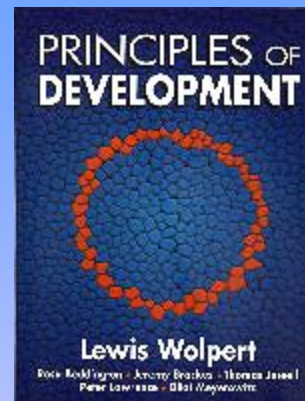
# Přehled vývojových procesů



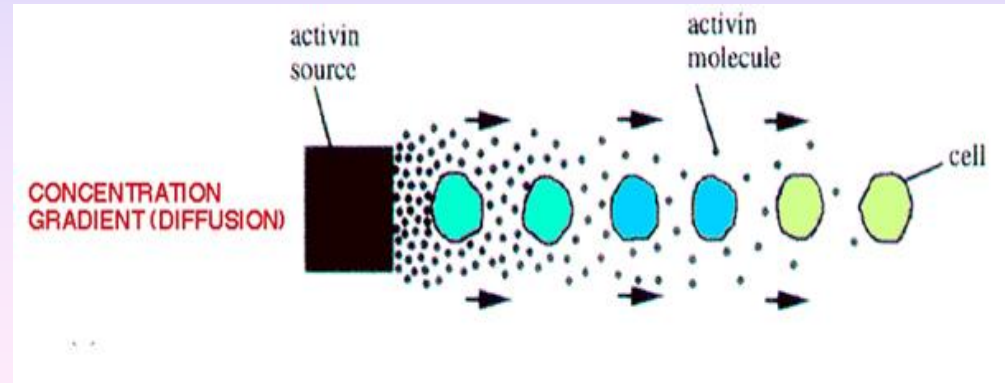
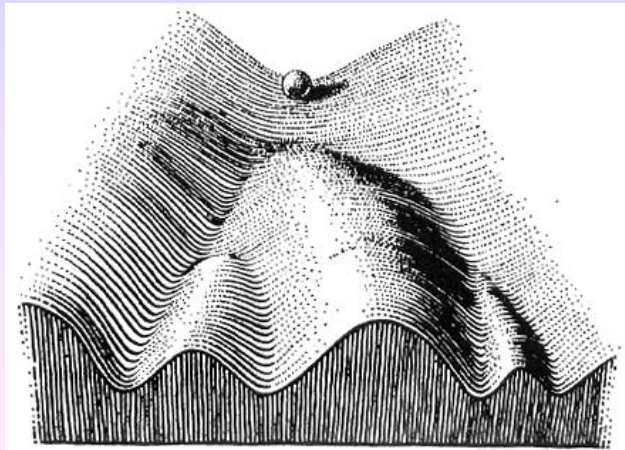
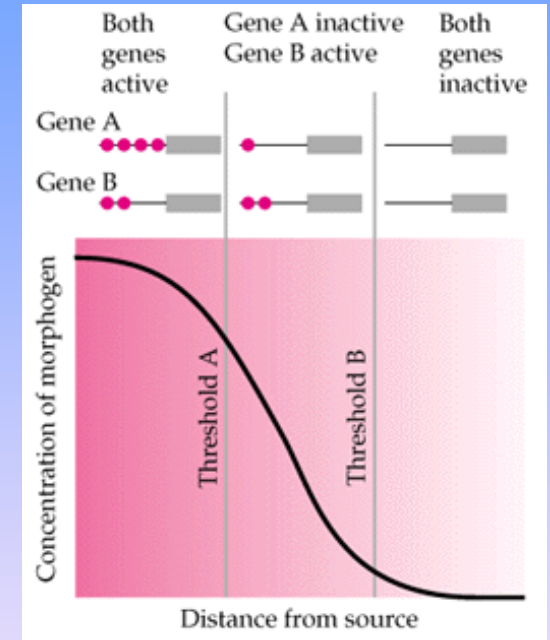
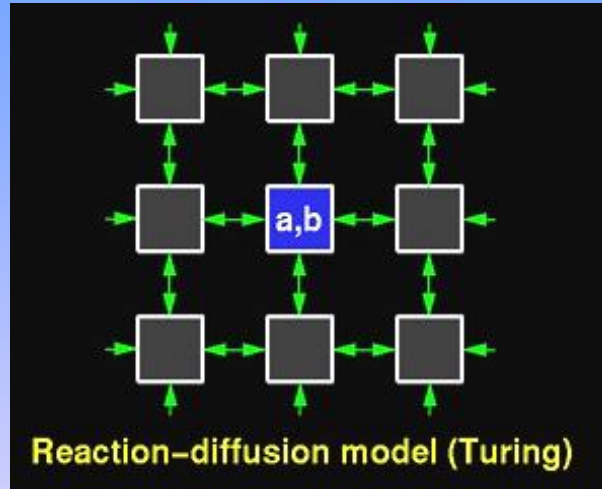
# TEORIE POZIČNÍ INFORMACE : MODELY VLAJEK



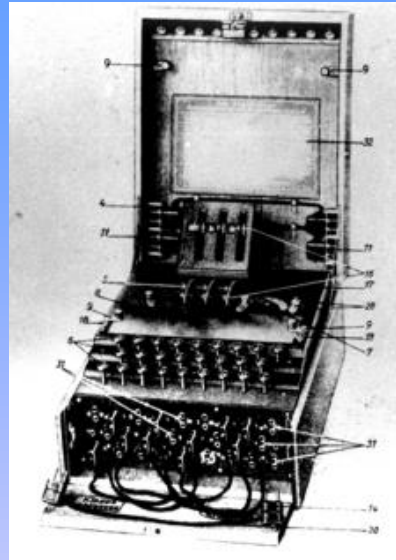
Lewis Wolpert  
(\*1929, London)



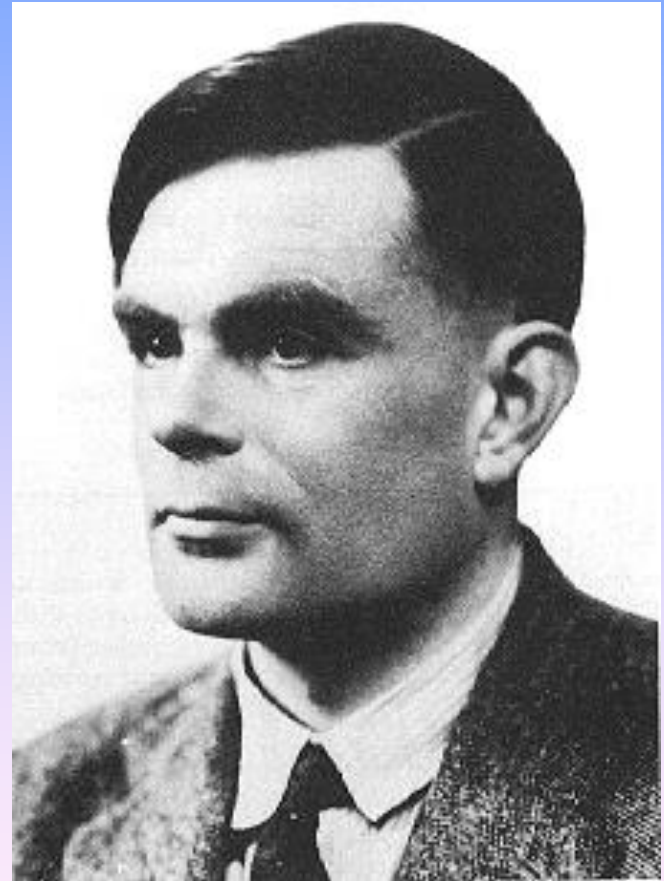
# Modely diferenciace a vytváření tvarů







## Alan Mathison Turing (London, 1912-1954)

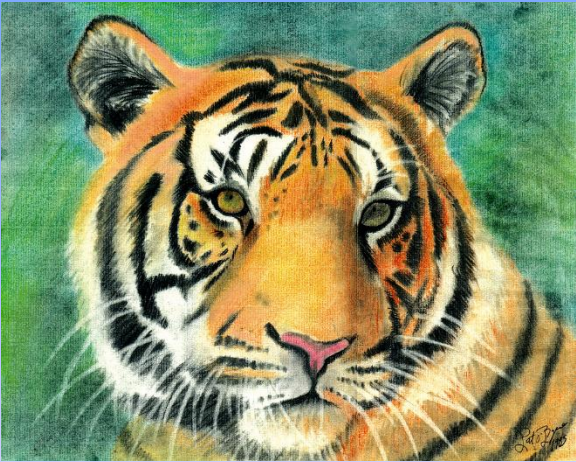


**The Chemical Basis of Morphogenesis (1952)**

# Jak vznikají barevné skvrny na zvířatech ?

modelování procesů morfogeneze

Alan Turing, 1952



**Morfogeny :**  
aktivátor a inhibitor,  
reakce a difúze

Misionáři

$$A \cos q_1 x + B \cos q_2 x + D = U$$

Kanibalé

$$A' \cos q_1 x + B' \cos q_2 x + D' = V$$

Osudy kanibalů (pozitivní aktivátor) a misionářů na bicyklech (negativní inhibitor) - v omezeném prostoru vznikají enklávy kanibalů či misionářů, vznik uspořádání tvarů z původně homogenního pole



reakce a difúze



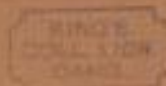
Series B. Biological Sciences

No. 641 Vol. 237 pp. 37-72 14 August 1952

## THE CHEMICAL BASIS OF MORPHOGENESIS

By

A. M. TURINO, F.R.S.



Printed in Great Britain by the University Press, Cambridge

Cambridge University Press

London: Bentley House, N.W. 1

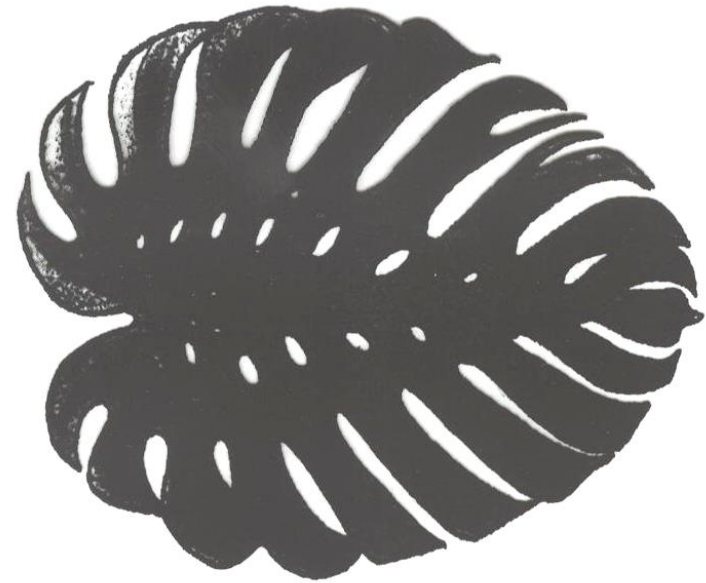
New York: 25 East 27th Street, N.Y.

# PROGRAMOVANÁ BUNĚČNÁ SMRT

je dobrovolné sebeobětování se buňky  
ve prospěch vyvíjejícího se organismu (celku)  
- apoptóza, nekróza, ...



morfologie listu *Monstera deliciosa*

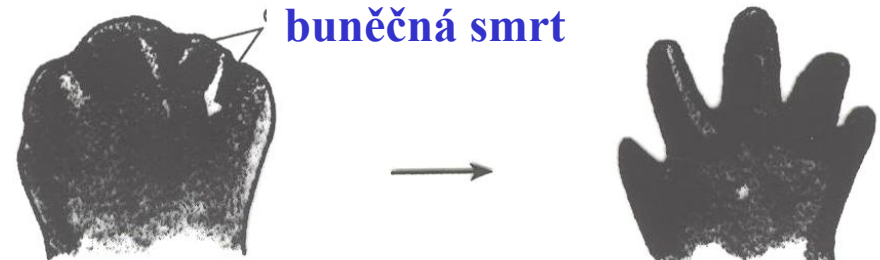


# APOPTÓZA

programovaná  
buněčná  
smrt

jako morfogenní nástroj  
tvorby tvarů  
(*pattern formation*)

vývoj končetiny obratlovců a separace prstů



# Princip zákonitosti a nahodilosti ve vývojové biologii

Mají růstové pohyby zákonitý nebo náhodný směr ?

Je levo-pravo-stranná asymetrie dána pouze environmentálně ?

Který genetik vyřešil záhadu dědičnosti směru otáčení ulity měkkýšů ?

# TRANSLAČNÍ SYMETRIE

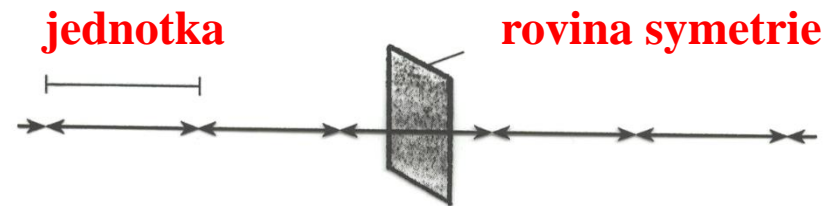
=

pravidelné opakování  
(obvykle lineární)  
základních jednotek  
mnohobuněčných  
organizmů

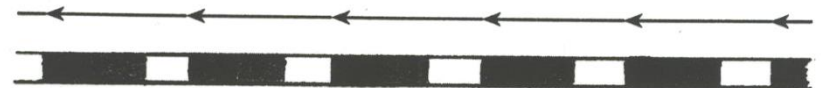
↓  
člankovaná těla



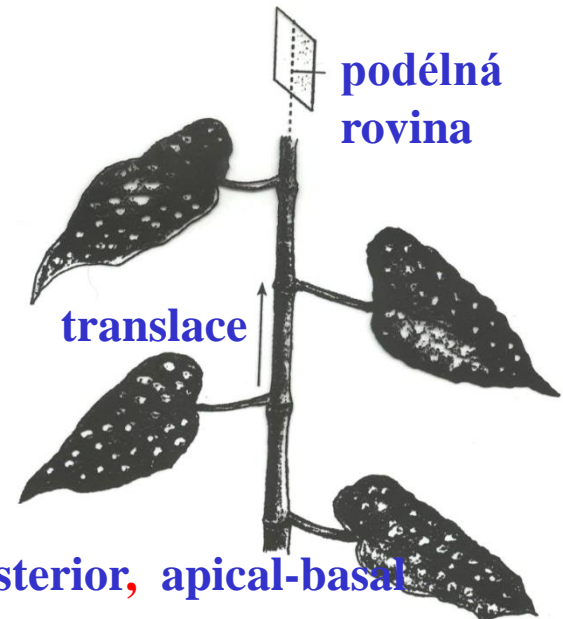
rozdílení článků (homeotické geny)  
vede k diferenciaci podél základních os : anterior-posterior, apical-basal



translační symetrie bez polarity

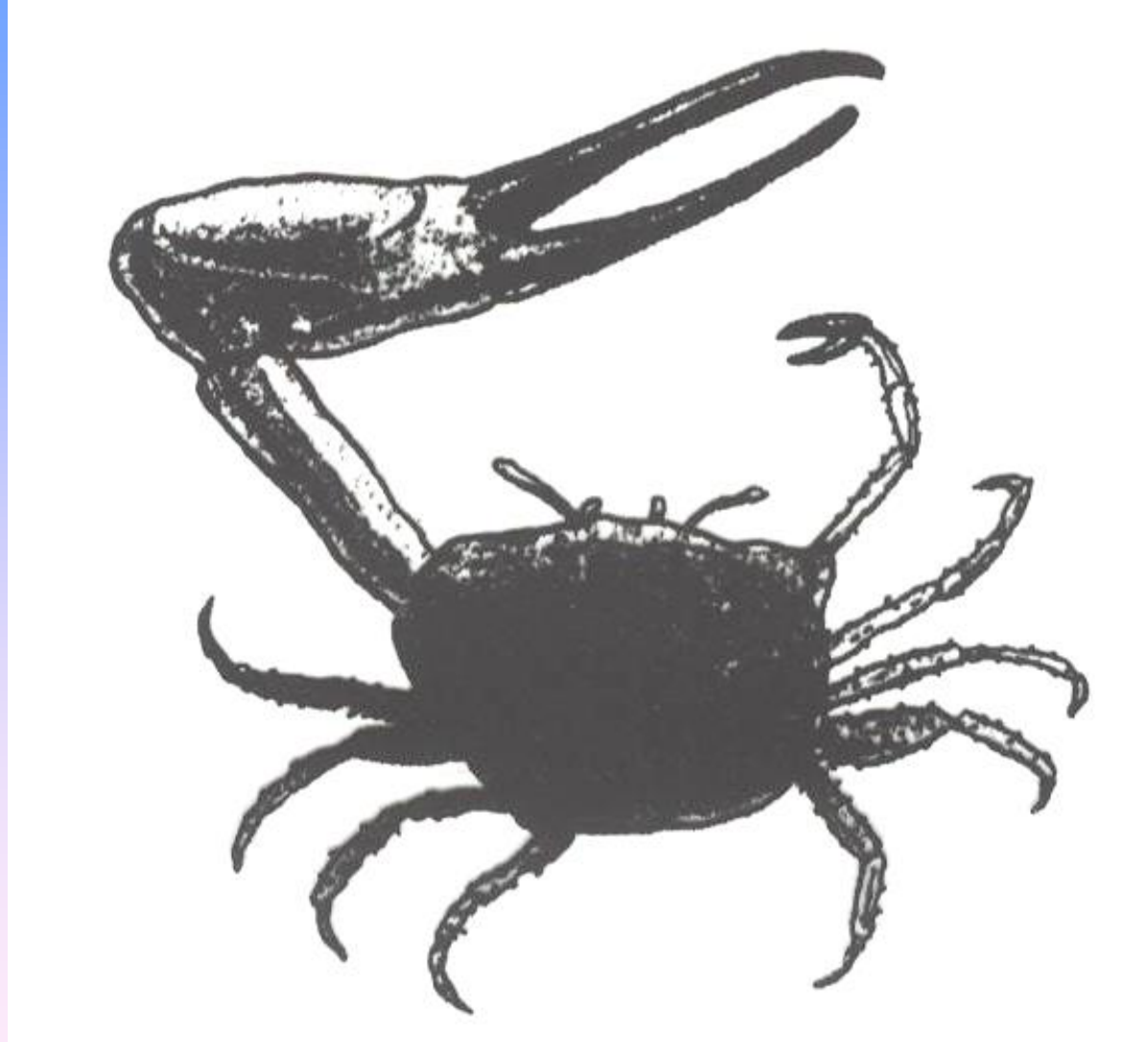


translační symetrie s polaritou

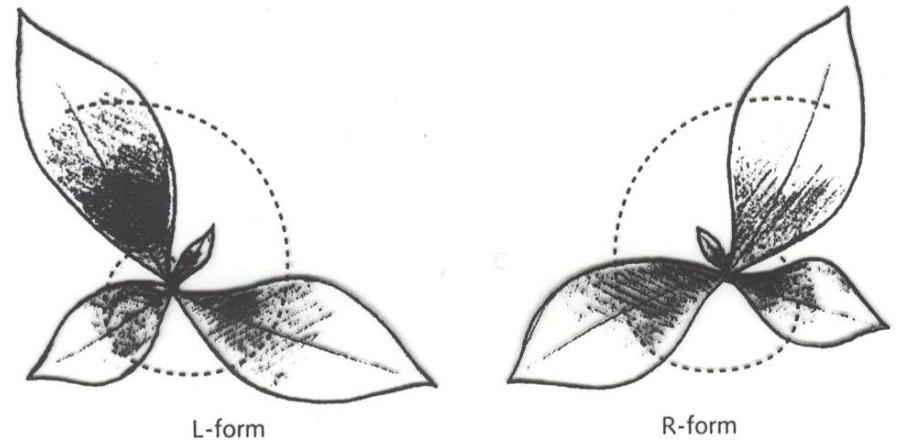




Má pravo - levá asymetrie svou inherentní podstatu ?



( Ne ) náhodná asymetrie  
vývinu listů a květů



50 : 50

selfing ( tabák )

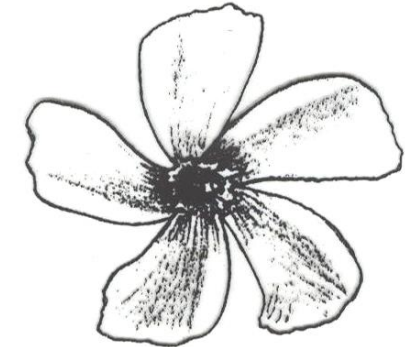
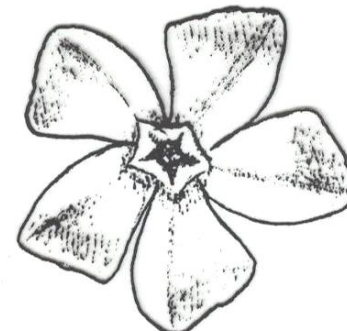
**směr otáčivosti  
je náhodný !**

50 : 50

50 : 50

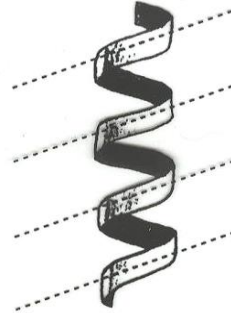
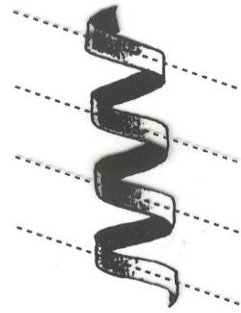
brčál  
( L, anticlockwise )

oleandr  
( R, clockwise )



**směr otáčivosti není náhodný !**

# Růstové pohyby vedou k zákonitému spirálnímu uspořádání



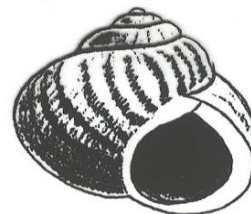
levotočivá (L)      pravotočivá (R)  
šroubovice



chmel (L)  
(*anticlockwise*)



svlaček (R)  
(*clockwise*)

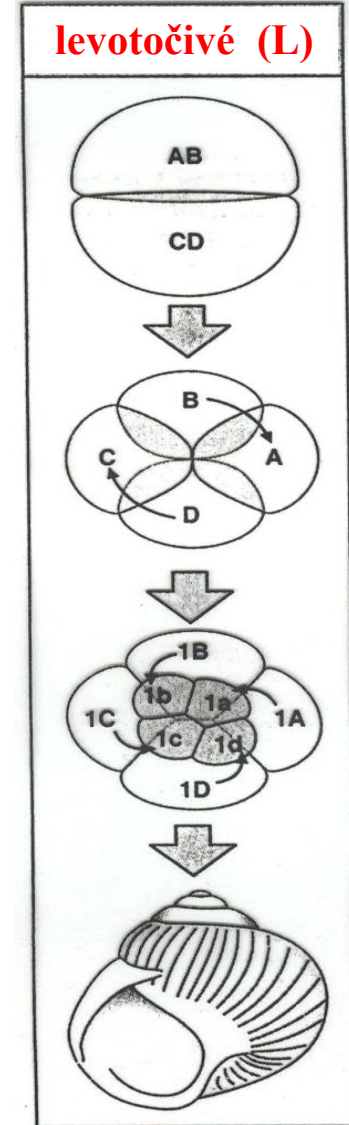
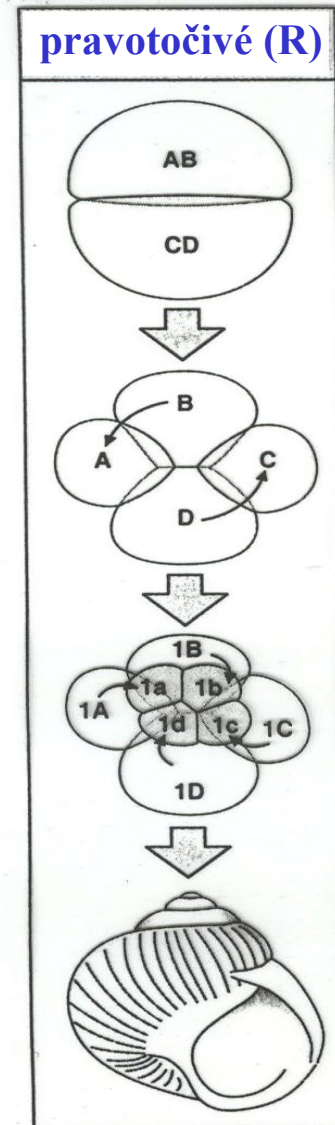


# Směr otáčivosti ulity měkkýšů odpovídá maternálně determinovanému rýhování

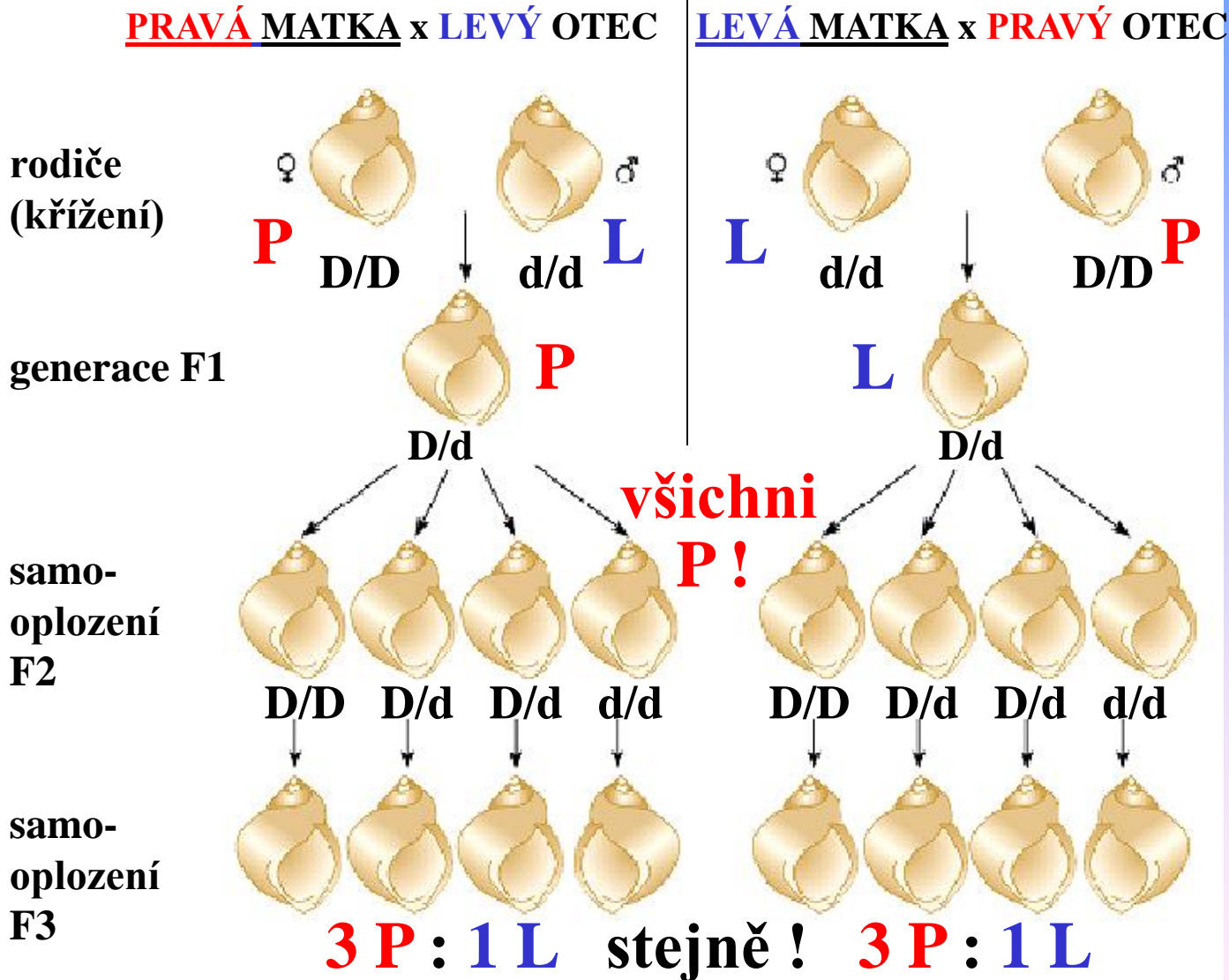
- směr otáčení je způsoben posunem čtyř animálních (1 a-d) blastomer vůči čtyřem vegetálním blastomerům (1 A-D)

- pravotočivost je dominantní nad levotočivostí

- injekce cytoplazmy R-formy do rýhujícího se vajíčka L-formy vede ke změně otáčení L → R



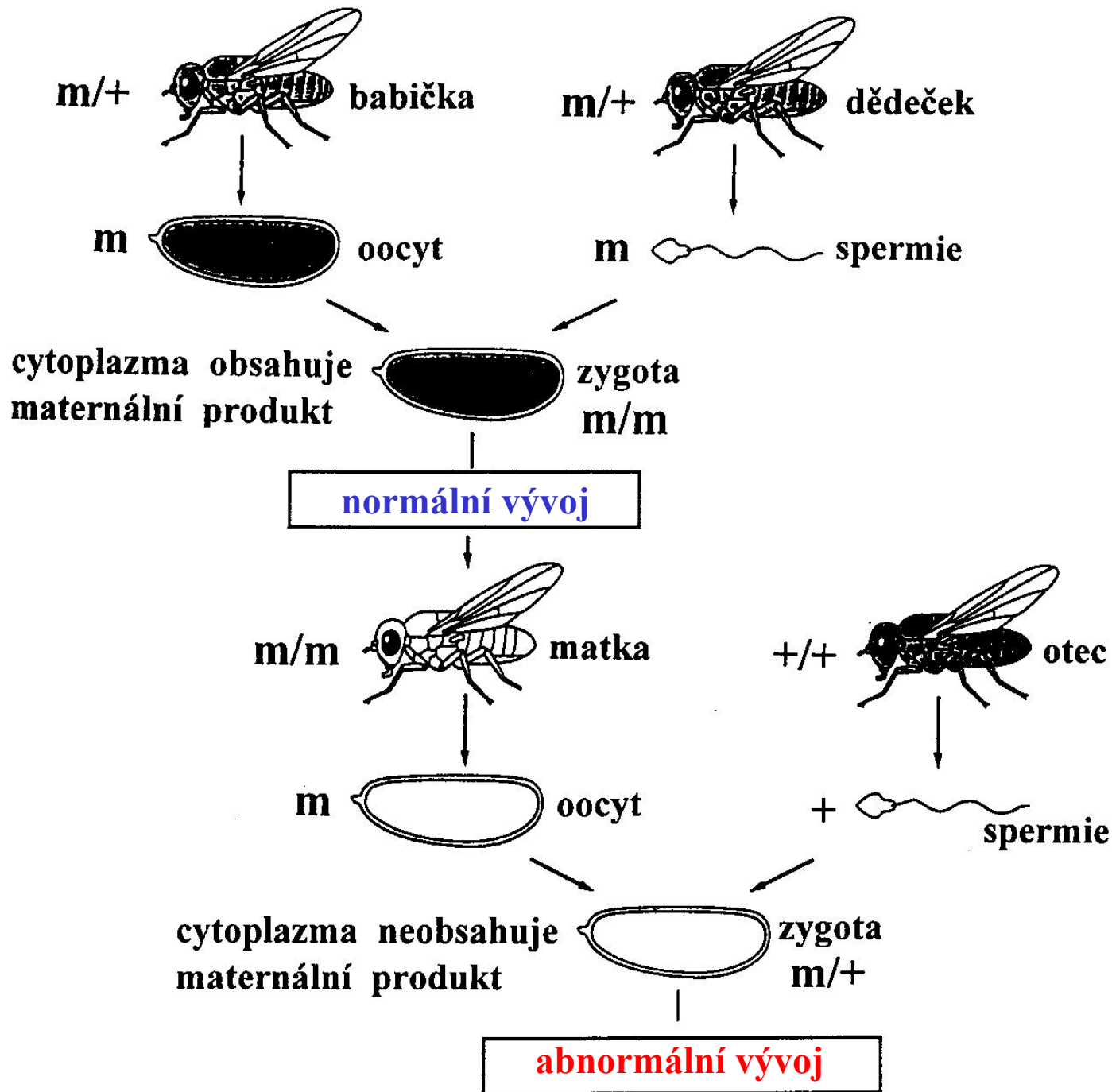
# Cytoplazma oocyty rozhoduje o směru otáčení ulity měkkýšů: „pravotočivý“ faktor je dominantní



Alfred Sturtevant  
(*Limnaea* : 1923)

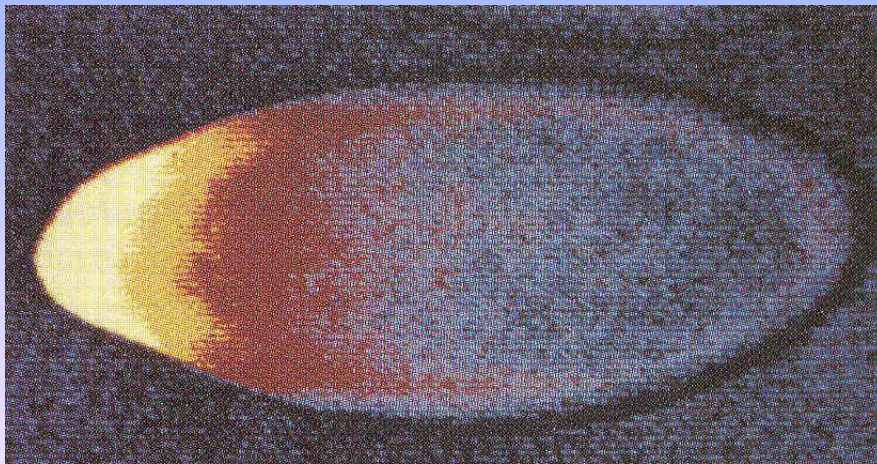


# Dědičnost genů s maternálním účinkem



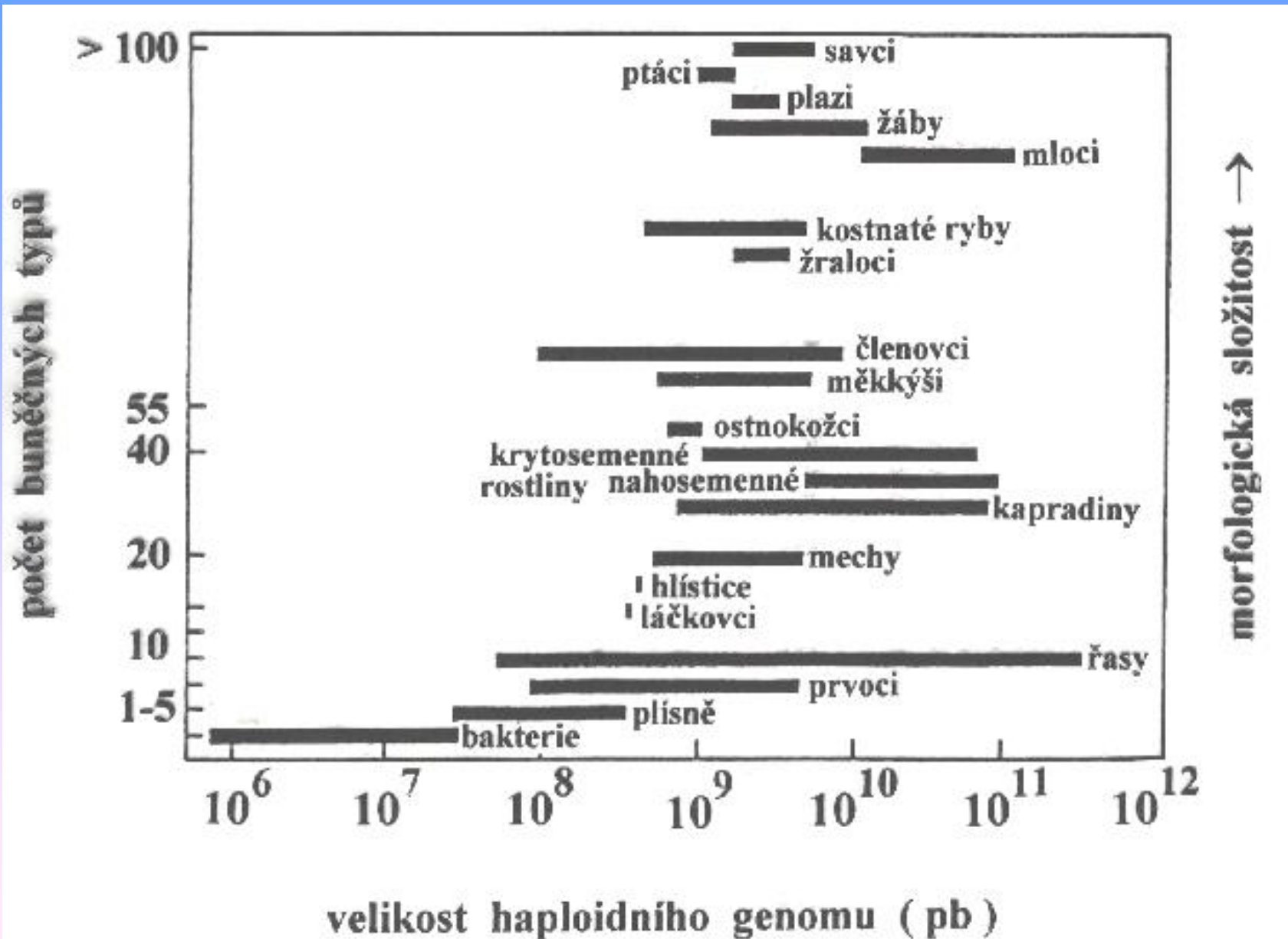
# Úlohy genů s maternálním účinkem

vajíčko drosofily s gradientem mRNA



- geny odpovědné za iniciaci antero-posteriorní a dorso-ventrální polarizaci ambrya
- *Bicoid* mRNA je rozpoznávána v cytoskeletu svou 3` UTR v „budoucí“ anterorní oblasti vajíčka
- *Nanos* mRNA je rozpoznávána svou 3` UTR v „budoucí“ posteriorní oblasti vajíčka
- *Hunchback* a *caudal* mRNA jsou rozpoznávány v různých oblastech embrya

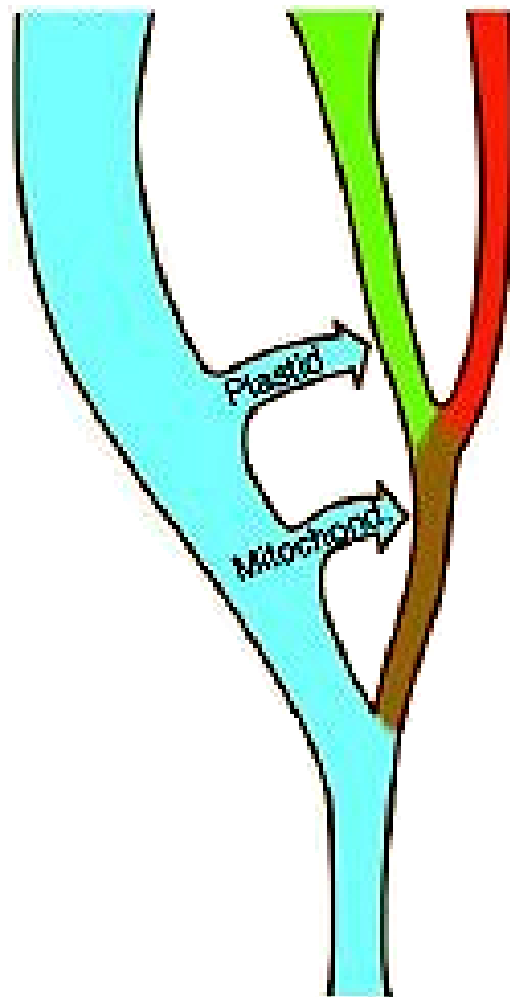
Paradox hodnoty C: vztah mezi velikostí haploidního genomu, počtem buněčných typů a morfologickou složitostí organismů





# Základní kroky v evoluci rostlin a živočichů

prokaryota **rostliny** **živočichové**



- současnost
- 0,6 miliard let  
fosílie mnohobuněčných
- 1,6 miliard let  
společný předek  
rostlin a živočichů
- 2,7 miliard let  
stopy fosílií eukaryot
- 3,8 miliard let  
důkaz existence života

# VÝVOJOVÉ PROCESY U ROSTLIN A ŽIVOČICHŮ

---

zárodečná dráha	<i>zárodečné buňky vznikají ze somatických v pozdním vývoji</i>	<i>segreguje od somatické v časně embryogenezi</i>
oplození	<i>dvojitě ( zygota a endosperm )</i>	<i>jednoduché</i>
haploidní fáze	<i>několikabuněčný gametofyt</i>	<i>pouze gamety</i>
imprinting	<i>ovlivňuje vývin endospermu</i>	<i>zásadně řídí embryogenezi</i>
diferencované buňky	<i>totipotentní</i>	<i>osud progresivní a ireverzibilní</i>
tělní plán	<i>založen až při postembryonálním vývinu meristému, vliv prostředí</i>	<i>vytvořen již v embryu, vývojový program determinován</i>
tvorba tvarů	<i>podobné vývojové principy včetně specifikace osy, založení vývojových kompartmentů, homeotické geny zajišťují poziční identitu</i>	
morfogeneze	<i>buněčný pohyb či lokomoce nejsou, závisí na rovině a rychlosti dělení</i>	<i>relativní pohyb buněk (gastrulace) buněčná migrace (zárodečné buňky)</i>

# ROSTLINY A ŽIVOČICHOVÉ aneb LOGIKA VÝVOJE

- rostliny a živočichové jsou složeni z odlišných typů buněk: tyto dvě říše divergovaly ze společného jednobuněčného eukaryotického předka
- každá říše si musela vyvinout své mechanismy buněčné diference a komunikace
- základní rysy vývoje rostlin a živočichů jsou společné: představují jedinou možnou alternativu?
- počet genů je u těchto říší obdobný: jsou homologní i jejich regulační geny nebo jen vývojové mechanismy?
- obecné buněčné funkce rostlin a živočichů jsou shodné: struktura jádra, mitózy, meiózy a základní transkripční a translační mašinerie
- regulace prostorově-časové genové exprese jsou podobné, avšak homeotické geny kódující proteiny (se srovnatelnými vývojovými funkcemi, jsou odlišné
- některé transkripční faktory mají vysokou AMK-sekvenční homologii (homeoboxy, MADS boxy), mají však jiné funkce
- řada buněčných procesů včetně receptorů vnějších vlivů a mezibuněčných komunikací jsou zásadně odlišné

# Základní stádia ontogeneze obojživelníků

oplozené  
vajíčko

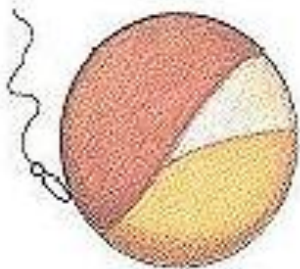
2-buněčné stádium  
(90 min)

midblastula  
(4tis. buněk, 7 h)

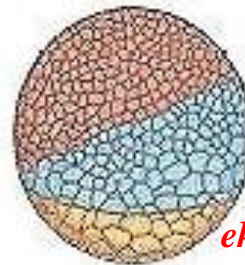
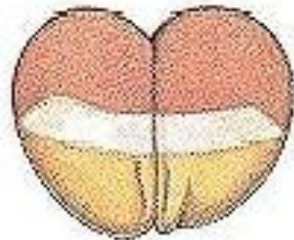
časná gastrula  
(20tis. buněk, 9h)

pozdní gastrula  
(12h)

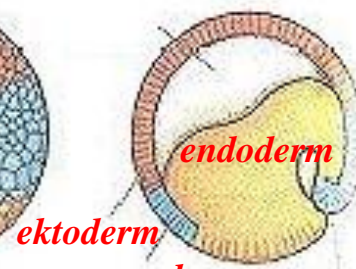
*animální pól*



*vegetální pól*



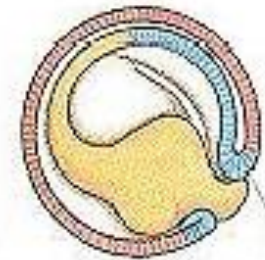
*blastocoel*



*ektoderm*

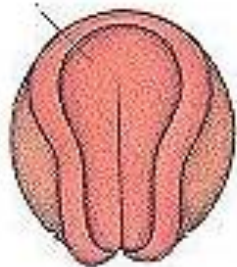
*mesoderm*

*blastopor*



*blastopor*

*neurální  
destička*



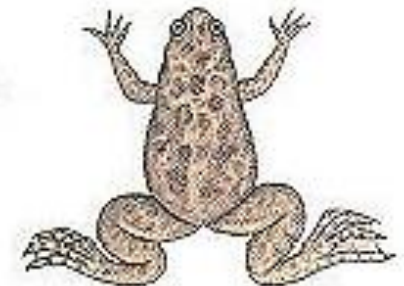
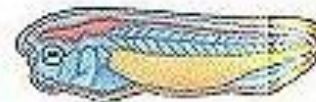
*neurální  
destička*      *uzavírající se  
neurální destička*



*střevo*



*střevo*



časná neurula

časná neurula

pozdní neurula

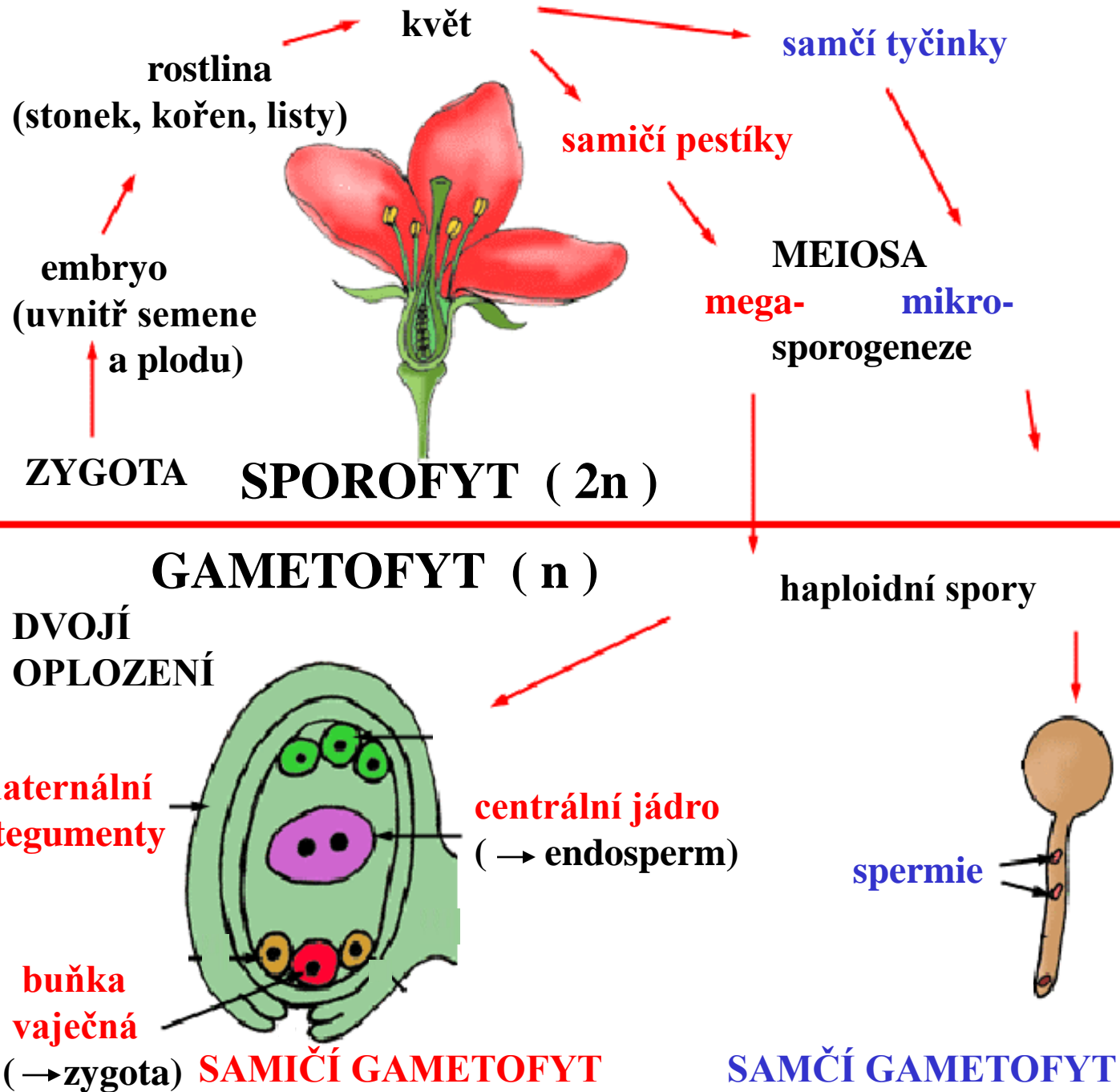
vylíhnutý pulec

dospělá žába

(150tis. buněk, 20h) (500tis. buněk, 3d)

(12 měsíců)

# Střídání generací u krytosemenných rostlin



# Epigenetická tvorba tvarů v průběhu vývoje

(i) úloha vnějších (fyzikálních) faktorů

(ii) pozice maternálních determinant → mozaikový vývoj

- asymetrický transport cytoplazmatických determinant z maternálního vaječníku

- ooplazmatická segregace (proces třídění a vnitřní strukturalizace po oplození)

(iii) buněčné interakce (*concerted behaviour*) → regulativní vývoj

komunikace buněk s okolními buňkami vede ke koordinované tvorbě struktur a tvarů

# Vývojový osud, schopnosti a určení (*fate, potency, and determination*)



# Vývojový osud (*fate*) a schopnost (*potency*)

Buněčný osud se vztahuje ke strukturám, které se „normálně“ vytvoří z embryonální buňky.

Schopnost jsou všechny možné vývojové osudy určité buňky ve specifickém stádiu vývoje organismu.

Schopnost je totožná s osudem pro buněčně autonomní mechanismus determinace (*tj.* mozaikový vývoj).

Schopnost „překonává“ osud u buněčně interaktivních mechanismů determinace (*tj.* regulativní vývoj).



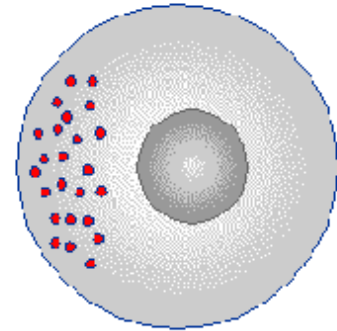
# Vývojové extrémy : mozaikový a regulativní vývoj

**Mozaikový vývoj** nastává, když se organismus vyvíjí, jako kdyby jeho blastomery tvořily prvky skládačky (*puzzle*), každý s prederminovaným osudem.

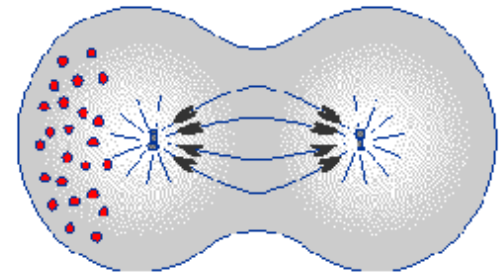
Mozaikový vývoj se uskutečňuje prostřednictvím

asymetricky lokalizovaných cytoplazmatických determinant.

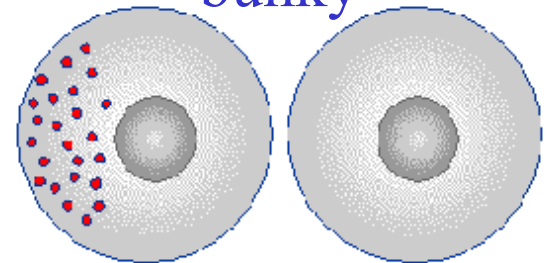
asymetrická lokace



dělení buňky



odlišné dceřinné buňky



# Vývojové extrémy : mozaikový a regulativní

## Regulativní vývoj -

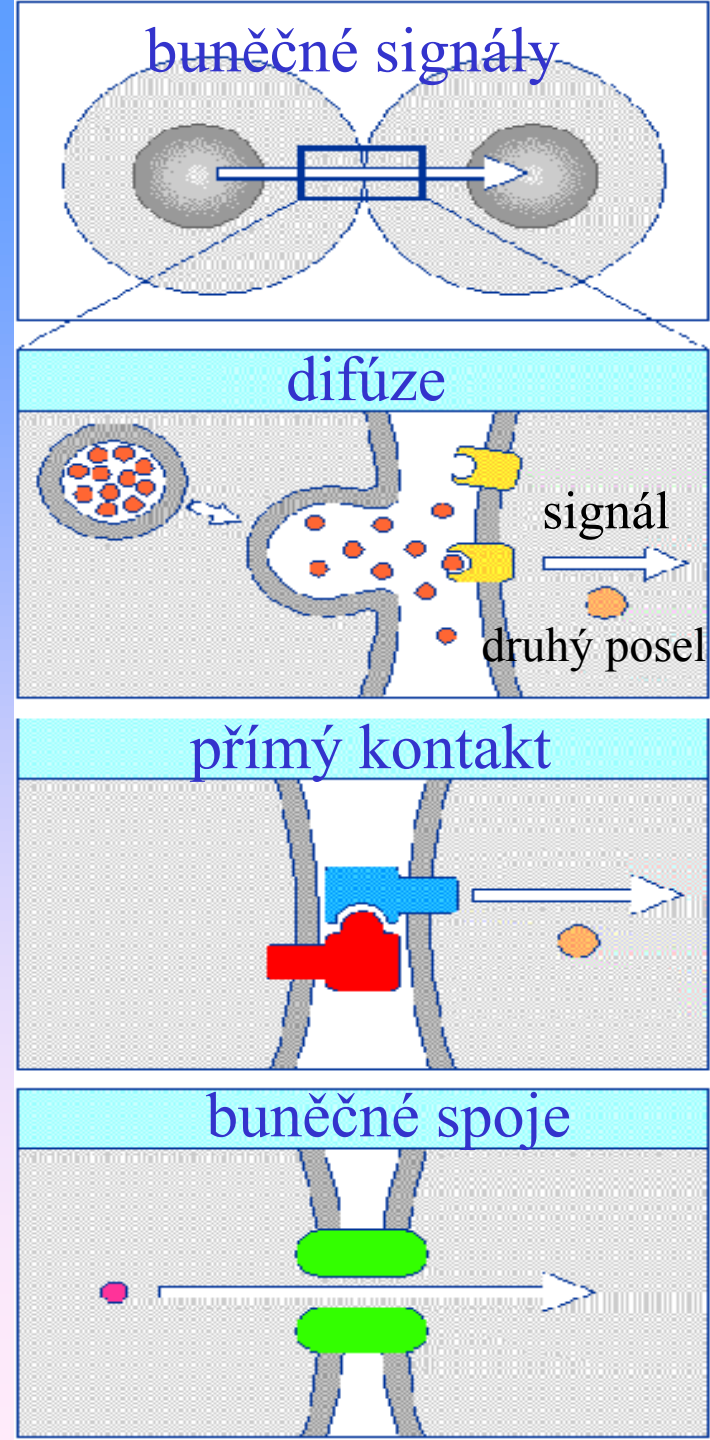
osud blastomer je flexibilní, závisí na lokaci buněk, organizmus je schopen kompenzovat ztrátu či dislokaci blastomer.



Regulativní vývoj závisí na mezibuněčných komunikacích.

Mezibuněčná komunikace je základem **embryonální indukce** : jedna buňka dává instrukce jiné buňce k dosažení určitého vývojového osudu.

Komunikace mezi buňkami může být dosaženo difúzibilními signály, přímým kontaktem mezi membránovými proteiny nebo tranzientními póry.



# **Buněčně autonomní a buněčně interaktivní vývojové mechanismy**

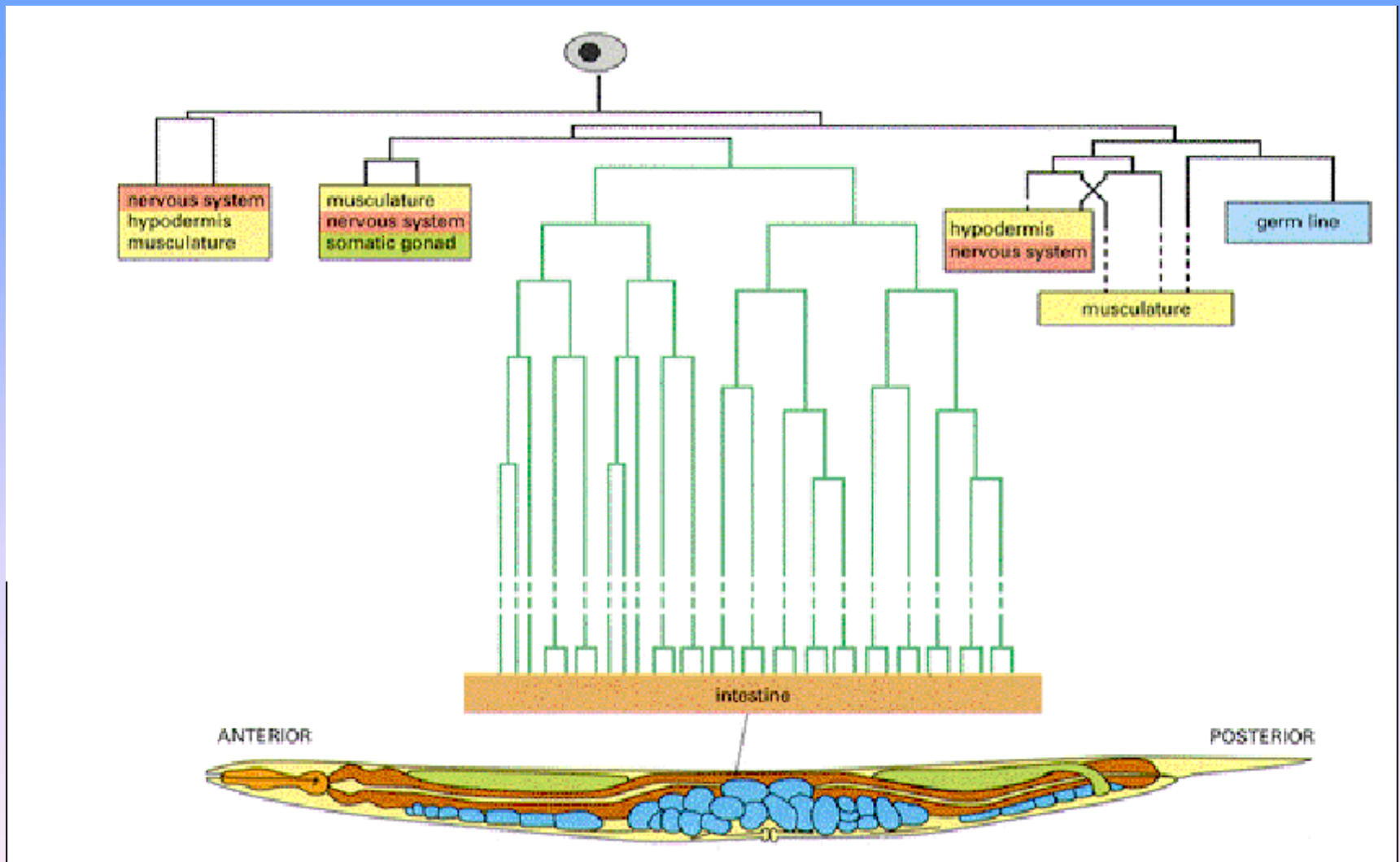
**Mozaikový vývoj se odehrává buněčně-autonomně; regulativní vývoj je buněčně-interaktivní.**

**Prakticky všechny organismy se vyvíjejí za kombinace mozaikového a regulativního typu vývoje.**

# Základní termíny vývoje

<b>Typ determinace :</b>	<b>buněčně autonomní</b>	<b>buněčně interaktivní</b>
<b>Mechanismus :</b>	<b>morfogenní determinanty</b>	<b>indukce</b>
<b>Typ vývoje :</b>	<b>mozaikový</b>	<b>regulativní</b>

# *Caenorhabditis elegans* : model mozaikového vývoje



Invariantní schéma buněčného dělení: dospělec má vždy 959 buněk.

# Časný vývoj savčího embrya je vysoce regulativní

**Savčí embryonální buňky vykazují flexibilitu ve výběru osudu (buněčného fenotypu) podle potřeb embrya.**

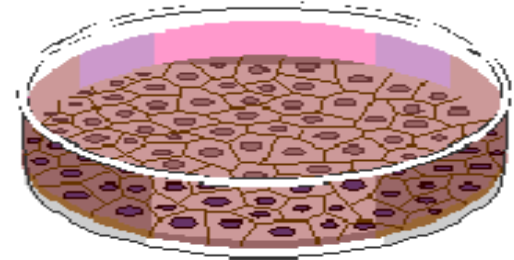
**Tvorba chimér a monozygotických dvojčat je jasnou demonstrací regulativního typu vývoje.**



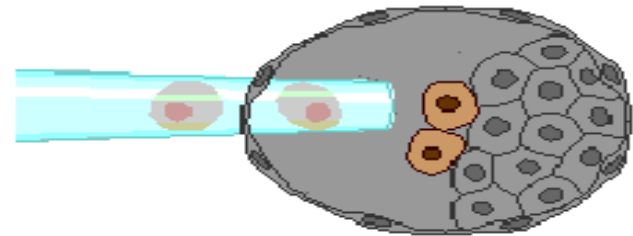
**Alternativní cesta tvorby chimér :  
inkorporace cizích embryonálních  
kmenových buněk**

**... je také finálním krokem  
při konstrukci geneticky  
modifikované myši.**

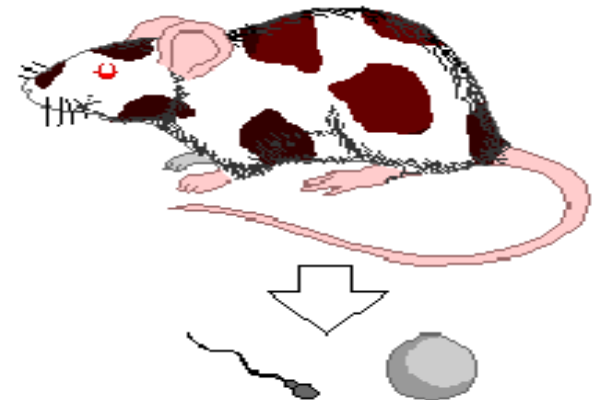
ES buňky s žádanou mutací



injekce do blastocysty

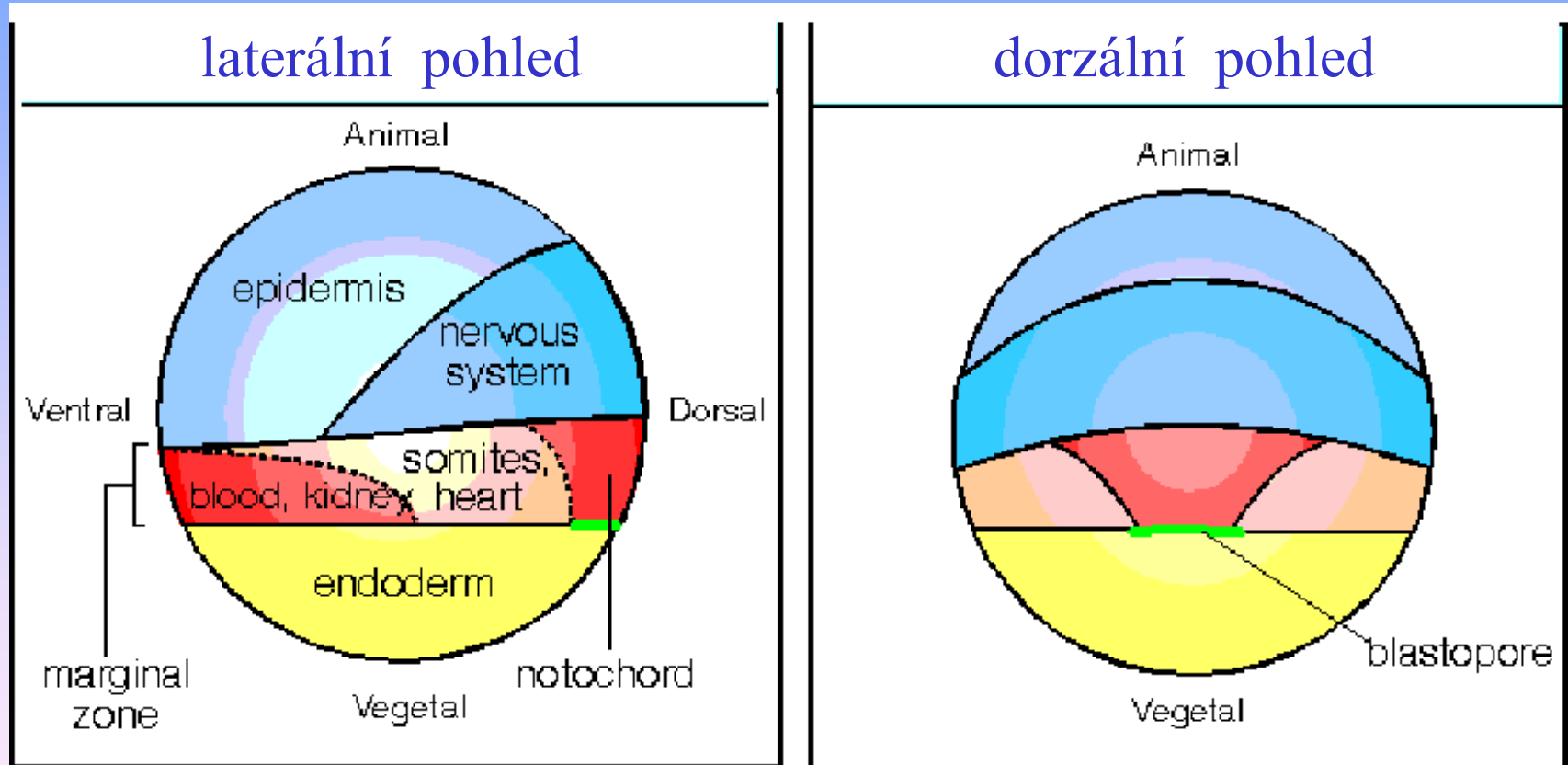


chiméra může předávat mutaci



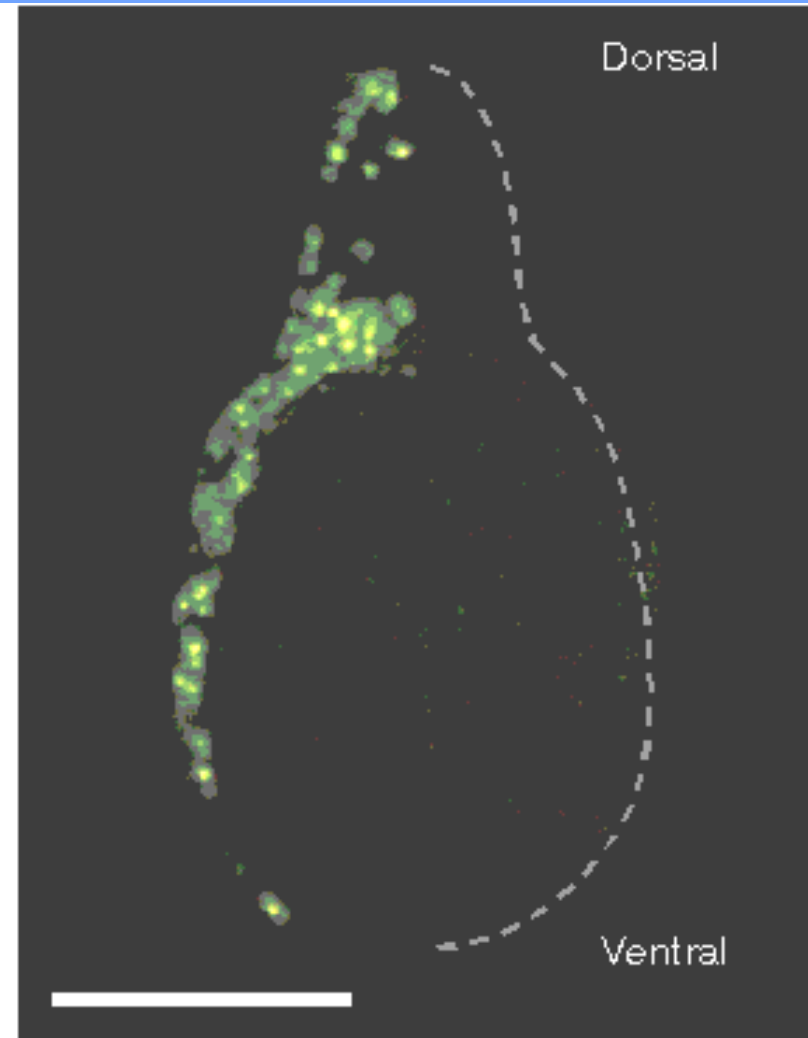
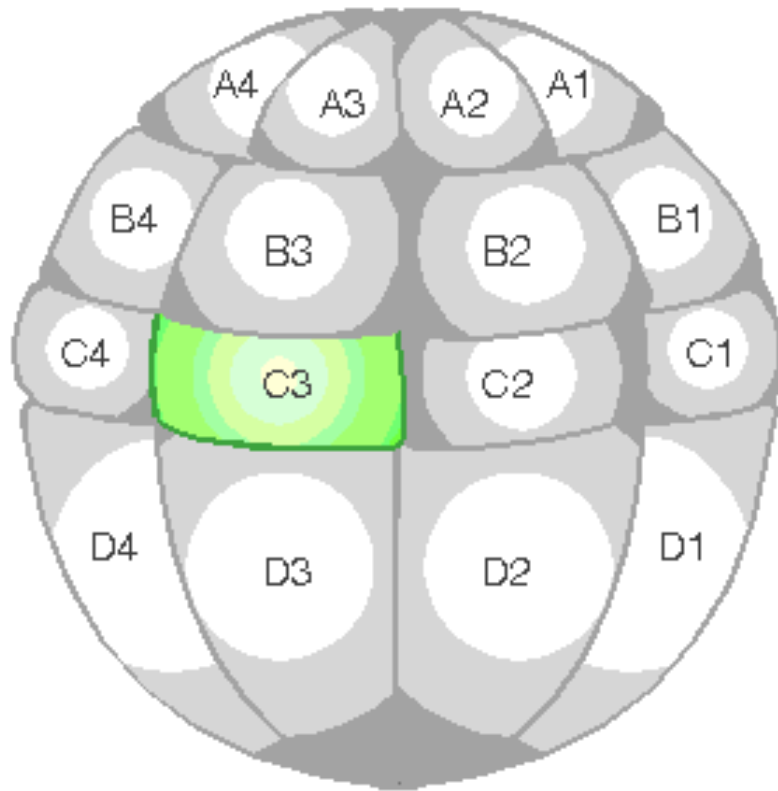
# Mapy vývojového osudu (*fate mapping*)

„Osudová“ mapa ukazuje pozice (*locations*) a výsledné tkáně (*derivatives*) embryonálních buněk.



„Osudové“ mapy mají (alespoň) určitý stupeň přesnosti pouze u organismů, které vykazují mozaikový typ vývoje.

# „Osudové mapování“ s pomocí vitálního barvení (fluorescence)



Blastomera *Xenopus* C3 dává vznik mezodermálním buňkám podél jedné strany pozdního embrya (*tailbud stage*).

# Vývojové schopnosti (*potency*) a určení (*determination*)

Schopnost je v průběhu vývoje stále omezována. Když se schopnost buňky již rovná jejímu osudu, buňka je vývojově určena (determinována).

Základní typy vývojových schopností :  
totipotence,  
pluripotence a  
determinace (unipotence).

Pochopení vývojových schopností a určení má zásadní význam pro klonování savců.



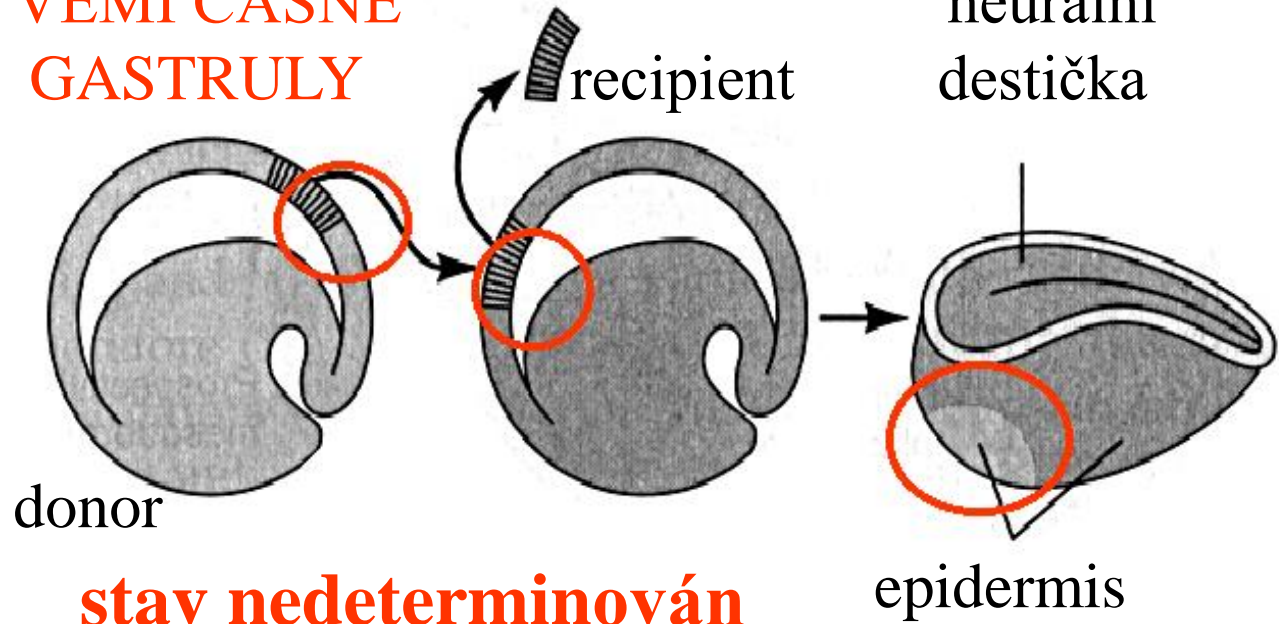
První klonovaná kočka  
(Science 295:1443, 2002)



Spemann a  
Mangoldová  
(1924):

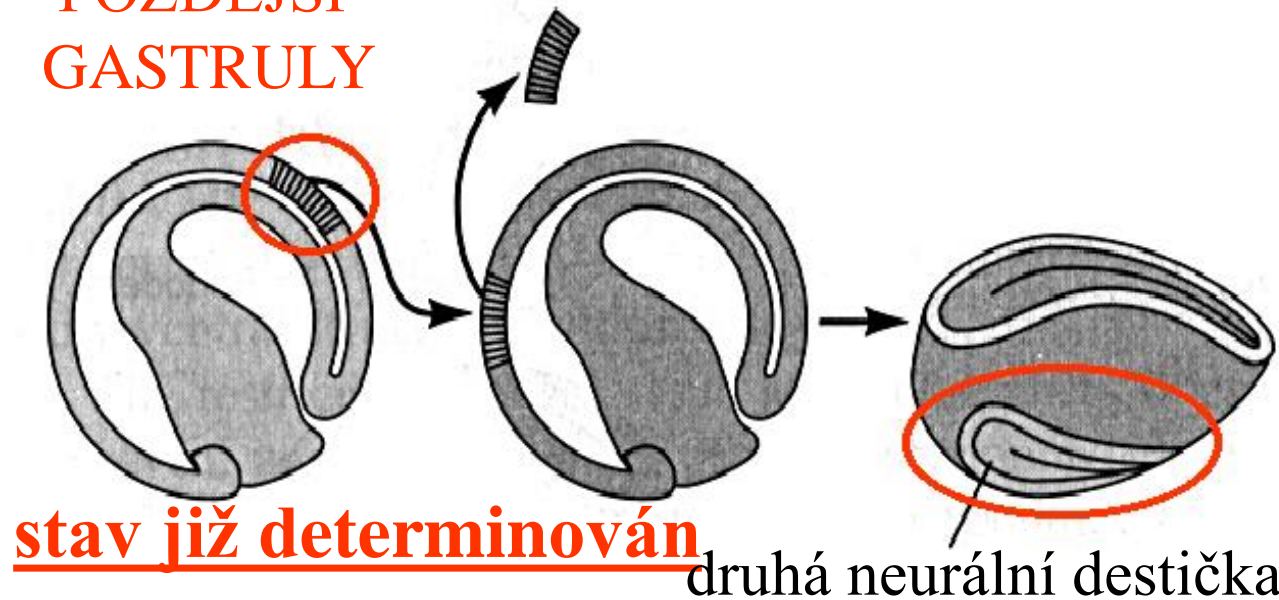
progresivní  
determinace v  
embryogenezi  
obojživelníků

VELMI ČASNÉ  
GASTRULY



stav nedeterminován

POZDĚJŠÍ  
GASTRULY



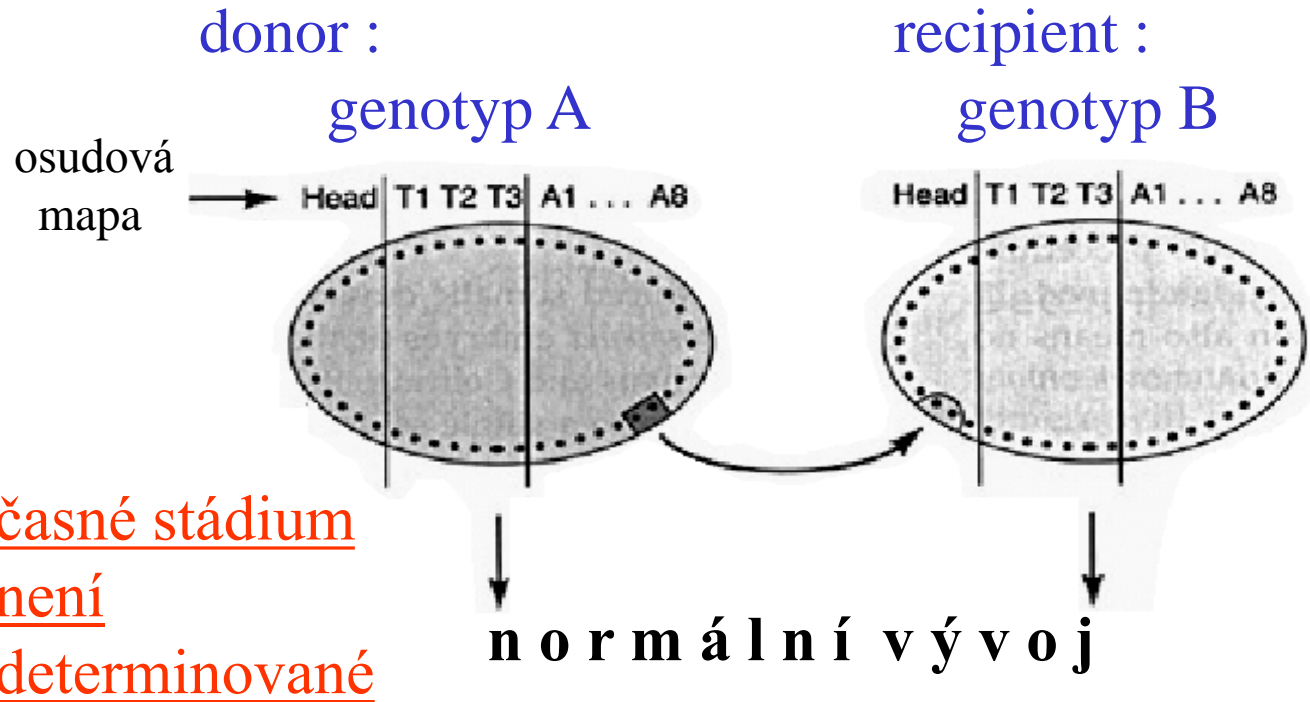
stav již determinován

druhá neurální destička

# Progresivní determinace u *Drosophila*

Syncyziální blastoderm:

Buněčný blastoderm:



pozdější  
stádium je  
determinované

**ablace buněk  
způsobí defekt v A5**

**ektopická exprese  
„genů A5“ na hlavě**