

Determinace a vývoj pohlavnosti



Pohlavnost v životě eukaryot :

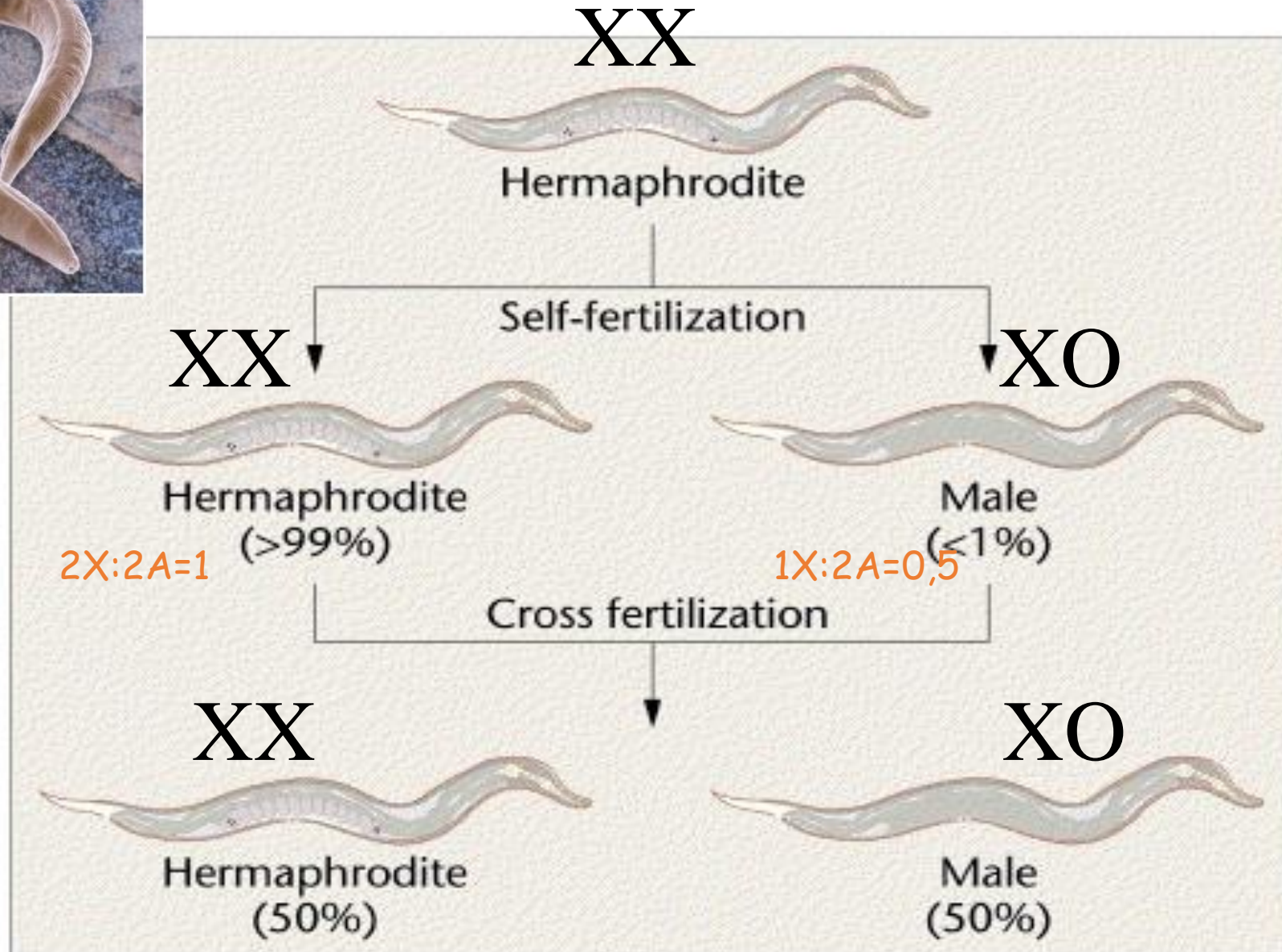


-
- meiosa a kombinace gamet zajišťují evolučně výhodnou heterozygotnost a variabilitu
 - diferenciaci zárodečné dráhy a příslušných gamet (včetně tvorby pohlavních orgánů)
 - pohlavně specifický vývin somatických buněk (pohlavní dimorfismus)
 - řízení transkripčních hladin chromosomů X (umlčování či zesilování exprese vázaných genů)
 - metylační nastavení gametického imprintingu - záznamu o expresi genů v příští filiaální generaci

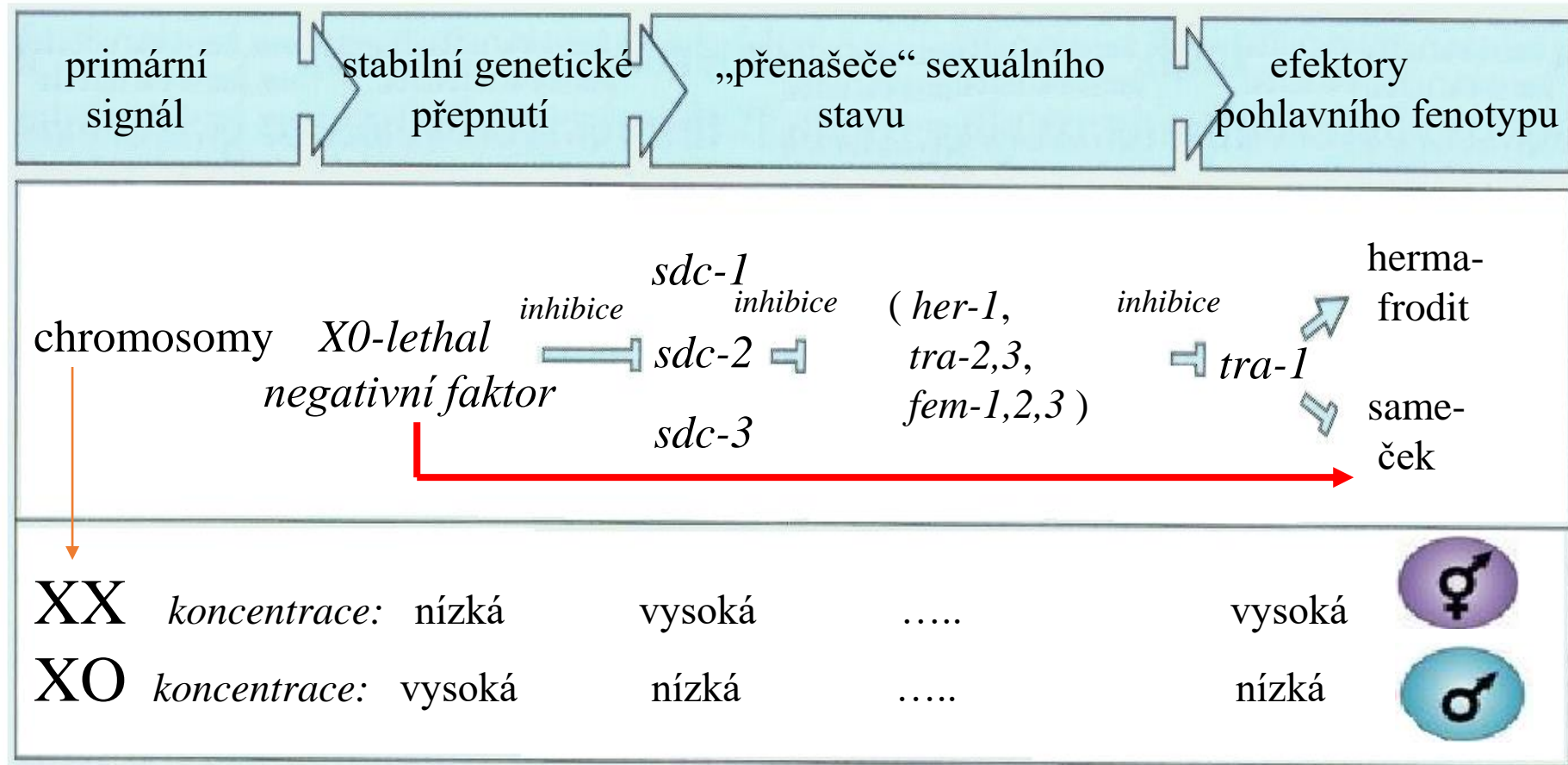
Pohlavní funkce

- Hermafrodité
 - běžné hlavně u rostlin
- Separátní individua (gonochoristé)
 - běžné u obratlovců
 - “dioecie” četná hlavně u tropických stromů
 - separátní květy (všechny možné kombinace)
 - když náklady nejsou velké a kompetice je silná, je favorizována separace

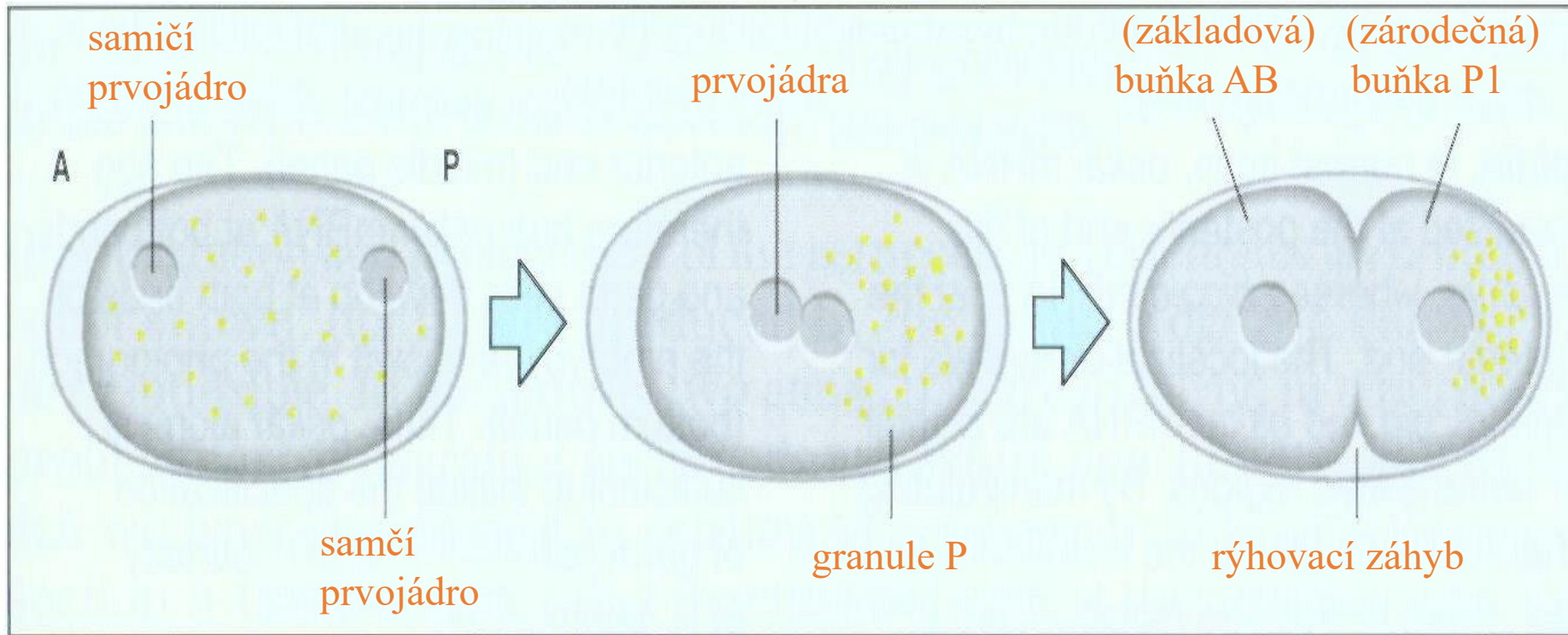
Caenorhabditis elegans : vznik a dědičnost pohlaví
systém X : A



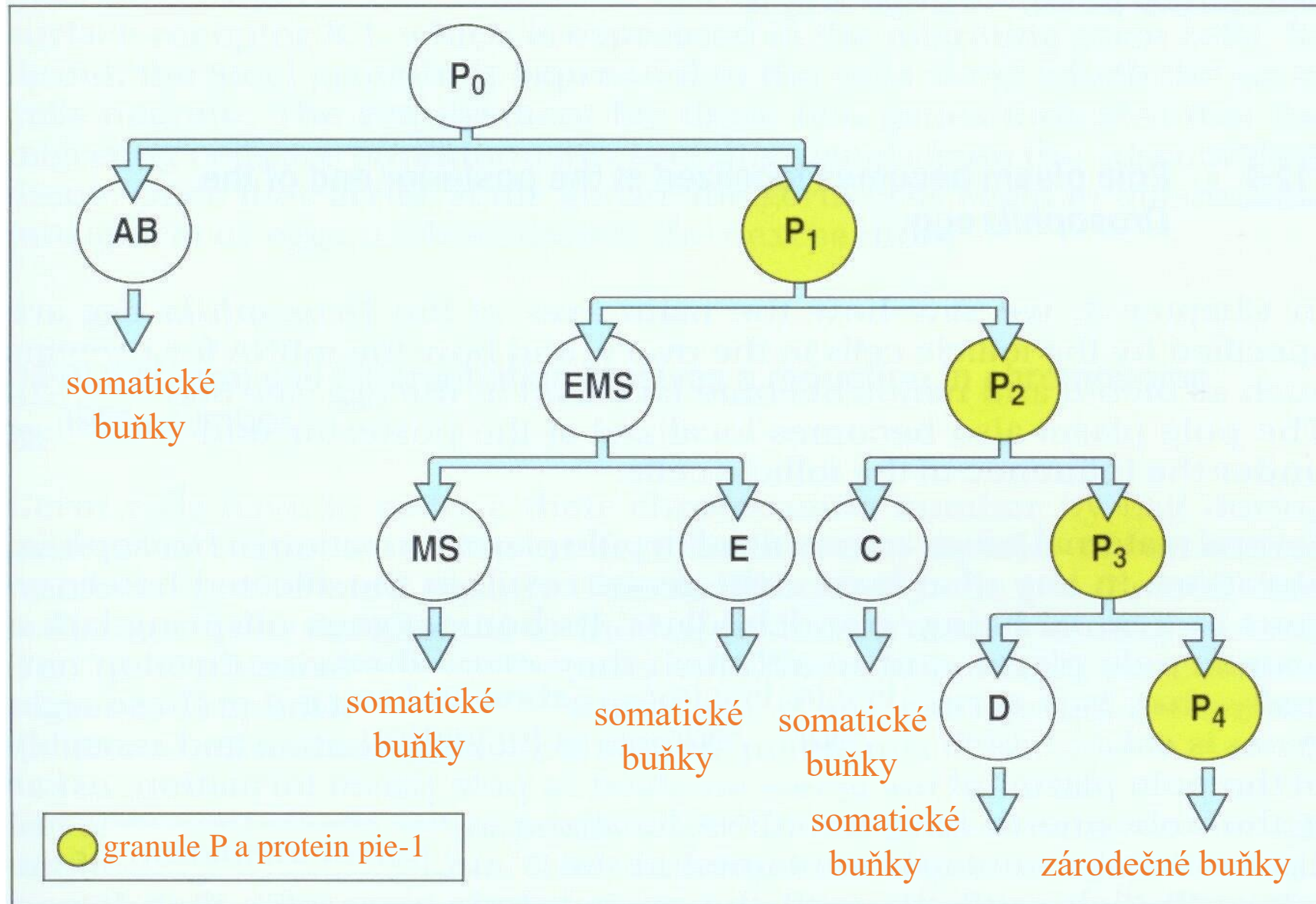
Determinační dráhy somatické pohlavnosti u *C-elegans*



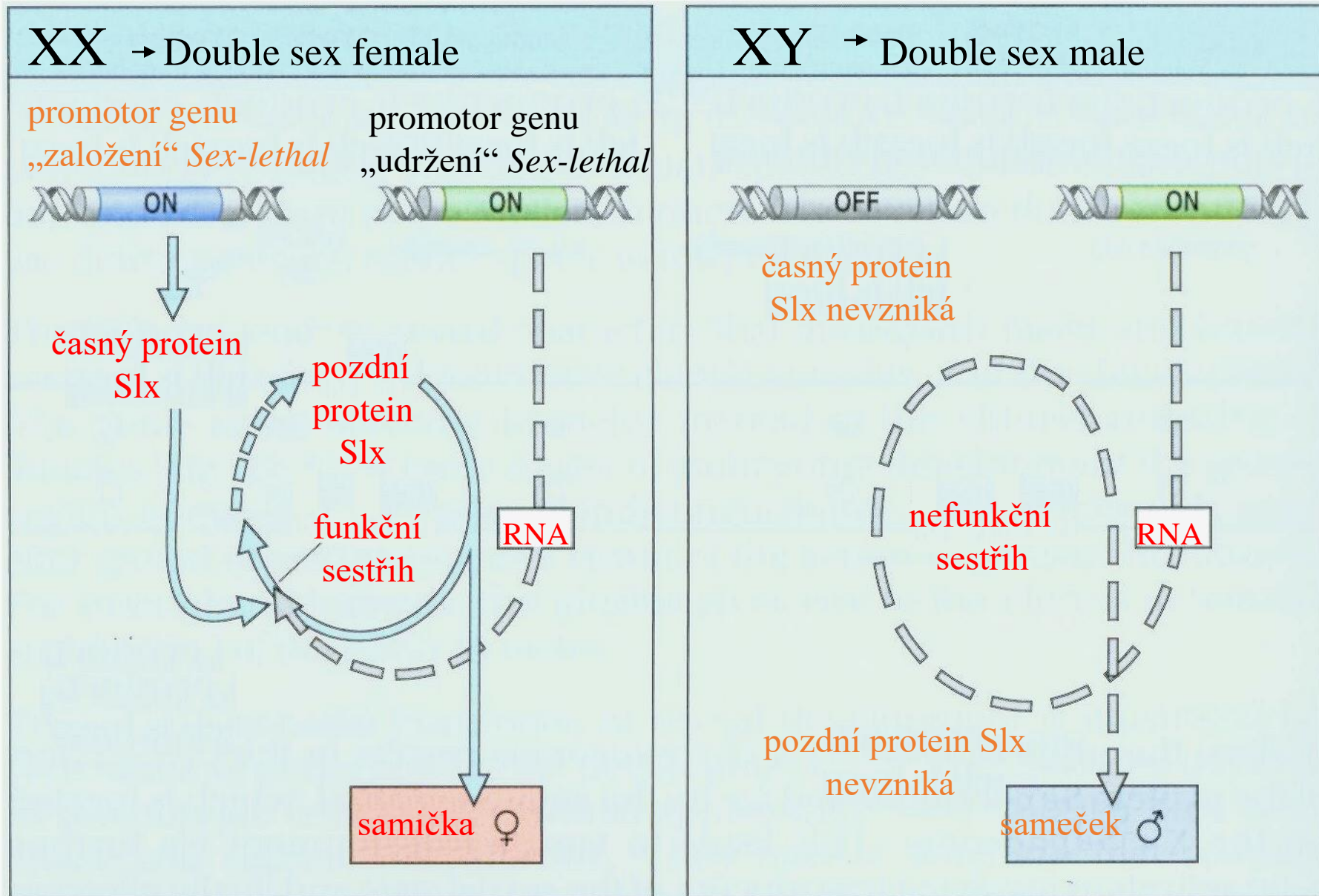
Po fertilizaci oocyty *C-elegans* se granule P akumulují přednostně u posteriorního pólu, v dceřinných blastomerách výhradně v linii buněk P zárodečné dráhy



Po fertilizaci oocyty *C-elegans* se granule P akumulují v posterioru, v dceřinných blastomerách výhradně v linii buněk P zárodečné dráhy



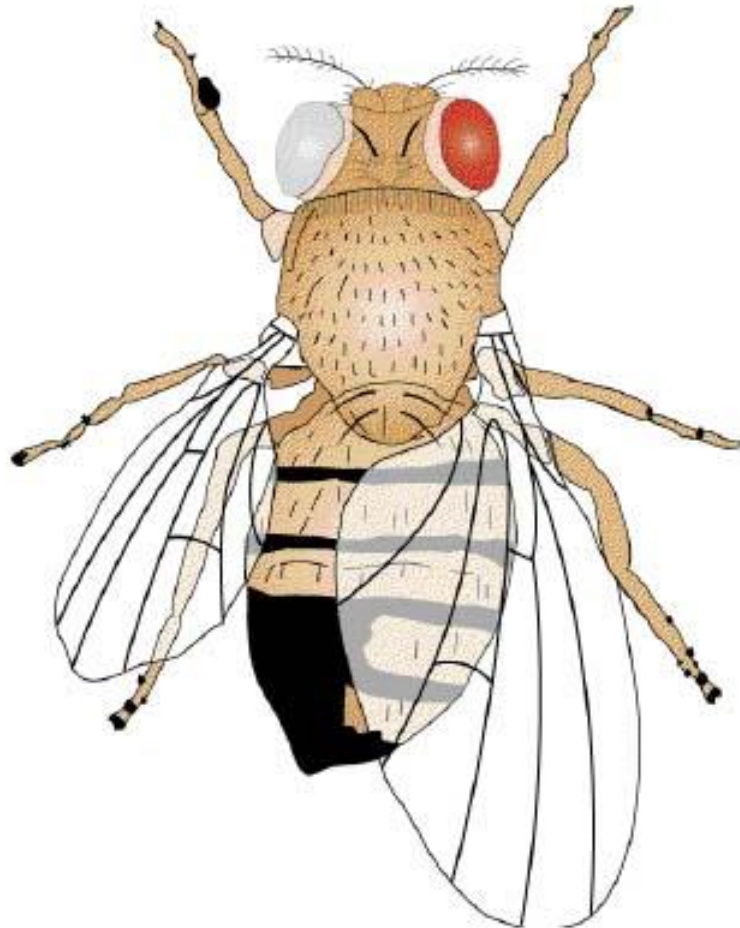
Determinace pohlavnosti u drosofily posttranskripční úpravou
(sex-specifický sestřih)



Drosophila nemá pohlavní hormony: bilaterální gyandromorfie

(ztráta jednoho chromosomu X-wt při prvním mitotickém dělení)

samčí XO část:
bílé oko,
miniaturní křídlo



samičí XX část:
heterozygotní
pro oba markery

Bonellia viridis

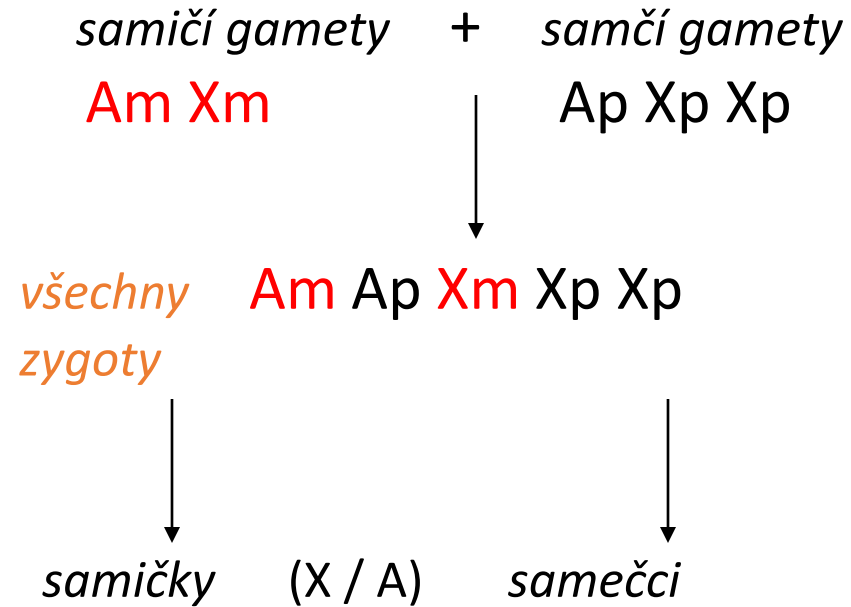
environmentální determinace pohlaví



EPIGENETICKÁ DETERMINACE POHLAVÍ

Sciara coprophilia, moucha smutnice XX/XO

(specifická eliminace paternálního X, Metz 1938)



somatické buňky **Am** Ap **Xm** Xp **Am** Ap **Xm**

zárodečné buňky **Am** Ap **Xm** Xp **Am** Ap **Xm** Xp

(zde nastane nondisjunkce
X chromozomů!)

PSEUDOARRHENOTOKIE

selektivní umlčování či eliminace paternálních
chromosomů



červec citroníkový *Planococcus citri*, Homoptera
fakultativní heterochromatinizace paternálních
chromosomů (Uzi Nur 1990, Rochester)

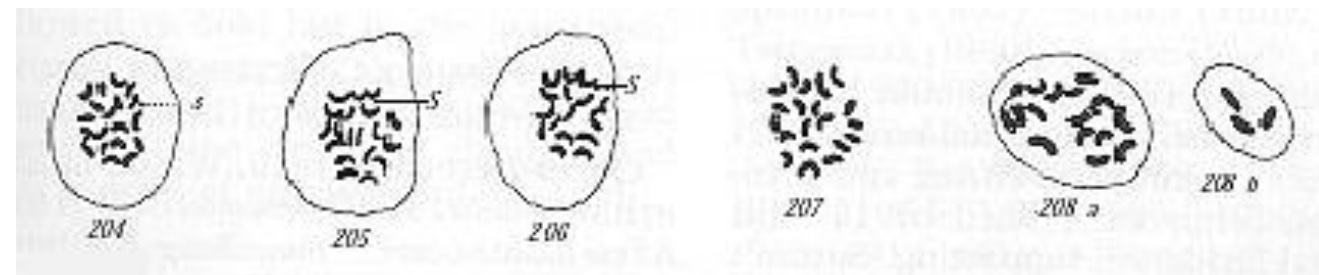


Tenebrio molitor
(F = AAXX, M = AAXY)
potemník moučný, *Coleoptera*

Studies in spermatogenesis, with especial reference to the accessory chromosome...

OBJEV POHLAVNÍCH CHROMOSOMŮ (1905)

Nettie Maria Stevens
(1861-1912)

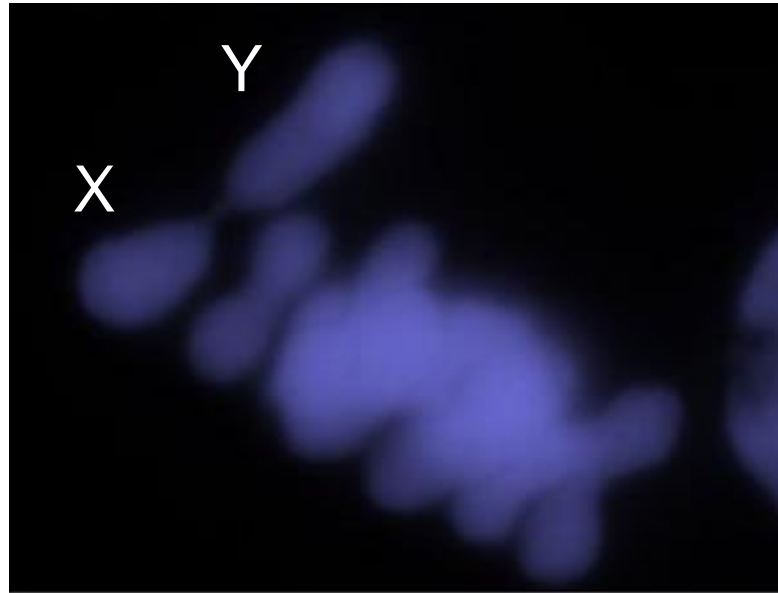


Co to jsou pohlavní chromosomy ?

- ... nesou vždy sex determinující geny, i když dráhy vedoucí ke gonochorismu/dioecii jsou odlišné
- ... morfologicky odlišné chromosomy mezi pohlavími
- ... dva základní systémy – XX/XY (homogametní samičky) a ZZ/ZW (homogametní samečci)
- ... rekombinace částečně potlačena v meióze u heterogametního pohlaví
- ... zjištěny u většiny živočišných a některých rostlinných druhů s genetickou determinací pohlaví

Evoluční původ sex chromosomů

Vyvinuly se z normálního páru autosomů ...



... evoluce provázena progresivní redukcí rekombinace mezi X a Y chromosomem.

Stádia evoluce chromosomu Y

výskyt mutace genu samčí fertility/promotion



akumulace male-prospěšných a female-nevýhodných genů v těsné vazbě na Y



částečná ztráta rekombinace mezi X a Y



postupná degenerace Y-chromosomových sekvencí



alespoň jeden X je nezbytný k somatickému vývoji

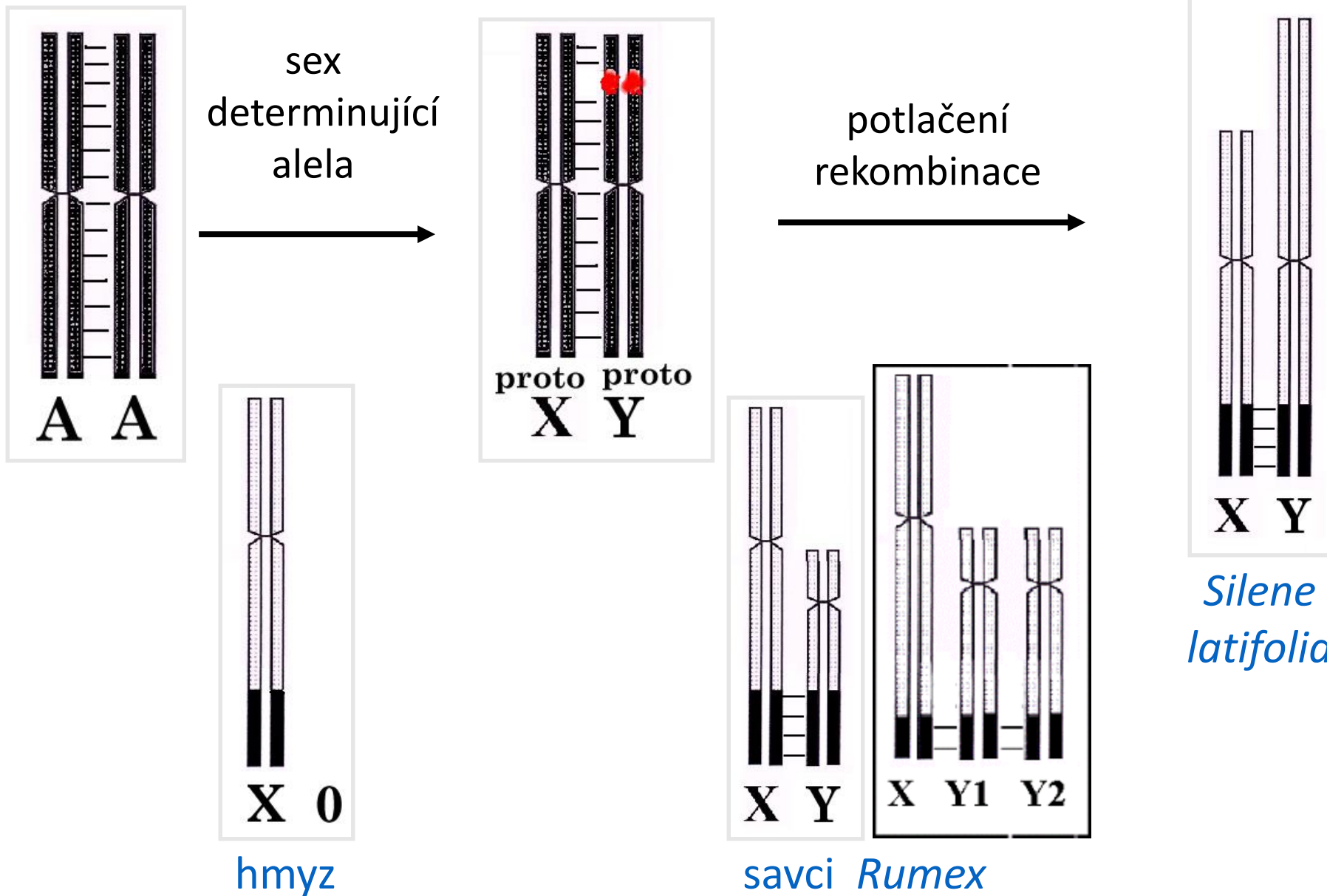


evoluce kompenzace dávky genů vázaných na chromosom X



ztráta chromosomu Y, může jej nahradit jiný chromosom

Evoluce pohlavních chromosomů



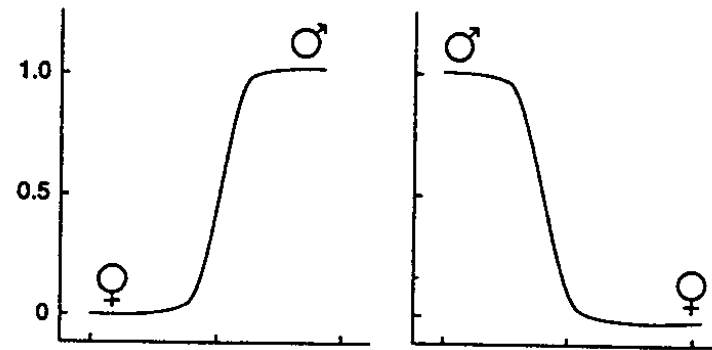
U většiny druhů (vejcorodých) plazů je pohlaví určováno teplotou: Temperature Sex Determination



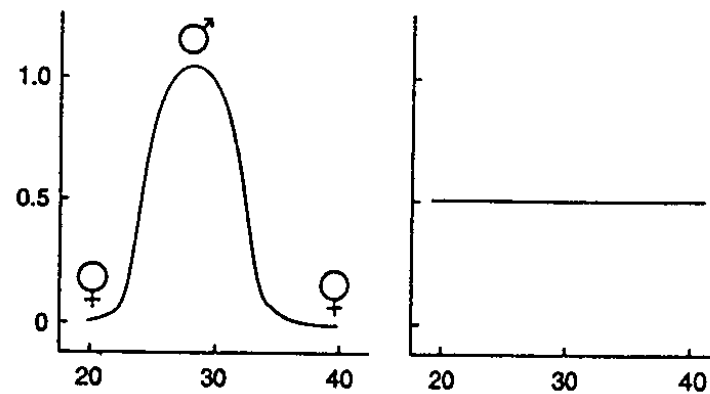
aligátoři a ještěrky



krokodýli



želvy

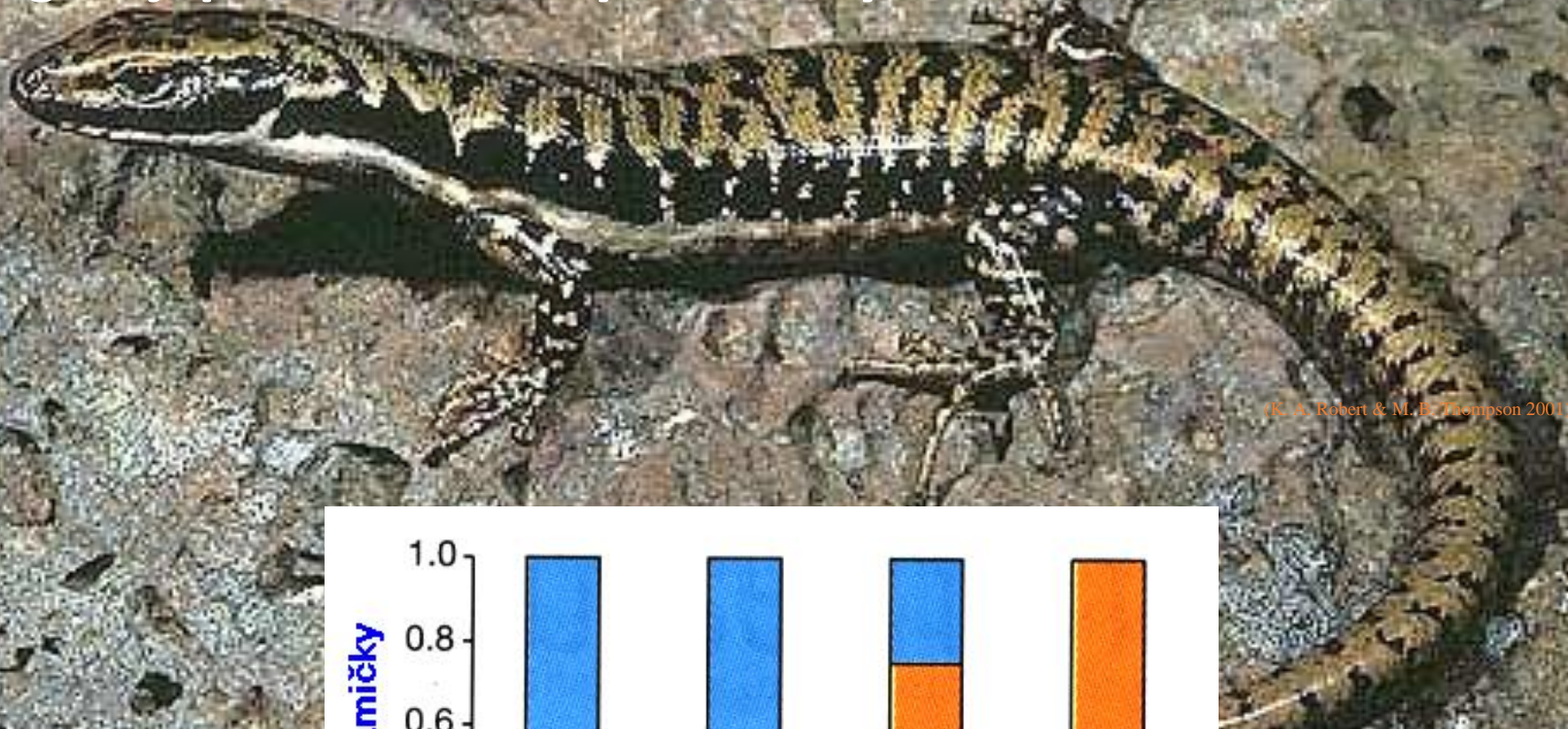


hadi (GSD)

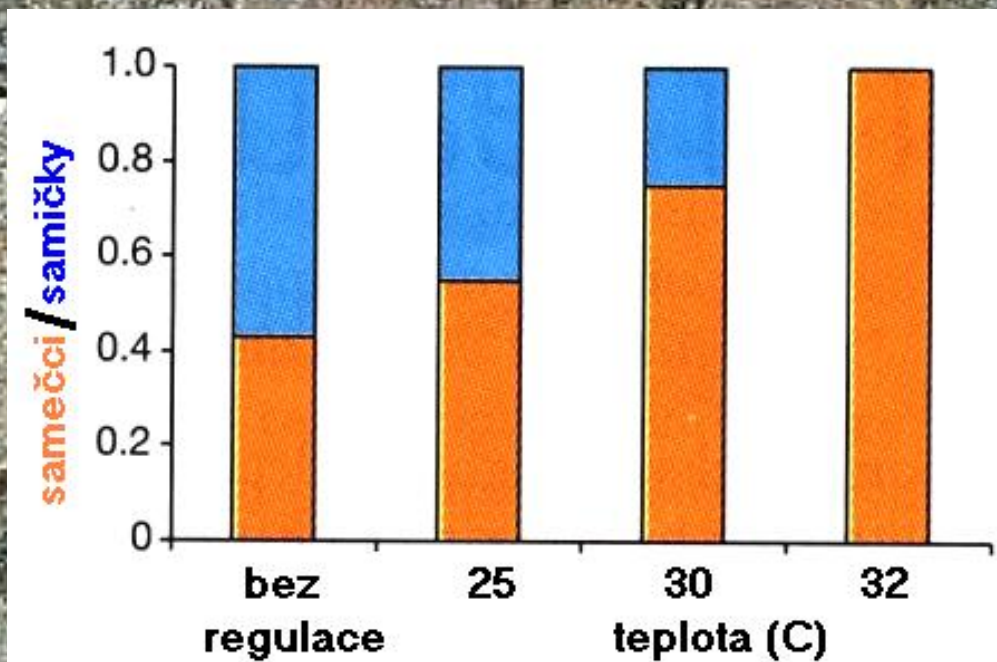


teplota (°C)

Viviparní samičky scinka *Eulamprus tympanum* regulují pohlavnost svých embryí: TSD



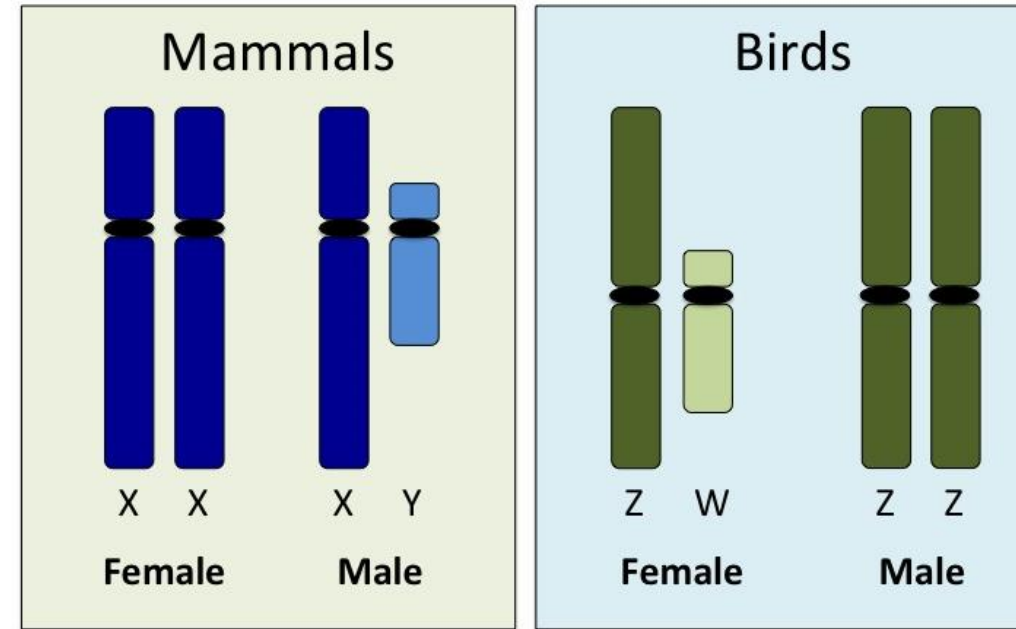
(K. A. Robert & M. E. Thompson 2001)



Pohlavní determinace u ptáků

- ♠ homogametní pohlaví – samčí ZZ, heterogametní – samičí ZW
- ♠ samičí chromozóm W obvykle rozsáhle degenerován
- ♠ někteří ptáci pohlavní chromosomy vůbec nemají (ratites) ?
- ♠ je pohlaví determinováno dominantním W (→ savci) nebo poměrem Z/A (→ drosofila) ?
- ♠ existuje kompenzace dávky Z-vázaných genů ?
- ♠ některé Z-geny kompenzovány nejsou, exprese jiných Z-genů je pohlavně ekvalizována
- ♠ na chromosomu Z lokalizována oblast tandemových repeticí (>200 kopií 2,2-kb sekvence) s vysokým stupněm metylace CpG na obou chromozómech v embryích samečků (MHM=*male hypermethylated region*)
- ♠ hypotetický W-faktor brání metylaci MHM-oblasti u samiček za vzniku abundantní netranslatované RNA
- ♠ jde o mechanismus kompenzace dávky genů (→ Xist u savců) nebo determinace pohlavnosti

Sex chromosomes

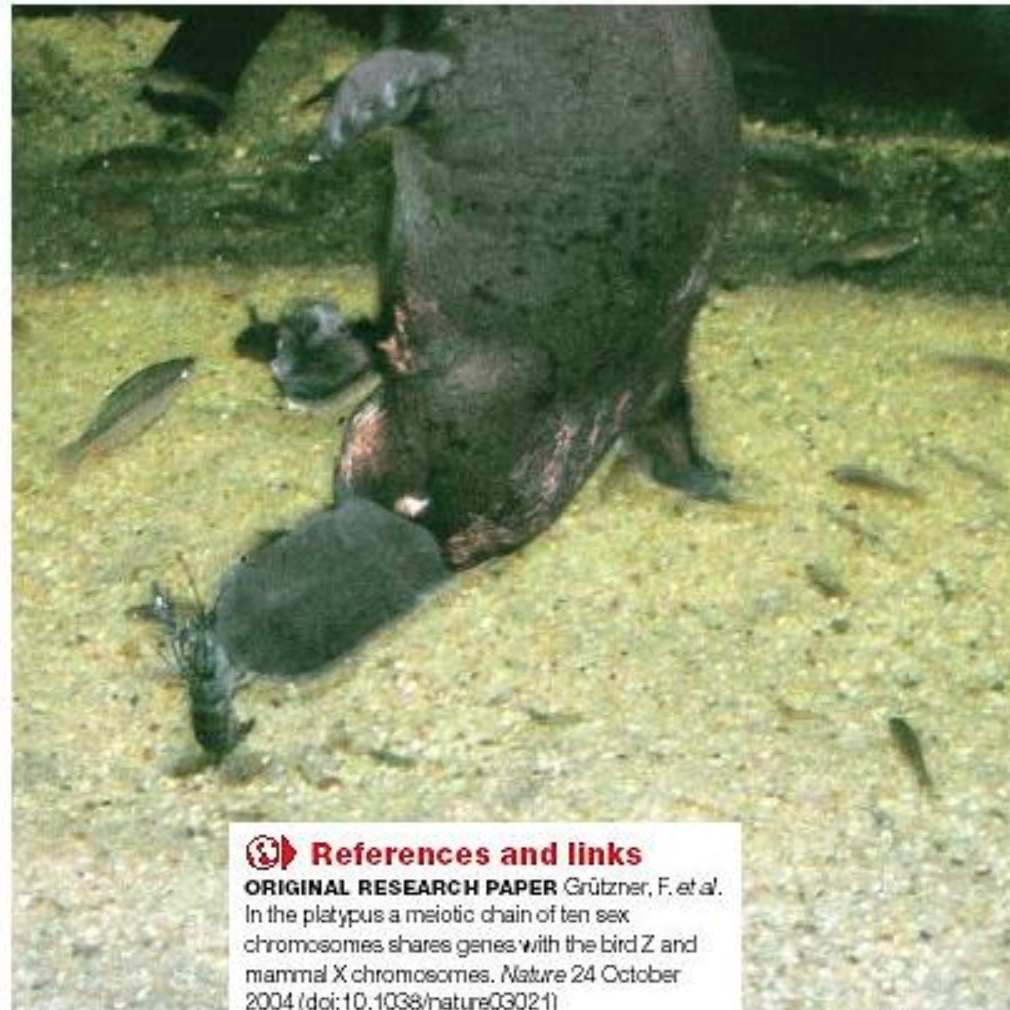


Platypus: the stranger sexxxxx

Ptakopysk má diploidní počet chromozomů 52

Samička: $2n = 42 + 10X$

Sameček: $2n = 42 + 5X + 5Y$



 **References and links**

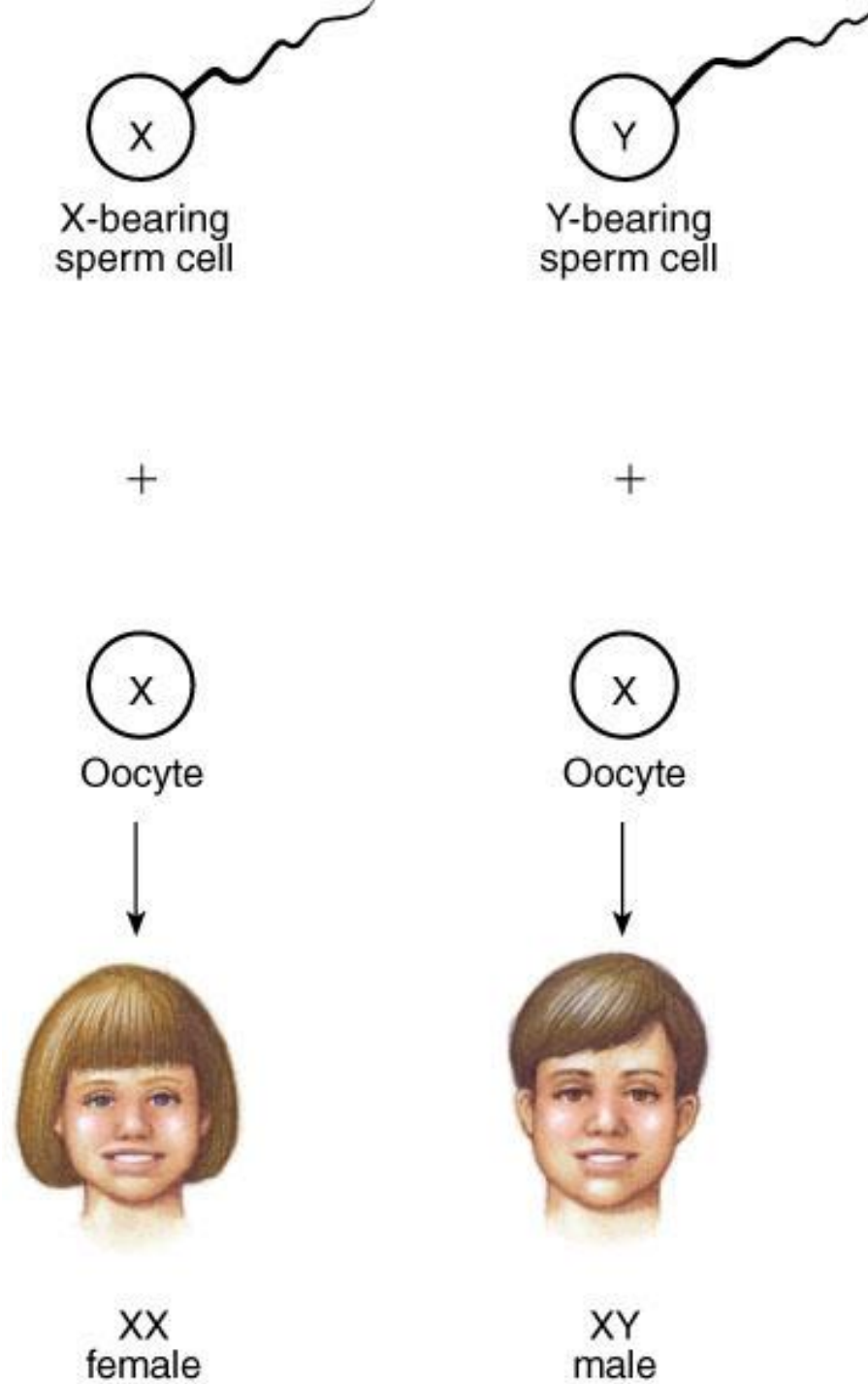
ORIGINAL RESEARCH PAPER Grützner, F. *et al.*
In the platypus a meiotic chain of ten sex chromosomes shares genes with the bird Z and mammal X chromosomes. *Nature* 24 October 2004 (doi:10.1038/nature03021)



Platypus: Lots of Sex Chromosomes

The platypus, long thought a strange creature, just got stranger when researchers discovered that it has 10 sex chromosomes, some of them linked to mammals and some to birds.


Determinace pohlaví u savců



Pohlaví u savců na úrovni embrya

- samečci a samičky jsou po dobu prvních 6 týdnů identičtí
- embryonálními gonádami jsou ovotestes
- chromosom Y indukuje vývin ovotestes v testes a tvorbu samčích hormonů
- absence chromozomu Y ovlivní vývin ovotestes ve vaječníky a tvorbu samičích hormonů

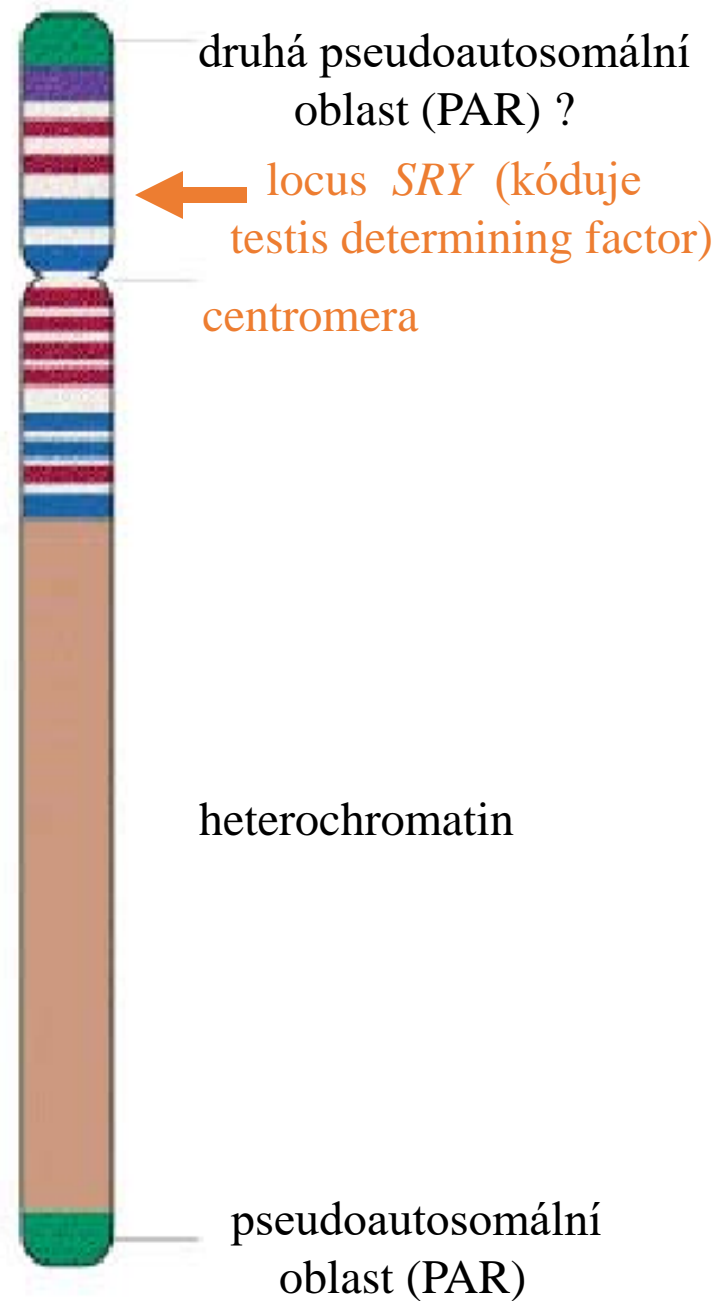
Chromosom Y člověka

-  X-homologní geny
-  testis-specifické geny

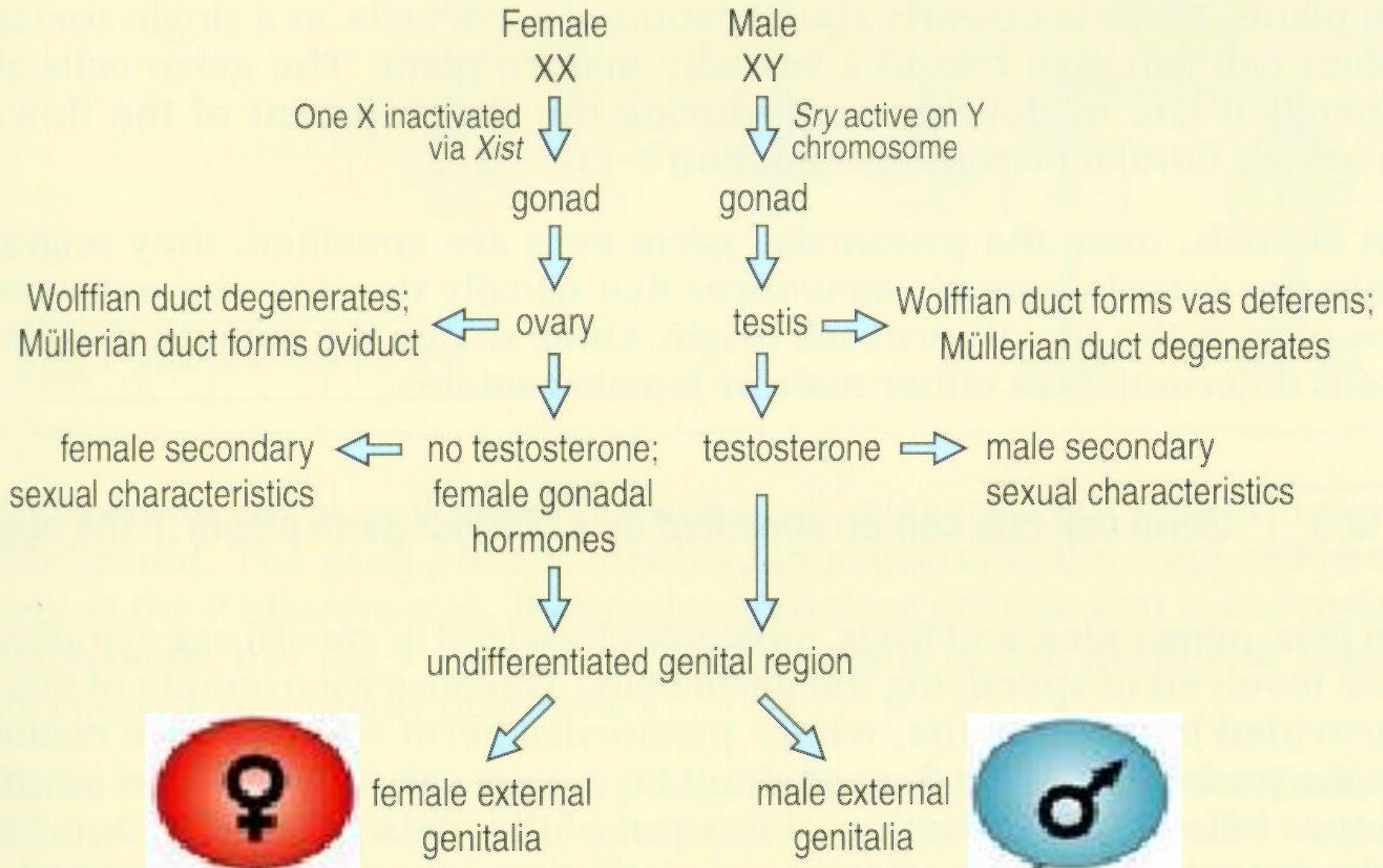
nerekombinující
oblast Y

p

q

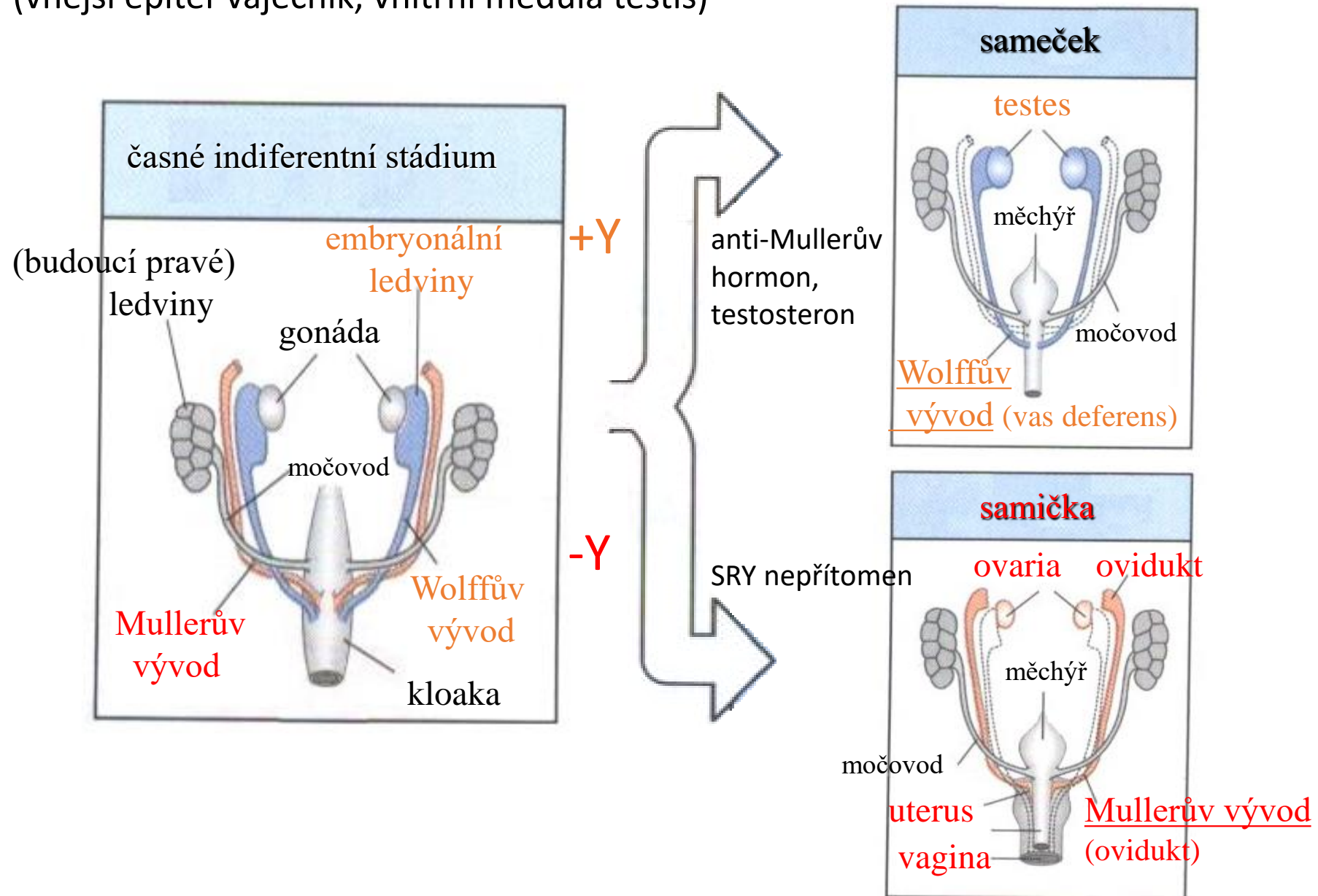


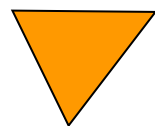
Mammals



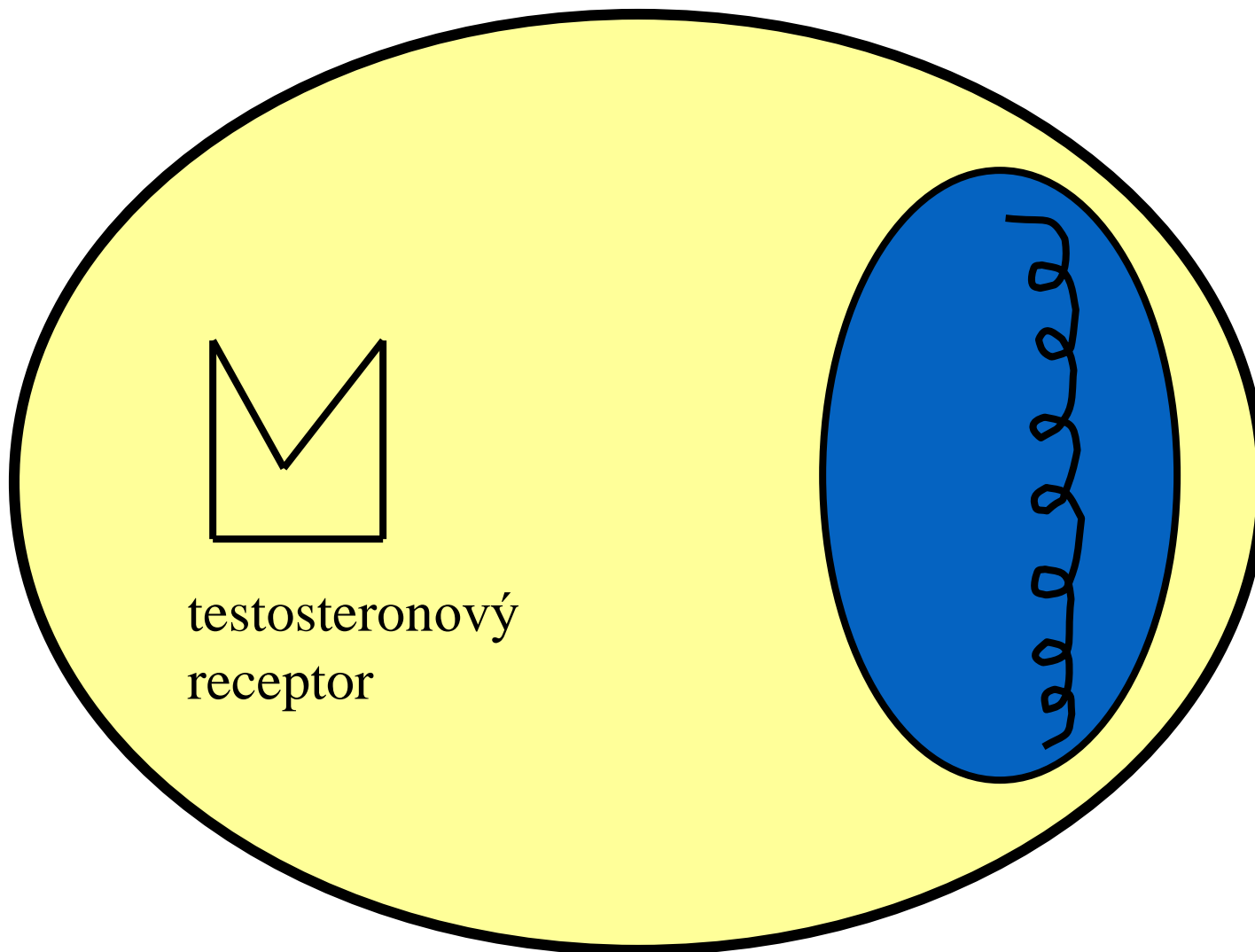
Vývin gonád a příbuzných struktur u savců

(vnější epitel-vaječník, vnitřní medula testis)



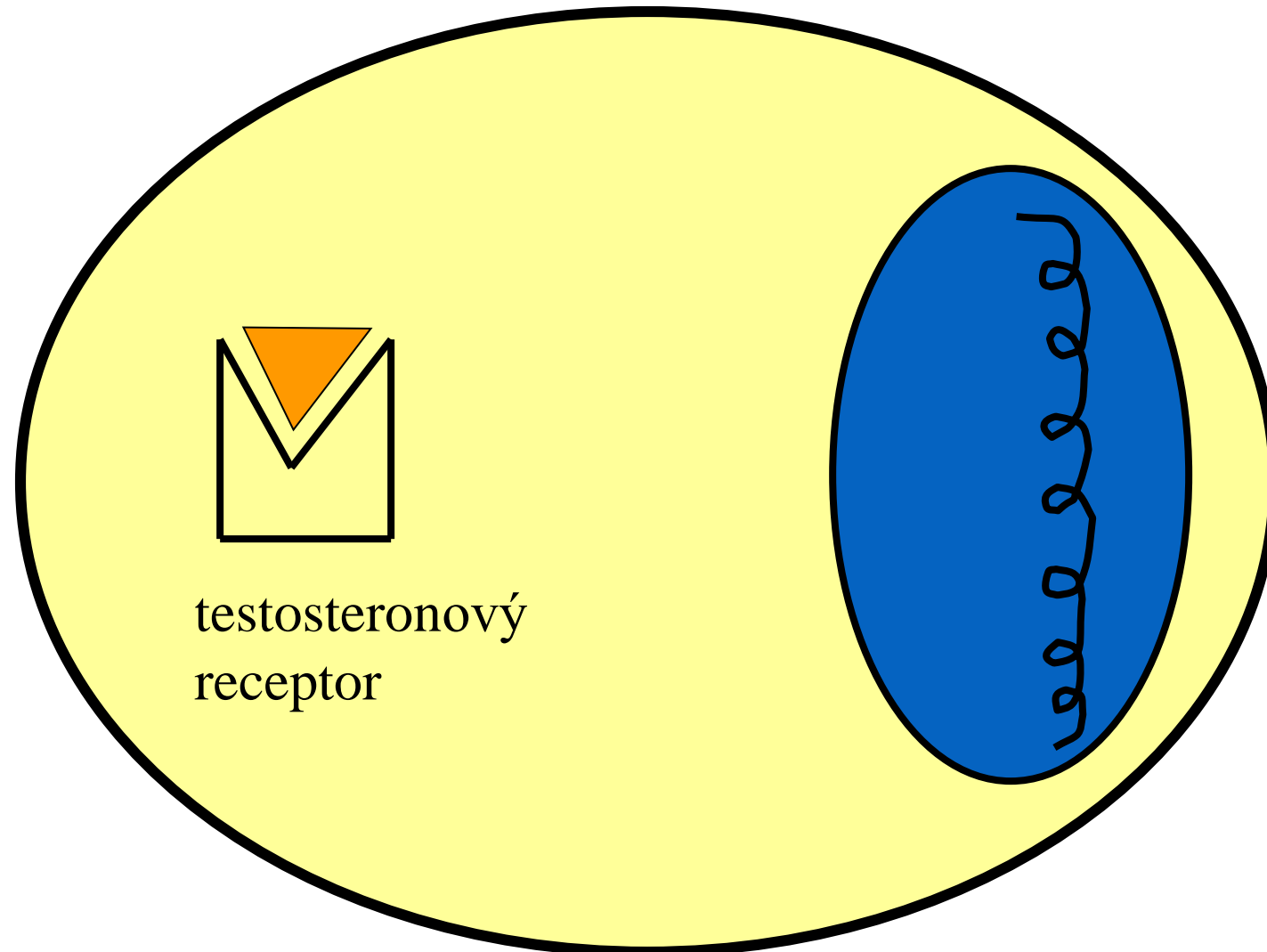


testosteron

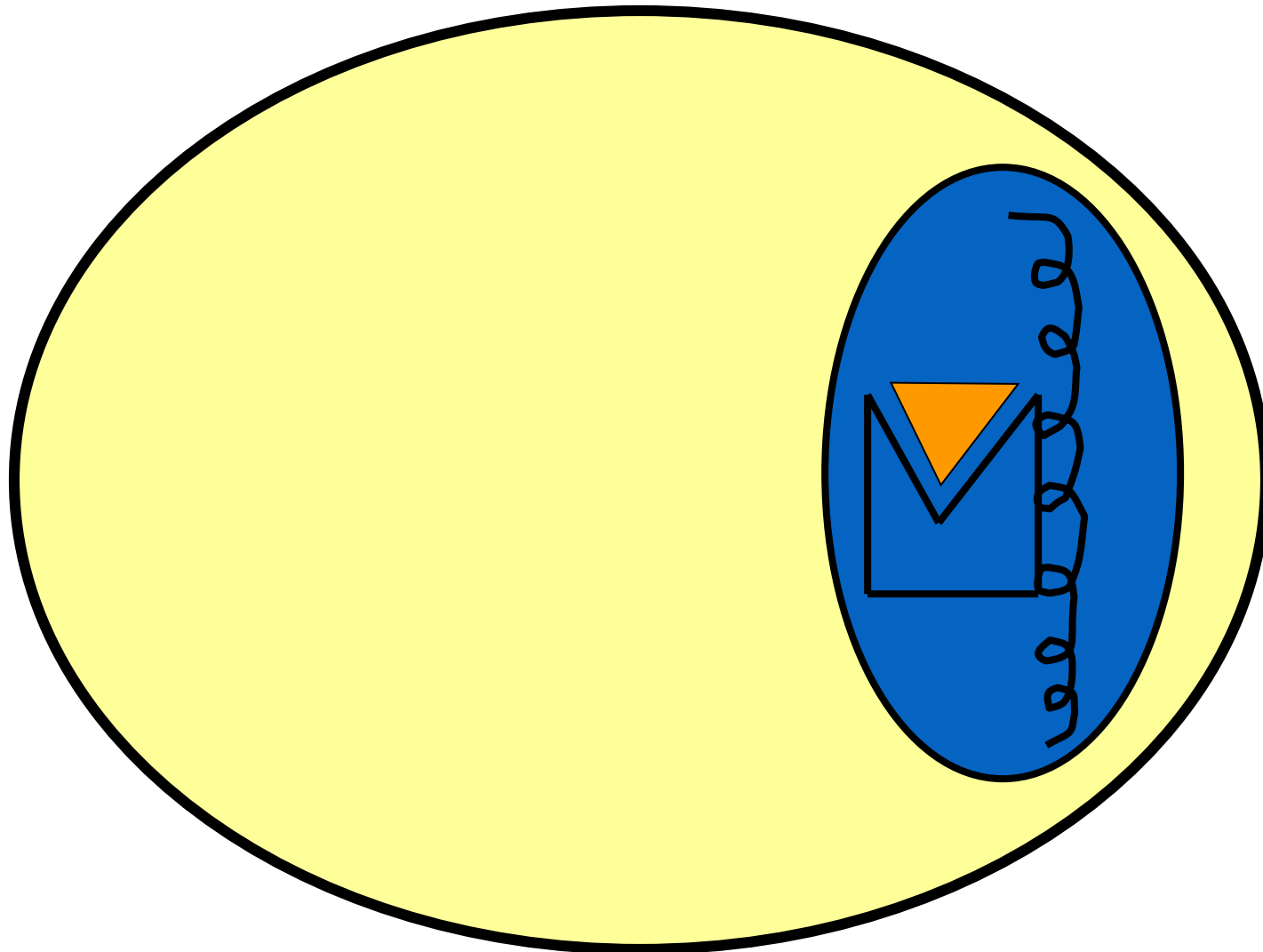


testosteronový
receptor

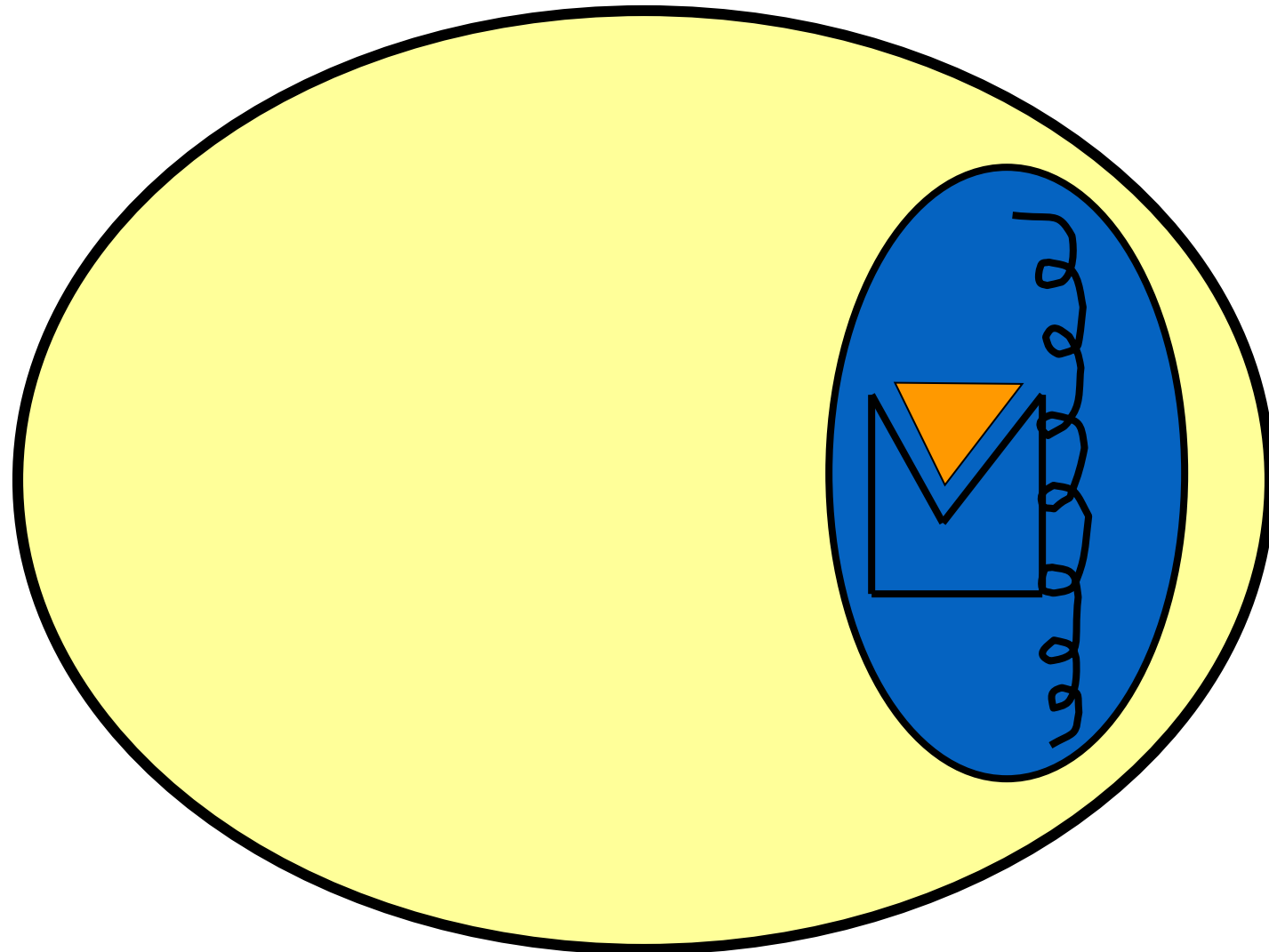
Hormon se váže na receptor uvnitř buňky

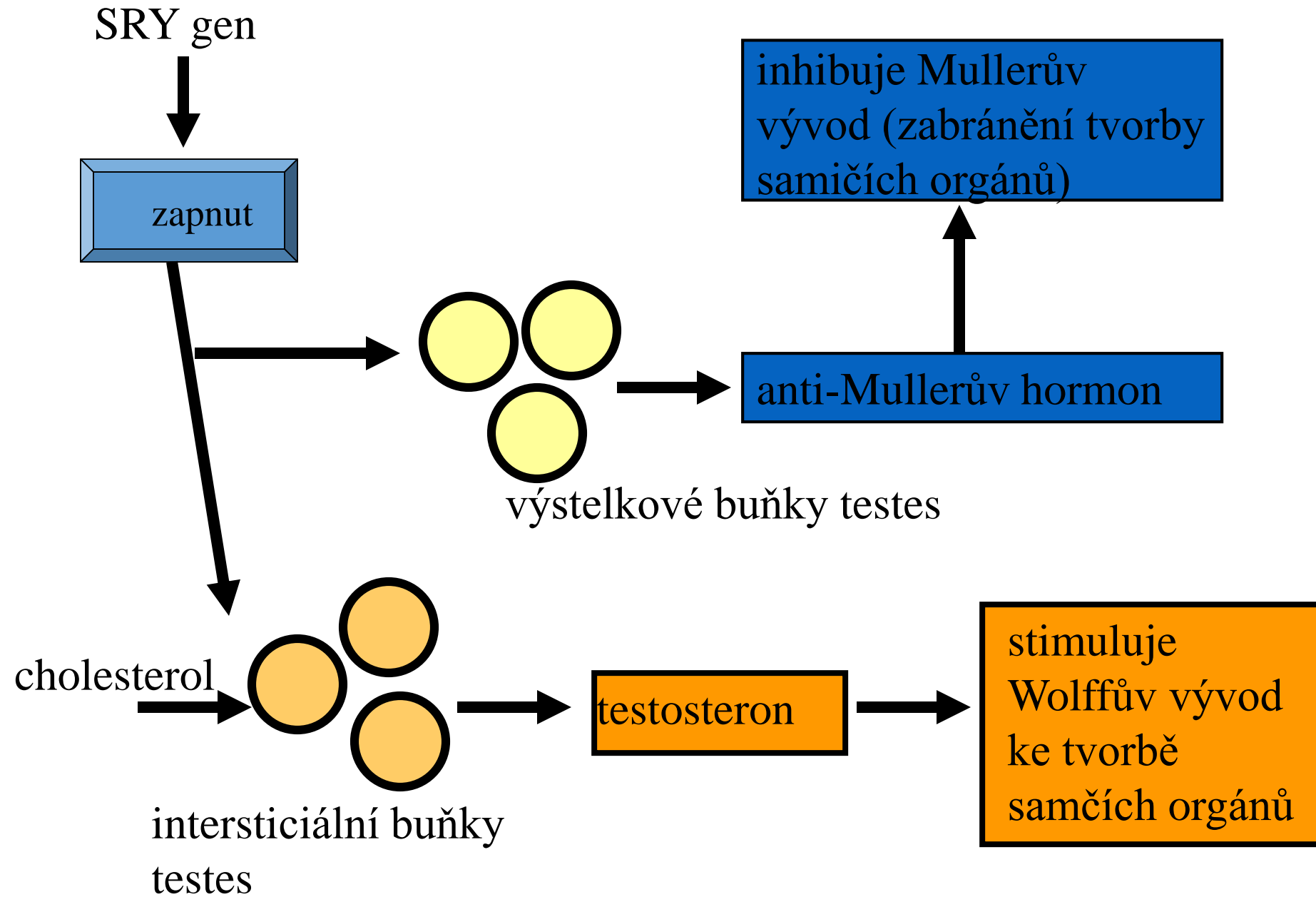


Hormon-receptorový komplex se váže na chromatin

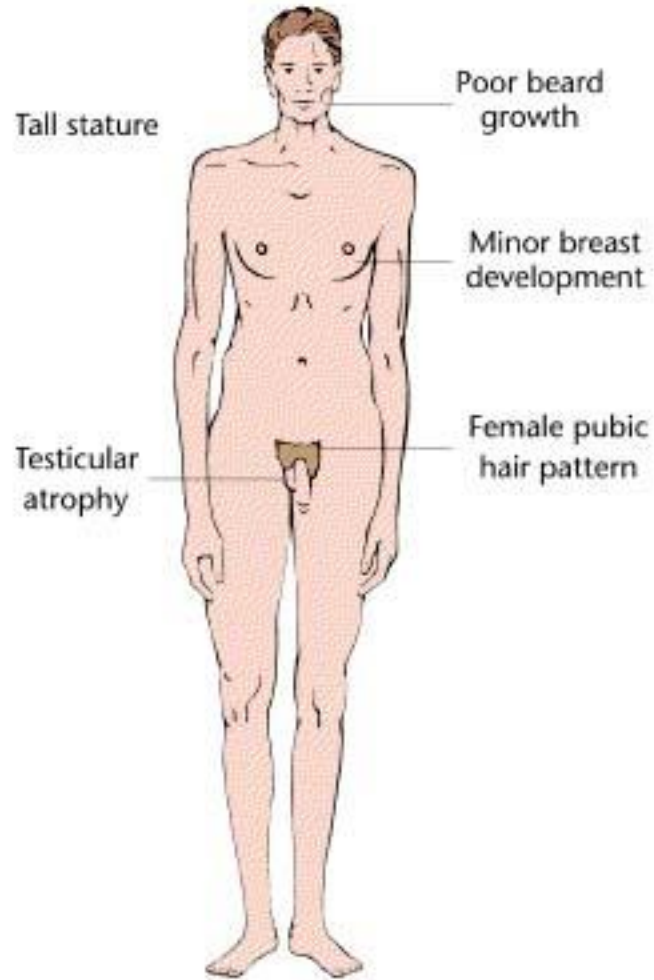


Hormon-receptorový komplex aktivuje geny
ke tvorbě samčích orgánů

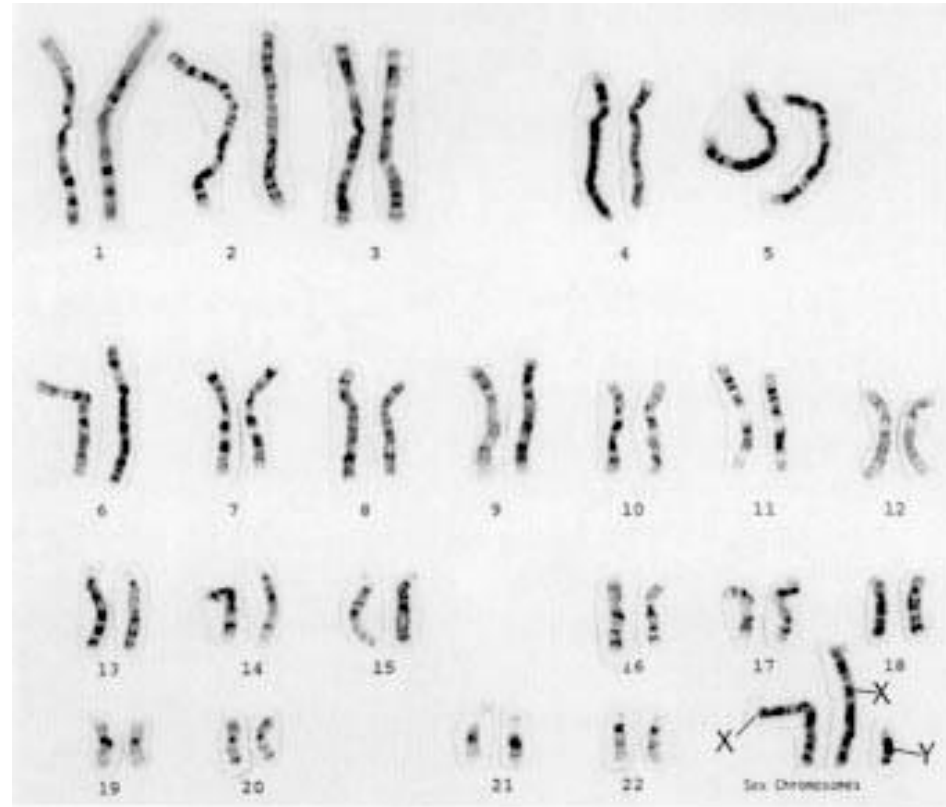




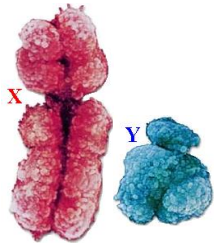
Klinefelter Syndrome (47, XXY)



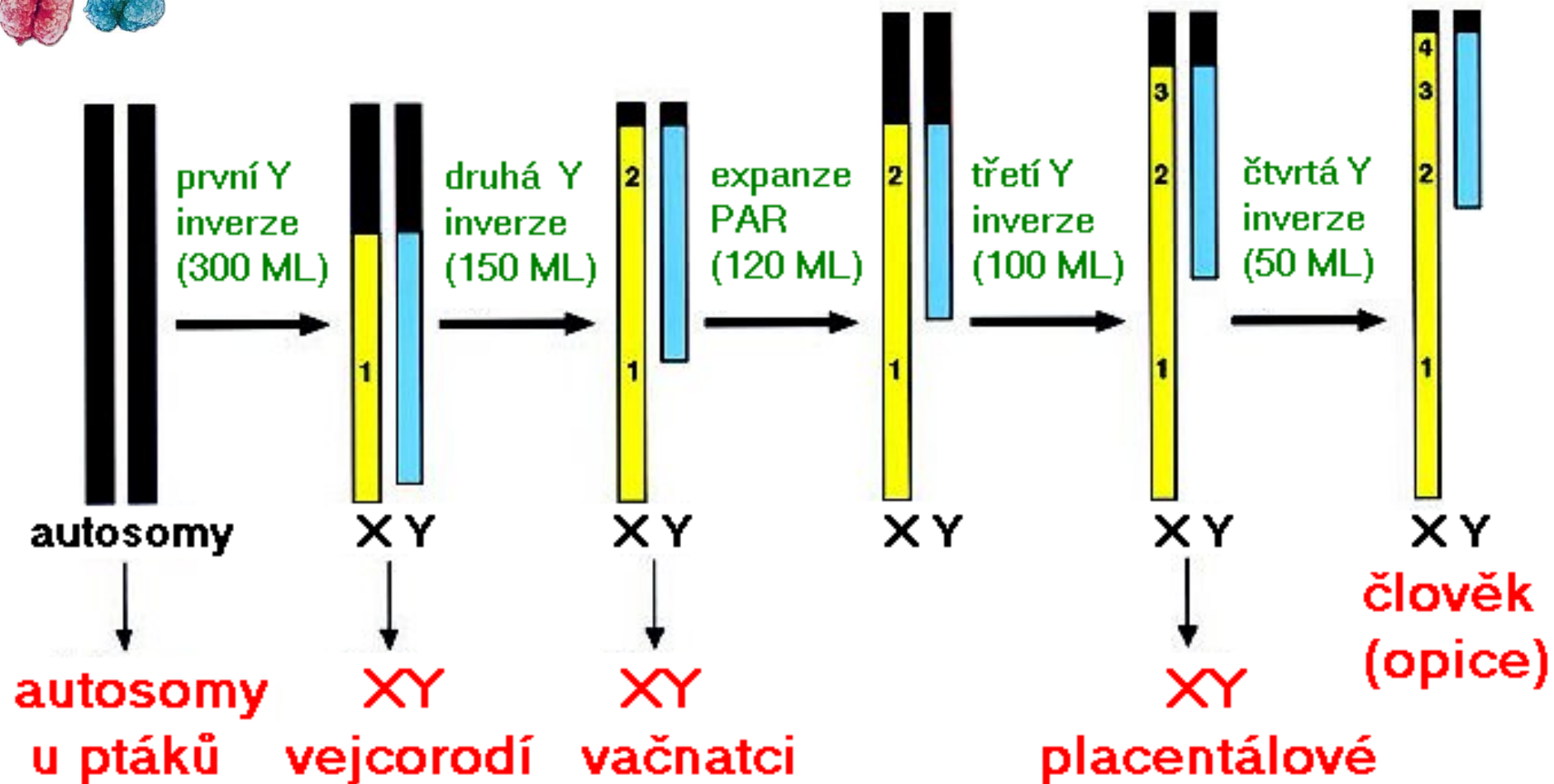
(a) Klinefelter Syndrome (47,XXY)



EVOLUCE POHLAVNÍCH CHROMOSOMŮ



David Page (MIT),
Bruce Lahn (Chicago) 1997



KOMPENZACE DÁVKY GENŮ



Drosophila

XX

X_Y

savci

XX nebo **XX**

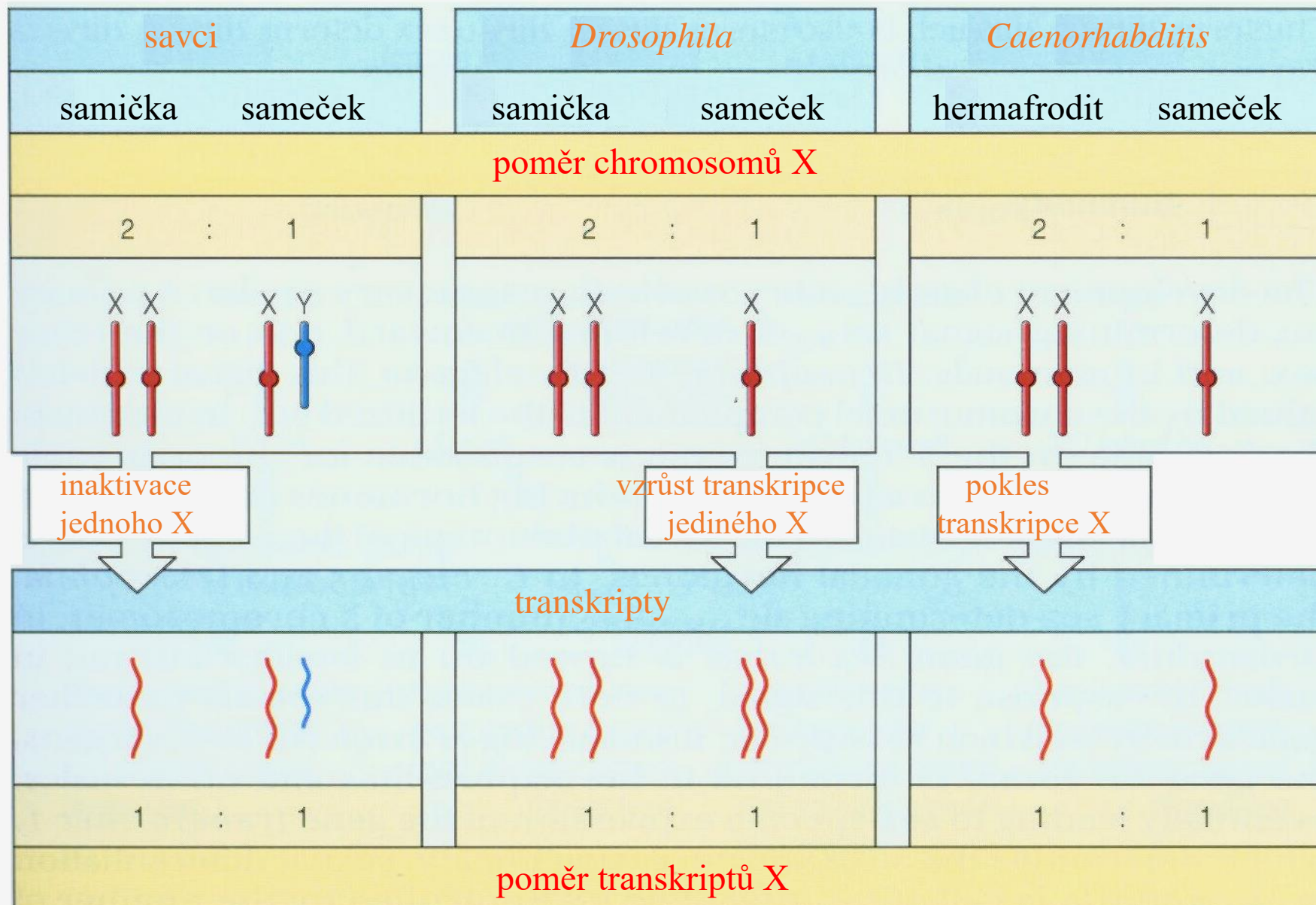
XY

C-elegans

XX (hermafrodit)

XO

Odlišné mechanismy kompenzace dávky genů nesených chromosomem X





Murray Barr
(1949)



Susumo Ohno
(1960)



Mary Lyon
(1961)



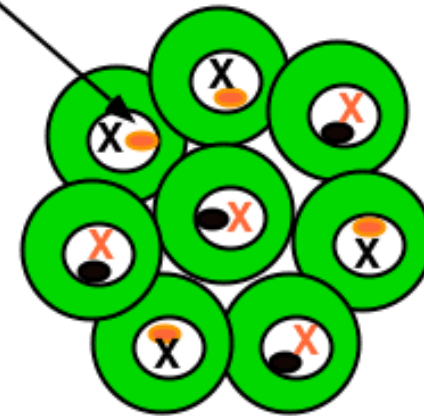
X-vázaný gen barvy srsti



Barrovo tělísko



zygota



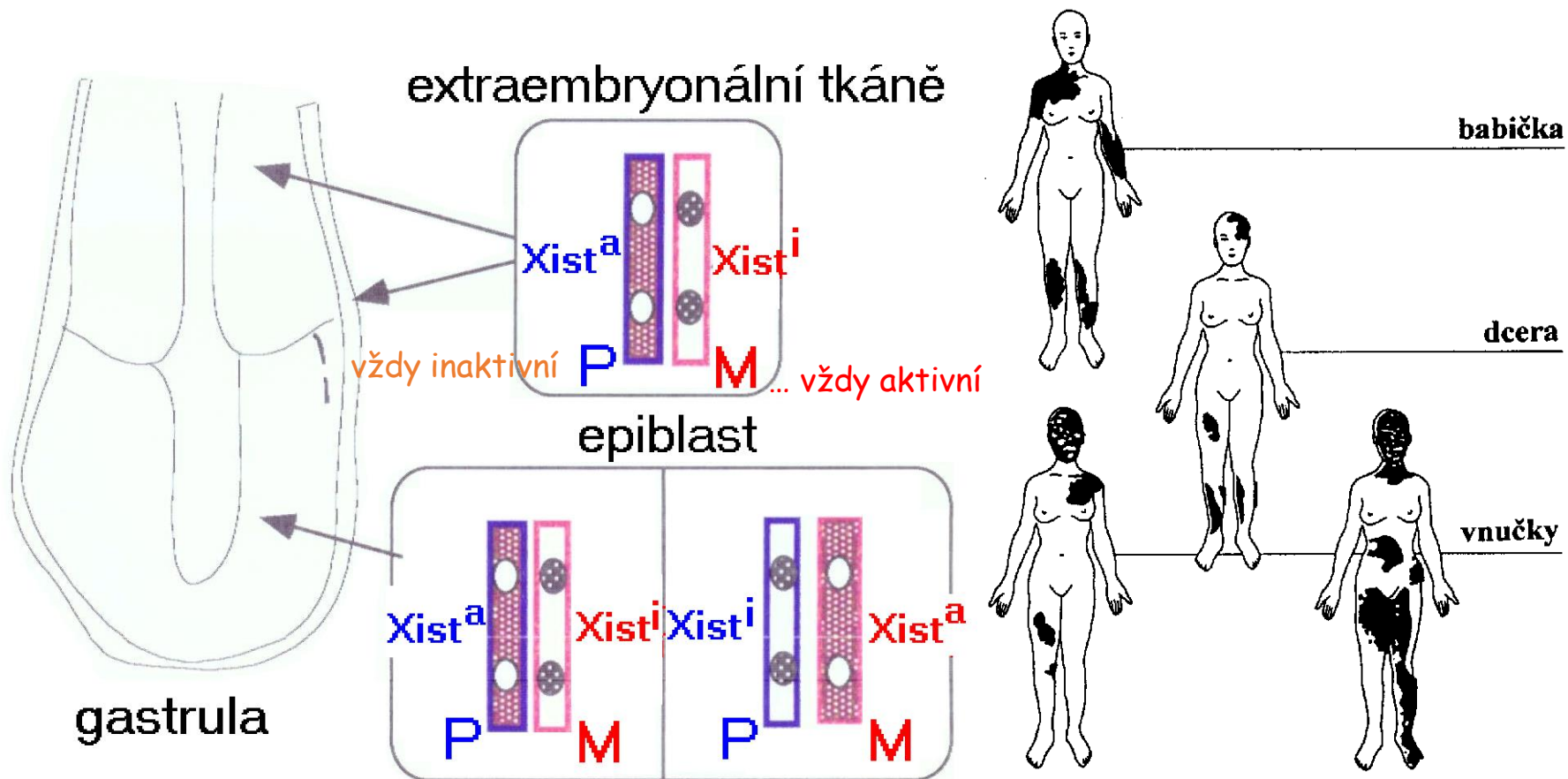
časné embryo

(Ne) náhodná fakultativní heterochromatinizace jednoho X

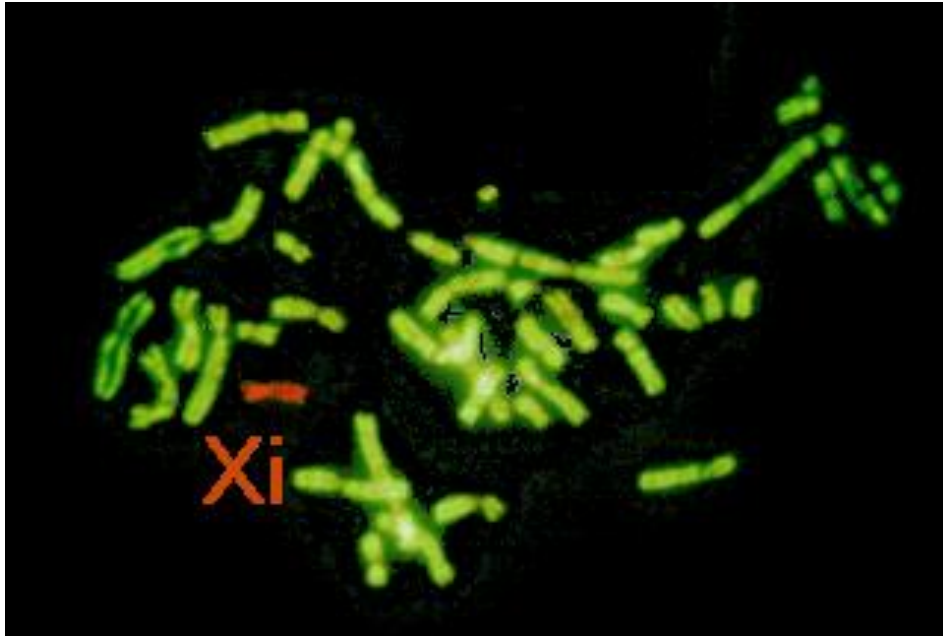
Kompenzace dávky X-vázaných genů :

imprinting a epigenetické umlčování

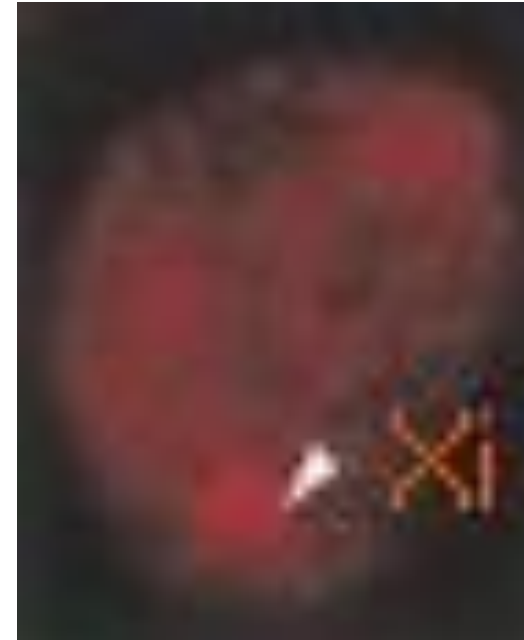
(úloha Xist-RNA, metylace DNA, acetylace a metylace histonů, chromo-proteiny Polycomb)



Inaktivovaný chromosom X je histon H3 a H4
hypoacetylován a hypermetylován

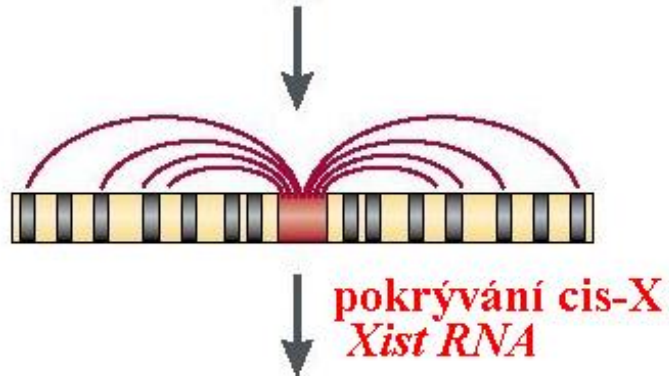
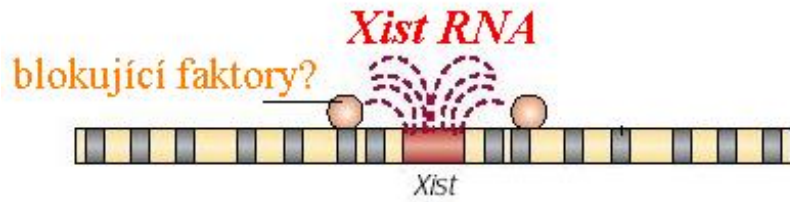


Bryan Turner
(Birmingham 1993)

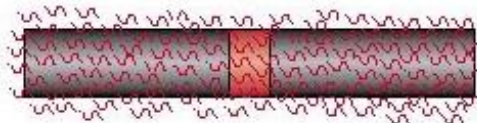


David Allis
(Rochester 2001)

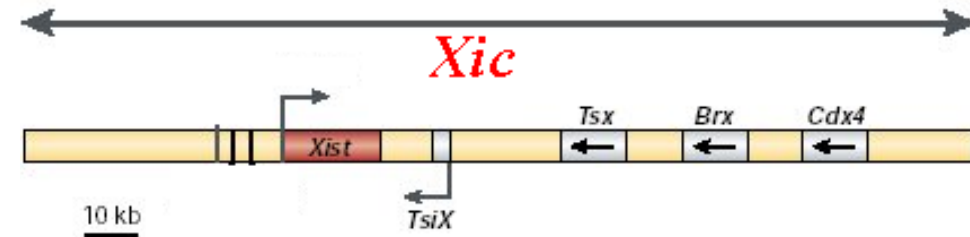
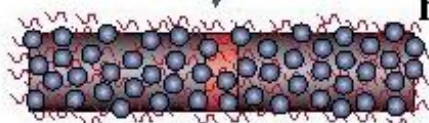
MECHANISMUS INAKTIVACE SAVČÍHO CHROMOSOMU X



**vznik inaktivního stavu
asynchronní replikace**

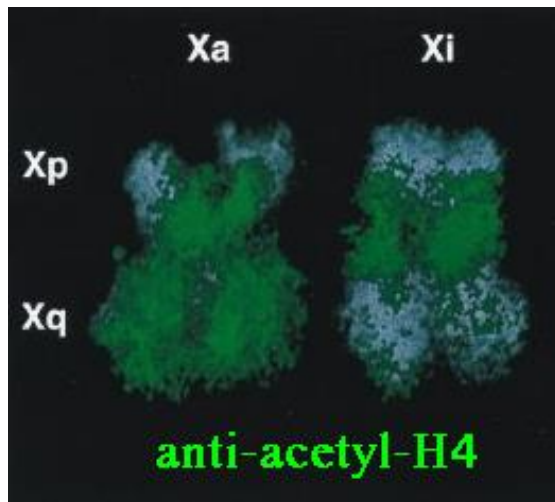


**vazba macro-H2A
hypoacetylace H3 a H4
metylace DNA**



EVOLUCE MECHANISMŮ KOMPENZACE DÁVKY X - VÁZANÝCH GENŮ

(Matthew Wakefield, Melbourne 1997)



200
150
100
50
0
milionů
let



CHROMOSOM X

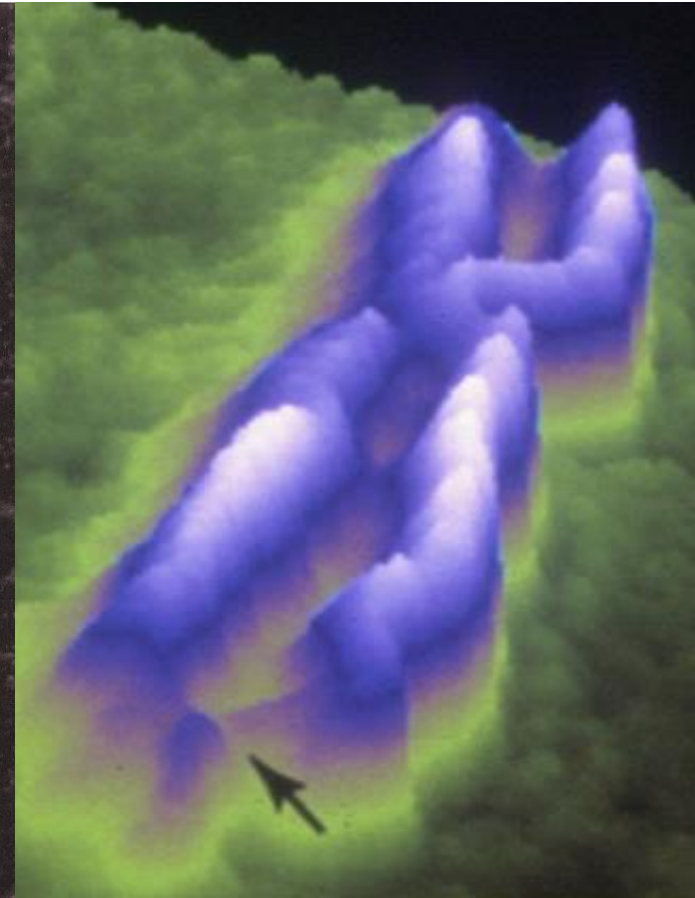
může být inaktivní, fragilní, chytrý i sexy
a především je „epigenetický“



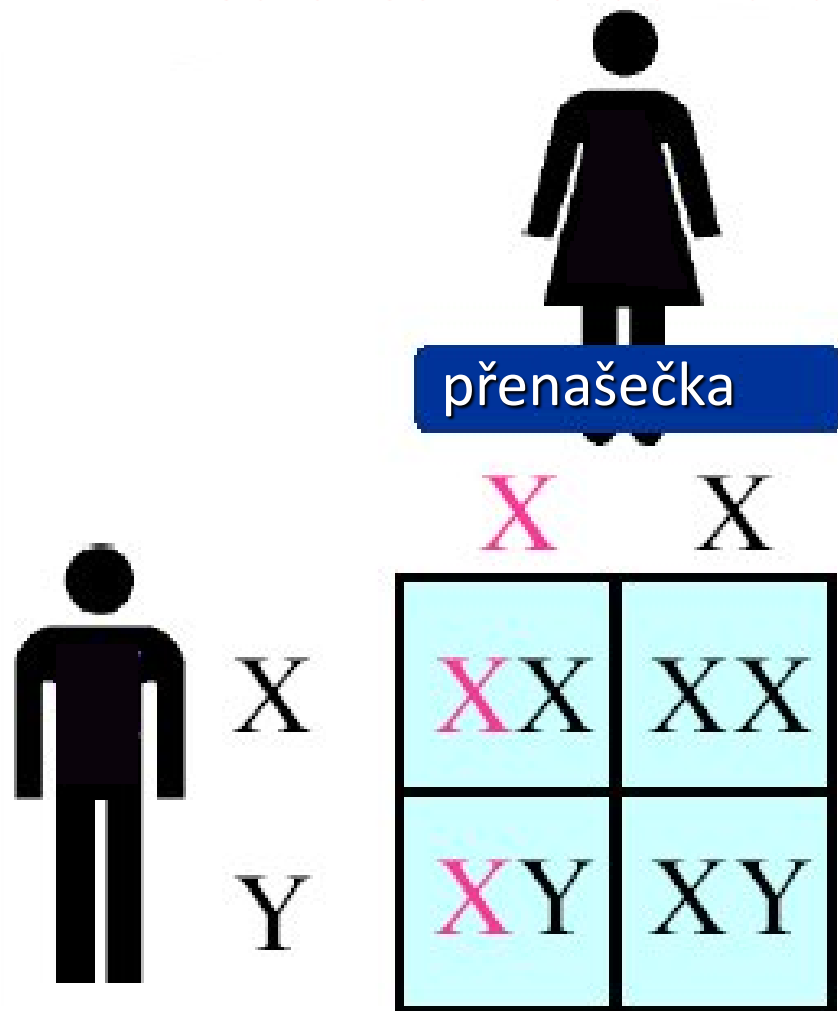
p

q

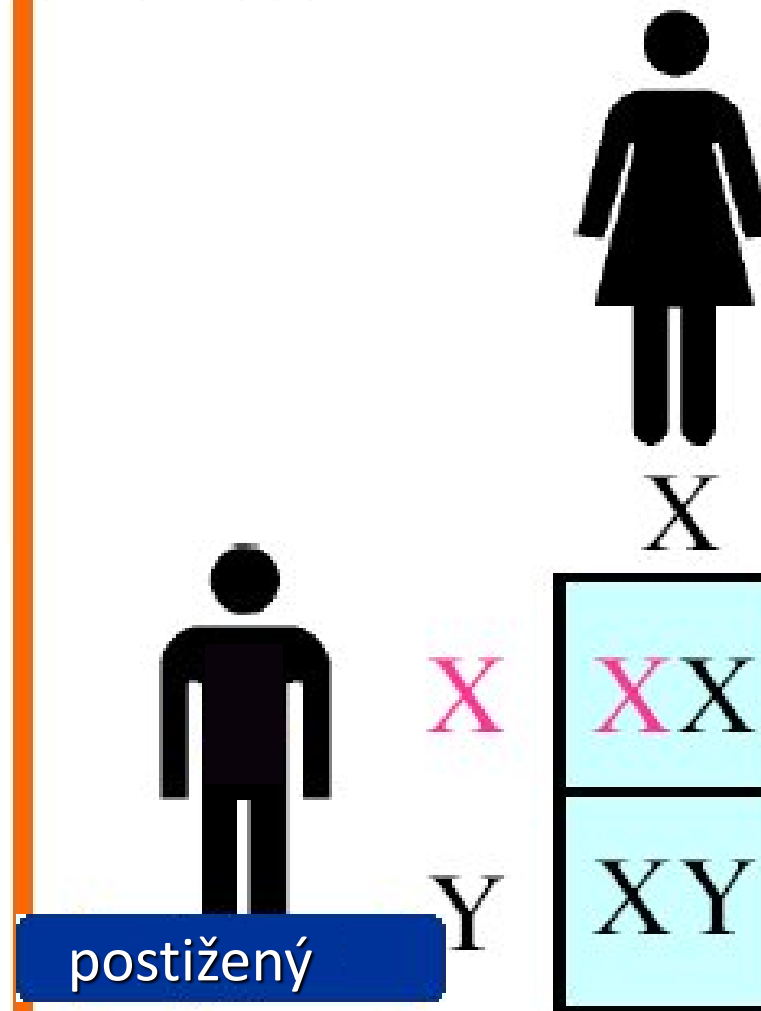
q27.3



Dědičnost mutací vázaná na chromosom X

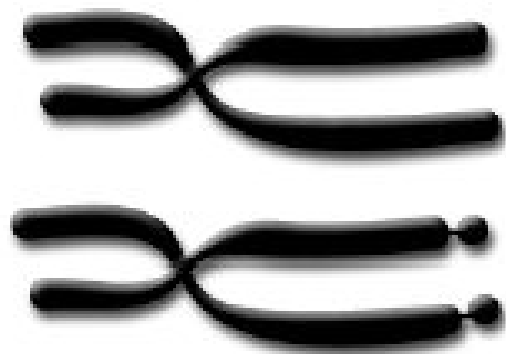


polovina synů je postižených,
polovina dcer jsou přenašečky

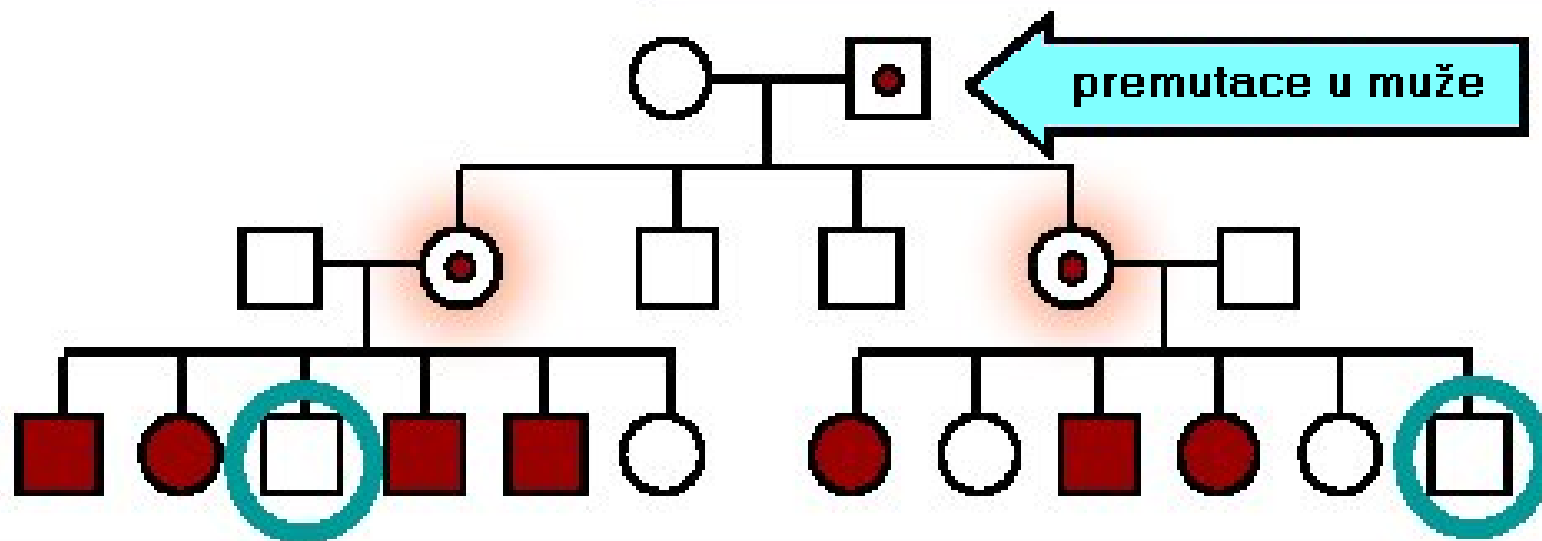


všichni synové jsou normální,
všechny dcery jsou přenašečky

SYNDROM FRAGILNÍHO X



dominantní, X-vázaný
vážná mentální retardace
neúplná penetrance
variabilní expresivita
vážnější a častější u mužů

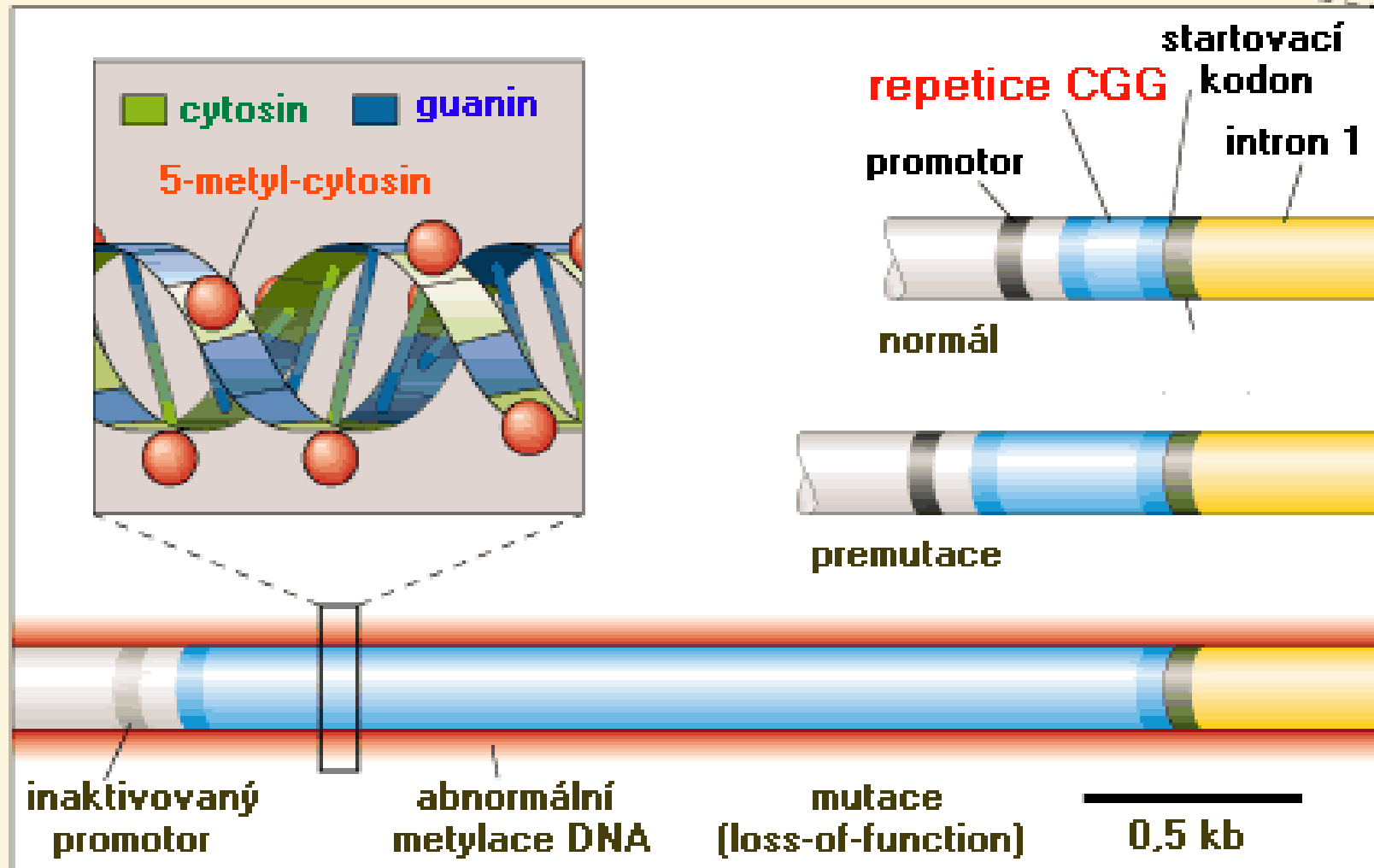
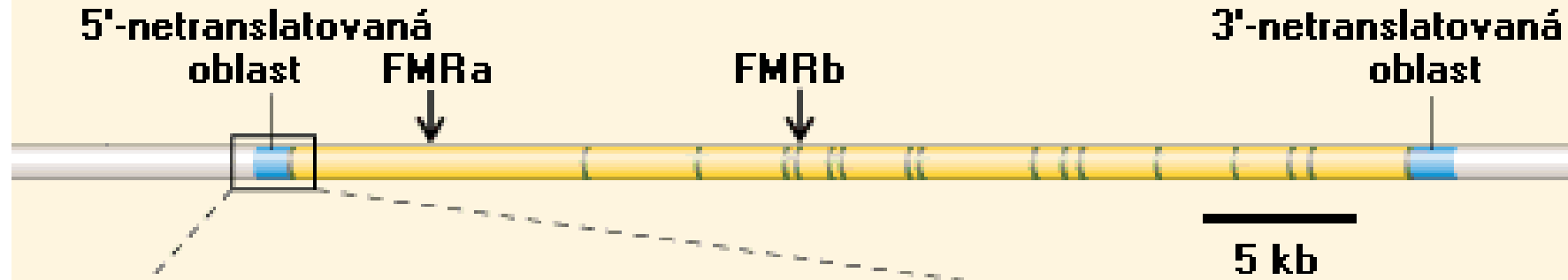


FRAGILNÍ CHROMOSOM X

(Martin-Bellův syndrom 1943, identifikace *FMR1* genu 1991)

klasický model epigenetického řízení genové exprese

- ⇒ protein FMR1 kritický pro činnost mozku, gen X-vázaný - dědičnost křížem
- ⇒ triplety CGG se podrobují stochastickým, sex-specifickým amplifikacím a metylacím > možná inaktivace promotoru
- ⇒ vznik premutace u mužů – amplifikace tripletu CGG z 50 až na 200 (přenos jen na dcery)
- ⇒ při oogenezi (tedy jen u žen) nastává expanze (200 až 1 000) a metylace tripletů, dochází k modifikaci FMR-promotoru
- ⇒ asi 50% synů takové ženy je postižených, u dcer výrazně méně (epigenetická inaktivace jednoho X - lyonizace)
- ⇒ expresivita a penetrance této nevyléčitelné neurovegetativní choroby jsou epigeneticky variabilní (mj. i Huntington)

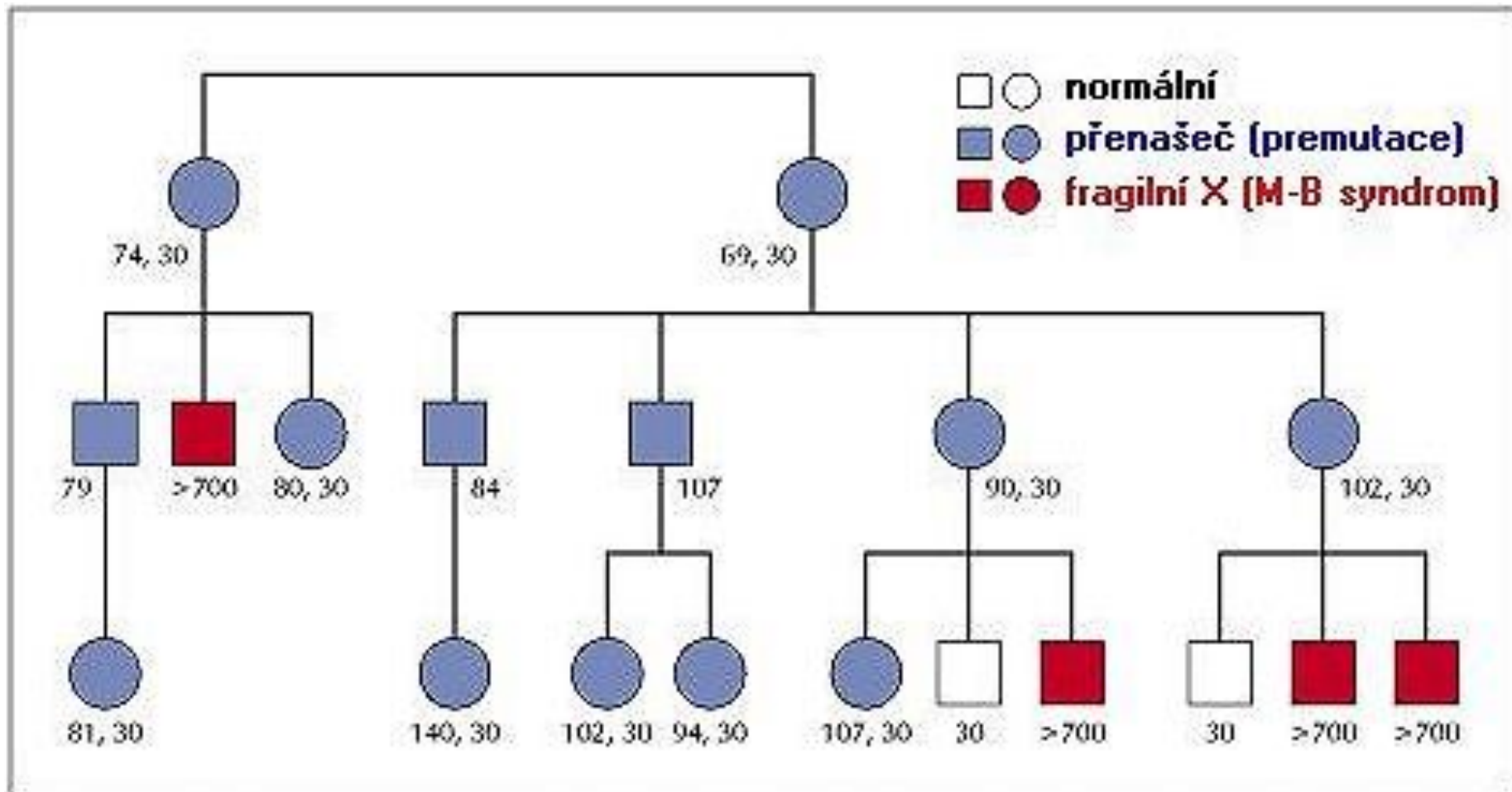


⇒ normální X má 6-60 tripletů CGG v 5'UTR genu FMR1 :



⇒ muži-přenašeči nesou premutaci mezi 60 and 200 kopiemi

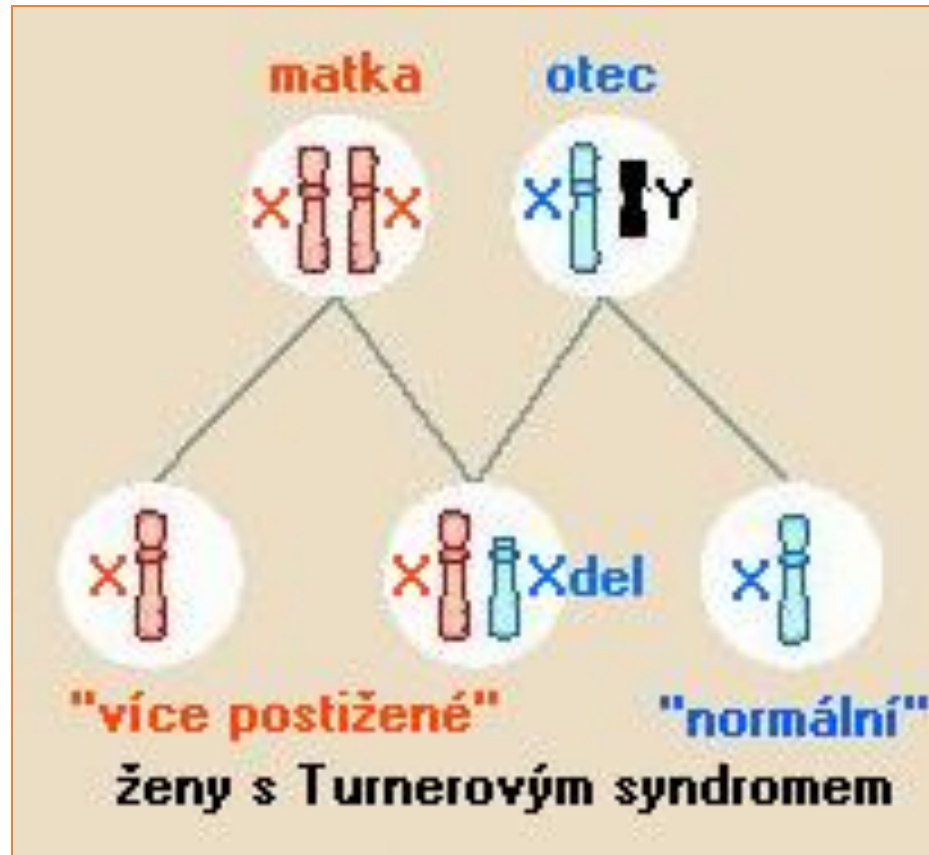
⇒ M-B pacienti mají přes 200 kopií repetice



X-GEN ODPOVĚDNÝ ZA SOCIÁLNÍ CHOVÁNÍ JE MATERNÁLNĚ UMLČOVÁN



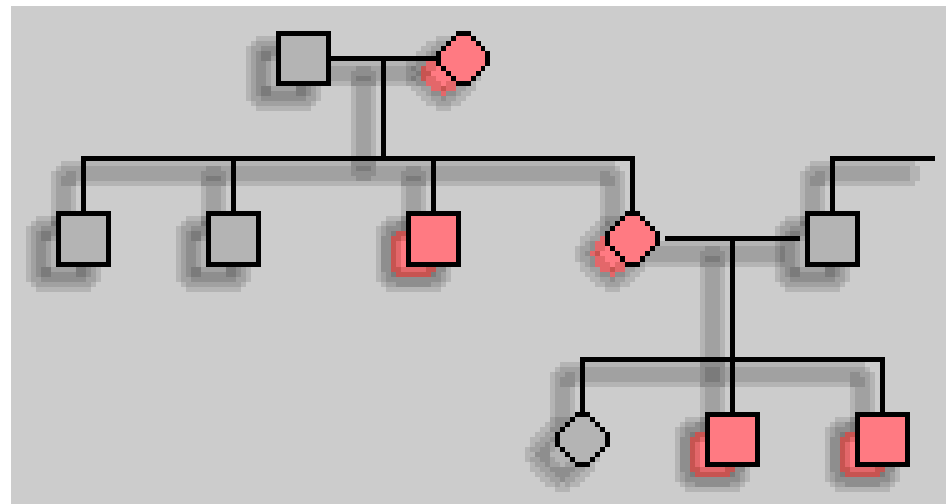
David Skuse
(London 1997)



Turnerův syndrom
(X_m0, X_p0, XX_{del})

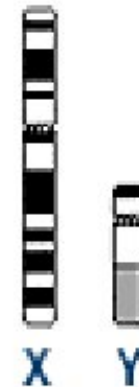
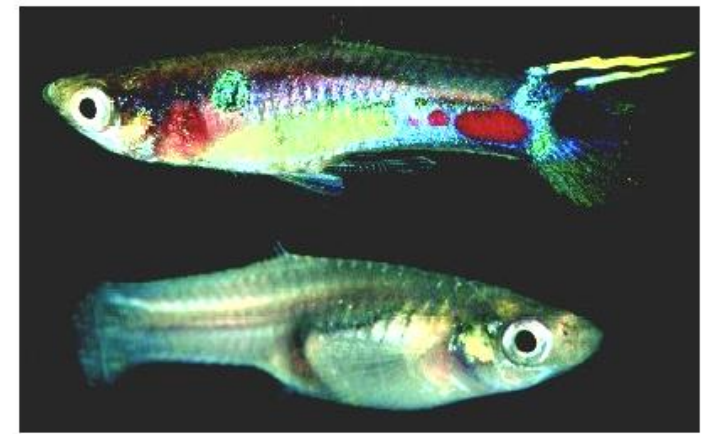
ZVLÁŠTNÍ ROLE X VE VÝVOJI SAVCŮ

- ⇒ přítomen v jedné či dvou kopiích (XY, XX),
parciální mozaiková inaktivace u samic
- ⇒ dědí se křížem : dcery získávají X od obou rodičů,
zatímco synové výhradně od matky
- ⇒ homologie X/Y malá, Y nese jen několik funkčních „X“ genů
- ⇒ evoluce X : nese výrazně více genů ovlivňujících inteligenci,
sociální chování a reprodukční schopnosti
- ⇒ u mužů vyšší výskyt
poruch psychiky
a sociálního chování :
příčinou je
„hemizygotní X“ či
„maternálně imprintovaný X“

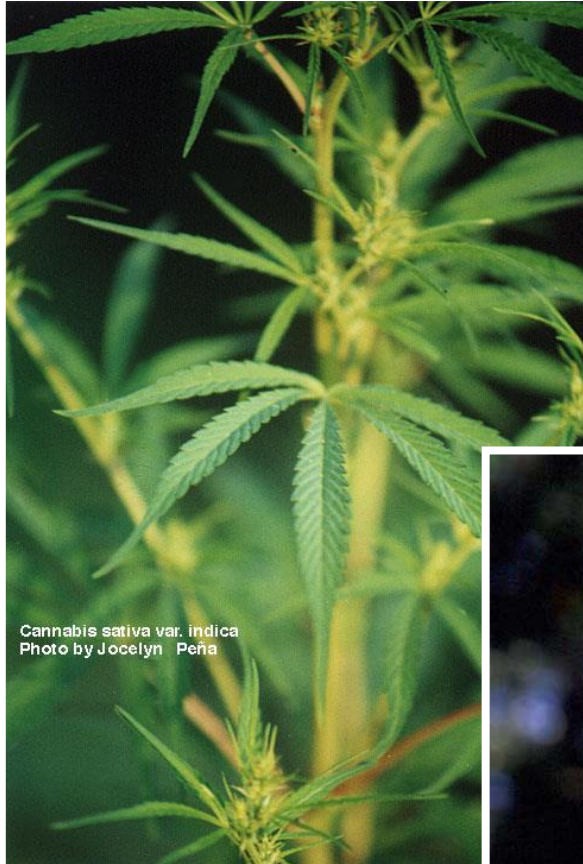


ZKÁZA CHROMOSOMU Y

- ⇒ holandská dědičnost: otec → syn
- ⇒ haploidní (geny dominantní)
- ⇒ 33 znaků vázaných na Y, dosud 7 genů zmapovaných
 - ⇒ SRY translokace/mutace vedou k sex-reverzi či intersexům
 - ⇒ SRY není klíčovým genem: je „mladší“ než Y, u některých hlodavců zmizel
 - ⇒ další Y-testis-determining faktory (funkční koherence)
 - ⇒ jen několik house-keeping genů, vesměs analogy X-chromosom vázaných genů
 - ⇒ Y je po ztrátě rekombinace s X evolučně-geneticky ruinován asi 300 milionů let (teorie čtyř inverzí)
 - ⇒ finálním krokem evoluce bude zřejmě jeho zánik (5-10 MY) a translokace SRY na autosom (či zkáza *Homo sapiens*)



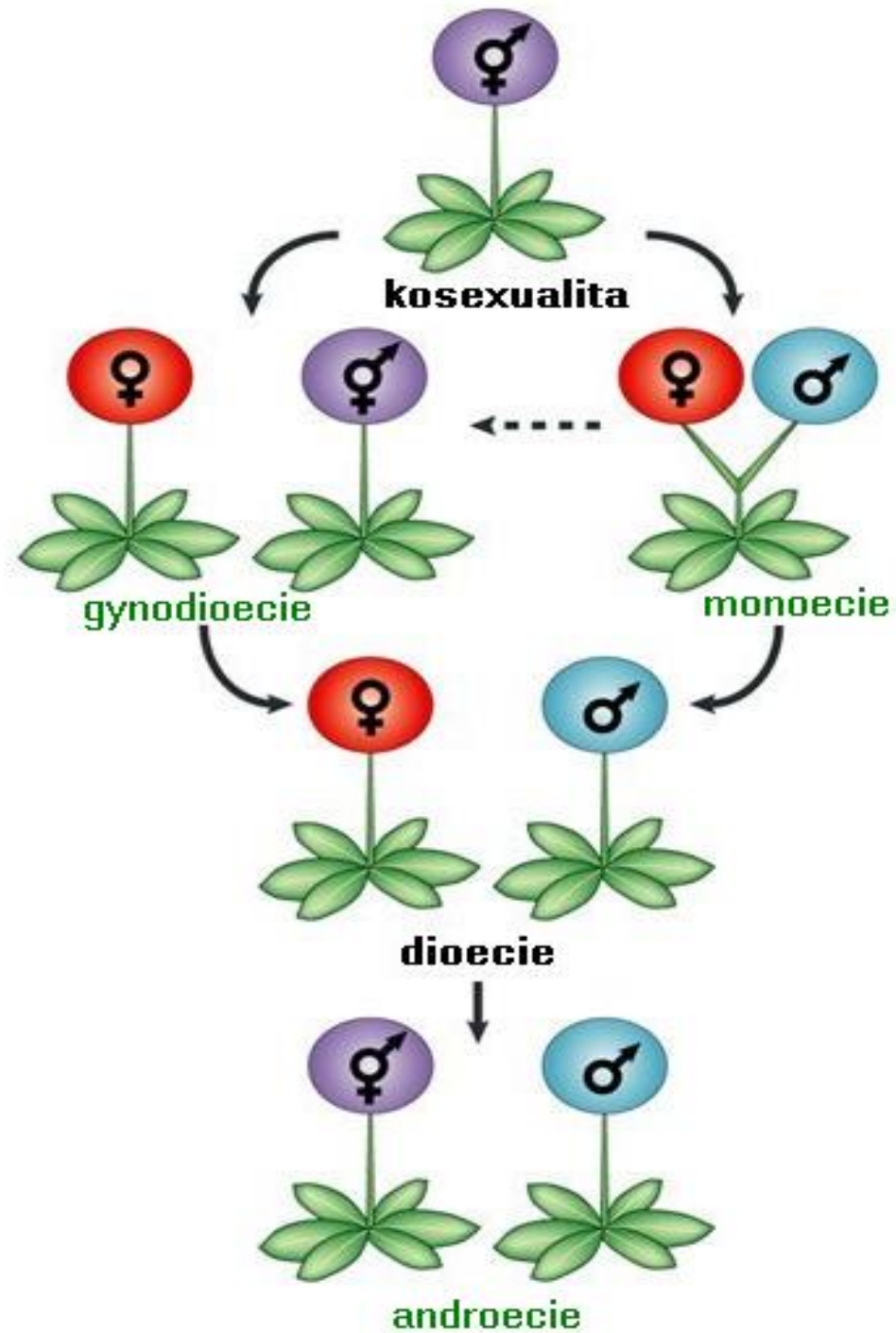
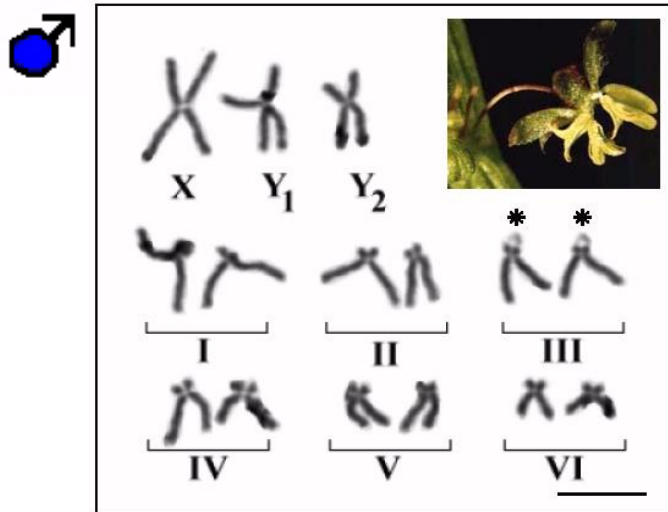
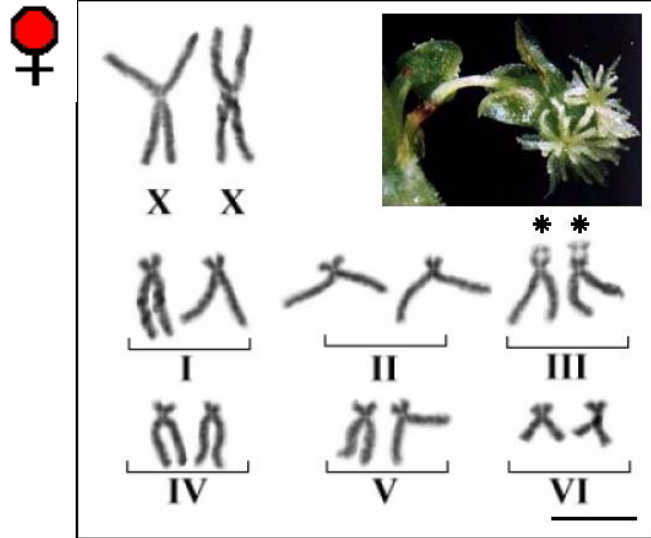
Rostliny nejsou vždy bisexuální



Proč studovat rostlinné pohlavní chromosomy ?

- Jsou evolučně mladé
 - ...mohou nám objasnit časná stádia evoluce a degenerace sex chromosomů
- Vyvinuly se mnohokrát nezávisle u krytosemenných rostlin
 - ... můžeme zjistit, které rysy jsou v evoluci pohlavních chromosomů obecné

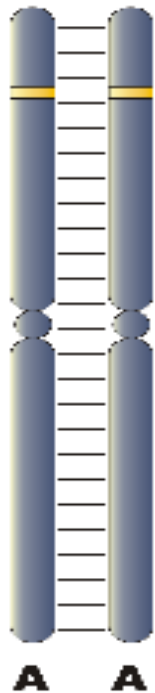
EVOLUCE DVOUDOMOSTI U ROSTLIN



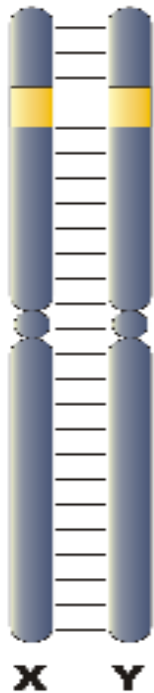
Pohlavní chromosomy rostlin



tykvíce



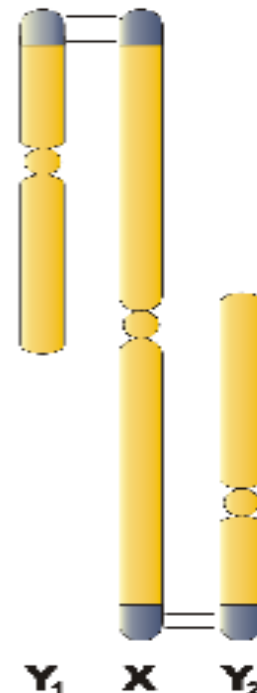
papája



silenka



šťovík



model
rostlinného
sexu :
Silene latifolia



A. TARALD, *SILENE LATIFOLIA* (MILL.) R. ET B.
B. BACKGLIM, *SILENE NUTANS* L.



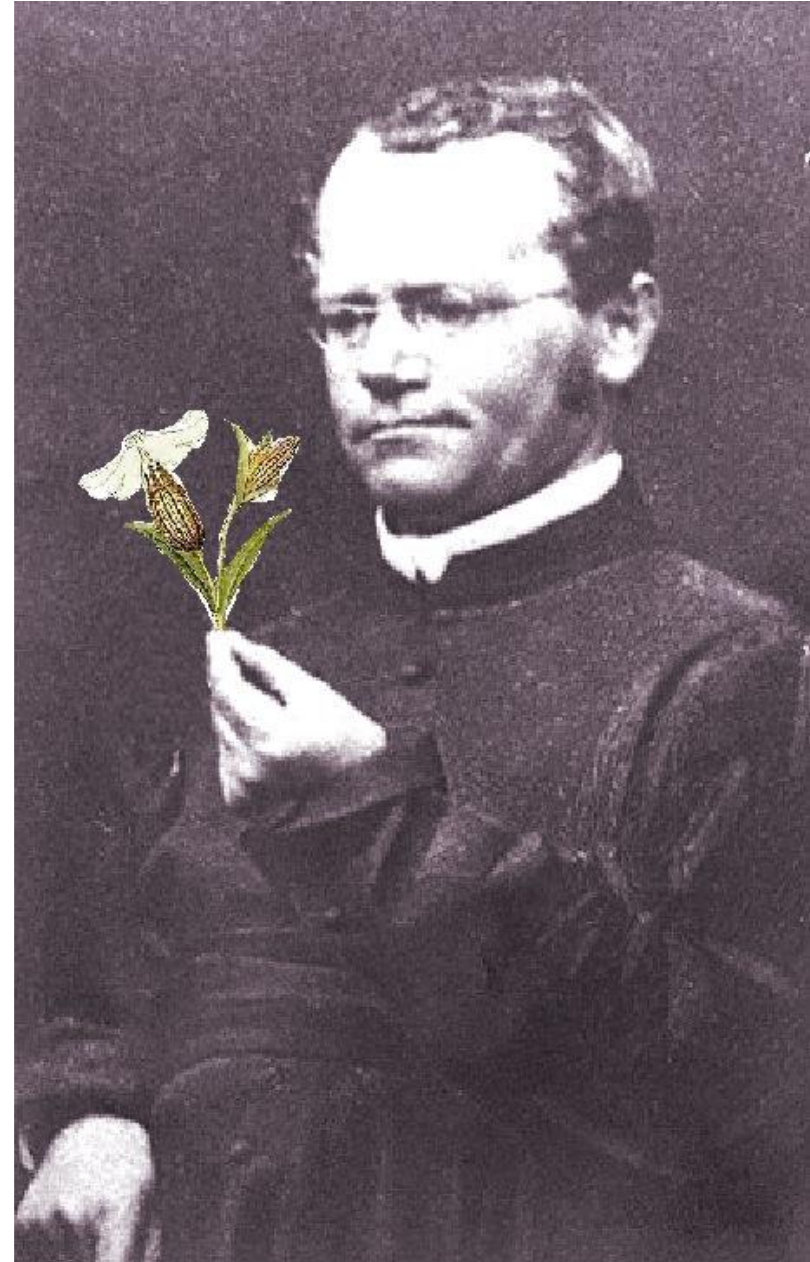
Johann Gregor Mendel

Letters to Carl Naegeli

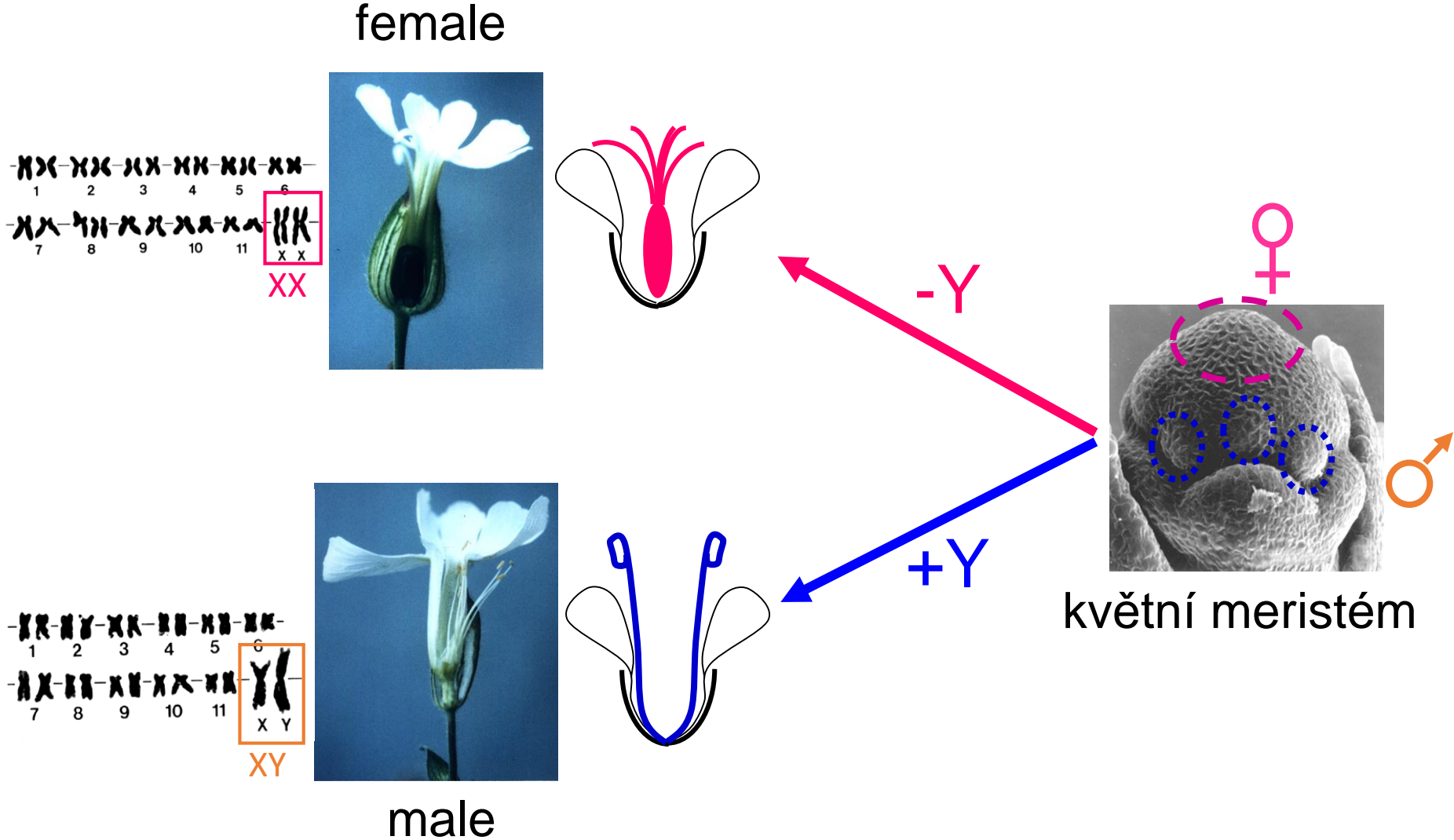
1866-1873

Silene latifolia, white campion

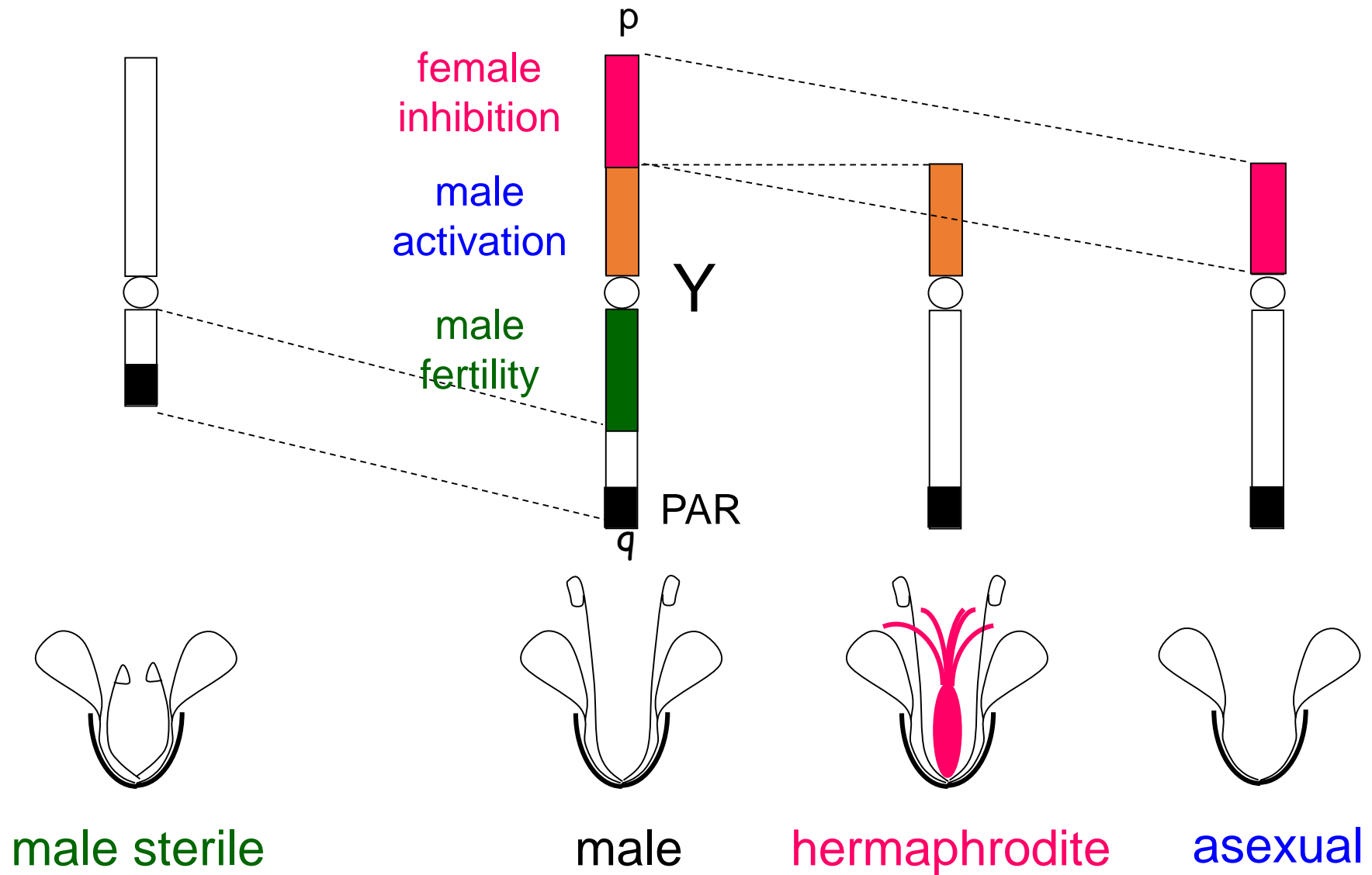
(*Melandrium album*)



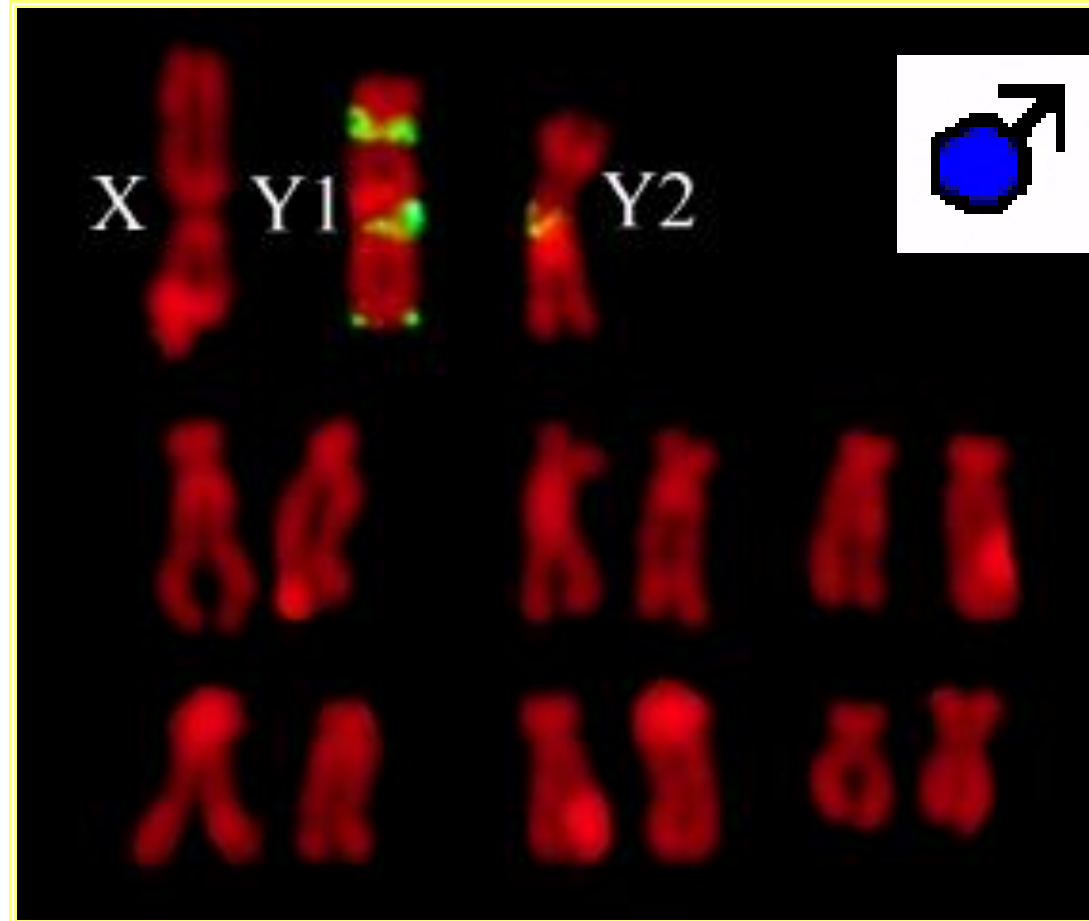
Sex determinace – *Silene latifolia*



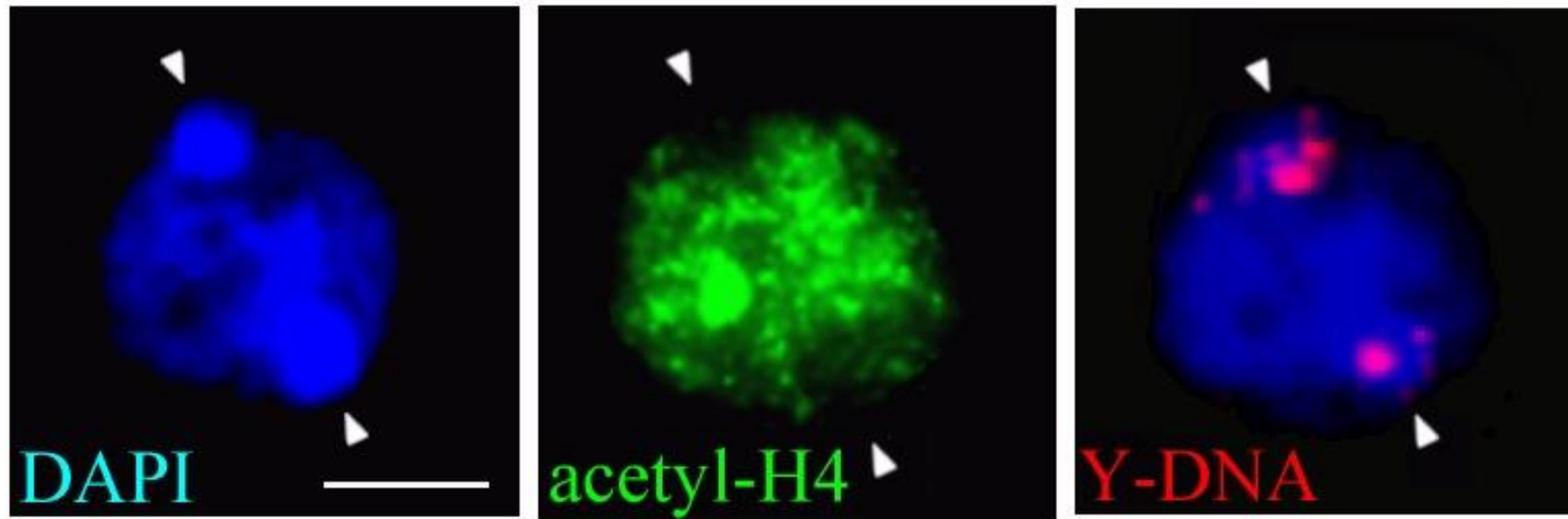
Aberace odhalují základní funkční mapu chromosomu Y



RUMEX: SAMČÍ CHROMOSOMY Y JSOU KONSTITUTIVNĚ HETEROCHROMATICKÉ



CHROMOSOMY Y TVOŘÍ PERIFERNÍ HISTON - HYPOACETYLOVANÁ TĚLÍSKA



Rumex acetosa



Evo-Devo

Vývoj (individuální vývin, ontogeneze, development) je geneticky programovaný a cyklický.

Evoluce (historický vývoj, fylogeneze) není programovaná, nýbrž nahodilá.

Richard B. Goldschmidt (~ 1935) :

**“... Evoluce spočívá ve zdědění změn
individuálního vývoje ...”**

funkční biologie = anatomie, genová exprese

vývoj = změny funkční biologie / reálný čas

evoluce = změny individuálního vývoje / historický čas



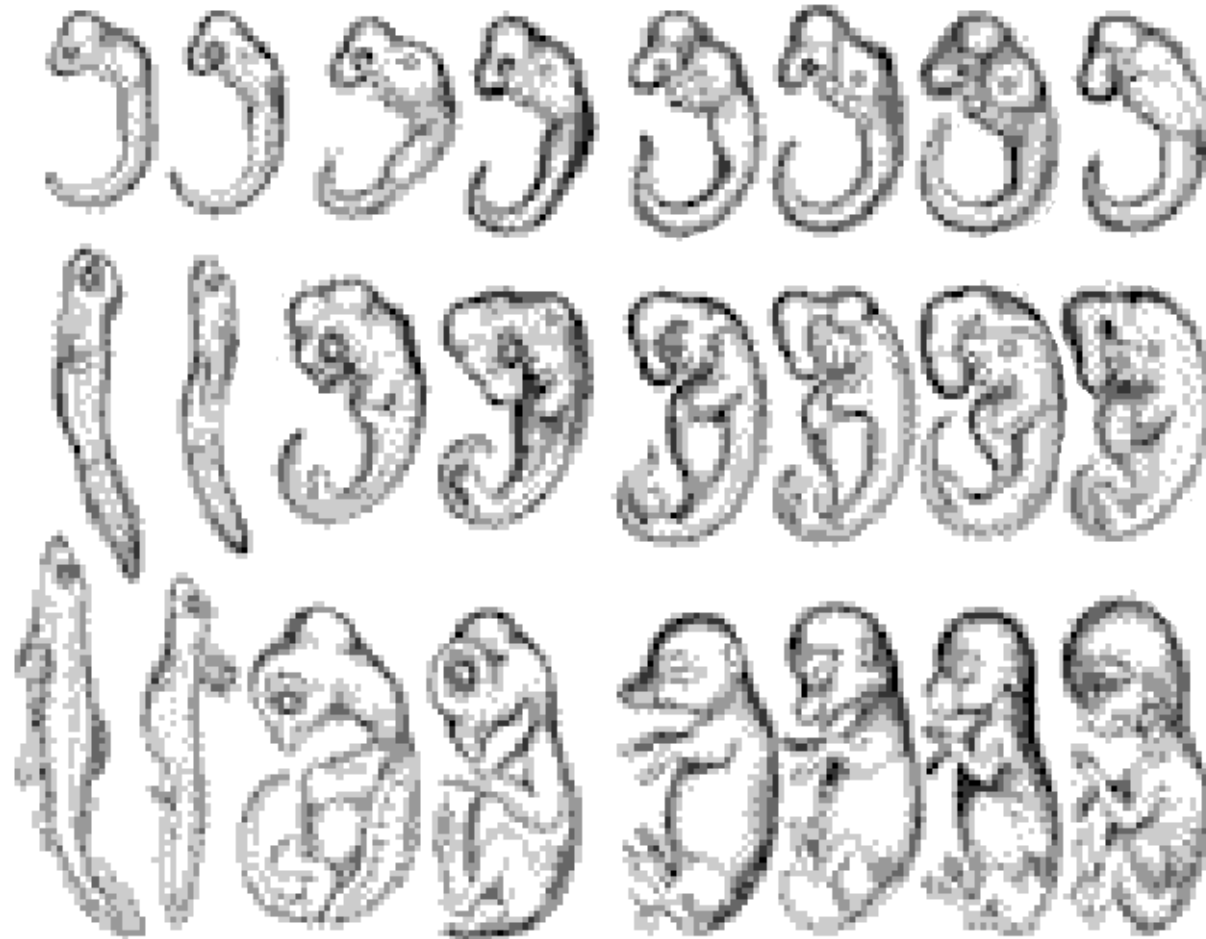
Vývojové zákony

- Von Baerův zákon (1828):
“znaky vyskytující se u vyšší systematické skupiny se obvykle objeví ve vývinu dříve než znaky nižší skupiny”
- Haeckelův biogenetický zákon (1866):
“ontogeneze rekapituluje fylogenezu”

Evolve a ontogeneze :
EVOLution and DEVelOpment



**Carl Ernst von Baer
(1792-1876)**



fylotypová stádia obratlovců

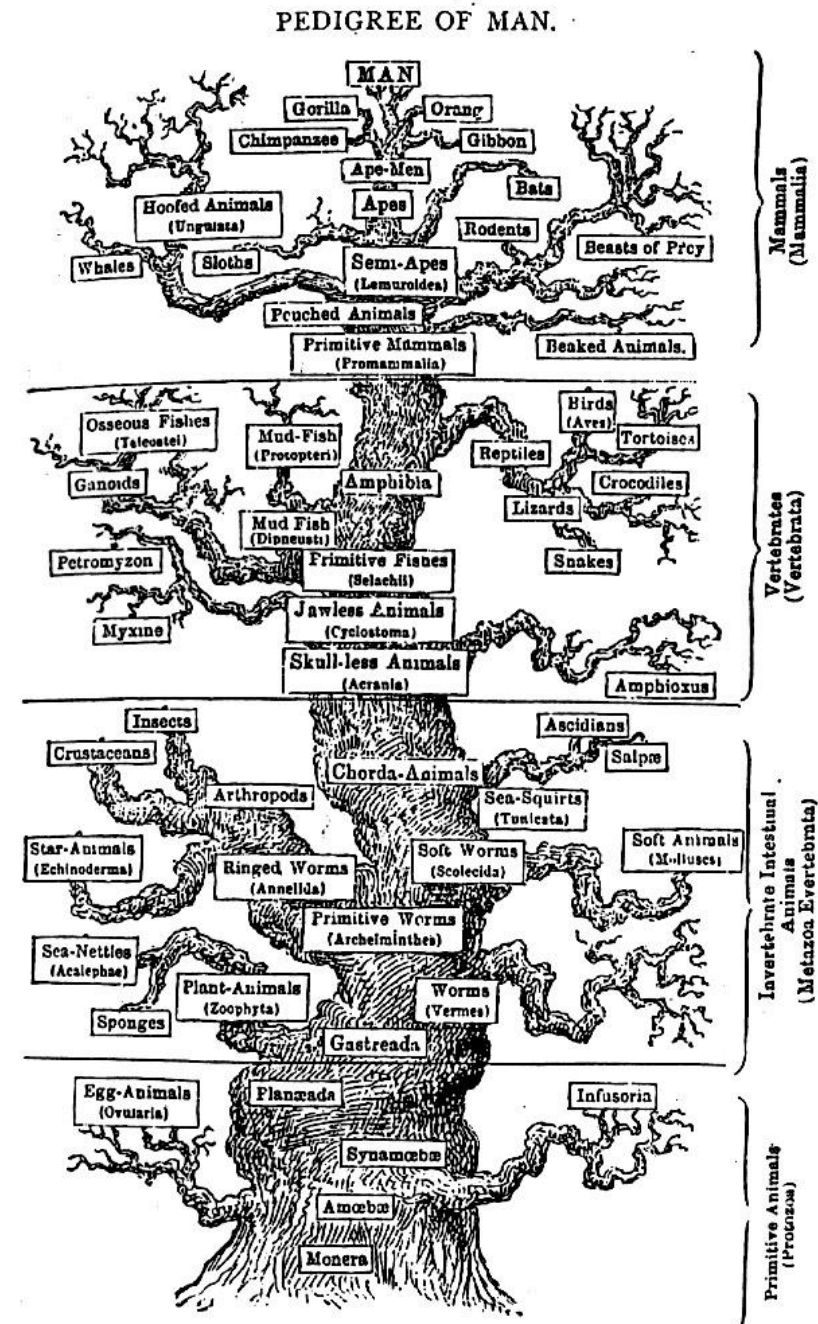
Baerovy zákony fylogenetického stádia obratlovců

(1828)

- [1] **Obecné znaky velké skupiny živočichů se v embryu vyskytují dříve než znaky specializované**
- [2] **Méně obecné znaky se vyvíjejí ze znaků obecnějších, přičemž znaky velmi speciální se tvoří až ke konci embryogeneze**
- [3] **Embrya odlišných druhů se od sebe v průběhu individuálního vývoje stále více a více odlišují**
- [4] **Časně embryo evolučně vyššího živočišného druhu není podobné dospělci nižšího živočicha nýbrž jeho časněmu embryu**



„ ONTOGENEZE
REKAPITULUJE
FYLOGENEZU „



Omezení biogenetického zákona

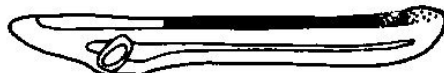
- Dospělé znaky předků jsou jen výjimečně časnými vývojovými stádii evolučních následovníků.
- Adaptace ve vývoji jsou stadium-specifické, odráží se ve výsledných fenotypech
- Ne všechny nové znaky vznikají prostřednictvím terminální adice



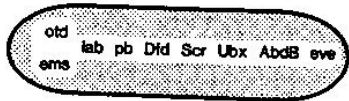
myš



Xenopus



Amphibia



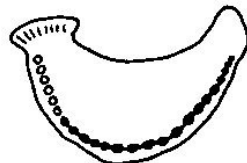
ZOOTYP



Drosophila



ploštěnci



pijavice

ZOOTYP



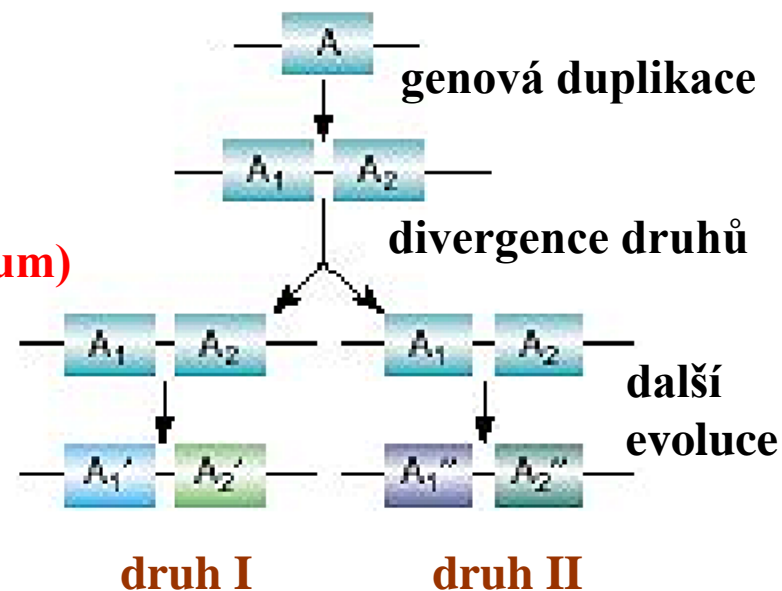
Étienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844, Paris)

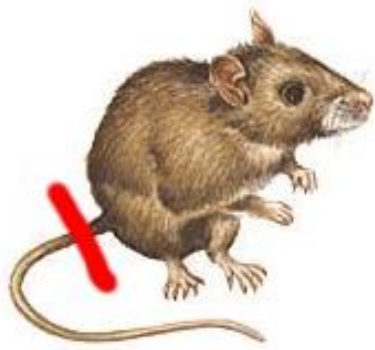


Jonathan Slack (*1949, Bath)



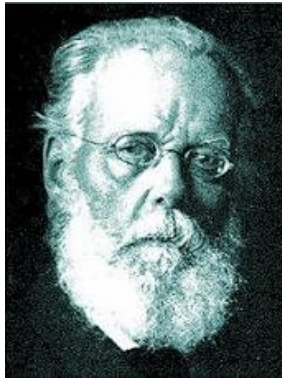
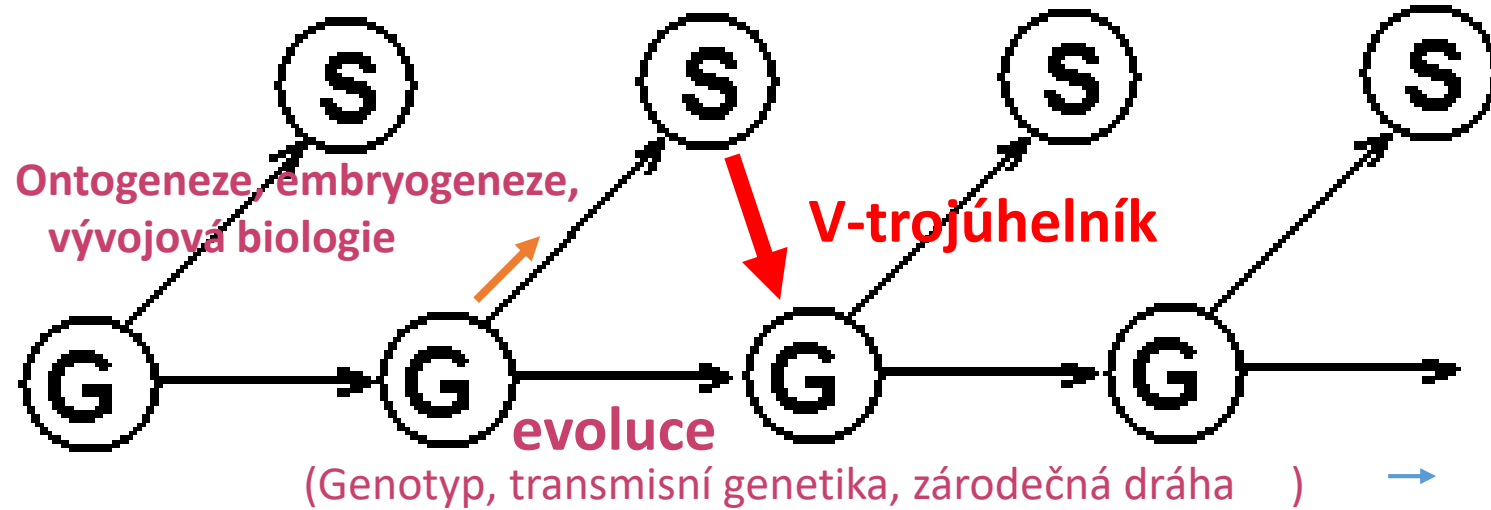
paralogní geny





Po selekci se dědí (přenáší) genotyp,
selekce se však realizuje na bázi fenotypu !

(Soma, fenotyp)



Weismann (1889): somatické změny získané v průběhu života vyšších živočichů neovlivňují reprodukční buňky či potomstvo (“Weismannova bariéra“).

Transplantace pólové cytoplasmy může indukovat tvorbu zárodečné linie

...

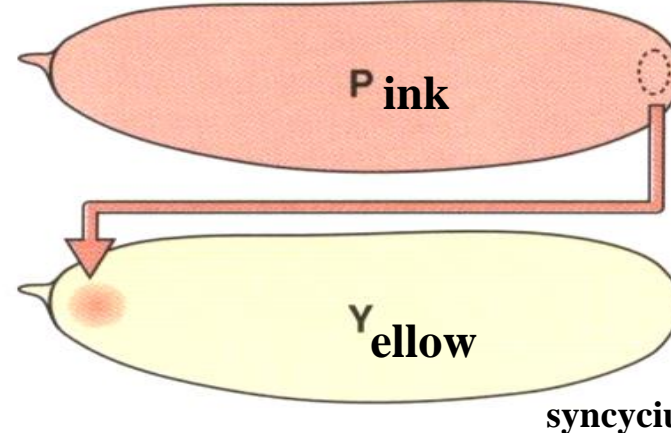
primordiální zárodečné buňky jsou prvními odlišnými, na posteriorním konci

...

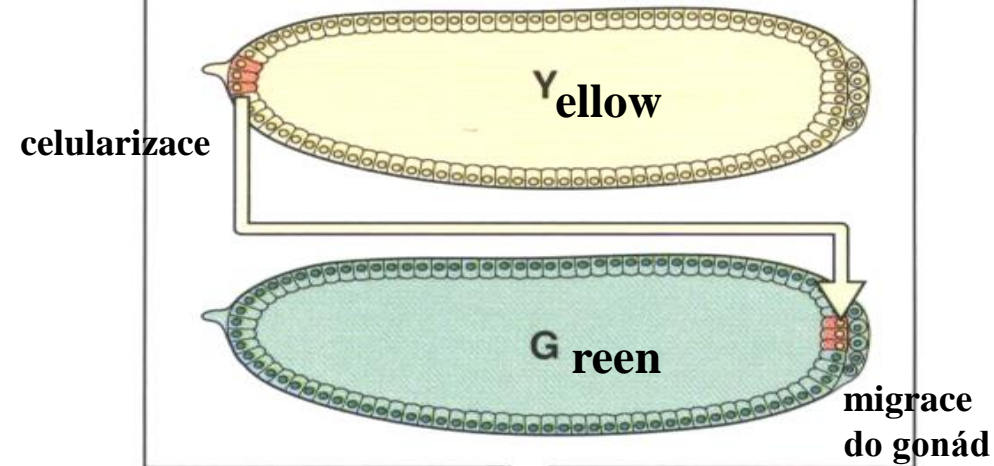
u drosofily,
hlístice (granule P)
a žab

cytoplasma posterioru oplozeného vajíčka

přenesena do anterioru jiného

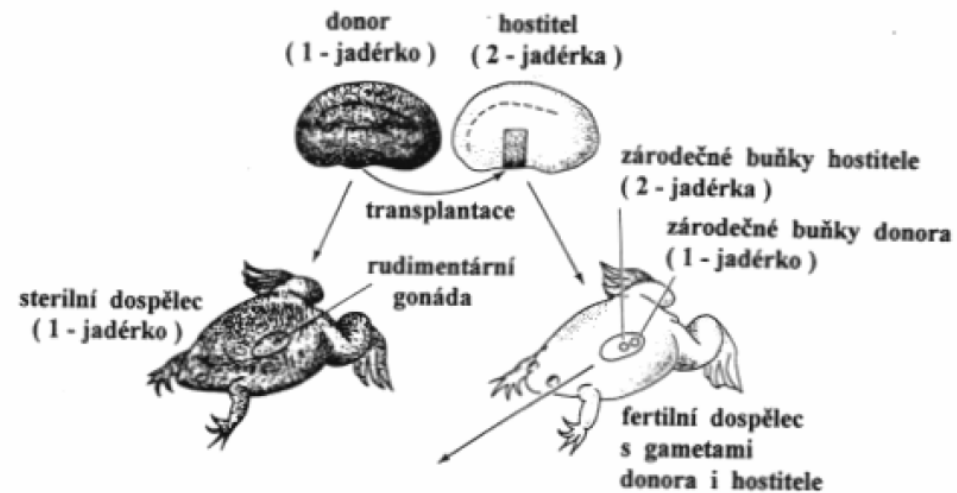


anteriorní buňky (s pólovou plasmou)
přeneseny do jiného posterioru



moucha G vytváří zárodečné buňky
s genotypem G a Y

Obr. 44. Demonstrace primordiálních zárodečných buněk v časném endodermu embrya žáby (podle Gilberta, 1988). Část ventrální tkáně neuruly, kde jsou přítomny prekursori zárodečných buněk, mutantního donora (tvořícího ve svých jádrech pouze jediné jadérko) byla přenesena do recipienta divokého typu (se dvěma jadérky). Po operaci byly žáby donora sterilní, neboť zárodečné buňky byly odstraněny a neurula již není schopna si vytvořit nové. Hostitelská žába však byla fertilní a vytvářela meiózou gamety buď s žádným nebo jedním jadérkem (typ donora), nebo s jedním jadérkem (typ hostitele, tj. vlastní). Křížením této chimérické žáby s divokým typem vzniká potomstvo s jedním nebo dvěma jadérky (původní experimenty, Blackler 1966).



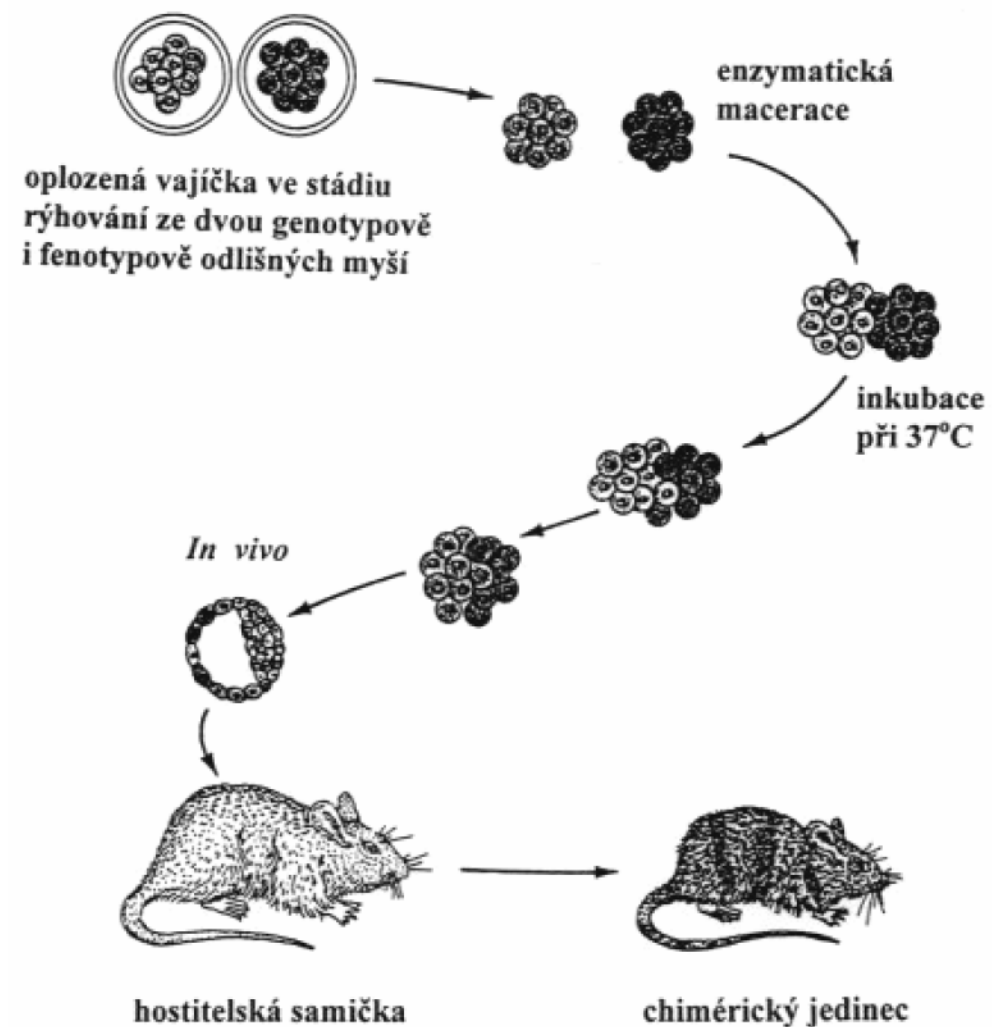
chimérická žába - tkáň donora : tkáň hostitele :
meióza ↓ ↓ ↓
1 - jadérko 0 - jadérko 1 - jadérko

potomstvo:

wild-type

partner → 1- jadérko : 2 - jadérka 1 - jadérko 2 - jadérka
gamety

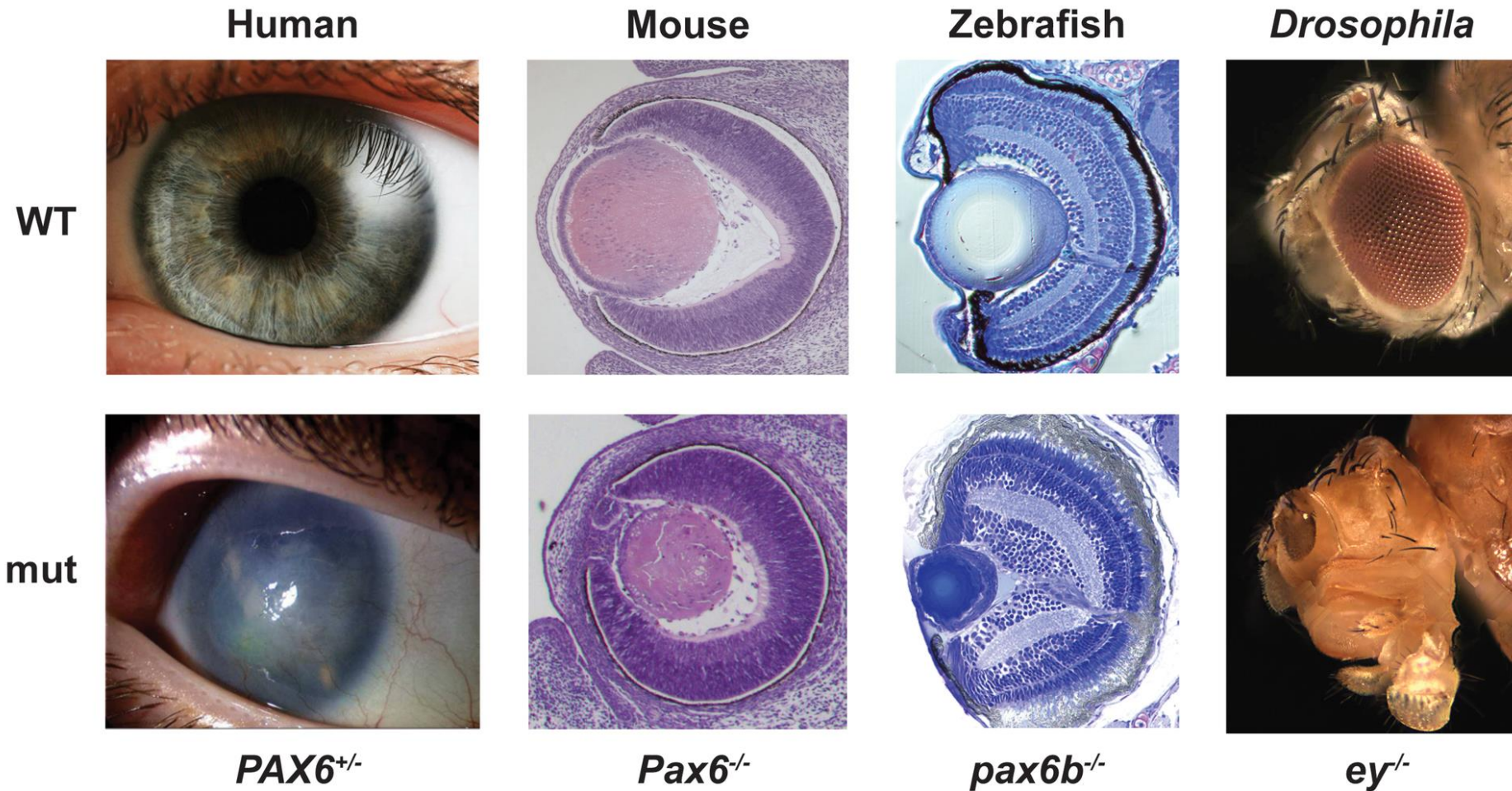
Obr. 49. Konstrukce chimérické myši kombinací blastomer z odlišných jedinců (podle Müllera, 1997). Tento experiment vychází ze schopnosti regulace, tj. schopnosti části blastuly regenerovat po excizi zbývající části, a relativně pozdní diferenciace buněčných linií u savců. Blastocysty dvou odlišných myších linií byly zbaveny zony pellucidy, fúzovány a produkt byl vnesen do dělohy pseudopregnantní samičky. Výsledný jedinec je genetickou mozaikou buněk obou výchozích linií.



Heterotopní evoluce

- Změny pozice (topologie), ve které jsou znaky exprimovány v průběhu vývoje
- Heterotopie může vytvářet nové morfologie odlišné od drah, které vyvářejí formy předků
- Heterotopie je zvýrazněna prostorem, nikoli časem
- Halder et al. (1995) indukovali extra-oči na křídlech, nohách a tykadlech *Drosophila* ektopickou expresí "eyeless" cDNA

PAX6/Eyeless exprese v muších a myších očních základech



EQs

cornea opaque
iris absent
retina degenerate
lens opaque
aqueous humor of eyeball
increased pressure

eye decreased size
lens fused_to cornea
iris morphology
anterior chamber
absent

eye decreased size
lens decreased size
retina malformed

eye absent

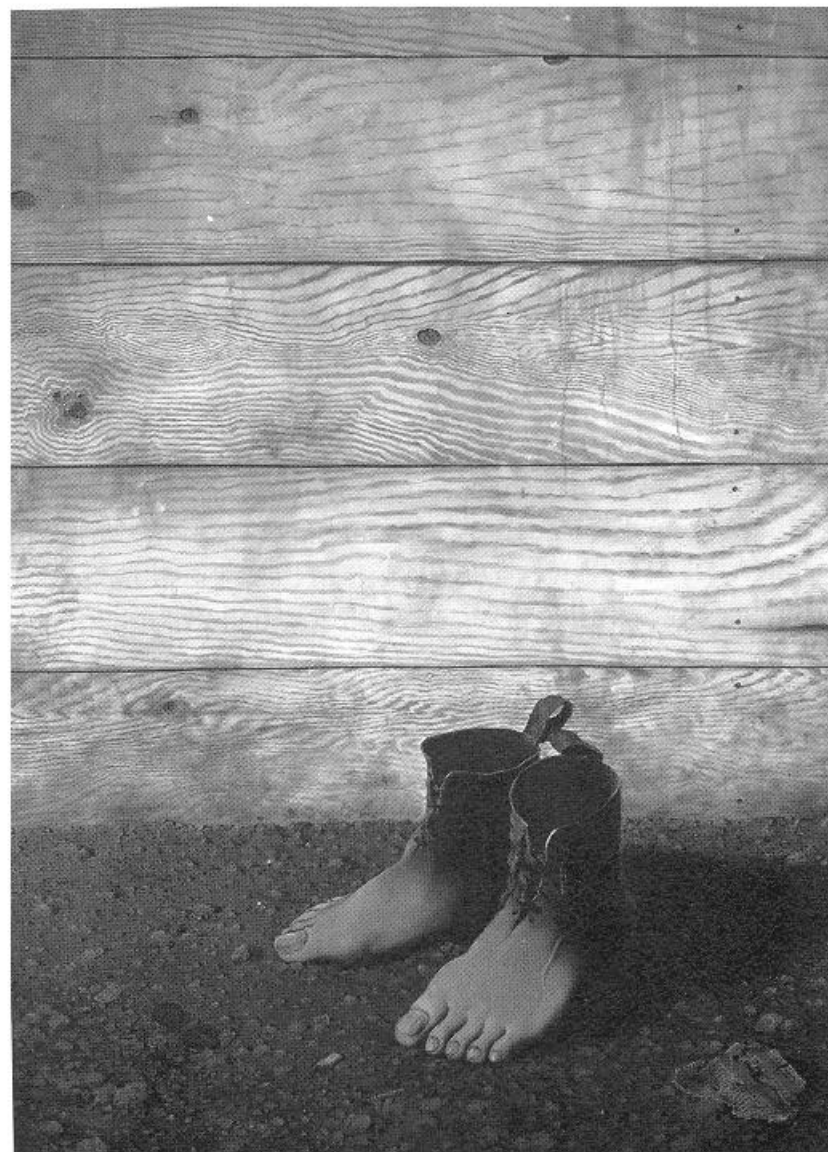


William Bateson

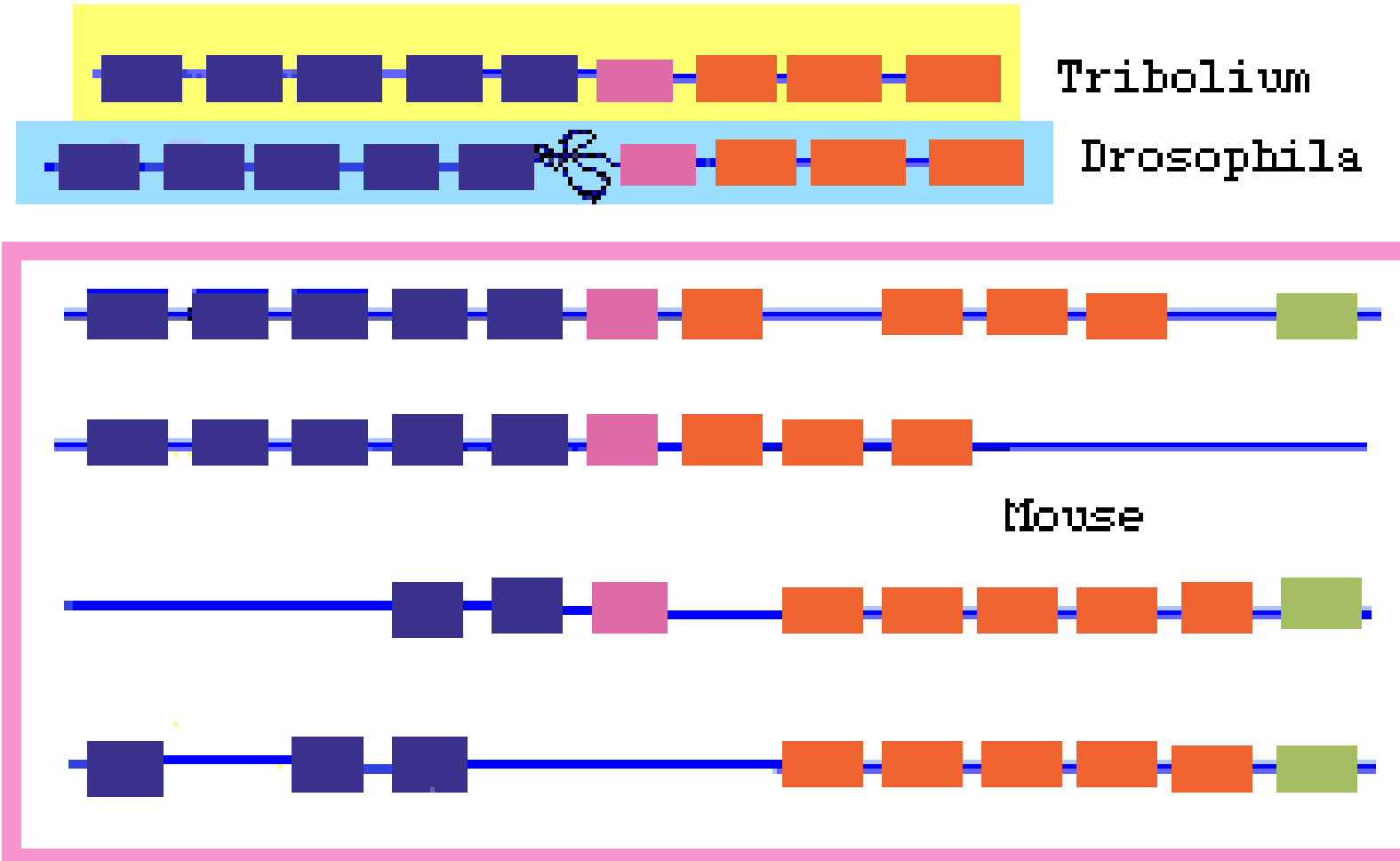
(1861-1926)

Materials for the Study of Variation (1894)

... HOMEÓZA je zvláštním typem variability, kdy jeden člen opakující se série přebírá rysy, které se normálně vyvíjejí u jiného člena série ...

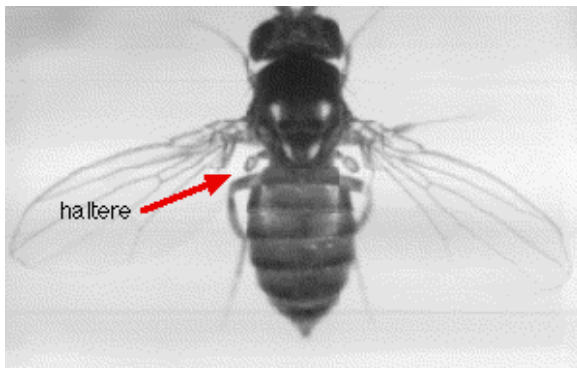


Homeotické geny dávají vznik sériově homologním strukturám



HOMEOICKÉ GENY

jeden z klíčů specifikace a diferenciacce



BITHORAX specifikuje třetí článek hrudi a zadeček: ztráta funkce – místo kyvadélek se tvoří druhý pár křídel (více anteriorní fenotyp)

embryo

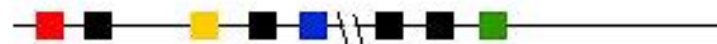
dospělec



Antennapedia komplex (anterior)

Bithorax komplex (posterior)

moucha



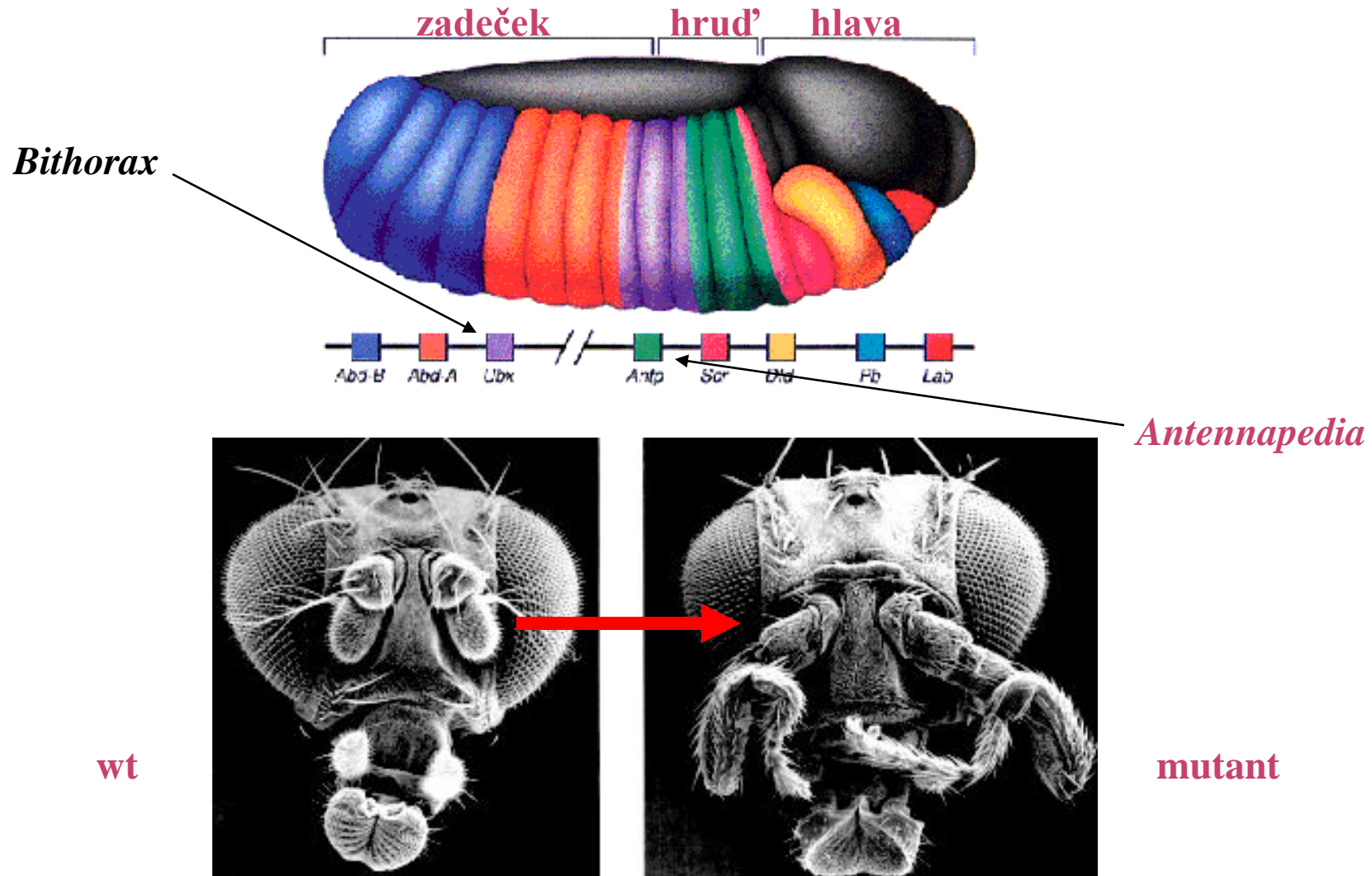
myš



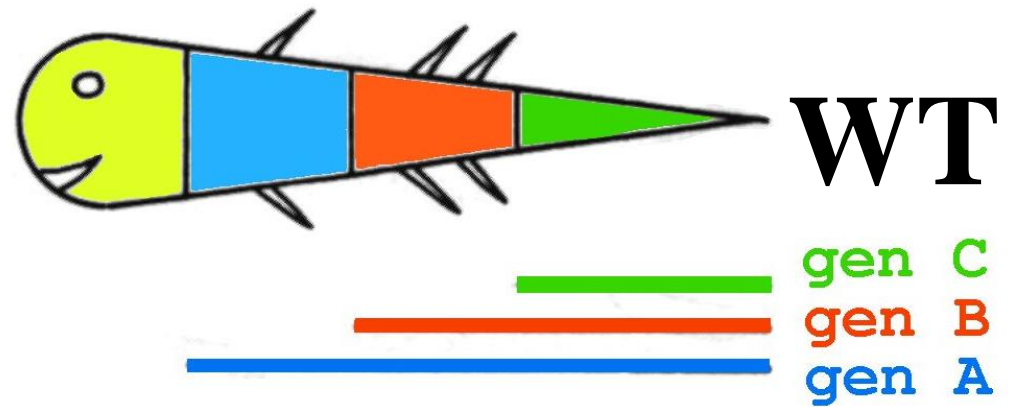
Edward Lewis (1963) : pravidlo spacio-temporální kolinearity

ANTENNAPEDIA specifikuje mesothorax:

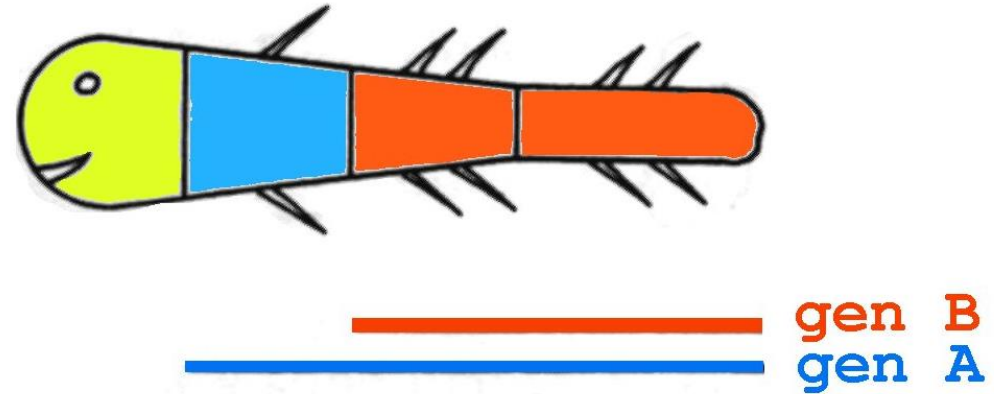
jeho ektopická „dominantní“ exprese vyvolává tvorbu
nohou na hlavě (více posteriorní fenotyp)



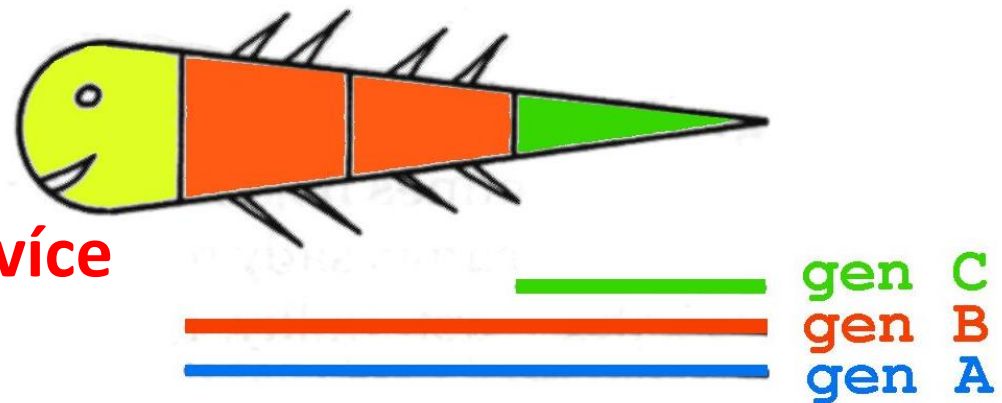
Homeotické geny řídí
anteriorně -
posteriorní
specifikaci těla



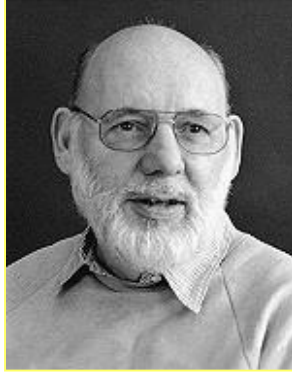
mutace :
ztráta funkce genu C,
„více anteriorní“ fenotyp



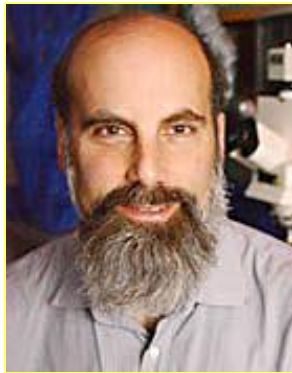
mutace :
ektopická exprese genu B, „více
posteriorní“ fenotyp



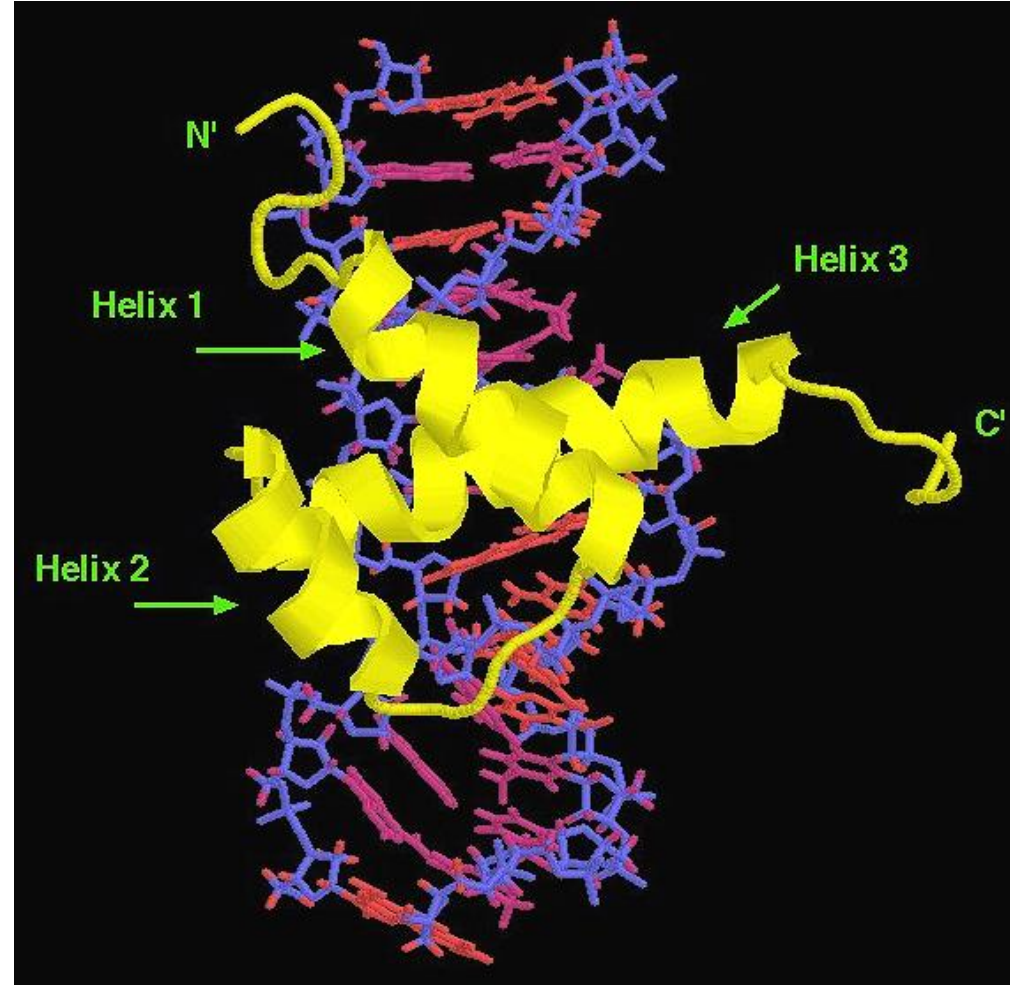
Objev homeoboxu (1982)



**Walter Gehring
(Basel)**



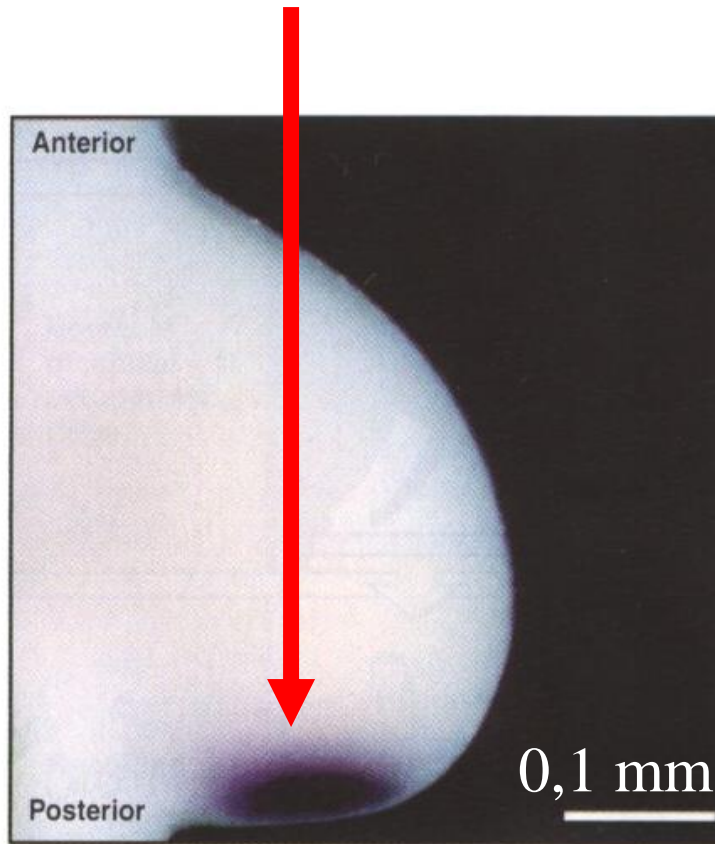
**Matthew Scott
(Stanford)**



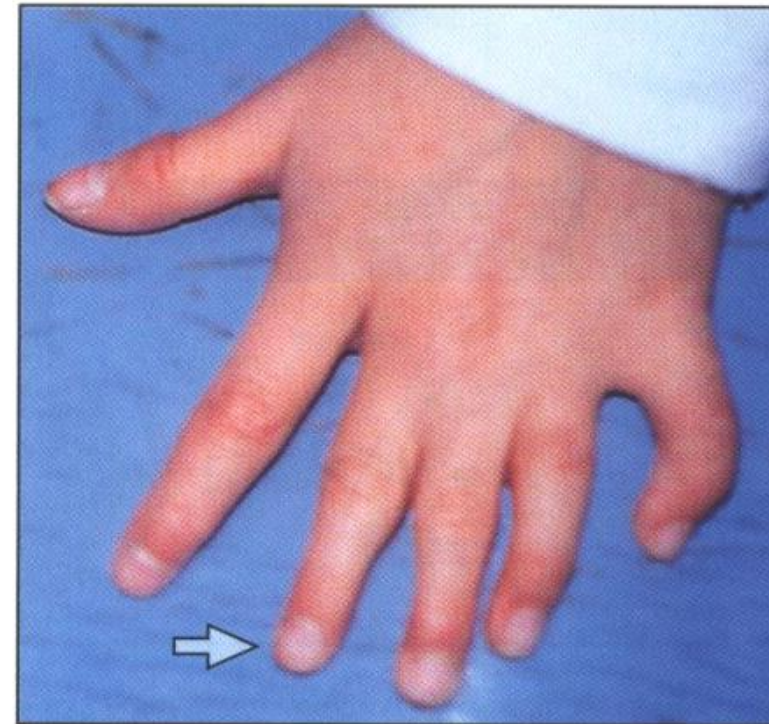
vazba homeodomény Antennapedia na DNA

Polarizační oblast pupene specifikuje končetinu podél antero-posteriorní osy

exprese genu *Sonic hedgehog* na posteriorním konci pupene poskytuje poziční signál podél A-P osy



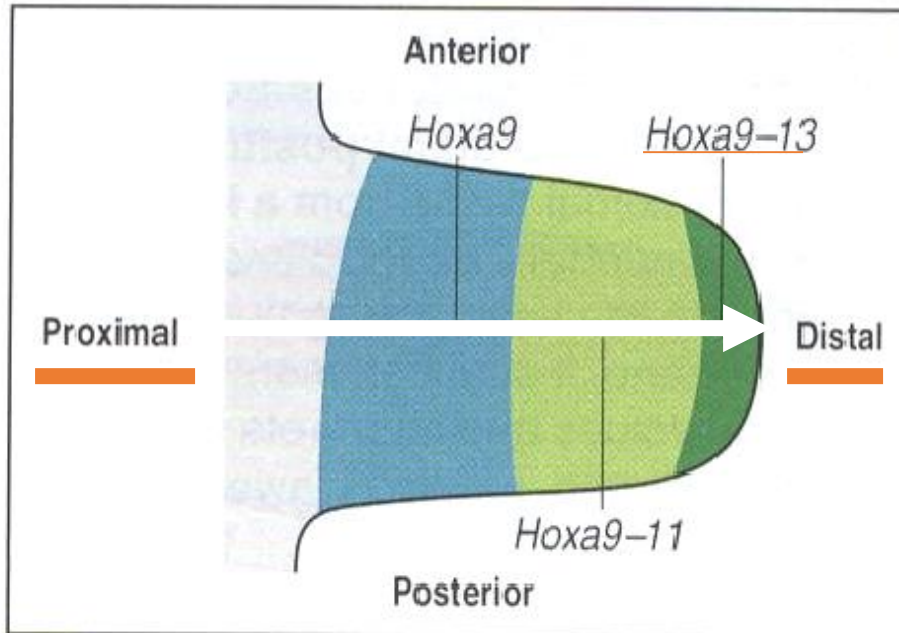
pupen kuřecí končetiny



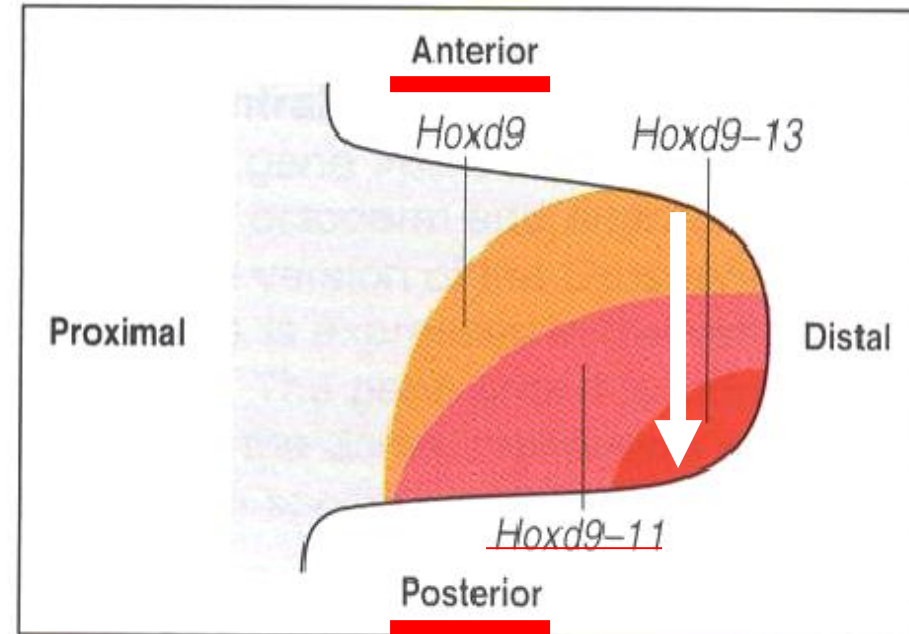
polydaktylie u člověka

Expresse homeotických genů v pupenu křídla kuřete

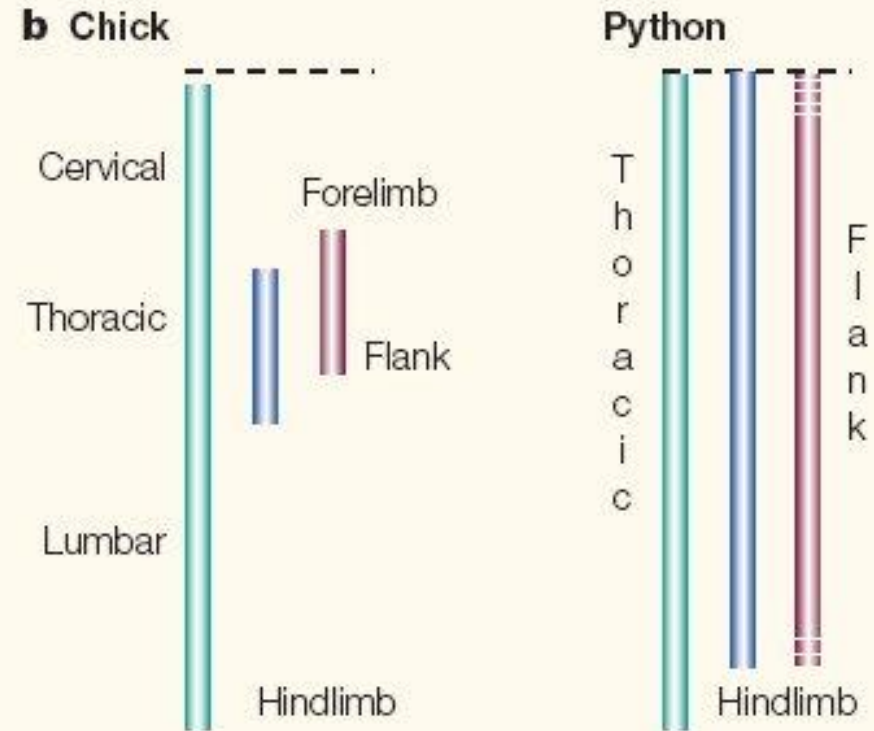
Hox-a geny jsou exprimovány
podél proximo-distální osy :
Hox-a 13 je nejdistanější



Hox-d geny jsou exprimovány
podél antero-posteriorní osy :
Hox-d 13 je nezadnější



HoxB5 *HoxC8* *HoxC6*



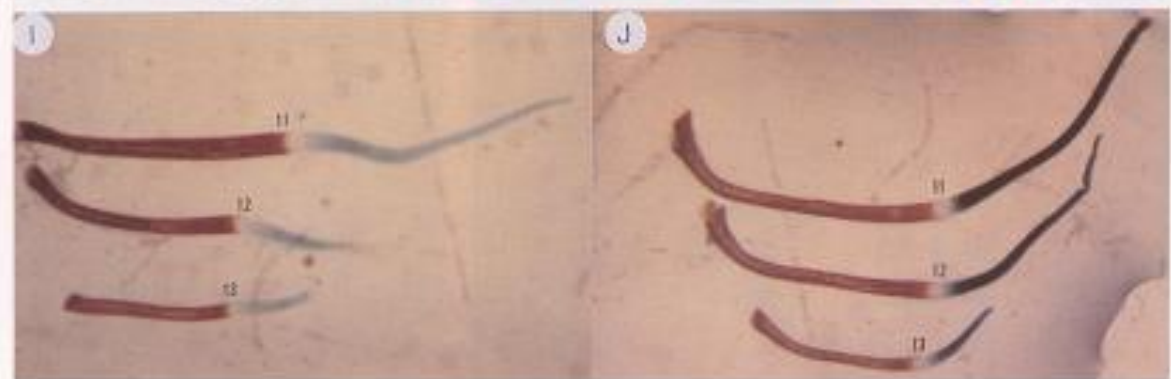
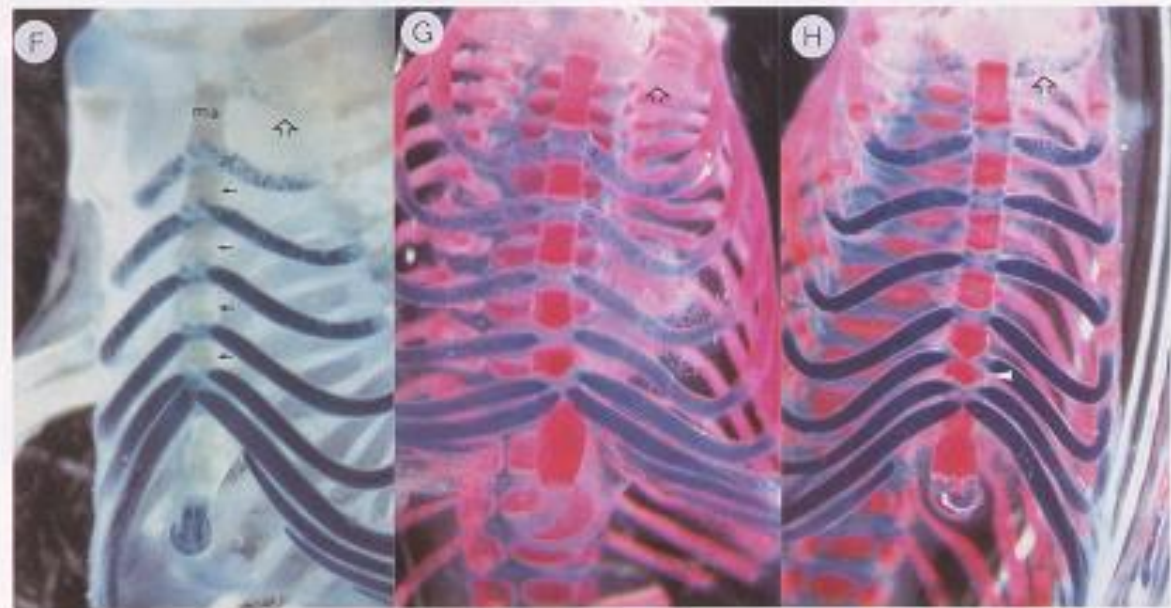
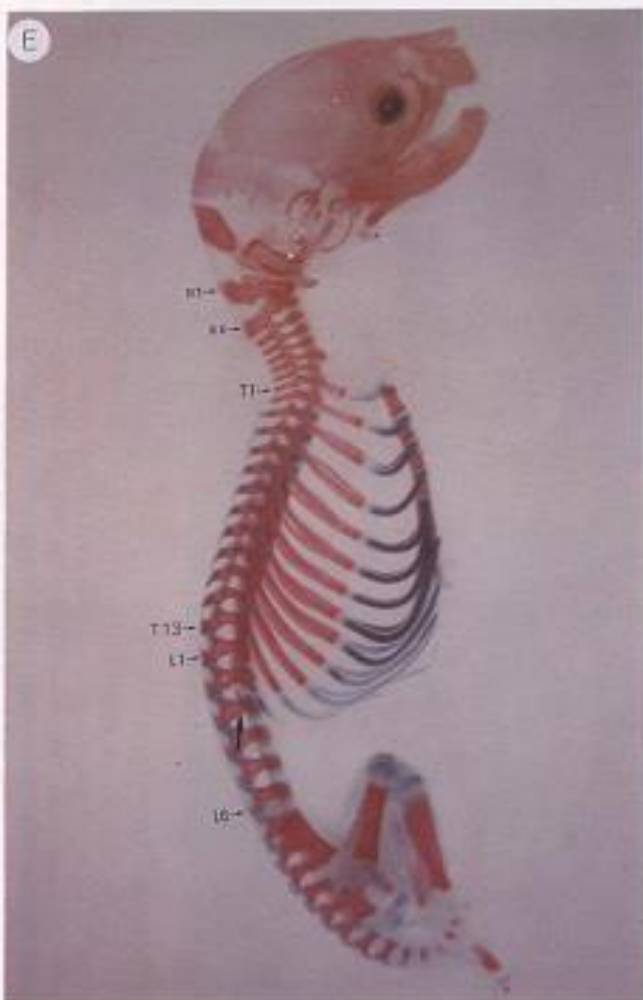
Hox gene expression in the evolution of snakes — a dramatic modification of the vertebrate body axis. **a** | The skeleton of a python embryo stained with Alcian blue (cartilage) and Alizarin red (bone). **b** | Schematic diagram comparing domains of *Hox* gene expression in chick and snake embryos: *HoxB5*, green; *HoxC8*, blue; *HoxC6*, red. *Hox* genes are involved in the regionalization of the lateral plate mesoderm into forelimb, flank and hindlimb, to specify limb position. The expansion of *HoxC8* and *HoxC6* domains in python correlates with the expansion of thoracic identity and can account for the absence of forelimbs

Evolve homeotických (selektorových) genů

- vysoký stupeň podobnosti mezi geny skupin *Antennapedia* a *Bithorax*, duplikace
- všechny obsahují homeobox, 180 bp
- kódují 60-amino-kyselinovou homeodoménu, která se váže k DNA
- příbuzné geny nalezeny i u všech jiných živočichů, člověka i rostlin

Mouellic et al.: Homeosis in the mouse induced by a null mutation in the *Hox-3.1* gene. – Cell 69, 251, 1992

- nahrazení kódující sekvence genu *Hox3.1* signálním genem *lacZ* homologní rekombinací v kultivovaných embryonálních kmenových buňkách
- gen rezistence k neomycinu zajišťuje selekci homologních rekombinantů
- *lacZ* gen je reportérový – detekuje místa exprese *Hox3.1* v heterozygotních myších *Hox3.1* +/- (... hybridizace s mRNA či imunobarvení)
- homozygotní stav *Hox3.1* -/- je semiletální, několik segmentů kostry je transformováno jako více-anteriorní (podobně u drosofilu loss-of-function, mutace Bithorax)
- 8. pár žeber je spojen s hrudní kostí a tvorba 14. páru na bederním obratli





Forelimb Phenotype in *Hox-3.1* Mutant Mice

The mouse on the left has a *Hox-3.1*^{+/-} genotype. The mouse on the right, whose fingers are clenched, has a *Hox-3.1*^{-/-} genotype.

Chicken hindlimb



Duck hindlimb



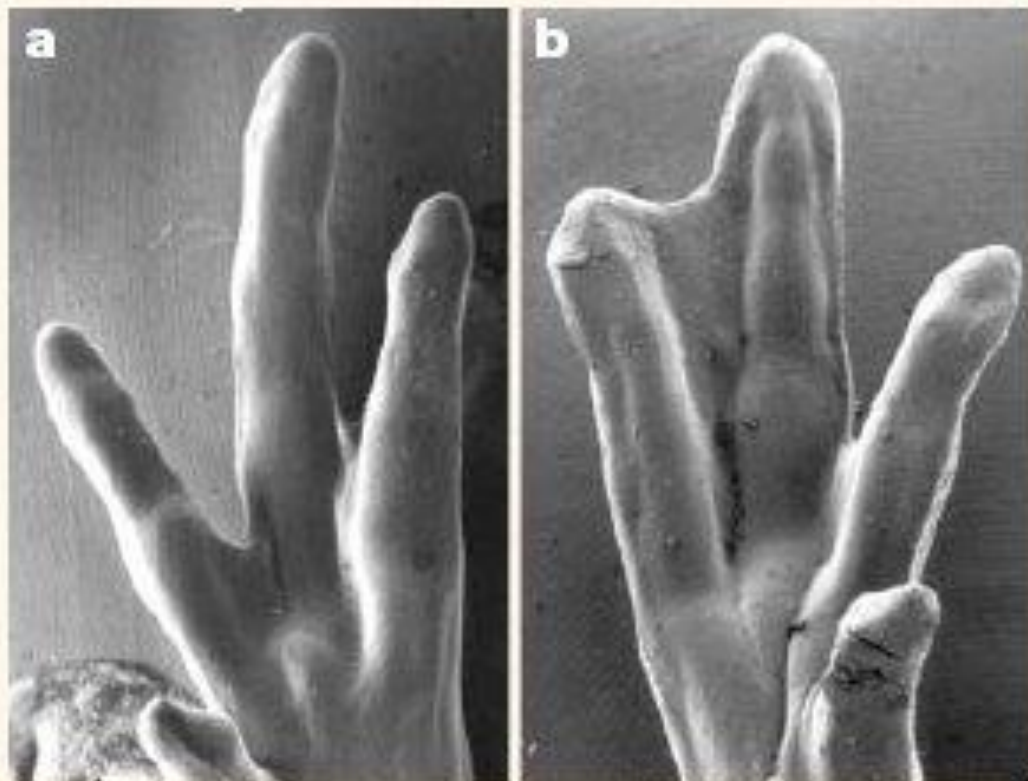
BMP

Gremlin

Apoptosis

Newborn

Regulation of chicken limb apoptosis by BMPs. Autopods of chicken feet (top) and duck feet (bottom) at similar stages. The *in situ* hybridizations show that while bone morphogenetic proteins (BMPs) are expressed in both the chicken and duck hindlimb webbing, the duck hindlimb also shows expression of *gremlin* in the webbing (arrows). Gremlin is an inhibitor of BMPs. The pattern of cell death (shown by neutral red dye accumulation) becomes distinctly different in the two types of webbing.

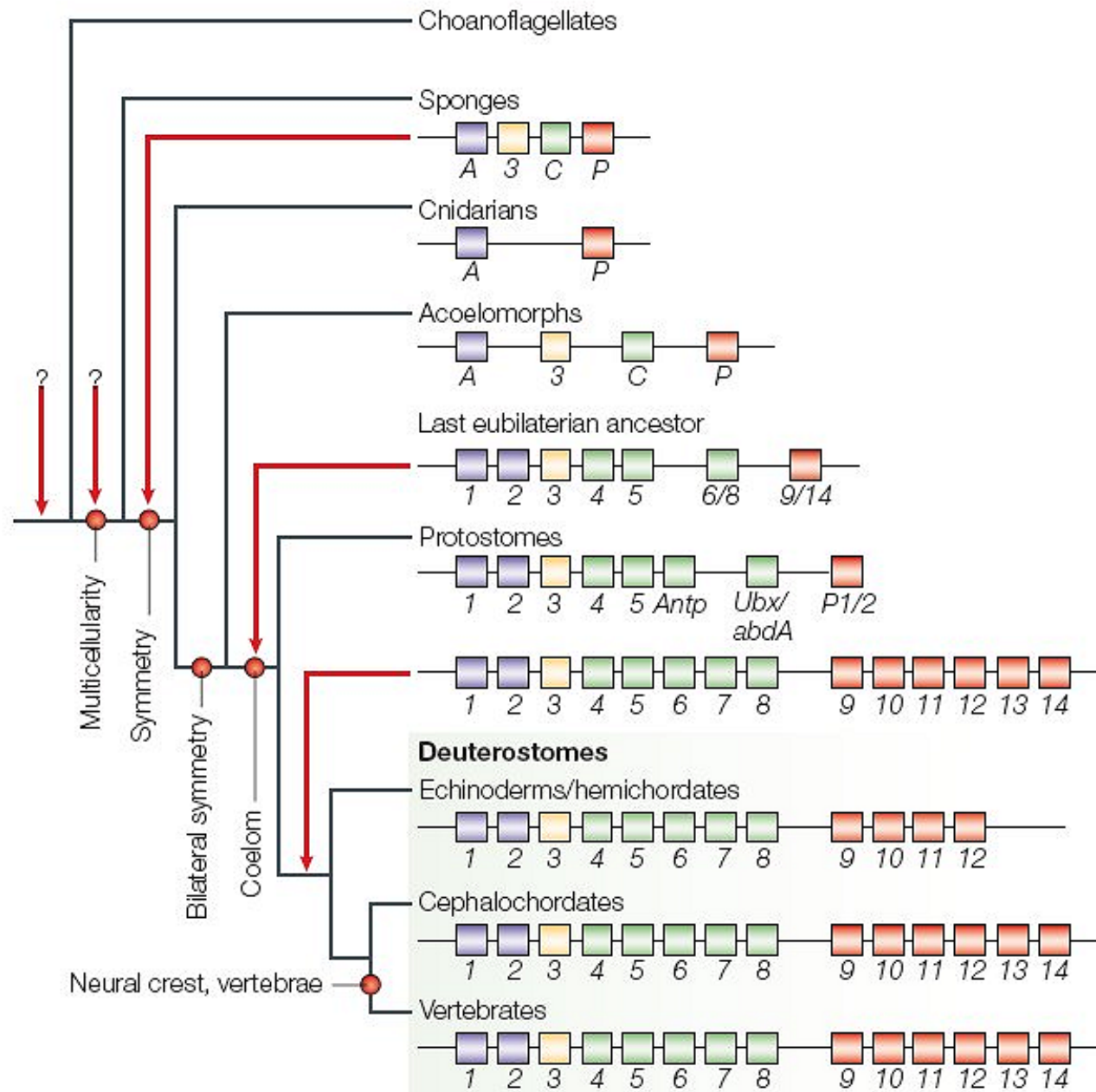


Inhibition of cell death by inhibiting BMP.

a | Control chicken hindlimbs have extensive apoptosis in the space between the digits, leading to the absence of webbing. **b** | When beads soaked with Gremlin protein, an inhibitor of bone morphogenetic protein (BMP), are placed into the interdigital mesoderm, the webbing persists and generates a duck-like foot.

Box 1 | Evolution of the Hox cluster during metazoan evolution

During evolution, large MACRO EVOLUTIONARY EVENTS markedly altered the metazoan body plan and gave rise to the morphological diversity and complexity of current phyla⁷⁸. The cladogram shows the main metazoan groups and the associated body-plan transitions (indicated by red circles). The closest unicellular relatives of metazoans were the choanoflagellates⁶¹; the question marks indicate uncertainty about the Hox gene complement in these evolutionary positions. The first body-plan transition in metazoans was the origin of radial symmetry, which gave rise, in the first instance, to cnidarians. The origin of bilaterality involved the generation of two body axes (anteroposterior and dorsoventral), the endomesoderm, and a nervous system that was



Homeoboxové genové shluky u metazoí

jsou staré asi 1 miliardu let, prostorová/časová kolinearita částečně zachována, poprvé se vyskytují na evolučním přechodu Cnidaria/Bilateria, souvislost se vznikem tří zárodečných listů

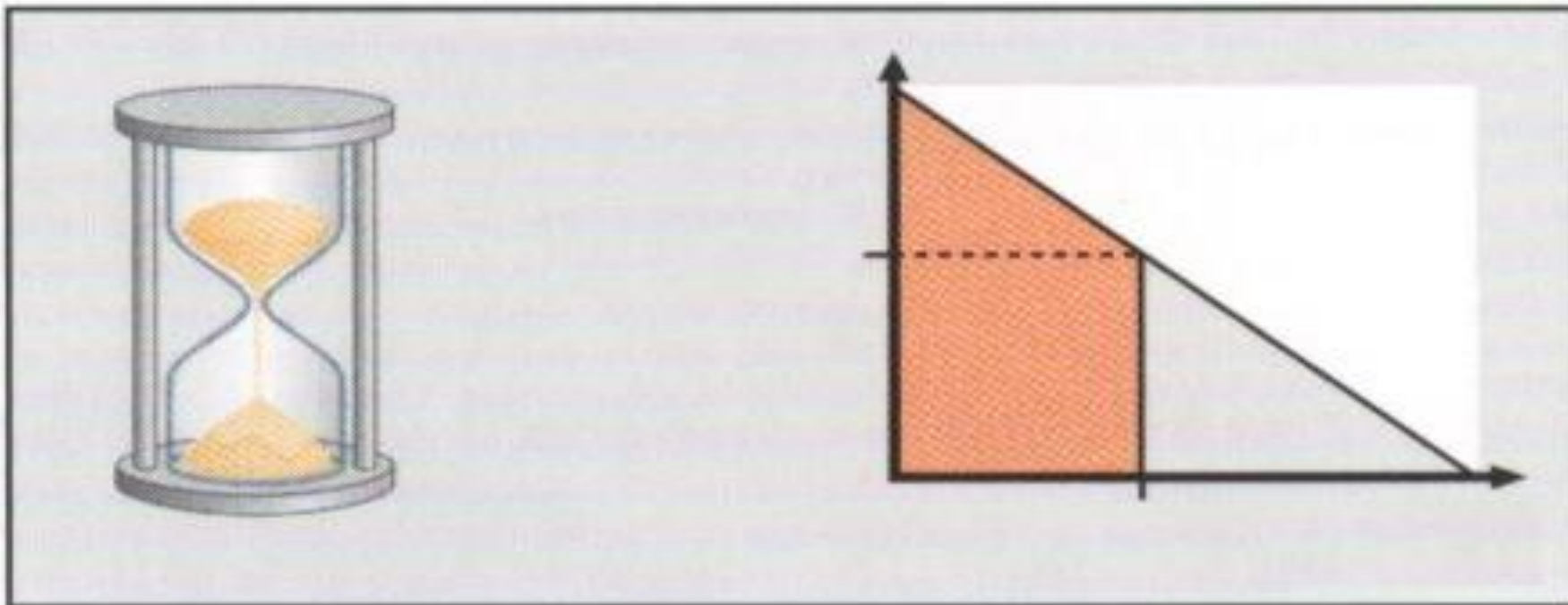
MEGACLUSTER (ancestrální ProtoHox)

se postupně amplifikoval a divergoval ve tři skupiny genů

- (a) **Hox-shluk**: (Lewis 1978; 5+3 geny u drosofily, 39 genů ve 4 shlucích u savců), působí především v **ektodermu**
- (b) **ParaHox-shluk**: Brooke, Garcia, Holland 1998; je pouze u obratlovců, blízký Hox-shluku, řídí vývin **endodermu**
- (c) **NK-shluk**: Kim-Niremberg 1989; 4 geny u drosofily, též u obratlovců, řídí hlavně vývin **mesodermu**

**Časování vývojových procesů,
zapínání a vypínání genů v závislosti
na koncentraci a čase, prahové hodnoty**

HETEROCHRONNÍ GENY



Heterochonie

- Evoluční změny v rychlosti nebo časování vývojových událostí dávají vznik novým adultním fenotypům
- Odlišné rychlosti růstu různých částí těla během vývoje organismu jsou podstatou allometrických vztahů
- Heterochonie tvoří zjevnou asociaci mezi ontogenezou a fylogenezou

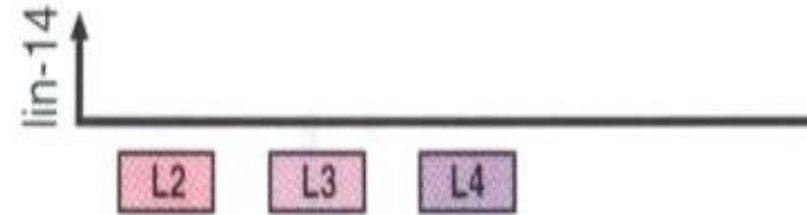
HETEROCHRONNÍ MUTACE

model řízení časového vývoje larvy hlístice C-elegans

specifická stádia larválního vývoje jsou určována hladinou proteinu lin-14

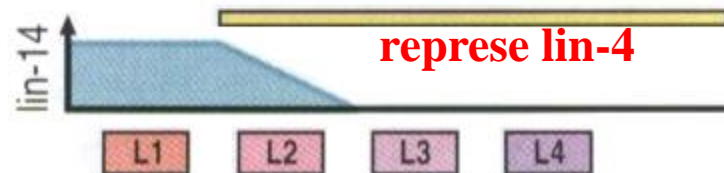


lin-14 mutace, „ztráta“ funkce

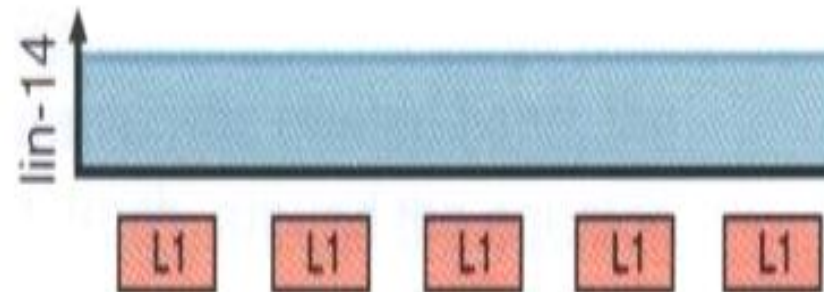


časový gradient lin-14 je výsledkem transkripční represe lin-14 proteinem lin-4, začínající při časném vývoji larvy

standardní typ



lin-14 mutace, „získání“ funkce, nebo „ztráta“ lin-4 funkce



Heterochronní evoluce

- **Pedomorfie**: je způsobena redukcí rychlosti vývoje znaku, což vede k juvenilním charakteristikám adultního potomstva jedince (vývin nastává časně = progeneze, nebo relativní redukce rychlosti nástupu jednoho znaku relativně k jinému = neotenie)
- **Peramorfie**: je způsobena zvýšením rychlosti vývoje znaku vedoucího ke zvýrazněnému znaku adultního potomstva (prodloužení růstové fáze = hypermorfóza)

Heterochronní evoluce

- Pedomorfie: neotenie u axolotla (*Ambystoma mexicanum*), kde juvenilní žábry jsou zachovány až do dospělosti



- Peramorfie: vzrůst velikosti paroží (hypermorfóza) u irského losa (*Megaloceros giganteus*)

PROGERIE (progeneze) předčasné stárnutí u člověka

Obvykle single-genové mutace jsou odpovědné za senescentní fenotypy, které imitují normativní stárnutí

- impakt na určitý (jediný) orgán či tkáň (unimodální progeroidní syndromy), př. Alzheimer**
- impakt na mnohé orgány a tkáně (segmentační progeroidní syndromy), př. Hutchinson-Gilford, Werner**



NIH SeniorHealth

● [Main Menu](#)

● [Site Index](#)

- [Alzheimer's Disease Defined](#)
- [Causes and Risk Factors](#)
- [Symptoms and Diagnosis](#)
- [Treatments and Research](#)
- [Frequently Asked Questions](#)
- [MedlinePlus for More Information](#)
- [Printer-friendly version](#)



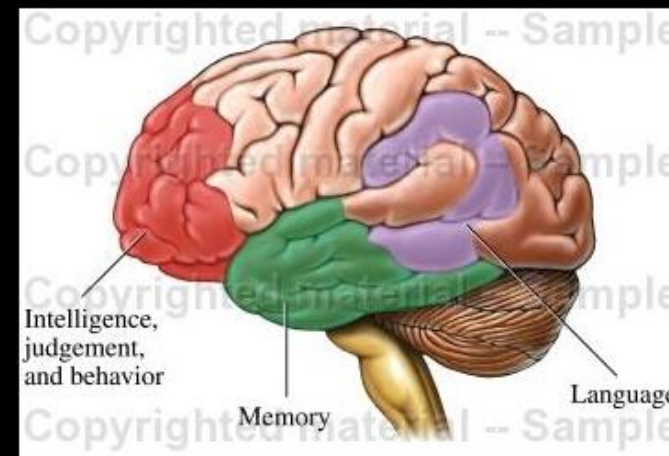
Dr. Alois Alzheimer
(1864-1915, Mnichov)

Alzheimer's Disease

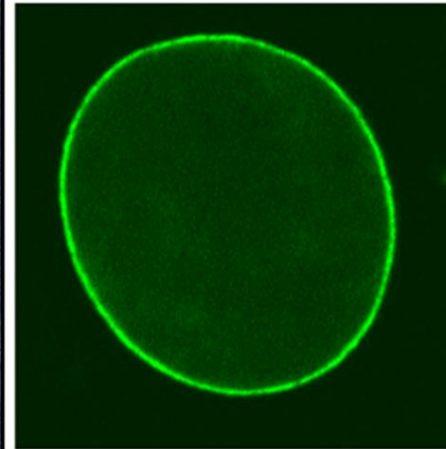
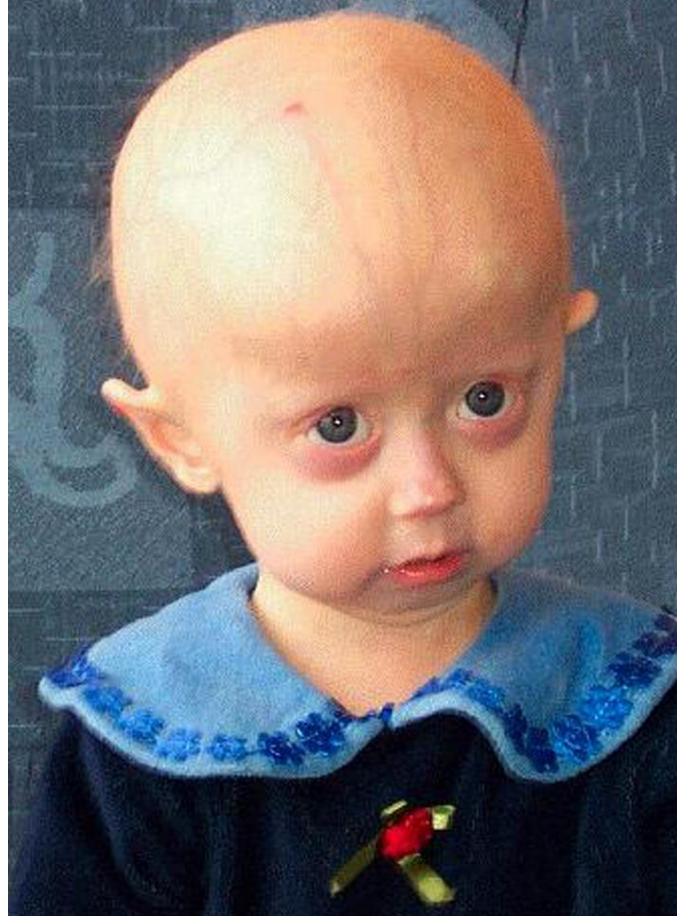
Alzheimer's Disease Defined

Dementia is a brain disorder that seriously affects a person's ability to carry out daily activities. Alzheimer's disease is the most common form of dementia among older people. It involves the parts of the brain that control thought, memory, and language. Every day scientists learn more, but right now the causes of Alzheimer's disease are still unknown, and there is no cure.

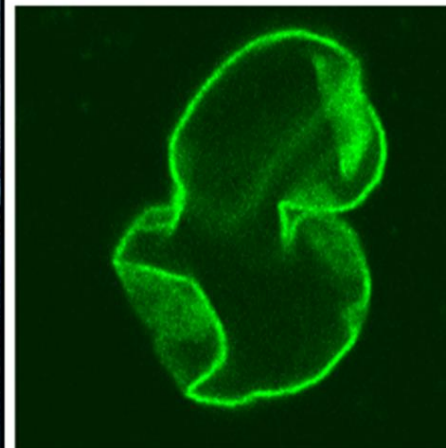
◀ Areas of the Brain Affected by Alzheimer's Disease



[Enlarge](#) [Share](#)



wt



HGPS

Hutchinson-Gilfordův progeria-syndrom

je onemocnění dětí způsobené mutací proteinu významného pro architekturu jádra: aberantní morfologie.

Filamenty u periferie jádra odpovídají za udržování struktury a stability jádra, ochrana před mechanickým stresem. Lamina též udržují genomové domény, regulační funkce v expresi.

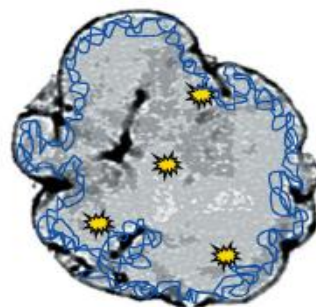
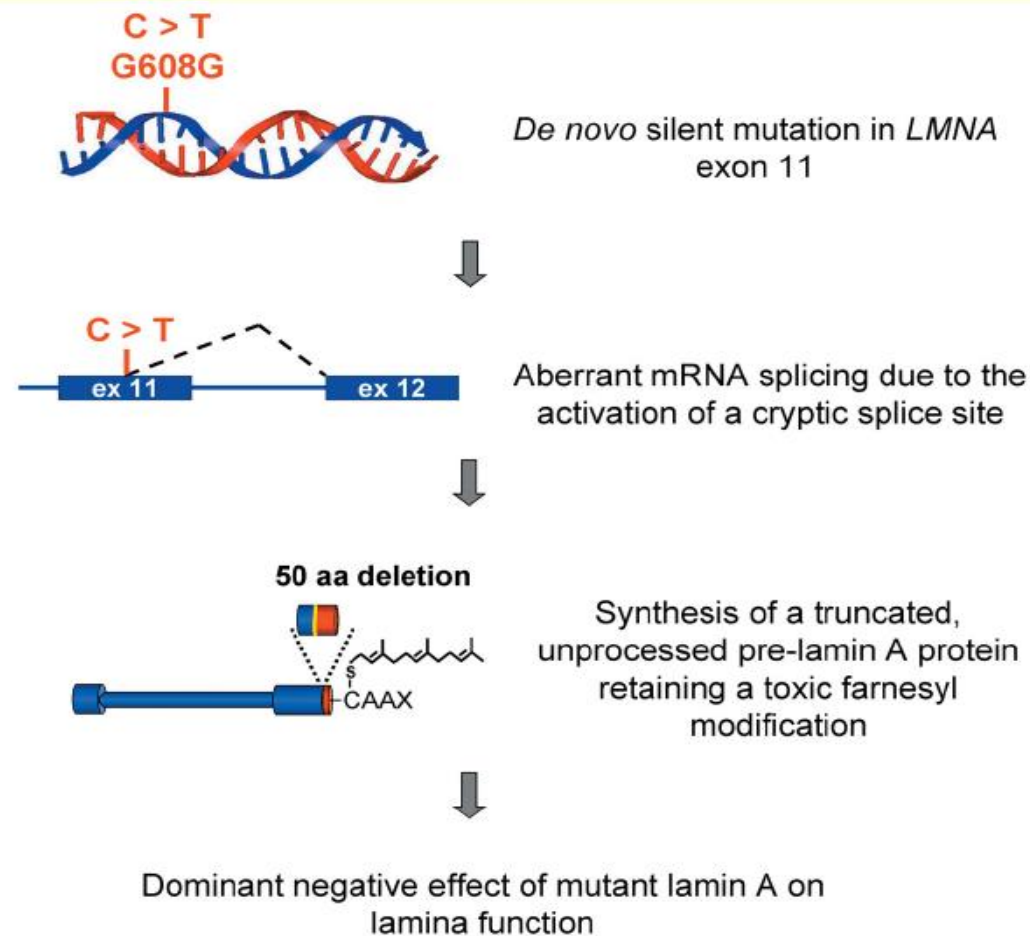
Spontánní bodová mutace
v kodonu 608 genu kódu-
jícího protein lamin A

Silentní aa-mutace aktivuje
kryptické místo sestřihu RNA

Mutantní protein progerin
postrádá 50aa na C-konci

Mění se jeho post-translační
modifikace

Progerie u člověka i myši,
scvrklá jádra,
defektní reparace DNA,
genomová nestabilita



- Nuclear morphological abnormalities
- Disorganization of heterochromatin
- Defective repair of DNA damage and increased genomic instability

Wernerův syndrom – autosomální recesivní choroba, ztráta funkce DNA helikázy, onset v dospělém věku.

Helikáza hraje úlohu v DNA replikaci a rekombinaci, replikační vidlička.

Pacienti trpí defektní replikací DNA, problémy s reparací, restrukturalizace chromatinu.

Senescence – permanentní zástava buněčného dělení, dysfunkce telomer.

Kuriozní antagonismus mezi stárnutím a rakovinou: buněčná senescence – zástava dělení – je obranným mechanismem k účinnému zastavení proliferace nádorových buněk.



Figure 1. Photographs of a Female Patient with the Werner Syndrome, the Prototypic Segmental Progeroid Syndrome

The patient had multiple cardinal signs of the classical form of the disease, including bilateral cataracts, characteristic dermatological pathology, short stature, premature graying and thinning of scalp hair, and parental consanguinity (she was the product of a second cousin marriage). She also had type 2 diabetes mellitus, hypogonadism (with menopause at age 35 years), osteoporosis, flat feet, and a characteristic high-pitched, squeaky voice. Cytogenetic studies revealed minor mosaicisms for autosomal translocations, deletions, and aneuploidy involving the X chromosome, initially raising the question of a mosaic Turner syndrome (Jaramillo et al., 1985), but consistent with the more general cytogenetic instability and cell selection reported in such patients (Salk et al., 1981a, 1981b). The patient died at the age of 61 of unreported causes. The International Registry of Werner Syndrome (<http://www.pathology.washington.edu/research/werner/registry/frame2.html>) determined that this patient was homozygous for a previously described large genomic deletion involving exons 19–23 of the *WRN* gene. (A) Age ~13 (growth had ceased at age 12); (B) Age 21; (C) Age 56. Photographs are courtesy of the patient's spouse, with informed consent of the patient.