

Szaggatott dupla vonal: vizsga minimum szintje

Az ontogenezist szabályozó mechanizmusok II.

Signal Transduction as envisioned by *Audre Geras*.

H.-Minkó Krisztina

Semmelweis Egyetem, Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Fejlődésbiológia kurzus

2019. 10. 02

Sejt, szövet, vagy szerv
specifikus transzkripciós
faktorok



Génexpressziós változások

Fejlődést irányító molekulák

Sejten belüli jelátviteli
molekulák

Sejt, szövet, vagy szerv
specifikus transzkripciós
faktorok

Génexpressziós változások

Fejlődést irányító molekulák

Intercelluláris jelátviteli
molekulák

Ligandumok
(növekedési faktorok)

Receptorok

Szignál transzdukció
(jelátviteli folyamatok)



A jelátviteli folyamatok jelentősége

Sokféle molekula szabályozott együttműködésére van szükség ahhoz, hogy egy olyan bonyolult struktúra, mint egy szerv kialakulhasson az egyedfejlődés során. Egy adott szervben a szövetek elrendeződése, koordinált térbeli elhelyezkedése nagyon fontos a funkció betöltése szempontjából.

A fejlődés során az egyes szövetek megfelelő sorrendben alakulnak ki minden szervünkben, és a már elköteleződött sejtcsoportok hatással vannak az őket körülvevő többi sejt sorsára.

Ha a fejlődés során hiba csúszik ebbe a folyamatba, akkor fejlődési rendellenességek alakulhatnak ki.

A szervet alkotó szövetekben elhelyezkedő sejtek sorsának meghatározásában általában fontos szerepet játszik egy már előzőleg kialakult másik sejtcsoport által termelt szignálmolekula jelenléte, vagy hiánya. Ezt a folyamatot embrionális indukciónak nevezzük.

Indukció és kompetencia 1.

indukáló sejtcsoport
inducer

szignál

indukált sejtcsoport
responder

Alakváltozás

Mitotikus ráta változása
Sejtek sorsának változása

*A neurális indukció
esetében:*

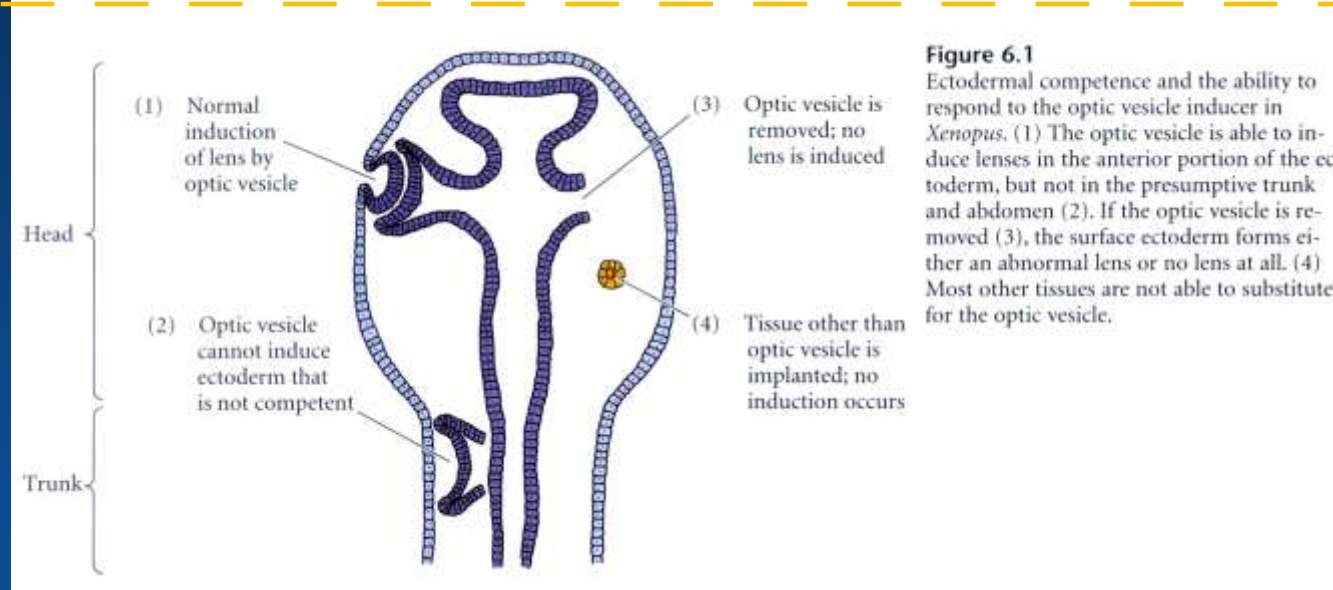
chorda dorsalis

ektoderma

neuroektoderma

Indukció és kompetencia 2.

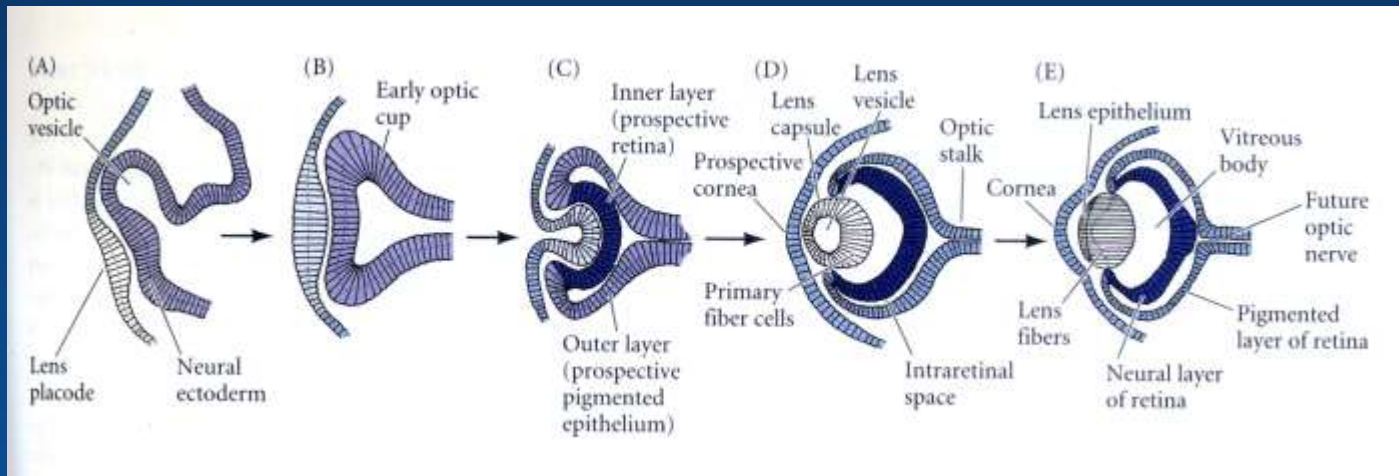
A kompetencia egy adott sejtcsoport válaszadási képessége egy bizonyos induktív szignálra.



A **szemhólyag** által indukált szemlencse indukciója során csak a Pax6-ot (*Drosophila pair-rule* gén rokona, paired doménnel) (kompetencia faktor) expresszáló ektoderma képes szemlencsét létrehozni.

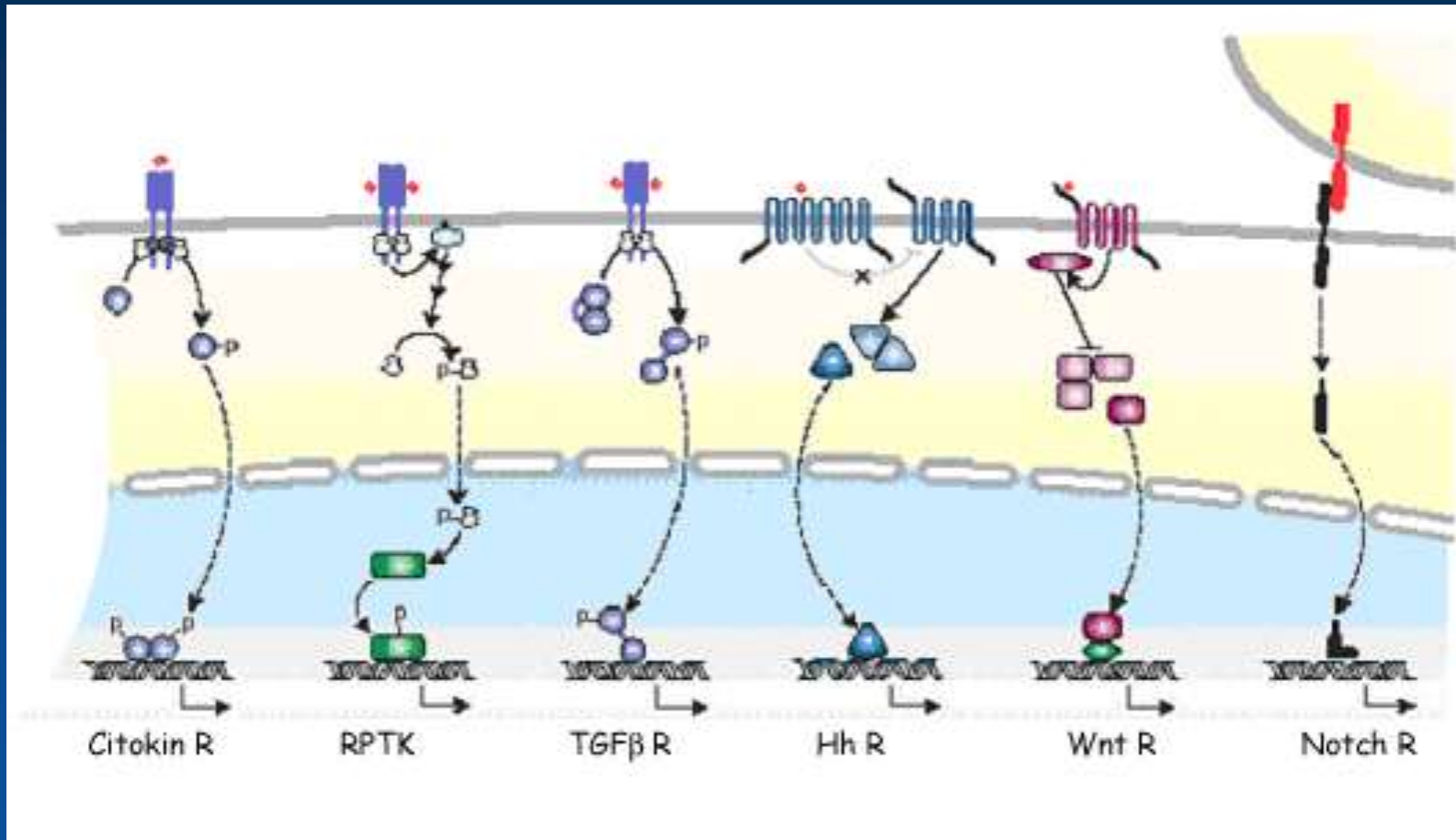
Indukció és kompetencia 3.

Reciprok indukciónak nevezzük azt a jelenséget, amelynek során az indukált szövet később visszahat az induktorra.



A lencse indukciója után a kialakult szemlencse visszahat a szemhólyagra és abban indukálja a retina kialakulását.

A fejlődésben szerepet játszó fontosabb szignálútvonalak



A hét útvonal mindegyike különbözik mind az összetettségében, mind pedig a szignálútvonal biológiai mechanizmusában.

Bármelyik folyamatban azonban a jelátvitel elsődleges eredménye a speciális célgének transzkripciójának megváltozása a jel által szabályozott transzkripciós faktor által.

Ugyanaz a jelátviteli molekula több embrionális szabályozási folyamatban is előfordulhat.

Ligand-receptor–jelátviteli (szignáltranszdukciós) útvonal.

TGF β /BMP jelátviteli útvonal

TGF β -szerű ligandumok családja

Sok folyamatban hat az embrionális és posztnatális fejlődés során is. TGF- β 1-et vírussal transzformált sejtekből izolálták először, innen származik a neve.

Hasonló szerkezetű molekulák:

Activin	(mezodermális indukció)
Inhibin	(gonadotropin szekréció gátlása a hipofízisben)
Decapentaplegic	(pl. Drosophila végtagfejlődés)
Vg1	(mezoderma indukció kétéltűben)
BMP molekulák	(velőcső indukció)
Nodal	mezoderma és primitív csík kialakulásakor, jobb-bal aszimmetria)
Lefty	(jobb-bal aszimmetria)

TGF β aktív forma kialakulása

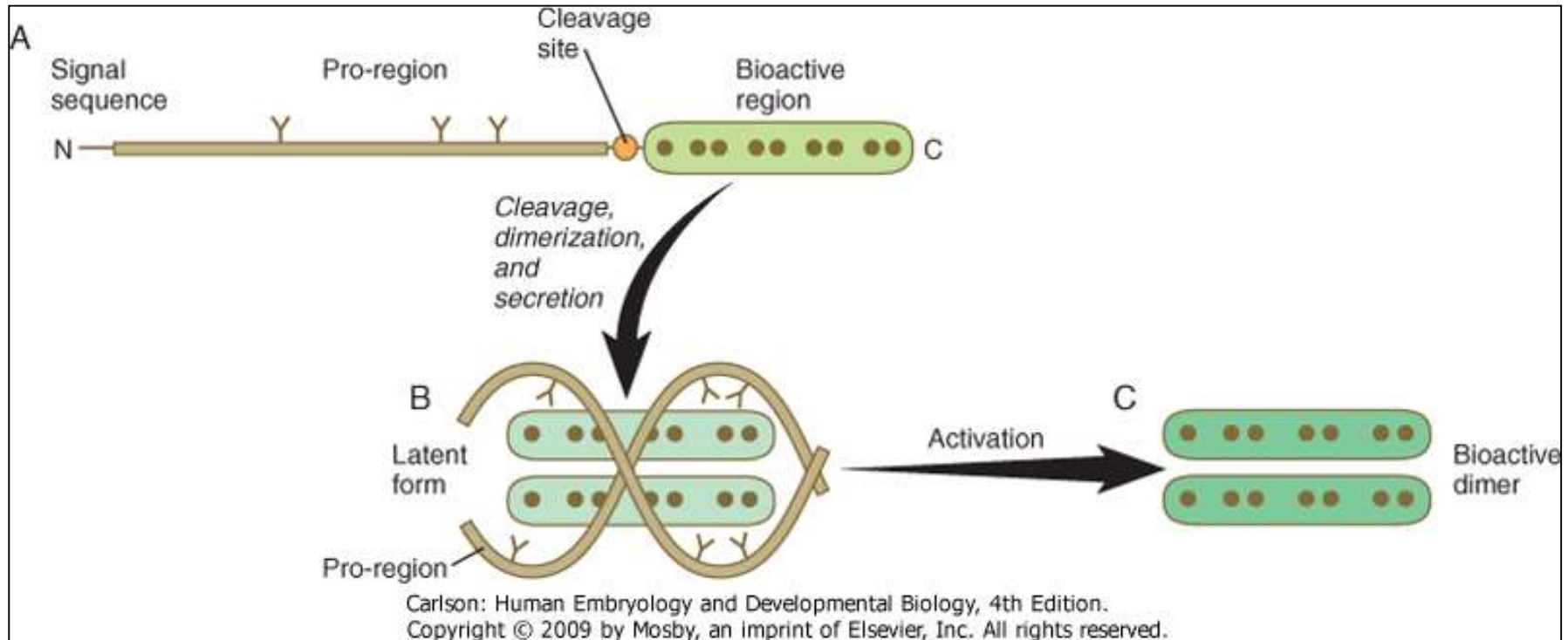


Figure 4-11 Steps in the activation of the growth factor, TGF- β 1. A, The newly synthesized peptide consists of a C-terminal bioactive region, to which is attached a long glycosylated proregion and an N-terminal signal sequence. B, The proregion is cleaved off from the bioactive region, and two secreted bioactive regions form a dimer that is maintained in a latent form by being complexed with the separated proregions. C, Through an activation step, the bioactive dimer is released from the proregions and can function as a signaling molecule.

TGF β -szerű ligandumok családja: BMP molekulák

A BMP-t csontfejlődésben aktív molekulaként írták le (bone morphogenetic protein), de az embrionális fejlődésben sokszor előkerül a neve, mert sok folyamat során játszik fontos szerepet azáltal, hogy gátol bizonyos folyamatokat. 15 tagú molekulacsalád (2009).

Bonyolultabbá teszi a szabályozást az is, hogy számos esetben a szabályozás a gátlás gátlásával valósul meg, vagyis az indukciós hatás úgy érvényesül, hogy a BMP-t gátló molekulák (pl. chordin, noggin, follistatin, cerberus, germlin stb.) jelennek meg bizonyos szöveti környezetben.

A TGF- β szerű ligandumok általában a növekedés
negatív szabályozói!

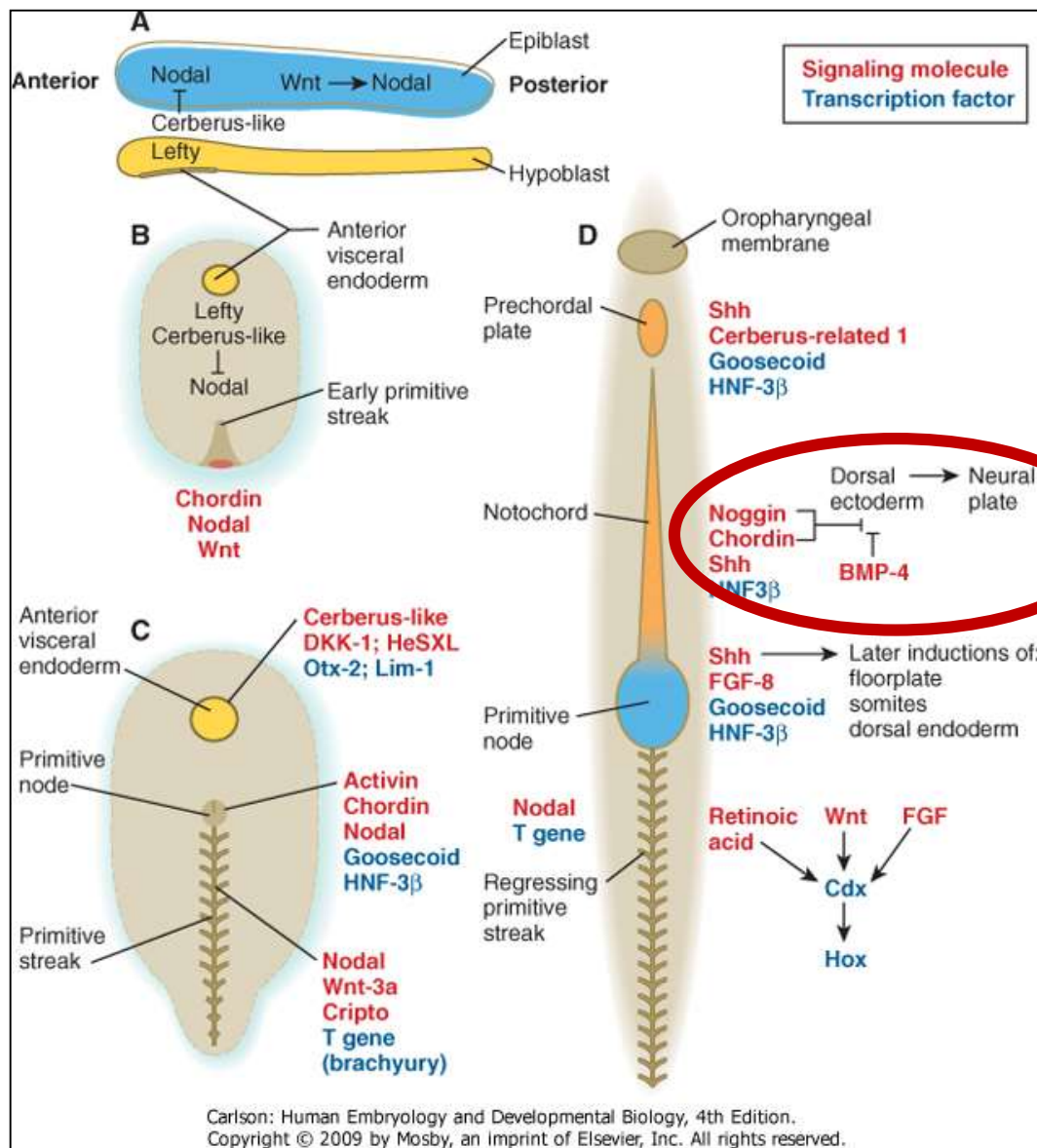
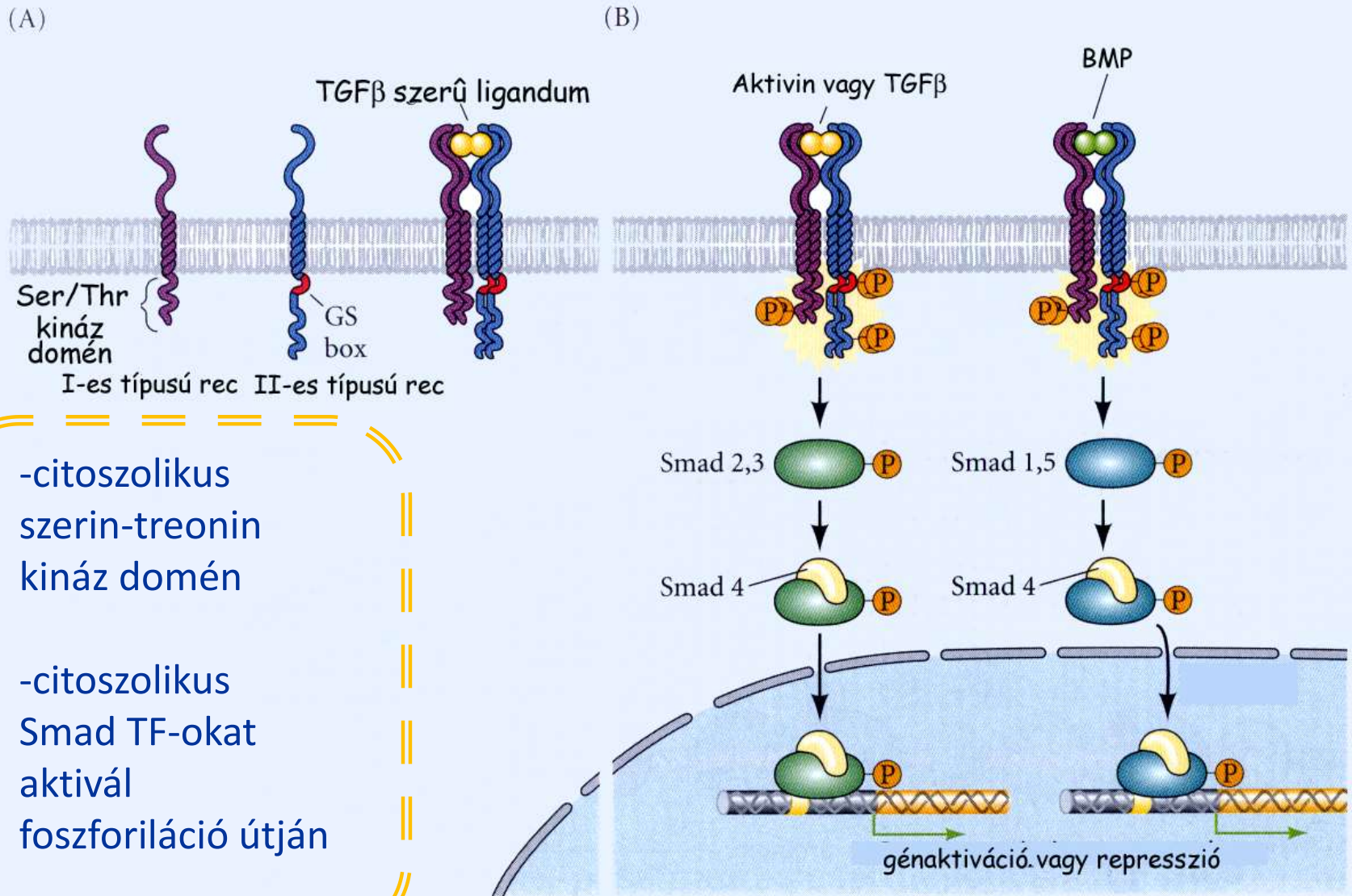


Figure 5-7 Summary of major genes involved in various stages of early embryonic development. A, Preprimitive streak (sagittal section). B, Early formation of the primitive streak. C, Gastrulation (period of germ layer formation). D, Late gastrulation and neural induction. The molecules in red are signaling molecules, and the molecules in blue are transcription factors. Names of specific molecules (bold) are placed by the structures in which they are expressed.

TGF β /BMP jelátviteli útvonal



-citoszolikus
szerin-treonin
kináz domén

-citoszolikus
Smad TF-okat
aktivál
foszforiláció útján

FGF jelátviteli útvonal

FGF családba tartozó ligandumok

FGF: 1974-ben írták le először, mint a fibroblaszt sejtek növekedésének stimuláló faktorát, azóta 22 tagú a család, különböző funkciókkal (pl. kapilláris növekedés).

FGF **heparán szulfáthoz kötődik** az extracelluláris térben, úgy aktiválja receptorait

Reguláció:

Extracelluláris szinten, heparán szulfát kötés szintjén

Receptor szinten (transzmembrán proteinek által)

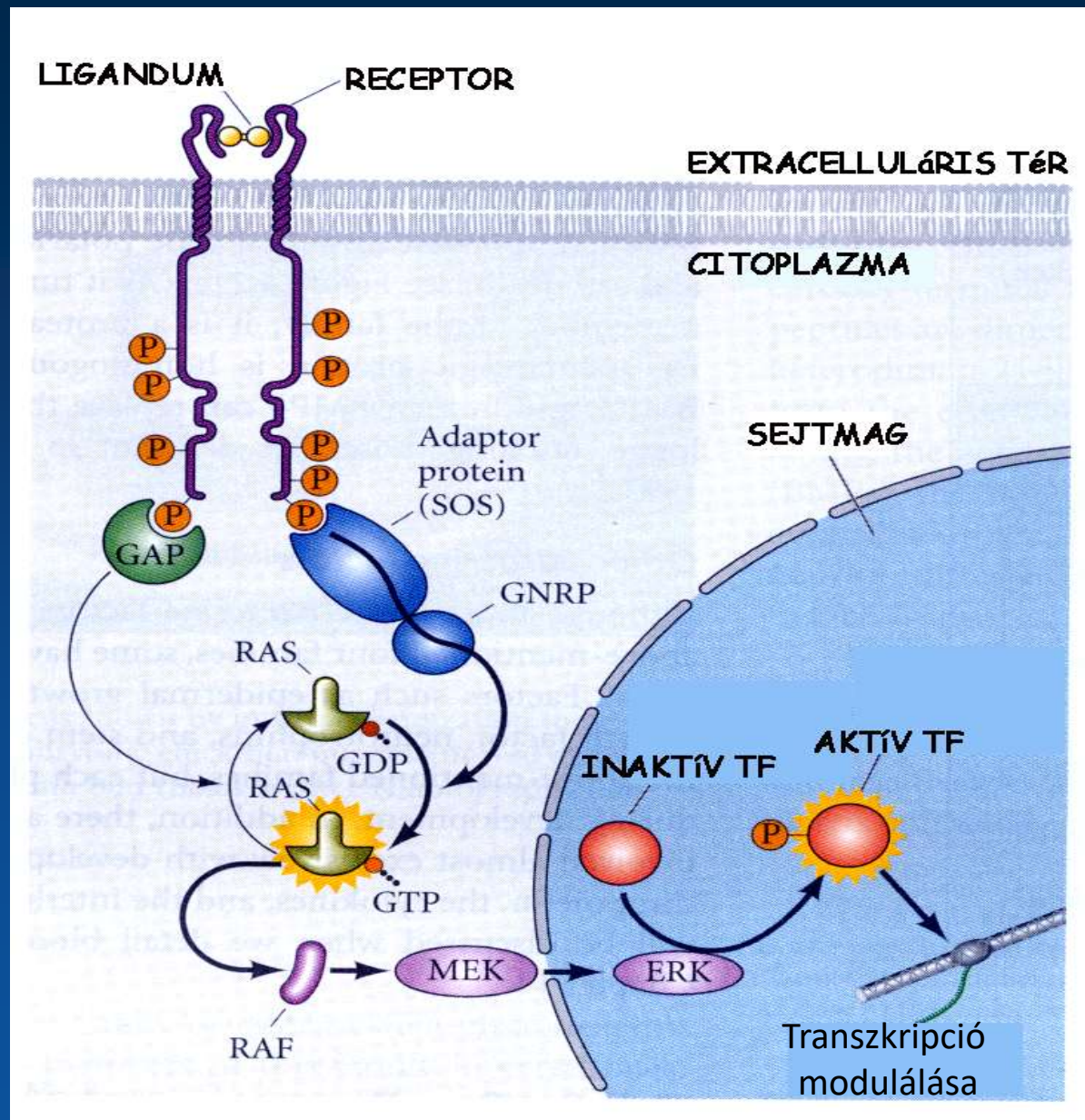
Intracelluláris szinten (sprouty)

Az FGF-ek általában a növekedés pozitív regulátorai

RTK: receptor tirozin kináz jelátviteli útvonal

-citoszolikus tirozin-kináz domén, G-proteines jelátvitel

-citoszolikus kinázokat (pl. MAP-kinázok) aktivál, amelyek a magban TF-okat aktiválnak foszforiláció útján



VEGF ligands and their interaction with membrane-bound and soluble (secreted) VEGF receptors

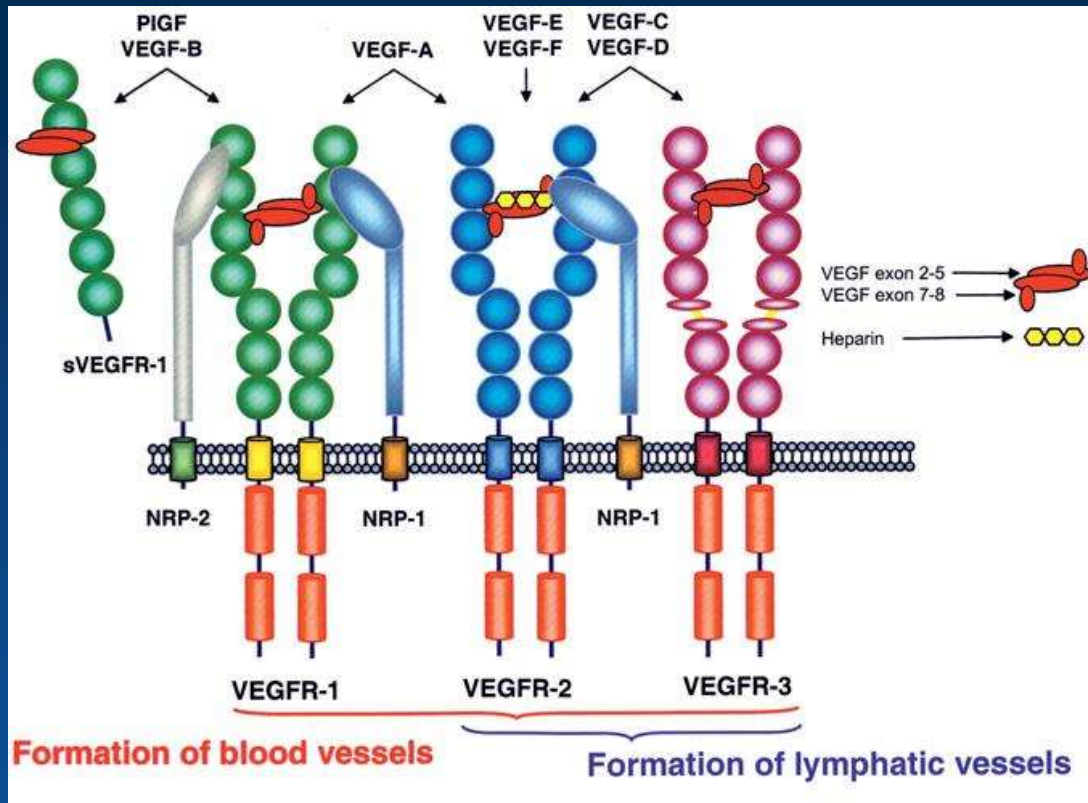


Figure 5.

Schematic presentation of the VEGF ligands and their interaction with membrane-bound and soluble (secreted) VEGF receptors. Notably, inhibitory effects are exerted by sVEGFR-1 (anti-hemangiogenesis) and sVEGFR-2 (anti-lymphangiogenesis). Neuropilin-2 (NRP-2) also interacts with VEGFR-3 on lymphatic endothelial cells, which is not shown in this scheme. NRP-1: Neuropilin-1.

Modified from:

http://www.rosenthallab.com/gallery/images/VEGF_VEGFR.jpeg

Pavlovic et al. Page 14

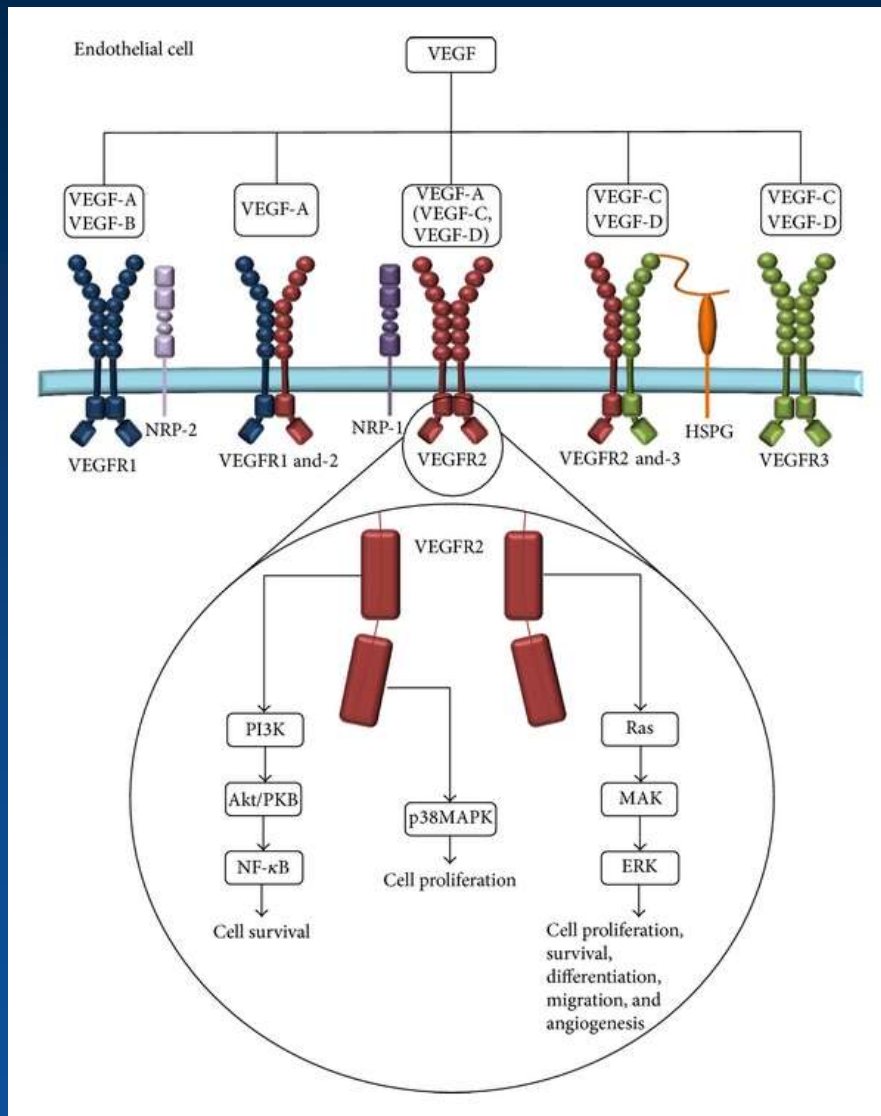


Figure 1: VEGF receptor binding. The five mammalian vascular endothelial growth factors (VEGF-A-D) bind to the receptor tyrosine kinases, VEGF receptor (VEGFR1-3 and co-receptors HSPG, NRP-1 and NRP-2). VEGFR-binding leads to the formation of homodimers and/or heterodimers. Proteolytic cleavage enables VEGF-C and -D to bind VEGFR-2 forming a homodimer. The binding and activation of VEGFR-2 lead to downstream signaling of the PI3 K, MAPK, and Ras pathways which promote cell survival, proliferation, differentiation, migration, and angiogenesis.

Hedgehog jelátvitel

Hedgehog ligandumok

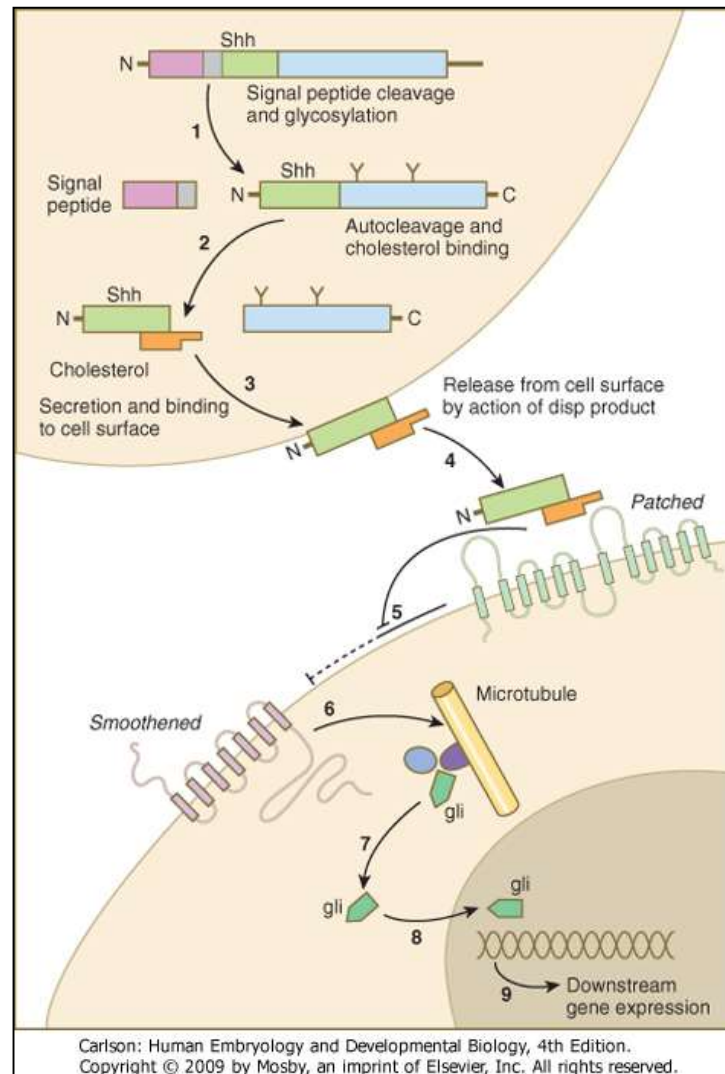


Drosophila szegment-polaritás hedgehog gén rokonai a gerinceseknél:
desert,
Indian
sonic (Shh),

a név a Drozi mutáns lárva fenotípusból jön.



Shh



Dispersed segít a sejtről való leválásban

Végső hatás: Gli TF (Zn ujjas) leválik a MT-okról, majd bejut a magba.

Figure 4-12 The sonic hedgehog (shh) signaling pathway. (1) The signal peptide is cleaved off the newly synthesized polypeptide, and the remainder undergoes glycosylation. (2) The remaining peptide undergoes autocleavage under the influence of the C-terminal portion, and cholesterol binds to the N-terminal part, which is the active part of the molecule. (3) The N-terminal part is secreted and bound to the cell surface. (4) The bound shh molecule is released from the cell surface through the action of a product of dispersed (disp). (5) The released shh inhibits the inhibitory effect of Patched on Smoothed. (6) On release from the inhibitory influence of Patched, Smoothed emits a signal that (7) releases the transcription factor Gli from a complex of molecules bound to microtubules. (8) Gli enters the nucleus and binds to the DNA, (9) influencing the expression of many genes.

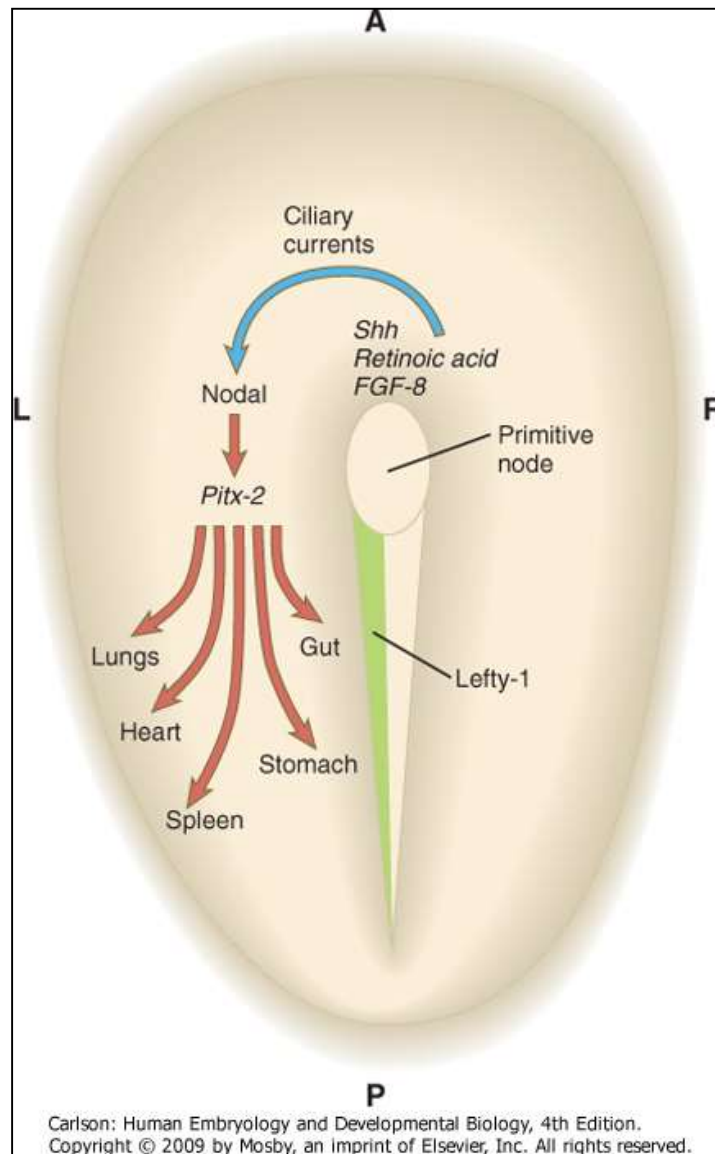


Figure 5-10 Summary of the molecular basis for body asymmetry. Ciliary currents at the primitive node sweep the **symmetry-breaking molecules sonic hedgehog (shh) and fibroblast growth factor-8 (FGF-8)** toward the left side of the embryo, where they stimulate an asymmetric cascade of gene expression starting with **nodal**. **Lefty-1**, expressed along the left side of the primitive streak, may prevent diffusion of molecules to the right side of the embryo. Only the most important molecules in a complex cascade are shown.

Wnt jelátvitel

Wnt ligandumok

Drosophila Wingless szegment-polaritás gének homológjai emlősökben (18 tagú család).

A különböző gerinces osztályokban egészen eltérő fejlődési folyamatokban azonosították szerepüket:

-kétéltűben dorzalizáció

-emlős gasztruláció során,

sejtproliferációban fontos az egyes szervek

fejlődésének kezdetén

differenciáció és polaritás

Ligand inhibitorai:

Wnt-1 inhibitory factor-1 (WIF-1), cerberus

Receptor inhibitorai:

dickkopf

Wnt jelátviteli útvonal

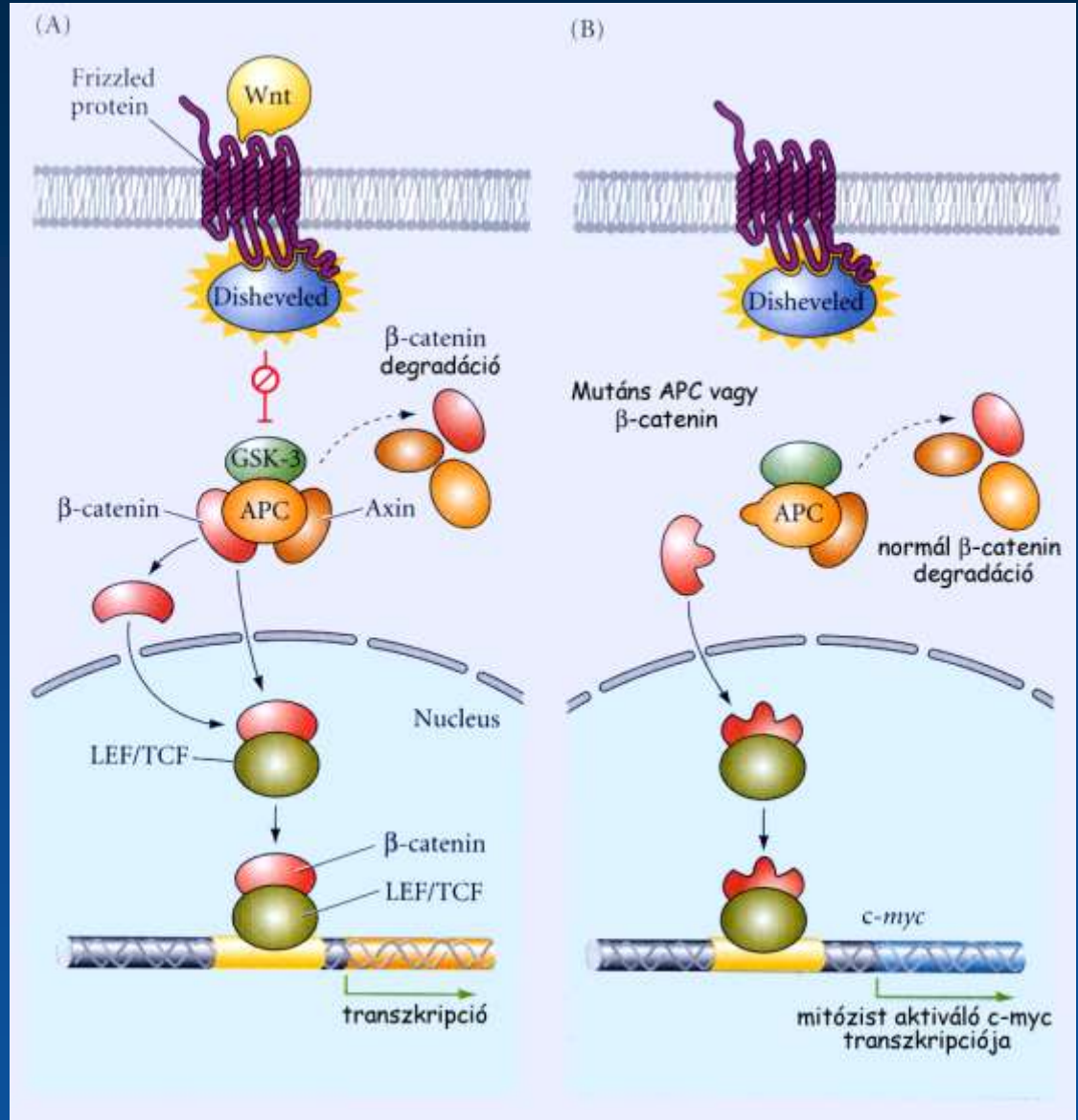
Wnt (Wingless, szegment polaritás gén) kötődésének hatására proteolízis történik

és a TF leválik a citoszolikus komplexről

Dorzalizáció Xenopusban, Gasztruláció folyamata emlősökben.

Frizzled/PCP signalling: a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility

<https://www.nature.com/articles/nrg2042>



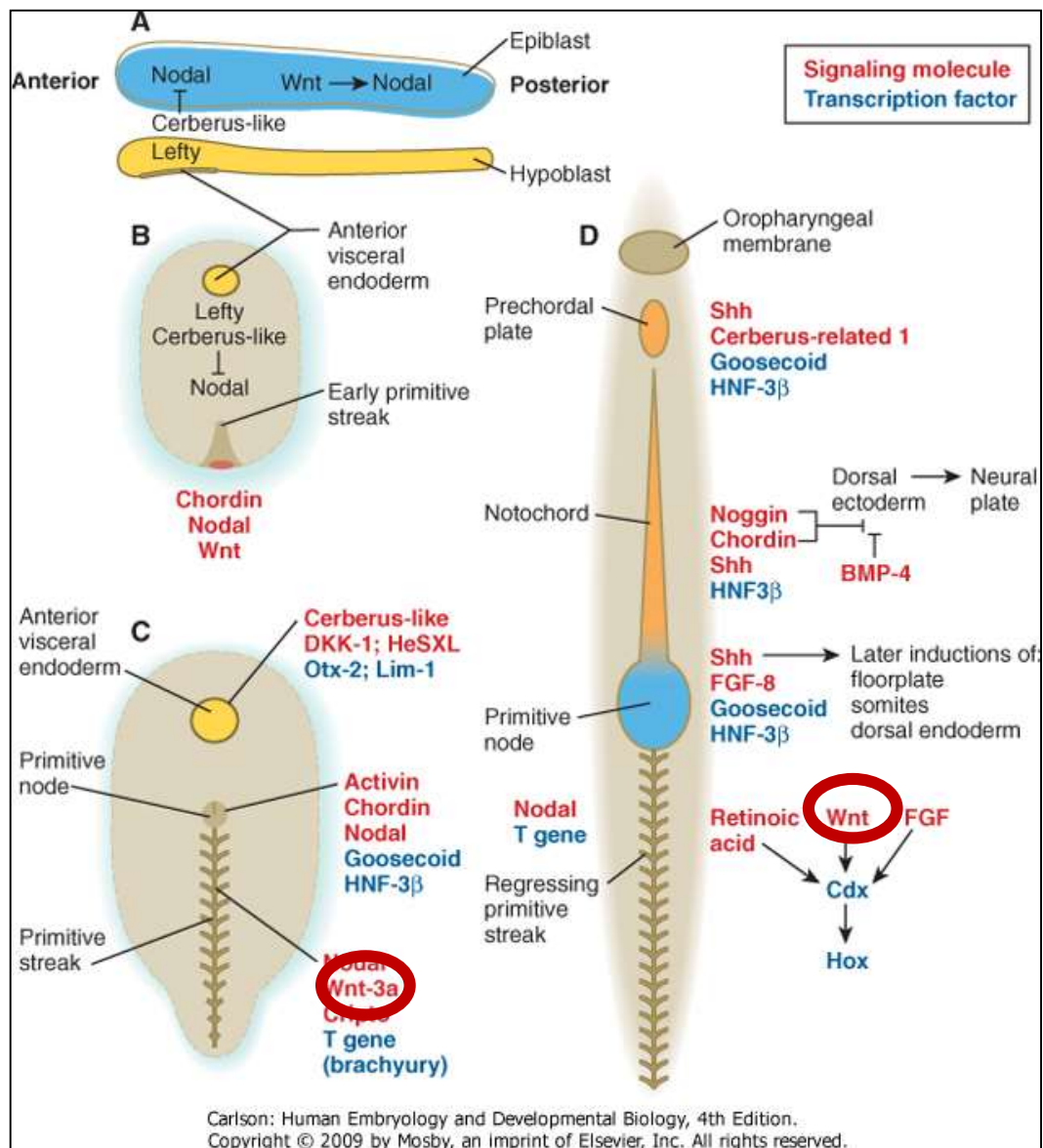


Figure 5-7 Summary of major genes involved in various stages of early embryonic development. A, Preprimitive streak (sagittal section). B, Early formation of the primitive streak. C, Gastrulation (period of germ layer formation). D, Late gastrulation and neural induction. The molecules in red are signaling molecules, and the molecules in blue are transcription factors. Names of specific molecules (bold) are placed by the structures in which they are expressed.

Notch-Delta jelátvitel

A Notch-Delta rendszer

-mindkét résztvevő membránkötött
(juxtakrin jelátvitel)

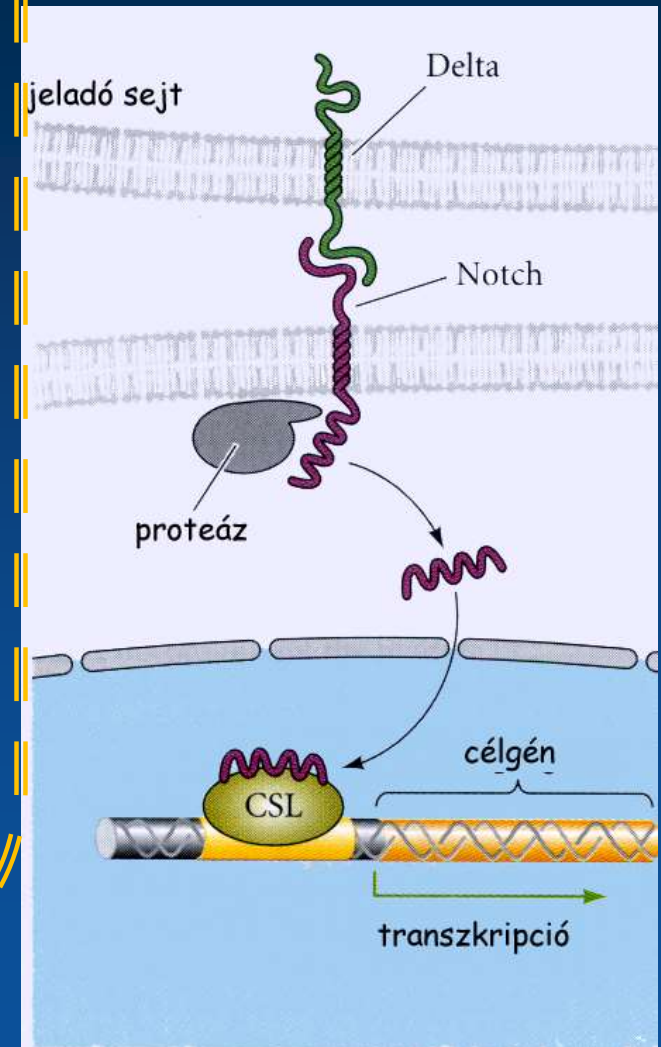
-ligandum: Delta, Serrate, Jagged
receptor: Notch)

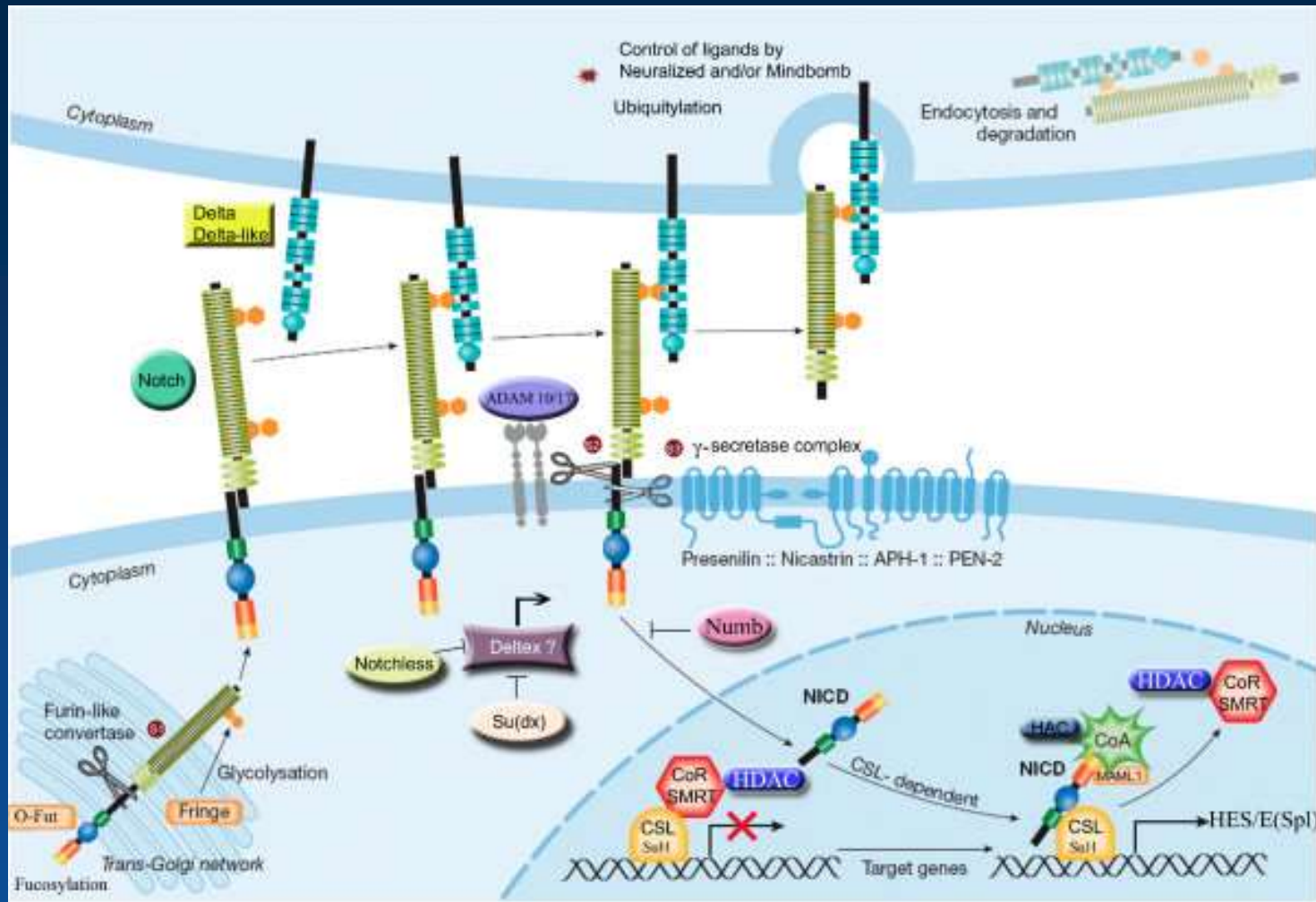
Szerepe:

-Sejtsors döntésben

-Laterális gátlásban

(Drosophila idegrendszer fejlődése)

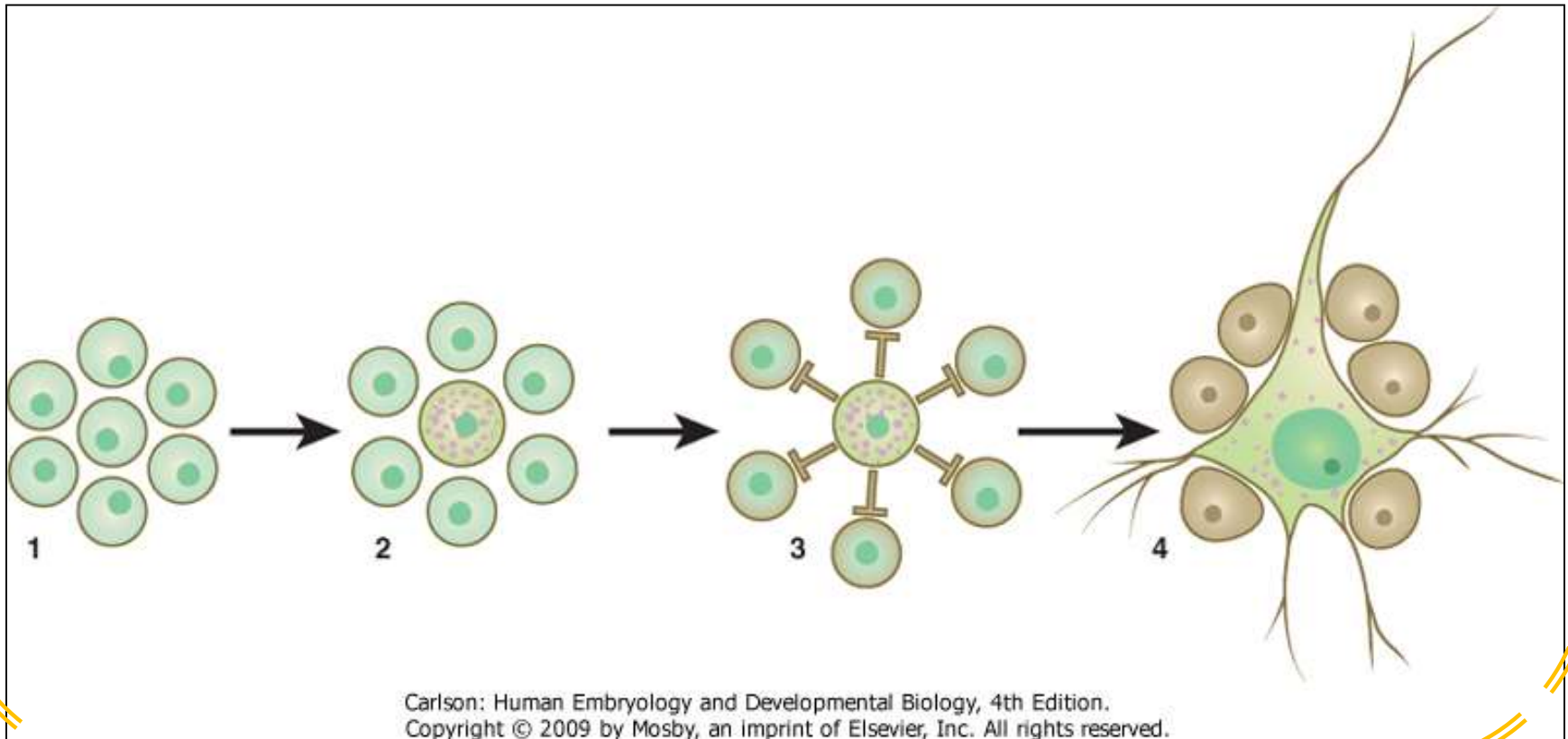




<http://deltanotch.webnode.com/introduction-to-delta-notch-signalling/>

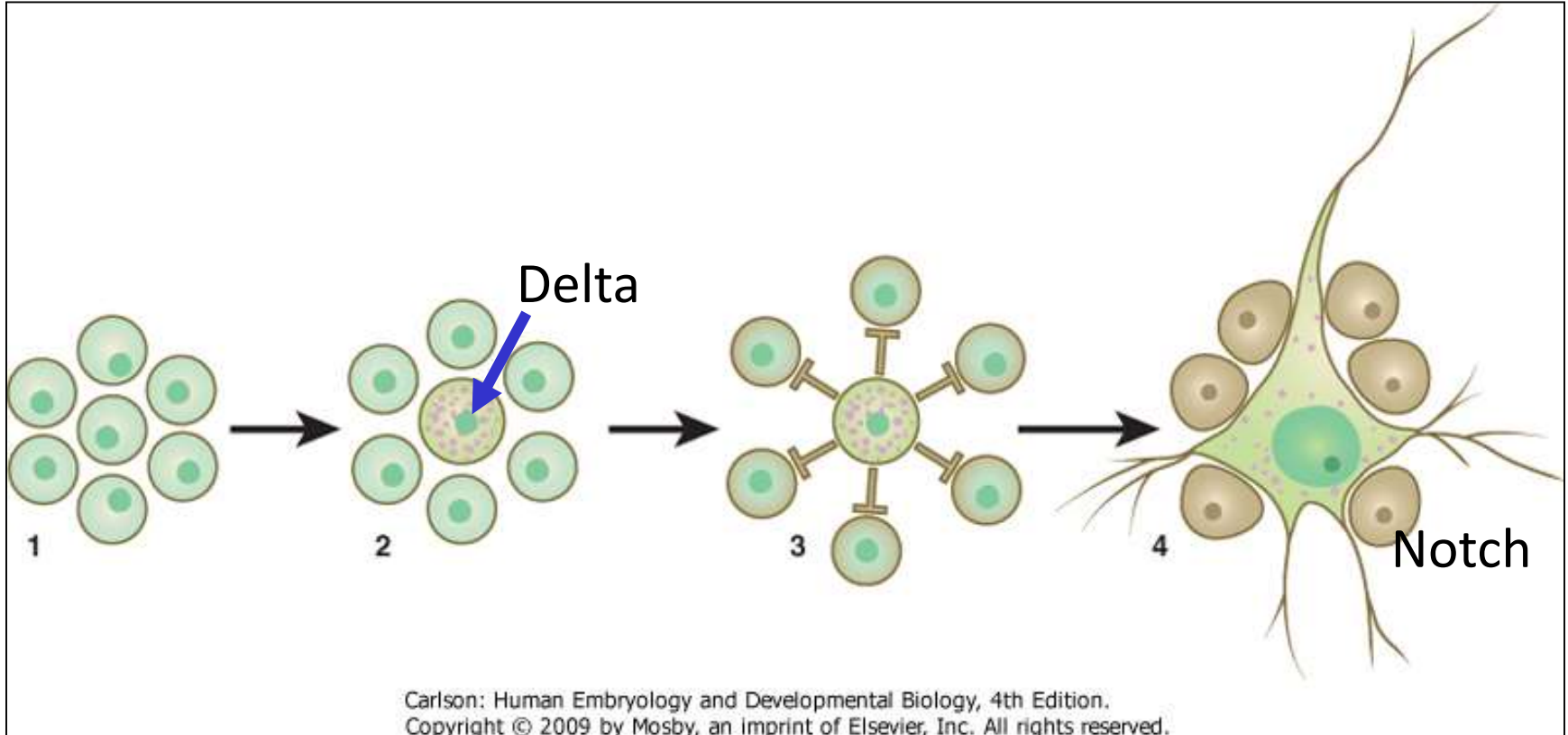
A laterális gátlás folyamata

Figure 4-13 An example of lateral inhibition. (1) A population of developmentally equivalent cells. (2) **One cell, whether by its position or through stochastic (random) factors,** begins to develop along a dominant pathway before its neighbors. (3) The selected cell gives off inhibitory signals (lateral inhibition) that prevent its neighbors from differentiating into the dominant cell type. (4) The selected cell differentiates into a mature cell type (e.g., a neuron), whereas its neighbors differentiate into secondary phenotypes (e.g., glial cells).



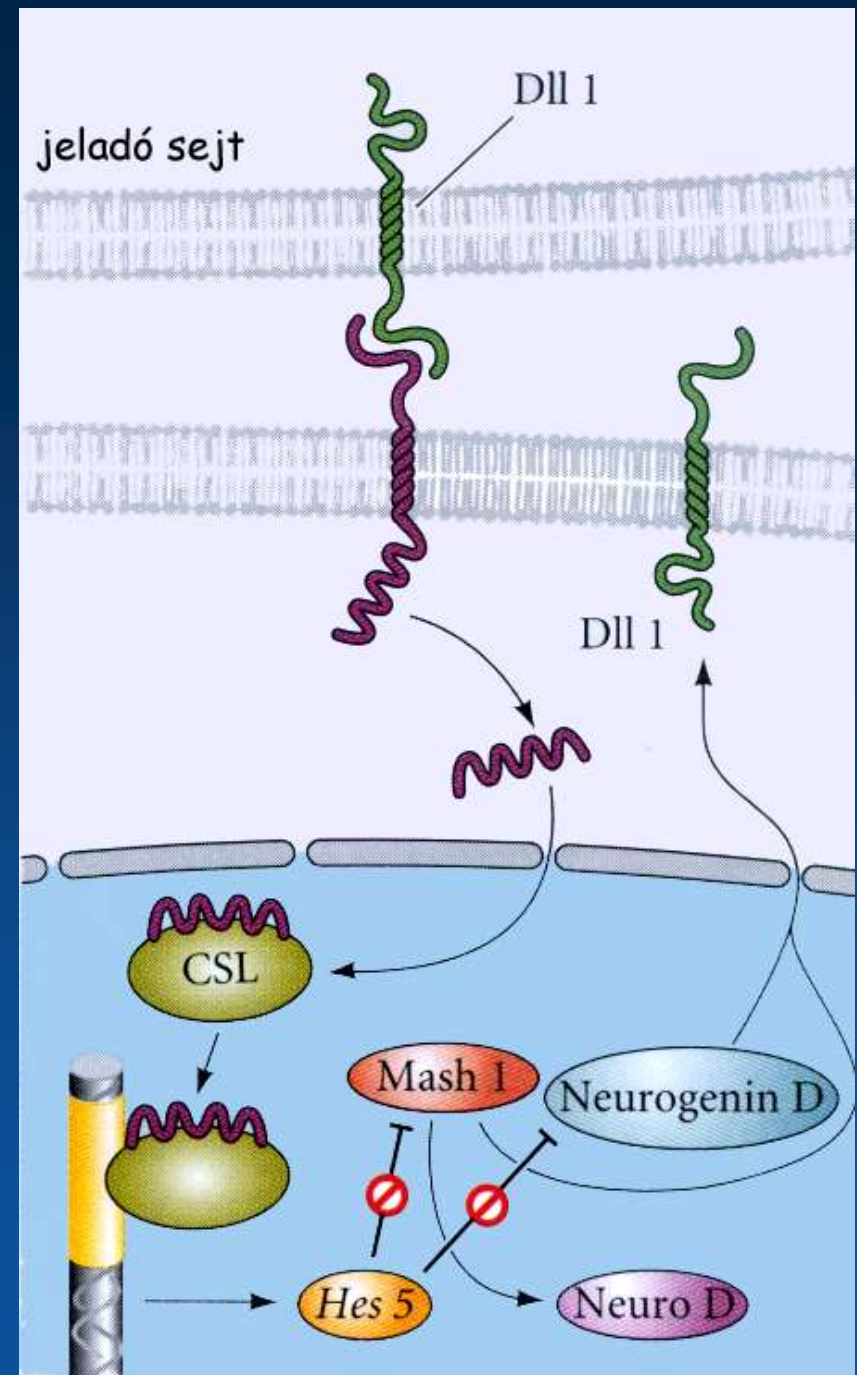
A laterális gátlás folyamata

Figure 4-13 An example of lateral inhibition. (1) A population of developmentally equivalent cells. (2) **One cell, whether by its position or through stochastic (random) factors,** begins to develop along a dominant pathway before its neighbors. (3) The selected cell gives off inhibitory signals (lateral inhibition) that prevent its neighbors from differentiating into the dominant cell type. (4) The selected cell differentiates into a mature cell type (e.g., a neuron), whereas its neighbors differentiate into secondary phenotypes (e.g., glial cells).



A neurogenesis gátlása egérben a Notch-Delta rendszer által

Delta kötése után Notch citoplazmatikus része lehasad és bejut a magba, ahol a **CSL** (**CBF1**, **Supressor-of-hairless**, **Lag-1**) proteinhez köt, amely eddig represszora volt a Notch-reszponzív géneknek, de a Notch farokkal komplexben immár aktivátoruk lesz. Az aktivált gének szintén szabályozó molekulák, amelyek gátolják a neurális differenciációhoz szükséges géneket (Mash1, Neurogenin D, ezáltal NeuroD-t és Dll1-et).



Retinsav jelátvitel

Either a severe deficiency or an excess of vitamin A results in a broad spectrum of severe congenital anomalies that can involve the face, eye, hindbrain, limbs, or urogenital system.

Vitamin A enters the body of the embryo as retinol and binds to a retinol binding protein, which attaches to specific cell surface receptors.

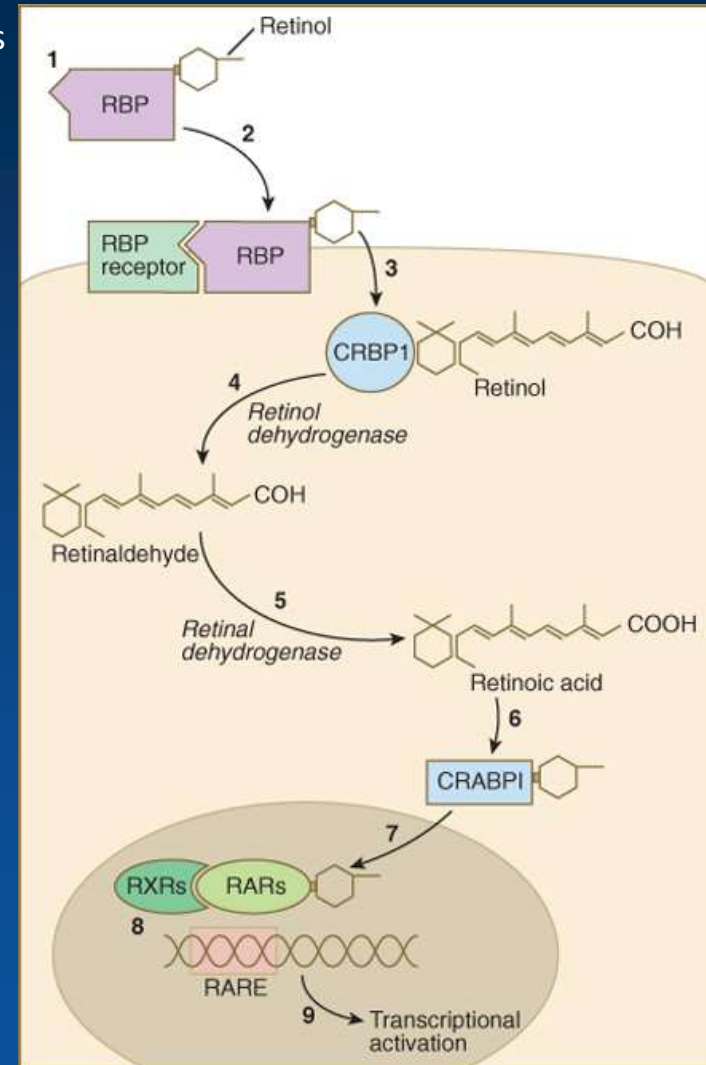
Retinol is released from this complex and enters the cytoplasm, where it is bound to **cellular retinol binding protein (CRBP I)**. In the cytoplasm, the all-trans retinol is enzymatically converted first to all-trans retinaldehyde and then to all-trans retinoic acid, the retinoid with the most potent biological activity.

CRBP and **CRABP I (cellular retinoic acid binding protein)** may function to control the amount of retinoids that enters the nucleus.

When released from CRABP, retinoic acid enters the nucleus, where it typically binds to a heterodimer consisting of a member of the **retinoic acid receptor (RAR)** α , β , or γ family and a member of the **retinoid X receptor (RXR)** α , β , or γ family. This complex of retinoic acid plus receptor heterodimer binds to a **retinoic acid response element (RARE)** on DNA, usually on the enhancer region of a gene, and it acts as a transcription factor, controlling the production of a gene product.

Retinoic acid is produced and used in specific local regions at various times during prenatal and postnatal life. Among its well-defined targets early in development are certain *Hox* genes (e.g., *Hoxb-1*), where misexpression caused by either too little or too much retinoic acid can result in serious disturbances in the organization of the hindbrain and pharyngeal neural crest.

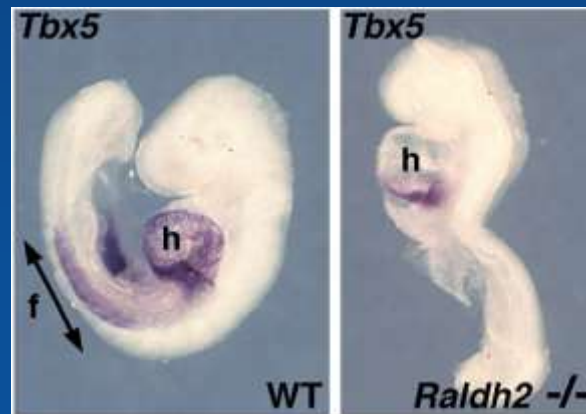
A-vitamin (retinol), retinsav és jelátviteli útvonala



One of the most spectacular examples of the power of retinoic acid is its ability to cause extra pairs of limbs to form alongside the regenerating tails of amphibians ([Fig. 4-18](#)). This is a true example of a homeotic shift in a vertebrate, similar to the formation of double-winged flies or legs instead of antennae in *Drosophila*.



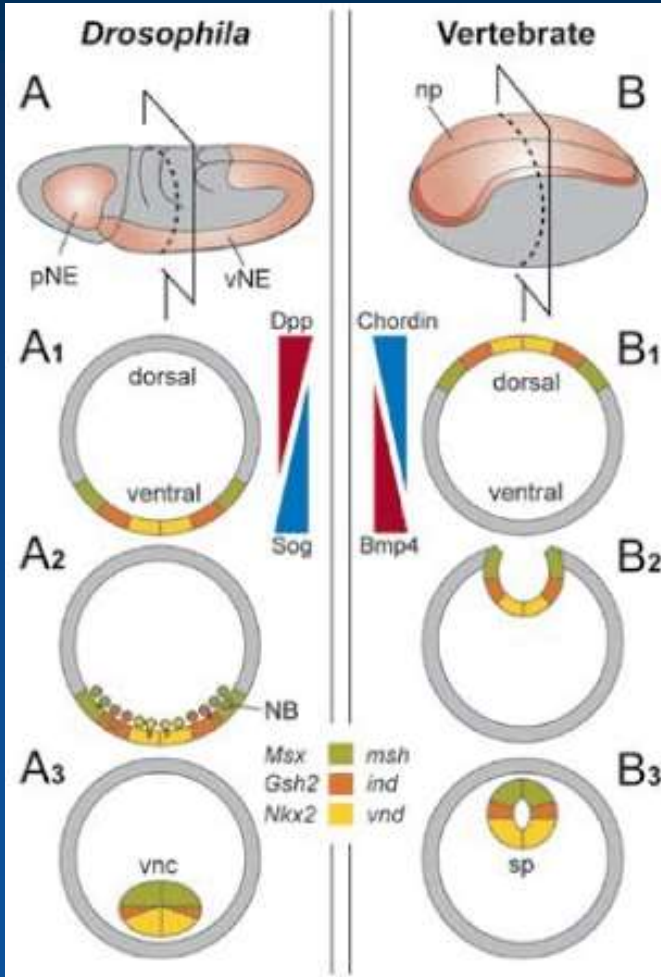
Carlson: Human Embryology and Developmental Biology, 4th Edition.
Copyright © 2009 by Mosby, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.



Tbx5 mRNA detected by whole-mount in situ hybridization in wild-type (WT) and *Raldh2*^{-/-} mutant mouse embryos. The mutant lacks a forelimb (f) domain, has an altered heart (h) domain that fails to loop, and fails to undergo embryonic turning needed to achieve the fetal position due to a failure in somitogenesis.



BMP-4 útvonal konzerváltsága a velőcső mintázat képződése során



Expression of Dpp/ BMP4 and Sog/Chordin as well as of the columnar genes support the inversion of the DV body axis. Simplified schemes of cross sections through the trunk of developing *Drosophila* and vertebrate embryos (indicated by frames in A,B; neurogenic ectoderm highlighted in brown) during successive stages of development (A1-A3 and B1-B3, respectively). (A1, B1) The border between nonneurogenic (grey) and neurogenic ectoderm (coloured) becomes defined by gradients of the antagonistically acting factors Short gastrulation (Sog)/Chordin (both in blue) and Decapentaplegic (Dpp)/Bone morphogenetic protein 4 (Bmp4) (both in red). The ectodermal region expressing *sog/chordin* forms the neuroectoderm, which is dorsal in vertebrates but ventral in *Drosophila*. DV patterning within the *Drosophila* neuroectoderm is achieved by the activity of the columnar genes: *msh*, *ind* and *vnd* (as indicated by the colour code), expressed in longitudinal columns at lateral, intermediate and ventral sites, respectively. A set of homologous genes *Msx*, *Gsh2* and *Nkx2*, is expressed in the vertebrate neuroectoderm in a corresponding medio-lateral sequence. (A2, B2) Two different modes of morphogenesis are apparent during ongoing development: The *Drosophila* neuroectoderm gives rise to neuroblasts (NB), which delaminate towards the interior of the embryo to form the ventral nerve cord (vnc). The vertebrate neuroectoderm invaginates to form the dorsal neural tube. (A3, B3) In the vertebrate spinal cord (sp) the columnar genes are nevertheless expressed in the same dorsoventral order as in the *Drosophila* ventral nerve cord. Further abbreviations: np, neural plate; vNE, ventral neuroectoderm; pNE, procephalic neuroectoderm.

BMP-4 és Shh együttműködése az aorta mintázat képződésében

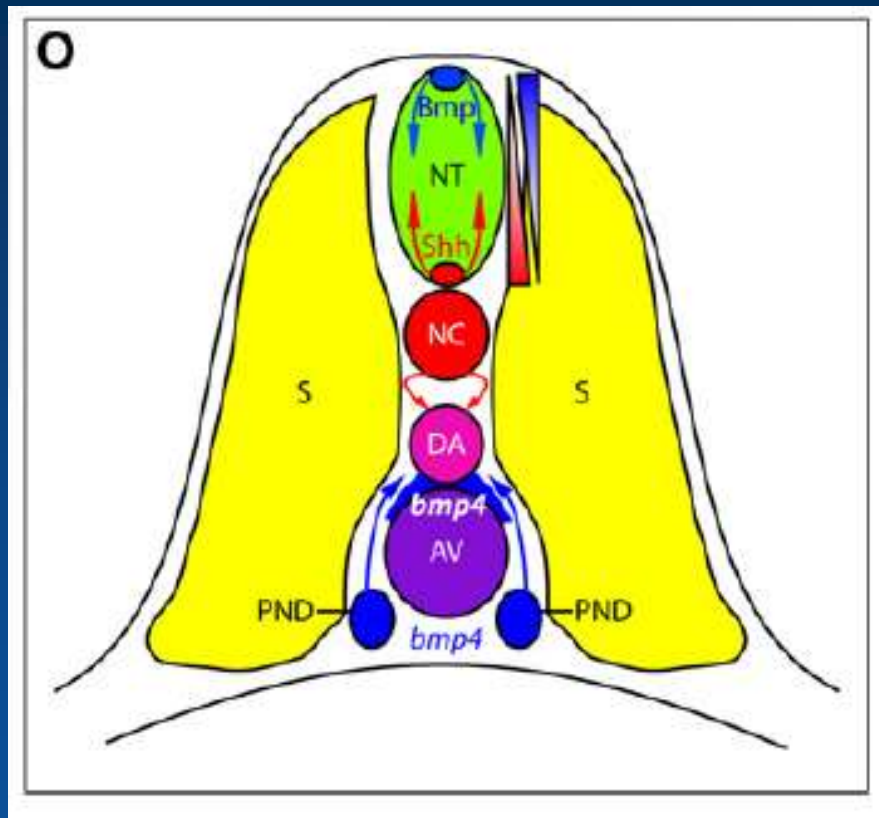


Figure 4. *bmp4* Is Required for HSC Emergence within the Ventral DA

(A–D) *runx1* expression was absent from the DA (arrows) in 8/12 *bmp4* morphants at 28 hpf (C and D), while the remaining 4/12 exhibited reduced expression compared with uninjected controls (A and B).

(E–H) At 28 hpf, 17/21 *bmp4* morphants exhibited absent or substantially downregulated *cmyb* expression in the DA (red arrows).

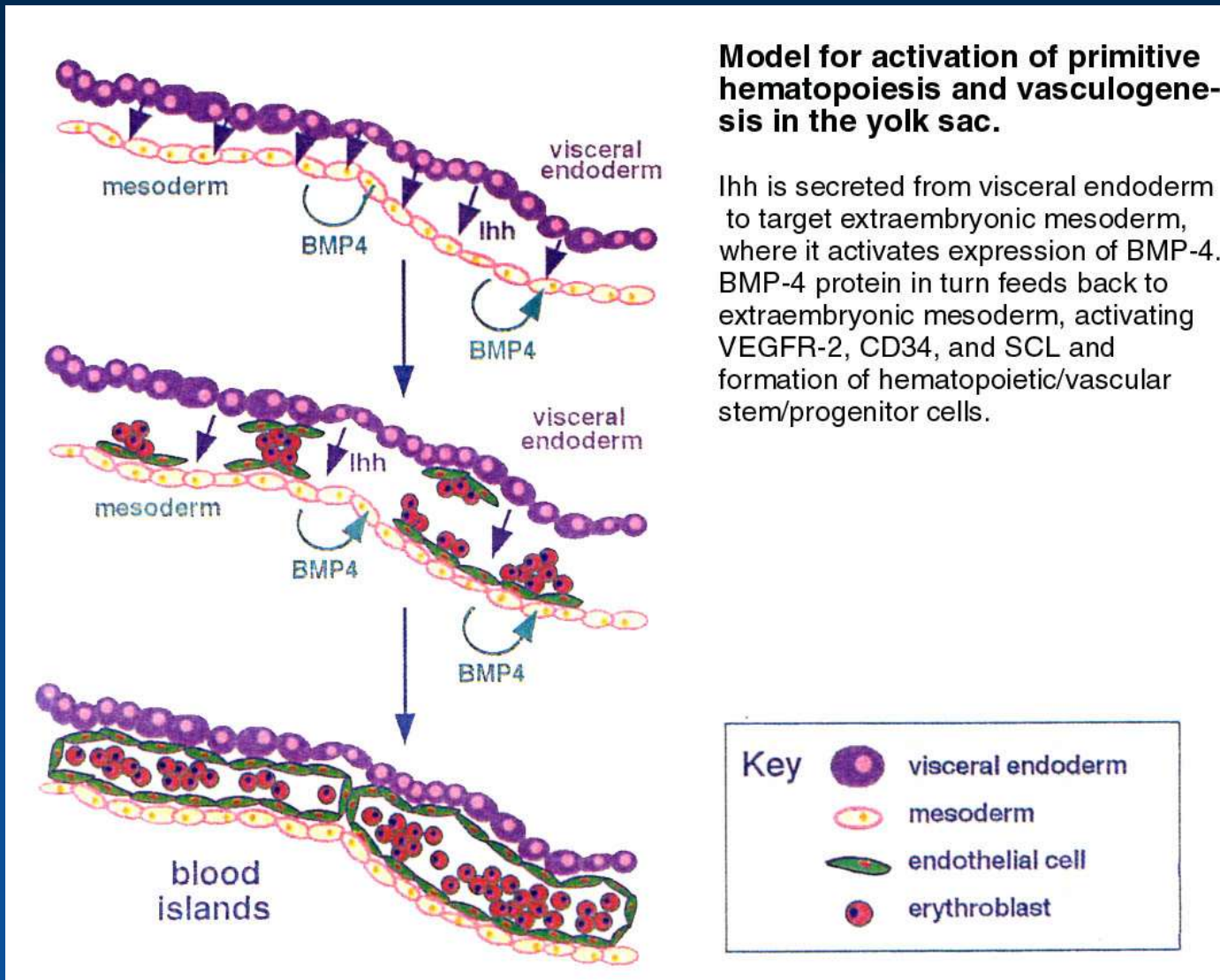
(I and J) At 4 dpf, 27/34 *bmp4* morphants exhibited substantial downregulation of *ikaros* expression within the developing thymi (arrows). The remaining 7/34 exhibited wild-type expression.

(K and L) At 4 dpf, 26/32 *bmp4* morphants exhibited substantially reduced expression of *rag1* in developing thymi (arrows), of which 7 exhibited no *rag1* expression. The remaining 6/32 were wild-type.

(M and N) Dorsolateral views of the developing pronephros at 5 dpf depicting substantial downregulation of *cmyb* expression (outlined) in 22/29 embryos, of which 4/29 exhibited no expression. The remaining 7/29 were wild-type.

(O) Diagram of zebrafish trunk depicting polarization of the DA by dorsal Hedgehog and ventral Bmp signaling, mirroring the neural tube.

Példa az indukciós kölcsönhatásokra: BMP-4 és Ihh hatása a szikhólyagi vérképzésben



BMP-4 és Shh együttműködése a thymus organogenezise során

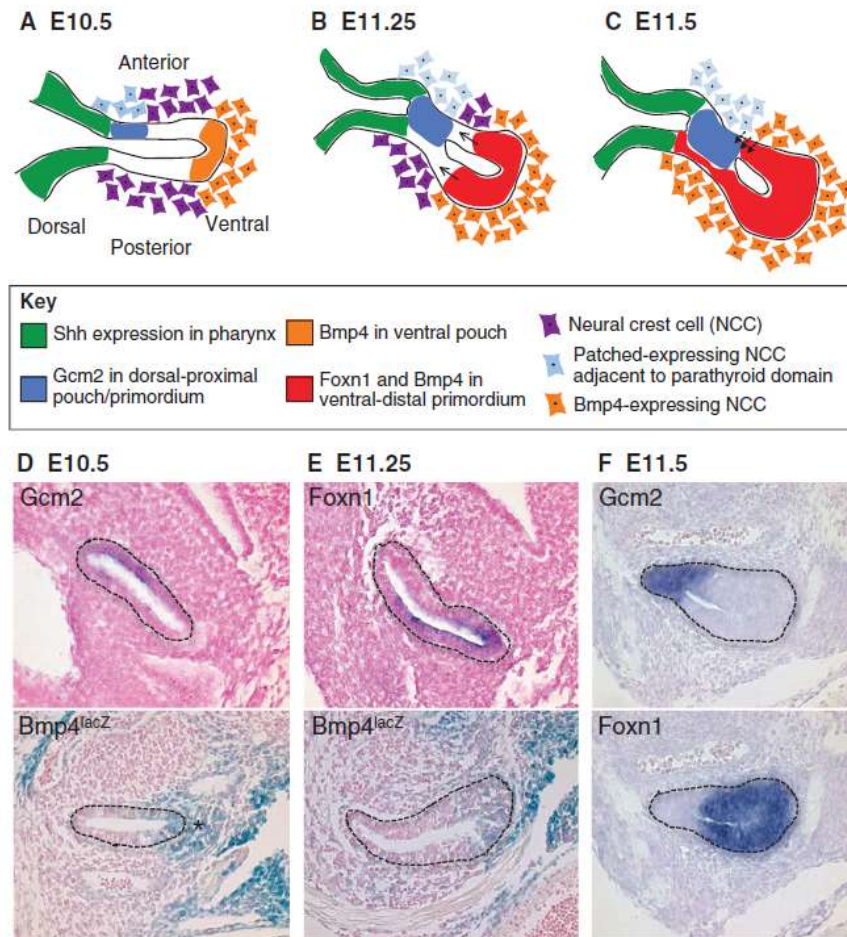


Fig. 3. Patterning the third pharyngeal pouch. (A) At E10.5, Gcm2 expression (blue) marks the parathyroid domain within the third pouch, Bmp4 (orange) is expressed at ventral tip of the pouch and adjacent mesenchyme, and Shh (green) expression is detected in the pharynx but is excluded from the pouch. Neural crest cells (NCCs; purple/light blue/orange) surround the pouch and some express regionalized markers (Bmp4, orange; patched, light blue). (B) By E11.25, Foxn1 and Bmp4 expression (red) spreads dorsally (arrows) towards the Gcm2-expressing parathyroid domain (blue). (C) By E11.5, the third pouch epithelial cells express either Foxn1 and Bmp4 (red) or Gcm2 (blue). Signals from adjacent NCCs refine the position of the border between domains (arrows). (D) In situ hybridization for Gcm2 (top) demonstrates its proximal-dorsal-anterior-restricted expression domain at E10.5. Analysis of Bmp4^{lacZ} mice (bottom) demonstrates Bmp4 expression at the ventral tip of the pouch endoderm and in the adjacent mesenchyme (asterisk) at this stage. (E) Foxn1 in situ hybridization (top) and Bmp4^{lacZ} expression (bottom) at the distal-ventral tip of E11.25 primordium. (F) In situ hybridization for Gcm2 (top) and Foxn1 (bottom) on adjacent sections show non-overlapping expression at E11.5. In D-F, third pouch endoderm is outlined by dashed line. All data panels are sagittal sections oriented with dorsal on the left and ventral on the right. Panels in F included with permission (Foster et al., 2010).

Köszönöm a figyelmet!



Fő források:

S. F. Gilbert: *Developmental Biology*, Sinauer associates, Inc. Publishers

B. M. Carlson: *Human Embryology and Developmental Biology*, 4E, Elsevier