

Moleküler Hücre Biyolojisi I

Hafta 13:

Çok hücreli organizmaların gelişimi

Doç Dr Arzu ATALAY

Çok hücreli bir organizmanın oluşumu dört temel mekanizma sağlar

Hücre çoğalması: tek hücreden pek çok hücre üretilir

Hücre özelleşmesi: Farklı yerleşimlerde ve farklı özyapısal niteliklere sahip hücreler oluşur

Hücre etkileşimleri: Bir hücrenin davranışı komşu hücrelerle eşgüdömlenir

Hücre hareketi: Doku ve organ yapılarını oluşturmak için hücreleri yeniden düzenler

Hayvan gelişiminin evrensel düzenekleri

Yaklaşık 10 milyon hayvan türü vardır, bu canlıların aynı gelişimsel mekanizmalarla oluşması beklenmemekle birlikte özelleşmiş hücre türlerini ve vücut bölgeleri arasındaki farklılıkları belirleyen ve vücudun biçimsel düzeninin oluşmasını sağlayan moleküller evrimsel açıdan fark edilebilir düzeyde birbiri ile ilişkili moleküllerdir.

Temelde yatan düzeneğin aynı olması nedeni ile gelişim biyologları hayvan gelişiminin moleküler mekanizmaları hakkında tutarlı bir şekilde yol katetmektedirler.

Benzeşik proteinler birbirinden farklı olan canlı türlerinde çoğunlukla işlevsel açıdan farklılık göstermez.

Drosophila eyeless geni yanlış ifade edildiğinde bacakta göz dokusuna ait yama oluşur, mürekkepbalığı benzeşiği pax-6 da yanlış ifade edildiğinde de aynı durum gözlenir.

Hayvanlar temel anatomik özellikleri paylaşır: Deniz kestanesi örneği

Düzenleyici DNA gelişim programını tanımlar

Solucan, sinek, yumuşakça ve bir memelide vazgeçilmez olan çok sayıda hücre türü aynıdır ancak düzenleyici DNA modülleri memlilerde diğer gruplardan farklıdır. Aşağıda düzenleyici DNA'nın farklı organizmalarda gelişim sırasında ardışık gen ifadesinin düzenini nasıl tanımladığı görülmektedir. Farklı evrelerde düzenleyici proteinle sayesinde farklı genler açılmaktadır.

Hücre hattı izleme deneyleri hücreler arasındaki etkileşimleri ortaya çıkartır

Deneysel embriyolojide elde edilen sonuçlar hücreler arasındaki etkileşimleri inceler

Bir hücrede gelişimsel karar gözle izlenebilen değişikliklerin çok öncesinde verilir

Hücreler vücut yerleşimlerini yansıtan konumsal değerlerini belleklerinde tutar:

Tavuk embriyosunda baldıra gelişmesi beklenen doku, kanat tomurcuğunun ucuna nakledildiğinde ayak parmaklarını oluşturur

Hücreler vücut yerleşimlerini yansıtan konumsal değerlerini belleklerinde tutar:

Tavuk embriyosunda Tbx5 ifade eden hücreler kanat, Tbx4 ve Pitx1 bacak oluşturur. Pitx kanatta yanlış ifade edildiğinde bacak benzeri yapı oluşumuna yol açar.

Uyarıcı etkileşimler başlangıçta özdeş olan hücreler arasında düzenli farklılıklar yaratabilir

Kardeş hücreler asimetric hücre bölünmesi ile farklı doğabilir

Bazı sinyal yolları tekrar tekrar kullanılarak gelişimi düzenlerler

Sonic hedgehog tavuklarda uzuv gelişiminde yer alan bir **morfojen**dir. Gen gövdenin her iki kanat tomurcuğunun posterior sınırında ifade edilmektedir (A). B normal kanat gelişimi. Kutuplaşma bölgesinden doku nakil edildiğinde alıcının gövdesinde ayna görüntüsü biçiminde ikilenmeye neden olmaktadır, farklı parmak türleri shh protein kaynağına uzaklığa bağlı olarak gelişir.

Hücre dışındaki sinyal molekül engelleyicileri uyarıcıya yanıtı şekillendirir:

Kurbağa embriyosunda sinir sistemi oluşurken uyarıcı doku kordin salgılar, kordinin almacı yoktur, bunun yerine epiderm gelişimini uyaran BMP/TGFB ailesi proteinlerin engelleyicisidir. Böylece sinir dokusu oluşumunun uyarılması, antagonistik sinyalin engelleyici gradyantından kaynaklanır

Morfojenin yarı ömrü ve difüzyon hızı gradientin etkisini belirler

İlk örüntüler küçük hücre alanlarında oluşur ve ayrıntılar embriyo büyüdükçe ardışık uyarılarla oluşturulur:

Bir dizi uyarıcı etkileşim birkaç hücreden başlayarak çok sayıda hücre türünü oluşturabilir.

Caenorhabditis elegans:

Her hücrenin kendi bakış açısından gelişim

C.elegans gelişimi olağanüstü derecede tekrarlanabilir özelliktedir

***C. elegans* bağırsağını oluşturan hücrelerin soy ağacı**

Anasal etkili gen ürünleri yumurtanın asimetric bölünmesini sağlar:

Par proteinleri. Posterior yavru hücreye P tanecikleri aktarılırken, anterior yavru hücreye aktarılmaz.

Drosophila'da da benzer proteinler vardır.

Hücre-hücre etkileşimleriyle gittikçe daha karmaşık örüntüler oluşur. Yanda kardeş hücreler aralarına konulan siyah bağlantı çizgisi ile gösterilmektedir.

Dört hücre evresindeki nematod embriyosunda hücrelere farklı özyapısal özellikler atanmasını denetleyen sinyal yolları

Seçilmiş hücrelerin apoptozla ölmesi gelişim programının bir parçasıdır

Nematodda apoptotik hücre ölümü ced-9, ced-3, ced-4 gibi genlerle düzenlenir.

Hermafrodit gelişim sürecinde 1030 somatik hücreden 130u apoptozla ölür, erişkin hermafroditte 959 somatik hücre kalır

Drosophila ve örüntü oluşumunun moleküler genetiği: Vücut planının oluşumu

C.elegans'tan 100 kat daha fazla hücresi vardır, anatomisi daha karmaşıktır ve anatomisi insan yapısı ile benzerlik gösterir. Sinekte 14000 gen, nematodda 19000 gen vardır, gen başına içerdiği kodlamayan DNA daha iki kat fazladır, regülatör DNA daha fazla görünmektedir.

Sinek, insan gelişiminin anlaşılmasında anahtar rolü oynamıştır.

Sinek vücudu bir dizi bölütlenmiş birimden oluşmaktadır

Drosophila larvasının bölütleri ve blastoderimde bunlara karşılık gelen bölgeler

Drosophila gelişimine ortak sitoplazmalı başlar:

Her sekiz dakikada çekirdek bölünmeleri, 6000 ayrı hücreden oluşan hücreyel blastodermi oluşturur. Yumurtanın en ucuna yerleşen 15 çekirdek germ hattı öncüllerini oluşturur.

Hücreyel blastoderm evresindeki Drosophila embriyosunun yazgı haritası:

Baş ve kuyruğun ucu ventral (karın) ve dorsal (sırt) yan, beslenme kanalı, sinir sistemi, bir dizi vücut bölütleri gibi yapıların tamamı sinek vücut planının temel özellikleri olup, insan dahil pek çok organizmada ortaktır

Oositin çevresi ile etkileşimi embriyo eksenini tanımlar:

Yumurta kutuplaşma genleri (Folikül içinde bir oosit)

Dört farklı yumurta kutuplaşma gradyant sisteminin düzenlenmesi

Dorsoventral sinyal ileti genleri çekirdek gen düzenleyici protein gradyantı oluşturur:

Dorsalde protein sitoplazmada, çekirdekte saptanmıyor, ventralde ise sitoplazmada yokken çekirdekte yoğun gözlenmektedir.

Dorsal proteini omurgalılardaki NF-KB gen düzenleyici protein ailesinin üyesidir. Etkinliği Toll tarafından düzenlenir ve etkin olmayan biçiminin sitoplazmadan çekirdeğe aktarılması gerekir.

Dorsal çekirdeğin içine aktarıldığında derişimine bağılı olarak arklı genlerin ifadesini başlatır ya da durdurur. Böylece embriyo boyunca kolayca ayırt edilebilen hücre kuşakları halinde uzanan bir dizi dorsoventral sınır tanımlanır.

Dorsal protein en yüksek olduğu bölgede mezoderme özgü twist proteinini aktive eder, en düşük olduğu bölgede dpp genini açar. Orta alanda ise sog (short gastrulation) geninin de dahil olduğu başka bir seti açar.

Dpp ve sog ikincil bir morfojen gradyenti oluşturur

Twist ifade eden hücrelerden mezodermin başlaması

(Twist bHLH ailesine ait gen düzenleyici bir proteindir)

Böcek dorsoventral eksenini omurgalı ventrodorsal eksenine karşılık gelir

Dpp, omurgalılarda da bulunan TGFB ailesinin önemli üyelerindedir, Sog omurgalılarda kordin proteininin benzeşimidir. Omurgalılarda Dpp benzeşimi BMP4 ve kordin, Drosophiladaki Dpp ve Sog proteinlerine benzer şekilde birlikte çalışmaktadır. Nörojenik alanı tanımlayan yüksek kordin düzeyi ve nörojenik olmayan alanı tanımlayan yüksek BMP4 seviyesi ile bu iki protein ektodermin dorsoventral örüntüsünü denetler

3 sınıf bölütlenme geni anterior posterior anasal örüntüyü ayrıntılandırır ve embriyoyu alt bölümlere ayırır. Bölütlenme genleri anasal değil zigotiktir.

Yumurta kutuplaşma, gap, bölütlenme ve homeotik genlerin düzenleyici hiyerarşisi

Bölütlenme işlemine paralel olarak homeotik seçici genlerden oluşan ilave bir gen seti bitişik bölütler arasında farklılıkları sürdürmekte ve tanımlamakta rol alır. Bölütlenme genlerinin yerel ifadesi konumsal sinyal hiyerarşisi ile düzenlenir.

eve geninin düzenleyici DNAsının modüler yapılanması:

Ayrı düzenleyici modüller farklı zamanlarda farklı konumların gen ifadesinden sorumludur

**Drosophila blastoderminde *ftz* ve *eve* Őeritlerinin
oluşumu:** her ikisi de çift kuralı genidir, önce bulanık, kısa süre sonra
keskin Őeritler haline gelirler

**Bölüt kutuplaşma geni olan engrailed eriŐkinde de
ifade edilmeye devam eder:**

**Daha dar yerleŐimli sinyaller aracılığı ile embriyo gitgide daha altbirimlere
ayrılmaktadır**

Homeotik seçici genler ve anterioposterior eksenin örüntülenmesi

Erişkin bir hayvanın karmaşık vücut yapısı az sayıda temel yapı türünün modüler tekrarıyla oluşur. Kendini her bölütle tekrarlayan gen ifade örüntüsünün üstüne bindirildiği durumda, her bölütle farklı kimlik veren homeotik seçici genlerin ifadesinin ardışık örüntüsü olduğu görülür.

Homeotik seçici genler homeoalan ailesinden olup DNA bağlayan proteinleri kodlar

Homeotik seçici genler diğer gen düzenleyici proteinlerle etkileşen DNA bağlayan proteinleri kodlar. Homeotik seçici genlerin ürünleri son derece korunmuştur homeoalanları 60 aa'ten oluşur.

HOX (Homeobox, homeoalan) kodu anterio posterior farklılıkları belirler.

**Homeotik seçici genler Hox kompleksindeki sıra ile
ardışık ifade/lokalize olurlar**

**Bir böceğin Hox karmaşımı ve bir memelinin hox
karmaşımının karşılaştırılması ve ilgili vücut
bölgelerinin ilişkilendirilmesi**

Farede Hox geninin ifade alanları:

**Genin konumu kromozomal karmaşımda ne kadar önde ise
ifadesinin anatomik sınırı da o derece anterior olmaktadır**

Organogenez ve uzuv örüntülenmesi:

**Drosophila larvasındaki imge diskleri ve oluşturduğu
erişkin yapılar**

Uzuvları oluşturacak hücreleri özgül düzenleyici genler tanımlar

Distalless geni pek çok türde anten bacak gibi proksimal eksenli uzantıları oluşturmak üzere açılır, gen yokluğunda bu uzantılar oluşmaz (solda deniz kestanesi, sağda güve larvası)

Pek çok türde eyeless geni de göz diski oluşumu için gereklidir.

Böcek kanat diski bölgelere ayrılmıştır

Morfojenik sinyaller kanat imge diskindeki sınırları oluşturur:

**Kanat örüntüsünü iyi bilinen dört sinyal yolağının bileşimi oluşturur
(Wingless, Hedgehog, Dpp, Notch)**

Omurgalılarda uzuv örüntülenmesini benzer mekanizmalar sağlar

(Dört günlük tavuk kuluçka embriyosundaki kanat tomurcuğu)

Özgül gen düzenleyici protein sınıflarının yerel ifadesi hücre farklılaşmasının habercisidir:

(Duyu kılı örneği: İmge diski epitelinden köken almıştır, pronöronal hücreler nöroduyusal farklılaşma yolağına girmeye hazırlanmış hücrelerdir. Şekilde kılda bulunan dört hücre soyu gösterilmiştir, hepsi tek bir ana duyu hücresinin torunlarıdır)

Yanal baskılama ana duyu hücrelerinin pronöronal hücre kümelerinden seçilerek ayrılmasını sağlar: Ana duyu hücresi farklılaşma yolağına adanmıştır, aynı şeyi yapmamaları için komşularına sinyal gönderir

Numb kıl gelişimi sırasında yanal baskılamanın tarafını tutar, numb her bölünmede asimetric yerleşir, notch ile etkileşime girerek onun etkinliğini durdurur.

Asimetric hücrenin düzlemsel kutuplaşması frizzled almacı yoluyla sağlanan sinyal iletimi ile denetlenir: Numb anterior hücreye aktarılırken posterioara aktarılmaz. Bu durumda sineğin kıllarının hepsi arkaya yatık olur.

Asimetrik hücrenin düzlemsel kutuplaşması frizzled almacı yoluyla sağlanan sinyal iletimi ile denetlenir

Notch sinyal iletimi pek çok farklı dokudaki farklılaşmış hücre tiplerinin ince örüntüsünü

düzenler: Xenopus embriyosunda notch sinyal iletimi engellendiğinde tüm hücreler nörona dönüşür

Amfibi embriyosunun kutuplaşması yumurta kutuplaşmasına bağlıdır

Yumurtanın alt ucu açık renklidir bitkisel kutup olarak adlandırılır, koyu renkli üst ucu ise hayvansal kutuptur. mRNA ve diğer hücresel bileşenler bakımından iki kutup farklılık gösterir. Bitkisel kutupta gen düzenleyici protein VegT, TGFB ailesine ait proteinleri kodlayan mRNAlar, Wnt sinyal yolağına ait hazır protein bileşenler depolanmıştır. Bitkisel sitoplazma vücudun iç dokusunu oluşturmaya adanırken hayvansal sitoplazmayı alan kısım dış dokuları oluşturur.

Döllenme sonrası yumurta ek bir asimetri kazanır

Yarılma bir hücreden pek çok hücre üretir:

Tek bir büyük hücreden mitozla, toplam kütlede değişiklik olmaksızın blastomerler oluşur. Hücreler asimetric bölünmüştür ve yazgıları farklıdır. Mitoz çok hızlı olduğundan bu aşamalar maternal RNA protein ve zar yapıları ile gerçekleşir

3 germ katmanını oluşturan hücrelerin kökeni

Gastrulasyon hareketleri tam olarak öngörülebilir

Gastrulasyon sonucu hücre yazgıları

Gastrulasyonu düzenleyen ana uyarıcı sinyallere güncel bakış

**Etkin hücre paketleme deęişiklikleri gastrulasyona
itici güç sağlar**

Yakınsayan genleşme ve hücresel temeli

**Nöral plaka nöral tüpü oluşturmak üzere kıvrılırken
notokord uzar**

Nörülasyon mekanięi:

**Epitelin tüp şeklini almasını sağlayan hücre
paketlenmesi ve hücre biçim değişikliklerine bağlıdır**

**Tavuk embriyosunun spinal cord'unda farklı gen düzenleyici proteinlerin ifadesi
(Notokord shh salgılar ve morfojen etkisi yapar)**

Göç eden hücreler embryonik dokulara sıkı denetim altında yayılır: nöral tepecik hücreleri göçünün ana yolları

Omurgalı vücudundaki sağ-sol asimetrisi erken embriyodaki moleküler asimetriden kaynaklanır

Memeli gelişimi özelleşmiş bir ön hazırlıkla başlar

Kimerik fare oluşturma

ES ile kimerik fare oluşturma

Epitel ve mezenkim arasındaki etkileşimler dallanan tübüler yapıları oluşturur:

Omurgalılar nispeten büyük hayvanlardır ve hacimlerinin büyük bölümü bağ dokulardan oluşmaktadır. Diğer yandan boşaltım, besin Emilimi, gaz alışverişi için özelleşmiş geniş epitel yüzeylere ihtiyaçları vardır. En tipik örnek endodermden köken alan akciğerdeki tübüler dallanmadır.

FGF ve almaç tirozin kinazlar başlıca rolü oynarlar.

Drosophila ve C.elegans'ta tek bir FGF genine karşılık, insanda 20 farklı FGF geni vardır. Akciğerde gelişen epitel tüplerin uç kısımların ayakın mezenkim hücre kümelerinde ifade edilirken, almaç epitel hücrenin kendisinde ifade edilir.

Dallanmayı sağlayanın ise zıt yönde gönderilen sonic hedgehog olduğuna inanılmaktadır

Drosophilada trake sistemindeki dallanma morfogenezi için benzer mekanizma kullanılır. Drosophila branchless geni FGF ile benzeşik, breathless geni ise Drosophila FGF almaçına benzeşiktir

Akciğerin dallanma morfogenezi

Nöral gelişimin 3 evresi

Nöral tüp oluşumu

Yeni doğmuş nöronlar akson ve dendritlerini uzatmadan önce genellikle doğum yerlerinden başka noktalara göç ederler

Bir memeli beyninin korteksinde farklı zamanlarda bölünen ata hücreler programlı olarak farklı tip nöronları üretir. İlk doğan nöronlar doğum yerlerine yakın, sonra doğanlar daha ilerilere sürüklenip daha dışa yerleşir.

Büyüme kolonisi (growth cone) kesin olarak tanımlanmış bir yol boyunca in vivo gelişmekte olan nörite kılavuzluk eder

kültürde akson ve dendritlerin oluşması sırasında gelecekte akson olacak uzantılar, dendritlerden daha hızlı büyür ve çatallaşmaya başlar

NGF nörit uzamasını etkiler

Genç bir zebra balığında gözden beyine nöral harita

Retinanın farklı bölgelerinden aksonlar tektumdaki bir itici molekül gradyantına farklı yanıt verir:

Tektal zar üzerinde uzayan retina aksonlarının seçiciliği

**Normal bir hayvanda retinokortikal harita
başlangıçta bulanık ve düzensizdir, sinaps elenmesi
ile netleşir.**

**Sinapslar elektriksel etkinliğe bağlı olarak zayıflar
veya güçlenir.**

“Birlikte ateşleyen nöronlar, birlikte bağlantı yapar”

Bitki gelişimi

Arabidopsis thaliana

***Arabidopsis* genomu gelişimsel denetim genleri yönünden zengindir, mutant üretimine elverişlidir**

***Arabidopsis thaliana*'da embriyo gelişiminin iki aşaması**

(Embriyonik gelişim bir kök sürgün ekseninin oluşması ile başlar ve tohum içinde son bulur)

Bitki büyüme düzenleyicileri

Büyüyen bir kök ucunun yapısı

Bitki büyüme düzenleyicileri etilen ve giberellik asitle muamele sonucu mikrotübü dizeleri üzerindeki farklı etkilerden dolayı etilenle muamele edilen fideler kısa ve şişman, giberellik asitle muamele edilenler ise ince uzun sürgün verir (yeni selüloz lifleri mikrotübüllere paralel depolanacağı için)

Bitkilerde tekrarlayan örüntü her bir meristemdeki mikroskopik ilkeller takımından gelişimle ilgilidir

Genç tütün bitkisinin sürgün tepesi

(Yaprak ilkellerinin ortaya çıkışlarının kısa aralıklarla ve sürgün gelişiminin çok erken evresinde meydana geldiği ve yaklaşık 100 hücreden geliştiği görülmektedir.)

Sürgün tepe meristemini koruyan geri besleme döngüleri

Bitki yapısının mutasyonla dönüşümü

(tb1 başak oluşumu için gerekli bir gendir)

Homeotik seçici genler bir çiçeğin kısımlarını belirler

***Arabidopsis* homeotik mutasyon örnekleri**

***Arabidopsis* homeotik seçici gen ifadesi**