

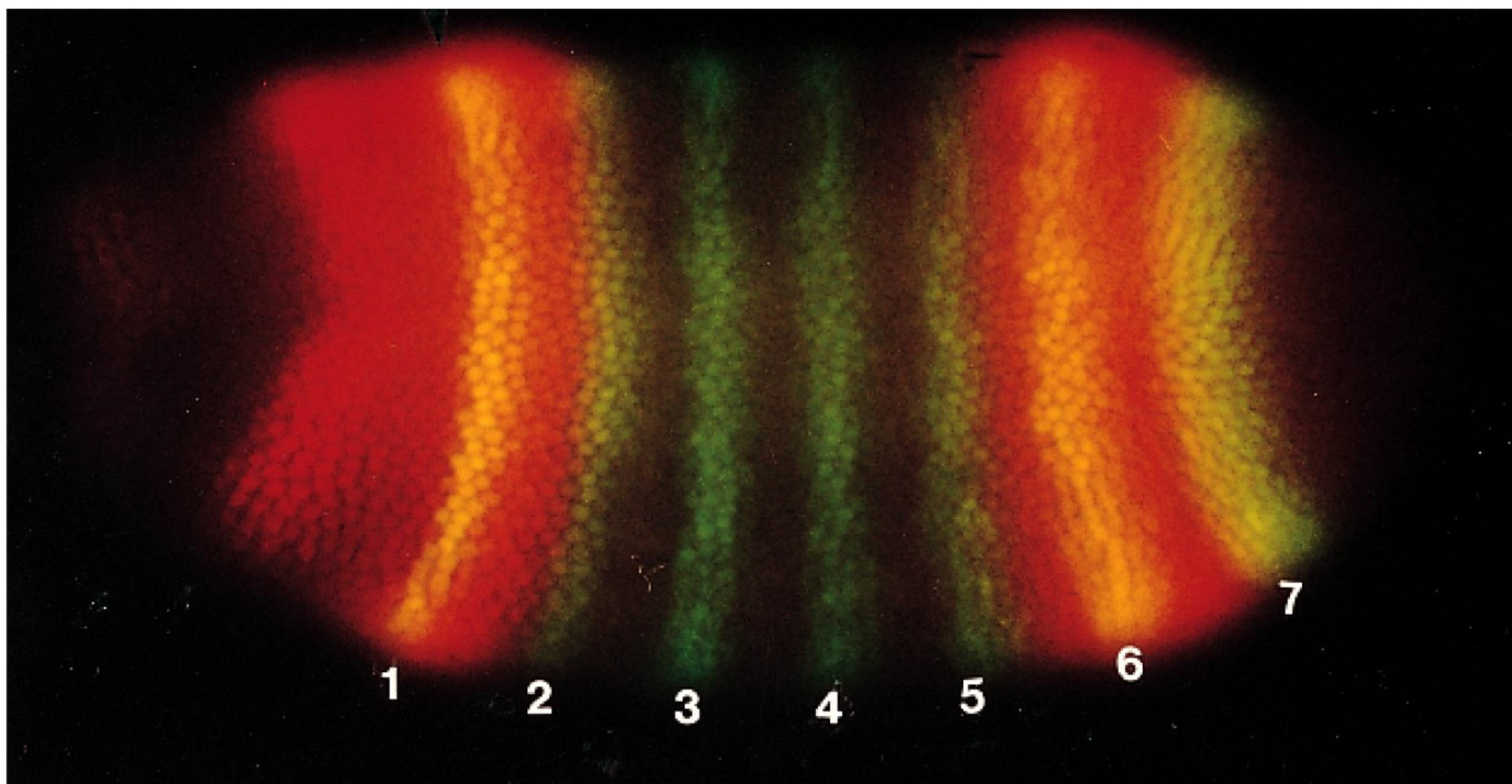
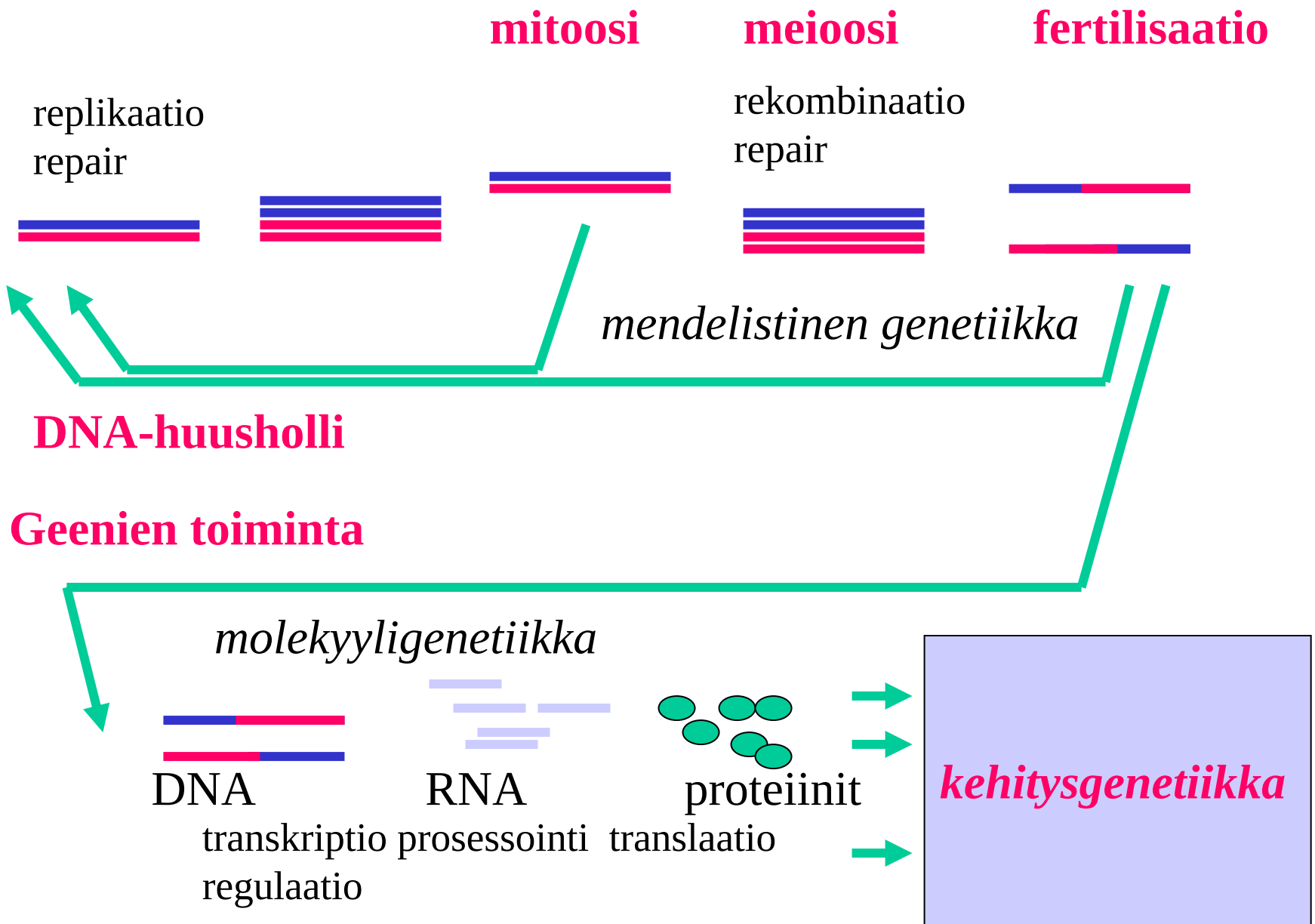


Figure 7-54 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Genetiikan perusteiden miellekartta

# Genetiikan perusteiden kolmas jakso

**Miten geenitoiminnasta syntyy pätevä yksilö?**

Miten se pysyy/ei pysy terveenä?

Mikä sitä vainoaa?

**CELL 22, CD:llä**

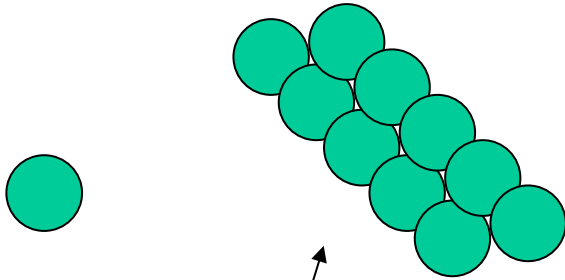
# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä



Hedelmöittynyt tsygootti alkaa useimmiten elämänsä yhtenä vaivaisena *soluna*, joka pystyy kaikkeen (omnipotentti).

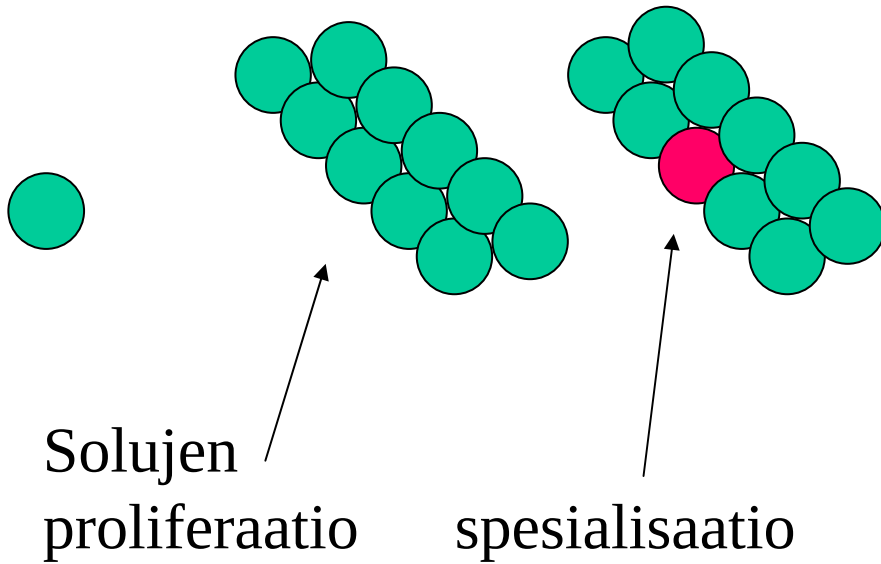
Haploidit solut voivat kehittyä monisoluisiksi (sammalet, levät)

# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä

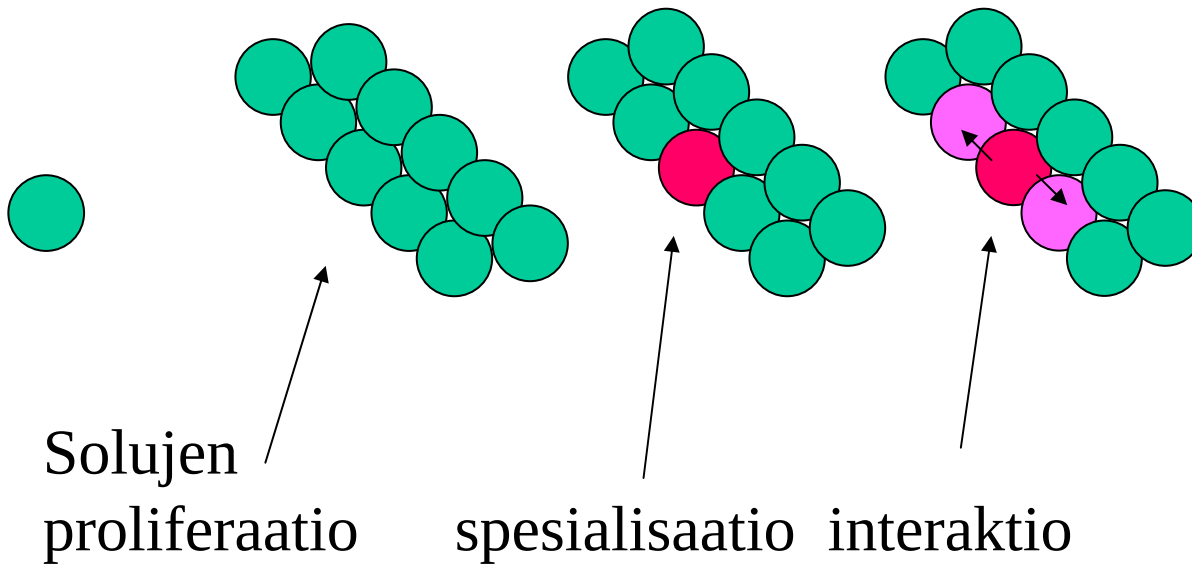


Solujen  
proliferaatio

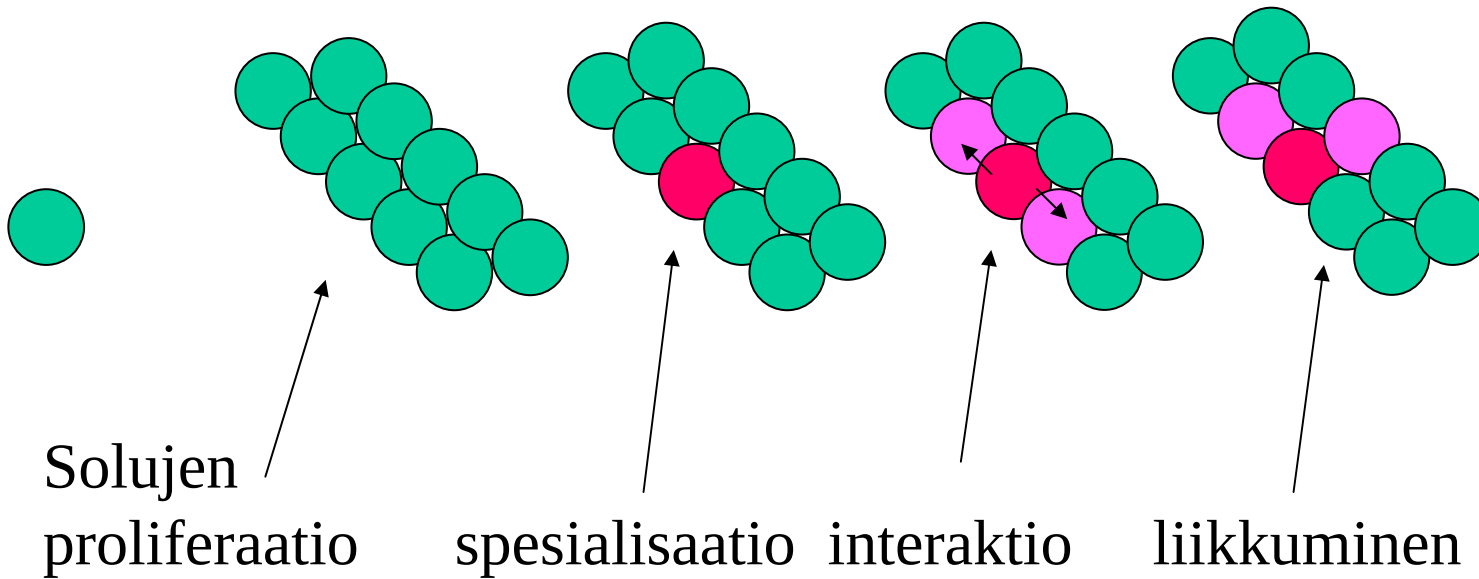
# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä



# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä

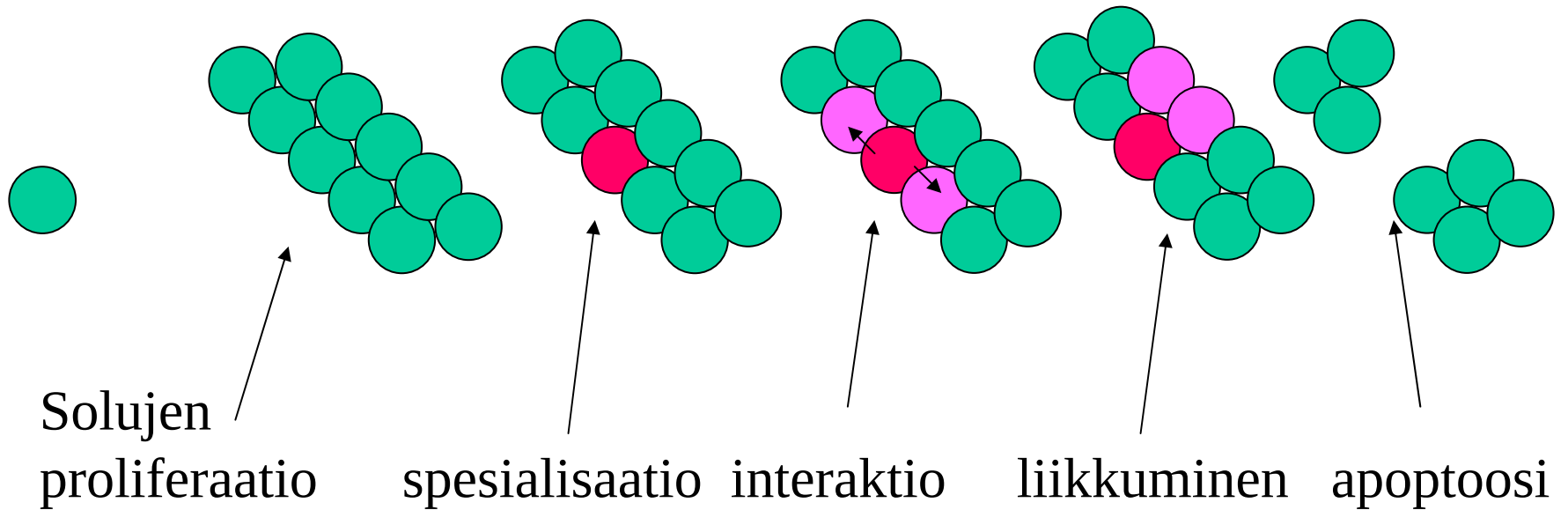


# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä

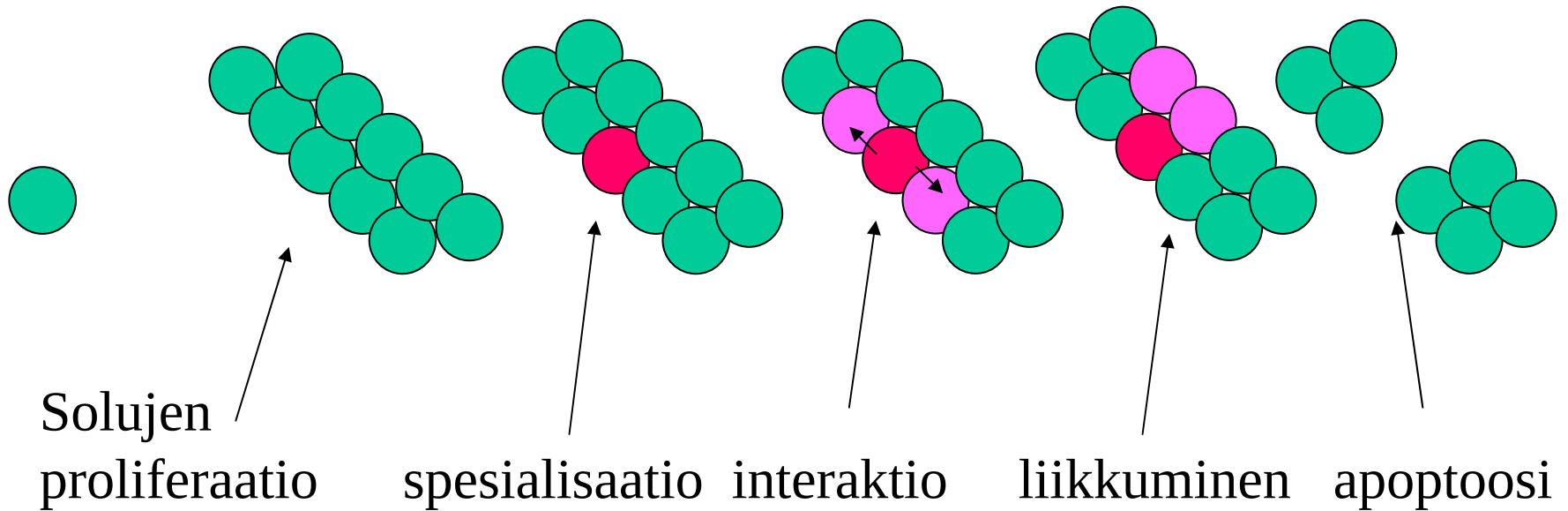




# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä

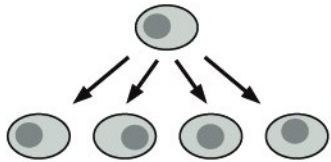


# Monisoluisten eliöiden kehityksen välttämättömyksiä

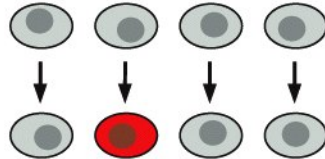


Lopulta nisäkkäässä on 200-300 erilaista solutyyppiä: *histologia*

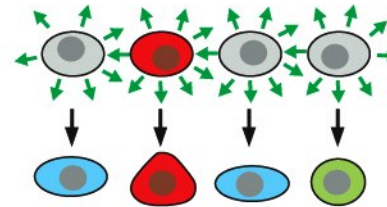
# CELL 1306



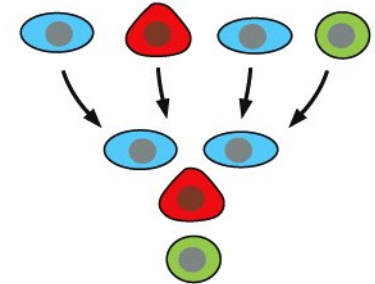
**CELL PROLIFERATION**



**CELL SPECIALIZATION**



**CELL INTERACTION**



**CELL MOVEMENT**

Figure 22-1 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

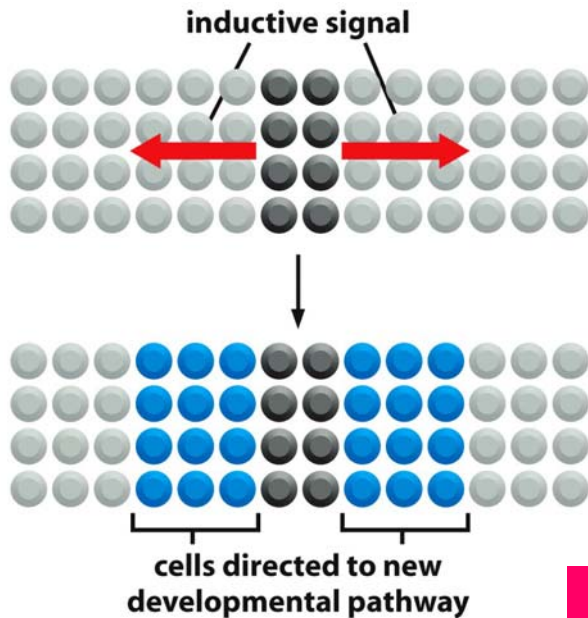
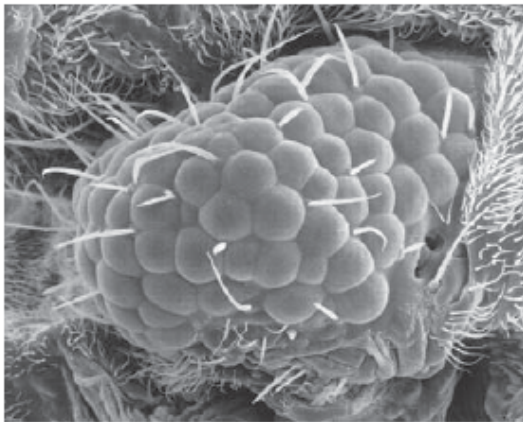
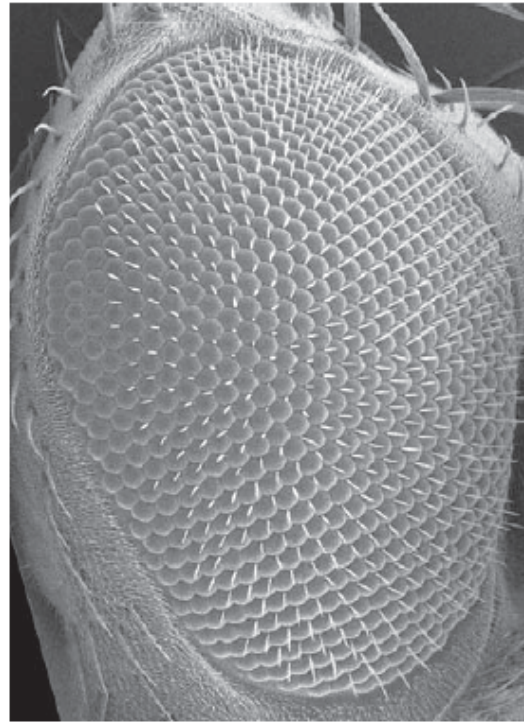
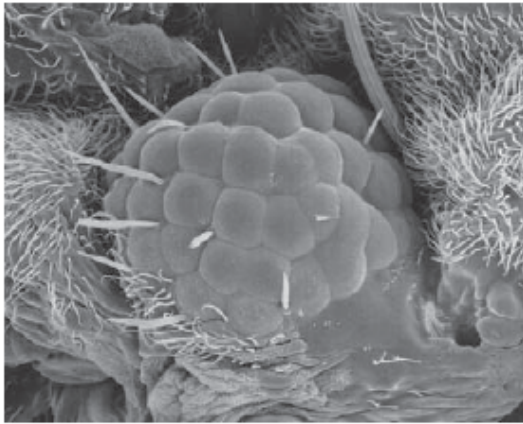


Figure 22-10 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# CELL 1313



(B)

50  $\mu\text{m}$

*Eyeless* ja *Pax6* ovat homologeja

CELL 466, 1306

*Pax6* otettuna  
squidista eli  
mustekalasta  
istutettuna  
*Drosophila* jalkaan  
aiheuttaa  
ektooppisen silmän

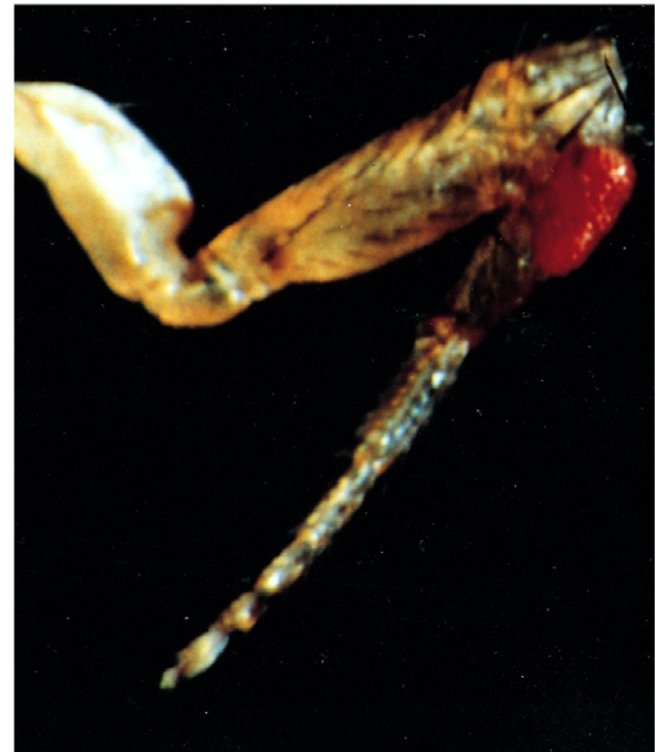
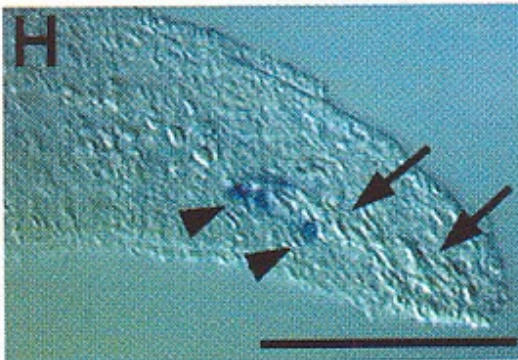
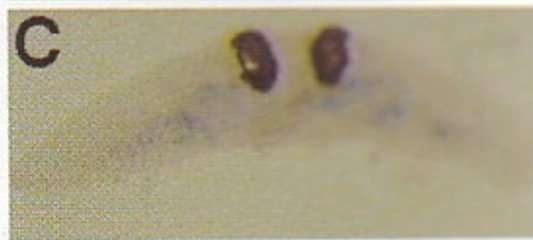
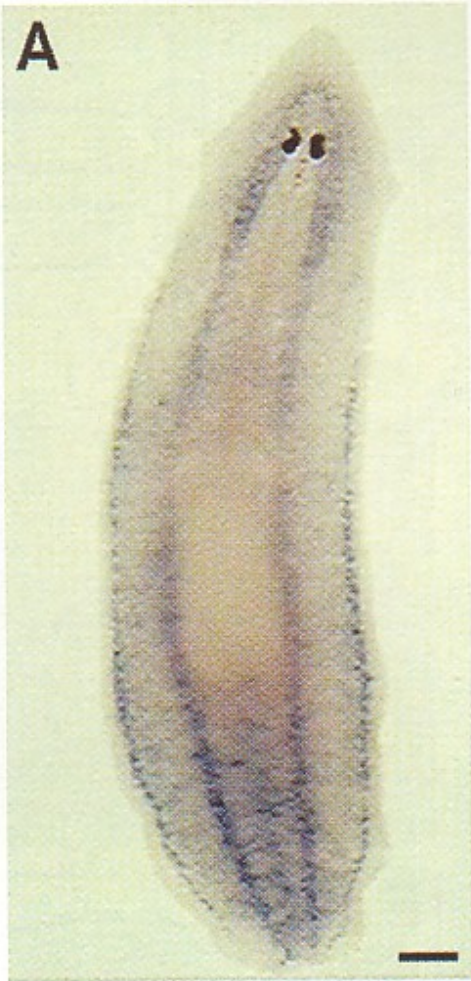


Figure 7-77b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)





*Pax6A* mRNA

laakamoto *Girardia tigrina*

Työn tarkoitus: *Pax6* geeniperhe on kaikkien silmien kehityksen takana, olivatpa ne millaisia tahansa. Planarialla on simppele kuppisilmä, joka aistii valon suunnan. Se regeneroituu niinkuin pääkin.

## **Yksilön kaikissa soluissa on samanlaiset geenit**

Niistä saadaan sopivasti säätelemällä aikaan moniosainen ja monipuolinen otus tai olio

Miten ihmeessä se on mahdollista?

Morfologinen kuvaus: *ontogenia, histologia*

Kausaliteetit: *kehitysbiologia, kehitysgenetiikka*

Meidän esimerkit:

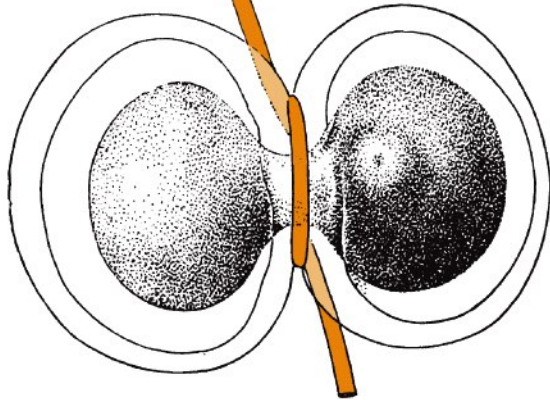
*Drosophilan* alkion kehitys ja aikuiselinten määräytyminen

*Caenorhabditiksen* jakautumisen ajoitus ja apoptoosi

*Arabidopsiksen* alkion suunnat ja kukan kehityksen ohjaus

Spemann 1938

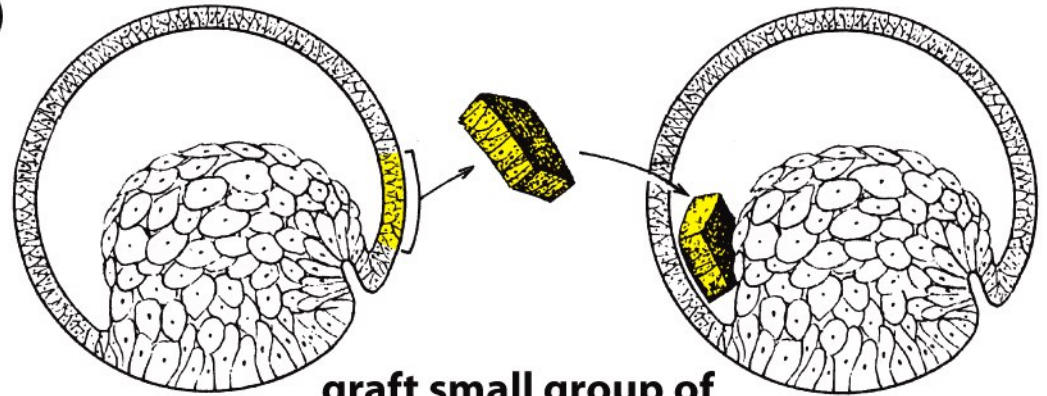
(A)



2-cell embryo  
split almost in two  
by hair loop



(B)



graft small group of  
cells into host embryo

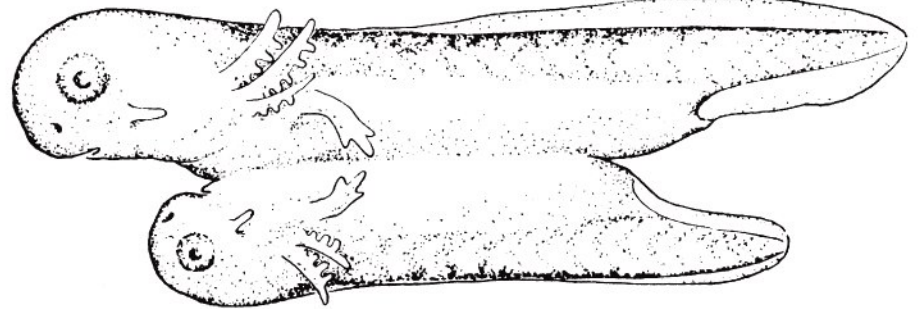


Figure 22-6 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Historiallisesti sammakoilla ja vesiliskoilla oli keskeinen rooli ontogenian selvittämisessä.

CELL 1311

## Ensimmäinen esimerkki:

*Drosophila* kehitys:

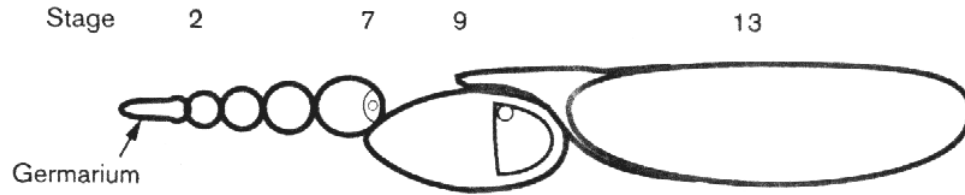
- munan jakaminen erilaisiin kohtaloihin
- aikuiselinten syntyminen

Syy: geneettisenä esimerkkieliönä *Drosophilasta* ruvettiin ensimmäisenä saamaan selville *geenitason* asioita kehityksestä.

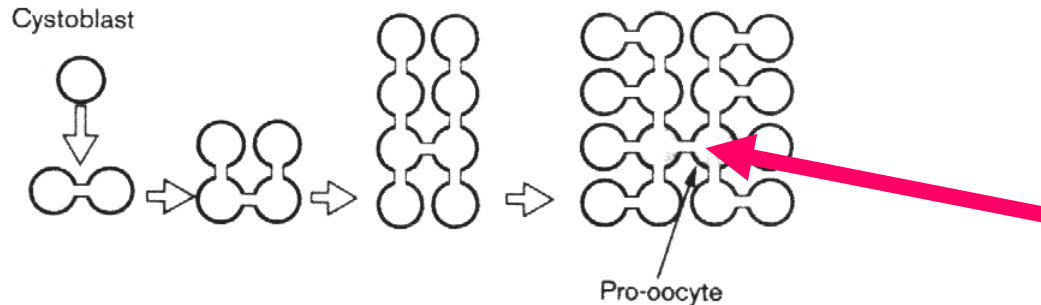
Selkärankaisten kehitys on tietysti morfologisesti erilaista, mutta *geenien keskinäisen toiminnan mallit* tarvitaan senkin ymmärtämiseksi



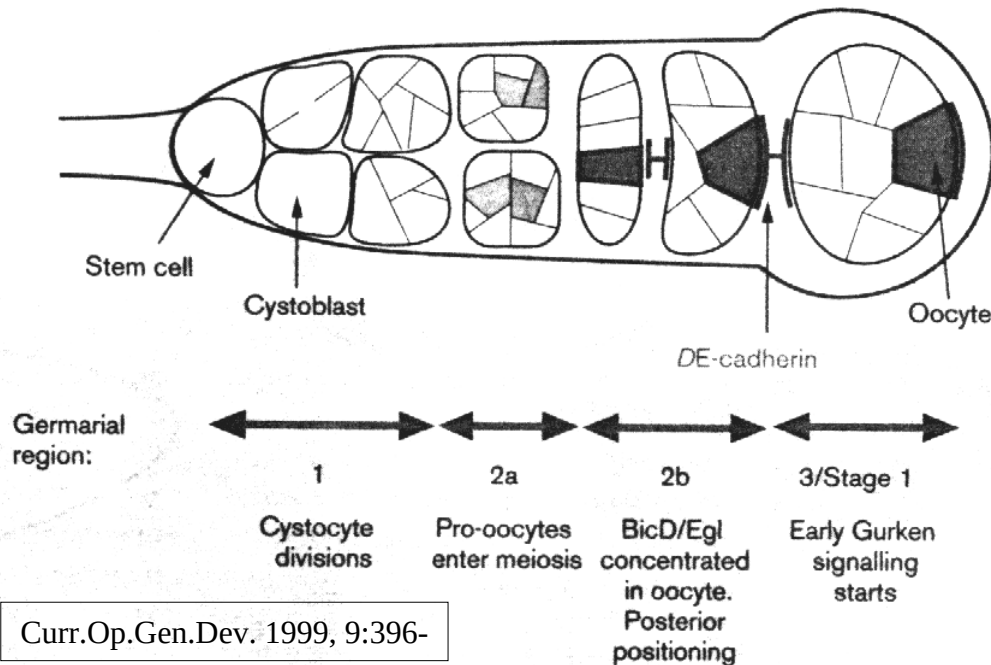
**(a) Ovariole**



**(b) Germline cyst formation**



**(c) Oocyte determination and positioning**

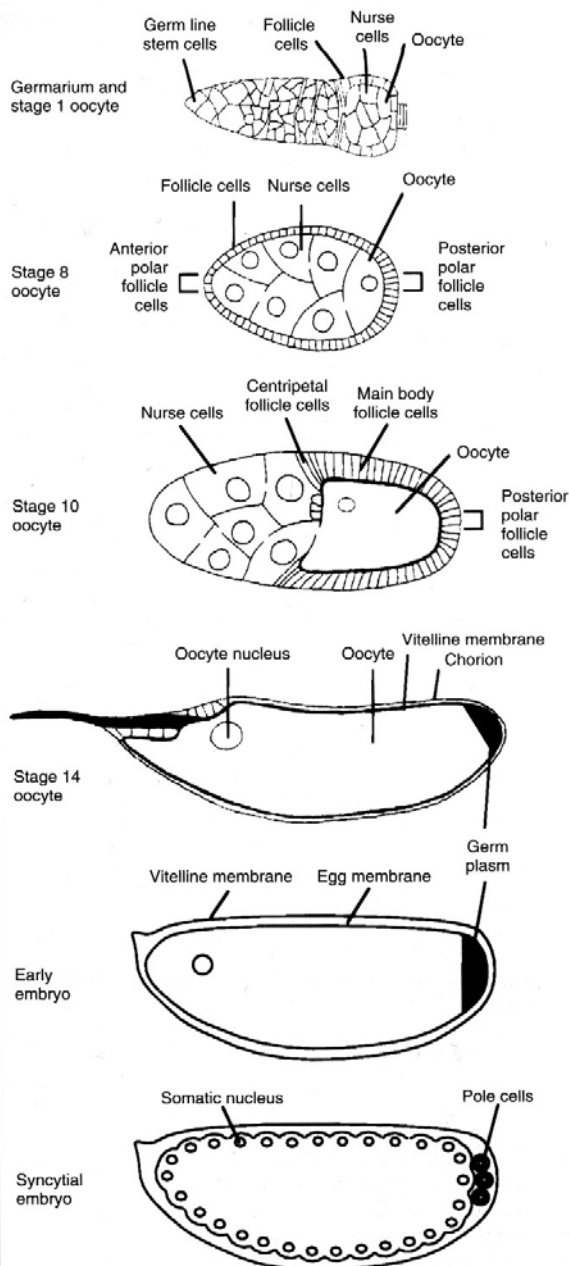


*Drosophila*n alkion kehitys alkaa oogeneesista (eli munan synnystä):

neljä mitoosia ja vasta sitten meioosi, jommassa kummassa kahdesta keskeisestä solusta

Näin syntyy munasolu ja sen 15 täyssisarusta, syöttösolut eli nurse-solut

## Stage of development



## Steps in oocyte differentiation and germ plasm assembly

The progeny of germ line stem cells divide to form a cyst of 16 cells.  
The future oocyte is specified.  
*OSKAR* and *GURKEN* RNAs are transported into the oocyte.  
*GURKEN* protein is uniformly synthesized in oocyte.  
Polar follicle cells express fasciclin III.

The fate of anterior-posterior follicle cells is specified by *gurken*.  
Microtubule network repolarizes to form an anterior to posterior gradient.  
*OSKAR* RNA and *STAUFEN* protein localization initiates.  
Oocyte nucleus migrates to the dorsal side.  
*GURKEN* RNA assumes an anterodorsal location.

*OSKAR* protein is synthesized at the posterior pole, and organizes the germ plasm.  
The fate of dorsal follicle cells is specified by *GURKEN* protein.  
Microtubules adopt a subcortical position, and cytoplasmic streaming begins.

Nurse cells extrude their contents into oocyte.  
*NANOS* and *GERM CELL-LESS* RNAs are localized to the posterior pole.  
The assembly of the germ plasm is completed.  
Follicle cells synthesize chorion and vitelline membrane.

*NANOS* protein is synthesized in a posterior to anterior gradient.

TIG March 1996 p. 103

Syncytial nuclei divide.  
Posterior-migrating nuclei enter the germ plasm and bud off to form primordial germ cells, or pole cells.

Hong et al. (2003) The p27<sup>cip/kip</sup> ortholog *dacapo* maintains the *Drosophila* oocyte in prophase of meiosis I. – Development 130: 1235-1242

Sykliini-riippuvainen-kinaasi-inhibiittori estää oosyytin tuman etenemisen, kun nursesolujen tumat suorittavat vielä muutaman replikaatiosyklin (ilman tuman jakautumista > polytenisaatio > geenien amplifikaatio)

Asia on hiukan erikoinen, sillä solulima on kaikilla yhteinen!

# Development

Volume 118 (4)

August 1993



vihreä: sytoskeleton  
punainen: nurse-solujen tumat

The Company of Biologists Limited



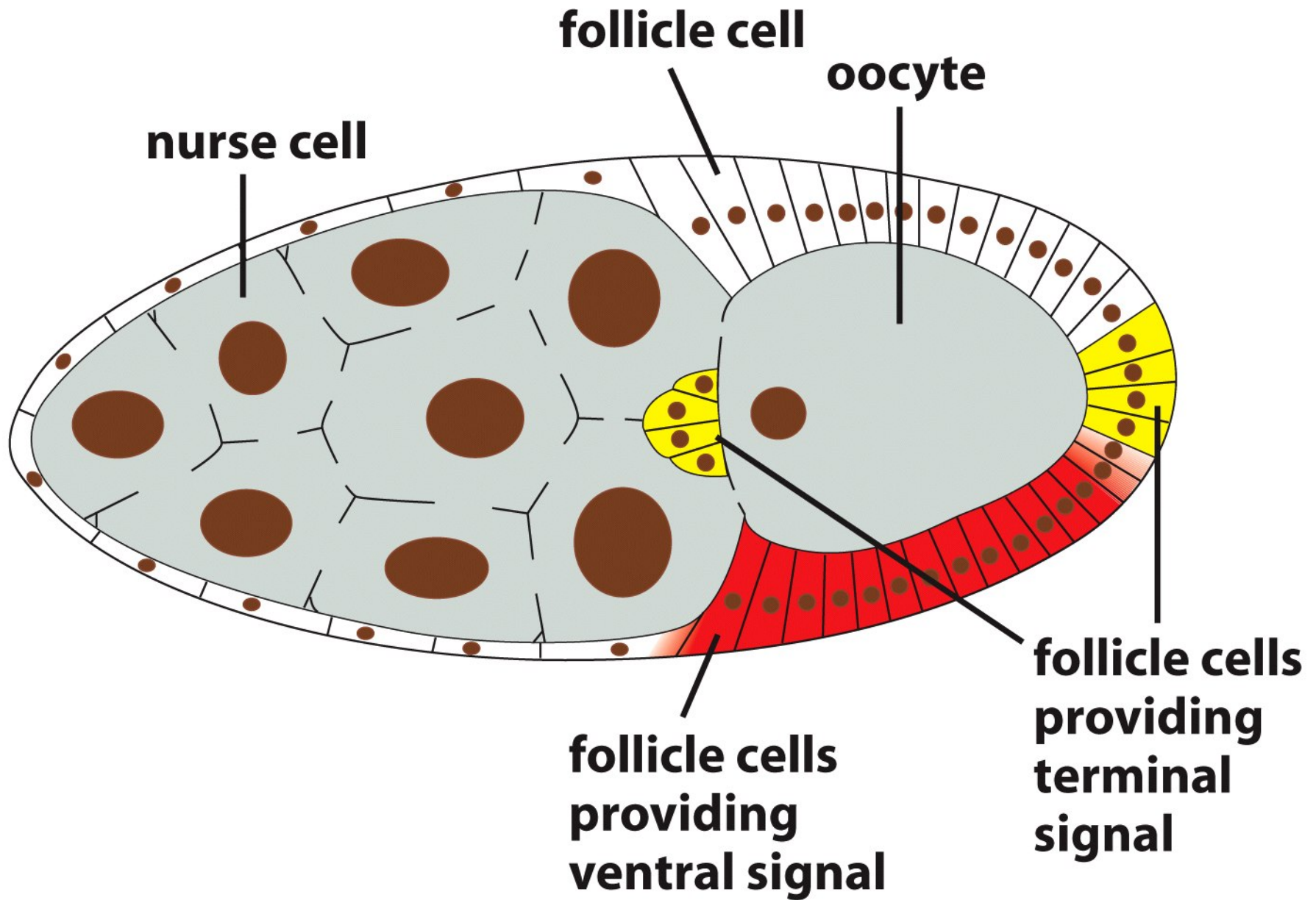


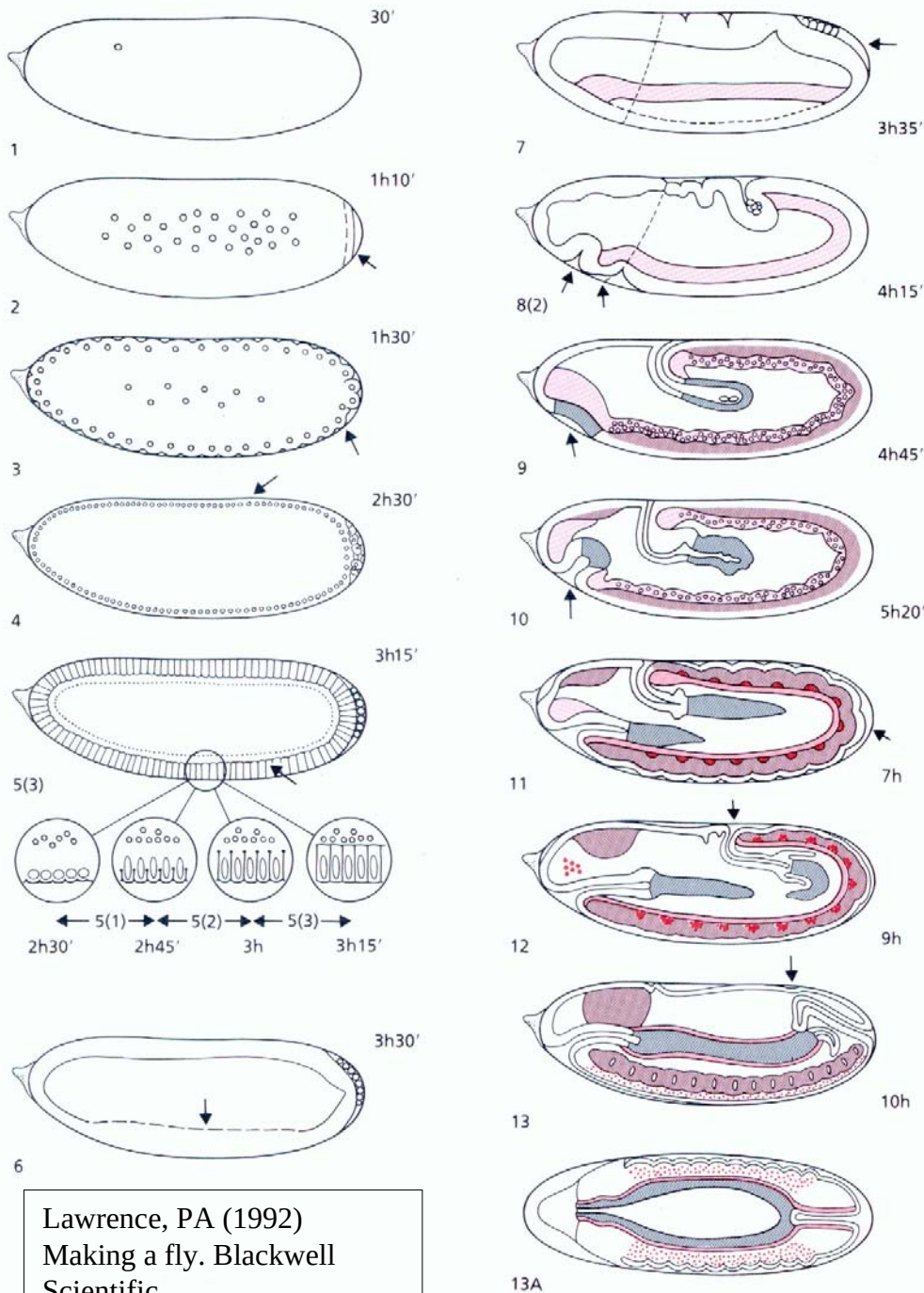
Figure 22-31 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# *Drosophila* alkionkehitys

muna

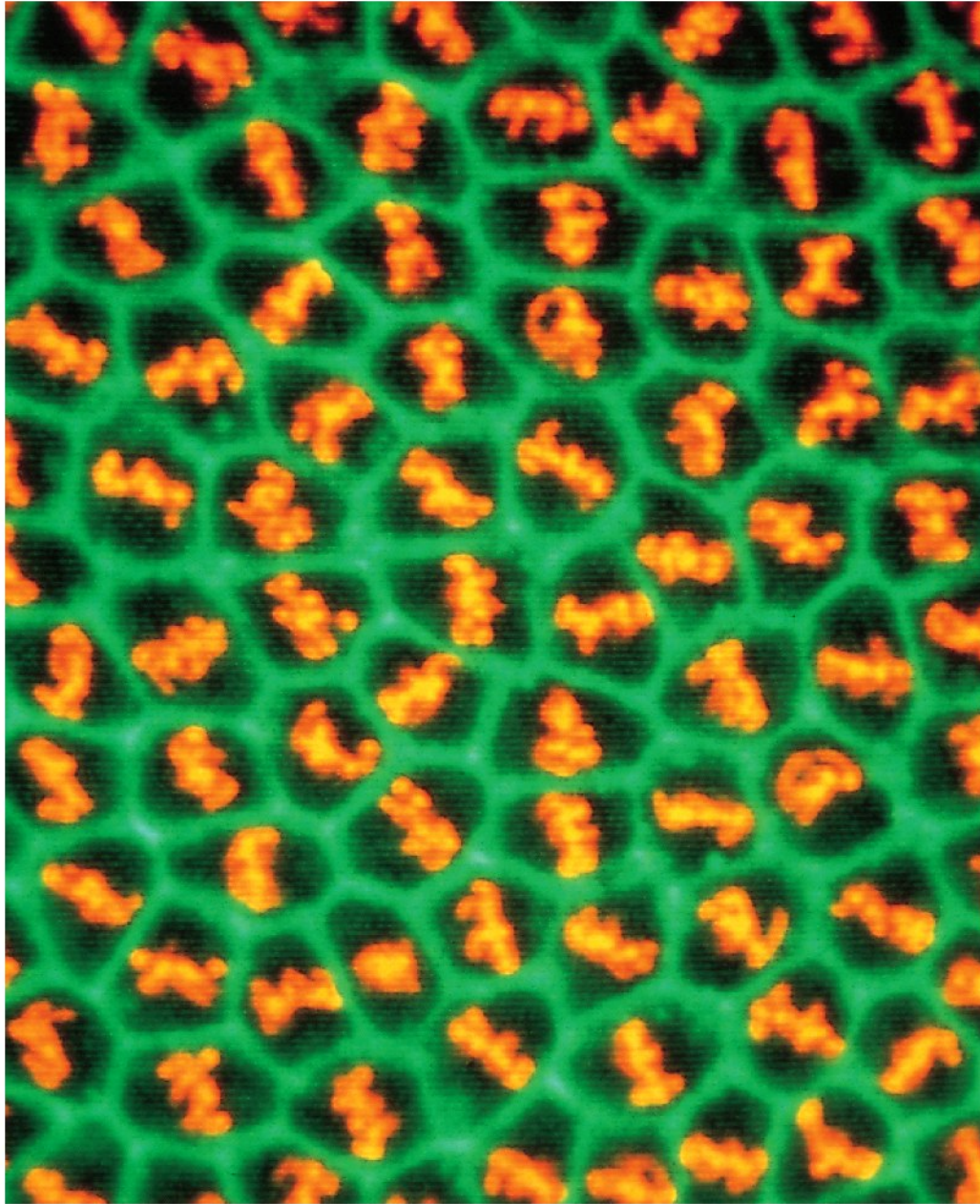
blastula

gastrulaatio



Lawrence, PA (1992)  
Making a fly. Blackwell  
Scientific

CELL 1331



Tumasukkuloita  
Drosophilan embryossa  
ennen soluseinien  
syntymistä

Figure 22-28b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Varhain 1970-luvulla **Eric Wieschaus** ja **Christiane Nüsslein-Volhard** rupesivat tutkimaan *Drosophila* varhaiskehitystä

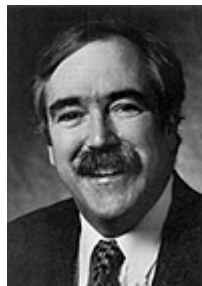
Koska varhaisvaiheen mutaatiot ovat usein alkiolle kohtalokkaita, niitä etsitään tarkastelemalla **näennäisesti steriilejä naaraita**

Mutaatiotiheyttä kasvatetaan EMS-käsittelyllä

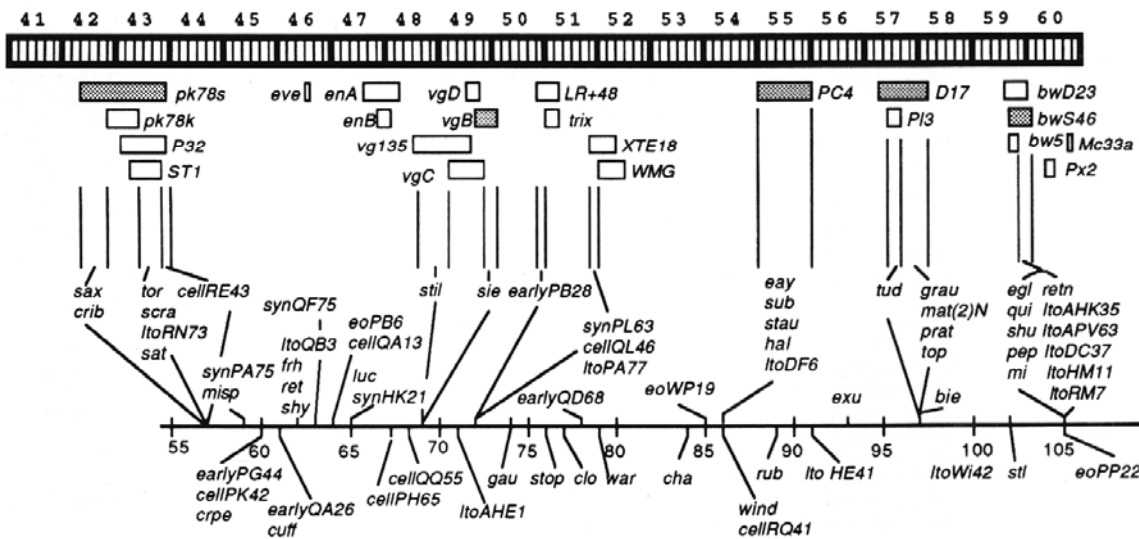
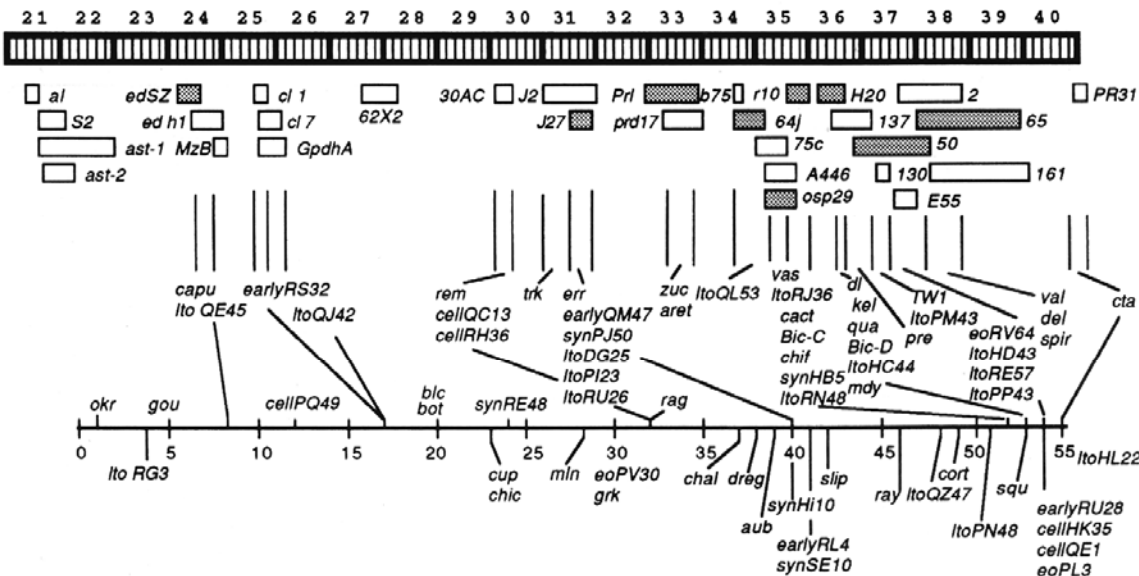
Miten letaali mutaatio siepataan? Käytetään balansoivia mutaatioita ja inversion sulkemia kromosomeja [TIETOISKU](#)

Yksi erikoisen laaja *mutation hunt* on julkaistu 1991 GENETICS-lehdessä

Nobelpalkinto [1995](#)





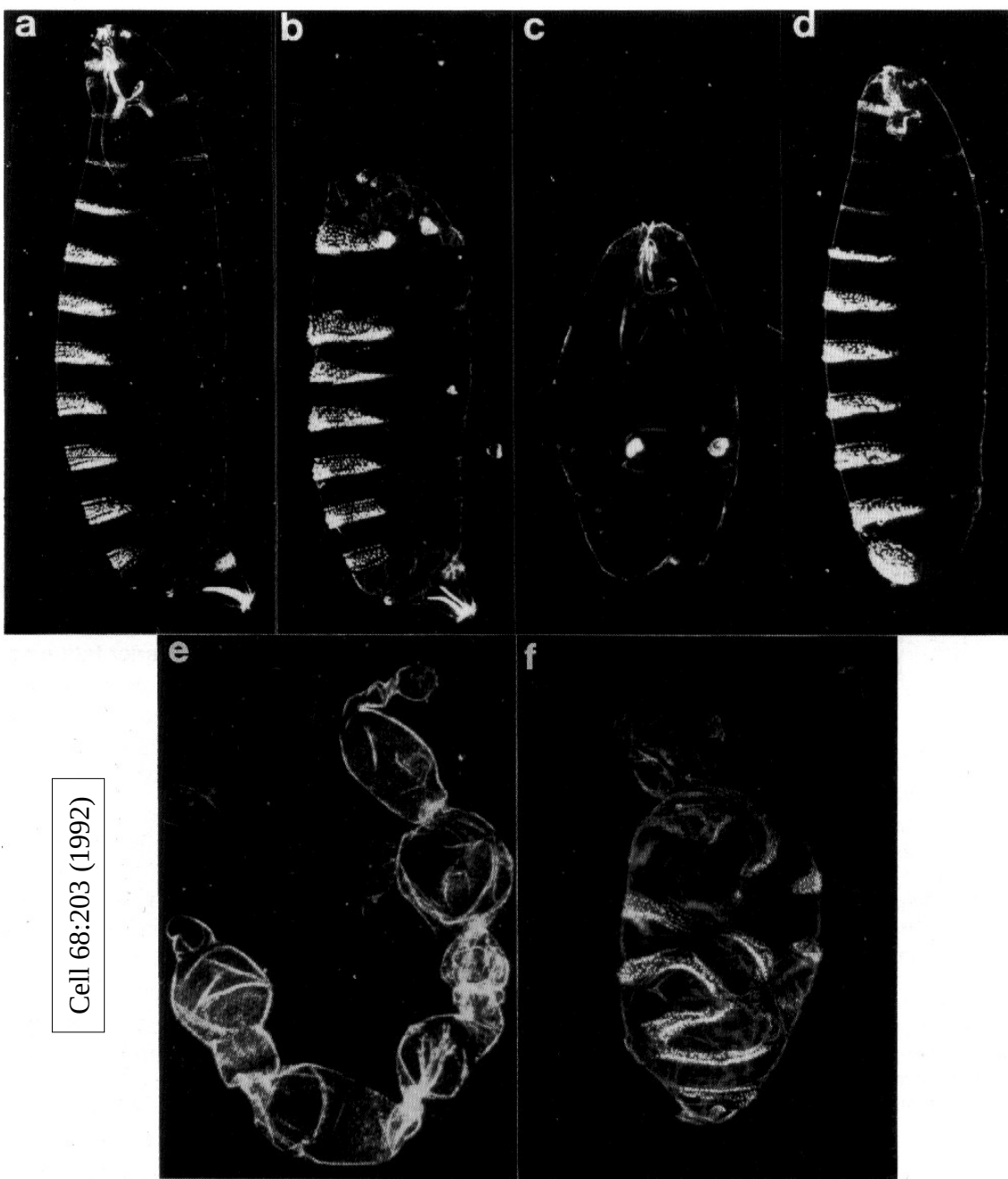


Tutkittiin  
**18 782** kakkos-  
 kromosomia  
EMS:in jäljiltä

Löydettiin  
**528** naaras-  
 steriiliä linjaa

Tutkittiin 18 782 mutatoitua kakkoskromosomia

- 528 linjaa olivat näennäisesti naarassteriilejä
- 62 linjaa: varhainen oogeneesi vialla, ei munia
- 333 linjaa: oogeneesi etenee vaiheeseen 8, sitten vikoja munissa
- 133 linjaa: munat näyttävät normaaleilta, mutta eivät kehity
- Yhteensä 140 lokusta eli geeniä kakkosessa vaikuttaa
- Kaikki eivät ole spesifisiä oogeneesille
- 13 varsin varhais-oogeneesi -spesifistä
- 70 tarvitaan keski- ja loppuvaiheen oogeneesissa
- 30 maternaaliefekti -letaaleja (= embryo kuolee)



a villi eli normaali

b anterior-vika (*bicoid*)

c posterior-vika (*oskar*)

d terminal-vika (*torso-like*)

e dorsalisoitu (*dorsal*)

f ventralisoitu (*cactus*)

Cell 68:203 (1992)

Figure 3. The Cuticular Patterns of Wild-Type and Mutant Embryos

(a) wild-type, (b) anterior (*bicoid*), (c) posterior (*oskar*), (d) terminal (*torso-like*), (e) dorsalized (*dorsal*), (f) ventralized (*cactus*).

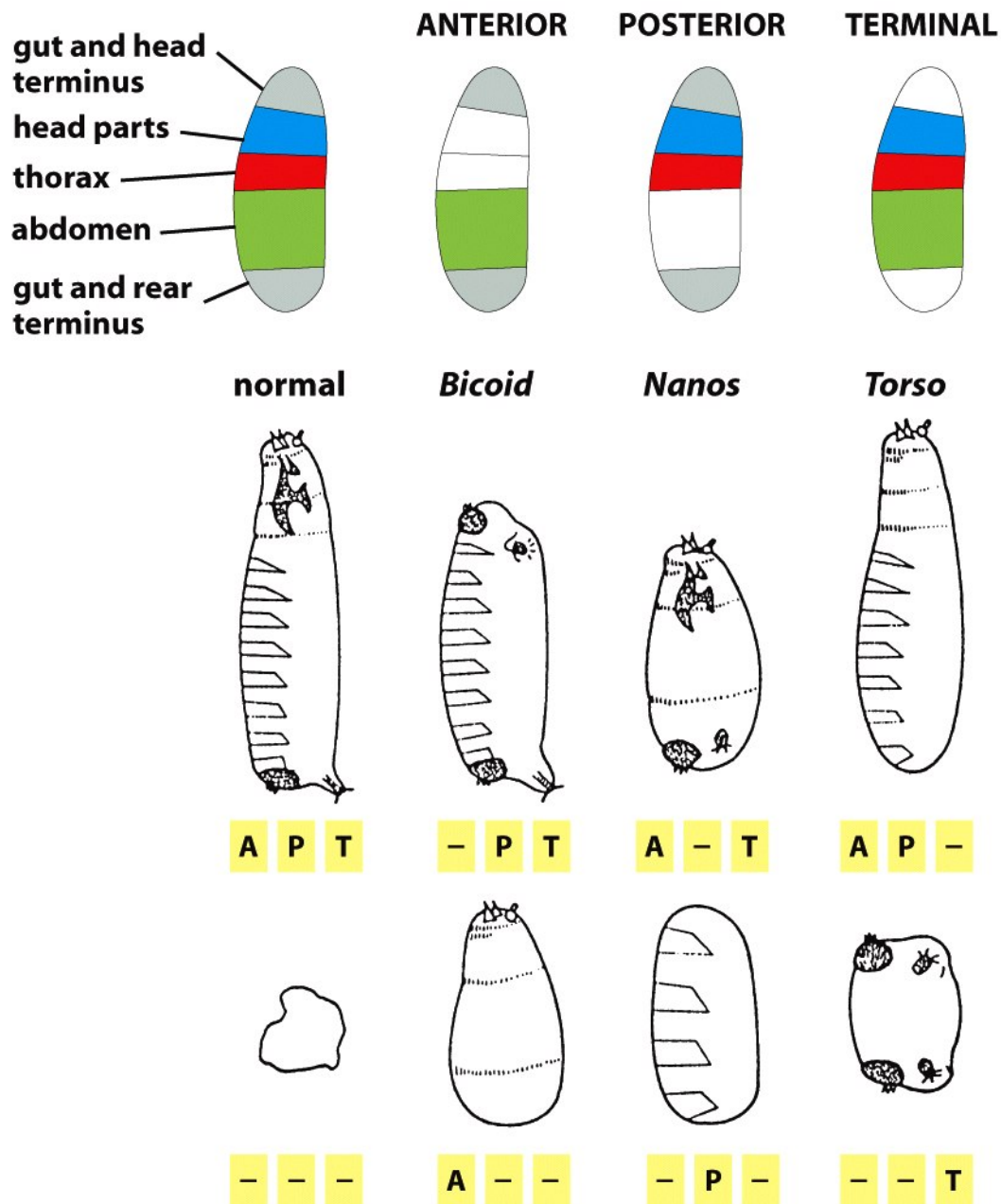
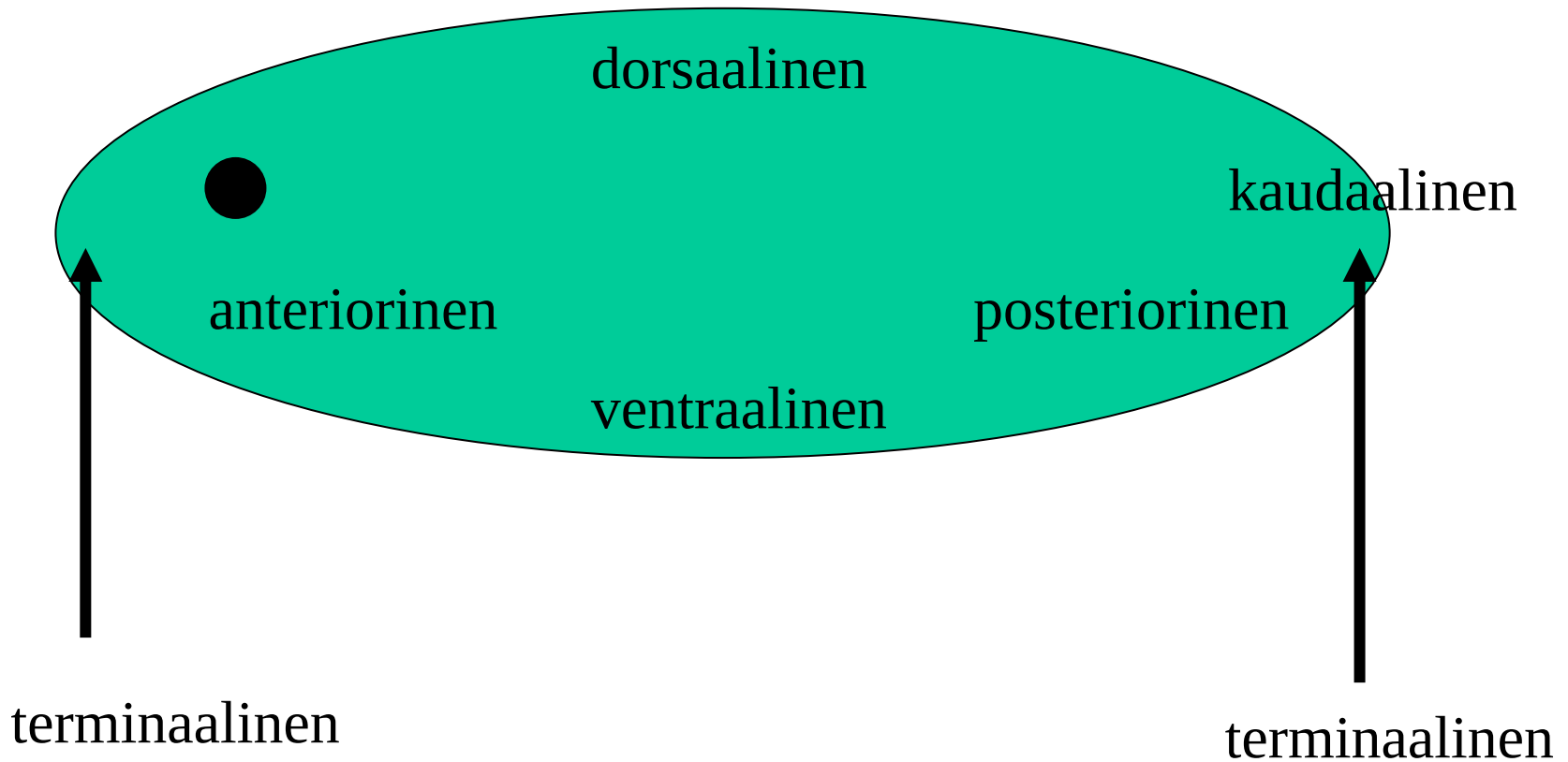


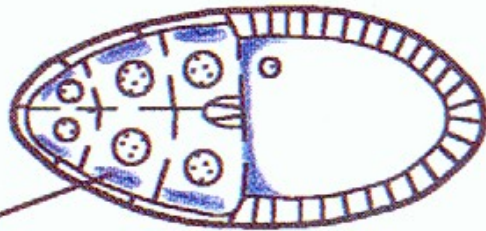
Figure 22-30 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Alkion pääakselit

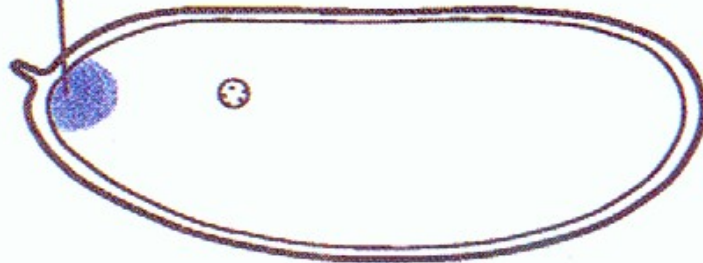




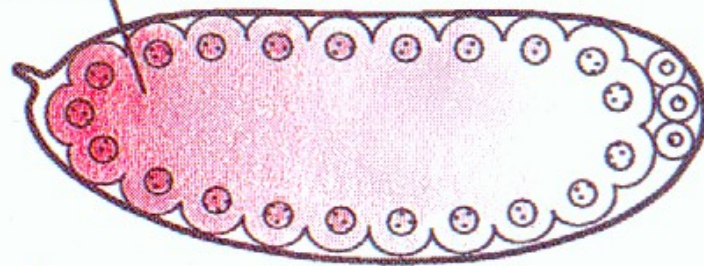
ANTERIOR



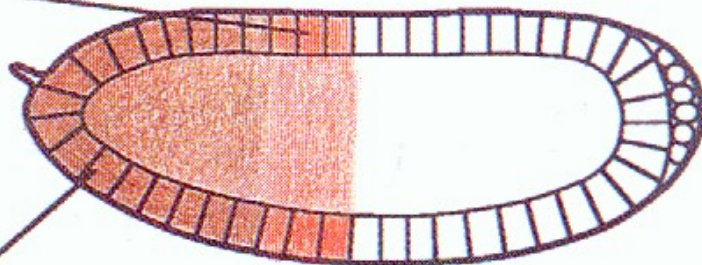
*bicoid* RNA



*bicoid* protein



*hunchback*  
RNA

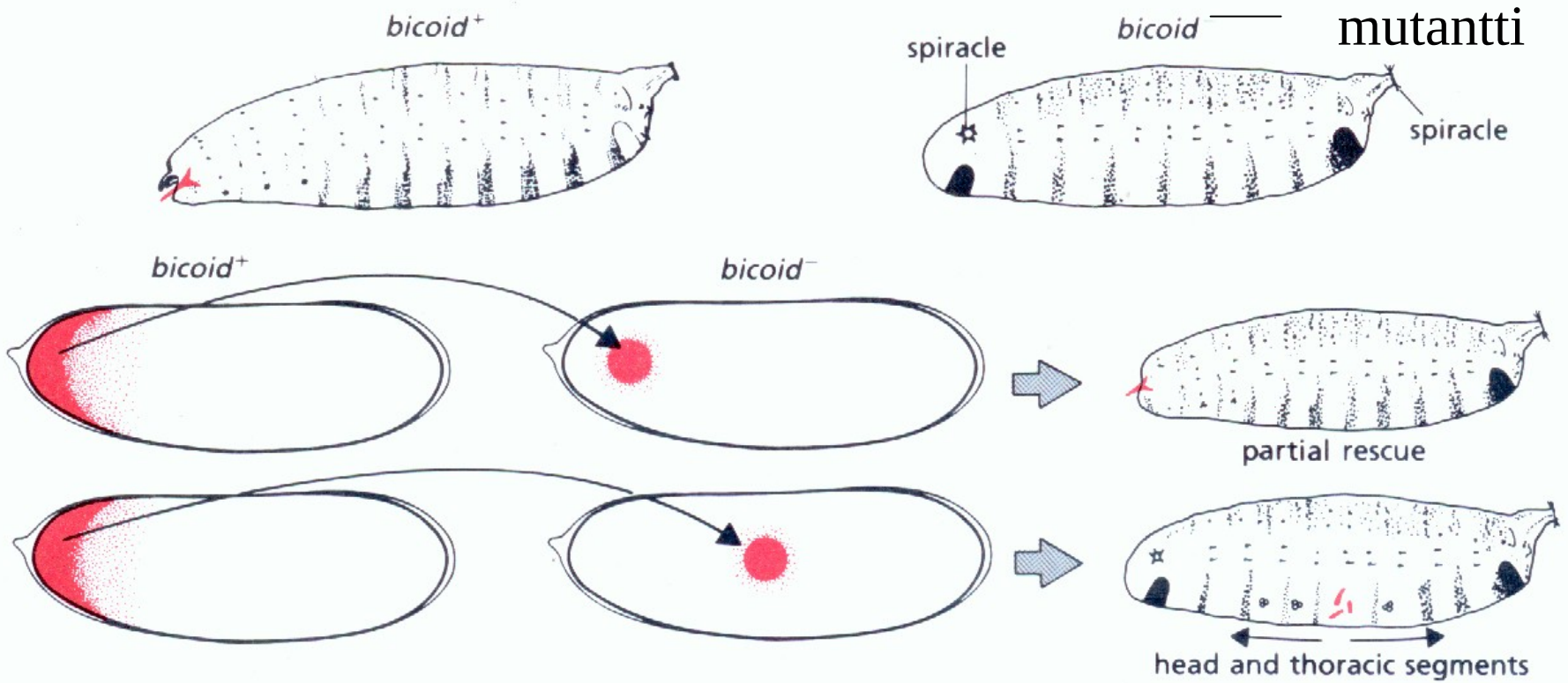


*gene X*  
RNA

# ETUPÄÄ

**bicoid** on ensimmäinen etupäätä merkitsevä viesti tsygootin tumille

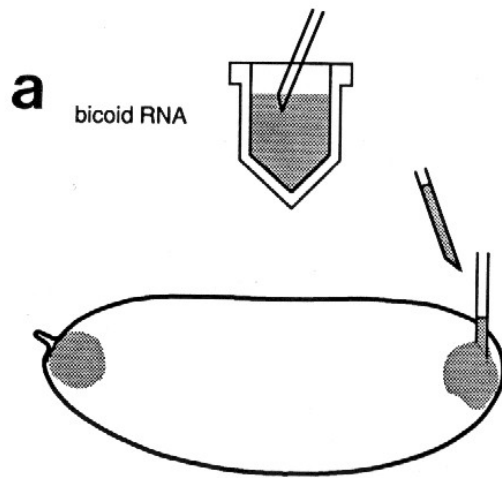
**bicoidin** tuottavat nurse-solut ja pitävät sopivasti sijoittuneena follikkelisolut: maternaalista kaikki



*bicoid* on etupäätä määrävän geenin (*bicoid*<sup>+</sup>) mutantti, jolla on kaksi peräpäätä (merkinä hengityspotken aukko, spiracle)

Jos villityypin munan etupäältä otetaan “jotakin”, mutantti “paranee” hiukan

Jos *jotakin* pannaan mutantin keskelle, pään aiheimia havaitaan keskellä



Injektoimalla *bicoid*-mRNA munan molempiin päihin saadaan kaksipäinen embryo ja toukka

[Sille käy huonosti: syö molemmista päistä ja halkeaa.]

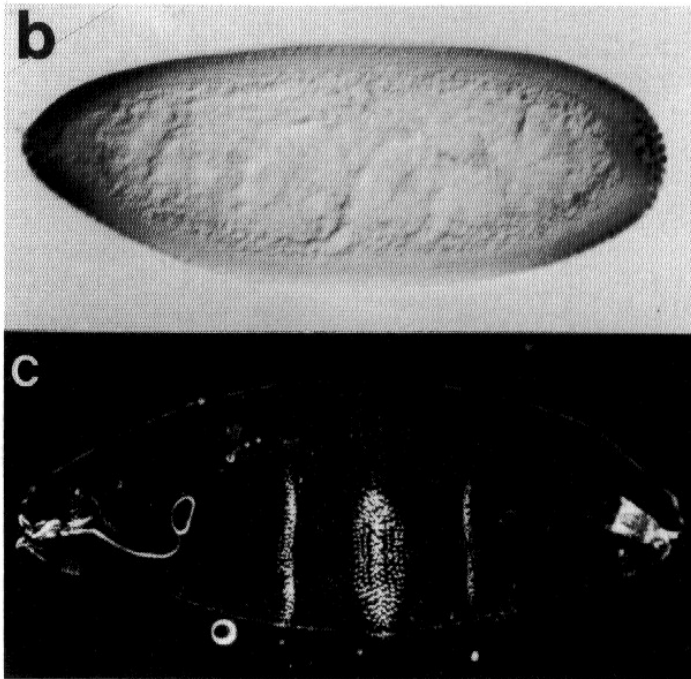


Figure 6. Injected *bicoid* RNA Can Induce a Second Anterior Pattern  
 (a) Experimental design. In vitro transcribed *bicoid* RNA is injected into the posterior end of wild-type embryos.  
 (b) The resulting double gradient of bicoid protein.  
 (c) The cuticular pattern of the dicephalic embryos that develop.

mother

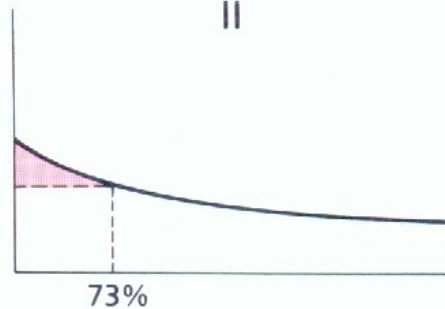
73%

I

*bicoid*<sup>+</sup> / *bicoid*<sup>-</sup>  
1 dose

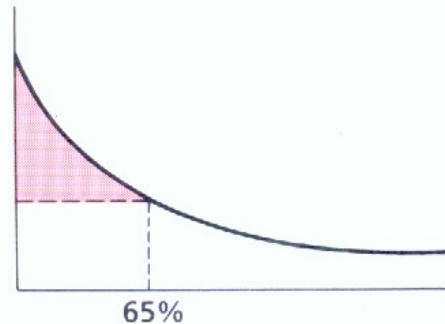
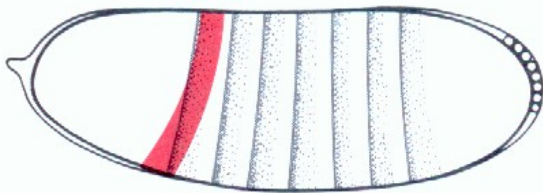


II



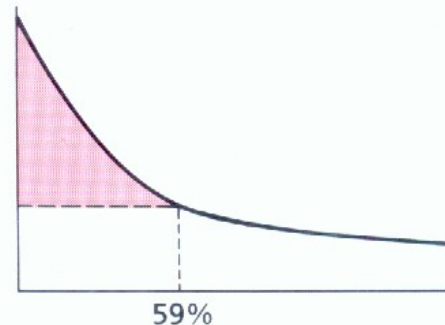
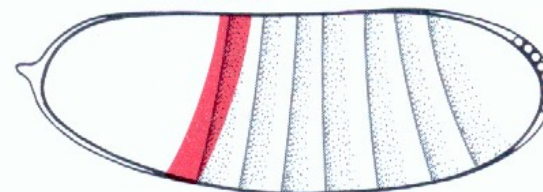
65%

*bicoid*<sup>+</sup> / *bicoid*<sup>+</sup>  
2 doses



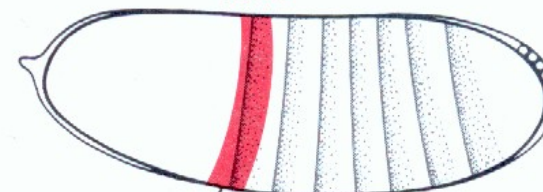
59%

Geenimanipulaatiota  
*bicoid*<sup>-</sup>  
4 doses

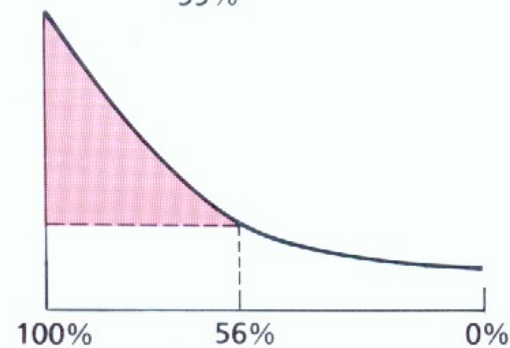


56%

*bicoid*<sup>+</sup>  
6 doses



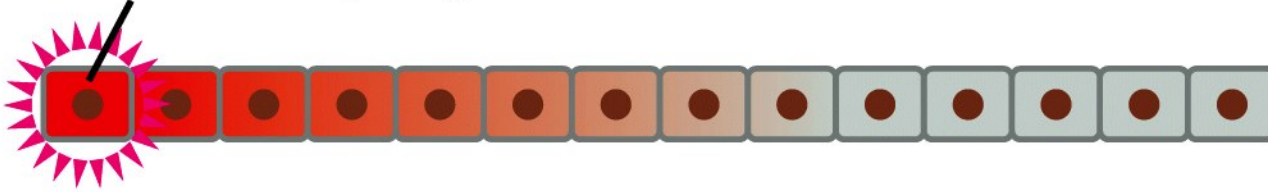
head furrow



Morfogeneettinen gradientti



source of morphogen



$t$  = time from start

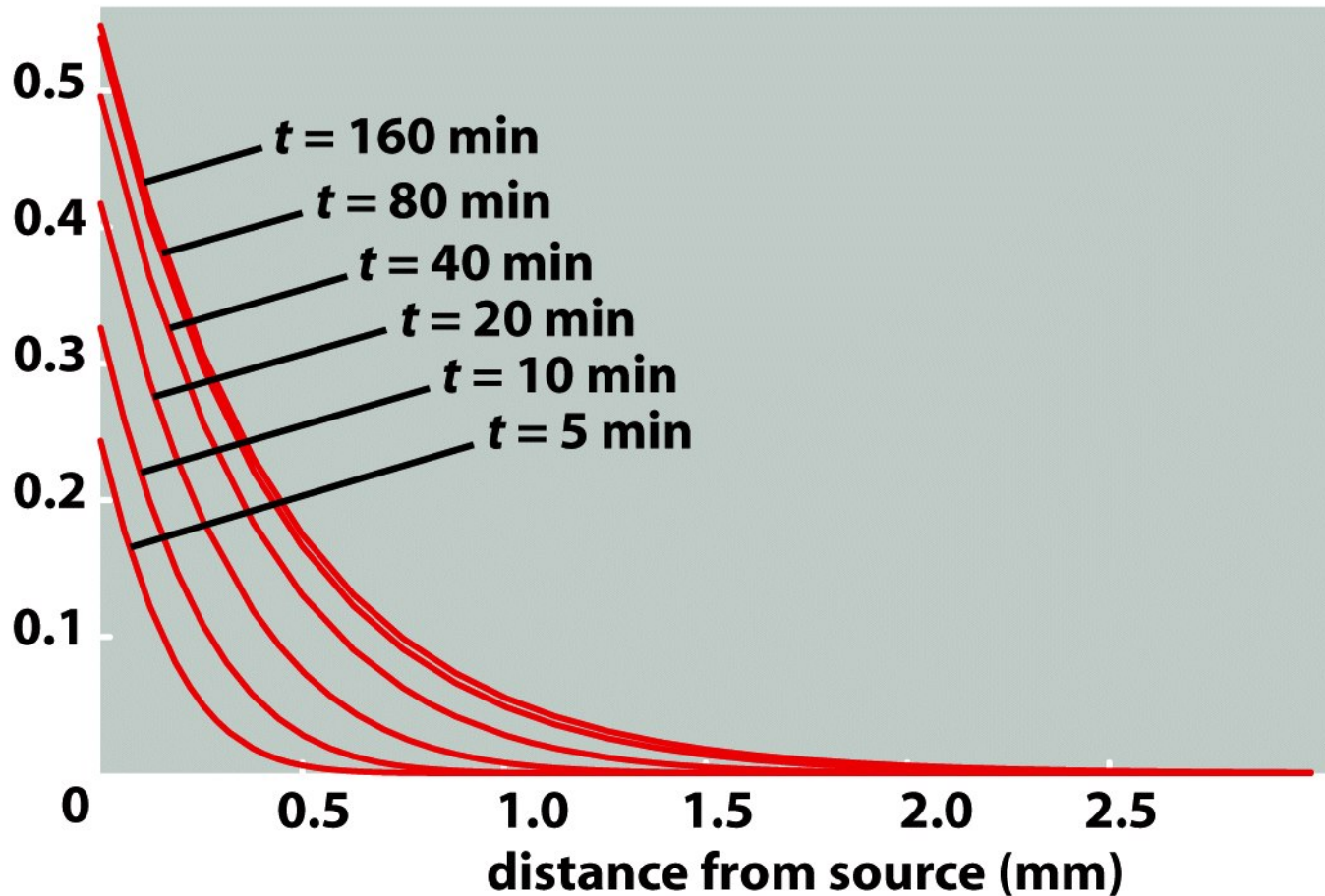
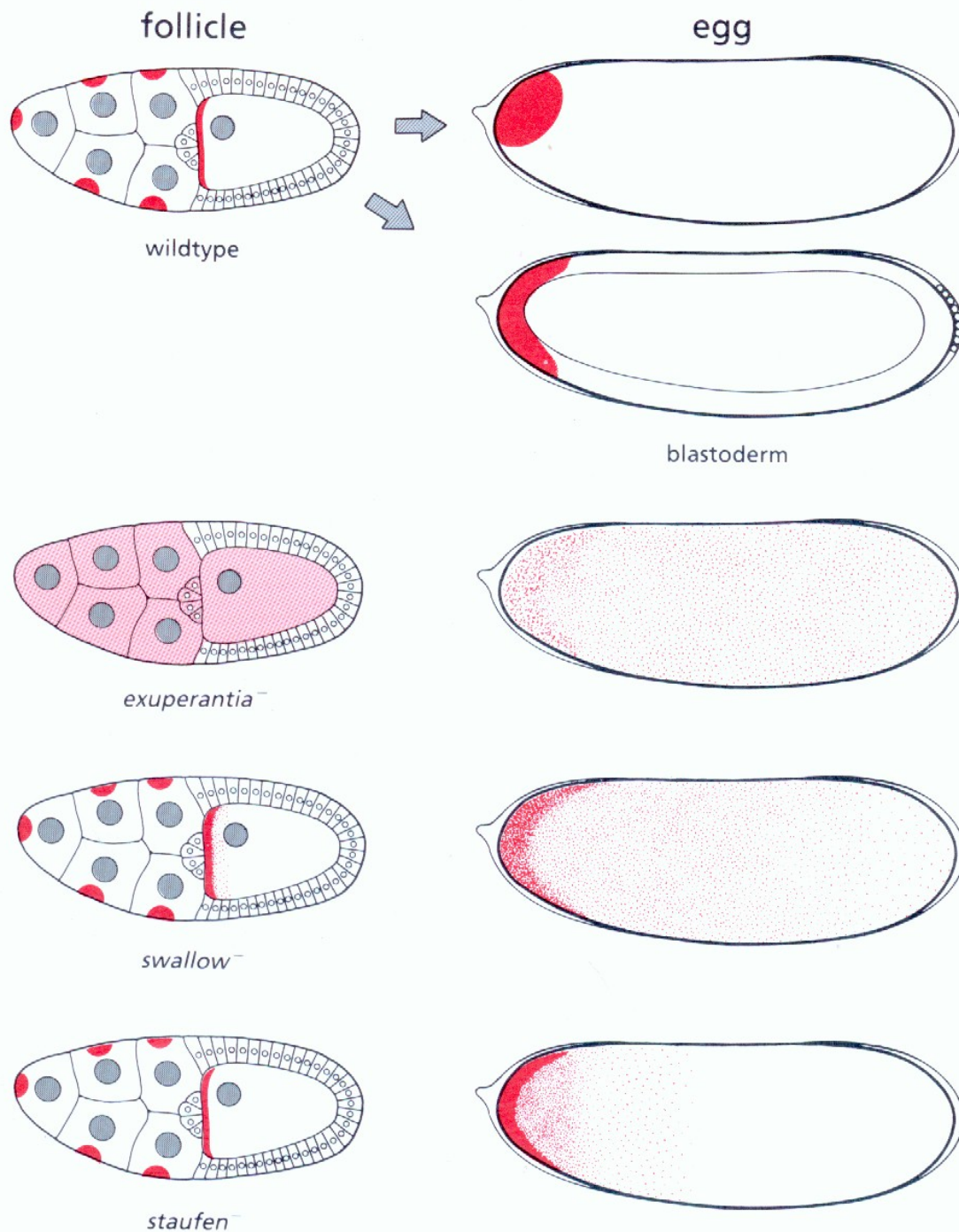


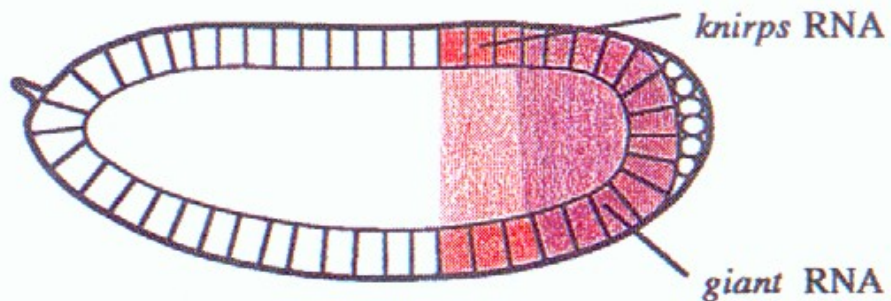
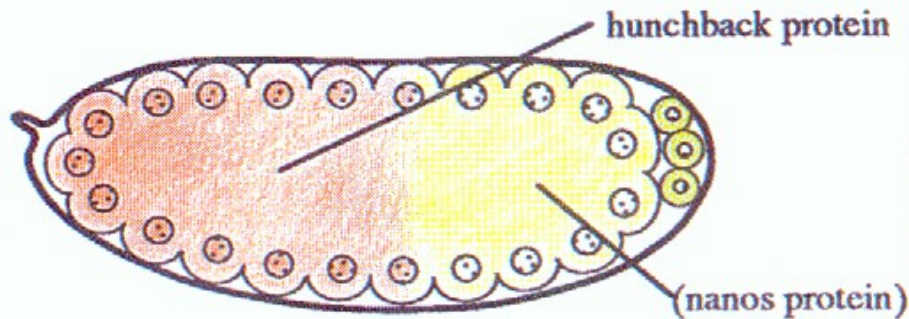
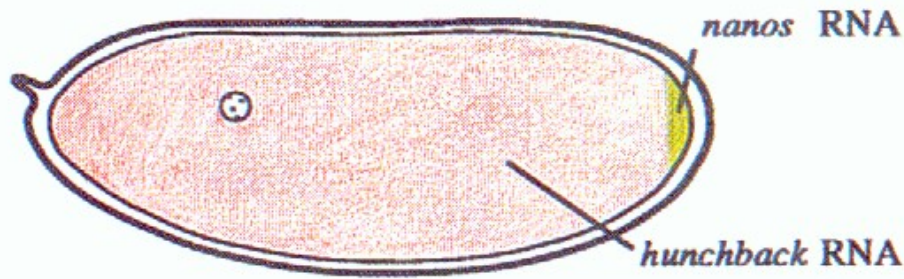
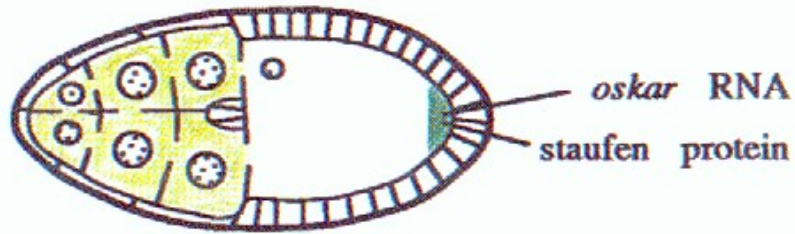
Figure 22-15 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



***bicoid* -mRNA:n**  
 sijainnin stabilointi  
 munassa ja  
 blastulassa riippuu  
 muiden geenien  
 toiminnasta  
 nursesoluissa ja  
 follikkelisoluissa



POSTERIOR



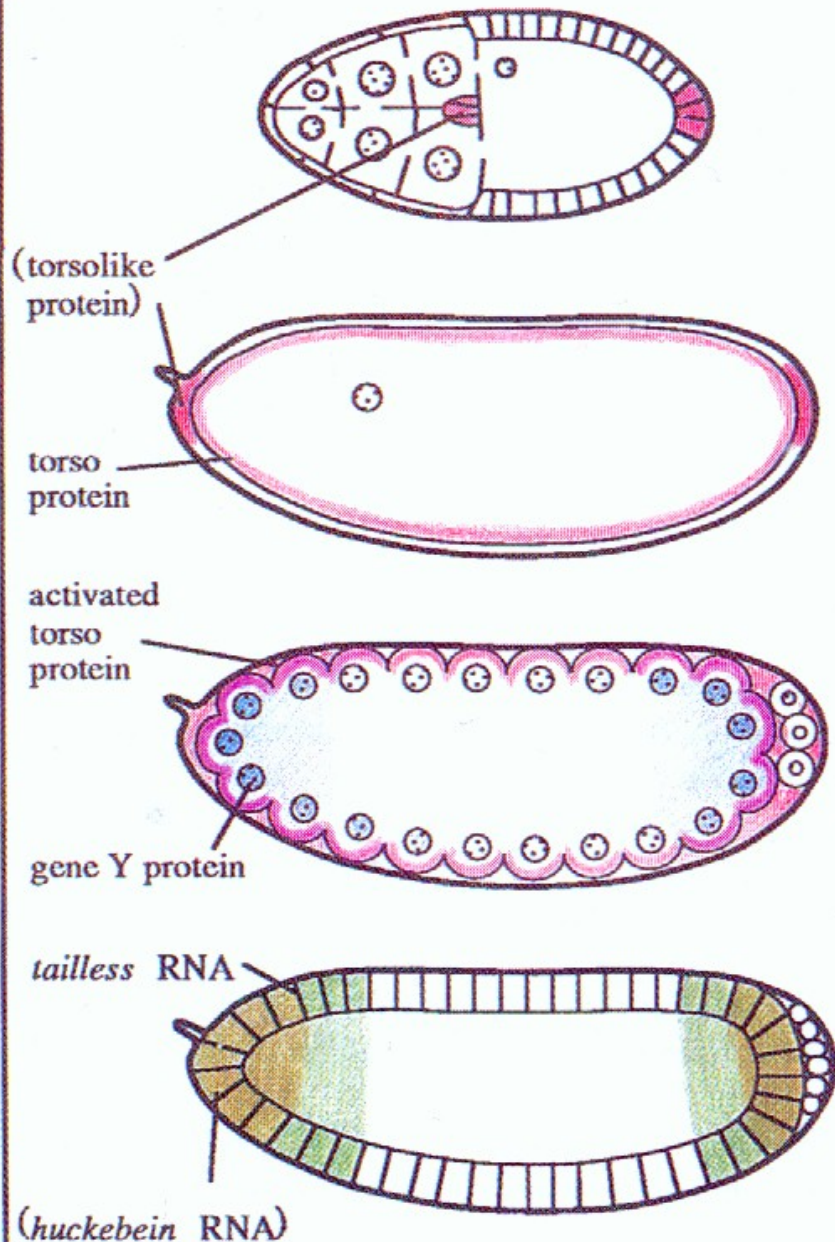
# TAKAPÄÄ

Takapään säätelyssä follikkelisolujen **stau**fen sitoo oskar- ja nanos-lähetäRNA:n paikoilleen

*hunchback*  
*knirps*  
*giant*

ovat jo gap-geenejä

## TERMINAL



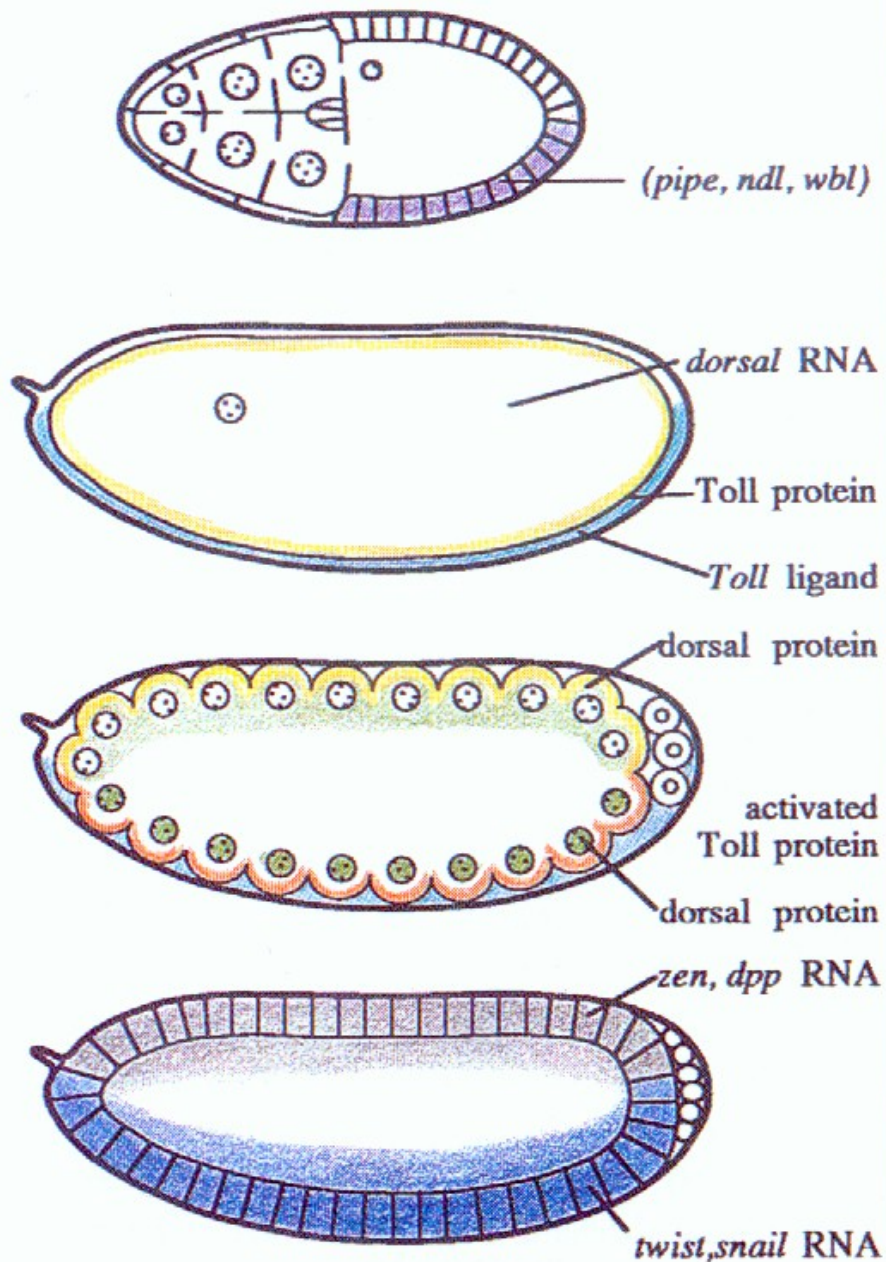
# TERMINAALI

Terminal eli “ääripäät” on kolmas pääakseli

Osallistuu gastrulaation säätelyyn eli alkion kerrosten syntyyn, ja *ituradan* solujen määritykseen

Osallistuu myös äärimmäisten aikuisosien säätelyyn

## DORSO-VENTRAL



## Dorsoventraalisuunta

Alkiokerrokset

- ektodermi
- endodermi
- mesodermi

-Tietysti myös  
selkäpuoli/mahapuoli



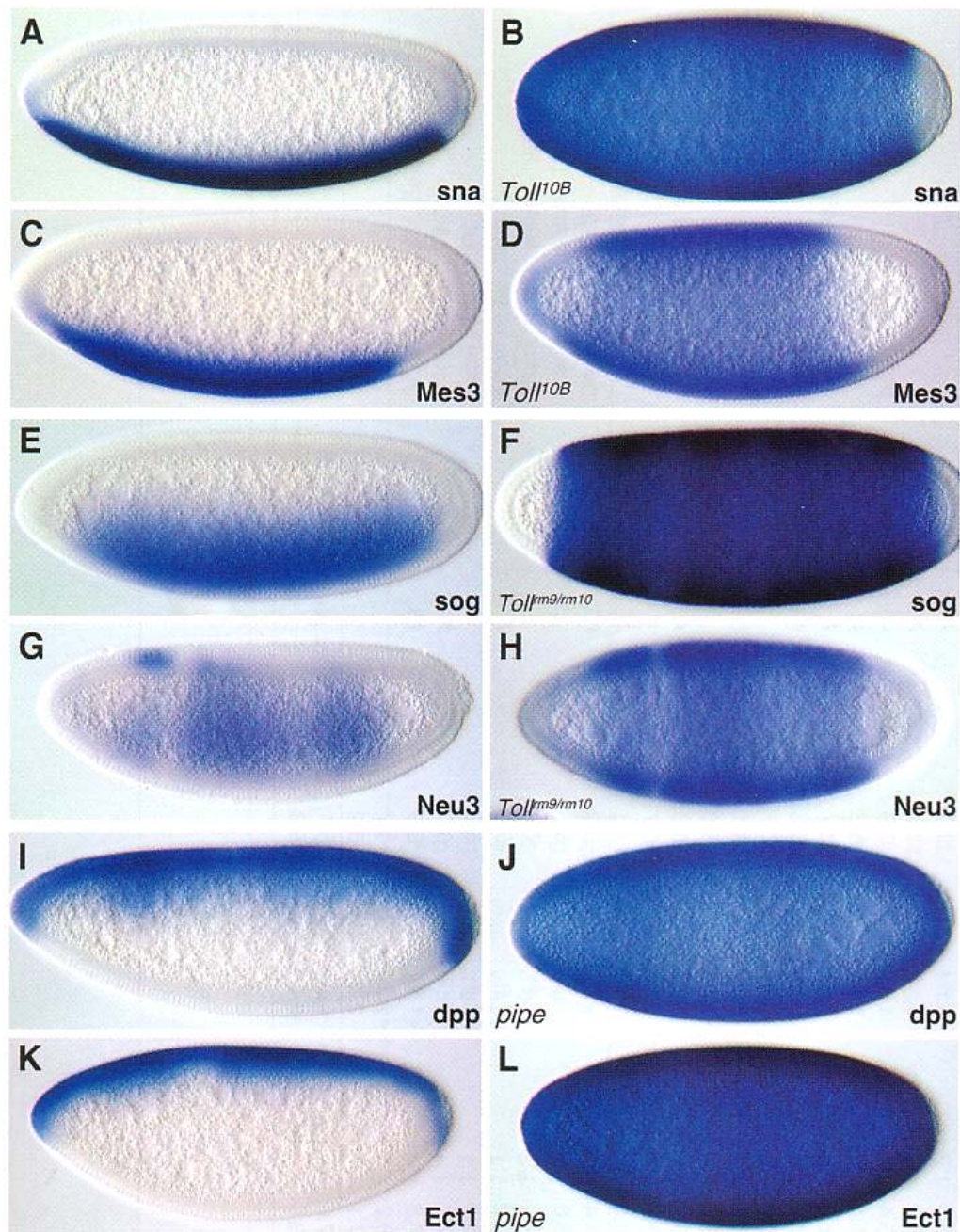


Figure 2. Expression of Dorsal Target Genes in Wild-Type and Mutant Embryos

Cellularizing embryos were hybridized with each of the indicated digoxigenin-labeled antisense RNA probes and stained to visualize the gene expression patterns. Embryos are oriented with anterior to the left and dorsal up.

(A and B) *snail* (*sna*) expression in wild-type (A) and *Toll*<sup>10B</sup> embryos (B). *snail* is normally expressed in the ventral mesoderm of wild-type embryos (A) but is ubiquitously expressed in *Toll*<sup>10B</sup> mutants (B).

(C and D) *Mes3* expression in wild-type (C) and *Toll*<sup>10B</sup> mutant background (D). As seen for *snail*, *Mes3* is normally expressed in the mesoderm, but is greatly expanded in the mutant.

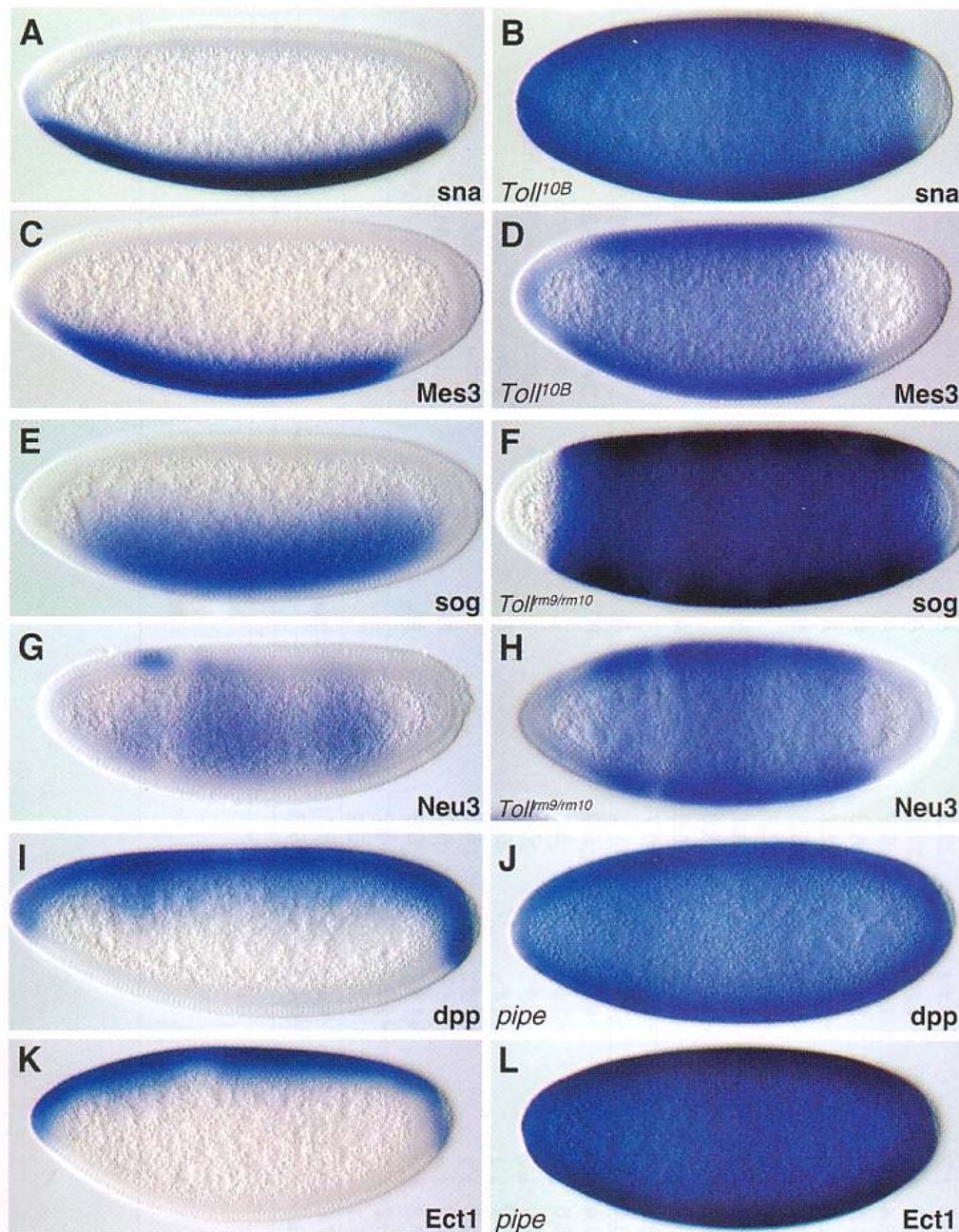
(E and F) *sog* expression in wild-type (E) and *Toll*<sup>rm9/rm10</sup> (F) embryos. *sog* is normally expressed in lateral stripes in response to even low levels of nuclear Dorsal (E). The gene exhibits ubiquitous expression in mutant embryos (F).

(G and H) *Neu3* expression in wild-type (G) and *Toll*<sup>rm9/rm10</sup> mutants (H). As seen for *sog*, there is a marked expansion of the expression pattern in mutant embryos.

(I and J) *dpp* expression in wild-type (I) and *pipe*<sup>-</sup> mutant (J) embryos. *Dpp* is normally expressed in the dorsal ectoderm (I) but is derepressed in mutant embryos (J).

(K and L) *Ect1* expression in wild-type (K) and *pipe*<sup>-</sup> (L) mutants. As seen for *dpp*, the expression pattern is expanded in mutant embryos.



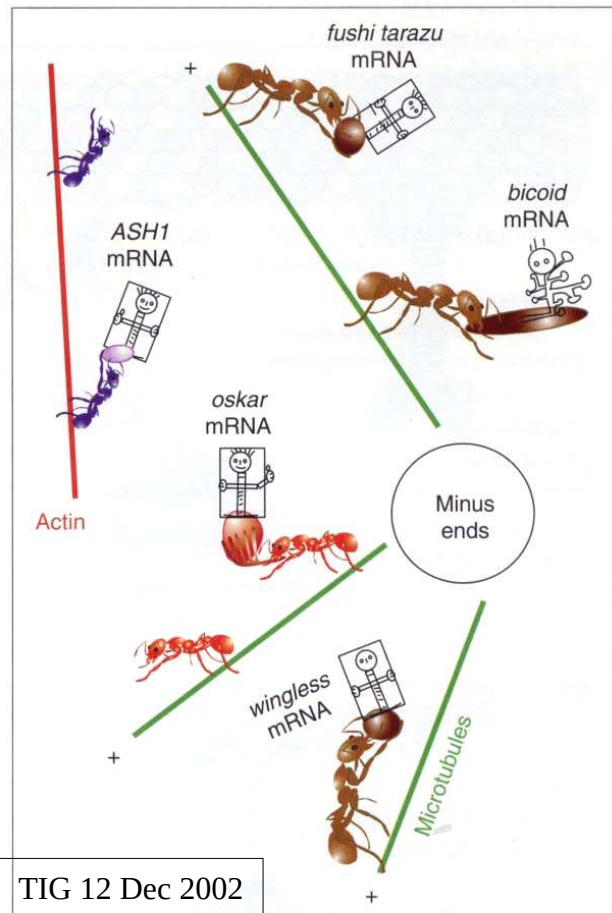


Vasemmassa sarjassa näytetään, miten eräiden geenien lähetti-RNA on sijoittunut embryossa normaalisti (WT = wild type).

Oikea sarake kuvaa sitä, miten ne samat mRNA:t eivät noudata oikeaa mahanpuoleista (ventraalista) jakautumaa silloin kun **Toll**-geeni on viallinen.

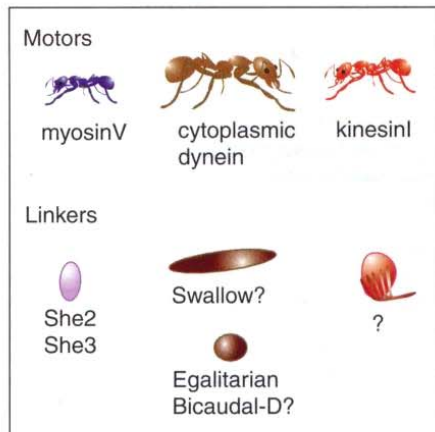
Kahdessa alimmassa kuvaparissa on dorsaalisesti sijoittuvat mRNA:t, joiden sijoittumisesta (ekspressiosta) päättää **pipe**-geeni: pipe viallinen, geeniekspressio väärässä paikassa.





*Moottorimolekyylit* hoitelevat säätelytuotteiden siirtoja ja sijainteja solussa, pitkin mikrotubulusten ja aktiinijuosteiden muodostamia siltoja, teitä ja pitkospuita

[Se, että ne ovat muurahaisia, havaittiin vasta äskettäin.]



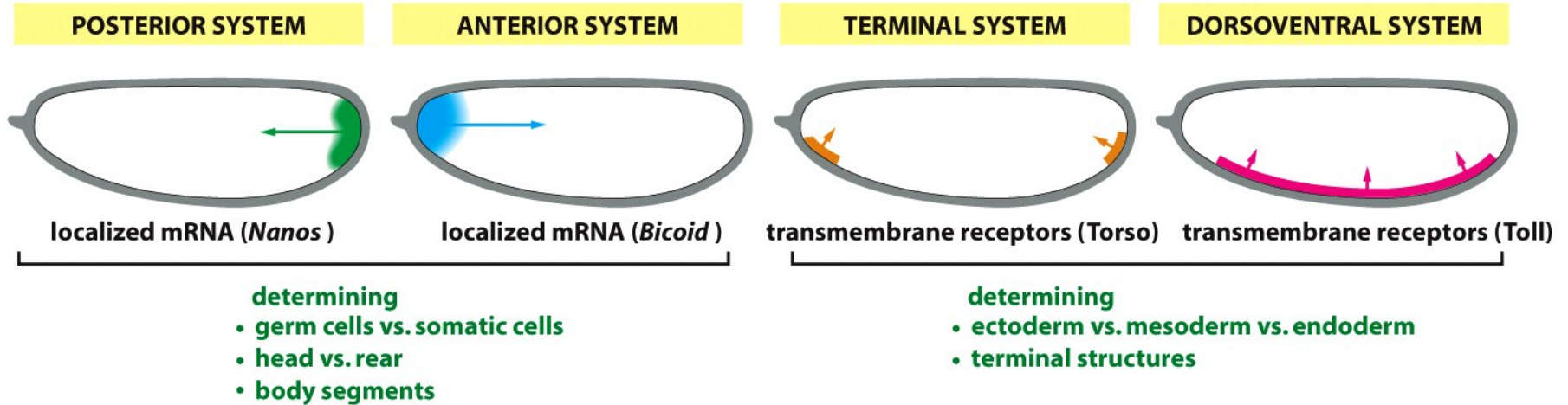
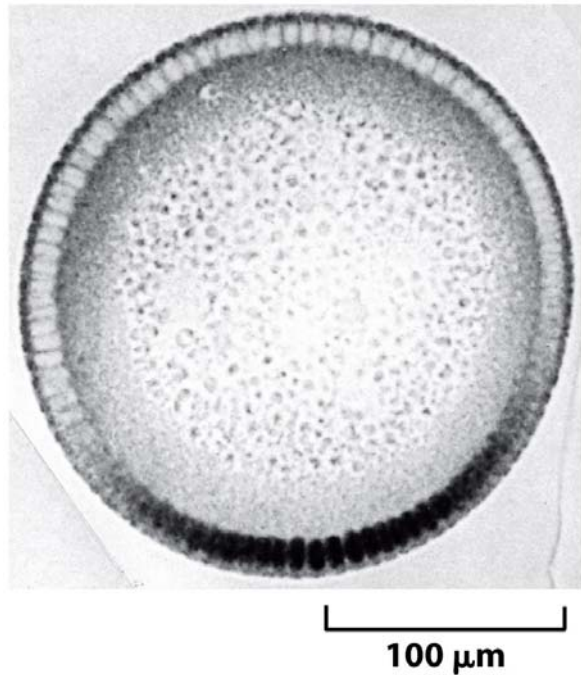
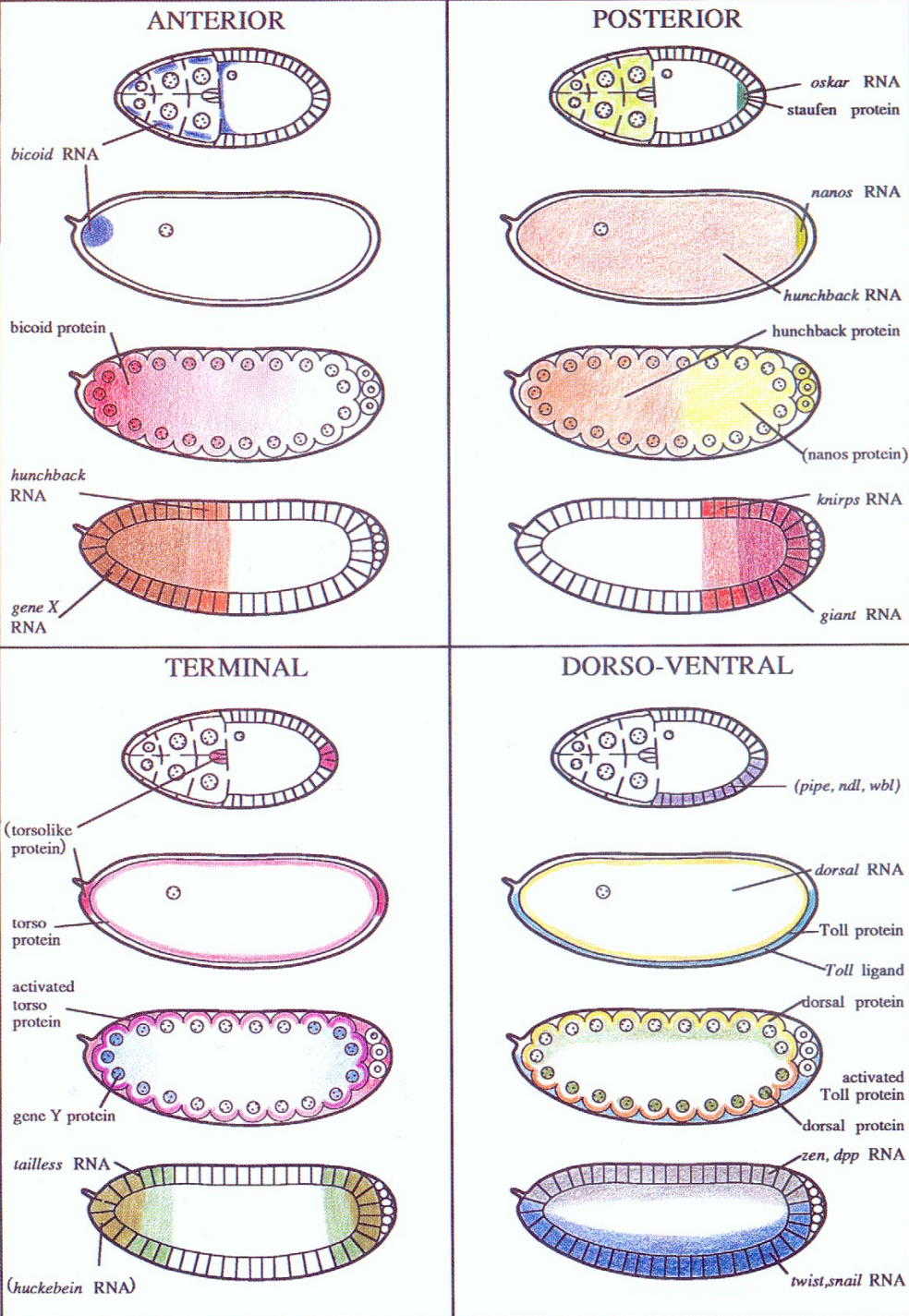


Figure 22-32 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



dorsal-gradientti

CELL 1334-5



*Drosophila*-embryon neljä pääakselia määräytyvät maternaalisesti

Vasen/oikea ei ole hyönteisillä mikään akseli, mutta selkärangaisilla on (sydän, aivojen tehtävistä)

Selkärangaisilla dorsoventraaliakseli on kääntynyt ylösalaisin selkärangattomiin verrattuna

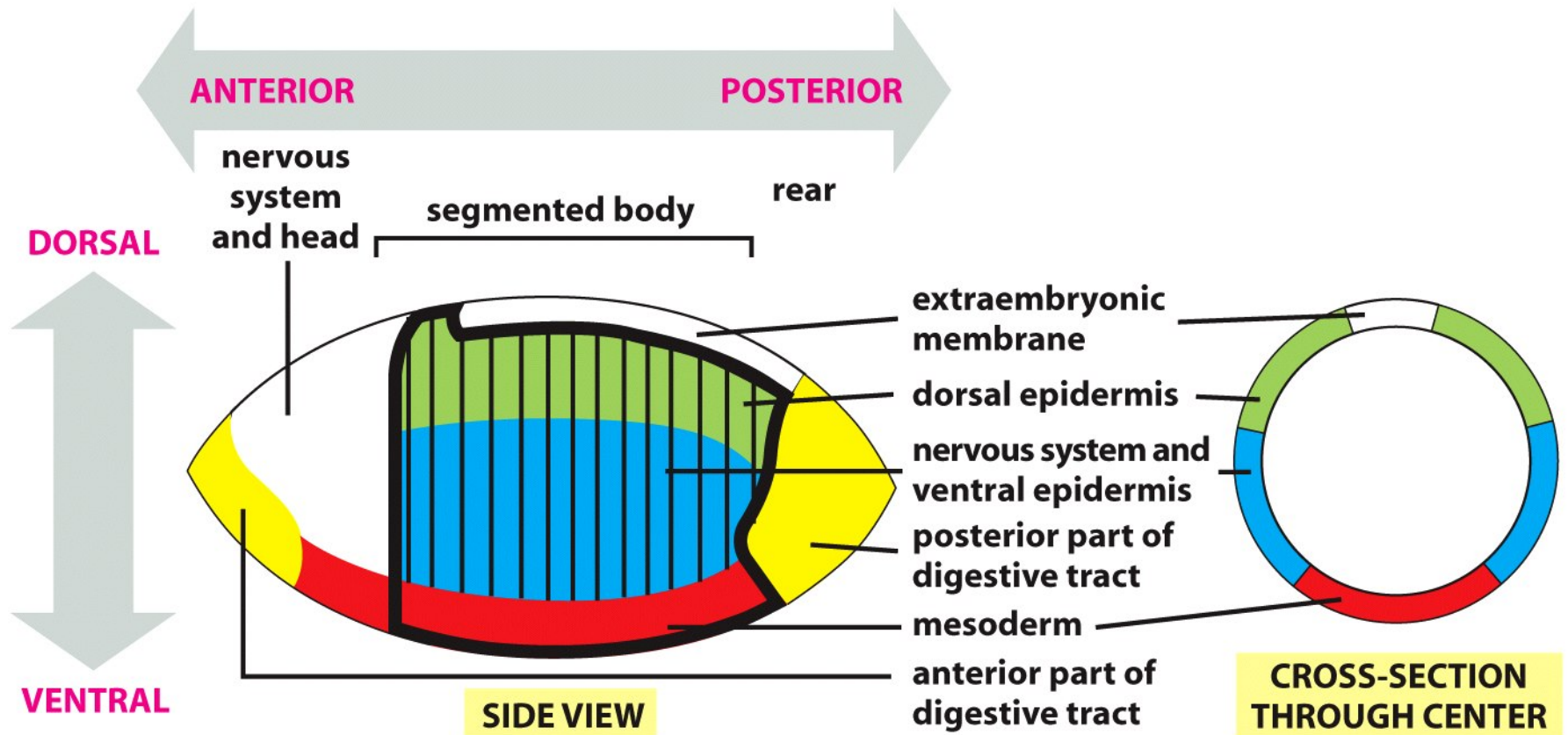


Figure 22-29 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



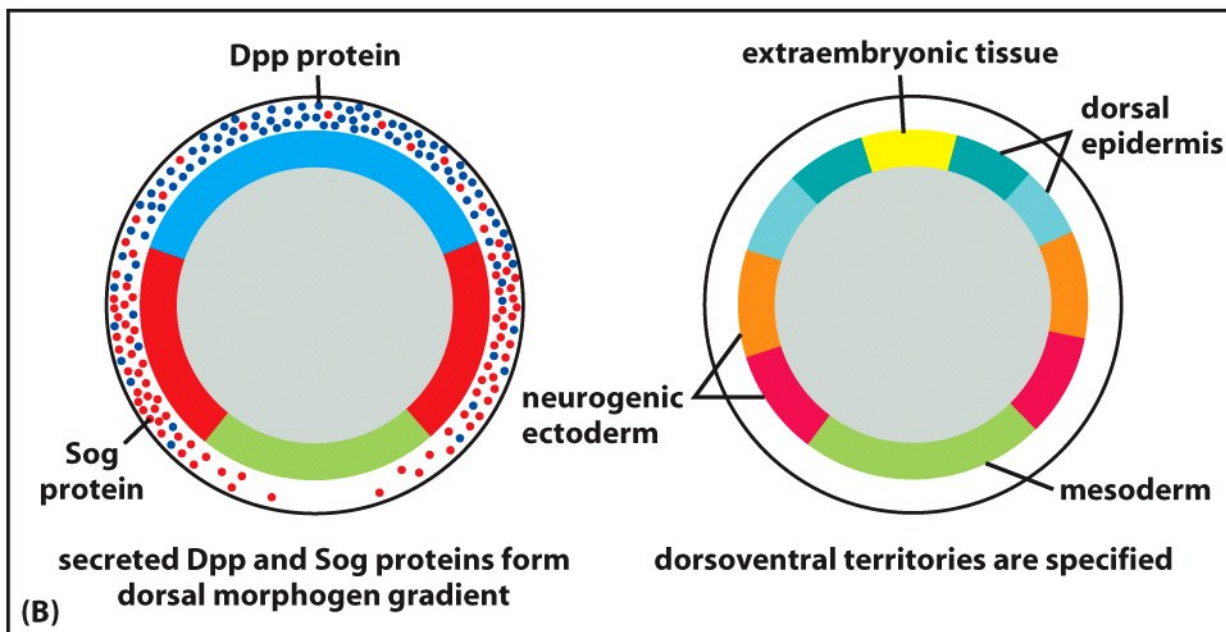
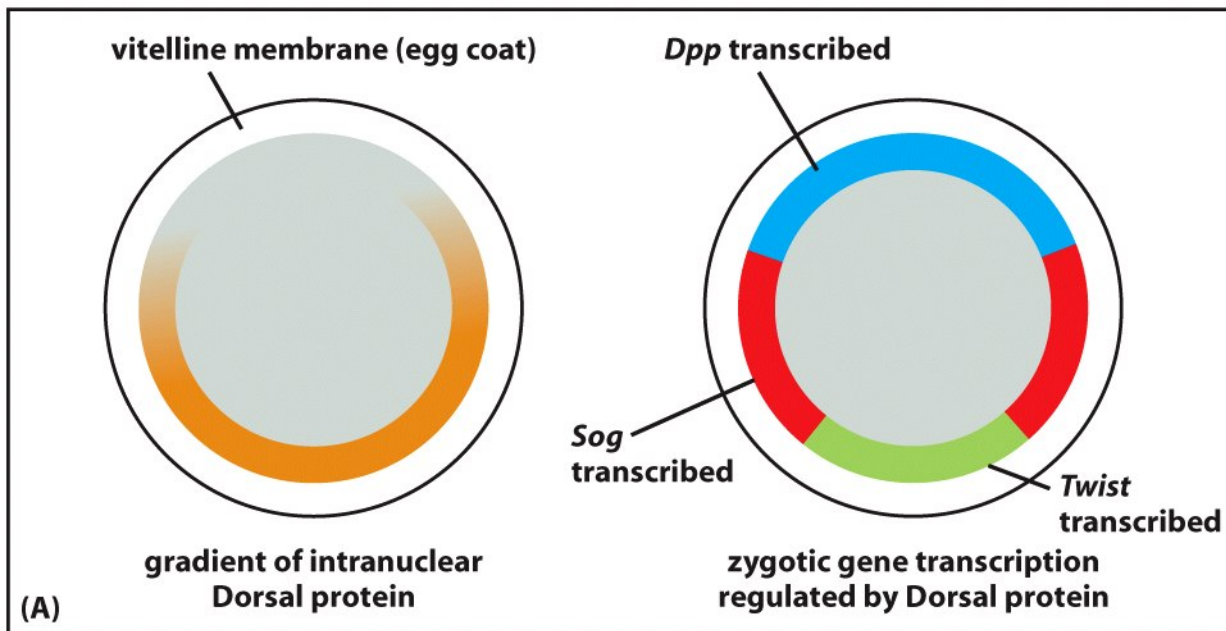


Figure 22-34 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Figure 22-35 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Mesodermi syntyy soluista joissa ekspressoituu Twist

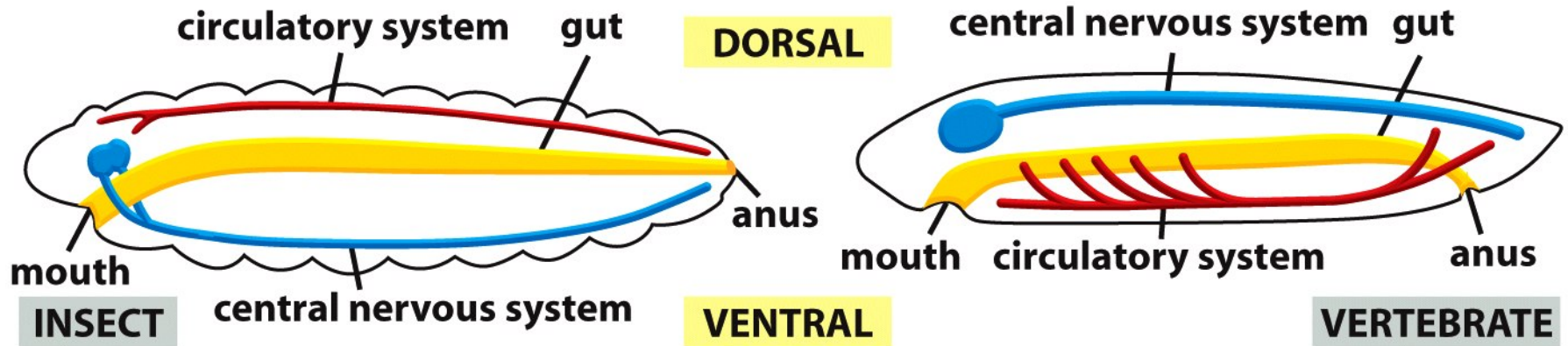


Figure 22-36 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

### The Insect Dorsoventral Axis Corresponds to the Vertebrate Ventrodorsal Axis

Dpp is a member of the TGF $\beta$  superfamily of signal molecules that is also important in vertebrates; Sog is a homolog of the vertebrate protein chordin. It is striking that a Dpp homolog, BMP4, and chordin work together in vertebrates in the same way as do Dpp and Sog in *Drosophila*. These two proteins control the dorsoventral pattern of the ectoderm, with high levels of chordin defining the region that is neurogenic and high levels of BMP4 activity defining the region that is not. This, combined with other molecular parallels, strongly suggests that this part of the body plan has been conserved between insects and vertebrates. However, the axis is inverted, so that dorsal in the fly corresponds to ventral in the vertebrate (Figure 22-36). At some point in its evolutionary history, it seems, the ancestor of one of these classes of animals took to living life upside down.

Kehitysbiologian peruskurssi, huippuhyvä

[http://www.ucalgary.ca/UofC/eduweb/virtualembryo/dydev\\_at\\_glance.html](http://www.ucalgary.ca/UofC/eduweb/virtualembryo/dydev_at_glance.html)

FlyMove: hyvin hienoja motion pictureita kärpäsien alkion kehityksestä

<http://flymove.uni-muenster.de>



# Sulo Toivonen

Suomen kehitysbiologian suurmies oli professori Sulo Toivonen.

Kuusikymmenluvulla yritettiin ratkoa induktion ongelmaa sammakon (vesiliskon) alkion ylähuulella, joka pystyi indusoimaan hermostoputken aloituksen

[Linkki yhteen Toivosen ja Saxénin artikkeliin](#)

Paljon tutkittiin ns. *heterologista induktiota*: kokeiltiin vierasaineilla, ja induktiotehoa löytyi mm. "etanolissa säilötystä kyykäärmeen maksasta"

Tämä ns. **Spemann's Organizer** joka keksittiin kauan sitten on selvitetty molekyyllitasolla vasta äskettäin

**Sulo Toivonen**



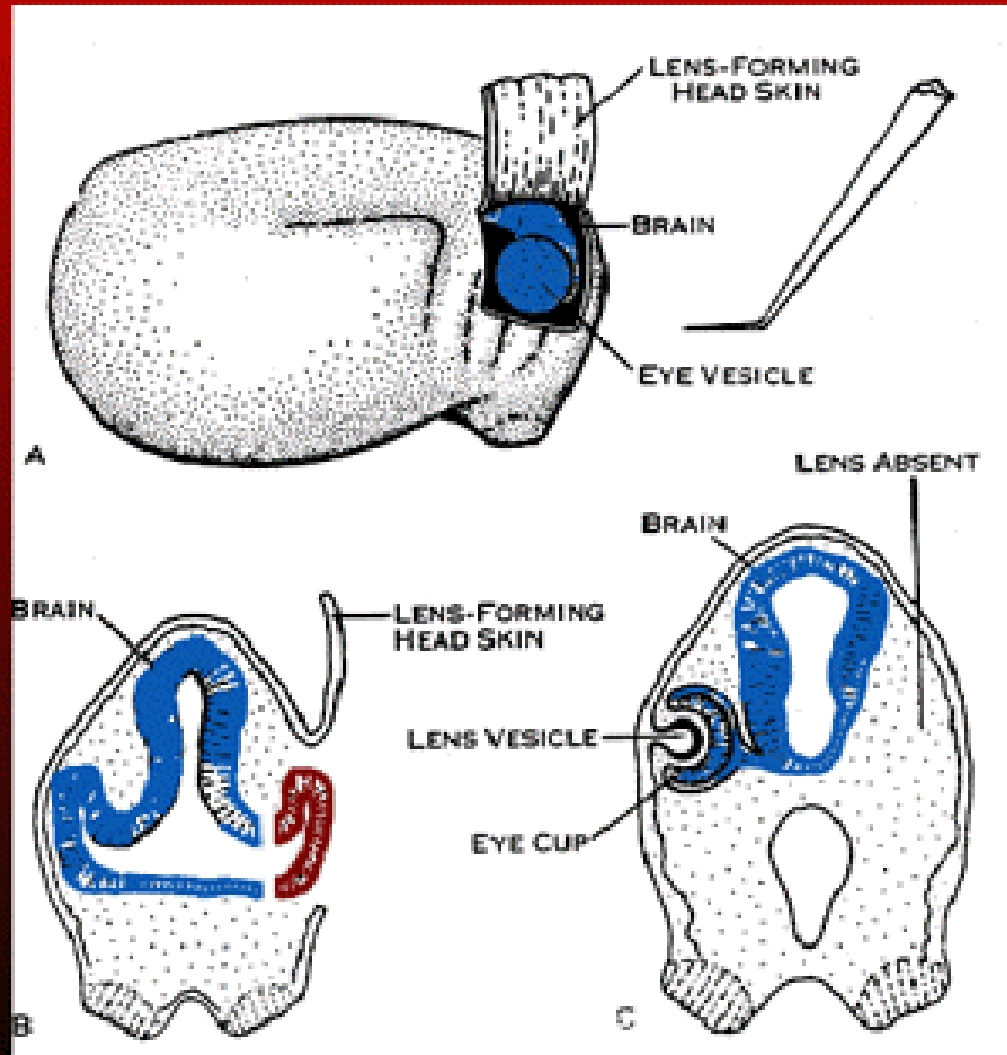


**Sulo Toivonen**



HANS SPEMANN, 1901

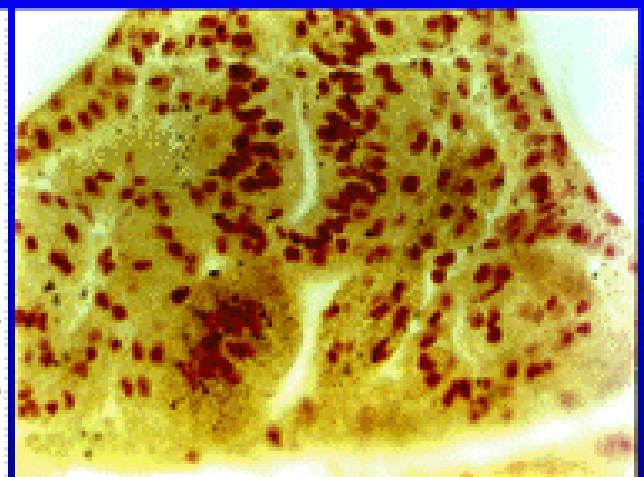
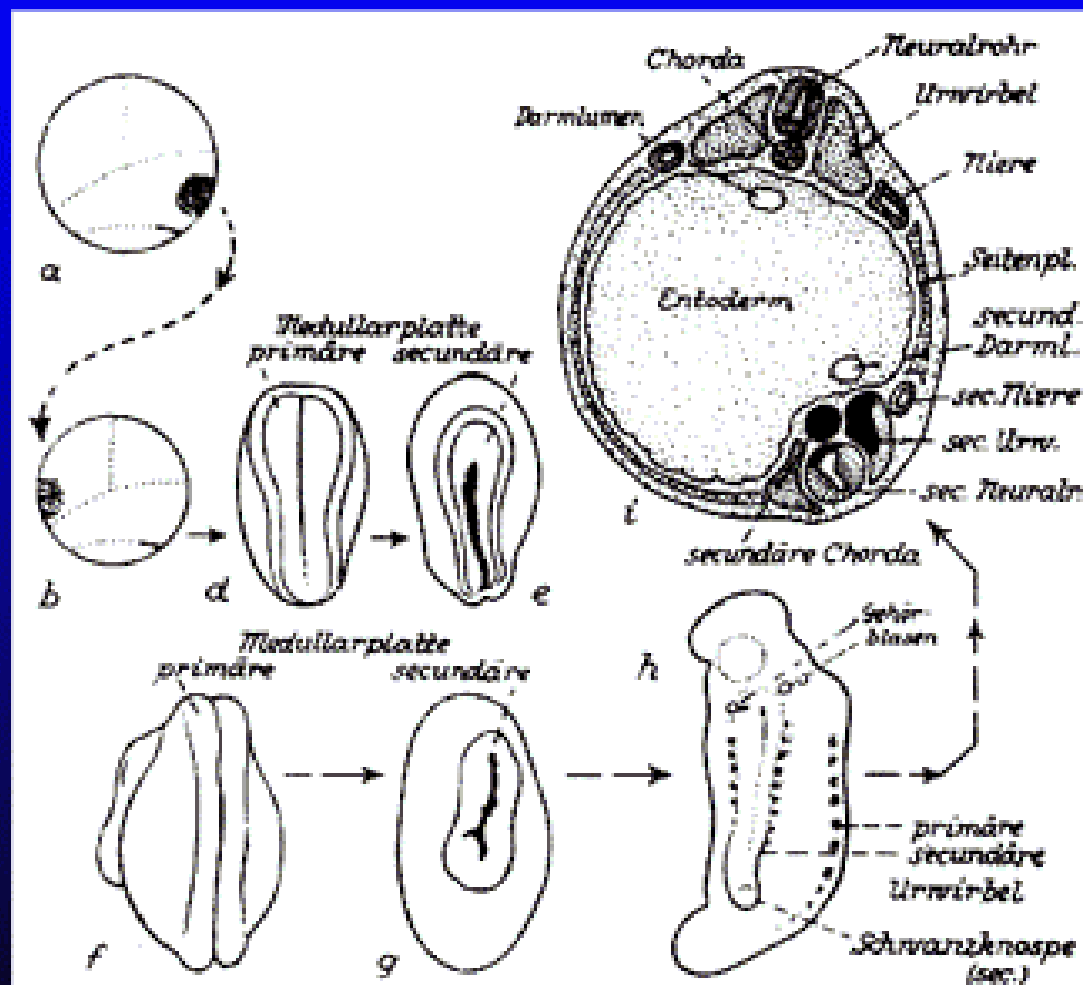
LENS INDUCTION



Hans Spemann sai Nobelin 1935

[LINKKI HISTORIAAN](#)





From actual microscope slide of Hilde Mangold, courtesy of P. Fäßler and K. Sander

Experimental protocol for heteroplastic transplants

**SPEMANN, H. AND MANGOLD, H. 1924. Über Induktion von Embryonanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren. *Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik* 100: 599 - 638.**

Hilde Mangold taisi tehdä työstä ison osan



Nobel 1995

Tshekkslovakia, Zinkovy, 1976