ÖSSZEHASONLÍTÓ FEJLŐDÉSTAN – A FEJLŐDÉSGENETIKA EREDMÉNYEI ÉS TANULSÁGAI

Sass Miklós

A fejlődés filozófiai kategória, folytonos, egymásra épülő, mennyiségi és minőségi változások sorozatát jelenti. A biológiai fejlődésnek két vetülete van: a törzsfejlődés és az egyedfejlődés. E két folyamat összefüggését írja le a Müller-Haeckel-féle biogenetikai alaptörvény, azt a felismerést mondva ki, hogy az egyedfejlődés a törzsfejlődés legfontosabb lépéseinek gyors megismétlődése.

Ebben a leírásban az egyedfejlődéssel (ontogenezis) és annak genetikai szabályozásával foglalkozunk. Az egyedfejlődést számos szakaszra lehet bontani. Az ún. proontogenezis az ivarsejtek kialakulásának, fejlődésének időszaka, amely funkcionálisan nem választható el a további lépésektől. Az ivarsejtek kialakulása után a megtermékenyítés (fertilizáció) következik, amelynek során kialakul a megtermékenyített petesejt (zigóta). Ezt követően indul meg az embrionális fejlődés. A fiatalkor (juvenilis kor) a peteburokból való kikeléstől (vagy a születéstől) az ivarérésig tart. Az ivarérett egyedek a felnőttkorban vannak. Az ivarérettség elvesztése után következik az aggkor, majd az egyedfejlődés végső szakasza, a halál.

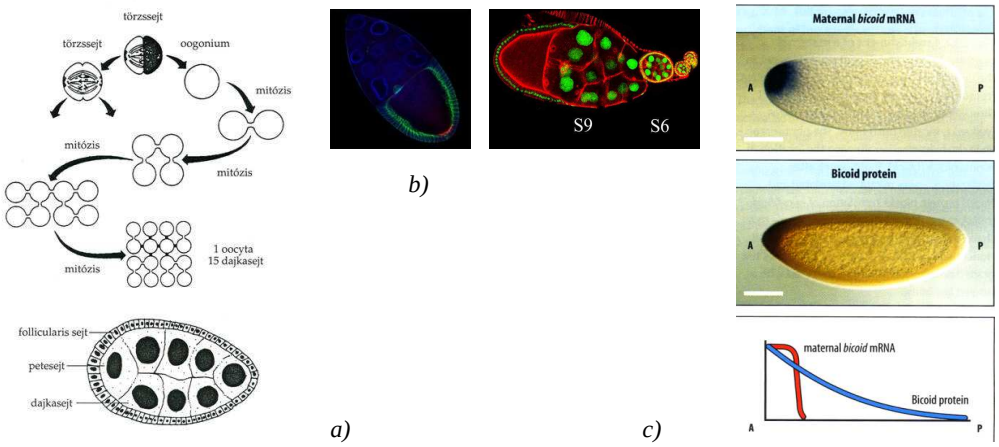
Emberben a méhen belüli életkor az embrionális és a magzati (foetalis) fejlődés időszakára oszlik. Amennyiben az önálló létre alkalmas utód fő anatómiai és élettani tulajdonságait tekintve megegyezik a szülői szervezetettel, közvetlen fejlődésről beszélünk. Ha az utód (lárvaalak) felépítése, életmódja eltér a szülőkétől, akkor közvetettnek nevezzük az adott állatcsoport fejlődését (pl. rovarok, halak, kétéltűek). Ez a leírás az embrionális fejlődés időszakában történő eseményeket tárgyalja.

Ha a fejlődésnek csupán a mennyiségi oldalát tekintjük, akkor is csodálatra méltó változásoknak vagyunk tanúi. Például egy emberi petesejt tömege $5 \cdot 10^{-9}$ g, amiből az embrionális és magzati fejlődés során egy kb. 3000 g tömegű újszülött alakul ki. Ezt az alig elképzelhető mértékű növekedést úgy lehet szemléltetni, mintha 1 mm vastagságú pénzérmékből kilenc hónap alatt egy kb. 1000 km magasságú oszlopot kellene építenünk. Hasonlóan, szinte beláthatatlan az embriogenezis során lezajló sejtosztódások száma, amelyet 1000 billióra tesznek. Természetesen az embrionális fejlődés alatt nemcsak növekedés (mennyiségi fejlődés), hanem differenciálódás (minőségi fejlődés) is zajlik. A differenciálódás alatt azt a fantasztikusan összetett és rendkívül sok, időben és térben szigorúan szabályozott lépést értjük, amelynek során a test egyik részéből például fej, a másikból pedig végtagok alakulnak, vagy az egyik sejtből a tüdő, a másikból pedig az idegrendszer sejtjei fognak fejlődni. Ma már tudjuk, hogy a test valamennyi sejtje ugyanazzal a génkészlettel rendelkezik, de az embrionális szervezetben ahogy a sejtek létrejönnek, kölcsönösen hatásokat gyakorolnak egymásra, s ennek következtében valamennyi sejt maga is változik, és változó hatással van a környezetében levő sejtekre. Ezek az egymásra épülő és egymást feltételező változássorok terelik az egyes sejteket egyre specializálódottabb állapotokba, és vezetnek végső fokon a kifejlett állapot eléréséhez.

A modern fejlődésbiológia-fejlődésgenetika legfontosabb felismerése az, hogy az embriogenezis minden egyes lépését egy-egy gén, géntermék szabályozza; azaz az állatok és az ember genetikai állományában programozva van, és generációkról generációkra megőrződik ennek a csodálatosan összetett folyamatsornak gyakorlatilag minden egyes lépése. Távol vagyunk az embrionális fejlődés szabályozásának megértésétől, de néhány példán keresztül tehetünk bizonyos bepillantást ebbe a minden érdeklődő számára zavarba ejtően szép, nagyon bonyolult és fontos, de egyelőre nagyrészt titokzatos világba.

A fejlődésgenetika jelentőségére kétféle kísérletsorozat irányította rá a figyelmet. Az elsők azok a klasszikus fejlődésbiológiai kísérletek voltak, amelyek szerint például ha egy ecetmuslica *(Drosophila melanogaster)* petesejtjének az elülső (vagy a hátulsó) pólusában a fehérjéket nagyon vékony, forró tűvel vagy az RNS-molekulákat UV besugárzással tönkreteszik, akkor azokból olyan embriók fejlődnek, amelyeknek nincs fejük (vagy potrohvégük). A genetikai vizsgálatok eredményeképp pedig

arra derült fény, hogy vannak olyan mutációk, amelyek pontosan ugyanilyen morfológiai módszerekkel detektálható (ún. fenotípusos) változásokat okoznak, azaz ez esetben egy gén hibája következtében nem alakul ki a feje az állatnak. Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy már a petesejtben vannak olyan molekulák (mRNS-ek, fehérjék), amelyek szükségesek a leendő embrió feji végének kifejlődéséhez. Az is kiderült, hogy ezek a géntermékek nem magában a petesejtben keletkeznek. Ennek megértéséhez meg kell ismernünk egy kicsit a petesejt kialakulásának folyamatát. A petesejt a petefészek csövecskéiben az ún. törzssejtekből alakul ki. A törzssejt négyszer osztódik (mitotikusan), így 16 utódsejt jön létre. Közülük egy lesz a petesejt, a többi 15 ún. táplálósejtként működik, és a leendő petesejttel citoplazmahidakon át marad kapcsolatban *(1. ábra).*

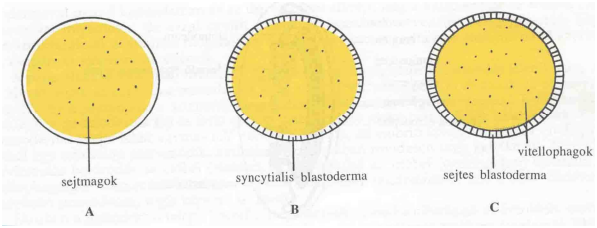


1. ábra. a) A petesejt és a táplálósejtek keletkezése a törzssejtből kiinduló négy mitotikus osztódás útján. *b)* Egy tüsző szerkezete mikroszkópos felvételen (baloldalt); a tápláló- (kék) és a tüszősejtekben (piros) keletkező fejlődésszabályozó anyagok transzportja a petesejtbe (jobboldalt). *c)* A bicoid mRNS és fehérje megoszlása a petesejtben

A táplálósejtekben fejeződik ki az ún. bicoid gén. A róla másolódó mRNS a citoplazmahidakon keresztül átkerül a petesejtbe, ahol – fehérjék közreműködésével – a sejtvázhoz kötődik, és a leendő feji végben halmozódik fel. Pontosabban a feji végben a legmagasabb a koncentrációja, majd fokozatosan csökken a farki vég felé. A bicoid gén azok közé a fejlődésszabályozó molekulák közé tartozik, amelyek különböző koncentrációjuk mellett különböző gének, génegyüttesek aktivitását szabályozzák. Az ilyen hatásmechanizmussal rendelkező anyagokat morfogéneknek nevezzük. Ha a bicoid gén hibás, nem lesz az embriónak feje, de ez majd csak a megtermékenyítés után derül ki.

A petesejtet és a táplálósejtek együttesét a petecsőben ún. tüszősejtek ölelik körül. Közülük a leghátulsó helyzetben levőkben kifejeződnek olyan gének, amelyekről a másolódó (ún. hosszú életidejű) mRNS-ek szintén a petesejtbe transzportálódnak. A potrohvég meghatározásban ezen gének termékei játszanak szerepet. Ebben gátló és serkentő hatású gének is részt vesznek. A potrohvég fejlődését (más gének mellett) végső fokon az ún. nanos gén által kódolt fehérje indukálja, mégpedig úgy, hogy gátolja egy, a potrohvég kialakulását gátló fehérje hatását. Ezt úgy bizonyították, hogy a gátló és a serkentő hatású génekben egyaránt mutáns állatokat hoztak létre. Ezek normálisan fejlődtek, nem hiányoztak az utolsó potrohszelvényeik, mivel ezekben az állatokban a nanosnak nem kell semmit gátolnia ahhoz, hogy a normálisan is megfigyelhető fenotípus kialakuljon.

Ez követően a petesejtbe nagyon nagy mennyiségű fehérje és zsírnemű anyag (szikanyag) rakódik be. A szikanyag a rovarok petesejtjében centrálisan helyezkedik el. Az érett petesejt megtermékenyül, és a zigóta sejtmagja sokszorosan osztódik. A keletkező sejtmagok a test perifériális zónájába vándorolnak. Így alakul ki az ún. syncytialis blastoderma. A sejtmagok körül rövidesen sejtmembránok szerveződnek, és szabályos sejtek jönnek létre. Ez a sejtes blastodermaállapot, lényegében a *Drosophila* hólyagcsíra- (blastula-) állapota, csak itt a hólyag belseje nem üres, hanem szikanyaggal van kitöltve *(2. ábra).*



2. ábra. A) A megtermékenyített petesejt sejtmagja sokszorosan osztódik, majd *B)* a sejtmagok a széli zónába vándorolnak. *C)* Rövidesen a sejtmagokat sejtmembrán öleli körül. A centrális helyzetben maradó sejtmagok a sárgával jelzett szikanyag emésztésében vesznek részt

E folyamatok közben és alatt a tüszősejteknek a hasi, hosszanti középsíkba eső sejtjei szintén fejlődésszabályozó molekulákat szintetizálnak. Ezek a molekulák a tüszősejtek és a blastodermasejtek közötti résben oldalra-felfelé vándorolnak. Koncentrációjuk értelemszerűen a hasi középsíkban a legmagasabb, és itt gyakorlatilag telítik a blastoderma sejteken levő receptoraikat. Oldalra-felfelé csökken a koncentrációjuk, ezért egyre több receptor marad szabadon, mígnem a háti középsíkba eső blastodermasejtekhez már nem is kötődik fejlődésszabályozó fehérje. Mivel e fehérjék is morfogénként működnek, más-más gének átíródását serkentik a leendő hasoldalon, az embrió oldalsó blastodermasejtjeiben vagy a leendő hátoldali sejtekben. A morfogén különböző koncentrációja mellett aktiválódó gének funkciója annak a meghatározása, hogy a blastoderma mely részeiből mely csíralemezek alakuljanak ki *(3. ábra).* Azt, hogy a blastoderma melyik részéből melyik csíralemez fejlődik majd a későbbiekben, fel lehet rajzolni az embrionális test felszínére. Ezt a rajzot nevezzük sorstérképnek.



a) *b)*

3. ábra. A *Drosophila*-embrió keresztmetszete a csíralemezek kialakulása előtt. *a)* A rajz a blastoderma egyes részeiből kialakuló csíralemezeket és az azokban kifejeződő géneket mutatja. *b)* A mikroszkópos képen a mesoderma kialakulását, a gastrulatio folyamatát látjuk, szintén keresztmetszetben. A mesodermasejtek molekuláris markerrel vannak jelölve

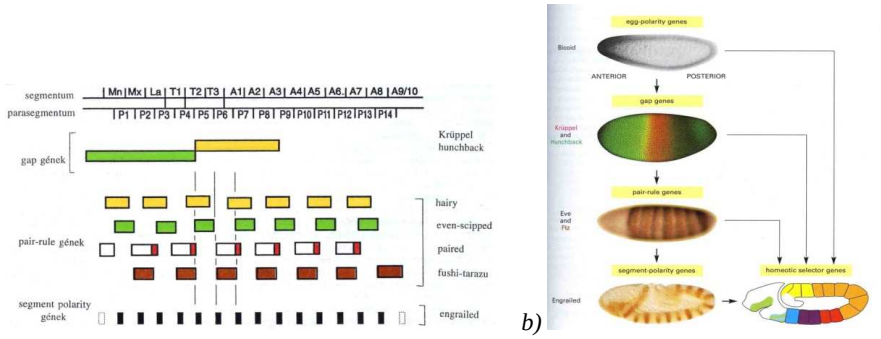
Ahogy láttuk, az eddig tárgyalt fejlődési lépések részben a táplálósejtek, részben a tüszősejtek által termelt mRNS-ek, illetve fehérjék irányítása alatt állnak. Ez azt jelenti, hogy e folyamatokat csak az

anyai szervezet sejtjeiben működő gének szabályozzák. Az embrionális genom, tehát az anyai és apai eredetű gének kombinációja csak azután fog aktiválódni, majd mRNS-re és fehérjére átíródni.

A csíralemezek megjelenése már a bélcsíra (gastrula) kialakulásának idején zajlik, amikor a test felszínét borító blastoderma egyes részei az embrionális test belsejébe fordulnak. A blastula hasi, hosszanti középsíkjában először egy barázda keletkezik. Az ennek mentén a test belsejébe forduló sejtek egy egyre jobban ellaposodó, vályúformájú kettőzetet alkotnak. Ez lesz a blastodermáról rövidesen lefűződő, középső csíralemez (mesoderma). A következő lépésben lényegileg ugyanilyen sejtmozgás/átrendeződés ismétlődik meg. Az ennek során az embrionális test belsejébe forduló sejtek fogják a külső csíralemezt (ectoderma) és az amnion nevű embrionális burkot képezni. Végül a gastrulatio befejezéseképp az ectodermáról is betűrődik egy sejtlemez, ez lesz a központi idegrendszer kezdeménye.

Ezután a mesoderma feltagolódik, és testszelvényenként egy-egy kis zsákot (pontosabban zsákpárt) képez. Ezt úgy kell érteni, hogy a mesodermazsákok kialakulása határozza meg a testszelvények létrejöttét. A *Drosophilá*ban 14 testszelvény van. A testszelvények kialakulását szabályozó géneket az ún. genetikai boncolás módszerével fedezték fel. Először létrehoztak sok száz vagy több ezer mutációt, ún. módosított ugráló elemek segítségével. Azok a gének, amelyekbe az ugráló elem (ún. P elem) beépül („beugrik”) elveszítik a funkciójukat. E funkcióvesztések hatását aztán morfológiai, fejlődésbiológiai módszerekkel vizsgálták, és kiválogatták azokat a mutáns törzseket, amelyekben az ugráló elem beépülése sok vagy kevés vagy akár csak egyetlen testszelvény, illetve egy testszelvény egy részének hibás fejlődését okozta. Az ugráló elemben alkalmazott egyik módosítás lehetővé teszi azt, hogy a P elemmel szomszédos genomiális DNS egy szakaszát meg lehet szekvenálni. Mivel a *Drosophila* teljes genomjának bázissorrendje ismeretes, meg lehet azt is állapítani, hogy egy adott elváltozást a szelvények szerkezetében mely gén hibája okozta.

Ezen adatok alapján ma már tudjuk, hogy a szelvényezettség kialakulását szabályozó gének három nagy csoportba oszthatók. Az első csoportba tartozók, az ún. gap gének sok vagy legalábbis több szelvény fejlődését irányítják. Hibájuk ezen testszelvények kiesését okozza a fejlődés során. A következő csoportba az ún. pair-rule gének sorolhatók, amelyek – amint a nevük is utal erre – minden második (páros vagy páratlan sorszámú) testszelvény kialakulását szabályozzák. Végül az ún. segment polarity gének az általában ekkor még csak négy sejtsor szélességű testszelvények egy-két sejtsorának fejlődésére vannak hatással *(4. ábra).*



a) *b)*

4. ábra. a) A gap, a pair-rule és a segment polarity gének kifejeződése a lárvális és az imaginális testszelvényekben. *b)* A bicoid, a gap, a pair-rule és a segment polarity gének kifejeződésének mintázata az embrionális testben

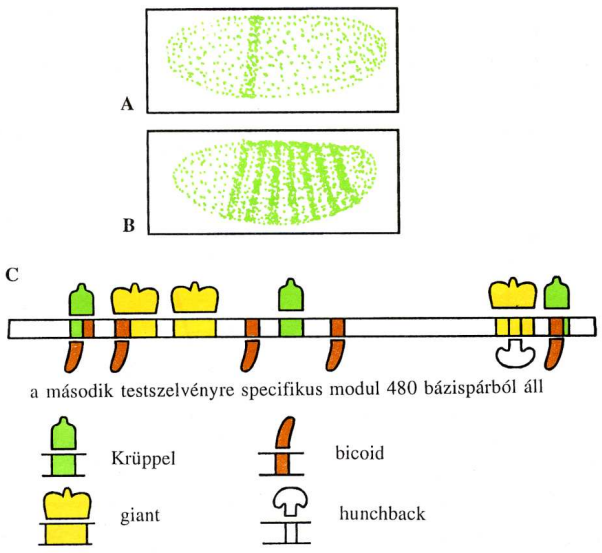
Láthatjuk tehát, hogy ezek a gének kezdetben csak durva szabályozást tesznek lehetővé, nagy testrészek kialakulására vannak hatással. Később egyre finomabbá válik a szabályozás, már csak egy-

egy szelvény vagy szelvényrészlet fejlődését határozó génnel aktiválódnak. A szelvényesség kialakulását meghatározó gének kifejeződésének nemcsak az időbeli sorrendje kötött, hanem hierarchikus rendszerbe vannak szervezve. Azaz egy gap gén funkciójának kiesése gátolja az irányítása alá eső pair-rule és segment polarity gének kifejeződését is. Továbbá egy pair-rule gén hibája maga után vonja az általa szabályozott segment polarity gének inaktiválódását is.

Ahogy a feji és a potrohi testvég kialakulását szabályozó gének, e három csoportba sorolt gének is olyan fehérjéket kódolnak, amelyek más gének működését szabályozzák. Például a pair-rule és a segment polarity gének szabályozó régiója extrém nagy méretű. Ehhez a szabályozó régióhoz több példányban is kapcsolódnak a bicoid és a gap gének által kódolt fejlődésszabályozó fehérjék. Egyesek serkentik, mások gátolják az adott gén átíródását. Kombinációjuk határozza meg, hogy a test mely sejtjeiben és mely fejlődési időszakban fejeződjön ki az adott pair-rule vagy segment polarity gén.

Mindezen gének működése összességében azt eredményezi, hogy hatásukra 14 db, a test hossztengelye mentén elhelyezkedő, egyforma szelvény alakuljon ki. Más szavakkal: létrejön a homonóm szelvényezettség, ami egyed- és törzsfejlődéstani értelemben is a valódi, heteronóm szelvényezettséget megelőző állapot.

A *Drosophila* szervezete természetesen heteronóm szelvényezettséget mutat. Az első hat testszelvényből a fej, a következő háromból a tor, végül a hátulsó ötből a potroh alakul ki. E szelvények mindegyike más és más szerveket, tulajdonságokat hordoz. A heteronóm szelvényezettség az ún. homeotikus szelektor gének (más néven HOM gének) működése következtében jön létre. Nyolc ilyen gént ismerünk, amelyek *Drosophilá*ban két csoportban (az antennapedia és a bithorax komplexekben) helyezkednek el a genomban, mégpedig pontosan abban a sorrendben, ahogy a test hossztengelye mentén kifejeződnek *(5. ábra).*

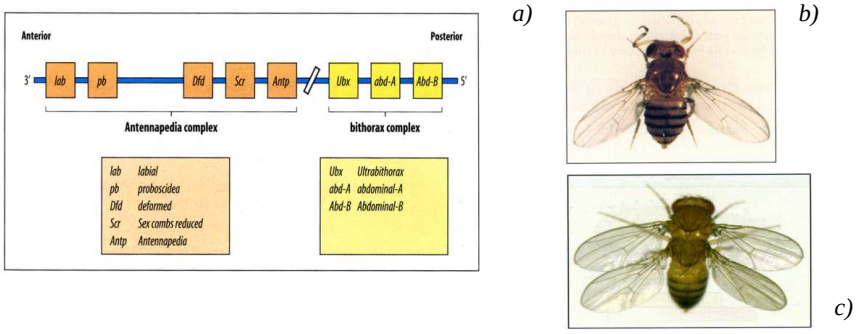


5. ábra. Az ábra bemutatja, hogy egy pair-rule gén szabályozó régiójához hogyan kapcsolódik három gap gén (Krüppel, hunchback, giant) és a bicoid gén fehérjeterméke

Közös jellemzőjük, hogy valamennyien tartalmaznak egy olyan régiót, amely a róluk másolódó fehérjében a molekula DNS-hez való kötődését biztosítja. Ez a homeobox régió. Ezért nevezik e géneket homeobox- vagy rövidítve HOM-géneknek is. Mutációjuk mélyrehatóan befolyásolja a testszelvények fejlődését. Ha a bithorax komplex génjei hibásan működnek, a fej és a tor legelső

Megjegyzés [MA1]: Ellentmondás a fentebbivel. (Ráadásul a HOM[-]gén kötőjele is ezen múlhat. Már ha jól tippelem, és tényleg a gén a szelektor.)

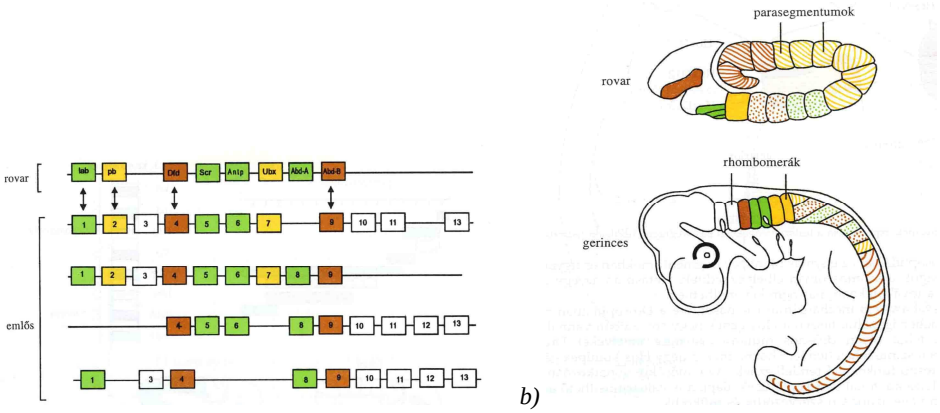
szelvénye normálisan kialakul, de az utánuk következő szelvények egyformák maradnak. Más esetekben egy-egy HOM-gén funkcióvesztése okozhatja azt, hogy a csápok helyén is lábak fejlődnek, vagy két pár szárnya lesz az állatnak *(6. ábra).*



6. ábra. a) A homeobox-géncsoportok elhelyezkedése a genomban. *b)* Olyan mutáns, amelyben a csápok helyén is lábak fejlődtek. *c)* Négy szárnnyal rendelkező mutáns légy

Természetesen már az első pillantásra világos, hogy 8 gén csak úgy határozhat meg 14 szelvényben eltérő tulajdonságokat, ha e gének kombinációi irányítják az egyes szelvények egyedi jellemzőinek megjelenését.

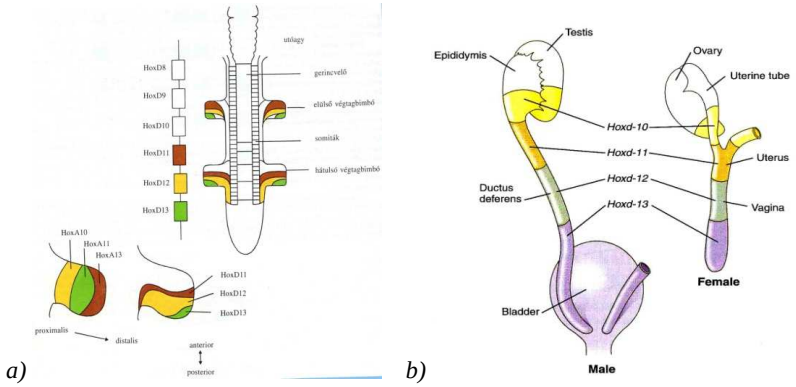
A homeoboxgénekre vonatkozó legérdekesebb vizsgálatok azok voltak, amelyek rávilágítottak arra, hogy a gerinces állatok, köztük az emlősök és az ember szervezetében is kimutatható a komplexnek mind a nyolc tagja. Ezeket Hox géneknek nevezzük. A Hox gének is pontosan ugyanabban a sorrendben ülnek a genomban, ahogy azt a *Drosophilá*ban leírták, és ahogy a magasabb rendű szervezetekben is kifejeződnek a test hossztengelye mentén *(7. ábra).*



7. ábra. a) A homeobox gének kromoszomális lokalizációjának összehasonlítása *Drosophilá*ban és egérben. *b)* A homeobox gének kifejeződési mintázata a *Drosophila* testszelvényeiben és az egérembrió agytörzsi és gerincvelői szelvényeiben

A Hox gének első megismert funkciója az volt, hogy az agytörzsi és a gerincvelői szelvények (az ún. rhombomerák) egymástól eltérő tulajdonságait határozzák meg. Később fény derült arra is, hogy a gerincesek szervezetében a Hox gének négy sorozatban fordulnak elő. Ez nyilván annak tudható be, hogy a törzsfejlődés során kétszer duplikálódott a rendszer: ez az evolúciós változások hátterében álló

genetikai mechanizmusok egyik legfontosabbika. A kétszeres duplikáció egyrészt véd a káros mutációk megjelenésétől (annak ugyanis szinte nulla a valószínűsége, hogy mind a négy komplexben egyszerre, pontosan ugyanazon génben történjen káros mutáció). Másrészt a négy Hox-komplex az egyedfejlődés során időben és térben más-más sejtekben kifejeződve, más-más folyamatokat irányíthat. A rhombomerák meghatározása mellett például szabályozzák a végtagok fejlődését is. E gének határozzák meg, hogy maguk a végtagok hol helyezkedjenek el a test hossz- és hat-hasi tengelye mentén. Ezenfelül biztosítják azt, hogy a felkar közelebb essen a testhez, mint a kéz, vagy a kéz szervkezdeményében melyik irányba nézzen a hüvelyujjunk vagy a kisujjunk *(8. ábra).* A Hox gének mélyrehatóan befolyásolják számos belső szervünk, például az emésztőszervek, a kiválasztó szervek vagy az ivarszervek fejlődését.



a) *b)*

8. ábra. A homeoboxgének kifejeződési mintázata *a)* a gerinces végtag fejlődésében, illetve *b)* a hím és nőstény ivarszervekben

A modern fejlődésbiológia legjelentősebb eredménye és legfontosabb üzenete éppen a legutóbb említett kísérletsorozat, amely igazolja, hogy a rovarokban és a tőlük az evolúció során kb. 600 millió éve elvált gerinces állatokban (majdnem) pontosan ugyanazok a gének szabályozzák a test leglényegesebb és legalapvetőbb tulajdonságait. Ez egyrészt alapvető bizonyíték az élővilág egységére vonatkozóan, így az evolúciós gondolat genetikai, molekuláris biológiai módszerekkel való igazolása. Másrészt lehetőséget ad arra, hogy megismerjük mindazon folyamatokat, a törzsfejlődés során kialakult mechanizmusokat, amelyek megőrződnek akár a saját szervezetünkben is, és megértsük, hogy ezek miként határozzák meg a testünk tulajdonságait, működéseit. Egyben magyarázatul és igazolásul szolgál arra vonatkozóan, hogy az alacsonyabb rendű és kísérletesen sokkal jobban megközelíthető modellszervezeteken kapott eredmények jórészt érvényesek lehetnek az emlős/humán rendszerekre is.