ÉLŐ ADÁS

előadások a biológia világából

Juhász Gábor

Mitől döglik a légy? Drosophila kutatások szerepe az emberi betegségek megértésében.

2014. április 2. szerda 17.00
ELTE TTK Északi Tömb fszt., 0-83 Eötvös terem
Budapest, XI. kerület, Pázmány Péter sétány 1/a.

Az ELTE Biológiai Intézetének nyilvános előadás-sorozata

facebook.com/eloadasELTEBI
eloadas.elte.hu

Mitől döglik a légy?

Dr. Juhász Gábor
tudományos főmunkatárs
http://juhaszlab.elte.hu/
ELTE Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék

Mendel-i öröklődés szabályai (1866)

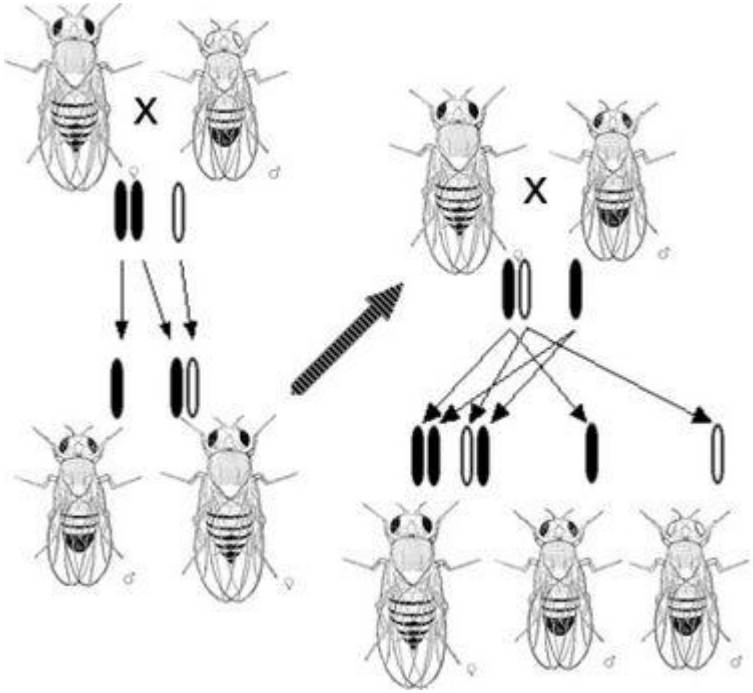
1. *Dominancia törvénye*, amely szerint a recesszív allélek fenotípusát a domináns allélek nem engedik érvényesülni.
2. *Szegregáció (*vagy gaméták tisztaságának*) törvénye*, mely szerint ha eltérő genotípusú homozigóta szülőket keresztezünk, az első utódnemzedékben a szülői tulajdonságok nem olvadnak össze, hanem változatlanul megjelennek a második utódnemzedékben.
3. *Független öröklődés törvénye*, amely kimondja, hogy a különböző tulajdonságok egymástól függetlenül öröklődnek.

Mendel csak 7, gondosan kiválasztott tulajdonságot vizsgált borsókban, melyek mindegyike külön kromoszómához kötődött. Morgan és tanítványai dolgozták ki részletesen a genetikai kapcsoltság (nem független öröklődés) és a nemhez kötött öröklődés szabályait *Drosophila melanogaster*-en.

Ivari kromoszómához kapcsolt öröklődés

1910-ben sikerült egy fehér szemű hím muslicát izolálnia.

Feltételezte, hogy a mutáns gén ivari kromoszómán helyezkedik el.



Genetikai kapcsoltság

Kis szárnyat okozó mutáció is X-hez kötött öröklődést mutatott, de néha szegregált a fehér szemet okozó mutációtól. Ennek alapján megjósolta az átkereszteződés (crossing over) jelenségét.

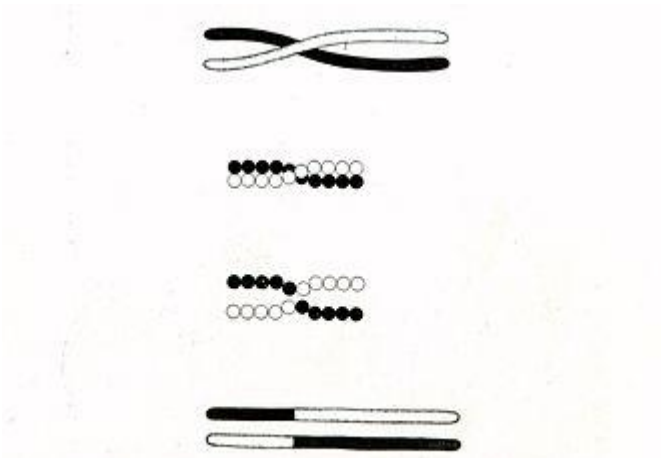


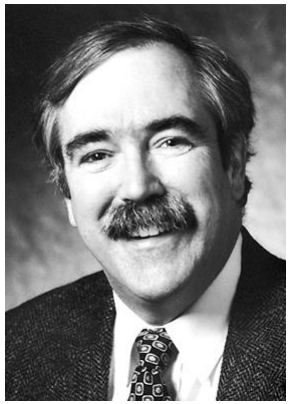
Fig. 64. Scheme to illustrate a method of crossing over of the chromosomes.

Tanítványa, Sturtevant 1913-ban alkotta meg az első genetikai térképet. Sikereik hatására terjedt el a *Drosophila melanogaster* mint kísérleti állat, úgy is mint az első (és mind a mai napig népszerű) modell organizmus.

Morgan és a Drosophila

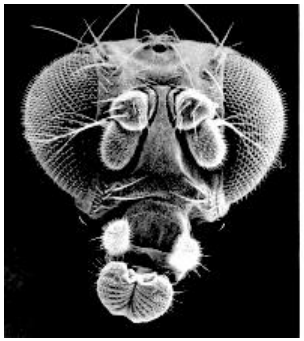
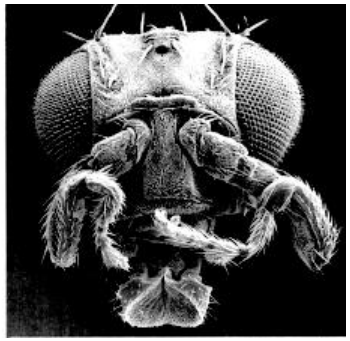
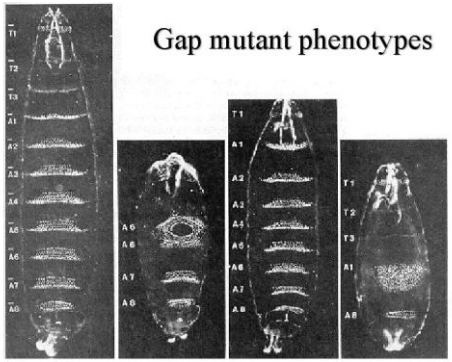
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1933
Thomas Hunt Morgan
"for his discoveries concerning the role played by the chromosome in heredity"

Drosophila fejlődésgenetika

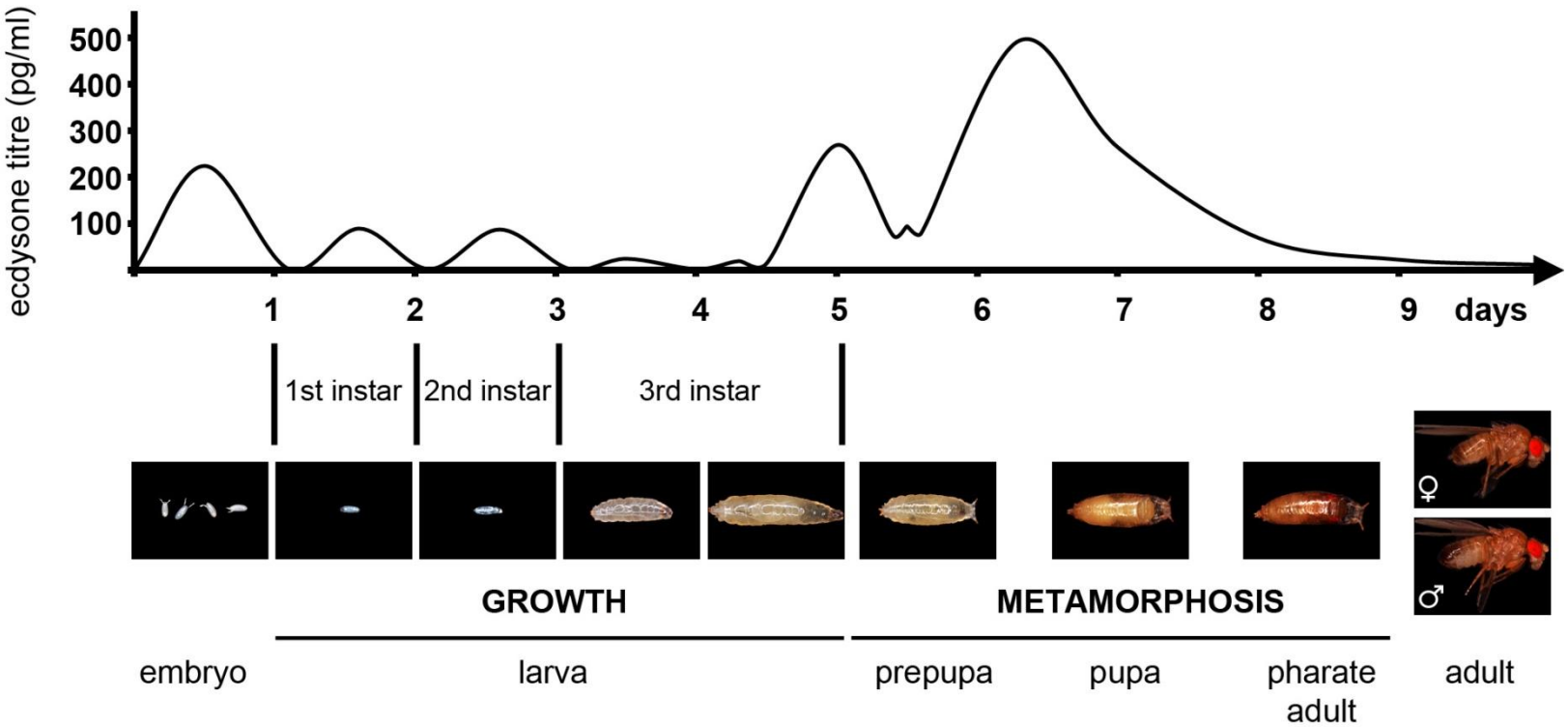


The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1995
Edward B. Lewis, **Christiane Nüsslein-Volhard** and **Eric F. Wieschaus**
"for their discoveries concerning the genetic control of early embryonic development"

Bithorax* mutant in adult *Drosophila

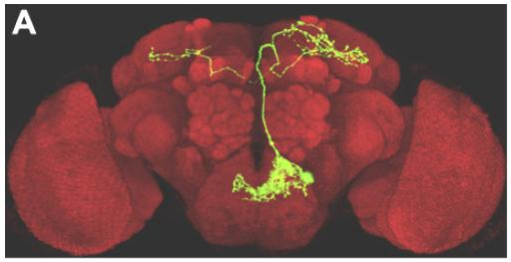
A Drosophila életciklusa

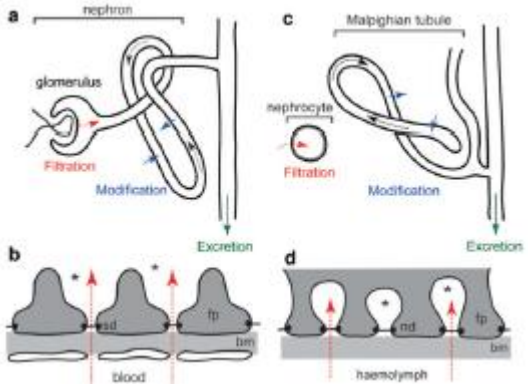


Előnyök: gyors, olcsó, szapora.

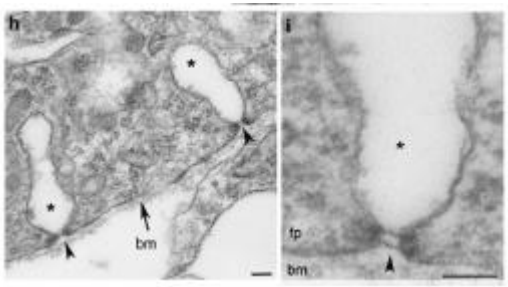
A légy és az emberi test sok tekintetben hasonló!

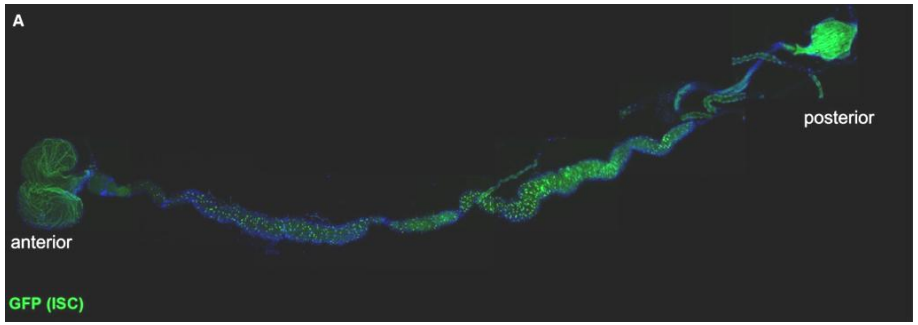
Agy: 100 000 neuron alkotta hálózat.
Érzékelés, tanulás, memória, viselkedés, alvás, stb.





Kiválasztás: a légy vesesejtek az emberihez hasonló felépítésű ultraszűrő membránt használnak.



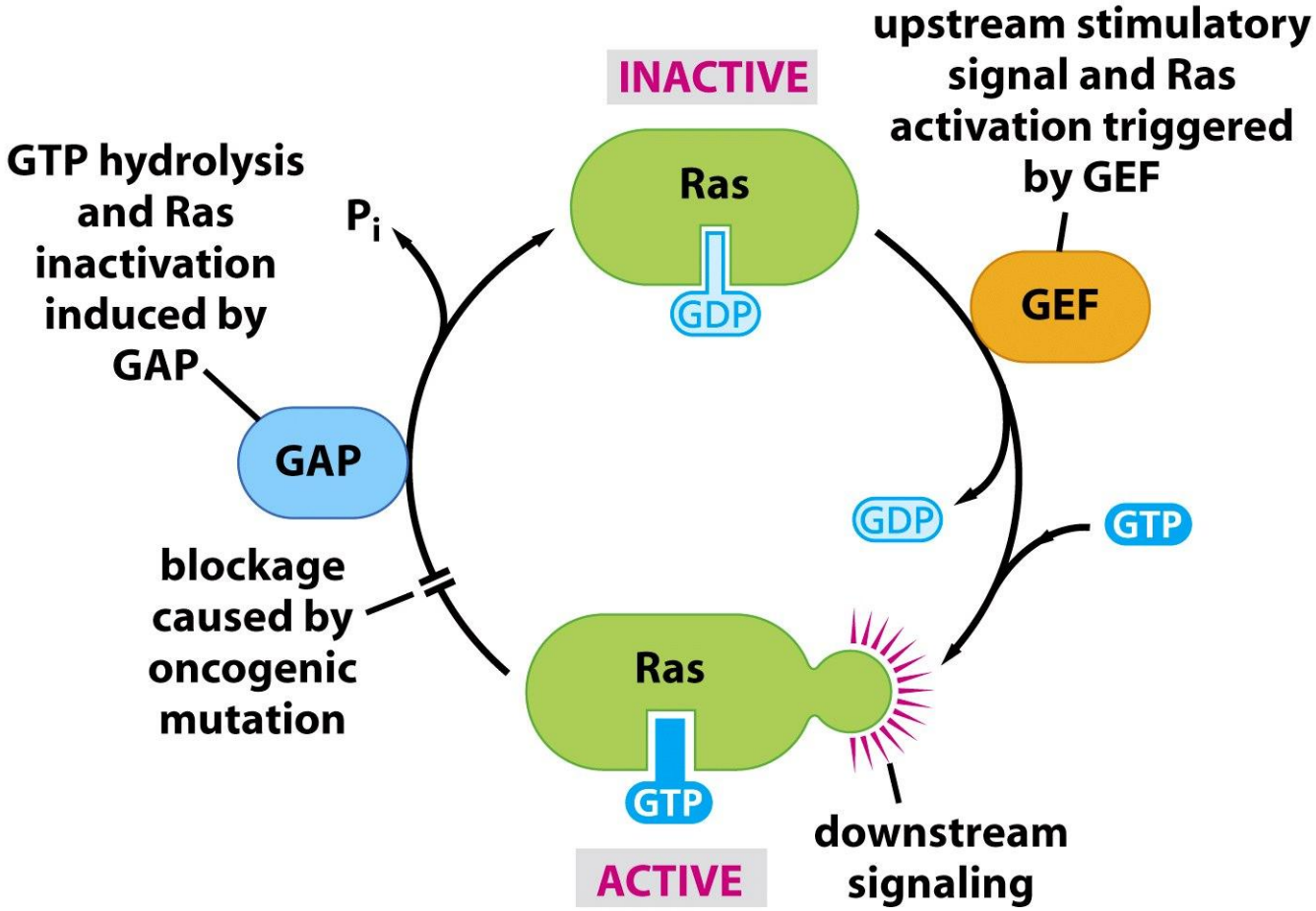


A legyek bélhámja az emberéhez hasonlóan folyamatosan megújul a bél őssejtek osztódása és differenciálódása révén.

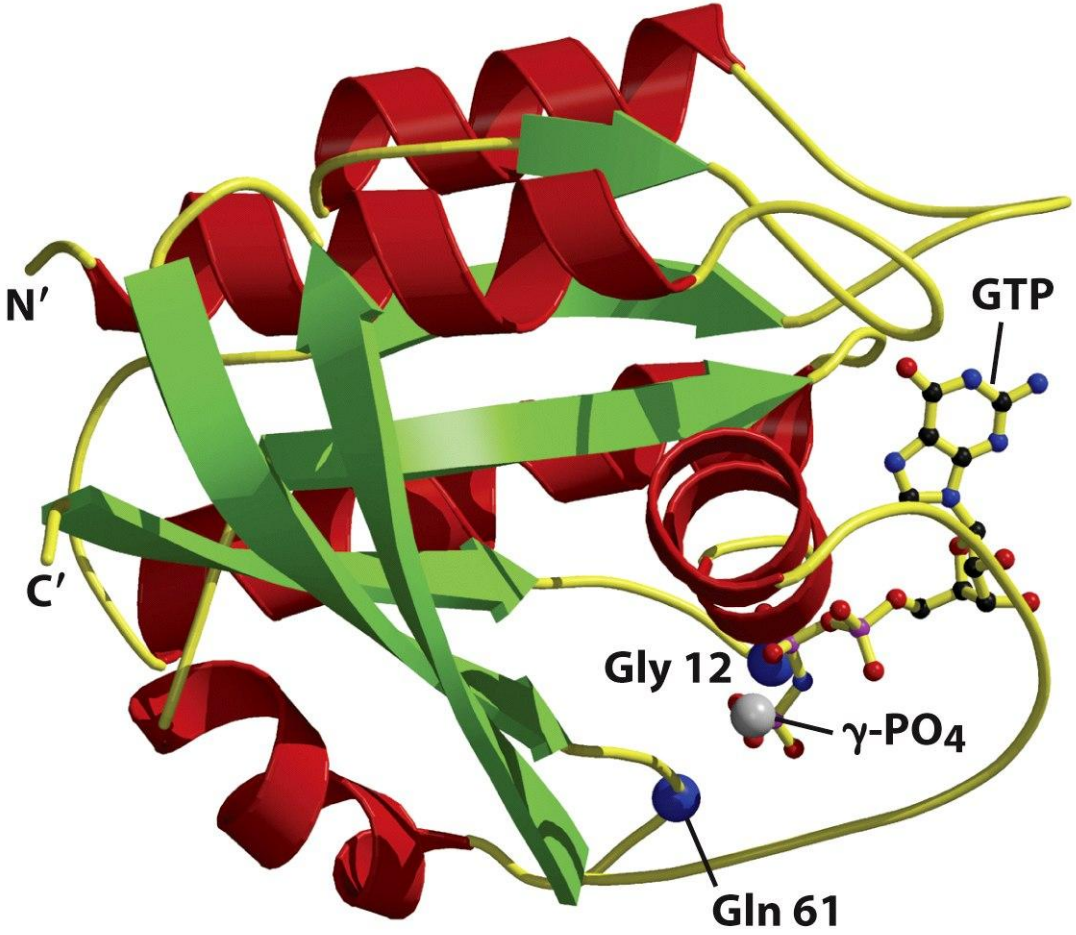
Evolúciósan konzervált gének

- Drosophila: kb. 15 000 fehérjekódoló gén
- Ezek mintegy felének van egyértelmű humán megfelelője (homológja)
- Ember: kb. 20 000 fehérjekódoló gén
- Emberi betegségekkel kapcsolatba hozható gének nagyjából 75%-ának van Drosophila homológja
- A megfelelő Drosophila mutánsok vizsgálata segíthet megfejteni, hogy mi romlik el az adott emberi betegség esetén

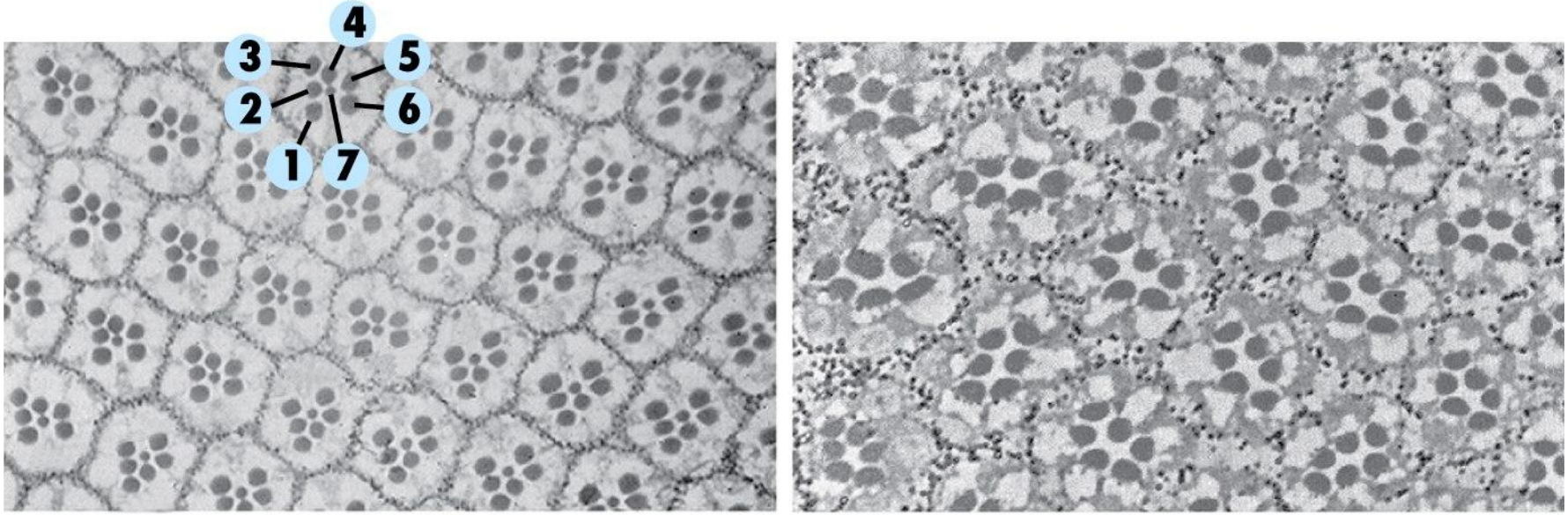
Ras: egy lipidált „kis G fehérje”



Ras az egyik leggyakrabban meghibásodó humán onkogén



Hogyan kapcsolódik a Ras a sejtnövekedéshez?



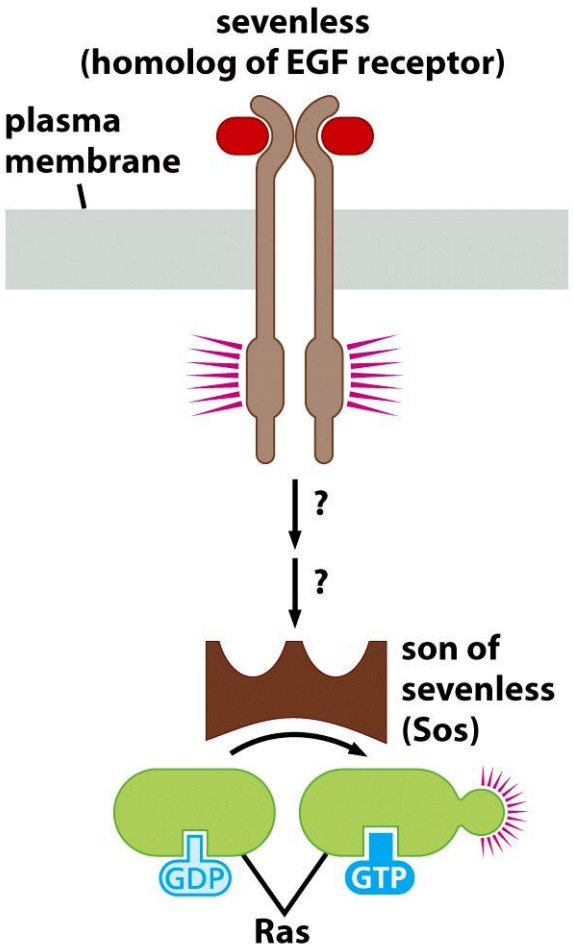
wild type **_sevenless_ mutant**

Drosophila szem metszete

Drosophila genetika

- Drosophila: a *sevenless* az EGF-R homológját kódolja
- hasonló mutáns fenotípust adó gén: *sos (son of sevenless),* ami kiderült hogy Ras GEF-et kódol
- tehát ezekben a mutánsokban nem aktiválódik a Ras, ezért hiányzik egy retinulasejt
- humán Ras normálisan a szérumban található növekedési faktorok (GF, growth factor) hatására aktiválódik
- hiperaktív Ras mutációt hordozó ráksejtek GF jel hiányában is osztódnak

Sevenless, a cell-specific homeotic gene of **Drosophila**, encodes a putative transmembrane receptor with a tyrosine kinase domain.
Hafen E, Basler K, Edstroem JE, Rubin GM.
Science. 1987 Apr 3;236(4797):55-63.
PMID: 2882603 [PubMed - indexed for MEDLINE]



The **Son** of **sevenless** gene product: a putative activator of Ras.
Bonfini L, Karlovich CA, Dasgupta C, Banerjee U.
Science. 1992 Jan 31;255(5044):603-6.
PMID: 1736363 [PubMed - indexed for MEDLINE]
Related citations

Genetic dissection of a neurodevelopmental pathway: **Son** of **sevenless** functions downstream of the **sevenless** and EGF receptor tyrosine kinases.
Rogge RD, Karlovich CA, Banerjee U.
Cell. 1991 Jan 11;64(1):39-48.
PMID: 1846090 [PubMed - indexed for MEDLINE]

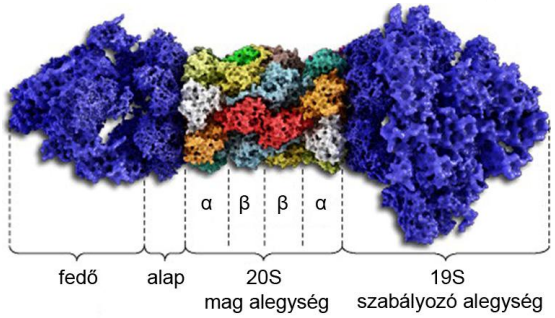
Neurodegenerációs betegségek

- genetikai mutációk okozzák az öröklődő formákat (szórványos eseteket nehéz vizsgálni)
- aberráns szerkezetű fehérjéket tartalmazó aggregátumok jelenhetnek meg (pl. alfa-szinuklein Parkinson-kór esetén, béta amiloid Alzheimer-kór esetén)
- bizonyos fehérjék esetén poliglutamin ismétlődés elburjánzása okoz aggregációt (pl. huntingtin a Huntington-kór esetén); ez a betegség domináns öröklésmenetet mutat
- hatásos gyógymód lehet az ilyen aberráns fehérjék lebontás révén történő eltávolítása a sejtekből

Sejten belüli lebontás és újrahasznosítás

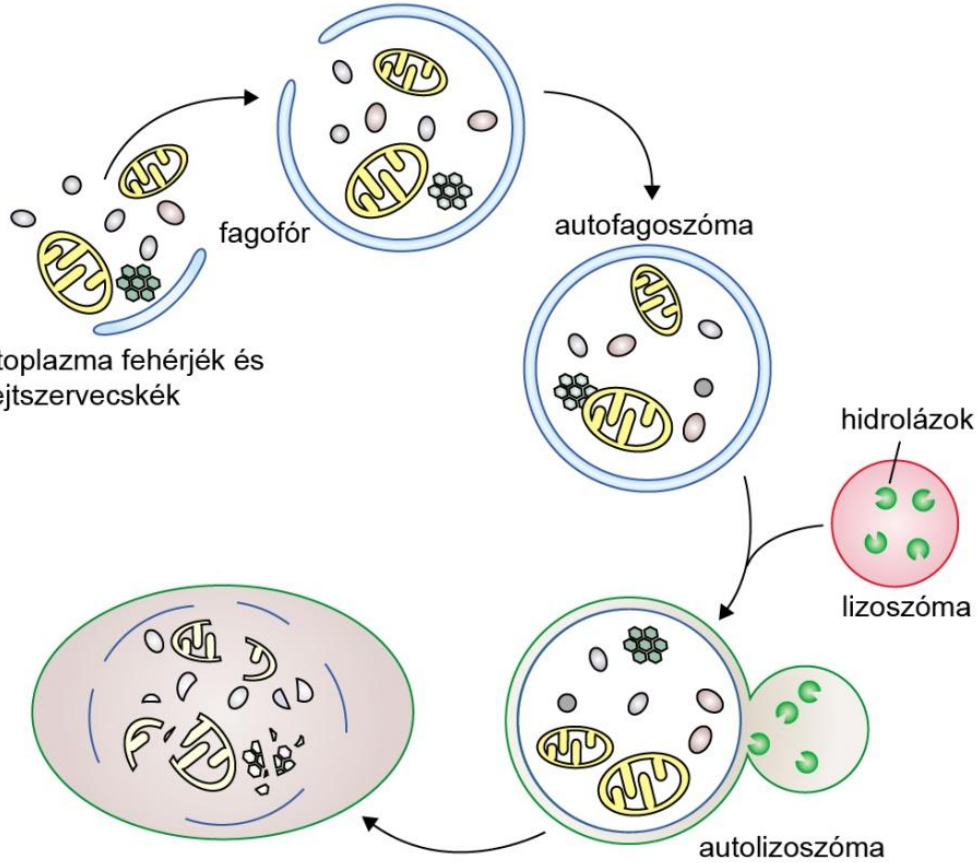
Ubiquitin-proteaszóma rendszer (UPS)

fehérje szubsztrát



(a valóságban kisebb mint egy riboszóma)

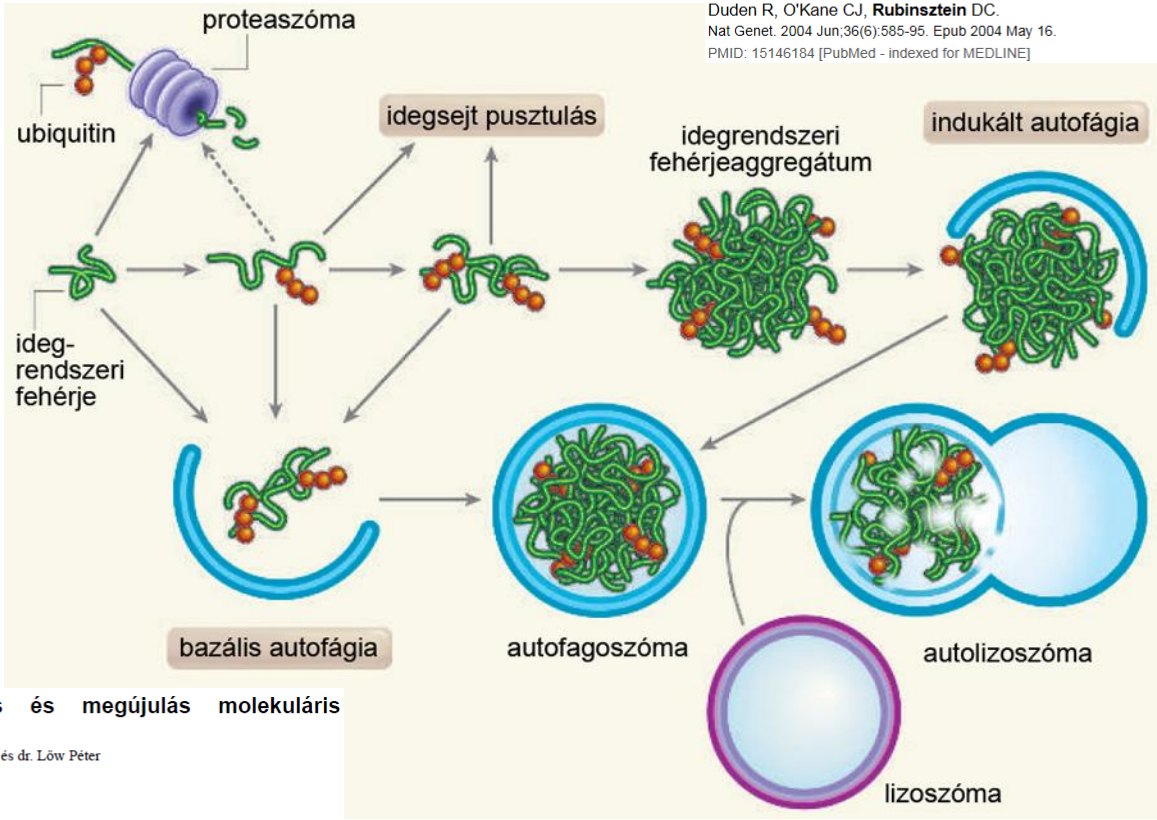
Autofagoszóma-lizoszóma rendszer



Autofág lebontás fokozása

Mutáns huntingtin aggregátumok számát az autofágia gyógyszeres indukciója (rapamicin kezelés) csökkenti muslicákban, tenyésztett humán sejtekben és egér modellen is. A HD egerek tünetei javultak!

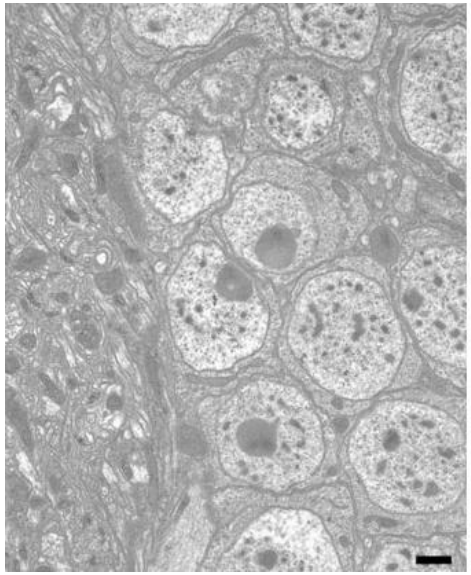
Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease.
Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, Scaravilli F, Easton DF, Duden R, O'Kane CJ, **Rubinsztein** DC.
Nat Genet. 2004 Jun;36(6):585-95. Epub 2004 May 16.
PMID: 15146184 [PubMed - indexed for MEDLINE]



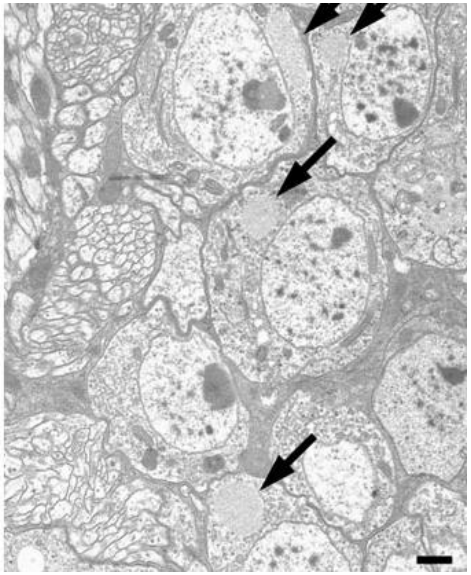
Az önemésztés, sejtpusztulás és megújulás molekuláris sejtbiológiája
írta dr. Juhász Gábor, dr. Kovács Attila, dr. László Lajos, és dr. Löw Péter
Szerkesztette:
dr. Löw Péter
Lektorálta:
dr. Bánhegyi Gábor, a Semmelweis Egyetem Orvosvegytani Intézetének igazgatója
Szerzői jog © 2013 ELTE TTK Biológiai Intézet

Progresszív neurodegeneráció az Atg7 mutáns legyekben

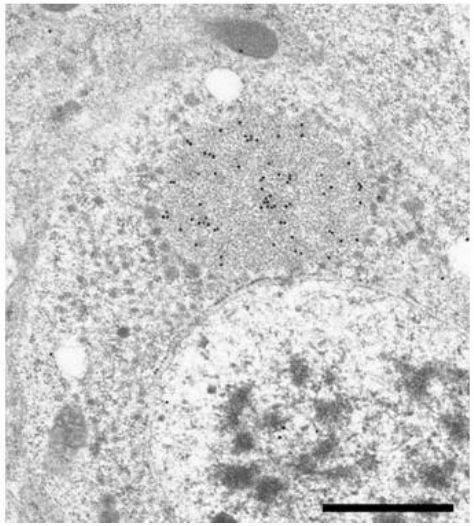
Kontrol



Atg7-

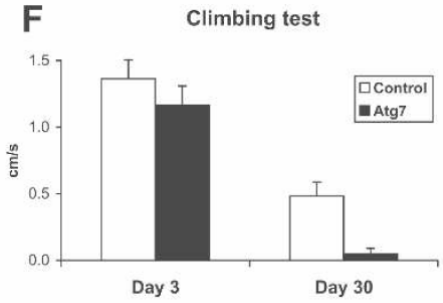


a-Ubiquitin



Atg7-dependent **autophagy** promotes neuronal health, stress tolerance, and longevity but is dispensable for metamorphosis in Drosophila.

Juhász G, Erdi B, Sass M, Neufeld TP.
Genes Dev. 2007 Dec 1;21(23):3061-6.
PMID: 18056421 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free PMC Article**

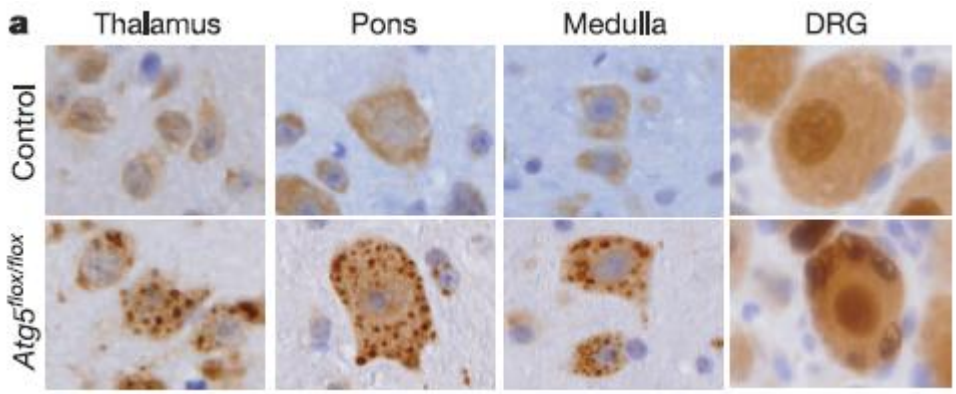


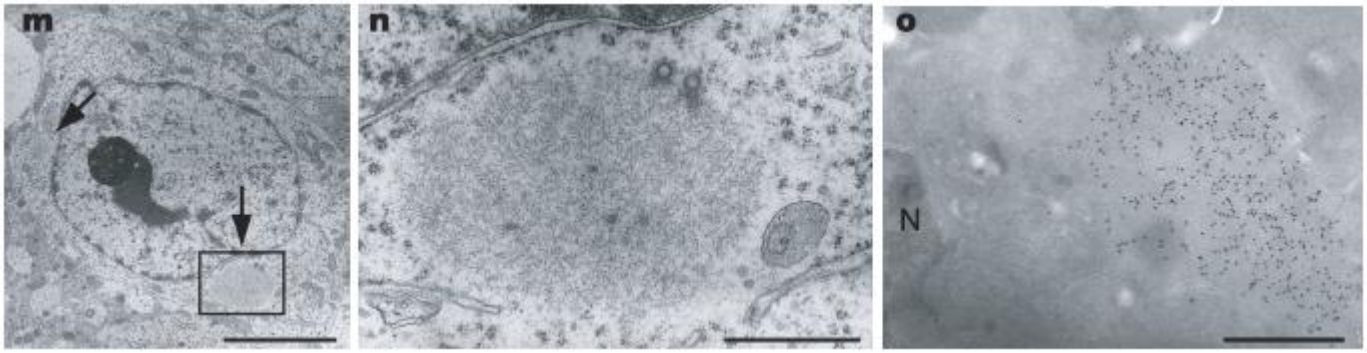
Autophagosomal Syntaxin17-dependent lysosomal degradation maintains neuronal function in Drosophila.

Takáts S, Nagy P, Varga Á, Pircs K, Kárpáti M, Varga K, Kovács AL, Hegedűs K, Juhász G.
J Cell Biol. 2013 May 13;201(4):531-9. doi: 10.1083/jcb.201211160.
PMID: 23671310 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free PMC Article**

Atg génkiütött egerek

Neuronspecifikus Atg7 vagy Atg5 KO egerekben ubiquitin-pozitív fehérje-aggregátumok jelennek meg, mely progresszív neurodegenerációhoz vezet.





Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice.

Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, Yokoyama M, Mishima K, Saito I, Okano H, Mizushima N.

Nature. 2006 Jun 15;441(7095):885-9. Epub 2006 Apr 19.

PMID: 16625204 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Loss of autophagy in the central nervous system causes neurodegeneration in mice.

Komatsu M, Waguri S, Chiba T, Murata S, Iwata J, Tanida I, Ueno T, Koike M, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K.

Nature. 2006 Jun 15;441(7095):880-4. Epub 2006 Apr 19.

PMID: 16625205 [PubMed - indexed for MEDLINE]

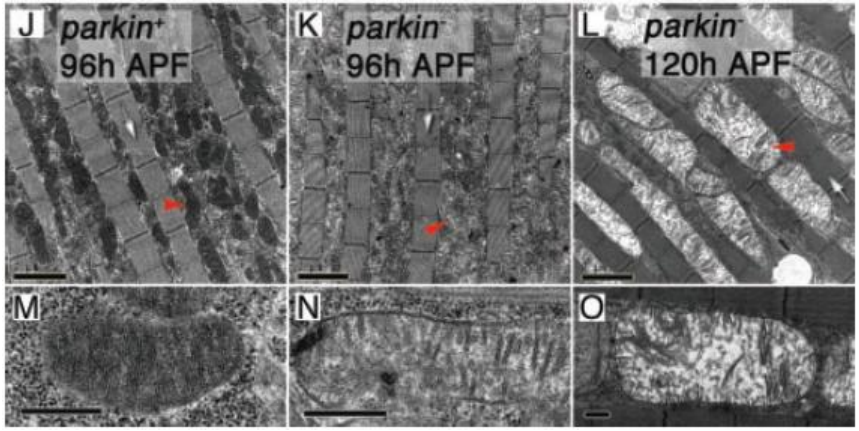
Parkinson-kór

- először mozgásszervi rendellenességek alakulnak ki: reszketés, merevség, lassú mozgás, későbbiekben dementia és depresszió
- a tünetek jó részét a középagy substantia nigra részében található, dopamint termelő idegsejtek ismeretlen okból történő elhalása okozza (extrapiramidális mozgatórendszer),
- dopamin egy idegrendszeri jelátvivő anyag (neurotranszmitter), jutalomérzetet közvetít például (dohányzás is növeli a dopaminszintet: addikciót, függést okoz)
- a betegek 5%-ánál ismert genetikai mutáció az ok, például az LRRK2 (PARK8), PINK1 vagy Parkin (PARK2) funkcióvesztéses mutációi (autoszómás recesszív)

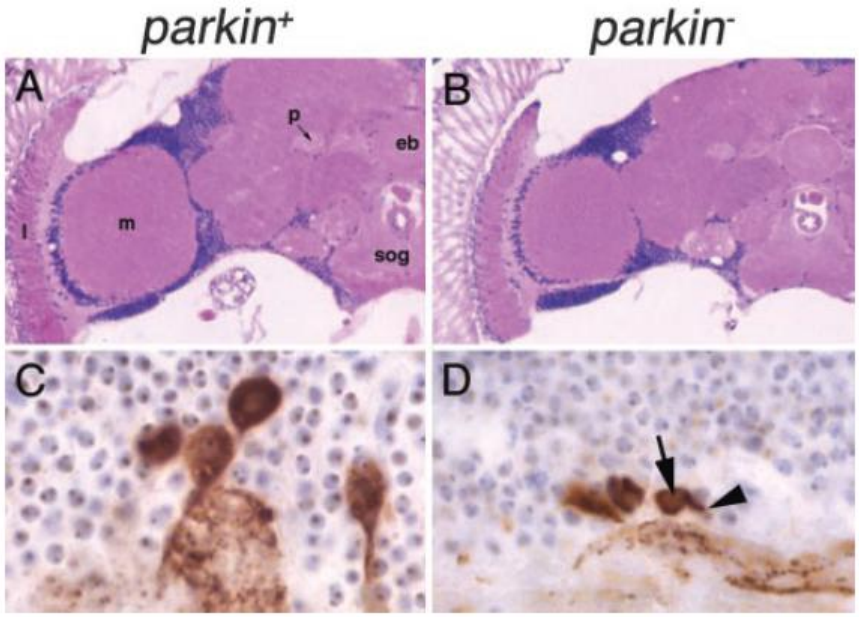
Drosophila parkin mutánsok

2003-ban publikálták a parkin mutáns legyek fenotípusait: mozgásszervi rendellenességek, amit nem csak a dopaminerg idegsejtek pusztulása, hanem esetükben izom disztrófia is okoz.

A leginkább feltűnő mikroszkópos elváltozás a mitokondriumok abnormális morfológiája volt!

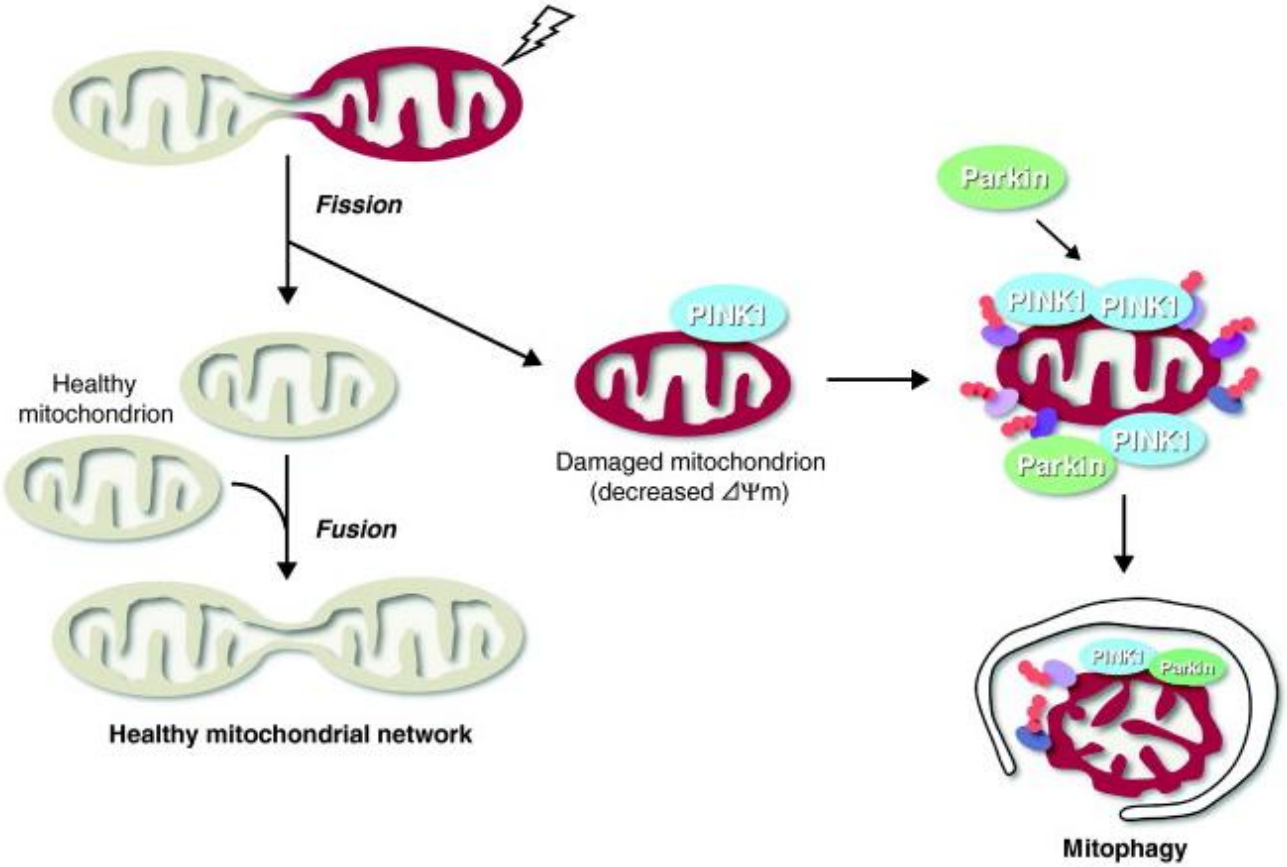


Mitochondrial pathology and apoptotic muscle degeneration in Drosophila parkin mutants.
Greene JC, Whitworth AJ, Kuo I, Andrews LA, Feany MB, **Pallanck** LJ.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Apr 1;100(7):4078-83. Epub 2003 Mar 17.
PMID: 12642658 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free PMC Article**



Szelektív mitokondrium lebontás

További kutatások kiderítették, hogy a Parkinson-kórnál gyakori mutációk egy része a mitokondriumok lebontásában szerepet játszó géneket tesz működésképtelenné.
A PINK1 a károsodott mitokondriumokon stabilizálódik, ami a Parkint köti. A Parkin ubikvitinálja a mitokondriális fehérjéket, így az adott mitokondrium szelektíven lebomlik autofágia révén (mitofágia).

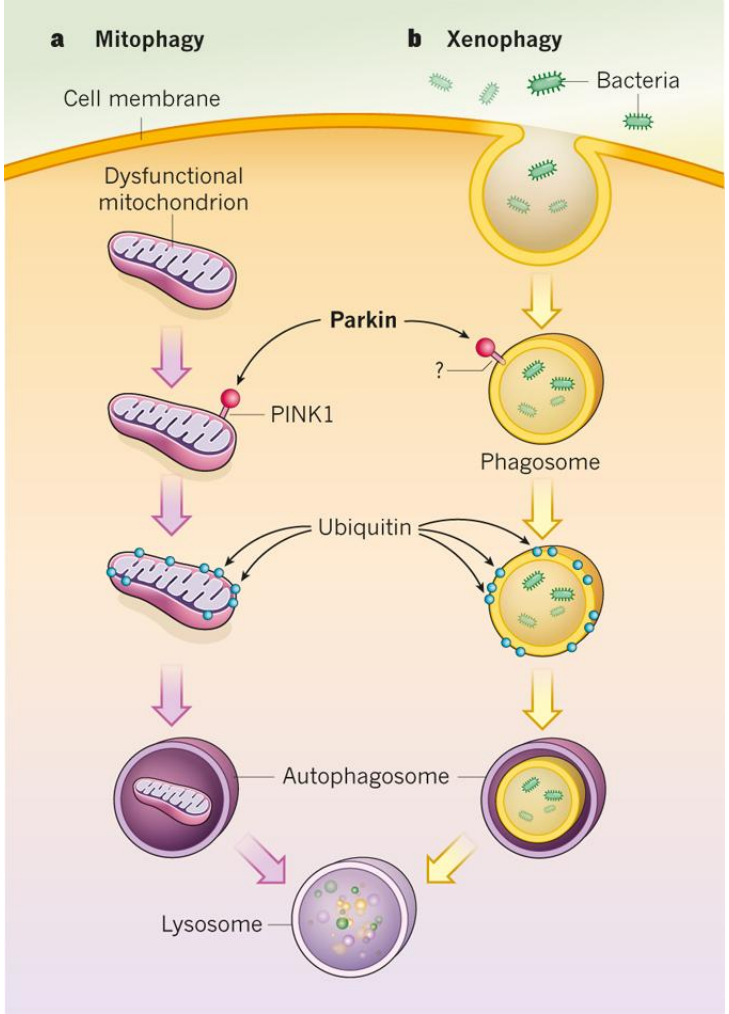


Miért gyakoriak a fertőzések Parkin mutáns betegek körében?

- Parkin (PARK2) mutációit hordozó betegek körében gyakoriak a bakteriális fertőzések (pl. tuberkulózis)

- A mitokondrium tulajdonképpen egy háziasított baktérium, mivel egy ősi fagocitózis révén került be az eukarióta sejtbe és vált endoszimbiontává

- A legújabb adatok alapján a sejtjeinket megfertőző baktériumok autofág lebontását is a mitofágiához hasonló molekuláris útvonalak biztosítják légy és emlős sejtekben is



The ubiquitin ligase **parkin** mediates resistance to intracellular pathogens.
Manzanillo PS, Ayres JS, Watson RO, Collins AC, Souza G, Rae CS, Schneider DS, Nakamura K, Shiloh MU, Cox JS.
Nature. 2013 Sep 26;501(7468):512-6. doi: 10.1038/nature12566. Epub 2013 Sep 4.
PMID: 24005326 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free PMC Article**

Egy lehetséges PD gyógymód?

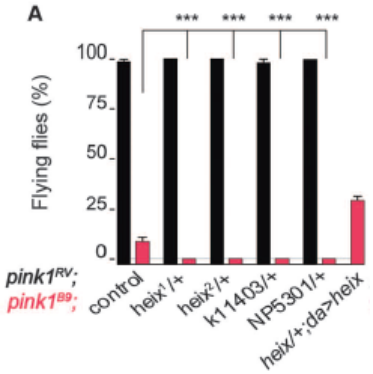
- PINK1 mutáns fenotípust dominánsan módosító mutációk keresése Drosophila-ban (dominant modifier screen)

Vitamin K2 is a mitochondrial electron carrier that rescues pink1 deficiency.

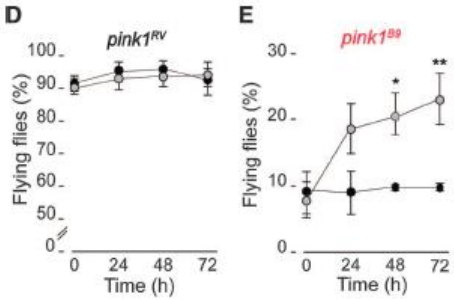
Vos M, Esposito G, Edirisinghe JN, Vilain S, Haddad DM, Slabbaert JR, Van Meensel S, Schaap O, De Strooper B, Meganathan R, Morais VA, **Verstreken** P. Science. 2012 Jun 8;336(6086):1306-10. doi: 10.1126/science.1218632. Epub 2012 May 10.

PMID: 22582012 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free Article**

- egyik találat: heix, ami egy K2 vitamin (menaquinone) szintézisében szereplő enzimet kódol



- K2 vitamin etetés hatására a PINK1 mutáns legyek jobban repülnek és helyreáll az ATP-hiányos állapotuk

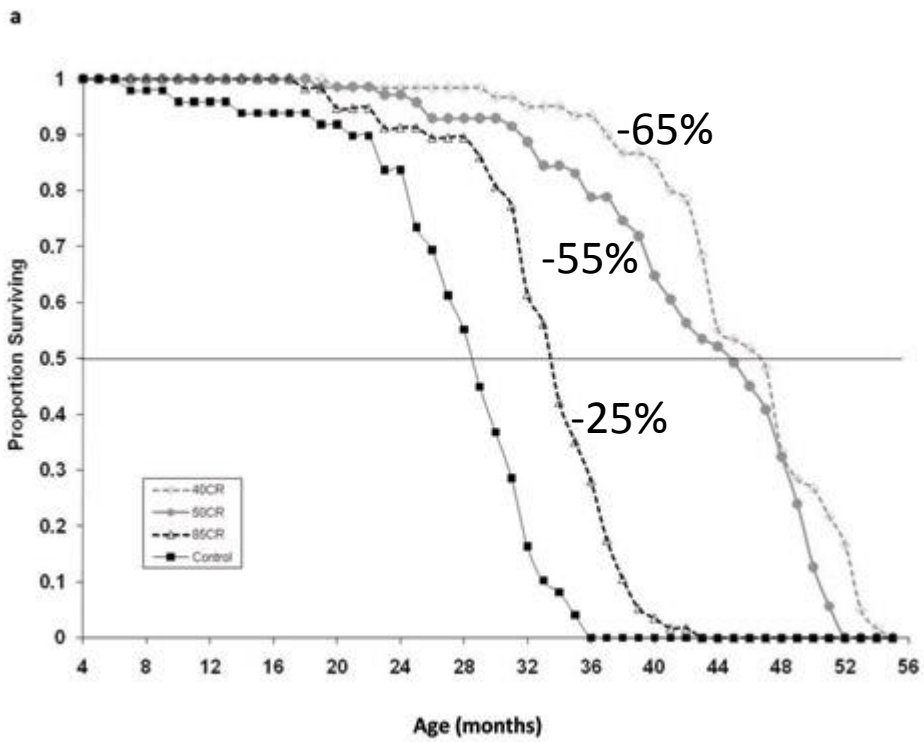


Öregedés

- az idő előrehaladtával csökken a képesség arra, hogy megfelelő válaszreakciókat produkáljon a szervezet
- különféle stresszhatásokra adott válasz csökken
- a szervezet egyensúlya egyre könnyebben felborul (sejtszinten is)
- káros mutációk felhalmozódnak
- őssejtek nem osztódnak megfelelően/elfogynak
- növekszik a betegségekre való hajlam (rák, elbutulás, immunrendszeri problémák)

The hallmarks of **aging**.
López-Otín C, Blasco MA, **Partridge** L, Serrano M, Kroemer G.
Cell. 2013 Jun 6;153(6):1194-217. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.039. **Review**.
PMID: 23746838 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free PMC Article**

Kalorikus restrikció (CR)



Légy és fonalféreg esetén is működik, és CR-t imitáló mutációk is megnövelik az élethosszt

Genetics of longevity in model organisms: debates and paradigm shifts.
Gems D, **Partridge L.**
Annu Rev Physiol. 2013;75:621-44. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183712. Epub 2012 Nov 26. **Review**.
PMID: 23190075 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Autofágia szükséges ehhez

Longevity pathways converge on autophagy genes to regulate life span in Caenorhabditis elegans.
Tóth ML, Sigmond T, Borsos E, Barna J, Erdélyi P, Takács-Vellai K, Orosz L, Kovács AL, Csikós G, Sass M, **Vellai T**.
Autophagy. 2008 Apr;4(3):330-8. Epub 2008 Jan 21.
PMID: 18219227 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free Article**

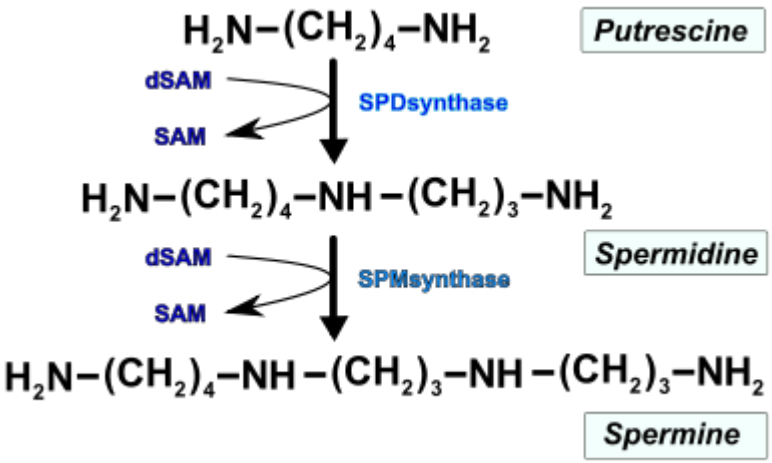
Autofágia fokozása az agyban megnöveli a legyek élethosszát

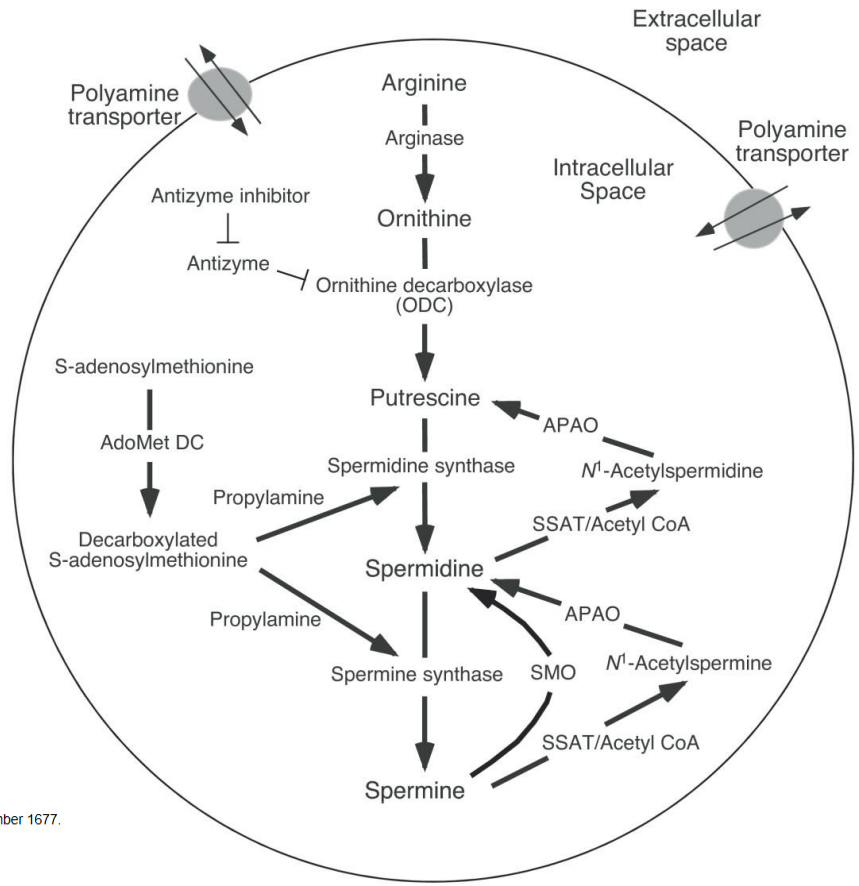
Promoting basal levels of autophagy in the nervous system enhances longevity and oxidant resistance in adult Drosophila.
Simonsen A, Cumming RC, Brech A, Isakson P, Schubert DR, **Finley** KD.
Autophagy. 2008 Feb;4(2):176-84. Epub 2007 Nov 6.
PMID: 18059160 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free Article**

CR diéta: fehérje, vitamin és nyomelem-kiegészítésre szorul! (kb. böjtölés)

The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake.
Weindruch R, Walford RL, Fligiel S, Guthrie D.
J Nutr. 1986 Apr;116(4):641-54.
PMID: 3958810 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free Article**

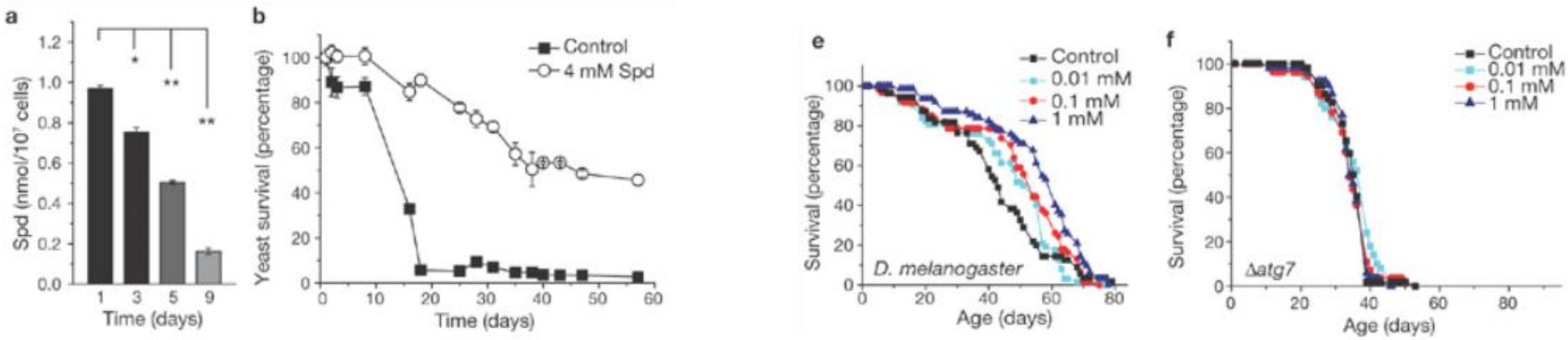
Spermidin és más poliaminok





^ Leeuwenhoek, A. van (1678) Observationes D. Anthonii Leeuwenhoek, de natis e semine genitali animalculis. Letter dated November 1677. *Philos. Trans. Roy. Soc. London*, 12,1040-1043.

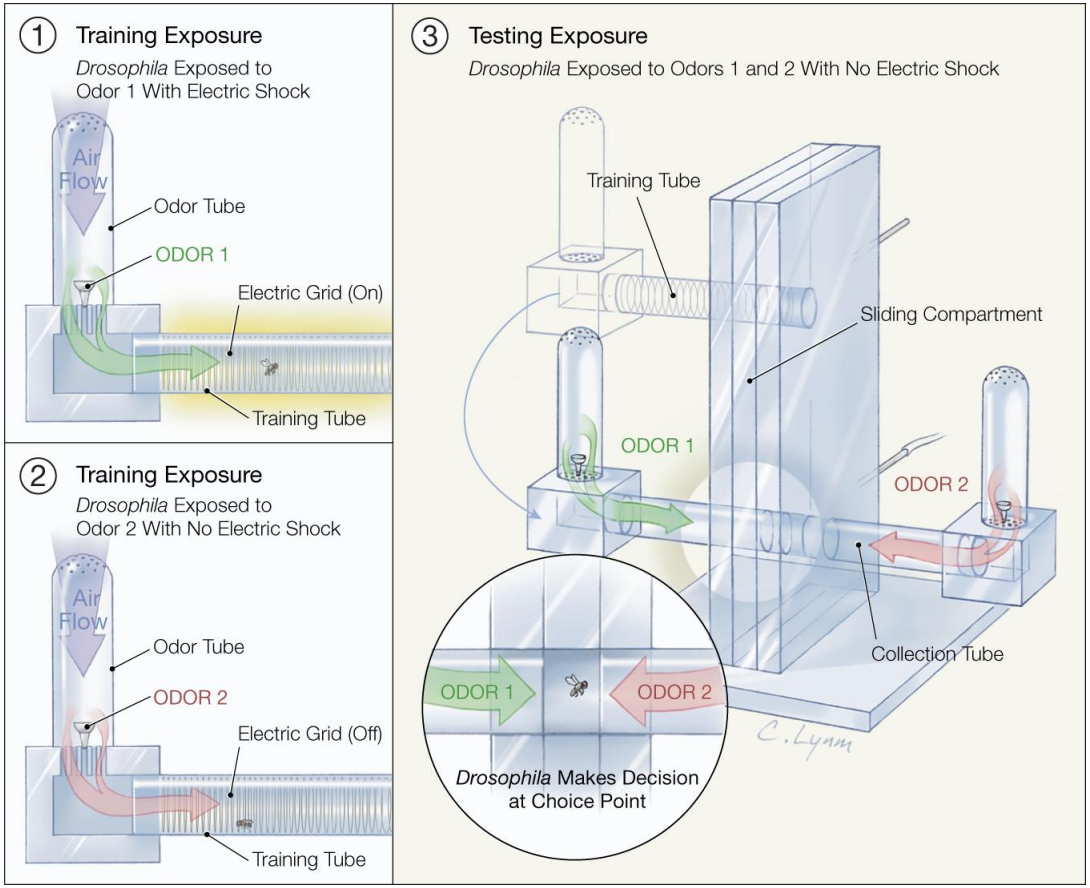
Poliaminok és öregedés



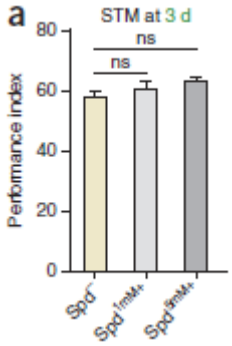
Az öregedés során egyre csökken a poliaminok mennyisége a sejtekben. Spermidin-tartalmú táptalaj élesztő, muslica és tenyésztett humán sejtek élethosszát is megnöveli, méghozzá az autofágiát fokozva, autofágia-függő módon. Egér kísérletek folyamatban vannak.

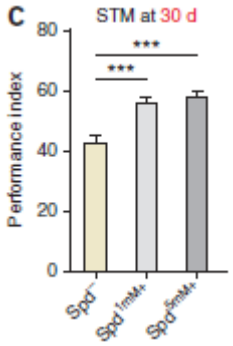
Induction of **autophagy** by **spermidine** promotes longevity.
Eisenberg T, Knauer H, Schauer A, Büttner S, Ruckenstuhl C, Carmona-Gutierrez D, Ring J, Schroeder S, Magnes C, Antonacci L, Fussi H, Deszcz L, Hartl R, Schraml E, Criollo A, Megalou E, Weiskopf D, Laun P, Heeren G, Breitenbach M, Grubeck-Loebenstein B, Herker E, Fahrenkrog B, Fröhlich KU, Sinner F, Tavernarakis N, Minois N, Kroemer G, Madeo F.
Nat Cell Biol. 2009 Nov;11(11):1305-14. doi: 10.1038/ncb1975. Epub 2009 Oct 4.
PMID: 19801973 [PubMed - indexed for MEDLINE]

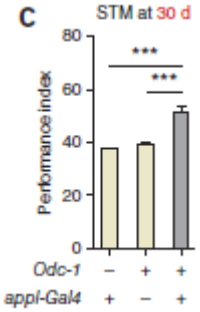
Drosophila szaglómemória

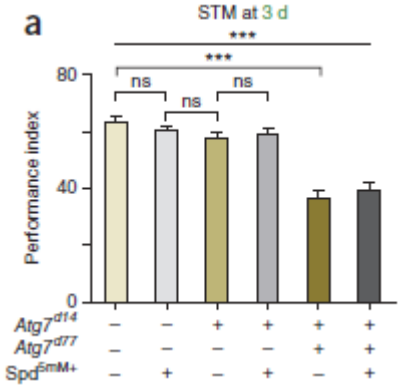


Poliaminok, autofágia és emlékezet









Sperimidin kezelés hatására az öreg legyek emlékezőképessége nem csökken.
Poliamin-szintézis genetikai fokozása az agyban (odc túltermeltetés) is segít.
Atg7 mutáns legyek memóriáján a poliamin etetés nem segít.

Restoring polyamines protects from age-induced memory impairment in an autophagy-dependent manner.
Gupta VK, Scheunemann L, Eisenberg T, Mertel S, Bhukel A, Koemans TS, Kramer JM, Liu KS, Schroeder S, Stunnenberg HG, Sinner F, Magnes C, Pieber TR, Dipt S, Fiala A, Schenck A, Schwaerzel M, Madeo F, Sigrist SJ.
Nat Neurosci. 2013 Oct;16(10):1453-60. doi: 10.1038/nn.3512. Epub 2013 Sep 1.
PMID: 23995066 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Poliamin források

- talán jobb odafigyelni, hogy mit eszünk, mint éhezni (CR)
- putreszcin: citrusfélék (grape fruit, narancs), savanyú káposzta
- nagy dózisban toxikus (2g/testsúlykg patkányoknál)
- spermidin: érlelt sajtok, gomba, szója, hüvelyesek, körte, teljes kiőrlésű gabonafélék, <u>búzacsíra</u>
- spermin: zöldborsó, máj

Autofágia a médiában

The Economist

Log in | Register | My account | Subscribe | Digita

World politics | Business & finance | Economics | Science & technology | Culture | The World

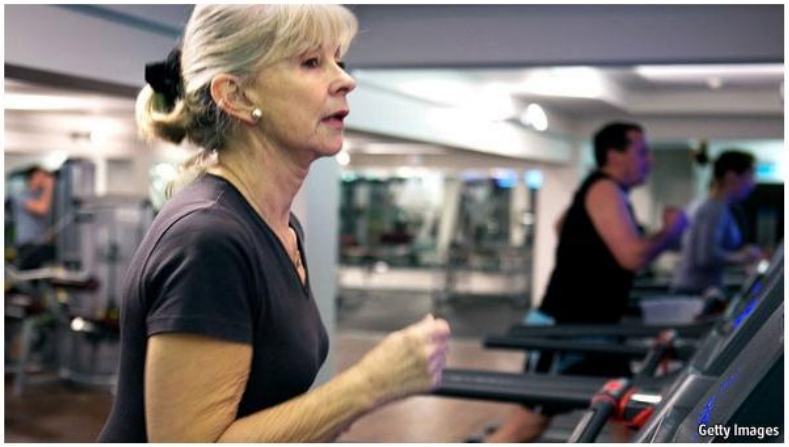
Exercise and longevity

Worth all the sweat

Just why exercise is so good for people is, at last, being understood

Jan 21st 2012 | from the print edition

Like 1k | Tweet 772



ONE sure giveaway of quack medicine is the claim that a product can treat any ailment. There are, sadly, no panaceas. But some things come close, and exercise is one of them. As doctors never tire of reminding people, exercise protects against a host of illnesses, from heart attacks and dementia to diabetes and infection.

How it does so, however, remains surprisingly mysterious. But a paper just published in *Nature* by Beth Levine of the University of Texas Southwestern Medical Centre and her colleagues sheds some light on the matter.

Exercise-induced BCL2-regulated **autophagy** is required for muscle glucose homeostasis.

He C, Bassik MC, Moresi V, Sun K, Wei Y, Zou Z, An Z, Loh J, Fisher J, Sun Q, Korsmeyer S, Packer M, May HI, Hill JA, Virgin HW, Gilpin C, Xiao G, Bassel-Duby R, Scherer PE, **Levine B**.
Nature. 2012 Jan 18;481(7382):511-5. doi: 10.1038/nature10758. Erratum in: Nature. 2013 Nov 7:503(7474):146.
PMID: 22258505 [PubMed - indexed for MEDLINE] **Free PMC Article**

...és amit a japán fiatalok már tudnak: az autofágia jó dolog

Toriko