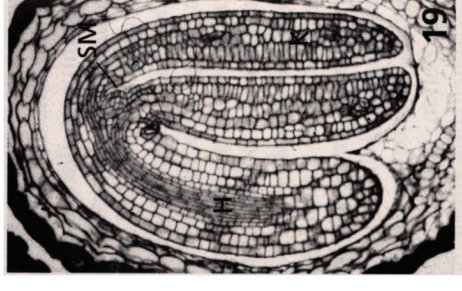
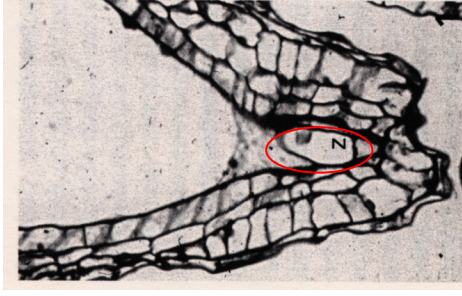


Vordiplom



- Was versteht man unter doppelter Befruchtung?
- Inwiefern spielt das Cytoskelett bei Pflanzen eine größere Rolle bei der Gestaltbildung als bei Tieren?
- Nennen Sie die beiden Komponenten des Cytoskeletts
- Was ist eine Elementarfibrille?
- Was ist eine Mikrofibrille?
- Welche Moleküle in der Zellwand werden verändert, damit sich eine Zelle dehnen kann?

Embryogenese

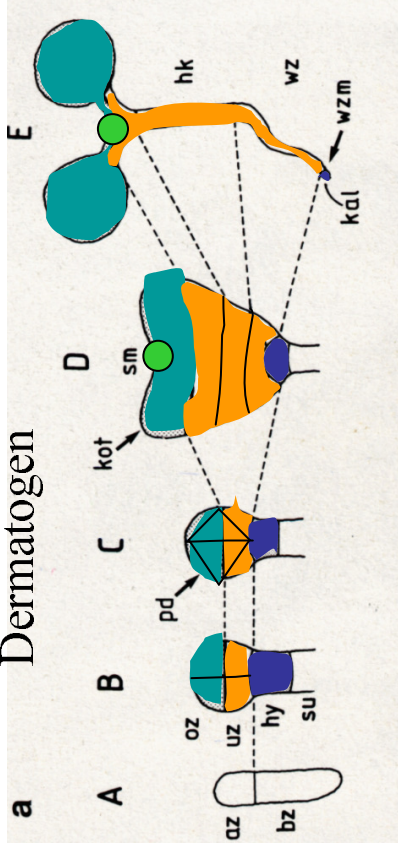


- Aus einer einzelnen unspezialisierten Zelle entwickelt sich ein vielzelliger Organismus, dessen Zellen unterschiedliche Funktionen übernehmen
 - Wachstum (Volumenvergrößerung und Zellteilung)
 - Differenzierung (Abrufen unterschiedlicher genetischer Informationen)
 - Morphogenese (Gestaltbildung)

Zell-Schicksale



Oktant Herzstadium
Dermatogen



Das Schicksal der Zellen wird durch deren Lage im Embryo bestimmt.

Die apikale/basale Achse wird mit der ersten Zellteilung festgelegt.

Die radiärsymmetrische Achse wird im Dermatogen festgelegt.

Die bilaterale Achse wird im Herzstadium festgelegt.

- az: apikale Zele (Pro-Embryozelle)
- bz: basale Zelle
- oz: obere Zellschicht
- uz: untere Zellschicht
- hy: Hypophyse
- su: Suspensor
- pd: Protoderm
- kot: Kotyledonen
- sm: Sproßmeristem
- hk: Hypokotyl
- wz: Wurzel
- wzm: Wurzelmeristem
- ka: Kalyptra (aus der Hypophyse)

Transposon im Reporter-gen zur Kartierung von Zellschicksalen



Promotor Reporter-gen, z.B. β -Glucuronidase

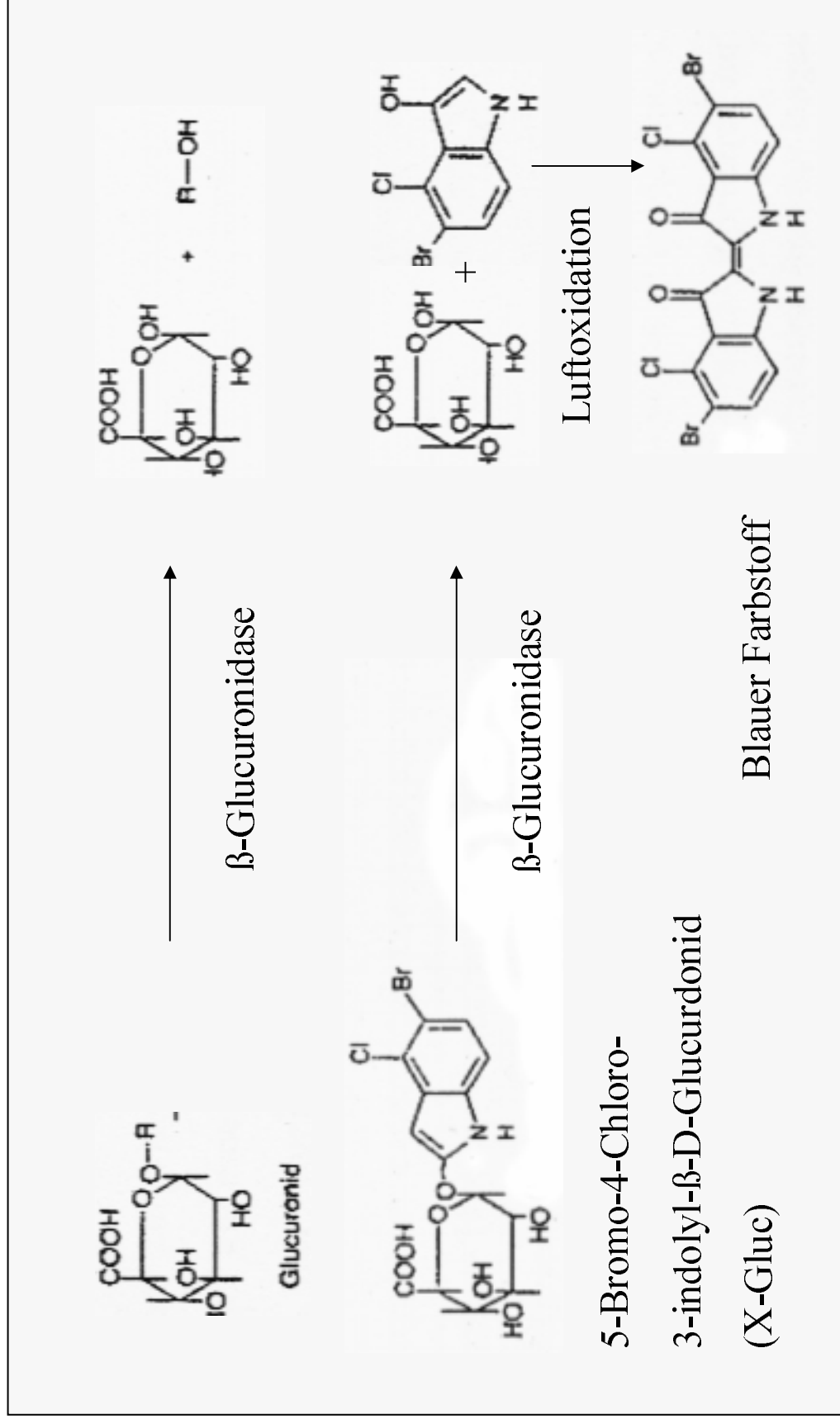


Das β -Glucuronidase Gen stammt aus *E. coli*
Es kodiert für ein Enzym, das glucuronidische Bindungen spaltet.

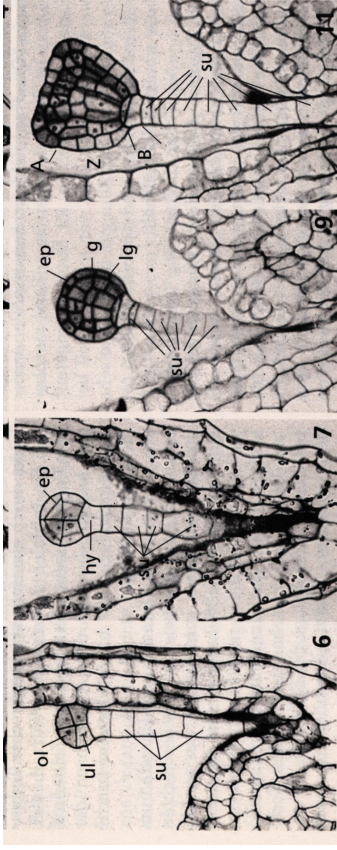
Promotor Transposon Reporter-gen, z.B. β -Glucuronidase



Die β -Glucuronidase Reaktion

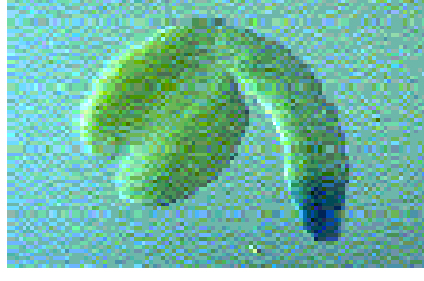
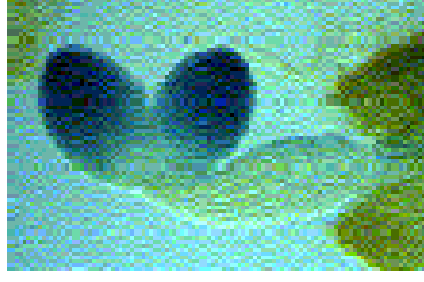
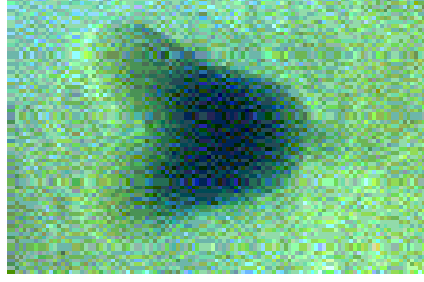


Kartierung von Zellschicksalen



GUS expressing marker lines

Wenn das das Transposon z.B. aus dem Reporterkonstrukt springt, wird das Reportergen in allen Tochterzellen exprimiert.

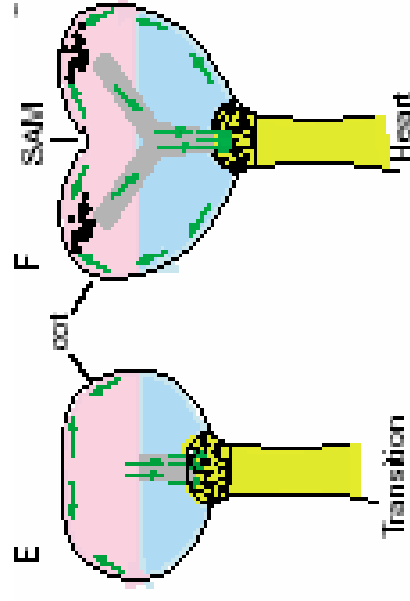
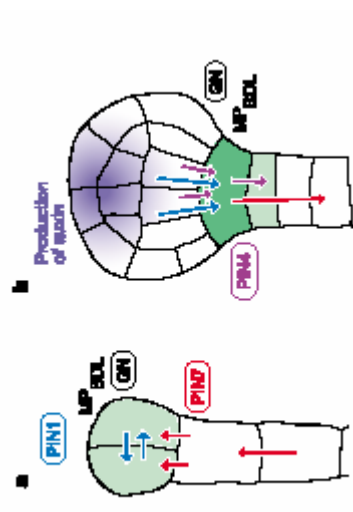
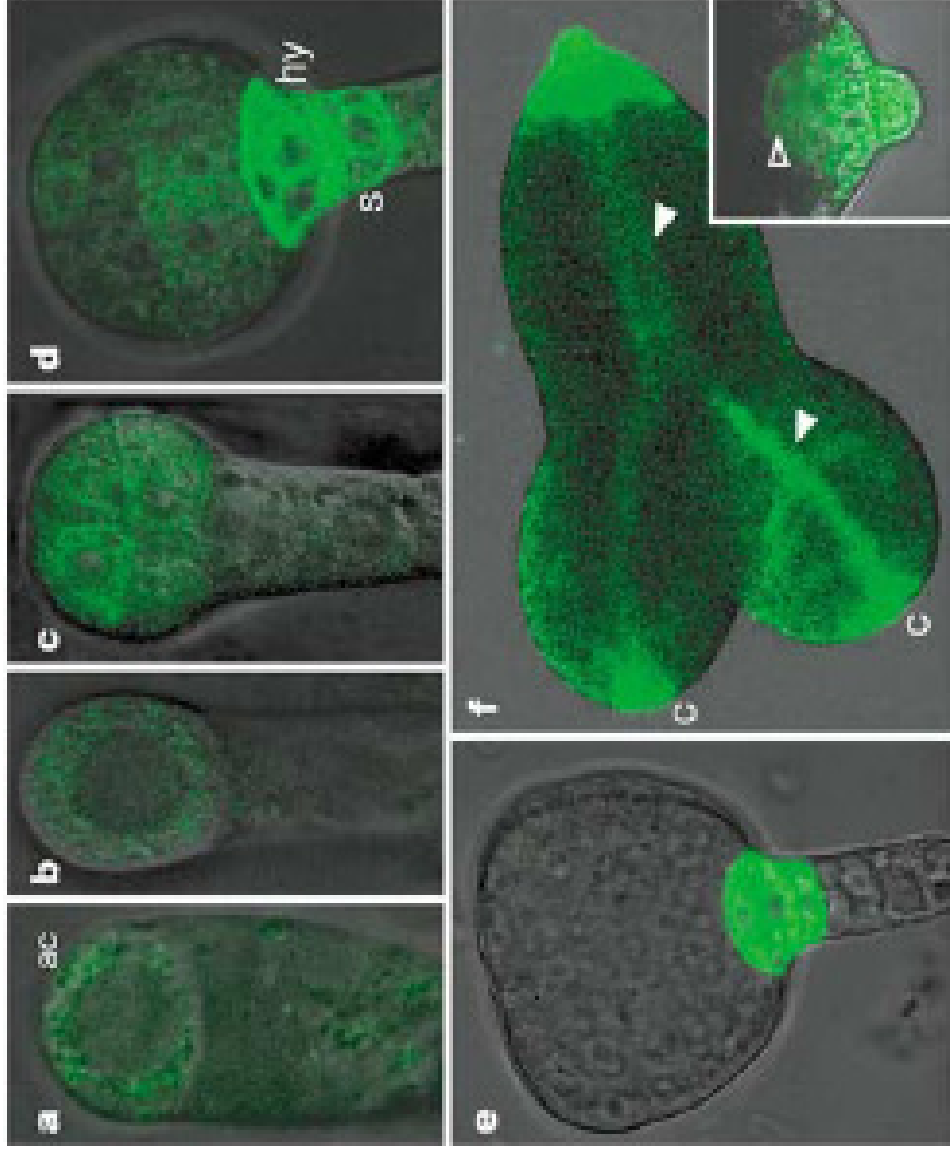
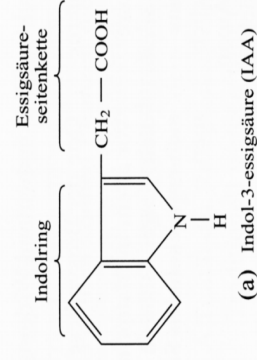


Positionsabhängige Signale



- Positionsabhängige Signale
 - Ein System muss die Position signalisieren (z.B. Morphogen-Gradient bei Drosophila)
 - Ein System muss die Zellen befähigen, dieses Signal wahrzunehmen und entsprechend zu reagieren.

Auxin als Morphogen ?

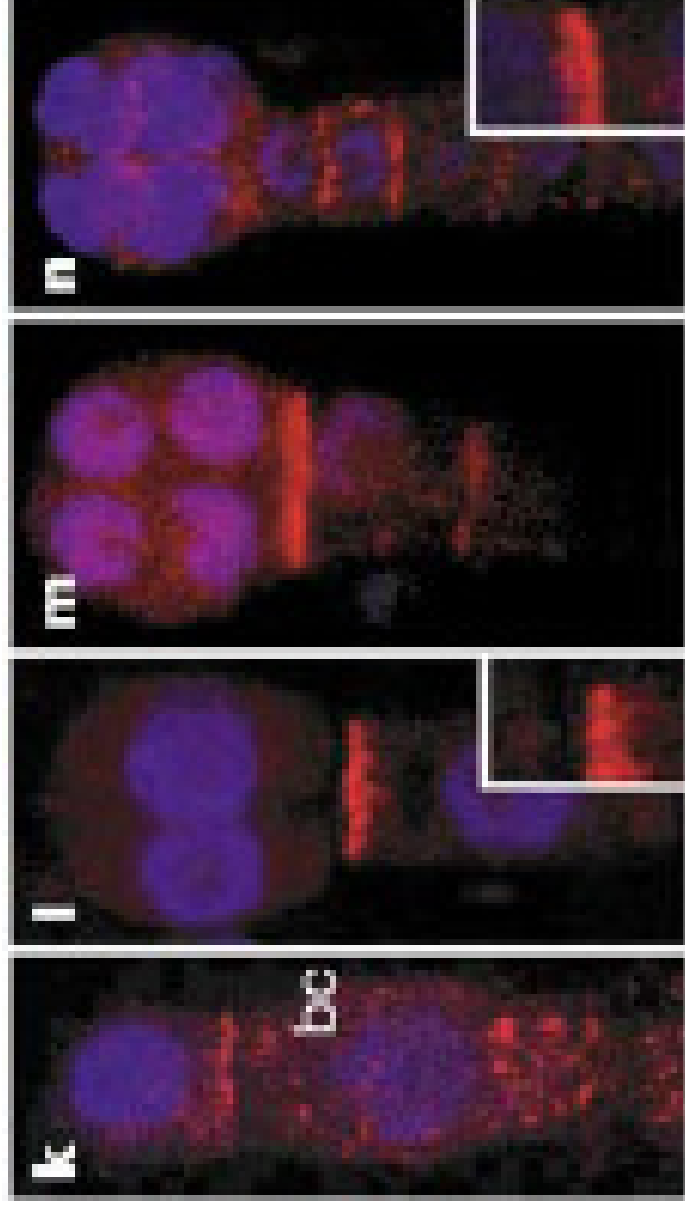


DR5::GFP

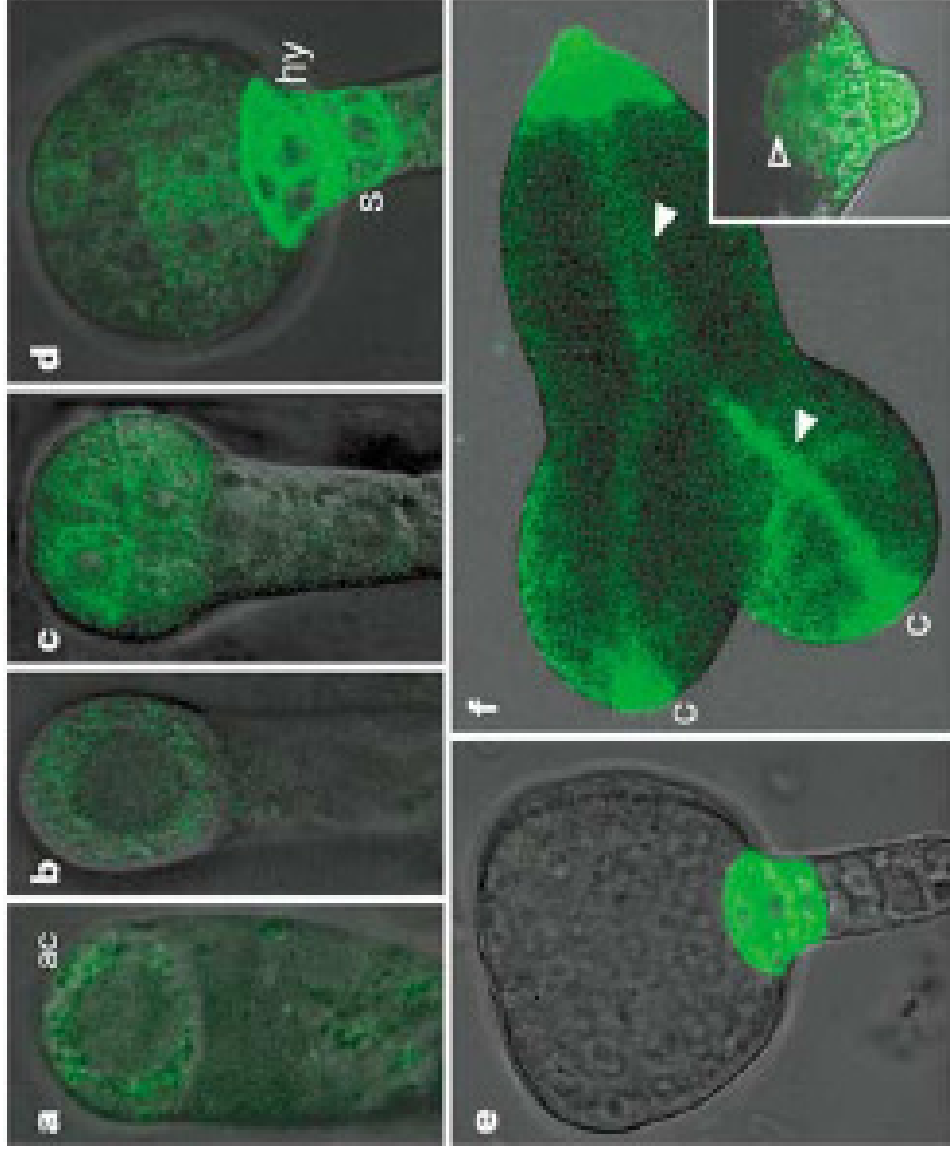
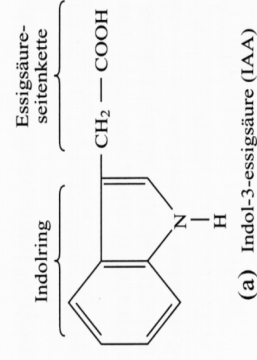
TGTCCTC

TATA

PIN7 transportiert Auxin aus der Basalzelle in Richtung Apikalzelle



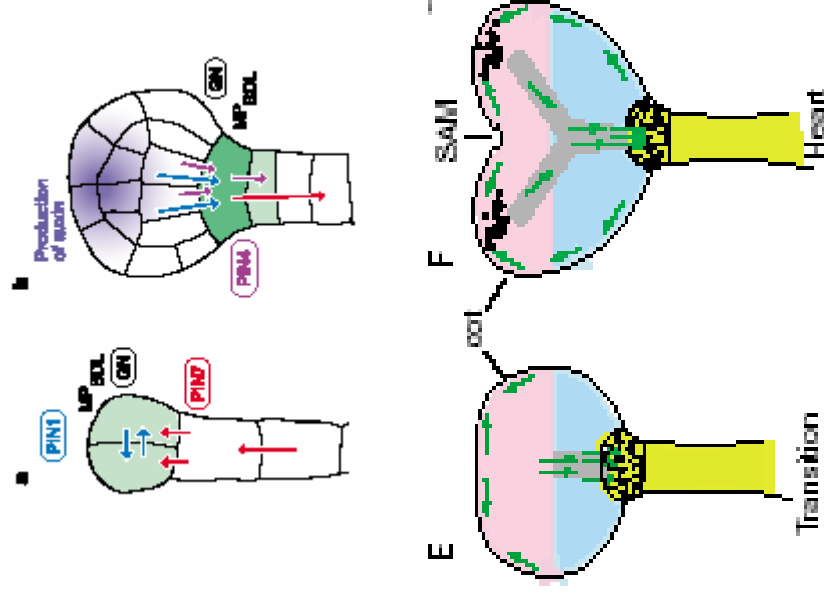
Auxin als Morphogen ?



DR5::GFP

TGTCCTC

TATA

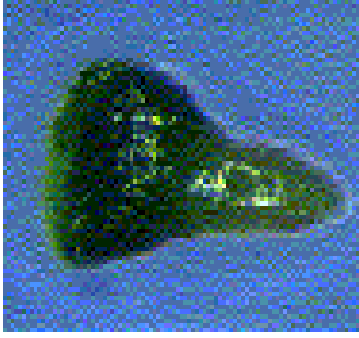


Positionsabhängige Signale

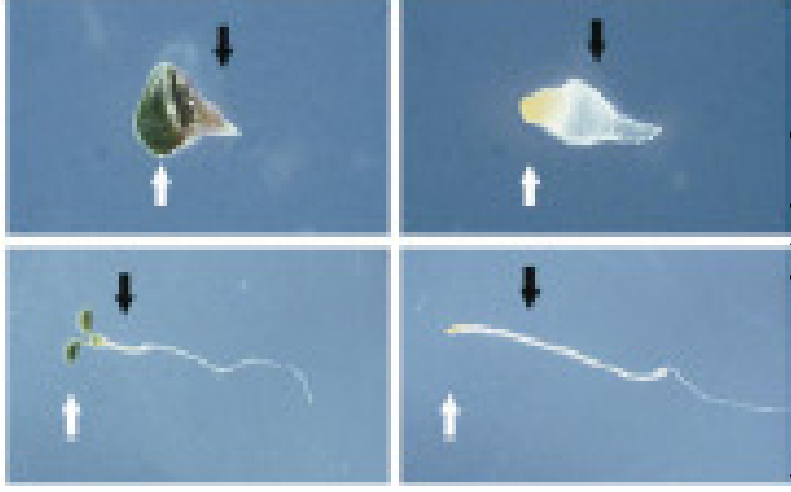


- Positionsabhängige Signale
 - Ein System muss die Position signalisieren (Auxin-Gradient, der durch die Lokalisation von Auxin-Transportproteinen etabliert wird)
 - Ein System muss die Zellen befähigen, dieses Signale wahrzunehmen und entsprechend zu reagieren.

Forward genetics



gnom



- Mutanten mit veränderter Symmetrieebene:
 - Gnom
 - 1. Teilung ist nicht asymmetrisch
 - Pflanze hat keinen ausgesprochenen apikalen und basalen Pol
 - Radiärsymmetrie ist vorhanden, d.h. Epidermis, Parenchym, Pericycle und Xylem/Phloem

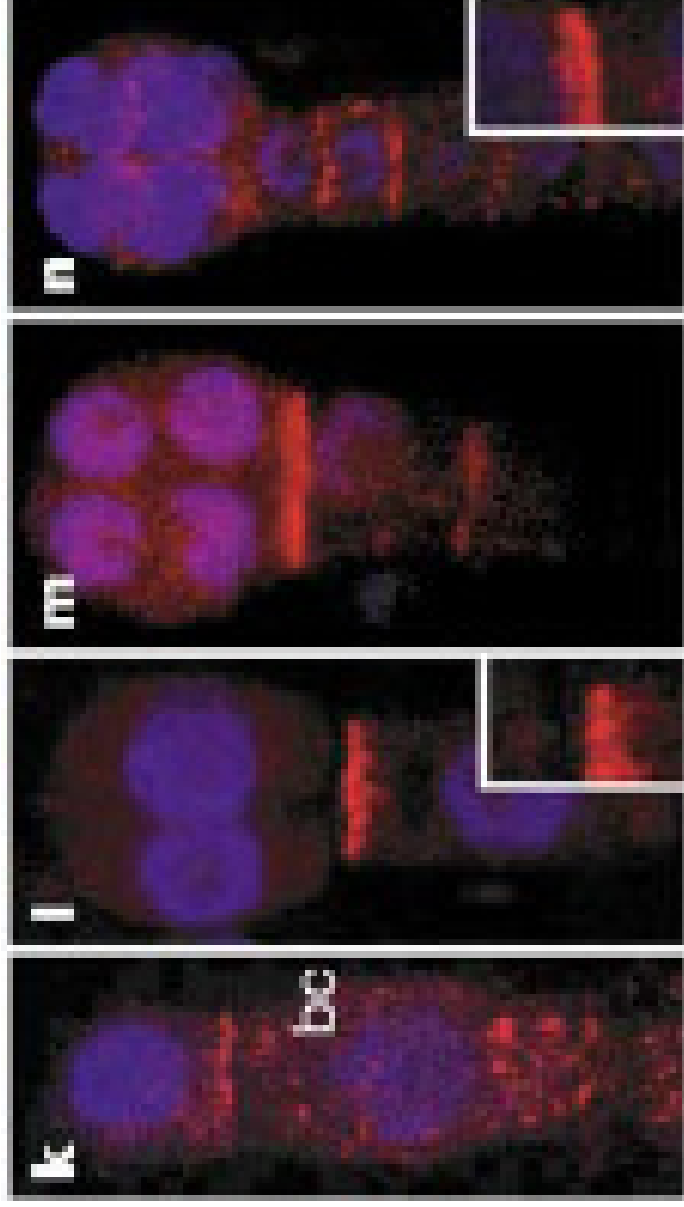
- Welches Gen (welches Protein) ist für den **Phänotyp** verantwortlich?
- Genisolierung durch eine Kombination von genetischen und molekulargenetischen Methoden (siehe PDF File: Genkartierung)

Das GNOM Gen



- Sogenanntes ARF-GEF
- ARF Proteine sind Proteine, die den Vesikeltransport regulieren, ihre Aktivität hängt davon ab, ob sie GDP oder GTP gebunden haben
- GNOM reguliert den Austausch von GTP gegen GDP und somit die Aktivität von ARF Proteinen.

PIN7 transportiert Auxin aus der Basalzelle in Richtung Apikalzelle

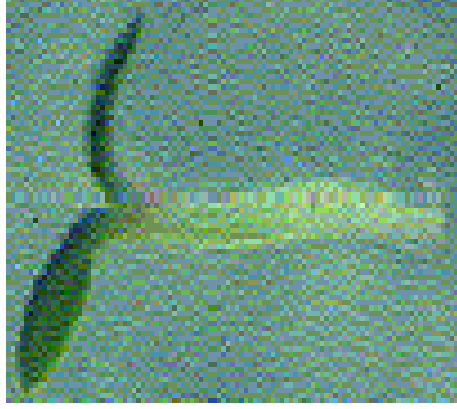


Gnom kodiert für ein Gen, das an der Regulation des Vesikeltransports beteiligt ist. Wichtig für die korrekte Lokalisation der PIN Proteine

Auxin als Morphogen?

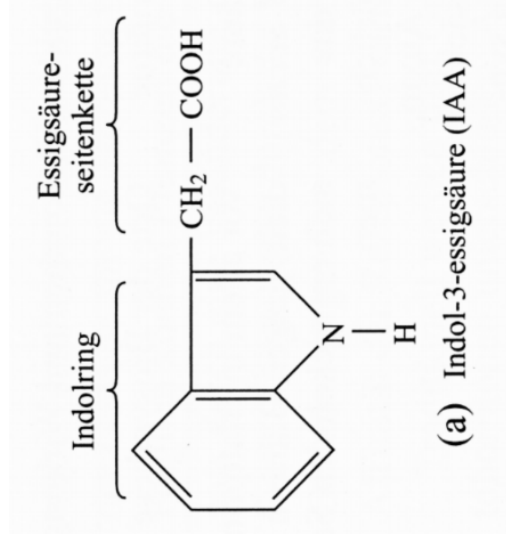


monopteros



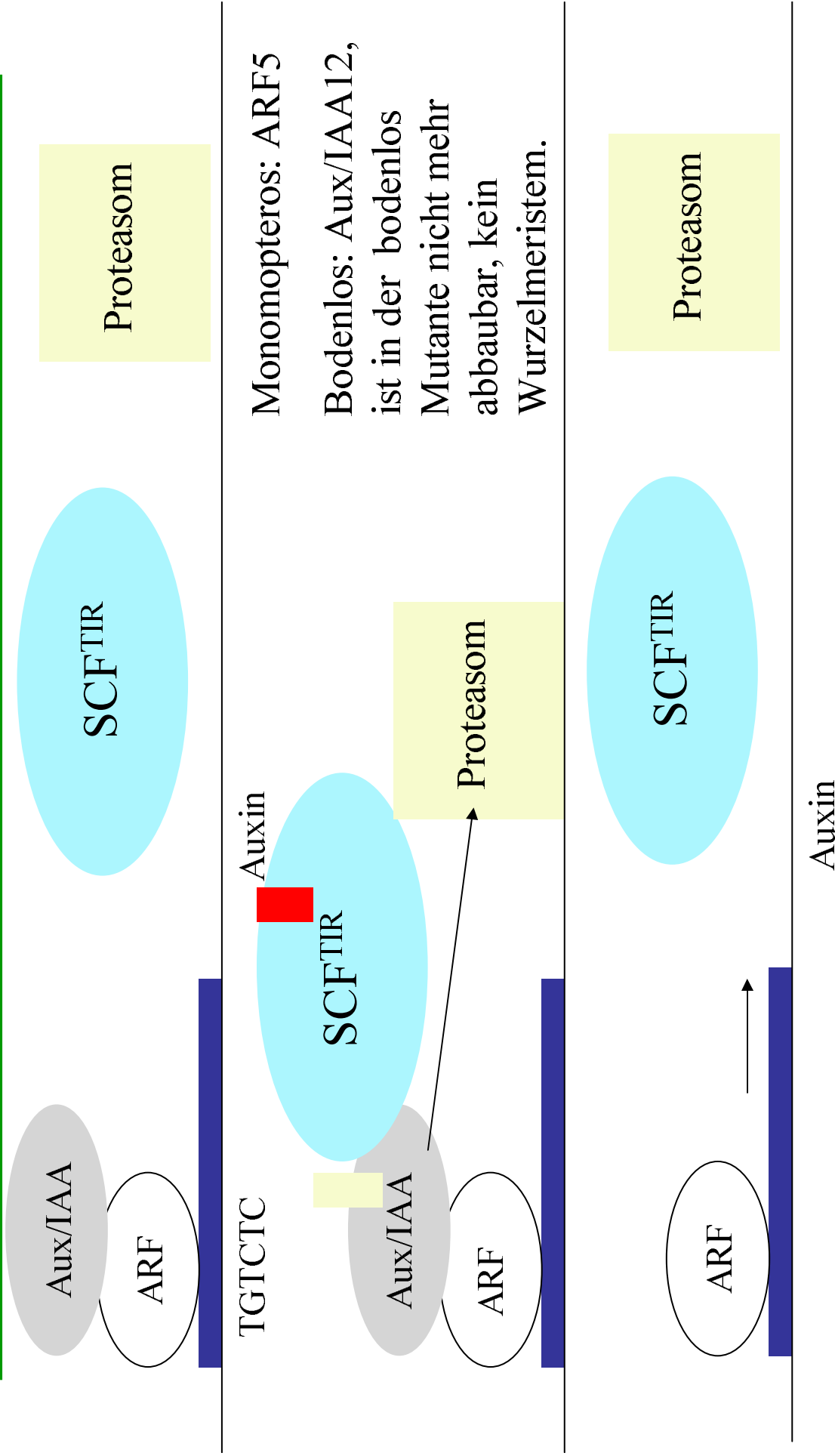
bodenlos

Monopteros und
Bodenlos kodieren für
Auxin-regulierte
Transkriptionsfaktoren



Beide Mutanten haben kein Wurzelmeristem.

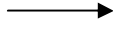
ARF und Aux/IAA Proteine sind Auxin-regulierte Transkriptionsfaktoren



Hormonwirkung

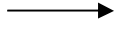


Hormon + Rezeptor (TIR-Protein)



Bindung

Hormon-Rezeptor-Komplex



Signaltransduktion

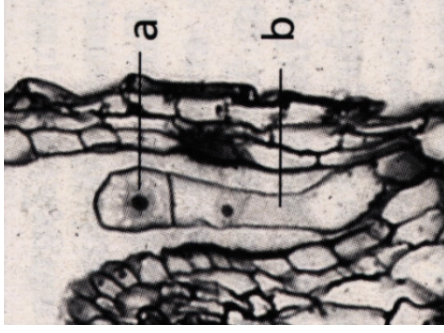
Folgereaktionen (Abbau von Aux/IAA,
Transkription von Genen unter der
Kontrolle von ARF)

Positionsabhängige Signale



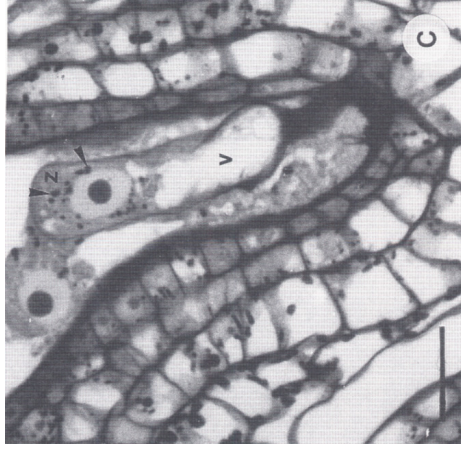
- Positionsabhängige Signale
 - Ein System muss die Position signalisieren (Auxin-Gradient, der durch die Lokalisation von Auxin-Transportproteinen etabliert wird)
 - Gnom vermittelt den kontrollierten Transport von PIN-Proteinen, PIN Proteine sind mislokalisiert, daher kann sich kein Auxin-Gradient ausbilden
 - Ein System muss die Zellen befähigen, dieses Signale wahrzunehmen und entsprechend zu reagieren.
 - Monopteros und Bodenlos sind notwendig für eine korrekte Genexpression in Abhängigkeit von Auxin

Polarität



Inäquale Zellteilung

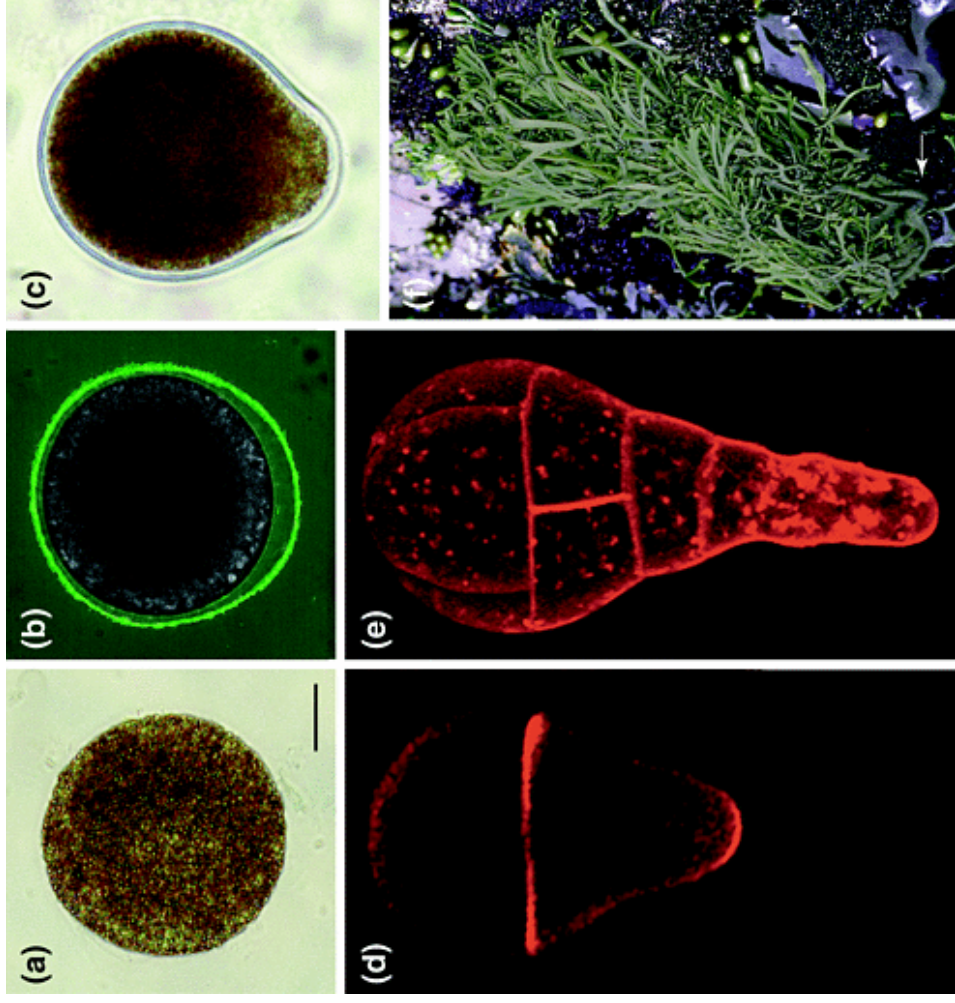
- Schon bei der ersten Teilung der Zygote werden die beiden Pole der späteren Pflanze festgelegt.



Polarität der Eizelle

- Der basale Teil der Eizelle hat eine oder mehrere große Vakuolen.
- Konsequenz aus der Polarität des Embryosacks.

Fucus und *Pelvetica*, Modellorganismen für die Untersuchung der Polarität



Braunalgen der nördlichen Breiten.

Zwei Pole: Thallus und Rhizoid.

Gameten werden freigesetzt und bilden außerhalb des Thallus die Zygote.

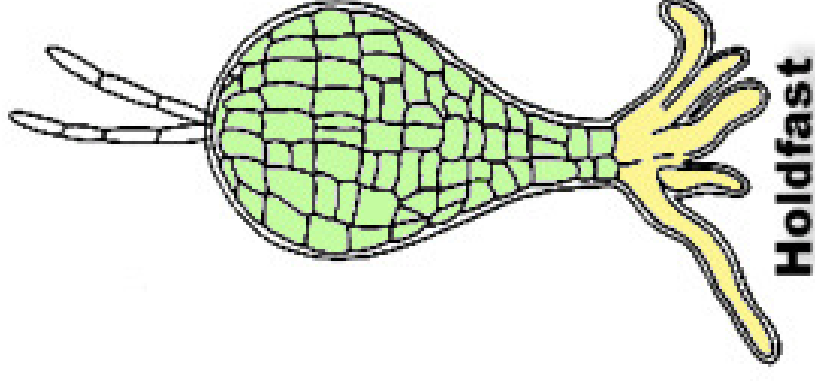
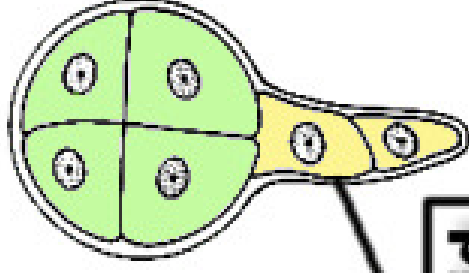
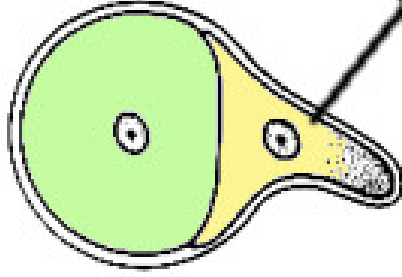
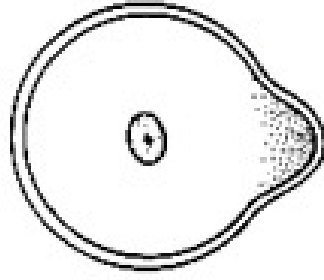
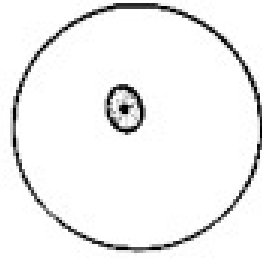
Erste Teilung ist bereits inäqual (apikaler Pol/basaler Pol)

Zweite Teilung verläuft senkrecht zur ersten Teilung.

Teilungsebenen bei Fucus



Light

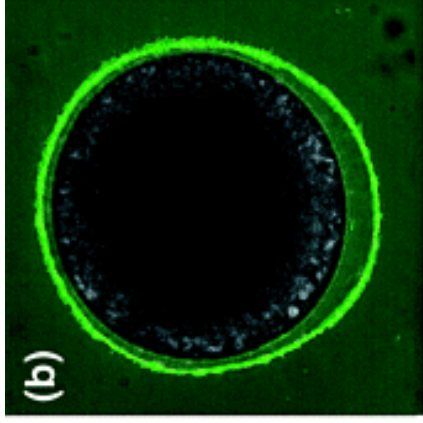
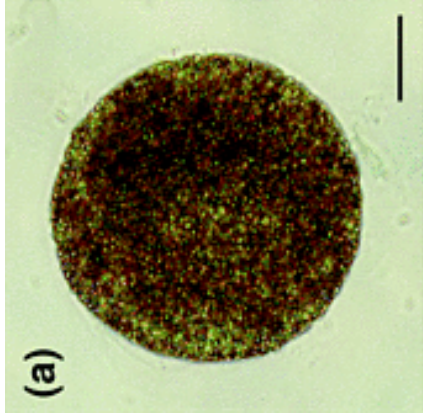


R. Quatrano

Rhizoid

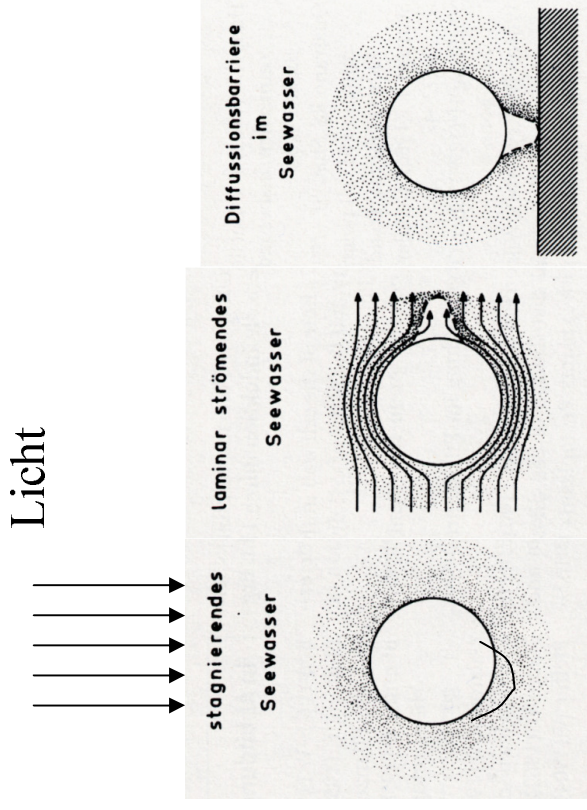
Holdfast

Induktion der Polarität



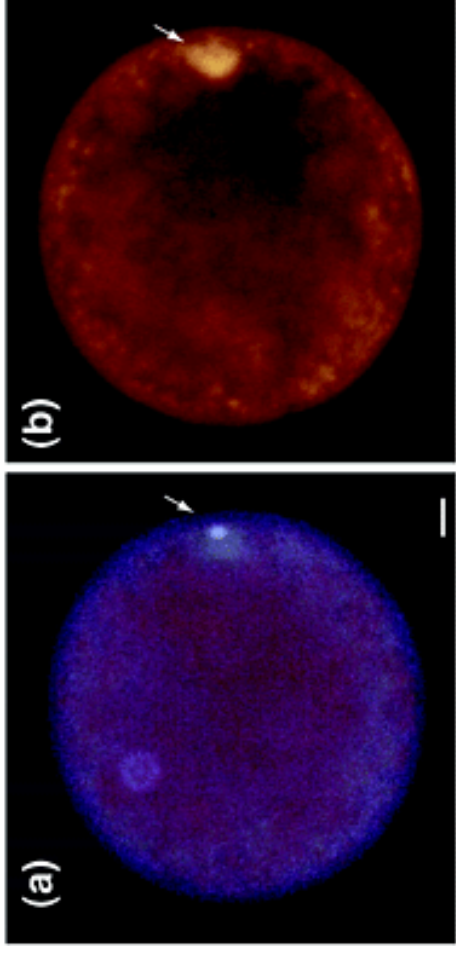
- a) Unbefruchtete unpolare Eizelle
- b) Junge Zygote (ca. 15h), die eine Polysaccharidmatrix (zur späteren Anheftung) ausscheidet. Am späteren Rhizoidpol ist die Matrix dichter.
- c) Die Polaritätsachse wird durch die Eintrittsstelle des Spermienkerns „vorläufig“ festgelegt.

Änderung der Polaritätsachse



- Die Polaritätsachse kann durch Licht von einer Seite verändert werden (Rhizoid auf der lichtabgewandten Seite)
- Wird die Zygote laminarer Strömung ausgesetzt, entwickelt sich der Rhizoidpol in Strömungsschatten.
- In der Nähe einer Oberfläche wird der Rhizoidpol an der der Oberfläche zugewandten Seite ausgebildet.
- Die Polaritätsachse ist innerhalb der ersten 12 Stunden noch veränderbar. Danach ist sie fixiert.

Frühe Ereignisse bei der Induktion der Polarität



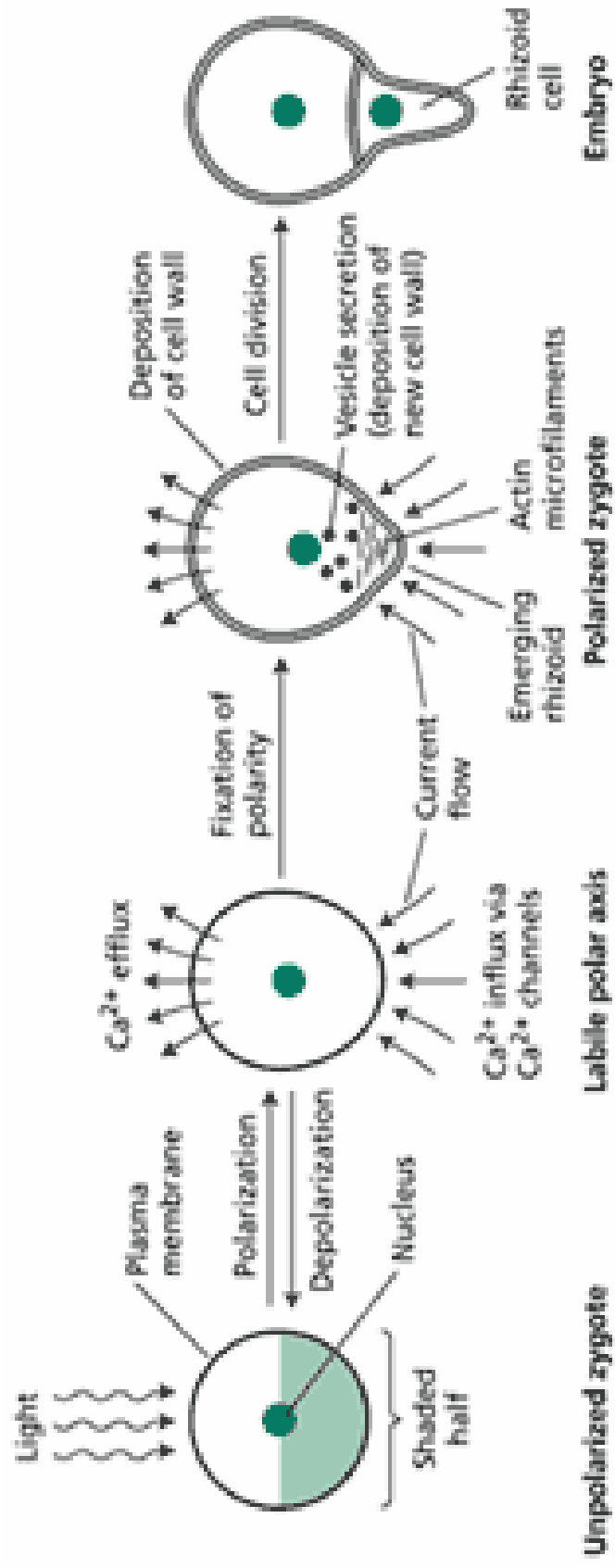
- a) Der eintretende männliche Kern ist spezifisch gefärbt (Hoechst-Farbstoff)
- b) Die Aktin-Bündel sind spezifisch gefärbt.

Induktion eines Stromflusses

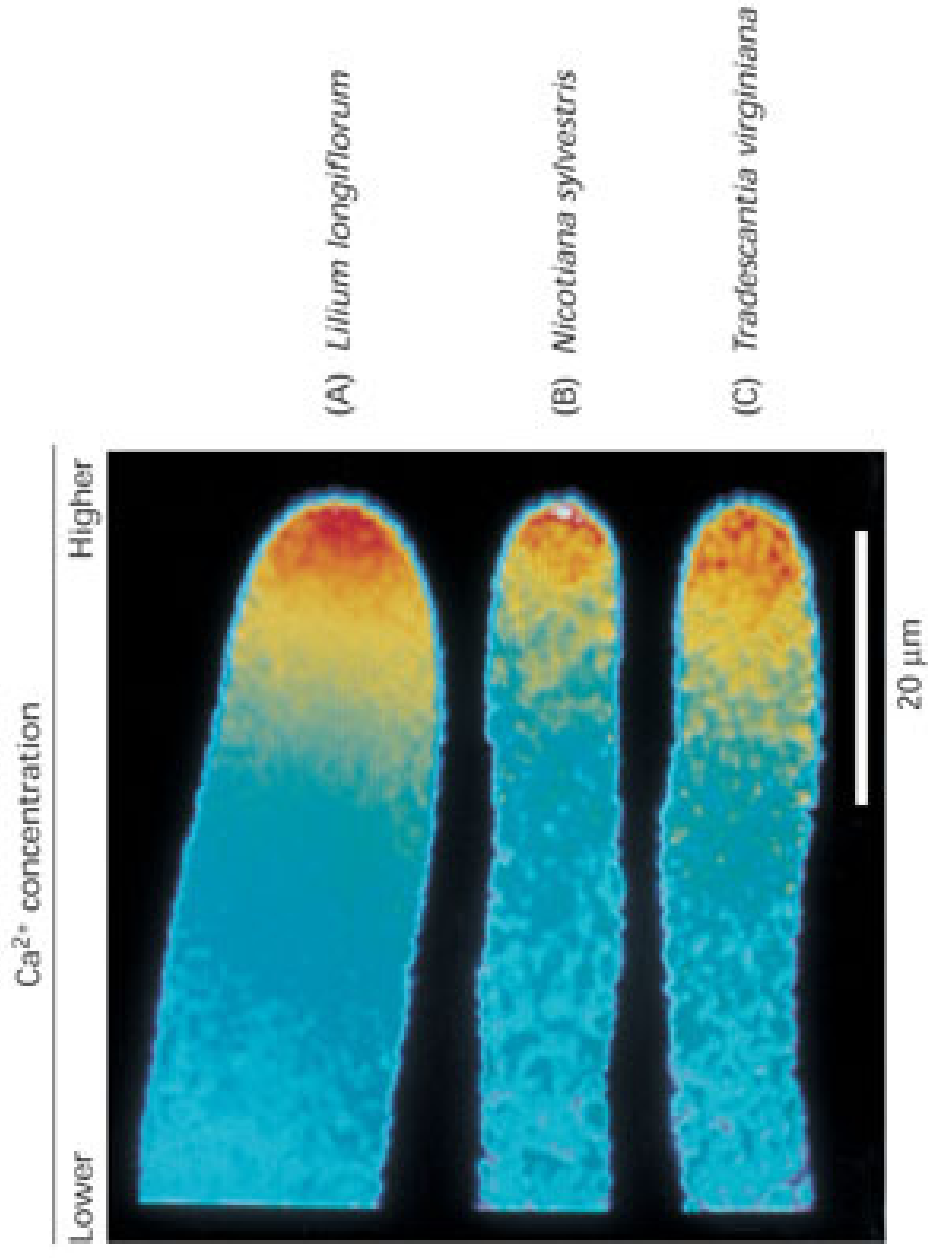


200 Zygoten

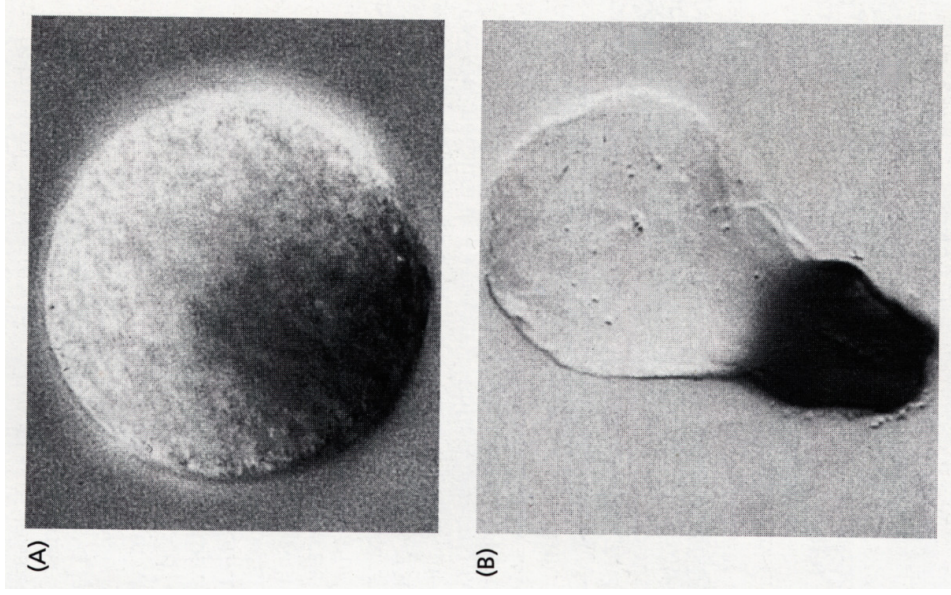
- Licht induziert einen Stromfluss
- Fluss positiver Ladung
- Ladungsträger: Ca^{2+}
- 100 pA pro Zelle
- Es bildet sich ein Ca^{2+} Gradient in der Zelle: unten 450 nM, oben 100 nM
- Anfärbung des unteren Pols mit dem fluoreszierenden Farbstoff Dihydropyridine (FL-DHP), der spezifisch an Calcium Kanäle bindet.



Calcium imaging in pollen tubes



Vesikel enthalten spezielles Zellwandmaterial



- Fucoidan, ein sulfatisiertes Polysaccharid wird in Golgi-Vesikeln am späteren Rhizoidpol abgelegt.

Bedeutung der Zellwand bei der Morphogenese



- Enzymatische Verdauung der Zellwand verhindert die Fixierung der Polaritätsachse.
- Verhinderung des Vesikeltransports führt zur einer Misorientierung der ersten Teilungsachse.
- Zugabe zu Zellwandmaterial der Rhizoid-Zelle führt zur Differenzierung der Thallus-Zelle in eine Rhizoidzelle.

Die Zusammensetzung der Zellwand bestimmt die Zellteilungsebene und die Differenzierung.

Zellwand und Polarität



Übertragung auf pflanzliche Zellen

- Die Zellwand der basalen Zelle hat besondere Polysaccharide, die in der apikalen Zelle fehlen.

Arbeitshypothese

- Die Zellwand kodiert Informationen zur Lage einer Zelle innerhalb eines Organismus

Der reife Embryo



- Kotyledonen
- Sprossmeristem
- Hypokotyl
- Wurzelmeristem

