

## BIĄŁKA PAX W RÓŻNICOWANIU KOMÓREK I ORGANOGENEZIE\*

### PAX PROTEINS – THE ROLE IN CELL DIFFERENTIATION AND ORGANOGENESIS

Marta PRZEWOŹNIAK<sup>1</sup>, Edyta BRZÓSKA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Cytologii, Wydział Biologii UW, <sup>2</sup>Zakład Cytologii Klinicznej,  
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

*Streszczenie:* Białka Pax (ang. *Paired box protein*) regulują procesy związane z podziałami oraz różnicowaniem wielu typów komórek podczas rozwoju zarodkowego i pourodzeniowego u różnych gatunków zwierząt. Geny *Pax* są konserwatywne ewolucyjnie, ich homologi wykryto w genomie nicieni i owadów oraz płazów, ryb, ptaków i ssaków. Brak funkcjonalnych genów lub nieprawidłowości w budowie białek Pax mogą prowadzić do transformacji nowotworowej. W niniejszej pracy omówiono strukturę i funkcje czynników Pax oraz ich oddziaływanie z innymi białkami. Ponadto przedstawiono dane dotyczące udziału białek Pax w procesach organogenezy oraz onkogenezy. Szczególną uwagę poświęcono roli białek Pax podczas rozwoju ośrodkowego układu nerwowego i mięśni szkieletowych.

*Słowa kluczowe:* czynniki transkrypcyjne, miogeneza, neurogeneza, Pax.

*Summary:* Pax (Paired box protein) proteins participate in regulation of cell proliferation and differentiation of many cell types during embryonic and postnatal development in different organisms. Pax genes are evolutionally conserved, their homologs were discovered in nematode, insect, amphibian, fish and mammalian genomes. Deficiency in *pax* genes or abnormalities in Pax proteins structure could lead to oncogenic transformation. In this review we present current knowledge on the structure and function of Pax proteins and their interactions with other factors. We also show the data concerning participation of Pax proteins in organogenesis and oncogenesis. We emphasize their role in central nervous system and skeletal muscle development.

*Key words:* transcription factors, myogenesis, neurogenesis, Pax.

## 1. WPROWADZENIE

Białka kodowane przez geny *Pax* odgrywają bardzo ważną rolę w rozwoju zarodkowym i pourodzeniowym ssaków. Białka Pax biorą udział w tak ważnych

\*Niniejsza praca powstała podczas realizacji grantów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego Nr N301455133 i NN303308133 oraz CMKP 501-1-1-24-10/07.

procesach, jak: podział, specyfikacja i różnicowanie komórek oraz organogeneza. Geny *Pax* są konserwatywne ewolucyjnie, ich homologi wykryto w genomie nicieni (*C. elegans*) i owadów (*D. melanogaster*) oraz płazów (*X. laevis*), ryb (*D. rerio*) i ptaków (zarodek kury) oraz ssaków, takich jak mysz czy człowiek. Ze względu na wagę procesów, w jakich biorą udział białka Pax, mutacje w kodujących je genach mogą być letalne lub prowadzić do poważnych zaburzeń w rozwoju zarodkowym oraz do procesów nowotworzenia.

## 2. STRUKTURA ORAZ FUNKCJA GENÓW I BIAŁEK PAX

Dotychczas opisano dziewięć genów *Pax*. Wszystkie zawierają sekwencję kodującą domenę „*paired*” wiążącą DNA, od której białka Pax wzięły swoją nazwę (ang. *Paired box proteins*). Na podstawie podobieństw w sekwencji genów oraz funkcji grupę białek Pax podzielono na cztery podgrupy (tab. I).

Siedem genów *Pax*, poza *Pax 1* i *9*, zawiera sekwencję zwaną homeoboksem, kodującą homeodomenę. Dzięki obecności homeodomeny i domeny „*paired*” białka Pax łączą się z promotorami i sekwencjami wzmacniającymi określonych genów, indukując w ten sposób syntezę czynników, takich jak odgrywające ważną rolę w regulacji cyklu komórkowego białko – p53 czy receptorowa kinaza tyrozynowa – c-met (ryc. 1) [34].

Domena „*paired*” jest odpowiedzialna za rozpoznanie i wiązanie specyficznych sekwencji DNA. W skład homeodomeny, którą poza białkami Pax 1 i 9 zawierają pozostałe czynniki z tej rodziny, wchodzi trzy helisy, budujące motyw helisa-skręt-helisa – HTH (ang. *Helix-Turn-Helix*) [14]. Cała domena wraz z motywem HTH jest strukturą konserwatywną ewolucyjnie. Białka Pax 2, 5 i 8 zawierają krótszą homeodomenę – HD1 niż Pax 3, 7, 4 i 6 – HD1 i HD2/3 (tab. I). Pomiędzy obiema domenami wiążącymi DNA – „*paired*” i homeodomeną – w białkach Pax (oprócz

TABELA I. Struktura i występowanie genów i białek PAX u ssaków (na podstawie [14, 34], zmienione): OUN – ośrodkowy układ nerwowy; PD – domena „*paired*”; OP – oktapeptyd; HD1, HD2/3 – homeodomena (objaśnienia w tekście)

| Nazwa genu              | Położenie na chromosomie  | Obecność charakterystycznych domen w białku | Lokalizacja białka                                                                       |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Pax 1<br>Pax 9          | 20p11<br>14q12-q13        | PD, OP<br>PD, OP                            | szkielet, grasic<br>szkielet, zęby                                                       |
| Pax 2<br>Pax 5<br>Pax 8 | 10q25<br>9p13<br>2q12-q14 | PD, OP, HD1<br>PD, OP, HD1<br>PD, OP, HD1   | OUN, nerki<br>OUN, limfocyty B<br>OUN, nerki, tarczyc                                    |
| Pax 4<br>Pax 6          | 7q<br>11p13               | PD, HD1, HD2/3<br>PD, HD1, HD2/3            | trzustka, jelito<br>OUN, oczy, trzustka, jelito                                          |
| Pax 3<br>Pax 7          | 2q35<br>1p36.2            | PD, OP, HD1, HD2/3<br>PD, OP, HD1, HD2/3    | OUN, grzebień nerwowy, mięśnie szkieletowe<br>OUN, grzebień nerwowy, mięśnie szkieletowe |



RYCINA 1. Oddziaływanie białka Pax z DNA: PD (domena „paired”) i HD (homeodomena) – domeny wiążące DNA, OP – oktapeptyd

Pax 4 i 6) obecny jest również oktapeptyd, prawdopodobnie uczestniczący w represji transkrypcji [8, 34]. Strukturalne i funkcjonalne podobieństwa między białkami Pax sugerują, że niektóre z nich mogą zastępować bądź uzupełniać swoje funkcje [34].

### 3. UDZIAŁ CZYNNIKÓW TRANSKRYPCYJNYCH PAX W PODZIAŁACH I RÓŻNICOWANIU KOMÓREK ORAZ W ORGANOGENEZIE

**Pax 1 i 9.** Białka Pax poprzez oddziaływanie z genami docelowymi inicjują podziały i różnicowanie komórek oraz regulują procesy powstawania wielu narządów. Czynniki Pax 1 i 9 regulują powstawanie m.in. szkieletu, grasicy i przytarczyc. Białko Pax 9 odgrywa również rolę w formowaniu się zębów. Spontaniczna mutacja punktowa genu *Pax 1* występująca u mysich mutantów *Undulated* prowadzi do nieprawidłowego różnicowania sklerotomu podczas rozwoju zarodkowego oraz zaburzeń w budowie trzonów kręgów oraz dysków międzykręgowych. Badania nad mutantami *Undulated* wskazują na kluczową rolę białka Pax 1 w różnicowaniu komórek tworzącego się sklerotomu oraz w zapoczątkowaniu chondrogenyzy [39]. U mutantów *Undulated* obserwowano również zmniejszenie grasicy i liczby limfocytów T, co wskazuje na rolę białka Pax 1 w dojrzewaniu limfocytów T [26, 31, 39]. Natomiast w wyniku braku funkcjonalnego genu *Pax 9* nie powstaje grasica i przytarczycy [34]. U organizmów pozbawionych funkcjonalnego białka Pax 9, dochodzi też do zaburzeń w budowie kończyn, a z zawiązków nie powstają w pełni ukształtowane zęby [34]. Brak białka Pax 9 powoduje powstanie dodatkowego palca w kończynach górnych i dolnych oraz brak mięśnia zginacza palców kończyn tylnych [34]. W wyniku delekcji genu *Pax 1* dochodzi do nadekspresji Pax 9 oraz jego syntezy w rejonach sklerotomu, w których uprzednio nie było ono wykrywane. Sugeruje to, że czynniki Pax 1 i 9 mogą wzajemnie regulować swoją ekspresję [34].

**Pax 2.** Czynniki transkrypcyjny Pax 2 syntetyzowany jest u myszy w strunie grzbietowej, rozwijającej się nerce, szypule ocznej oraz w połączeniu między śródmózgowiem a tyłomózgowiem [11]. Nieobecność białka Pax 2 u myszy

pozbawionych funkcjonalnego genu (*Pax 2*<sup>-/-</sup>) powoduje poważne defekty w budowie układu moczowego i płciowego, manifestujące się brakiem całych narządów lub ich części, np. nerek, moczowodów i dróg płciowych [34]. U myszy *Krd* (ang. *Kidney and retinal defects*), w których genomie doszło do delecji fragmentu chromosomu, zawierającego gen *Pax 2*, mają miejsca zaburzenia w strukturze zarówno nerek, jak i siatkówki. Mutanty *Krd* mają aplastyczne, hypoplastyczne i torbielowate nerki oraz dochodzi u nich do redukcji liczby komórek budujących siatkówkę. U osób heterozygotycznych pod względem genu *PAX2* mutacja punktowa w obrębie tego genu prowadzi do hypoplazji nerek, w której wyniku narząd ten jest mały, z zaburzeniami w budowie nefronów [20].

**Pax 3 i 7.** Białka Pax 3 i 7 odgrywają istotne funkcje w rozwoju ssaków. Białko Pax 3 bierze udział w rozwoju centralnego układu nerwowego, melanocytów oraz w miogenezie [9, 34, 42, 50, 53, 63]. Czynniki Pax 3 i Pax 7 regulują migrację, różnicowanie i podziały komórek wywodzących się z grzebienia nerwowego oraz mioblastów [9, 42, 50, 53, 63]. Mutanty pozbawione funkcjonalnego genu *Pax 3* (mutanty *Splotch*) wykazują defekty w budowie cewy nerwowej i mięśni kończyn [38, 50]. Podobne objawy związane z brakiem prawidłowego białka *PAX 3*, obserwowano u ludzi z syndromem Waardenburga [48]. Ponadto u myszy *Splotch* leucocyty (komórki Schwanna) i melanocyty są mniejsze lub nie występują w ogóle [63]. Badania *in vitro* wykazują, że białko Pax 3 jest syntetyzowane przez różnicujące i nieprodukujące jeszcze mieliny leucocyty [53]. Czynniki Pax 7, podobnie jak Pax 3, także bierze udział w powstawaniu centralnego układu nerwowego [34]. W przeciwieństwie do białka Pax 3, czynnik Pax 7 odgrywa rolę w różnicowaniu tylko czaszkowych komórek grzebienia nerwowego [50]. U myszy pozbawionych funkcjonalnego genu *Pax7* (*Pax 7*<sup>-/-</sup>) dochodzi do zaburzeń budowy szczęki i chrząstek tworzących nos [53]. Natomiast nie zaobserwowano u tych mutantów nieprawidłowości w komórkach nerwowych wywodzących się z rejonu czaszkowego grzebienia nerwowego [50].

Czynnik Pax 3 odgrywa także kluczową rolę w wyodrębnianiu się i specyfikacji komórek prekursorowych mięśni podczas rozwoju zarodkowego. Białka Pax 3 i Pax 7 mają podobną budowę i prawdopodobnie kontrolują ekspresję podobnych zespołów genów [14]. Oba białka wpływają na transkrypcję genów kodujących mięśniowe czynniki regulatorowe MRF (ang. *Myogenic Regulatory Factor*), takich jak Myf 5 czy MyoD [42, 49]. Obecność białka Pax 7 jest charakterystyczna dla komórek satelitowych, położonych między włóknami mięśniowymi, które są komórkami uczestniczącymi we wzroście i regeneracji mięśni [13, 64]. Związane z włóknami mięśniowymi komórki satelitarne są w stanie spoczynku. W wyniku uszkodzenia mięśnia komórki satelitarne ulegają aktywacji, dzielą się, a następnie fuzują tworząc nowe włókna mięśniowe. Prawdopodobnie białko Pax 7 odpowiada za utrzymanie komórek satelitowych w stanie spoczynku oraz za samoodnawianie ich populacji [11, 42]. Podczas rozwoju zarodkowego i w mięśniach dorosłego organizmu białko Pax 3 wykrywane jest w części komórek satelitowych i razem ze swoim paralogiem białkiem Pax 7 bierze udział w determinacji ich losu [9, 11, 42, 55, 64].

**Pax 4 i 6.** Białka Pax 4 i 6 pełnią ważne funkcje w tworzeniu komórek  $\beta$  i  $\alpha$  trzustki, wydzielających odpowiednio insulinę i glukagon. Komórki te tworzą charakterystyczne skupienia nazwane wyspami trzustkowymi (Langerhansa). Myszy *Pax 4<sup>-/-</sup>* i *Pax 6<sup>-/-</sup>* charakteryzuje mniejsza liczba wysp trzustkowych oraz odpowiednio brak komórek wydzielniczych typu  $\beta$  i  $\alpha$  [1, 61]. Na skutek braku funkcjonalnego genu *Pax 4* nie powstają komórki  $\beta$  – produkujące insulinę i komórki  $\delta$  – wydzielające somatostatynę. Prawdopodobnie komórki  $\beta$  i  $\delta$  wywodzą się z tej samej komórki prekursorowej, za której specyfikację odpowiedzialne jest białko Pax 4 [62]. Natomiast myszy pozbawione prawidłowego białka Pax 6 nie wytwarzają komórek  $\alpha$  produkujących glukagon. Ponadto komórki  $\beta$ ,  $\gamma$  i  $\delta$  nie tworzą u nich prawidłowych wysp trzustkowych. Badania sugerują, że geny kodujące hormony trzustkowe podlegają bezpośredniej regulacji przez czynniki Pax 4 i 6 [7, 62]. Zbadanie roli obu omawianych czynników w powstawaniu trzustki może okazać się kluczowe dla zrozumienia rozwoju cukrzycy i być może pozwoli na opracowanie terapii tej choroby przy pomocy komórek macierzystych.

Gen *Pax 6* ulega ekspresji również w kubku ocznym podczas powstawania oczu. Wskutek jego mutacji u myszy *Sey* (ang. *Small eye*) oraz u ludzi z aniridią (brak tęczówki) dochodzi do zaburzeń w budowie oczu. U mysich heterozygot *Sey* mutacja już jednego allelu genu *Pax 6* powoduje m.in. brak soczewki, a także prowadzi do nieprawidłowej budowy nosa [47]. Natomiast u myszy homozygotycznych pozbawionych obu alleli genu *Pax 6* oczy oraz otwory nosowe nie powstają w ogóle, a myszy umierają wkrótce po urodzeniu. Zmniejszenie ekspresji genu *Pax 6* prowadzi do zaniku szpudy ocznej i redukcji nabłonka barwnikowego oraz części nerwowej siatkówki [3, 18].

**Pax 5.** Hematopoeza to kolejny proces podlegający kontroli genów Pax. Tym razem kluczową rolę odgrywa czynnik transkrypcyjny Pax 5. Białko Pax 5 jest syntetyzowane w limfoidalnych komórkach prekursorowych w szpiku kostnym, które w trakcie różnicowania przekształca się w limfocyty B. U myszy pozbawionych tego czynnika nie dochodzi do powstawania dojrzałych limfocytów B [44]. Czynnik Pax 5 kontroluje ekspresję genów kodujących podjednostki budujące kompleks receptora antygenowego limfocytów B – BCR (ang. *B Cell Receptor*) i białko powierzchniowe CD19. Jednak komórki prekursorowe limfocytów B pozbawione białka Pax 5 są w stanie różnicować *in vitro* w różne typy komórek hematopoetycznych. Ponadto, po transplantacji takich komórek prekursorowych do myszy naświetlonych promieniami Roentgena odtwarzane są wszystkie linie komórek hematopoetycznych z wyjątkiem limfocytów B [16, 40]. Czynnik Pax 5 jest zatem kluczowy dla różnicowania komórek prekursorowych w limfocyty B.

**Pax 8.** Prawidłowy rozwój nerek i tarczycy wymaga aktywności czynnika transkrypcyjnego Pax 8. Do ekspresji tego czynnika dochodzi w 10.5 dniu rozwoju zarodkowego myszy w tej części tarczycy, z której powstaną komórki produkujące tyreosynę [59]. Mysie homozygoty pozbawione obu alleli *Pax 8* charakteryzują się zaburzeniami powstawania tarczycy oraz brakiem komórek budujących pęcherzyki [59]. Pod kontrolą czynnika transkrypcyjnego Pax 8 znajdują się również geny kodujące tyreoglobulinę i tyreoperoksydazę. Tyreoperoksydaza katalizuje reakcję

otrzymywania jodu cząsteczkowego – substratu reakcji jodowania tyreoglobuliny, a w wyniku jodowania tyreoglobuliny powstają hormony tarczycy, m. in. tyroksyna.

#### 4. WYBRANE GENY I BIAŁKA, Z KTÓRYMI ODDZIAŁUJĄ CZYNNIKI TRANSKRYPCYJNE PAX

Zaangażowanie czynników transkrypcyjnych Pax w regulację organogenezy w bardzo wielu przypadkach warunkowane jest oddziaływaniem tych białek z innymi białkami regulatorowymi. Przykładowo białka Pax mogą być nie tylko aktywatorami, ale i inhibitorami transkrypcji podczas rozwoju śródmózgowia i hematopoezy. Czynniki transkrypcyjne Pax 5 oddziałując z białkiem Groucho, należącym do rodziny korepresorów pełni funkcję represora transkrypcji w zarodkach *Drosophila melanogaster* [11]. Za zdolność hamowania transkrypcji odpowiada najprawdopodobniej oddziaływanie białka Groucho z oktapeptydem białka Pax 5.

Podczas hematopoezy, rozwoju układu nerwowego oraz oczu czynniki transkrypcyjne Pax 3, 5 i 6 współdziałają z białkami Sox, wiążącymi się z DNA przy pomocy domeny HMG (ang. *High Mobility Group*). Prawdopodobnie oddziaływanie białek Pax 5 i Sox 4 odgrywa również ważną rolę podczas dojrzewania limfocytów B, gdyż brak obu białek powoduje zahamowanie różnicowania na tym samym etapie komórek prekursorowych limfocyta B [2]. Oddziaływanie między białkami z rodzin Pax i Sox zaobserwowano także w trakcie rozwoju układu nerwowego i różnicowania melanocytów [33, 34]. Przykładowo czynniki Pax 3 i Sox 10 regulują transkrypcję protoonkogenów *c-RET* (ang. *Receptor tyrosine kinase*) odgrywającego rolę w powstawaniu zwojów jelitowych, czy *MITF* (ang. *Microphthalmia*) zaangażowanego w dojrzewanie melanocytów [33, 34]. Geny *PAX 3*, *SOX 10* i *MITF* są uszkodzone u ludzi z syndromem Waardenburga, który charakteryzuje się głuchotą i zaburzeniami pigmentacji [34], co jednoznacznie sugeruje, że indukcja transkrypcji genów *MITF*, *PAX 3* i *SOX 10* jest niezbędna dla prawidłowego rozwoju melanocytów oraz różnicowania komórek grzebienia nerwowego zasiedlających ucho środkowe [33]. Innym przykładem procesu, w którym białka Pax i Sox współdziałają ze sobą, jest rozwój oczu. Podczas rozwoju zarodkowego kury ekspresja *Pax 6* i *Sox 2* indukuje transkrypcję genów, kodujących krystalinę niezbędną w rozwoju soczewki. Białka Pax 6 i Sox 2 wiążą się jednocześnie z sekwencjami wzmacniającymi, co prowadzi do ekspresji genu kodującego  $\delta$ -krystalinę.

Podczas hematopoezy białko Pax 5 oddziałuje też z czynnikiem transkrypcyjnym z rodziny Ets (ang. *E-twenty six protein*) [22]. Oba białka regulują ekspresję genu *Mb-1*, wiążąc się z sekwencjami wzmacniającymi. Gen *Mb-1* koduje łańcuch polipeptydowy Ig- $\beta$ , który wraz z łańcuchem Ig- $\alpha$  wchodzi w skład receptora antygenowego limfocyta B – BCR. Oba łańcuchy odpowiadają za przekazywanie sygnału ze związanego z antygenem receptora BCR do wnętrza komórki [22]. Łańcuchy Ig- $\alpha$  i Ig- $\beta$  uczestniczą w procesach koniecznych do rozpoznania i prezentacji antygeny

przez limfocyty B [22]. Następnie antygen podlega obróbce, a obce białka są prezentowane na powierzchni limfocyty przez układ zgodności tkankowej MHC klasy II. Ekspresja łańcuchów Ig- $\alpha$  i Ig- $\beta$  oraz związanie antygeny przez receptor BCR są niezbędne do rozpoznania i prezentacji antygeny przez limfocyty B.

Białko Pax 2 wraz z Wt 1 (ang. *Wilms tumor 1*) uczestniczy w powstawaniu nerek u myszy [30]. Czynniki Pax 2 indukuje syntezę białka Wt 1, które następnie zwrotnie hamuje ekspresję genu *Pax 2* podczas dalszego rozwoju nerki. Lokalizacja oraz poziom białek Pax 2 i Wt 1 decyduje o powstawaniu poszczególnych części tego narządu. Mutacja genu *Pax 2.1* (gen ortologiczny do mysiego *Pax 2*) u danio przegowanego prowadzi do zmian w ekspresji genu *Wt 1* – ma szerszy zakres niż u organizmu zdrowego. Fakt ten sugeruje, że białko Pax 2 może być także represorem transkrypcji genu *Wt 1* [58].

W rozwoju mózgu uczestniczy wiele białek odpowiedzialnych za różnicowanie neuronów i wyodrębnianie się poszczególnych jego części. Oprócz czynników Pax ważne funkcje w tym procesie pełnią białka Wnt (ang. *Wingless integrated*) i En (*Engrailed*). Czynniki Pax 6 i En oraz białko Wnt biorą udział w tworzeniu oraz utrzymaniu granicy pomiędzy śródmózgowiem i tyłomózgowiem [52]. U danio przegowanego zahamowanie przy pomocy przeciwciał działania białka Pax[b], homologicznego do Pax 2, 5 i 8, powoduje pojawienie się deformacji w rejonie łączącym śród- i tyłomózgowie. Jednocześnie dochodzi do obniżenia poziomu mRNA kodującego Wnt 1 i En 2, co również wskazuje na ścisłą zależność między tymi trzema czynnikami [12].

## 5. ROLA BIAŁEK PAX PODCZAS ROZWOJU OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Czynniki transkrypcyjne Pax, poza Pax 1 i 9 są niezwykle ważne w rozwoju ośrodkowego układu nerwowego. Geny kodujące białka Pax podlegają transkrypcji w ściśle określonych częściach cewynerwowej oraz później w rozwijającym się mózgu. Czynniki Pax 2, 5 i 8 ulegają ekspresji w rejonie połączenia między śródmózgowiem i tyłomózgowiem [57]. U myszy pozbawionych funkcjonalnego genu *Pax 5* obydwie wymienione części mózgowia mają liczne defekty [44]. Białka Pax 3 i 7 są wykrywane w śródmózgowiu i odgrywają rolę w różnicowaniu komórek, wywodzących się z grzebienia nerwowego [34, 53, 63]. Białko Pax 6 jest prawdopodobnie odpowiedzialne za wyodrębnienie i utrzymanie granic między poszczególnymi częściami mózgu [25] oraz za migrację neuronów, wzrost i różnicowanie aksonów [35, 41]. U wspomnianych wcześniej myszy *Sey* (z punktową mutacją w genie *Pax 6*), charakteryzujących się nieprawidłową budową lub brakiem oczu i nosa, defekt czynnika Pax 6 prowadzi do rozszerzenia ekspresji genu *Dlx 1* (ang. *Distal-less related homeobox genes*) na korę mózgu. Wynikiem ekspresji tego genu w miejscach dla niego niespecyficznych jest zaburzenie migracji i segregacji neuronów

w przodomózgowiu. Wynika stąd, że białko Pax 6 jest ważne dla wyodrębniania i prawidłowego powstawania struktur przodomózgowia.

## 6. ROLA CZYNNIKÓW TRANSKRYPCYJNYCH PAX W POWSTAWANIU MIĘŚNI

Na szczególną uwagę zasługuje rola białek Pax 3 i 7 w powstawaniu mięśni szkieletowych. Wymienione czynniki są kluczowe w wyodrębnianiu się populacji komórek prekursorowych mięśni, ich migracji do miejsca docelowego oraz w utrzymaniu populacji komórek satelitowych [8, 10].

Podczas embriogenezy, z mezodermi przyosiowej położonej równolegle po obu stronach struny grzbietowej i cewy nerwowej powstają somity [4]. Powstanie odrębnych somitów oraz ich późniejsze różnicowanie na dermomiotom i sklerotom indukują białka Bmp (ang. *Bone morphogenetic protein*), Wnt, Shh (ang. *Sonic hedgehog*) i Msx (ang. *Muscle segment related homeobox genes*) syntetyzowane przez komórki struny grzbietowej i cewy nerwowej. Czynniki Pax 3 i Pax 7 biorą udział w miogenicznej specyfikacji części komórek somitu, z którego wyodrębni się dermomiotom, a następnie z niego powstaną mięśnie. Czynniki transkrypcyjne Pax 3 i 7 wykrywane są w około 90% komórek znajdujących się w środkowej części dermomiotomu [24, 37]. Naukowcy są zgodni, że oba białka są charakterystyczne dla komórek prekursorowych powstających podczas miogenezy zarodkowej [24, 37]. Ponadto czynnik Pax 7 jest szczególnie ważny w determinacji losu komórek satelitowych uczestniczących w miogenezie pourodzeniowej [11, 32, 49]. W komórkach dermomiotomu syntetyzowane są następnie mięśniowe czynniki regulatorowe (MRF): Myf4, Myf 5 i MyoD, kontrolujące ekspresję genów niezbędnych w procesie miogenezy. Białka Myf 5 oraz MyoD pojawiają się w prekursorach mioblastów podczas różnicowania [28].

Podczas kolejnych stadiów rozwoju zarodkowego myszy dermomiotom ulega podziałowi na dermatom i miotom pod wpływem molekularnych sygnałów z sąsiadujących struktur. Dermomiotom przyjmuje formę płytki z podwiniętymi krawędziami. Komórki prekursorowe mięśni zlokalizowane w bocznej części dermomiotomu przemieszczają się wzdłuż jego bocznych krawędzi tworząc skupisko komórek zwane miotomem pierwotnym. W miarę dalszego rozwoju populacja komórek syntetyzujących białka Pax 3 i Pax 7 wędruje ze środkowej części dzielącego się dermomiotomu do miotomu [24, 37]. Z tej populacji wywodzą się prekursorzy mioblastów biorące udział w powstawaniu mięśni i komórki satelitowe uczestniczące we wzroście i regeneracji po urodzeniu [24].

Badania dowodzą, że białko Pax 3 jest niezbędne podczas powstawania miotomu oraz wykrywane jest w migrujących komórkach prekursorowych mięśni i mioblastach w zawiązkach kończyn [9, 11, 60]. Podczas formowania się miotomu czynnik Pax 3 indukuje ekspresję dwóch czynników MRF: Myf 5 i Mrf 4 [8, 29]. Natomiast w

migrujących prekursorach mioblastów dochodzi do represji transkrypcji mięśniowych czynników regulatorowych. Białko Pax 3 prawdopodobnie utrzymuje migrujące komórki prekursorowe w stanie niezróżnicowanym, kontrolując transkrypcję genu *MyoD*, który z kolei reguluje różnicowanie komórek w mioblasty i miocyty [49]. Czynniki Pax 3 wpływa też na ekspresję receptora c-met, którego ligandem jest wątrobowy czynnik wzrostu (czynnik rozpraszający, HGF/SF, ang. *Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor*). Receptor c-met jest syntetyzowany przez migrujące prekursory mioblastów. Czynniki HGF/SF występuje w mezodermie przylegającej do wargi bocznej dermomiotomu i wyznacza szlak wędrówki komórek prekursorowych mioblastów. Dzięki oddziaływaniu receptora c-met z ligandem HGF komórki prekursorowe mioblastów wędrują do zawiązków kończyn.

Transkrypcja genów miogenicznych inicjowana jest w prekursorach mioblastów w momencie, kiedy zasiedlają one zawiązki kończyn. Mioblasty przyjmują wtedy kształt wrzecionowaty, układają się jeden za drugim, a ich błony komórkowe ulegają fuzji. W ten sposób powstają wydłużone miotuby z centralnie położonymi jądrami. W miotubach syntetyzowane są czynniki MRF czyli miogenina i MRF 4, specyficzne dla późnych etapów różnicowania. Miotuby stają się dłuższe poprzez dołączanie się kolejnych mioblastów. Następnie dochodzi w nich do syntezy białek mięśniowych, takich jak: aktyna mięśniowa sarkomerowa i miozyna. Po unerwieniu z miotub powstają włókna mięśniowe, a wchodzące w ich skład jądra komórkowe lokalizują się pod sarkolemmą [27]. Z włóknem mięśniowym pozostają związane niezróżnicowane komórki prekursorowe mięśni – komórki satelitarne, uczestniczące we wzroście i regeneracji mięśni w okresie pourodzeniowym [13].

U dorosłego organizmu komórki satelitarne pozostają w stanie spoczynkowym  $G_0$ . Zarówno komórki satelitarne w stanie spoczynkowym, jak i komórki zaktywowane w wyniku uszkodzenia mięśnia mogą wykazywać ekspresję czynników Pax 3 i Pax 7 [49]. W części z nich wykrywane są oba białka, a w części tylko czynnik Pax 3 albo Pax 7. Udział poszczególnych populacji komórek satelitarnych zależy od części ciała, z której pochodzi mięsień, ale nie od typu budujących go włókien [49]. Wraz z różnicowaniem mioblastów poziom białka Pax 3 i Pax 7 spada [42, 49].

Czynnik transkrypcyjny Pax 7 jest kluczowy dla utrzymania populacji komórek satelitarnych. U myszy *Pax 7<sup>-/-</sup>* obserwowany jest drastyczny spadek liczby komórek satelitarnych po urodzeniu, który powoduje gorszą regenerację mięśni dorosłych organizmów [43, 49]. Myszy *Pax 7<sup>-/-</sup>* umierają w ciągu 3 tygodni od momentu urodzenia [43]. Badacze z grupy Rudnickiego stwierdzili, że z brakiem czynnika Pax 7 wiąże się całkowita utrata komórek satelitarnych i nieprawidłowa budowa włókien mięśniowych [55]. Według autorów z grupy Rudnickiego zmniejszenie liczby komórek satelitarnych u mutantów *Pax 7<sup>-/-</sup>* jest związane z rolą białka Pax 7 w ich specyfikacji [55]. Natomiast pozostałe grupy badawcze Brauna i Buckingham sugerują, że spadek liczby komórek satelitarnych jest spowodowany istotną rolą białka Pax 7 w regulacji podziałów komórkowych i w zapobieganiu apoptozie [11, 23]. Prawdopodobnie w niektórych populacjach komórek satelitarnych również czynnik Pax 3 pełni funkcję antyapoptotyczną [49]. Obecnie nie budzi kontrowersji fakt, że białko Pax 7

odpowiada za zdolność samoodnawiania populacji komórek satelitowych, uczestniczącej w powstawaniu włókien mięśniowych po urodzeniu i regeneracji mięśni [11, 42, 43, 49, 51]. Czynn timer transkrypcyjny Pax 7 bierze prawdopodobnie również udział w utrzymaniu komórek satelitowych w stanie niezróżnicowanym [42]. Z kolei badania przeprowadzone przez Relaix i zespół wykazują, że czynn timer Pax 3 i 7 inicjują różnicowanie komórek satelitowych, aktywując białko Myo D [49]. Ponadto, praca McKinnell i zespołu wykazała, że białko Pax7 reguluje ekspresję czynn timer Myf5 w mioblastach [36].

Białko Pax 7 jest syntetyzowane w niezróżnicowanych komórkach satelitowych na wysokim poziomie, kontrolując ekspresję mięśniowego czynn timer regulatorowego MyoD [42]. Następnie po aktywacji komórek satelitowych, w wyniku uszkodzenia włókna mięśniowego dochodzi w nich do obniżenia poziomu czynn timer Pax 7 i syntezy białek MyoD i Myf 5. Poziom ekspresji Pax 7 determinuje losy komórki satelimerowej. Komórki, w których ekspresja białka Pax7 zostaje zachowana, a obniżony zostaje poziom MRF odtwarzają niezróżnicowaną, rezerwową pulę komórek satelimerowych [42, 54]. W komórkach, w których poziom czynn timer MyoD wzrasta, pojawia się synteza czynn timer Myf 5, Mrf 4 i miogeniny [54, 56]. Komórki te różnicują w mioblasty i odbudowują uszkodzone mięśnie.

## 7. ROLA BIAŁEK PAX W ONKOGENEZIE

Mutacje w genach kodujących czynn timer transkrypcyjne Pax mogą być przyczyną powstawania nowotworów. Transformacja nowotworowa może być również spowodowana translokacją fragmentów chromosomów, na których zlokalizowane są geny *Pax*. Modyfikacja struktury genów, a w konsekwencji białek Pax może prowadzić do zmiany ich aktywności jako czynn timer transkrypcyjnych, a co za tym idzie do deregulacji ekspresji genów, które kontrolują. Do genów docelowych czynn timer Pax należą geny, kodujące białka p53 i Bcl-2 niezwykle istotne dla prawidłowej regulacji proliferacji komórek i apoptozy [6, 11, 23, 34]. Dysfunkcja czynn timer Pax może więc prowadzić do transformacji nowotworowej.

Czyn timer Pax 3 hamuje apoptozę poprzez regulację transkrypcji antyapoptycznego białka Bcl-X<sub>L</sub> [34]. Nadekspresja genów *Pax* powoduje powstawanie guzów nowotworowych z fibroblastów u myszy *Nude*, pozbawionych grasicy, w której dojrzewają limfocyty T i w związku z tym niewykazujących odporności komórkowej [45]. U mutantów *Nude*, których komórki syntetyzują białka Pax 1, 2, 3, 6 i 8 na podwyższonym poziomie, powstają dobrze unaczynione guzy lite o różnej morfologii. Wyższy od normalnego poziom białek PAX 2 i 8 obserwuje się także w guzie Wilmsa (łac. *nephroblastoma*), dziecięcym nowotworze nerek [5, 21, 34].

W komórkach guzów litych mięśni występujących u dzieci dochodzi do translokacji fragmentu chromosomu 2 i 13. W jej wyniku powstaje białko fuzyjne PAX-FORKHEAD z domenami wiążącymi DNA czynn timer PAX 3 lub 7 oraz FKHR (ang.

*Forkhead in Rhabdomyosarcoma*). Powstałe białko jest czynnikiem transkrypcyjnym o większej od normalnej aktywności i najprawdopodobniej jest odpowiedzialne za powstawanie mięśniakomięsaka prążkowanokomórkowego (łac. *rhabdomyosarcoma*) [19].

Niższy poziom ekspresji genu *PAX 5* obserwuje się w ludzkim glejaku astrocytarnym (łac. *astrocytoma*) i rdzeniaku (łac. *medulloblastoma*) [17, 57]. W komórkach chłoniaka wielkokomórkowego promotor genu *PAX 5* jest zmodyfikowany. Dochodzi do insercji sekwencji wzmacniającej genu, kodującego ciężki łańcuch immunoglobuliny [46]. Dotychczas nie ustalono, w jaki sposób czynnik transkrypcyjny *PAX 5* działa w komórkach chłoniaka. Wiadomo jednak, że białko to jest odpowiedzialne za podziały komórek nowotworowych, tak jak w przypadku limfocytów B [15].

## PODZIĘKOWANIA

Autorki składają serdeczne podziękowania Marii Annie Ciemerych-Litwinienko i Karolinie Archackiej za bezcenne uwagi dotyczące niniejszej pracy oraz Iwonie Grabowskiej i Władysławie Stremińskiej za nieocenioną pomoc w realizacji badań dotyczących udziału białek Pax w różnicowaniu mioblastów. Edyta Brzóska jest stypendystką Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] ASHERY-PADAN R, ZHOU X, MARQUARDT T, HERRERA P, TOUBE L, BERRY A, GRUSS P. Conditional inactivation of Pax6 in the pancreas causes early onset of diabetes. *Dev Biol* 2004; **269**: 479–488.
- [2] BARTHOLDY B, MATTHIAS P. Transcriptional control of B cell development and function. *Gene* 2004; **327**: 1–23.
- [3] BAUMER N, MARQUARDT T, STOYKOVAA, SPIELER D, TREICHEL D, ASHERY-PADAN R, GRUSS P. Retinal pigmented epithelium determination requires the redundant activities of Pax2 and Pax6. *Development* 2003; **130**: 2903–2915.
- [4] BIRESSI S, MOLINARO M, COSSU G. Cellular heterogeneity during vertebrate skeletal muscle development. *Dev Biol* 2007; **308**: 281–293.
- [5] BOUCHARD M, SOUABNIA, MANDLER M, NEUBUSER A, BUSSLINGER M. Nephric lineage specification by Pax2 and Pax8. *Genes Dev* 2002; **16**: 2958–2970.
- [6] BOWEN NJ, LOGANI S, DICKERSON EB, KAPA LB, AKHTAR M, BENIGNO BB, MCDONALD JF. Emerging roles for PAX8 in ovarian cancer and endosalpingeal development. *Gynecol Oncol* 2007; **104**: 331–337.
- [7] BRUN T, GAUTHIER BR. A focus on the role of Pax4 in mature pancreatic islet beta-cell expansion and survival in health and disease. *J Mol Endocrinol* 2008; **40**: 37–45.
- [8] BUCKINGHAM M. Skeletal muscle progenitor cells and the role of Pax genes. *C R Biol* 2007; **330**: 530–533.
- [9] BUCKINGHAM M, BAJARD L, CHANG T, DAUBAS P, HADCHOUËL J, MEILHAC S, MONTARRAS D, ROCANCOURT D, RELAIX F. The formation of skeletal muscle: from somite to limb. *J Anat* 2003; **202**: 59–68.
- [10] BUCKINGHAM M, BAJARD L, DAUBAS P, ESNER M, LAGHA M, RELAIX F, ROCANCOURT D. Myogenic progenitor cells in the mouse embryo are marked by the expression of Pax3/7 genes that regulate their survival and myogenic potential. *Anat Embryol (Berl)* 2006; **211** Suppl 1: 51–56.

- [11] BUCKINGHAM M, RELAIX F. The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; **23**: 645–673.
- [12] BUCKLES GR, THORPE CJ, RAMEL MC, LEKVEN AC. Combinatorial Wnt control of zebrafish midbrain-hindbrain boundary formation. *Mech Dev* 2004; **121**: 437–447.
- [13] CHARGE SB, RUDNICKI MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev* 2004; **84**: 209–238.
- [14] CHI N, EPSTEIN JA. Getting your Pax straight: Pax proteins in development and disease. *Trends Genet* 2002; **18**: 41–47.
- [15] CORCORAN LM. Transcriptional control of B cell activation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; **290**: 105–146.
- [16] COTTA CV, ZHANG Z, KIM HG, KLUG CA. Pax5 determines B- versus T-cell fate and does not block early myeloid-lineage development. *Blood* 2003; **101**: 4342–4346.
- [17] CVEKL A, JR., ZAVADIL J, BIRSHTEN BK, GROTZER MA, CVEKL A. Analysis of transcripts from 17p13.3 in medulloblastoma suggests ROX/MNT as a potential tumour suppressor gene. *Eur J Cancer* 2004; **40**: 2525–2532.
- [18] DAVIS-SILBERMAN N, KALICH T, ORON-KARNI V, MARQUARDT T, KROEBER M, TAMMER, ASHERY-PADAN R. Genetic dissection of Pax6 dosage requirements in the developing mouse eye. *Hum Mol Genet* 2005; **14**: 2265–2276.
- [19] DU S, LAWRENCE EJ, STRZELECKI D, RAJPUT P, XIA SJ, GOTTESMAN DM, BARR FG. Co-expression of alternatively spliced forms of PAX3, PAX7, PAX3-FKHR and PAX7-FKHR with distinct DNA binding and transactivation properties in rhabdomyosarcoma. *Int J Cancer* 2005; **115**: 85–92.
- [20] FLETCHER J, HU M, BERMAN Y, COLLINS F, GRIGG J, MCIVER M, JUPPNER H, ALEXANDER SI. Multicystic dysplastic kidney and variable phenotype in a family with a novel deletion mutation of PAX2. *J Am Soc Nephrol* 2005; **16**: 2754–2761.
- [21] FONSATO V, BUTTIGLIERI S, DEREGIBUS MC, PUNTORIERI V, BUSSOLATI B, CAMUSSI G. Expression of Pax2 in human renal tumor-derived endothelial cells sustains apoptosis resistance and angiogenesis. *Am J Pathol* 2006; **168**: 706–713.
- [22] GALLANT S, GILKESON G. ETS transcription factors and regulation of immunity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2006; **54**: 149–163.
- [23] GIBSON W, GREEN A, BULLARD RS, EADDY AC, DONALD CD. Inhibition of PAX2 expression results in alternate cell death pathways in prostate cancer cells differing in p53 status. *Cancer Lett* 2007; **248**: 251–261.
- [24] GROS J, MANCEAU M, THOME V, MARCELLE C. A common somitic origin for embryonic muscle progenitors and satellite cells. *Nature* 2005; **435**: 954–958.
- [25] HAUBST N, BERGER J, RADJENDIRANE V, GRAW J, FAVOR J, SAUNDERS GF, STOYKOVA A, GOTZ M. Molecular dissection of Pax6 function: the specific roles of the paired domain and homeodomain in brain development. *Development* 2004; **131**: 6131–6140.
- [26] HOLLANDER G, GILL J, ZUKLYS S, IWANAMI N, LIU C, TAKAHAMA Y. Cellular and molecular events during early thymus development. *Immunol Rev* 2006; **209**: 28–46.
- [27] HORSLEY V, PAVLATH GK. Forming a multinucleated cell: molecules that regulate myoblast fusion. *Cells Tissues Organs* 2004; **176**: 67–78.
- [28] KASSAR-DUCHOSSOY L, GAYRAUD-MOREL B, GOMES D, ROCANCOURT D, BUCKINGHAM M, SHININ V, TAJBAKHS S. Mrf4 determines skeletal muscle identity in Myf5:Myod double-mutant mice. *Nature* 2004; **431**: 466–471.
- [29] KASSAR-DUCHOSSOY L, GIACONE E, GAYRAUD-MOREL B, JORY A, GOMES D, TAJBAKHS S. Pax3/Pax7 mark a novel population of primitive myogenic cells during development. *Genes Dev* 2005; **19**: 1426–1431.
- [30] KIM D, DRESSLER GR. Nephrogenic factors promote differentiation of mouse embryonic stem cells into renal epithelia. *J Am Soc Nephrol* 2005; **16**: 3527–3534.
- [31] KOKUBU C, WILMB, KOKUBU T, WAHL M, RODRIGO I, SAKAI N, SANTAGATI F, HAYASHIZAKI Y, SUZUKI M, YAMAMURA K, ABE K, IMAI K. Undulated short-tail deletion mutation in the mouse ablates Pax1 and leads to ectopic activation of neighboring Nkx2-2 in domains that normally express Pax1. *Genetics* 2003; **165**: 299–307.
- [32] KUANG S, CHARGE SB, SEALE P, HUH M, RUDNICKI MA. Distinct roles for Pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis. *J Cell Biol* 2006; **172**: 103–113.
- [33] LANG D, EPSTEIN JA. Sox10 and Pax3 physically interact to mediate activation of a conserved c-RET enhancer. *Hum Mol Genet* 2003; **12**: 937–945.

- [34] LANG D, POWELL SK, PLUMMER RS, YOUNG KP, RUGGERI BA. PAX genes: roles in development, pathophysiology, and cancer. *Biochem Pharmacol* 2007; **73**: 1–14.
- [35] MANUEL M, PRICE DJ. Role of Pax6 in forebrain regionalization. *Brain Res Bull* 2005; **66**: 387–393.
- [36] MCKINNELL IW, ISHIBASHI J, LE GRAND F, PUNCH VG, ADDICKS GC, GREENBLATT JF, DILWORTH FJ, RUDNICKI MA. Pax7 activates myogenic genes by recruitment of a histone methyltransferase complex. *Nat Cell Biol* 2008; **10**: 77–84.
- [37] MCKINNELL IW, RUDNICKI MA. Developmental biology: one source for muscle. *Nature* 2005; **435**: 898–899.
- [38] MILEWSKI RC, CHI NC, LI J, BROWN C, LU MM, EPSTEIN JA. Identification of minimal enhancer elements sufficient for Pax3 expression in neural crest and implication of Tead2 as a regulator of Pax3. *Development* 2004; **131**: 829–837.
- [39] MONSORO-BURQ AH. Sclerotome development and morphogenesis: when experimental embryology meets genetics. *Int J Dev Biol* 2005; **49**: 301–308.
- [40] NERA KP, KOHONEN P, NARVI E, PEIPPO A, MUSTONEN L, TERHO P, KOSKELA K, BUERSTEDT JM, LASSILA O. Loss of Pax5 promotes plasma cell differentiation. *Immunity* 2006; **24**: 283–293.
- [41] NURAL HF, MASTICK GS. Pax6 guides a relay of pioneer longitudinal axons in the embryonic mouse forebrain. *J Comp Neurol* 2004; **479**: 399–409.
- [42] OLGUIN HC, OLWIN BB. Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: a potential mechanism for self-renewal. *Dev Biol* 2004; **275**: 375–388.
- [43] OUSTANINA S, HAUSE G, BRAUN T. Pax7 directs postnatal renewal and propagation of myogenic satellite cells but not their specification. *Embo J* 2004; **23**: 3430–3439.
- [44] PALMISANO WA, CRUME KP, GRIMES MJ, WINTERS SA, TOYOTA M, ESTELLER M, JOSTE N, BAYLIN SB, BELINSKY SA. Aberrant promoter methylation of the transcription factor genes PAX5 alpha and beta in human cancers. *Cancer Res* 2003; **63**: 4620–4625.
- [45] PARKER CJ, SHAWCROSS SG, LI H, WANG QY, HERRINGTON CS, KUMAR S, MACKIE RM, PRIME W, RENNIE IG, SISLEY K, KUMAR P. Expression of PAX 3 alternatively spliced transcripts and identification of two new isoforms in human tumors of neural crest origin. *Int J Cancer* 2004; **108**: 314–320.
- [46] POPPE B, DE PAEPE P, MICHAUX L, DASTUGUE N, BASTARD C, HERENS C, MOREAU E, CAVAZZINI F, YIGIT N, VAN LIMBERGEN H, DE PAEPE A, PRAET M, DE WOLF-PEETERS C, WLODARSKA I, SPELEMAN F. PAX5/IGH rearrangement is a recurrent finding in a subset of aggressive B-NHL with complex chromosomal rearrangements. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; **44**: 218–223.
- [47] PURCELL P, OLIVER G, MARDON G, DONNER AL, MAAS RL. Pax6-dependence of Six3, Eya1 and Dach1 expression during lens and nasal placode induction. *Gene Expr Patterns* 2005; **6**: 110–118.
- [48] QIN W, SHU A, QIAN X, GAO J, XING Q, ZHANG J, ZHENG Y, LI X, LI S, FENG G, HE L. A novel mutation of PAX3 in a Chinese family with Waardenburg syndrome. *Mol Vis* 2006; **12**: 1001–1008.
- [49] RELAIX F, MONTARRAS D, ZAFFRAN S, GAYRAUD-MOREL B, ROCANCOURT D, TAJBAKHSH S, MANSOURI A, CUMANO A, BUCKINGHAM M. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *J Cell Biol* 2006; **172**: 91–102.
- [50] RELAIX F, ROCANCOURT D, MANSOURIA, BUCKINGHAM M. Divergent functions of murine Pax3 and Pax7 in limb muscle development. *Genes Dev* 2004; **18**: 1088–1105.
- [51] RELAIX F, ROCANCOURT D, MANSOURIA, BUCKINGHAM M. A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. *Nature* 2005; **435**: 948–953.
- [52] RHINN M, PICKER A, BRAND M. Global and local mechanisms of forebrain and midbrain patterning. *Curr Opin Neurobiol* 2006; **16**: 5–12.
- [53] ROBSON EJ, HE SJ, ECCLES MR. A PANorama of PAX genes in cancer and development. *Nat Rev Cancer* 2006; **6**: 52–62.
- [54] SEALE P, ISHIBASHI J, HOLTERMAN C, RUDNICKI MA. Muscle satellite cell-specific genes identified by genetic profiling of MyoD-deficient myogenic cell. *Dev Biol* 2004; **275**: 287–300.
- [55] SEALE P, ISHIBASHI J, SCIME A, RUDNICKI MA. Pax7 is necessary and sufficient for the myogenic specification of CD45<sup>+</sup>:Sca1<sup>+</sup> stem cells from injured muscle. *PLoS Biol* 2004; **2**: E130.
- [56] SHI X, GARRY DJ. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes Dev* 2006; **20**: 1692–1708.
- [57] SHIRSAT NV, SHAIKH SA. Overexpression of the immediate early gene fra-1 inhibits proliferation, induces apoptosis, and reduces tumorigenicity of c6 glioma cells. *Exp Cell Res* 2003; **291**: 91–100.
- [58] TENA JJ, NETO A, DE LA CALLE-MUSTIENES E, BRAS-PEREIRA C, CASARES F, GOMEZ-SKAR-META JL. Odd-skipped genes encode repressors that control kidney development. *Dev Biol* 2007; **301**: 518–531.

- [59] TRUEBA SS, AUGE J, MATTEI G, ETCHEVERS H, MARTINOVIC J, CZERNICHOW P, VEKEMANS M, POLAK M, ATTIE-BITACH T. PAX8, TITF1, and FOXE1 gene expression patterns during human development: new insights into human thyroid development and thyroid dysgenesis-associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; **90**: 455–462.
- [60] VASYUTINA E, BIRCHMEIER C. The development of migrating muscle precursor cells. *Anat Embryol (Berl)* 2006; **211** Suppl 1: 37–41.
- [61] WANG J, ELGHAZI L, PARKER SE, KIZILOCAK H, ASANO M, SUSSEL L, SOSA-PINEDA B. The concerted activities of Pax4 and Nkx2.2 are essential to initiate pancreatic beta-cell differentiation. *Dev Biol* 2004; **266**: 178–189.
- [62] WILSON ME, SCHEEL D, GERMAN MS. Gene expression cascades in pancreatic development. *Mech Dev* 2003; **120**: 65–80.
- [63] WLODARCZYK BJ, TANG LS, TRIPLETT A, ALEMAN F, FINNELL RH. Spontaneous neural tube defects in splotch mice supplemented with selected micronutrients. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; **213**: 55–63.
- [64] ZAMMIT PS, RELAIX F, NAGATA Y, RUIZ AP, COLLINS CA, PARTRIDGE TA, BEAUCHAMP JR. Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *J Cell Sci* 2006; **119**: 1824–1832.

*Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak*

*Otrzymano: 20.01. 2008 r.*

*Przyjęto: 10.04. 2008 r.*

*Zakład Cytologii, Wydział Biologii UW,*

*ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

*e-mail: edbrzoska@biol.uw.edu.pl*