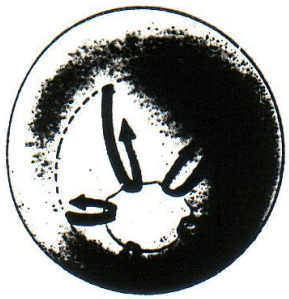
Le induzioni embrionali: Induzione primaria

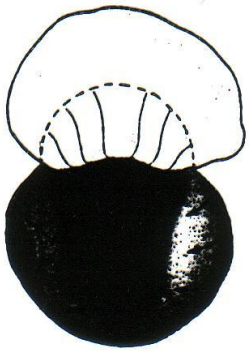
- Induzione primaria (ind. Mesoderma, sistema nervoso)

- Induzione secondaria: interazione epitelio-mesenchima (organogenesi)

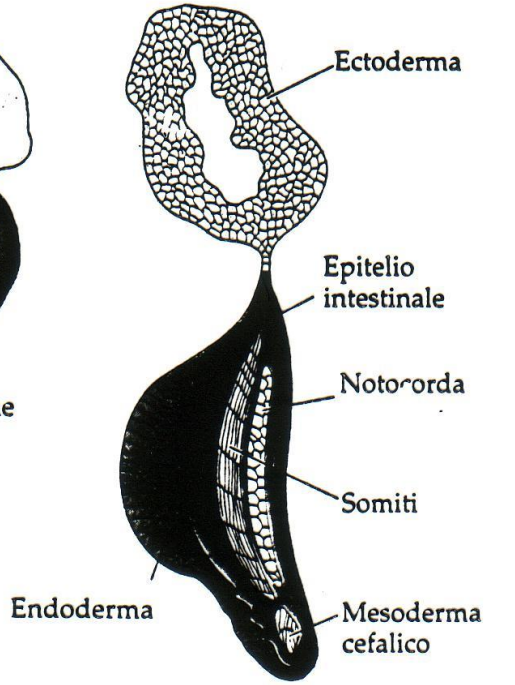
Esograstrule: Holtfreter



(A) Gastrulazione normale



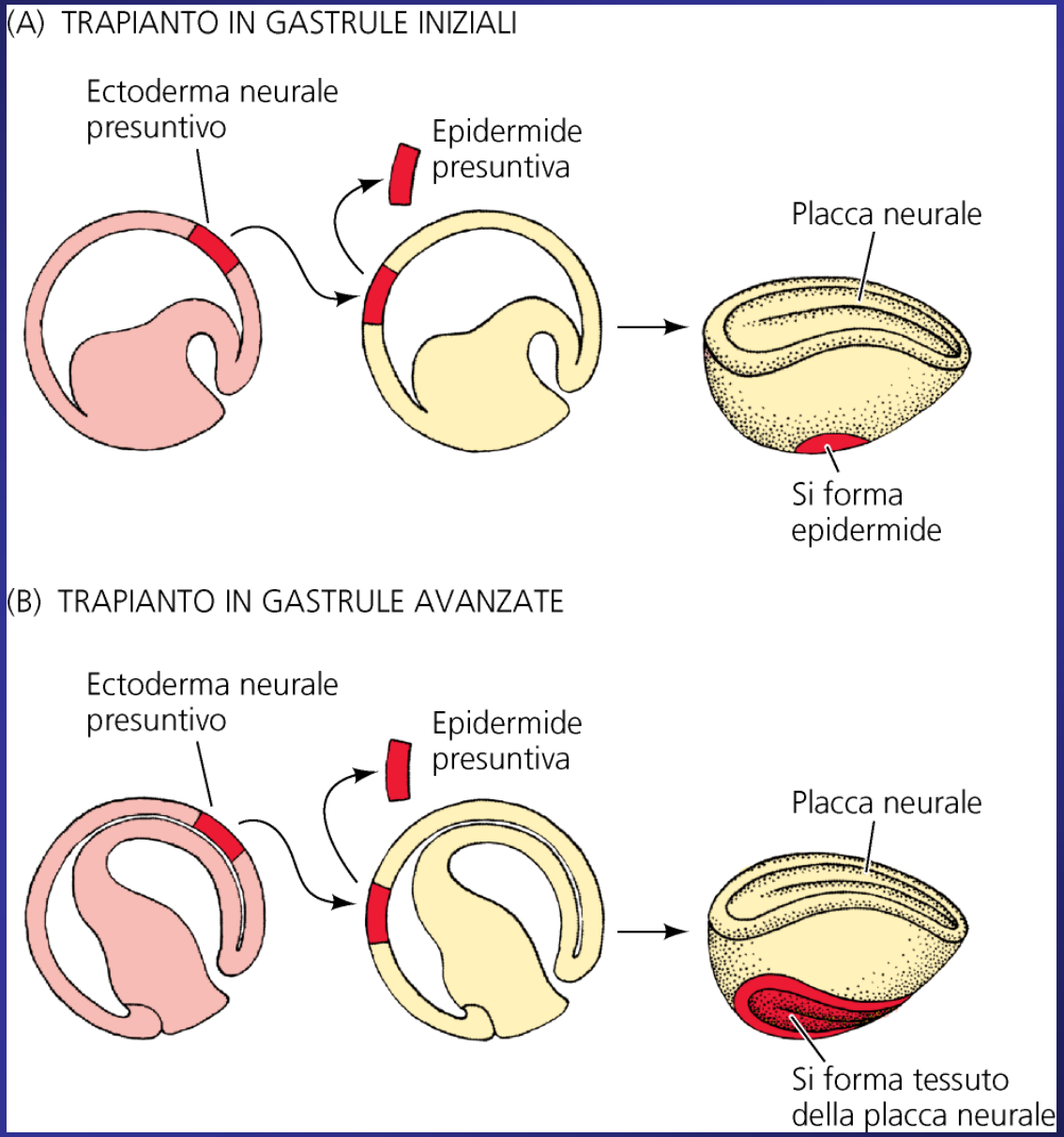
(B) Esogastrulazione

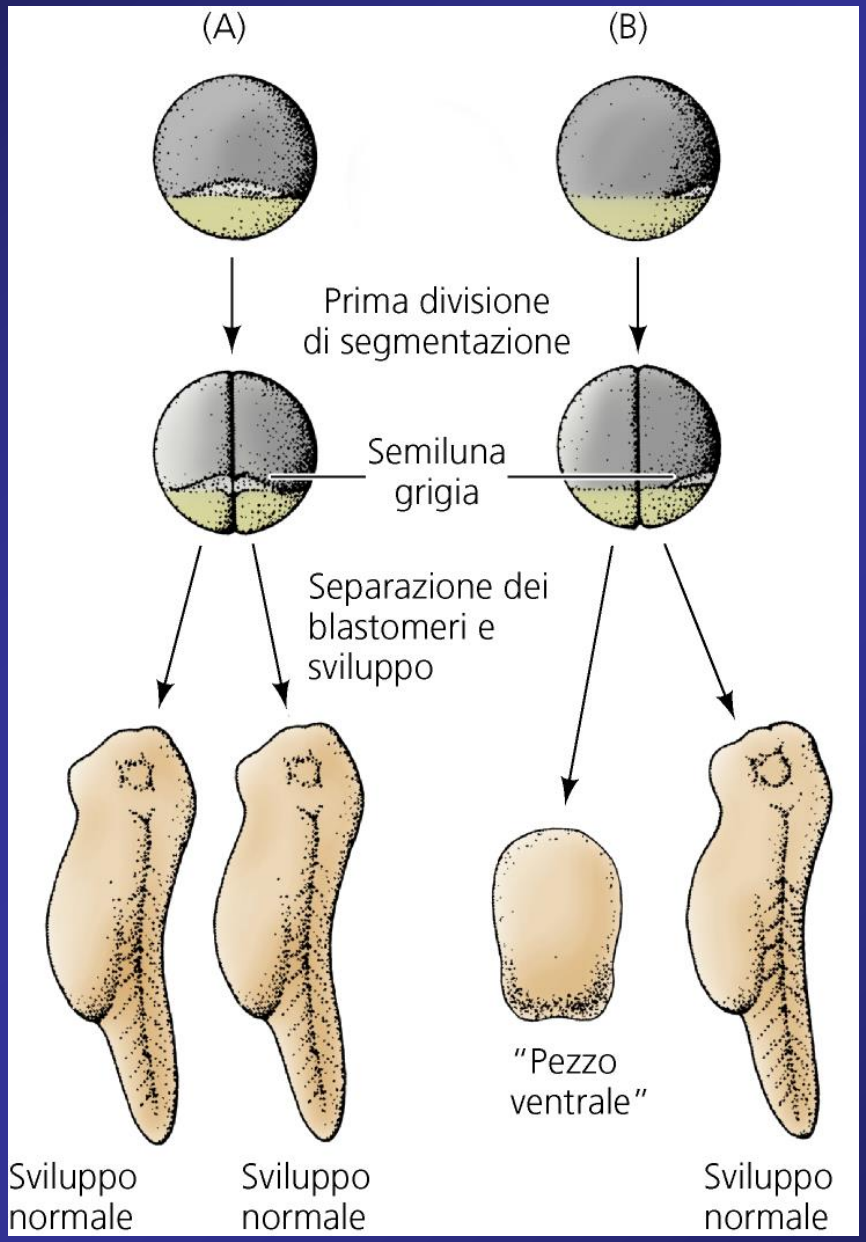


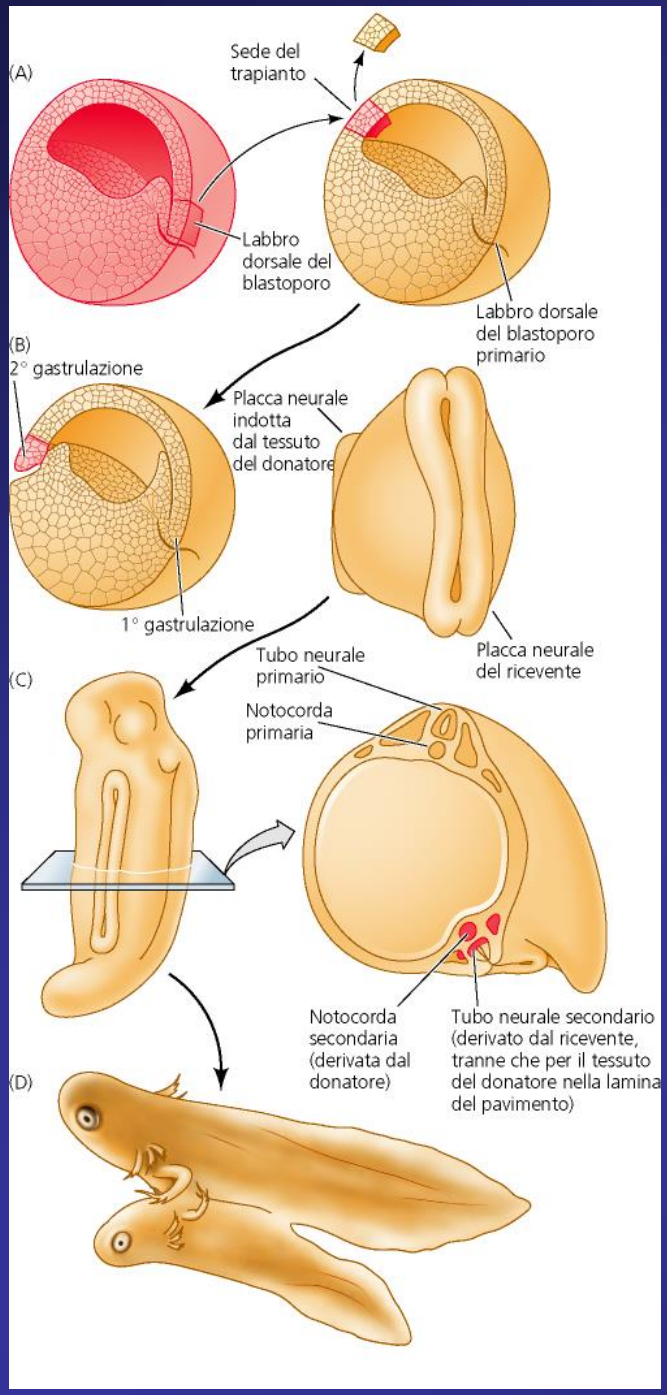
(C) Differenziazione in esogastrulazione

Figura 16.35
Esogastrulazione. (A) Nella gastrulazione normale, il mesoderma si involve sotto l'ectoderma. Tu[illegible]ia, quando l'embrione di anfibio viene posto in una soluzione salina ipertonica, il mesoderma subisce esogastrulazione (B), estroflettendendosi all'esterno dell'ectoderma, anziché involversi nell'embrione. (C) L'ectoderma in queste esogastrulazioni non forma tessuto neurale. (Da Holtfreter e Hamburger, 1955.)

Trapianti tissutali: Spemann

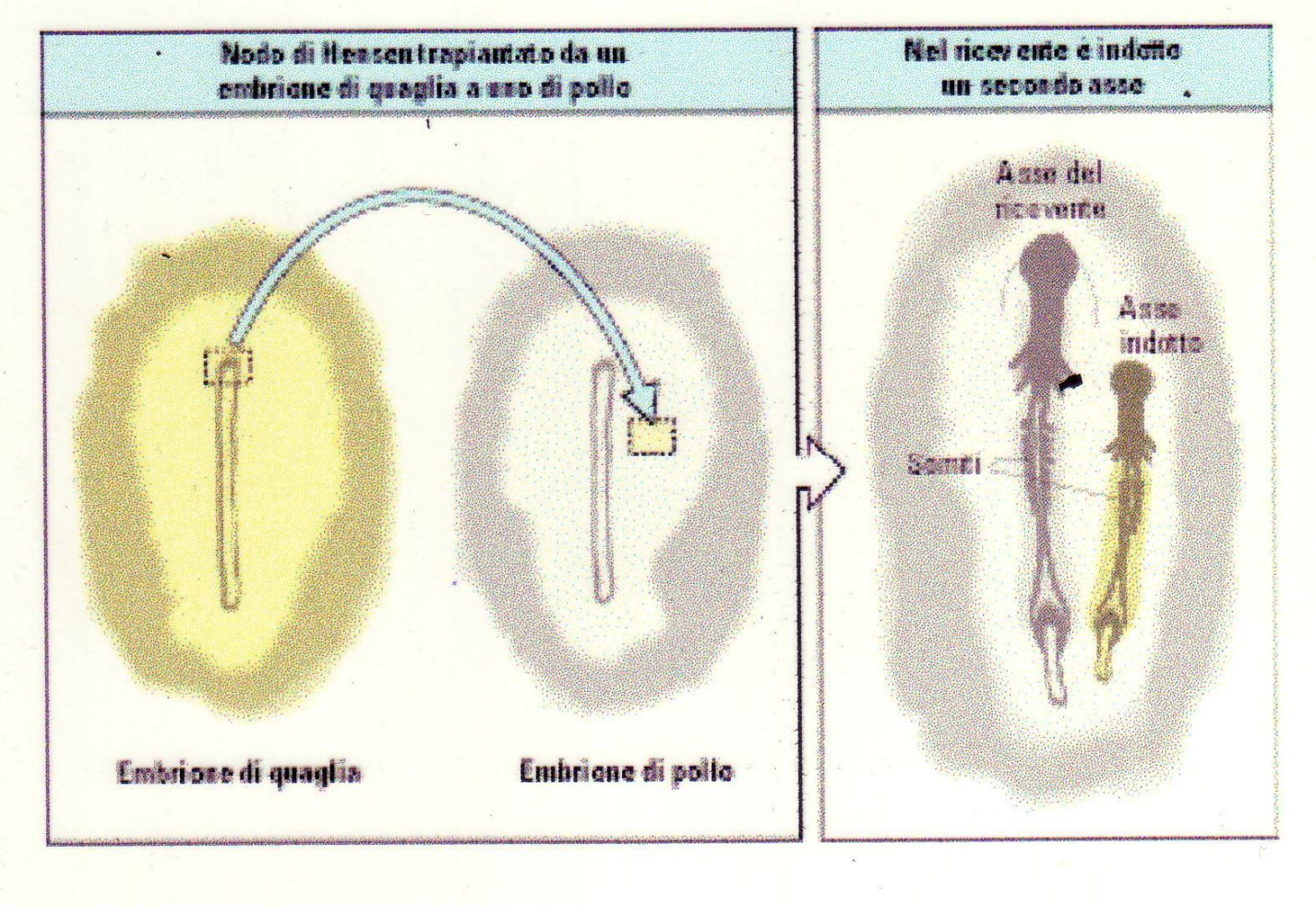


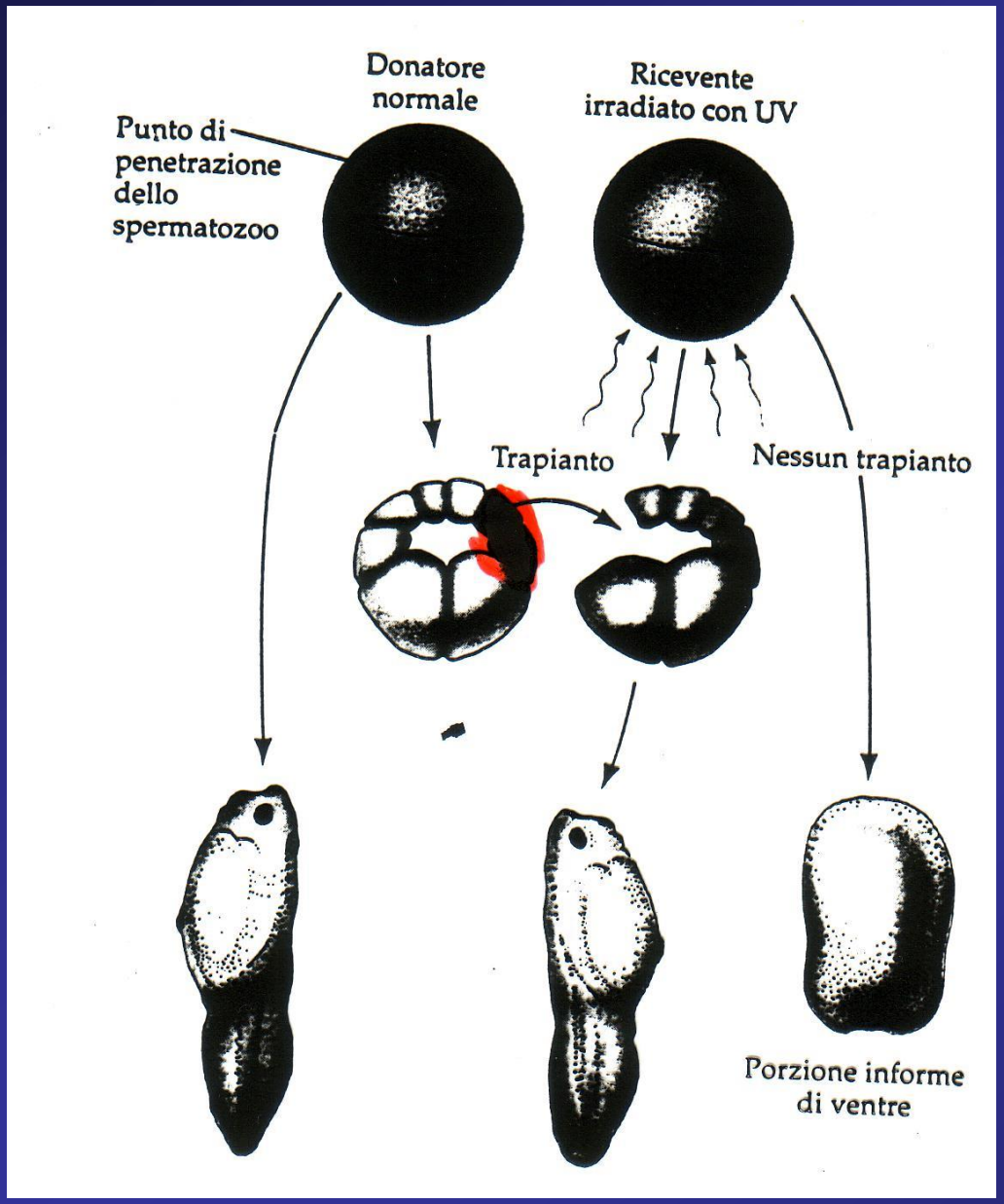

(A)
(B)
Prima divisione
di segmentazione
Semiluna
grigia
Separazione dei
blastomeri e
sviluppo
"Pezzo
ventrale"
Sviluppo
normale
Sviluppo
normale
Sviluppo
normale



L'Organizzatore primario: Trapianto del labbro dorsale del blastoporo

Trapianto del labbro dorsale del blastoporo in Uccelli



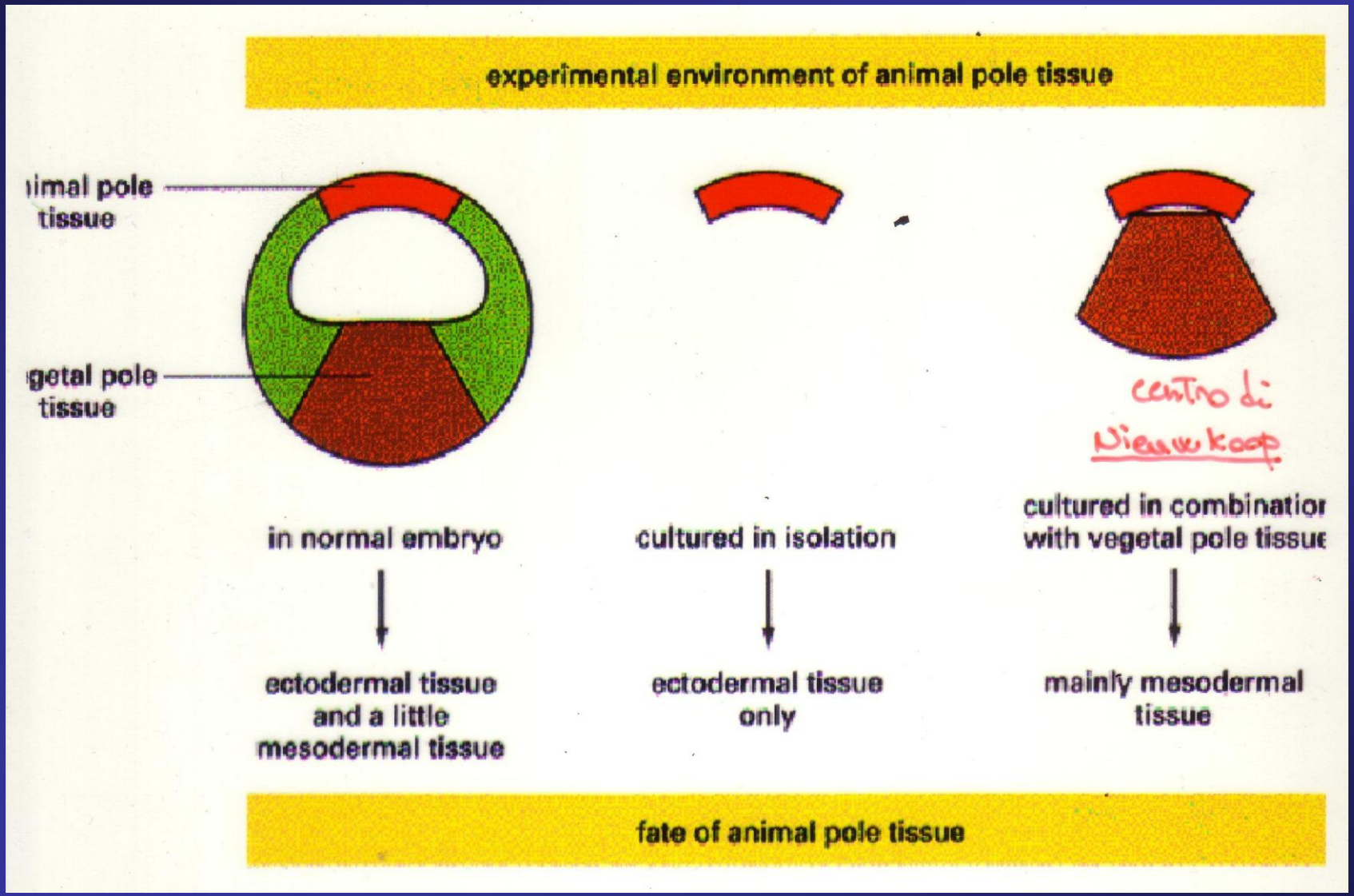


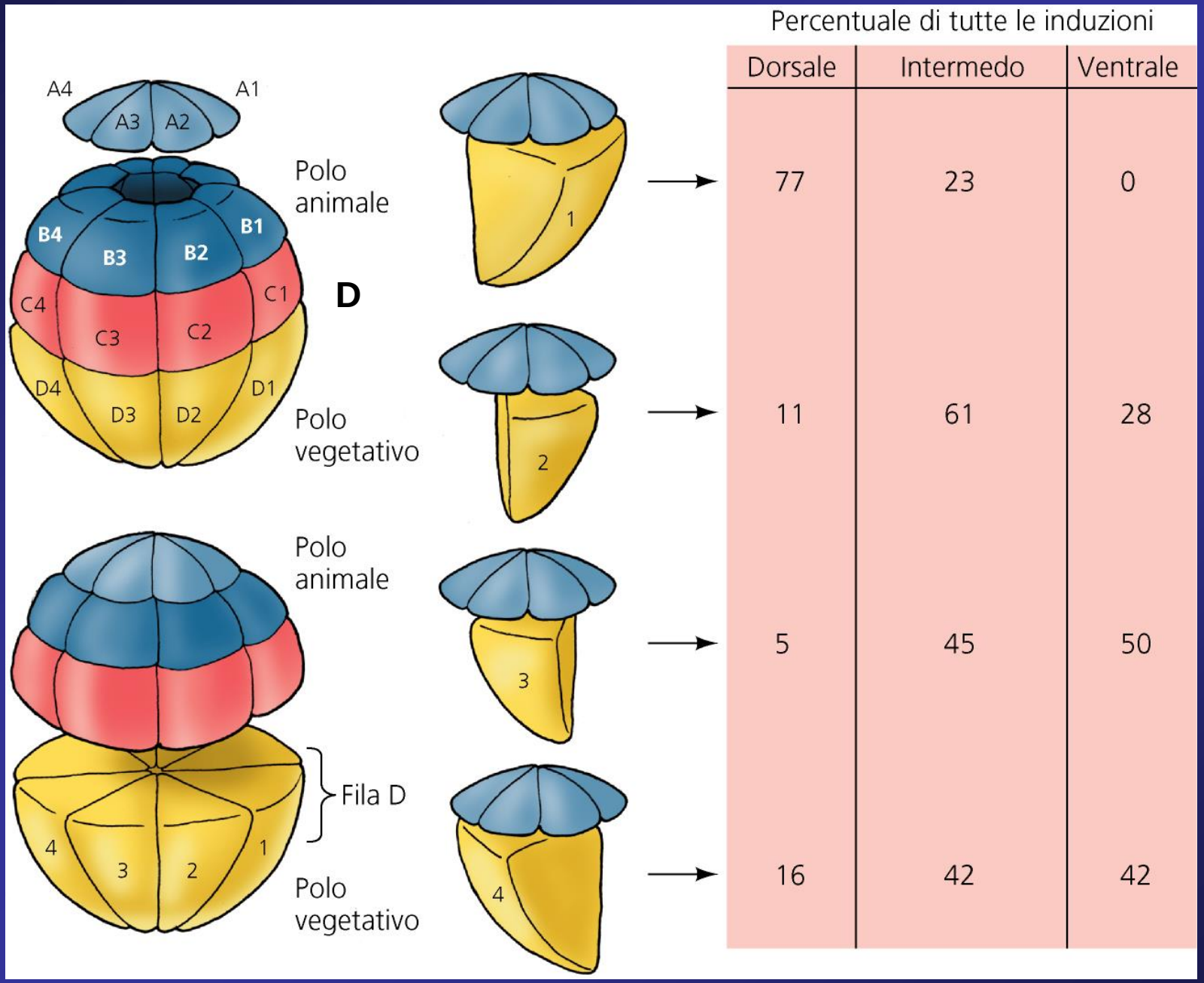
Labbro dorsale del blastoporo=
Organizzatore primario

Regione in grado di
condizionare lo
Sviluppo dell'embrione

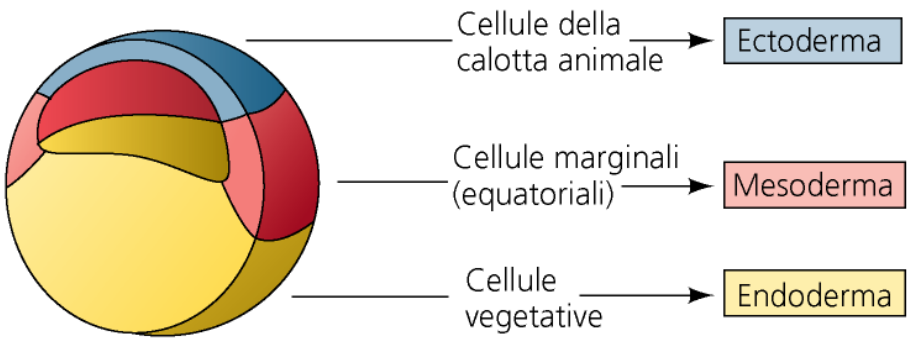
E' una regione autospecificata?

Esperimenti di Niewkoop

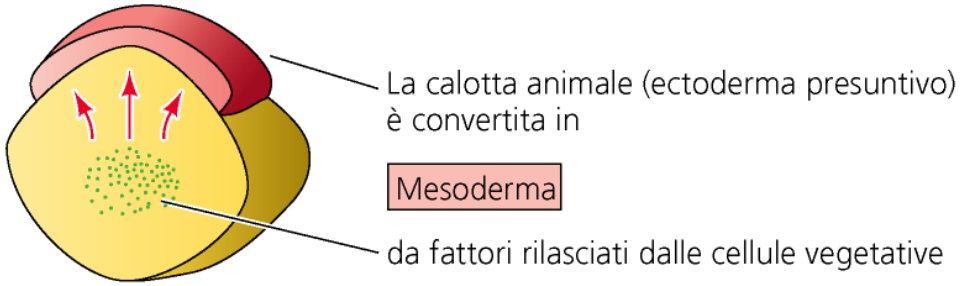



A4
A3
A2
A1
B4
B3
B2
B1
C4
C3
C2
C1
D4
D3
D2
D1
V
D
Polo animale
Polo vegetativo
Polo animale
Fila D
Polo vegetativo
1
2
3
4
Percentuale di tutte le induzioni
Dorsale
Intermedo
Ventrale
77
23
0
11
61
28
5
45
50
16
42
42

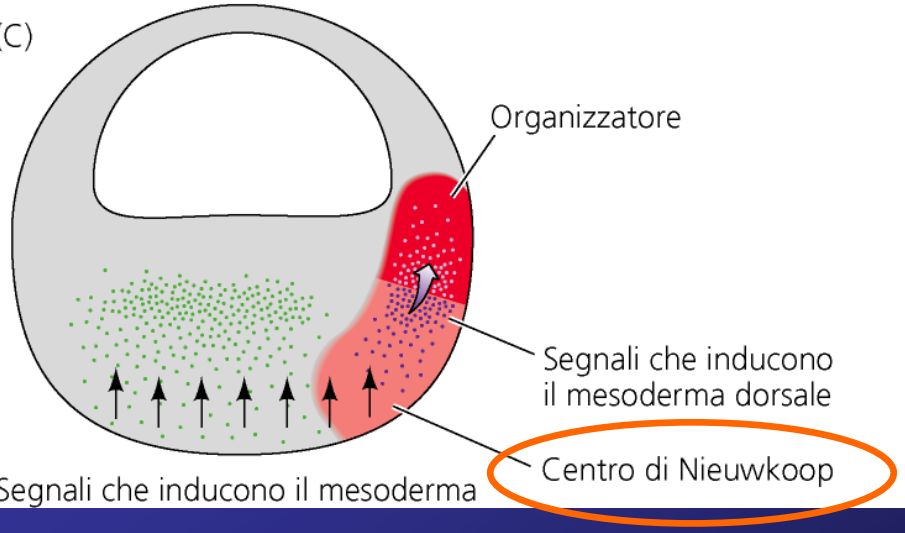
(A) Frammenti di blastula sezionata danno origine in coltura a tessuti differenti:



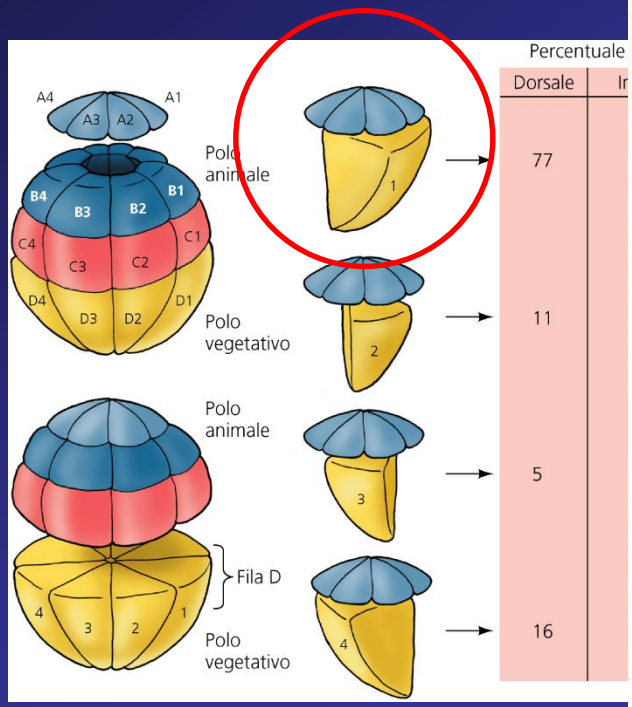
(B) Frammenti animali e vegetativi danno origine a mesoderma

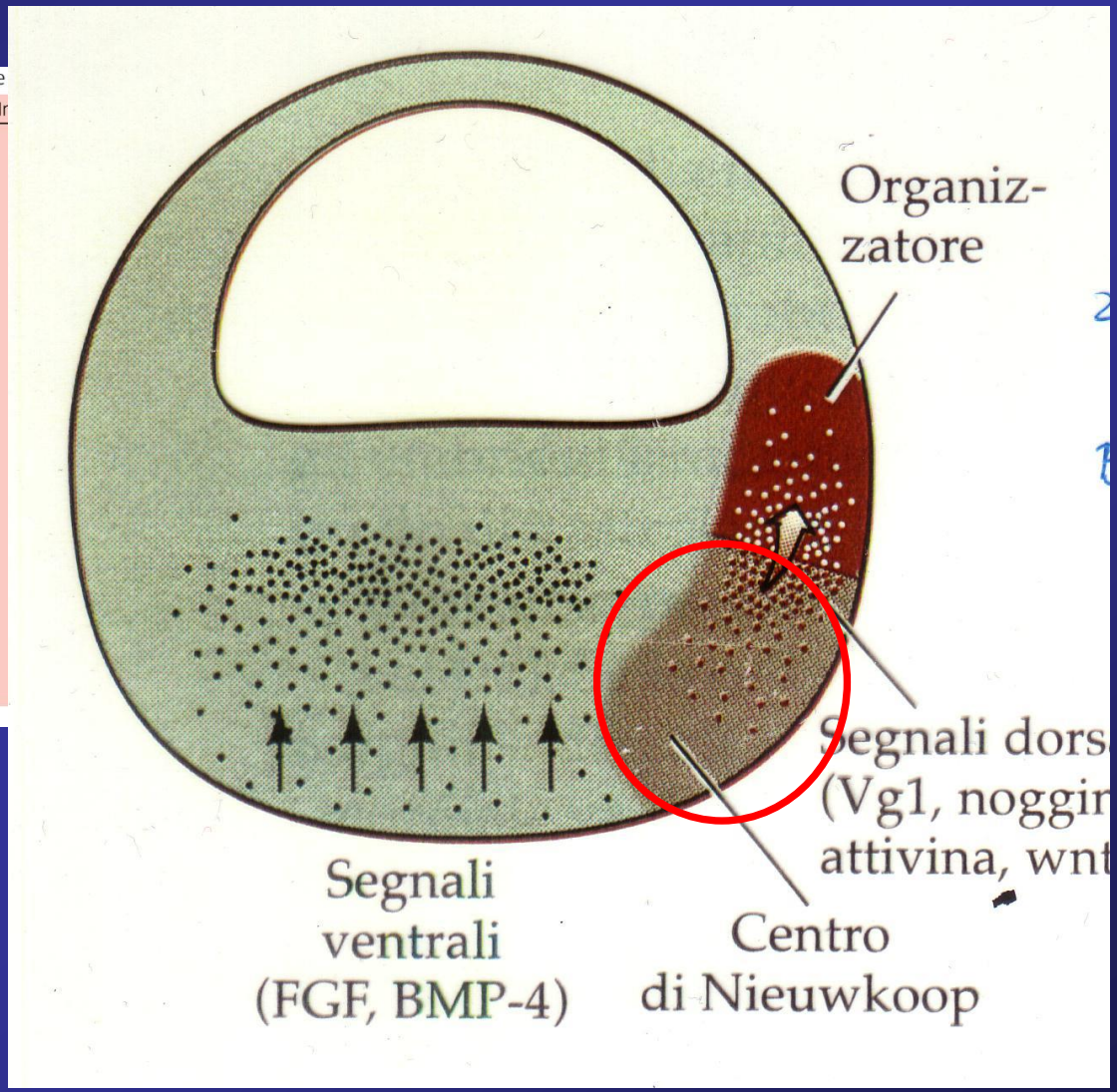


(C)



Induzione del Mesoderma Dorsale





Fattori materni

Fattori zigotici

VG-1 → mRNA di origine materna

Prodotto in forma inattiva e ubiquitariamente presente dopo Fecondazione

Forma attiva prodotta dopo taglio proteolitico (successivamente alla rotazione corticale)

Iniziatore del centro di Newkoop

Veg-T: fattore di trascrizione che si localizza nell'endoderma

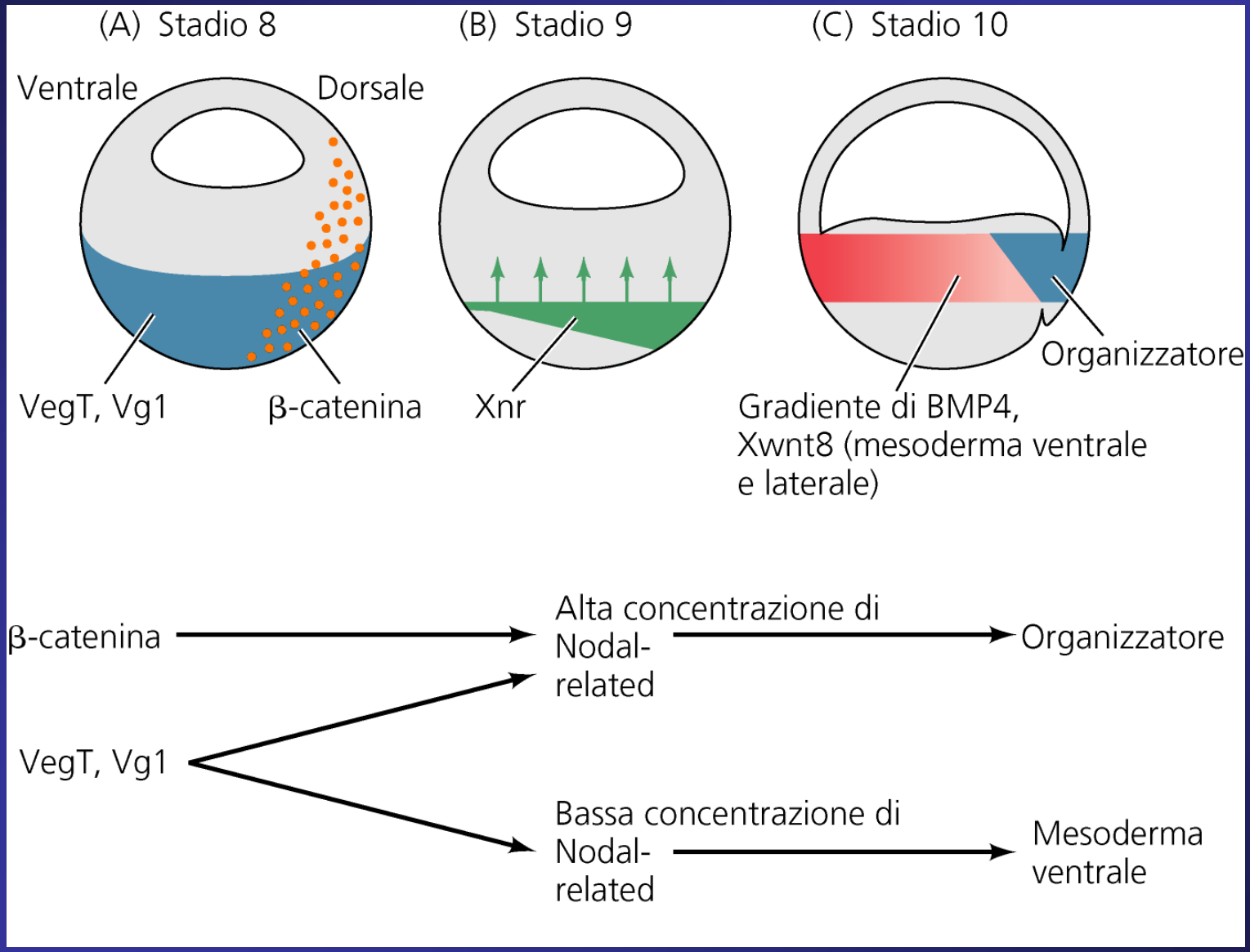
Attivina → gene zigotico

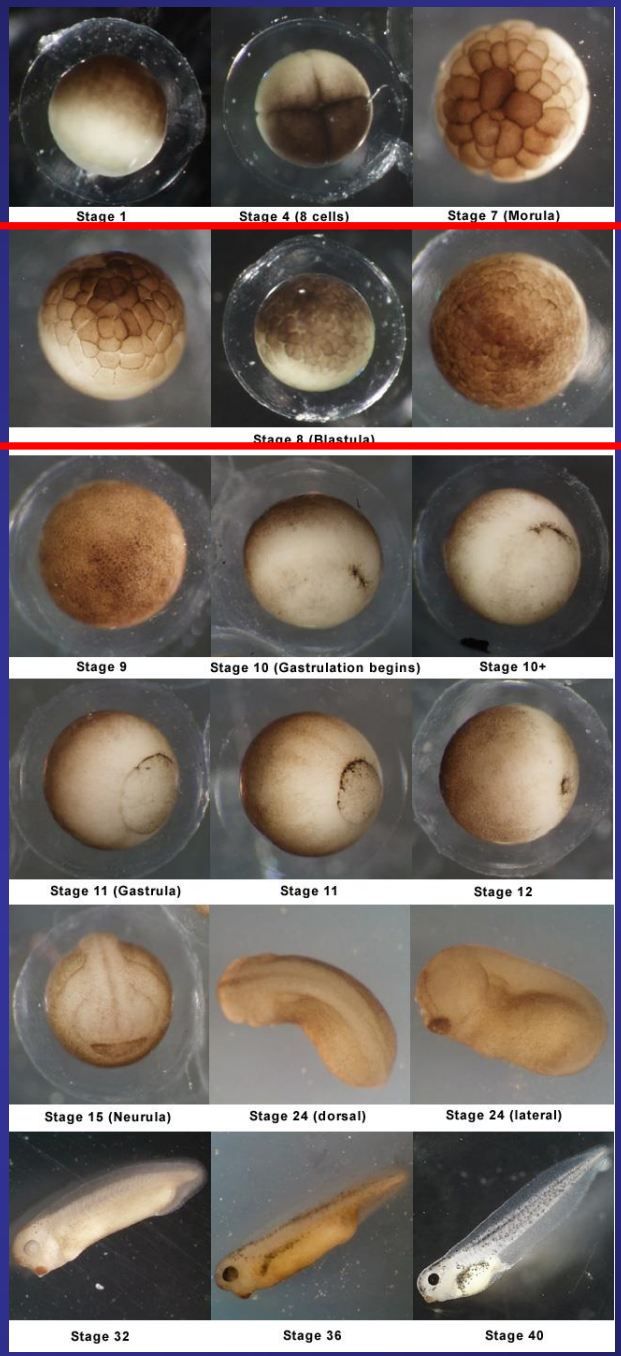
Induce l'espressione del gene Brachury (acceso nel mesoderma)

Tgf-B

importante per la formazione di mesoderma, ma non determinante per la formazione di mesoderma dorsale

Proteine Nodal related (Derriere) : induce il gene xbra e ad alta dose goosecoid


(A) Stadio 8
(B) Stadio 9
(C) Stadio 10
Ventrale
Dorsale
VegT, Vg1
β-catenina
Xnr
Organizzatore
Gradiente di BMP4,
Xwnt8 (mesoderma ventrale
e laterale)
β-catenina
Alta concentrazione di
Nodal-
related
Organizzatore
VegT, Vg1
Bassa concentrazione di
Nodal-
related
Mesoderma
ventrale


Stage 1
Stage 4 (8 cells)
Stage 7 (Morula)
Stage 8 (Blastula)
Stage 9
Stage 10 (Gastrulation begins)
Stage 10+
Stage 11 (Gastrula)
Stage 11
Stage 12
Stage 15 (Neurula)
Stage 24 (dorsal)
Stage 24 (lateral)
Stage 32
Stage 36
Stage 40

VG-1 → mRNA di origine materna

Prodotto in forma inattiva e ubiquitariamente presente dopo Fecondazione

Forma attiva prodotta dopo taglio proteolitico (successivamente alla rotazione corticale)

Iniziatore del centro di Newkoop

Veg-T: fattore di trascrizione che si localizza nell'endoderma

Attivina → gene zigotico

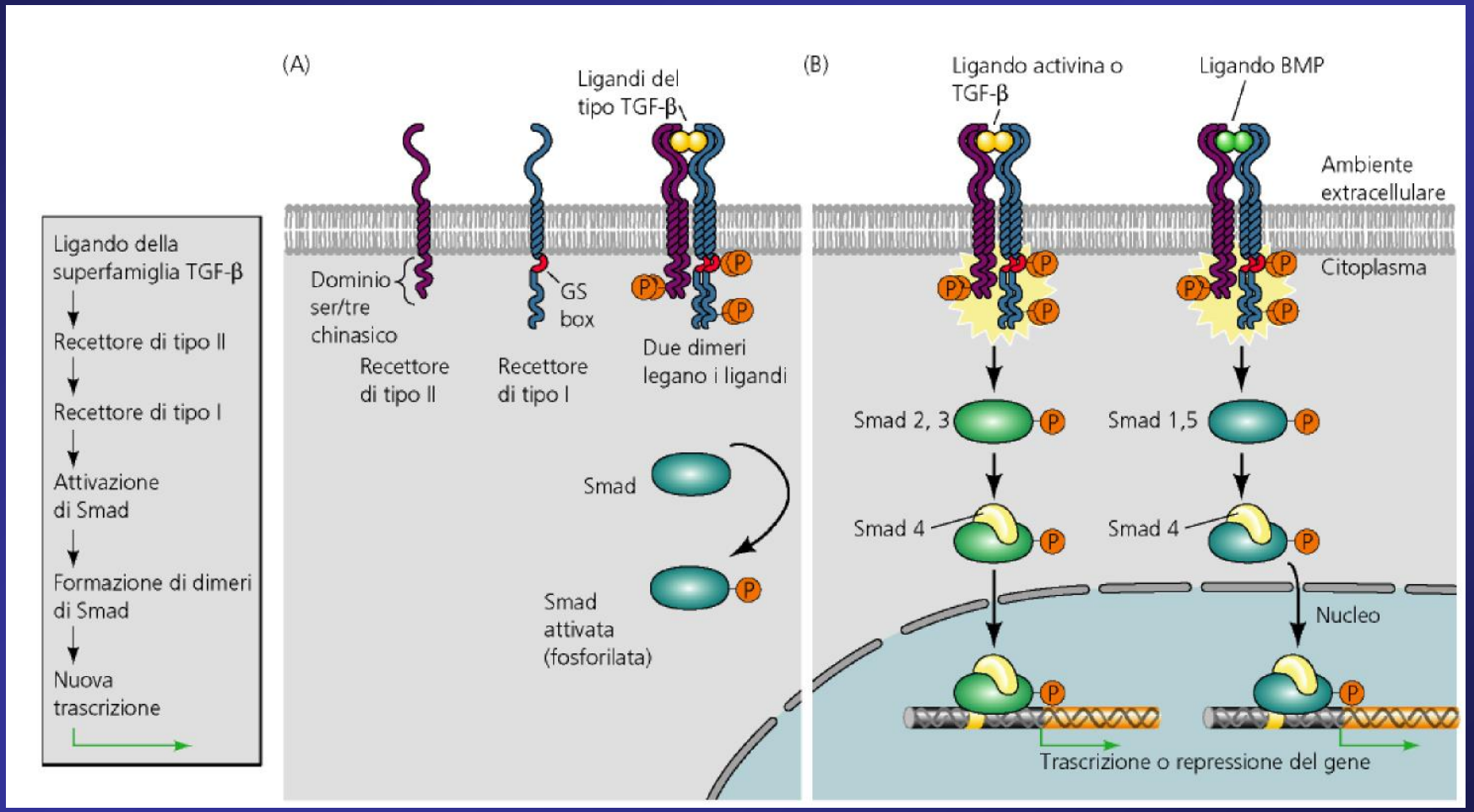
Induce l'espressione del gene Brachury (acceso nel mesoderma)

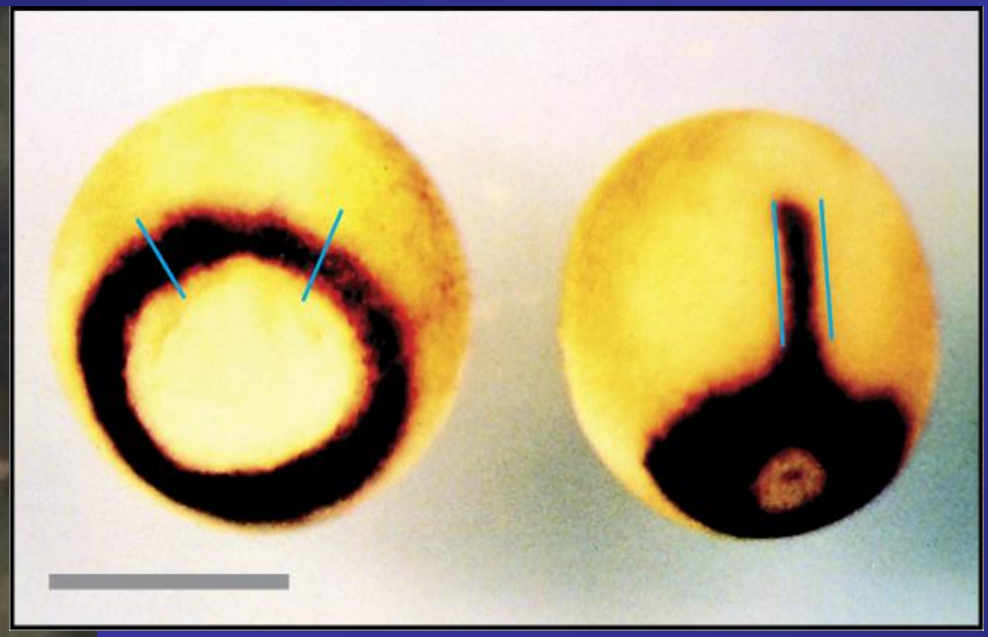
importante per la formazione di mesoderma, ma non determinante per la formazione di mesoderma dorsale

Tgf-B

Proteine Nodal releted (Derriere) : induce il gene xbra

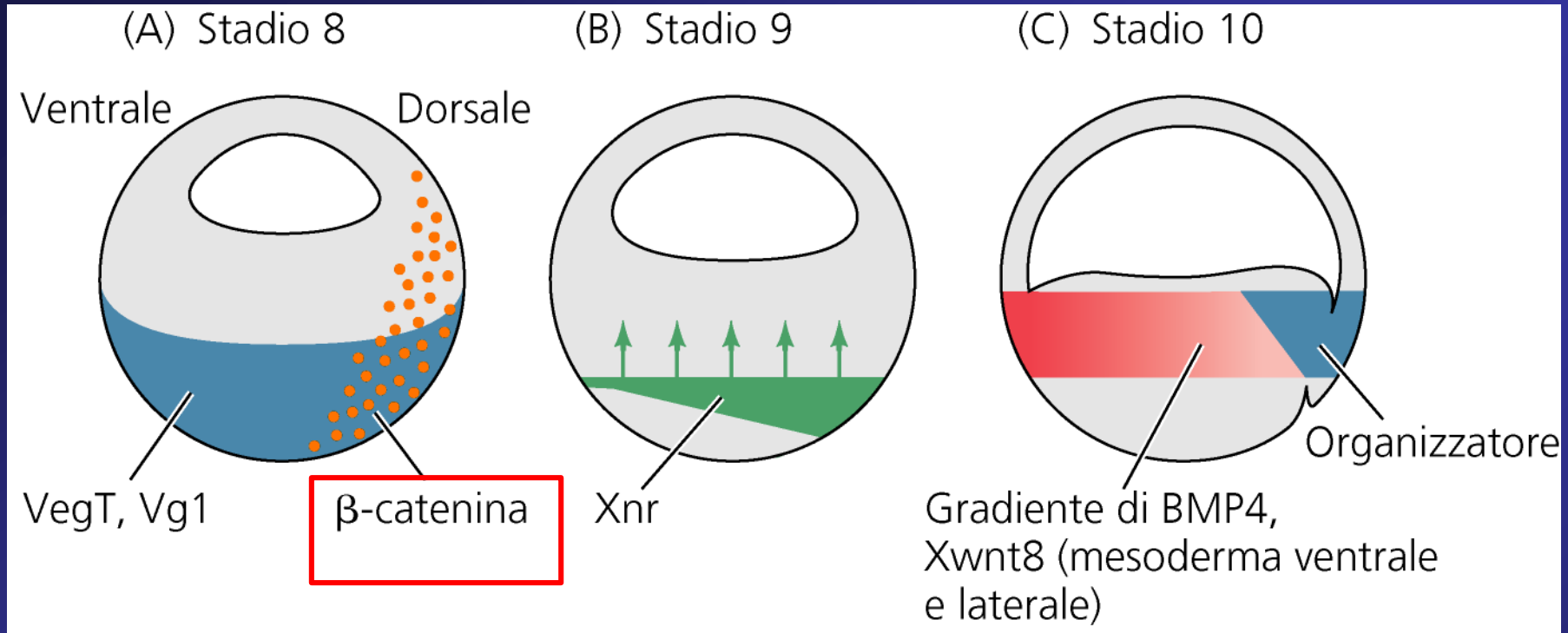
Vg1, Activina e Nodal sono fattori Tgfβ

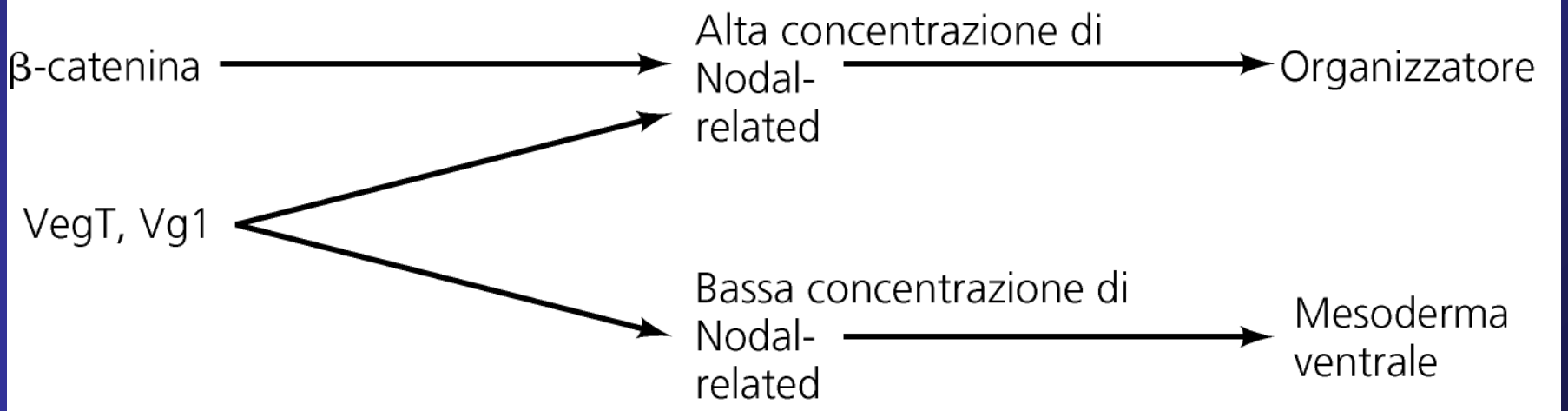


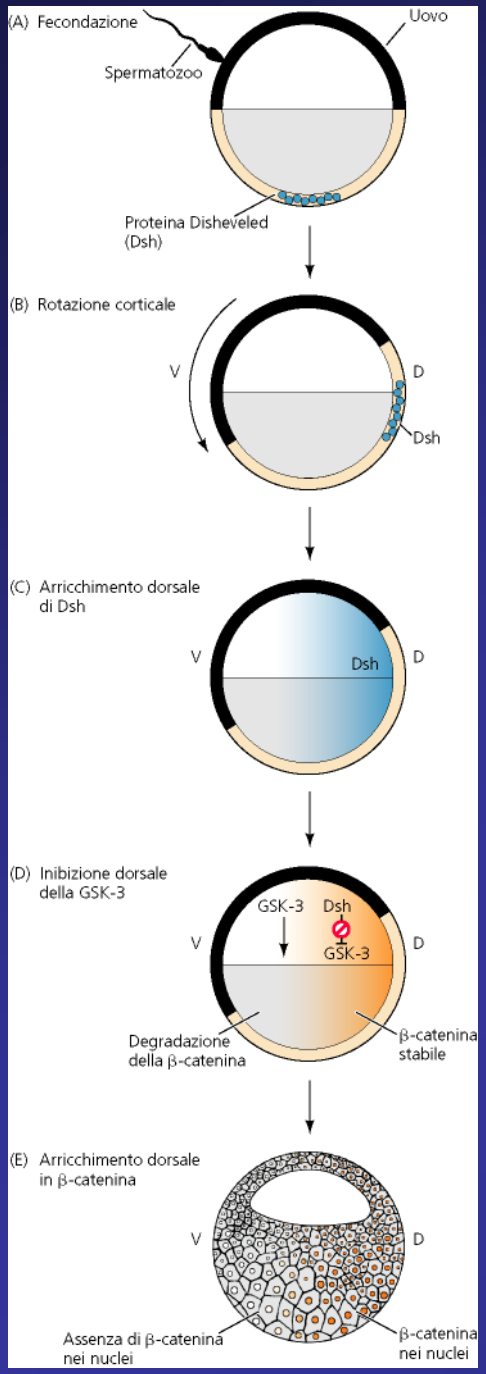


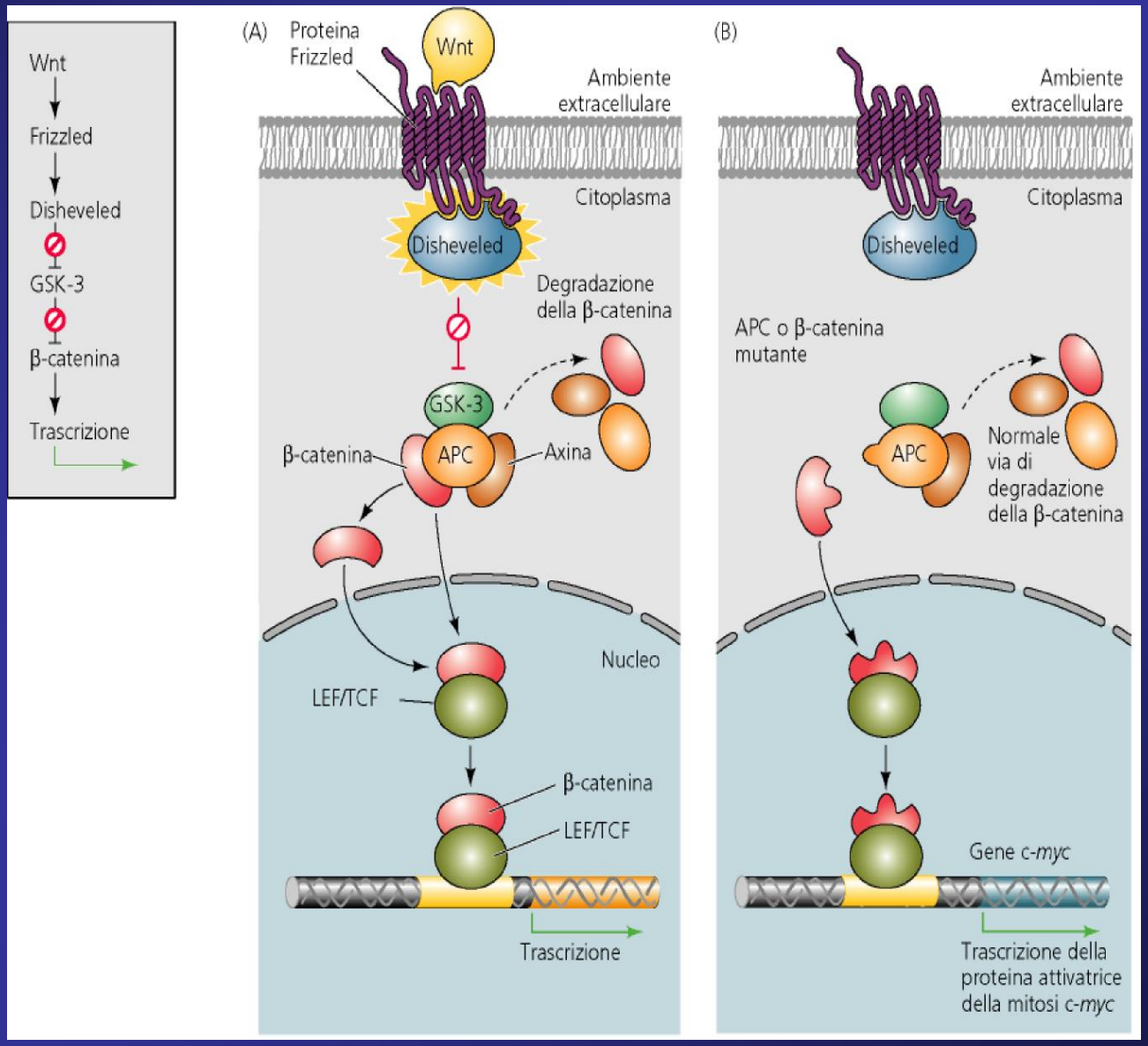
Gene xbra= brachury

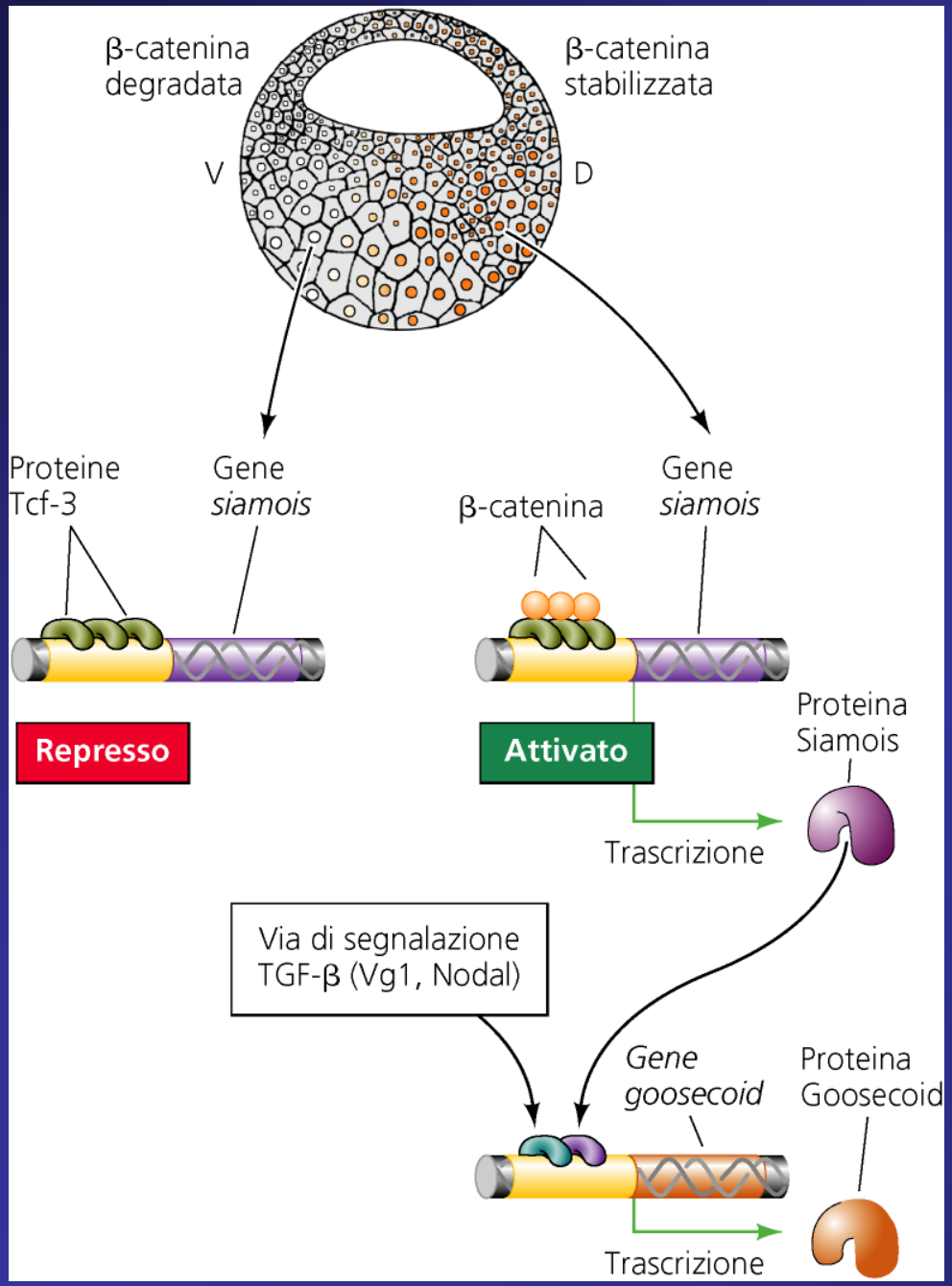
marcatura di tutta l’area mesodermica


(A) Stadio 8
(B) Stadio 9
(C) Stadio 10
Ventrale
Dorsale
VegT, Vg1
β-catenina
Xnr
Gradiente di BMP4, Xwnt8 (mesoderma ventrale e laterale)
Organizzatore


β-catenina
Alta concentrazione di Nodal-related
Organizzatore
VegT, Vg1
Bassa concentrazione di Nodal-related
Mesoderma ventrale

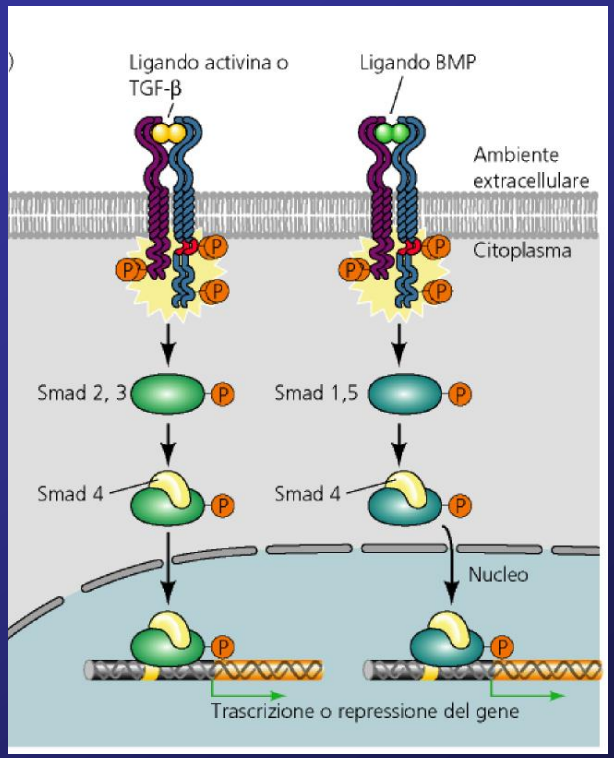

(A) Fecondazione
Uovo
Spermatozoo
Proteina Disheveled (Dsh)
(B) Rotazione corticale
V
D
Dsh
(C) Arricchimento dorsale di Dsh
V
Dsh
D
(D) Inibizione dorsale della GSK-3
GSK-3
Dsh
GSK-3
V
D
Degradazione della β-catenina
β-catenina stabile
(E) Arricchimento dorsale in β-catenina
V
D
Assenza di β-catenina nei nuclei
β-catenina nei nuclei


Wnt
Frizzled
Disheveled
GSK-3
β-catenina
Trascrizione
(A)
Proteina Frizzled
Wnt
Ambiente extracellulare
Citoplasma
Disheveled
Degradazione della β-catenina
GSK-3
APC
β-catenina
Axina
Nucleo
LEF/TCF
β-catenina
LEF/TCF
Trascrizione
(B)
Ambiente extracellulare
Citoplasma
Disheveled
APC o β-catenina mutante
APC
Normale via di degradazione della β-catenina
Gene c-myc
Trascrizione della proteina attivatrice della mitosi c-myc

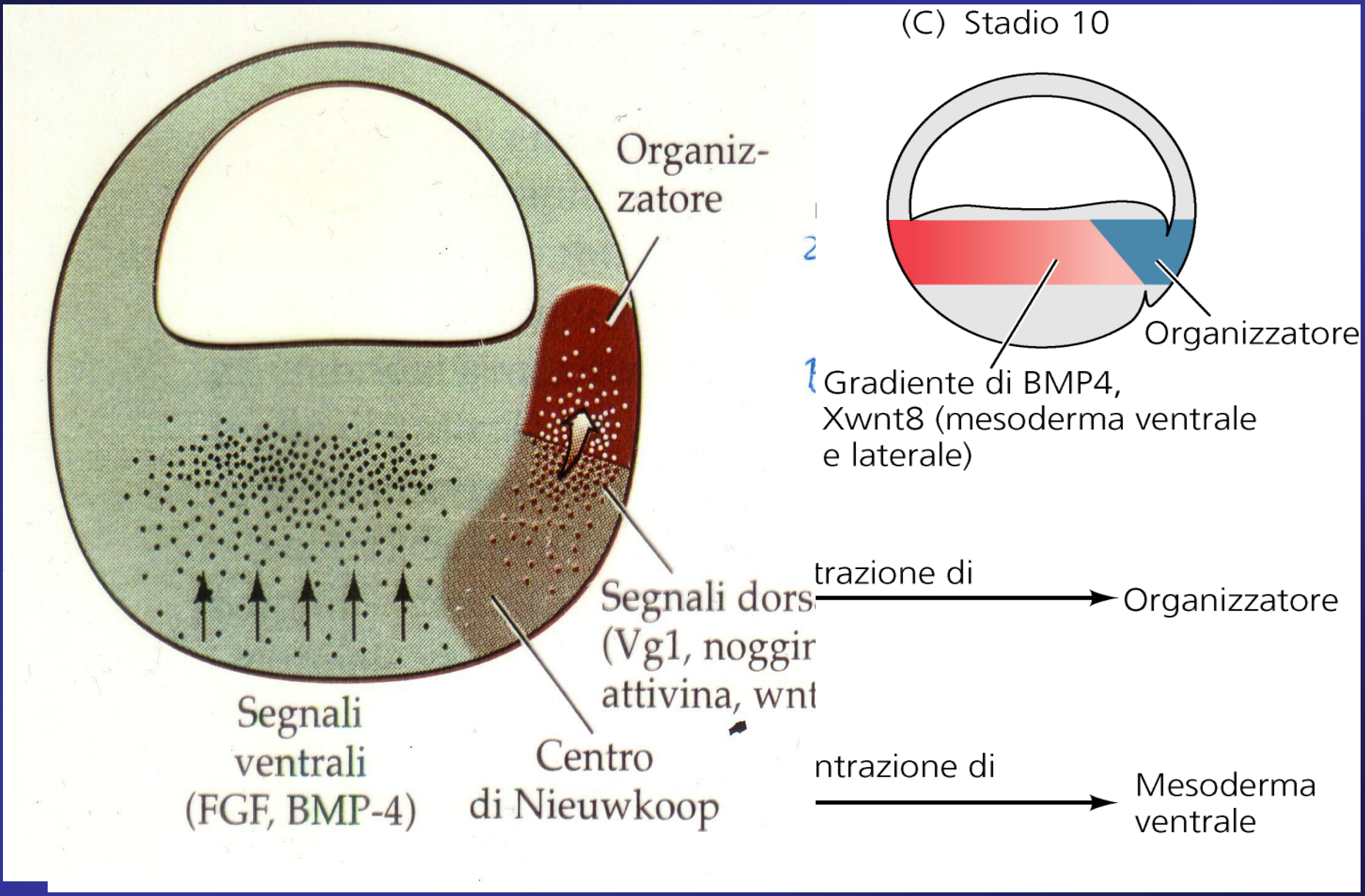


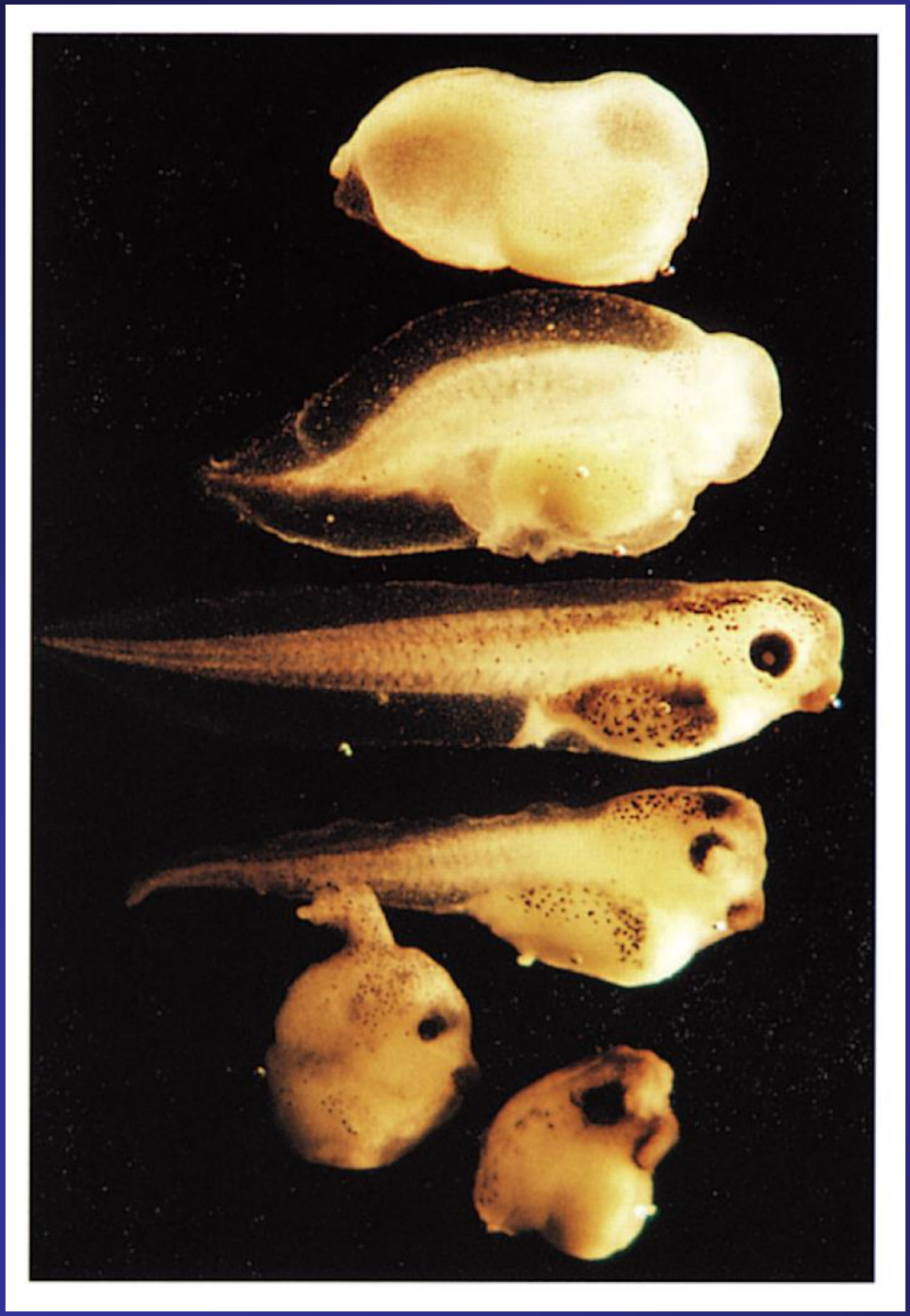
Vg1 e Beta-catenina inducono l'espressione di *goosecoid*, gene omeotico specificamente espresso nel mesoderma dorsale

Goosecoid= gene omeotico specifico della regione di mesoderma dorsale



Organizzatore produce Noggin



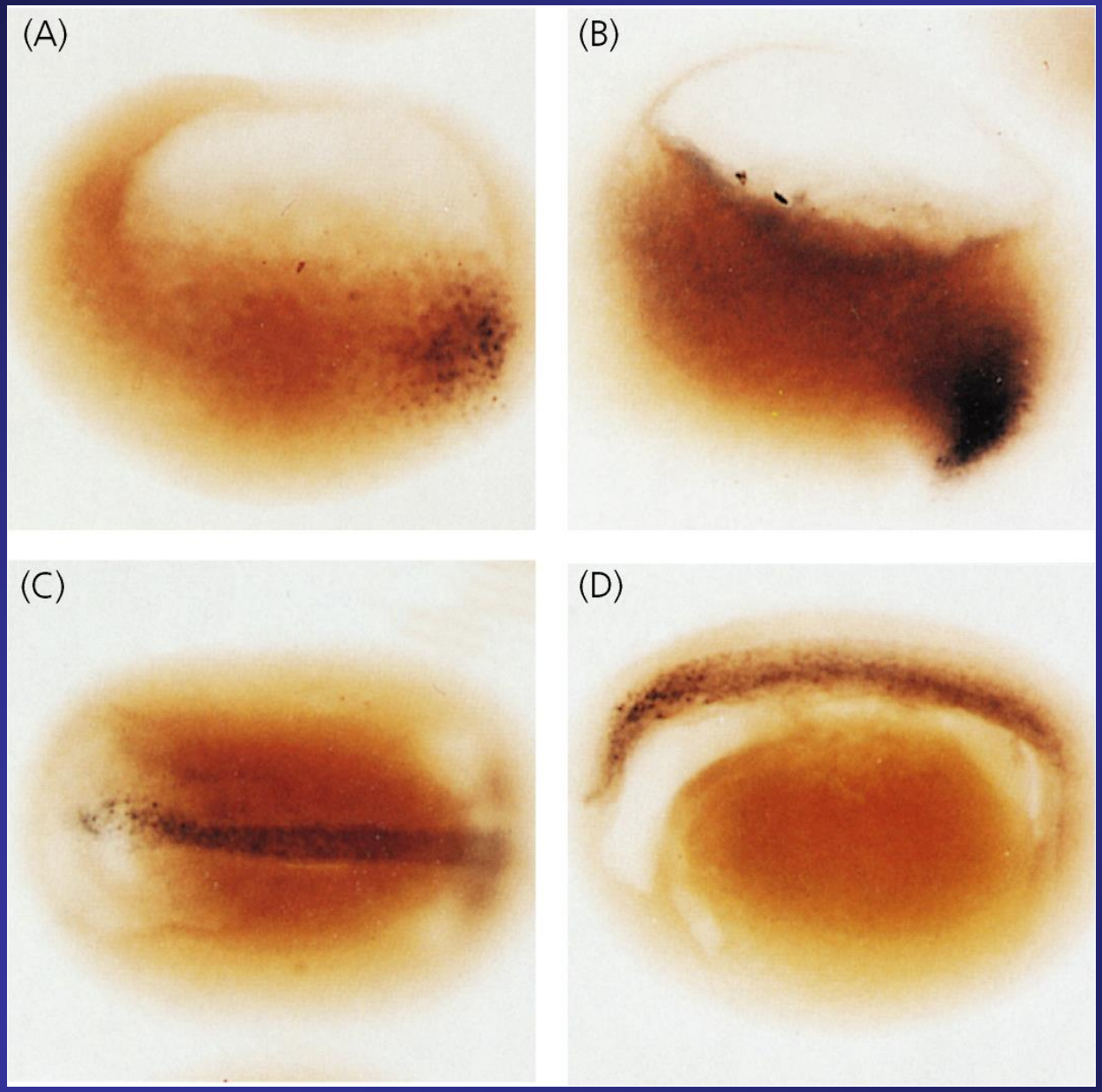


All’aumentare di noggin, si formano strutture dorsali anteriori.

Noggin

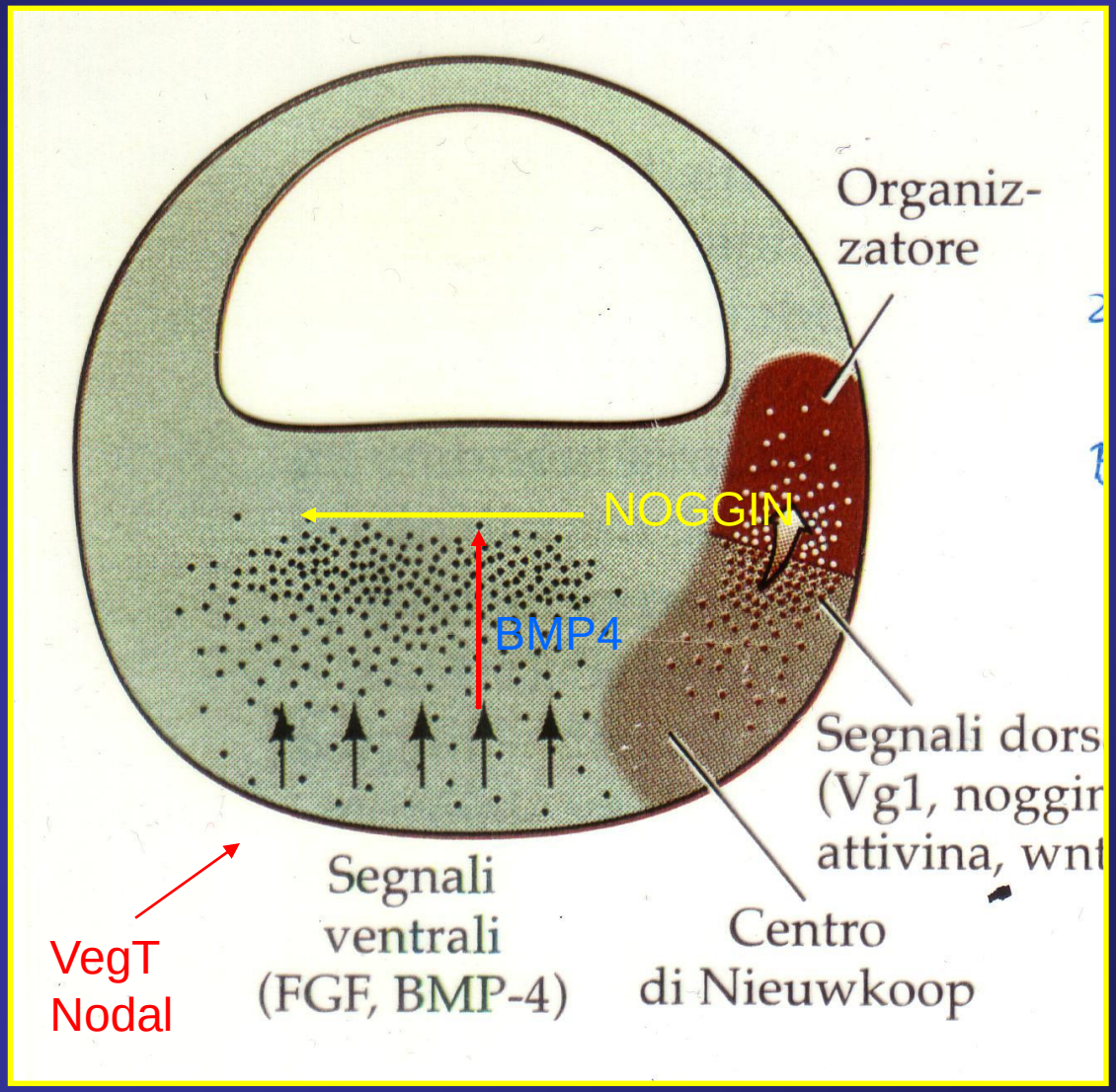
↓

Competitore del fattore BMP4

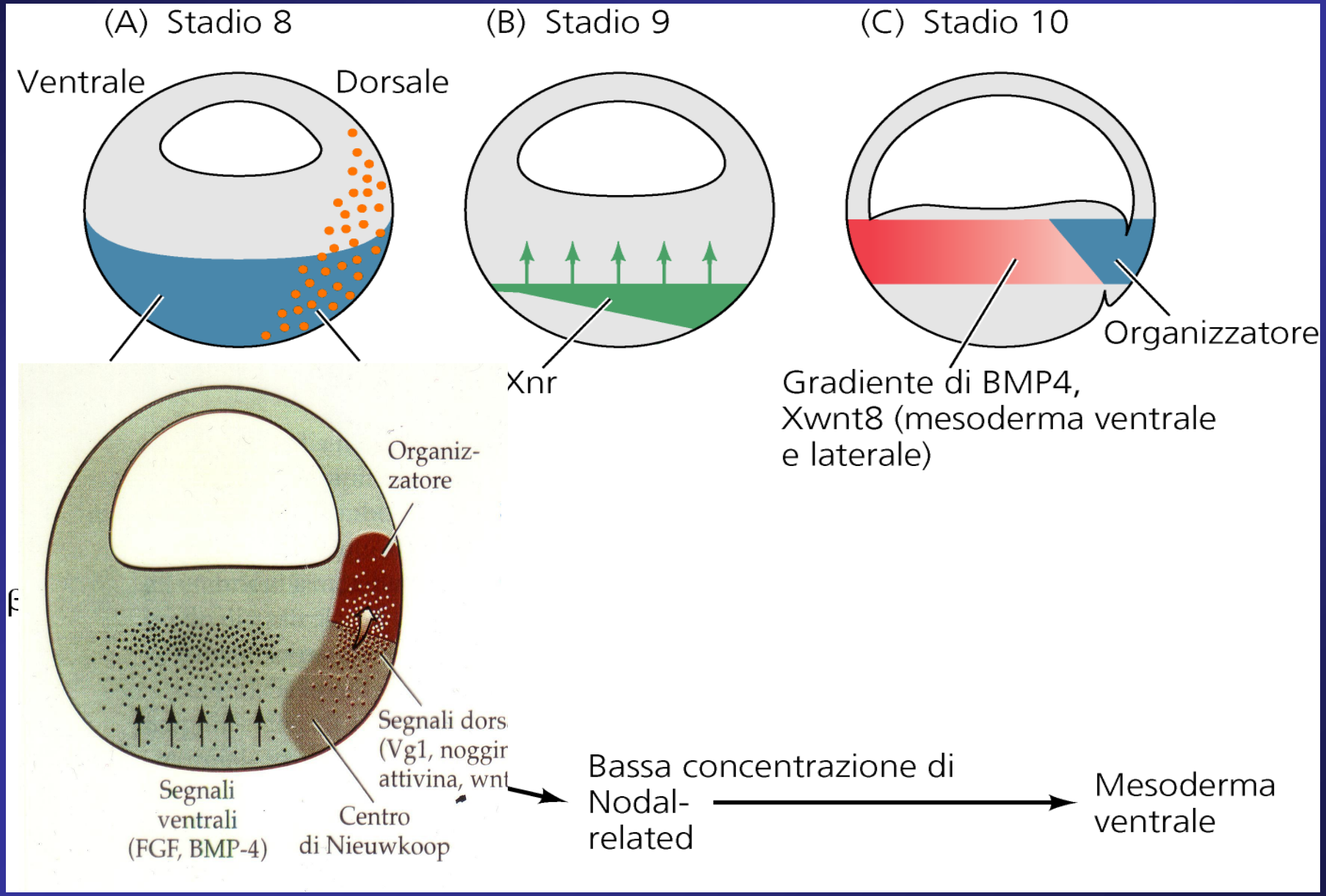


Espressione di Noggin

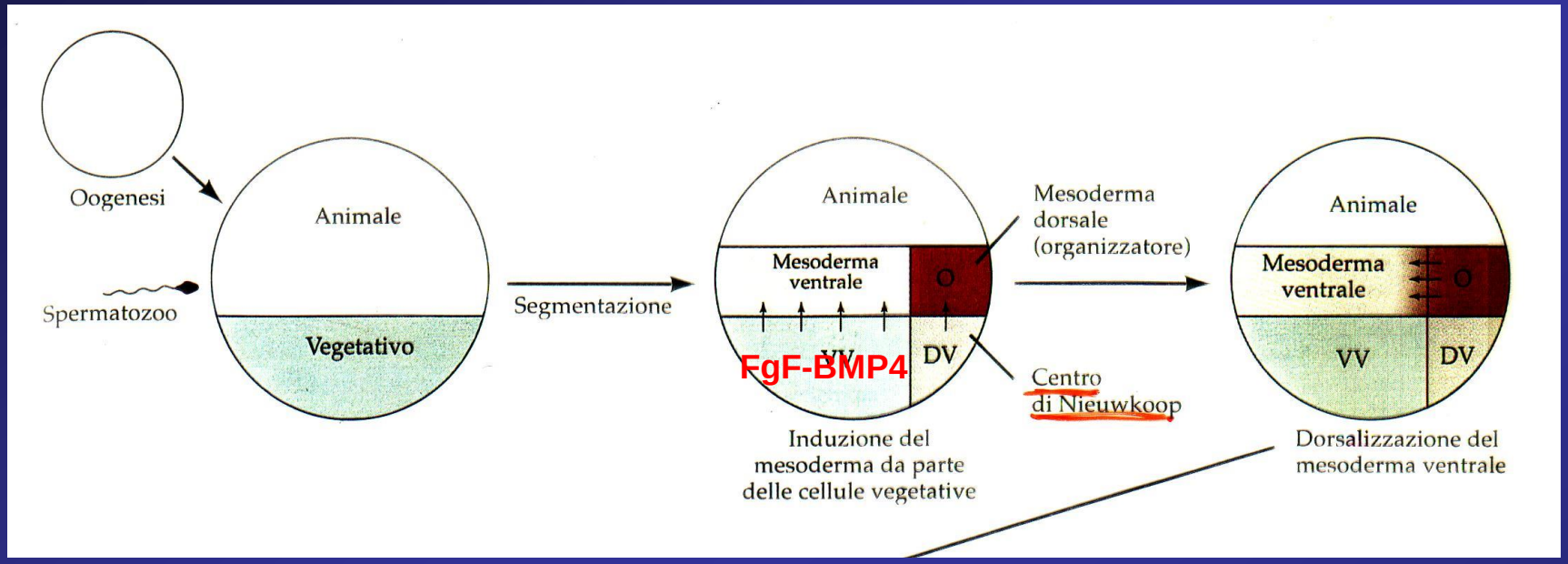
Induzione del Mesoderma Ventrale

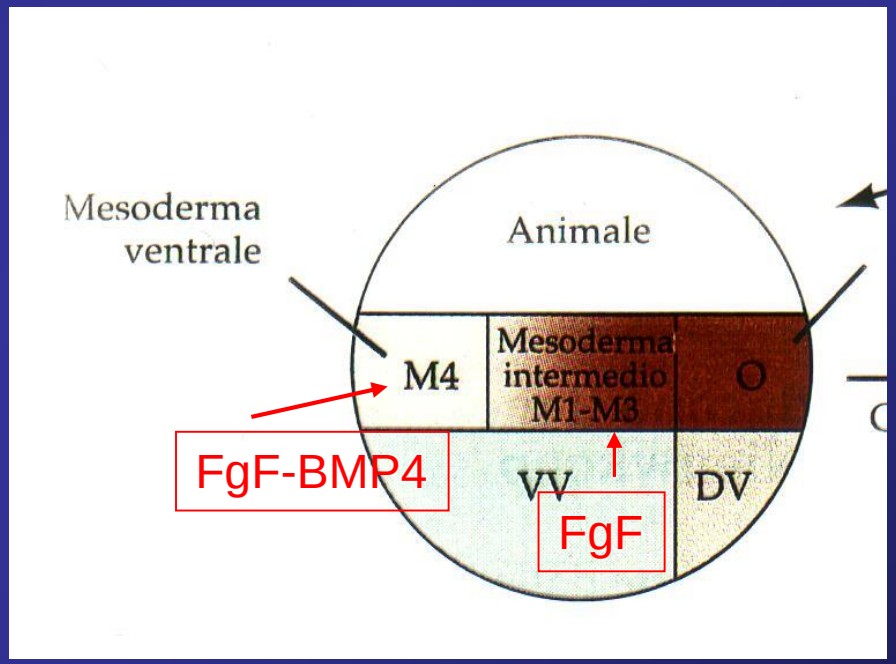


Noggin interferisce con BMP4

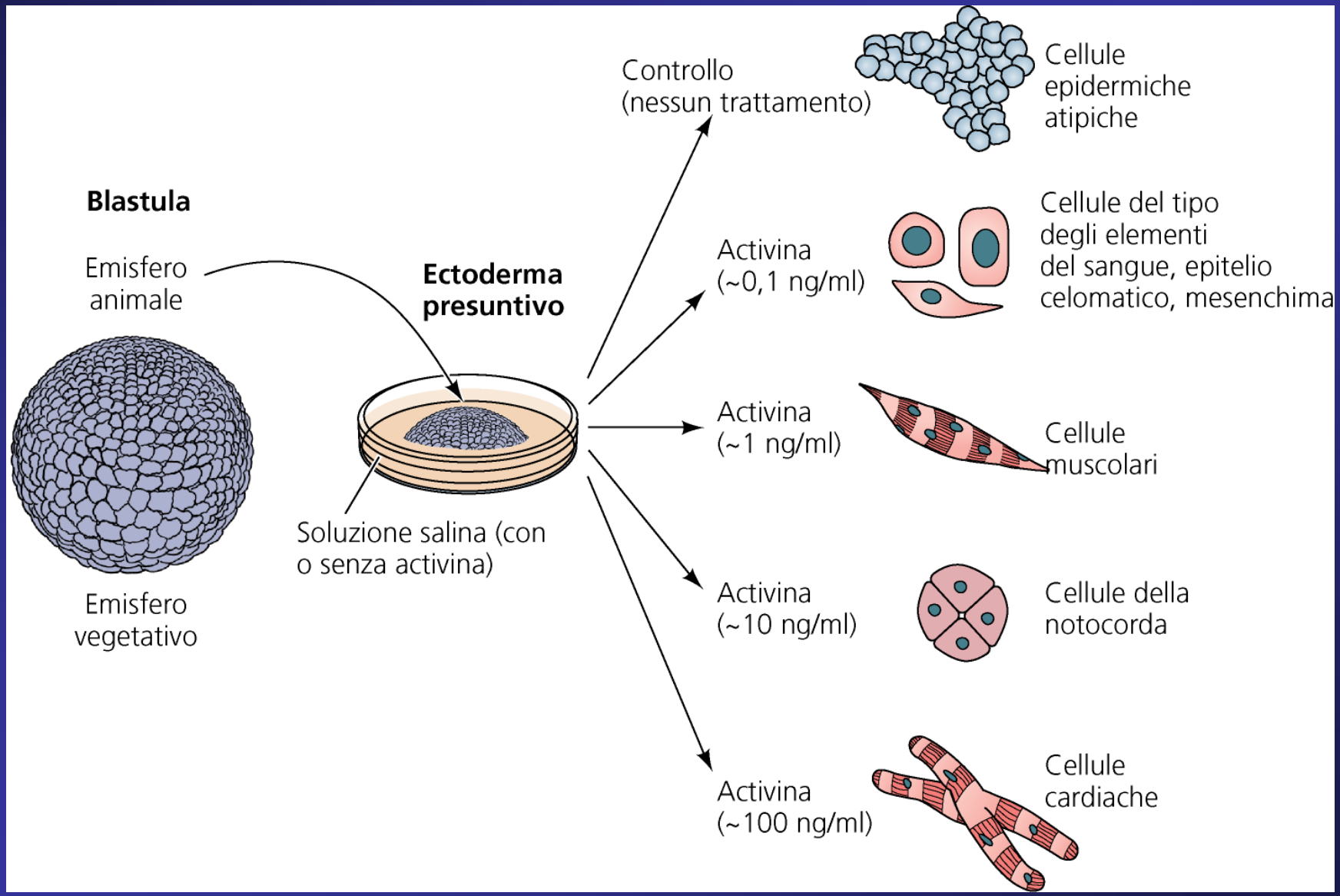


Mesoderma intermedio



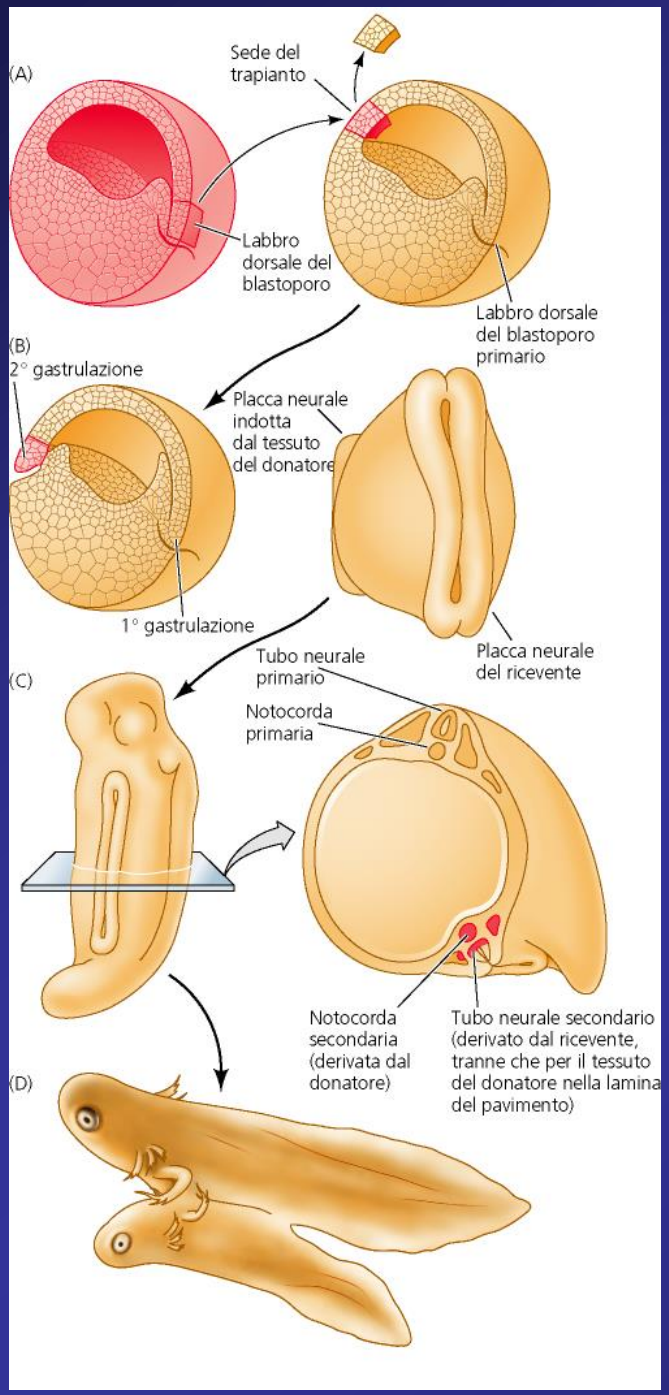


La formazione dell'area mesodermica latero-ventrale è dipendente anche dai gradienti di fattori TGF Beta, tra cui activina e Proteine Nodal



- L’induzione dell’area mesodermica è il primo evento di induzione embrionale fino ad ora identificato in un embrione (stadio di blastula)
- L’endoderma rappresenta il tessuto inducente e tutta la fascia di tessuto subequatoriale è il tessuto competente

L'Organizzatore primario

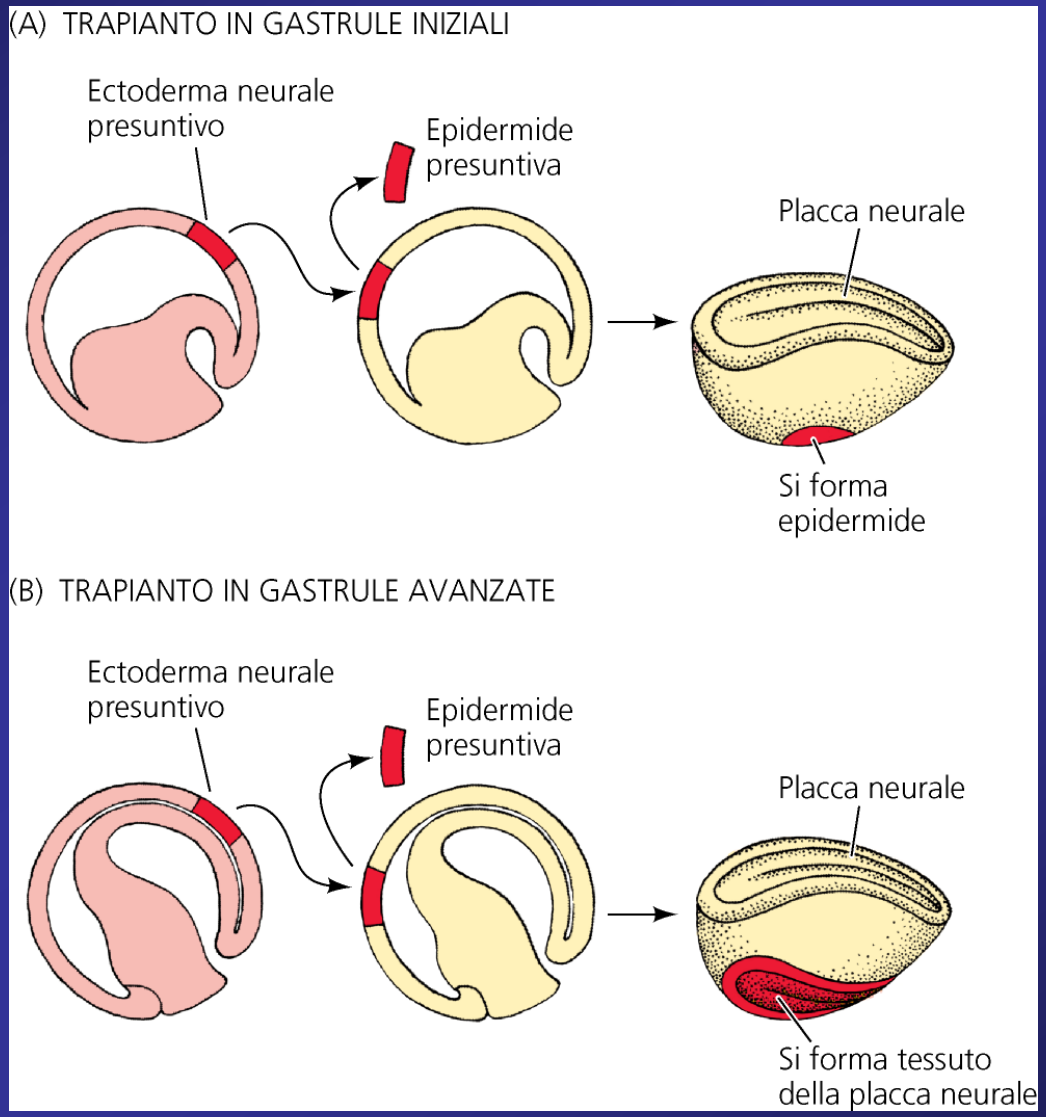


Il labbro dorsale del blastoporo quindi si forma per induzione embrionale non è autospecificato.

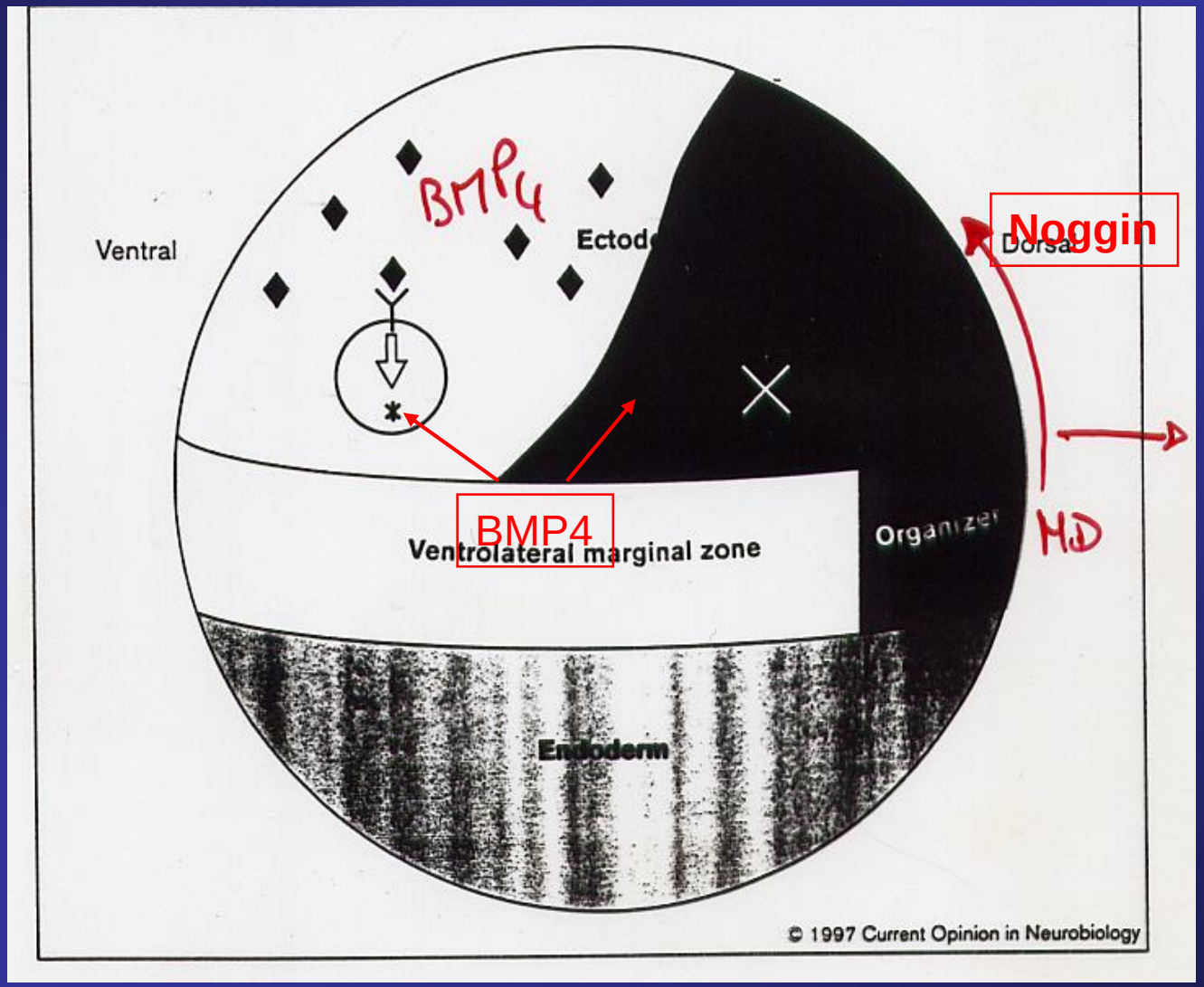
Tuttavia fattori materni localizzati nell'area vegetativa dorsale sono responsabili della sua induzione

Una volta indotta, l'area mesodermica dorsale acquisisce la proprietà di organizzatore esplicando a sua volta azioni inducenti sulle aree adiacenti

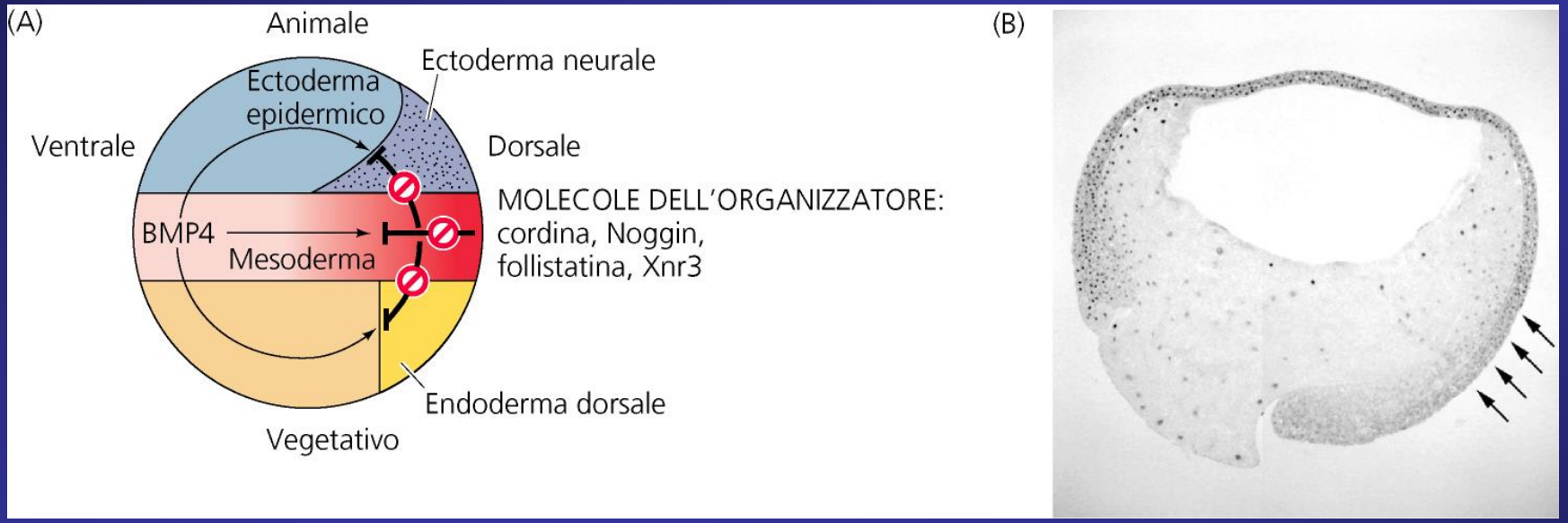
L'induzione Neurale



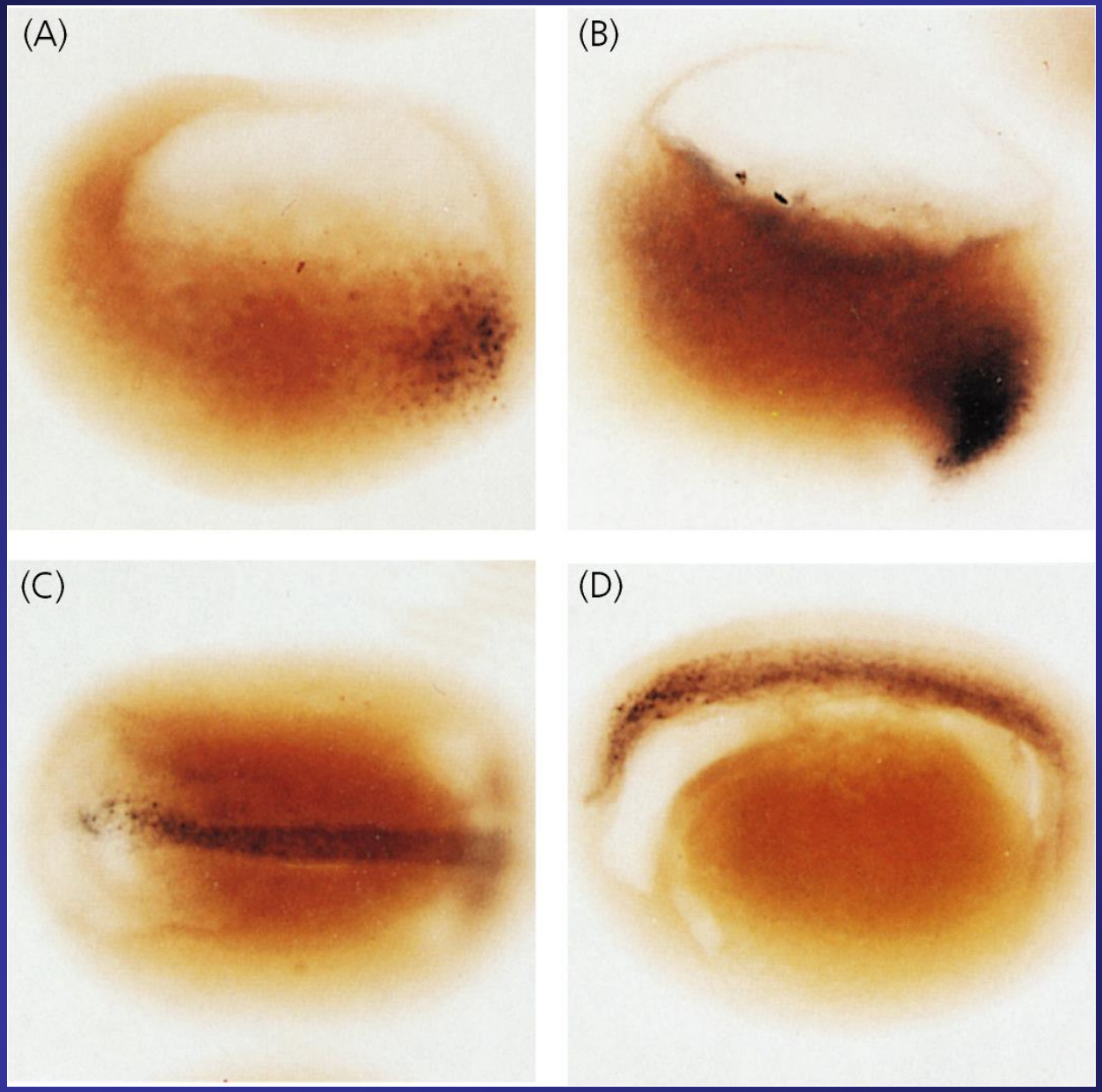
L’area ectodermica produce BMP4 e questo fattore è responsabile della scelta verso epidermide, non verso sistema nervoso



Noggin diffonde tangenzialmente oltre che dorso-ventralmente, interferendo con BMP4 sia a livello dell'ectoderma che dell'endoderma dorsale e del mesoderma latero-ventrale

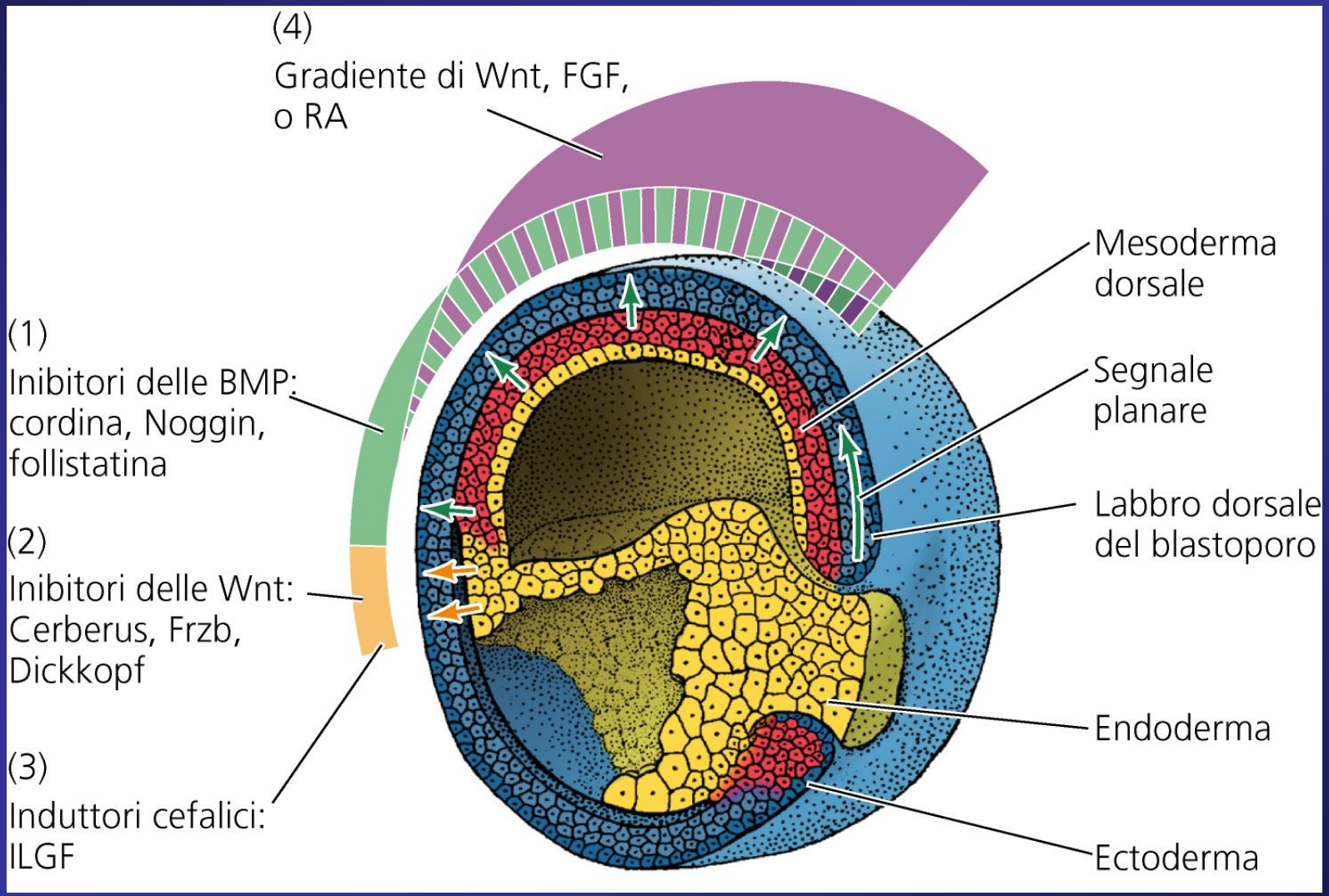


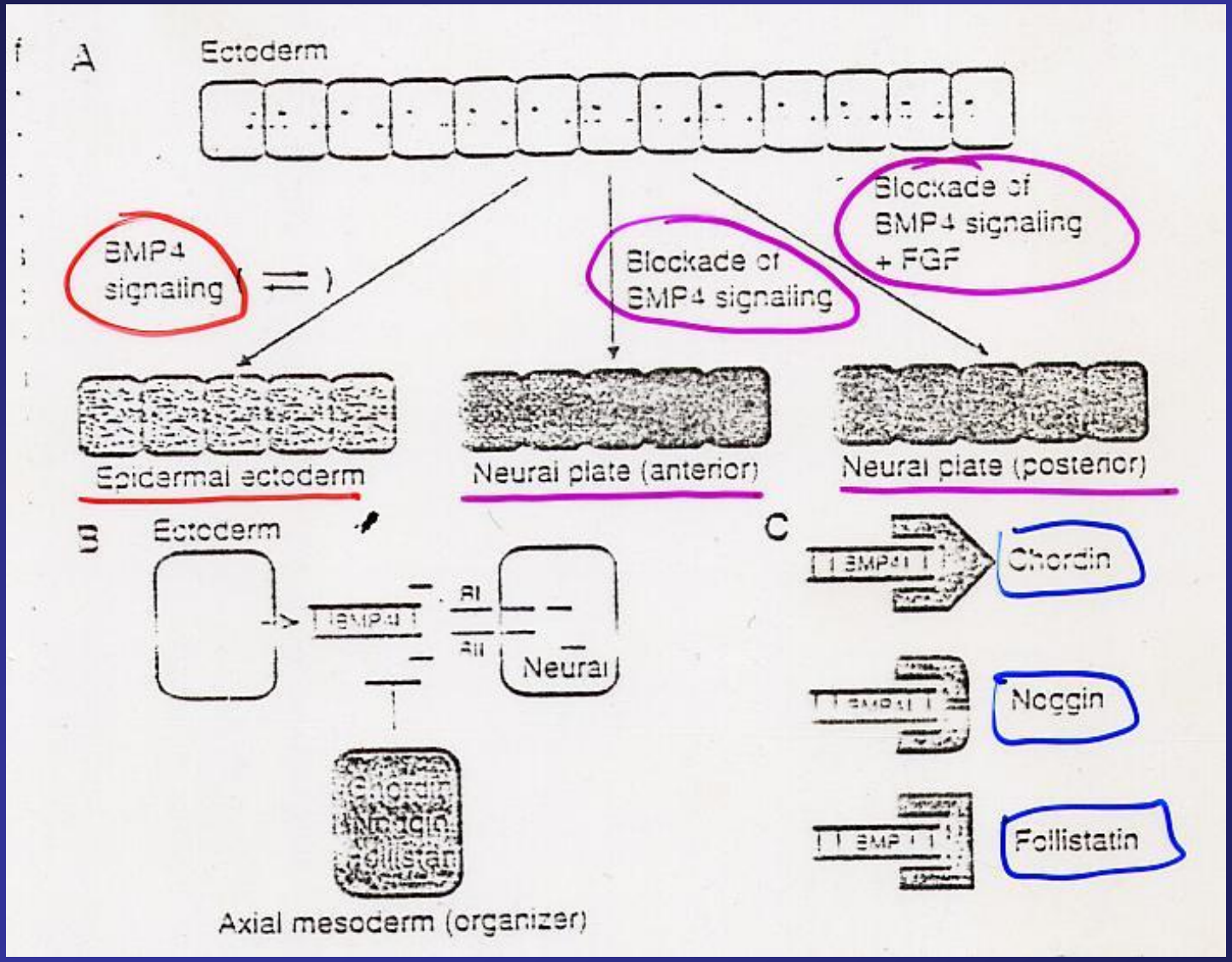
La funzione di organizzatore da parte del labbro dorsale del blastoporo è Noggin dipendente

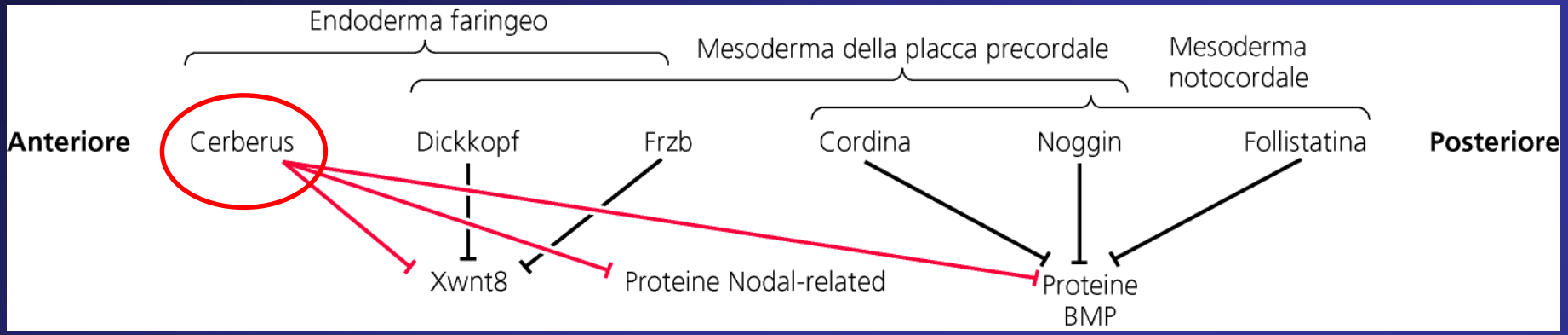


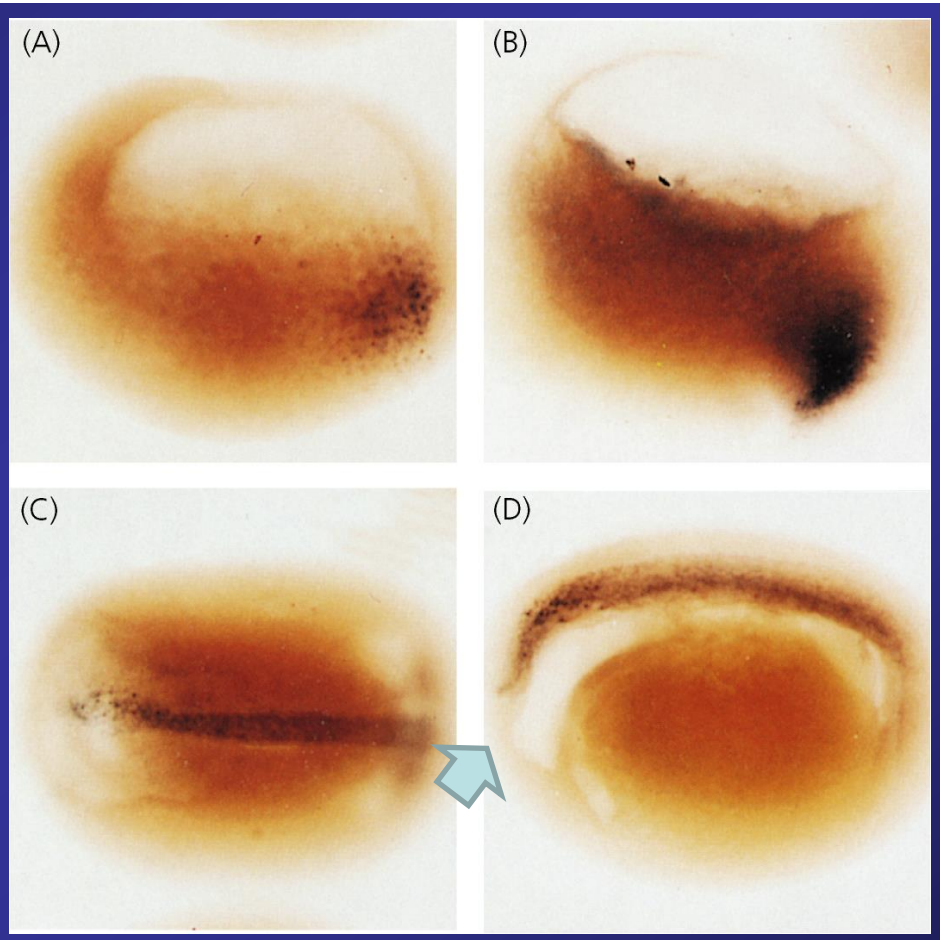
Espressione di Noggin

Segnali tangenziali e verticali vengono trasmessi all'ectoderma in modo da preservare il destino verso sistema nervoso

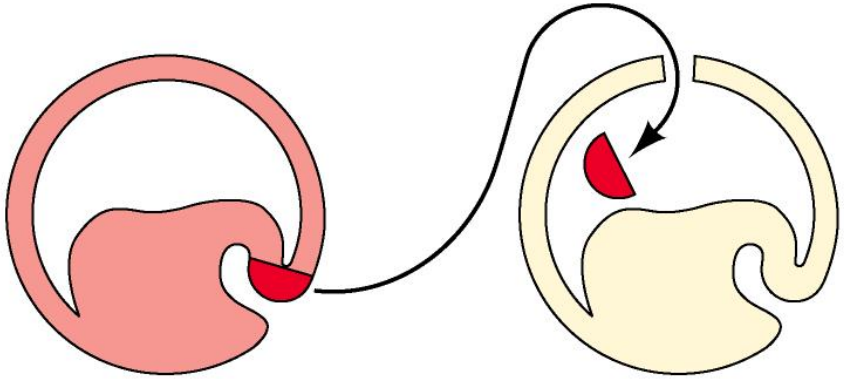


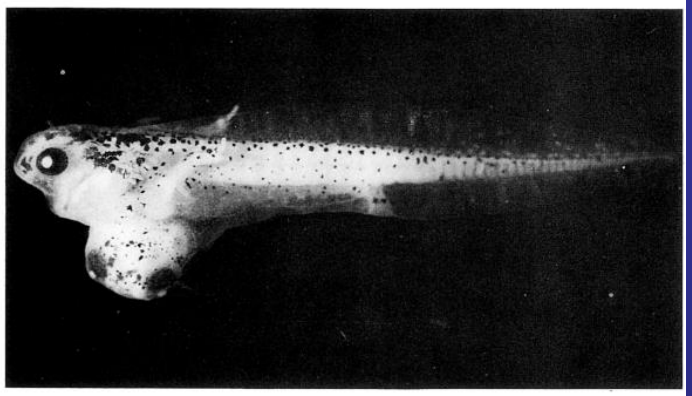

A
Ectoderm
BMP4 signaling
Blockade of BMP4 signaling
Blockade of BMP4 signaling + FGF
Epidermal ectoderm
Neural plate (anterior)
Neural plate (posterior)
B
Ectoderm
BMP4
BI
BII
Neural
Chordin
Noggin
Follistatin
Axial mesoderm (organizer)
C
BMP4
Chordin
BMP4
Noggin
BMP4
Follistatin


Endoderma faringeo
Mesoderma della placca precordale
Mesoderma notocordale
Anteriore
Cerberus
Dickkopf
Frzb
Cordina
Noggin
Follistatina
Posteriore
Xwnt8
Proteine Nodal-related
Proteine BMP

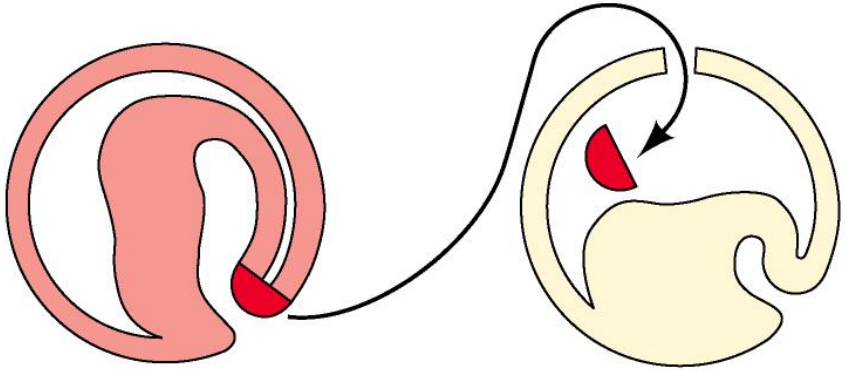

(A)
(B)
(C)
(D)

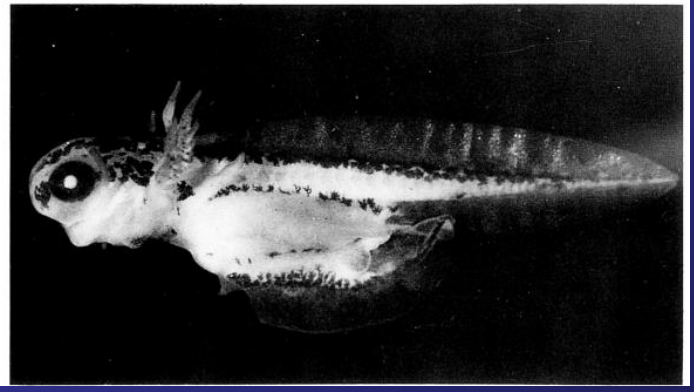
(A) Trapianto del labbro dorsale di gastrula in stadio iniziale

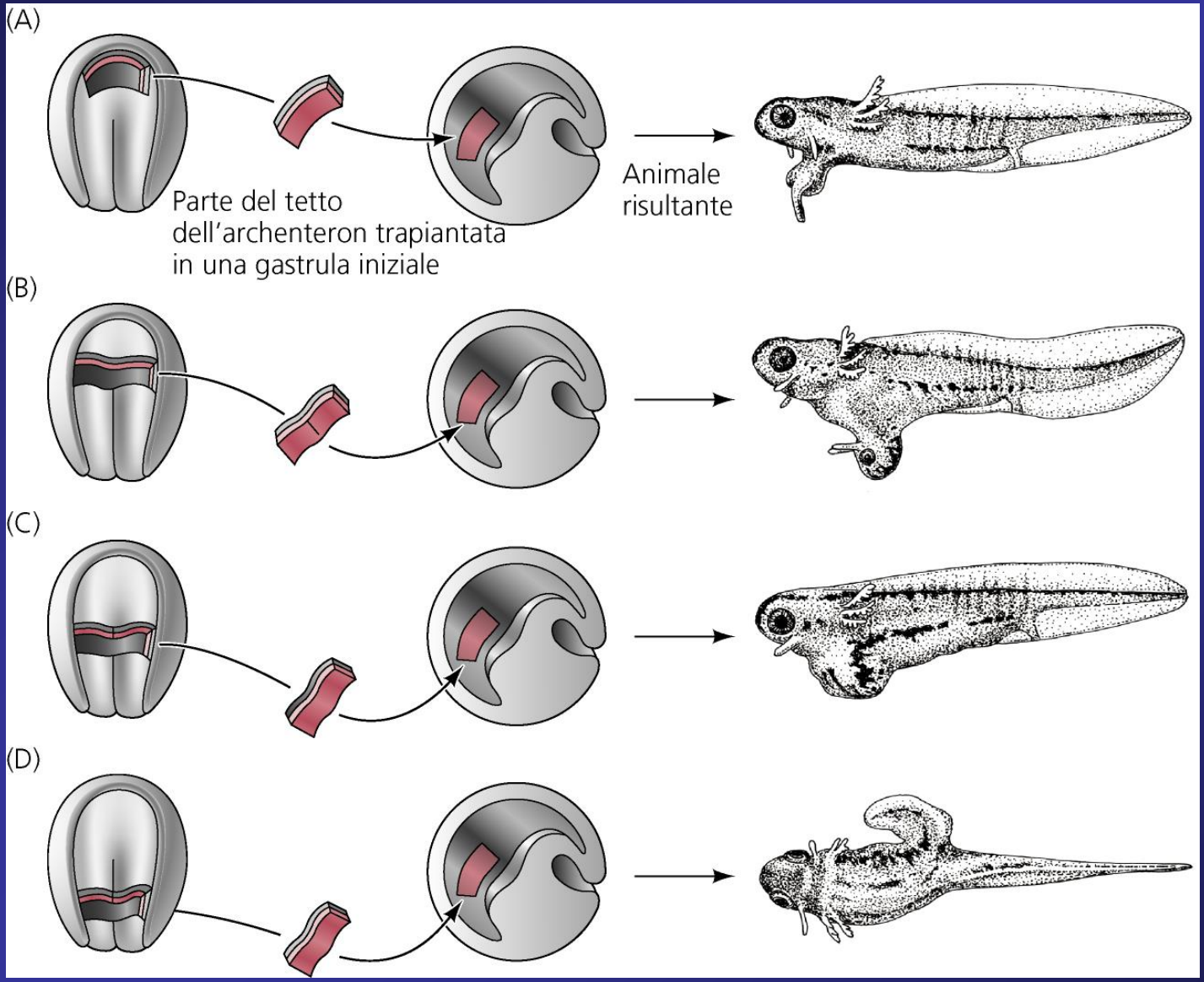


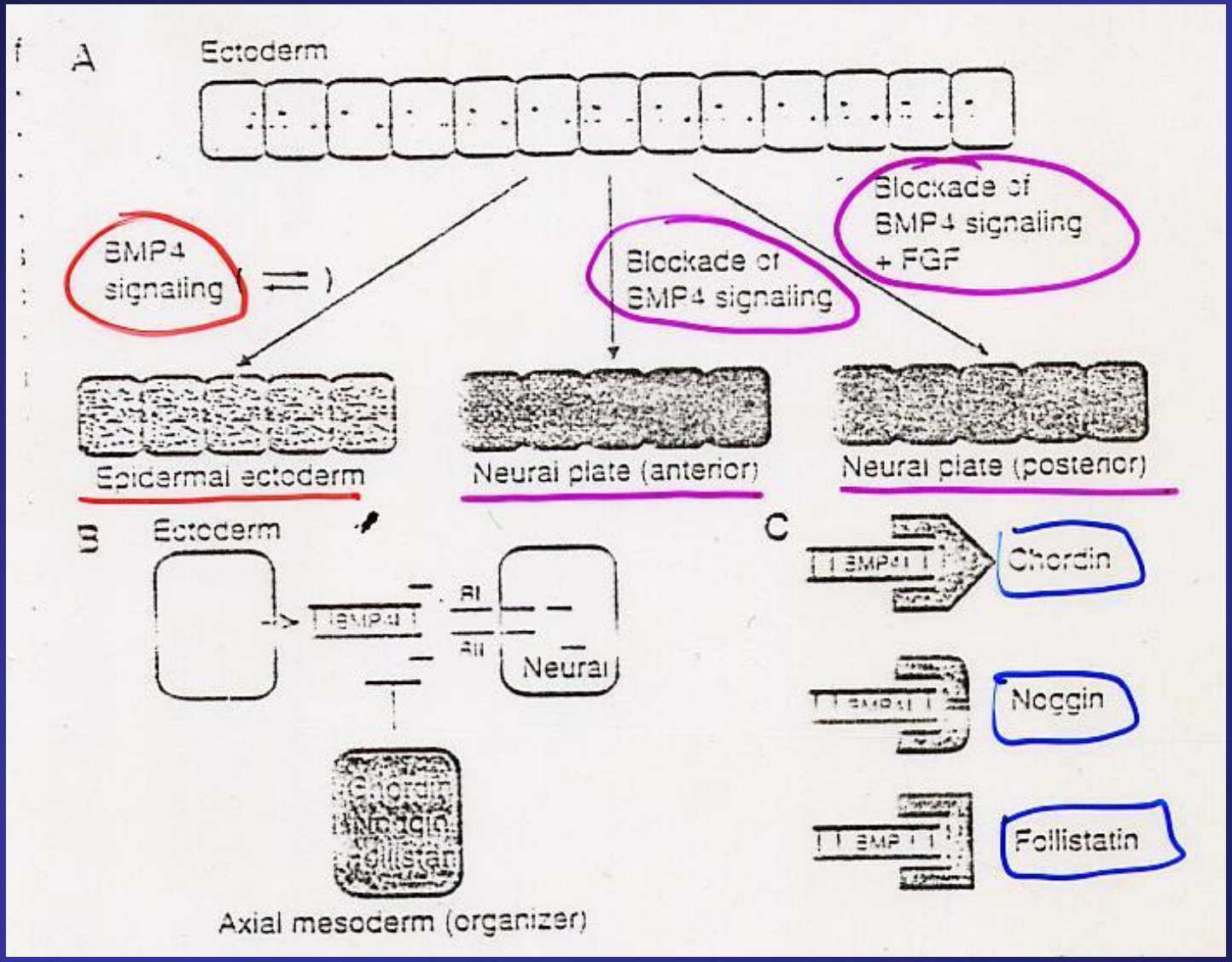


(B) Trapianto del labbro dorsale di gastrula in stadio avanzato






(A)
Parte del tetto
dell'archenteron trapiantata
in una gastrula iniziale
Animale
risultante
(B)
(C)
(D)


A
Ectoderm
BMP4 signaling
Blockade of BMP4 signaling
Blockade of BMP4 signaling + FGF
Epidermal ectoderm
Neural plate (anterior)
Neural plate (posterior)
B
Ectoderm
BMP4
BI
BII
Neural
Chordin
Noggin
Follistatin
Axial mesoderm (organizer)
C
BMP4
Chordin
BMP4
Noggin
BMP4
Follistatin