

**IL MOSCERINO DELLA FRUTTA *Drosophila melanogaster*
E' UN MODELLO SPERIMENTALE MOLTO UTILIZZATO PER
STUDIARE IL CONTROLLO GENETICO DELLO SVILUPPO**



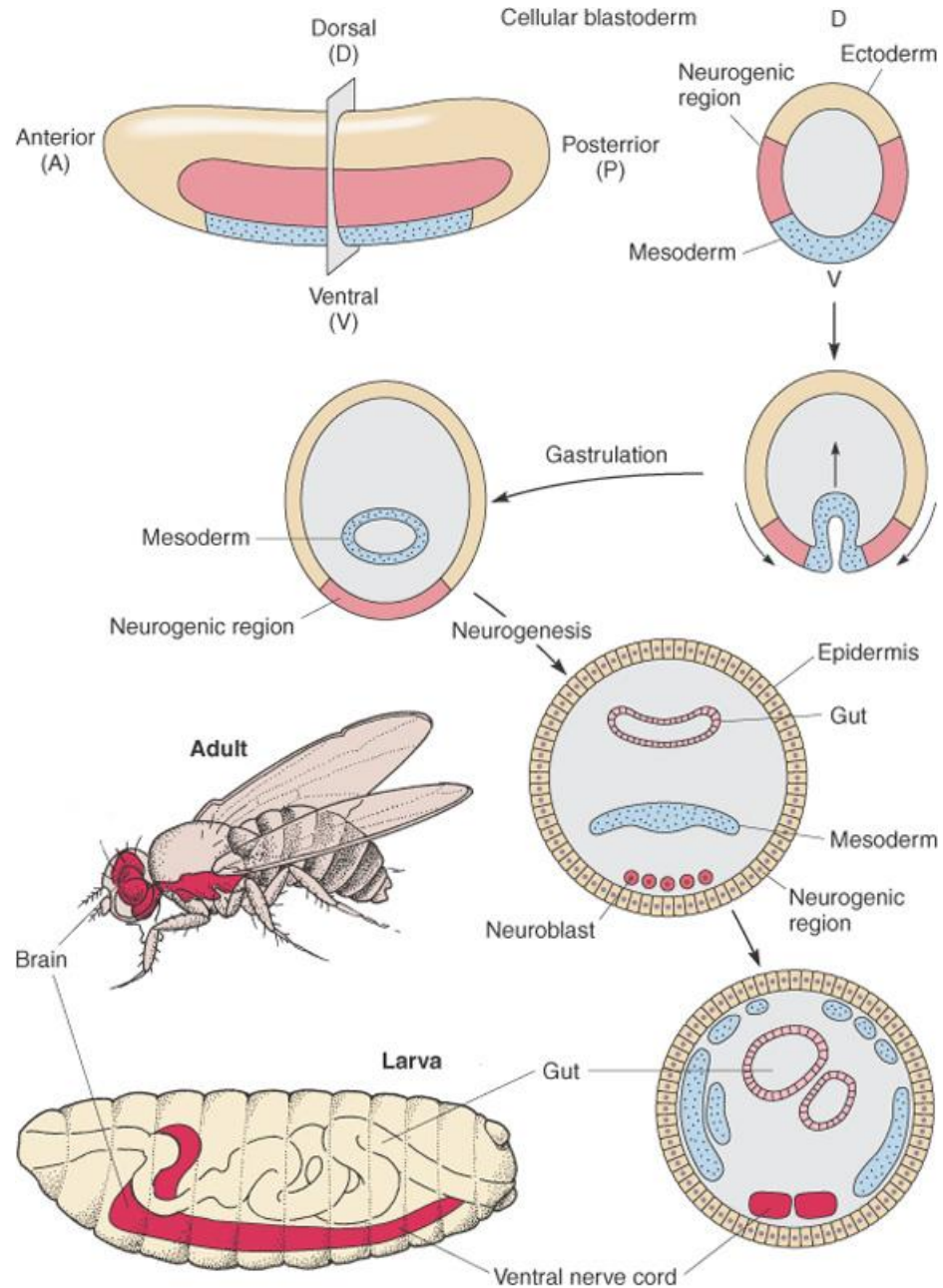
Facile da mantenere in laboratorio, resistente, prolifica.

Tempo di generazione breve: 2 settimane.

Corredo cromosomico costituito da 4 paia di cromosomi (3 autosomi ed 1 sessuale).

ISOLAMENTO DI MUTANTI E DEI GENI RESPONSABILI DEL FENOTIPO MUTANTE

LA *Drosophila* PRESENTA UNO SVILUPPO DI TIPO INDIRETTO



METAMORFOSI



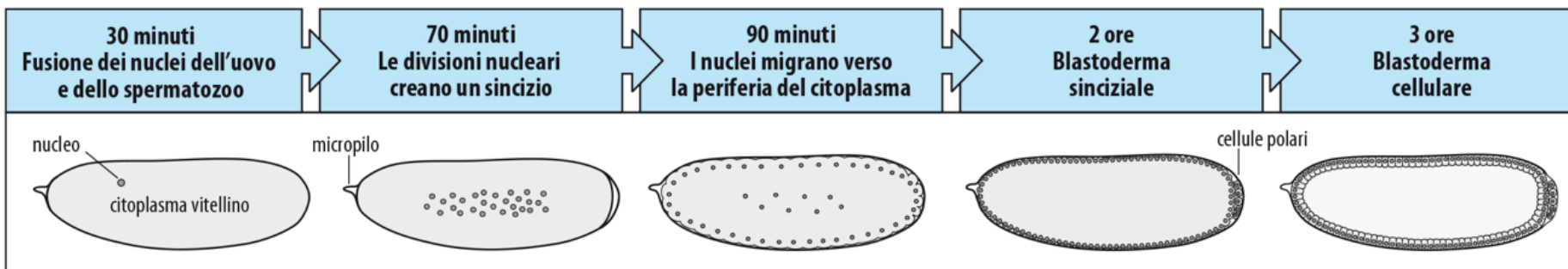
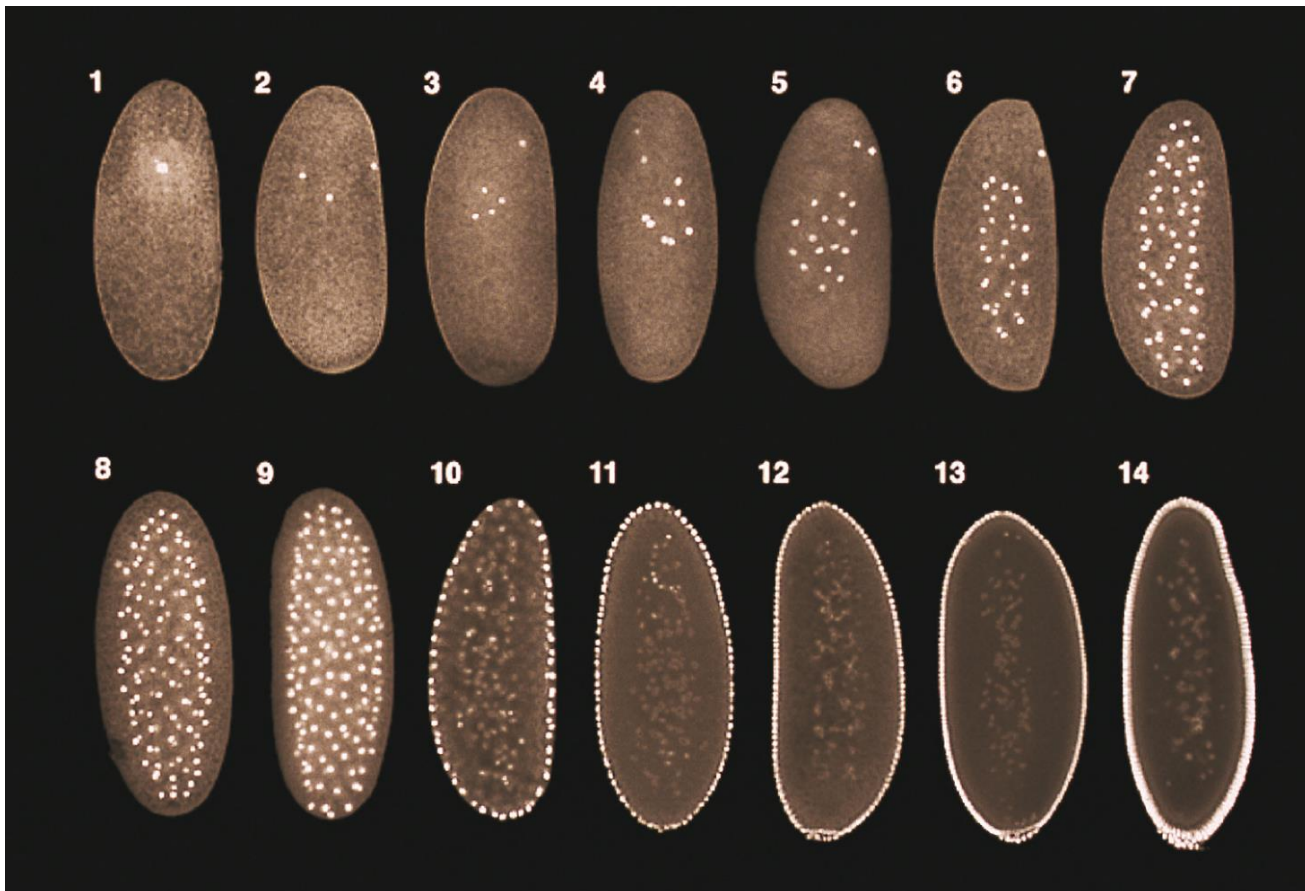
FASI DI SEGMENTAZIONE IN *Drosophila*

Uova centrolecittiche: il tuorlo occupa quasi tutto il volume dell'uovo tranne una regione superficiale al di sotto della membrana cellulare.

Segmentazione meroblastica superficiale.

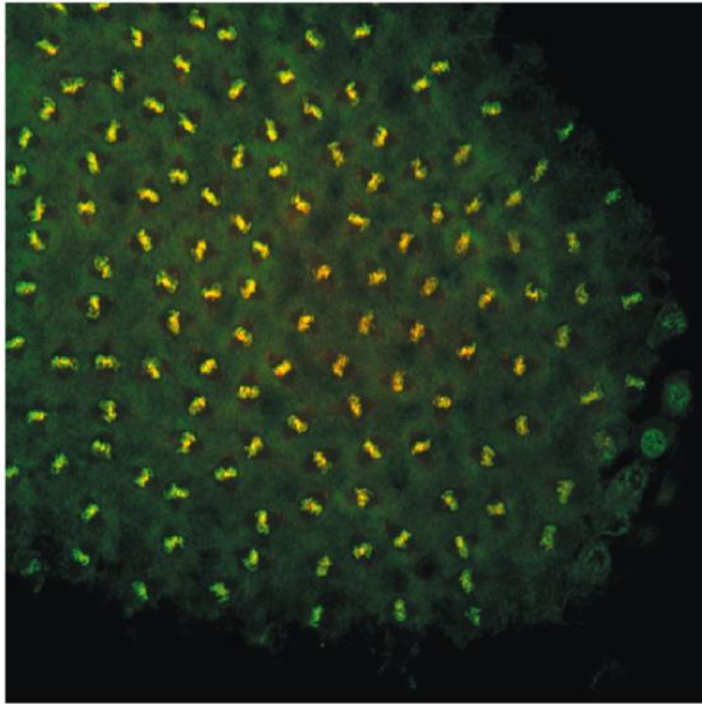
Nei primi 13 cicli, la cariocinesi non è accompagnata dalla citocinesi: si forma un blastoderma sinciziale.

Le prime 8 divisioni nucleari avvengono nella regione centrale dell'uovo. Fra il nono ed il decimo ciclo i nuclei migrano in superficie. Dopo il tredicesimo ciclo i nuclei vengono separati dalla membrana cellulare ed iniziano le divisioni cellulari (blastoderma cellulare).

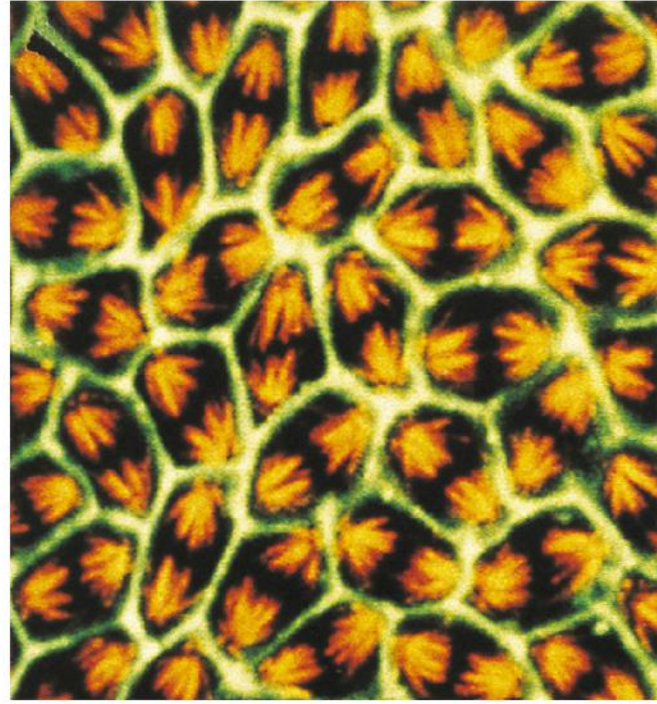


DIVISIONI NUCLEARI NELLA FASE DI BLASTODERMA SINCIZIALE

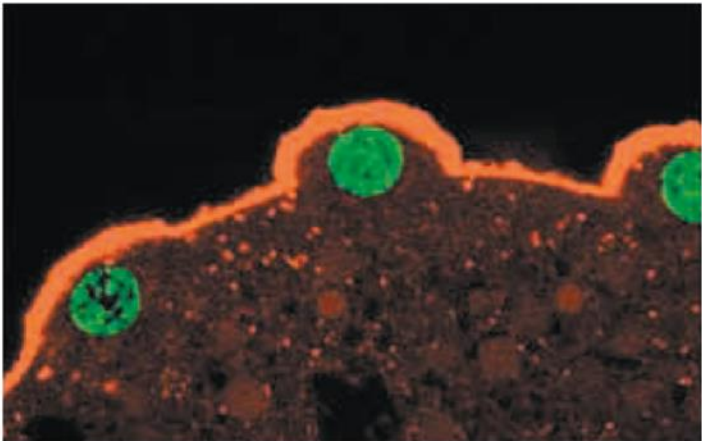
(A)



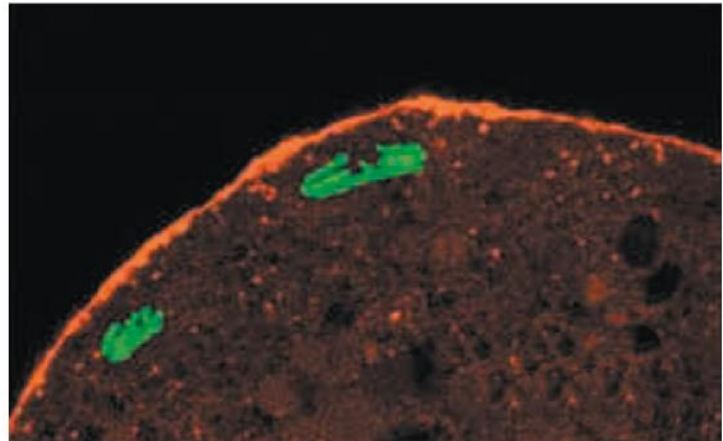
(B)



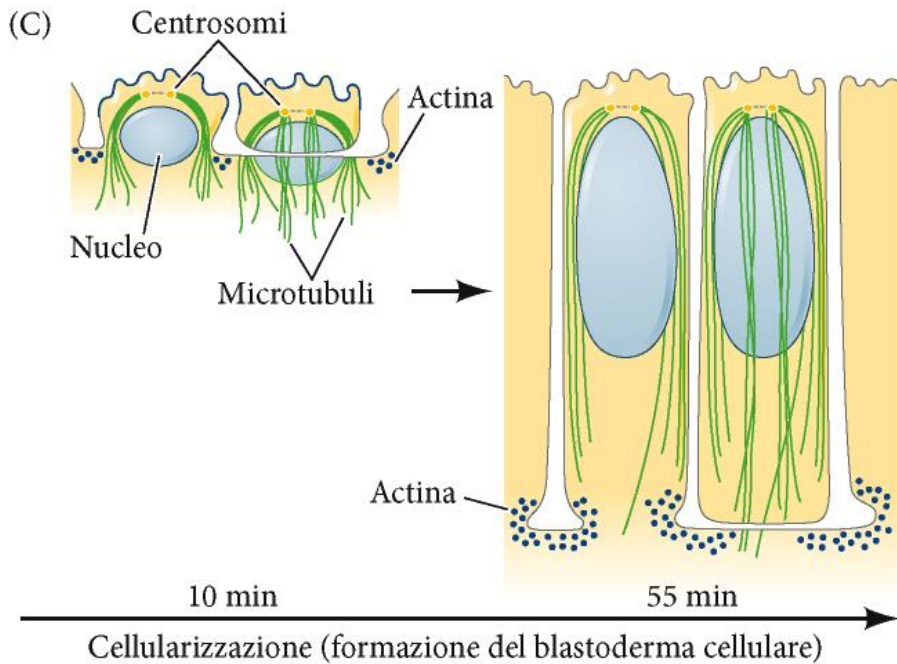
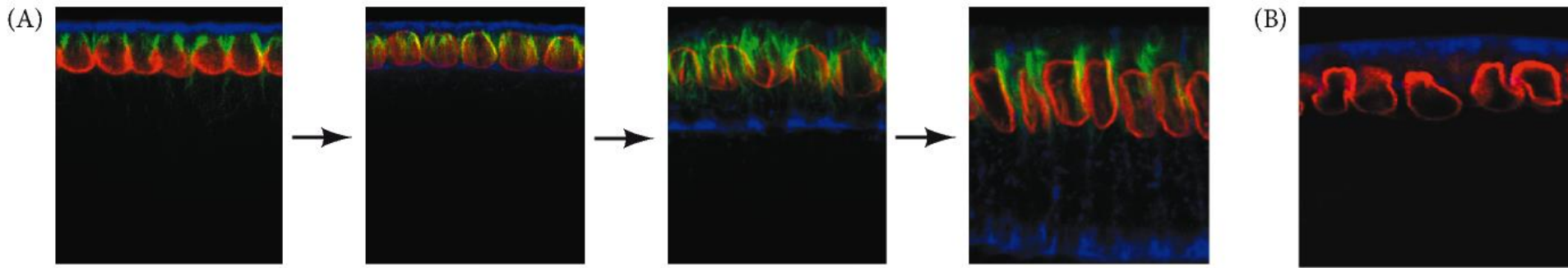
(C)



(D)



LA FASE DI CELLULARIZZAZIONE E' COORDINATA DAL CITOSCHELETRO

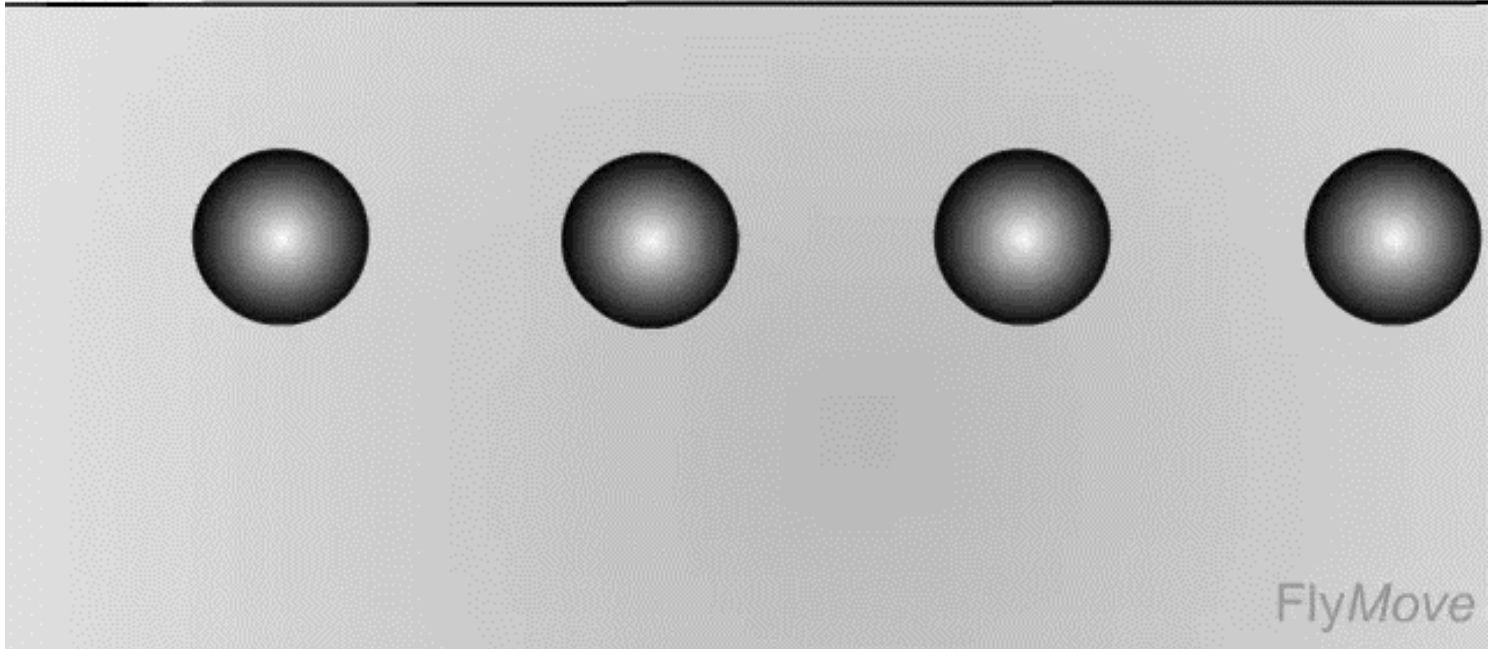


I microtubuli promuovono l'introflessione della membrana plasmatica nello spazio fra i nuclei (nocodazolo blocca tale processo).

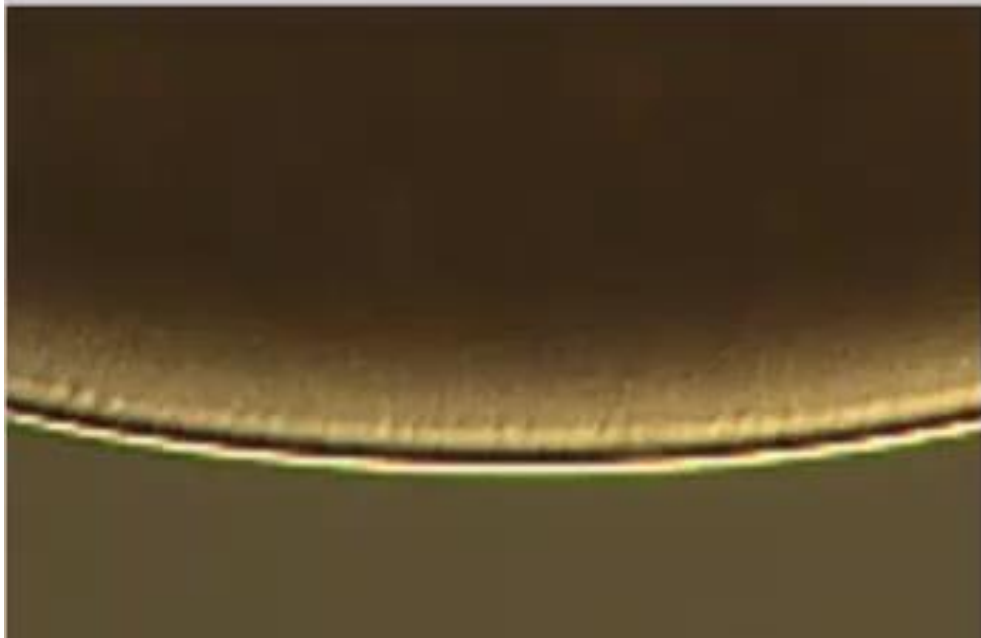
I microfilamenti si contraggono nel lato basale delle cellule separandole dalla regione centrale.

syncytial blastoderm

vitelline membrane



FlyMove



ingrowing
cell membrane

TRANSIZIONE DELLA BLASTULA INTERMEDIA IN *Drosophila*

I primi dieci cicli avvengono molto rapidamente (8 minuti ciascuno). Si ha un ciclo bifasico (mancano le fasi G1/G2). Nelle fasi precoci dello sviluppo il genoma zigotico e' inattivo e vengono utilizzati mRNA materni.

Nei cicli successivi si ha un rallentamento (si passa a 25, 75 e 175 minuti) e vengono introdotte le fasi G1/G2.

In concomitanza con la cellularizzazione ed il rallentamento delle divisioni, si verifica l'attivazione della trascrizione del genoma zigotico (a partire dall'undicesimo ciclo).

Fattori che regolano la transizione:

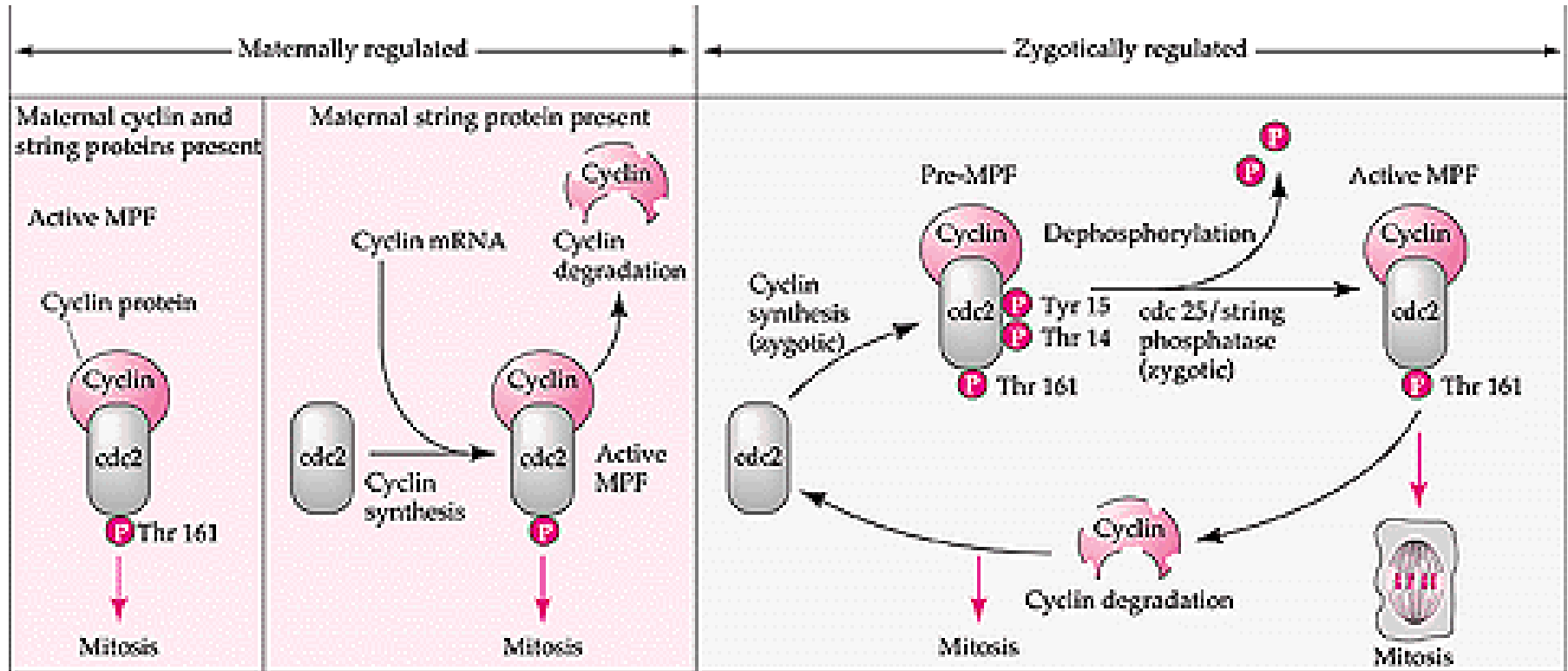
- 1) Rapporto cromatina/citoplasma: in embrioni aploidi la transizione avviene con 1 ciclo di ritardo.
- 2) I livelli della proteina Smaug (prodotta da mRNA materno) aumentano durante la segmentazione: ruolo nella degradazione di mRNA materni ed attivazione del genoma zigotico.
- 3) Con l'attivazione del genoma zigotico vengono prodotti fattori di regolazione del ciclo che promuovono l'instaurarsi delle fasi G1/G2 ed il rallentamento del ciclo.

Regolazione MPF in *Drosophila*: attivo in presenza di ciclina B e fosfatasi cdc25.

Durante i primi 7 cicli i livelli di ciclina e cdc25 prodotti da mRNA materni sono alti, MPF rimane sempre attivo. Il fattore limitante la mitosi e' la velocita' degli enzimi che replicano il DNA.

Durante i cicli 8-13 la ciclina comincia ad essere degradata dopo la metafase. Comincia attivita' oscillatoria del complesso MPF, si ha un primo rallentamento.

Dopo il ciclo 13, mRNA materni esauriti. Controllo zigotico del ciclo ed ulteriore rallentamento.



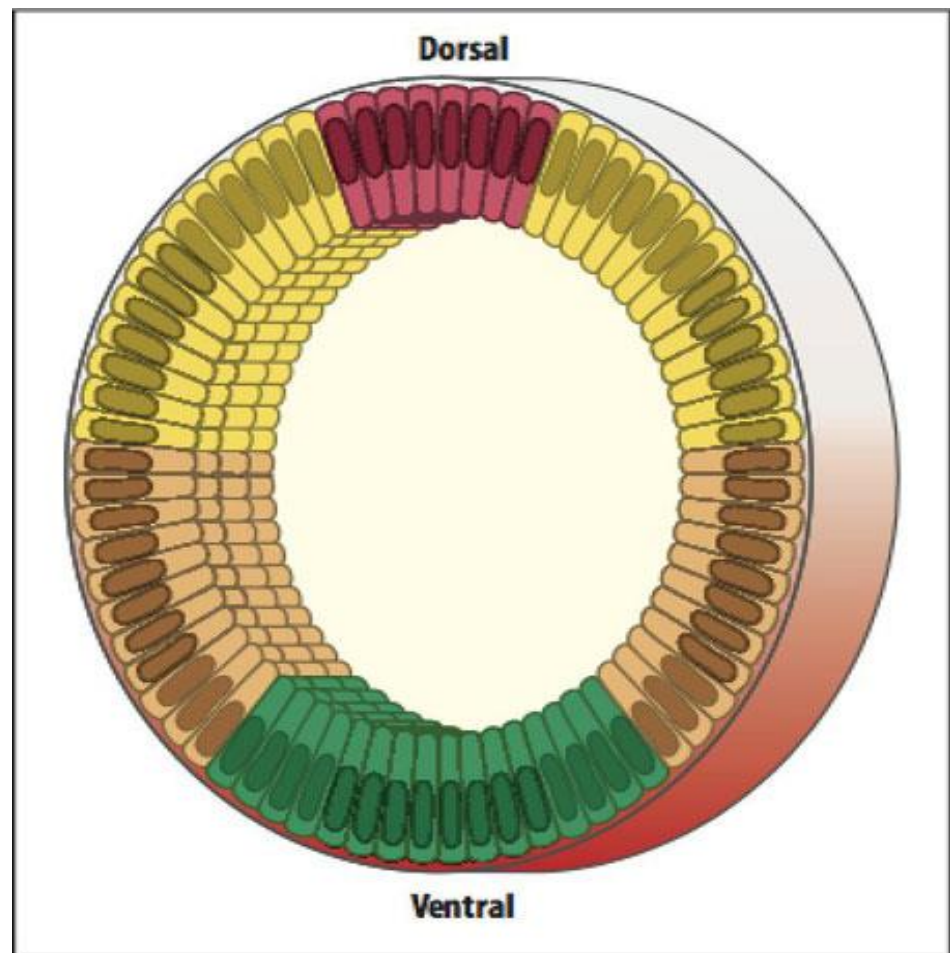
Active kinase from maternal proteins (substrate-limiting)

Cycle driven by translation of new cyclin from maternal mRNA

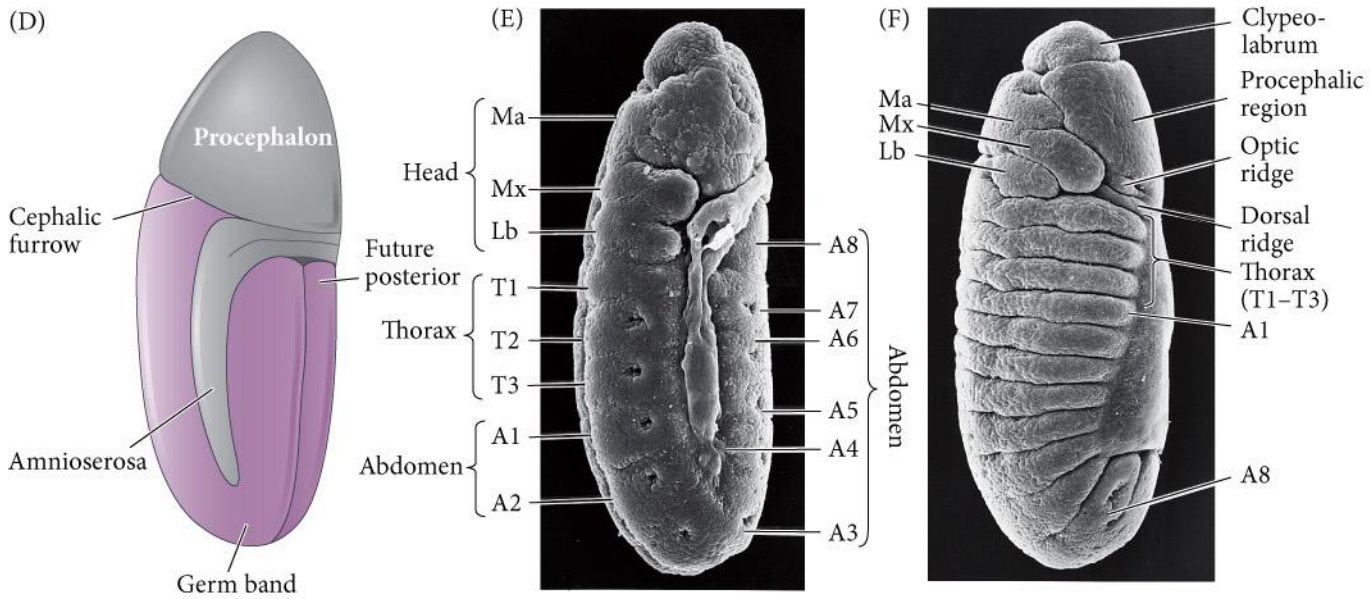
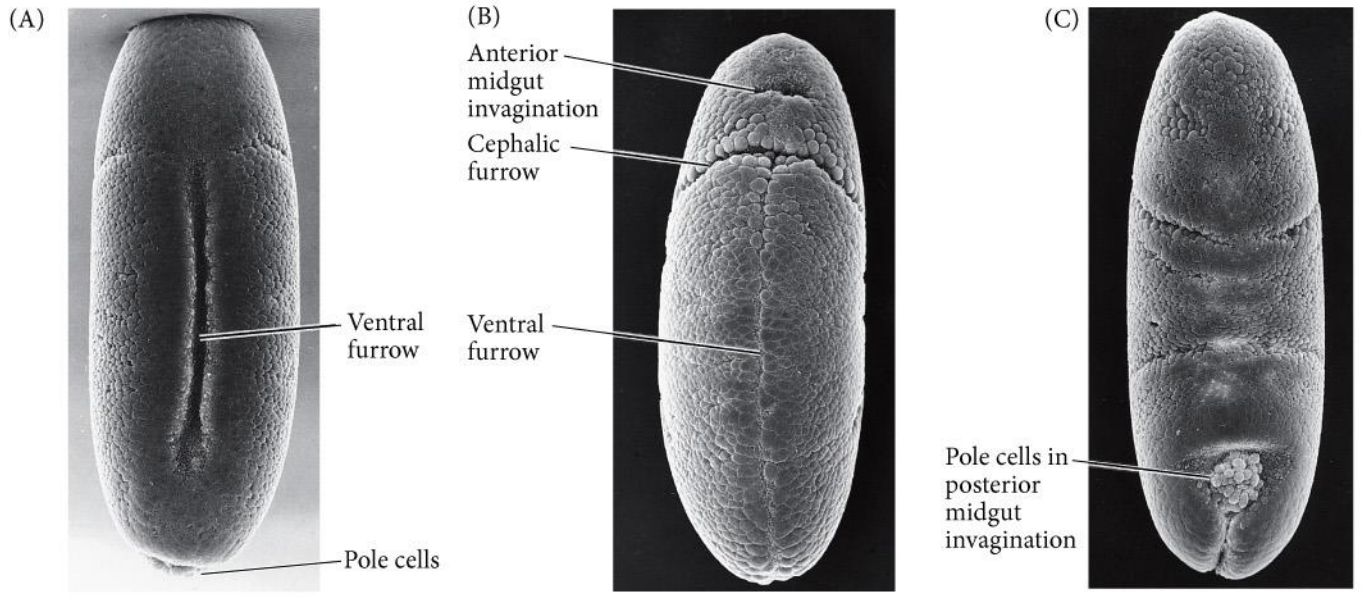
Cycle driven by cdc25/string phosphatase



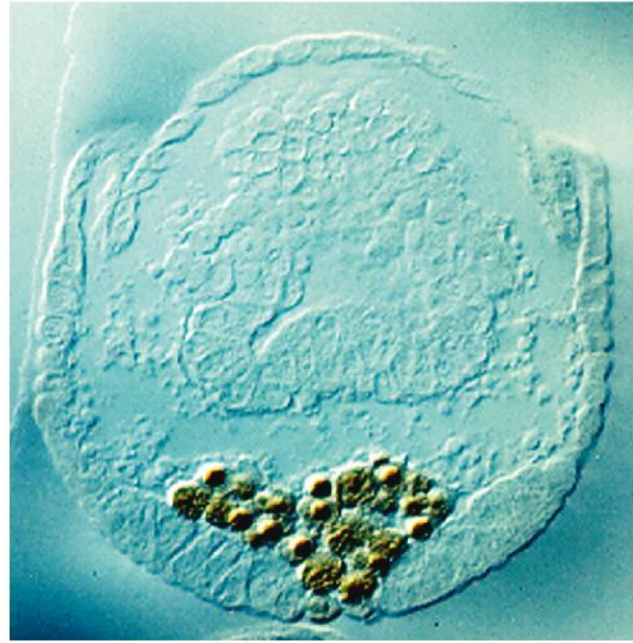
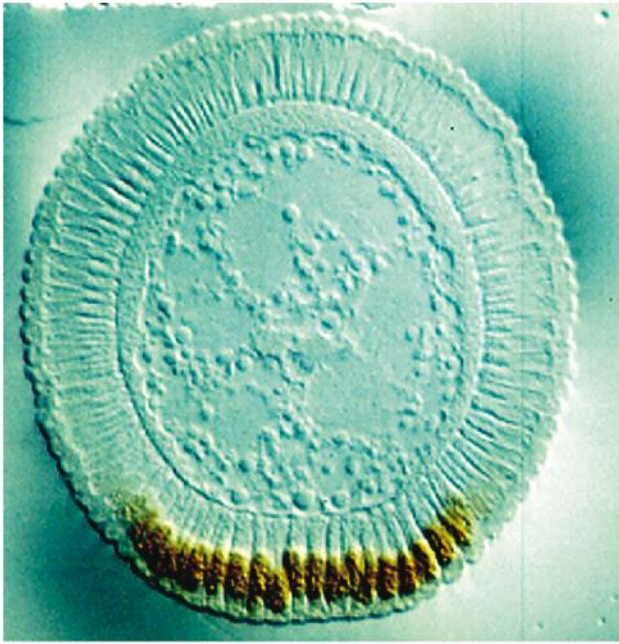
Mappa dei territori presuntivi nel blastoderma di Drosophila



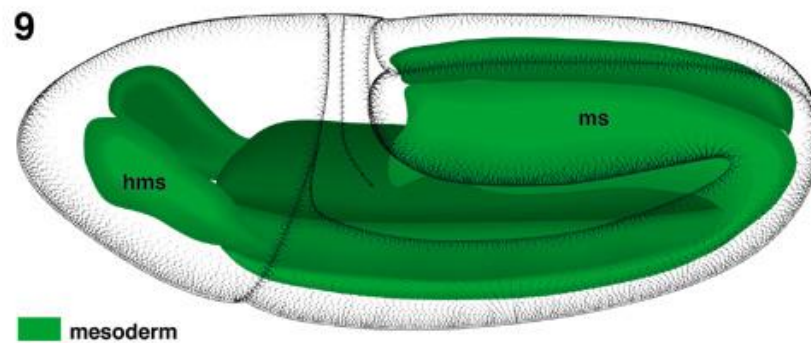
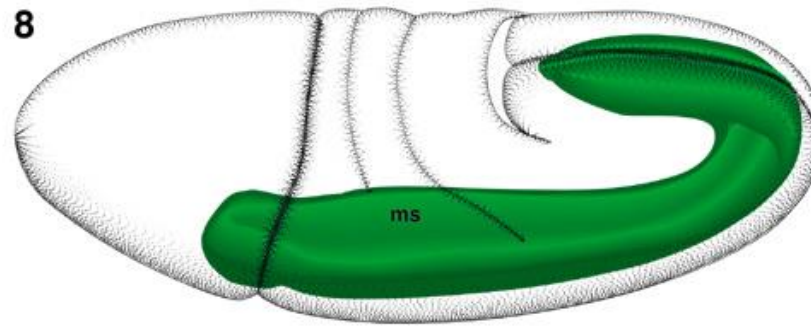
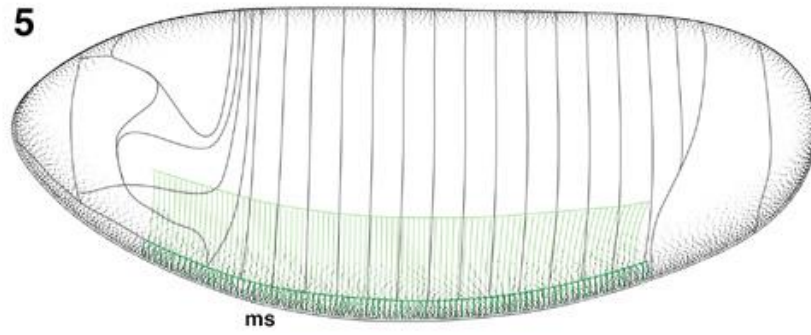
-  amnioserosa (*zerknüllt*)
-  dorsal ectoderm (*decapentaplegic, tolloid*)
-  neurectoderm (*rhomboïd, sog*)
-  mesoderm (*twist, snail*)
-  Dorsal gradient



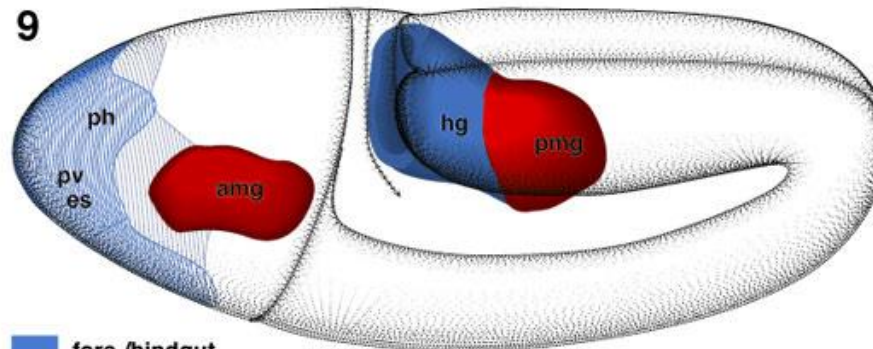
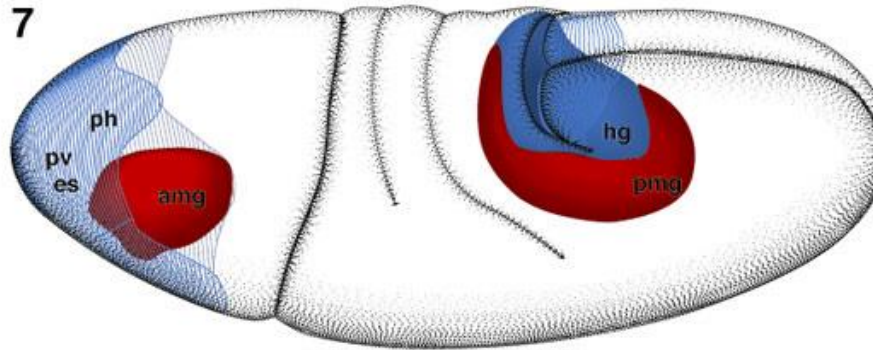
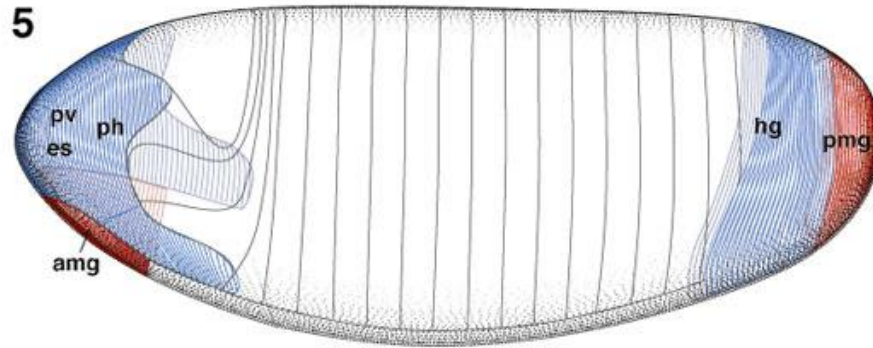
Internalizzazione del mesoderma



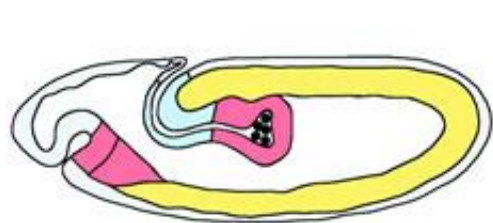
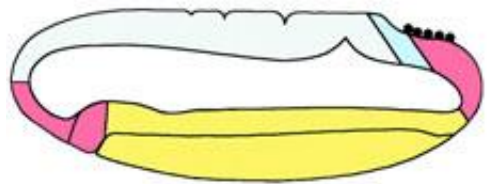
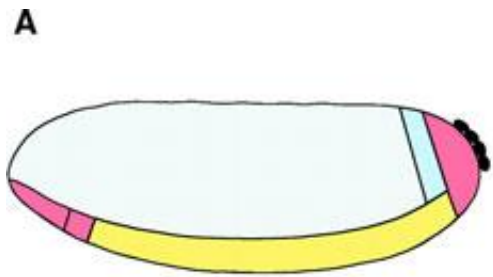
Early Mesoderm Development



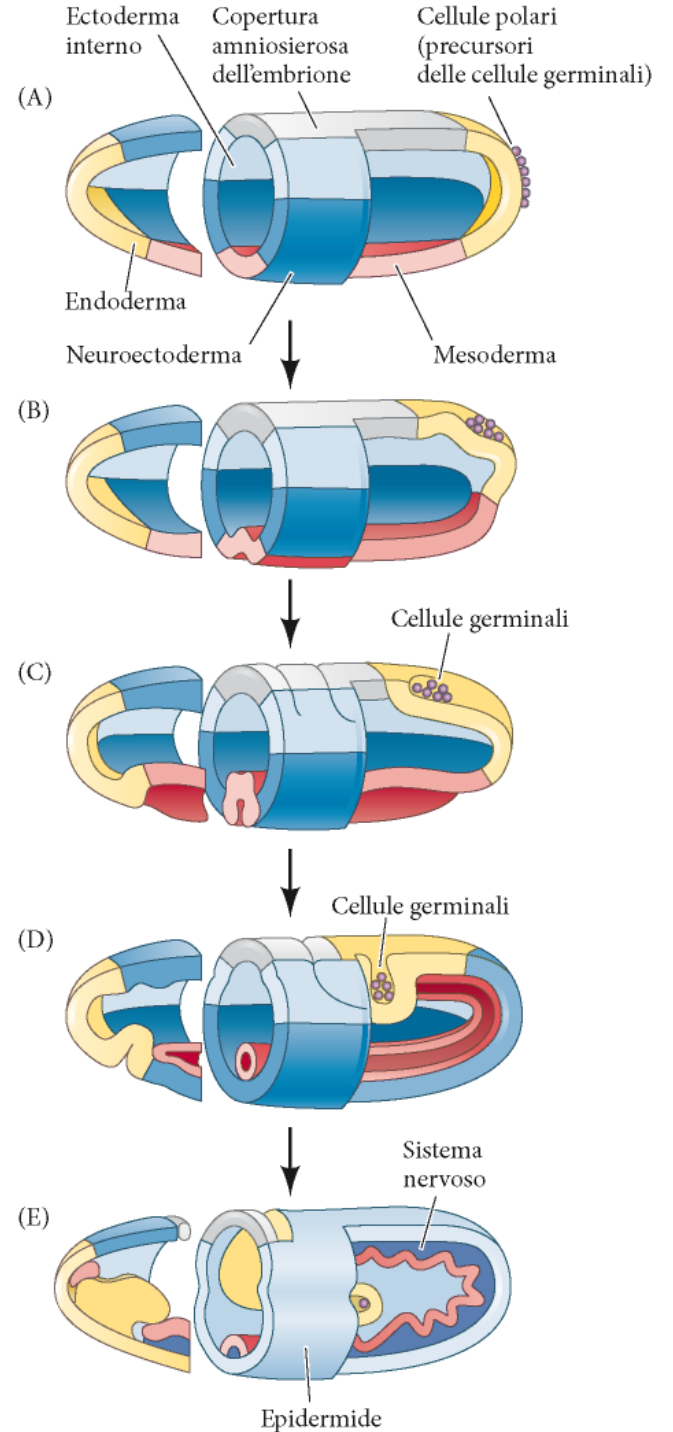
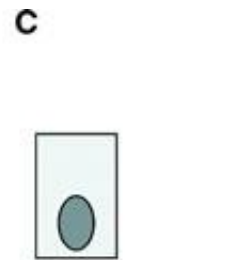
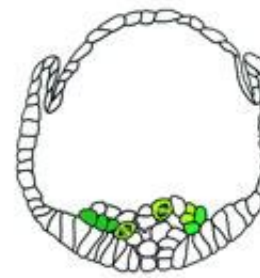
Intestinal Tract



■ fore-/hindgut
■ midgut



ectoderm mesoderm endoderm



Formazione dei segmenti nell'embrione di Drosophila

Fenomeni di estensione convergente al livello della linea mediana causano la formazione della banda germinativa, inizialmente ripiegata.

Successivamente la banda germinativa si ritrae, causando allineamento delle estremità' anteriore e posteriore.

A questo punto avviene la formazione dei segmenti.



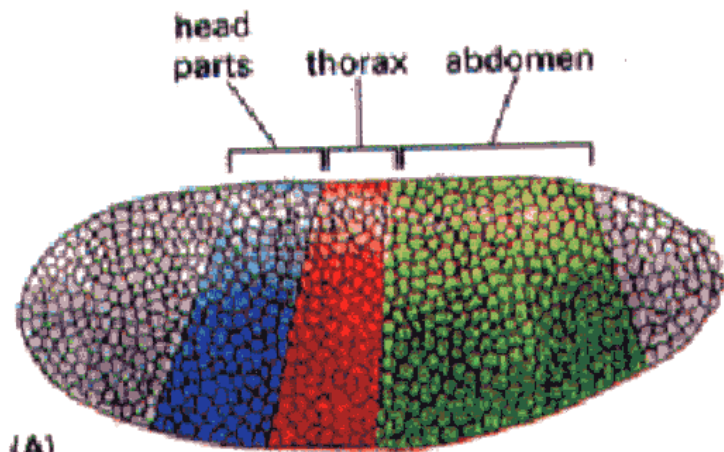
Gastrulation



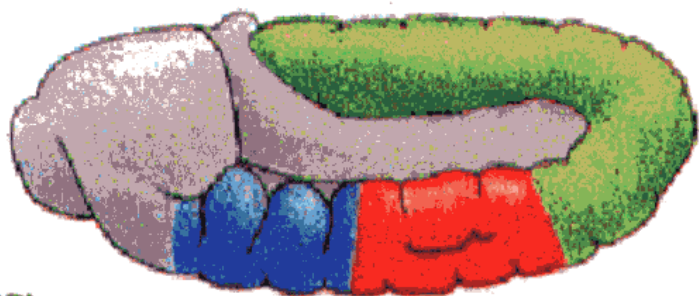
**Germ band
extension**



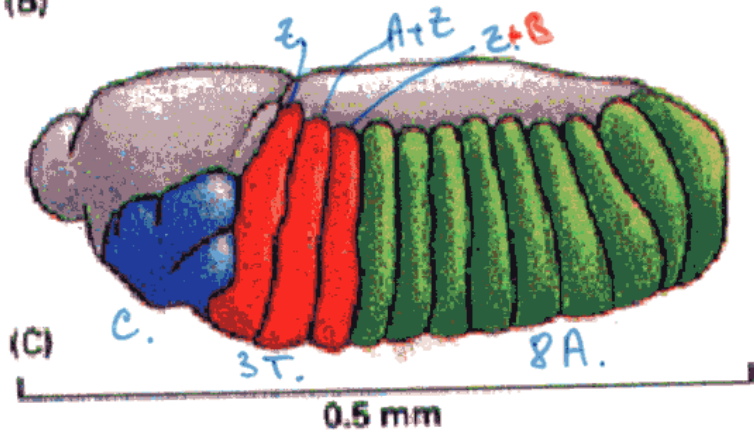
**Germ band
retraction**



(A)

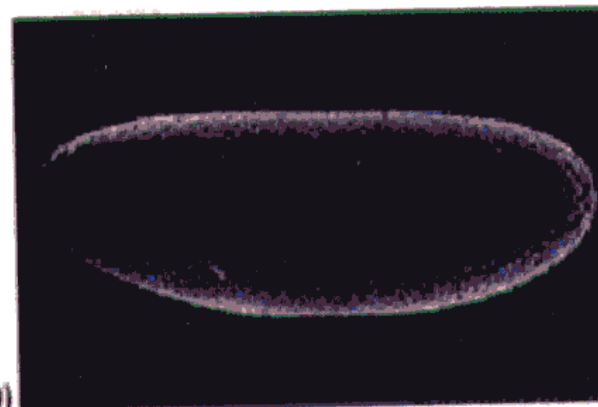


(B)



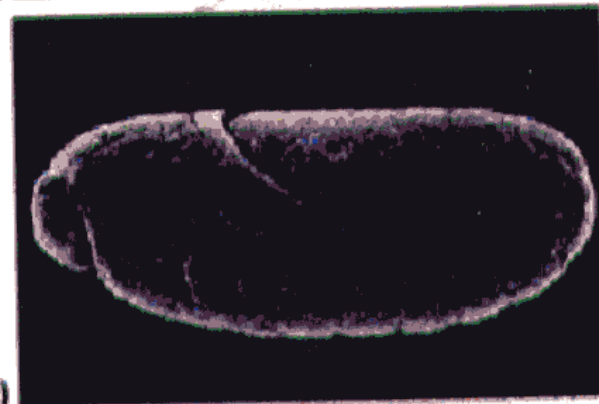
(C)

2 hours



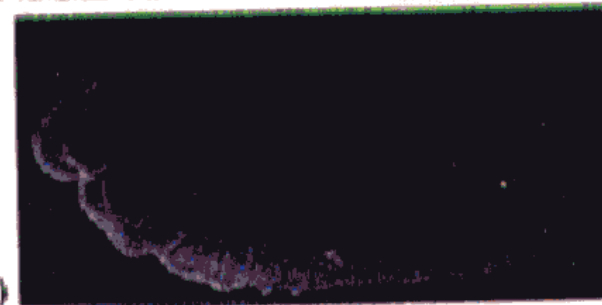
(D)

5-8 hours



(E)

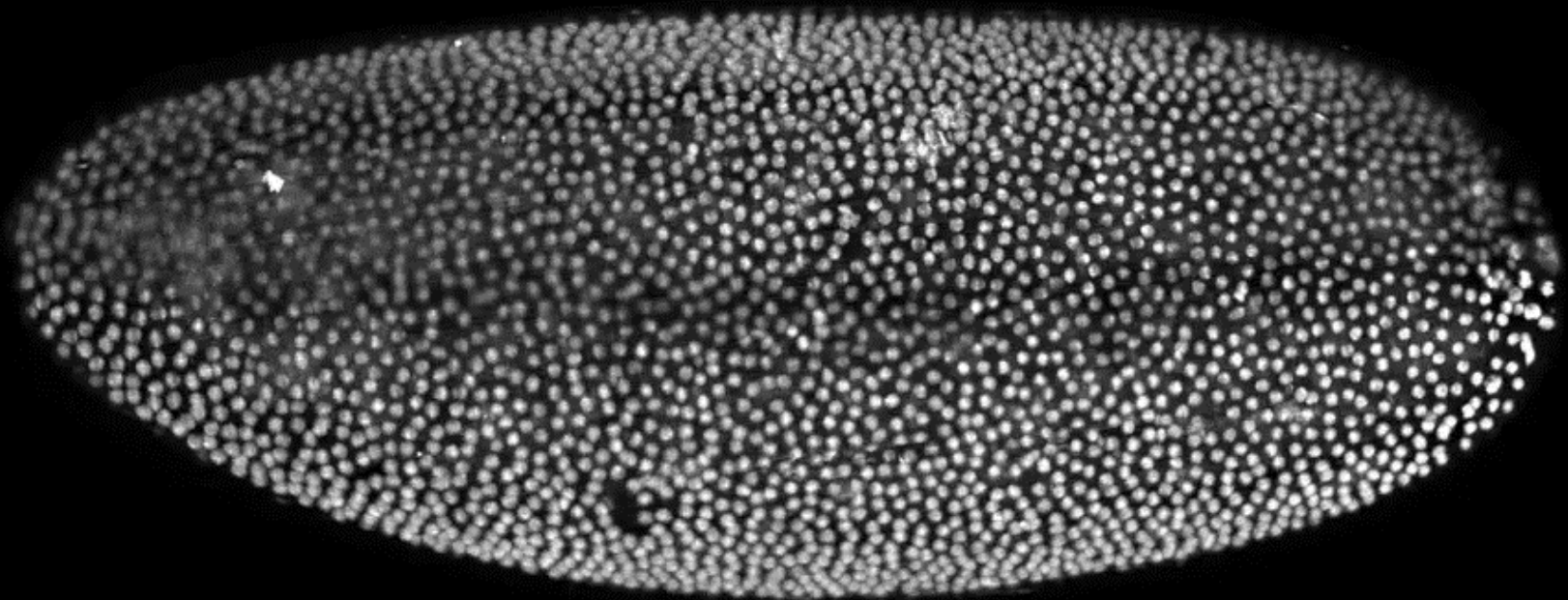
10 hours



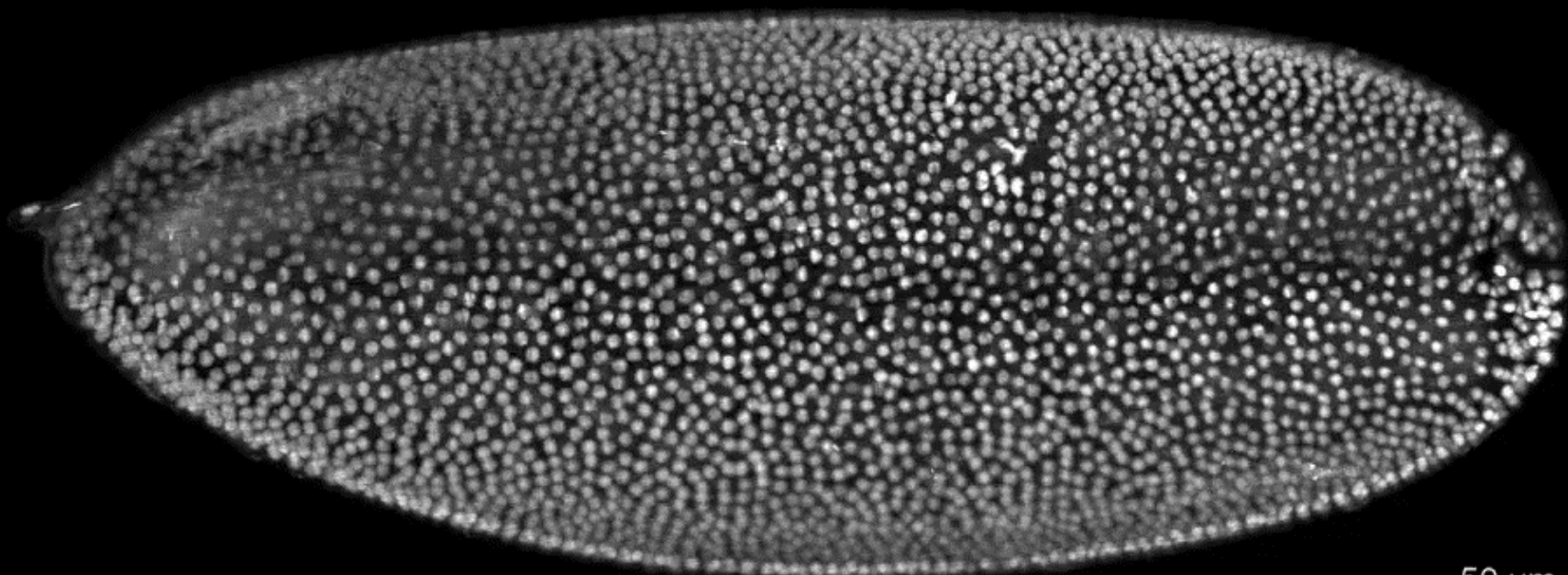
(F)

ventrolateral view

02:00:00

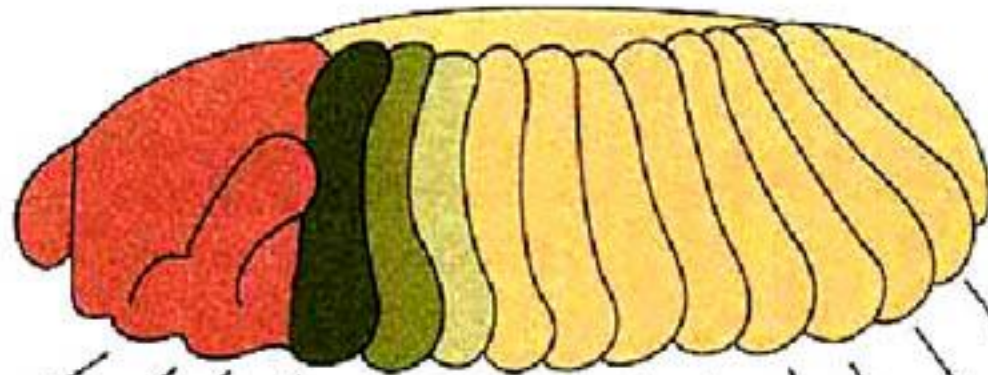


dorsolateral view



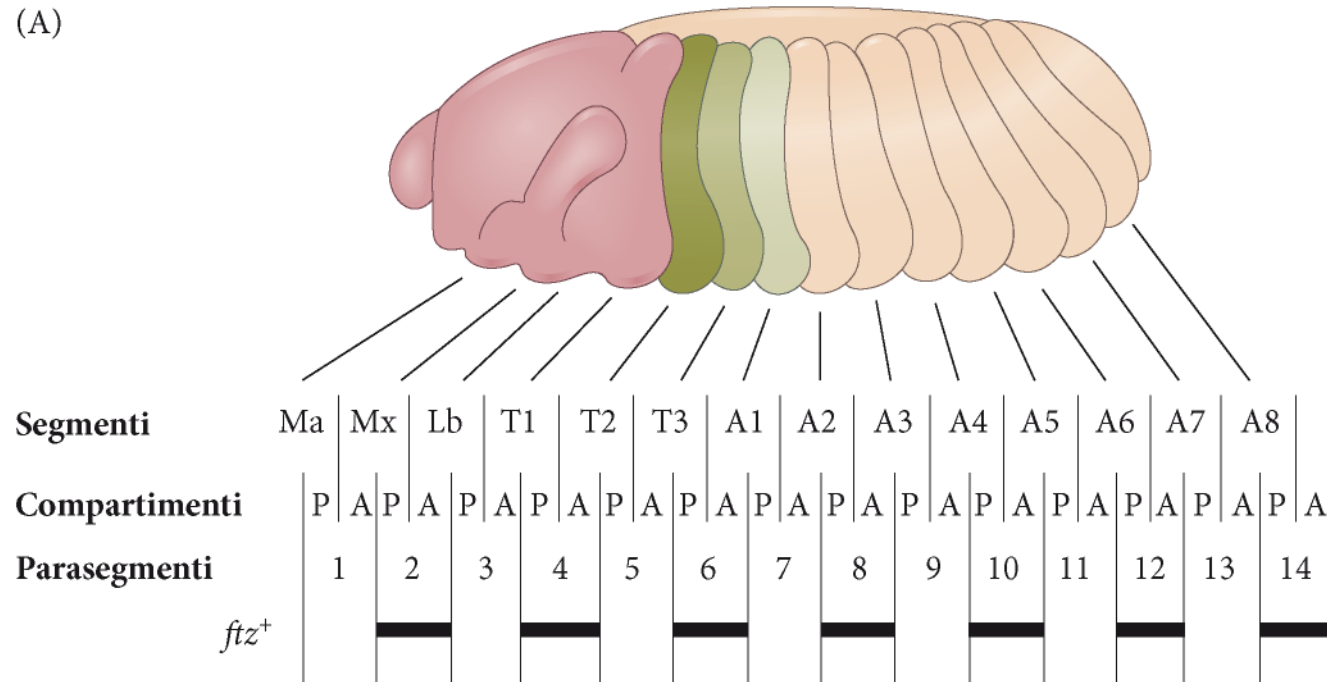
50 μ m

Segments and Parasegments

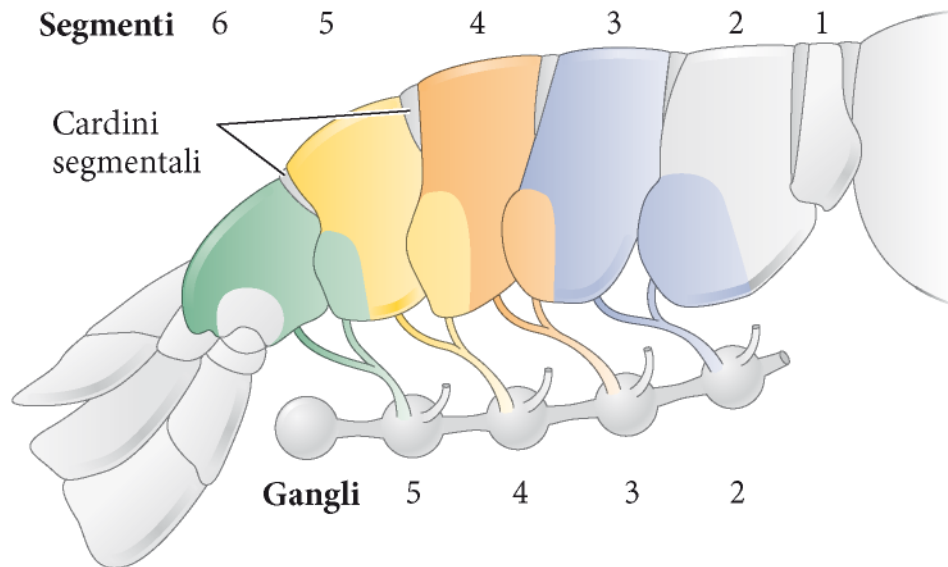


Segments	Ma	Mx	Lb	T1	T2	T3	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	
Compartments	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A
Parasegments	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		

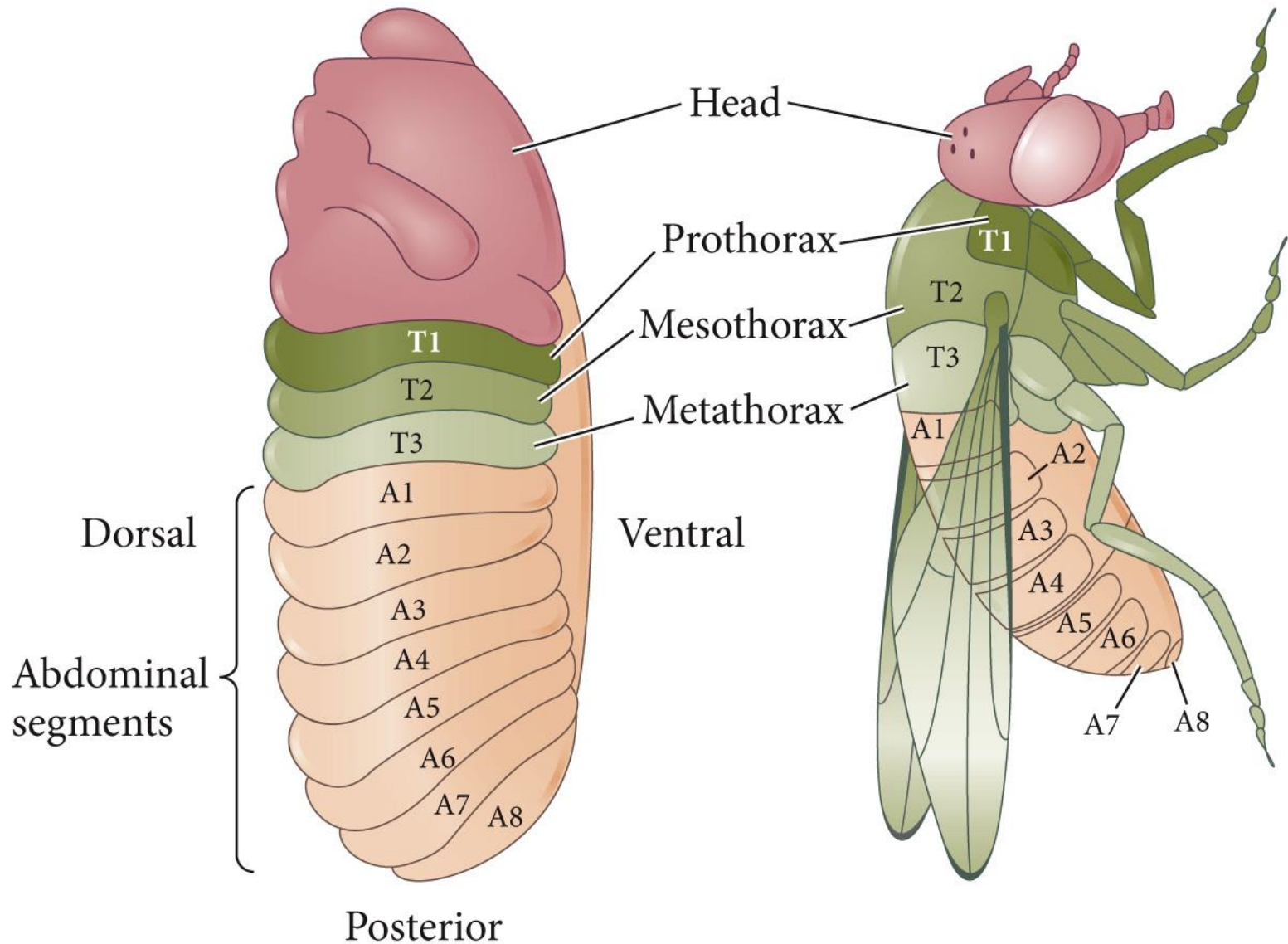
(A)

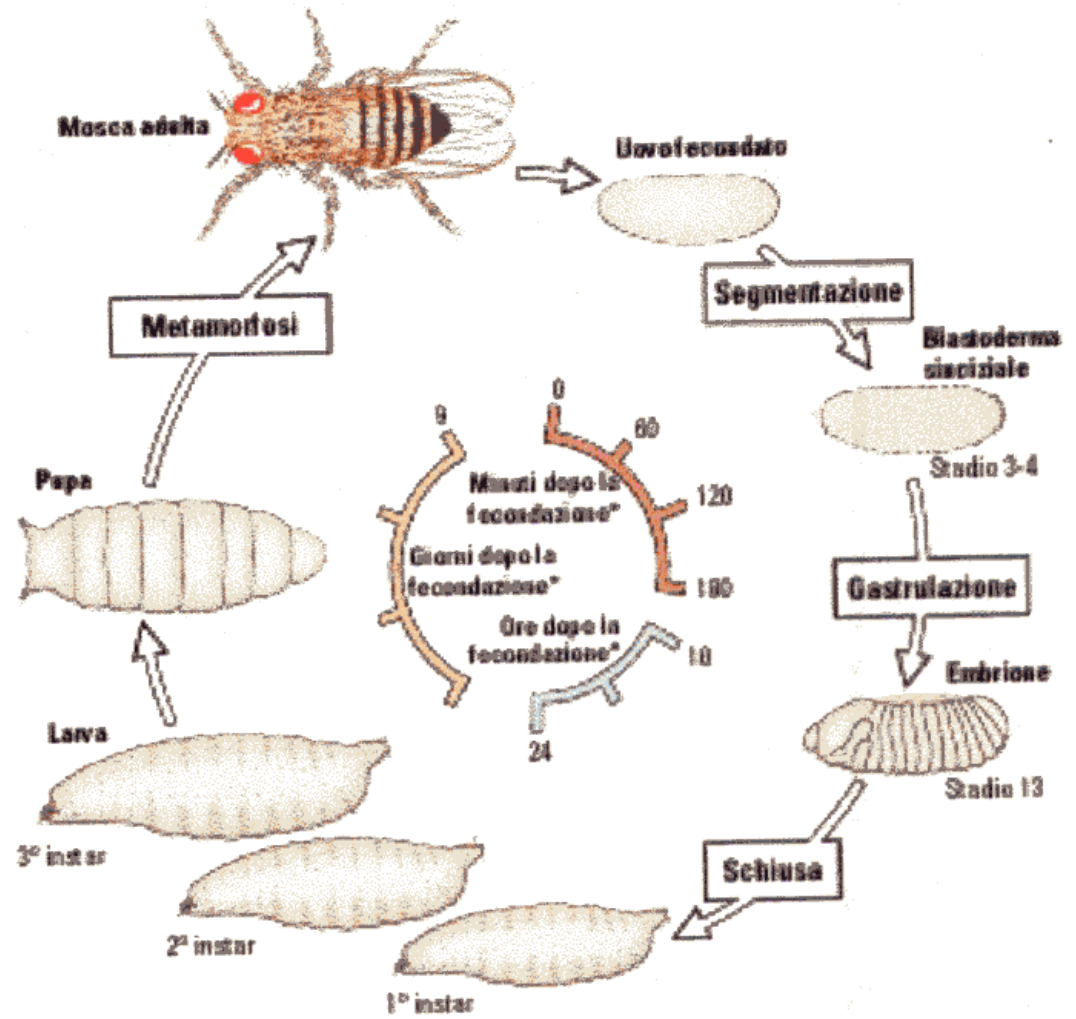
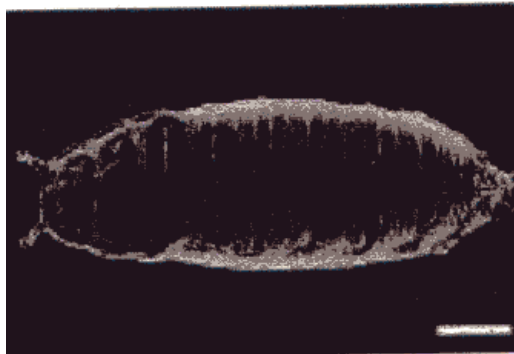
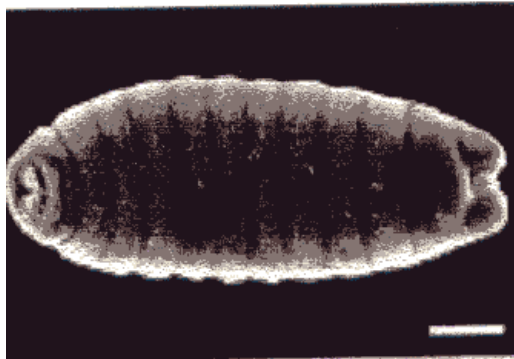
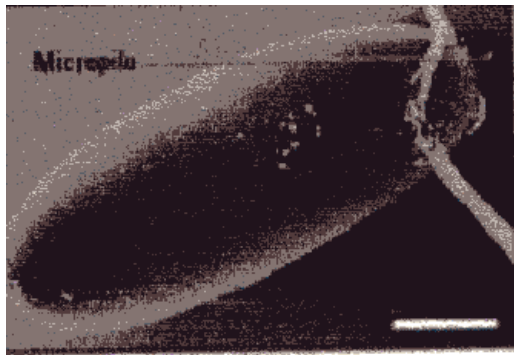


(B)



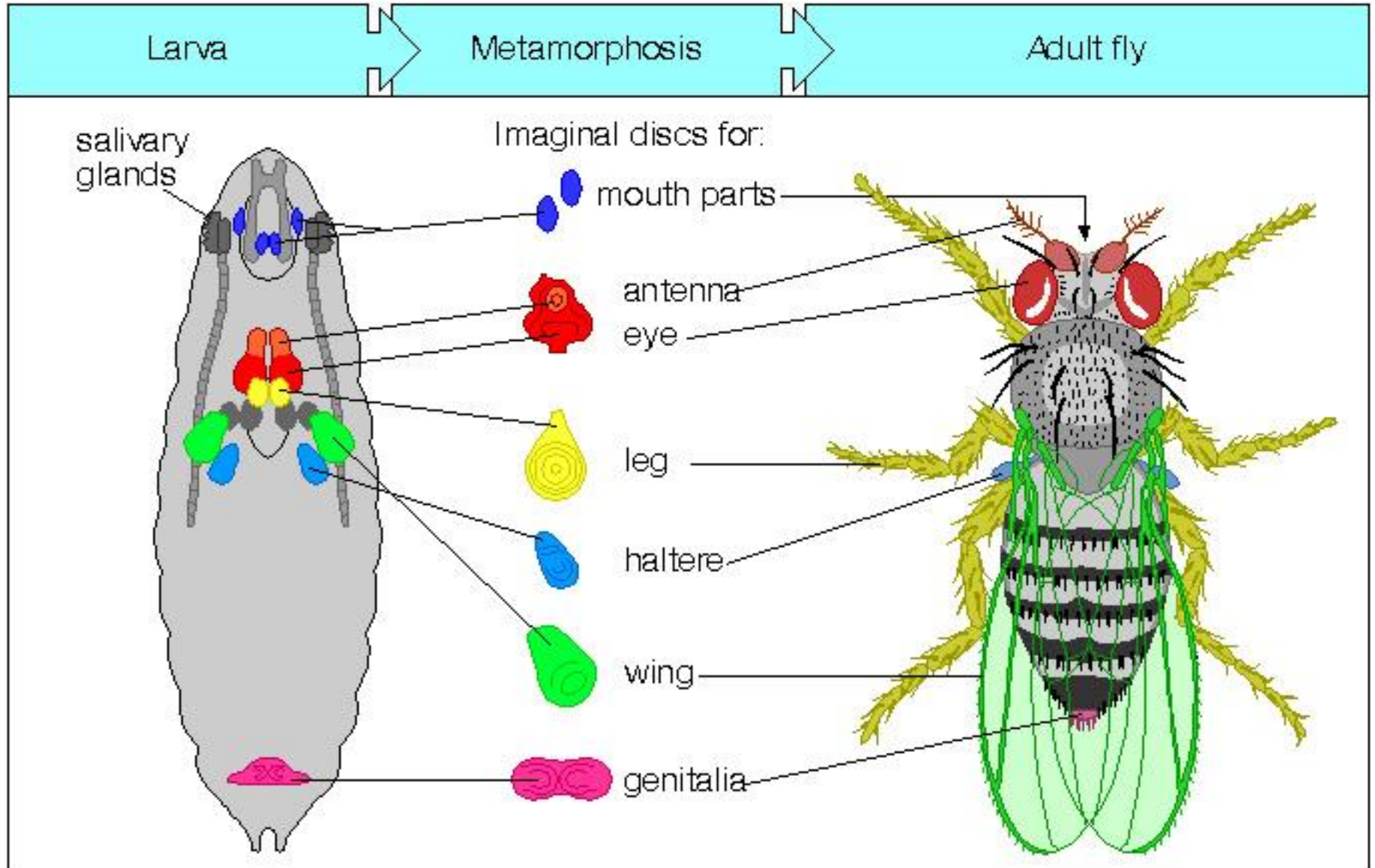
(A) Anterior





* Incubazione a 25 °C

Metamorfosi e dischi immaginali





Edward B. Lewis



Christiane Nüsslein-Volhard



Eric F. Wieschaus

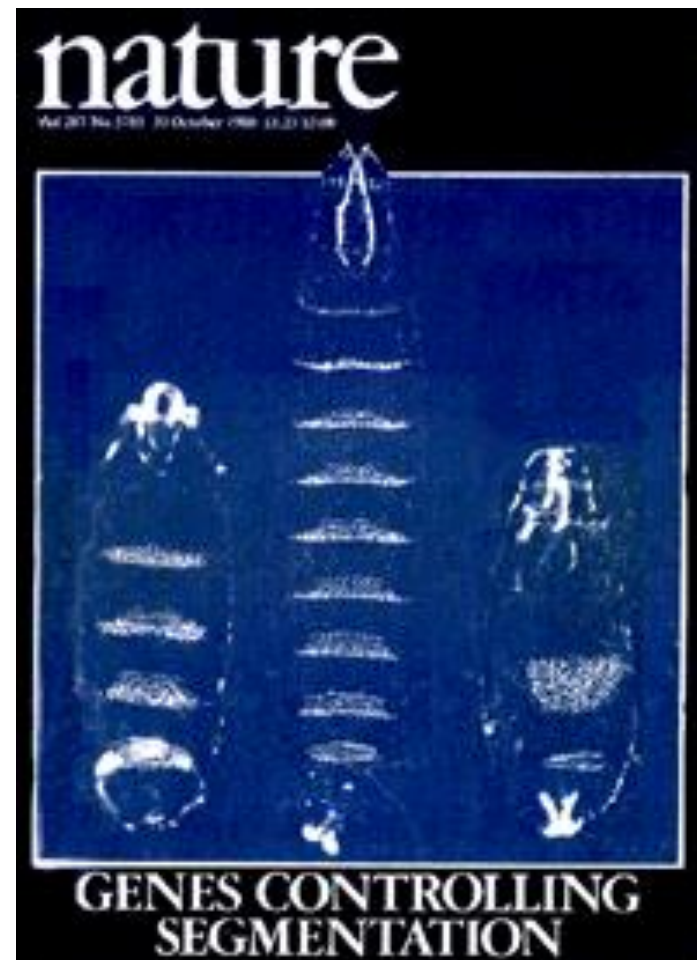
Nobel Prize 1995



Normal adult fly

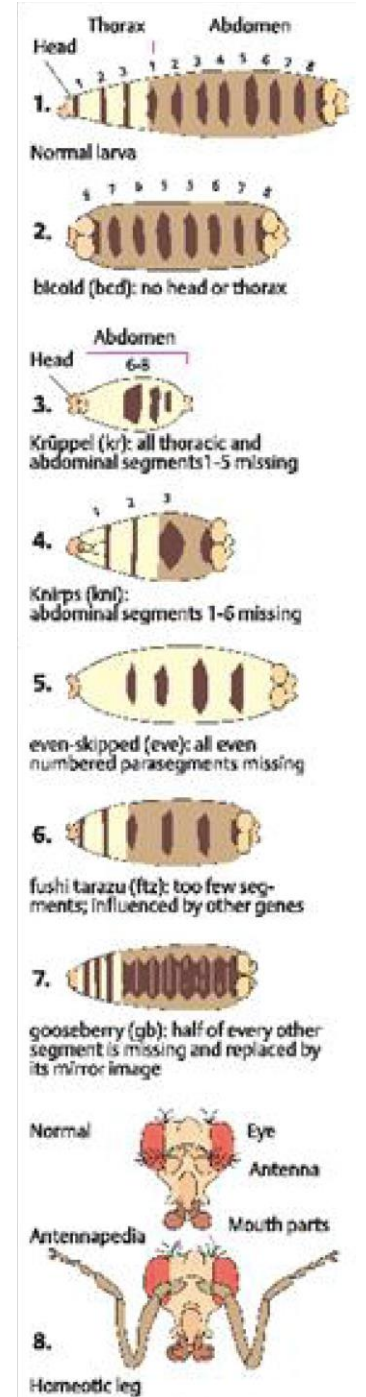
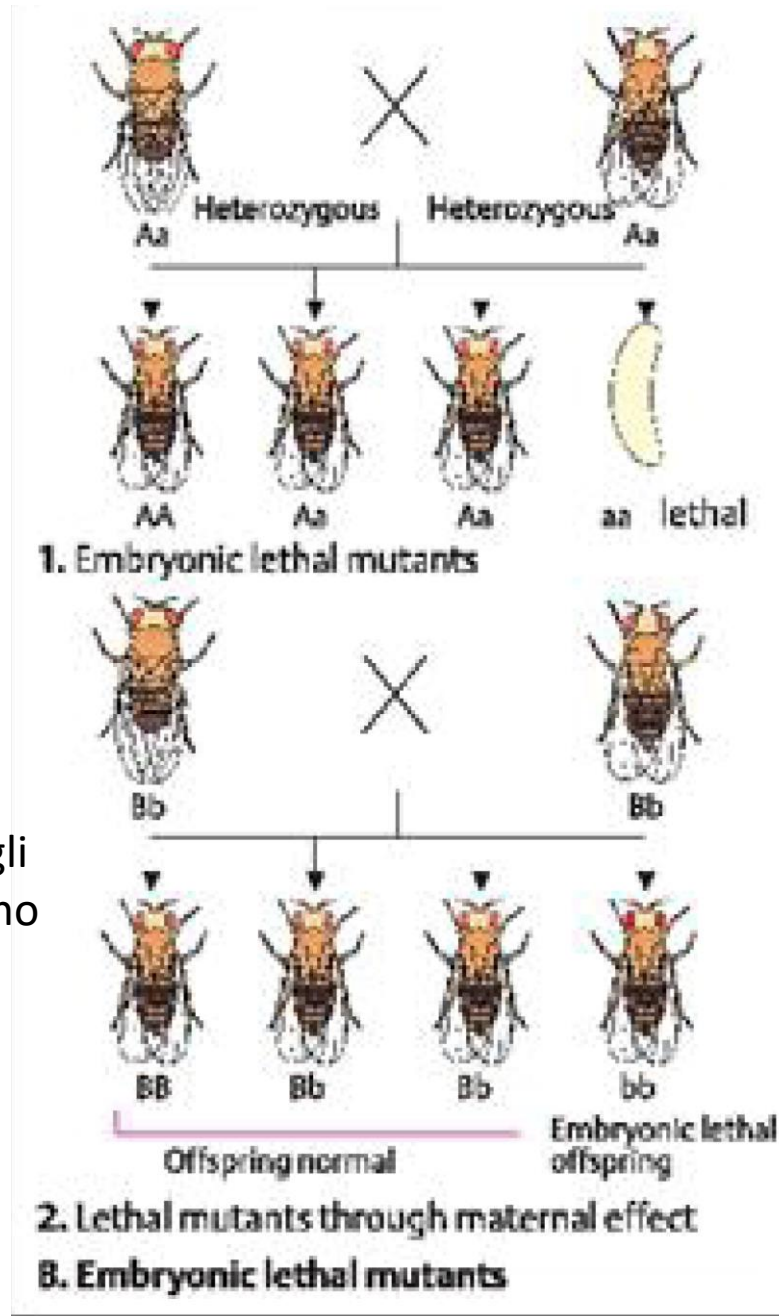


Bithorax mutant



Mutazioni a effetto zigotico:
 gli embrioni omozigoti si sviluppano in modo anomalo

Mutazioni a effetto materno: gli embrioni omozigoti si sviluppano in organismi adulti normali che però, se femmine, producono embrioni che si sviluppano in modo anomalo



LO SVILUPPO PRECOCE DI DROSOPHILA E' REGOLATO DA DETERMINANTI CITOPLASMATICI MATERNI

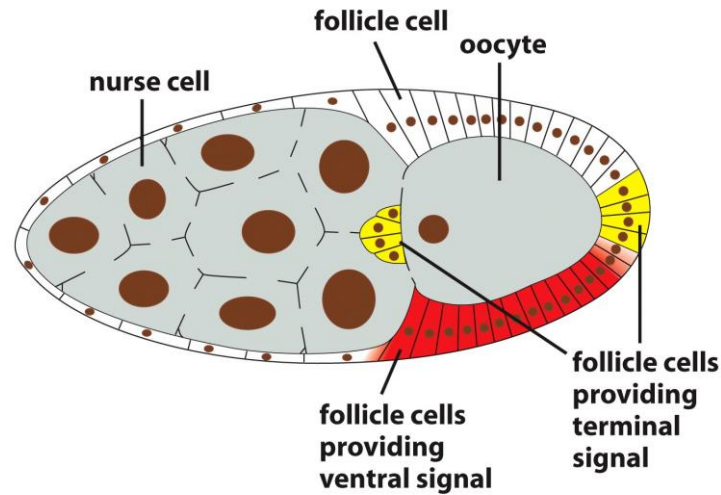


Figure 22-31 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

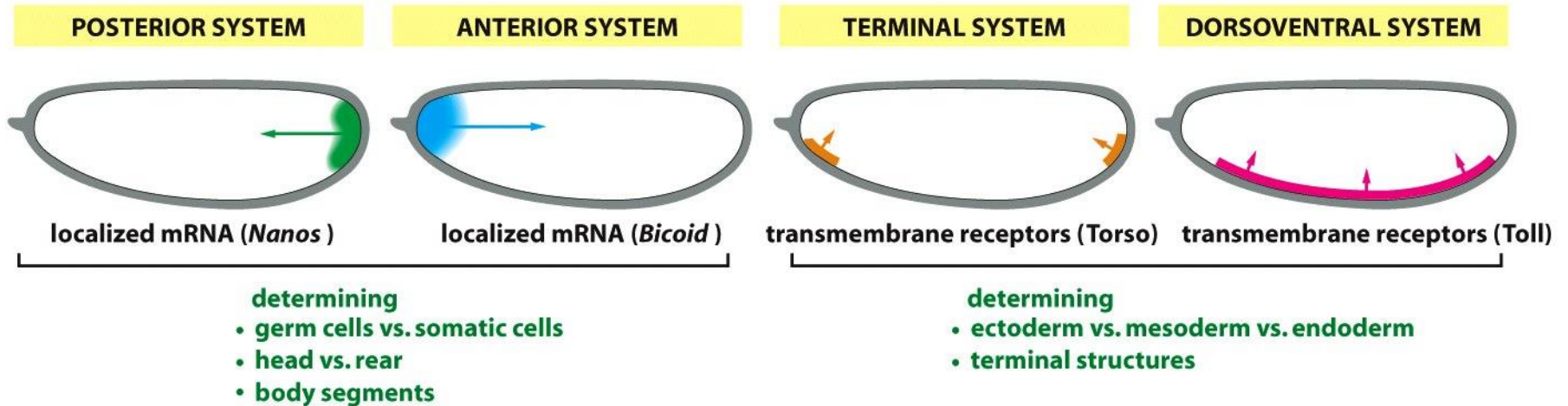
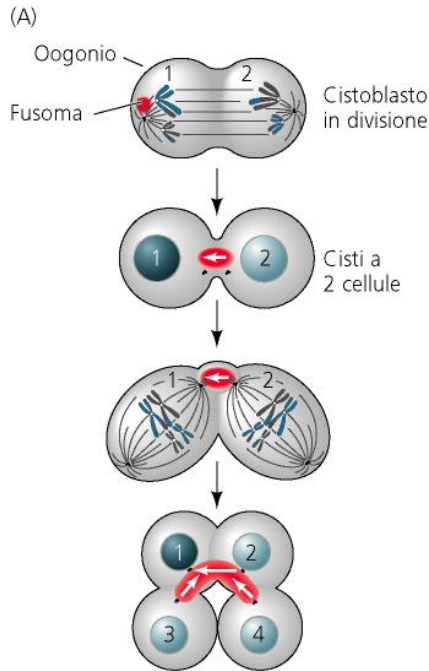
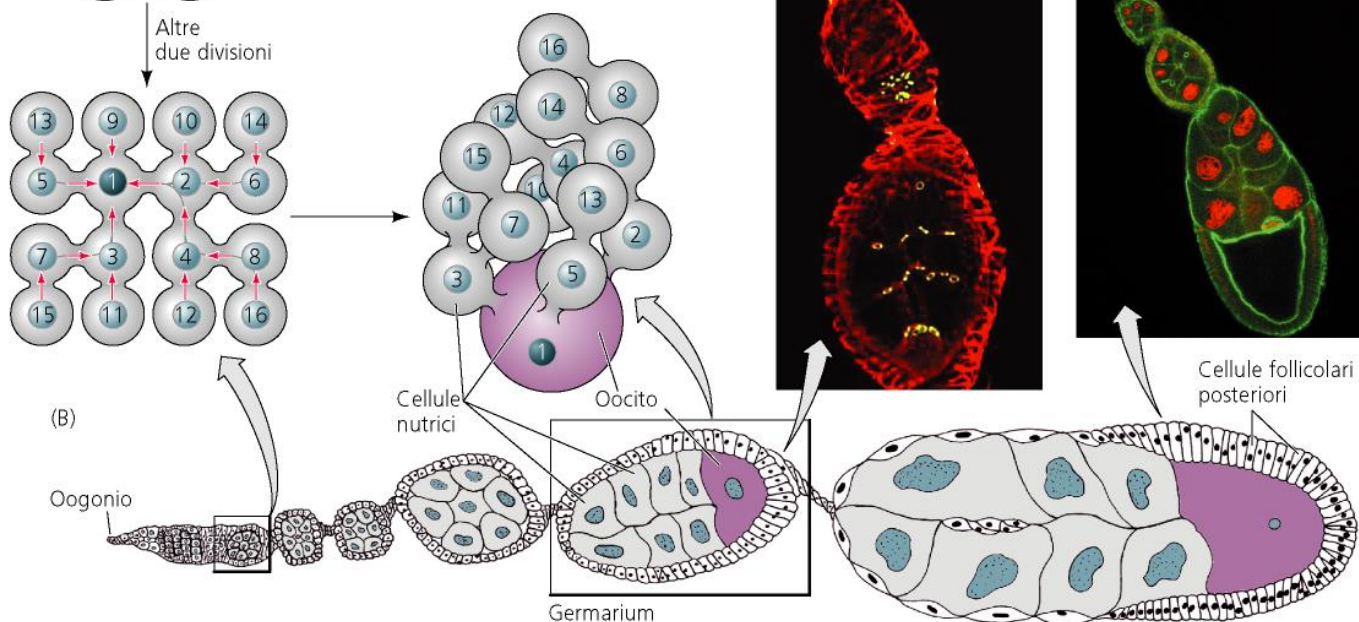


Figure 22-32 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Oogenesi meroistica



L'oogonio si divide 4 volte generando 16 cellule, di cui solo 1 genera l'oocita, che si sposta nella parte posteriore della camera ovarica. Le altre 15 formano cellule nutrici, che restano connesse con l'oocita mediante ponti citoplasmatici. Le cellule nutrici producono mRNA che vengono trasportati nell'oocita.



DETERMINAZIONE DELLA POLARITA' ANTEROPOSTERIORE DELL'OOCITA

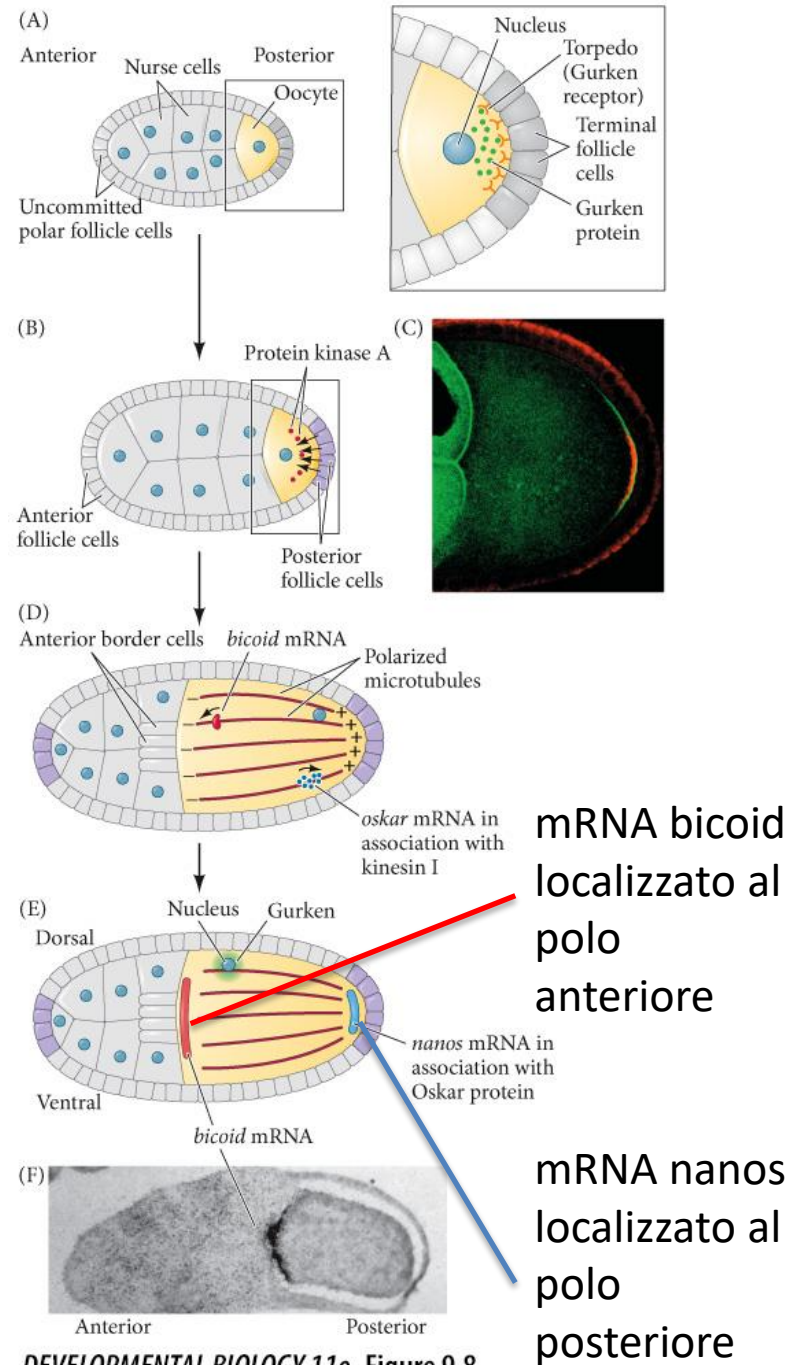
Corrisponde alla polarita' AP embrionale

Cellule nutrici trascrivono il gene *gurken*, mRNA va nell'oocita dove viene prodotta la proteina.

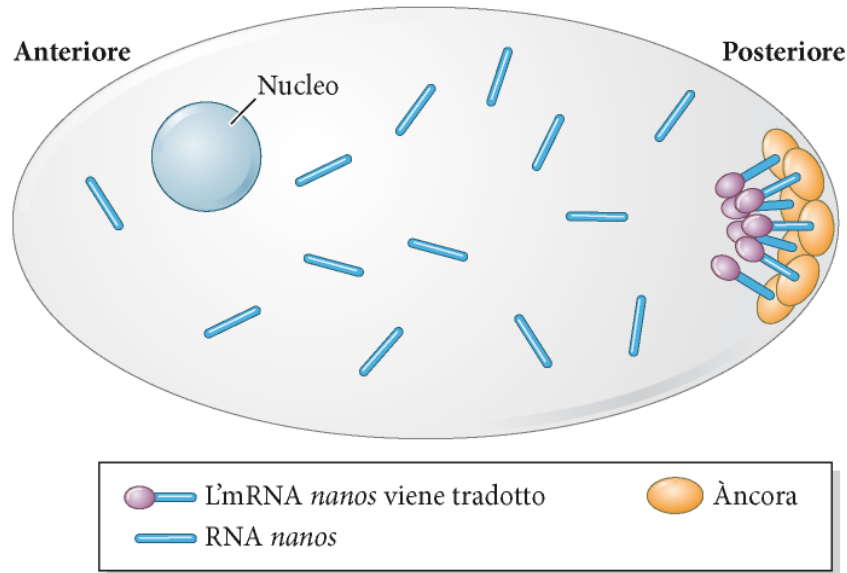
gurken: proteina segnale della famiglia EGF (epidermal growth factor).

Torpedo: recettore per *gurken* (recettore tirosina-chinasi).

Cellule follicolari terminali esprimono torpedo e recepiscono il segnale *gurken*. Rispondono producendo dei segnali che agiscono sul citoscheletro dell'oocita determinando il trasporto selettivo di mRNA prodotti dalle cellule nutrici ai poli anteriore e posteriore dell'oocita.



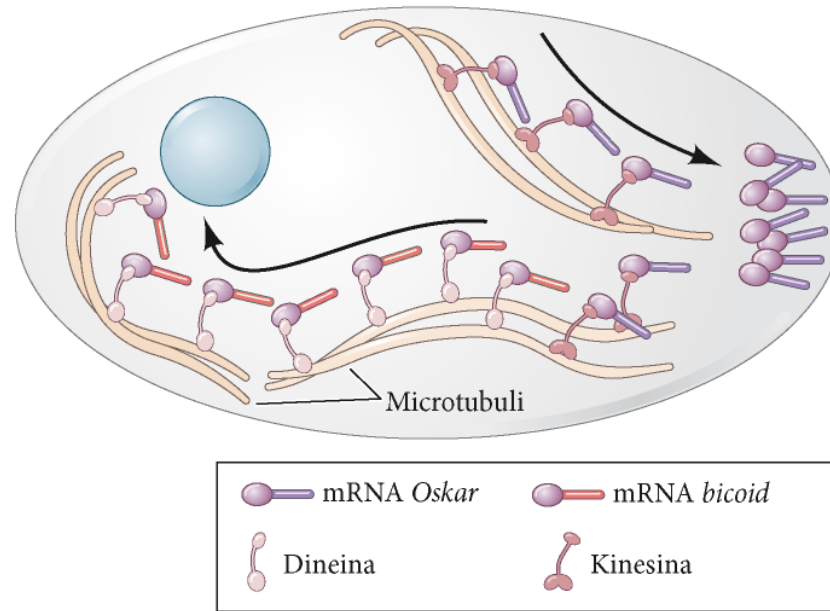
(A) Diffusione e ancoraggio locale

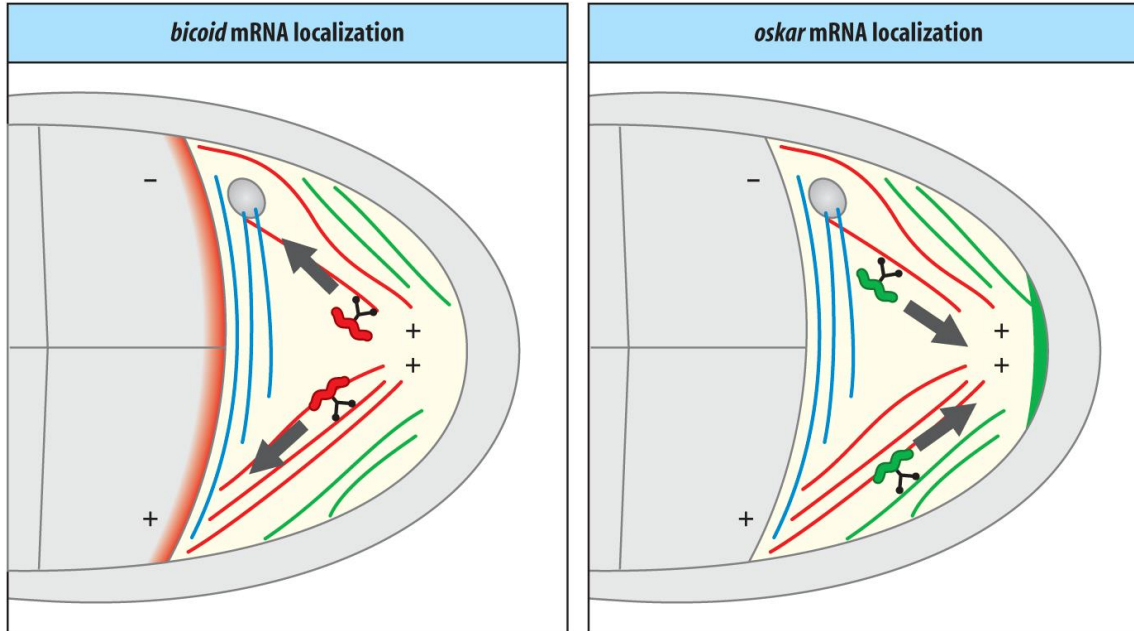


La localizzazione anteriore dell'mRNA di Bicoid dipende da meccanismi di trasporto attivo.

La localizzazione posteriore dell'mRNA di Nanos dipende da un meccanismo di ancoraggio. L'ancora è rappresentata dalla proteina Oskar. La localizzazione di Oskar dipende da meccanismi di trasporto attivo.

(C) Trasporto attivo lungo il citoscheletro



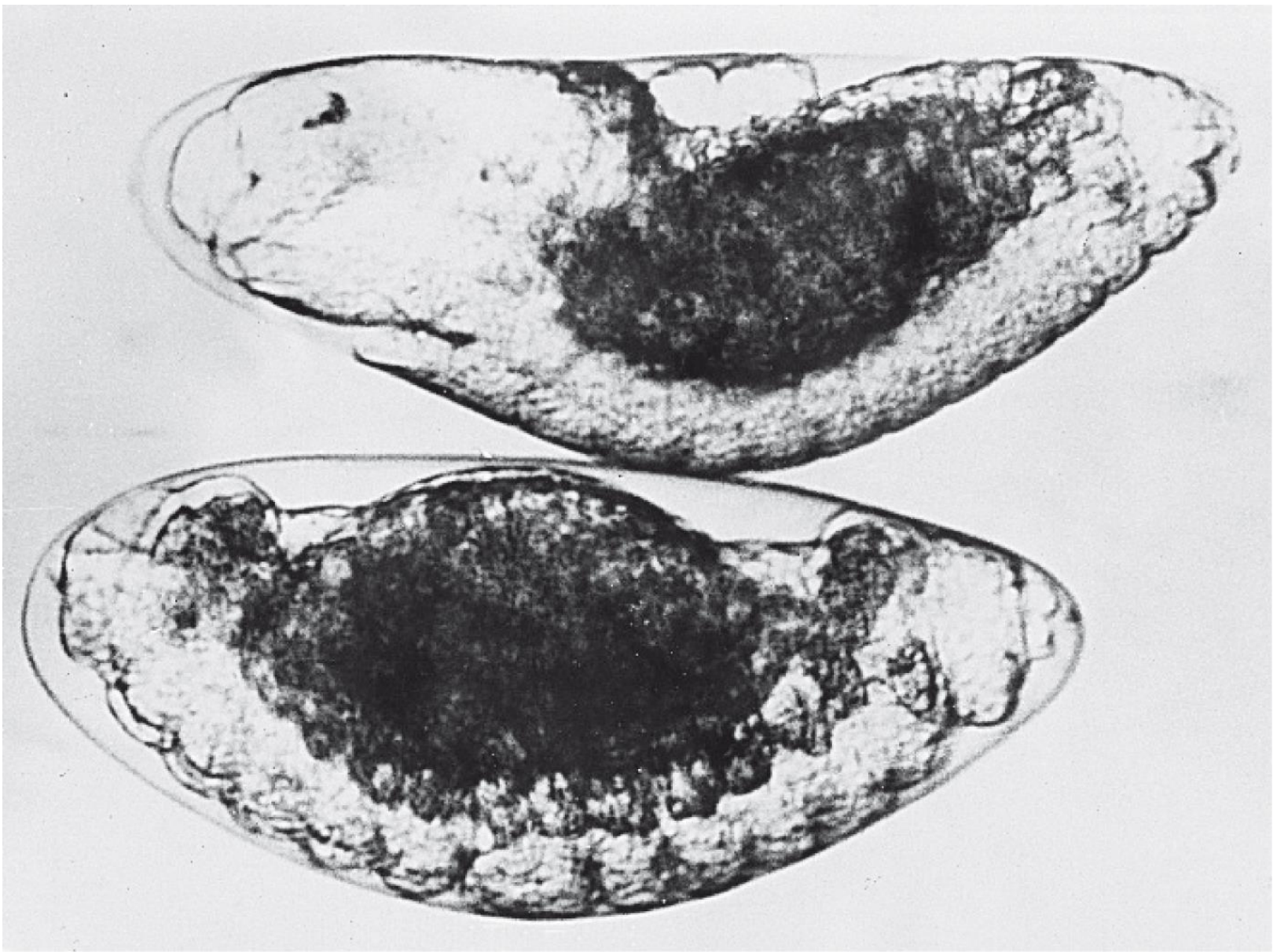


Le proteine **Exuperantia** e **Swallow** legano il 3'UTR dell'mRNA di Bicoid e ne regolano il trasporto dalle cellule nutrici all'oocita e la sua localizzazione anteriore, mediante interazione con proteine motrici dei microtubuli (dineine).

L'mRNA di Oskar viene trasportato al polo posteriore dell'oocita da kinesine insieme alla proteina Staufen, che ne permette la traduzione.

La proteina **Oskar** si lega al 3'UTR dell'mRNA di Nanos e lo ancora al polo posteriore.

Inoltre Oskar impedisce il legame al 3'UTR di Nanos di proteine inibitrici della traduzione, permettendo la produzione della proteina Nanos dopo la fecondazione (invece molecole di mRNA di Nanos non ancorate non vengono tradotte).



Ruolo di mRNA materni

Distruzione degli mRNA anteriori (bicoid) mediante irradiazione dell'uovo:

Si forma un embrione senza strutture anteriori e con due meta' posteriori speculari

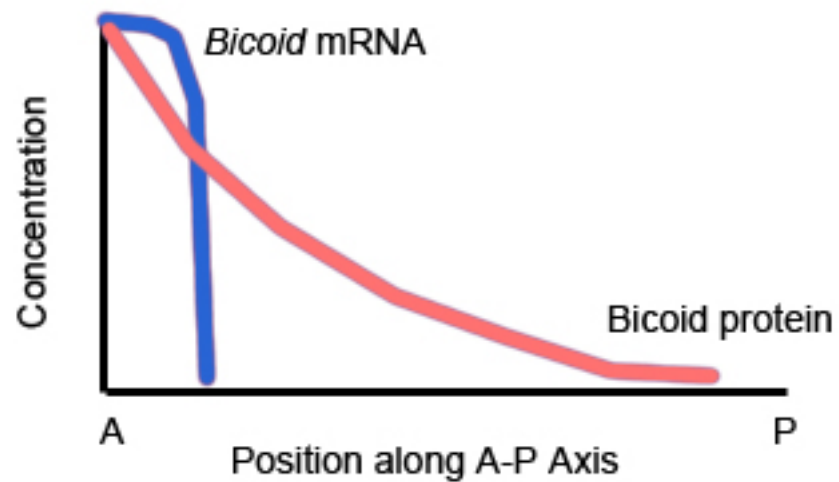
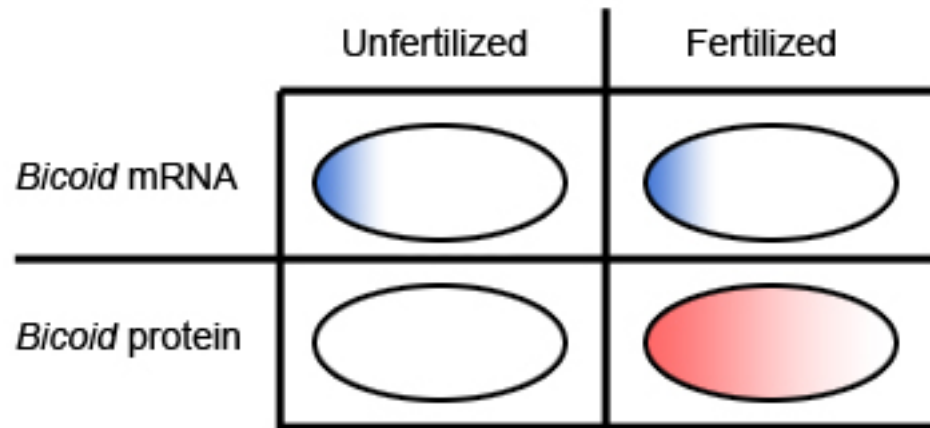
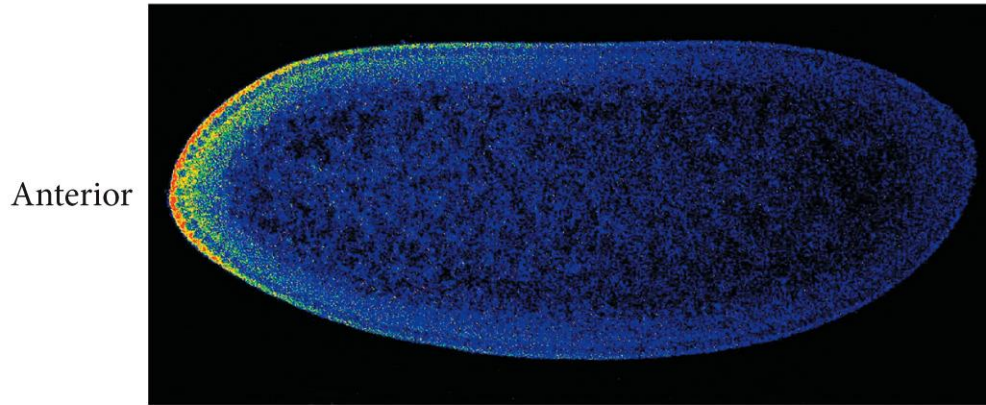
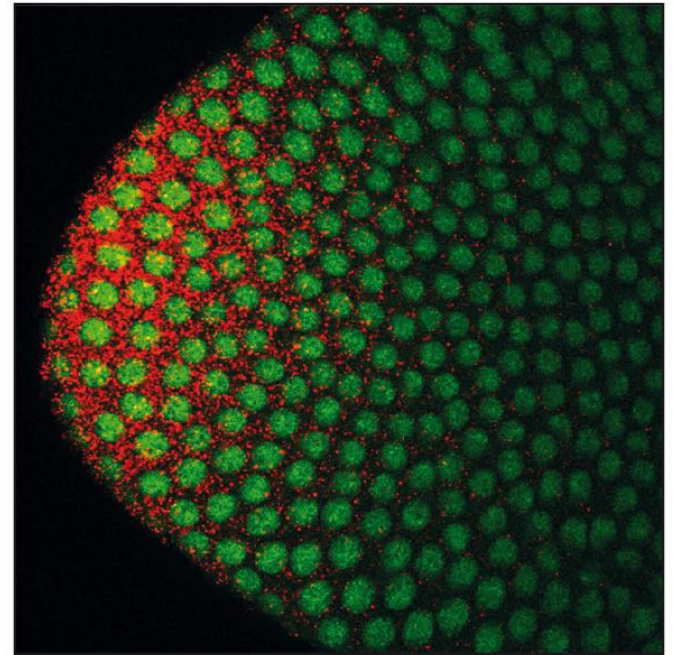
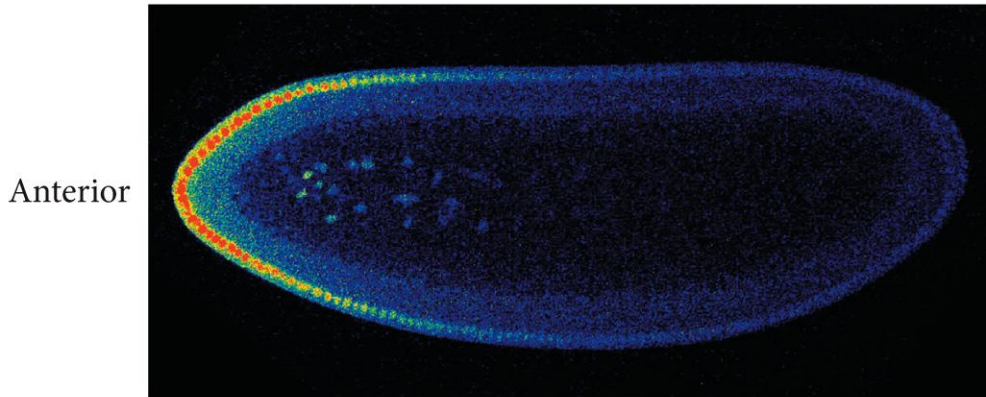


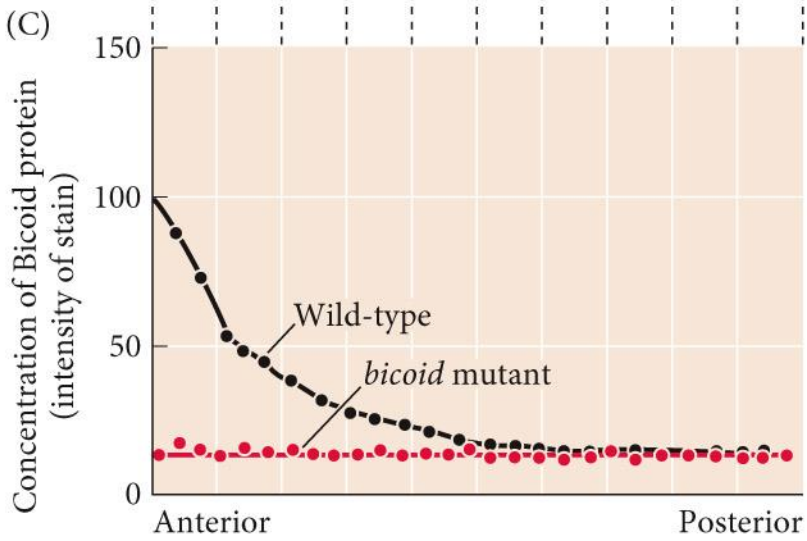
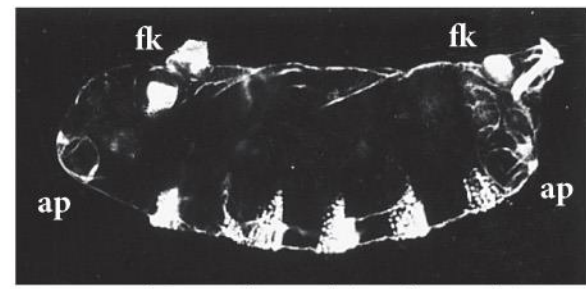
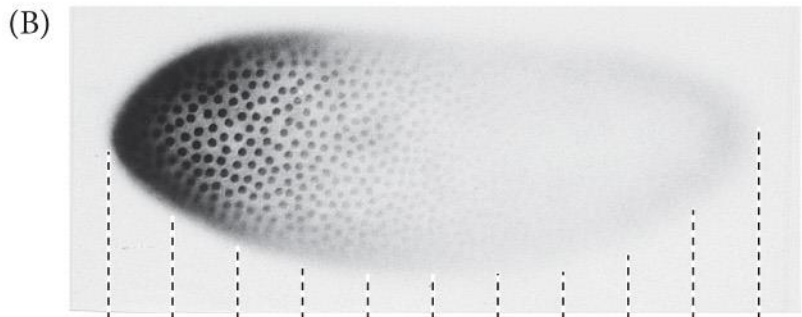
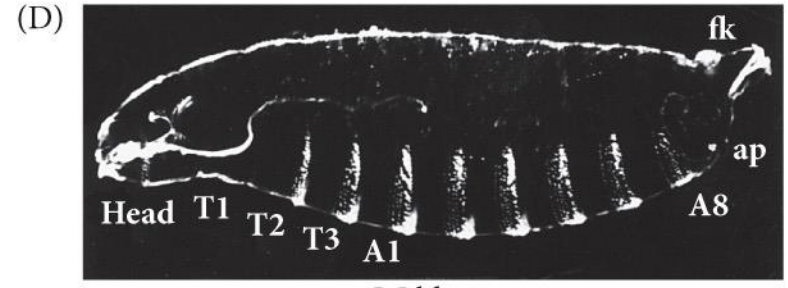
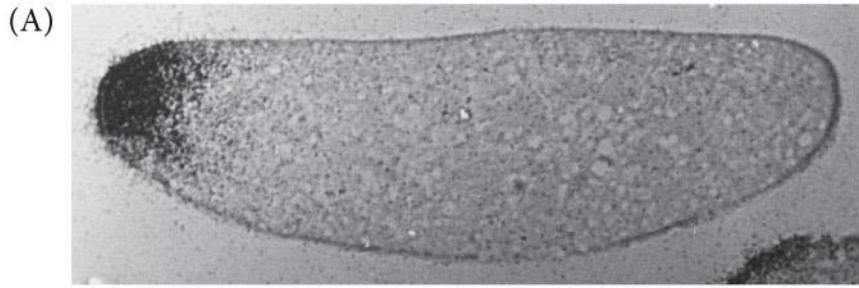
Figure 2. Distribution of *bicoid* mRNA and protein in unfertilized and fertilized *Drosophila* embryos.

(A) mRNA



(B) Protein



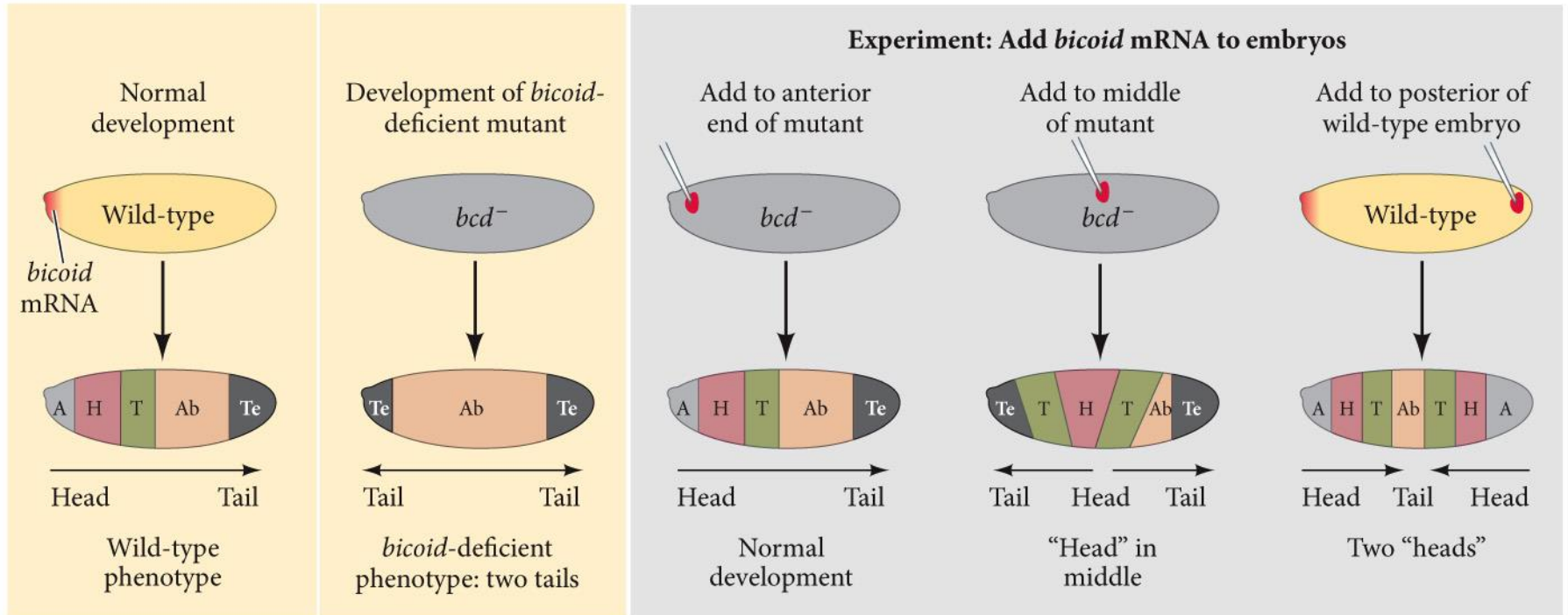


Wild-type

bicoid-deficient mutant

Il prodotto del gene *bicoid* e' responsabile della specificazione delle regioni anteriori dell'embrione

Il gradiente della proteina *bicoid* determina l'identità delle strutture (es. i segmenti cefalici si formano a concentrazioni massime della proteina)



A Acron H Head T Thorax Ab Abdomen Te Telson

DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 9.10
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Esperimento di perdita di funzione

Esperimenti di recupero

Esperimento di guadagno di funzione

I PRODOTTI DEI GENI MATERNI AGISCONO COME MORFOGENI (SEGNALE GRADUATO)

Morfogeni: molecole diffusibili che creano gradienti di concentrazione e controllano il destino cellulare promuovendo destini diversi a concentrazioni diverse

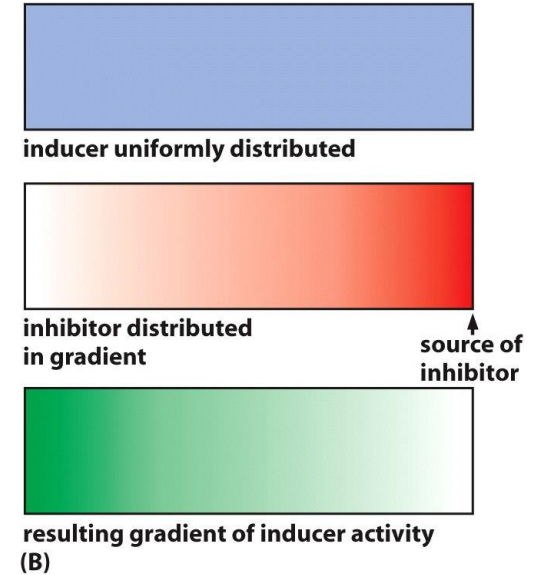
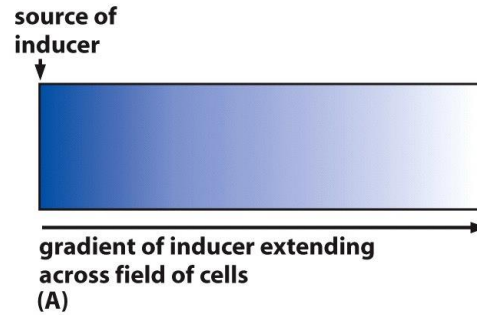
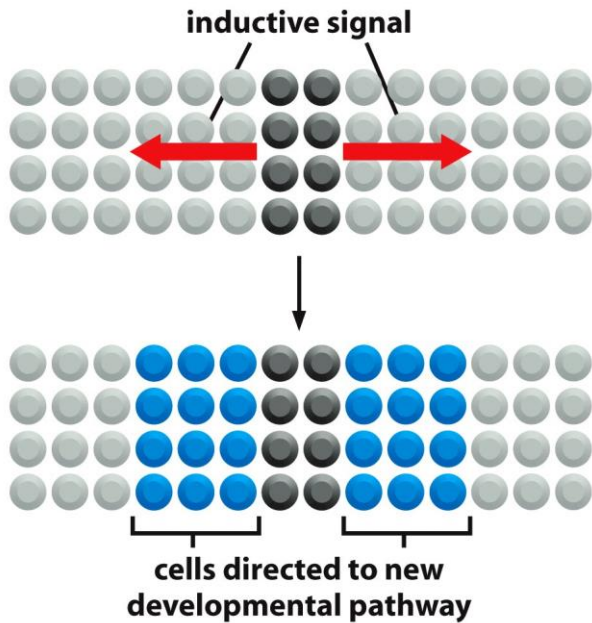


Figure 22-14 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Figure 22-10 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

