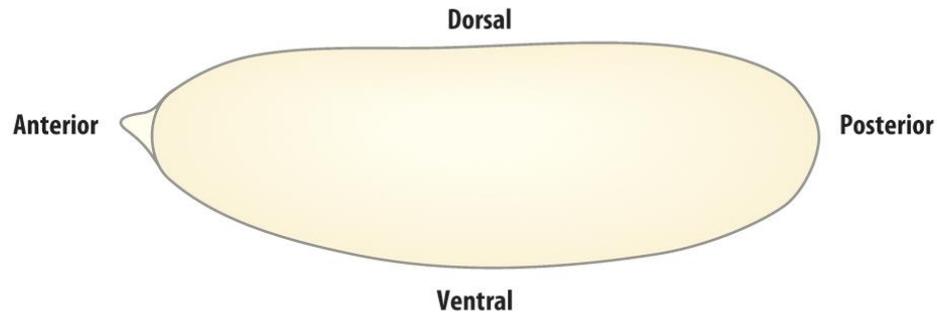
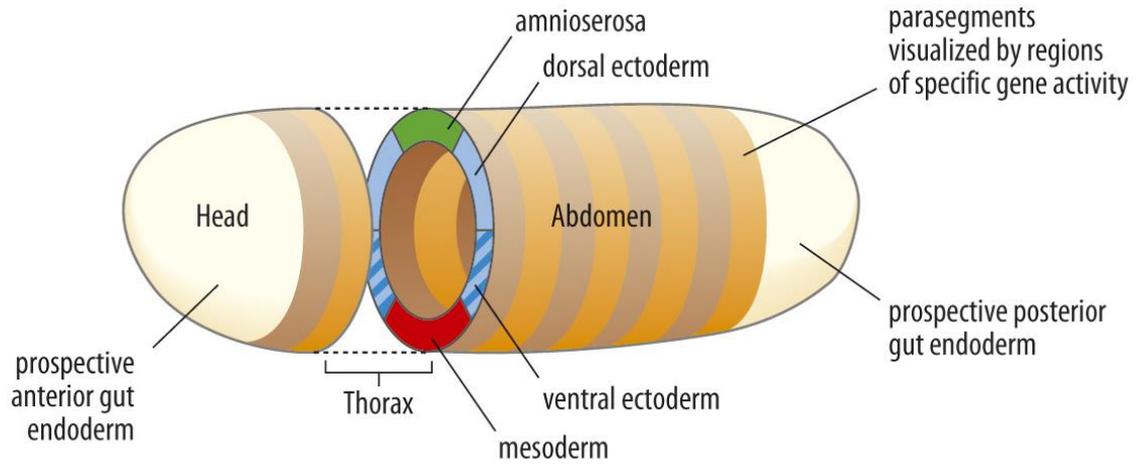


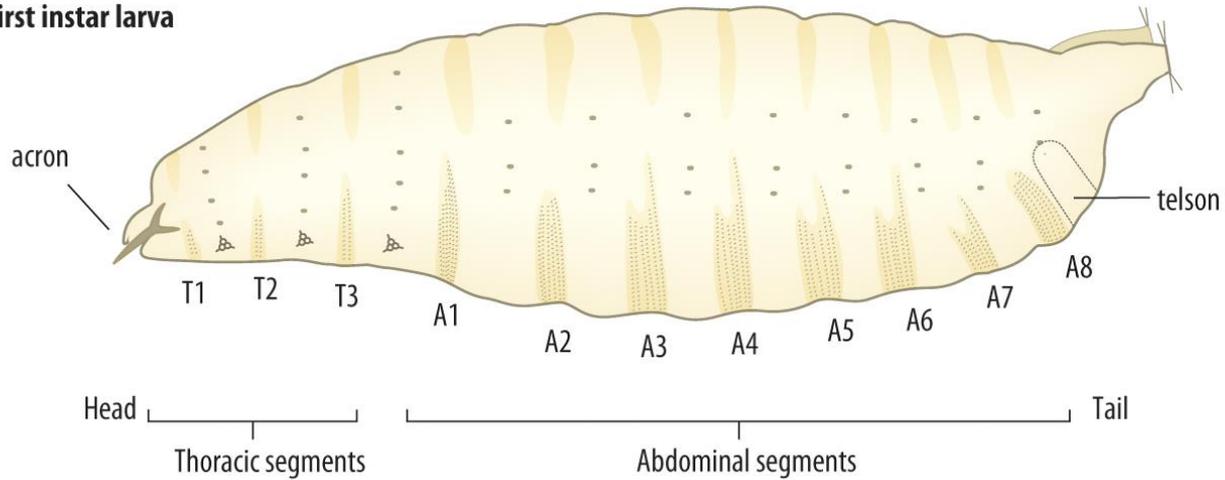
### Egg

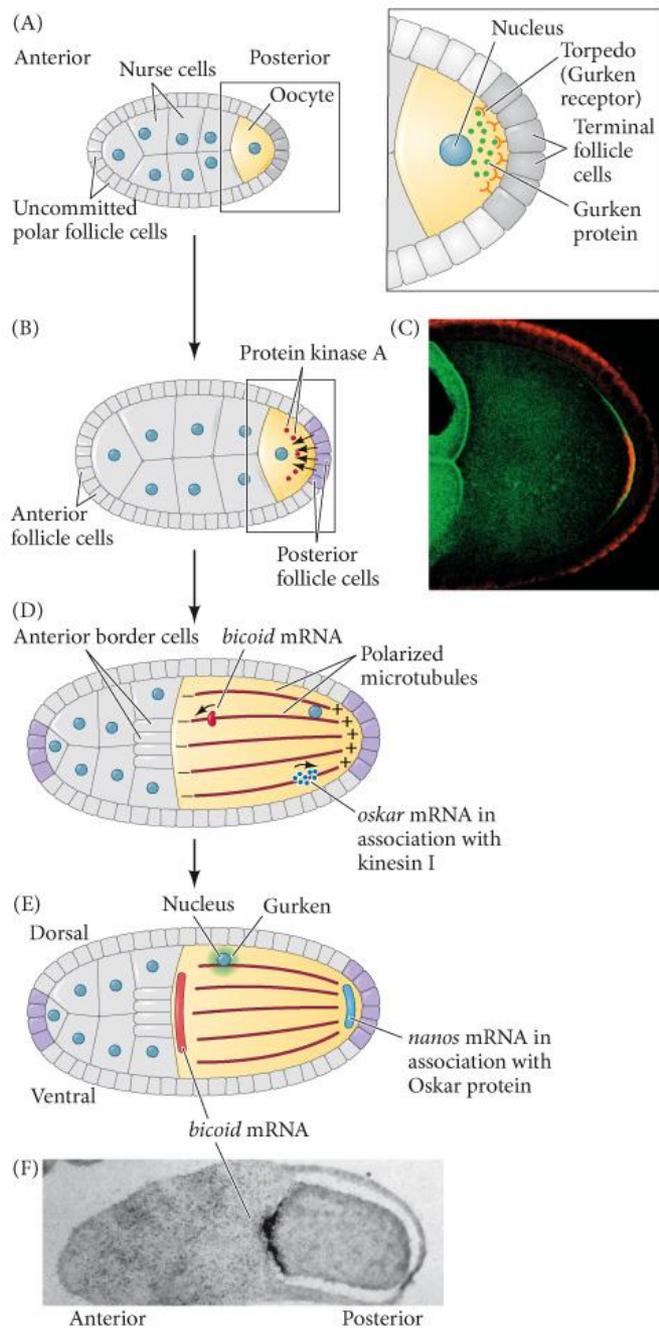


### Embryo



### First instar larva

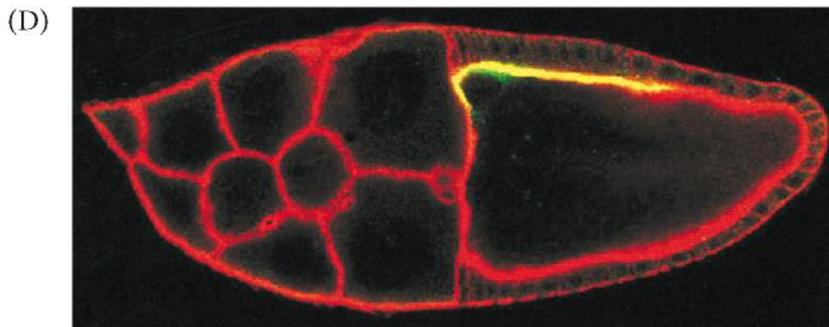
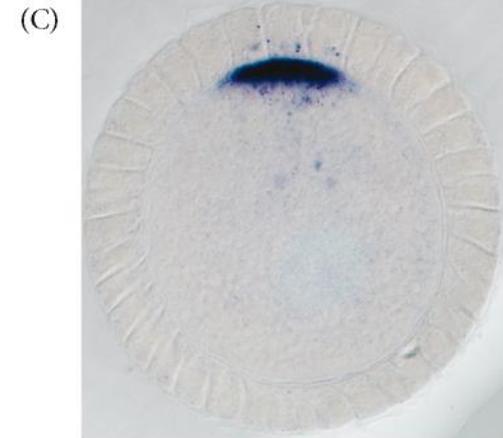
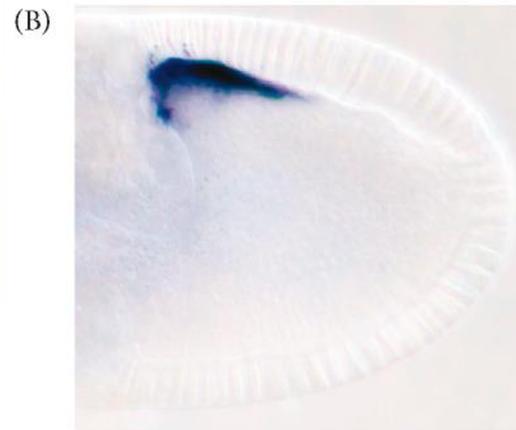
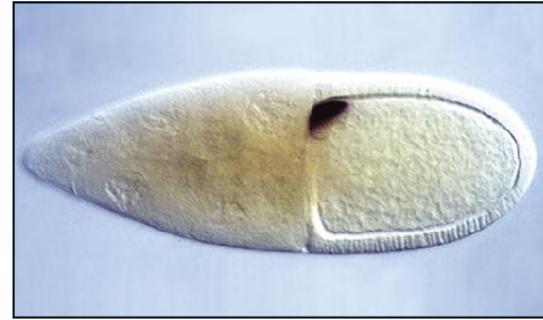
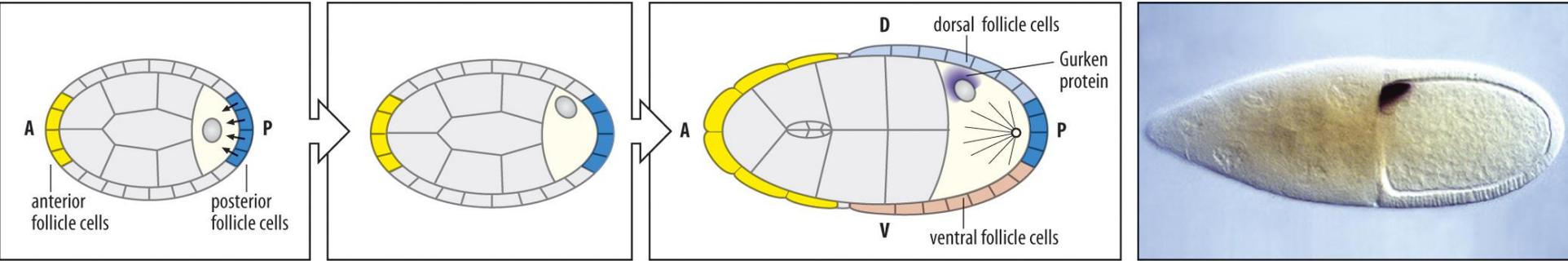




## SPECIFICAZIONE DELLA POLARITA' DORSO-VENTRALE DELL'OOCITA

Il nucleo dell'oocita migra in posizione dorsale spostandosi lungo i microtubuli. Il trascritto di **Gurken** si localizza fra il nucleo e la membrana cellulare dell'oocita. La proteina Gurken secreta dalla regione dorsale dell'oocita raggiunge solo le cellule follicolari adiacenti inducendole a divenire cellule follicolari dorsali mediante attivazione del recettore **Torpedo**.

# Localizzazione del trascritto e della proteina Gurken nella regione dorsale dell'oozita

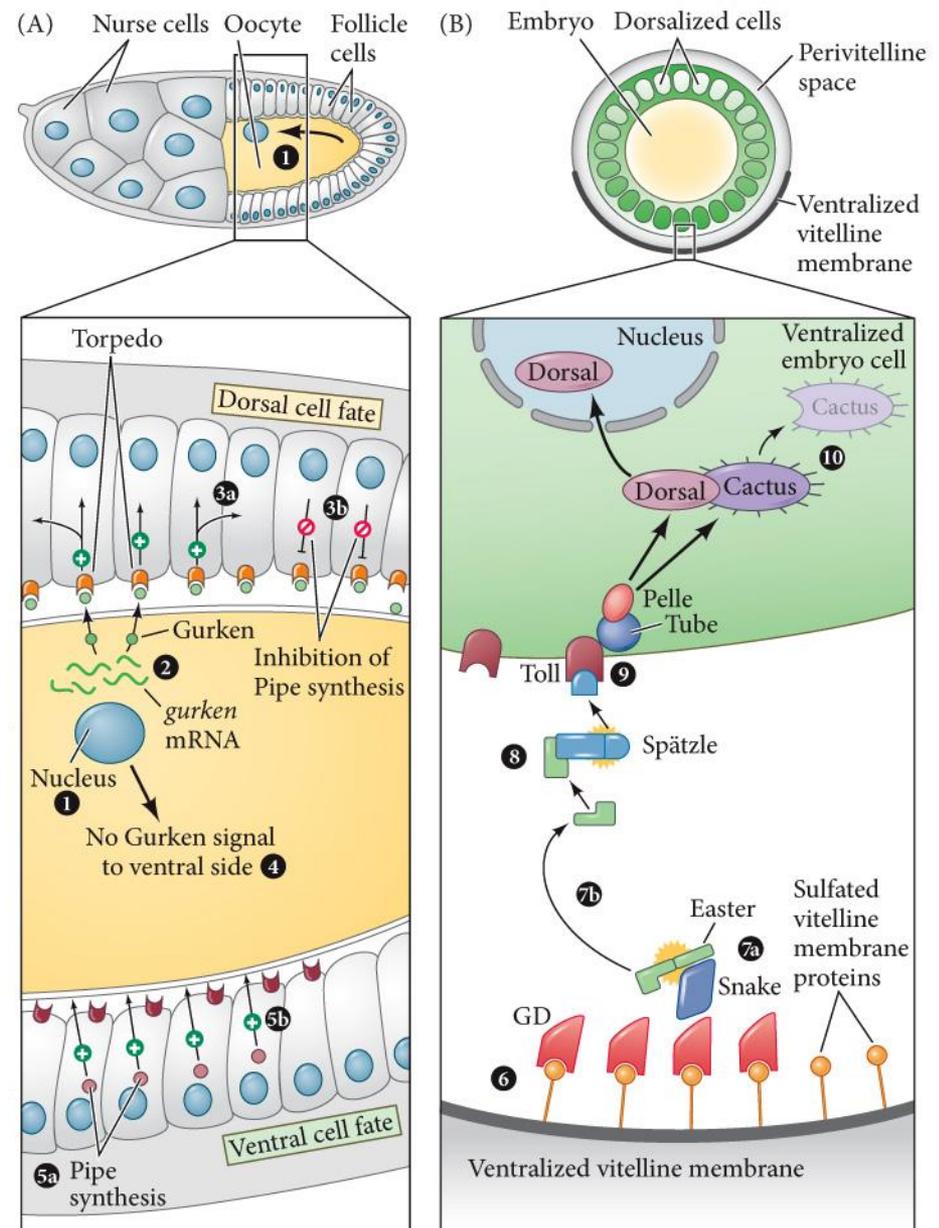


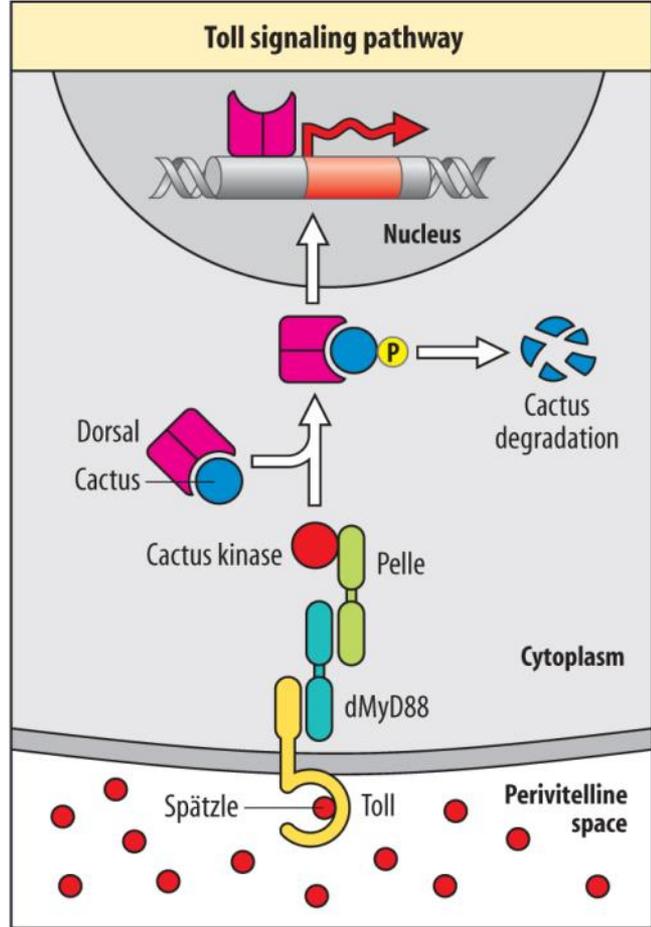
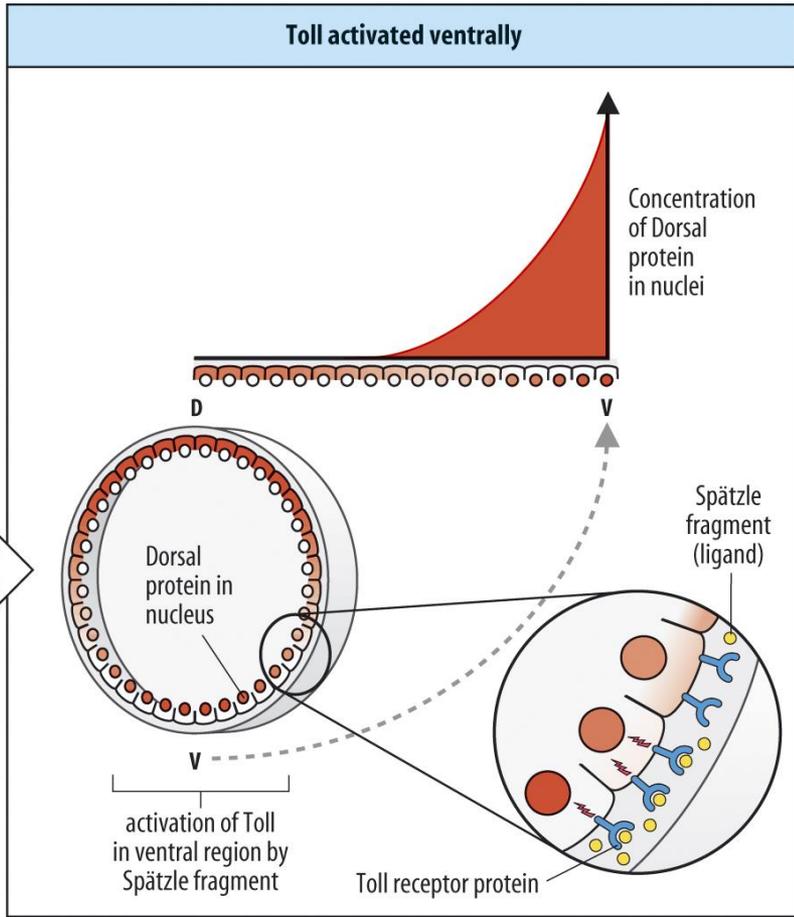
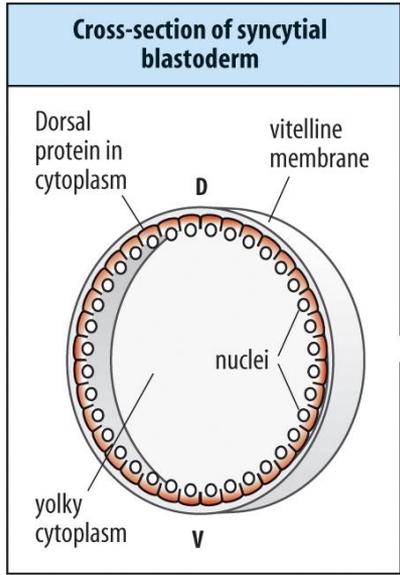
L'attivazione del recettore Torpedo causa repressione del gene **Pipe** nelle cellule dorsali. La proteina Pipe viene prodotta solo nelle cellule follicolari ventrali e provoca la modificazione di proteine solo nella parte ventrale dell'involucro vitellino.

Ciò attiva una proteasi rilasciata nello spazio fra le cellule follicolari ventrali ed il lato ventrale dell'uovo: **Easter**.  
Easter taglia il ligando **Spätzle** rendendolo capace di legare il recettore **Toll** nella parte ventrale dell'uovo.

Easter taglia il ligando **Spätzle** rendendolo capace di legare il recettore **Toll** nella parte ventrale dell'uovo.

**Dorsal** è un fattore di trascrizione prodotto dopo la fecondazione a partire da un mRNA di origine materna non localizzato (cellule nutrici). Nella parte dorsale dell'embrione esso è complessato alla proteina **Cactus** ed inattivo. L'attivazione del recettore Toll nella regione ventrale provoca una cascata di trasduzione del segnale che attiva la chinasi **Pelle**. Pelle fosforila Cactus che viene degradato, rilasciando Dorsal nella regione ventrale.





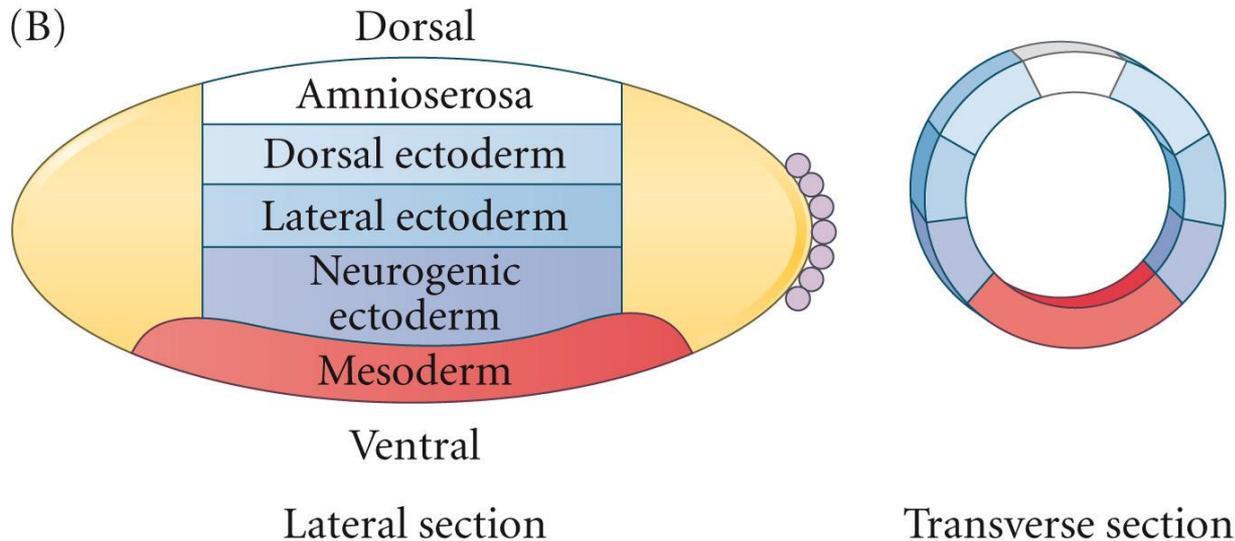
(A)



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 9.29 (Part 1)  
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

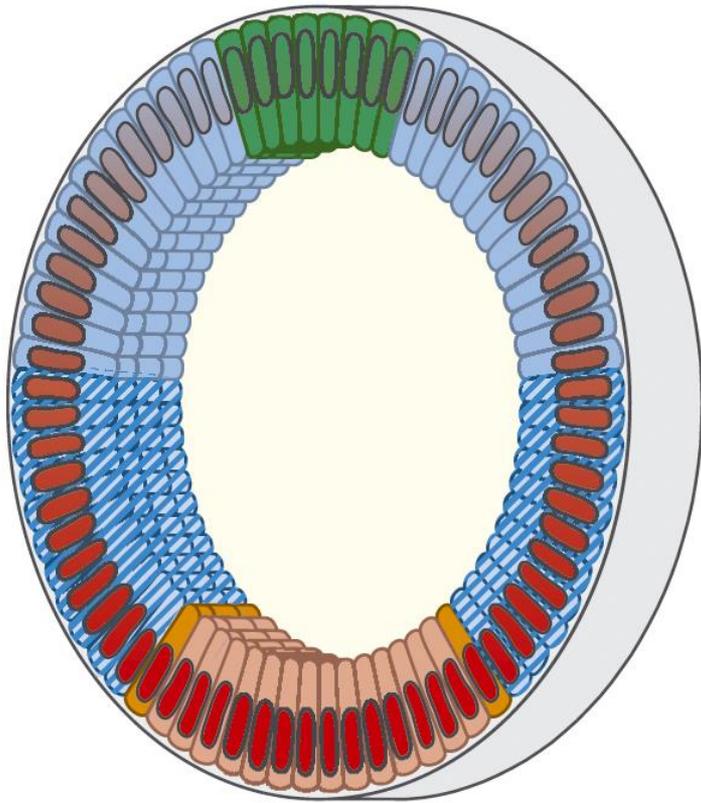
La proteina Dorsal si distribuisce con un gradiente ventro-dorsale nei nuclei del blastoderma sinciziale ed agisce come **morfogeno** della polarità dorsoventrale. Livelli elevati di dorsal -> mesoderma, livelli intermedi -> neuroectoderma, livelli bassi -> ectoderma non neurale

(B)

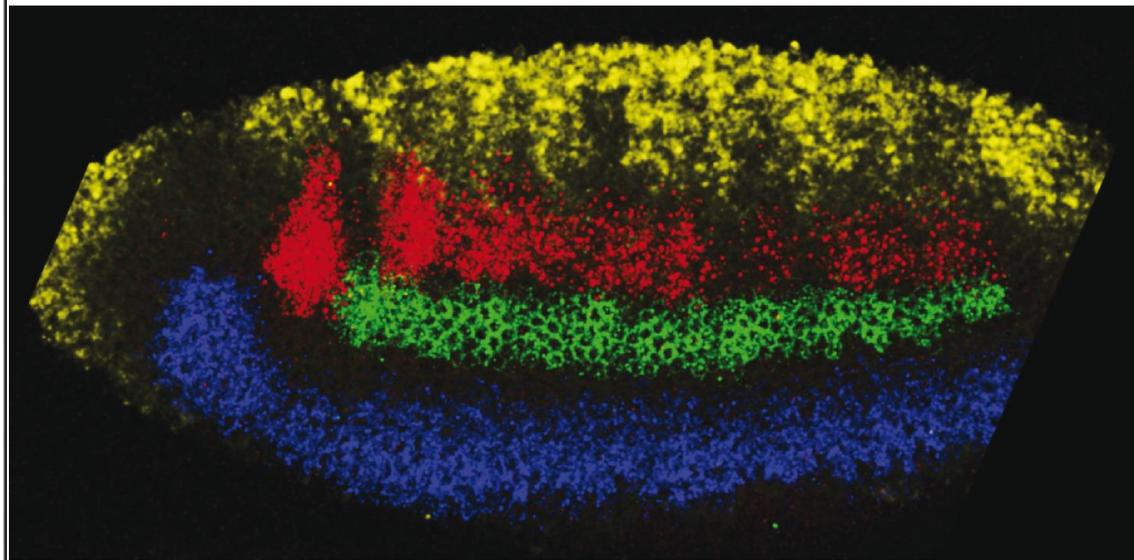


DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 9.29 (Part 2)  
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Dorsal

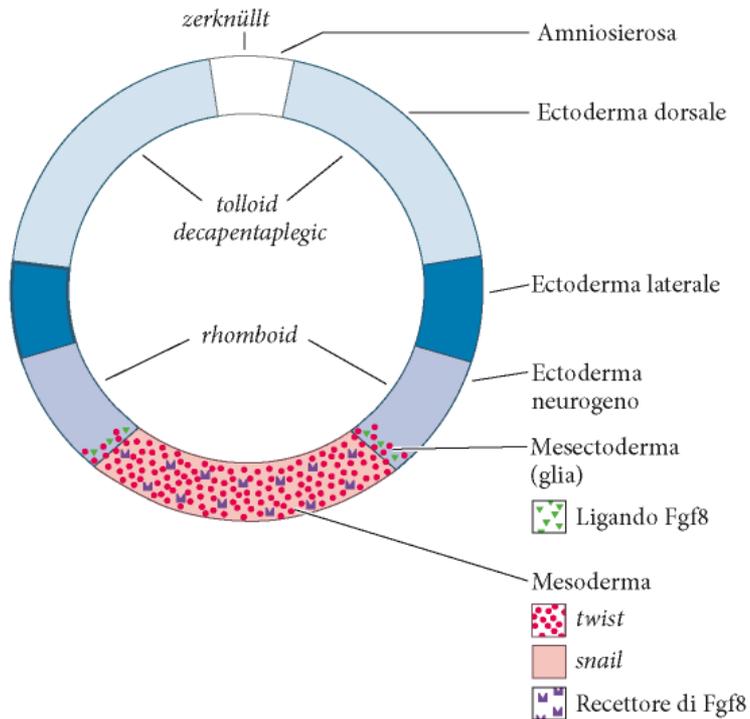


Ventral



-  amnioserosa (*zerknüllt*)
-  dorsal ectoderm (*decapentaplegic, tolloid*)
-  neurectoderm (*rhomboid*)
-  mesoderm (*twist, snail*)
-  mesectoderm (*single-minded*)
-  Dorsal gradient

(A) Modellatura dorsale dell'embrione

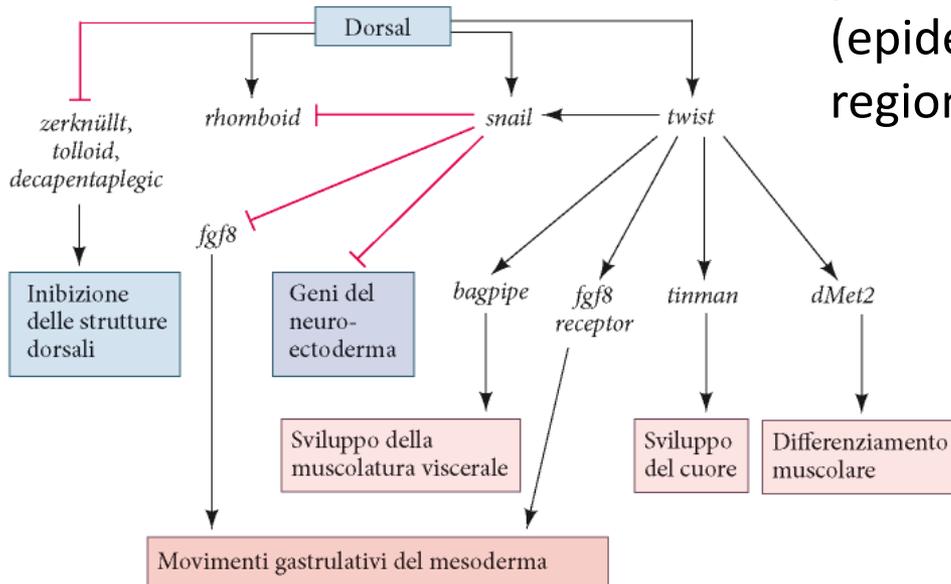


**Alti livelli** di Dorsal nelle cellule ventrali promuovono l'espressione di geni mesodermici (**Snail, Twist**).

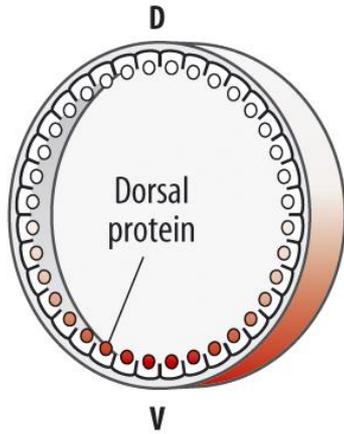
**Livelli intermedi** di Dorsal promuovono espressione del gene **Rhomboid** nelle regioni laterali. Ventralmente Rhomboid e' represso da Snail e Twist.

Livelli elevati e intermedi di Dorsal reprimono l'espressione di geni (**Decapentaplegic**) che promuovono destini ectodermici dorsali (epidermide), che rimangono espressi nella regione dorsale.

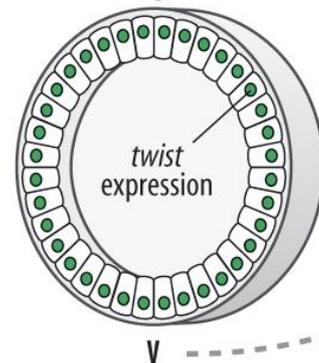
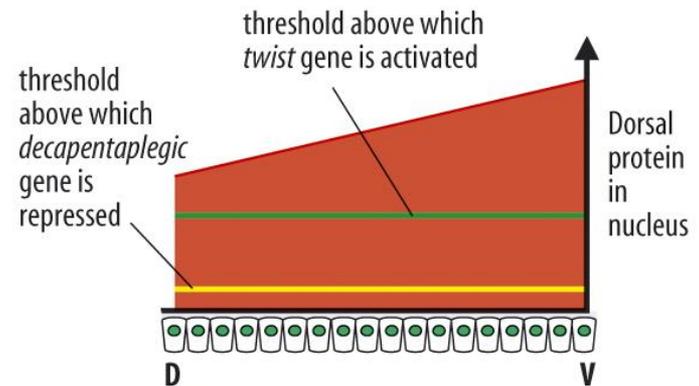
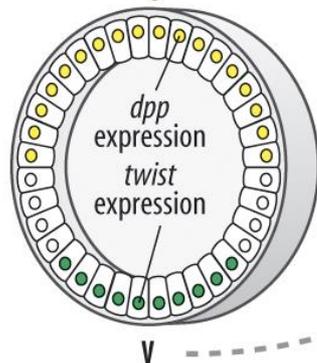
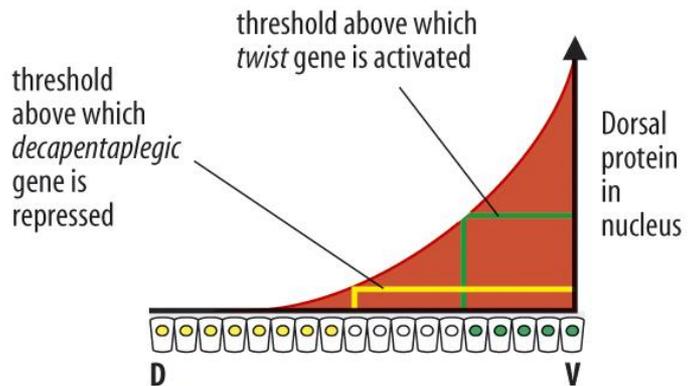
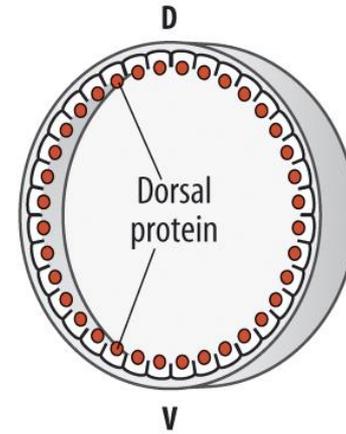
(B) Modellatura ventrale dell'embrione



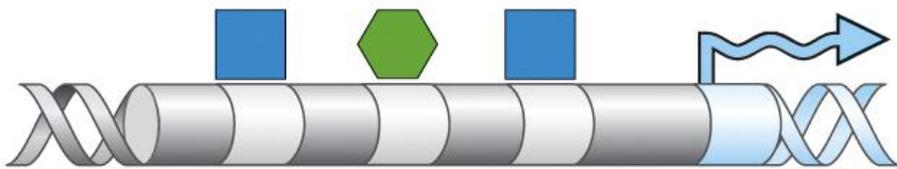
### Wild type



### Ventralized

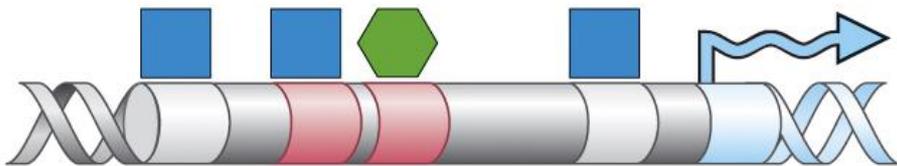


*snail*



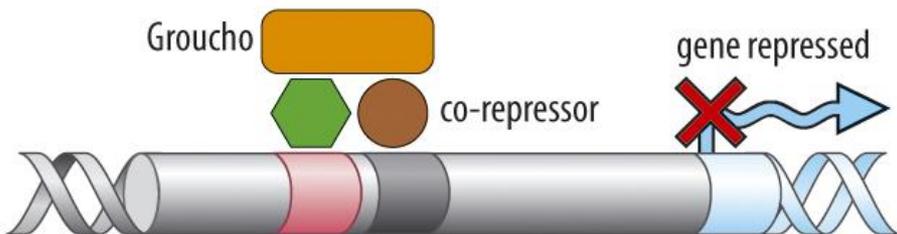
**Geni mesodermici** (twist, snail): siti di legame per dorsal a **bassa affinità**; possono essere espressi solo nella regione ventrale del blastoderma (mesoderma).

*rhomboid*



**Geni neurali** (rhomboid): siti di legame per dorsal ad **alta affinità**; potrebbero essere espressi sia nella regione ventrale, sia in quella intermedia del blastoderma. Vengono però esclusi dalla regione ventrale in quanto presentano siti di legame **per i fattori twist e snail**, che li reprimono, confinandoli alla regione intermedia (ectoderma neurale).

*dpp, zen*

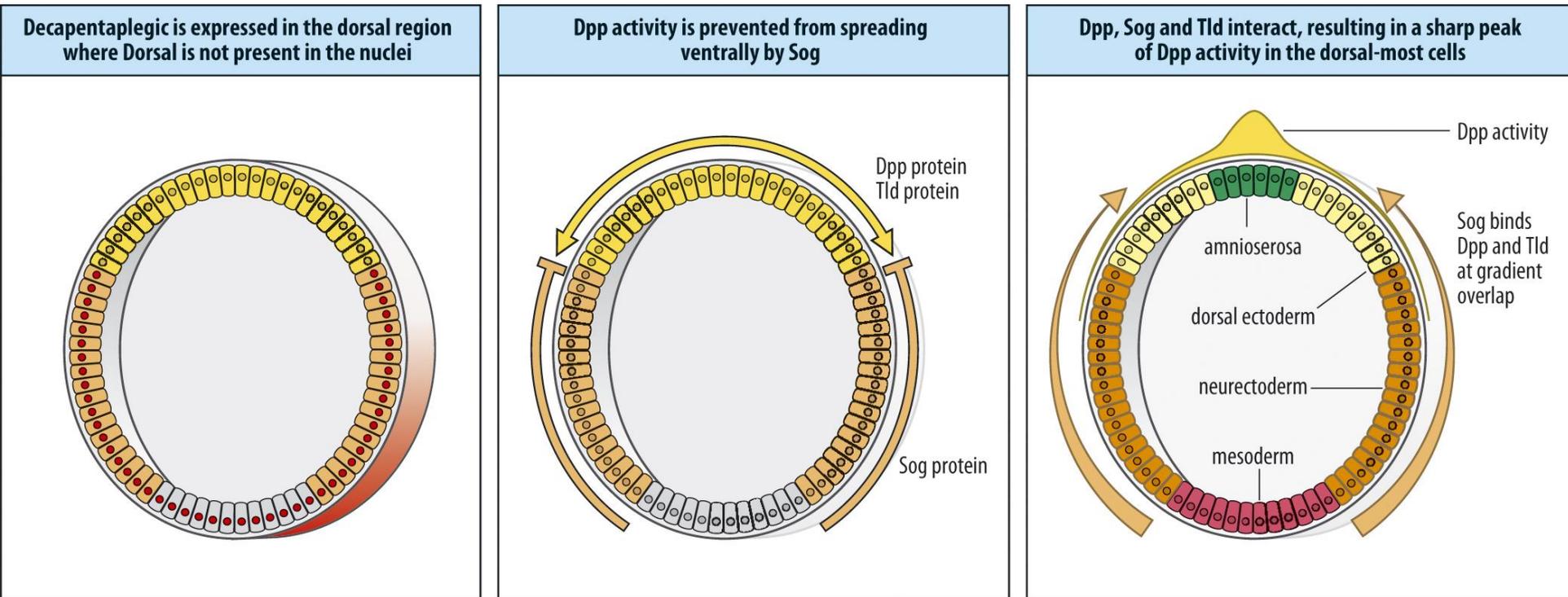


**Geni dell'ectoderma non neurale** (decapentaplegic): siti ad **alta affinità** per dorsal, ma fiancheggiati da siti di legame per **repressori trascrizionali**. Vengono quindi repressi da dorsal nelle regioni ventrale e intermedia, e possono essere espressi solo nella regione dorsale.

binding sites



# Regionalizzazione dell'ectoderma embrionale di *Drosophila* in una regione dorso-laterale (a destino non neurale) ed in una regione latero-ventrale neurogenica.

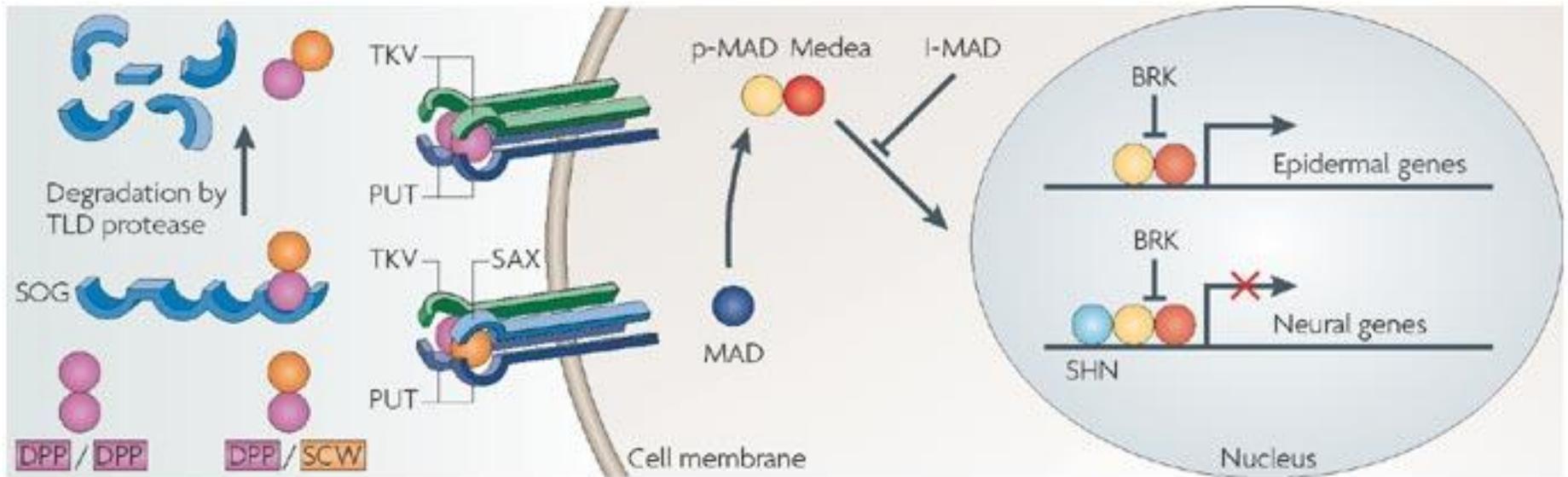


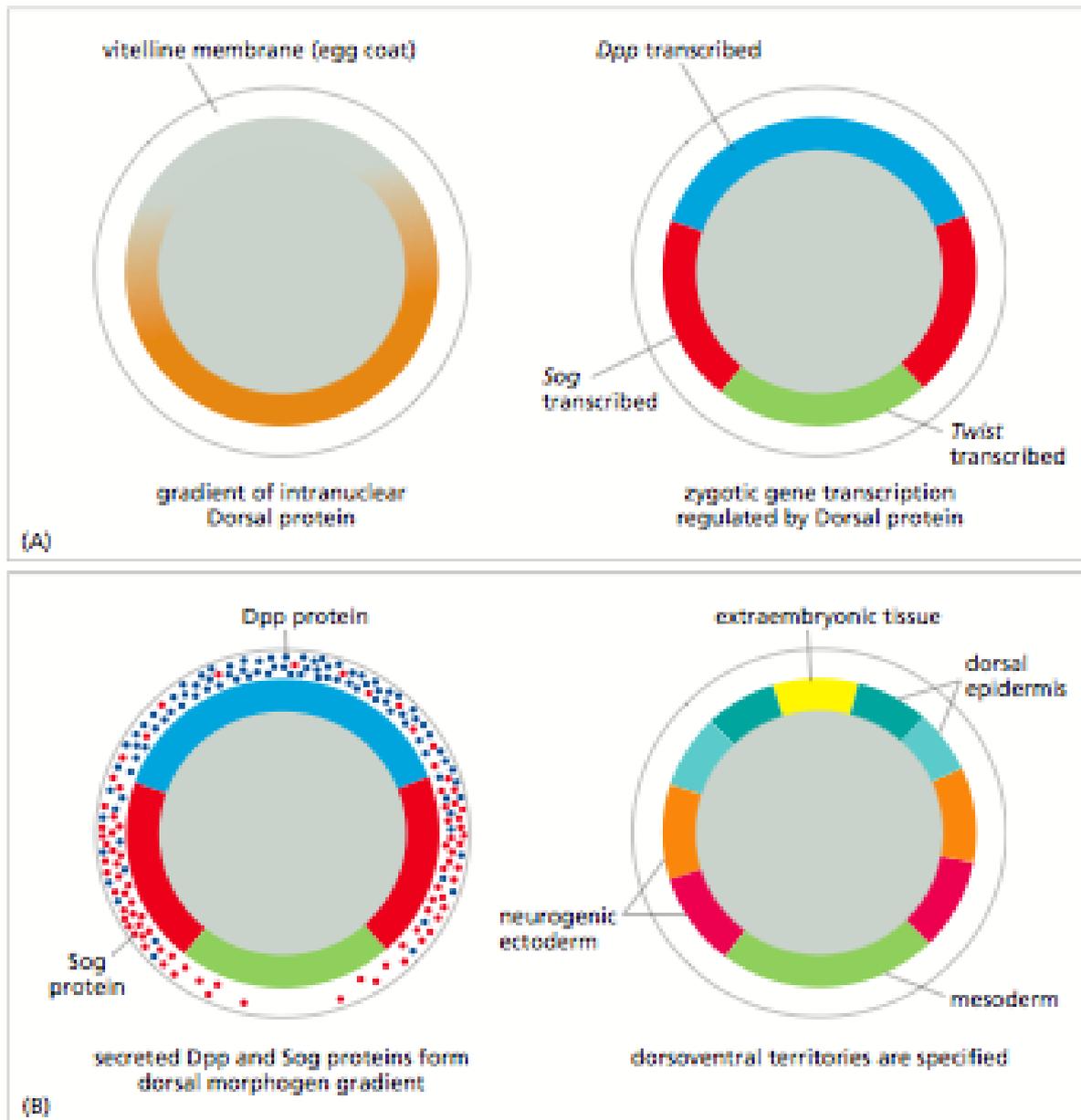
■ Dorsal protein  
 ■ *decapentaplegic, tolloid*  
 ■ *sog*

Livelli intermedi di Dorsal attivano il gene **Short Gastrulation** (Sog) che inibisce Decapentaplegic (Dpp).

Decapentaplegic (Dpp) codifica per una molecola di segnale della famiglia **TGFbeta**, che attiva una cascata di trasduzione del segnale che promuove lo sviluppo epidermico e reprime lo sviluppo ectodermico neurale.

Short gastrulation (Sog) codifica per una molecola extracellulare che **sequestra** **Dpp** impedendo il legame al recettore e l'attivazione della via di segnale (antagonista di Dpp).



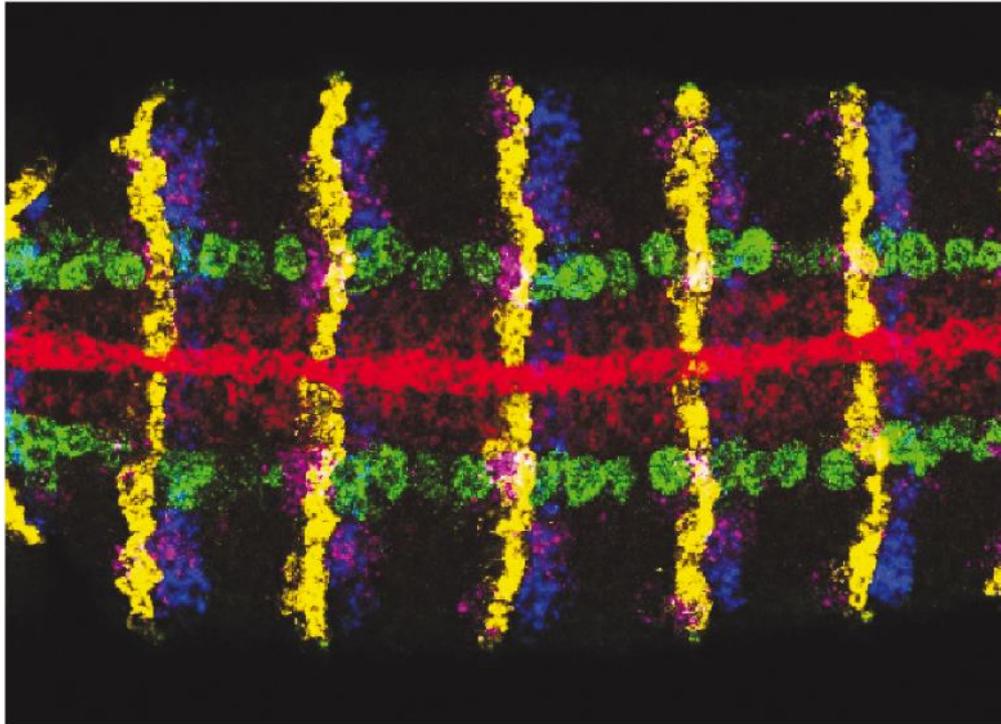


**Figure 22–34 Morphogen gradients patterning the dorsoventral axis of the embryo.** (A) The gradient of Dorsal protein defines three broad territories of gene expression, marked here by the expression of three representative genes—*Dpp*, *Sog*, and *Twist*. (B) Slightly later, the cells expressing *Dpp* and *Sog* secrete, respectively, the signal proteins Dpp (a TGF $\beta$  family member) and Sog (an antagonist of Dpp). These two proteins diffuse and interact with one another (and with certain other factors) to set up a gradient of Dpp activity that guides a more detailed patterning process.

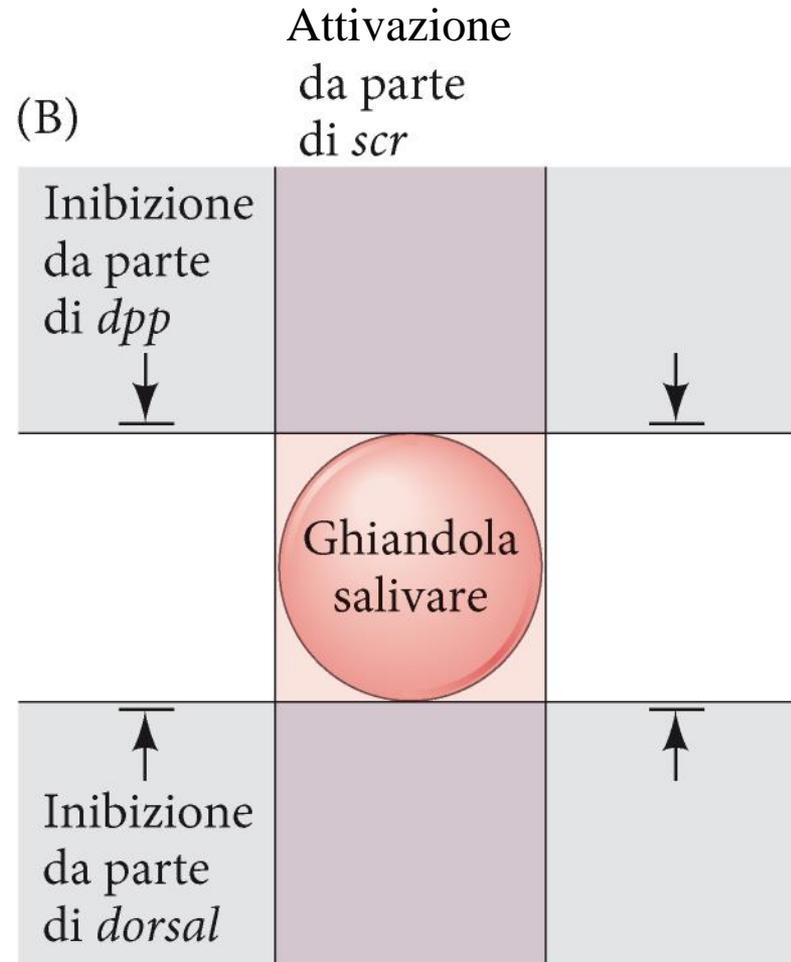
## Sistema di coordinate cartesiane per la specificazione dell'identità posizionale

L'intersezione fra il sistema di controllo AP e quello DV permette la formazione di ghiandole salivari solo al livello della regione intermedia del secondo parasegmento

(A)



(B)



## Tabella 3.3 Le modalità della specificazione dei tipi cellulari e loro caratteristiche

### I. Specificazione autonoma

Caratteristica di molti invertebrati.

Specificazione per acquisizione differenziale di certe molecole citoplasmatiche presenti nell'uovo.

Segmentazioni invarianti producono le stesse linee in ciascun embrione della specie. Il destino dei blastomeri è generalmente fisso.

La specificazione dei tipi cellulari precede qualunque migrazione di cellule embrionali su larga scala.

Produce uno sviluppo «a mosaico»: le cellule non possono modificare il loro destino se viene perduto un blastomero.

### II. Specificazione condizionata

Caratteristica di tutti i vertebrati e di alcuni invertebrati.

Specificazione mediante interazioni tra cellule. Sono importanti le relative posizioni.

Segmentazioni variabili producono l'assegnazione alle cellule di un destino non fisso.

Massivi riordinamenti e migrazioni cellulari precedono o accompagnano la specificazione.

Capacità di sviluppo «regolativo»: permette alle cellule di acquisire funzioni differenti.

### III. Specificazione sinciziale

Caratteristica di molte classi di insetti.

Specificazione di regioni del corpo mediante interazioni di regioni del citoplasma prima che avvenga la suddivisione del blastodermi: cellule.

Una segmentazione variabile produce destini cellulari non rigidi per particolari nuclei.

Dopo la suddivisione in cellule, si osserva molto spesso una specificazione condizionata.

---

# MECCANISMI ALLA BASE DEL DIFFERENZIAMENTO CELLULARE

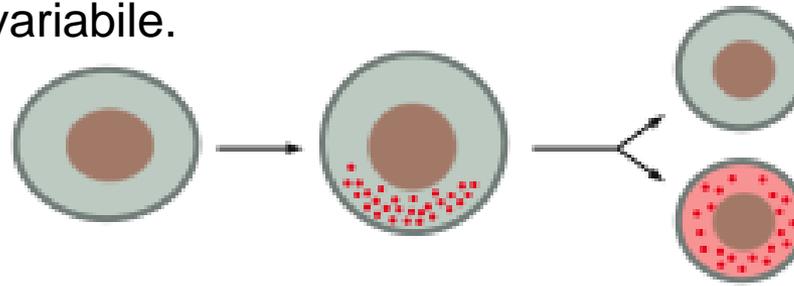
1) **Determinanti citoplasmatici** localizzati asimmetricamente nello zigote, che vengono ereditati asimmetricamente durante le divisioni cellulari.

**Specificazione autonoma (sviluppo a mosaico).**

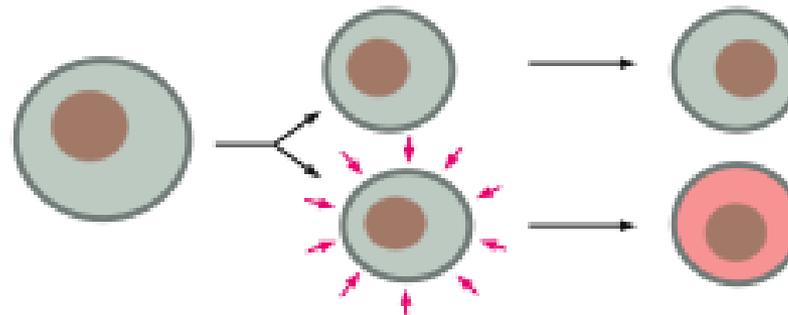
2) **Interazioni induttive intercellulari**, in cui alcune cellule possono indurre cellule adiacenti a modificare il loro destino di sviluppo.

**Specificazione condizionata (sviluppo regolativo).**

Non sono possibilità mutualmente esclusive, ma coesistono sempre nei diversi organismi in misura variabile.



1. asymmetric division: sister cells born different



2. symmetric division: sister cells become different as result of influences acting on them after their birth

# IL NEMATODE *C. elegans* E' UN MODELLO SPERIMENTALE MOLTO UTILIZZATO PER STUDI DI GENETICA DELLO SVILUPPO



Robert Horvitz  
John Sulston  
Sydney Brenner  
(2002 Nobel Prize)

Piccole dimensioni: 1mm

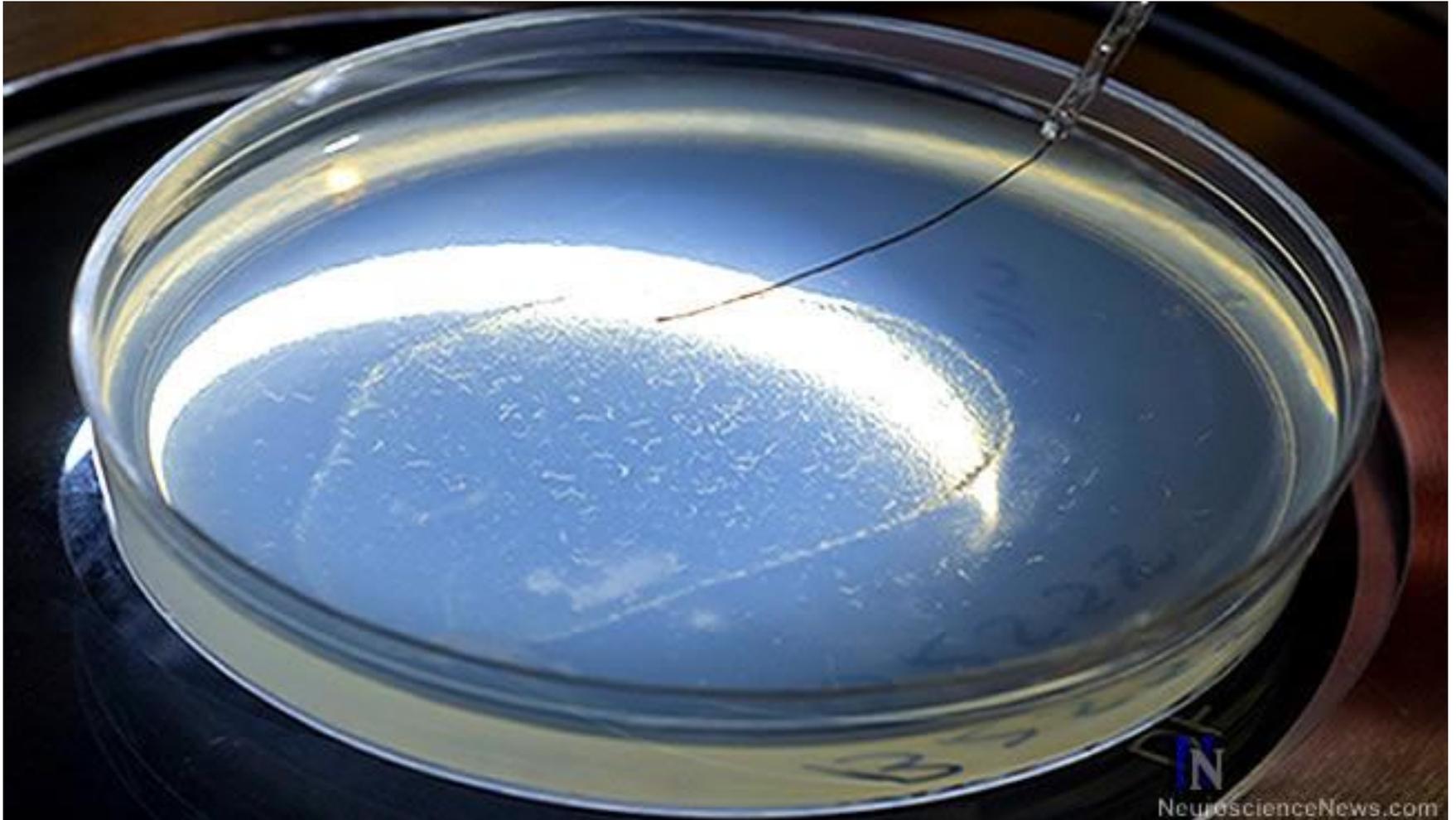
Embriogenesi rapida: 16 ore

Basso numero di cellule: 959 cellule somatiche

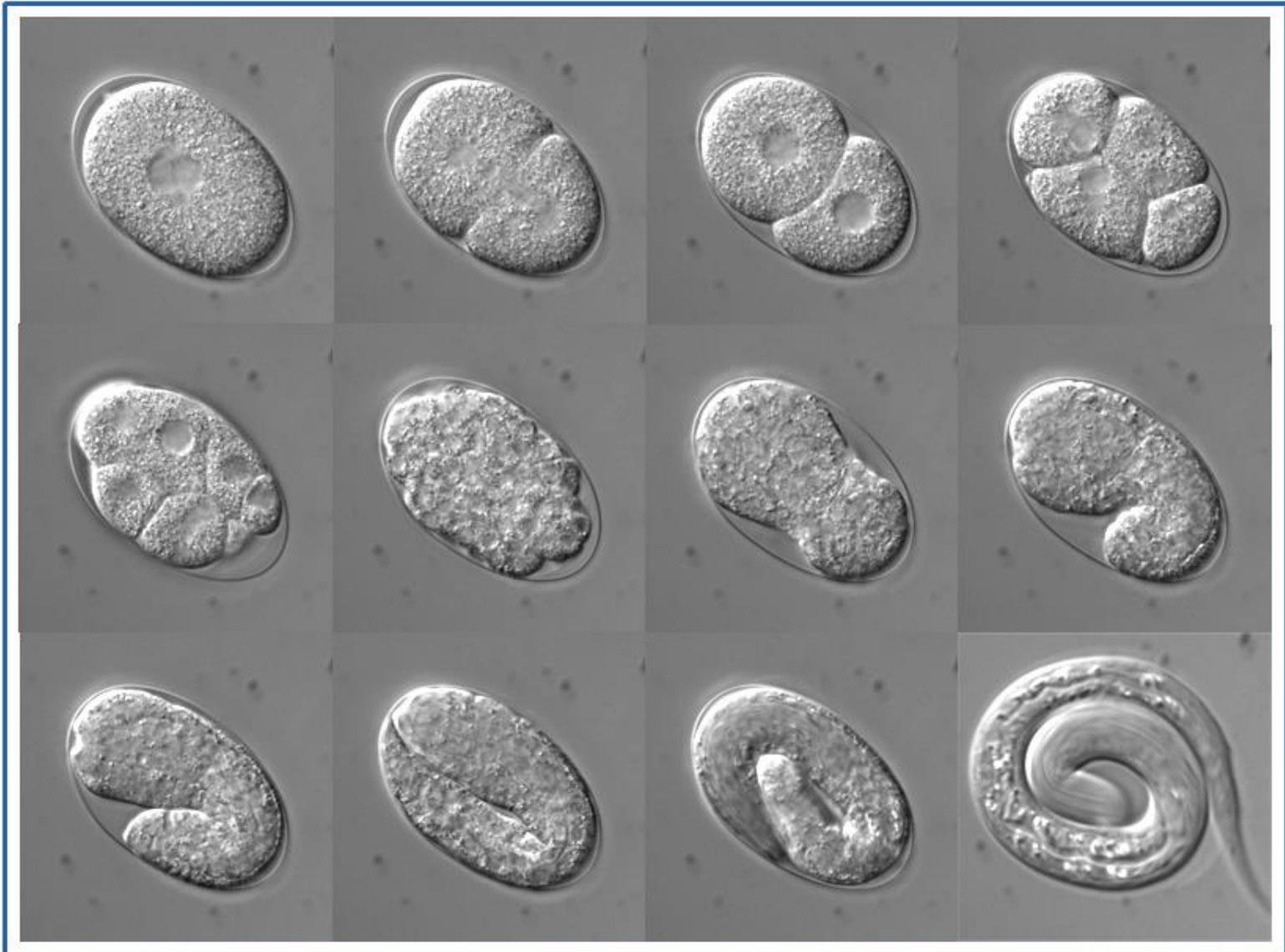
Genoma compatto: 3% del genoma umano (sebbene n. di geni sia comparabile)

Splicing di RNA messaggeri molto limitato

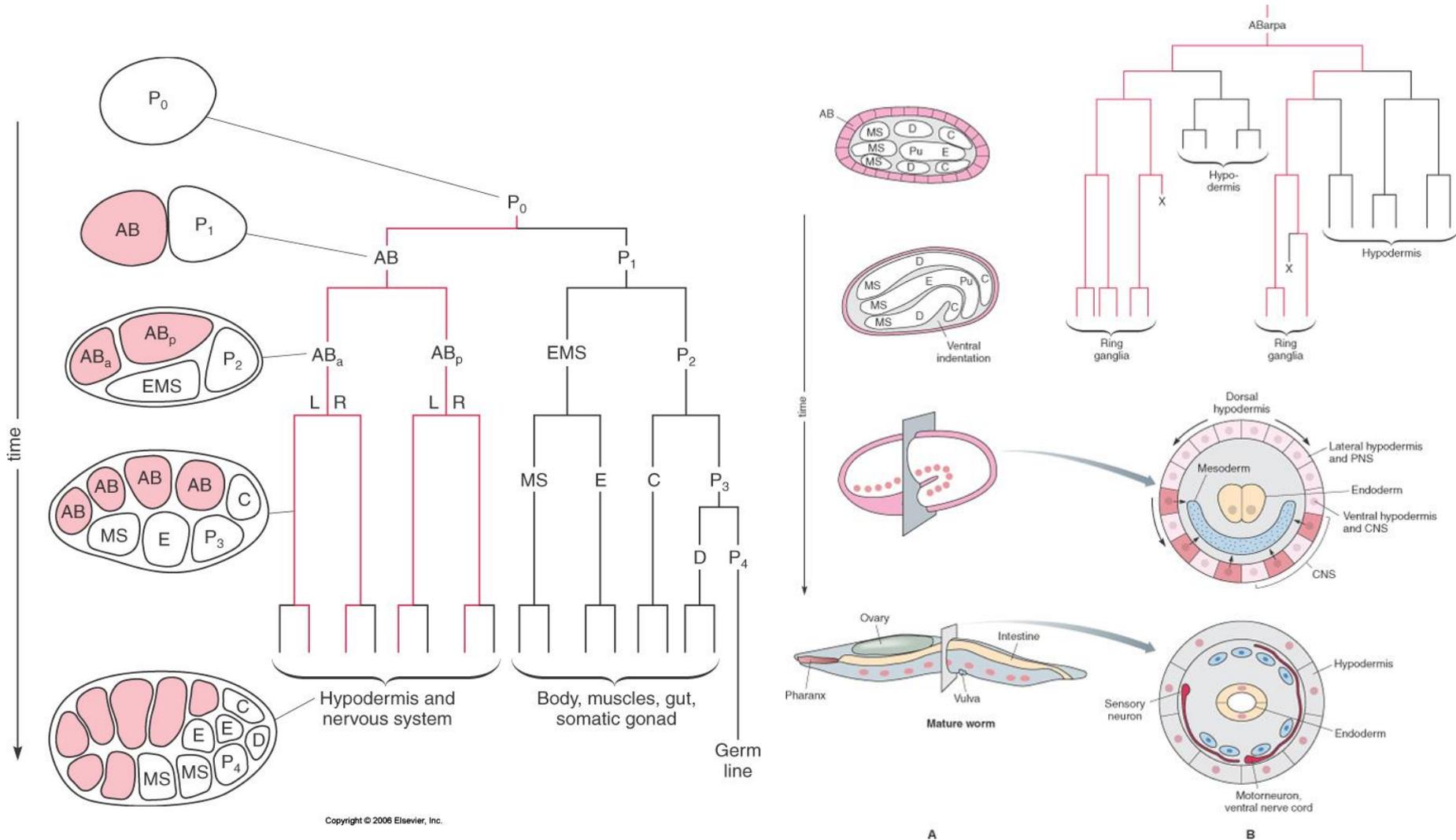
***C. elegans*, NEMATODE NON PARASSITA: puo' compiere tutto il suo ciclo vitale in piastre da laboratorio**



**EMBRIONI DI *C. elegans* SONO TRASPARENTI ED E' POSSIBILE  
OSSERVARE FACILMENTE AL MICROSCOPIO  
IL LORO SVILUPPO IN MODO DETTAGLIATO**

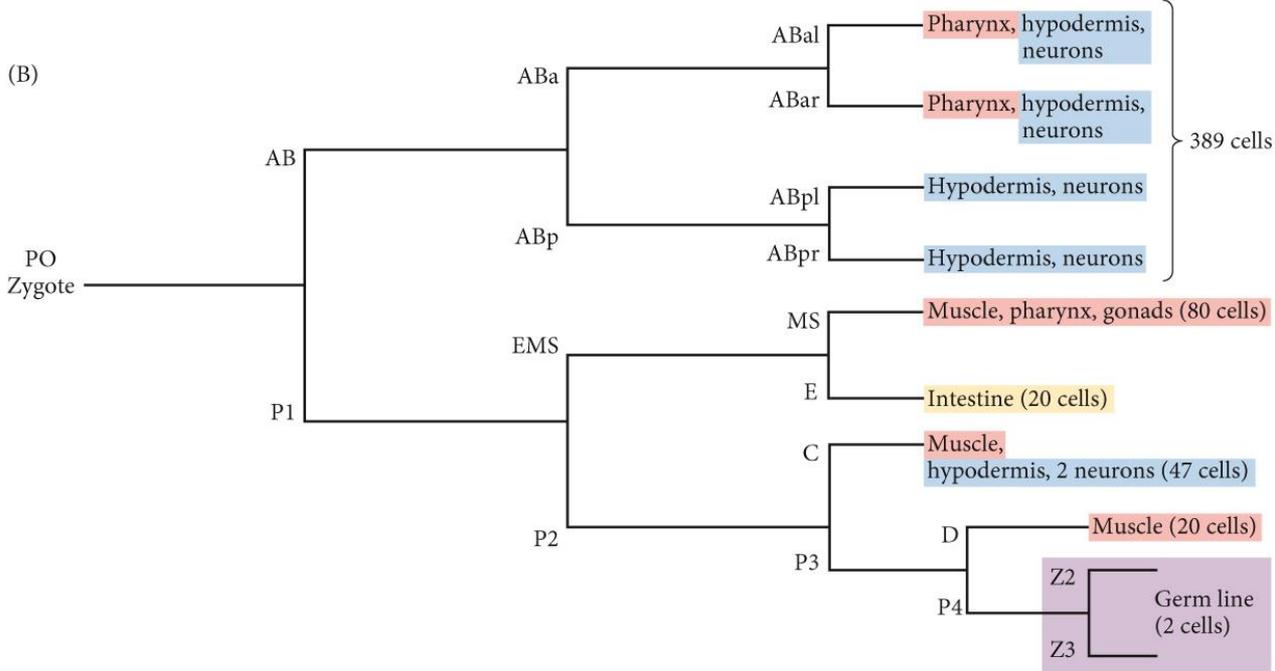
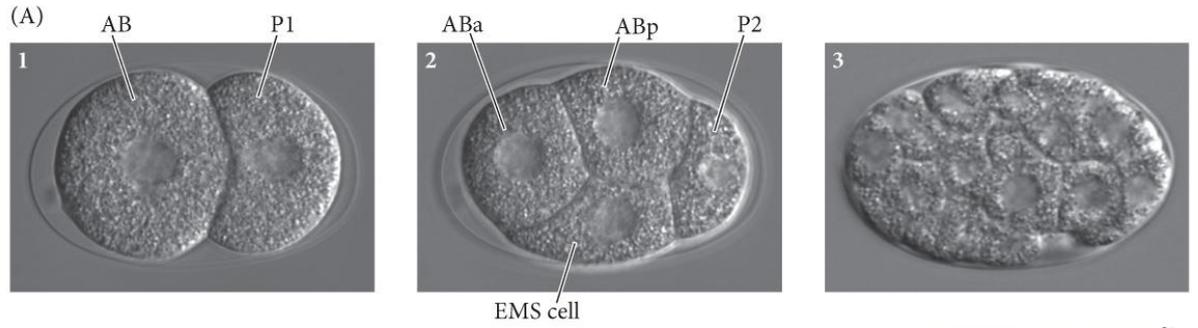


# LO SVILUPPO DEL *C. elegans* E' CARATTERIZZATO DA UNA GENEALOGIA CELLULARE STEREOTIPATA: per ciascuna cellula somatica e' stata tracciata l'intera linea di discendenza.



Segmentazione oloblastica con divisioni asimmetriche che danno origine a cellule fondatrici (AB, MS, E, C, D) dei tessuti differenziati e ad una cellula staminale (linea P1-P4) che formerà le cellule germinali.

La prima divisione è asimmetrica con piano spostato verso il polo posteriore: produce cellula AB e cellula P1. Le successive divisioni delle cellule P sono anch'esse asimmetriche e producono una cellula staminale che rimane al polo posteriore. Le cellule fondatrici si dividono in modo stereotipato, producendo un numero definito (959) di cellule somatiche.



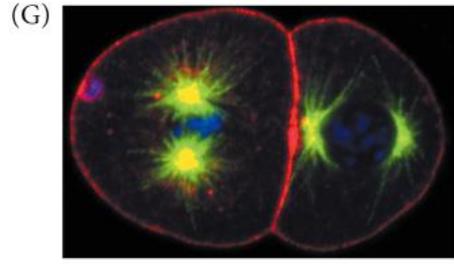
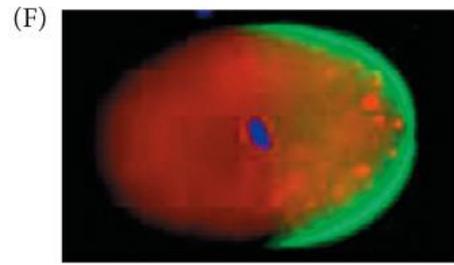
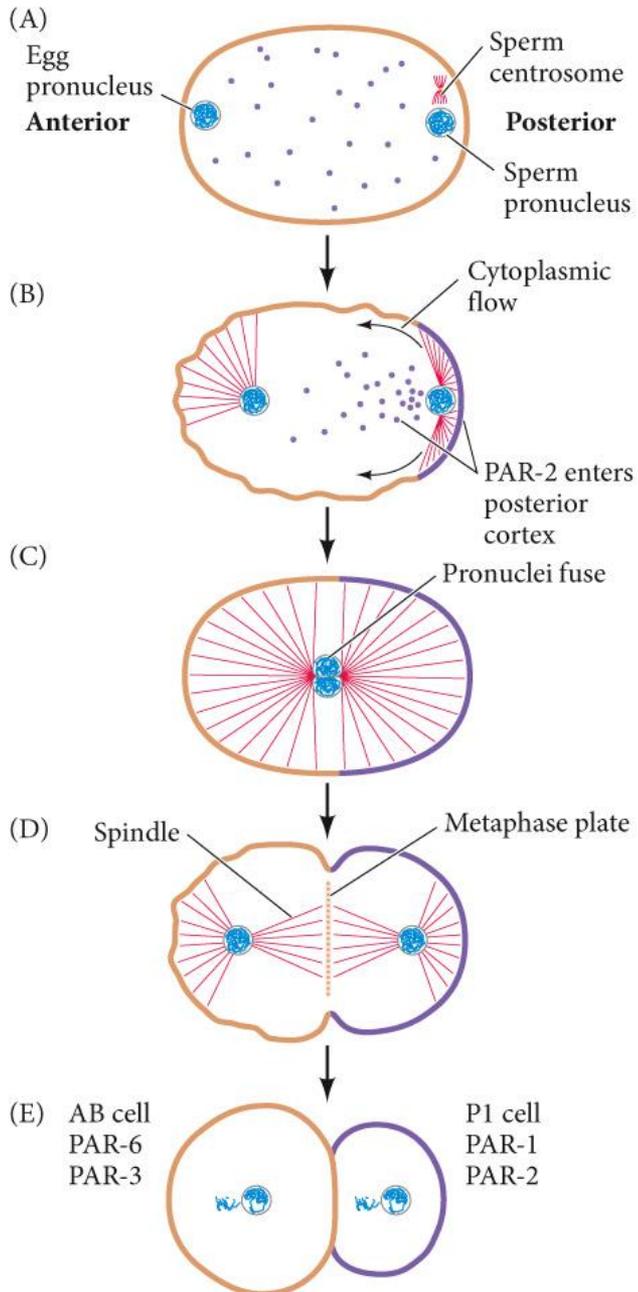
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 8.15  
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Polarita' AP dipende dalla posizione del pronucleo maschile.

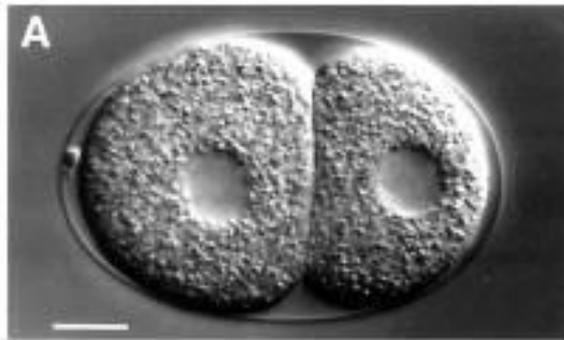
All'ingresso dello spermatozoo, il centriolo causa riarrangiamenti citoplasmatici che spingono il pronucleo maschile verso l'estremita' piu' vicina, che diventa il polo posteriore.

Proteina CYK4 nel pronucleo maschile attiva proteine GTPasi nel citoplasma dell'uovo che rimodellano i microfilamenti di actina, causando redistribuzione di **proteine PAR** nel citoplasma corticale (PAR3 anteriore, PAR1/2 posteriore).

Queste modificazioni comportano la localizzazione dei **granuli P** al polo posteriore.



Proteine PAR includono chinasi e altre proteine che regolano vie di segnalazione cellulare. La loro distribuzione asimmetrica determina il posizionamento del primo fuso mitotico nella metà posteriore dello zigote, causando una divisione asimmetrica, e il posizionamento dei granuli P al polo posteriore.



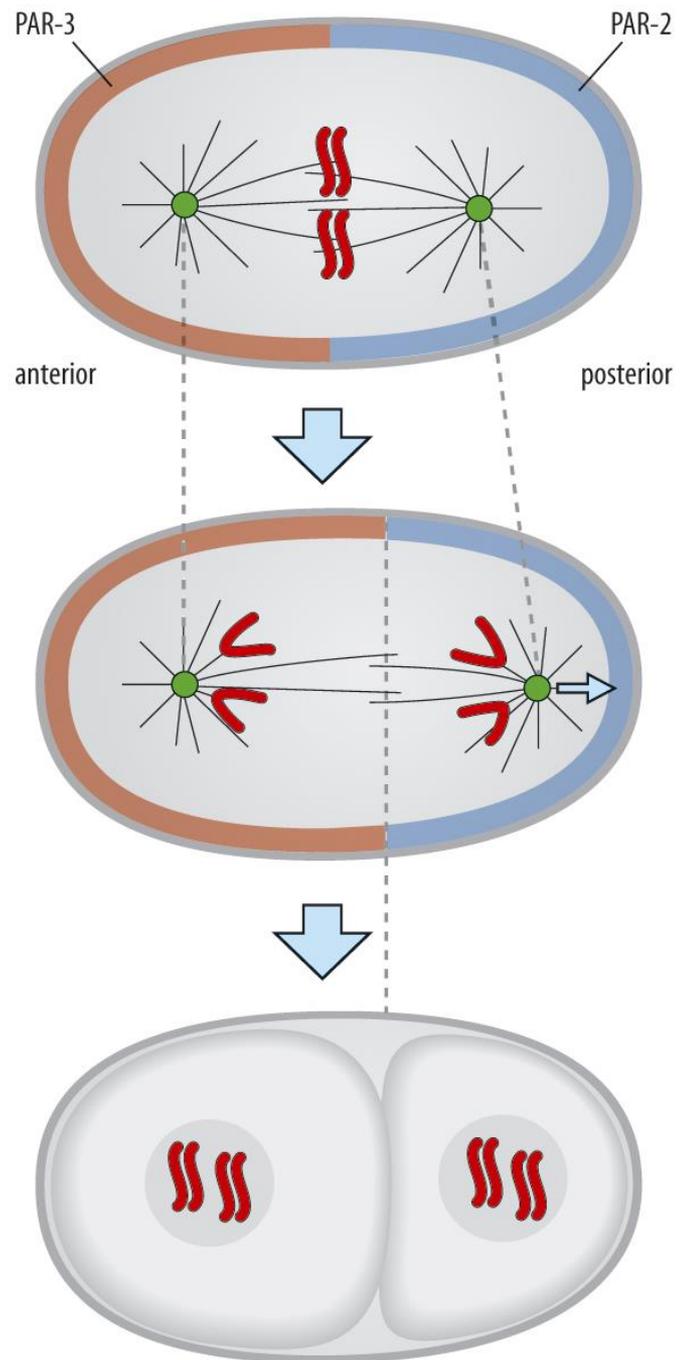
Fenotipo selvatico

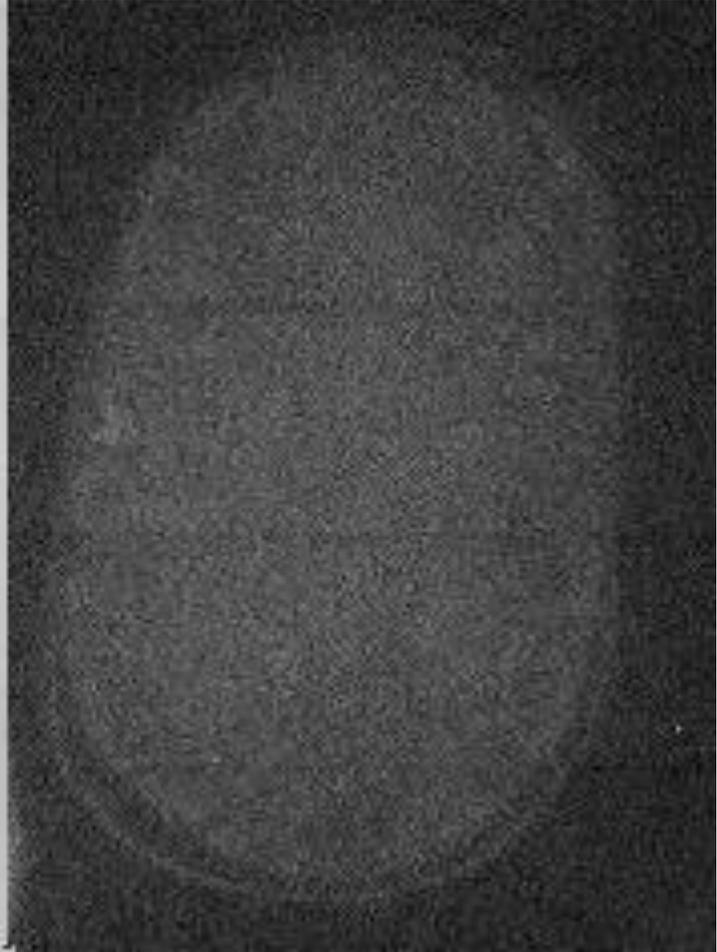
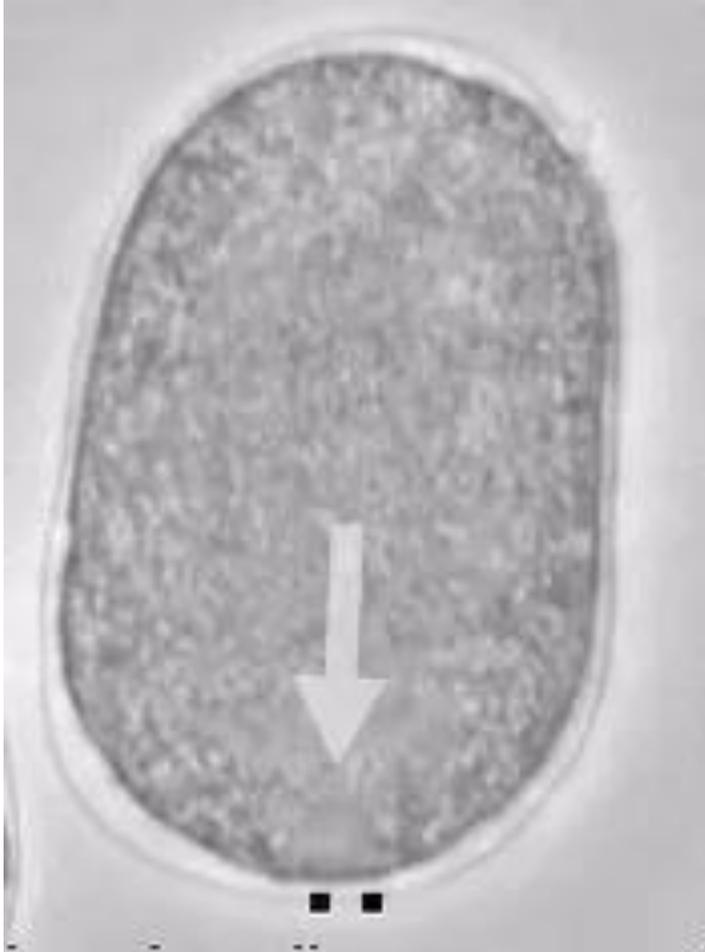


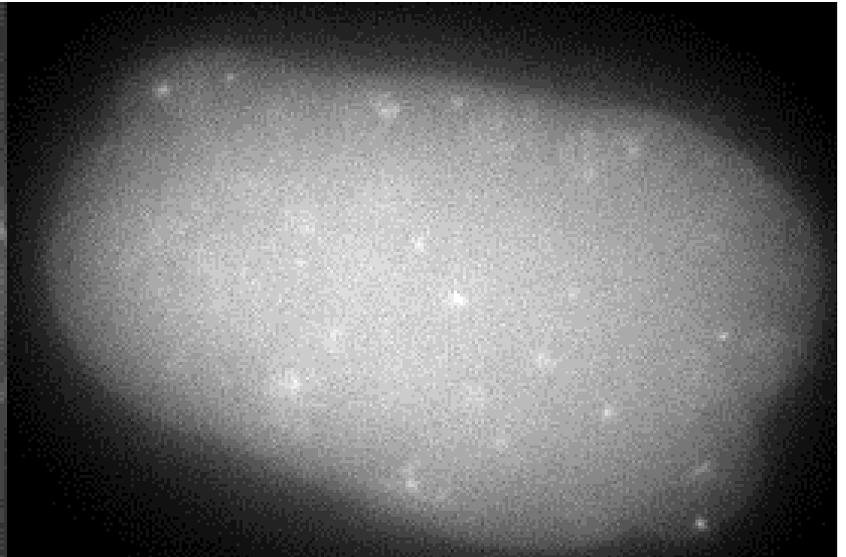
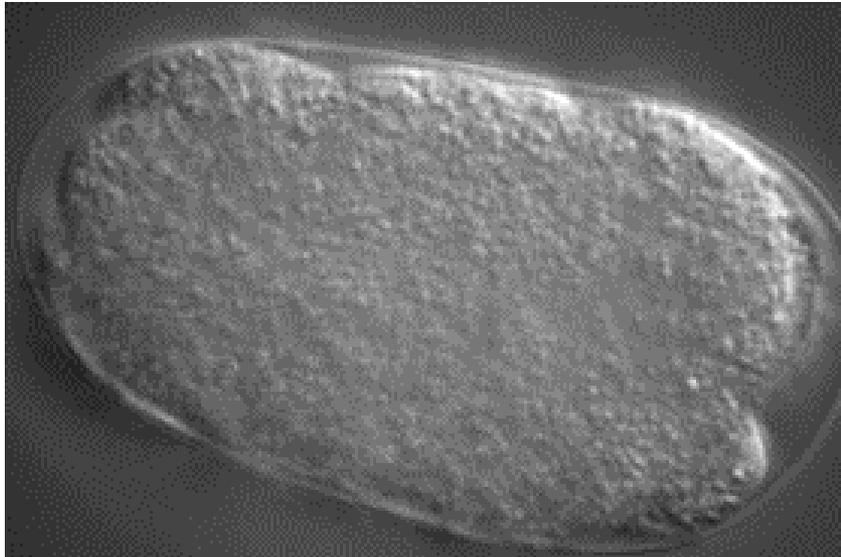
mutante PAR1

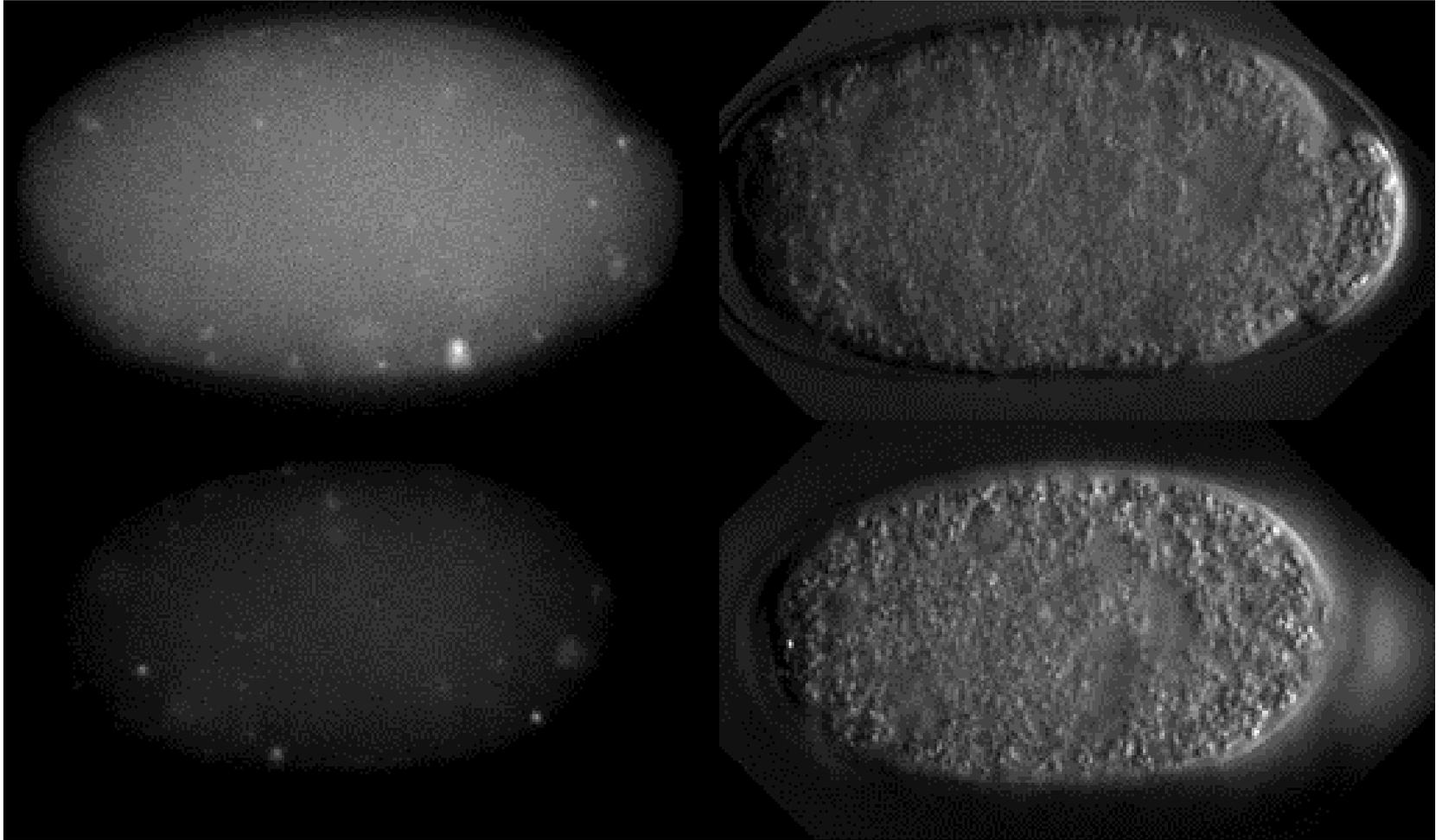


mutante PAR2





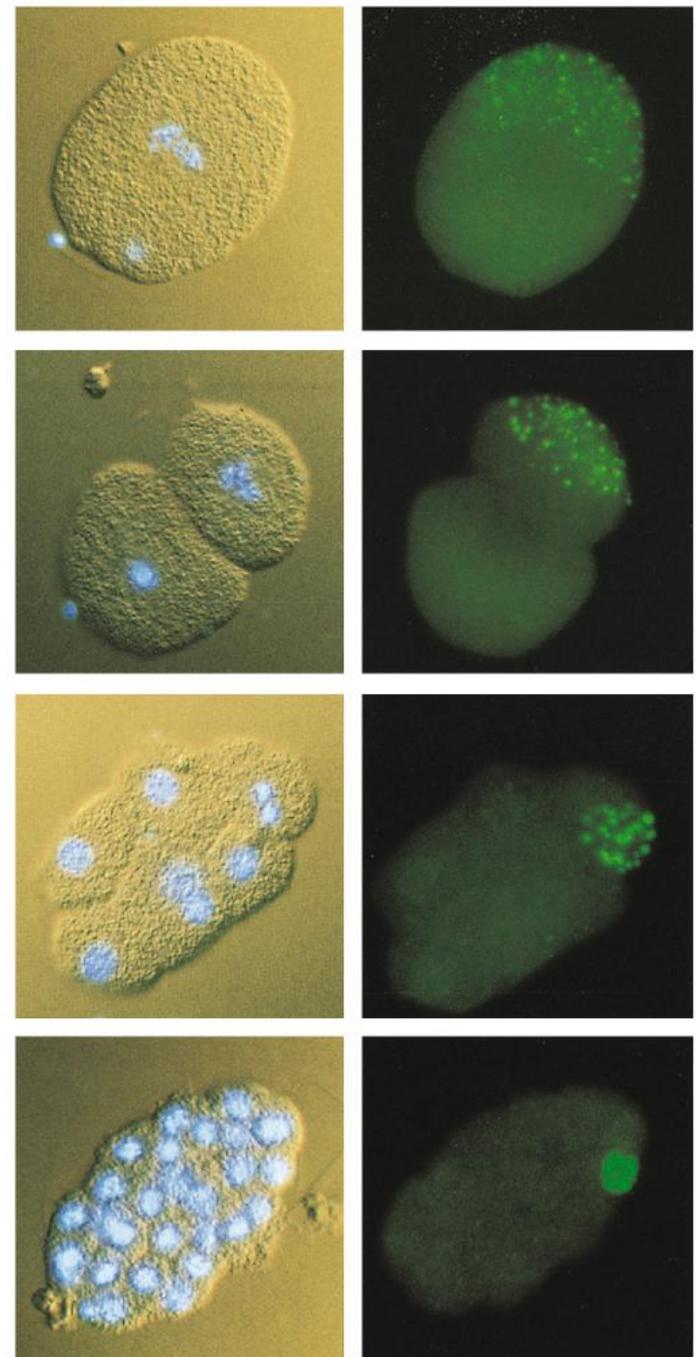


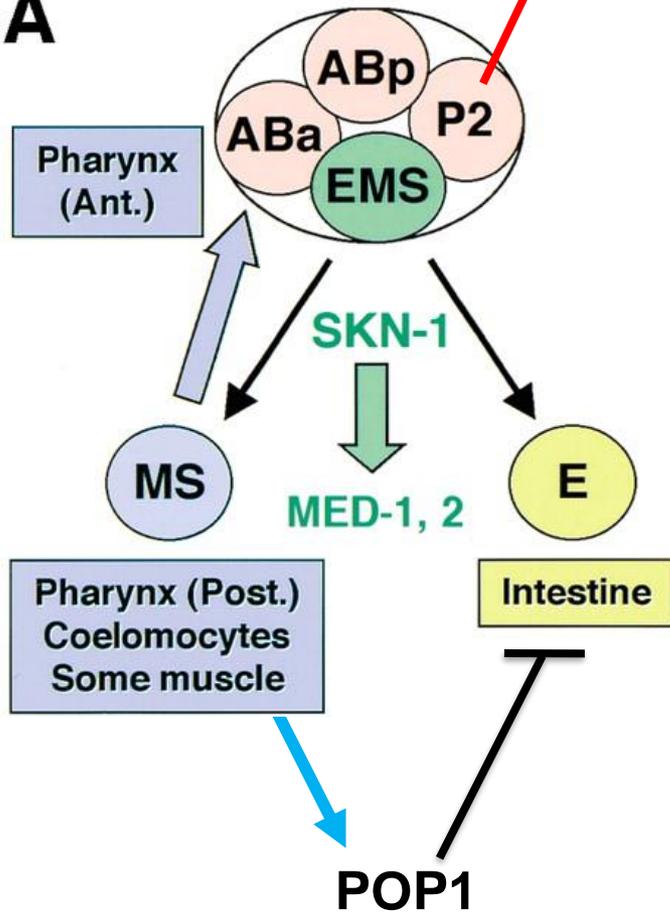


**Granuli P:** ribonucleo-proteine complesse che specificano le cellule germinali agendo come **regolatori (repressori) trascrizionali e traduzionali**, che inibiscono la specificazione dei destini somatici, mantenendo la totipotenza. Vengono localizzati nella cellula P1 e nelle divisioni successive ereditati solo dalle cellule P2, P3 e P4. Quest'ultima da' origine alle cellule germinali.

Il destino delle cellule fondatrici somatiche derivate da P1 (MS, E, C, D) e' invece specificato intrinsecamente da fattori di trascrizione che promuovono destini somatici.

**Meccanismo di specificazione autonoma o a mosaico**



**A**

**PIE1** —| **SKN1**

Cellula EMS: specificata in modo autonomo a formare faringe e intestino da fattori materni.

Gene **SKN1**: embrioni da madri mutanti per questo gene formano ipoderma al posto del faringe/intestino.

SKN1 codifica per un **fattore di trascrizione** materno che promuove destino faringeo/intestinale.

Gene **PIE1**: codifica per un **fattore di trascrizione** localizzato selettivamente nei blastomeri P per azione di PAR1.

Nelle cellule P reprime la funzione di SKN1 e di altri fattori di trascrizione, inibendo destini somatici e mantenendo totipotenza. Mutazioni materne PIE1 provocano differenziamento somatico delle cellule P.

**POP1**: **fattore di trascrizione** espresso nella cellula MS, in cui reprime destino intestinale portando a un destino faringeo.

Come viene attivato POP1 nella cellula MS (ma non nella cellula E)?

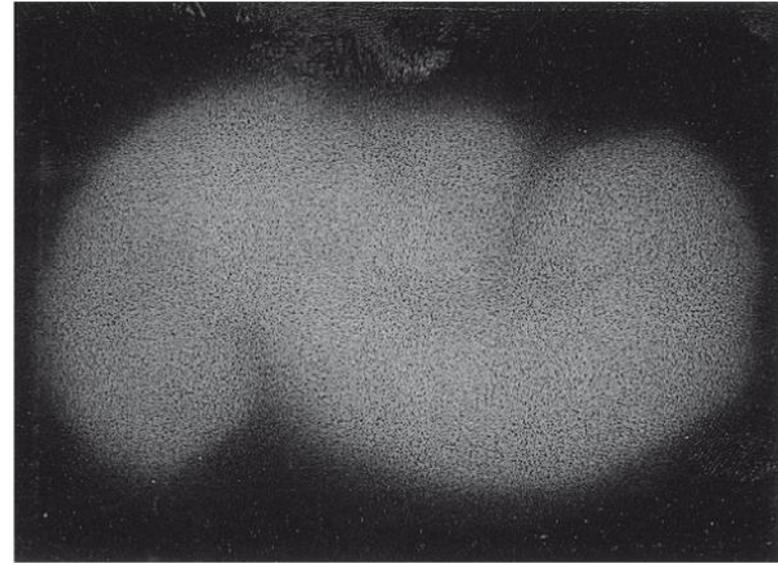
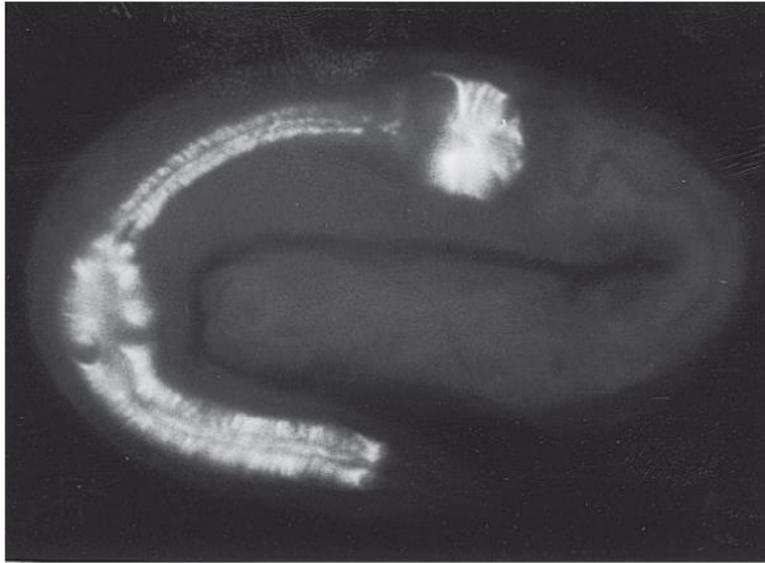
Tipo selvatico (*wild-type*)

Mutante *skn-1*

(A)

(B)

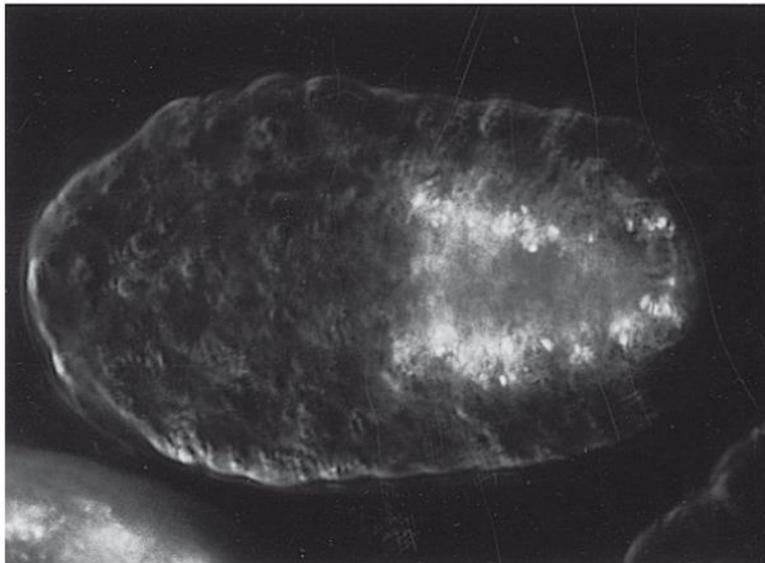
Antigene  
del muscolo  
faringeo



(C)

(D)

Granuli  
specifici  
dell'intestino



**Assenza di faringe e intestino in embrioni da madri mutanti per SKN1**

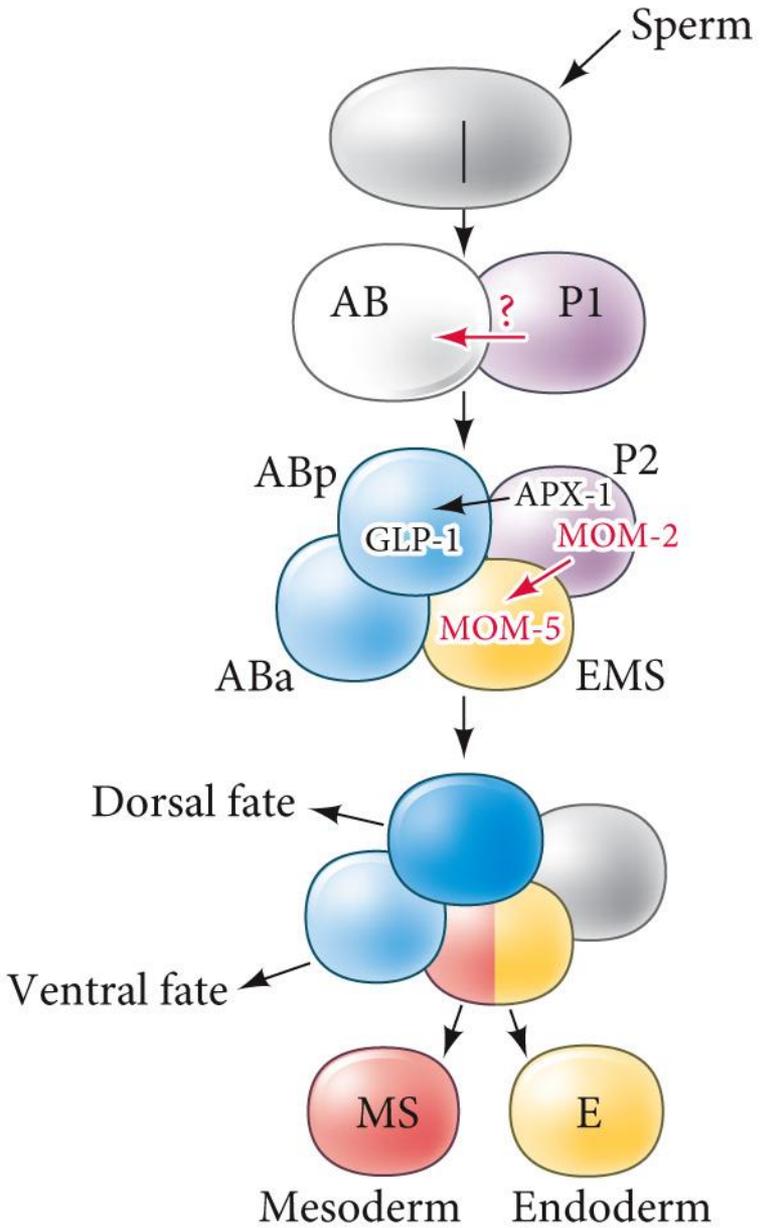
# Specificazione condizionata in *C. elegans*

Cellula EMS -> MS (faringe) + E (intestino), ma se si asporta P2 forma 2 cellule MS.

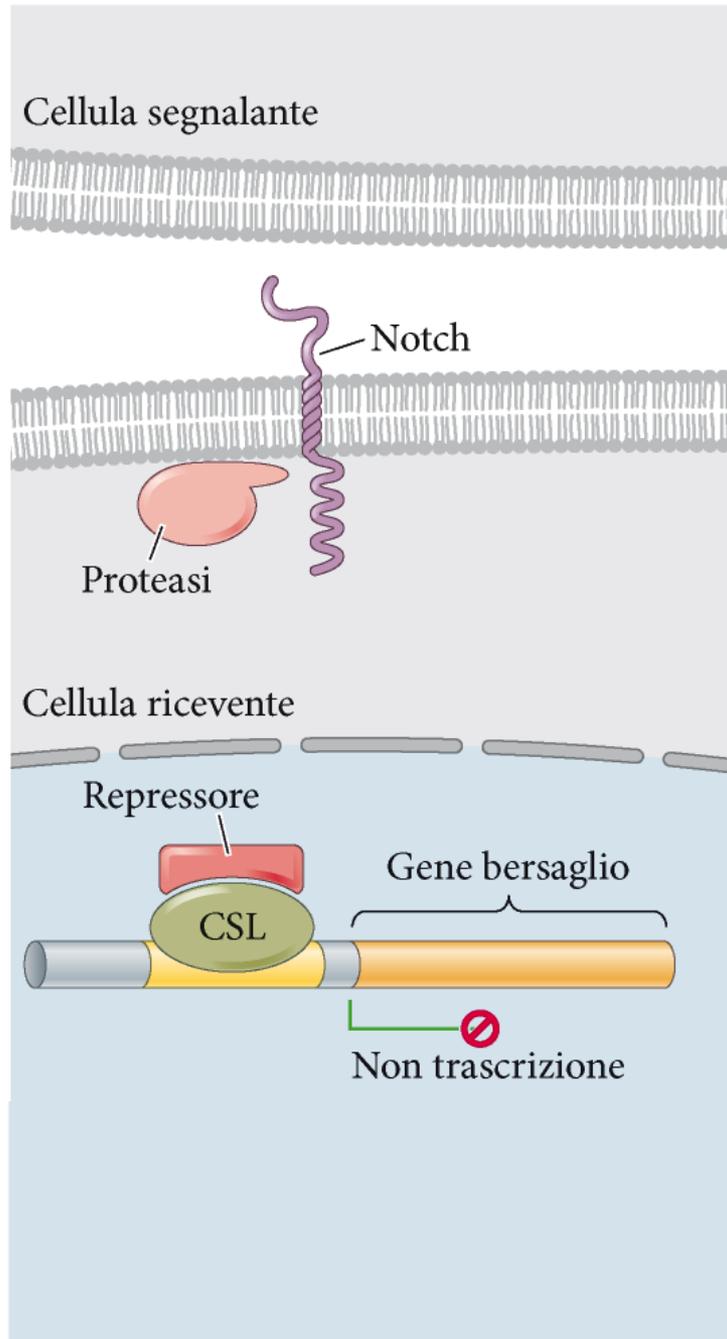
P2 produce proteina **MOM2**, omologo di Wingless in *C. elegans*, che interagisce con MOM5 (omologo di Frizzled) nella cellula E e riduce i livelli di POP1. POP1 reprime destino intestinale nella cellula MS. Mutanti per il gene POP1 formano due cellule E al posto della cellula MS.

AB -> Aba, Abp; ABa -> neuroni, ipoderma, faringe; ABp -> neuroni, ipoderma

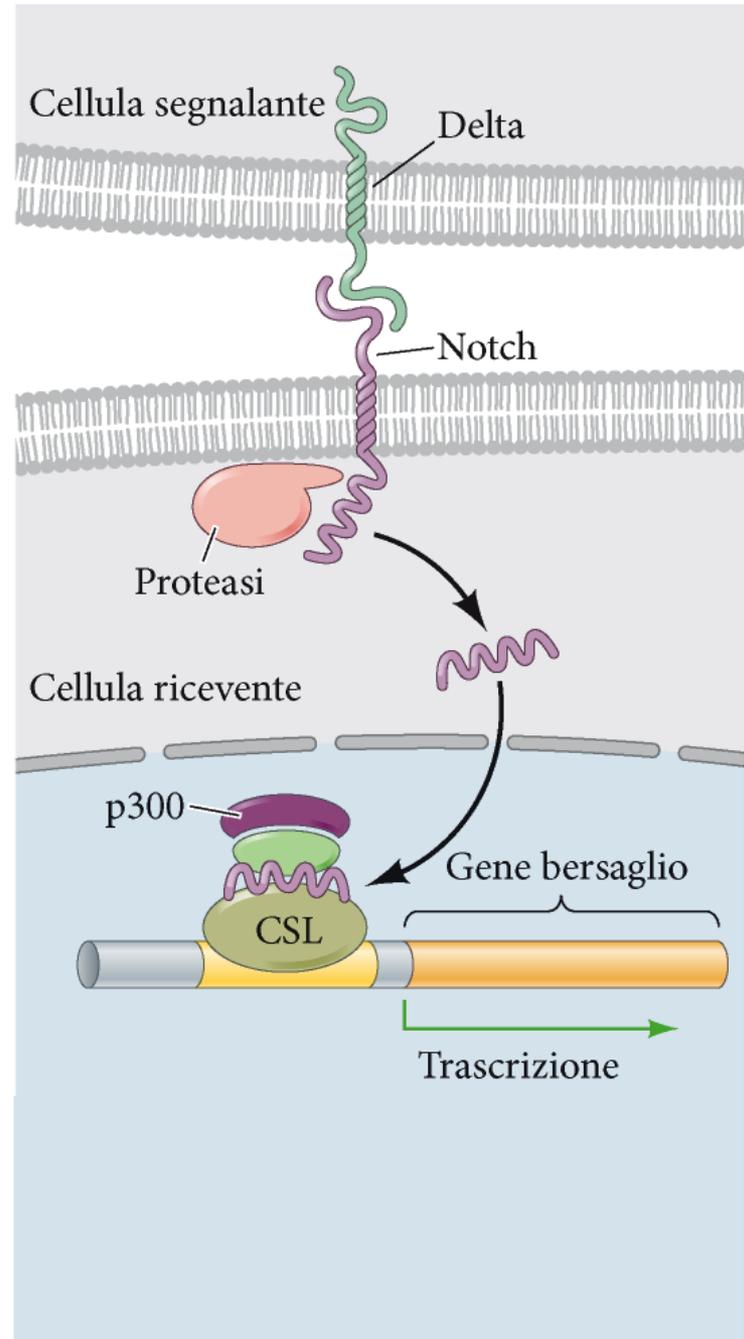
P2 esprime proteina di membrana **APX1**, omologo di *C. elegans* della proteina Delta, che attiva una via di segnalazione cellulare (**Delta/Notch**) contatto-dipendente (segnale **iuxtacrino**). Questa via viene attivata nella cellula ABp ma non nella cellula ABa, causando una diversificazione dei destini.



(A)



(B)



Un complesso genico omologo al complesso HOM-C di *Drosophila* controlla l'identità antero-posteriore in *C. elegans* e mostra proprietà di colinearità spaziale

