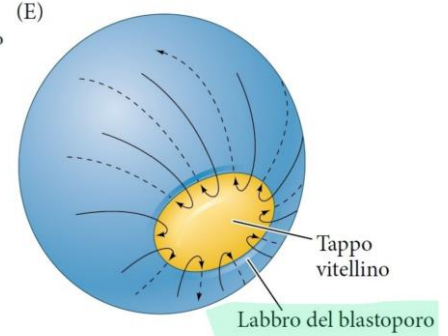
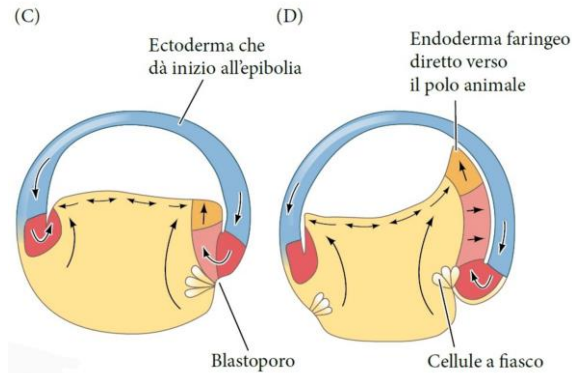
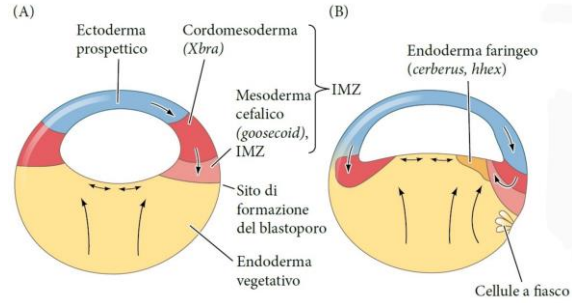
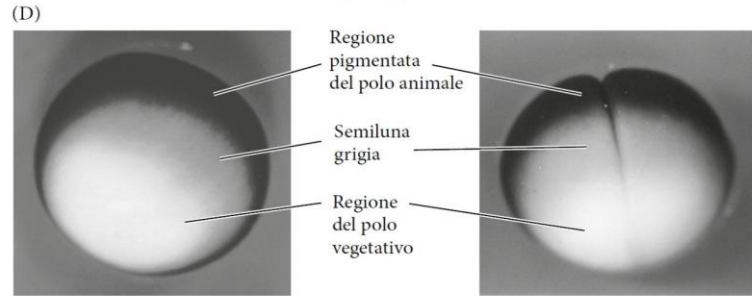
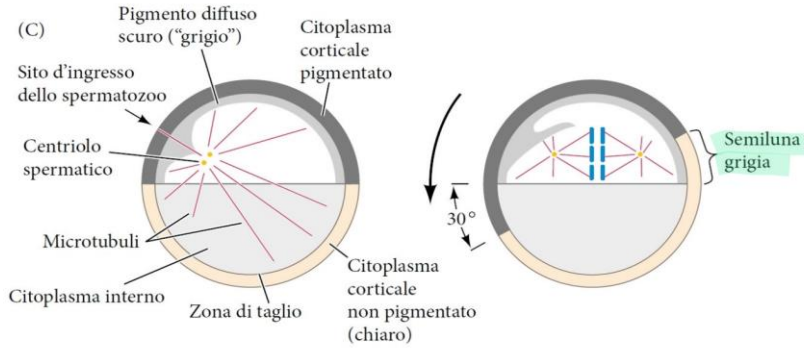


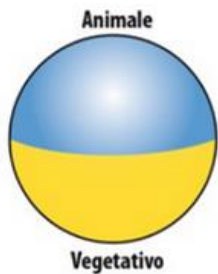
# Sviluppo precoce degli anfibi

*uno studio su *Xenopus laevis**

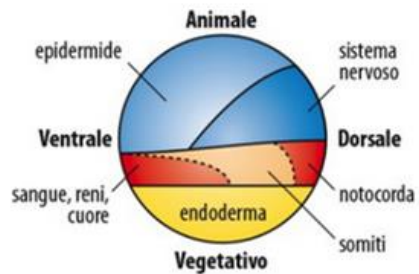




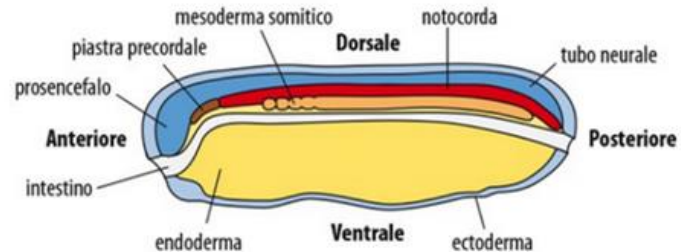
**Uovo non fecondato  
di *Xenopus***



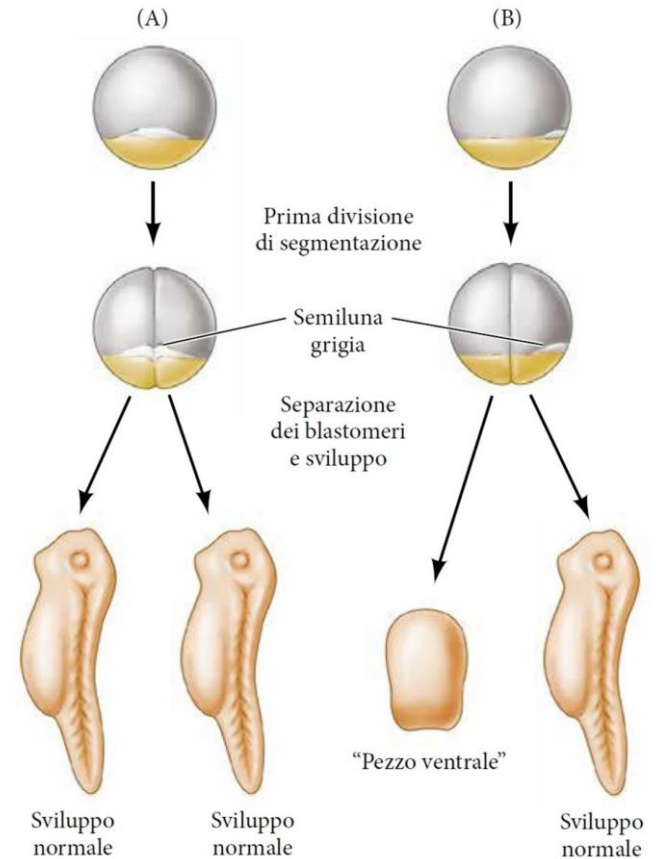
**Blastula appena prima della gastrulazione**



**Sezione longitudinale schematizzata di embrioni  
dopo gastrulazione e neurulazione**



Spemann (1931): dimostrazione della capacità di due blastomeri precoci con nuclei identici di dare origine, o meno, a una larva completa successivamente a separazione e alterazione del piano di divisione cellulare.

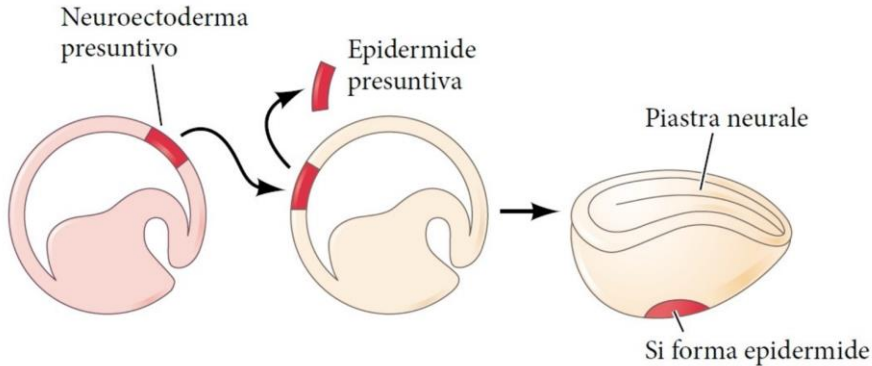


Quindi i determinanti molecolari per la formazione delle strutture dorsali sono nella semiluna grigia.

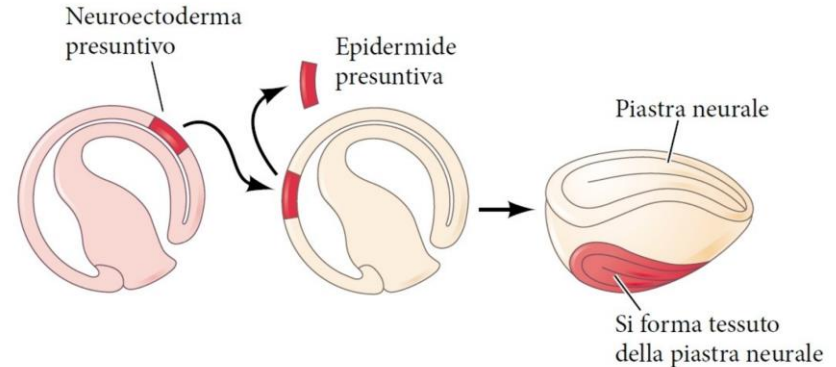
Quali sono le tempistiche?

Spemann (1918): si basò su saggi di separazione e coltivazione in vitro per comprendere quando avviene la conclusione della **fase d'impegno** e l'inizio della **fase di specificazione**.

(A) Trapianto in una gastrula a stadio iniziale



(B) Trapianto in una gastrula a stadio avanzato

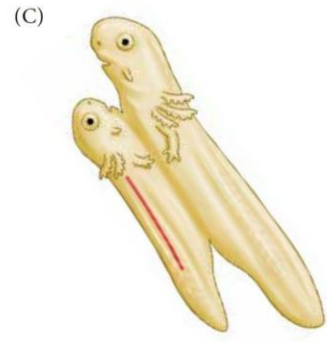
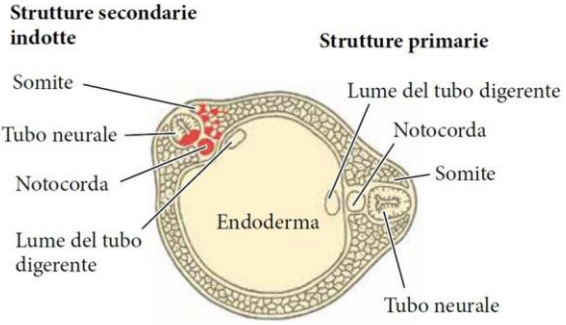
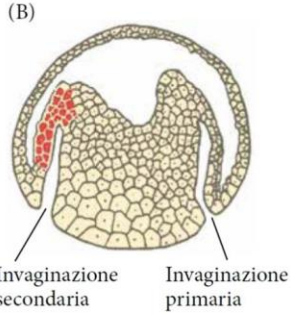
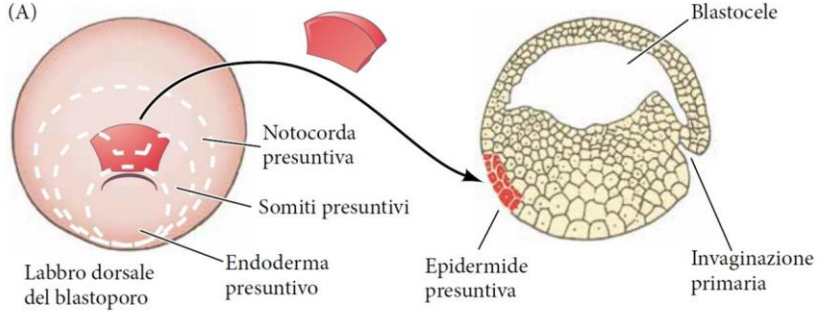


Si conclude che le tempistiche di determinazione del destino cellulare di neuroectoderma e cordomesoderma sono **differenti**, cosa che apre lo scenario a varie opzioni.

Per comprendere quale fosse quella giusta Spemann e Mangold (1924) diedero inizio al famoso esperimento che gli valse il premio Nobel nel 1926.

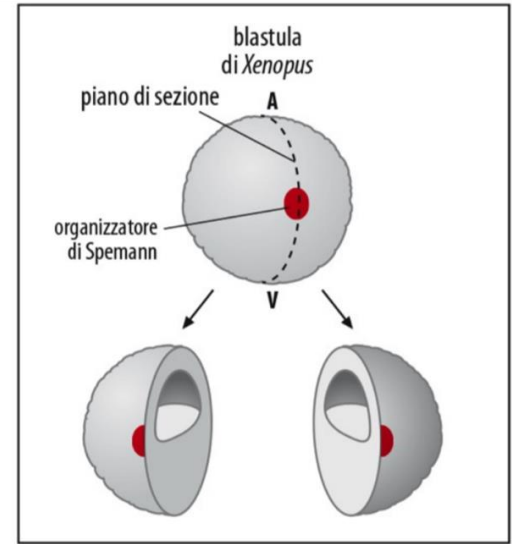






## Esperimento di Spemann e Mangold

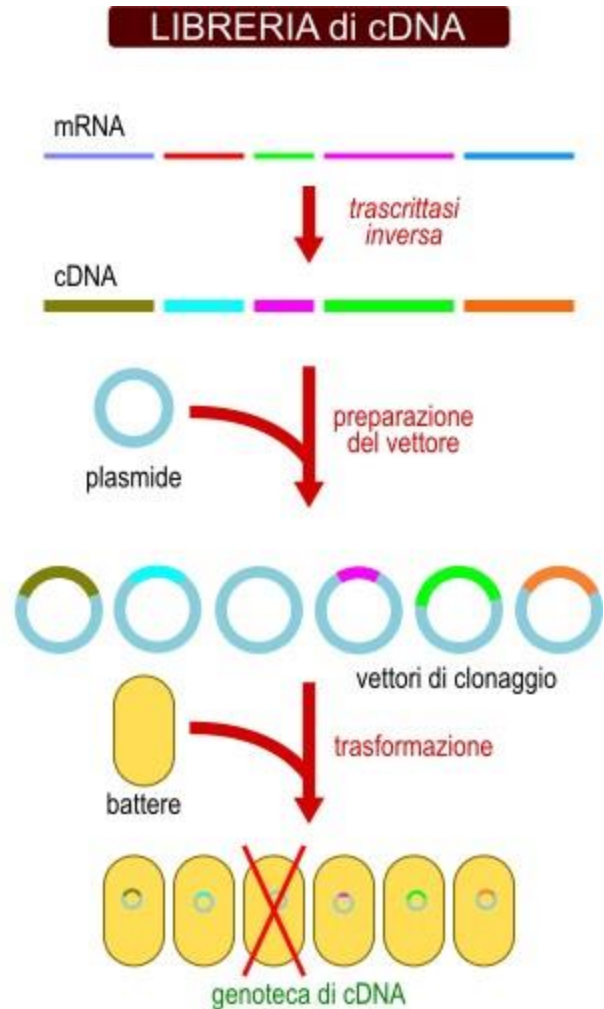
Il risultato dell'esperimento fu la scoperta di una parte del tessuto del labbro dorsale del blastoporo e derivati, chiamato **ORGANIZZATORE** che non solo può formare la notocorda ma anche indirizzare lo sviluppo di tutto l'asse rostro-caudale.





**Genoteca:** collezione di frammenti di DNA clonato che, nel loro insieme, rappresentano l'intero genoma di un organismo.

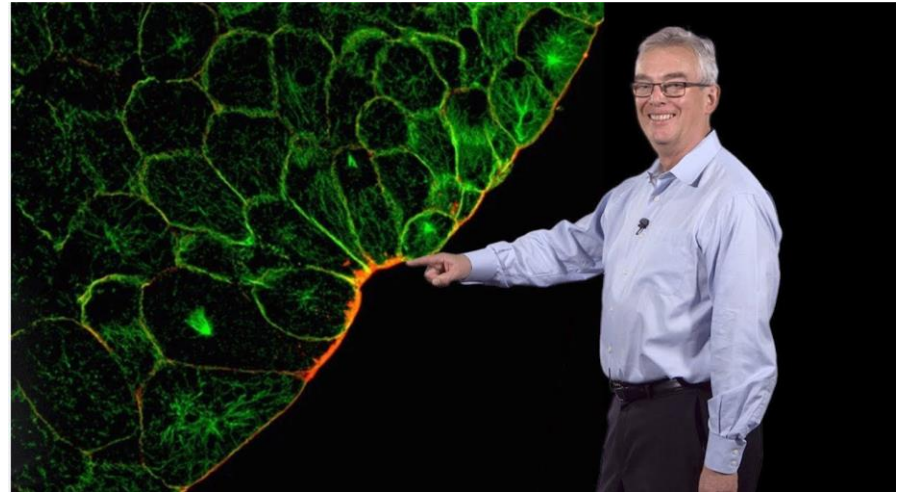
**cDNA:** sequenze nucleotidiche codificanti, ottenute dall'mRNA mediante retrotrascrizione.

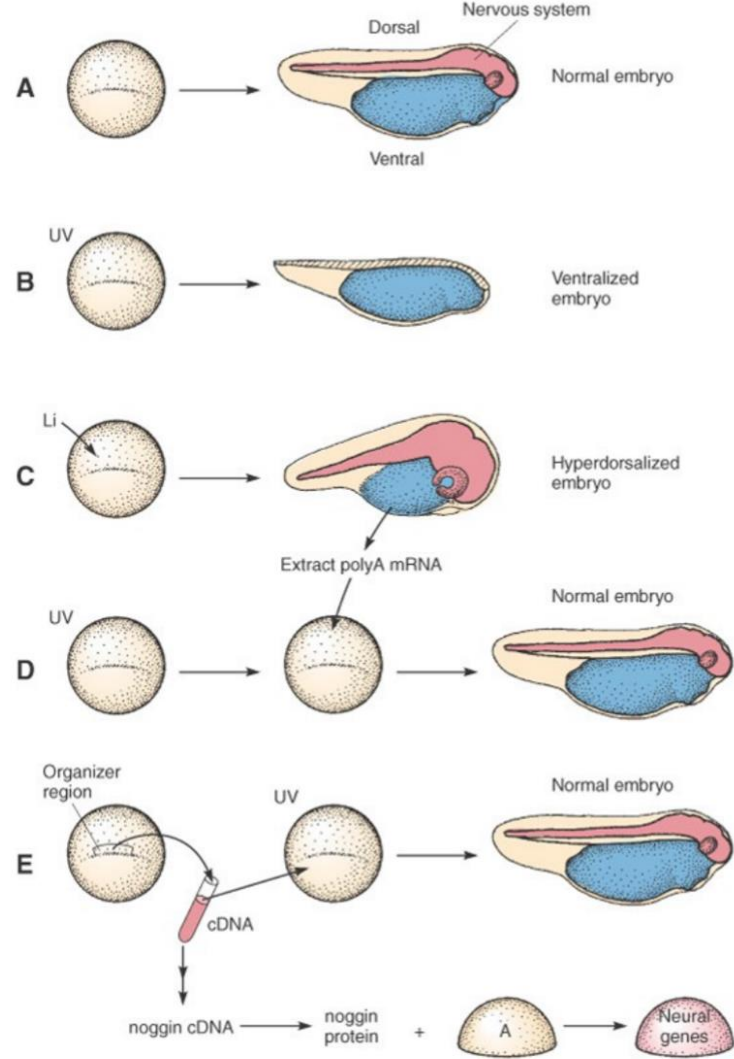


Ma come, l'organizzatore, svolge le sue funzioni?  
A questa domanda rispose Richard Harland (anni '80) che ipotizzò che nelle cellule del labbro dorsale a un certo punto iniziano ad essere trascritti dei geni i cui prodotti proteici possono poi agire come mediatori molecolari dell'organizzatore.

Si basò su 2 trattamenti sperimentali con embrioni:

- 1). **Ventralizzati**
- 2). **Iperdorsalizzati**

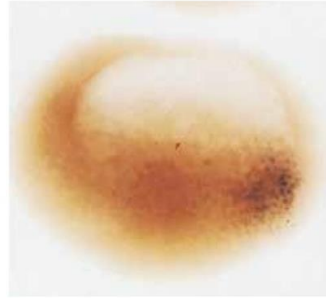




(A)



(B)



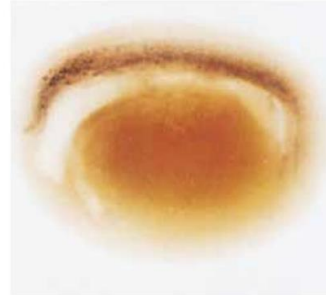
(I)



(II)



(III)



(IV)

Successivamente  
alla formazione di  
una genoteca con  
cDNA e RNA,  
Harland identificò il  
gene **NOGGIN**

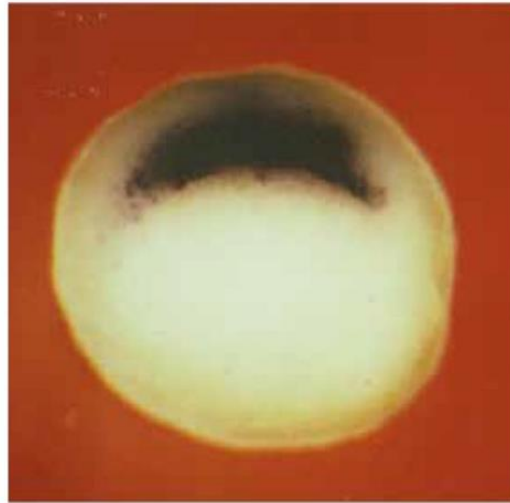
Parallelamente Eddy De Robertis con un approccio simile identificò il gene CHORDIN.

Tuttavia utilizzò lo stesso approccio di Spemann unito ad ibridazione in situ:

(A)



(B)

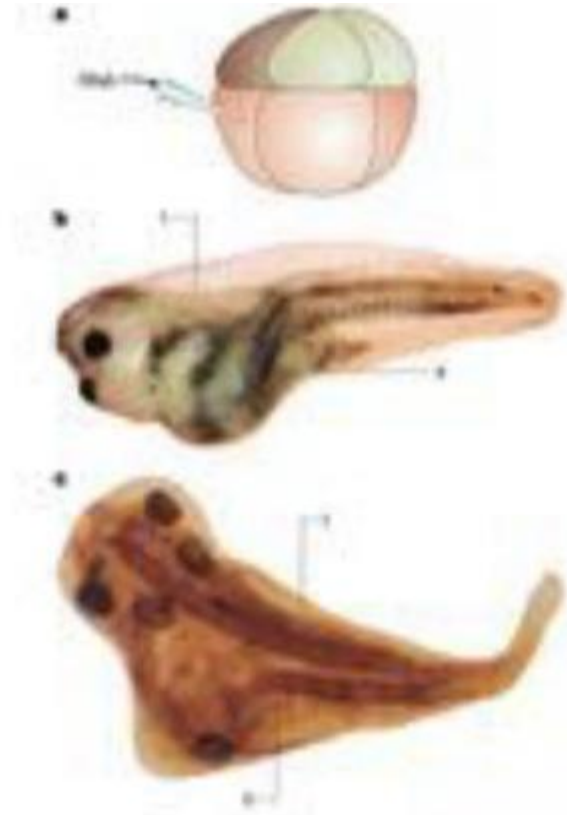


(C)

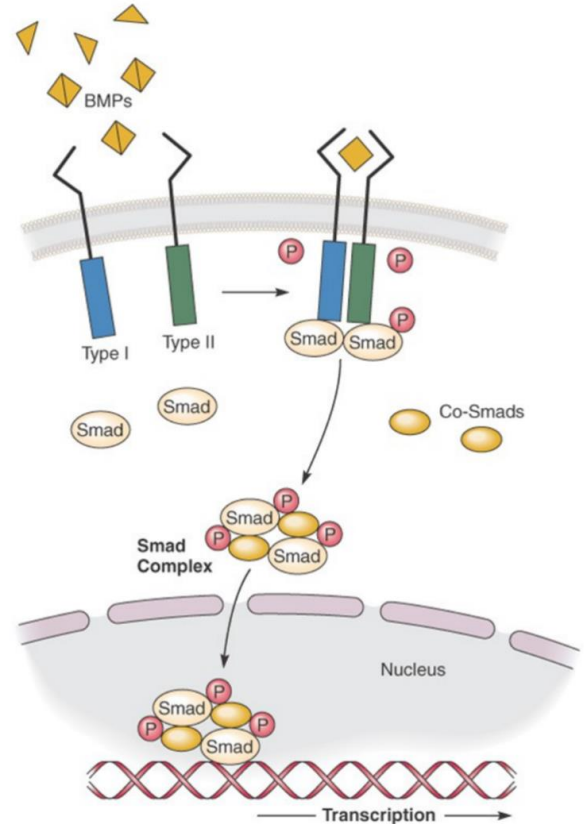




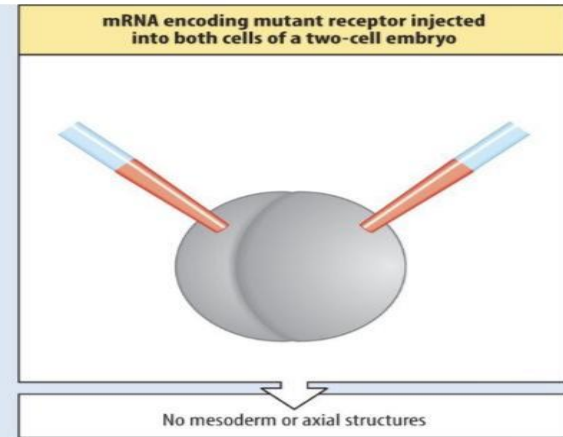
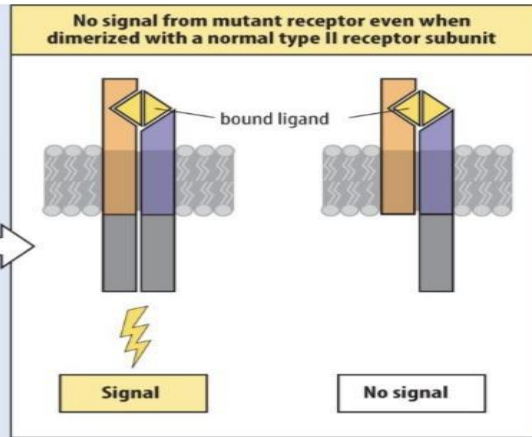
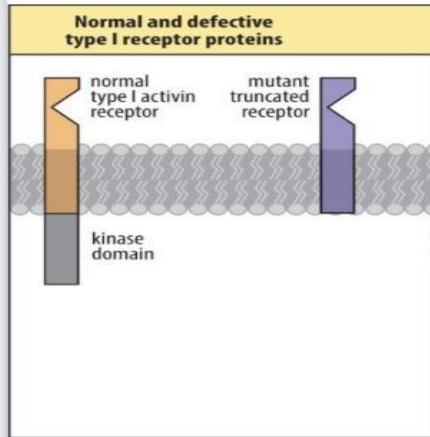
Trapiantando Chordin nei blastomeri ventrali, anziché l'organizzatore, si osserva la duplicazione dell'asse embrionale



Osservando i fattori TGFbeta fu proposto un modello per il quale nell'ectoderma agiscono delle BMP che attivando la propria via di segnalazione nelle cellule indirizzandole verso un destino epidermico e, se queste vengono dissociate, il meccanismo si altera e le cellule non sono più mantenute in uno stato epidermico.



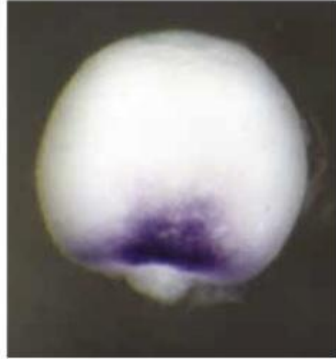
# Ciò fu dimostrato attraverso la tecnica del DOMINANTE NEGATIVO



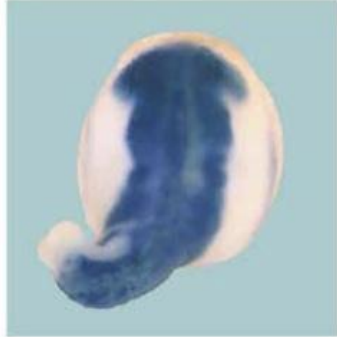
(A)



(B)



(C)



(D)



Invece, per identificare la via di segnalazione di Chordin Stefano Piccolo (anni '90) fece esperimenti con una **sonda**, concludendo che questi antagonisti diffusibili, Chordin, Noggin e Follistatin, diffondono nell'ectoderma bloccando i fattori BMP e, a livello della zona marginale, dorsalizzando il mesoderma

In conclusione la determinazione delle strutture dorsali dipende dall'azione dell'organizzatore, i cui geni espressi portano alla formazione di un **gradiente morfogenetico** lungo l'asse dorso-ventrale e, dunque, alla formazione delle differenti strutture lungo quest'ultimo