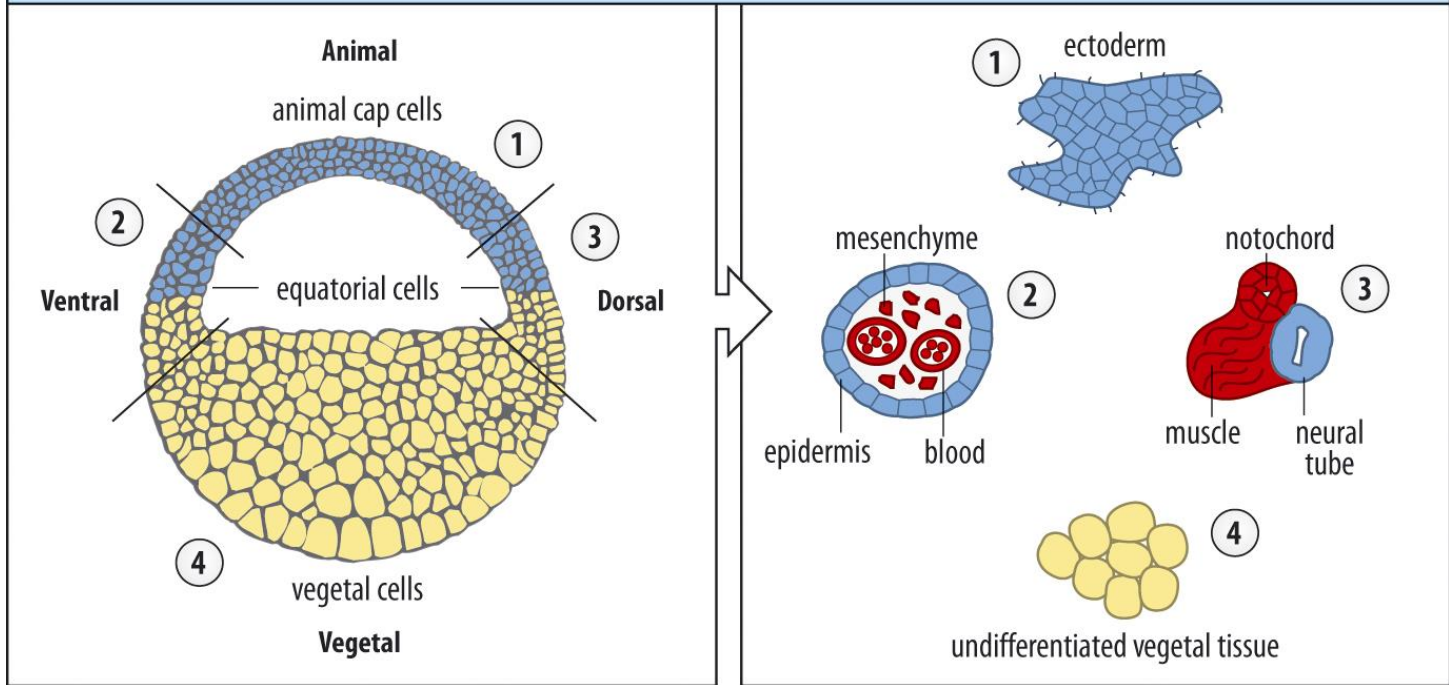
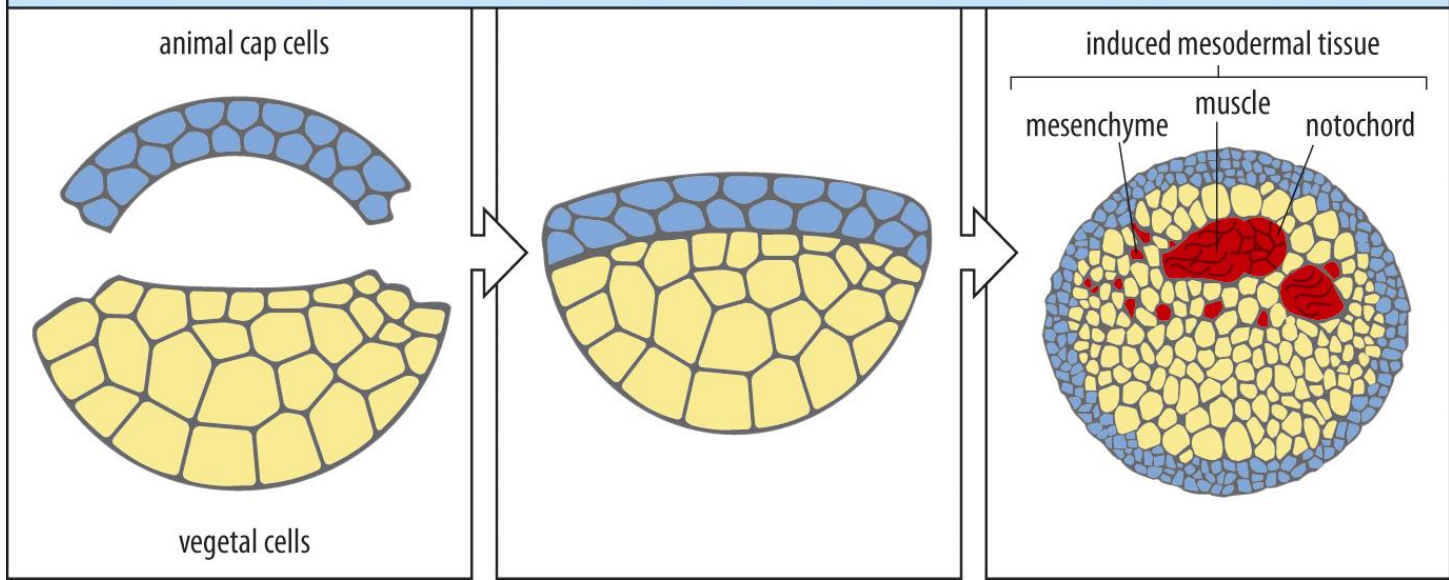


Tissues formed from explants from a *Xenopus* late blastula

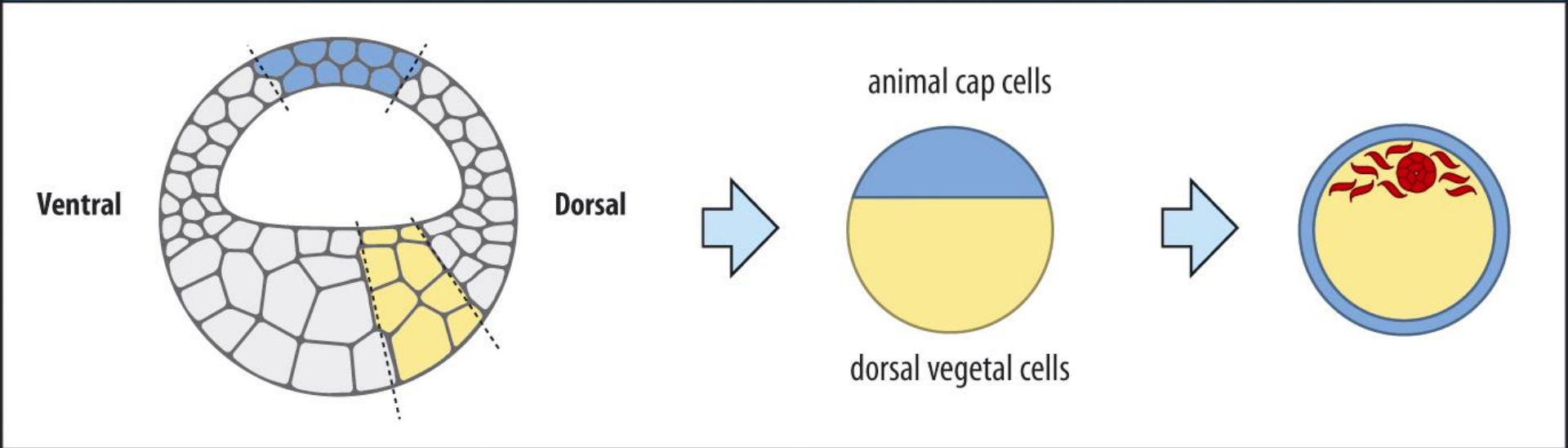


Vegetal tissue from early blastula induces mesoderm in animal cap

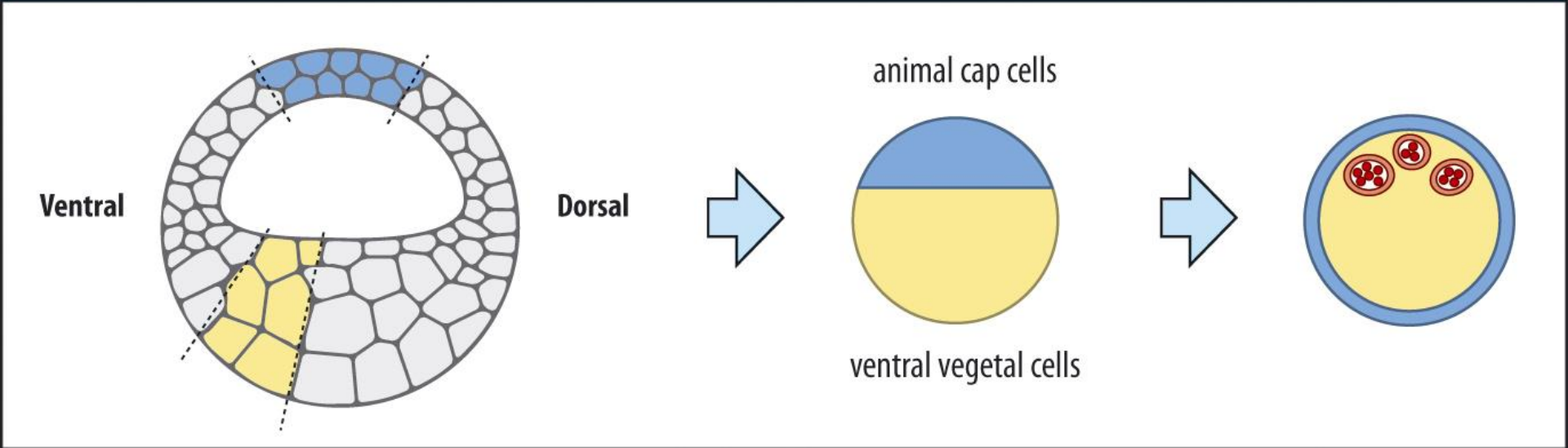


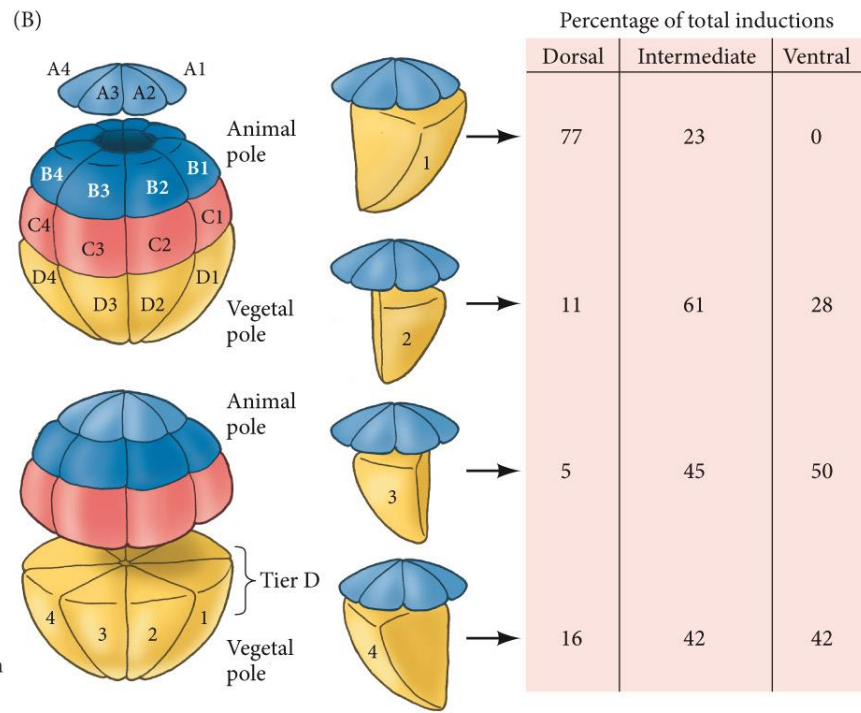
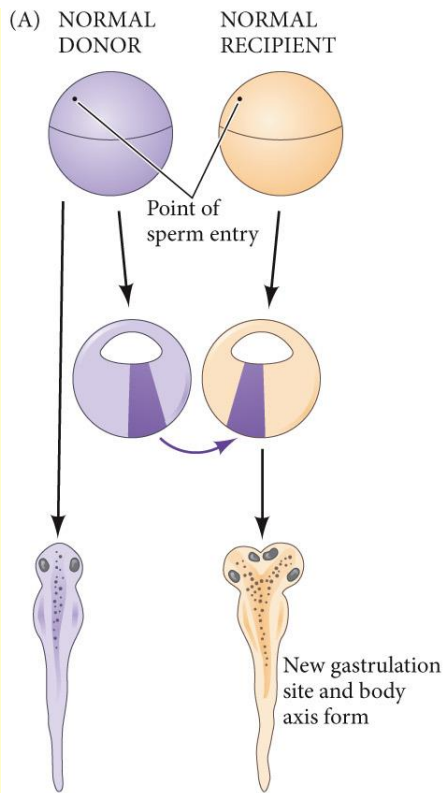
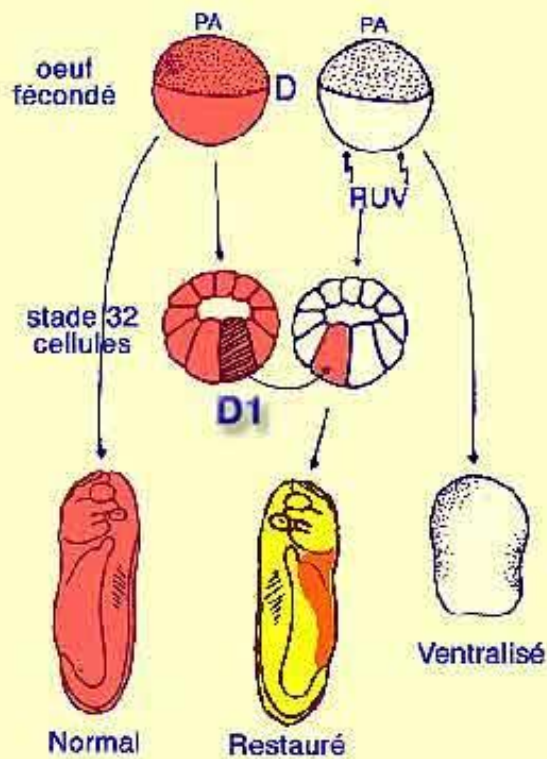
LA REGIONE VEGETATIVA DORSALE POSSIEDE PROPRIETA' INDUTTIVE DIVERSE RISPETTO ALLA REGIONE VENTRALE

Dorsal vegetal cells induce muscle and notochord from animal cap cells



Ventral vegetal cells induce blood and associated tissue from animal cap cells

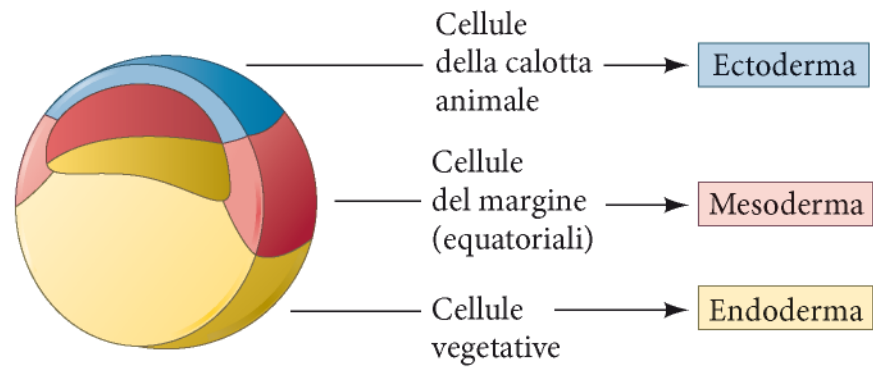




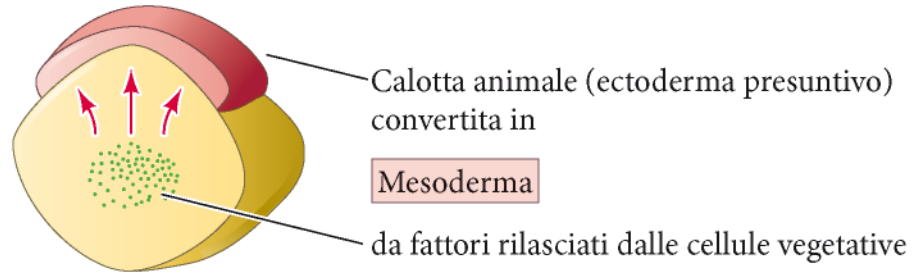
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 11.15
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Il trapianto dei blastomeri vegetativi dorsali nella regione ventrale di un embrione ospite mima il trapianto dell'organizzatore: si forma un asse secondario completo di notocorda, tubo neurale e somiti. Analogamente, il trapianto dei blastomeri vegetativi dorsali in un embrione ventralizzato mediante irradiazione con raggi UV recupera la formazione dell'asse dorsale. A differenza dell'esperimento di Spemann (trapianto dell'organizzatore), in questo caso l'organizzatore si forma dalle cellule dell'ospite. Le cellule vegetative trapiantate formano endoderma. Per cui le cellule vegetative dorsali sono in grado di indurre la formazione del mesoderma dorsale (organizzatore).

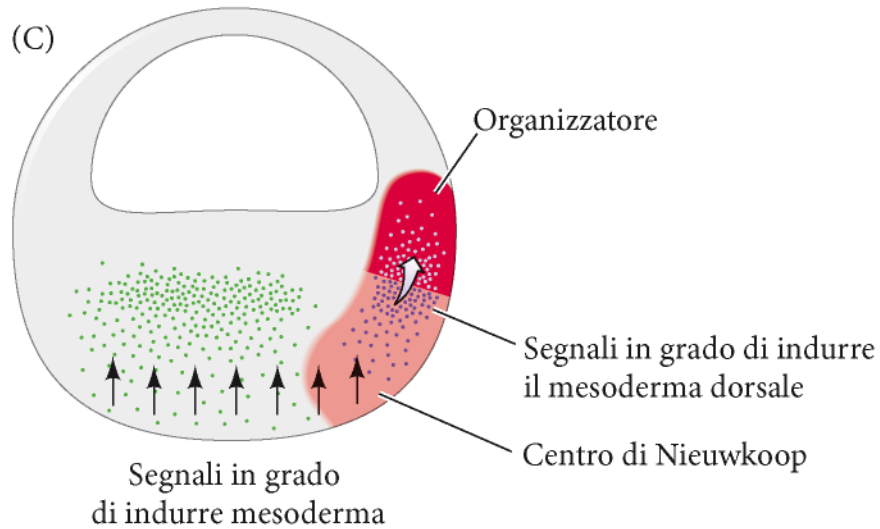
(A)



(B)

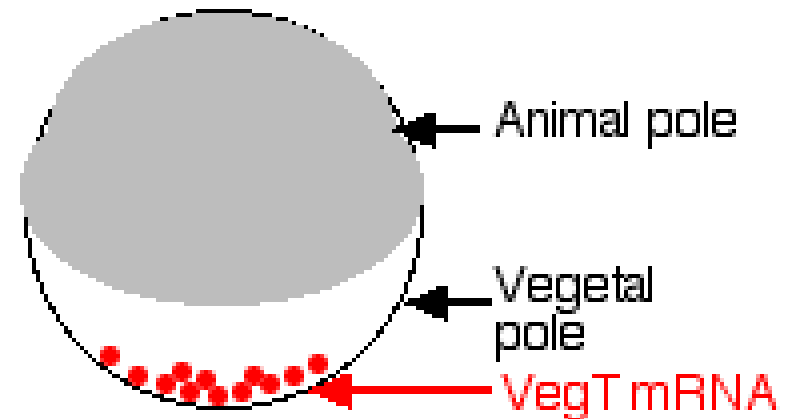
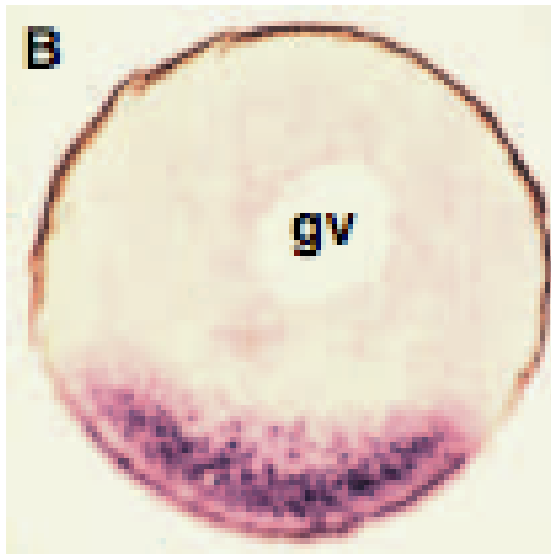
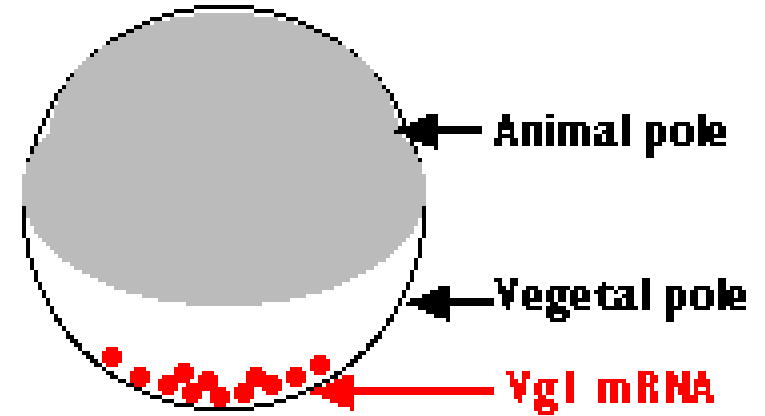
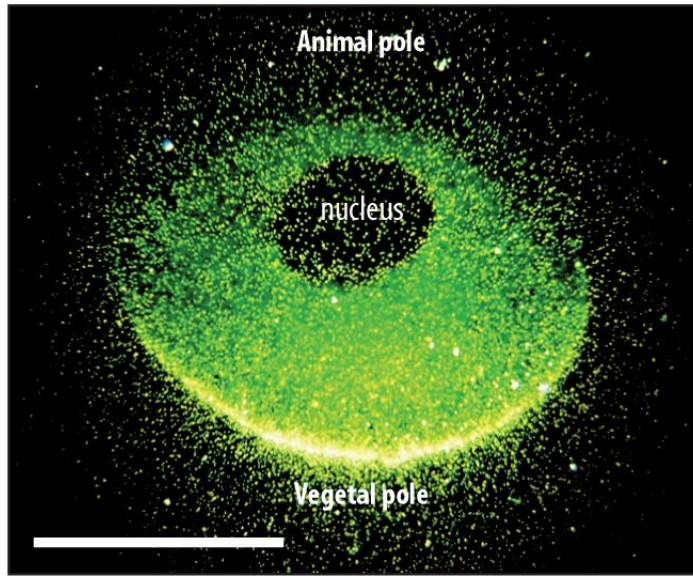


(C)

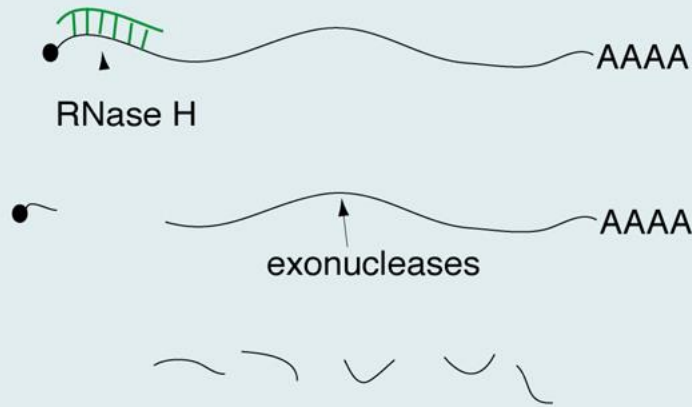


SEGNALI MATERNI COINVOLTI NELL'INDUZIONE DEL MESODERMA: Vg1, VegT

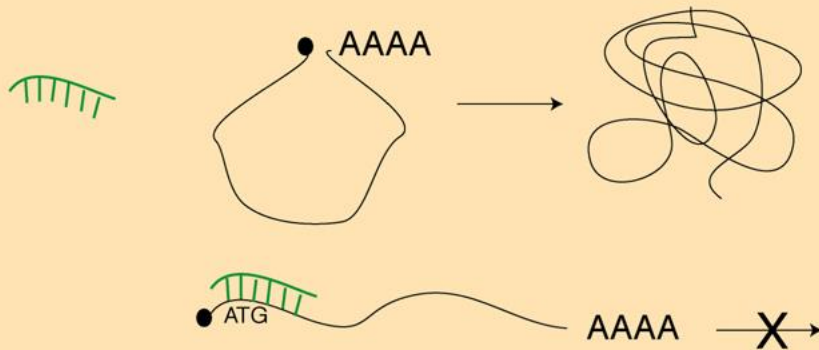
Proteine codificate da mRNA materni localizzati al polo vegetativo dell'uovo e tradotti dopo la fecondazione



A. RNase-H-mediated cleavage



B. Inhibition of translation



Oligonucleotidi antisenso possono essere usati per bloccare la funzione degli mRNA materni, ma devono essere introdotti negli ovociti prima della fecondazione, in quanto la traduzione degli mRNA materni avviene molto rapidamente dopo la fecondazione.

Siccome le uova mature sono molto instabili dopo l'ovulazione (degenerano rapidamente se non vengono fecondate), gli oligo antisenso vanno introdotti (microiniettati) negli ovociti prima dell'ovulazione

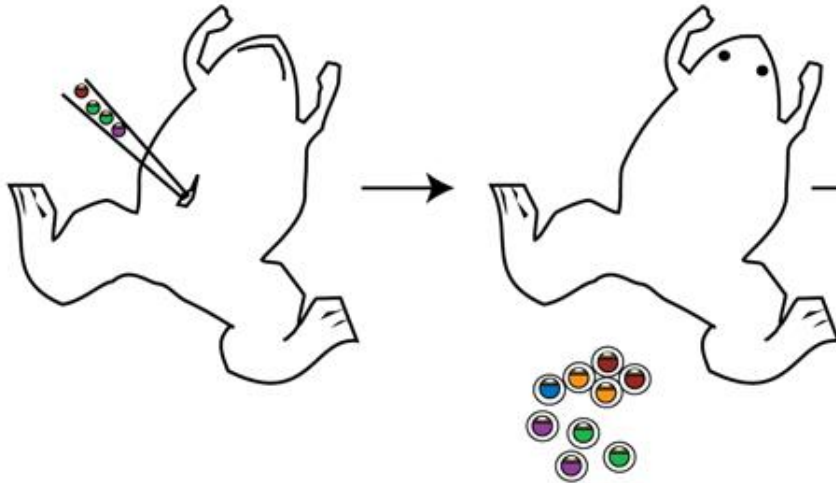
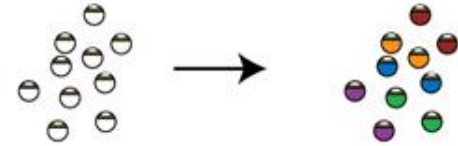
1) Remove ovary and defolliculate donor oocytes



2) Microinject with antisense oligos, culture 24 hours



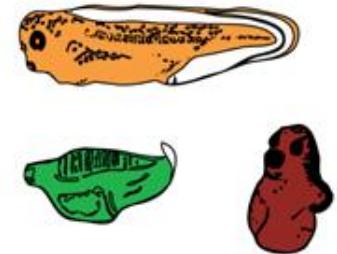
3) Mature with progesterone, then color with vital dyes



4) Implant into body cavity of host female and recover colored eggs after 3 hours

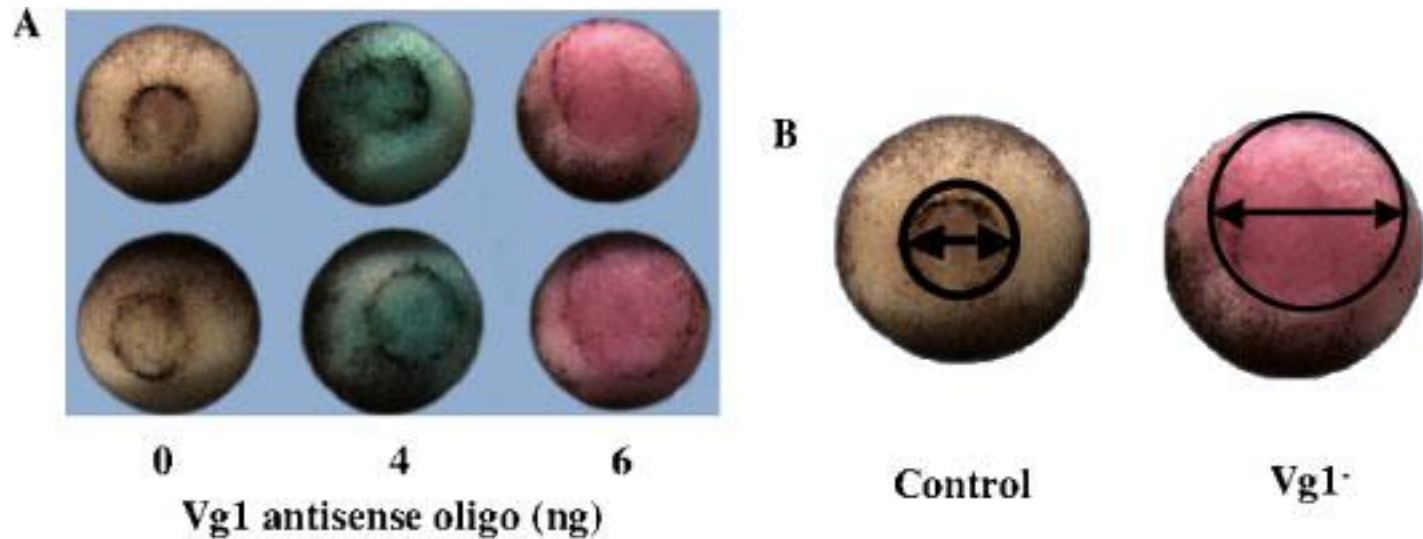


5) Fertilize with sperm suspension, dejelly cleaving eggs, and sort. Raise to desired stage and assess developmental abnormalities.



Gli ovociti immaturi vengono prelevati dall'ovario e microiniettati con gli oligo antisense e un colorante, poi reinseriti nell'ovario. Dopo l'ovulazione e la fecondazione, gli ovociti microiniettati saranno riconoscibili per via del colorante.

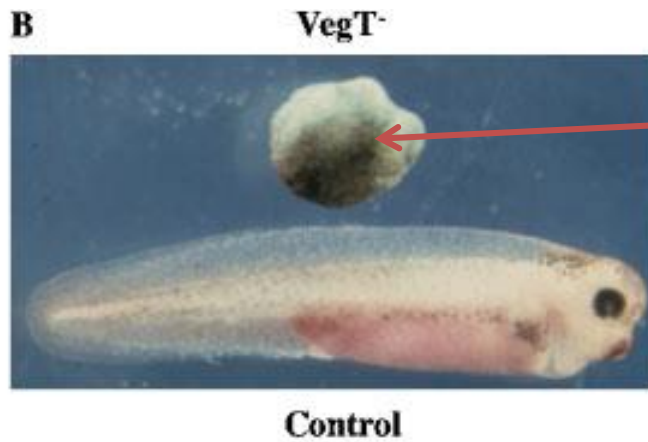
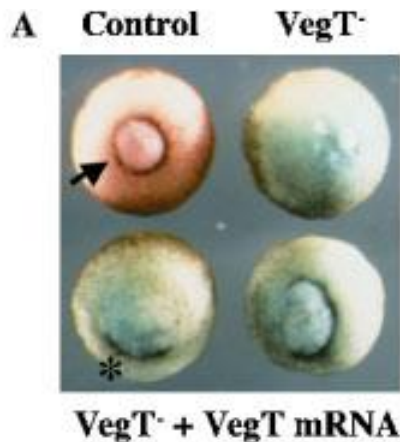
Vg1 E' UN SEGNALE TGF- β MATERNO CHE FUNZIONA NELL'INDUZIONE DEL MESODERMA



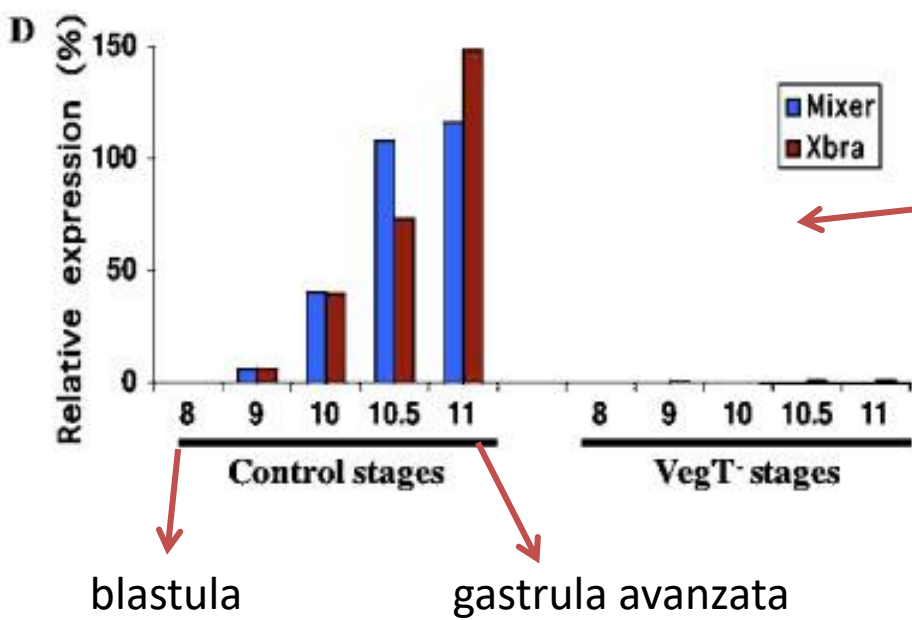
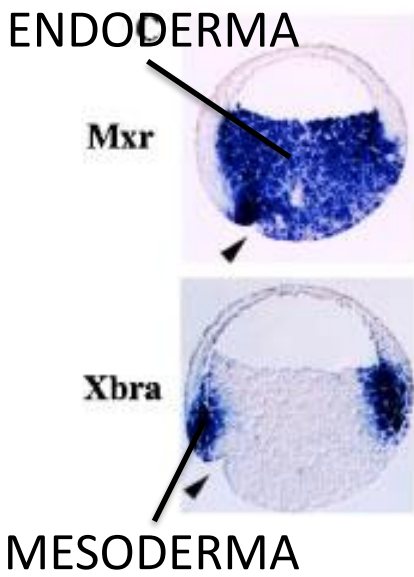
Il blocco della traduzione dell'mRNA Vg1 mediante oligo antisense iniettati negli ovociti impedisce la corretta formazione del mesoderma (riconoscibile dall'alterata formazione del blastoporo e dal fenotipo anomalo degli embrioni sviluppatasi da ovociti iniettati. Gli embrioni non colorati sono embrioni di controllo non iniettati (forma del blastoporo e dell'embrione normali)



VegT E' UN FATTORE DI TRASCRIZIONE DI ORIGINE MATERNA CHE AGISCE NELLA SPECIFICAZIONE DELL'ENDODERMA (specificazione autonoma) E NELL'INDUZIONE DEL MESODERMA (specificazione condizionale)

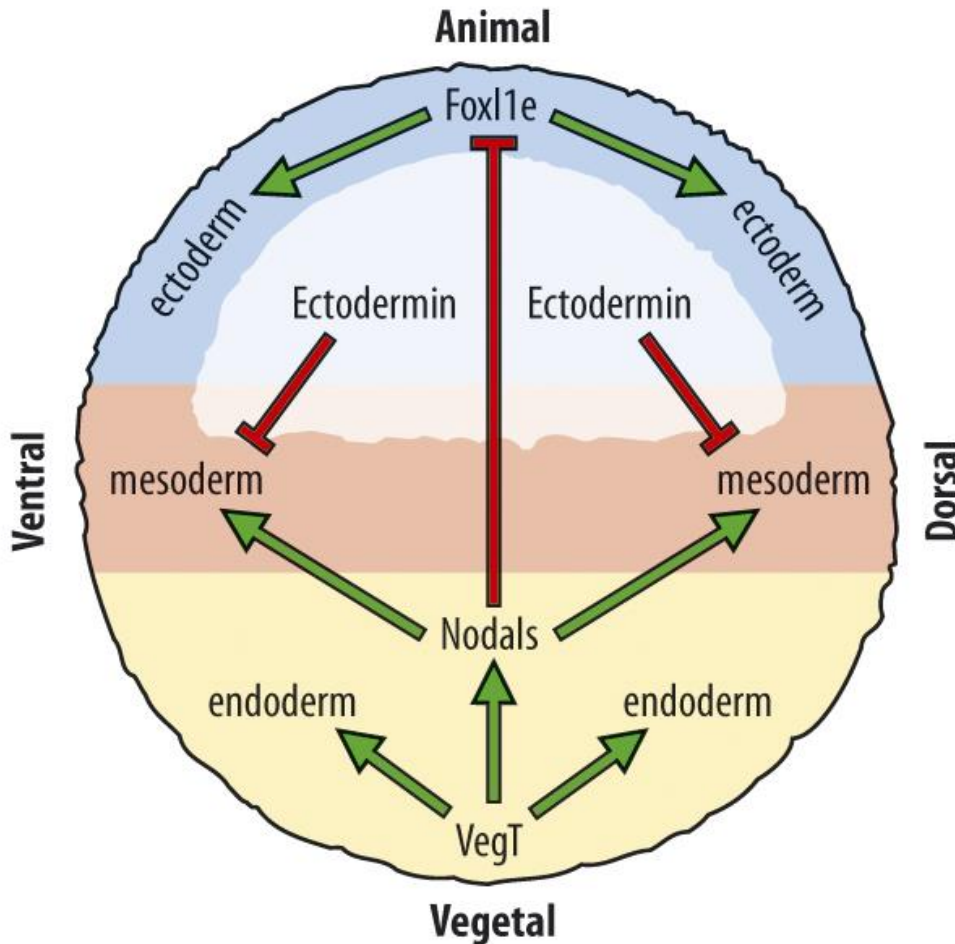


Il blocco della traduzione di VegT produce effetti simili a Vg1 ma con fenotipi ancora più forti



Assenza totale di marcatori endodermici (Mixer) e mesodermici (Brachyury) in embrioni privi della proteina VegT. Negli embrioni di controllo questi marcatori sono presenti a livelli elevati durante la gastrulazione (grafico a sinistra, mostra diversi momenti durante la gastrulazione)

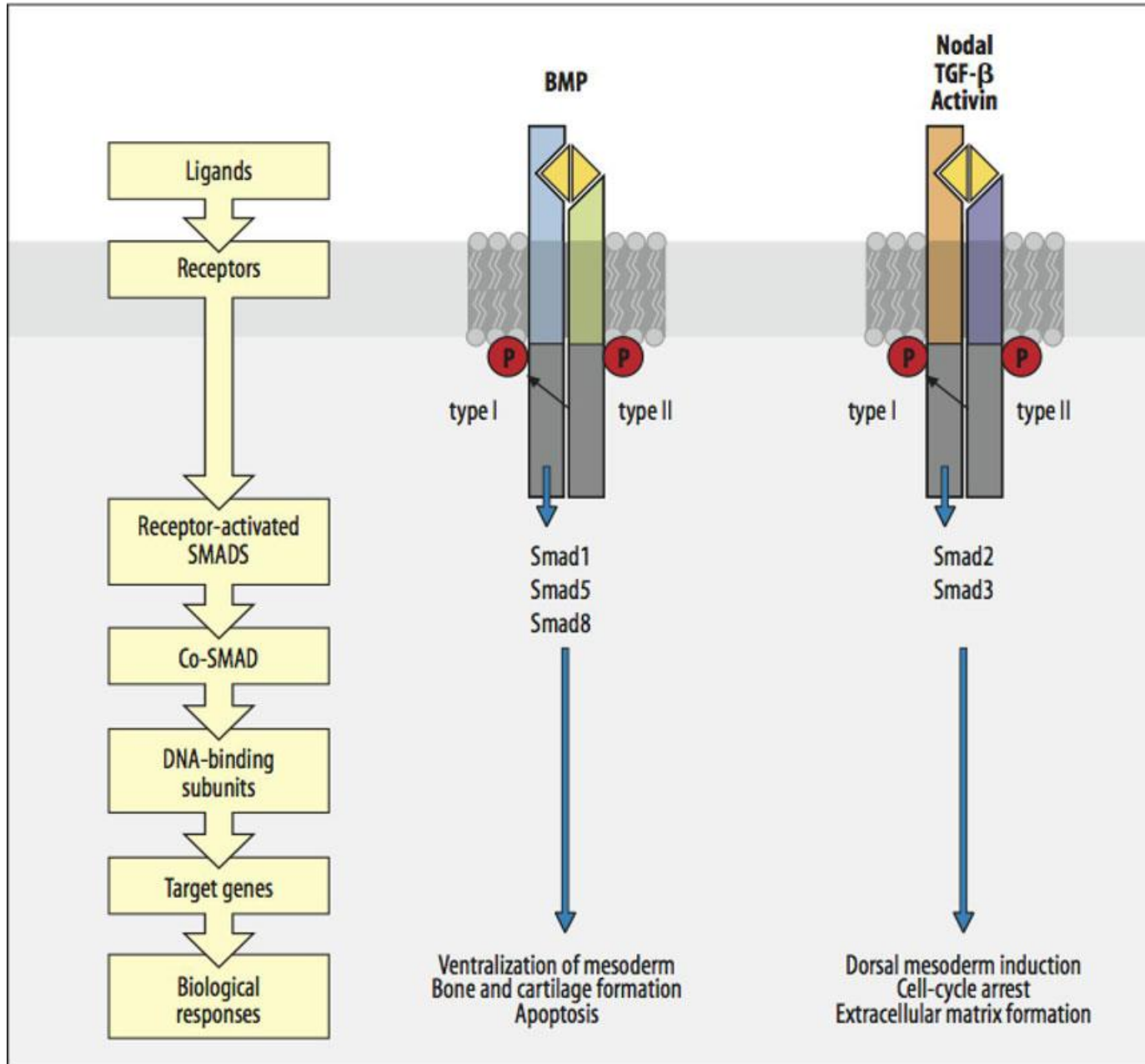
Factors that specify ectoderm, endoderm, and mesoderm in *Xenopus*



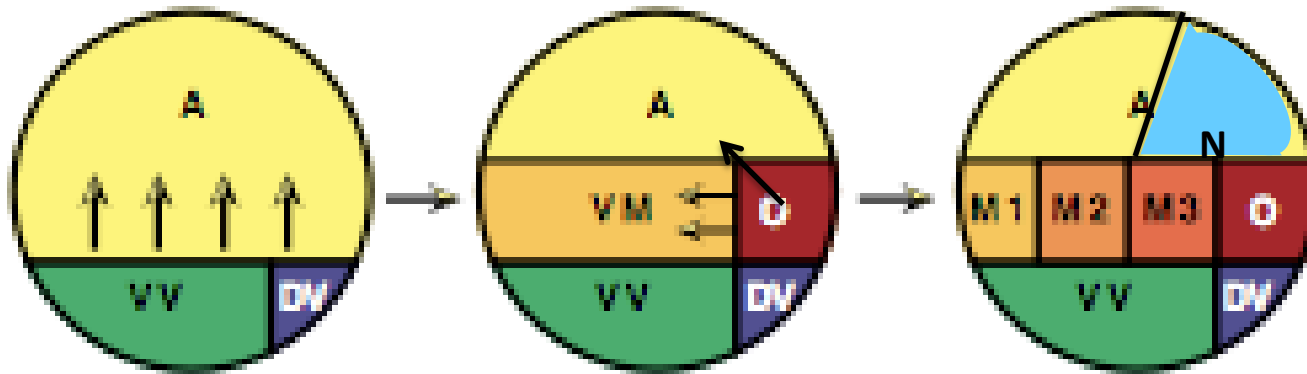
Dopo la fecondazione mRNA materno di VegT viene tradotto. La proteina agisce nelle cellule vegetative promuovendo direttamente la trascrizione di geni endodermici, e promuovendo la trascrizione dei fattori paracrini *Xenopus* Nodal-related (Xnr, superfamiglia TGFbeta) che agiscono sulle cellule della zona marginale inducendole a formare mesoderma.

I fattori Xnr collaborano con il fattore Vg1, anch'esso un fattore paracrino della superfamiglia TGFbeta prodotto e secreto dalle cellule vegetative a partire da mRNA materno.

CASCATA DI TRASDUZIONE DEL SEGNALE DEI FATTORI NODAL-RELATED



MODELLO A TRE SEGNALI DELLO SVILUPPO PRECOCE NEGLI ANFIBI



1° segnale: segnale di induzione mesodermica (ventrale) prodotto da tutta la regione vegetativa

2° segnale: segnale di dorsalizzazione del mesoderma prodotto dalle cellule vegetative dorsali; collabora con il 1° segnale per indurre l'organizzatore

3° segnale: segnale di dorsalizzazione dell'ectoderma (induzione neurale) e di dorsalizzazione del mesoderma parassiale (somiti) prodotto dall'organizzatore

3° segnale = antagonisti di BMP (Chordin, Noggin, Follistatin)

1° segnale = Vg1, VegT -> fattori Xnr (nodal-related)

2° segnale = ?