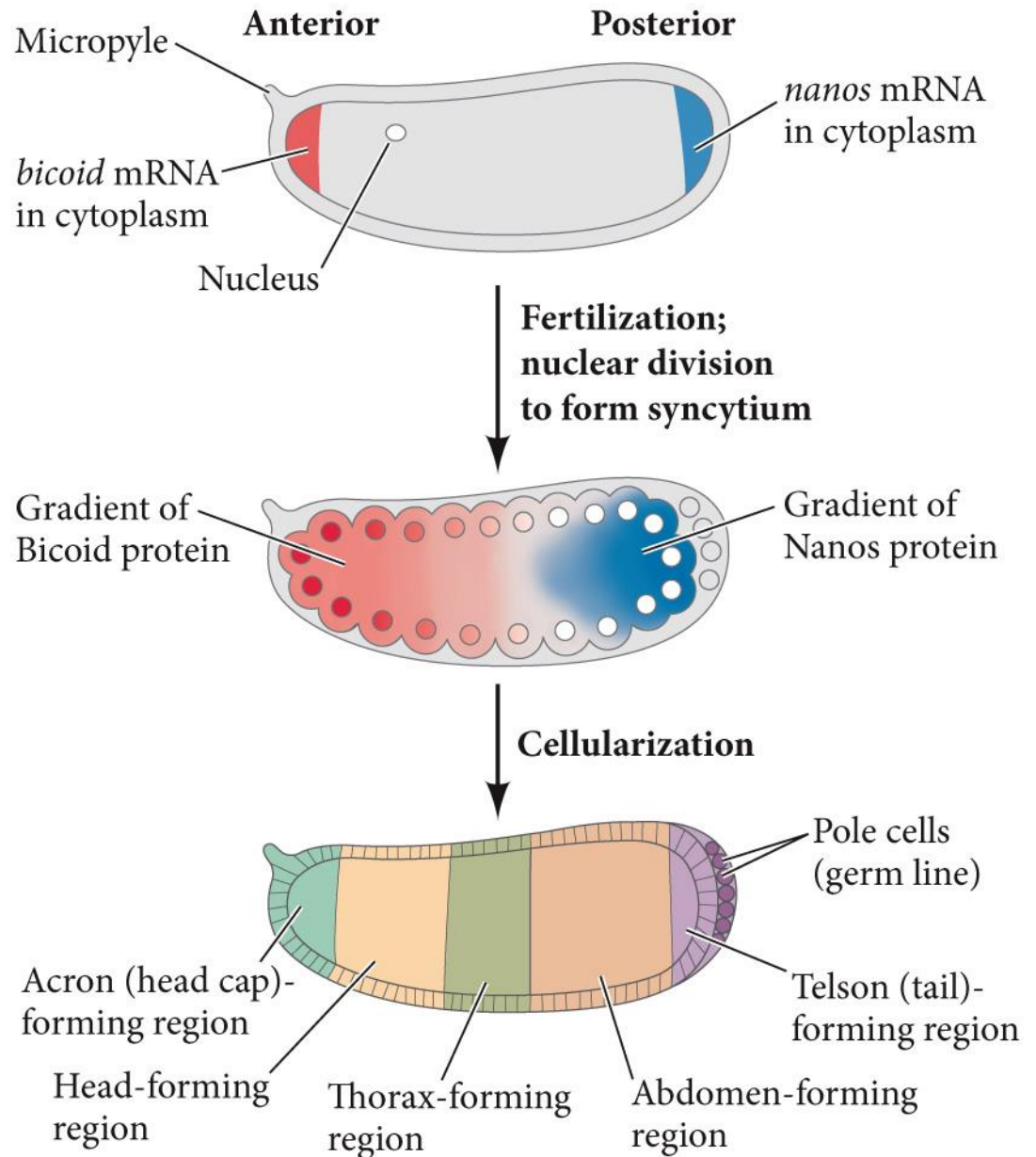
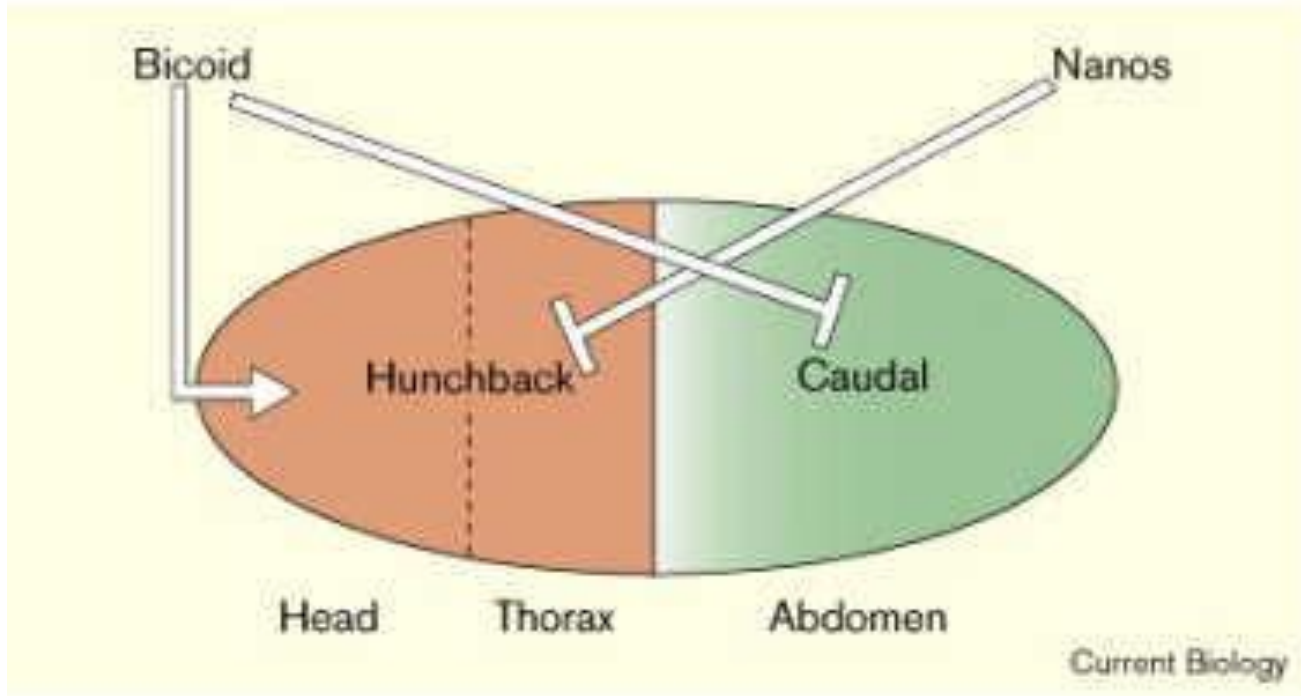


mRNA dei geni **Bicoid** e **Nanos** vengono localizzati ai poli anteriore e posteriore dell'ovocita e vengono tradotti dopo la fecondazione.

I prodotti proteici diffondono nell'uovo fecondato creando opposti gradienti di concentrazione e specificano le regioni anteriori e posteriori agendo come **morfogeni**.

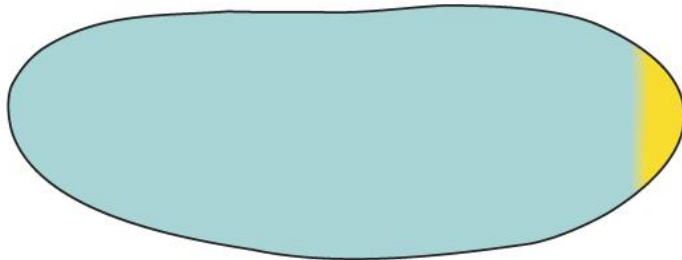
L'azione dei geni materni si esplica durante la fase di blastoderma sinciziale.





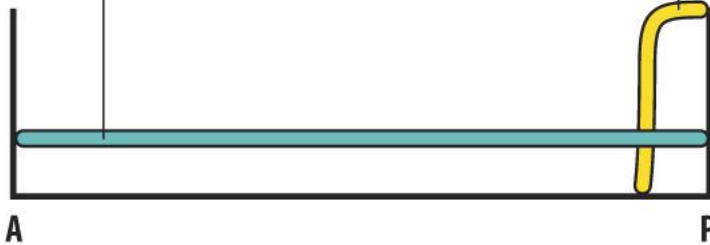
Altri due mRNA per geni materni, **Hunchback** e **Caudal**, vengono trasportati nell'ocita dalle cellule nutrici, ma essi non vengono localizzati. Tuttavia le proteine appaiono distribuite con gradienti di concentrazione lungo l'asse AP. Cio' e' dovuto al fatto che la **traduzione** di questi mRNA e' inibita da Bicoid (Caudal) e Nanos (Hunchback), per cui le proteine Hunchback e Caudal vengono distribuite con gradienti che riflettono quelli di Bicoid e Nanos.

### Maternal mRNA expression

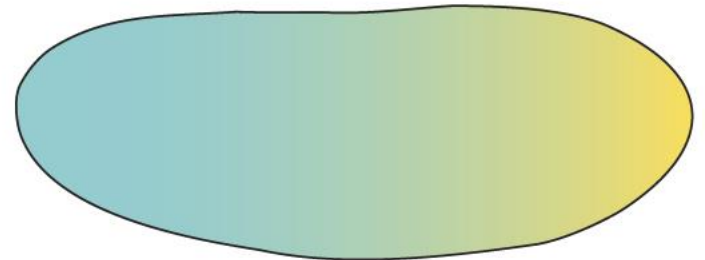


*hunchback*

*nanos*



### Protein expression

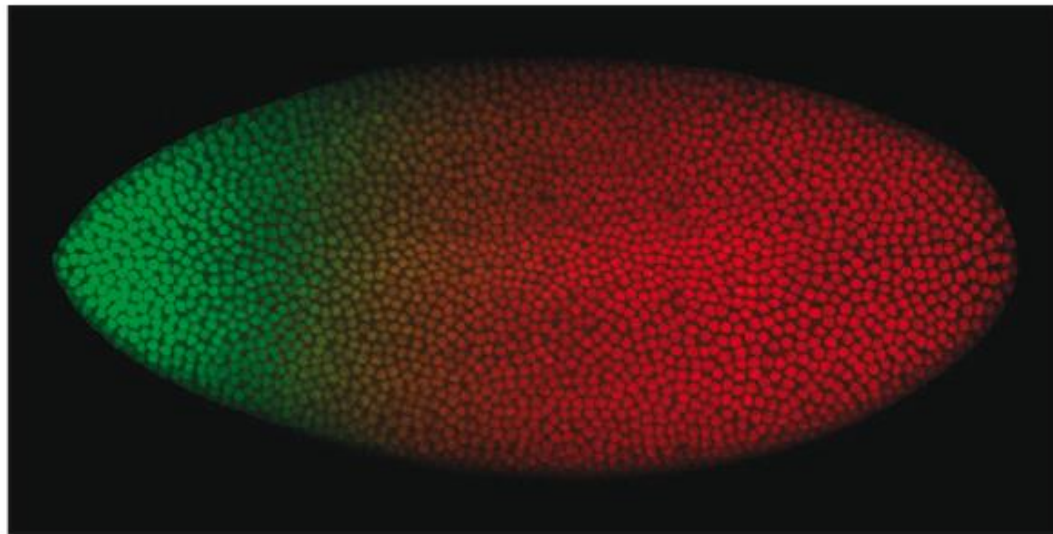
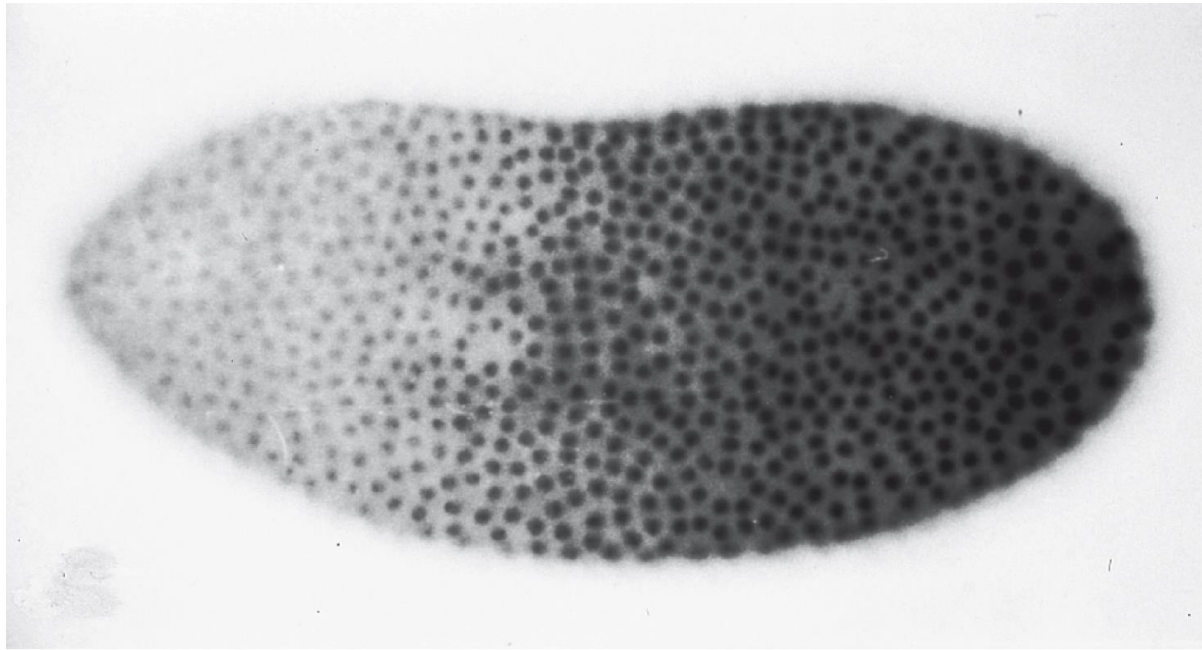


Hunchback

Nanos



Gradiente della  
proteina Caudal nel  
blastoderma  
sinciziale

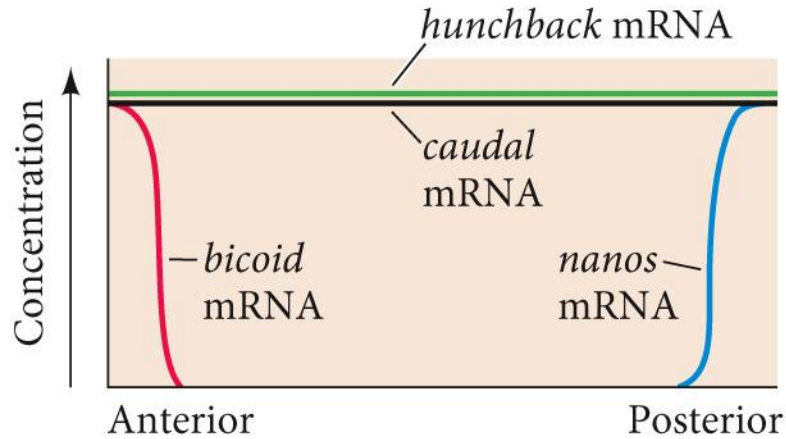


*bcd*

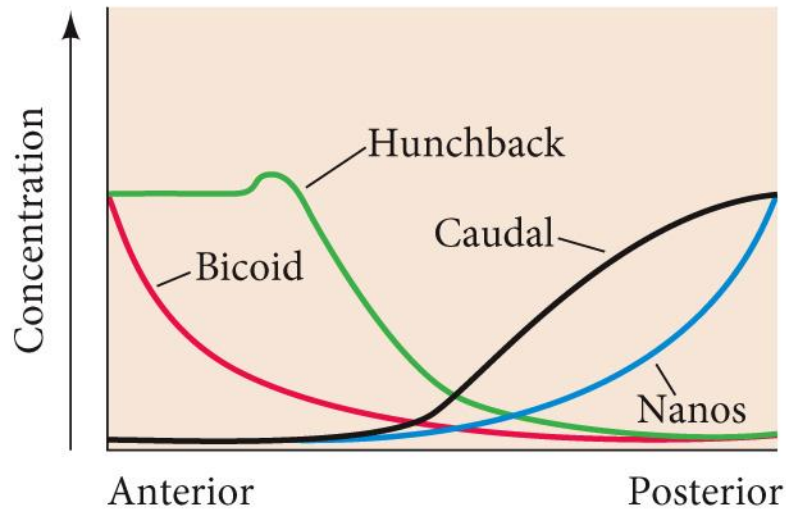


*cad*

(A) Oocyte mRNAs

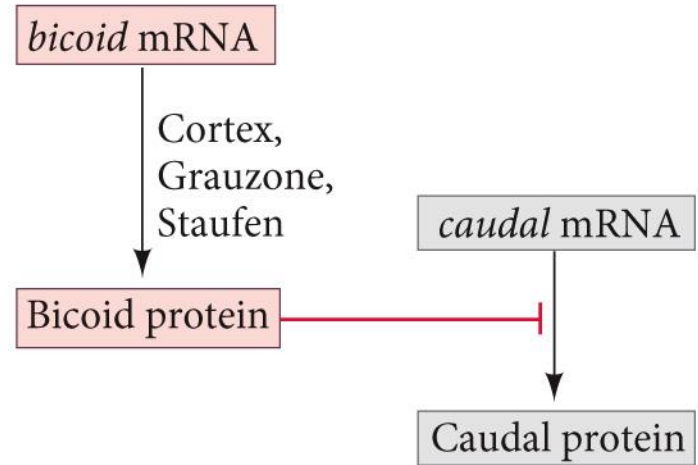


(B) Early cleavage embryo proteins

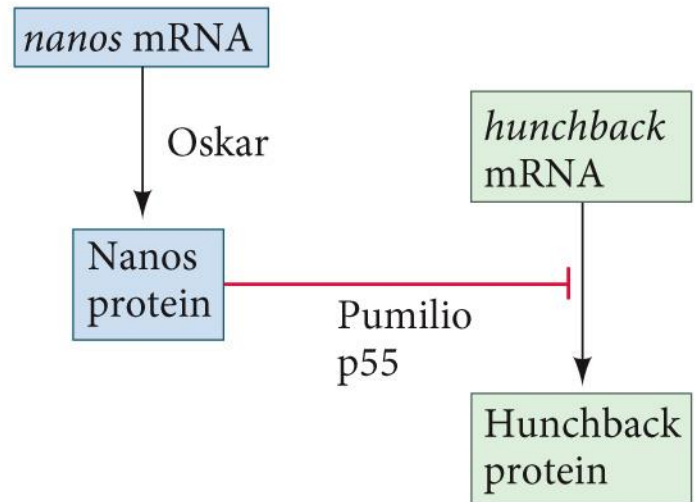


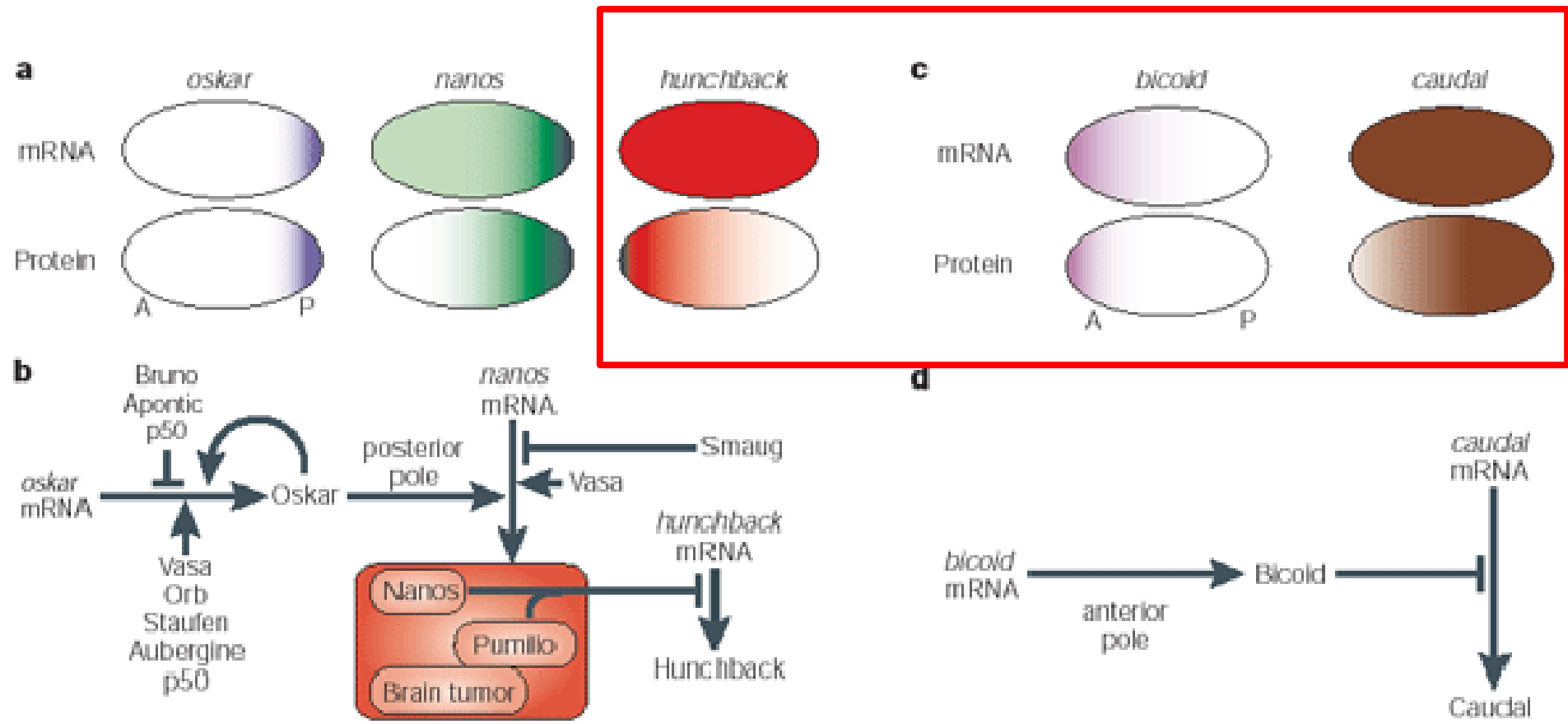
(C)

Anterior



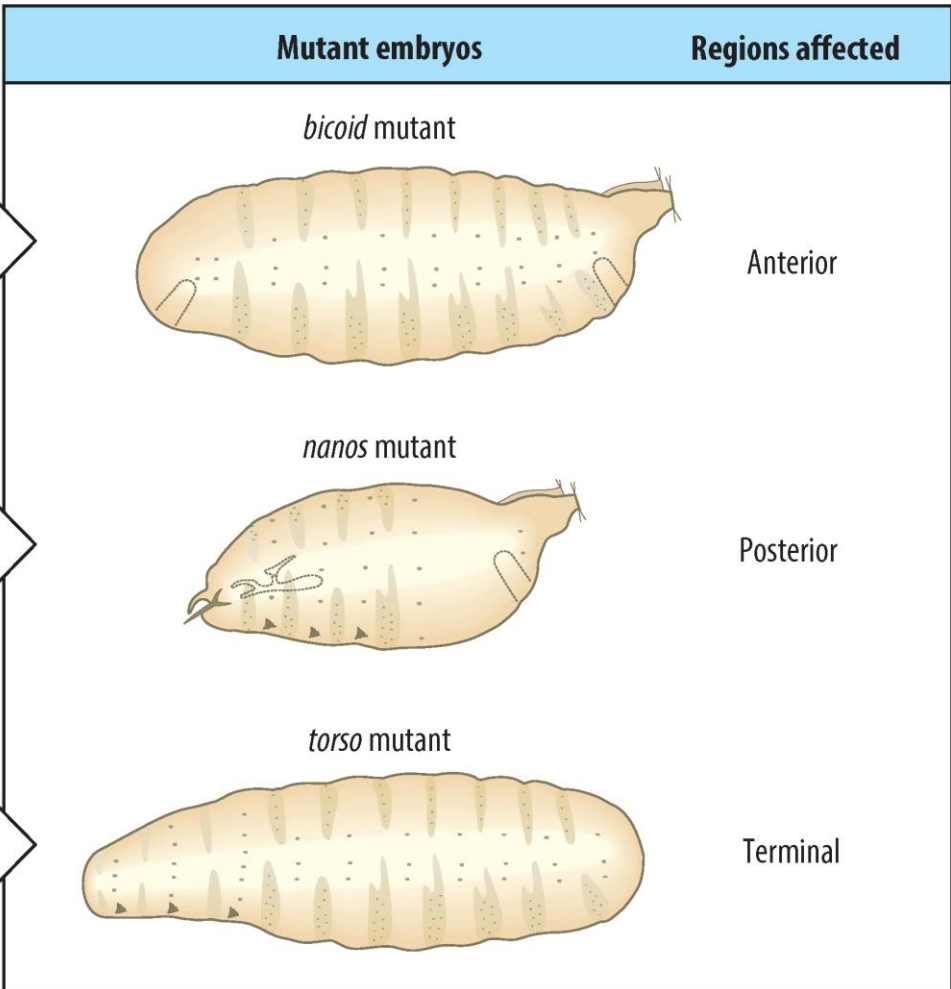
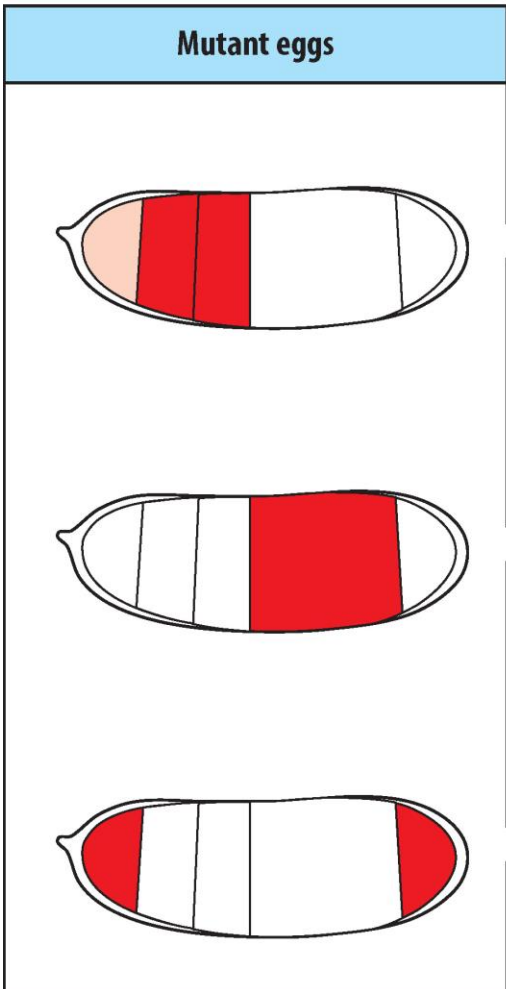
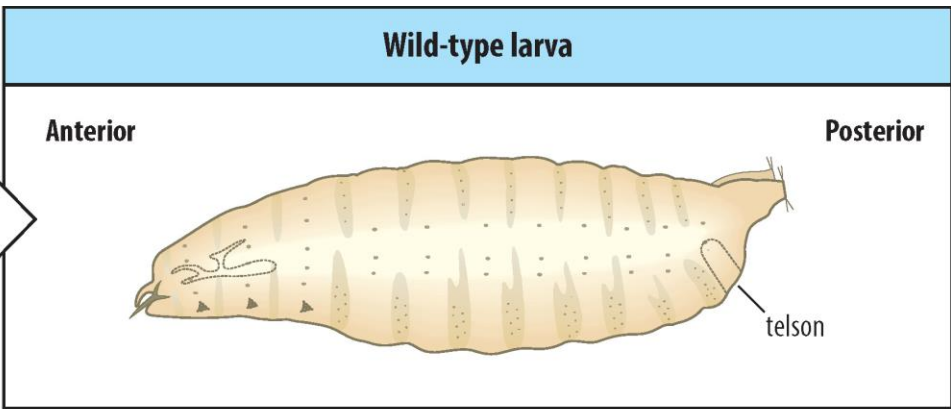
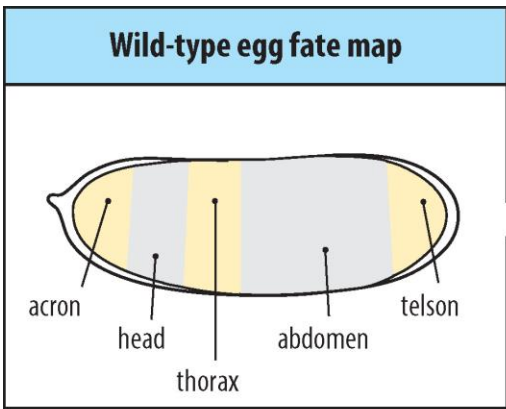
Posterior





Le proteine Bicoid, Hunchback e Caudal sono **fattori di trascrizione** che possono diffondere nel blastoderma sinciziale creando dei gradienti e regolare (attivare o reprimere) l'espressione di geni bersaglio in base ai loro livelli di concentrazione.

I **gradienti** di Bicoid, Hunchback e Caudal determinano profili di espressione genica specifici in nuclei localizzati a livelli diversi lungo l'asse AP: specificazione dell'identità posizionale anteroposteriore.





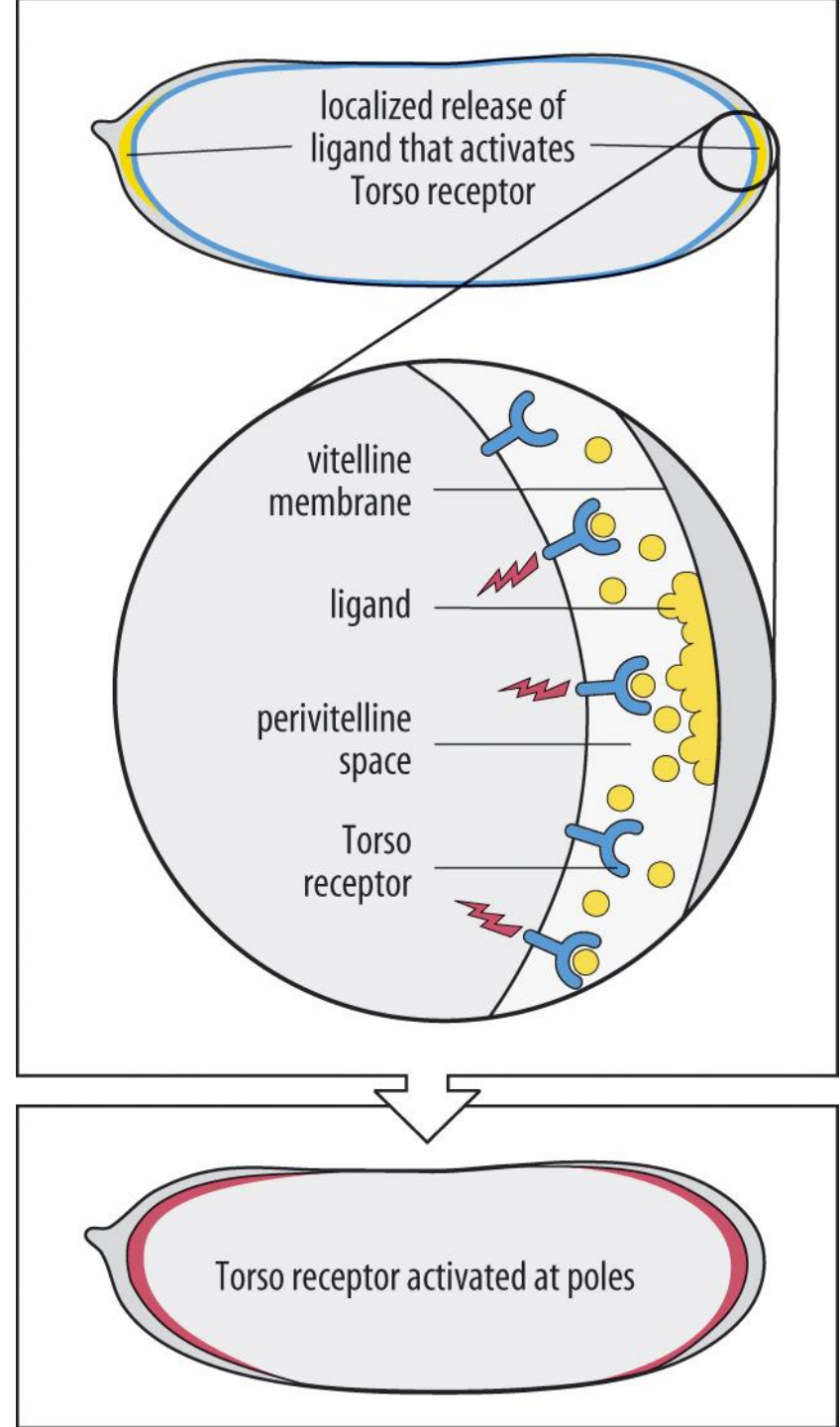
## Specificazione delle regioni terminali (acron e telson)

Dipende dall'attività della proteina **Torso**  
(**recettore tirosina-chinasi**).

Nei mutanti per il gene Torso mancano  
acron e telson.

mRNA di Torso è depositato nell'oocita e  
tradotto dopo la fecondazione.

La proteina Torso viene espressa su tutta  
la membrana dell'uovo, ma viene attivata  
in maniera localizzata da un **ligando**  
rilasciato solo dalle cellule follicolari in  
corrispondenza dei poli anteriore e  
posteriore dell'uovo.

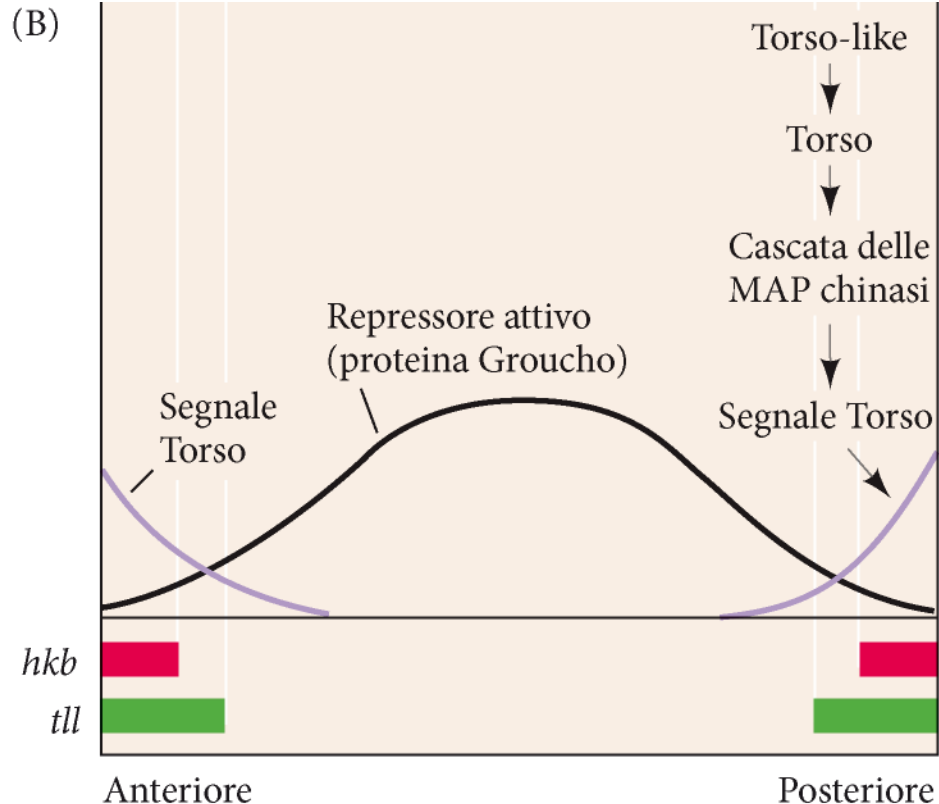
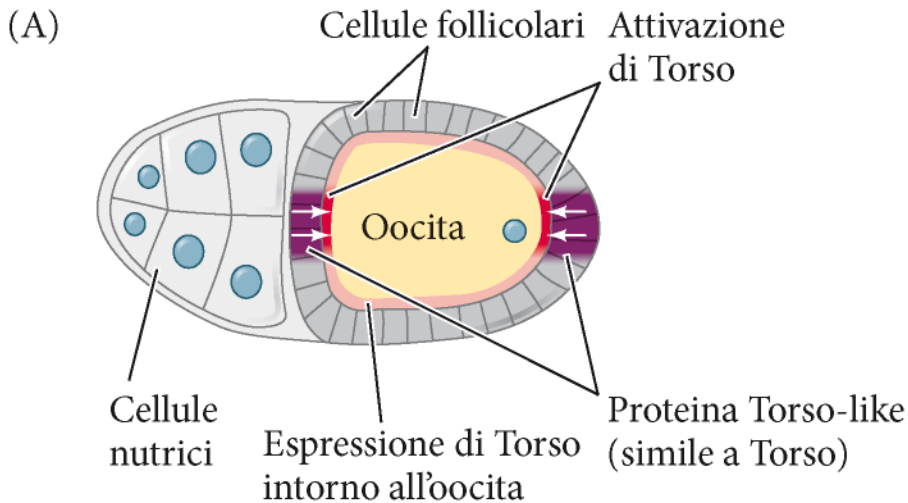


## Specificazione delle regioni terminali (acron e telson)

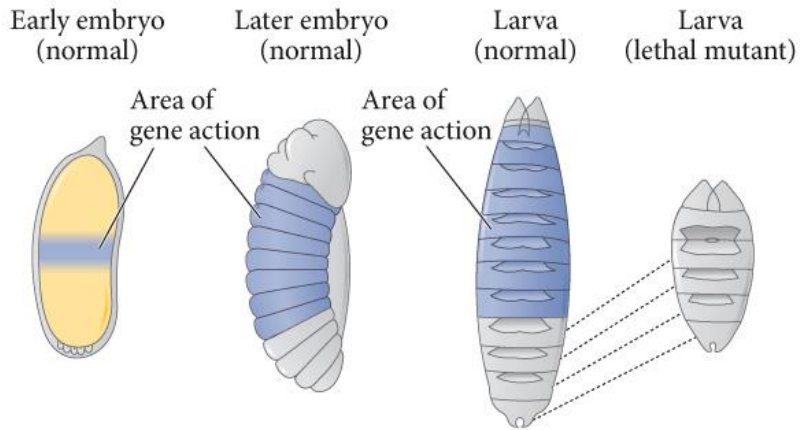
L'attivazione della via di segnale di Torso nelle regioni terminali porta alla inattivazione di un repressore trascrizionale e alla espressione dei geni **Tailless** e **Huckbein**. Essi codificano per **fattori di trascrizione** che specificano l'identità delle regioni terminali. Il morfogeno anteriore (Bicoid) interagisce con i fattori di specificazione delle regioni terminali per distinguere l'acron dal telson.

Tailless+Huckbein -> telson

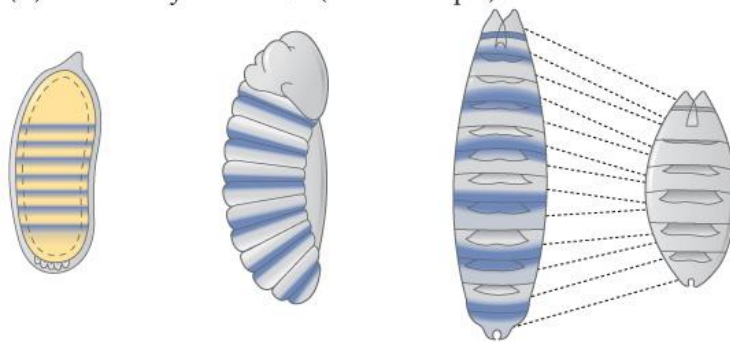
Tailless+Huckbein+Bicoid -> acron



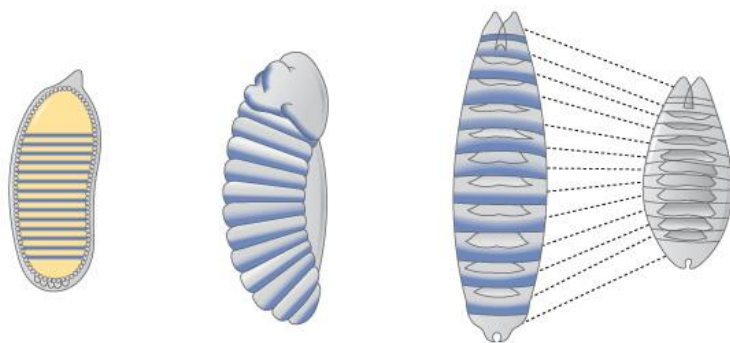
(A) Gap: *Krüppel* (as an example)



(B) Pair-rule: *fushi tarazu* (as an example)



(C) Segment polarity: *engrailed* (as an example)



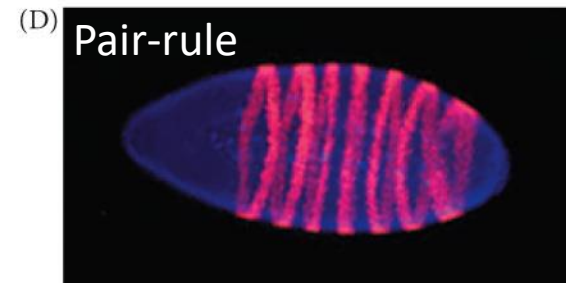
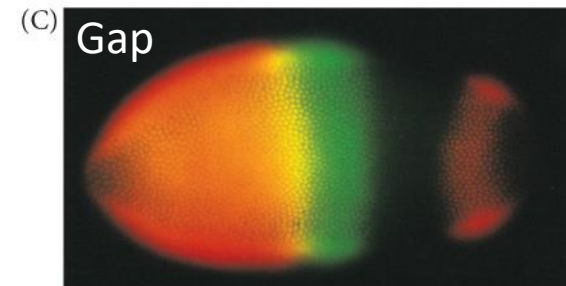
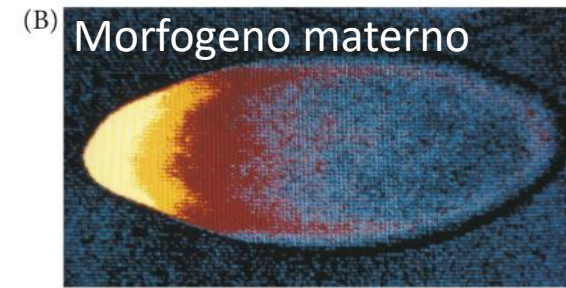
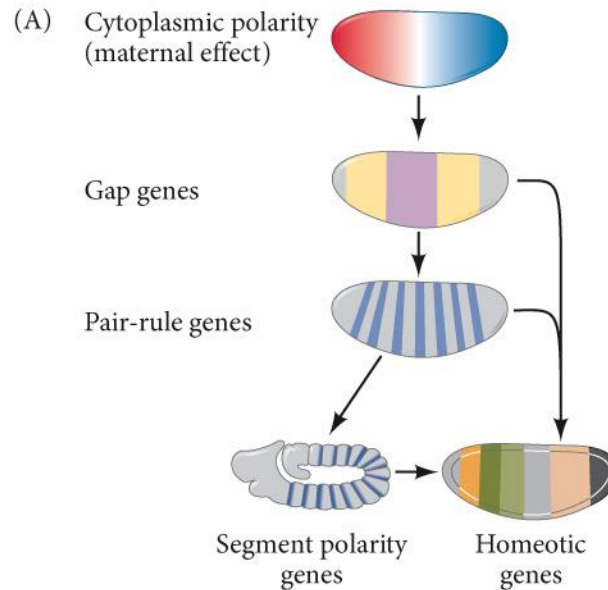
## Specificazione dei parasegmenti

A valle dei geni materni, agiscono tre categorie di geni zigotici:

**Geni gap**, nei mutanti mancano regioni ampie dell'embrione (piu' segmenti contigui.)

**Geni pair-rule**, mancano segmenti alterni.

**Geni segment-polarity**, difetti nell'organizzazione dei segmenti.



## Gerarchia genetica che controlla la polarita' e la segmentazione lungo l'asse AP

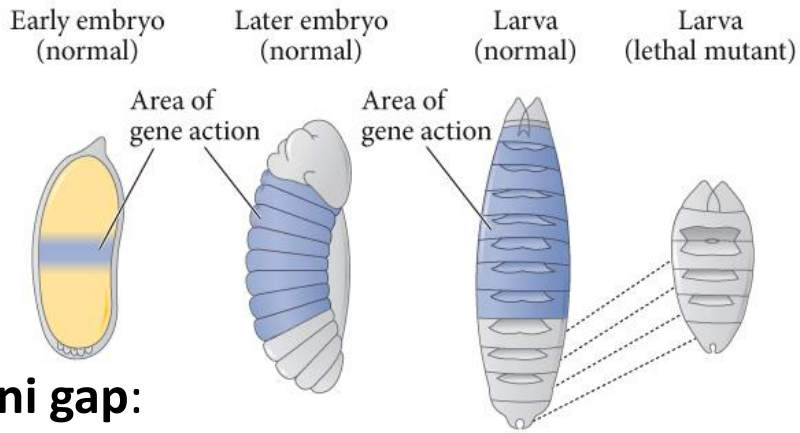
**Geni ad effetto materno:** mRNA localizzati nell'oocita, I prodotti proteici diffondono nel blastoderma sinciziale creando gradienti morfogenetici.

**Geni gap:** geni zigotici a valle dei geni materni, espressi in ampi domini del blastoderma corrispondenti a blocchi dei futuri segmenti.

**Geni pair-rule:** a valle dei geni gap, espressi in 7 bande alterne, suddividono l'embrione in 14 segmenti.

**Geni segment-polarity:** determinano l'organizzazione dei segmenti.

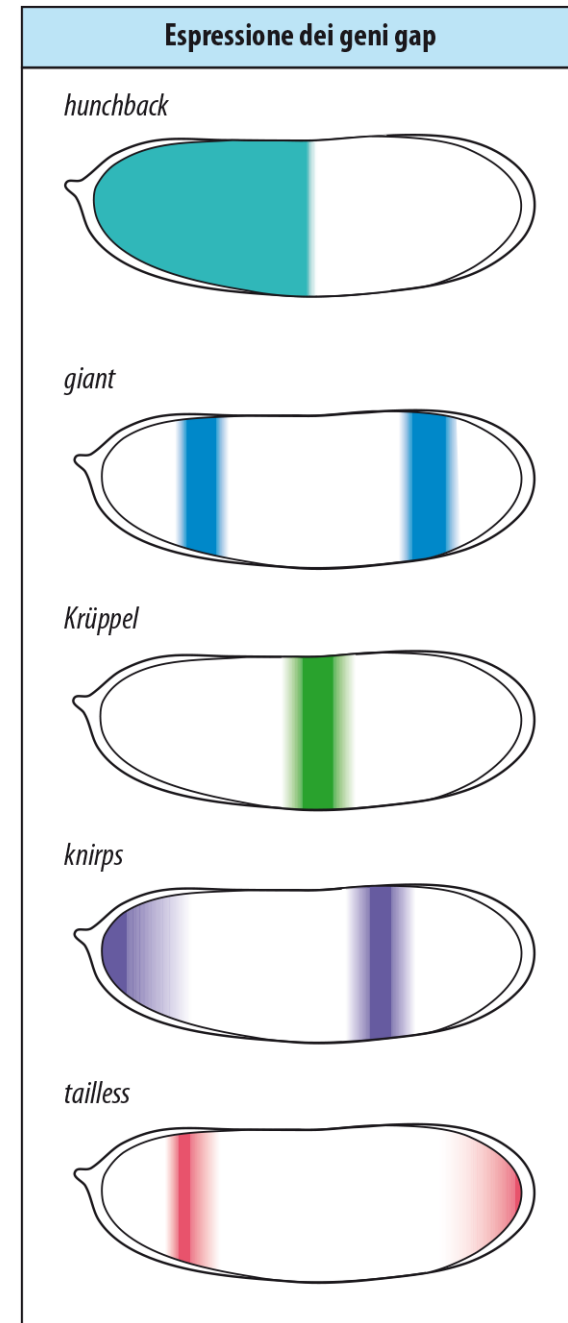
(A) Gap: *Krüppel* (as an example)



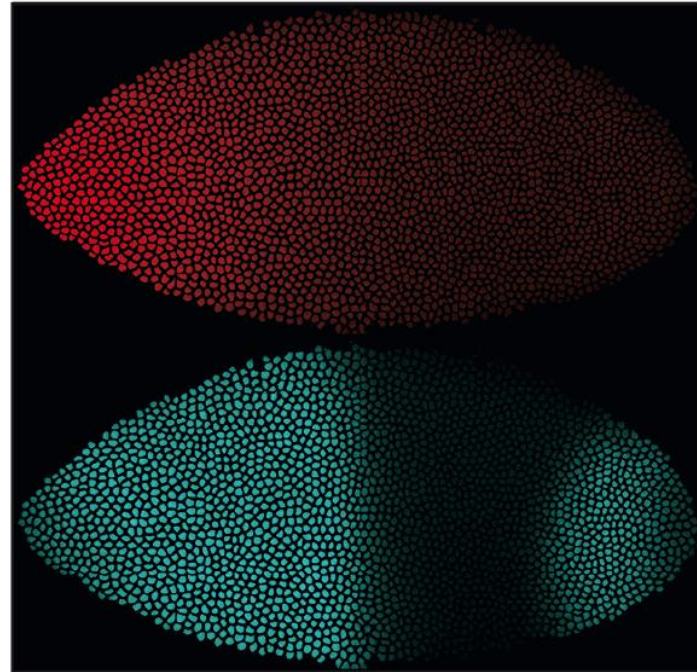
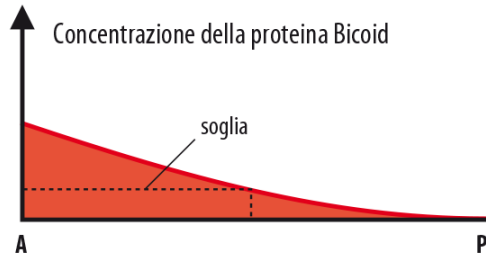
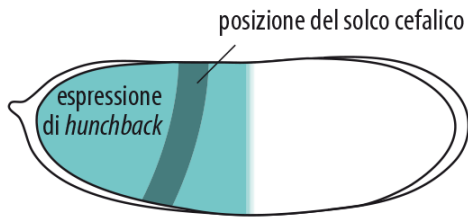
## Geni gap:

- Nei mutanti mancano regioni ampie dell'embrione (piu' segmenti contigui).
- Espresi in bande trasversali del blastoderma abbastanza ampie, corrispondenti a più segmenti consecutivi.
- Codificano **fattori di trascrizione**.
- I domini di espressione dei geni gap dipendono dai gradienti dei fattori materni e da interazioni reciproche fra i prodotti proteici dei geni gap.

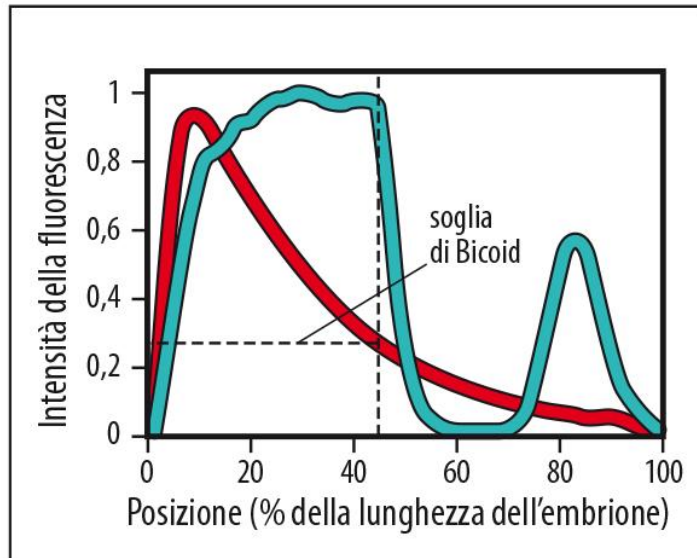
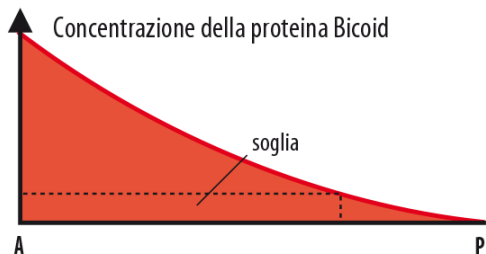
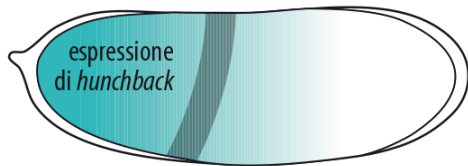
Il confine posteriore di Hunchback, della banda anteriore di Giant e di Kruppel è determinato dal gradiente dei morfogeni Bicoid e Hunchback con un meccanismo a soglia. Il confine anteriore è determinato da interazioni repressive fra i geni gap.



### Dose normale di *bicoid*



### Doppia dose di *bicoid*



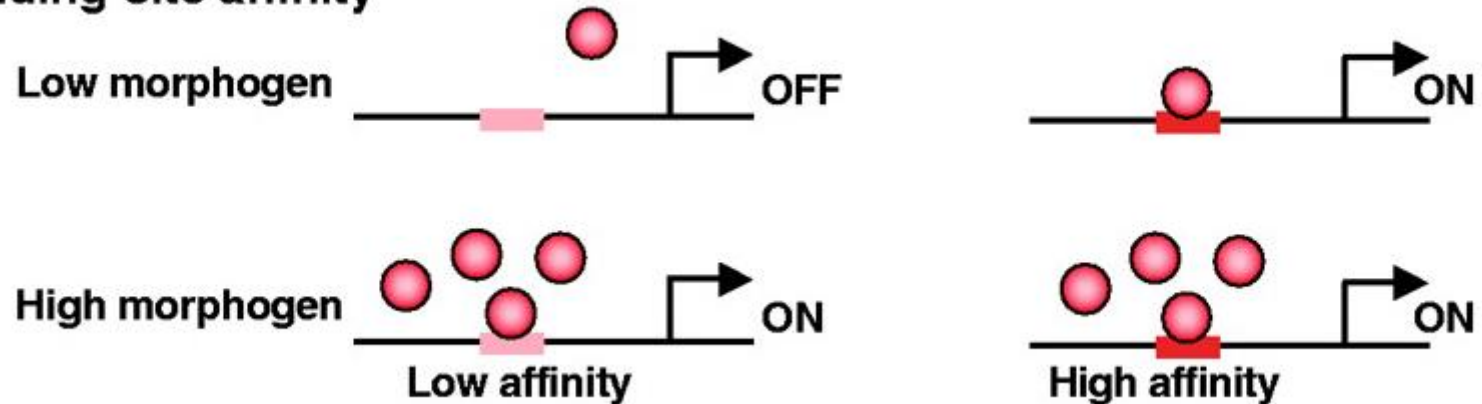
Bicoid attiva la trascrizione di Hunchback nella regione anteriore dell'embrione. L'espressione di Hunchback può essere da attivata solo al di sopra di uno specifico livello soglia della concentrazione di Bicoid: in questo modo, il gradiente di bicoid determina un confine posteriore netto nella trascrizione di Hunchback. L'espressione zigotica di Hunchback rinforza il gradiente materno della proteina Hunchback, che influenza l'espressione degli altri geni gap.

In che modo un gradiente di **morfogeno** (**Bicoid**, **Hunchback**, **Caudal**) può attivare (o reprimere) l'espressione di geni diversi a concentrazioni diverse del gradiente?

I **siti di legame** per il morfogeno nelle regioni regolatrici di diversi geni bersaglio possono avere **affinità diversa** per il morfogeno, e quindi legarlo solo in certi intervalli di concentrazione.

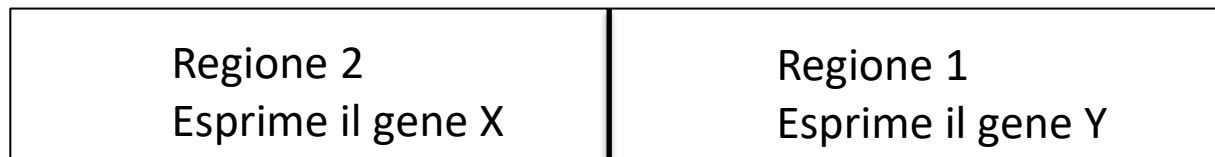
La diversa affinità può dipendere dal numero di siti di legame e/o da variazioni nella sequenza nucleotidica dei siti.

### A. Binding-site affinity



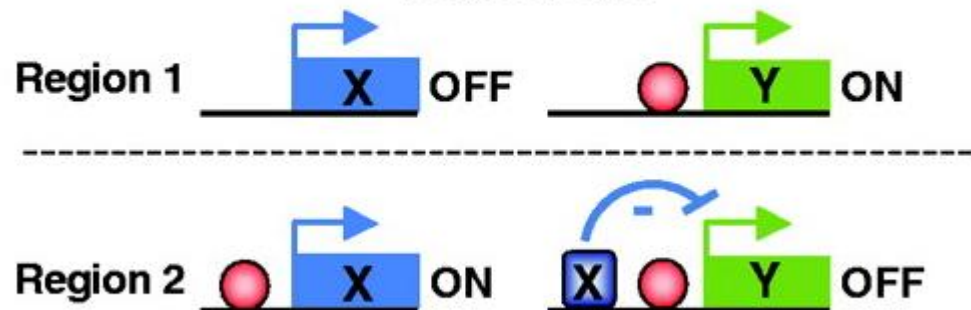
Non sempre un gradiente di morfogeno è sufficiente a distinguere in modo fine diversi domini di espressione genica. Ad esempio, se il gene X ha una bassa affinità per il morfogeno e il gene Y ha una elevata affinità, la regione 1 (bassi livelli di morfogeno) esprimerà solo il gene Y, ma la regione 2 li esprimerà entrambi. Come si può escludere l'espressione del gene Y dalla regione 2?

Un meccanismo molto frequente è la repressione reciproca fra diversi geni bersaglio. In questo esempio, se il prodotto del gene X è in grado di reprimere l'espressione del gene Y, i domini di X e Y diventano mutualmente esclusivi.

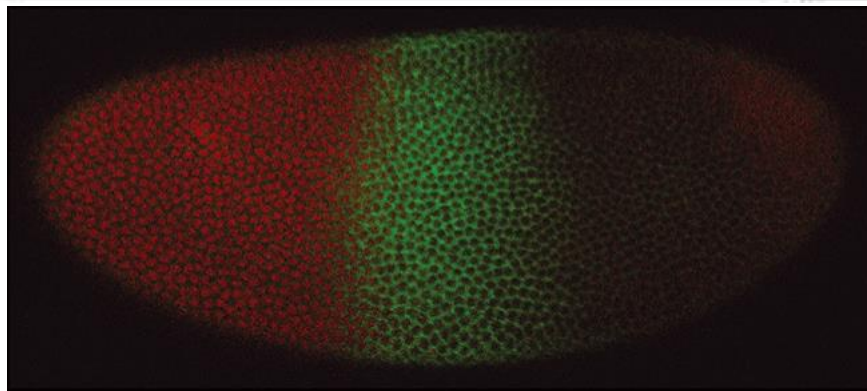
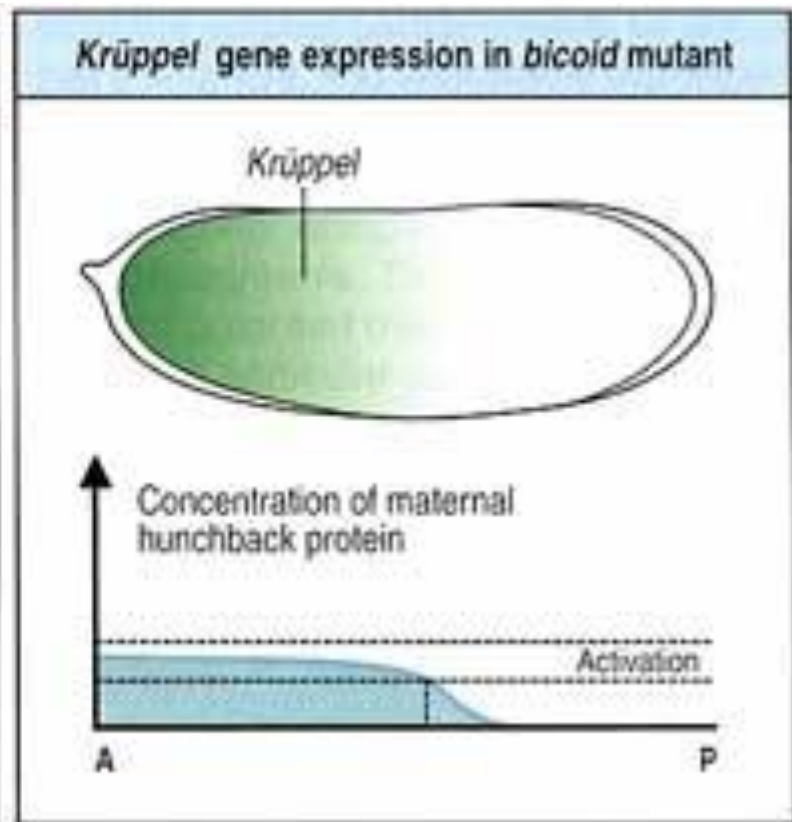
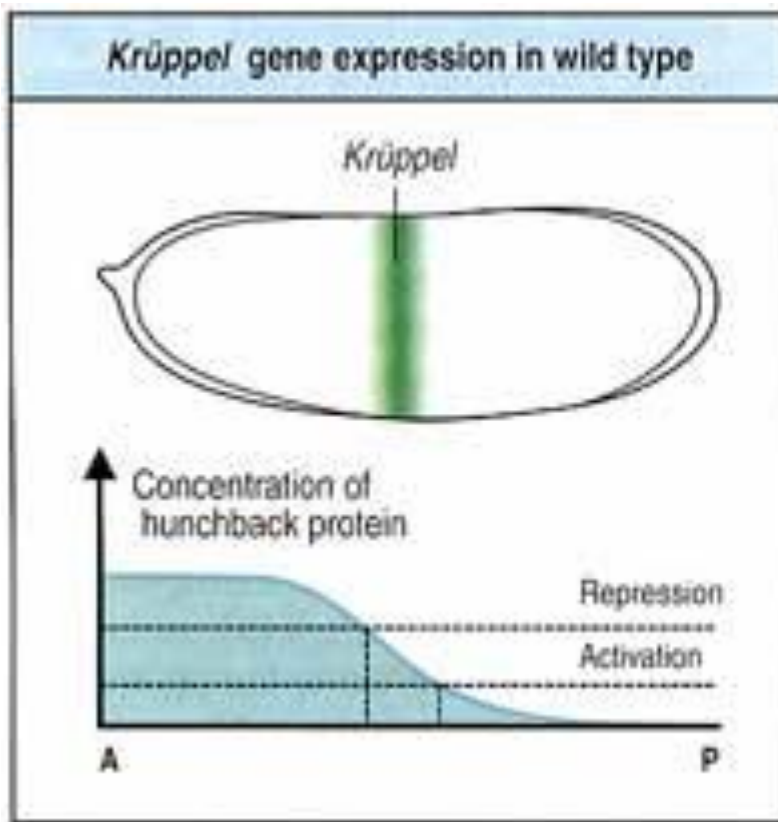


### E. Cross repression

#### Asymmetric

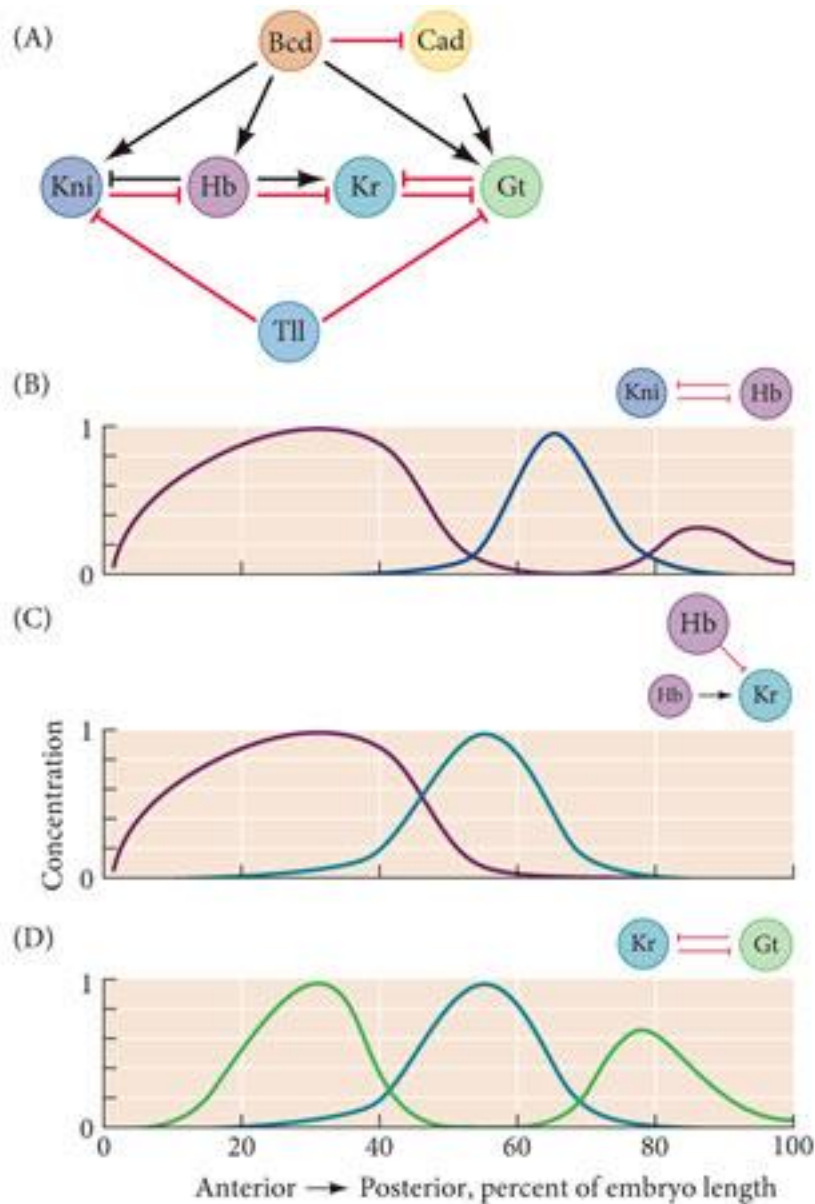






Rosso=Hunchback  
Verde= Krüppel

Krüppel è un gene gap espresso nella regione centrale dell'embrione, dove la sua trascrizione viene **attivata** da **livelli moderati** del gradiente di Bicoid/Hunchback. Nella regione anteriore, essa è **repressa** da alti livelli di Hunchback e da Giant. Giant reprime Krüppel anche nella regione posteriore, in cui viene attivato sotto il controllo di Caudal (doppia modalità di attivazione di Giant).

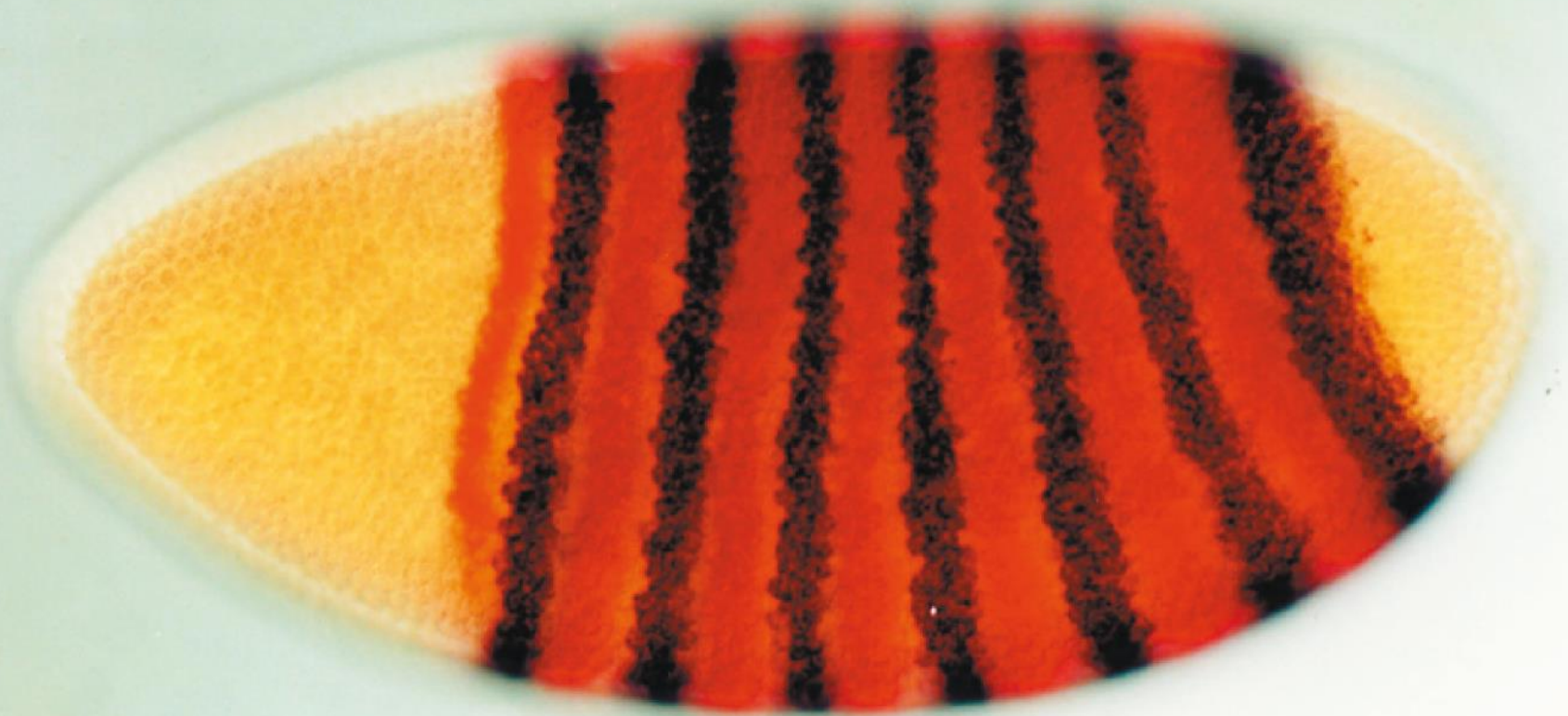


I prodotti dei geni gap sono fattori di trascrizione che rifiniscono i domini iniziali creati dai gradienti di Bicoid, Caudal e Hunchback mediante **repressioni reciproche**.

Es. livelli elevati di Bicoid e Hunchback attivano Giant, mentre livelli moderati attivano Kruppel. I domini di Giant e Kruppel sono rifiniti da repressioni reciproche fra di essi.

Mentre i domini trascrizionali dei geni gap tendono ad essere mutualmente esclusivi a causa delle interazioni repressive reciproche, le proteine codificate da essi possono diffondere nel blastoderma sinciziale, creando distribuzioni «a campana» con regioni di sovrapposizione fra diverse proteine gap. Questo contribuisce a suddividere il blastoderma in diversi domini spaziali.

Espressione di Even-skipped (rosso) e Fushi-tarazu (nero)

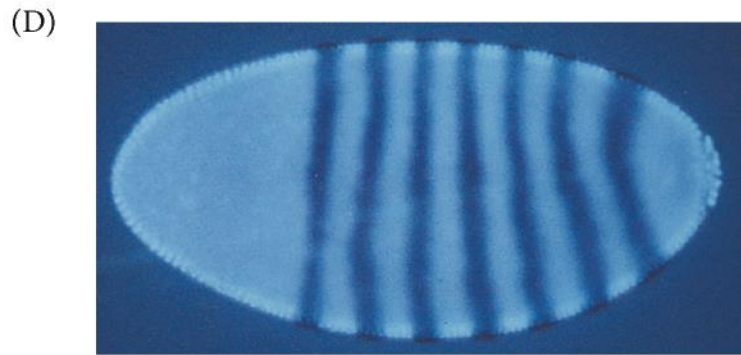
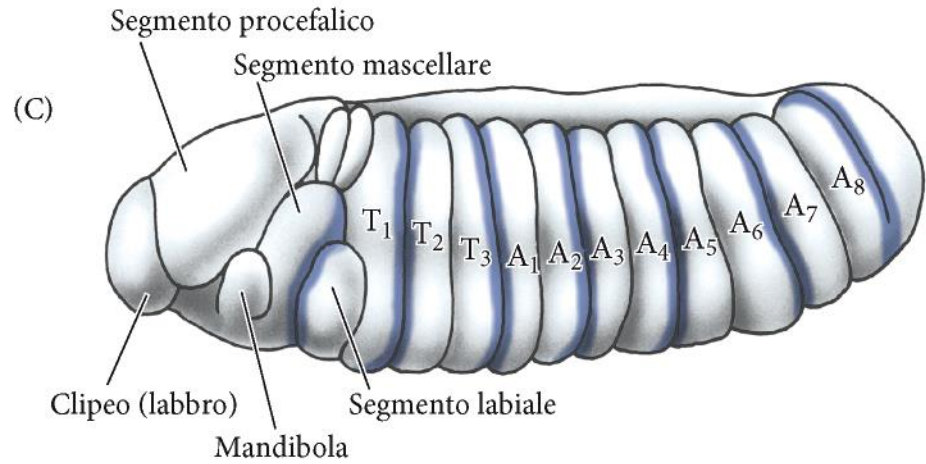
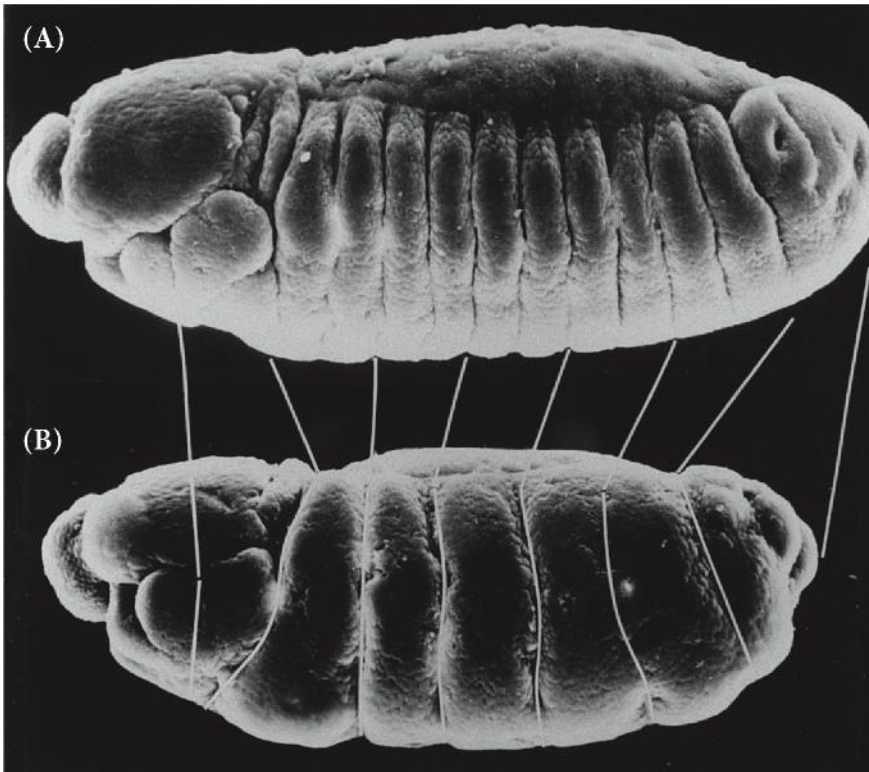


**Geni pair-rule:** dividono l'embrione in domini che prefigurano le unita' segmentali.

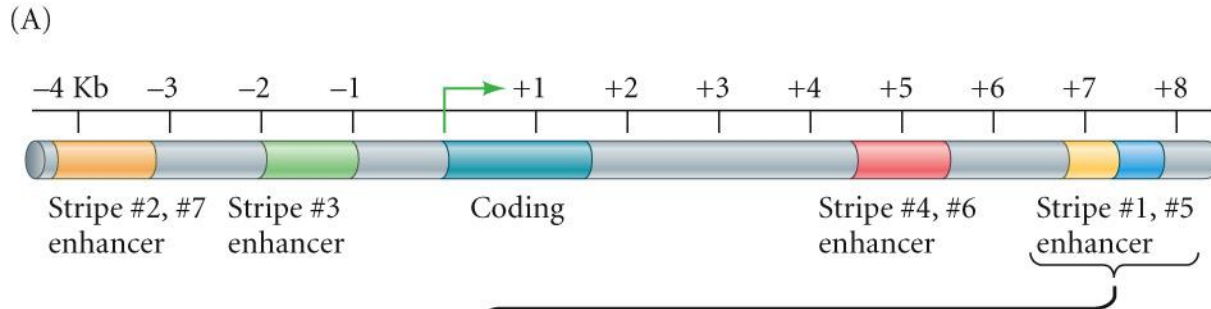
- Sono espressi in **7 bande alterne** corrispondenti ai 7 parasegmenti dispari o ai 7 parasegmenti pari.
- Codificano per **fattori di trascrizione**.

## Espressione del gene Fushi-tarazu e fenotipo mutante

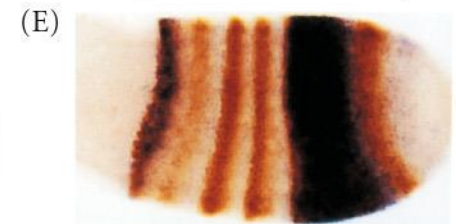
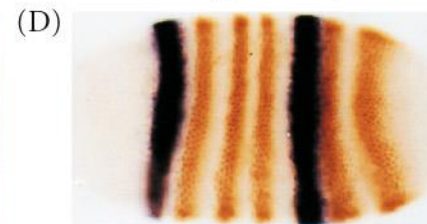
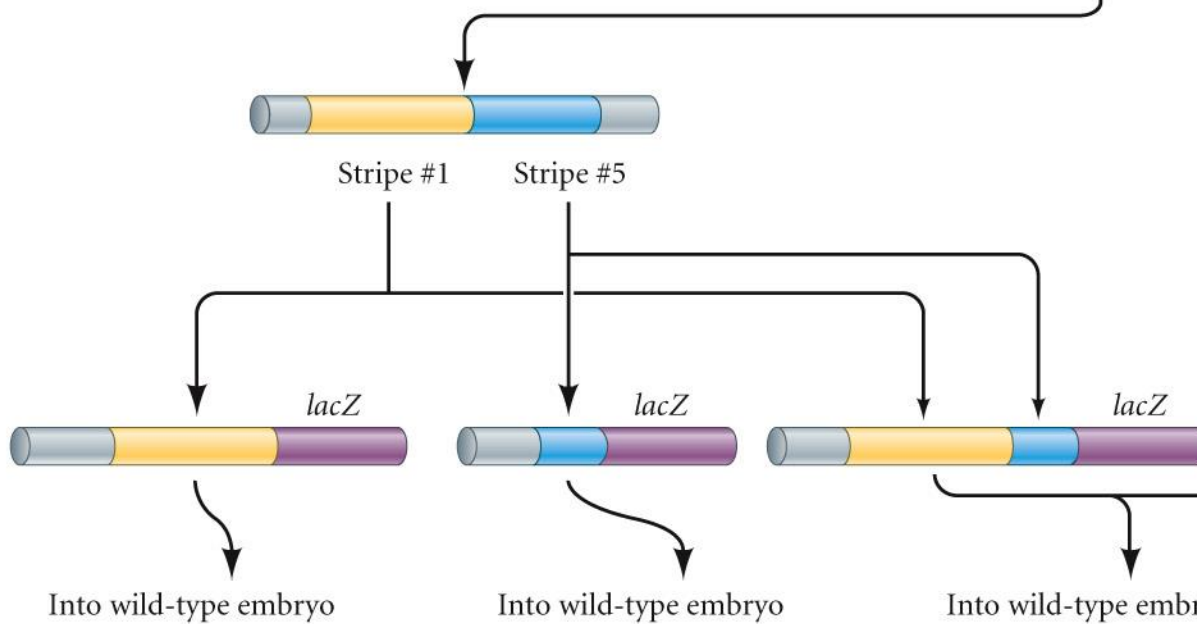
Nei mutanti per i geni pair-rule non si sviluppano, o lo fanno in modo molto anomalo, i 7 segmenti, pari o dispari, in cui il gene è espresso.



I geni pair-rule posseggono **enhancer modulari**, in cui ogni modulo controlla l'espressione del gene in un segmento specifico.

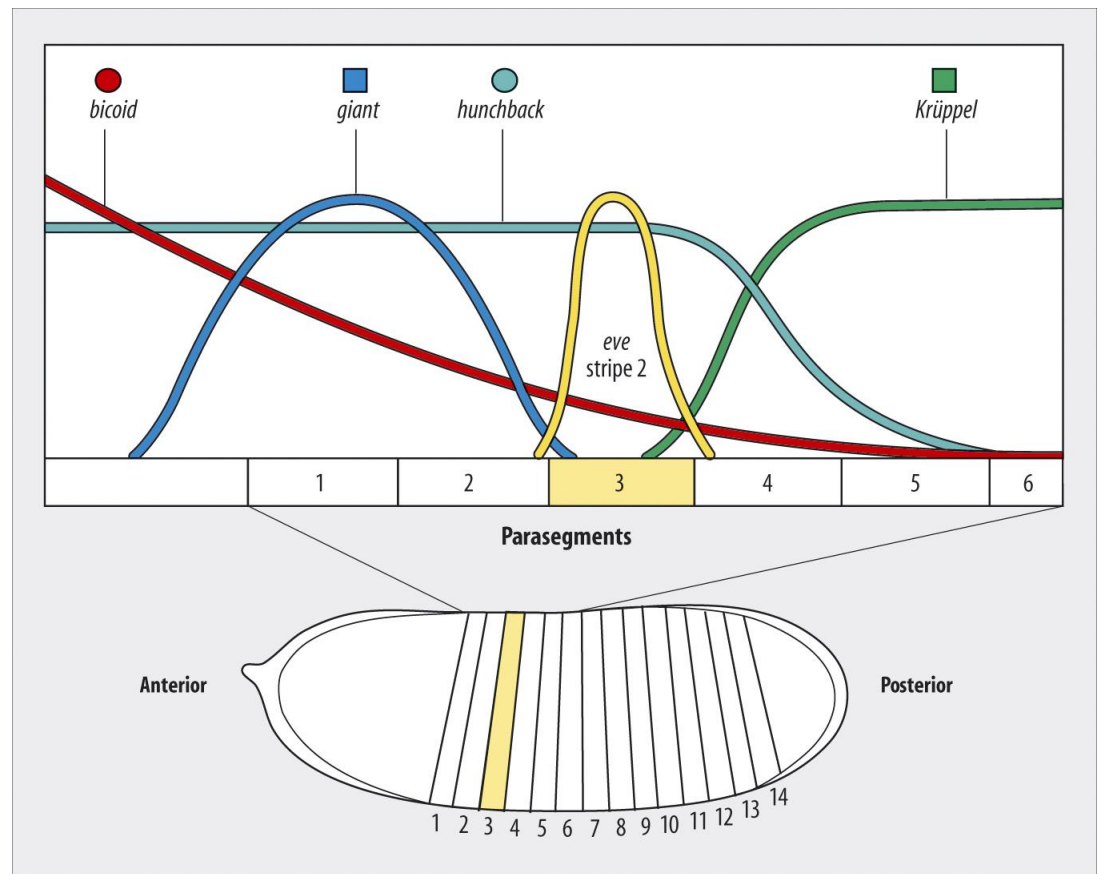


I domini controllati dai diversi moduli si possono studiare mediante l'uso di **geni reporter**, ponendoli sotto il controllo di moduli specifici

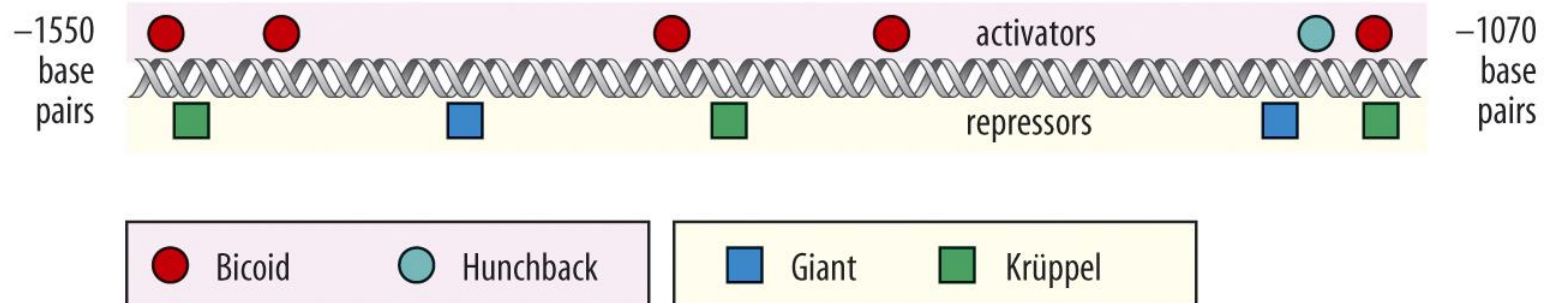


## Il controllo della banda 2 di Even-skipped

La banda 2 di Even-skipped e' controllata da una sequenza di 500 nucleotidi che contiene siti di legame per Bicoid, Hunchback, Giant e Kruppel. Bcd e Hb agiscono come fattori attivatori mentre Kr e Giant come repressori.



### Binding of gap-gene proteins to one of the regulatory control regions in the promoter of *even-skipped*



## Il controllo della banda 2 di Even-skipped:

- Corrisponde al parasegmento 3
- In questo dominio, il modulo può essere attivato perchè ci sono livelli sufficientemente alti dei fattori attivatori (Bcd e Hb) e livelli bassi dei fattori repressori (Giant e Kruppel)
- Nei parasegmenti 1 e 2 il modulo è represso da Giant
- Nei parasegmenti 4 e 5 è represso da Kruppel
- Nei parasegmenti successivi i livelli di Bcd e Hb sono troppo bassi per l'attivazione

