

L'embrione di riccio di mare presenta degli assi di polarita' Cosa determina l'insorgenza di queste asimmetrie?

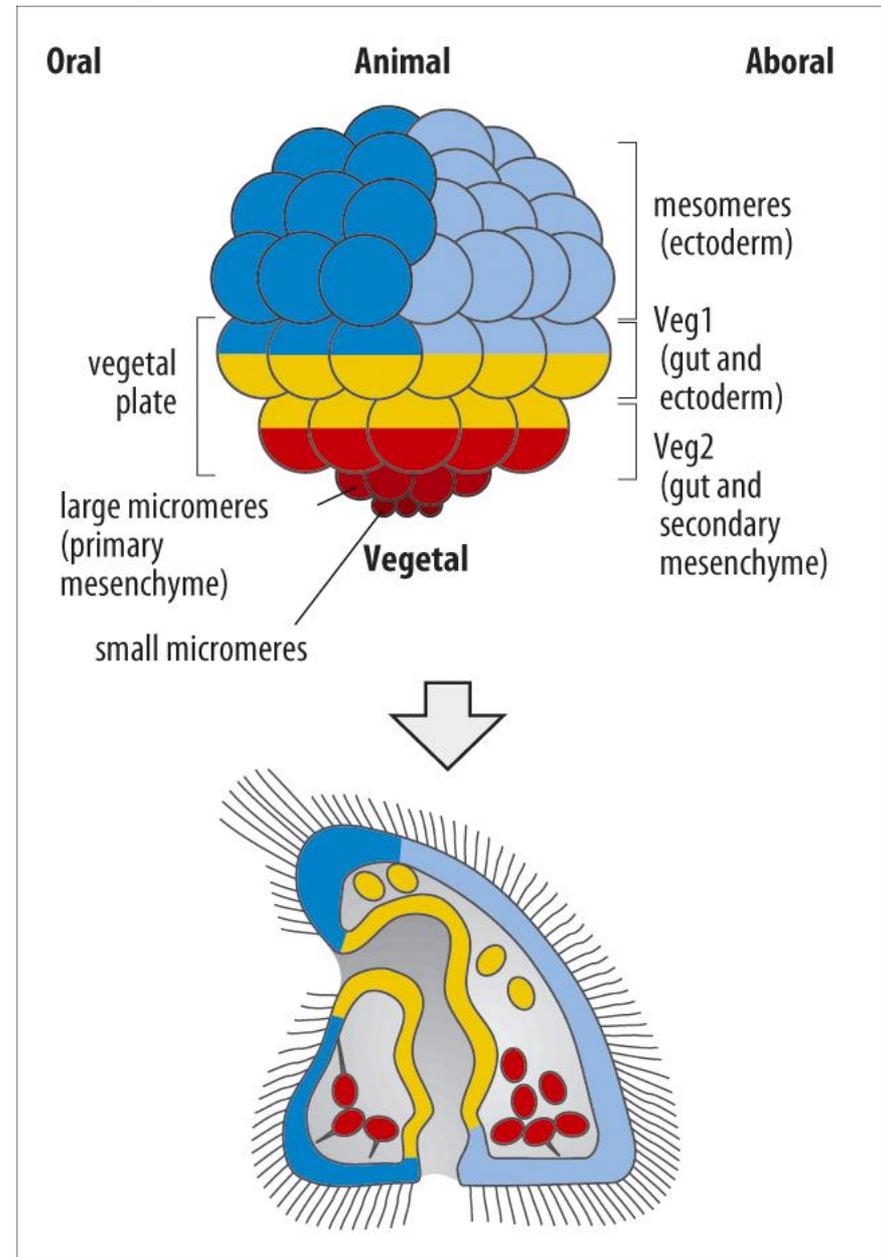
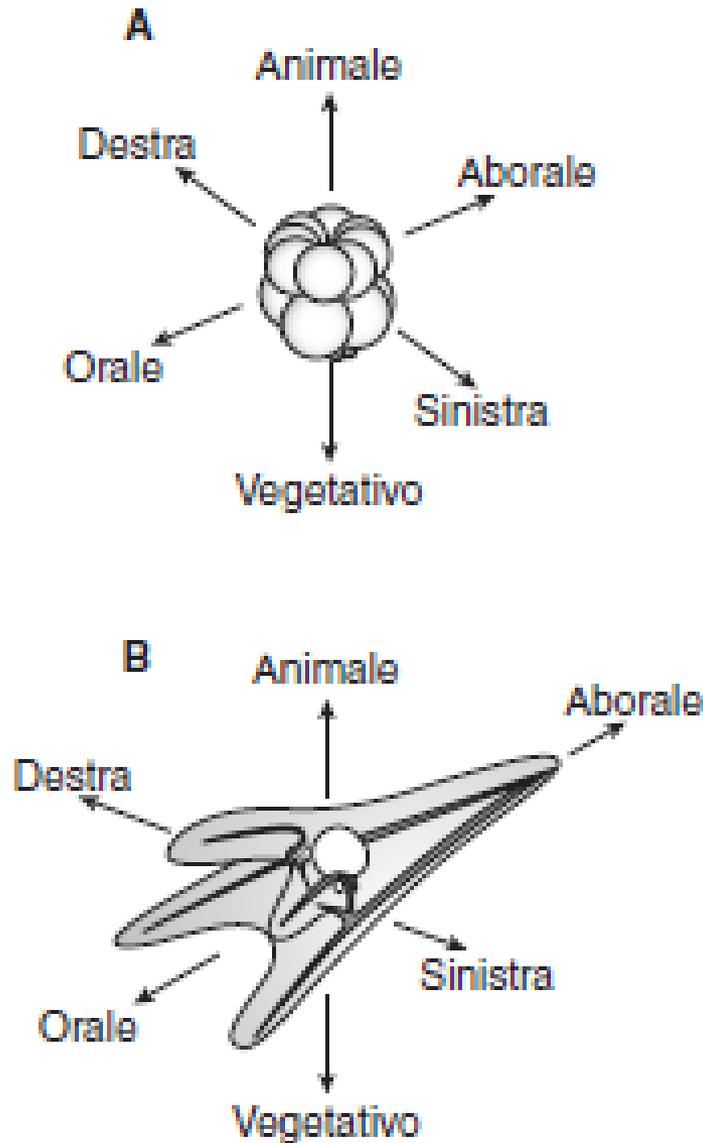
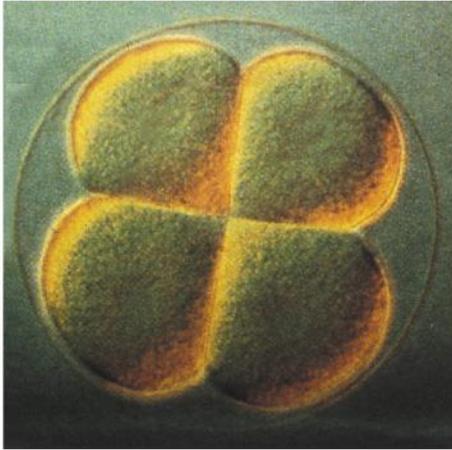


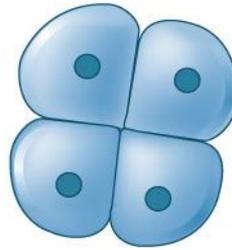
Figura 9

(A)

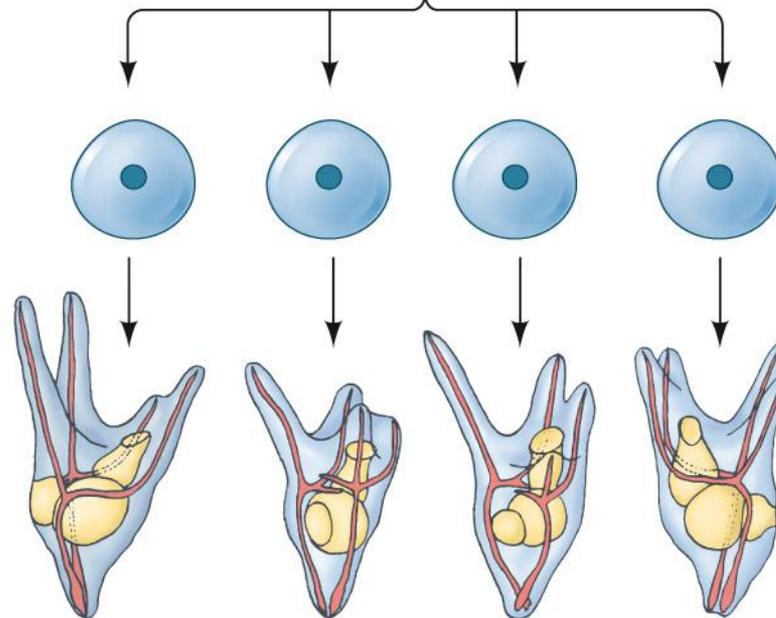


(B)

Remove fertilization envelope



Separate into 4 cells



Normal pluteus larva

Plutei developed from single cells of 4-cell embryo

Le fasi precoci dello sviluppo del riccio di mare vengono regolate mediante due processi:

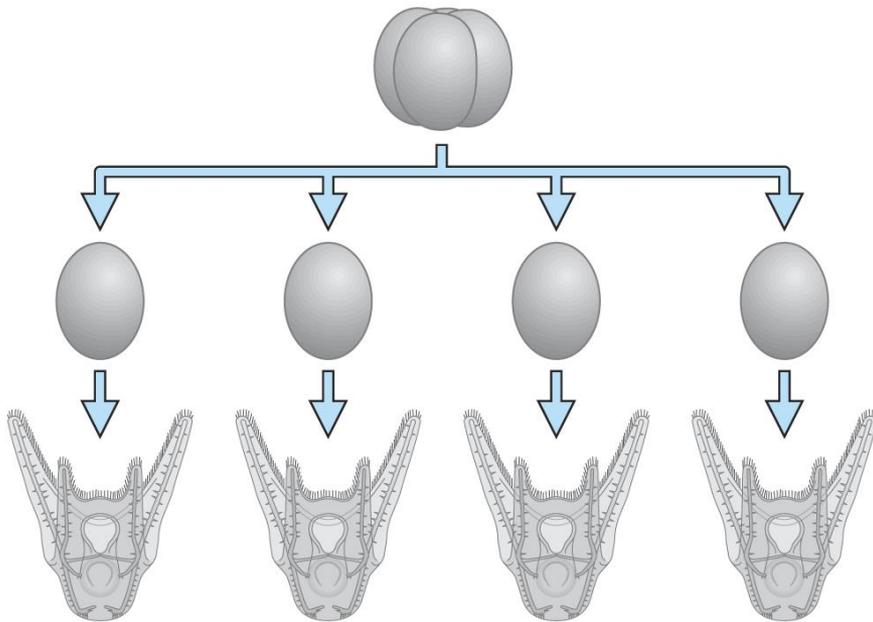
specificazione autonoma mediante **determinanti materni** e **specificazione condizionale** mediante **interazioni induttive**.

Hans Driesch (1892): la potenzialità prospettica di un blastomero è più ampia del suo destino prospettico.

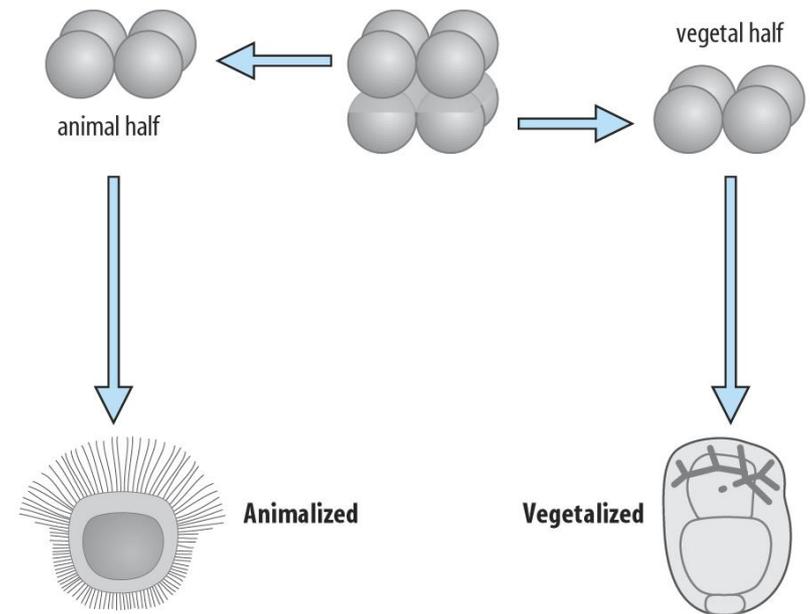
Sviluppo regolativo

D'altra parte si ha anche una componente di **sviluppo a mosaico** nella specificazione dei destini animale (ectoderma) e vegetativi (mesenchima ed endoderma) come indicato dagli esperimenti di Sven Horstadius (1928)

Isolation at four-cell stage gives four small larvae



Animal and vegetal halves develop differently when isolated



Gli esperimenti di Hörstadius indicano l'esistenza di asimmetrie di origine materna lungo l'asse AV dell'uovo

L'uovo viene tagliato lungo l'asse AV o lungo l'equatore e le due metà fecondate

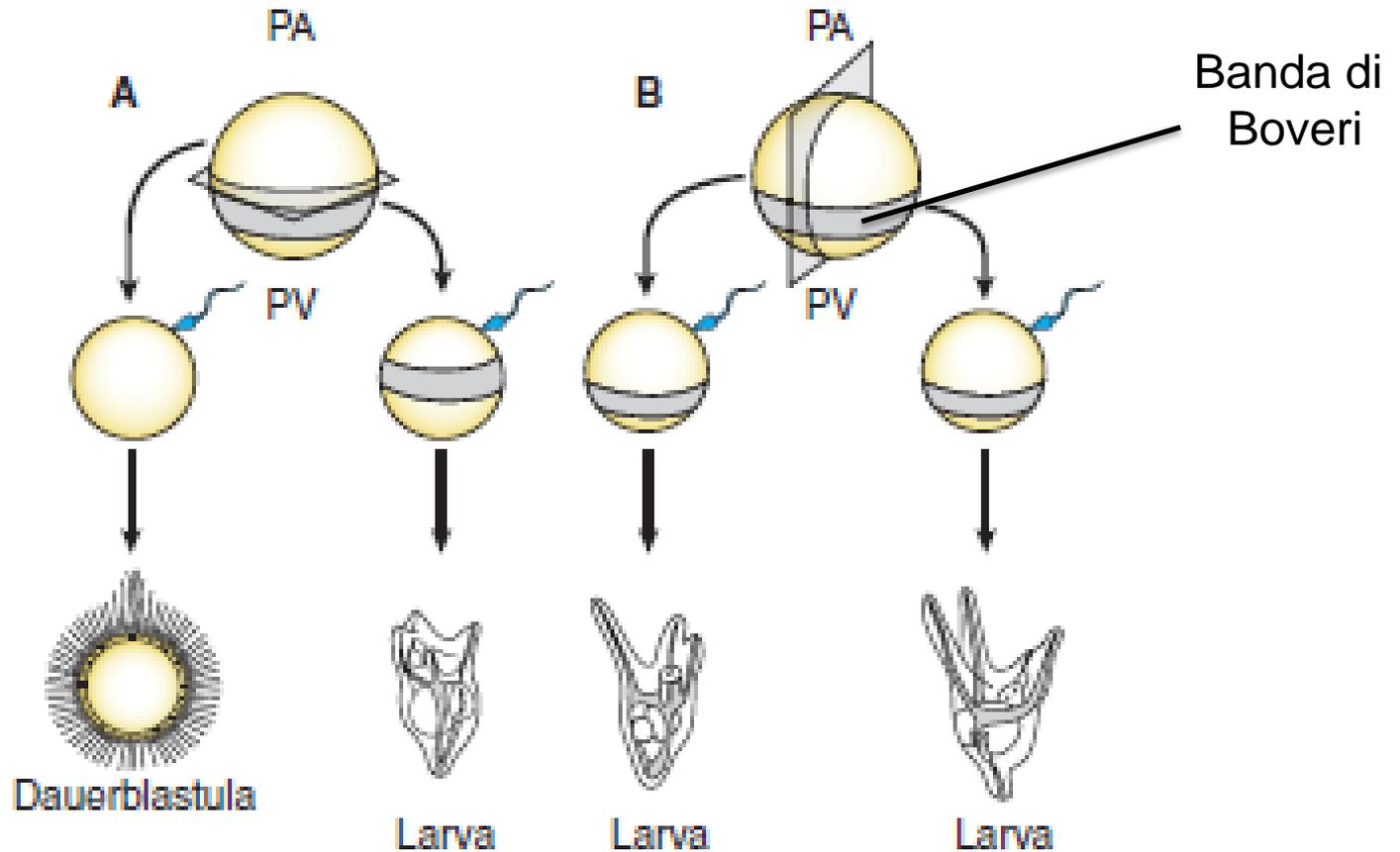
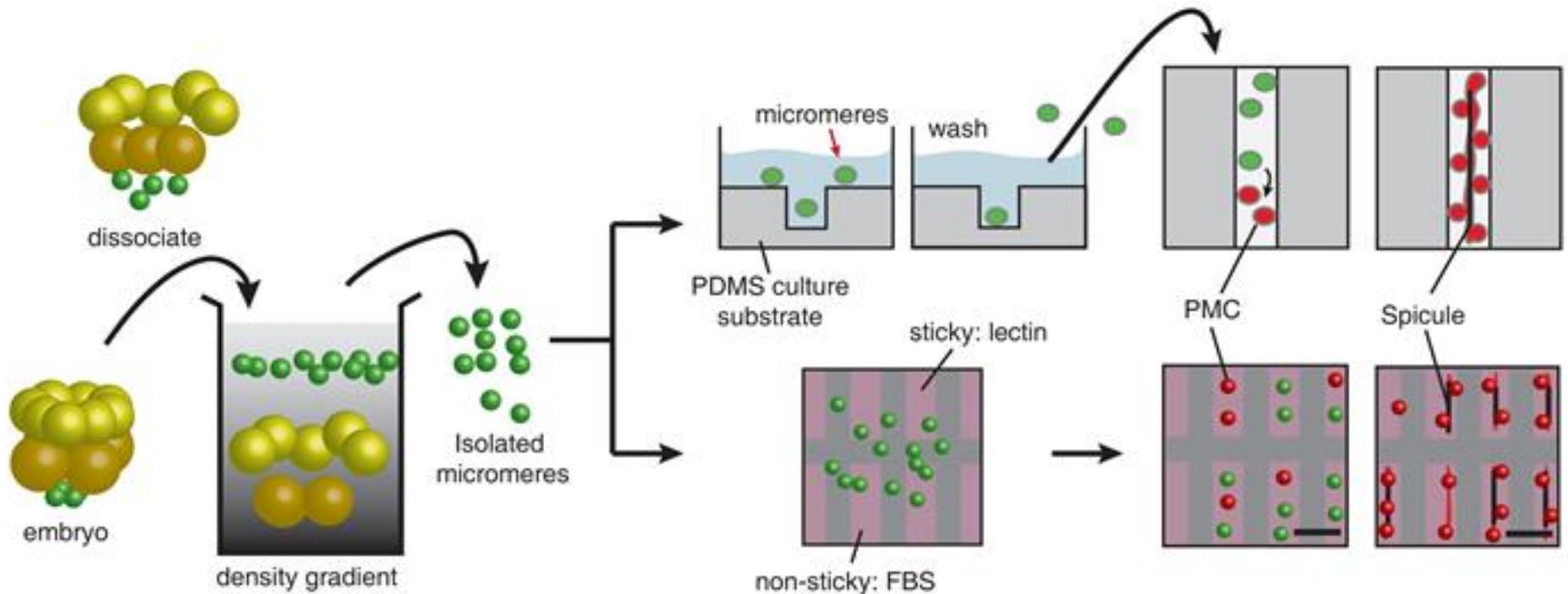
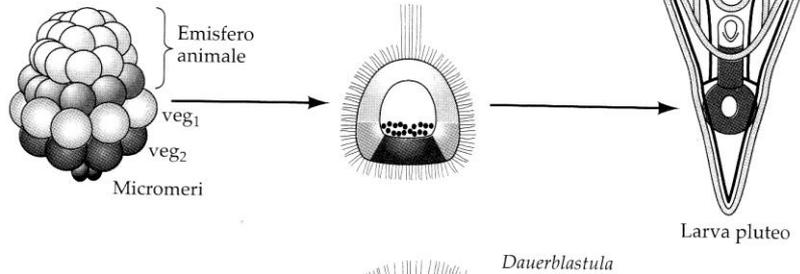


Figura 10

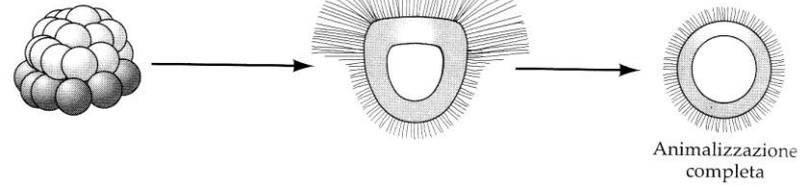
Il destino scheletogenico dei **micromeri** viene specificato **autonomamente**.
Possono produrre piccole scheletriche in vitro anche se isolati allo stadio di 16 cellule senza bisogno di segnali esterni.



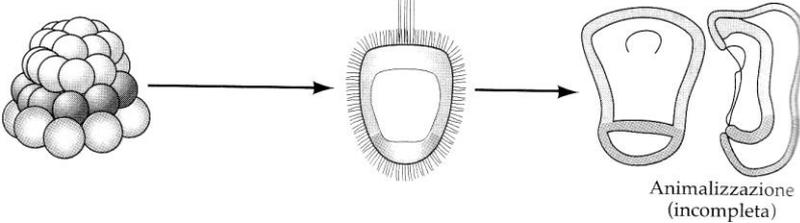
(A) Sviluppo normale



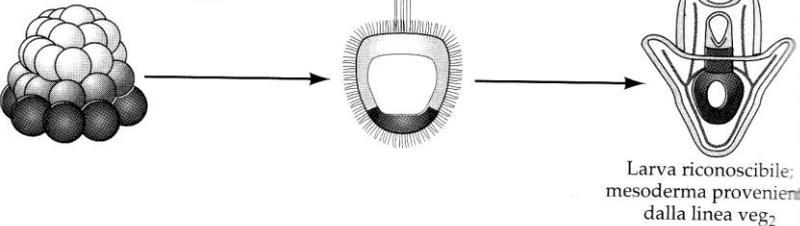
(B) Metà animale isolata



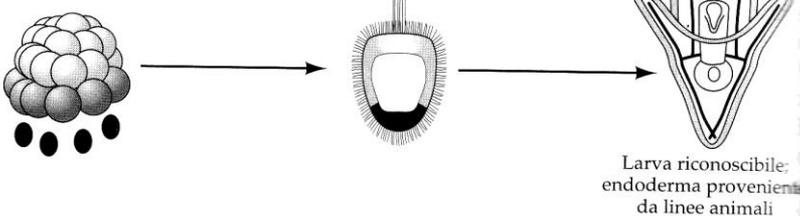
(C) Metà animale e veg1



(D) Metà animale e veg2



(E) Metà animale e micromeri



La teoria dei gradienti:
 Gradiente animalizzante e vegetativizzante di determinanti materni.

Tuttavia la formazione di una larva normale ricombinando cellule animali e micromeri implica l'esistenza di interazioni induttive che portano alla formazione di cellule veg1/2.



FASI NEL PROCESSO DI ACQUISIZIONE DEL DESTINO CELLULARE

- **Impegno** (Commitment): fase di indirizzamento della cellula verso un certo fenotipo (restrizione delle potenzialità della cellula)
- **Specificazione**: quando una cellula è posta in un ambiente neutro e separata dal resto dell'embrione, e' in grado di differenziarsi autonomamente, ma se spostata in un'altra regione dell'embrione può ancora modificare il proprio destino maturativo (destino reversibile)
- **Determinazione**: quando una cellula è in grado di differenziare autonomamente indipendentemente dalla sua posizione all'interno dell'embrione (destino irreversibile)

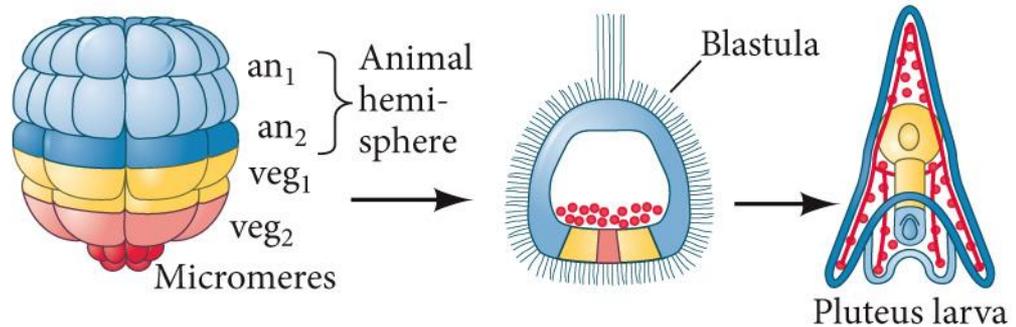
Durante le fasi di segmentazione, i **mesomeri** sono **specificati** a formare ectoderma, ma **non ancora determinati**.

I **micromeri** sono **determinati** a formare mesenchima primario.

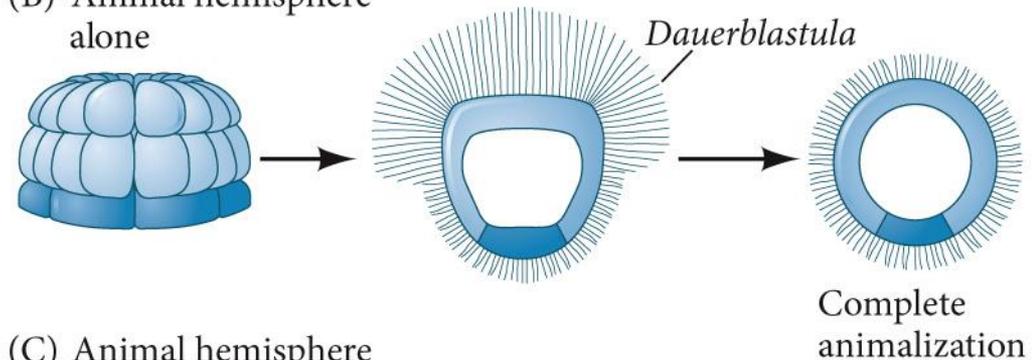
I micromeri producono dei segnali che istruiscono le cellule soprastanti a diventare endoderma piuttosto che ectoderma, cambiandone il destino cellulare.

Interazione induttiva

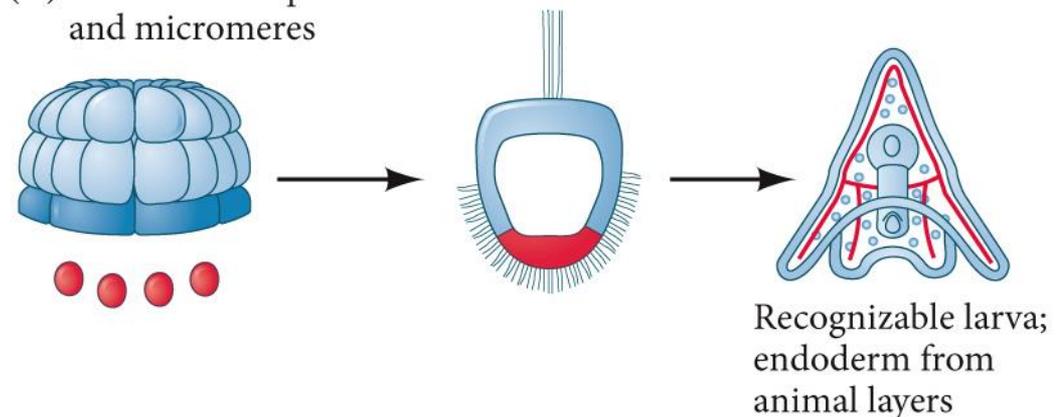
(A) Normal development

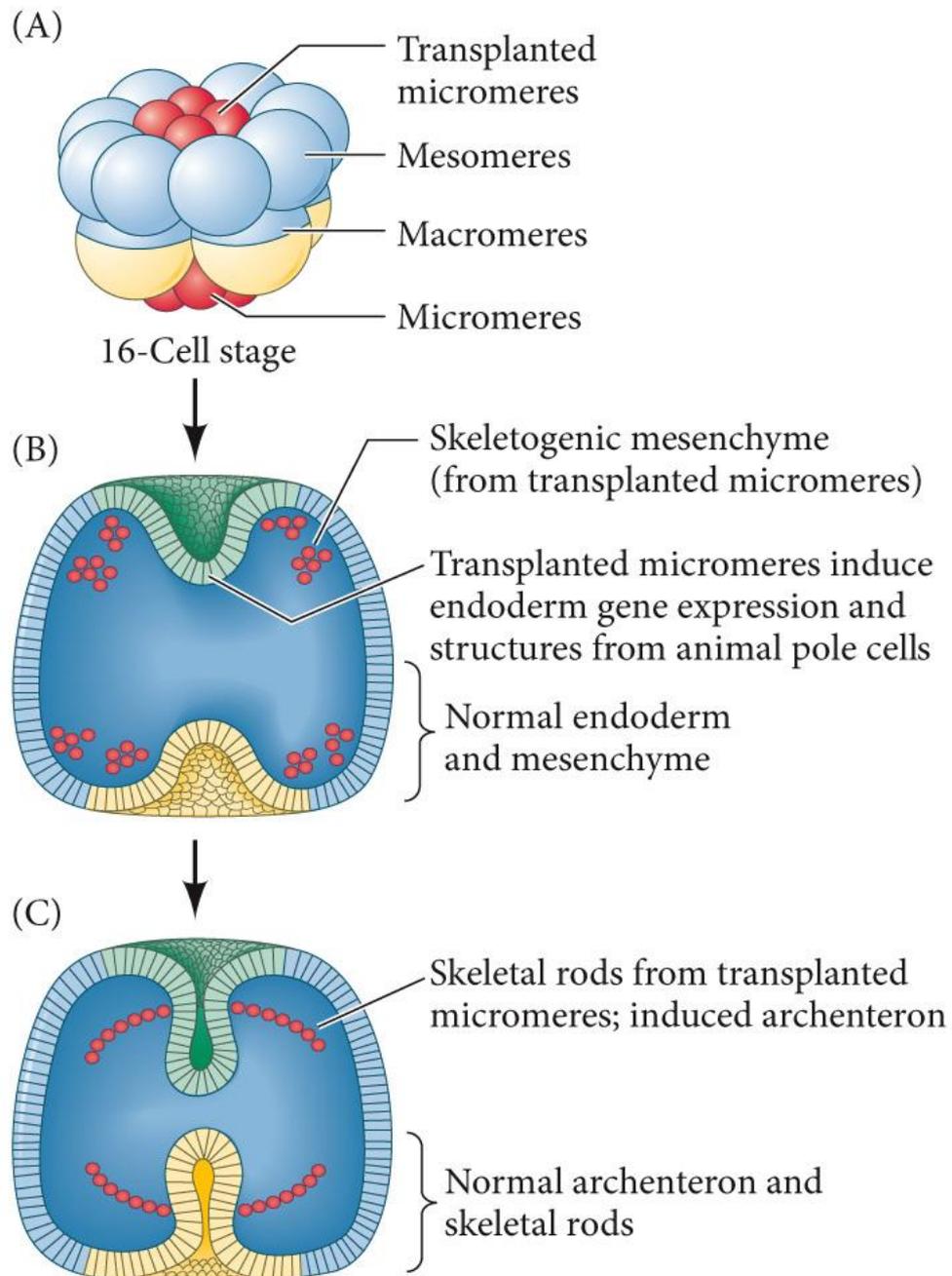


(B) Animal hemisphere alone



(C) Animal hemisphere and micromeres



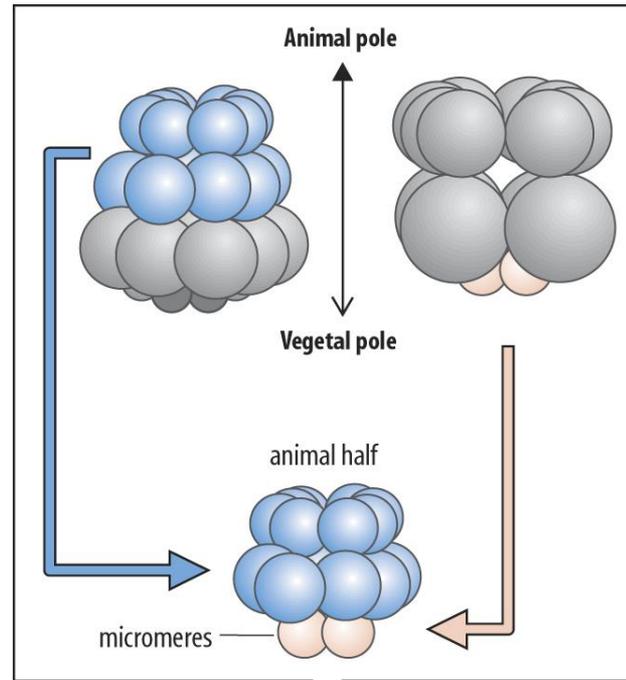


DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 10.6

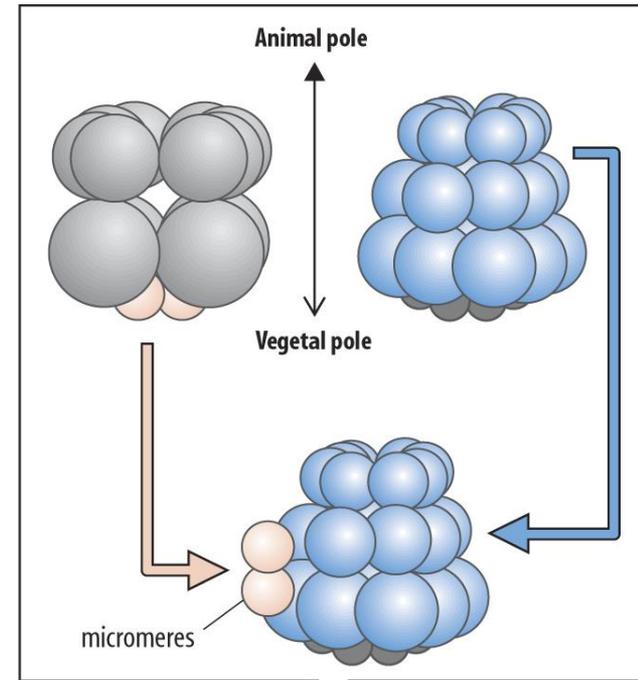
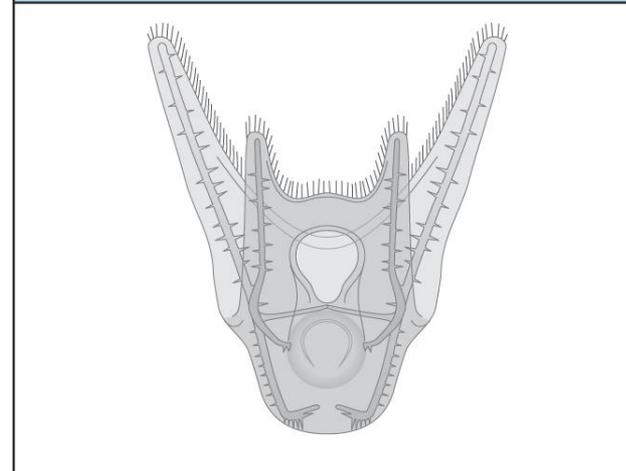
Quale e' la natura molecolare dei segnali che mediano sia la specificazione autonoma dei micromeri, sia la loro capacita' di indurre la formazione dell'endoderma?

1) **Fattori di trascrizione** localizzati nell'uovo di origine materna, che attivano dei programmi genetici in modo autonomo.

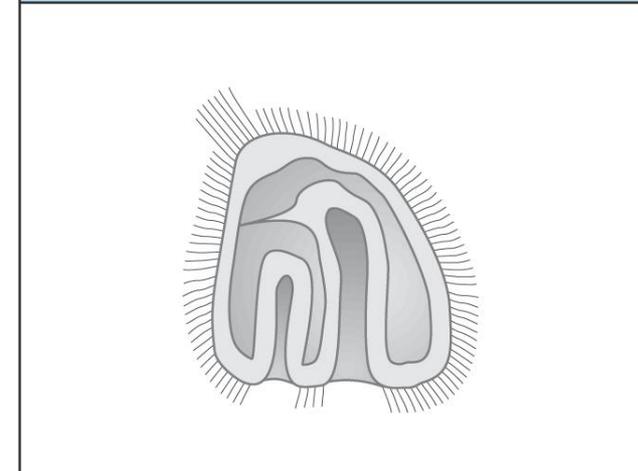
2) Attivazione a valle dei fattori materni anche di **segnali paracrini** in grado di indurre in modo non autonomo programmi di espressione genica nelle cellule vicine.



Larva



Secondary gut induced





Eric Davidson
Californian Institute of Technology

Copyrighted Material

THE REGULATORY GENOME

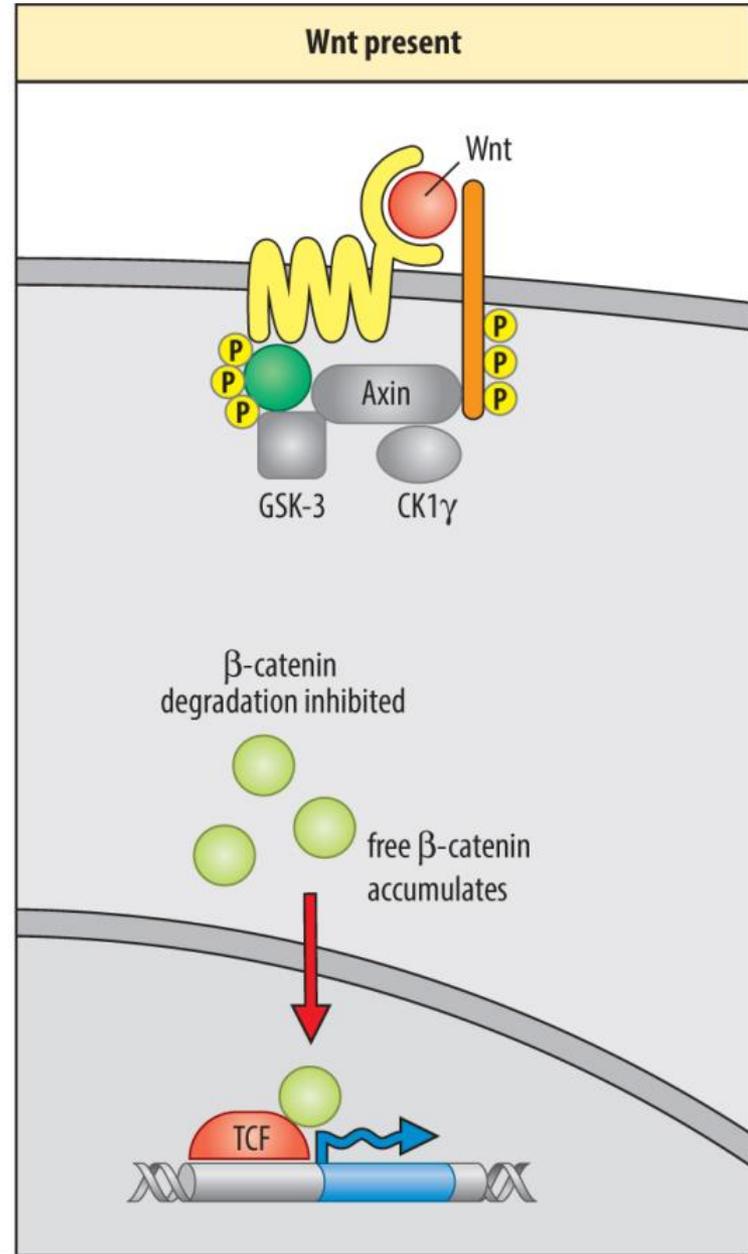
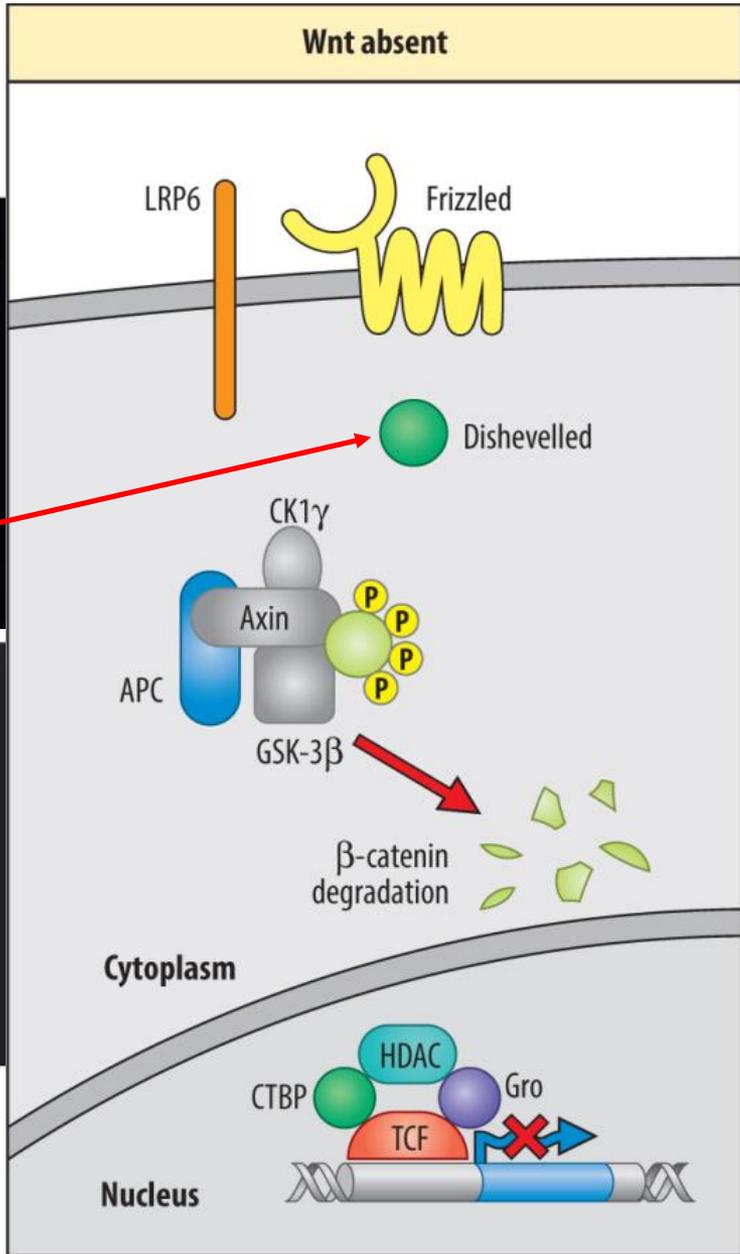
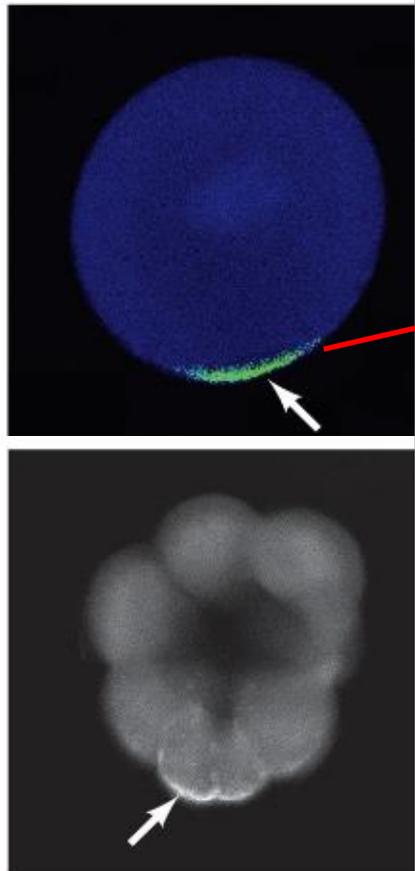
Gene Regulatory Networks In Development and Evolution

The diagram illustrates a complex network of gene regulatory interactions. It features a central cell image with red fluorescent spots. The network includes components such as β -catenin / Tcf1, Micro/Nuc Mat Otx, unkn pmc rep, ES, Krl, Ubiquitin (Ubq), Sox11, Klf mic, Pmar1, Hnf 6, PMC, Delta, Nrl, TBF, Ets1, and Axl1. Arrows indicate regulatory pathways and feedback loops.

AP

ERIC H. DAVIDSON

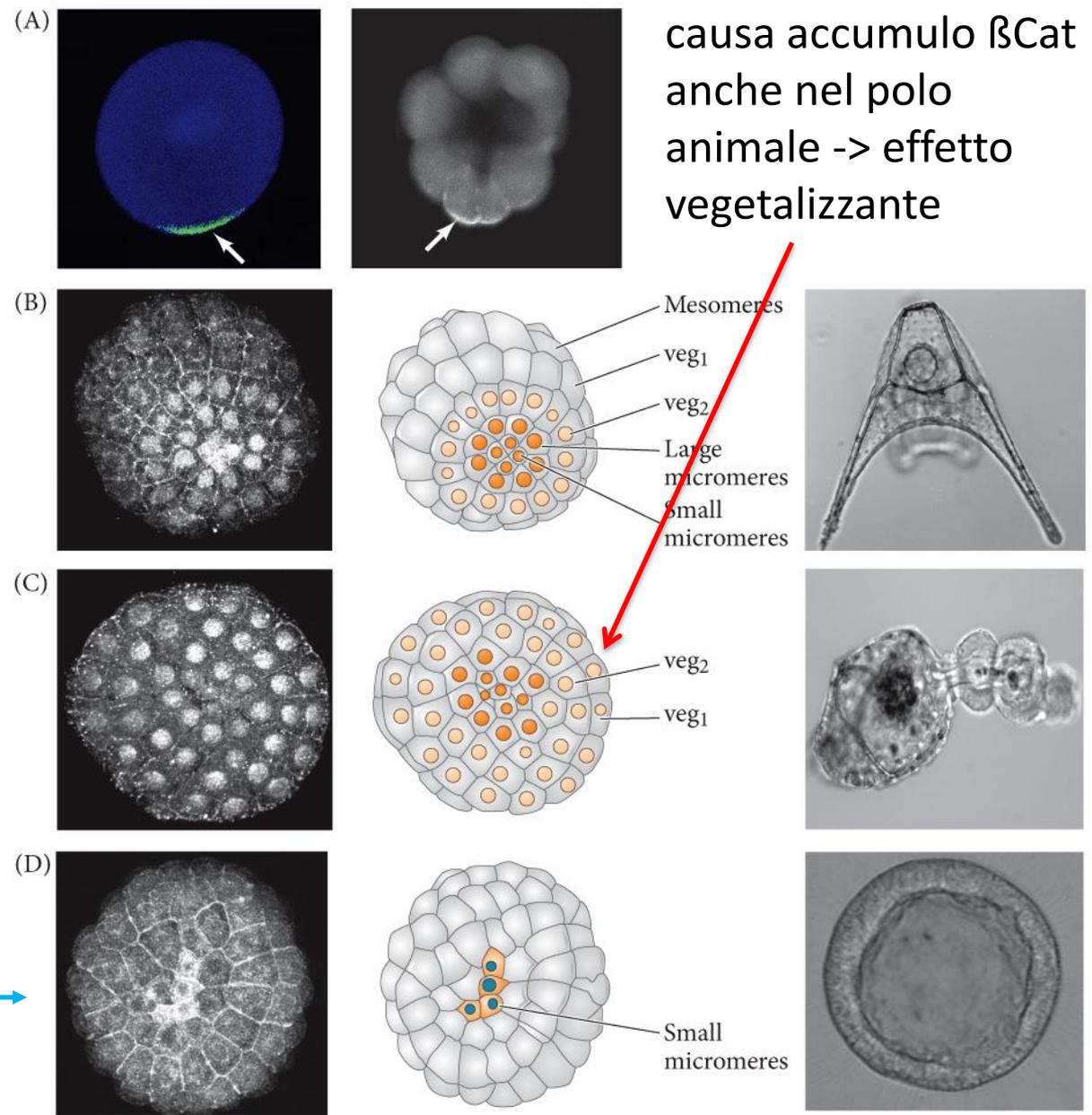
Copyrighted Material



La specificazione dei micromeri e' iniziata dalla localizzazione di **Dishevelled** nel citoplasma corticale al polo vegetativo.

Questa proteina verrà ereditata nel citoplasma corticale dai micromeri. In queste cellule la **β -Catenina** si accumula nel nucleo e promuove l'espressione di geni bersaglio.

Inibizione accumulo β Cat -> effetto animalizzante

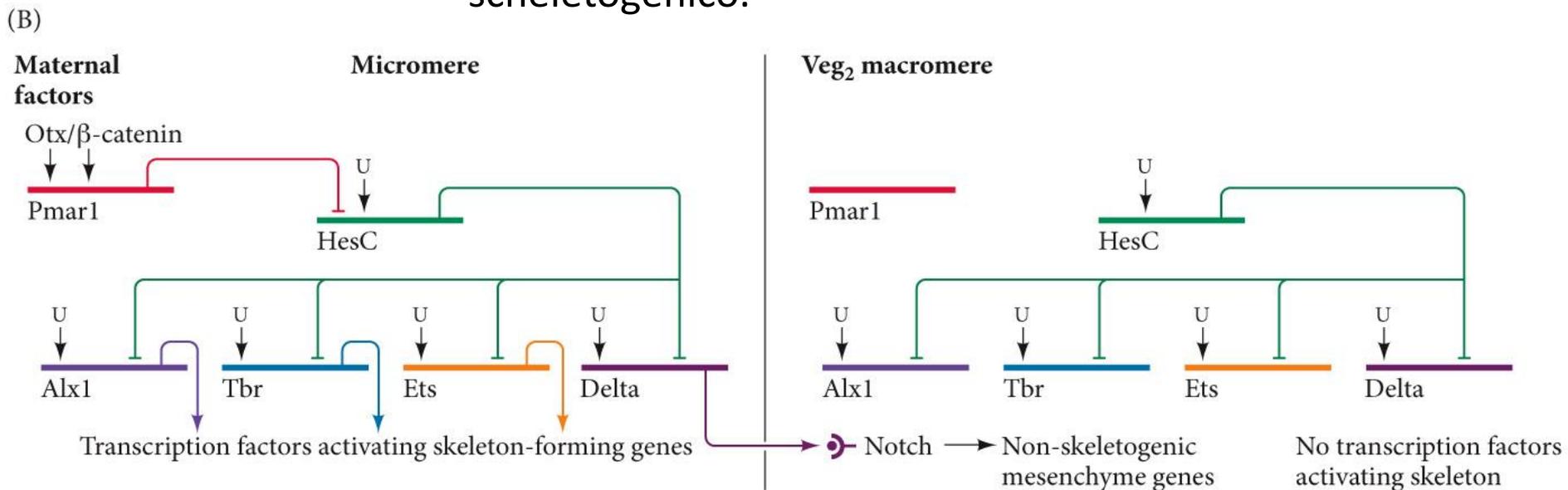
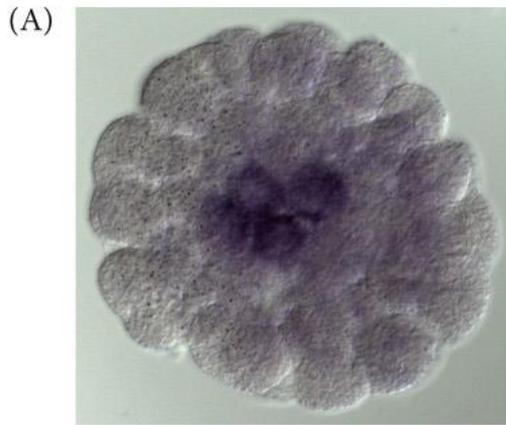


LiCl (inibitore GSK3 β) causa accumulo β Cat anche nel polo animale -> effetto vegetalizzante

DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 10.7
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

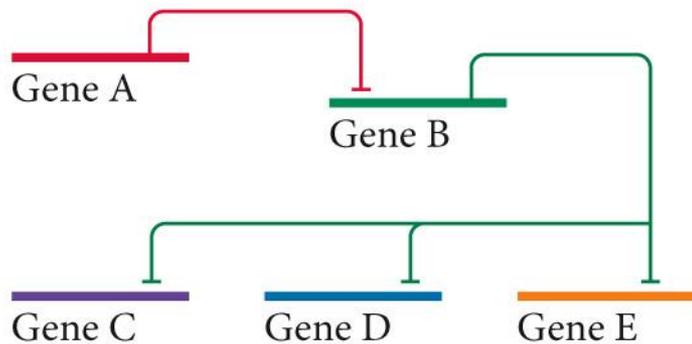
Otx e' un altro **fattore di trascrizione** materno localizzato nei micromeri. Otx e β Cat legano enhancer di Pmar1 e lo attivano. **Pmar1** agisce come repressore trascrizionale di HesC. A sua volta **HesC** e' un repressore di fattori di trascrizione che promuovono il destino scheletogenico.

Cancello del doppio negativo: nei micromeri la repressione di HesC da parte di Pmar1 (repressione di un repressore) permette l'attivazione del programma scheletogenico da parte di fattori di trascrizione ubiquitari. Negli altri blastomeri HesC non e' represso e reprime il programma scheletogenico.



Cancello del doppio negativo

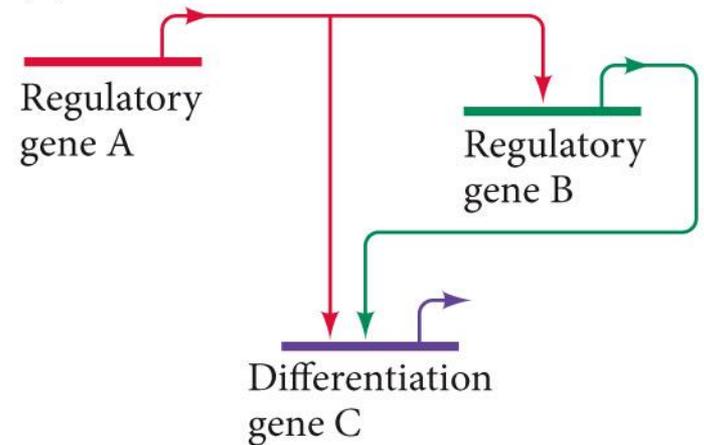
(A)



If A active:
B not active;
C, D, E active

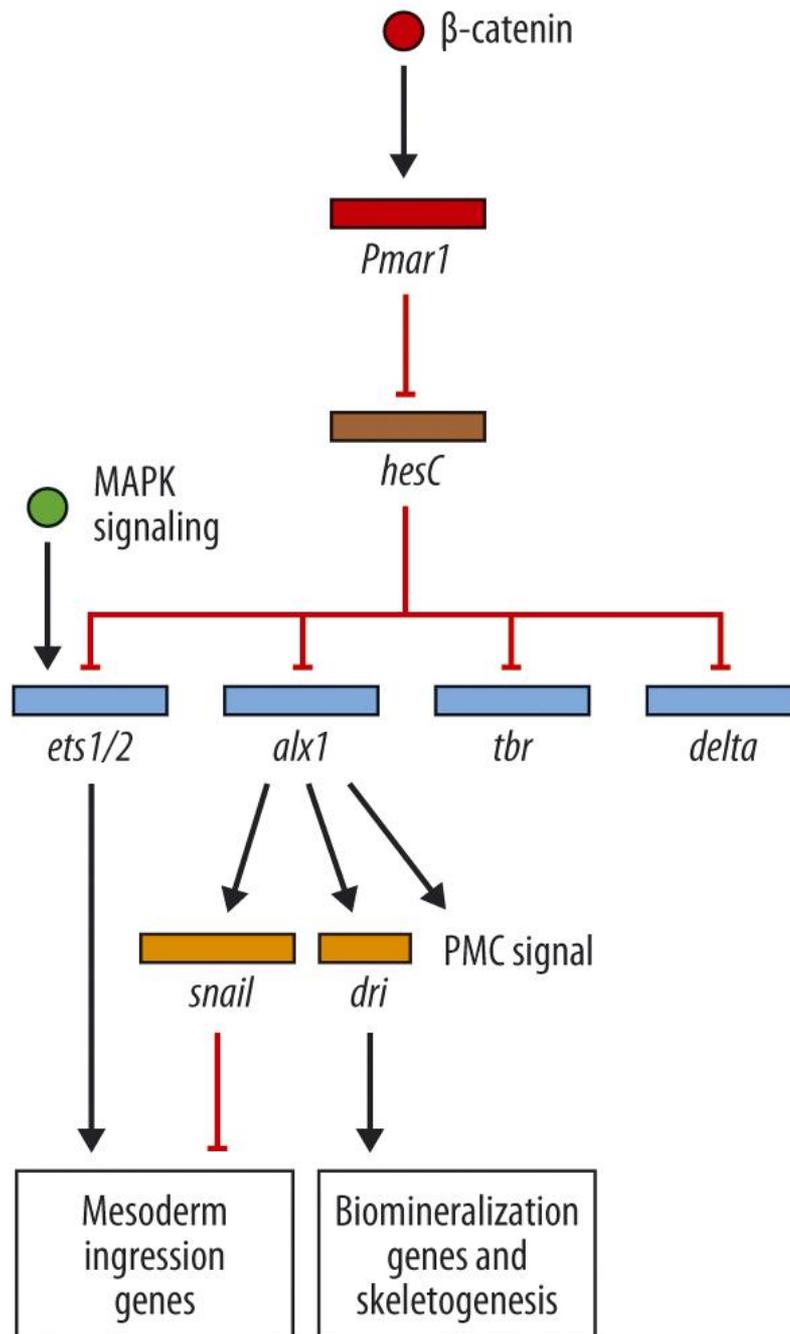
If A not active:
B active;
C, D, E inactive

(B)

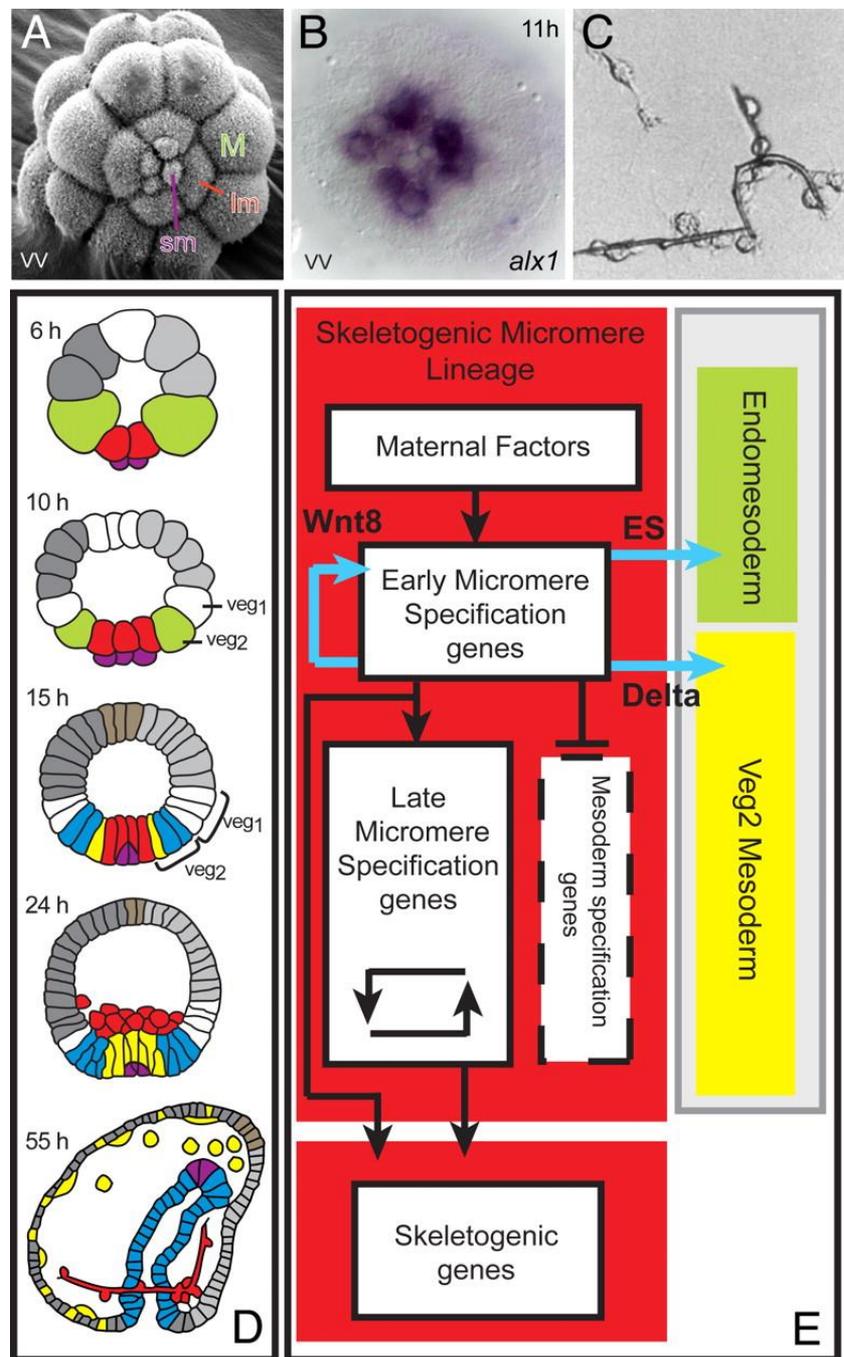


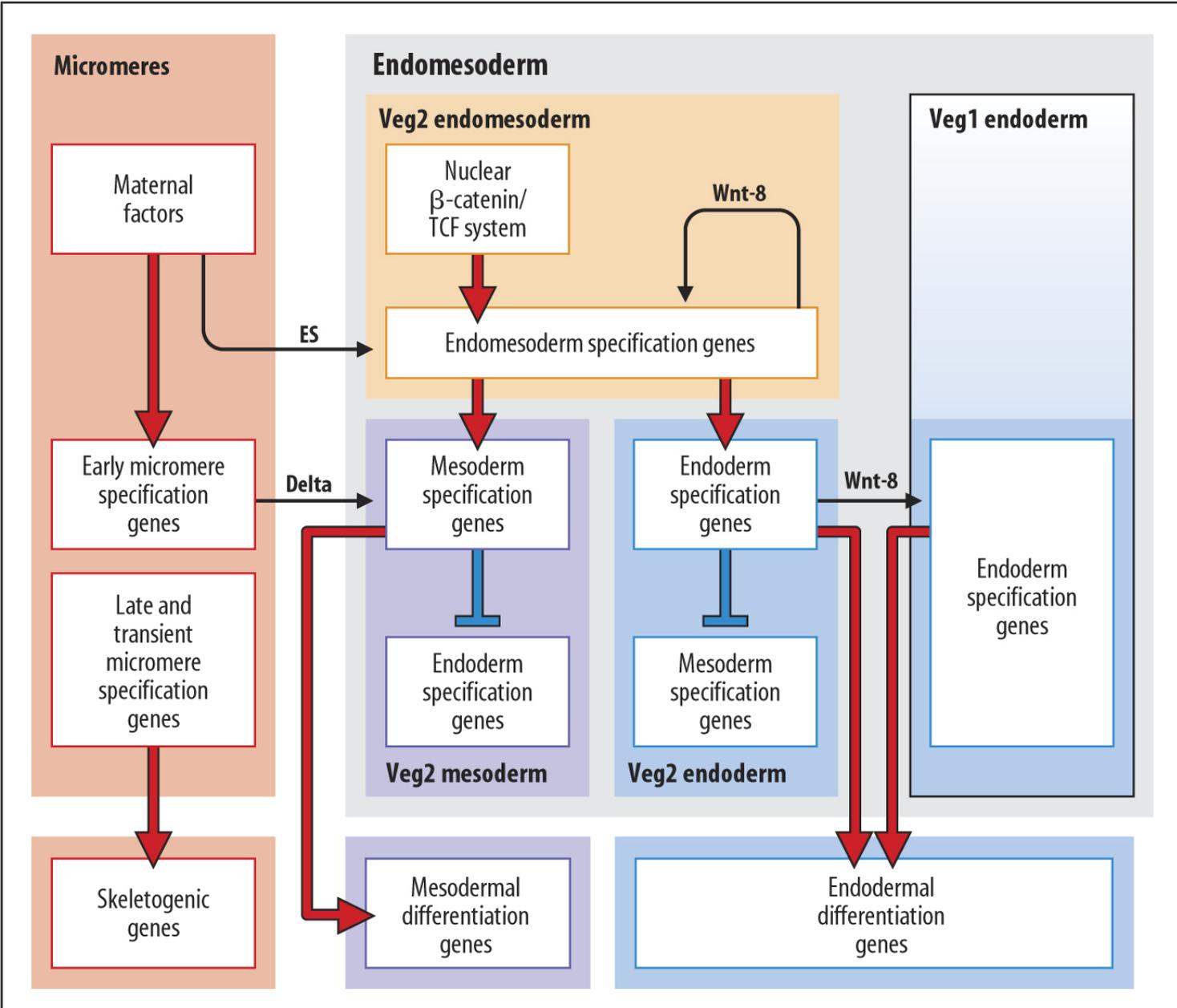
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 10.9
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Meccanismo feed-forward: ciascun fattore di trascrizione scheletogenico attiva i geni degli altri fattori ed insieme attivano i geni del differenziamento scheletrico.

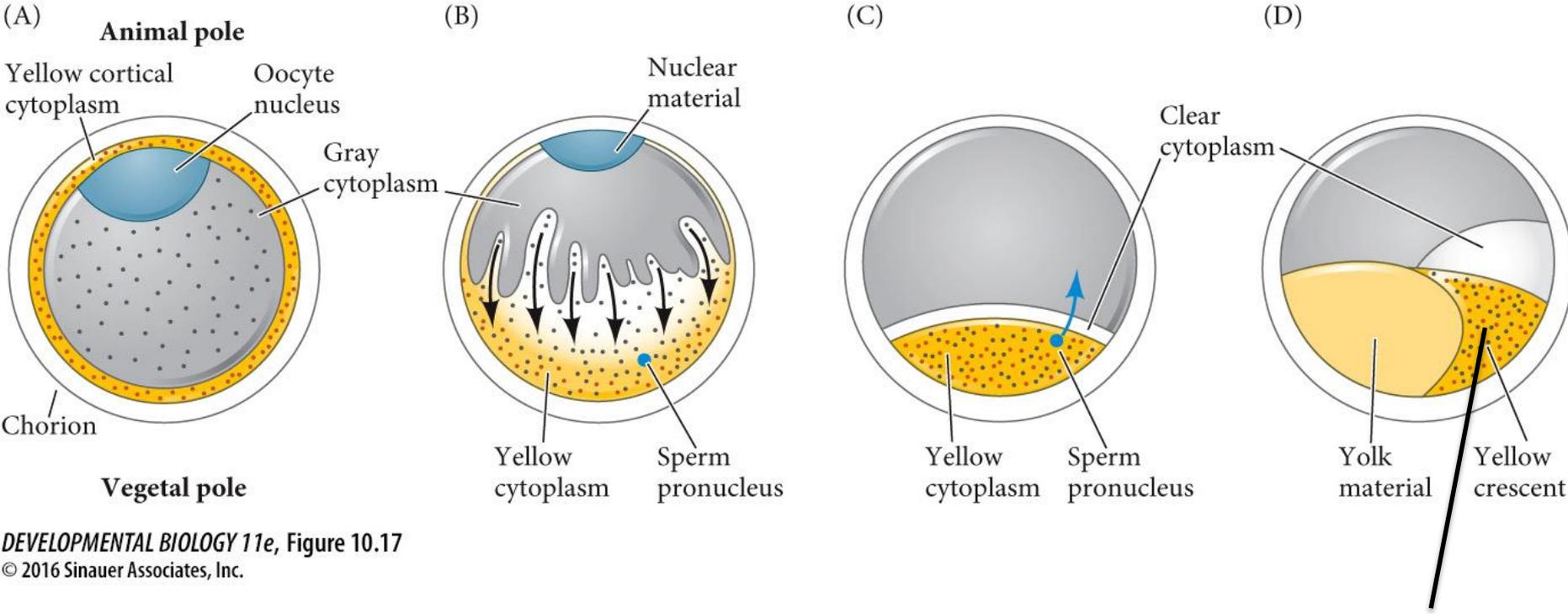


Quali sono i segnali prodotti dai micromeri che inducono destini endomesodermici nei macromeri? Nei micromeri, $Otx+\beta\text{Cat}$ attivano gene **Blimp1**, che attiva gene **Wnt8** (ligando Wnt). **Wnt8** agisce in modo autocrino aumentando i livelli di βCat nei micromeri, ma può anche agire come segnale paracrino nei macromeri. Inoltre i micromeri producono un segnale precoce (“**early signal**”, ES), che sembra essere un segnale **TGFB** (Activin), essenziale per indurre destino endomesodermico. Activin e **Wnt8** possono collaborare nella specificazione endomesodermica nei macromeri. In stadi successivi, i micromeri producono anche segnale **Delta** iuxtacrino che agisce su recettore **Notch** in cellule derivate dai macromeri inducendo la formazione di mesenchima secondario.





SPECIFICAZIONE AUTONOMA MEDIANTE SEGREGAZIONE DEGLI OOPLASMI IN EMBRIONI DI ASCIDIE



MIOPLASMA

DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 10.17
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

SPECIFICAZIONE AUTONOMA DEL DESTINO MUSCOLARE IN EMBRIONI DI ASCIDIE

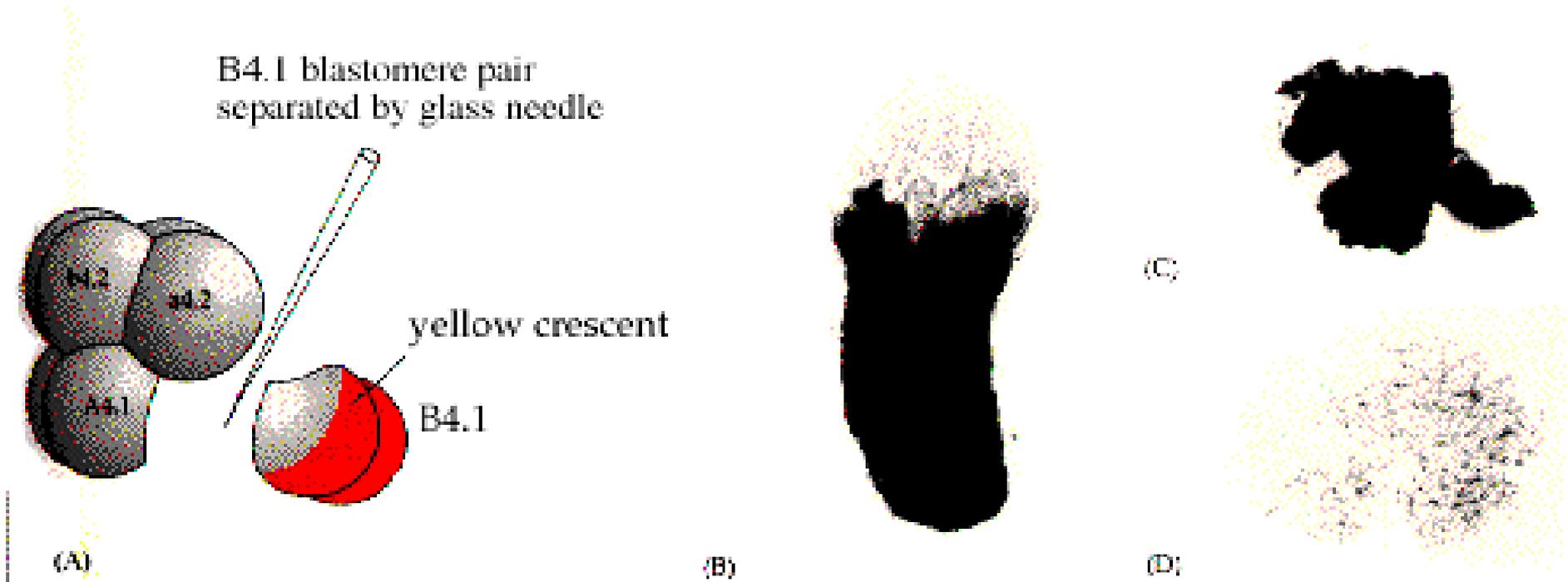


Figure 1 Acetylcholinesterase development in the progeny of the muscle lineage blastomeres (B4.1) isolated at the 8-cell stage. (A) Diagram of the isolation procedure. (B) Localization of acetylcholinesterase in the tail muscles of the intact tunicate larva. Enzyme presence is demonstrated in the progeny of the B4.1 blastomere pair (C), but not in the remaining 6/8 of the embryo (D) when incubated for the length of time it normally takes to form a larva. (From Whittaker et al., 1977, courtesy of J. R. Whittaker.)

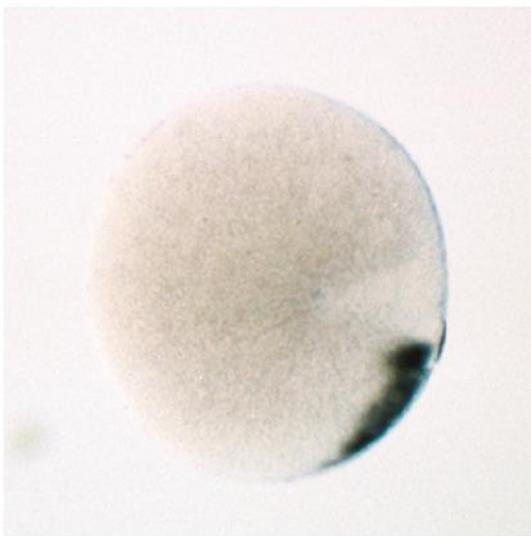
Quali fattori molecolari vengono localizzati nella semiluna gialla e promuovono il destino muscolare?

mRNA per gene **Macho1** e' localizzato inizialmente al polo vegetativo e poi nella regione della semiluna gialla. Viene ereditato dai blastomeri posteriori che formano cellule muscolari. Codifica per un **fattore di trascrizione** che attiva i geni per i fattori di trascrizione **Tbx6** e **Snail**. Tbx6 attiva espressione geni muscolari (es. Actina muscolare, miosina), Snail reprime il gene **Brachury**, che codifica per un fattore di trascrizione cruciale per la formazione della notocorda.

(A)



(B)

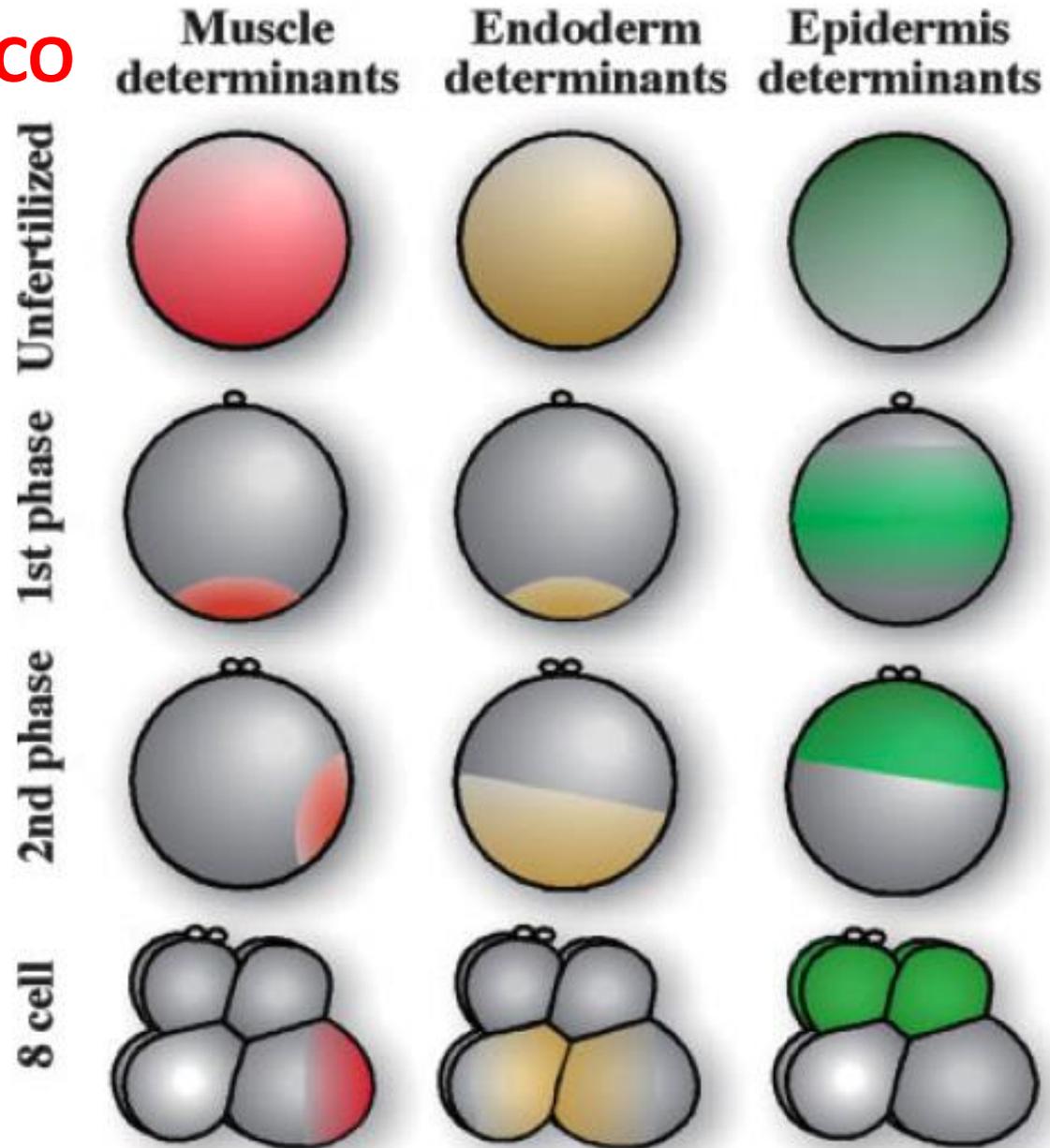


(C)

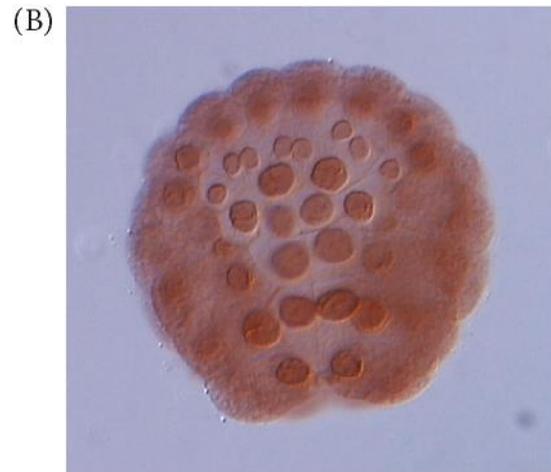


LA SEGREGAZIONE DEGLI OOPLASMI COMPORTA LA DIVERSA DISTRIBUZIONE DI DETERMINANTI MATERNI DEL DIFFERENZIAMENTO

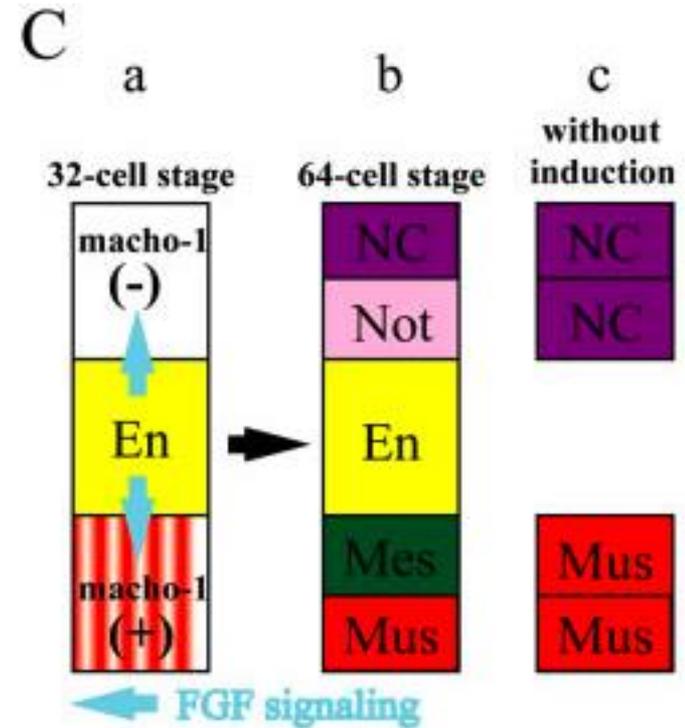
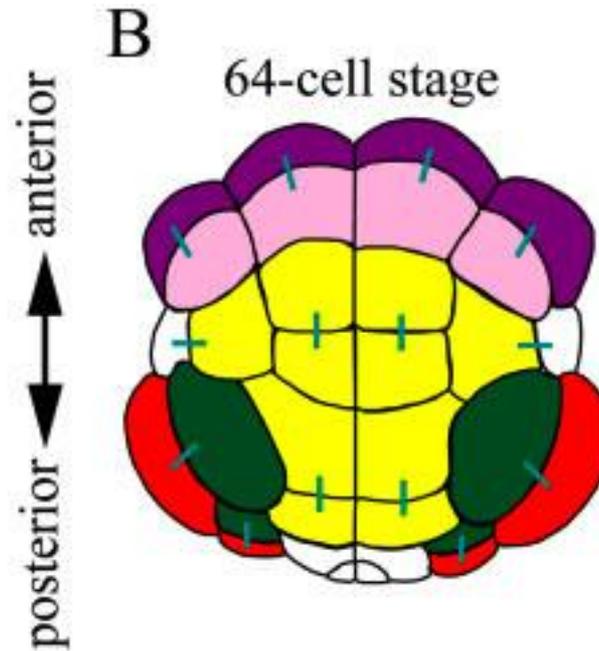
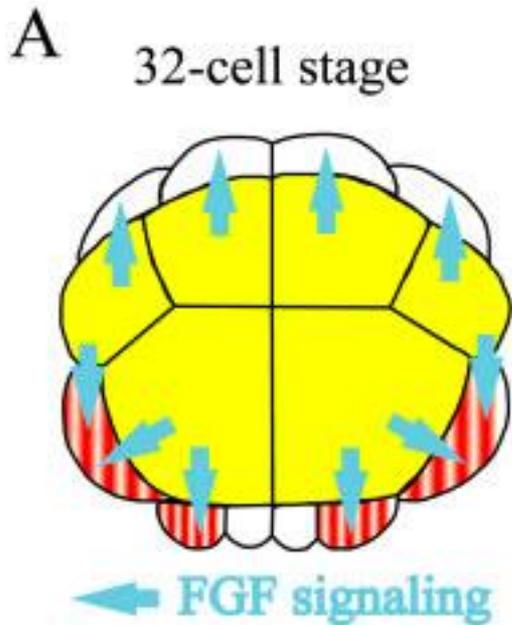
SVILUPPO A MOSAICO

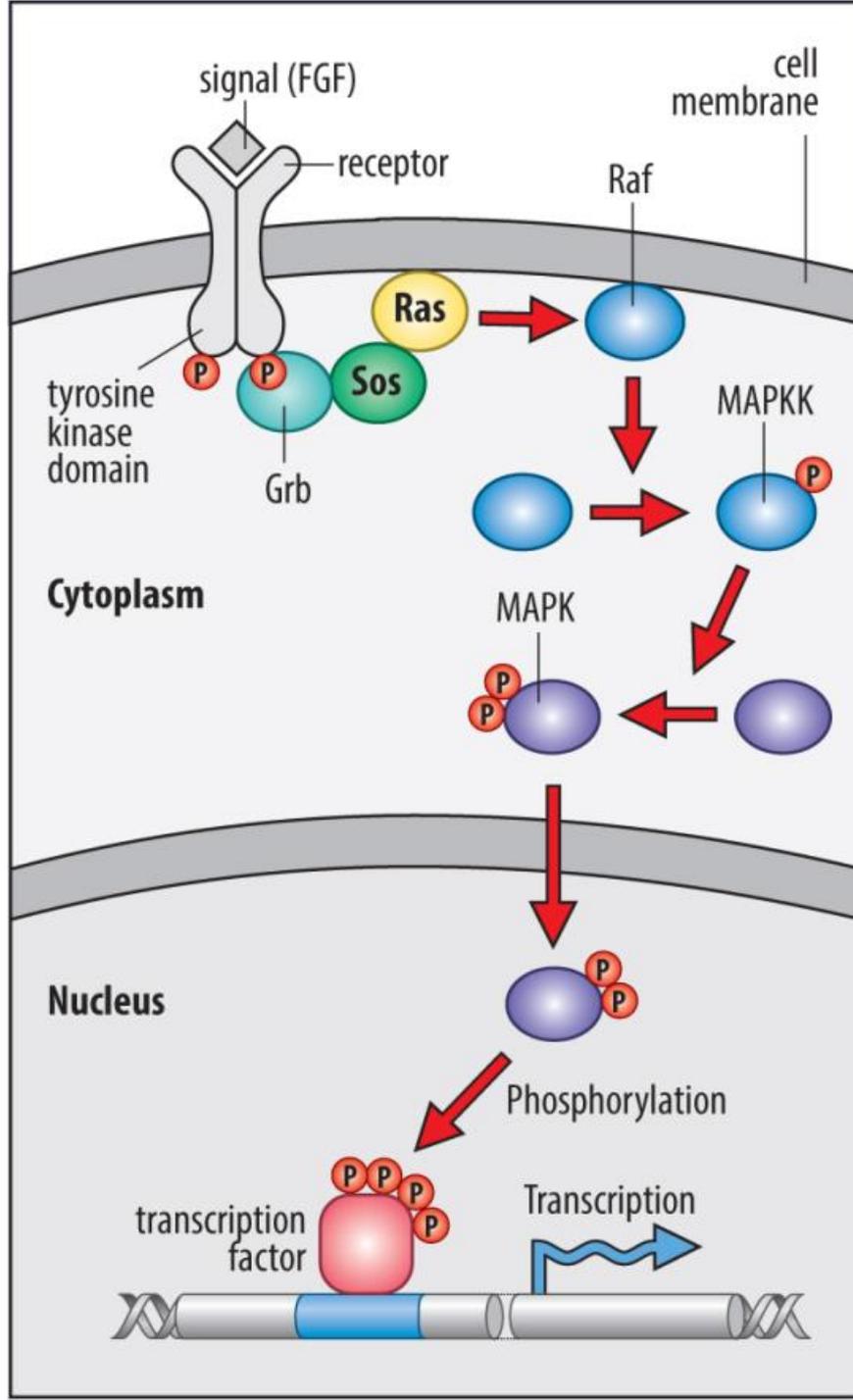


Nei nuclei delle cellule vegetative si accumula **β -Catenina**, che promuove destino endodermico. Espressione ectopica di β Cat in cellule della notocorda ne provoca la conversione in endoderma, mentre inibizione della β Cat nelle cellule vegetative comporta la perdita dell'endoderma.

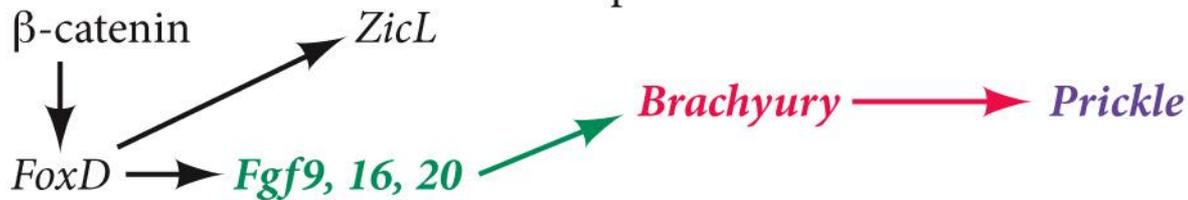
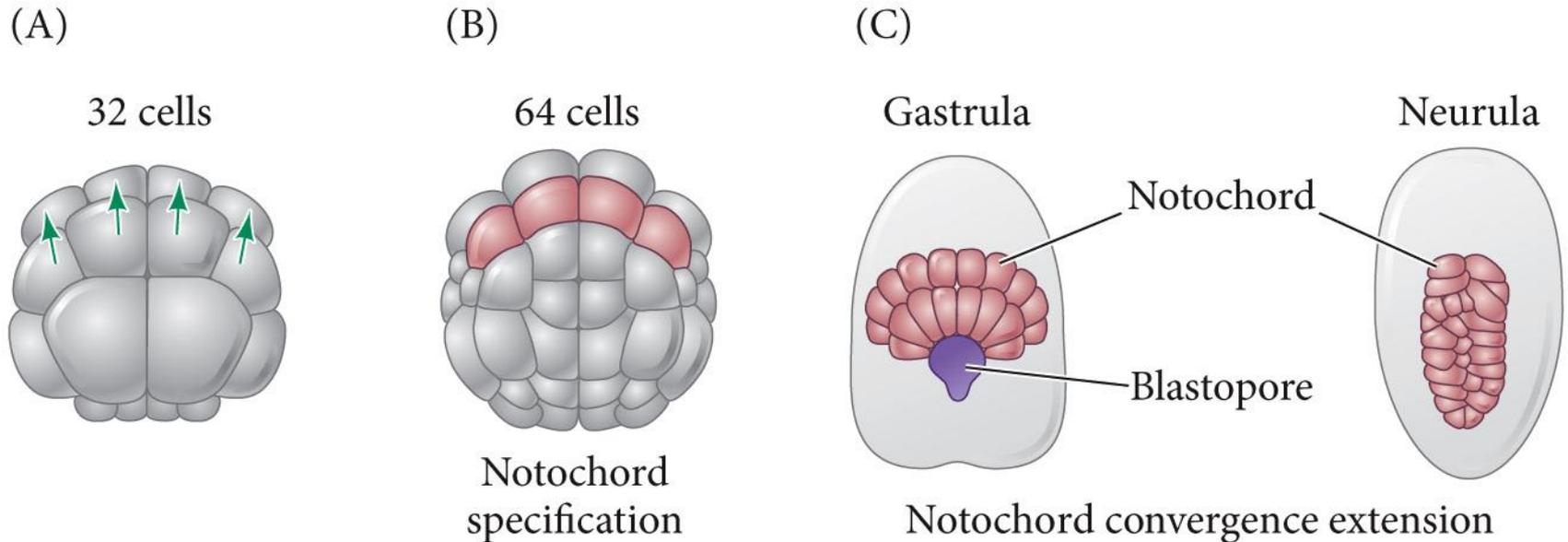


INTERAZIONI INDUTTIVE E SVILUPPO REGOLATIVO IN EMBRIONI DI ASCIDIE





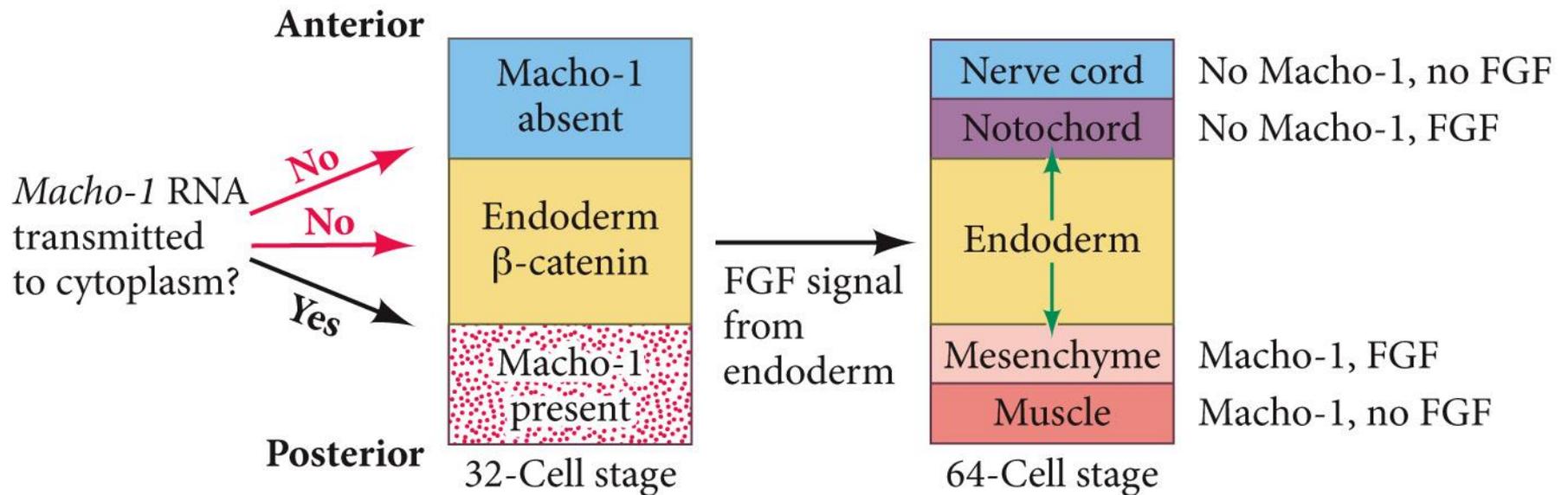
INTERAZIONI INDUTTIVE E SVILUPPO REGOLATIVO IN EMBRIONI DI ASCIDIE



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 10.19
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Le cellule vegetative producono il **segnale paracrino FGF**, che agisce sulle cellule adiacenti attivando l'espressione del fattore di trascrizione **Brachyury**. A sua volta, Brachyury promuove il programma genetico che porta alla formazione della notocorda.

INTERAZIONI INDUTTIVE E SVILUPPO REGOLATIVO IN EMBRIONI DI ASCIDIE



DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 10.20
© 2016 Sinauer Associates, Inc.

Il **segnale paracrino FGF**, prodotto dalle cellule vegetative, viene recepito da recettori nelle cellule adiacenti anteriormente e posteriormente. Nelle cellule anteriori, il segnale FGF promuove la formazione della notocorda. Nelle cellule posteriori, il gene **Snail** a valle di Macho1 inibisce la formazione della notocorda. Pertanto queste cellule rispondono ad FGF con una competenza diversa formando mesenchima.