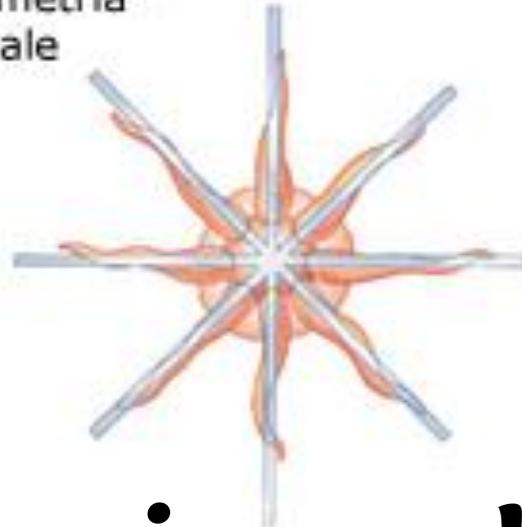
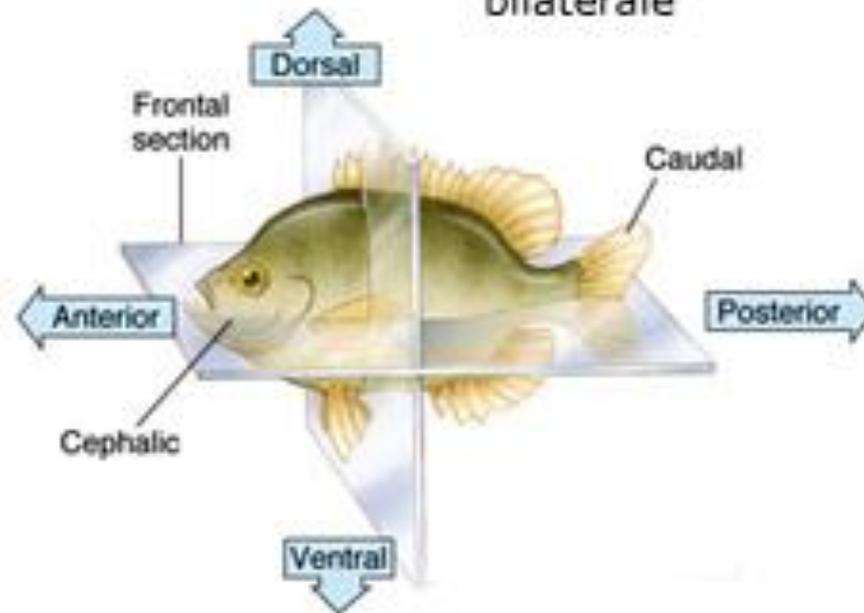


simmetria
radiale



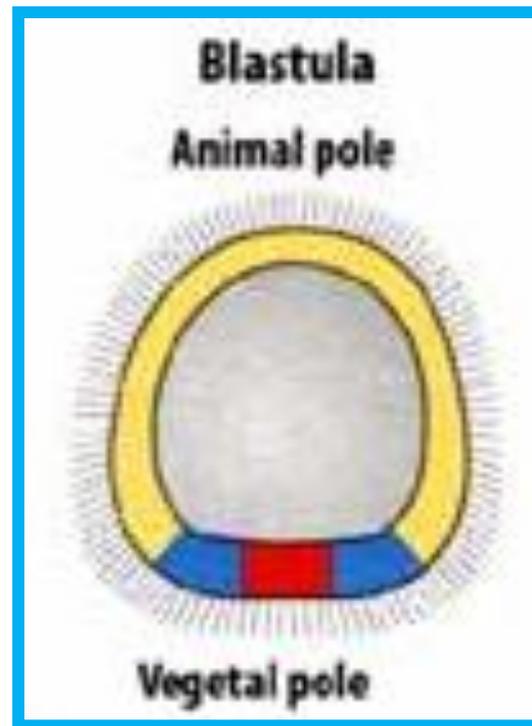
La formazione degli assi

simmetria
bilaterale



Specificazione degli assi: il riccio di mare

Nella blastula di riccio di mare i destini cellulari sono allineati lungo l'asse animale-vegetativo determinatosi nel citoplasma dell'uovo **prima della fecondazione**. L'asse polo A-V costituisce il futuro **asse antero-posteriore** e, la **regione vegetativa** sequestra i componenti materni necessari allo sviluppo **posteriore**.



Antero



Posteriore

Specificazione degli assi: il riccio di mare

Nella maggior parte dei ricci di mare l'asse dorso-ventrale e sinistra-destra, sono specificati dopo la fecondazione, con meccanismi ancora ignoti

L'asse orale-aborale



Nodal

Espresso solo nell'ectoderma orale



Bloccando la traduzione di Nodal le larve non acquisivano simmetria bilaterale, l'archenteron non si piegava su un lato per formare la bocca.

L'induzione ectopica in tutto l'ectoderma induceva la formazione di ectodermi orali

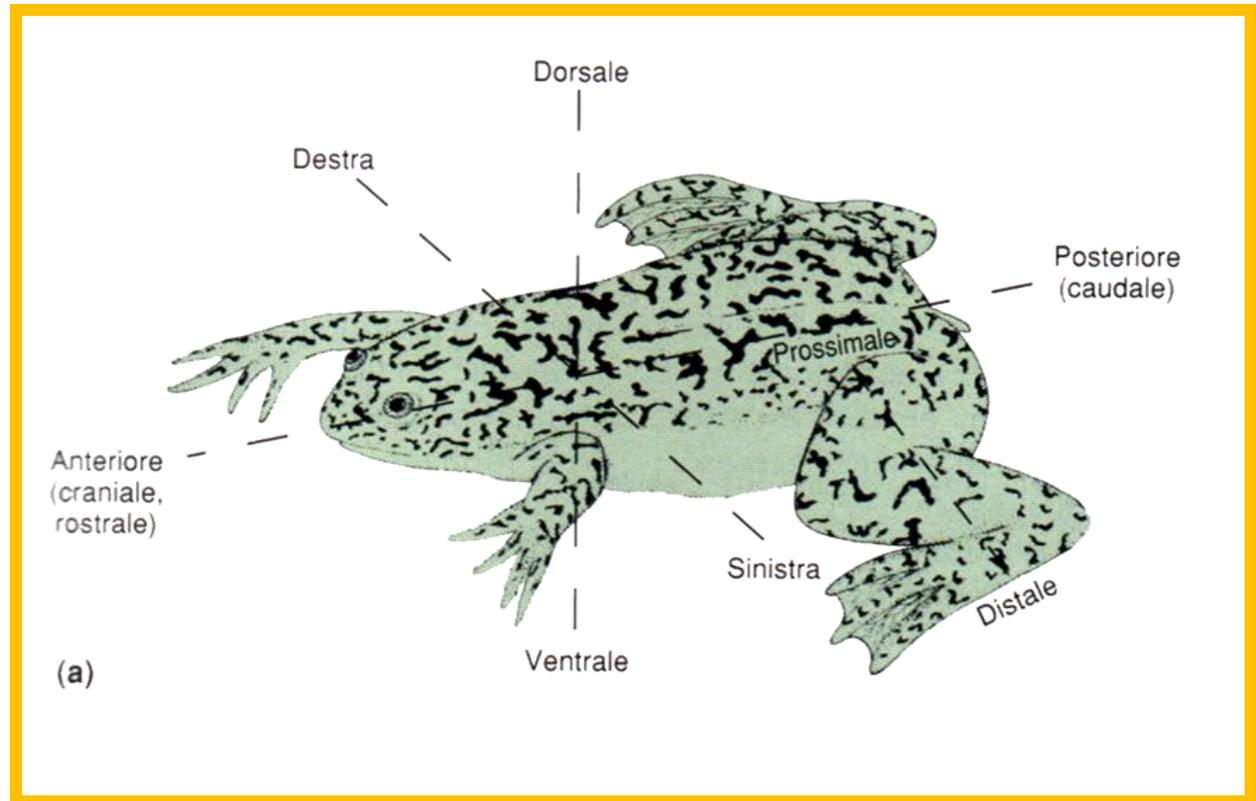
Specificazione degli assi: gli anfibi

Si distinguono tre assi corporei:

asse antero-posteriore

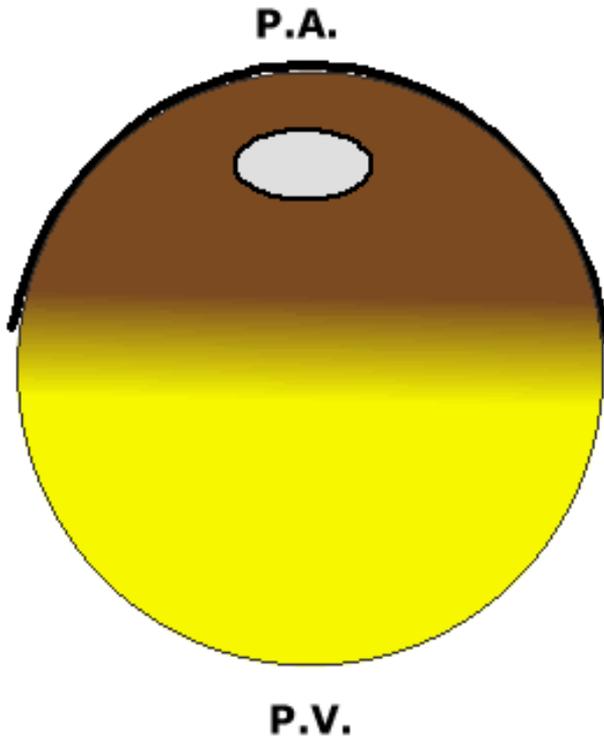
asse dorso-ventrale

asse destra-sinistra



Specificazione degli assi: gli anfibi

L'uovo non fecondato presenta già una polarità lungo l'asse polo A-V.

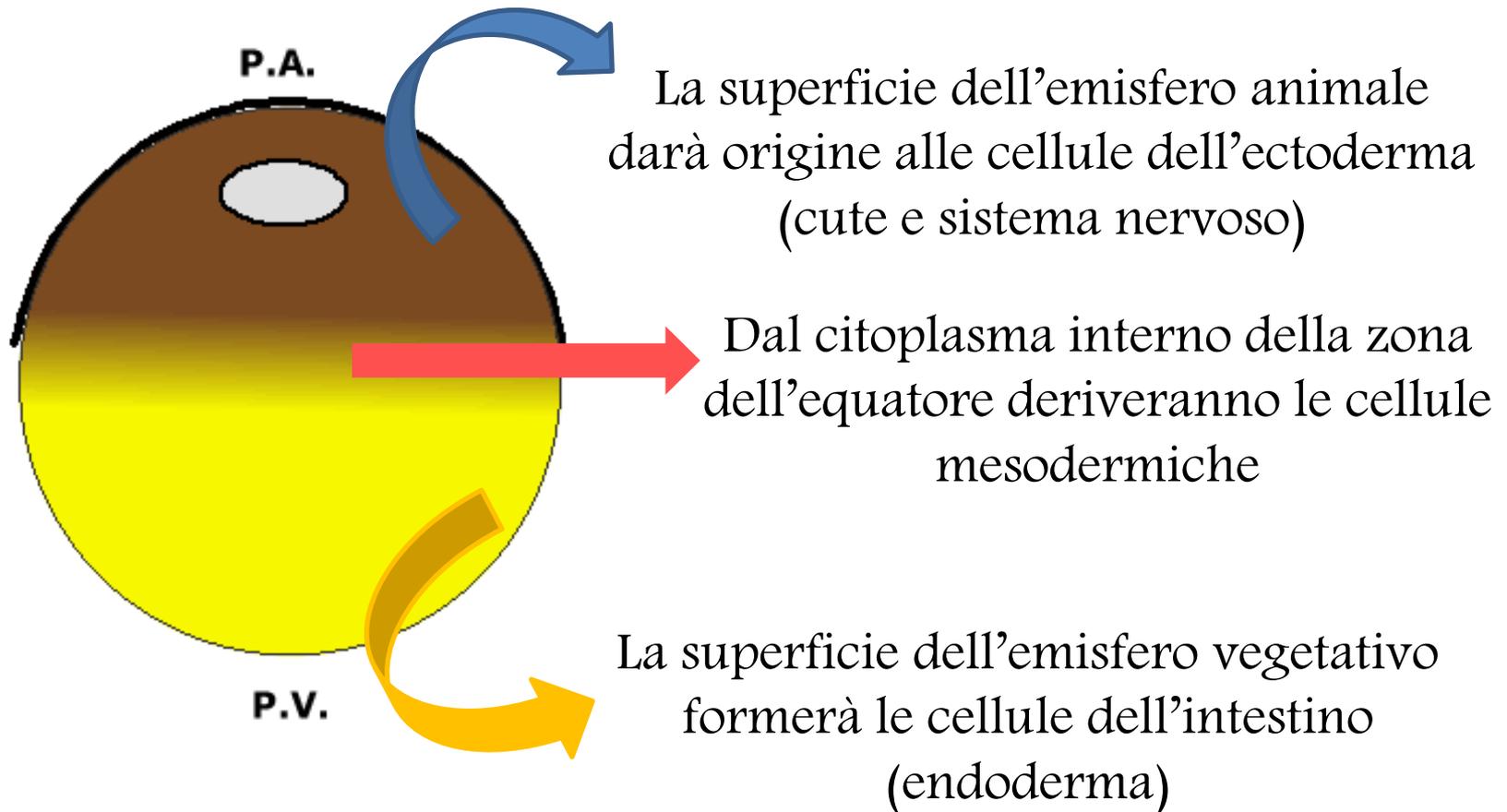


La polarità animale-vegetativa viene accentuata dalla distribuzione delle **placchette di vitelline**. Durante la vitellogenesi circa il 70% del vitello si accumula nell'emisfero vegetativo.

Negli anfibi alla fine dell'ovogenesi il citoplasma corticale dell'emisfero animale appare scuro per la presenza di granuli di pigmento assenti al polo vegetativo che invece presenta una leggera colorazione giallastra dovuta alle placchette vitelline.

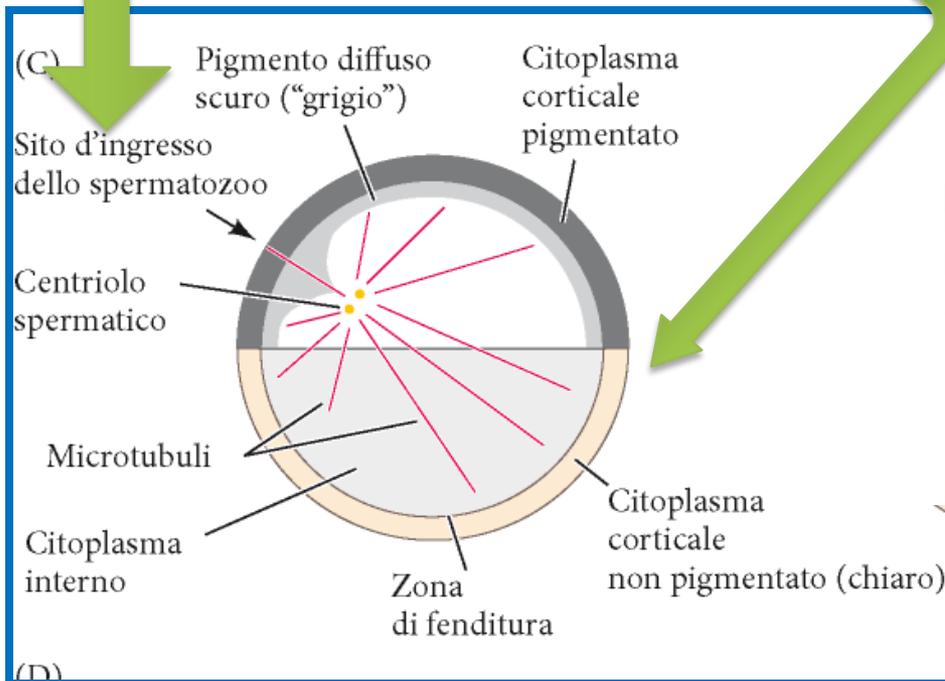
Specificazione degli assi: gli anfibi

L'uovo non fecondato presenta già una polarità lungo l'asse polo A-V.



Anfibi: asse dorso-ventrale

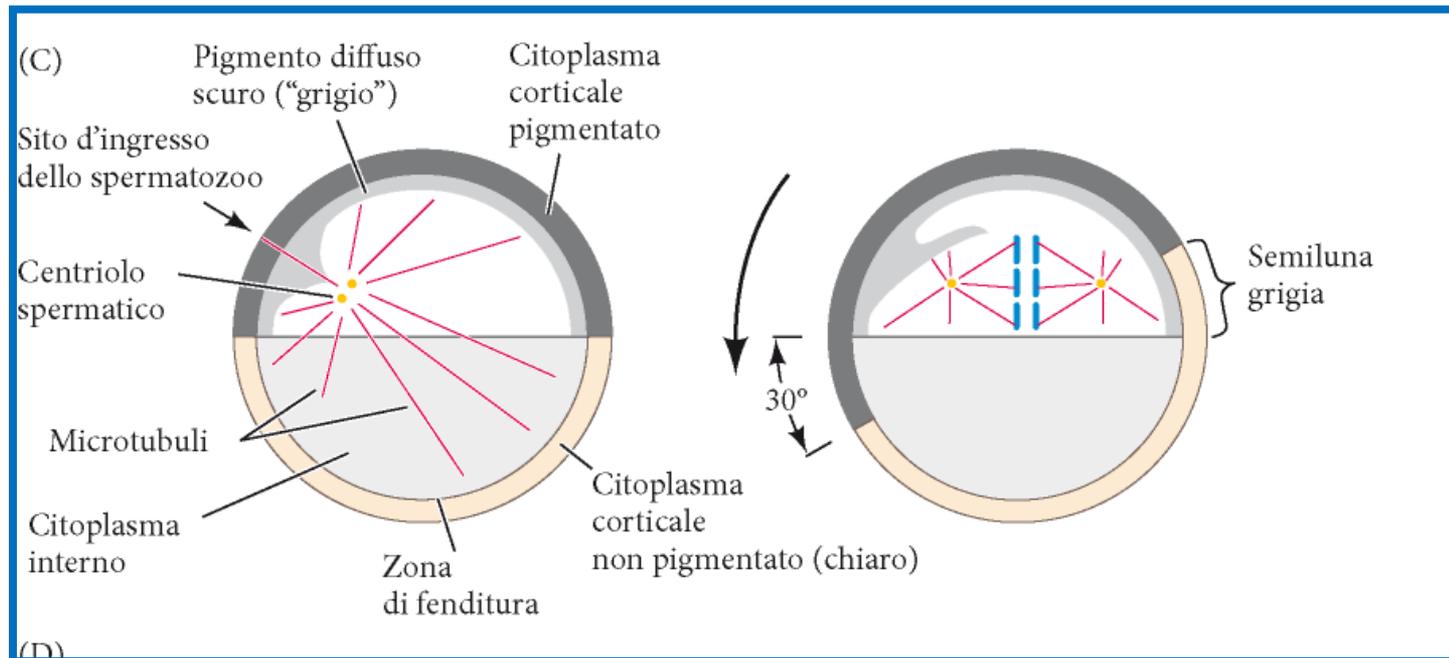
La fecondazione può avvenire **ovunque** sull'emisfero animale dell'embrione degli anfibi. Il **punto di ingresso dello spermatozoo** è **importante** perché determina l'orientamento dell'asse **dorso-ventrale** della larva. Il punto di **ingresso contrassegnerà il lato ventrale** dell'embrione, mentre il lato opposto segnerà il lato **dorsale**.



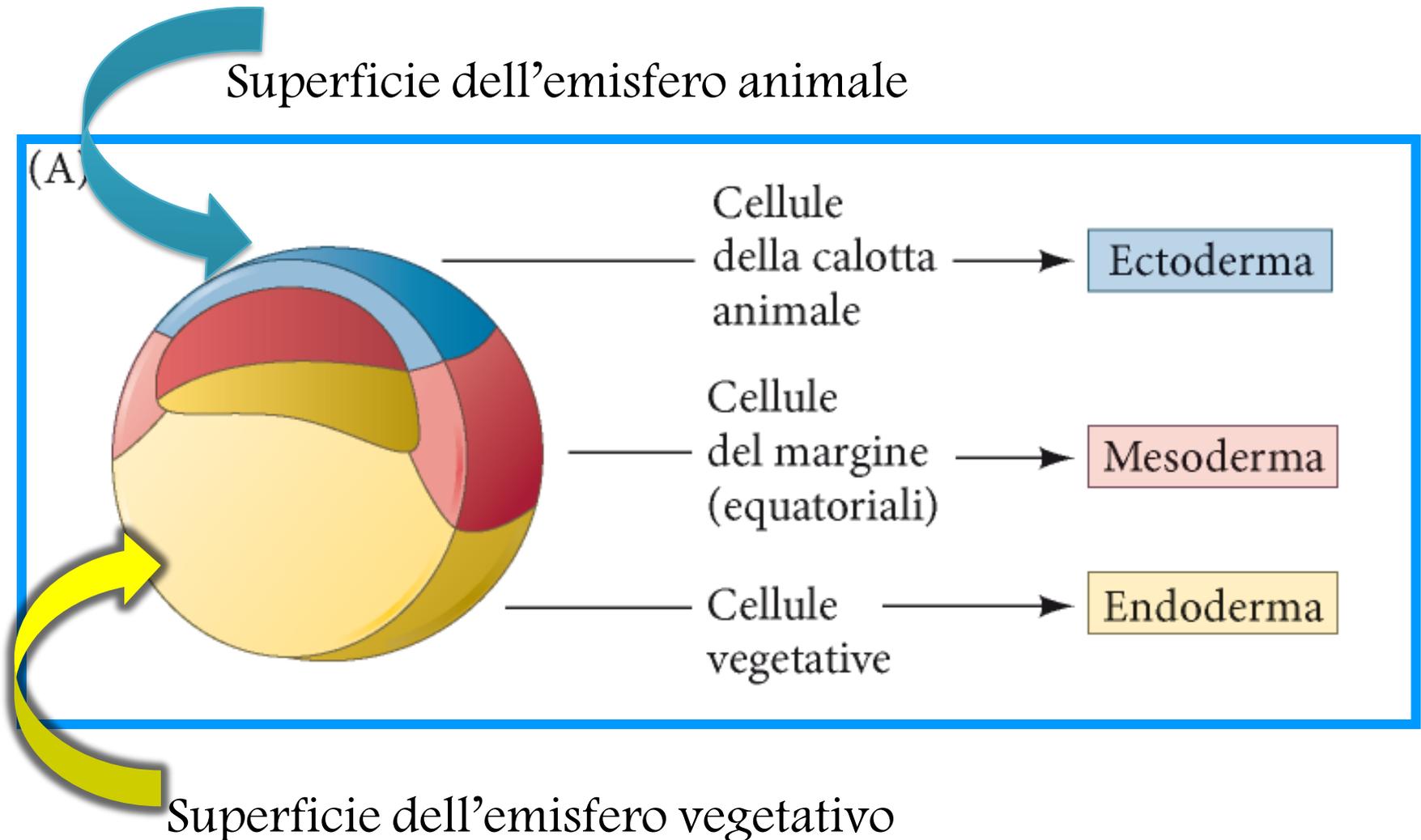
Il **centriolo** dello spermatozoo organizza i microtubuli dell'uovo e li induce a disporsi in serie parallele nel citoplasma vegetativo, separando il citoplasma corticale da quello interno del tuorlo.

I primi stadi dello sviluppo: anfibi

Queste guide microtubulari consentono al **citoplasma corticale** di **ruotare rispetto al citoplasma interno**. Nello zigote appena fecondato infatti, il citoplasma corticale ruota di 30° rispetto al citoplasma interno. Questa rotazione rende visibile una banda di **citoplasma interno (scuro)** nella regione marginale dell'embrione opposta al sito di ingresso dello spermatozoo, la **semiluna grigia** da dove inizierà la gastrulazione.

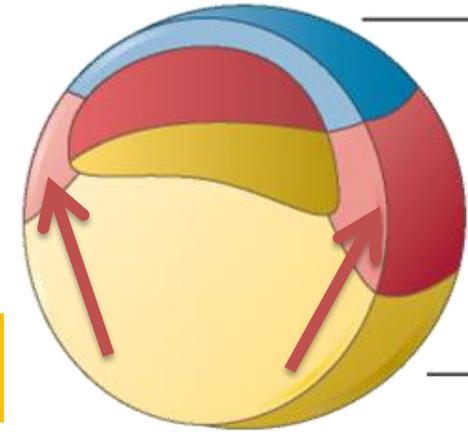


Specificazione degli assi: gli anfibi



Specificazione degli assi: gli anfibi

Si pensa che la mappa presuntiva generale sia imposta all'uovo dalla cellule vegetative.

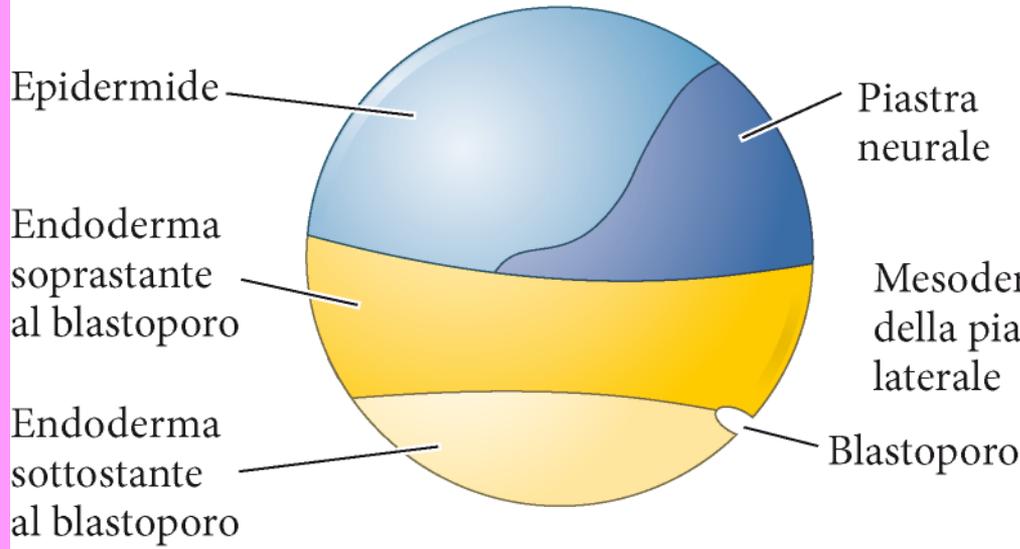


Le cellule vegetative: funzioni

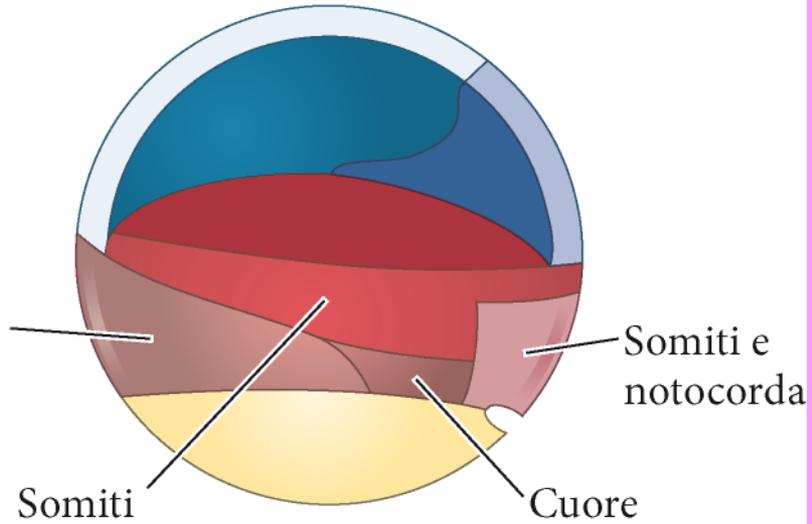
Differenziarsi in
endoderma

Indurre le cellule sovrastanti a
diventare mesoderma

(A) Mappa esterna

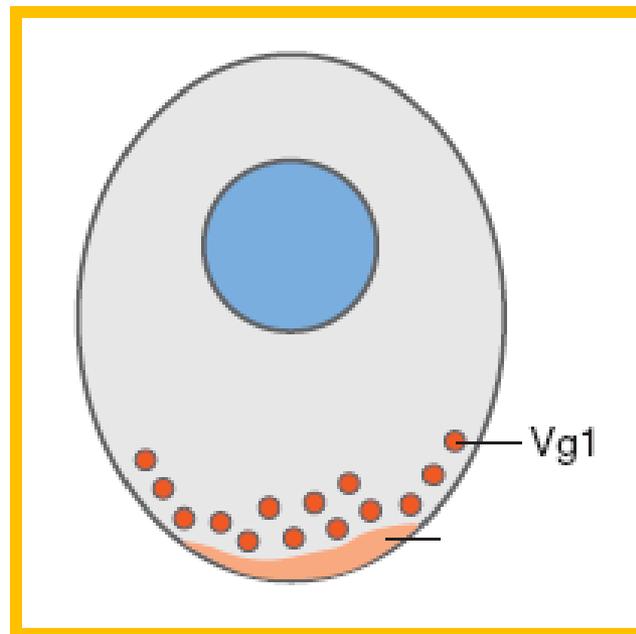


(B) Mappa interna



Specificazione degli assi: gli anfibi - VegT

Negli ovociti ancorato alla **corteccia dell'emisfero vegetativo** è stato ritrovato l'mRNA codificante per il fattore di trascrizione **VegT**, ed è ripartito fra le cellule in questa regione durante la segmentazione



Specificazione degli assi: gli anfibi - VegT

distrutto



mRNA VegT

Tutto l'embrione
diventa epidermide



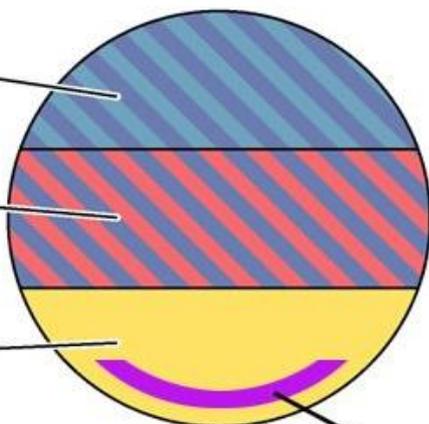
CONTROLLO

Animale

Epidermide
e tessuto nervoso

Mesoderma
e tessuto nervoso

Endoderma



Vegetativo

mRNA Vegt

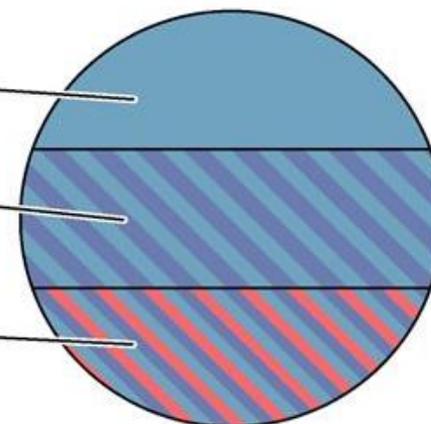
DEPLEZIONE DI VegT

Animale

Epidermide

Epidermide
e tessuto nervoso

Epidermide,
mesoderma,
e tessuto nervoso



Vegetativo



Specificazione degli assi: gli anfibi - VegT

VegT

Attiva la trascrizione
nello zigote

Membri del fattore
paracrino TGF- β :
sei geni correlati a
Nodal e Vg1

Se è bloccata la via di segnalazione di
Nodal o Vg1, vi è scarsa o nessuna
induzione mesodermica.

Quali cellule saranno la parte anteriore, posteriore, il dorso o l'addome?

Gli assi antero-posteriore, dorso-ventrale e destro-sinistro sono specificati alla fecondazione e portati avanti durante la gastrulazione.

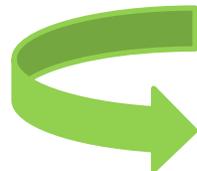
L'asse antero-posteriore



È legata alla formazione dell'asse dorso-ventrale



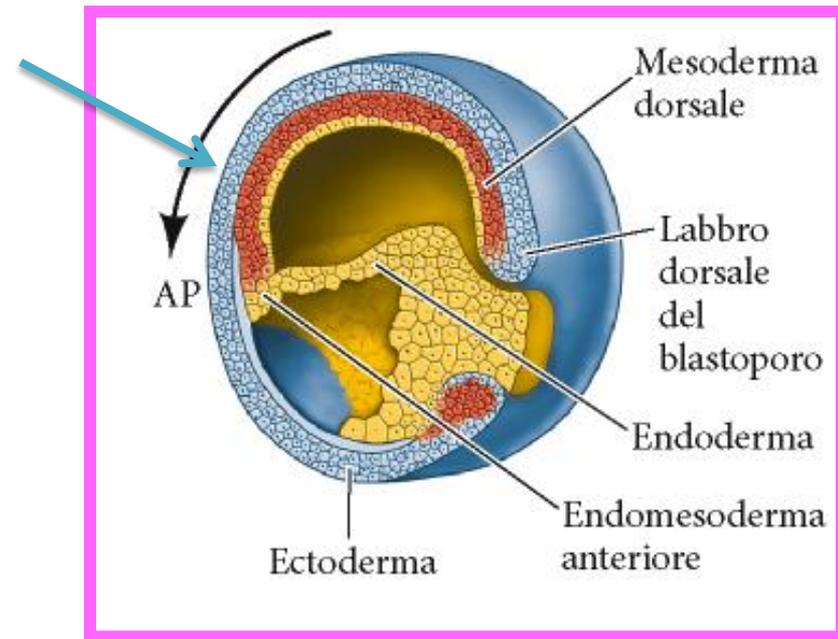
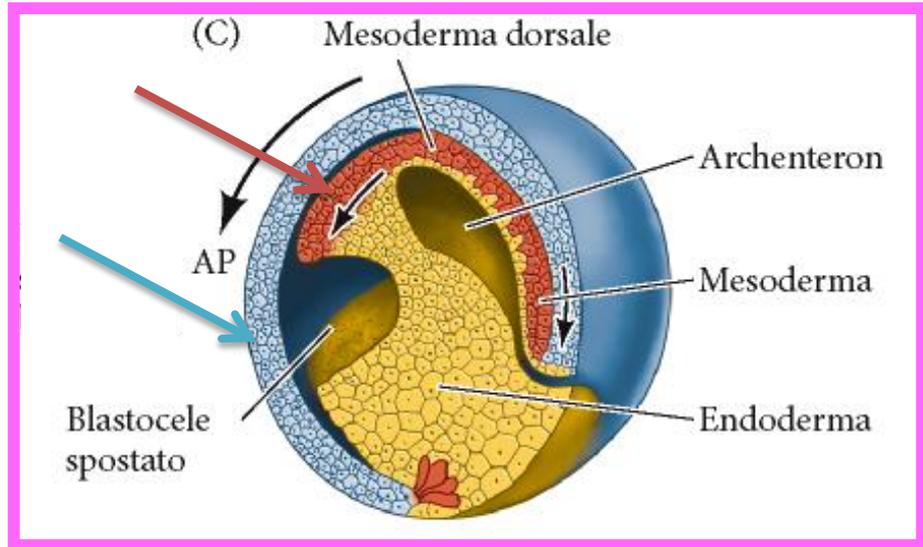
L'embolia del mesoderma specifica l'asse antero-posteriore...



Opposta al sito di ingresso dello spz

La gastrulazione inizia nella zona marginale

Le cellule della zona marginale vanno incontro a involuzione (o embolia) mentre le cellule del polo animale vanno incontro a epibolia e convergono nel blastoporo.

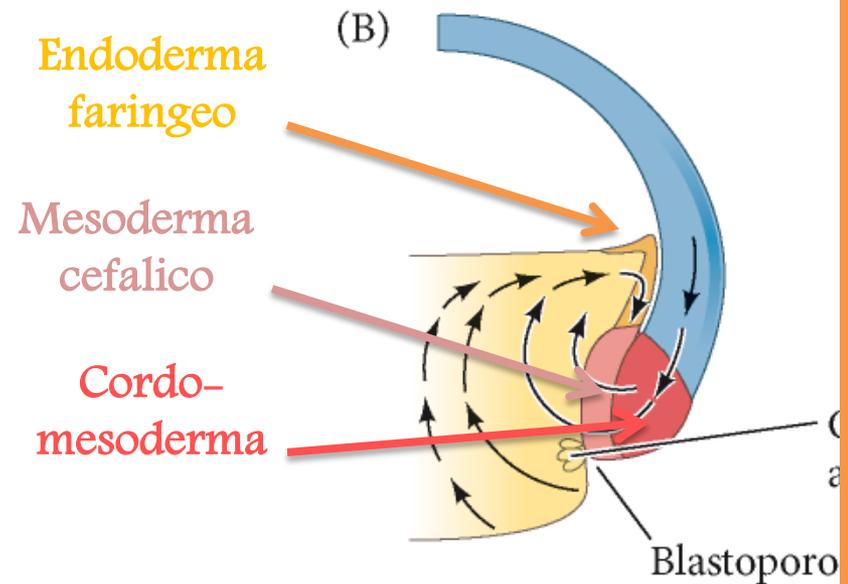


Quali cellule saranno la parte anteriore, posteriore, il dorso o l'addome?

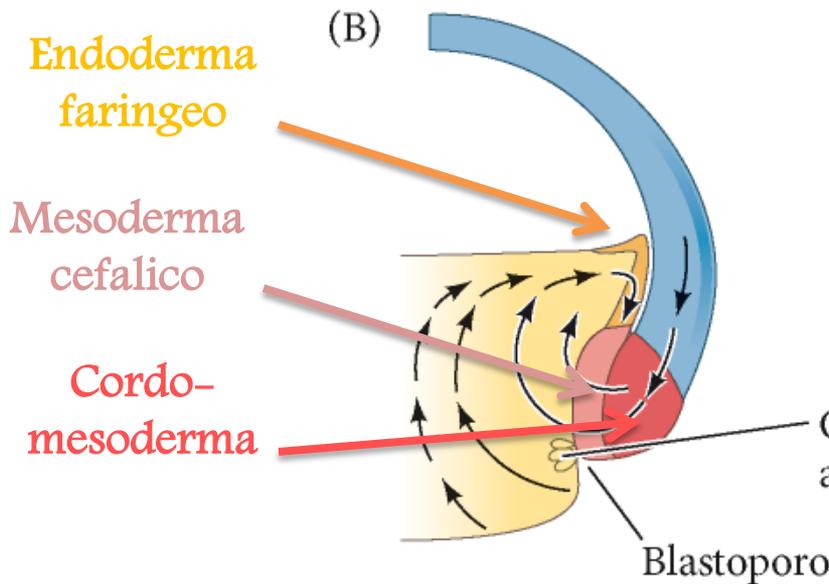
Il primo *endomesoderma* che migra attraverso il labbro dorsale del blastoporo

Induce

L'ectoderma sovrastante a produrrà strutture anteriori (prosencefalo)



Quali cellule saranno la parte anteriore, posteriore, il dorso o l'addome?



Il mesoderma che si involge successivamente attraverso il labbro dorsale del blastoporo

Induce

L'ectoderma a formare strutture più posteriori (romboencefalo e midollo spinale)

SNC si forma dunque attraverso interazioni con il sottostante mesoderma → induzione embrionale primaria

Interazioni induttive: Hans Spemann

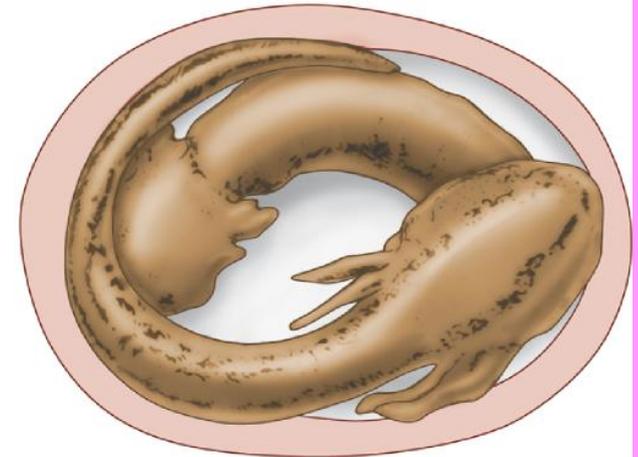
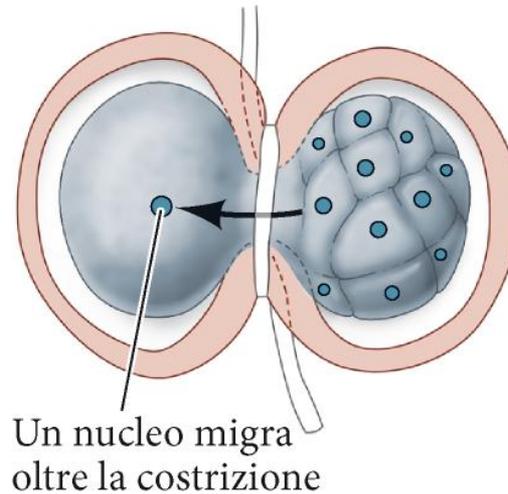
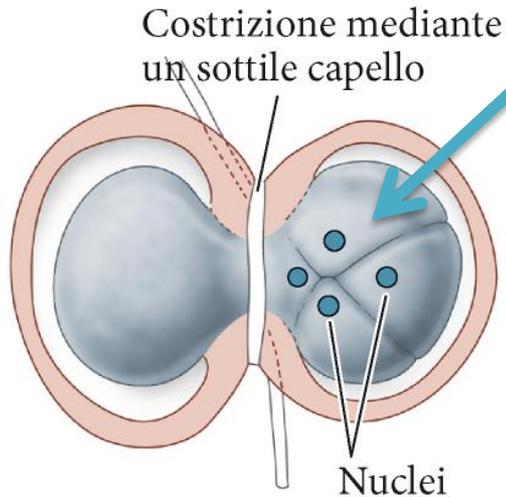
Lungo il piano della **prima divisione di segmentazione**: dividendo il lato destro dal sinistro

Divisioni da un solo lato

(A) Stadio a 8 blastomeri

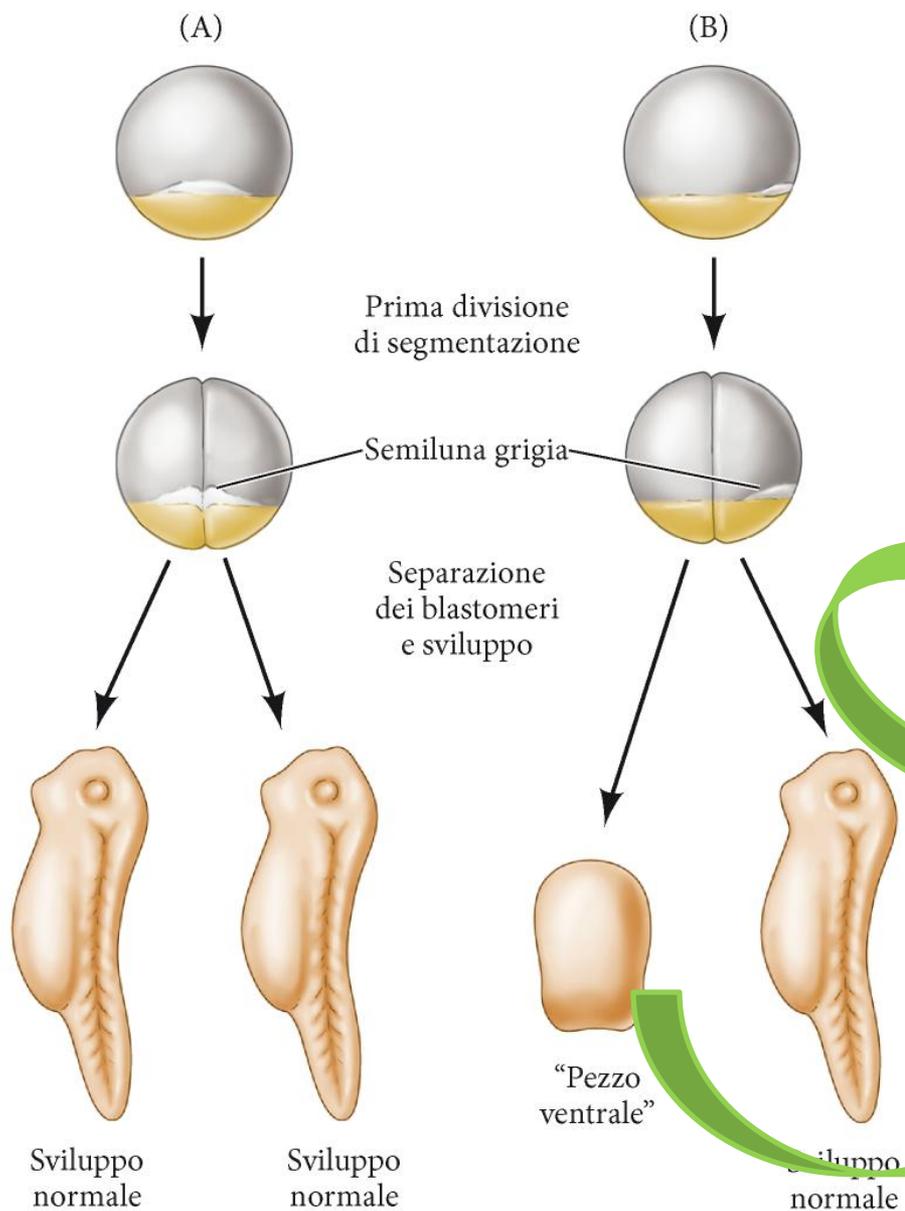
(B) Stadio a 16 blastomeri

(C) 14 giorni



Negli anfibi i primi nuclei sono **geneticamente identici** e ogni blastomero è capace di dare origine ad un intero organismo

Interazioni induttive: Hans Spemann



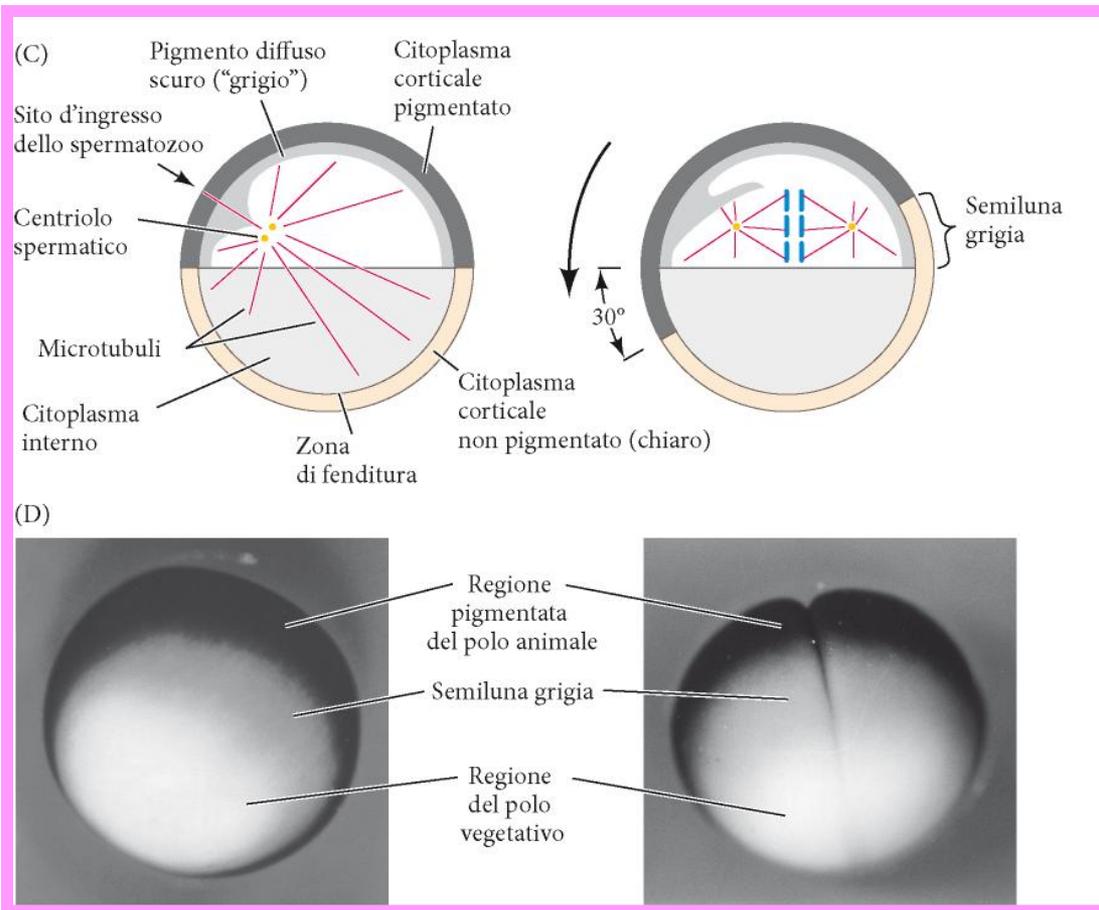
Strozzatura longitudinale ma perpendicolare al primo piano di segmentazione, separando la futura regione dorsale da quella ventrale

Solamente il lato dorsale diede origine ad una larva completa

Sfera di cellule epidermiche (ectoderma) contenente sangue e mesenchima (mesoderma) e cellule intestinali (endoderma)

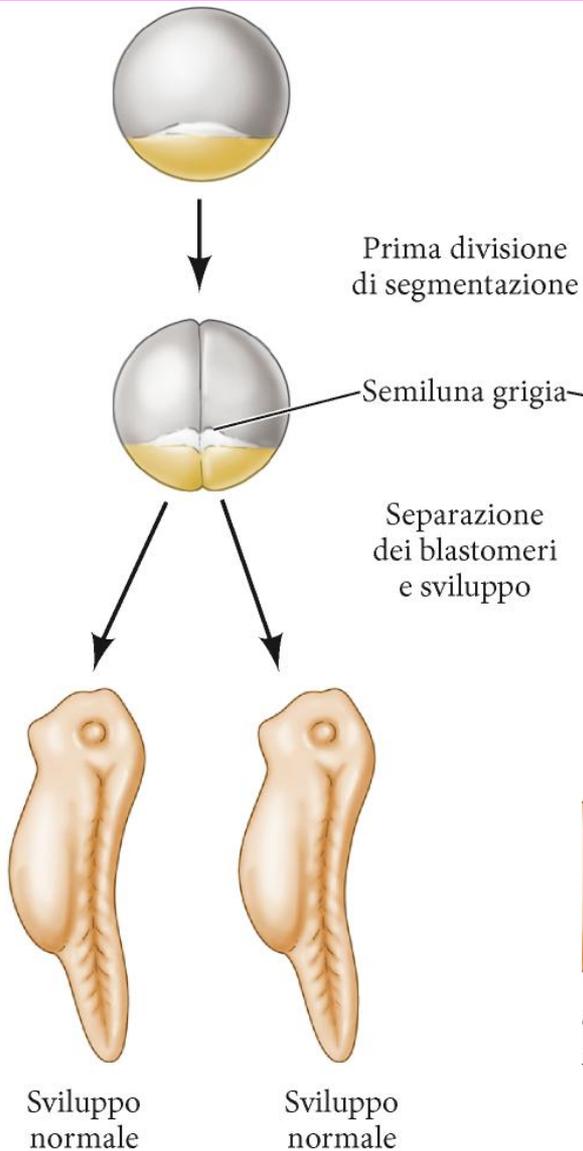
Perché i due esperimenti davano risultati diversi?????

Qualche sostanza citoplasmatica non segregava egualmente nelle due metà.....



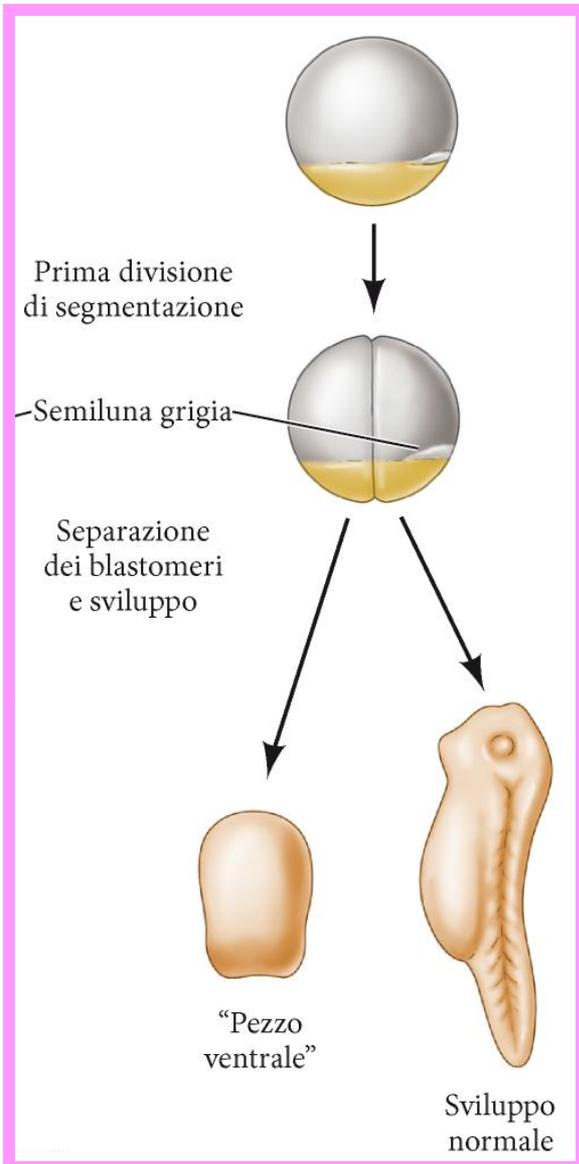
La semiluna grigia è la regione opposta al sito di ingresso dello spz

Perché i due esperimenti davano risultati diversi?????



Normalmente la **semiluna grigia** è ripartita egualmente nei primi due blastomeri.

Perché i due esperimenti davano risultati diversi?????



Se il materiale della semiluna grigia **rimane in un solo dei due blastomeri**, solo il blastomero contenente la semiluna grigia si sviluppa normalmente

Two red pushpins are positioned at the top corners of the pink text box, appearing to pin it to the white background.

**La semiluna grigia contiene qualcosa
di essenziale per il corretto sviluppo
dell'embrione.....**

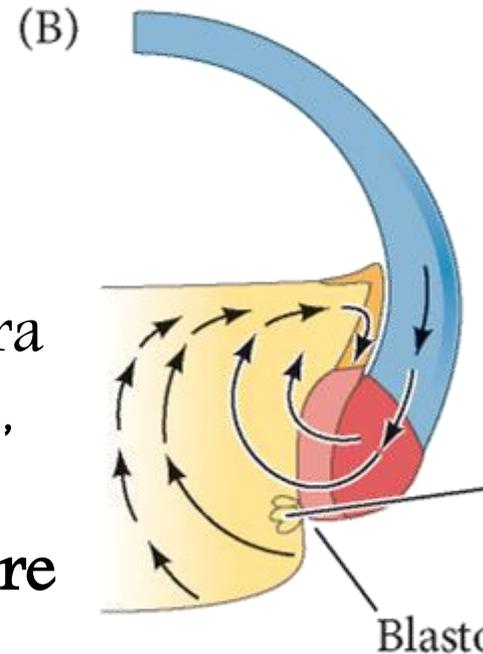
La semiluna grigia

La semiluna grigia contiene le cellule che **danno inizio alla gastrulazione**. Queste cellule formano il labbro dorsale del blastoporo



Negli anfibi lo sviluppo dipende dalle **interazioni** tra cellule riorganizzate nel corso della gastrulazione, Spemann ipotizzò che **l'importanza del materiale della semiluna grigia stes**se nella sua capacità di dare **inizio alla gastrulazione** e che alla gastrulazione avvenissero **modificazioni decisive**.

Nel 1918 Spemann dimostrò entrambe queste tesi....



La semiluna grigia

Le cellule di una **gastrula** ad uno **stadio iniziale** non erano impegnate nel differenziamento; il destino delle cellule di una **gastrula** ad uno **stadio avanzato** era invece **determinato**.

(A) Trapianto in una gastrula a stadio iniziale

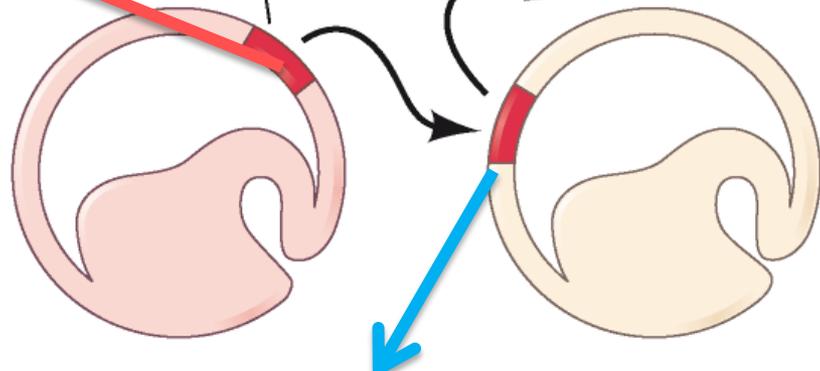
Tessuto nervoso
prospettico



Si differenziano in relazione alla loro nuova localizzazione

Ectoderma neurale presuntivo

Epidermide presuntiva

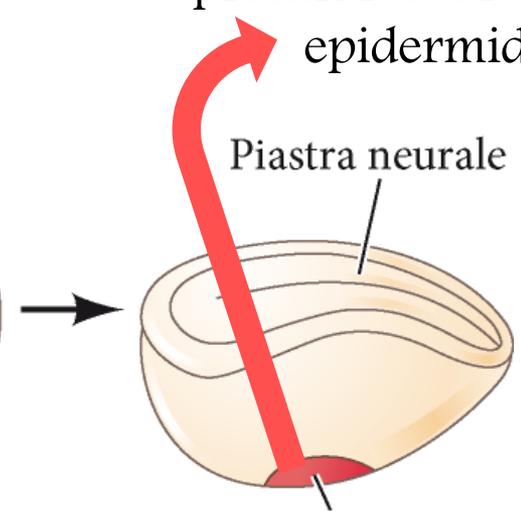


Regione destinata a diventare cute ventrale

Il tessuto nervoso presuntivo diventava epidermide

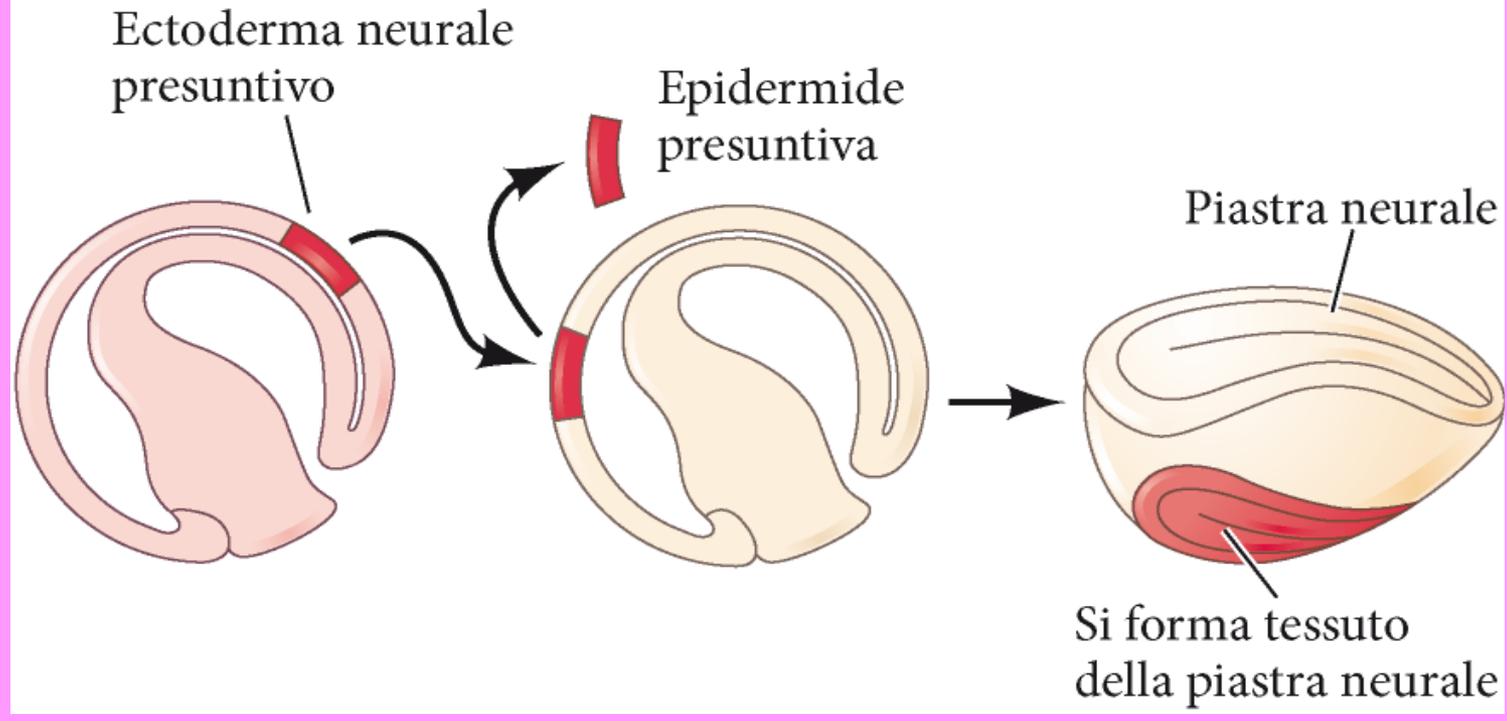
Piastra neurale

Si forma epidermide



In gastrule avanzate invece...

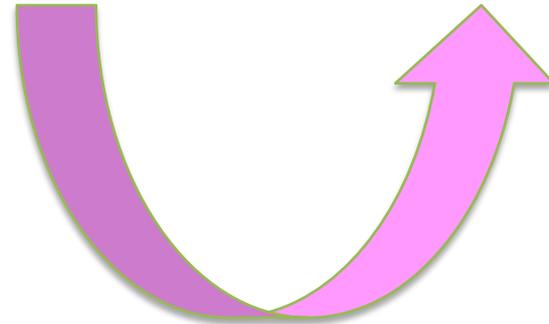
(B) Trapianto in una gastrula a stadio avanzato



Non si differenziano in relazione alla loro nuova localizzazione, ma le cellule trapiantate mostrano uno sviluppo autonomo. Il destino prospettico era determinato.

Stadio iniziale
gastrulazione

Stadio avanzato della
gastrulazione



La potenzialità delle cellule si è ristretta
ai loro percorsi finali di differenziamento

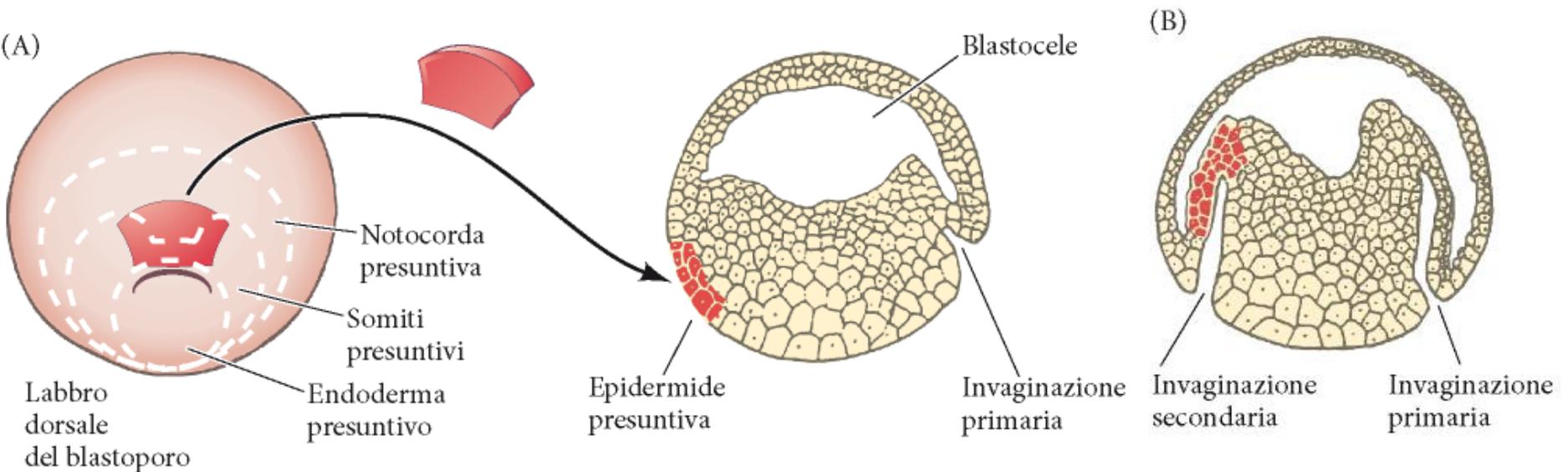


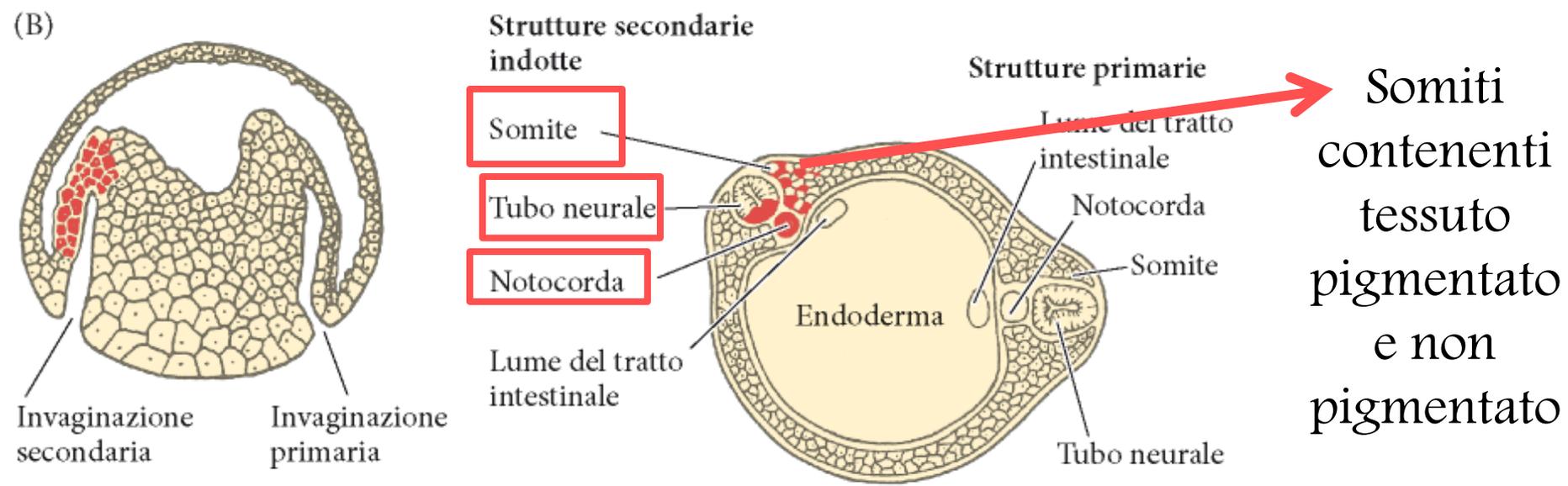
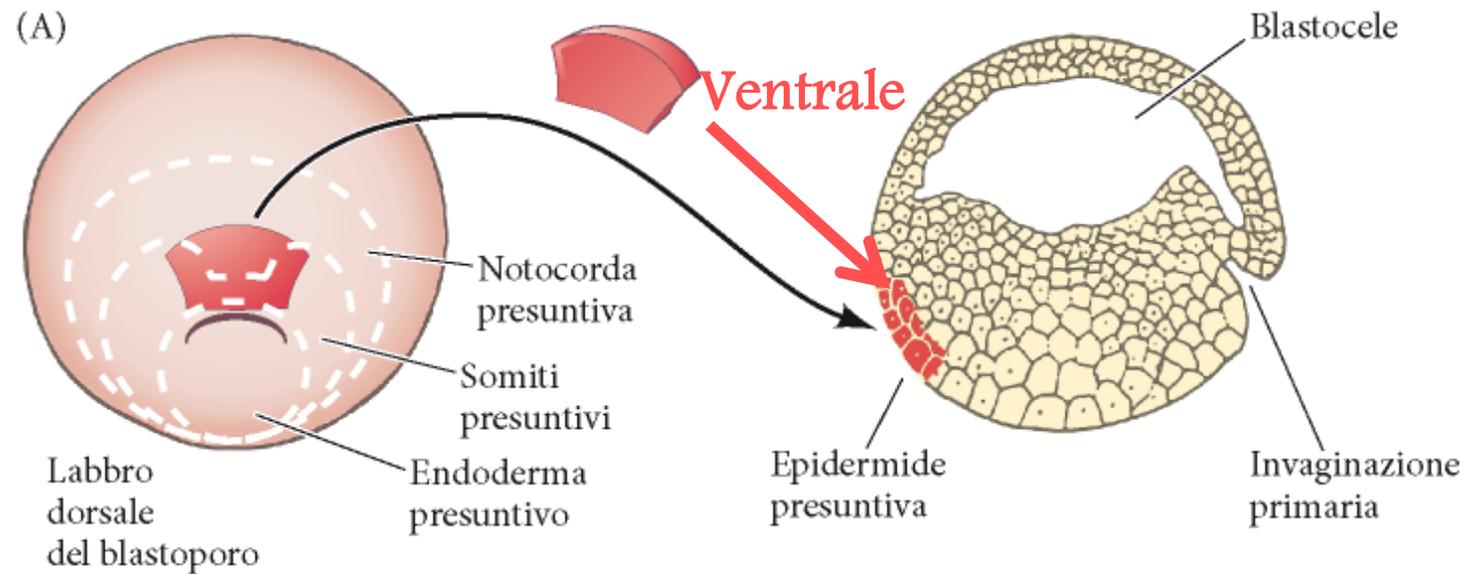
Come???????



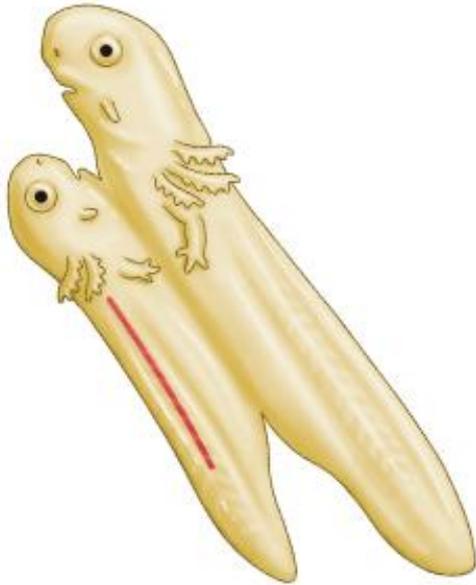
Spemann e Mangold dimostrarono che fra tutti i tessuti della gastrula allo stadio iniziale, uno solo aveva **destino predeterminato**, era cioè in grado di **autodifferenziarsi**: il **labbro dorsale del blastoporo** derivato dal citoplasma della **semiluna grigia**.

Trapiantando il **labbro dorsale del blastoporo** nella regione della cute **ventrale**, dava inizio alla gastrulazione e all'embriogenesi nel tessuto circostante.

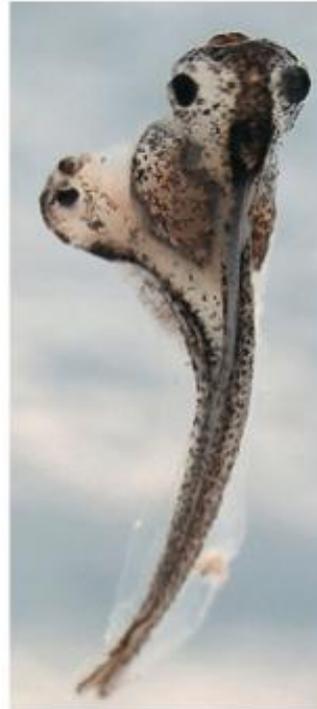




(C)



(D)



(E)



Le cellule del labbro dorsale, interagendo con i tessuti dell'accettore, formano **una piastra neurale completa** a partire dall'ectoderma dell'accettore. Si forma un embrione secondario orientato faccia a faccia con l'accettore

Labbro dorsale = organizzatore



Induceva i tessuti ventrali dell'accettore a modificare il loro destino formando un **tubo neurale** e tessuto mesodermico dorsale.



Organizza i tessuti dell'accettore in embrione secondario con **assi antero-posteriore** e **dorso-ventrale**.

Questa induzione CHIAVE in cui la progenie delle cellule del labbro dorsale induce l'asse dorsale e il tubo neurale è detta: induzione embrionale primaria

Come si forma l'organizzatore?

1
—

Un primo segnale comunica alle cellule che **sono dorsali**

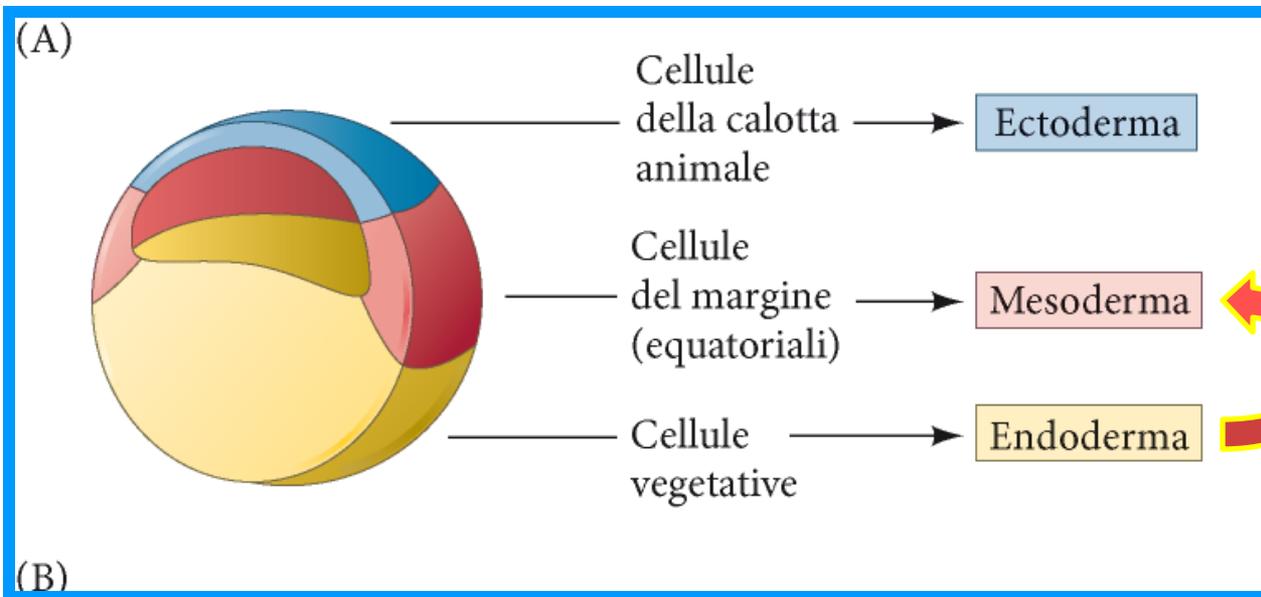
2
—

Un secondo segnale dice loro che **sono mesoderma**

Il segnale dorsale

Le cellule mesodermiche risiedono sopra un gruppo speciale di cellule vegetative.

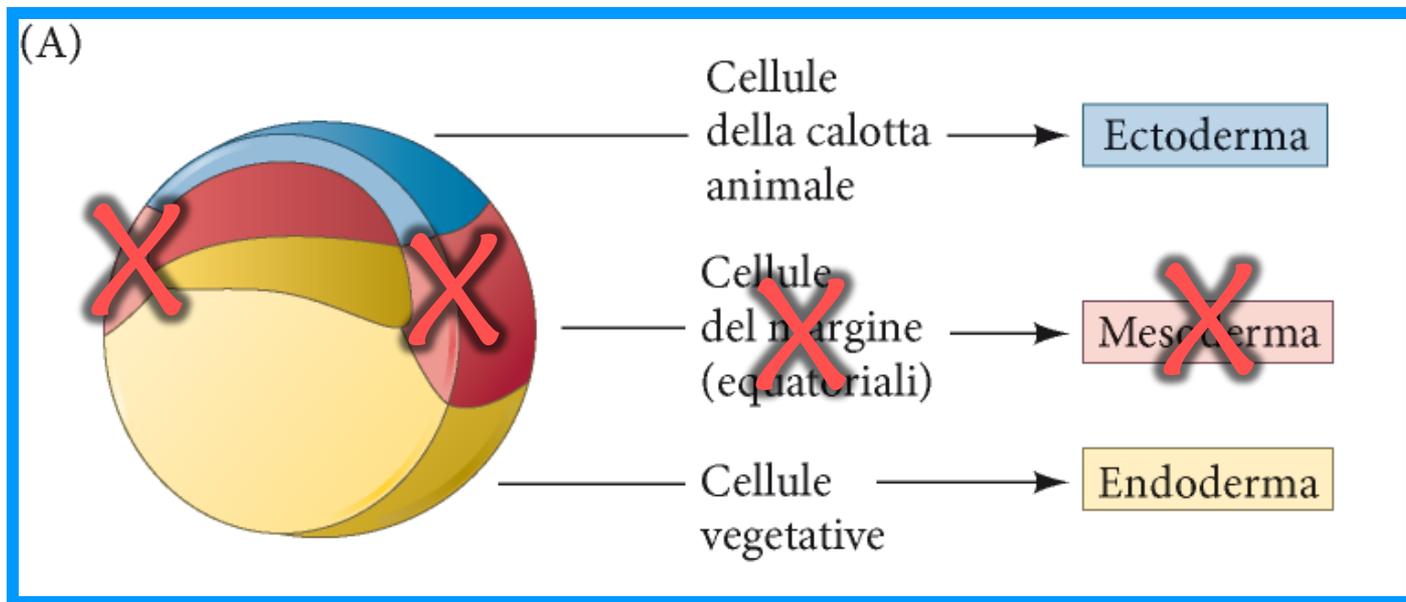
L'organizzatore acquisisce le sue proprietà dalle cellule endodermiche sottostanti (Nieuwkoop).



Le proprietà del mesoderma neo formato sono **indotte** dalle cellule vegetative

Il segnale dorsale

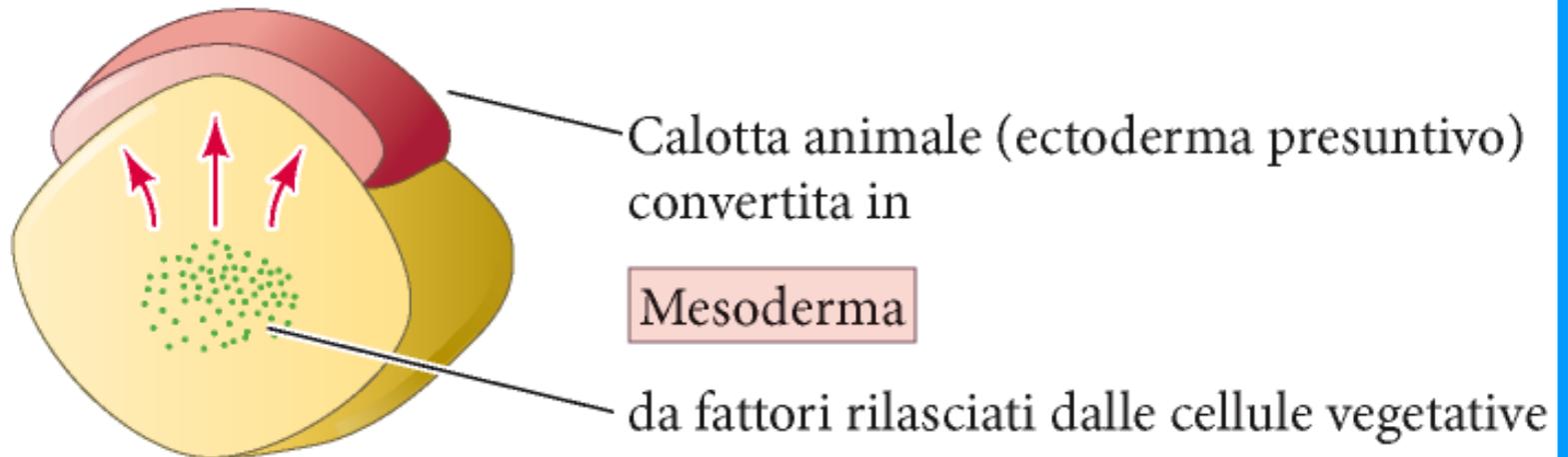
Nieuwkoop osservò che asportando il mesoderma presuntivo (le cellule equatoriali) né la calotta animale, né la calotta vegetativa, davano origine a tessuto mesodermico



Il segnale dorsale

Ricombinando le due calotte, le cellule della calotta animale venivano indotte a formare strutture mesodermiche, le cellule della calotta animale **venivano indotte** a formare strutture mesodermiche (notocorda, muscoli, rene e sangue)

(B)



Il segnale dorsale

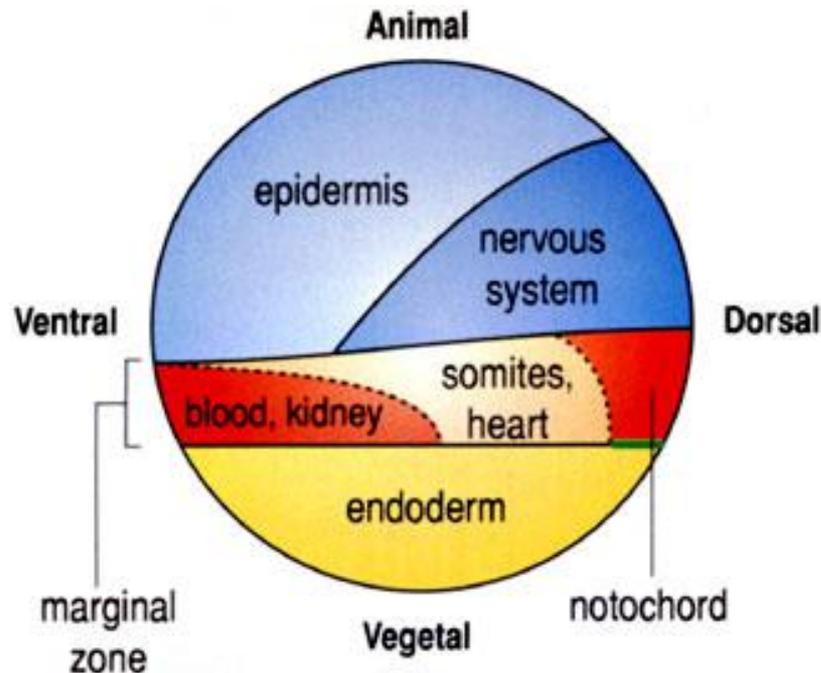
La polarità dell'induzione dipendeva dalla polarità dorso-ventrale del frammento di origine endodermica.

Le cellule vegetative ventrali e laterali (vicine al punto di ingresso dello spz)

Le cellule vegetative dorsali

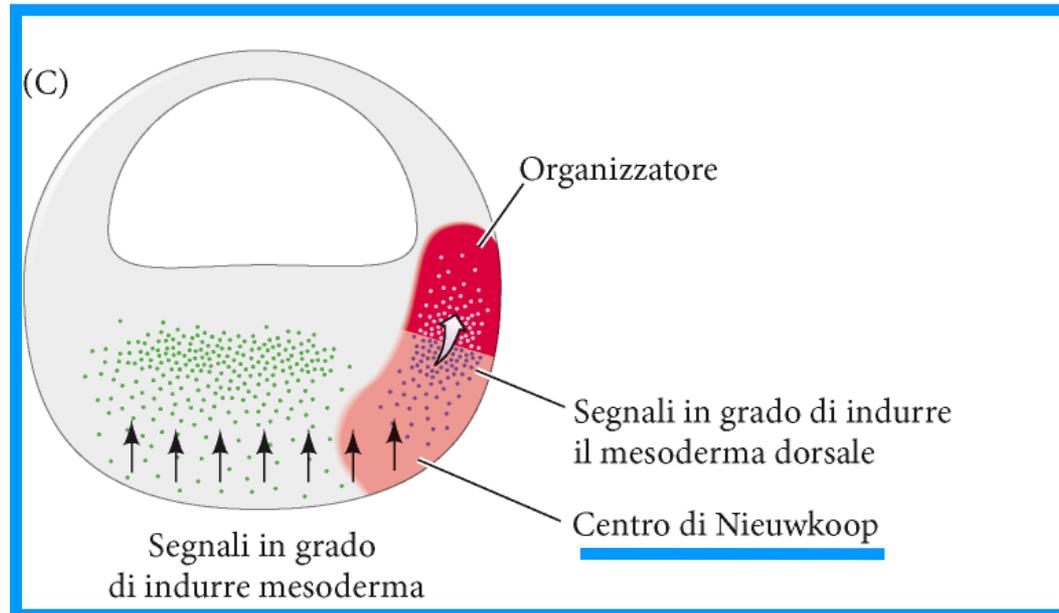
Mesoderma ventrale (mesenchima e sangue) e intermedio (rene)

Mesoderma dorsale (somiti e notocorda)



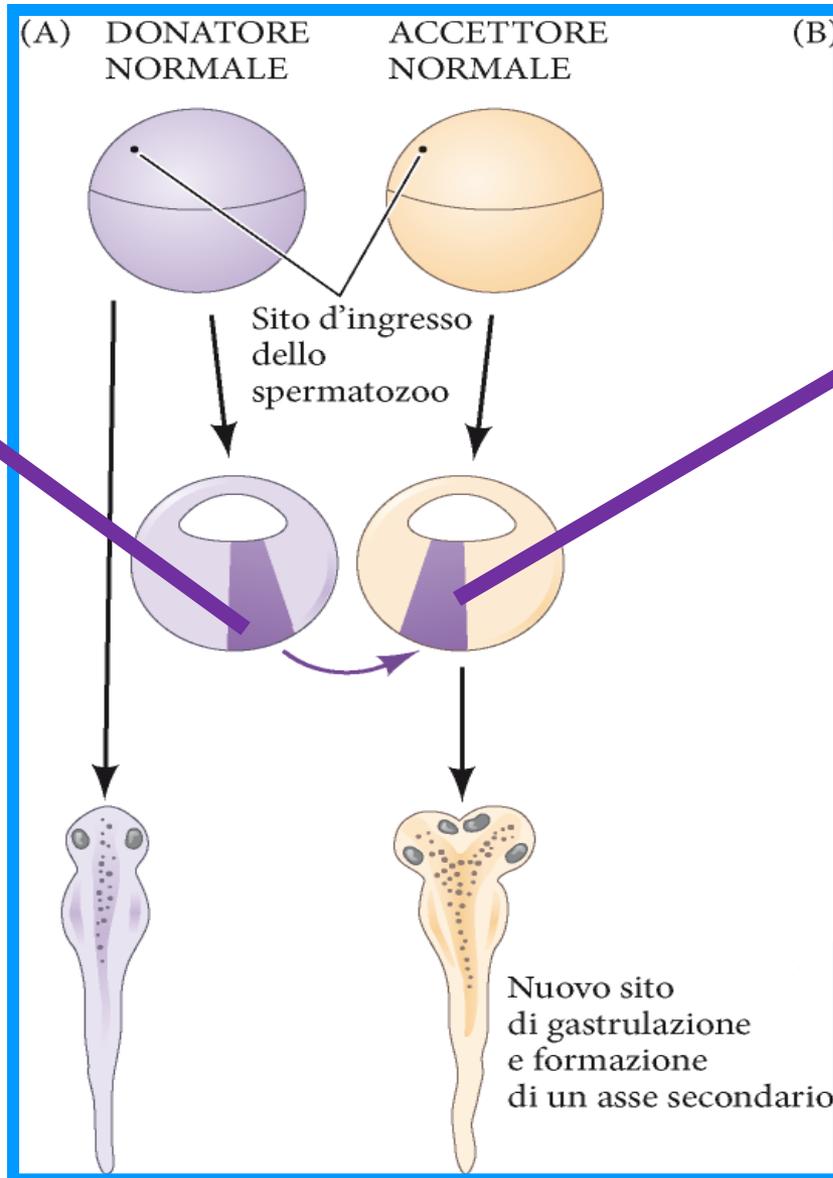
Il segnale dorsale

Le cellule vegetative più dorsali della blastula capaci di indurre l'organizzatore, sono state chiamate **centro di Nieuwkoop**



Il centro di Nieuwkoop

Il centro di Nieuwkoop fu scoperto in blastule di *Xenopus*

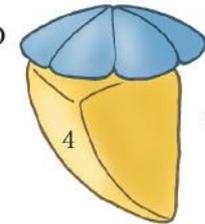
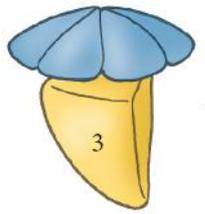
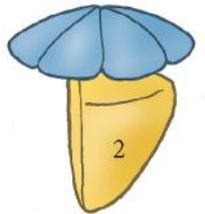
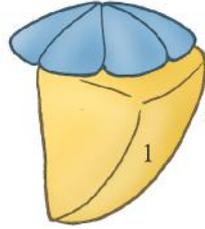
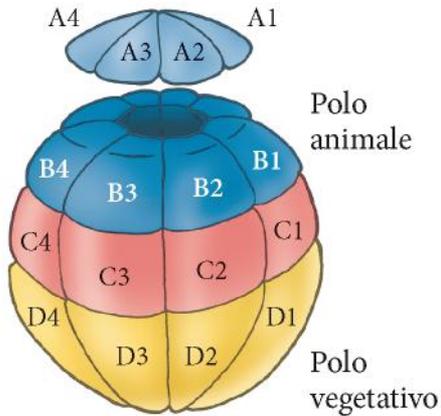


Blastomero vegetativo più dorsale

Lato vegetativo ventrale

Il centro di Nieuwkoop

(B)



Percentuale di induzioni totali

Dorsale	Intermedio	Ventrale
77	23	0
11	61	28
5	45	50
16	42	42

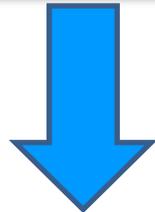


Dale e Slack ricombinarono **singoli blastomeri** vegetativi con la fila superiore di blastomeri animali di un embrione allo stesso stadio.

La cellula vegetativa **più dorsale** induceva le cellule del P-A a diventare **mesoderma dorsale**. Le altre cellule vegetative inducevano le cellule animali a diventare **mesoderma intermedio** o **ventrale**

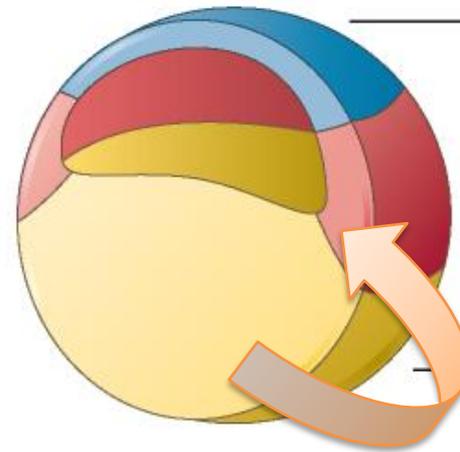


Se le cellule vegetative dorsali inducono le cellule animali a diventare mesoderma dorsale, cosa conferisce alle cellule vegetative dorsali questa proprietà???



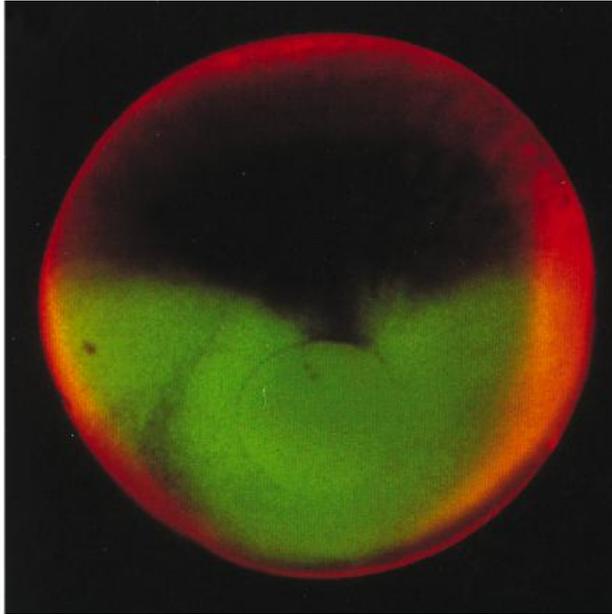
La β -catenina

(A)

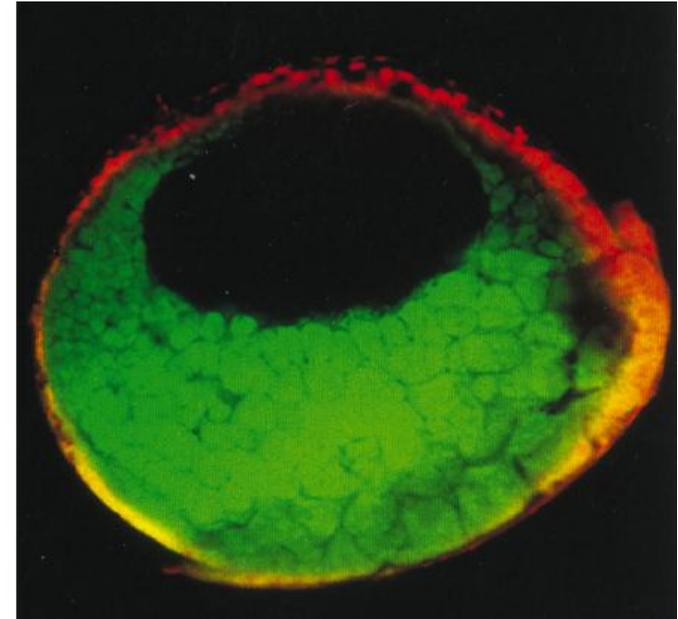


La β -catenina

In *Xenopus* la β -catenina è sintetizzata in tutto l'embrione a partire da mRNA materno e per tutta la segmentazione si accumula di preferenza nel lato dorsale dell'embrione.



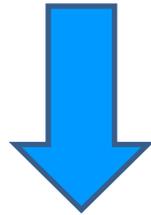
2 blastomeri :
 β -catenina sulla superficie dorsale



La localizzazione dorsale della
 β -catenina perdura nella gastrula

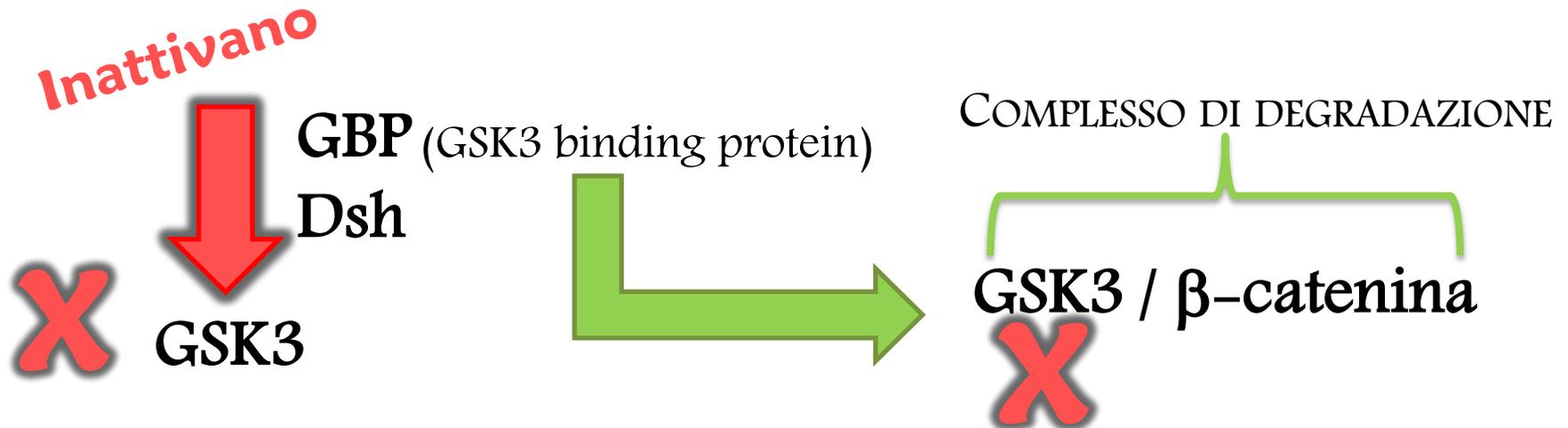
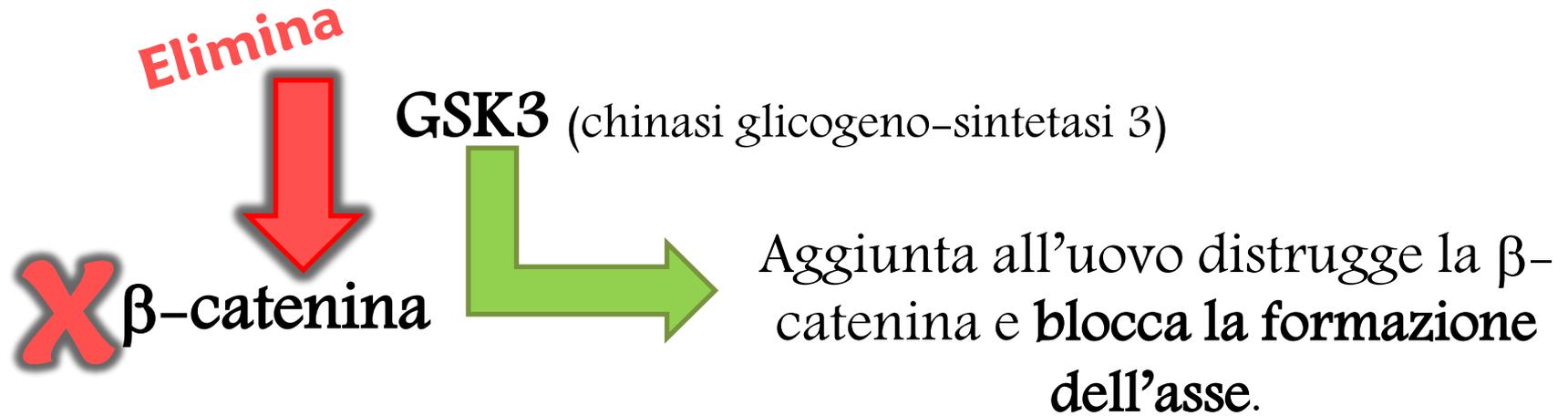
La β -catenina

Se all'origine la β -catenina si trova in tutto l'embrione, come fa come fa a localizzarsi sul lato dorsale, cioè sul lato opposto al sito di ingresso dello spermatozoo???

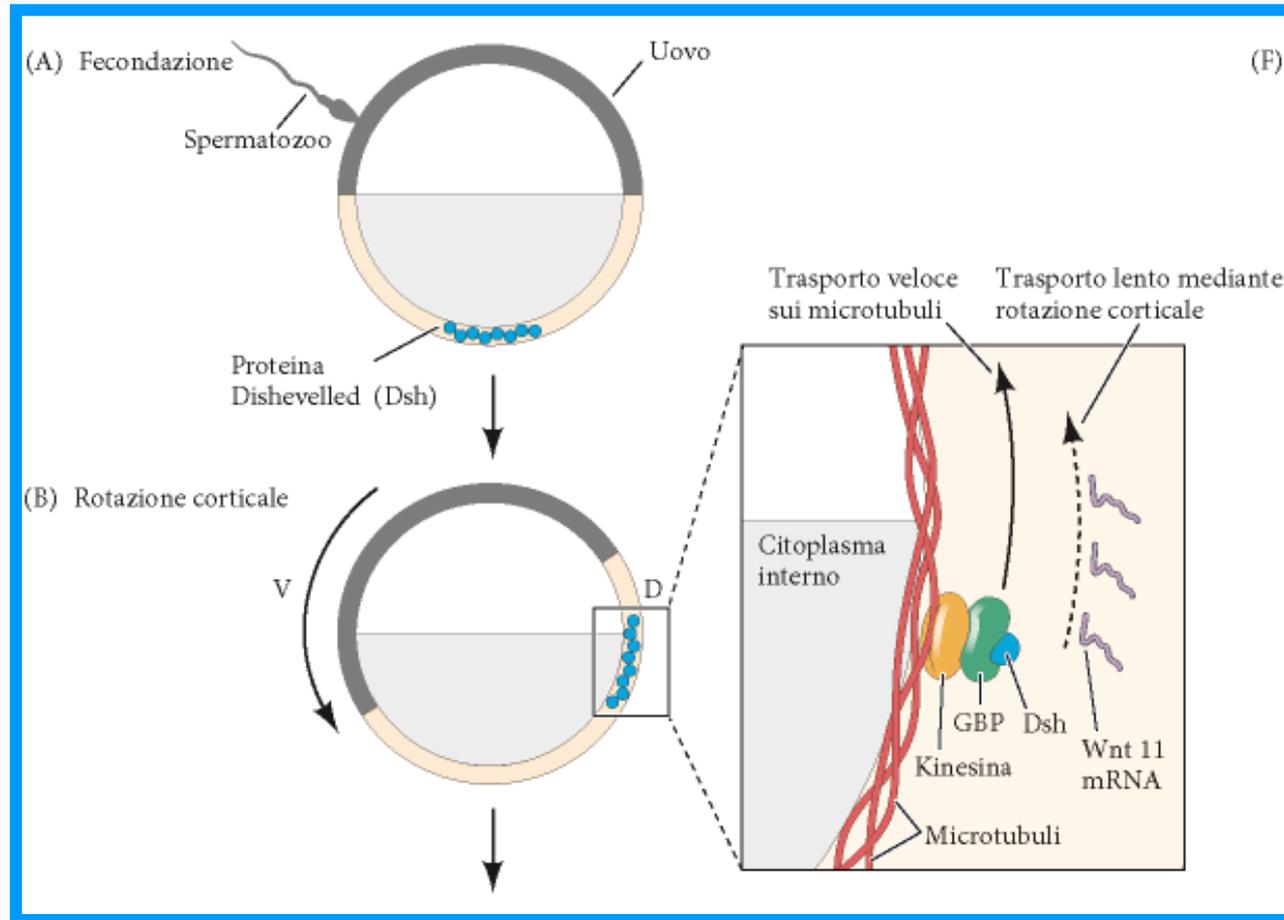


Wnt11 e Dishèvelled (Dsh)
traslocano dal polo vegetativo al
polo dorsale durante la
fecondazione

Il segnale dorsale: la β -catenina

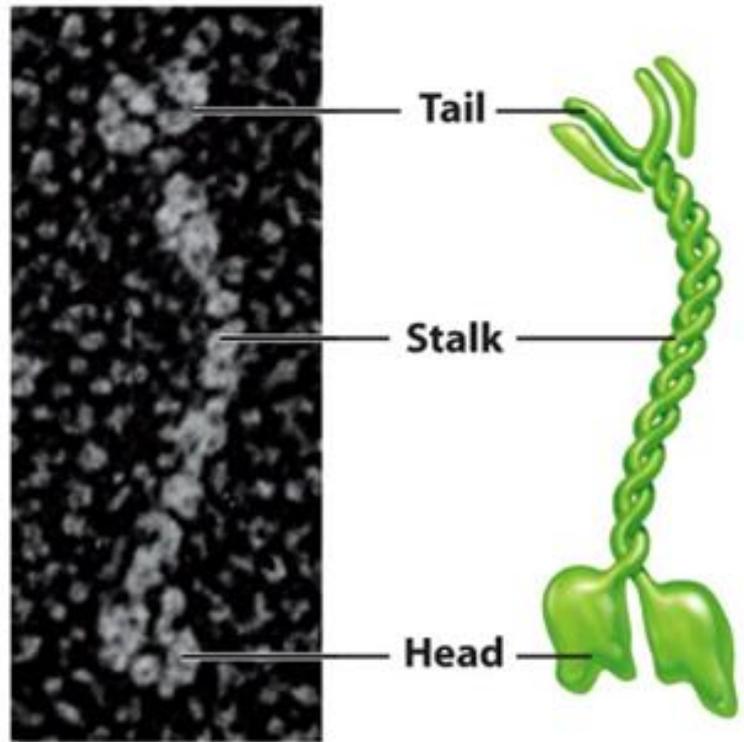


Il segnale dorsale: la β -catenina



Al primo ciclo cellulare, quando i microtubuli formano tratti paralleli nella porzione di citoplasma vegetativo dell'uovo, GBP viaggia sui microtubuli legata alla **chinesina**.

(a) Structure of kinesin



(b) Kinesin "walks" along a microtubule track.

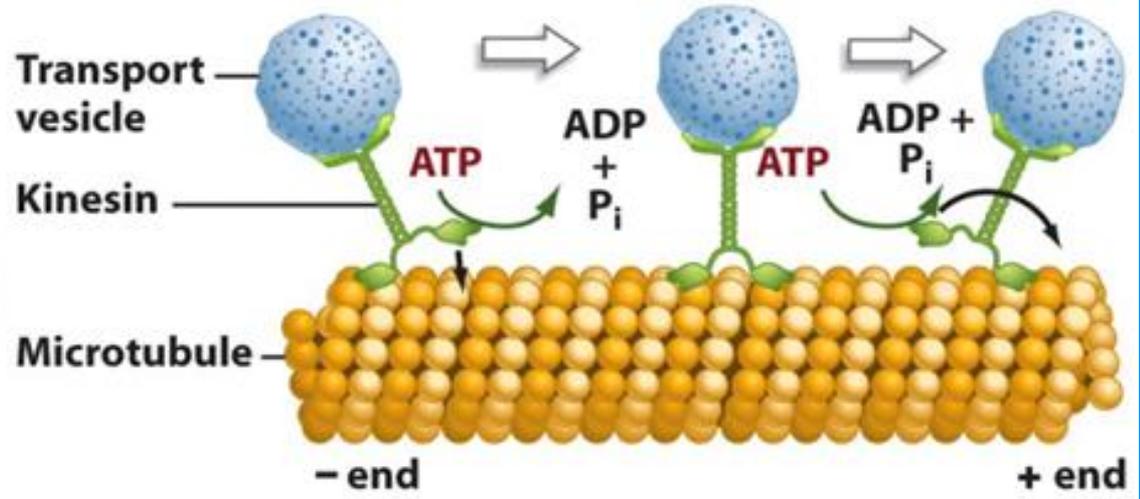
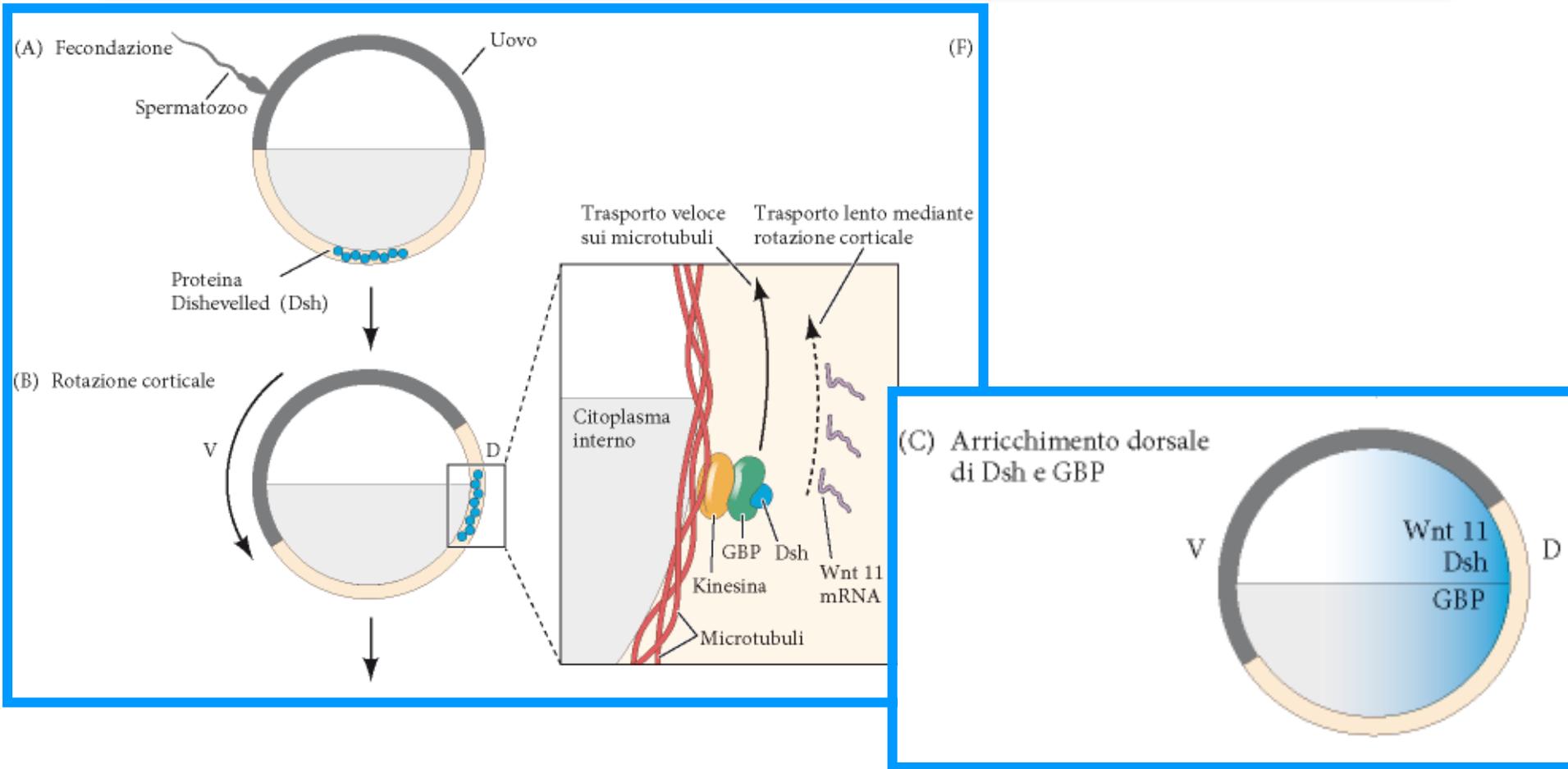


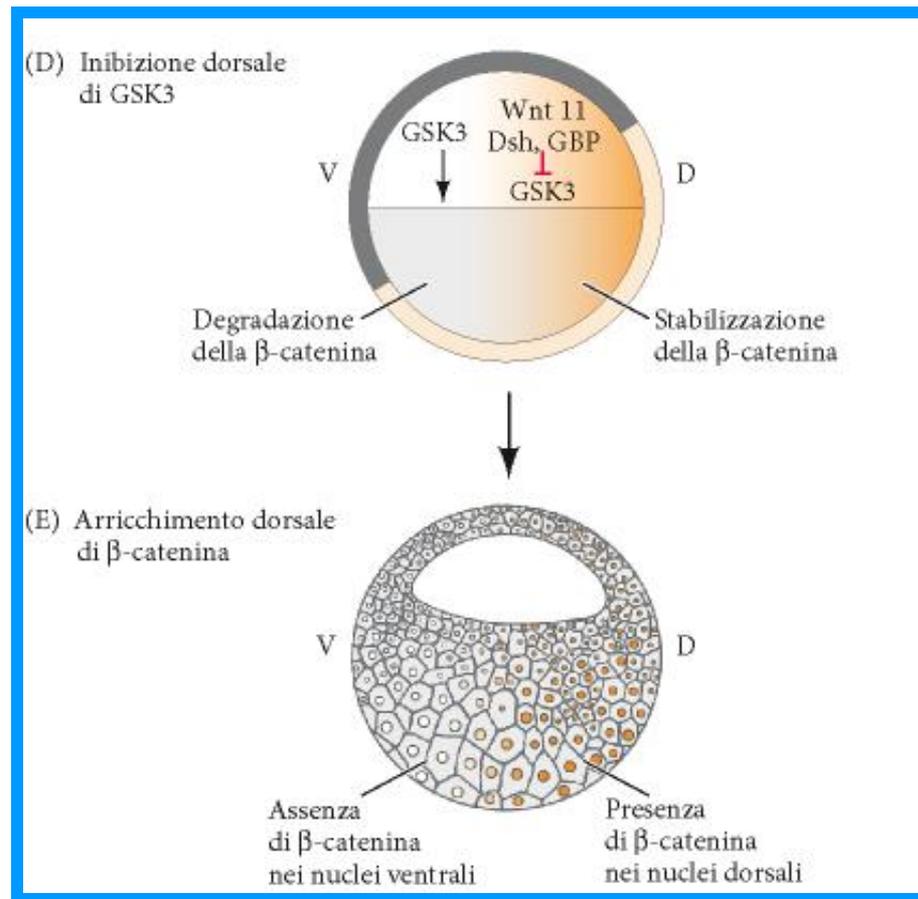
Figure 7-37 Biological Science, 2/e

Il segnale dorsale: la β -catenina



La chinesina viaggia verso l'estremità crescente del microtubulo quindi in questo caso verso il punto opposto all'ingresso dello spermatozoo, quindi **GBP** si muove verso il **futuro lato dorsale**. Anche **Dsh** si aggancia a **GBP** e viene traslocata lungo i microtubuli.

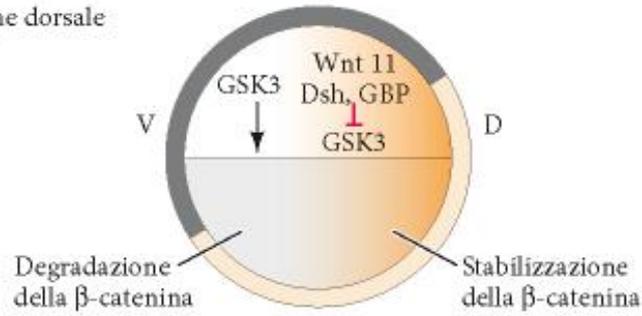
Il segnale dorsale: la β -catenina



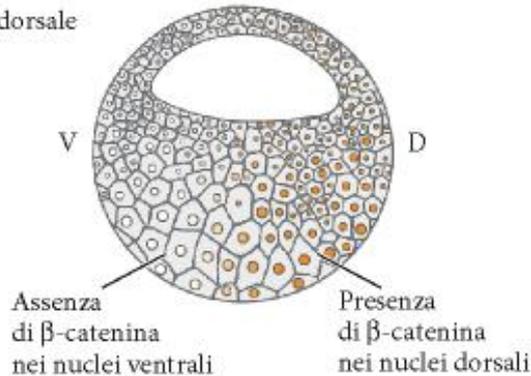
Raggiunto il lato opposto al punto di ingresso dello spz, GPB e Dsh sono rilasciate dai microtubuli. Sul futuro lato dorsale dell'embrione, **inattivano GSK3, permettendo alla β -catenina di accumularsi sul lato dorsale, mentre viene degradata sul lato ventrale.**

Il segnale dorsale: la β -catenina

(D) Inibizione dorsale di GSK3



(E) Arricchimento dorsale di β -catenina



La presenza di Dsh e GBP sul lato dorsale **non sembra sufficiente** a proteggere la β -catenina. Per attivare la via di protezione deve essere secreto in loco un fattore paracrino **Wnt11**.

Soppresso



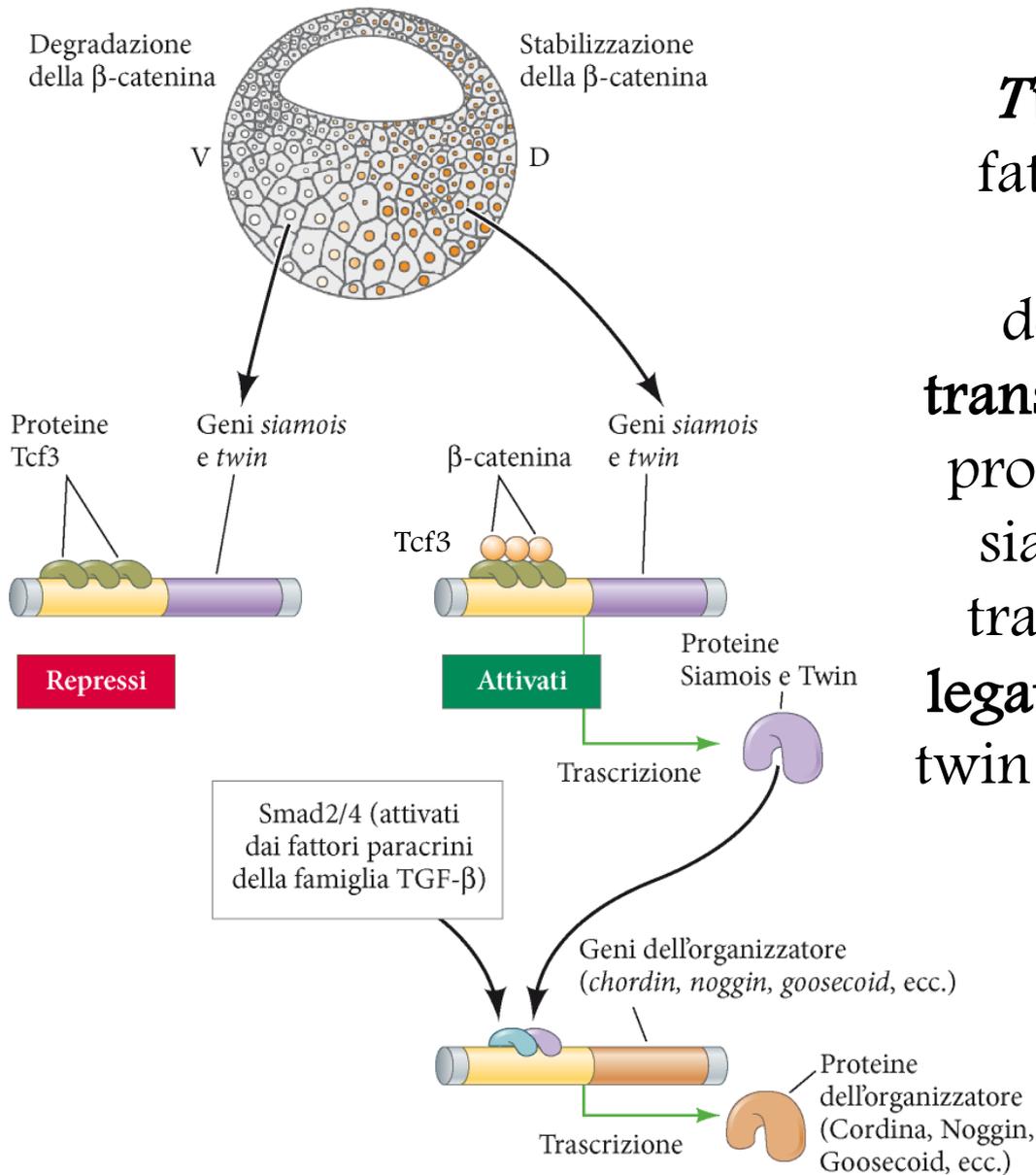
Wnt11



Non si forma l'organizzatore

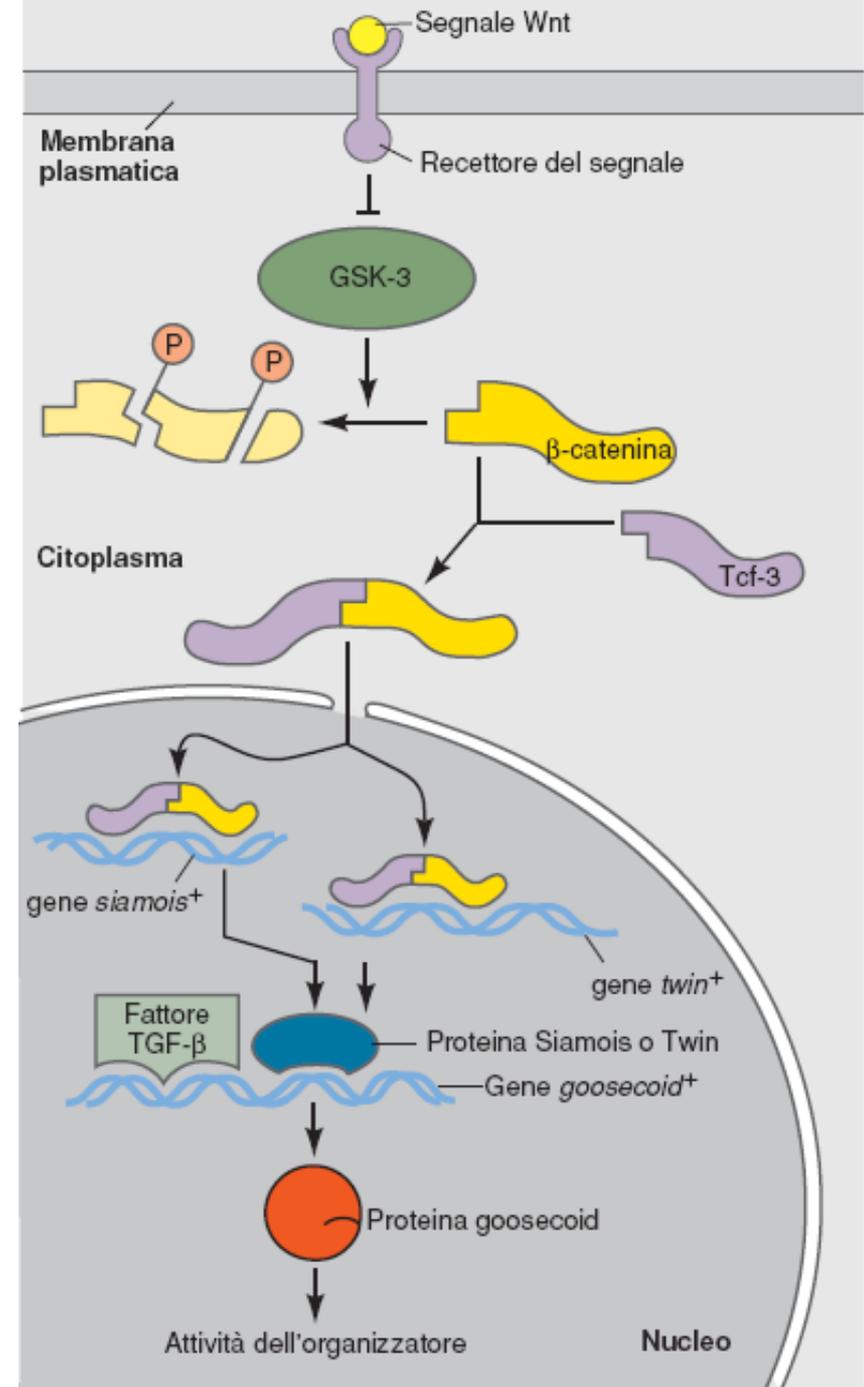
Durante l'ovogenesi, l'mRNA di Wnt11 è localizzato **nella regione corticale vegetativa**, sarà spostato nella regione dorsale dalla rotazione corticale.

Il segnale dorsale: la β -catenina

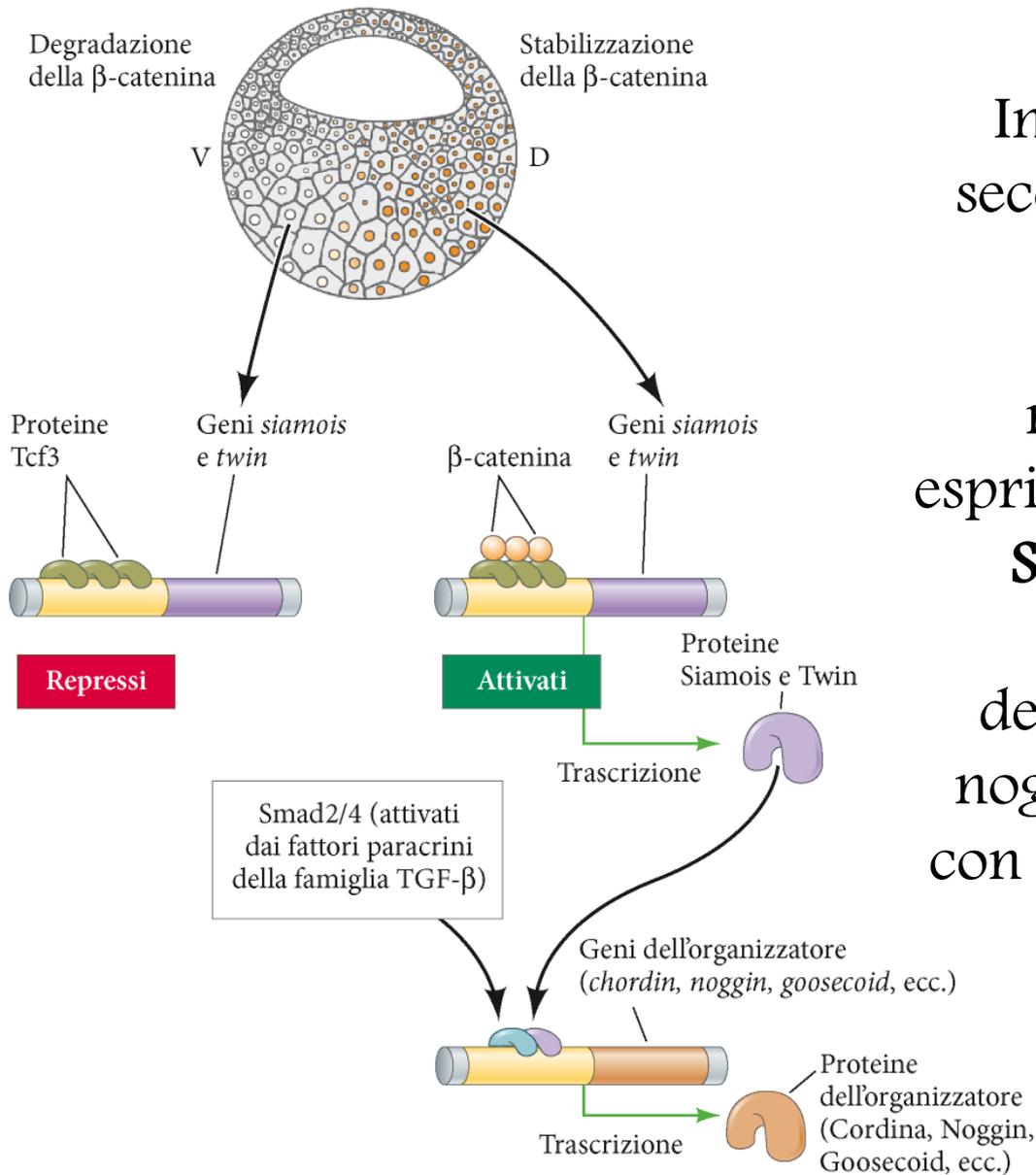


Twin e *siamois* codificano fattori di trascrizione e sono espressi nella regione dell'organizzatore dopo la transizione di medio blastula. La proteina Tcf3 interagendo con *siamois* e *twin* ne inibisce la trascrizione. Se invece Tcf3 è legato alla β -catenina, *siamois* e *twin* vengono attivati stimolando la trascrizione dei geni dell'organizzatore.

La **GSK-3** agisce dunque **degradando** la **β -catenina** mediante la fosforilazione della serina e della treonina. La β -catenina citoplasmatica non degradata **si associa** al fattore di trascrizione **Tcf-3** e si accumula nei nuclei dove il complesso risulta stabile. Dopo lo stadio di transizione di blastula intermedia il complesso formato dalla β -catenina e dal Tcf-3 **attiva** la trascrizione dei geni *Siamois* e *twin* strettamente correlati con l'attività dell'organizzatore. I blastomeri in cui questi due geni sono coespressi costituiscono il centro di Nieuwkoop.



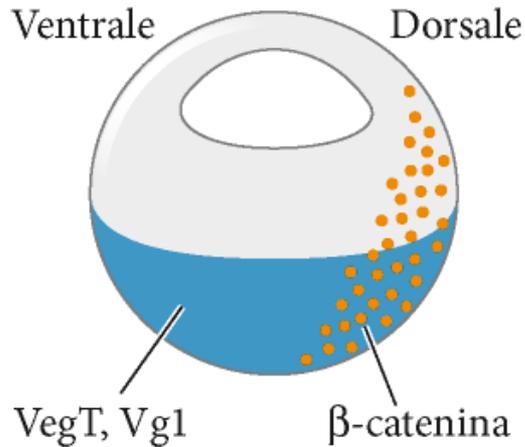
Il segnale dorsale: la β -catenina



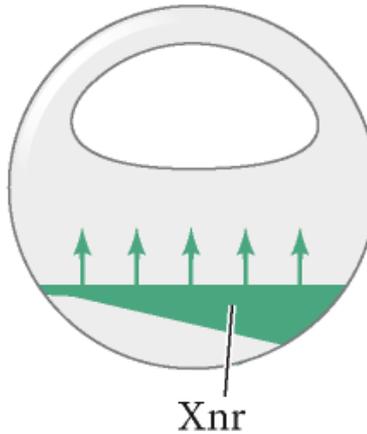
Inoltre le cellule vegetative secernono fattori paracrini della famiglia del TGF- β che stimolano le cellule mesodermiche dorsali a esprimere i fattori di trascrizione **Smad2/4** che legandosi al promotore dei geni dell'organizzatore (*chordin*, *noggin*, *goosecoid*) cooperano con *twin* e *siamois* nell'attivarli.

TGF β : il segnale del polo vegetativo

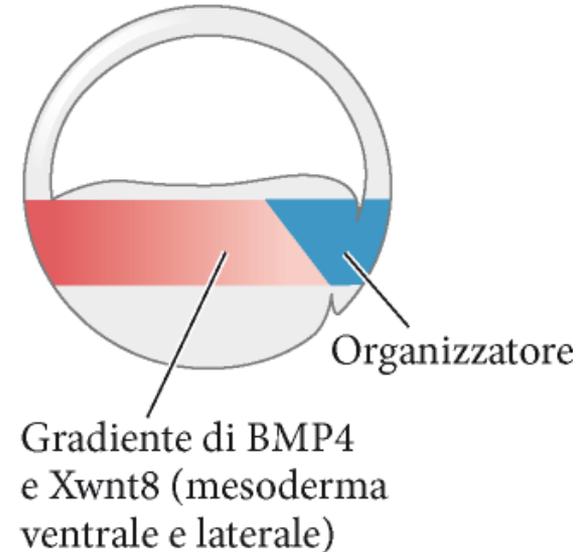
(B) Stadio 8



(C) Stadio 9



(D) Stadio 10

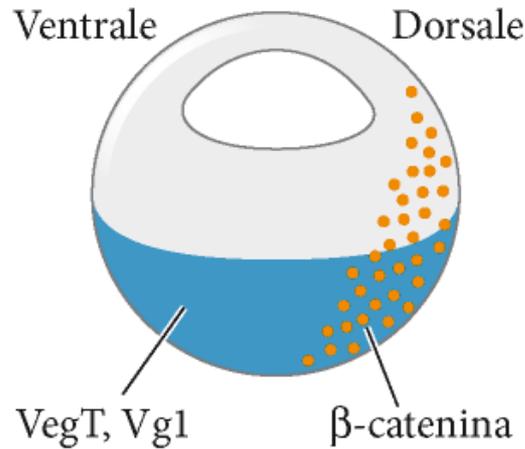


Il segnale simile a TGF- β proveniente dall'endoderma è cruciale per l'induzione del mesoderma; inoltre anche la **quantità** del segnale può controllare il tipo di mesoderma indotto.

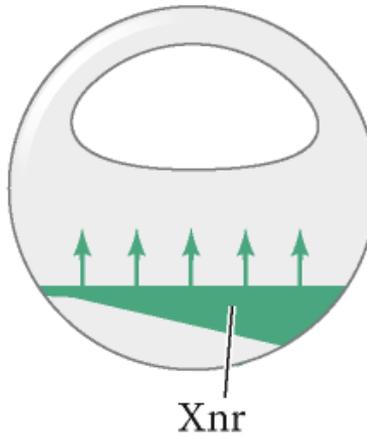
VegT istruisce l'endoderma a sintetizzare i membri del TGF- β (tra cui Nodal)

TGF β : il segnale del polo vegetativo

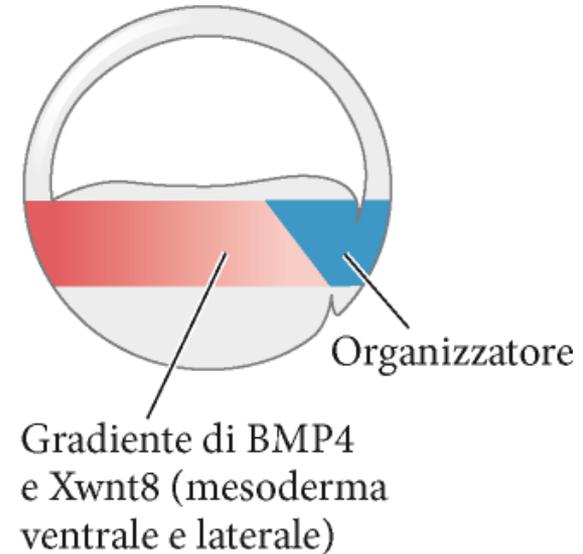
(B) Stadio 8



(C) Stadio 9



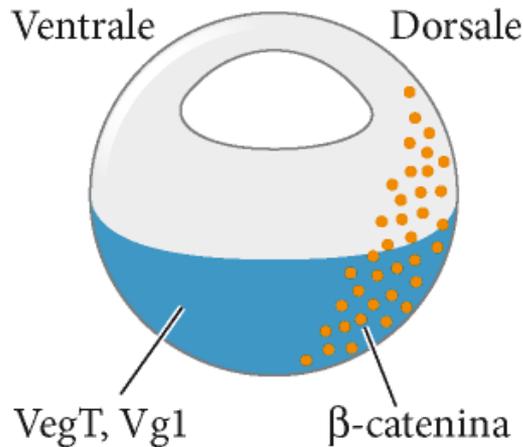
(D) Stadio 10



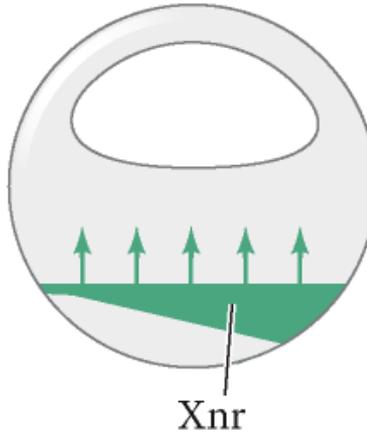
È stato ipotizzato un modello in cui i segnali della β -catenina nella regione dorsale e di Vg1 nella regione vegetativa **interagiscono** per formare **un gradiente di proteine correlate a Nodal (Xnr)**. Le regioni con poca proteina correlata a Nodal inducono le cellule sovrastanti a diventare mesoderma ventrale, le regioni con modeste quantità di proteina correlata a Nodal, daranno origine a mesoderma laterale; le regioni con una grande quantità di queste proteine, insieme a vgl, diventano l'organizzatore.

TGF β : il segnale del polo vegetativo

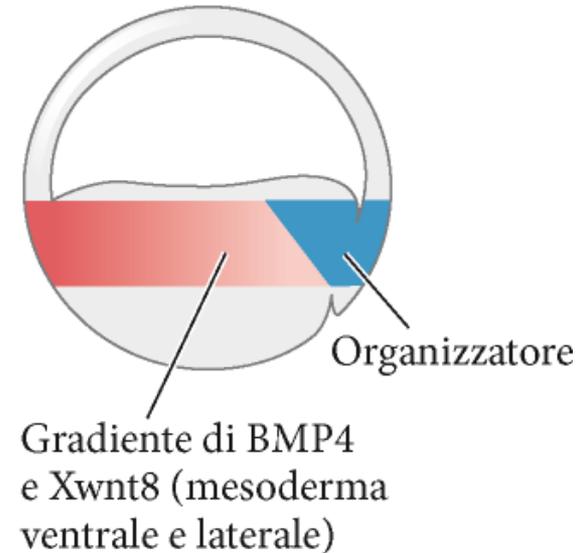
(B) Stadio 8



(C) Stadio 9



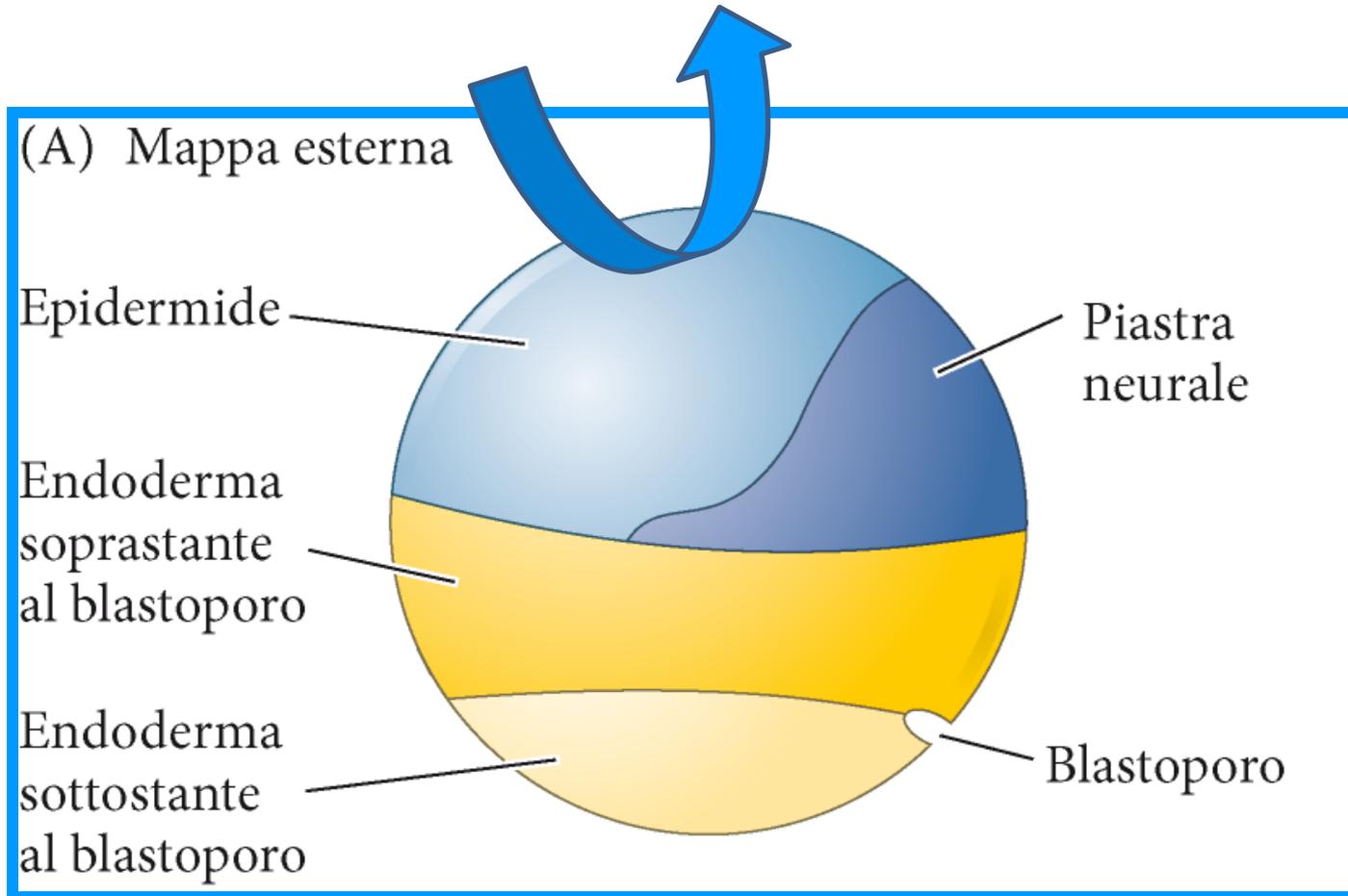
(D) Stadio 10



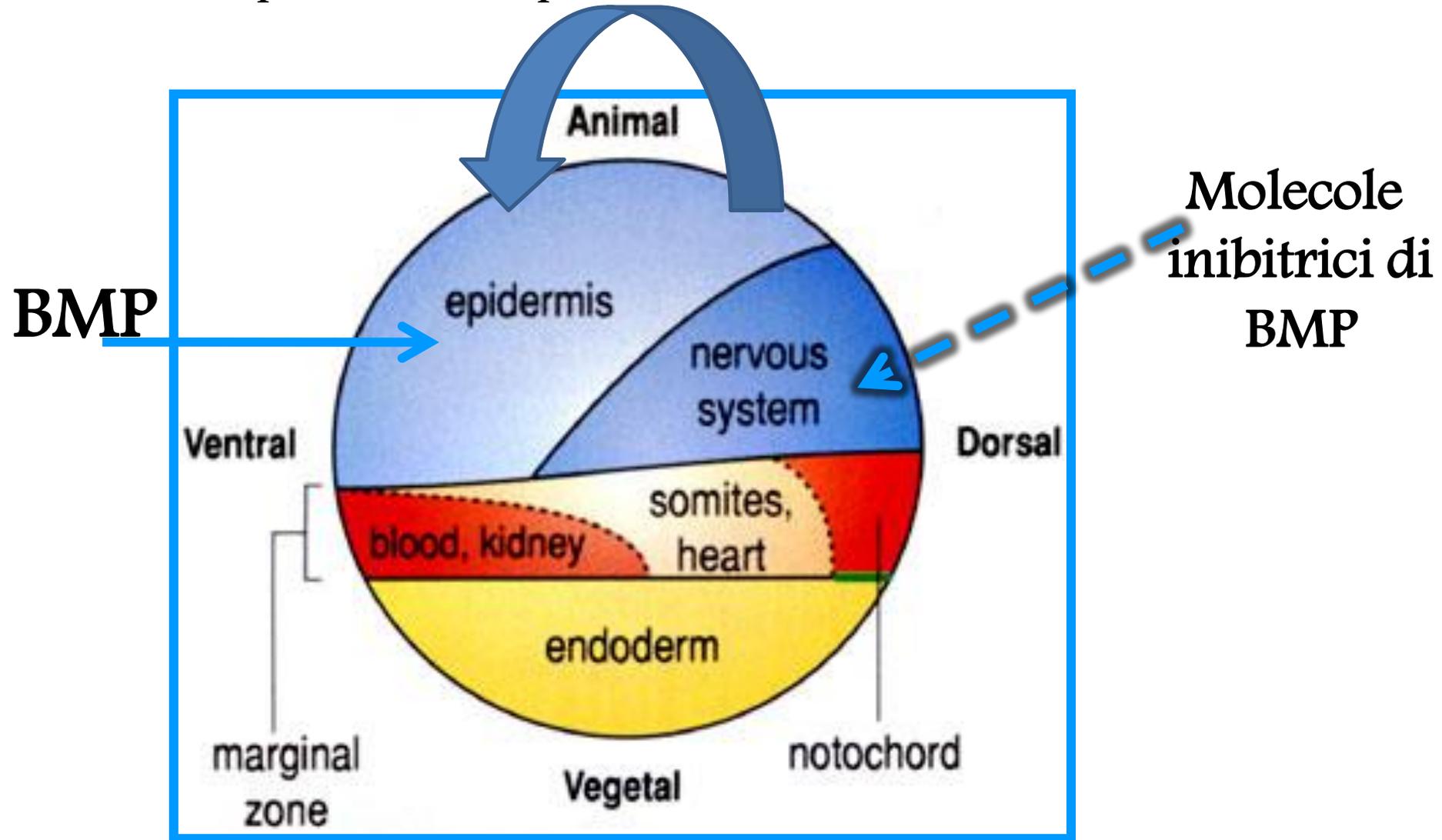
La regione con la più alta concentrazione di questi fattori può fornire il segnale vegetativo per la specificazione del mesoderma dorsale, quindi dell'organizzatore, soprattutto quando è combinato con il segnale dorsale della β -catenina.

Induzione dell'ectoderma neurale

L'epidermide è indotta a formarsi, NON il tessuto nervoso



L'ectoderma è indotto a diventare **epidermide** legandosi alle **proteina morfogenetiche dell'osso (BMP)**, mentre il sistema nervoso si forma da quella regione dell'ectoderma che viene protetta dalla induzione a epidermide da parte delle molecole inibitrici delle BMP



Induzione dell'ectoderma neurale

L'ectoderma dunque di base è destinato a diventare tessuto neurale

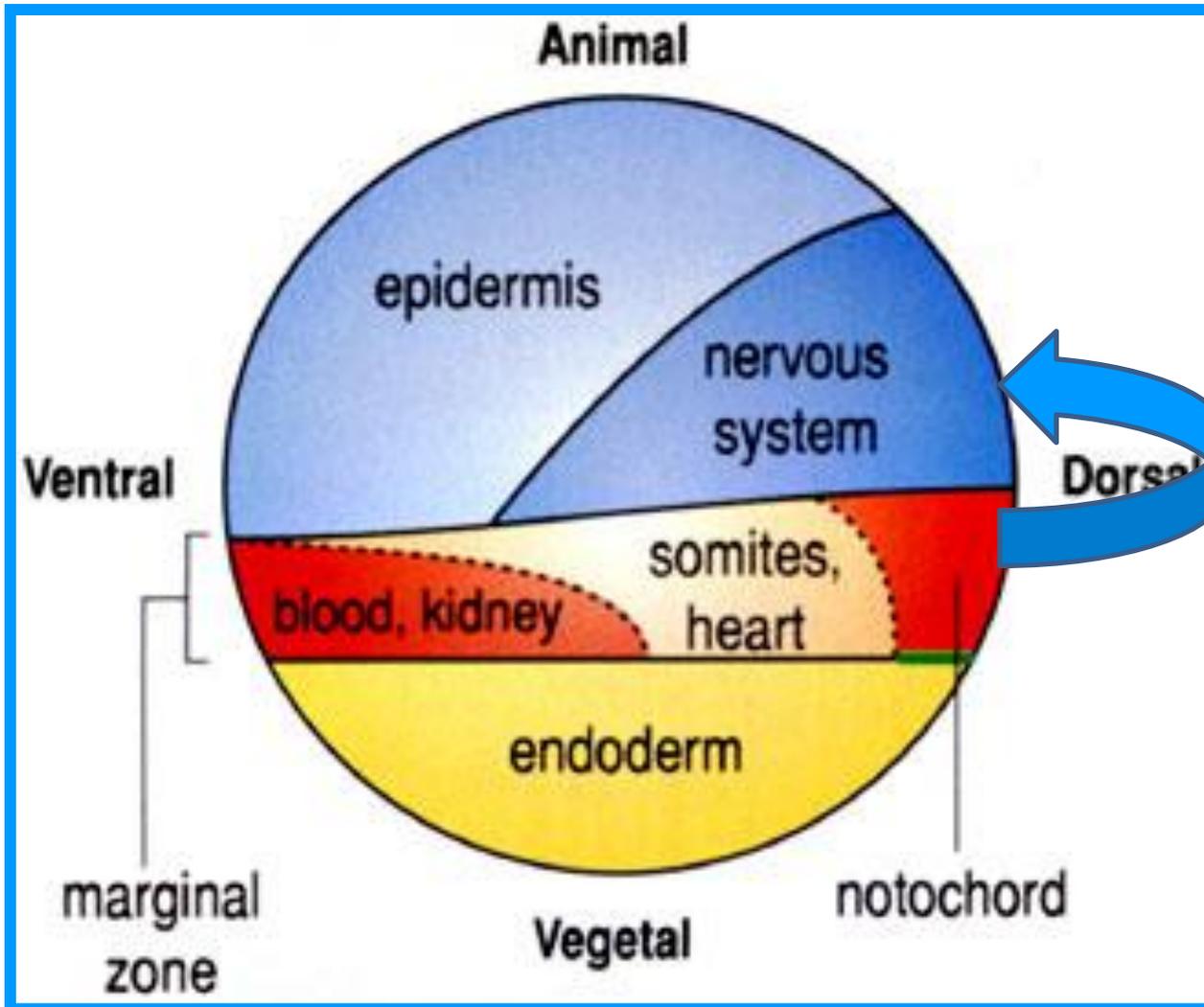


Alcune parti dell'embrione
inducono l'ectoderma a
diventare epidermide
mediante **secrezione di**
BMP



L'organizzatore secerne
molecole che bloccano le
BMP consentendo
all'ectoderma di diventare
tessuto neurale

Induzione dell'ectoderma neurale: inibizione delle BMP



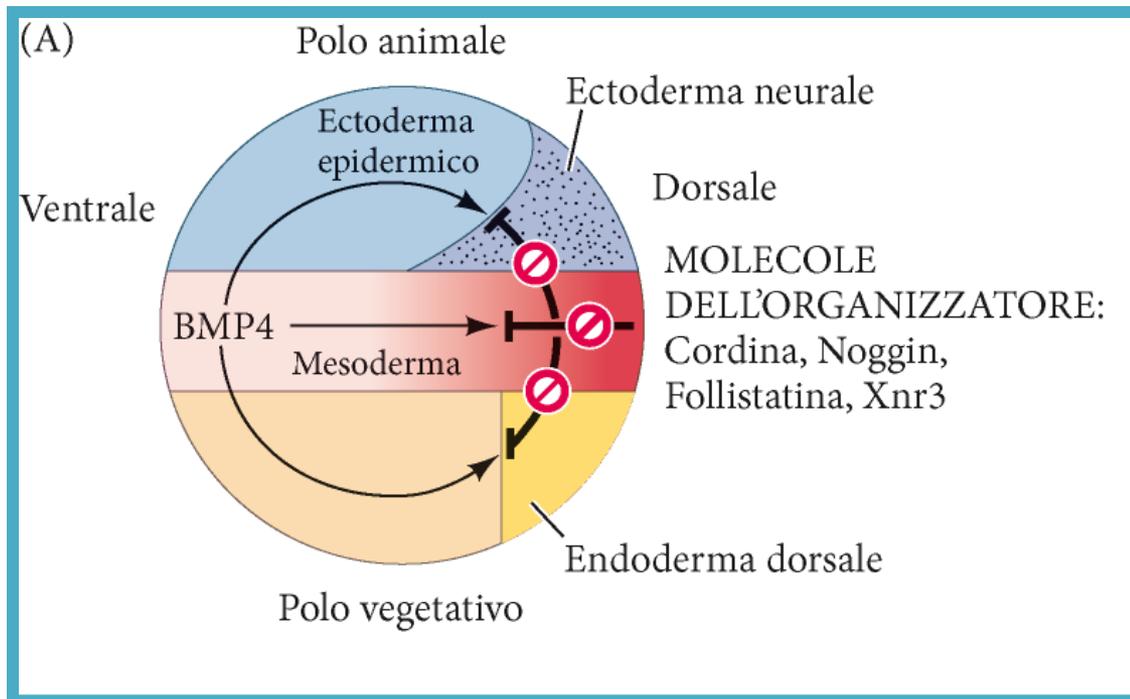
Noggin
Cordina
Follistatina

Attivati da
Smad2/4 e
Siamois/Twin

Induttori epidermici: BMP

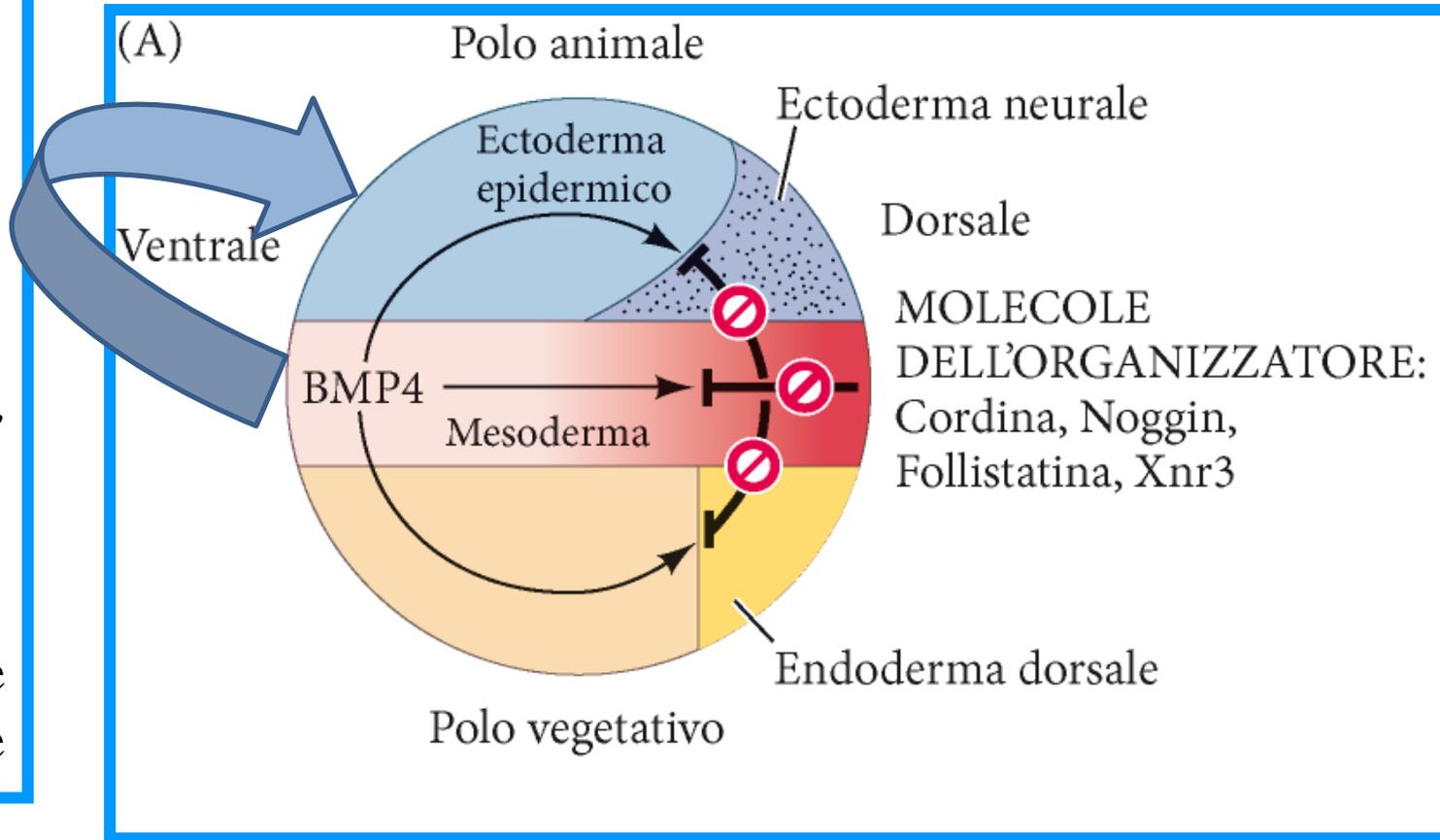
Gli induttori dell'epidermide sono la proteina morfogenetica dell'osso BMP4 e i suoi affini BMP2, BMP7 e ADMP (anti-dorsalizing morphogenetic protein).

Inizialmente BMP è espressa in **tutta** la regione ectodermica e **mesodermica** della blastula avanzata. Nel corso della **gastrulazione** gli mRNA di BMP4 sono **limitati** alla zona marginale **ventro-laterale**.



Induttori epidermici: BMP

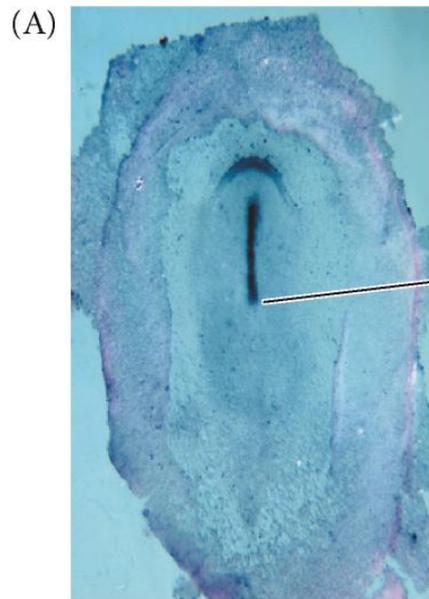
Le proteine BMP reprimono i geni coinvolti nella formazione del tessuto neurale, attivano altri geni coinvolti nella determinazione dell'epidermide



L'epidermide è quindi istruita dal segnale BMP e l'organizzatore agisce bloccando il segnale BMP, impedendo che raggiunga l'ectoderma sovrastante

Negli uccelli

Anche negli uccelli, come in tutti i vertebrati, il **mesoderma dorsale** è in grado di indurre la formazione del **sistema nervoso centrale** nell'ectoderma che lo riveste. Le cellule del **nodo di Hensen** e i suoi derivati agiscono come l'organizzatore degli anfibi, secernendo **proteine antagoniste della BMP** quali cordina, Noggin e Nodal. Queste proteine reprimono il segnale BMP e dorsalizzano ectoderma e mesoderma.



Noggin

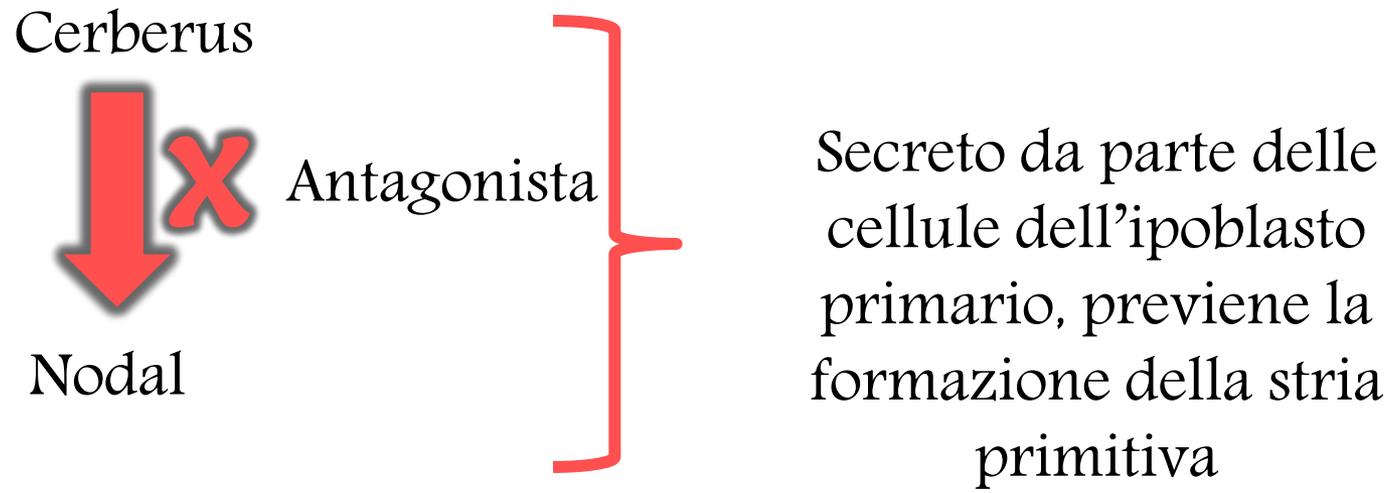
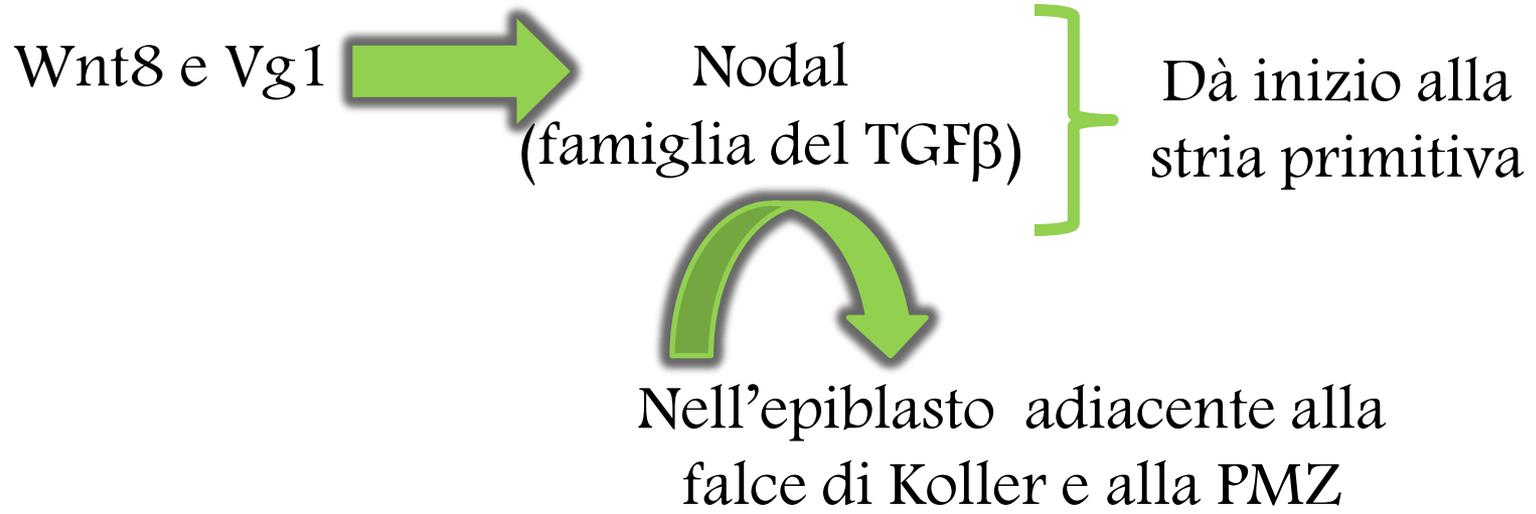
Nella notocorda e
nell'endoderma

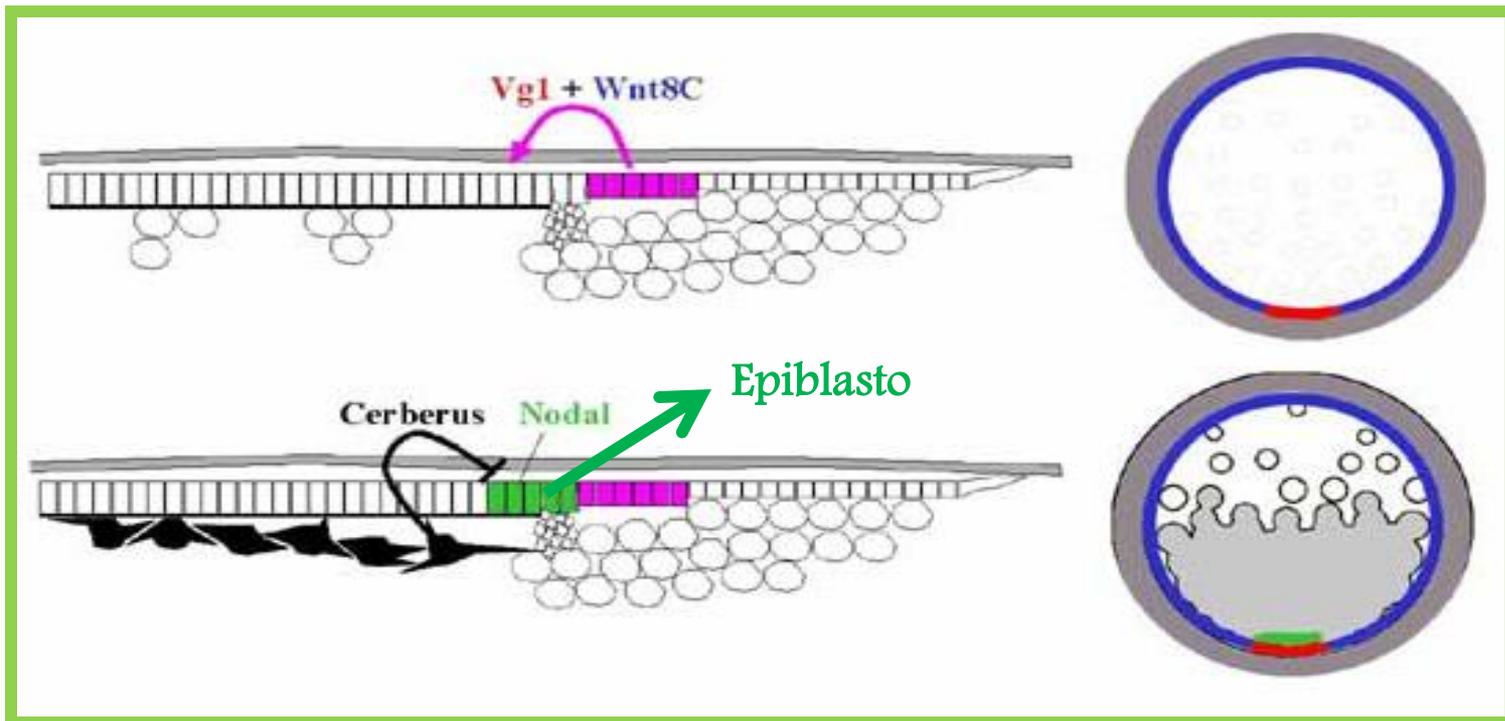
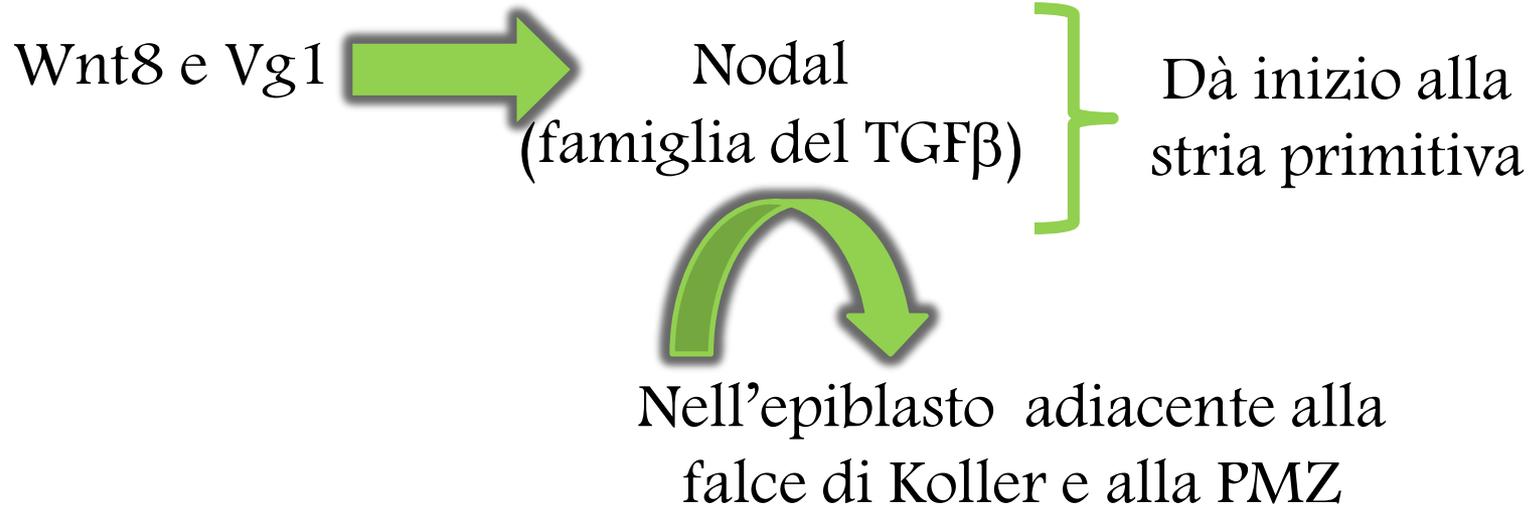


BMP7

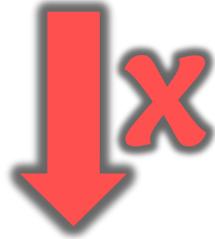
Nelle regioni non
neurali

L'asse antero-posteriore negli uccelli





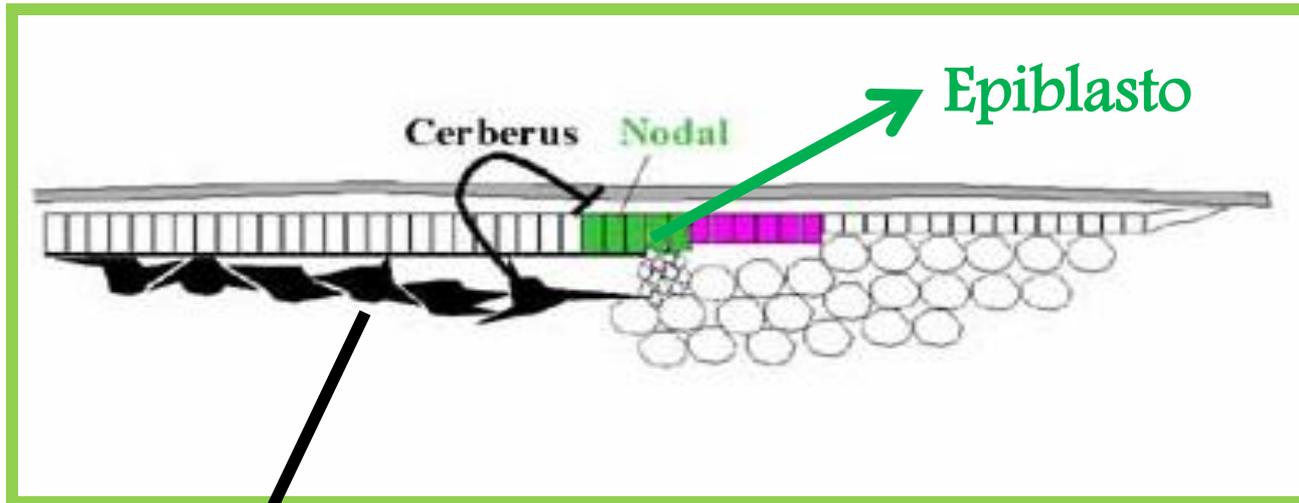
Cerberus



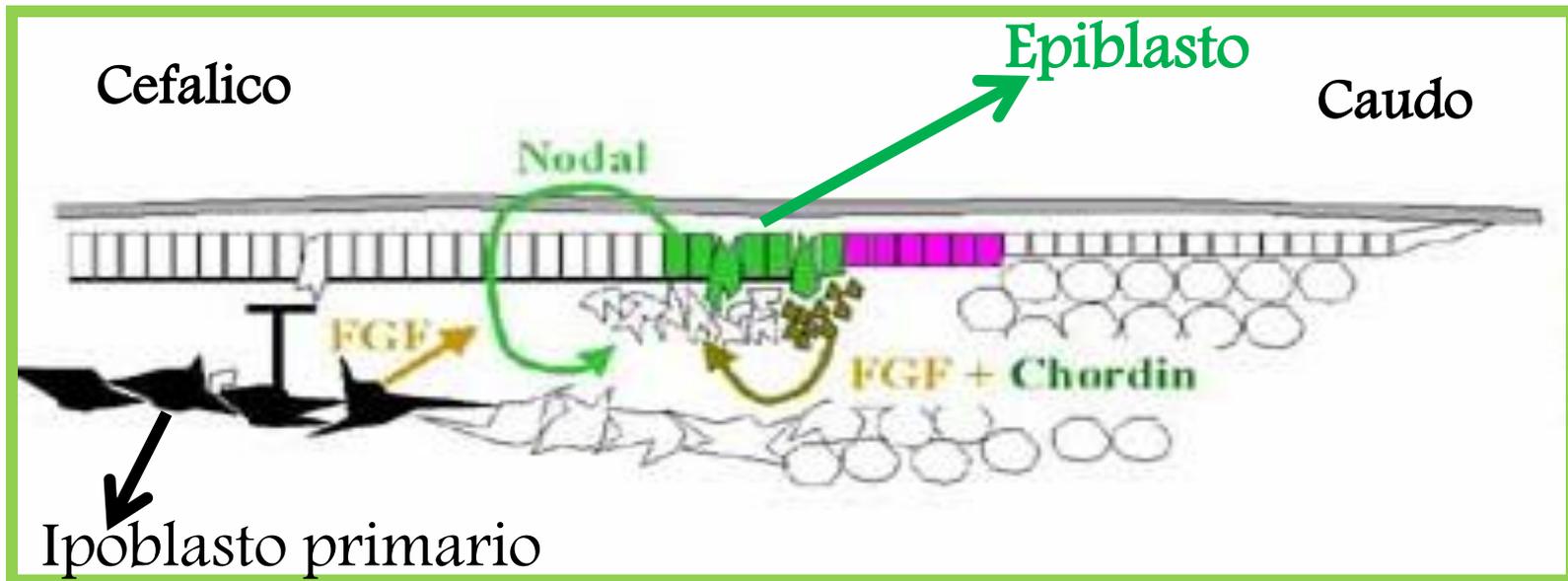
Nodal

Antagonista

Secreto da parte delle cellule dell'ipoblasto primario, previene la formazione della stria primitiva



Ipoblasto primario



Appena le cellule dell'ipoblasto primario si allontanano dalla PMZ, la proteina **Cerberus** non è più presente, permettendo l'attività di **Nodal** e quindi la formazione della **stria primitiva** nell'epiblasto posteriore.

Appena formata, la stria primitiva secreta il proprio antagonista, **Lefty**, evitando così la formazione di altre strie primitive.

Le cellule dell'ipoblasto che secernono **Cerberus**, sono spinte verso la regione **anteriore** dell'embrione, dove contribuiscono a garantire che le cellule neurali di questa regione diventino strutture anteriori (prosencefalo) piuttosto che strutture più posteriori del SNC

