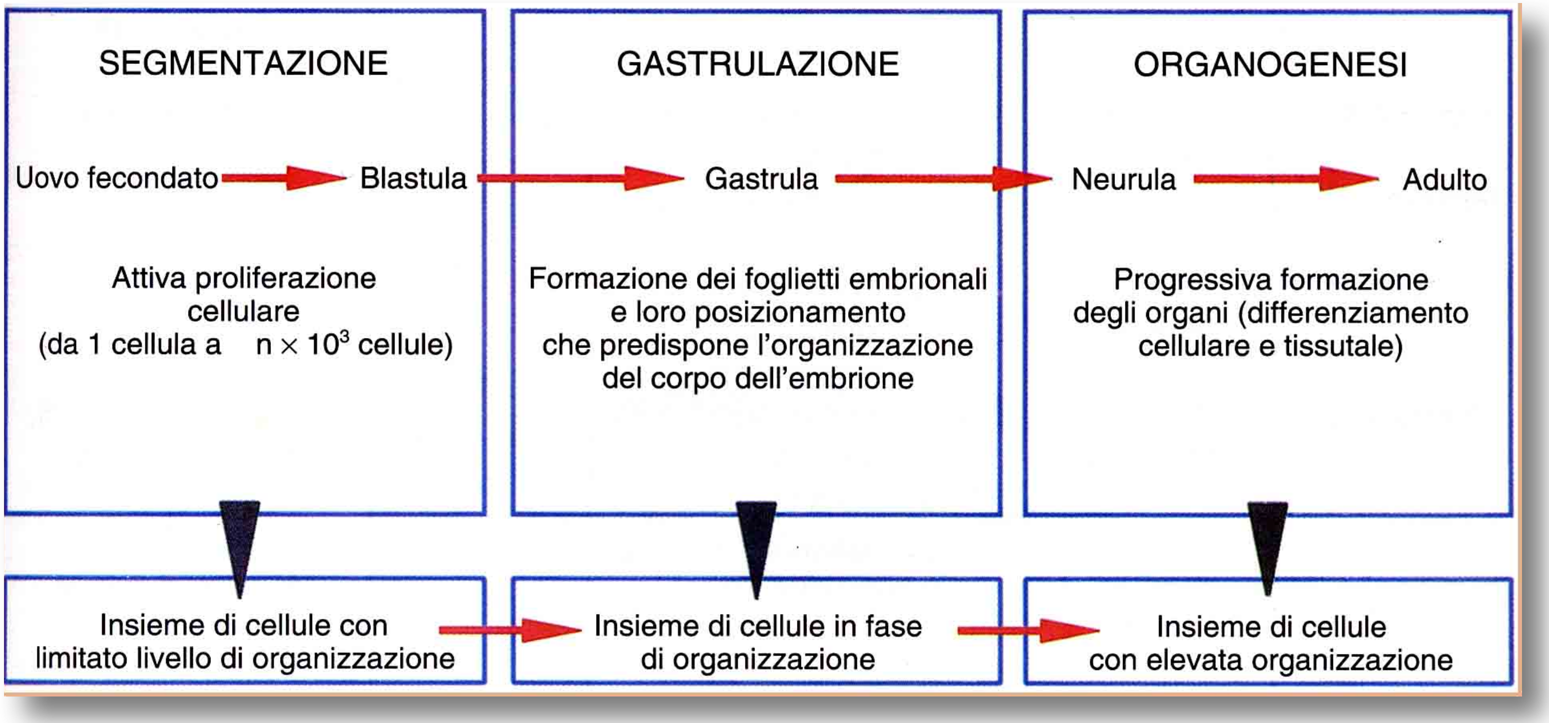
SVILUPPO EMBRIONALE

Prevede processi quali:



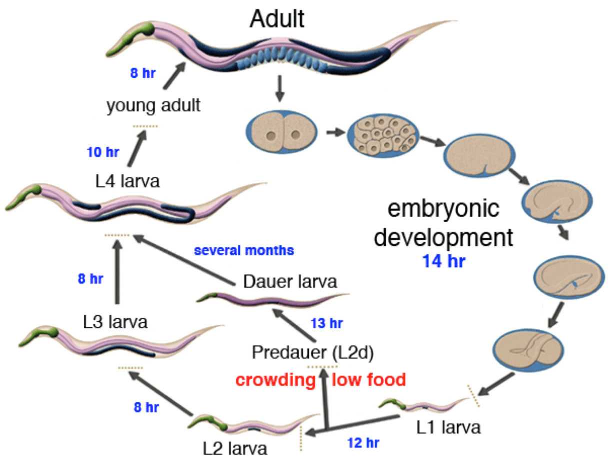
...ed è regolato dall'azione di:

Geni materni → Geni "*Master*" regolatori → Geni esecutori

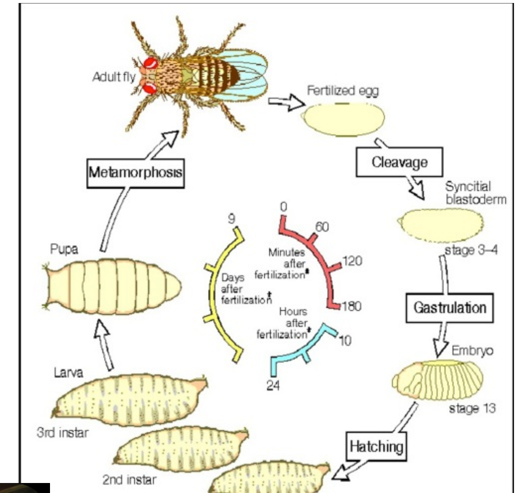
SVILUPPO EMBRIONALE

Modelli sperimentali

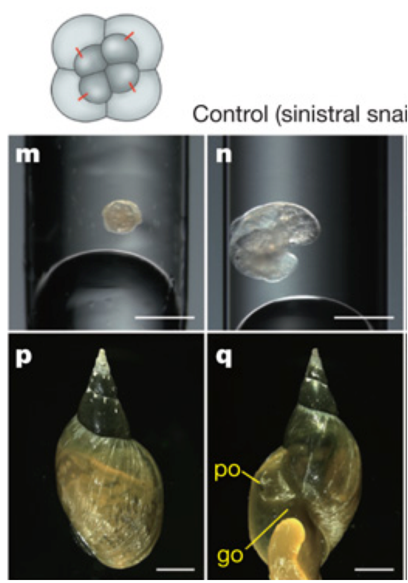
Invertebrati



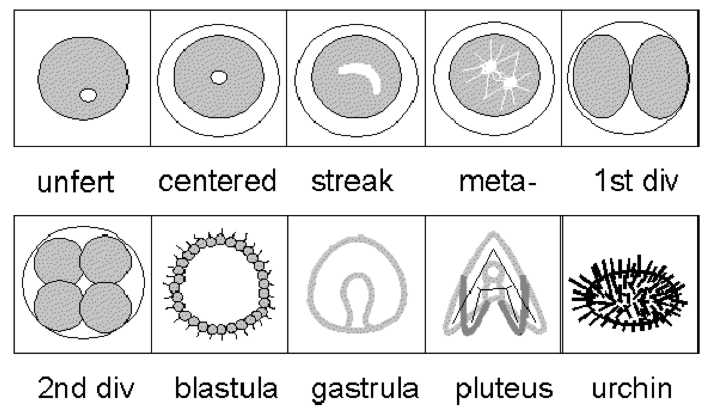
Chaenorabditis elegans



Drosophila melanogaster



Gasteropodi

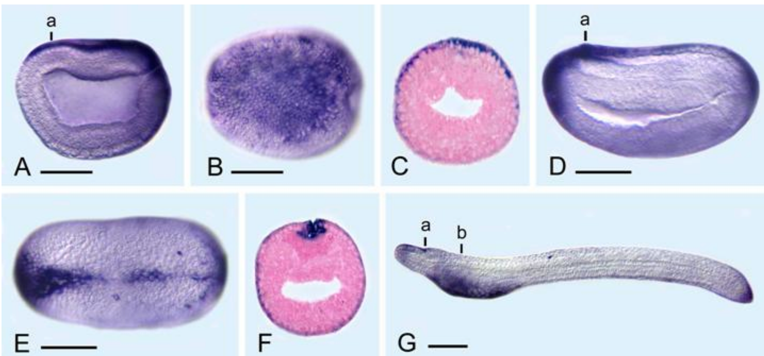


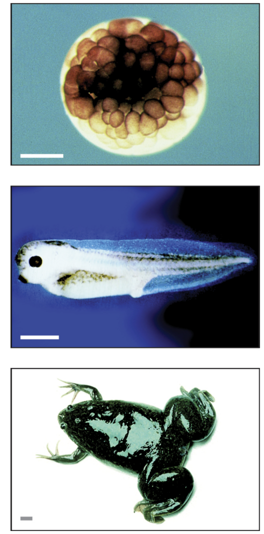
Riccio di mare

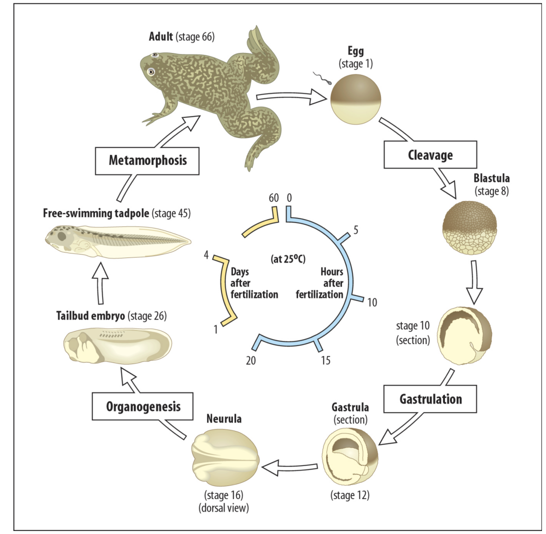
SVILUPPO EMBRIONALE

Modelli sperimentali

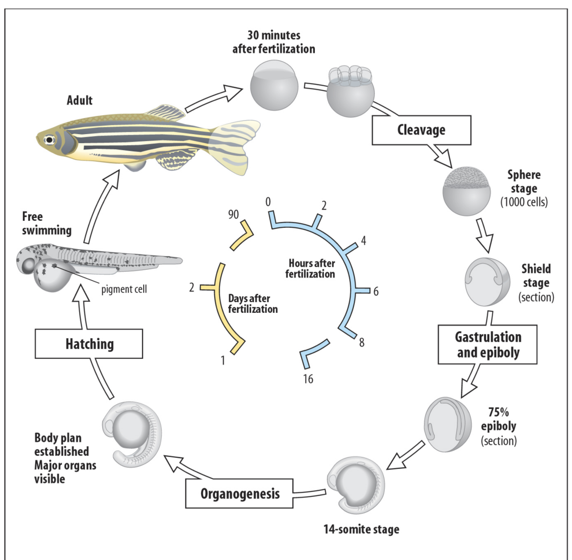
Anfiosso

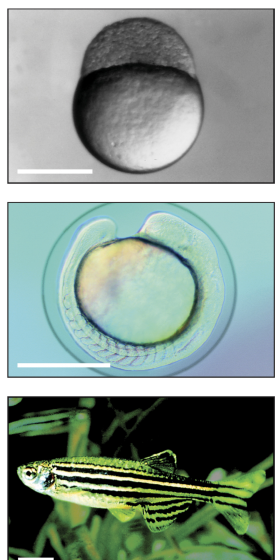




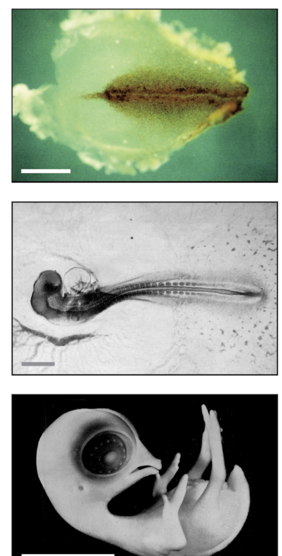


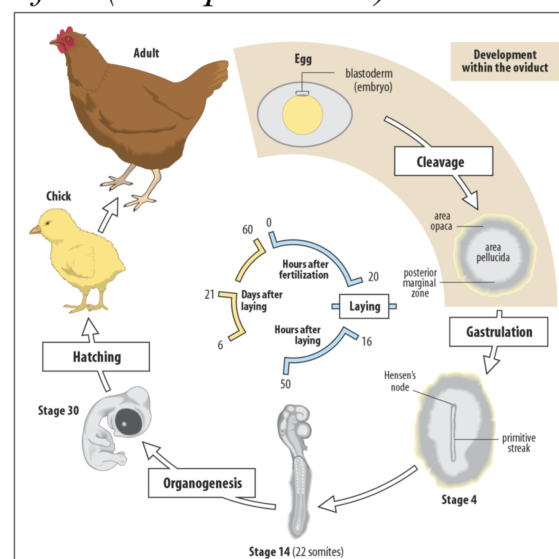
Anfibi (Xenopus laevis)





Pesci (zebrafish)

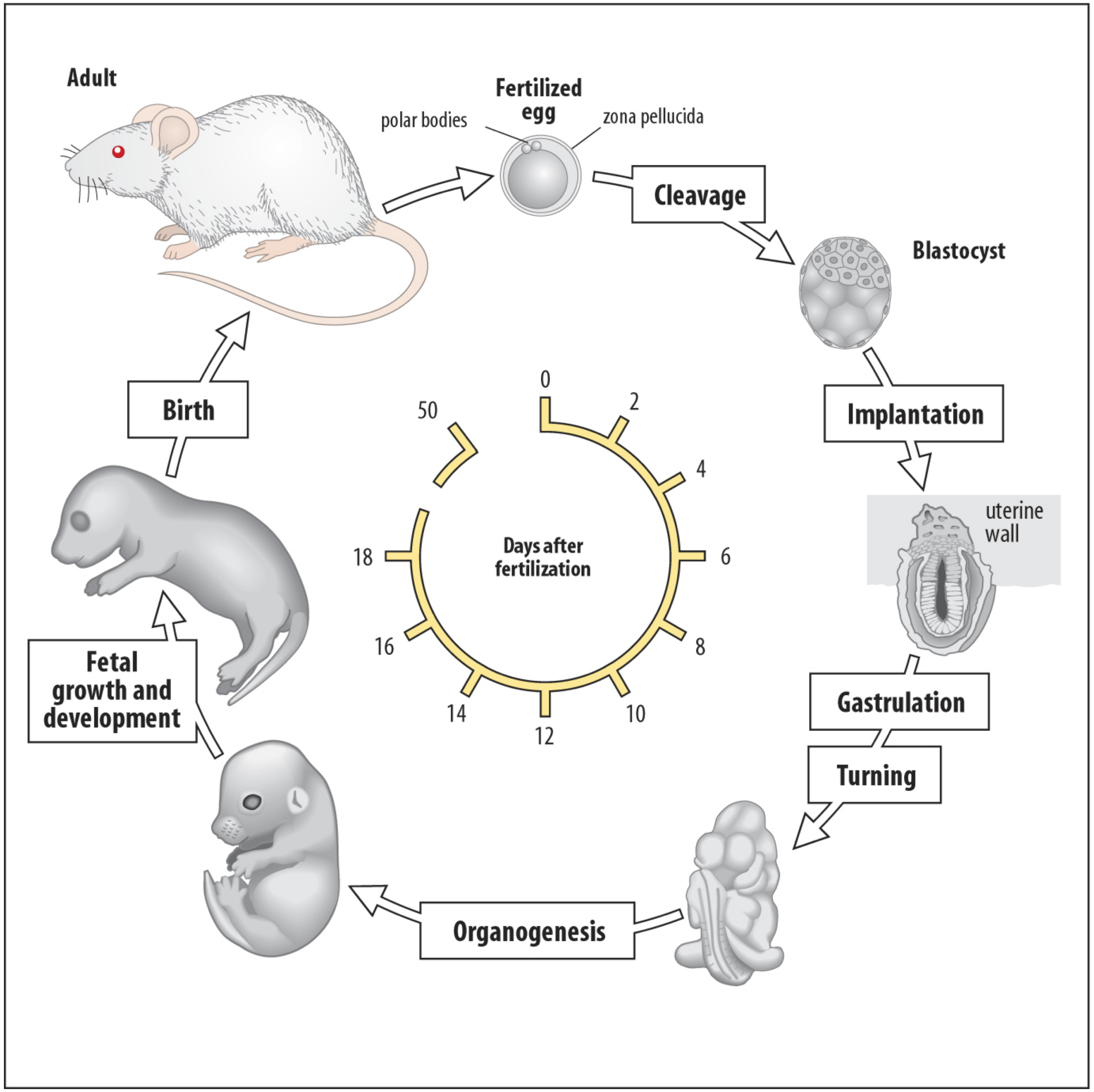


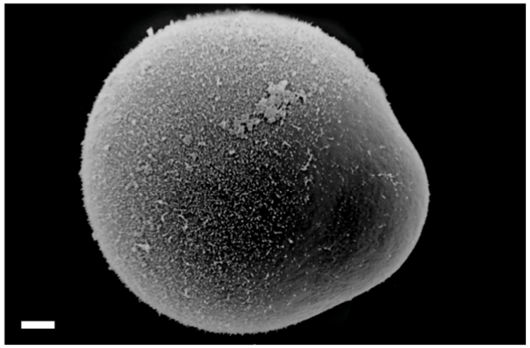


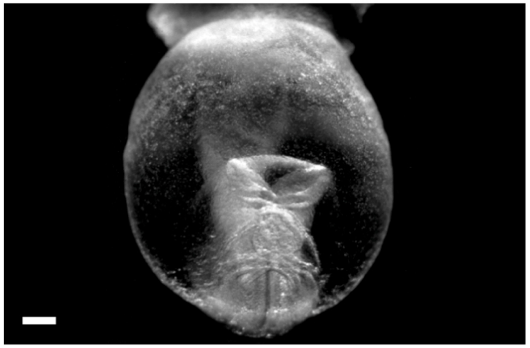
Uccelli (e rettili) (Gallus gallus)

SVILUPPO EMBRIONALE

Modelli sperimentali



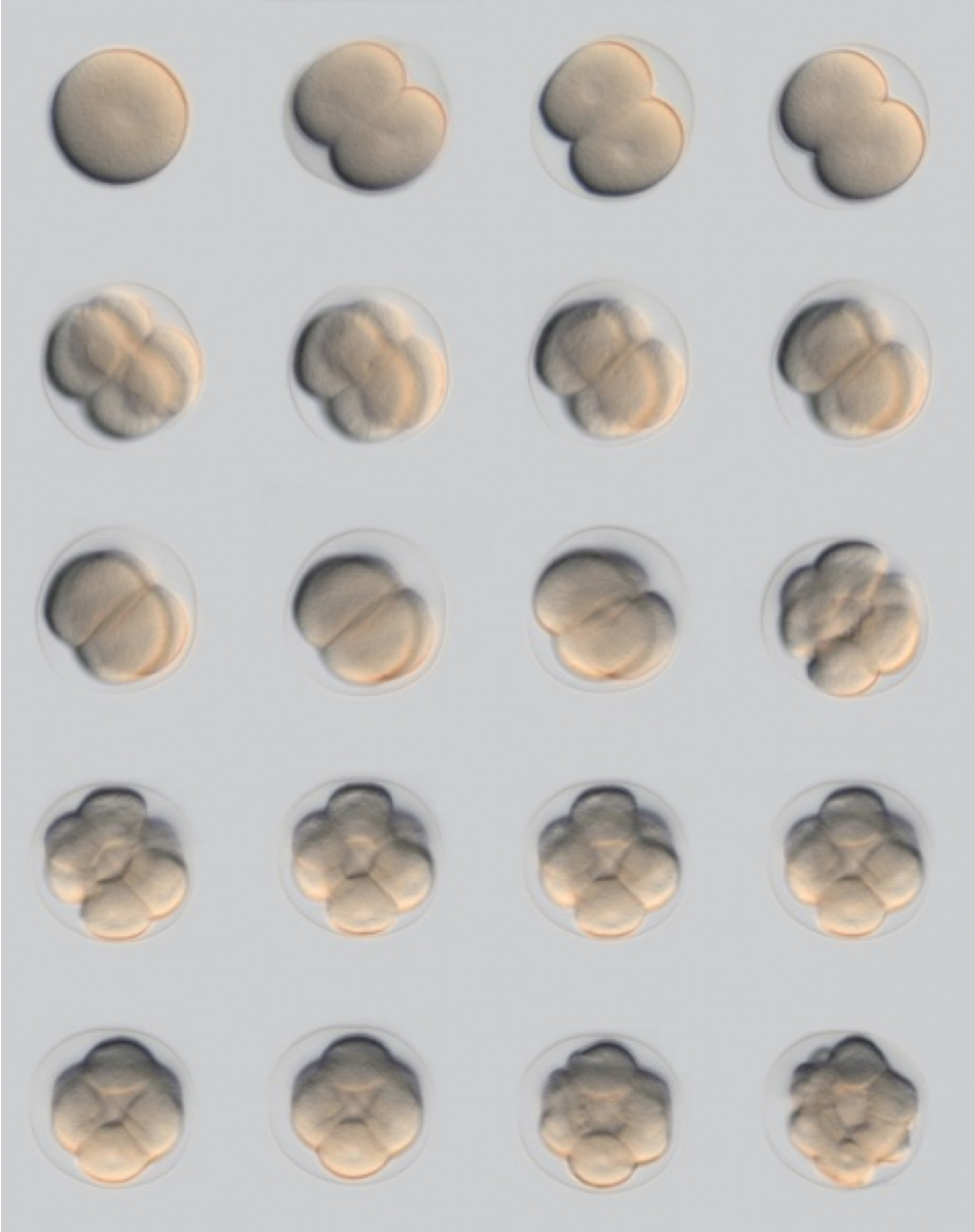




Mammiferi placentati (Mus musculus)

LA SEGMENTAZIONE

La segmentazione (in inglese CLEAVAGE) comporta la pluricellularità dello zigote. Le cellule che si originano vengono dette *blastomeri* e derivano da mitosi particolari in cui manca la fase di accrescimento, per cui esse diventano progressivamente più piccole fino a ristabilire un rapporto nucleo-citoplasmatico tipico delle specie, rapporto che nell'uovo è fortemente spostato a favore del citoplasma



What is cleavage?

Cleavage is a rapid series of mitotic divisions that occur just after fertilization.

There are two critical reasons why cleavage is so important:

1. Generation of a large number of cells that can undergo differentiation and gastrulation to form organs.
2. Increase in the nucleus / cytoplasmic ratio. Eggs need a lot of cytoplasm to support embryogenesis. It is difficult or impossible for one nucleus to support a huge cytoplasm, and oocytes are one of the largest cells that exist. One small nucleus just cannot transcribe enough RNA to meet the needs of the huge cytoplasm.

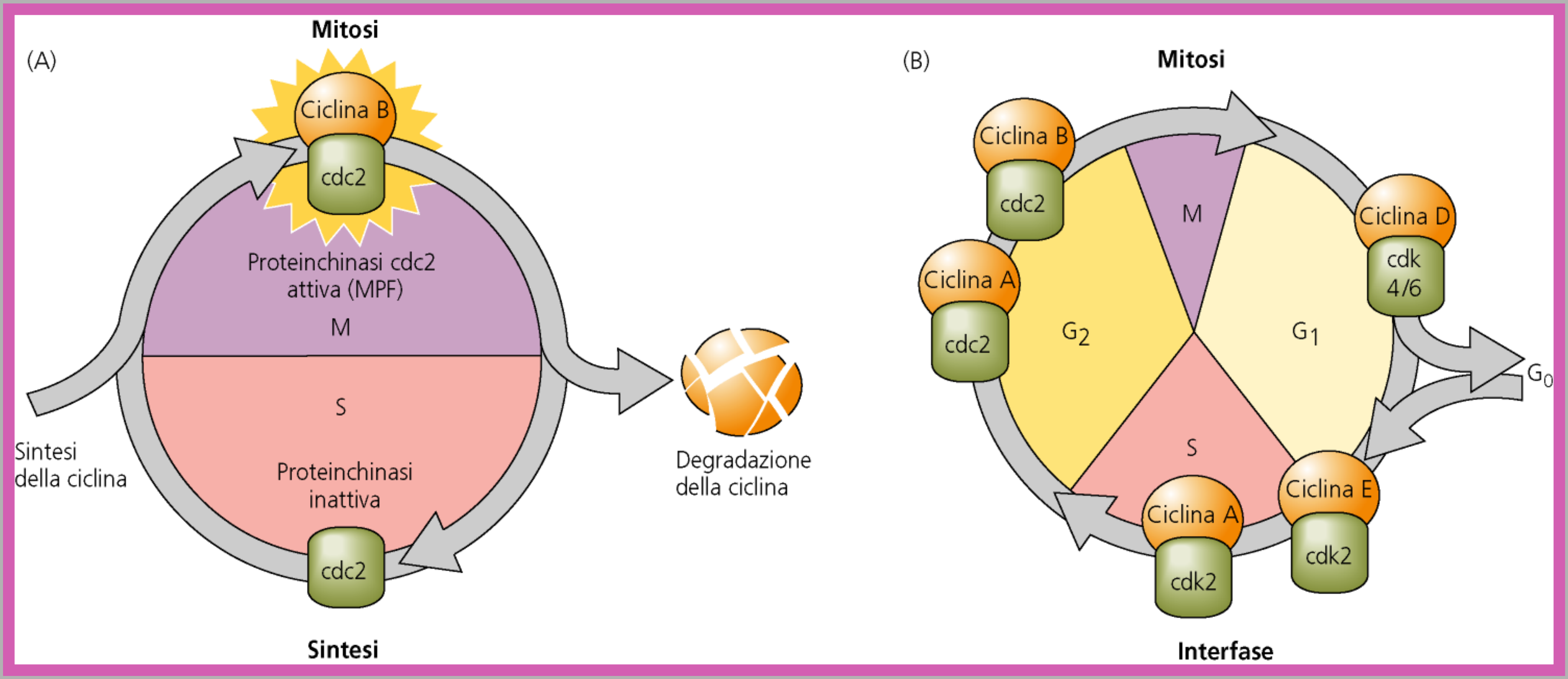
A larger nucleus to cytoplasmic ratio is optimal for cell function. Cell division occurs rapidly after fertilization to correct this problem.

Cleavage differs from normal mitoses in 2 respects

1. Blastomeres do not grow in size between successive cell divisions as they do in most cells. This leads to a rapid increase in the nucleus / cytoplasmic ratio. Cells undergoing cleavage have mainly S and M phases of the cell cycle (little or no G1 or G2).
2. Cleavage occurs very rapidly, and mitosis and cytokinesis in each round of cell division are complete within an hour. Typical somatic cells divide much more slowly (several hours to days) and even the fastest cancer cells divide much slower than occurs in a zygote during cleavage.

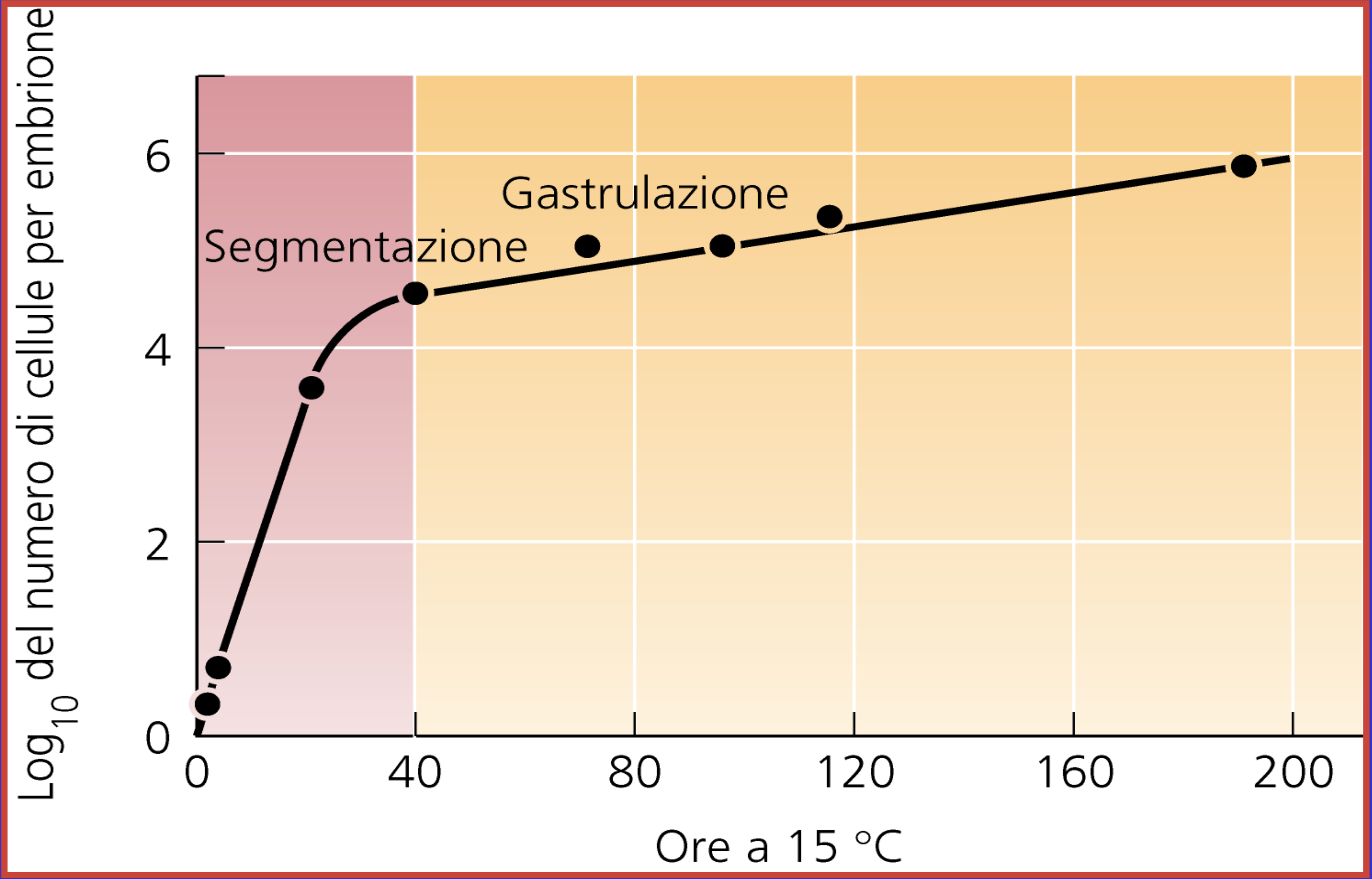
Cleavage differs in different types of eggs. The presence of large amounts of yolk alters the cleavage pattern, leading to incomplete cleavage that characterizes birds and reptiles.

Ciclo cellulare durante la segmentazione:
confronto tra il ciclo nei blastomeri e nelle cellule somatiche



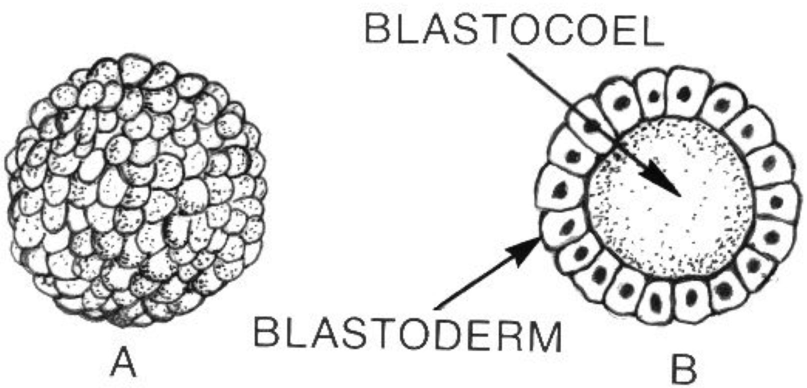
Nei blastomeri (a sinistra) mancano le fasi G1 e G2. La sintesi della ciclina determina la fase M, la sua degradazione l’ingresso in fase S

Ritmo di formazione dei blastomeri

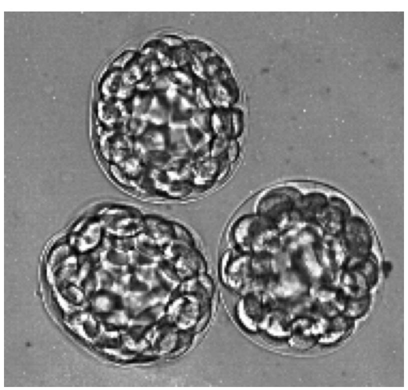


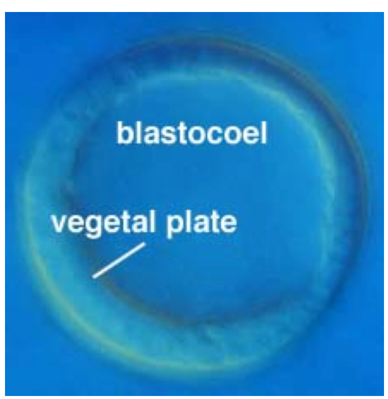
Ritmo di formazione dei blastomeri

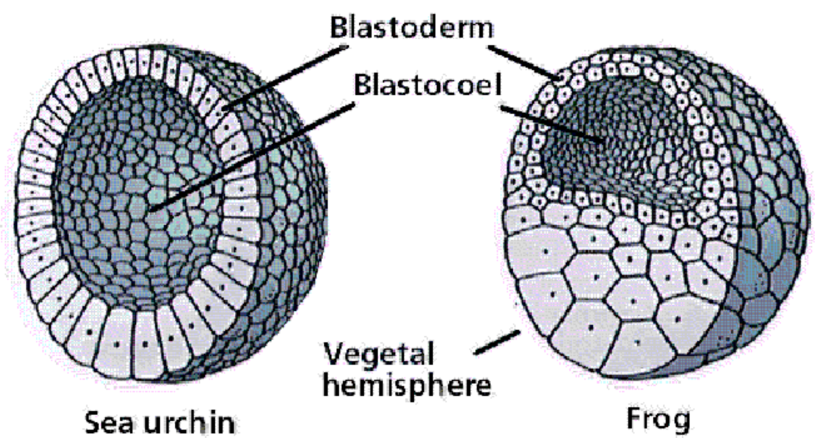
Le mitosi si susseguono rapidamente: nella rana si raggiungono 37000 cellule in 40 ore; in drosofila ogni 9-10 minuti avviene una mitosi e si ottengono 50000 cellule in 12 ore. Con gli stadi finali della segmentazione (*Transizione di medioblastula)* il ritmo di divisioni diminuisce ed esse diventano asincrone, i blastomeri diventano mobili e spesso formano protuberanze.



Alla fine della segmentazione si raggiunge lo stadio di blastula, che può presentare una cavità piena di liquido, il *blastocele.*



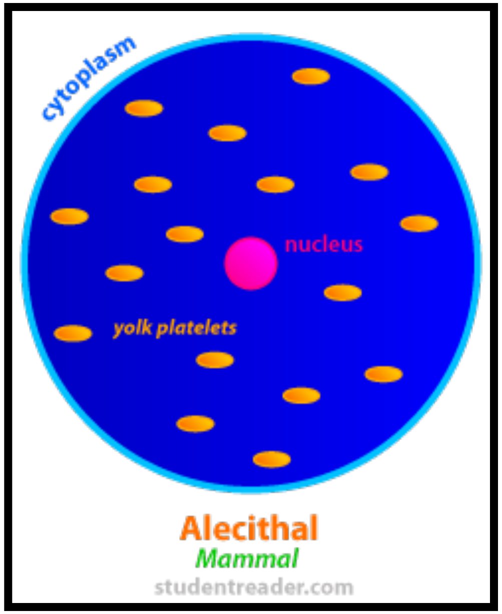


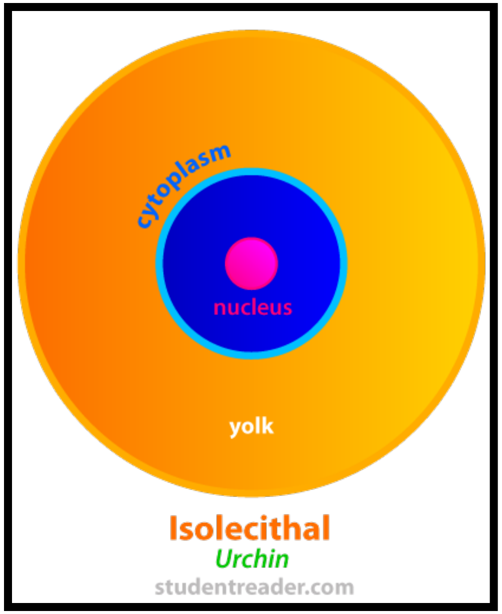


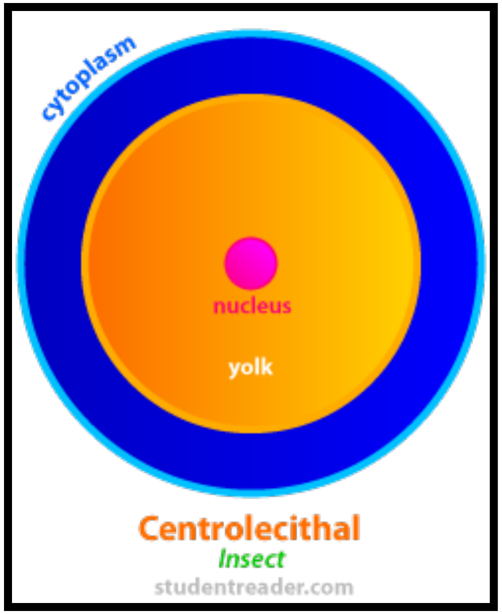
Eggs are classified by how much yolk is present

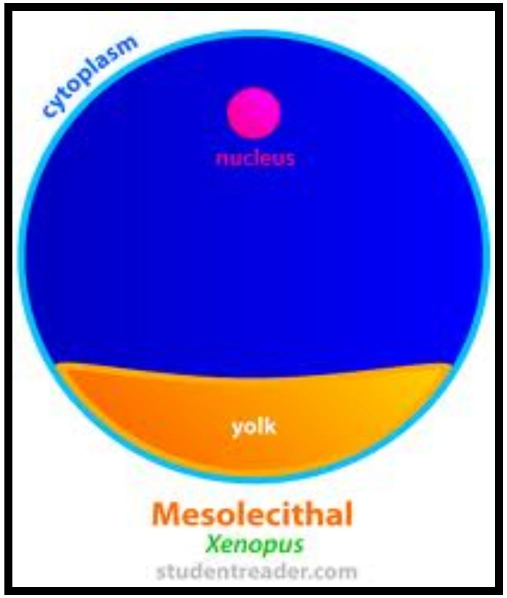
1. Alecithal eggs (a = without) little or none amount of yolk (placental mammals have alecithal eggs).
2. Isolecithal eggs (iso = equal) have a small amount of yolk that is equally distributed in the cytoplasm (sea urchins have isolecithal eggs).
3. Mesolecithal eggs (meso = middle) have a moderate amount of yolk, and the yolk is present mainly in the vegetal hemisphere (amphibians have mesolecithal eggs).
4. Telolecithal eggs (telo = end) have a large amount of yolk that fills the cytoplasm, except for a small area near the animal pole (fish, reptiles, and birds).
5. Centrolecithal eggs have a lot of yolk that is concentrated within the center of the cell (insects and arthropods).

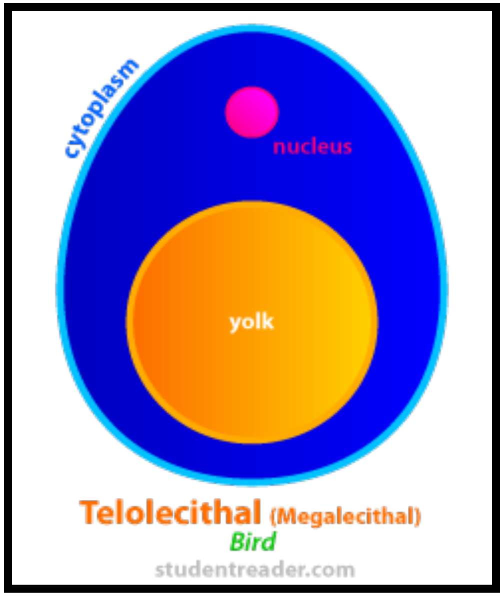
Eggs are classified by how much yolk is present

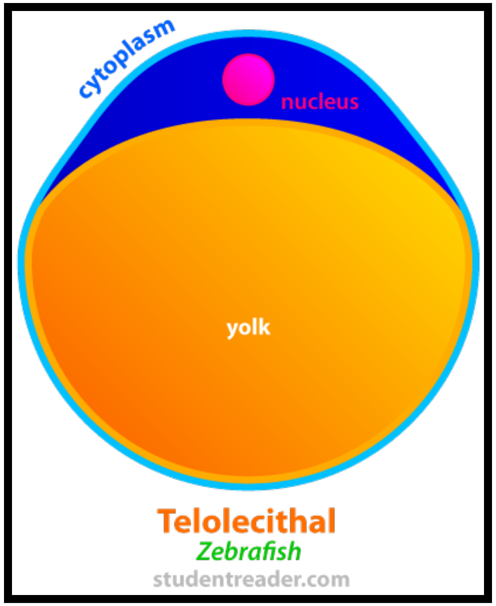












The pattern of cleavage of the zygote depends upon the pattern of yolk distribution

1. Holoblastic cleavage: occurs in alecithal, isolecithal e mesolecithal eggs (mammals, sea urchins). The entire egg is cleaved during each division. Two types:

   a. Equal Holoblastic (mammals, amnphioxus)

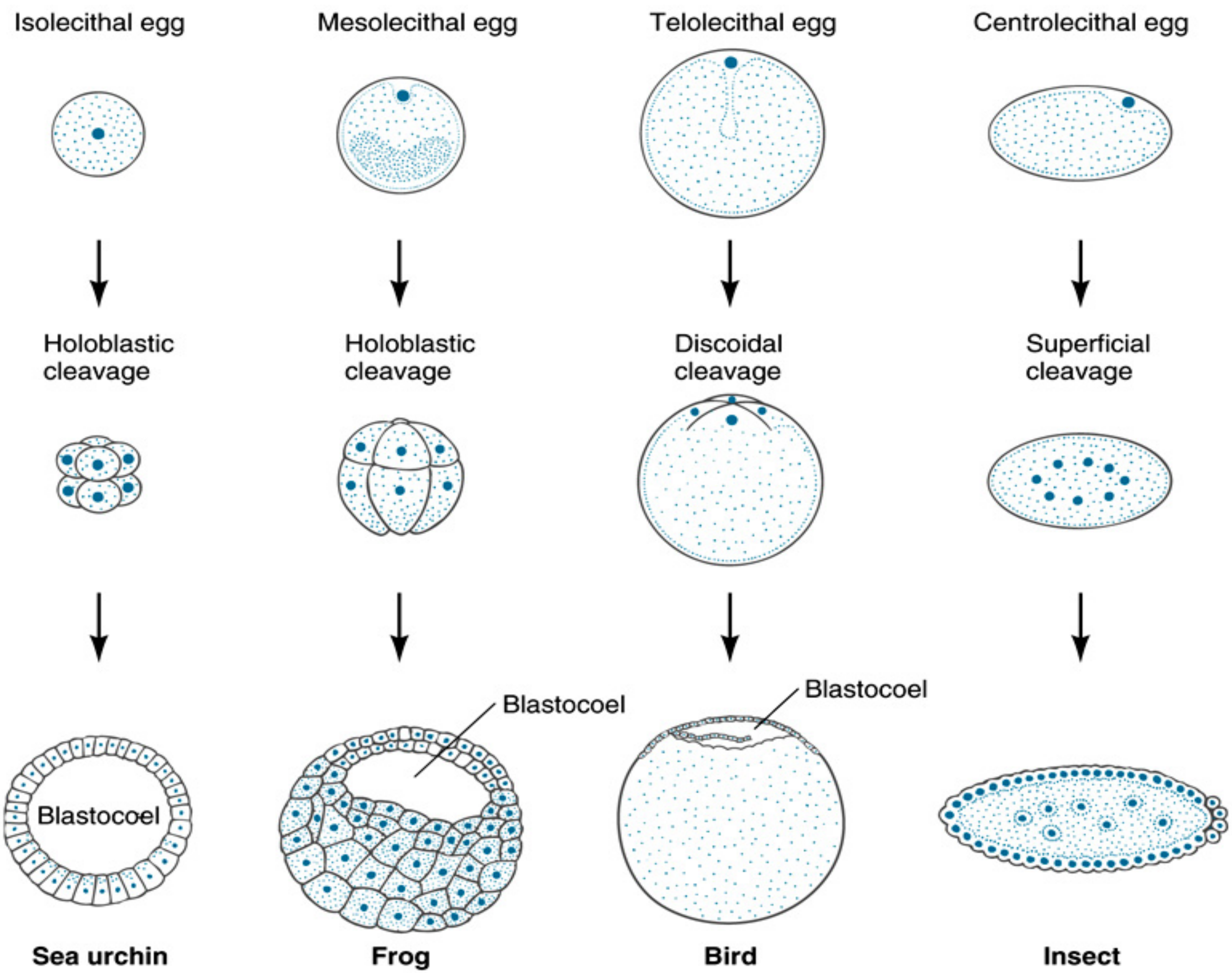
   b. Unequal Holoblastic (sea urchins, frogs)

1. Meroblastic cleavage occurs when eggs have a lot of yolk. The egg does not divide completely at each division. Two types:

   a. Discoidal cleavage is limited to a small disc of cytoplasm at the animal pole. All of the yolk filled cytoplasm fails to cleave (characteristic of telolecithal eggs such as birds).

   b. Superficial cleavage is limited to a thin surface area of cytoplasm that covers the entire egg. The inside of the egg that is filled with yolk fails to cleave (centrolecithal eggs such as insects).

Typical cleavage patterns of isolecithal, mesolecithal, telolecithal and centrolecithal eggs

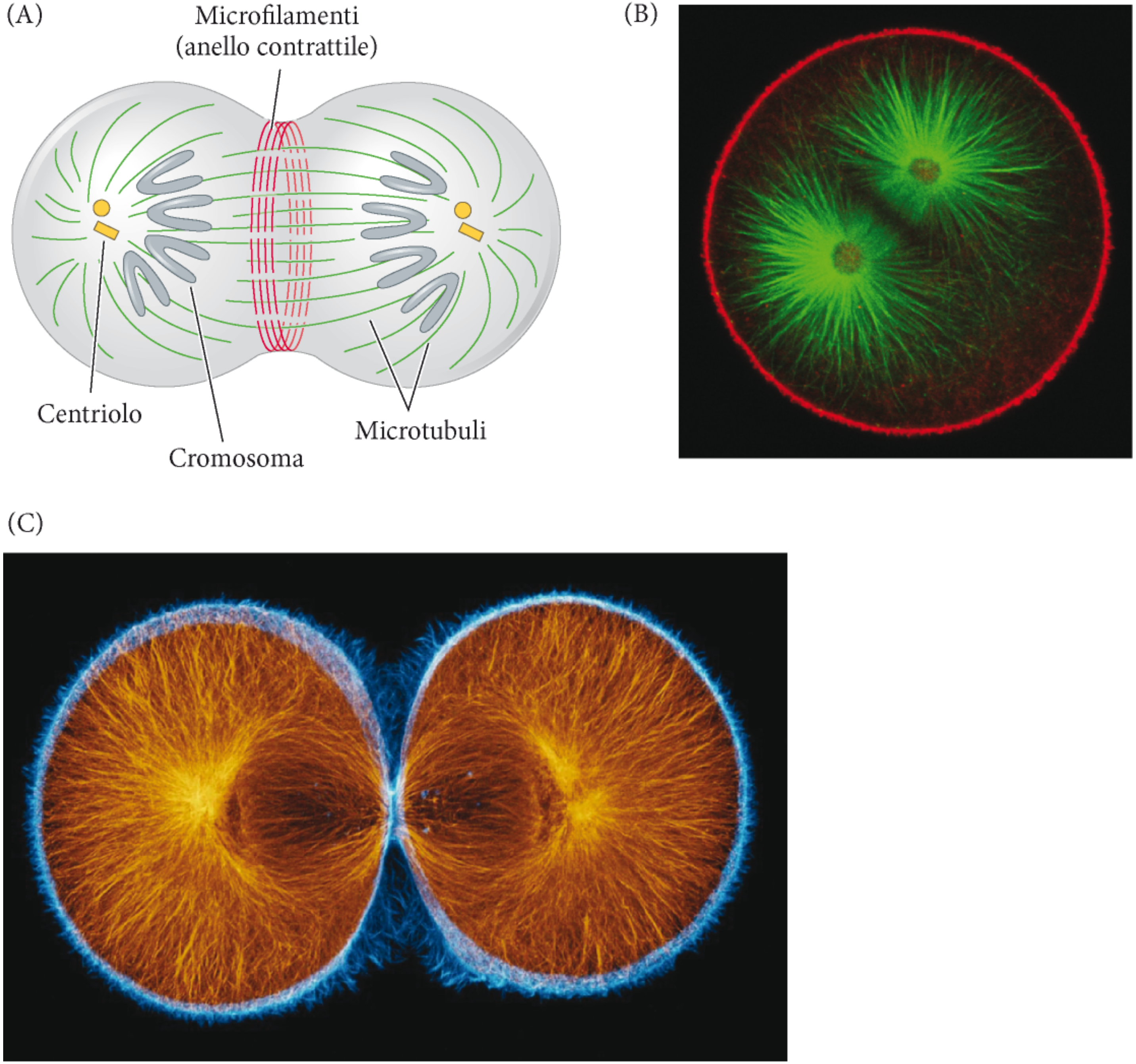


Typical cleavage patterns of isolecithal, mesolecithal, telolecithal and centrolecithal eggs

Tabella 5.1 **Tipi di uova, modalità di segmentazione e modelli rappresentativi**

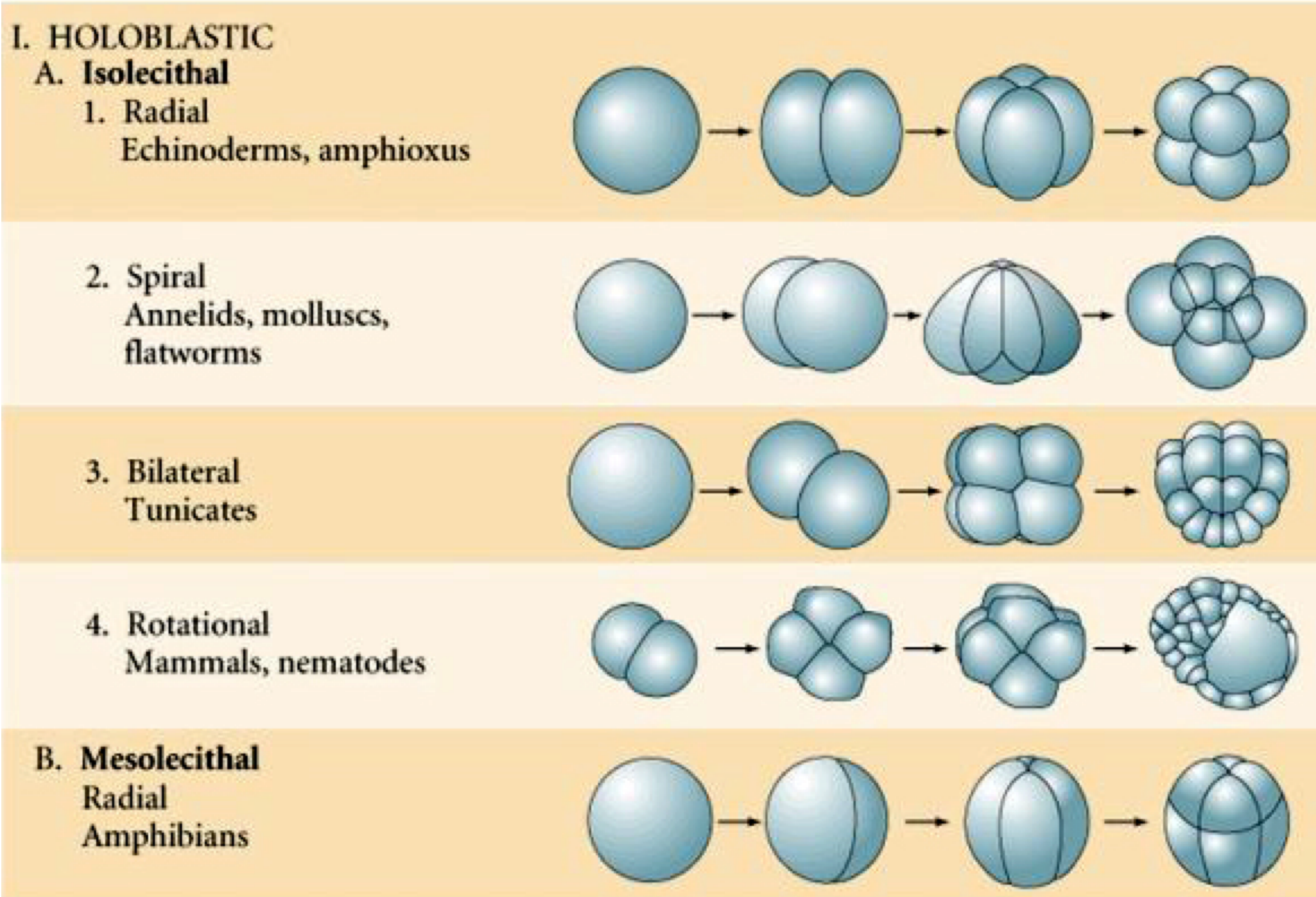
Tipo di uovo	Tipo di segmentazione	Modello di segmentazione	Forma blastula	Gruppo animale
Isolecitico (poco vitello uniformemente distribuito)	Oloblastica (l'uovo si divide totalmente)	Radiale, bilaterale, spirale, rotazionale	Sferica (un singolo strato di blastomeri delimita il blastocele)	Echinodermi, cefalocordati, ascidie, molluschi, anellidi, mammiferi euteri
Mesolecitico (moderata quantità di vitello, più abbondante nell'emisfero vegetativo)	Oloblastica	Radiale	Sferica (più strati di blastomeri delimitano il blastocele eccentrico)	Anfibi e alcuni pesci
Telolecitico (l'uovo è quasi totalmente ripieno di vitello, tranne al polo animale in corrispondenza del blastodisco)	Meroblastica (l'uovo non si segmenta totalmente)	Discoidale (i blastomeri formano un disco che poggia sul vitello insegmentato)	Disco cellulare (formato da epiblasto e ipoblasto, separati da un blastocele)	Molti pesci, uccelli e rettili
Centrolecitico (il vitello è concentrato al centro dell'uovo)	Meroblastica	Superficiale (i blastomeri si formano sulla superficie dell'uovo)	Ovoidale (i blastomeri formano un singolo strato, detto blastoderma, che circonda il vitello)	Insetti e altri artropodi

Secondo B. M. Carlson (1988)


(A)
Microfilamenti
(anello contrattile)
Centriolo
Cromosoma
Microtubuli
(B)
(C)

La segmentazione è influenzata dalla presenza del vitello che rallenta od ostacola la formazione del solco di divisione

Quindi in base al tipo di uovo vi sono due grosse modalità di segmentazione: TOTALE o OLOBLASTICA - PARZIALE o MEROBLASTICA



SEGMENTAZIONE OLOBLASTICA RADIALE

Con blastomeri uguali

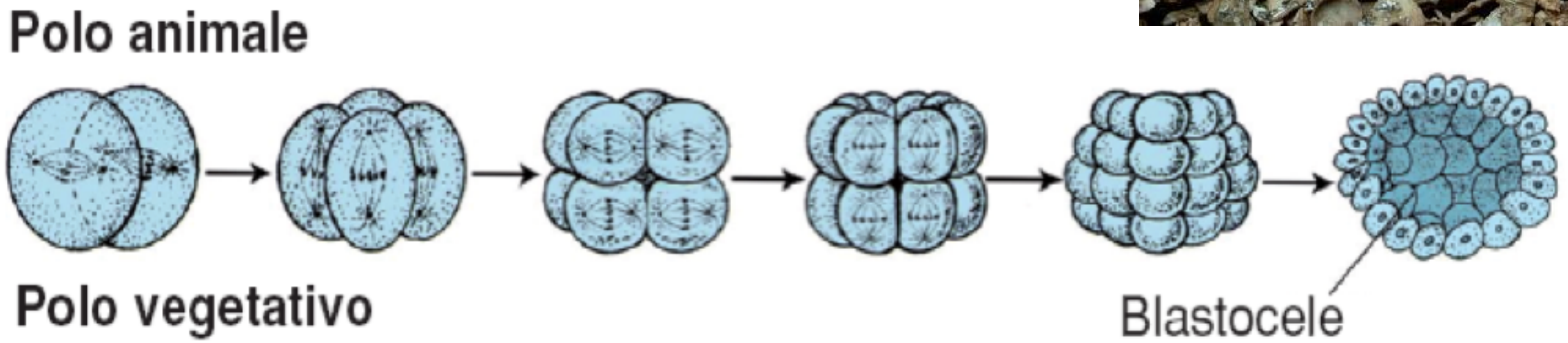
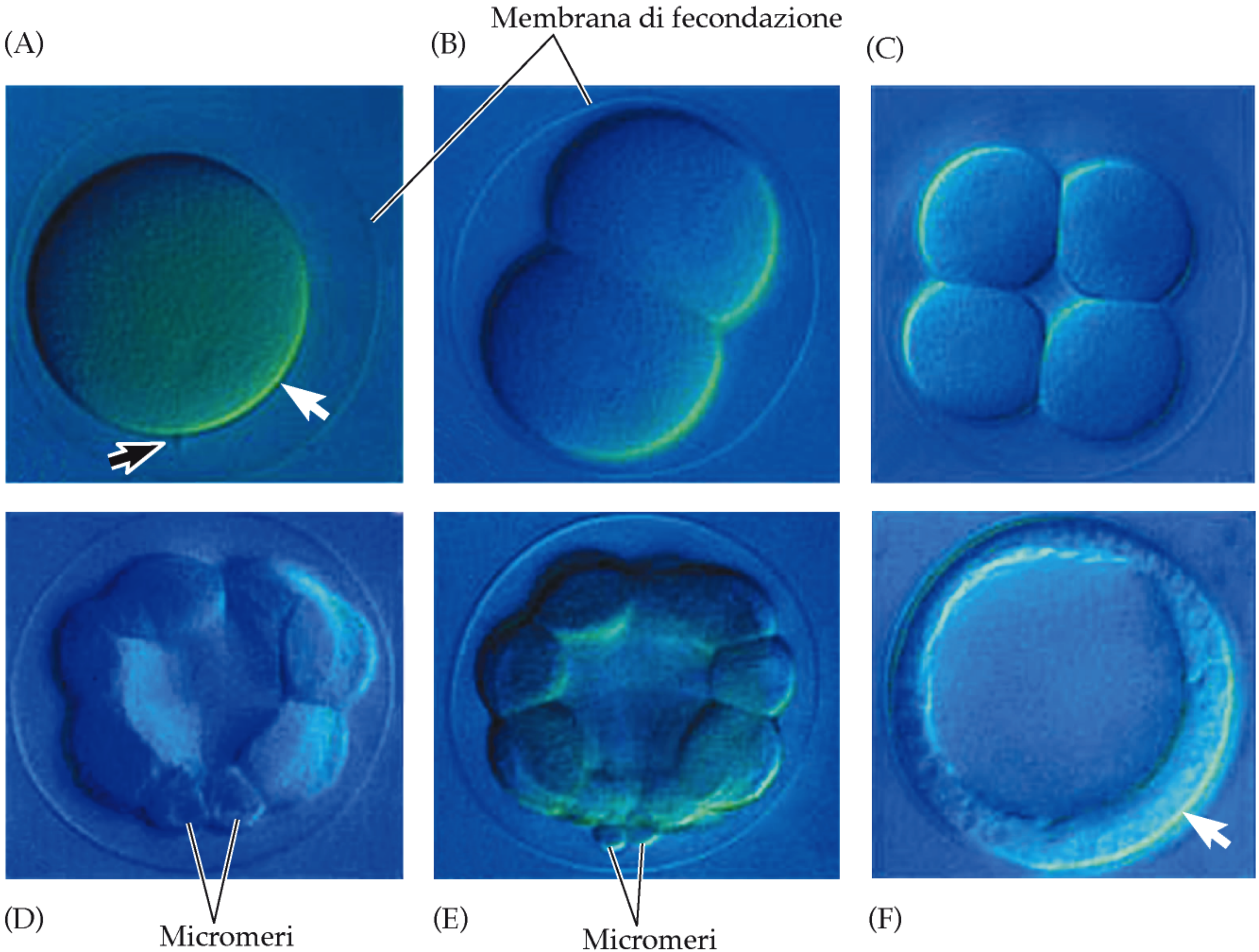


Figura 5.5 Segmentazione oloblastica radiale di uovo di anfiosso dallo stadio a due blastomeri sino allo stadio di blastula. La blastula è vista in sezione saggitale dal polo animale al polo vegetativo. Nella figura non sono indicate le semilune.



Membrana di fecondazione
(A)
(B)
(C)
(D)
(E)
(F)
Micromeri
Micromeri

SEGMENTAZIONE OLOBLASTICA RADIALE

Con blastomeri uguali solo nelle prime 3 divisioni

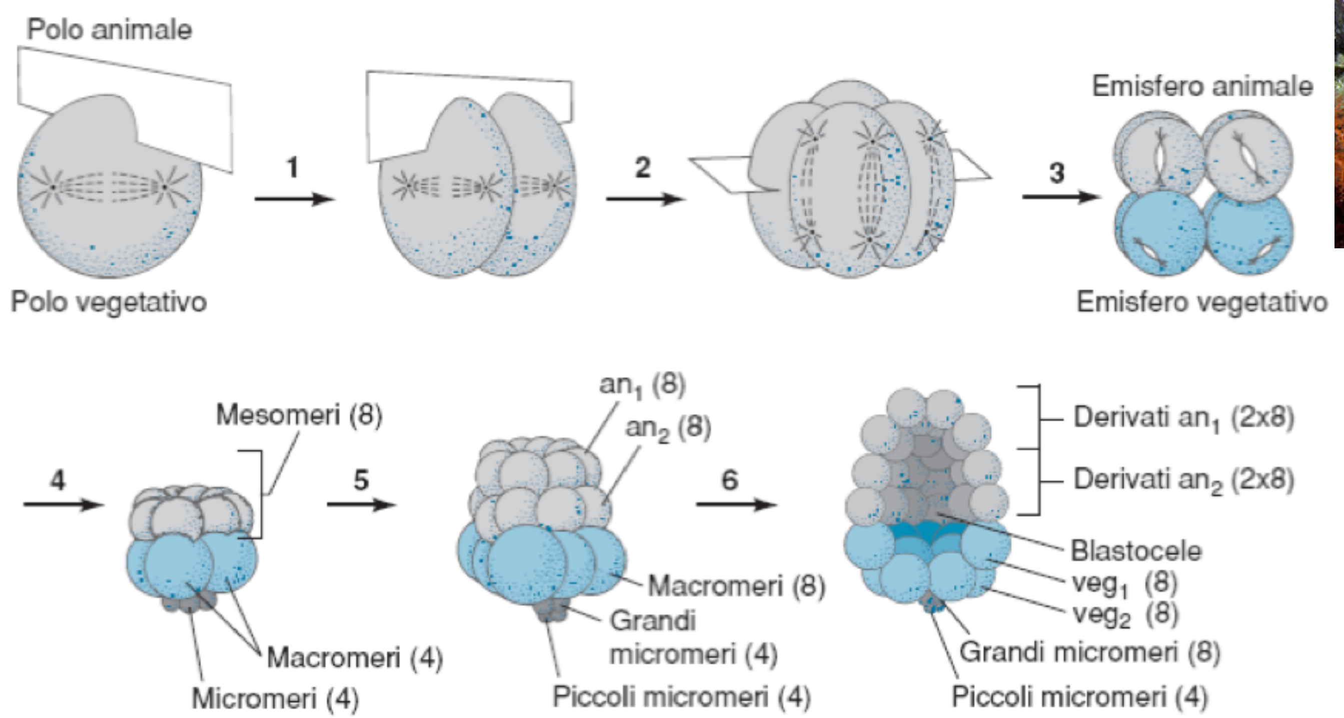
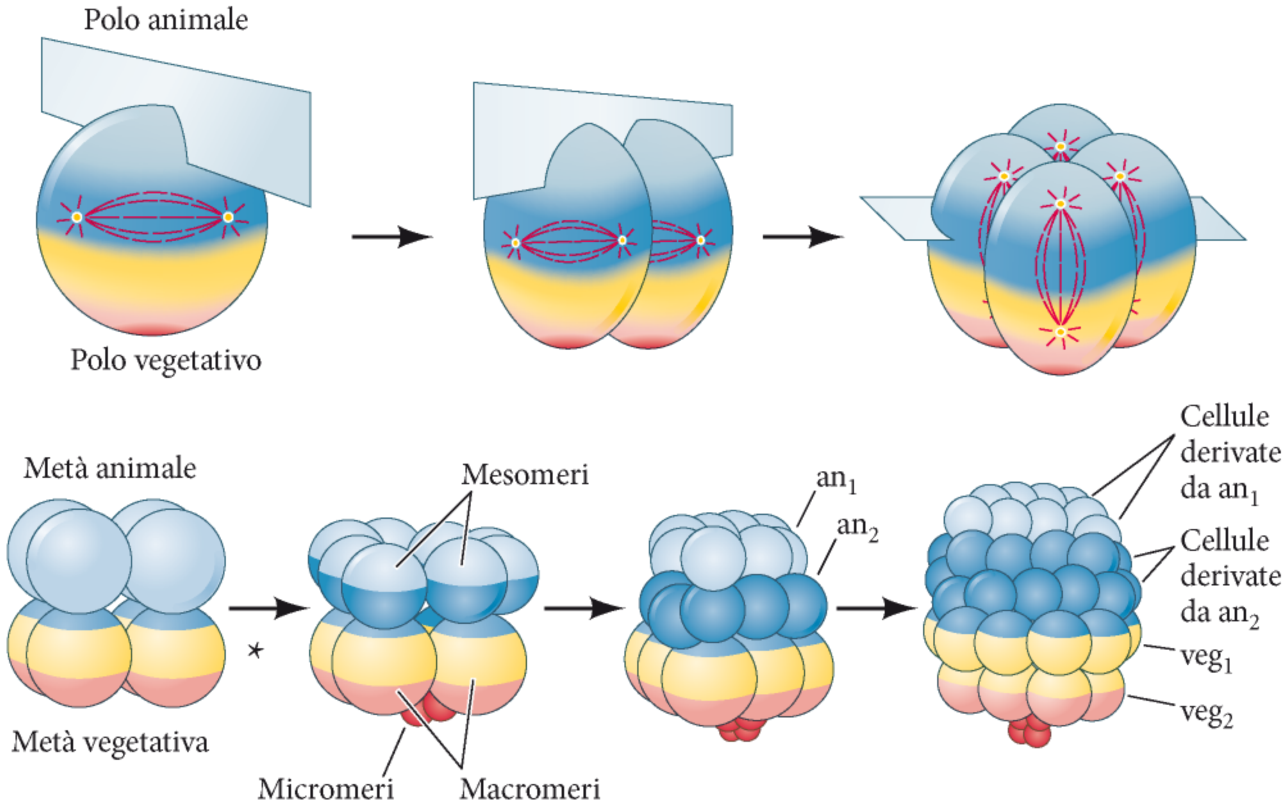
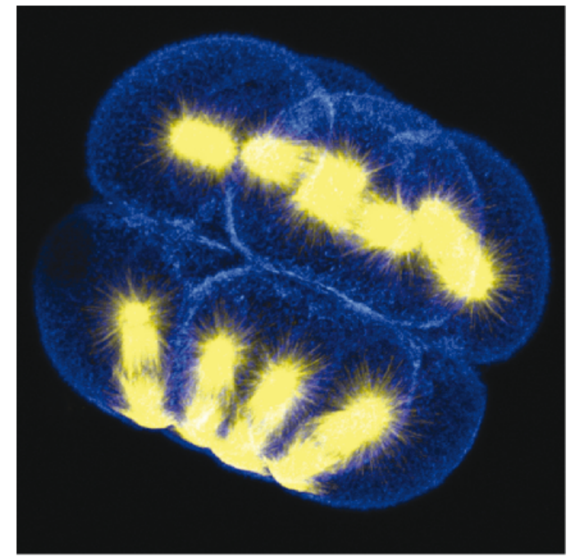


Figura 5.4 Segmentazione dell'uovo di riccio di mare. Il primo e il secondo piano di segmentazione sono meridiani e passano attraverso l'asse animale-vegetativo. Il terzo piano di divisione è equatoriale e perpendicolare all'asse animale-vegetativo. Con la quarta divisione di segmentazione i blastomeri animali si dividono in modo uguale secondo un piano meridiano formando otto mesomeri mentre i blastomeri vegetativi si dividono in modo diseguale formando quattro macromeri e quattro micromeri al polo vegetativo. Con la quinta divisione di segmentazione si formano due file animali (an_1 e an_2) di otto mesomeri ciascuna, una fila di blastomeri vegetativi di otto macromeri, quattro grandi micromeri e quattro piccoli micromeri. Alla sesta divisione di segmentazione l'embrione è mostrato in sezione polo animale /polo vegetativo. Si evidenzia il blastocele, in posizione centrale; inoltre nell'emisfero animale si riscontrano due file di mesomeri di otto cellule ciascuna (an_1) che sormontano altre due file di mesomeri di otto cellule ciascuna (an_2); nell' emisfero vitellino vi sono due file di macromeri (veg_1 e veg_2) di otto cellule ciascuna, otto grandi micromeri e infine, all'estremo polo vitellino, 4 piccoli micromeri. Questi ultimi non si dividono durante la sesta divisione di segmentazione.

(A)

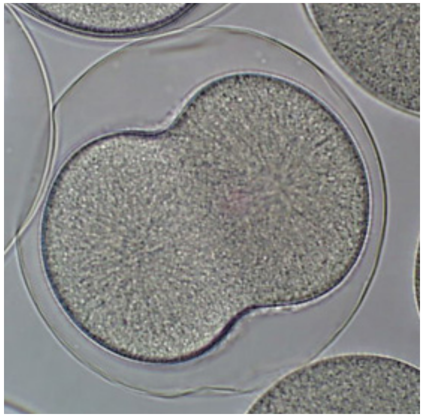

Polo animale
Polo vegetativo
Metà animale
Metà vegetativa
*
Mesomeri
Micromeri
Macromeri
an1
an2
Cellule derivate da an1
Cellule derivate da an2
veg1
veg2

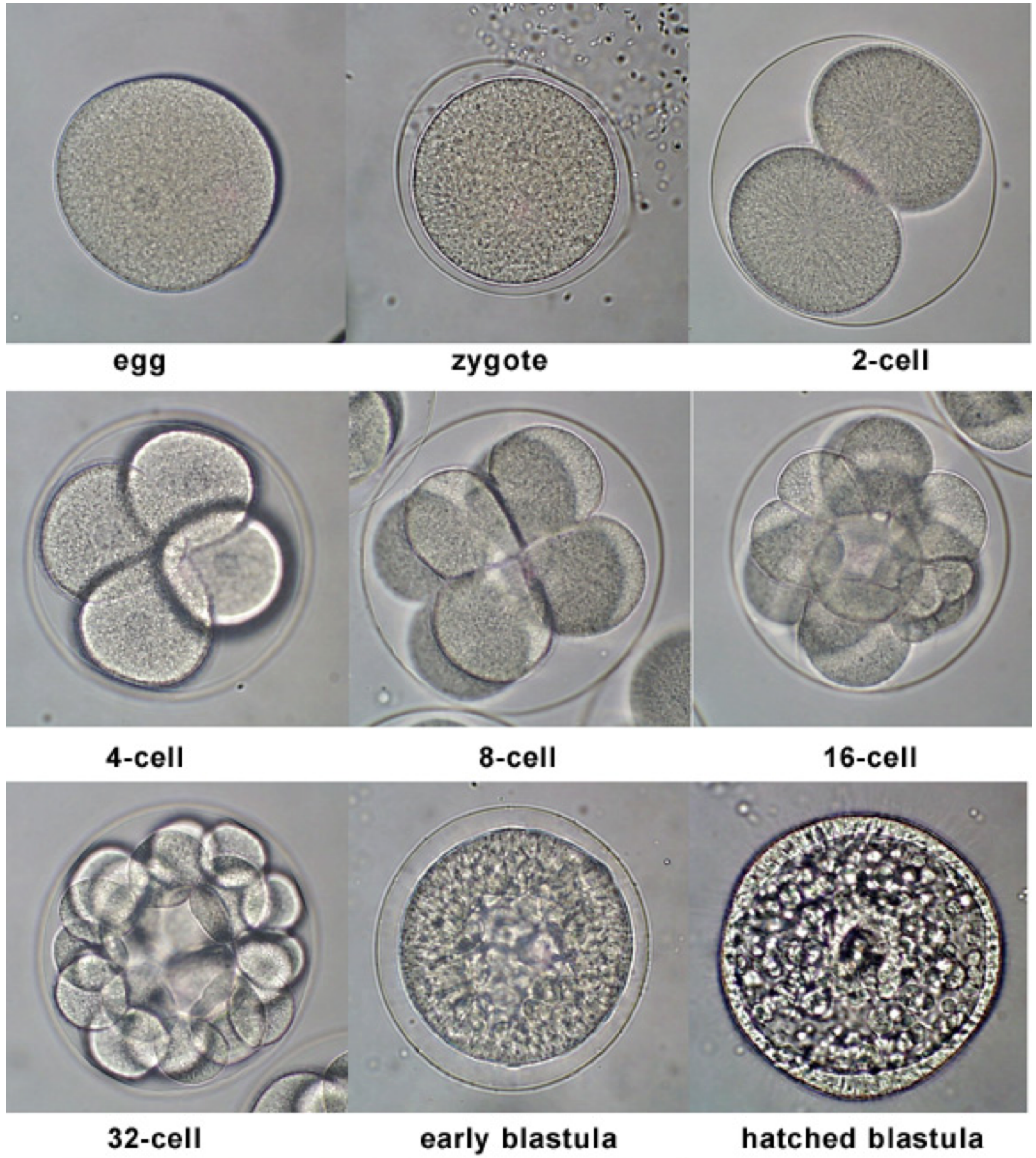
(B)

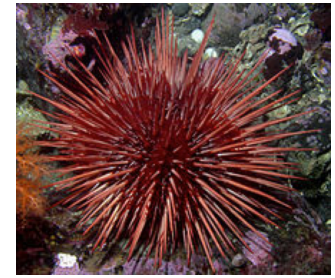


SEGMENTAZIONE OLOBLASTICA RADIALE

In riccio di mare

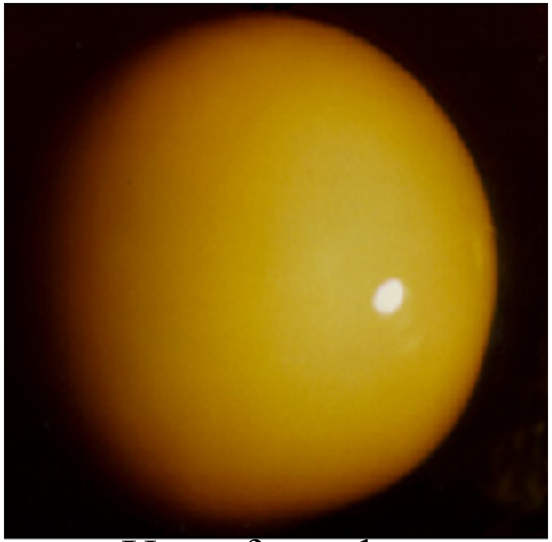




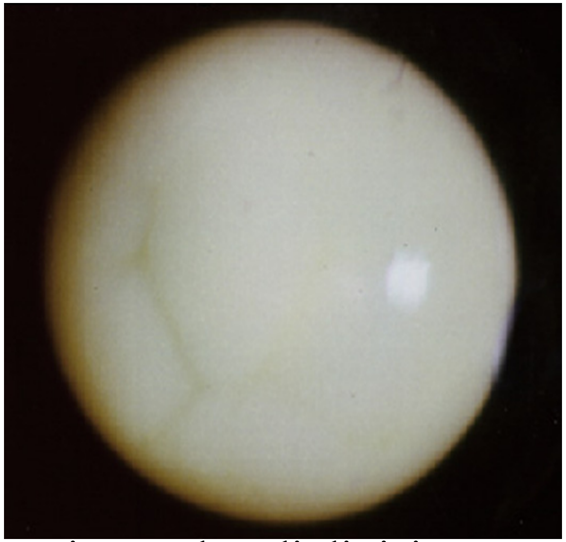


SEGMENTAZIONE OLOBLASTICA RADIALE

In Anfibio



Uovo fecondato
(1 giorno)



Primo solco di divisione
(1 giorno)

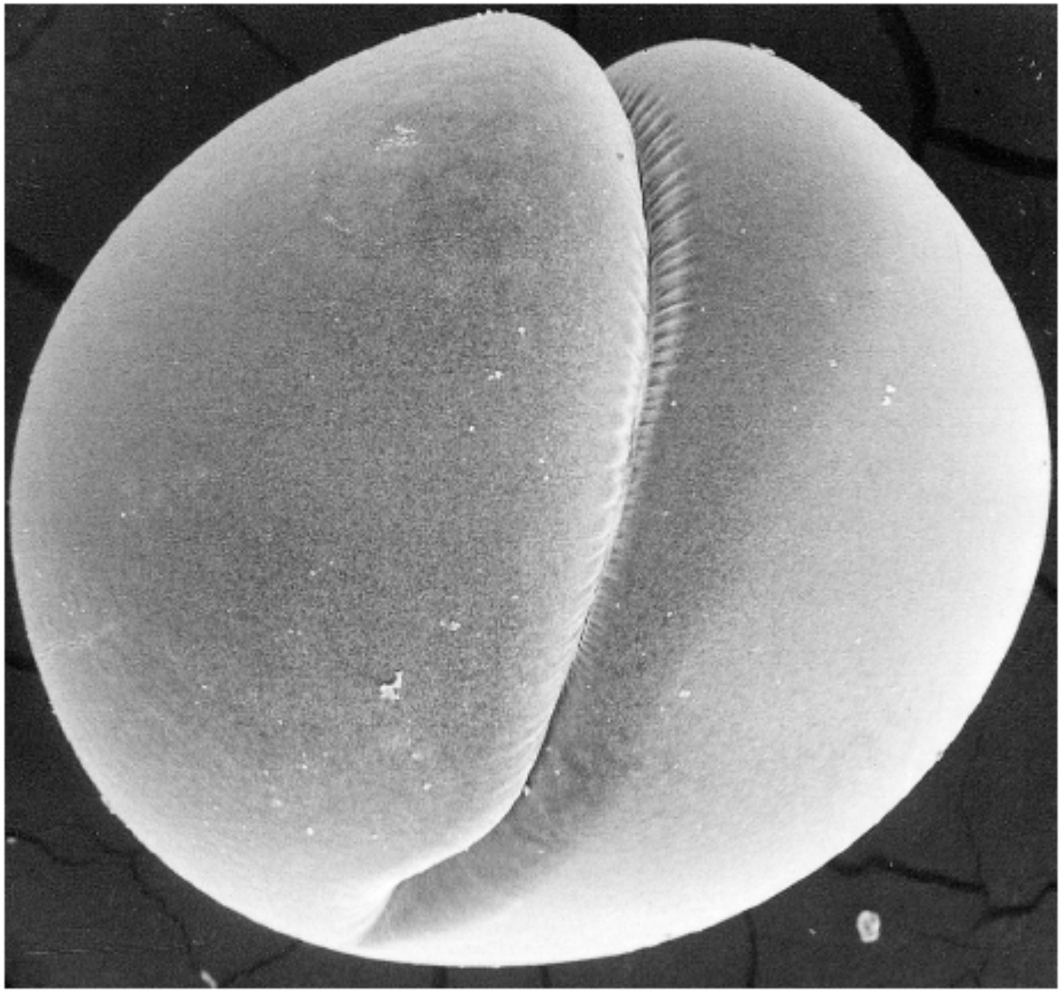
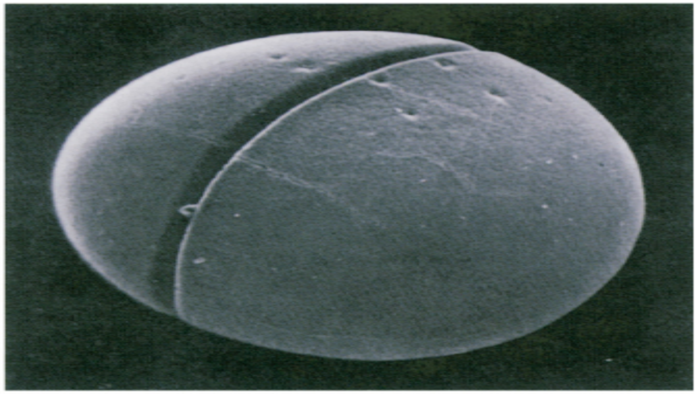
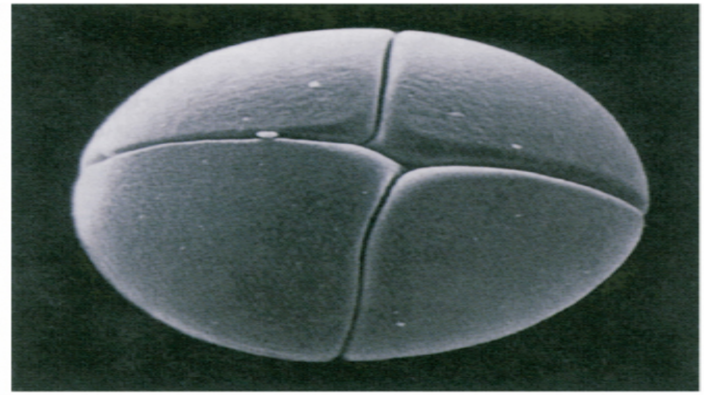


Figura 5.1 Embrione di rana durante la prima divisione di segmentazione visto al microscopio elettronico a scansione. Il

Fig. 8.2: ***Microfotografie di embrioni di Xenopus in corso di segmentazione (gli embrioni sono privi di strato gelatinoso e di membrana di fecondazione, × 50)***

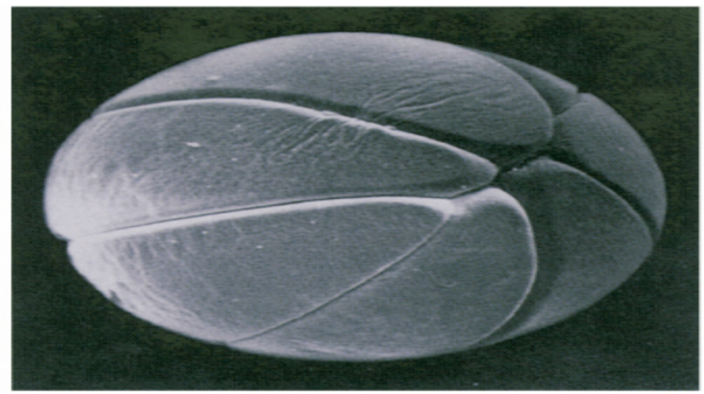


Stadio a 2 cellule



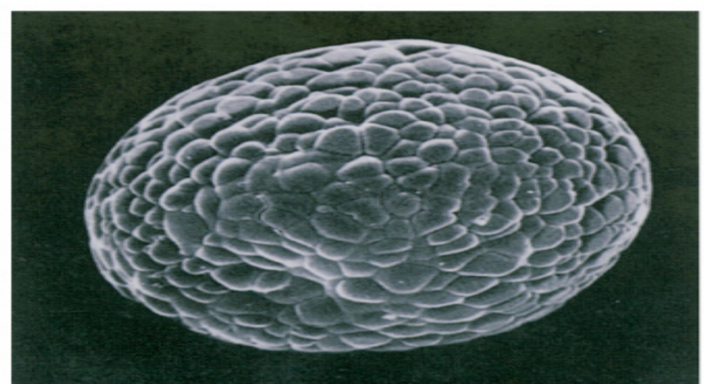
Stadio a 4 cellule

Stadio a 16 cellule, visione dal polo animale



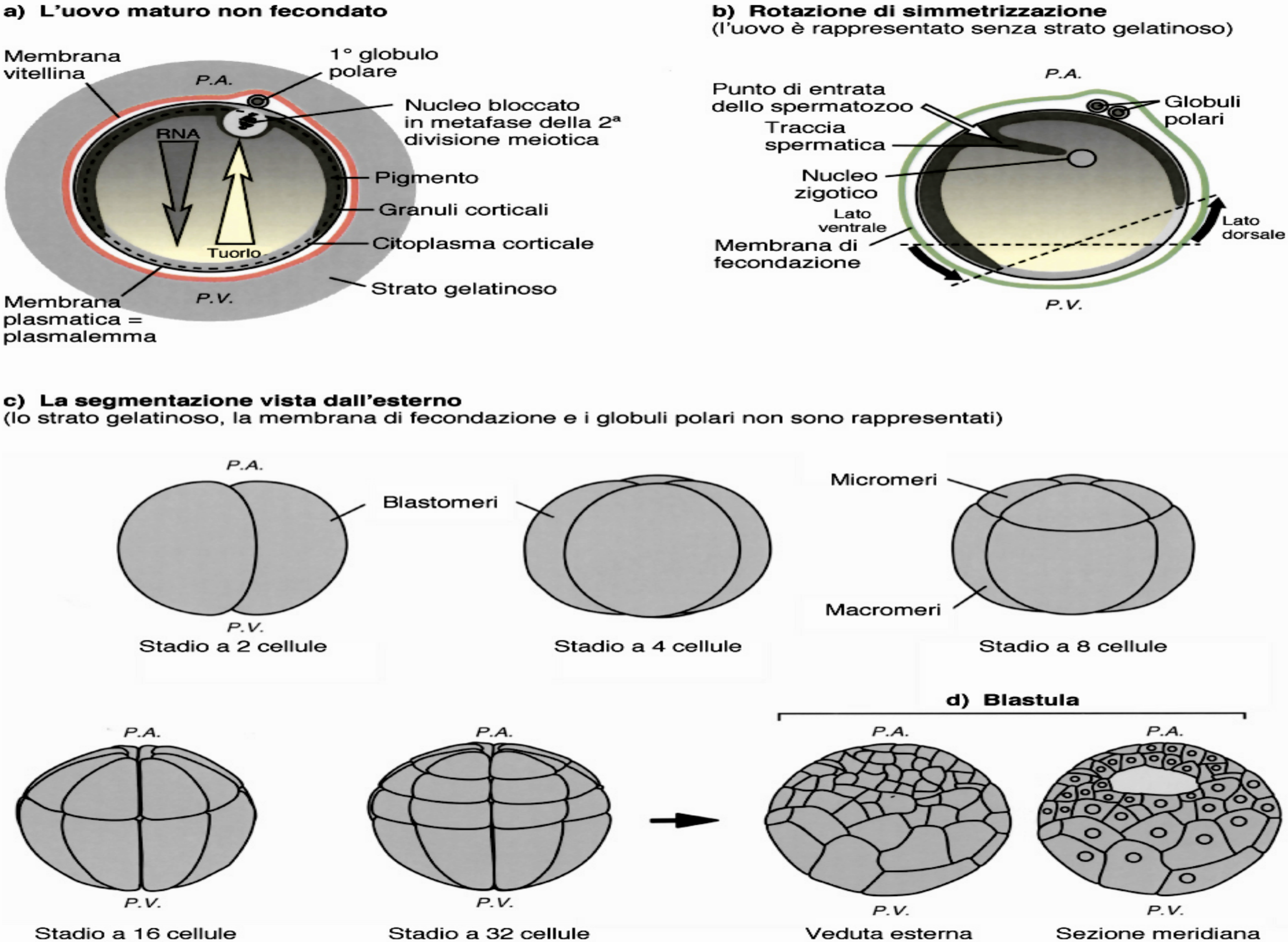
Stadio a 16 cellule, visione dal polo vegetativo

Stadio a 32 cellule in formazione



Blastula tardiva, visione dal polo animale

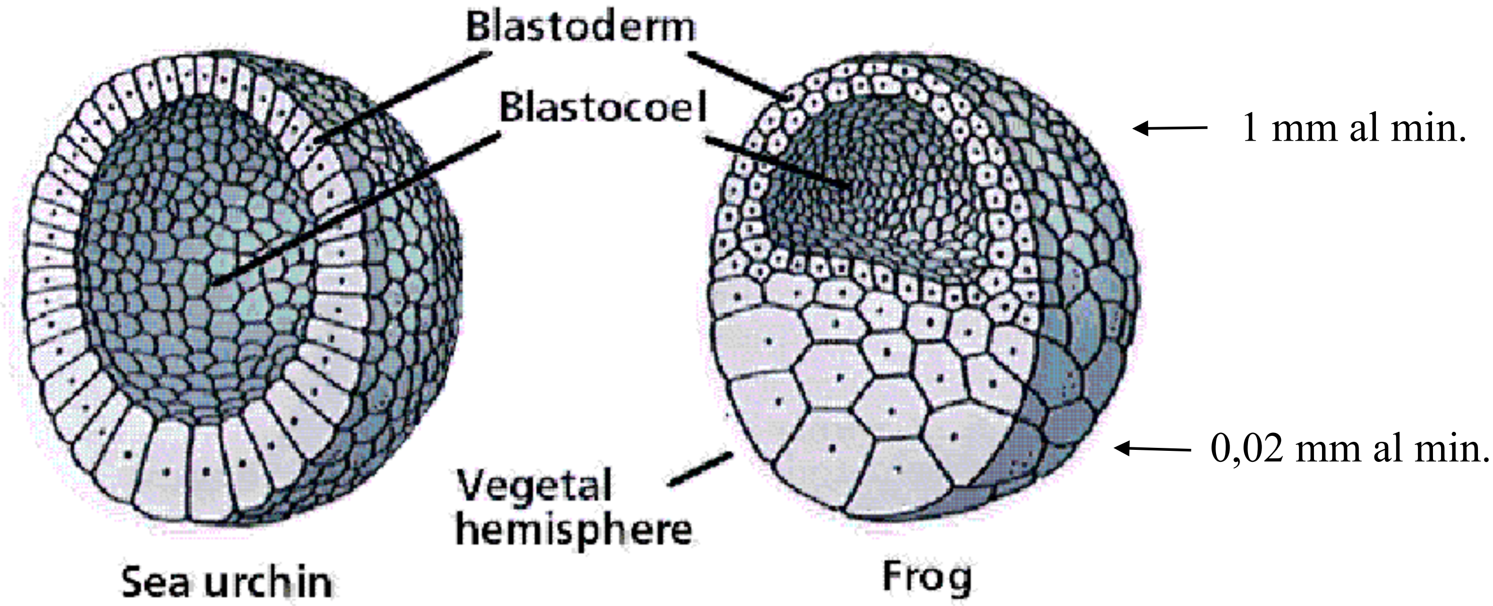
Fig. 8.1: *L'uovo e le prime tappe della segmentazione*



https://www.youtube.com/watch?
v=EQkYEHr8a8s

https://www.youtube.com/watch
?v=IjyemX7C_8U

Blastula di riccio di mare e rana



Blastula: 128 blastomeri

Unico strato di cellule:
Sulla superficie liberi dei singoli blastomeri si sviluppano numerose ciglia che consentono alla blastula di ruotare all`interno della membrana di fecondazione.
I blastomeri localizzati al polo vegetativo iniziano a ispessirsi e danno luogo alla piastra vegetativa
I blastomeri localizzati al polo animale secernono un enzima di schiusa che digerisce la membrana di fecondazione.
La blastula ciliata e´priva di involucri e puo´nuotarre liberamente

Anfibi

Negli anfibi la blastula e´formata da epitelio pluristratificato, lo strato esterno e´polarizzato.

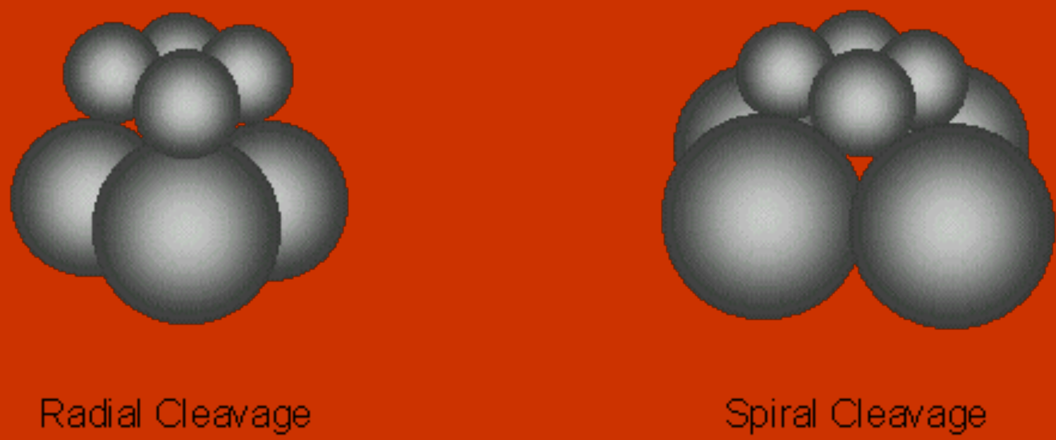
- Le cellule piu esterne del polo animale presentano giunzione strette che impediscono il passaggio di sostanze all´interno, e desmosomi protezione e resistenza alle tensioni esterne
- Le cellule interne contigue formano giunzioni serrate per la comunicazione tra i blastomeri
- EP caderina come molecola di adesione .Se blocchiamo la traduzione di questa proteina si riduce l´adesione si oblitera il blastocele

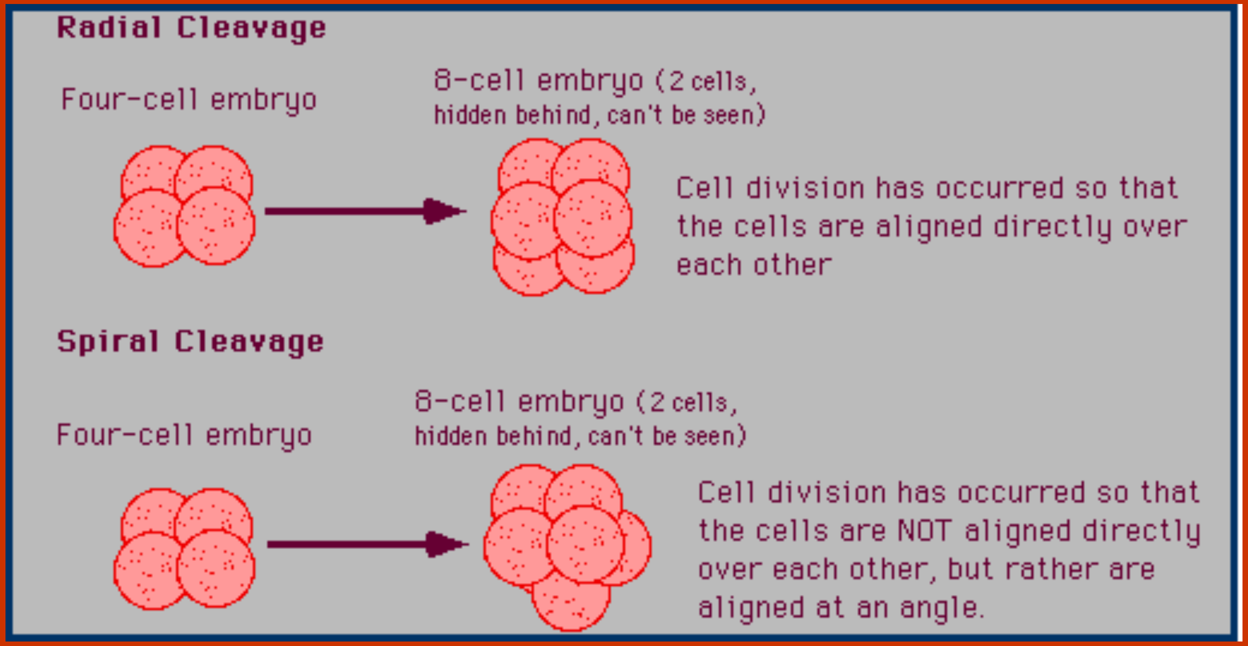
Funzione del blastocele:

- Consente la migrazione durante la gastrulazione
- Impedisce alle cellule del polo vegetative (futuro endoderma) di prendere contatto con quelle dell´emisfero animale (ectoderma, epidermide e tessuto nervoso)

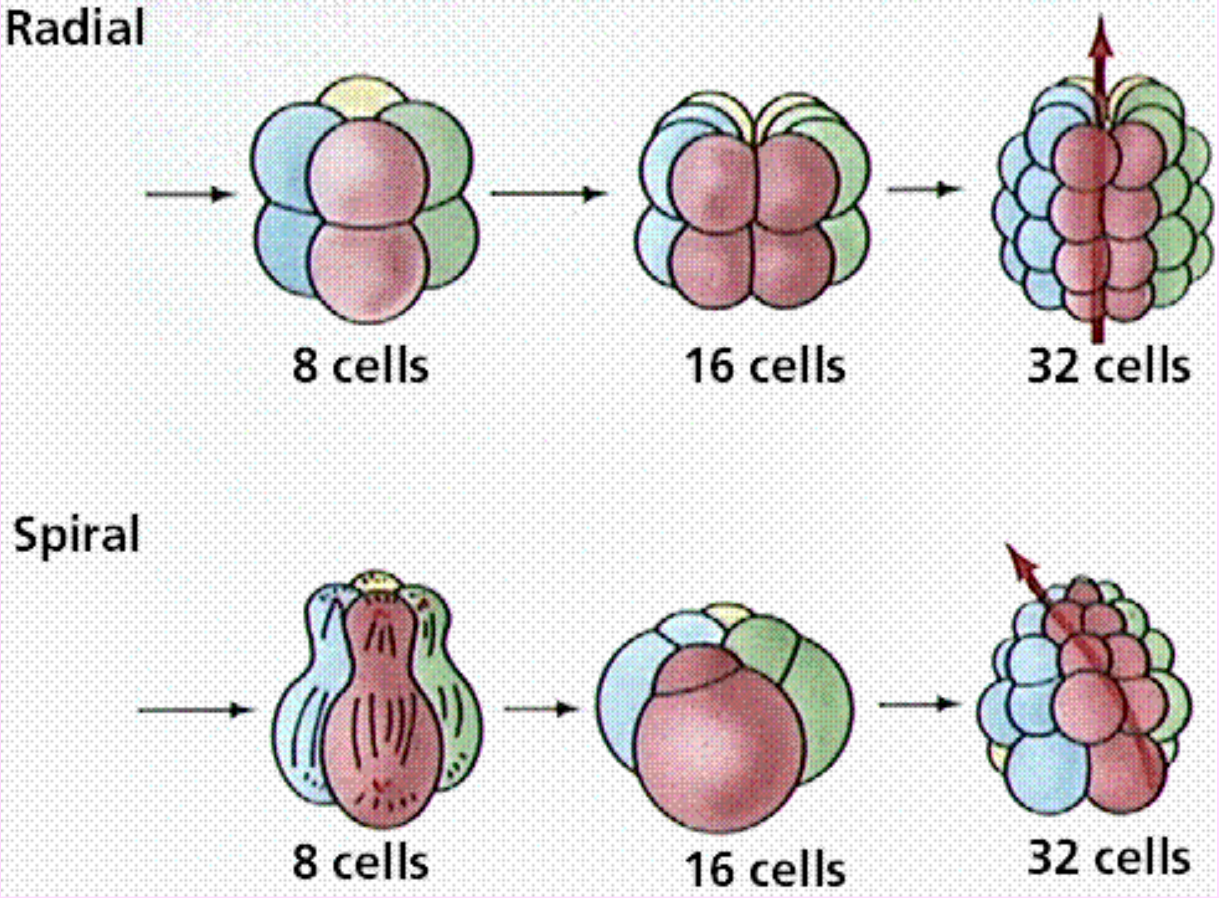
https://www.youtube.com/watch?v=R1x4iBL-02s

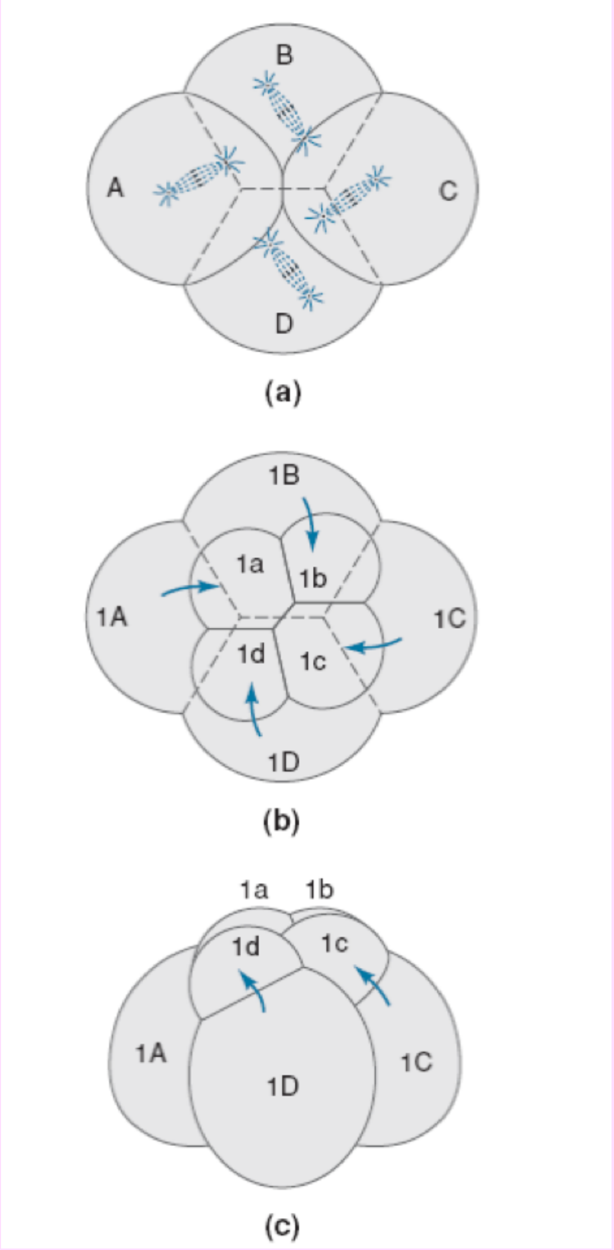
Primi piani di segmentazione radiale e spirale

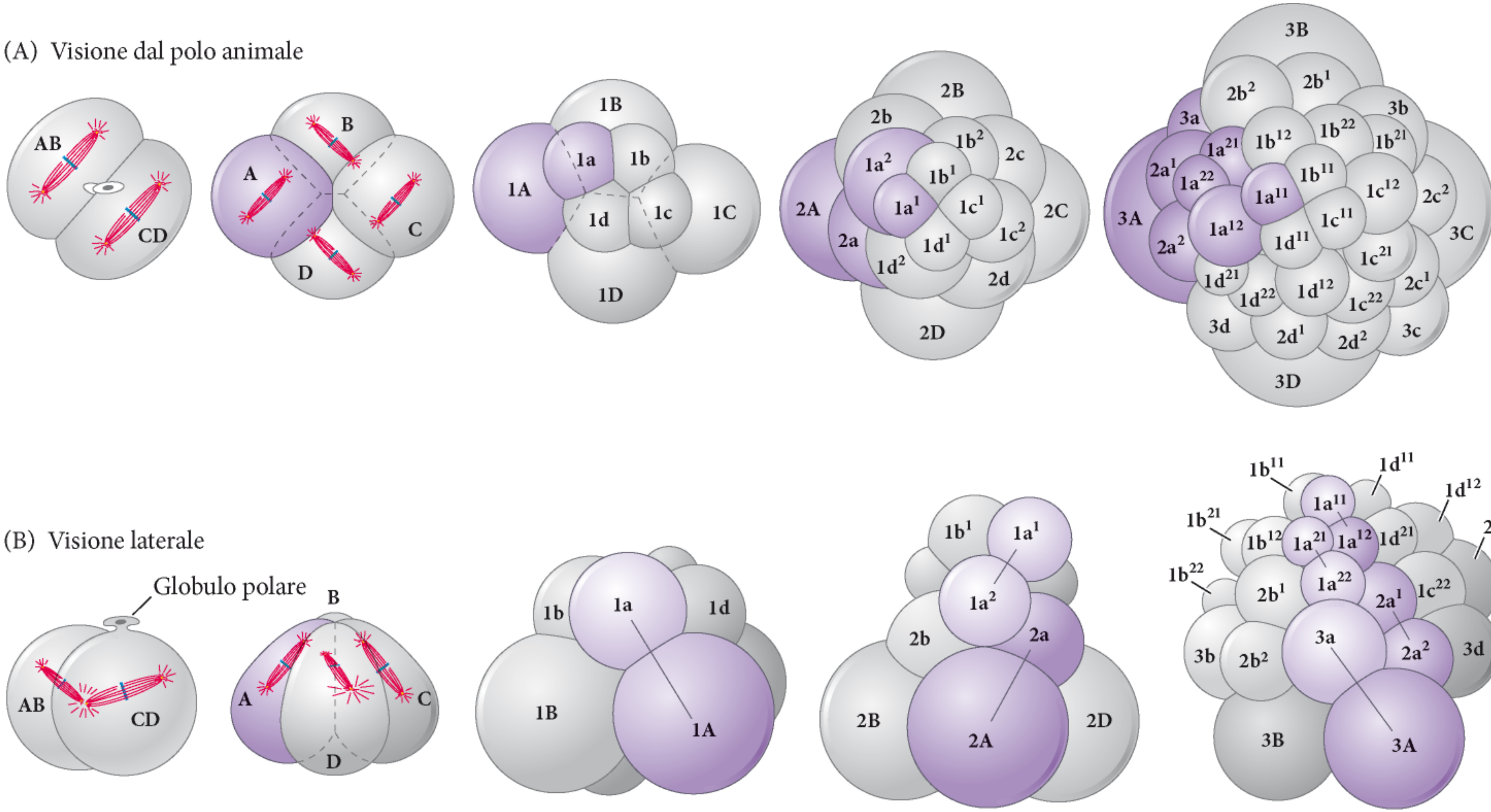




Segmentazione radiale e spirale

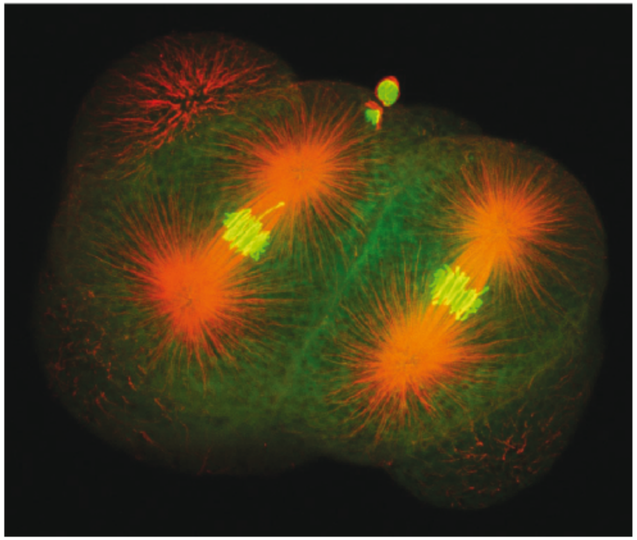




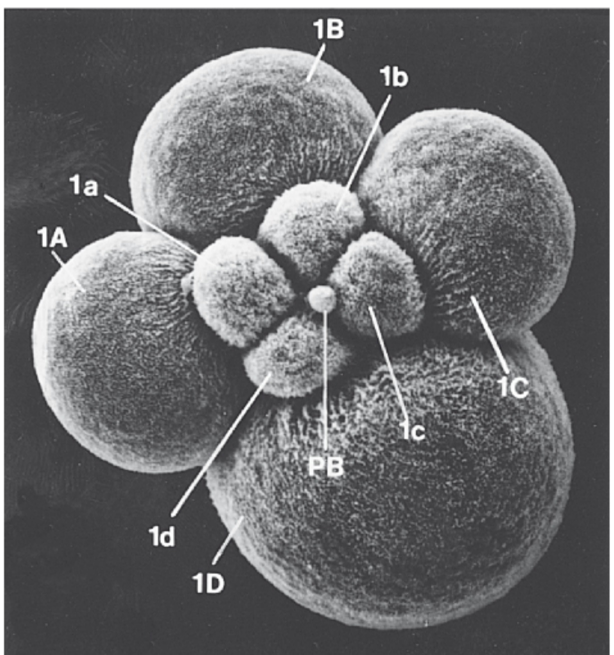


(A) Visione dal polo animale
AB
CD
A
B
C
D
1A
1B
1C
1D
1a
1b
1c
1d
2A
2B
2C
2D
2a
2b
2c
2d
$1a^{1}$
$1a^{2}$
$1b^{1}$
$1b^{2}$
$1c^{1}$
$1c^{2}$
$1d^{1}$
$1d^{2}$
3A
3B
3C
3D
3a
3b
3c
3d
$2a^{1}$
$2a^{2}$
$2b^{1}$
$2b^{2}$
$2c^{1}$
$2c^{2}$
$2d^{1}$
$2d^{2}$
$1a^{11}$
$1a^{12}$
$1a^{21}$
$1a^{22}$
$1b^{11}$
$1b^{12}$
$1b^{21}$
$1b^{22}$
$1c^{11}$
$1c^{12}$
$1c^{21}$
$1c^{22}$
$1d^{11}$
$1d^{12}$
$1d^{21}$
$1d^{22}$
(B) Visione laterale
Globulo polare
AB
CD
B
A
C
D
1b
1a
1d
1B
1A
$1b^{1}$
$1a^{1}$
$1a^{2}$
2b
2a
2B
2A
2D
$1b^{11}$
$1d^{11}$
$1d^{12}$
$1b^{21}$
$2d^{1}$
$1a^{11}$
$1b^{12}$
$1a^{21}$
$1a^{12}$
$1d^{21}$
$1b^{22}$
$2b^{1}$
$1a^{22}$
$2a^{1}$
$1c^{22}$
3a
3b
$2b^{2}$
$2a^{2}$
3d
3B
3A

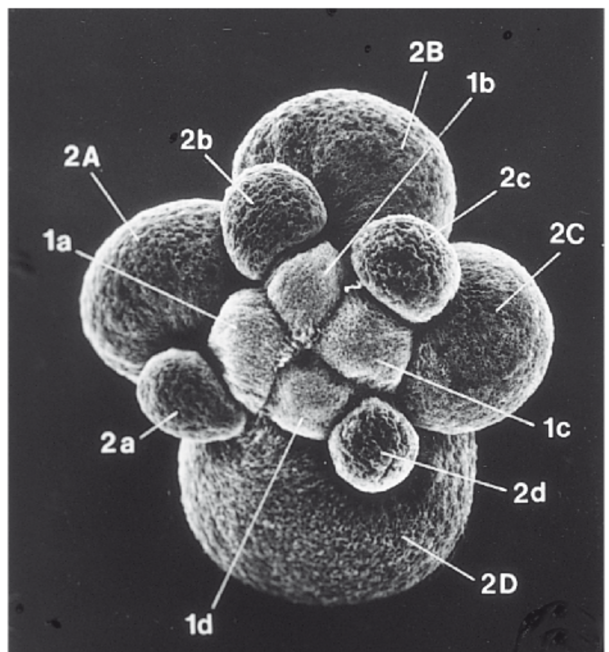
(A)



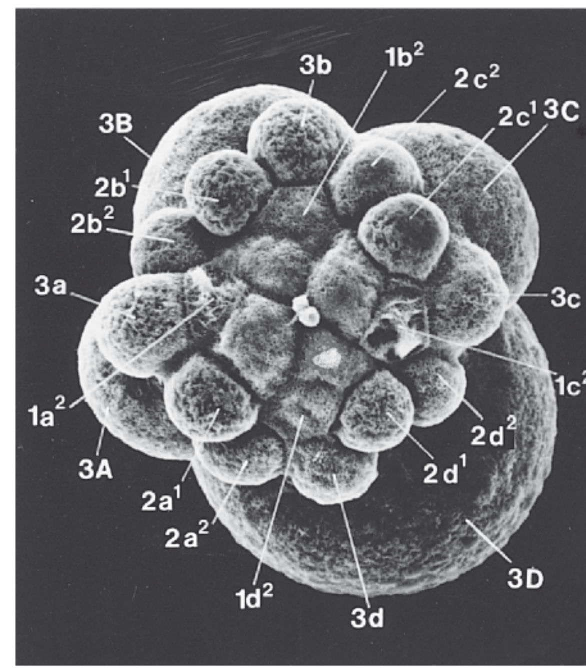
(B)

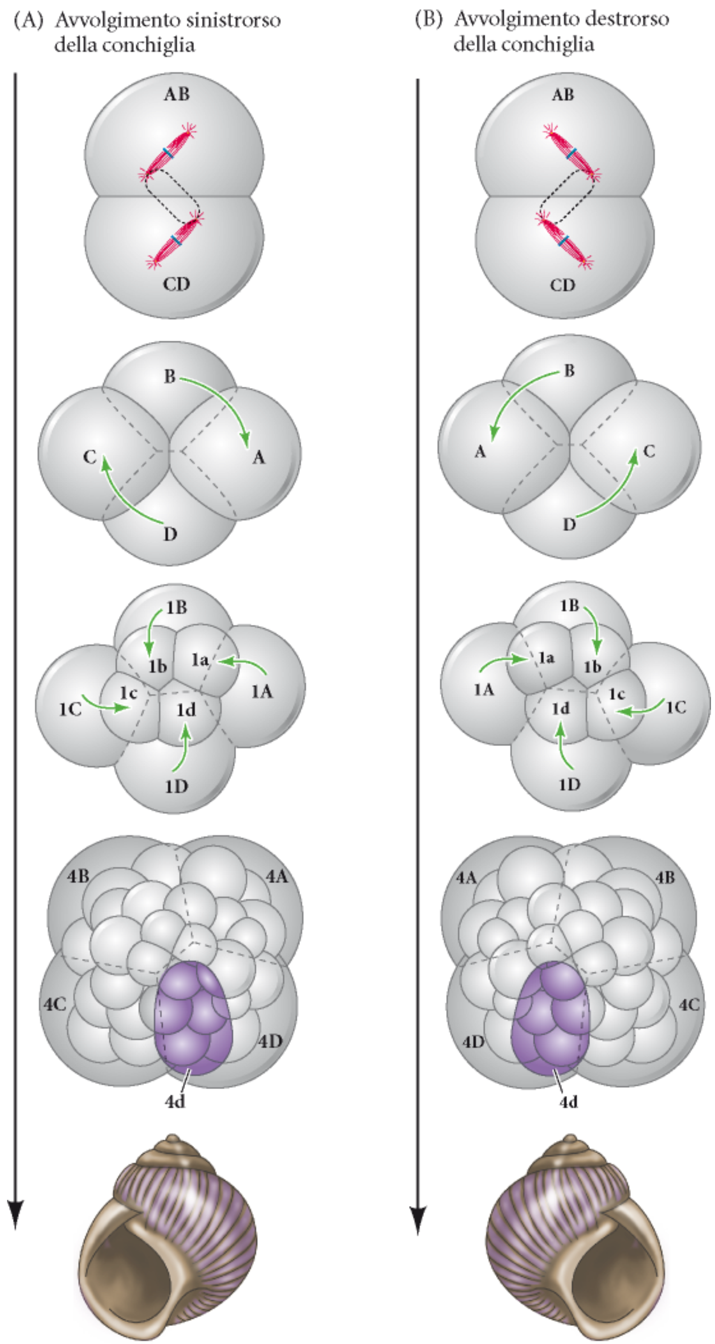

1B
1b
1a
1A
1C
1c
PB
1d
1D

(C)


2B
1b
2b
2A
2c
2C
1a
1c
2a
2d
2D
1d

(D)

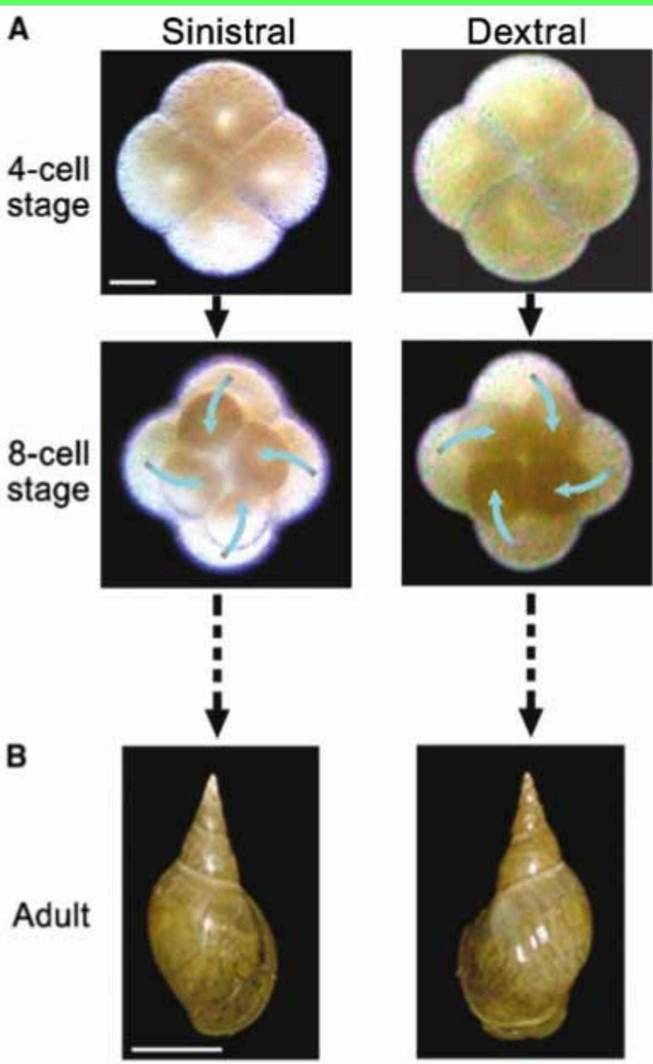

3b
$1b^2$
$2c^2$
3B
$2c^1$
3C
$2b^1$
$2b^2$
3a
3c
$1c^2$
$1a^2$
$2d^2$
3A
$2d^1$
$2a^1$
$2a^2$
3D
$1d^2$
3d



(A) Avvolgimento sinistrorso della conchiglia
(B) Avvolgimento destrorso della conchiglia
AB
CD
B
A
C
D
1B
1b
1a
1A
1C
1c
1d
1D
4B
4A
4C
4D
4d

Segmentazione spirale

I piani segmentazione sono diretti obliquamente all´asse animale-vegetativo : I blastomeri sono disposti in modo obliquo. Mancanza di blatocele ⟶ **Stereoblastula**



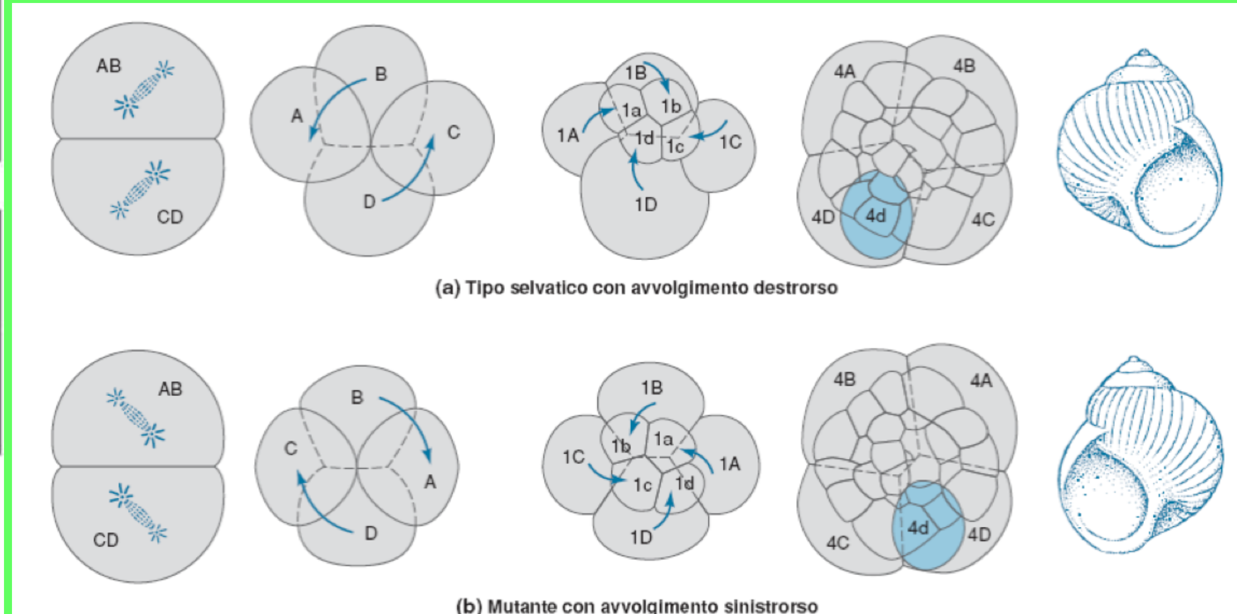
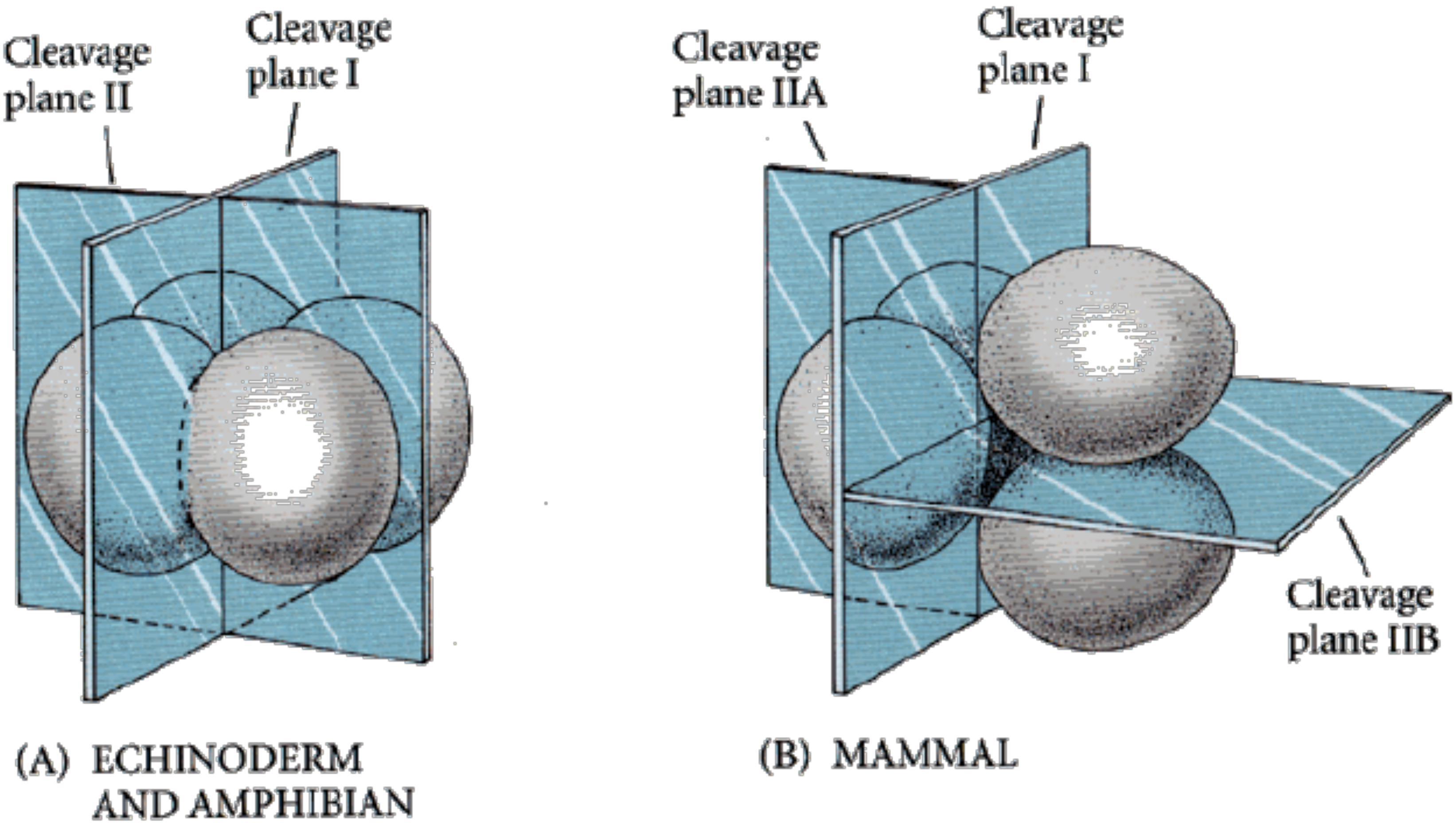


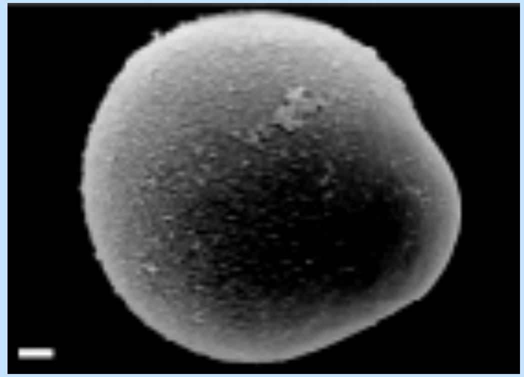
Figura 5.31 **Controllo genetico del tipo di segmentazione embrionale e avvolgimento della conchiglia nella chiocciola** ***Lymnaea peregra*****.** **(a)** A destra l'avvolgimento destrorso della conchiglia tipico della maggior parte degli individui. **(b)** Allele mutato che determina l'avvolgimento sinistrorso della conchiglia. La direzione dell'avvolgimento della conchiglia dipende dalla posizione del blastomero 4d, indicato in scuro, responsabile della formazione della ghiandola della conchiglia. L'origine dell'avvolgimento destrorso o sinistrorso si può fare risalire all'orientamento del fuso mitotico nella seconda divisione di segmentazione. Le chiocciole con avvolgimento destrorso e sinistrorso si sviluppano come immagini speculari le une delle altre. La segmentazione destrorsa dipende dall'attività di un singolo gene durante l'ovogenesi.

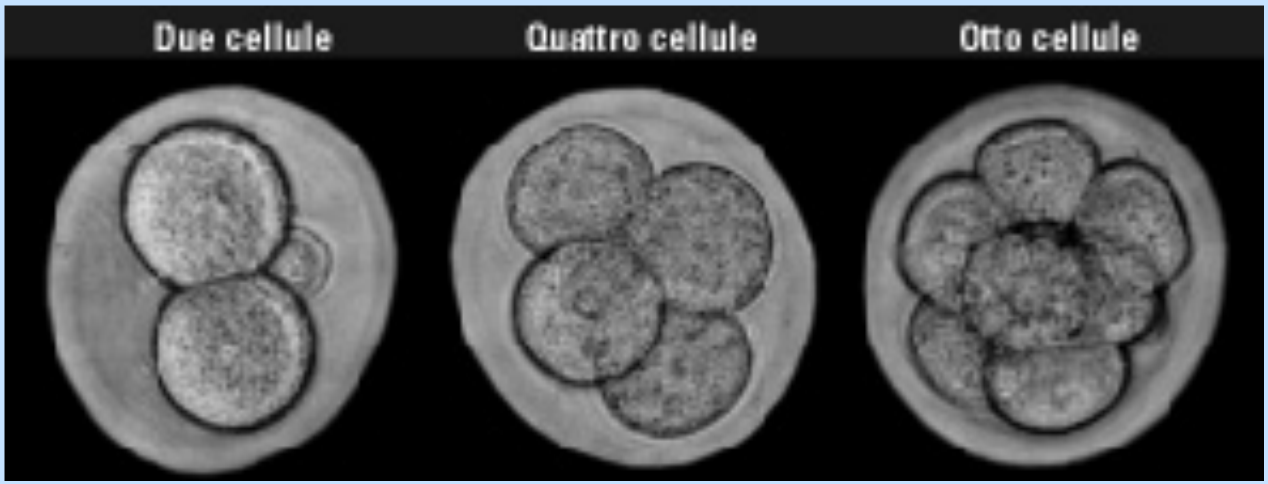
Durante la quarta segmentazione l´orientamento del fuso si sposta di 90 gradi.
Dai primi 4 micromeri derivano le strutture del capo , dal secondo quartetto la stotocisti, organo dell´equilibrio , nei gasteropi la conchiglia

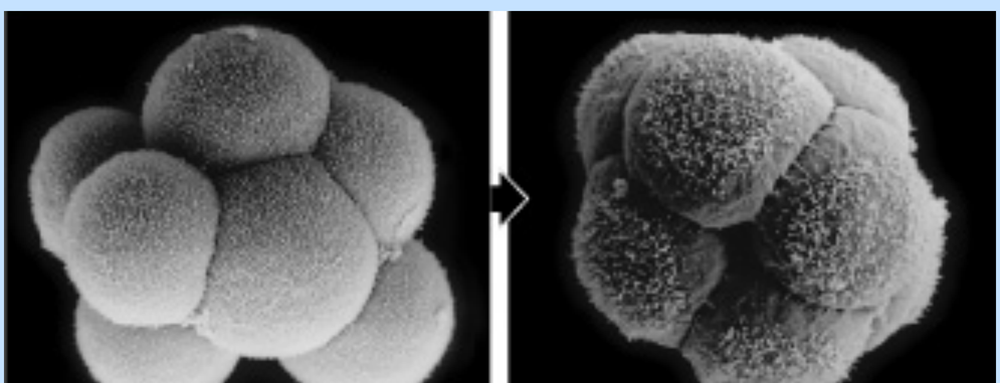
Segmentazione totale rotazionale (Mammiferi)
Piani di taglio iniziali

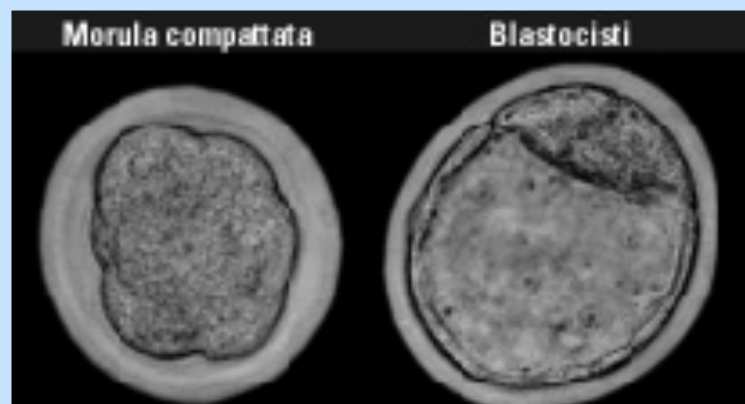


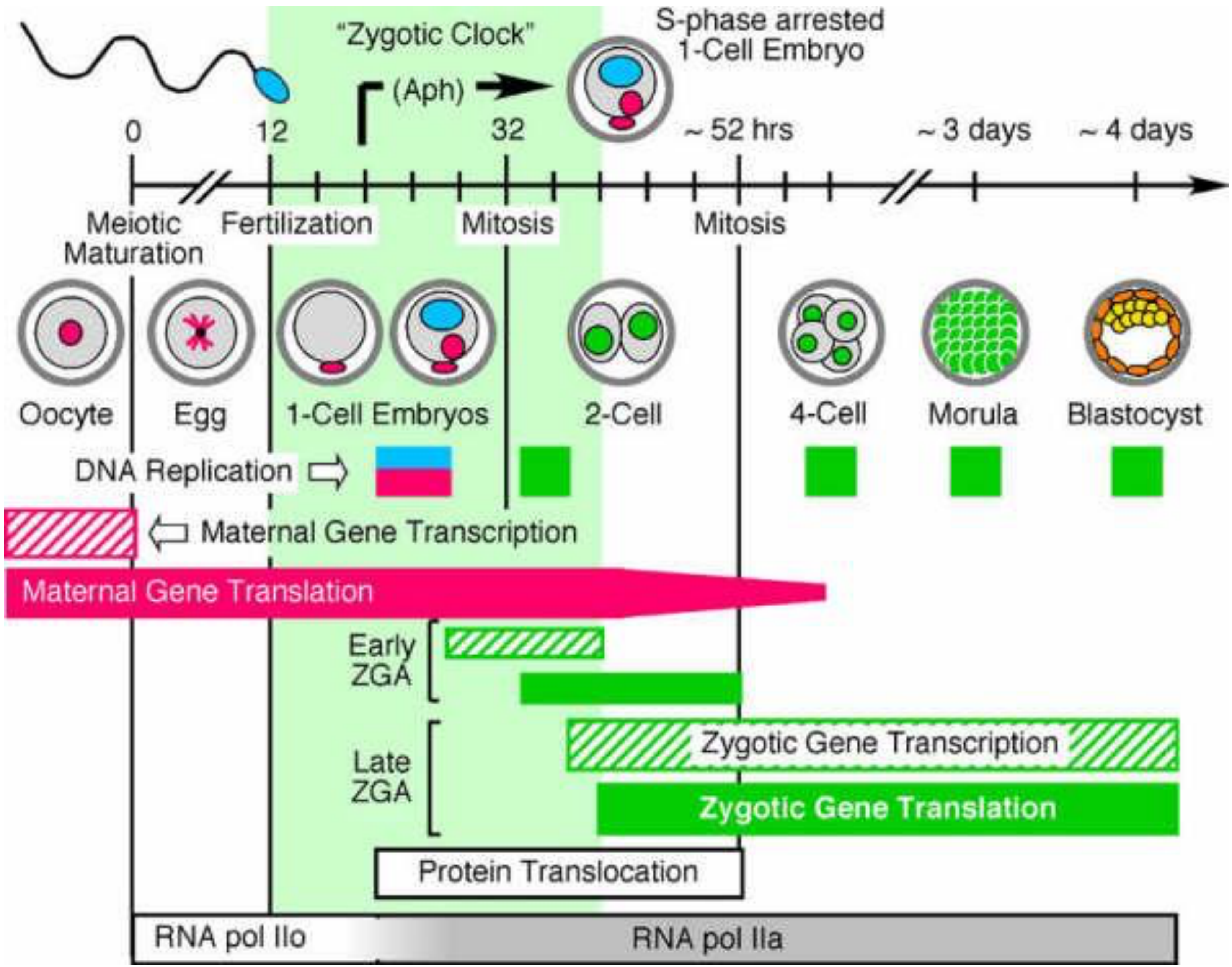
Segmentazione totale rotazionale (mammiferi)



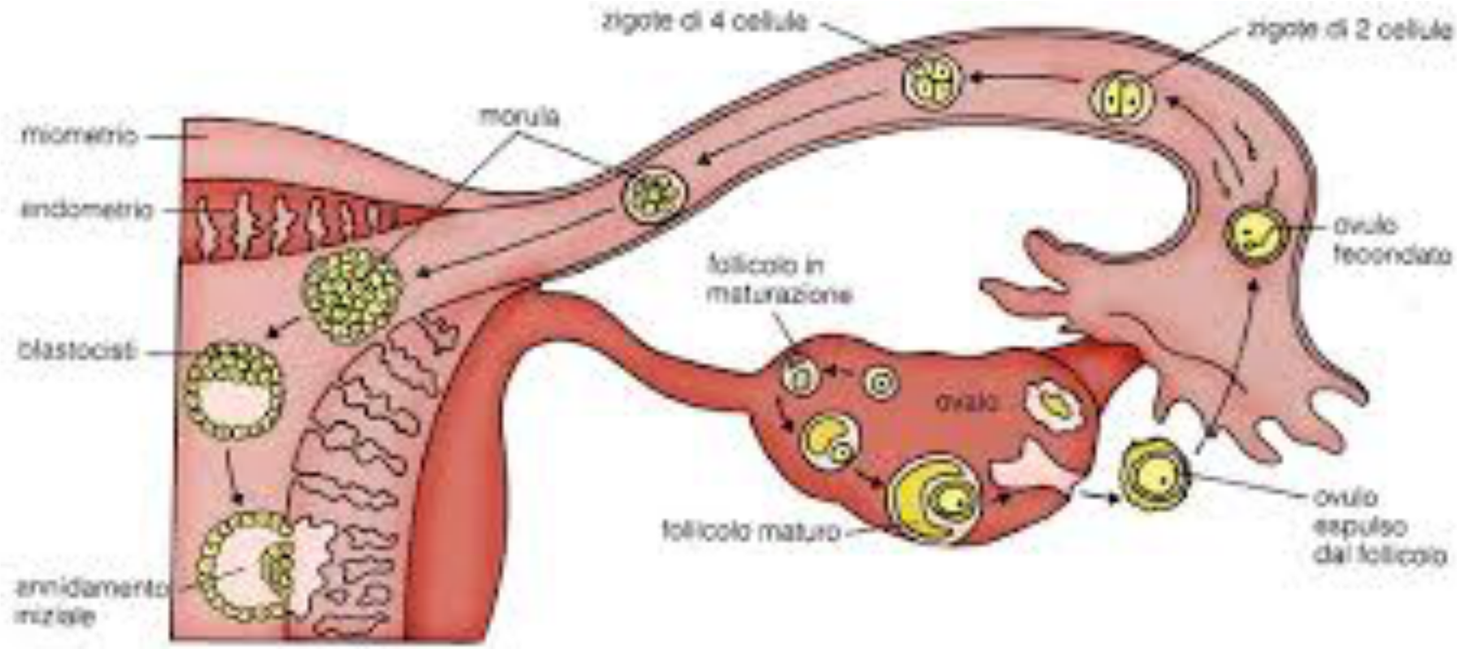






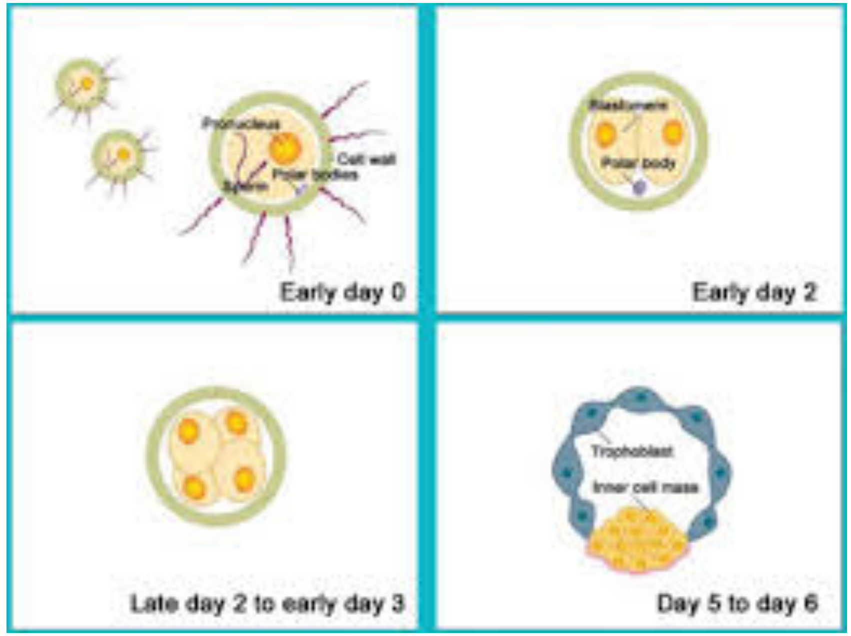


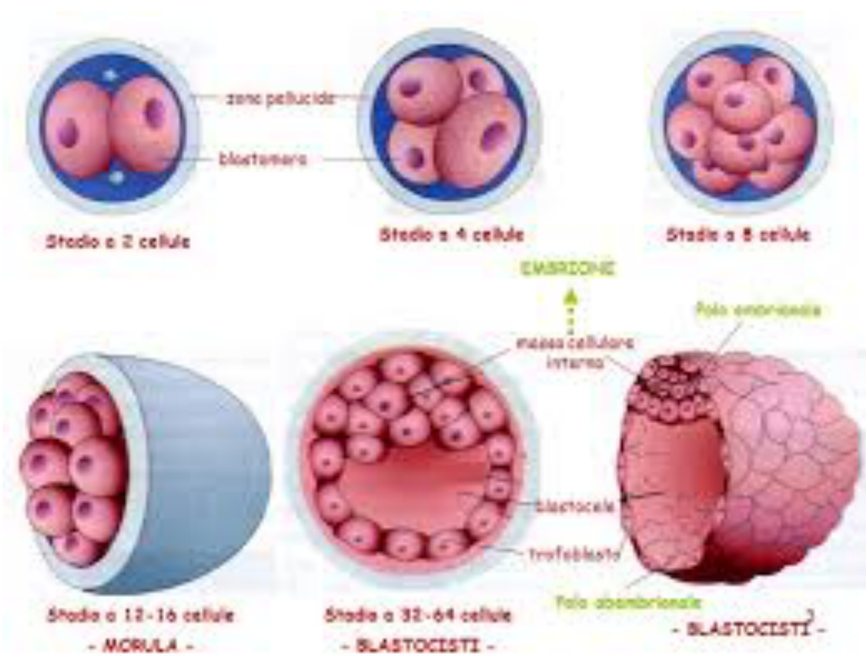
"Zygotic Clock"
(Aph)
S-phase arrested
1-Cell Embryo
0
12
32
~ 52 hrs
~ 3 days
~ 4 days
Meiotic
Maturation
Fertilization
Mitosis
Mitosis
Oocyte
Egg
1-Cell Embryos
2-Cell
4-Cell
Morula
Blastocyst
DNA Replication
Maternal Gene Transcription
Maternal Gene Translation
Early
ZGA
Late
ZGA
Zygotic Gene Transcription
Zygotic Gene Translation
Protein Translocation
RNA pol IIo
RNA pol IIa

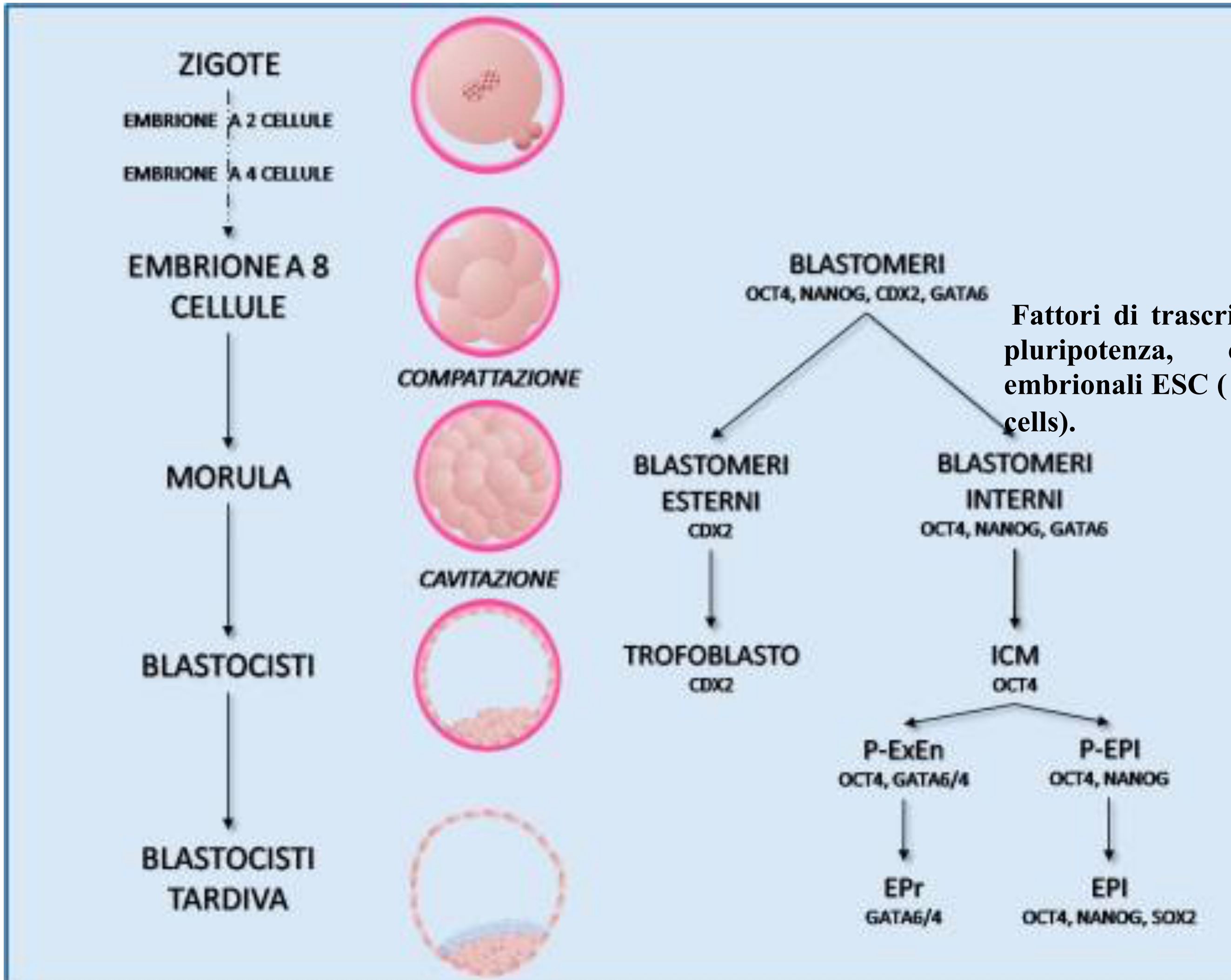


I blastomeri esterni tramite endocitosi attraverso le superfici esterne, iniziano a prelevare fluido dalla cavita´uterina e riversarla in cavità che si sono formate tra i blastomeri, queste si fondono e formano la cavita della blastocisti.

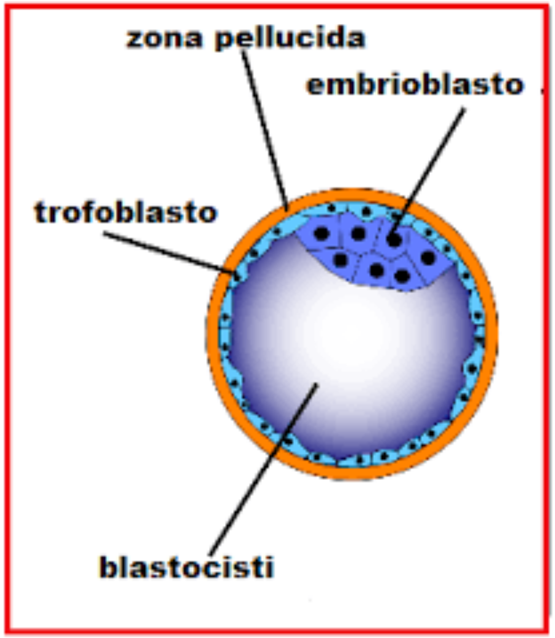
Blastocisti 32-64 blastomeri.


Pronucleus
Cell wall
Polar bodies
Sperm
Early day 0
Blastomere
Polar body
Early day 2
Late day 2 to early day 3
Trophoblast
Inner cell mass
Day 5 to day 6


zona pellucida
blastomero
Stadio a 2 cellule
Stadio a 4 cellule
Stadio a 8 cellule
EMBRIONE
Polo embrionale
massa cellulare interna
blastocele
trofoblasto
Polo abembrionale
Stadio a 12-16 cellule
- MORULA -
Stadio a 32-64 cellule
- BLASTOCISTI -
- BLASTOCISTI -

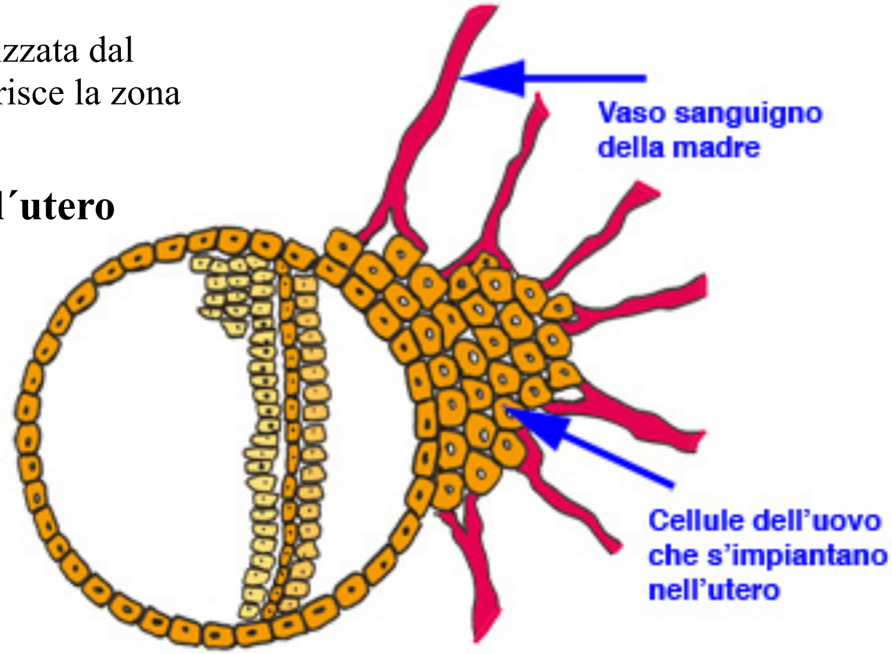


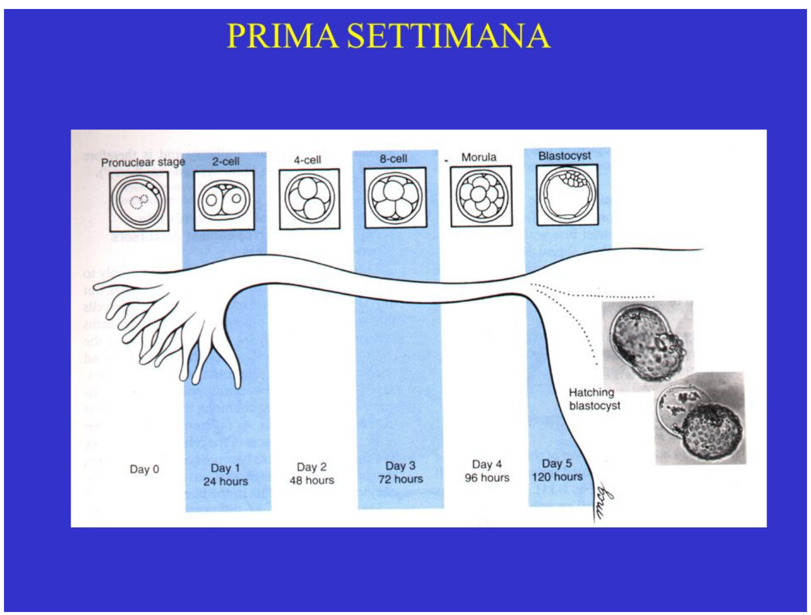
Fattori di trascrizione associati alla pluripotenza, cellule staminali embrionali ESC (embrionic staminal cells).

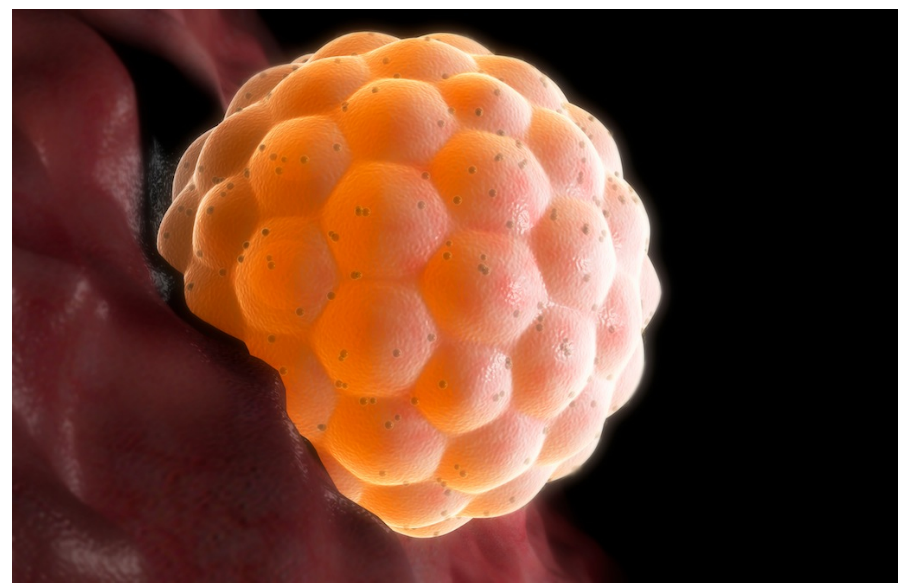


Stripsina: sintetizzata dal trofoblasto digerisce la zona pellucida

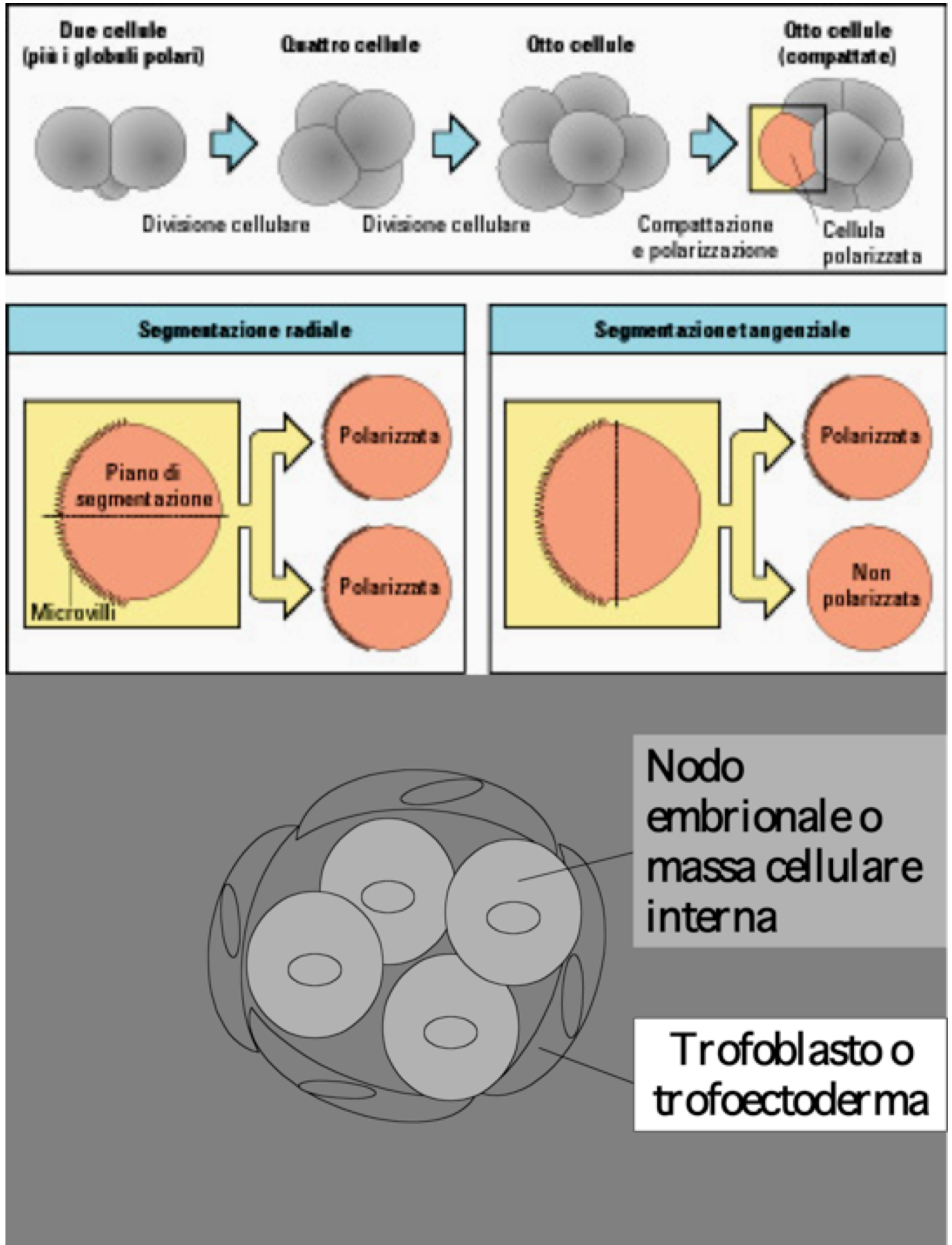
Impianto nell´utero





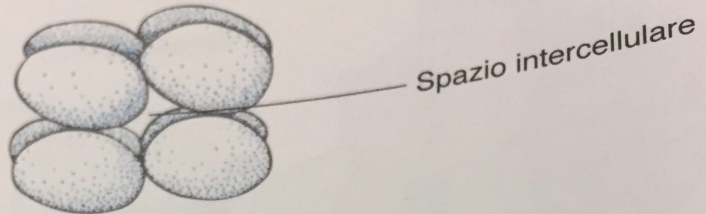


Schema segmentazione mammiferi

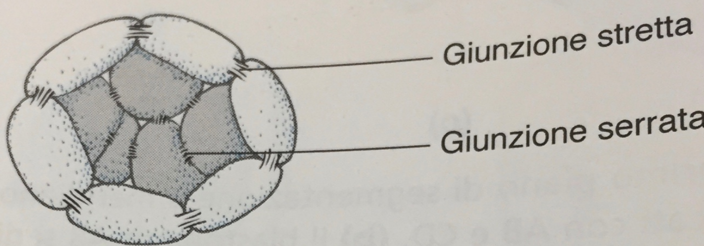


Embrione ed annessi embrionali

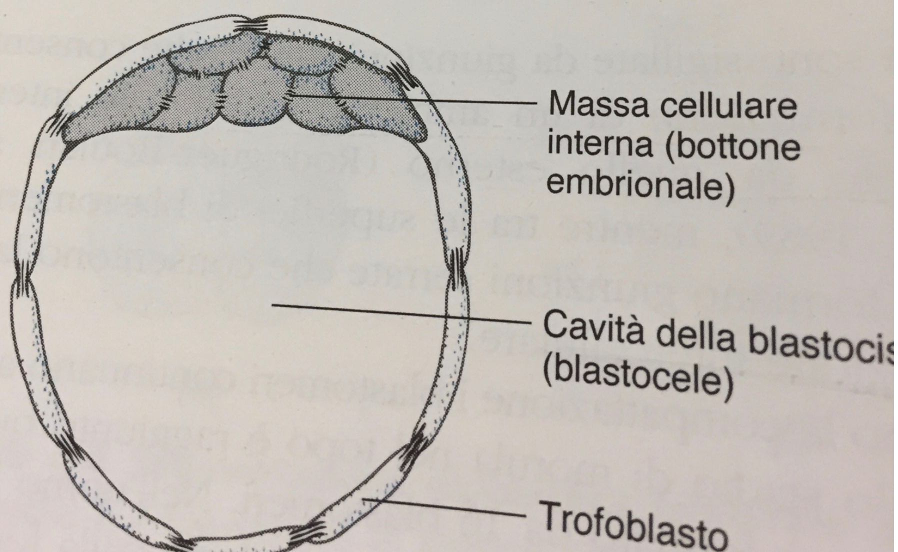
Partecipano alla formazione della placenta



(a) Stadio a 8 blastomeri

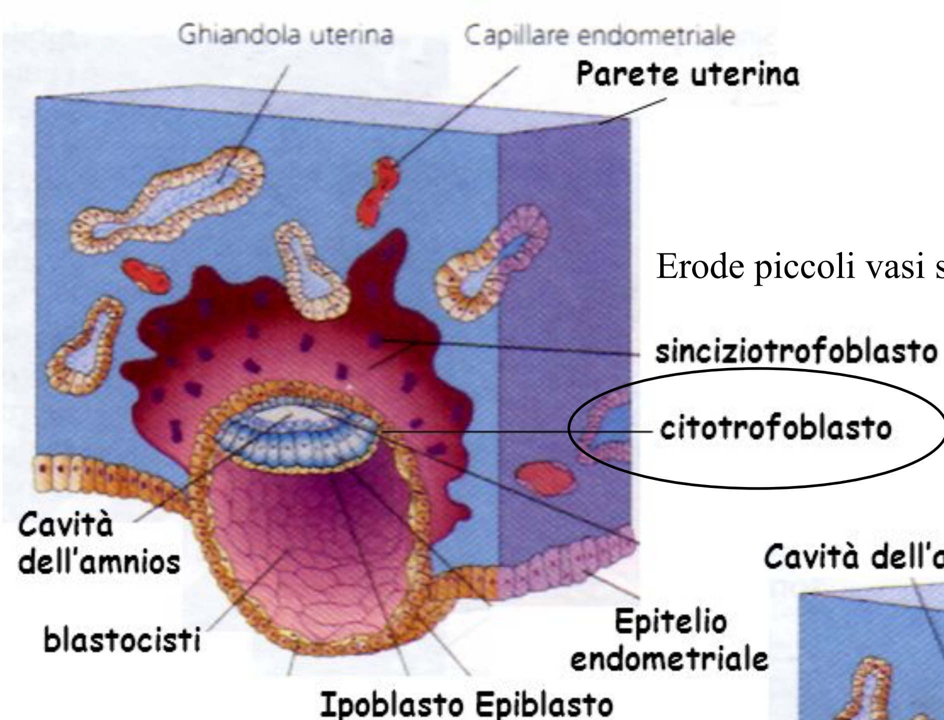


(b) Stadio a 16 blastomeri

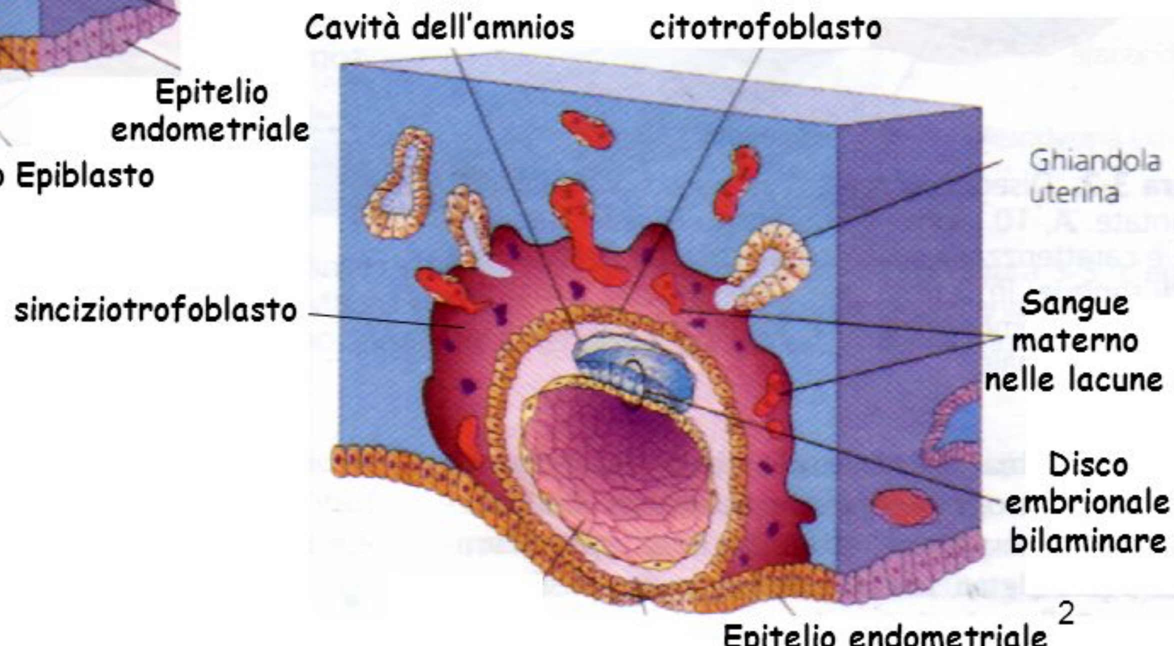


(c) Stadio a 32-64 blastom

Annidamento della basticisti nell´utero



Erode piccoli vasi sanguigni materni per il nutrimento



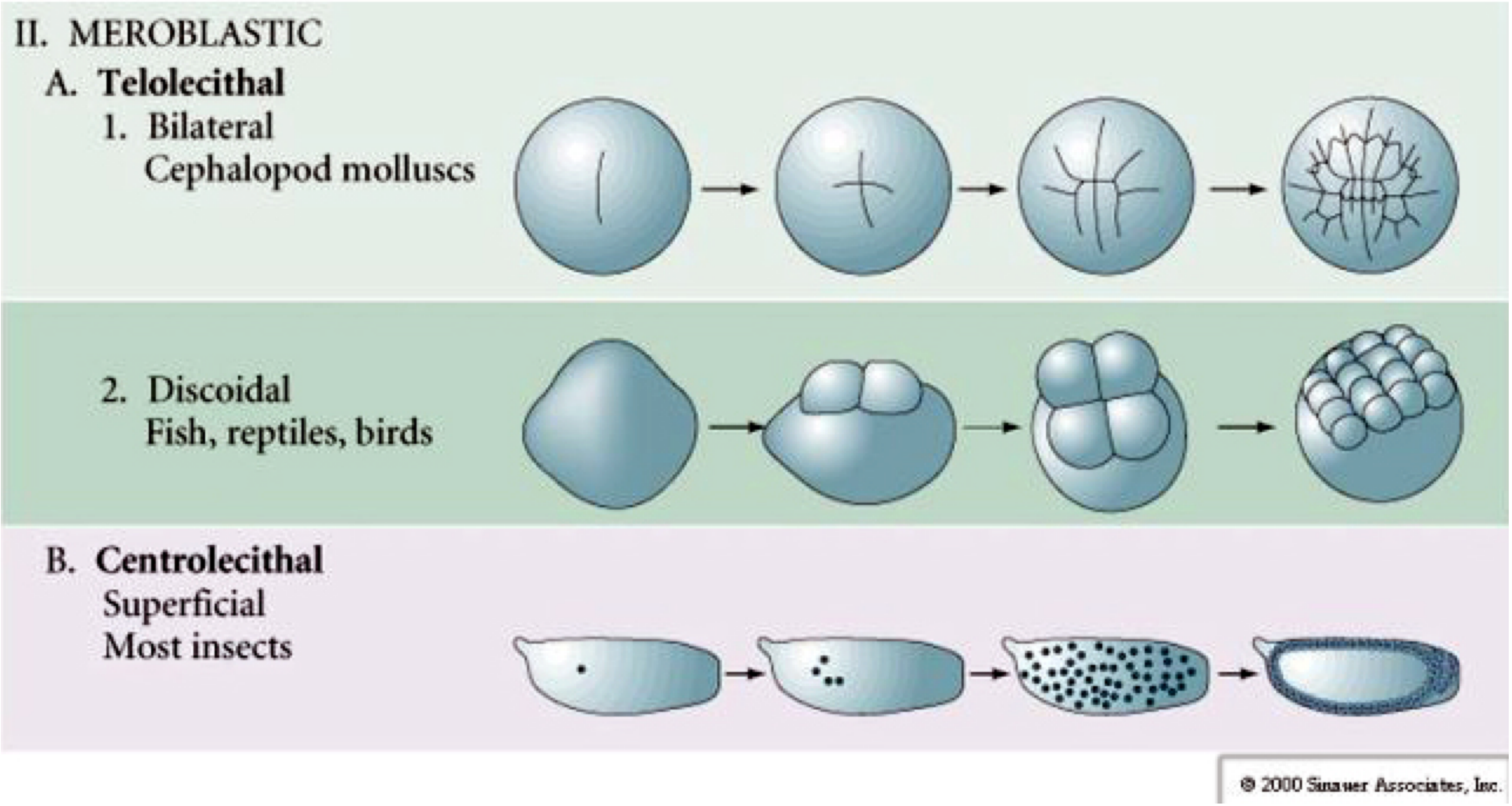
6°-9° gg

https://www.youtube.com/watch?v=UgT5rUQ9EmQ

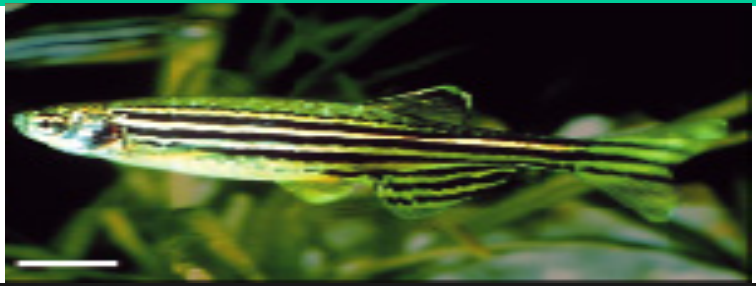
https://www.youtube.com/watch?v=PedajVADLGw

La segmentazione è influenzata dalla presenza del vitello che rallenta od ostacola la formazione del solco di divisione

Quindi in base al tipo di uovo vi sono due grosse modalità di segmentazione: TOTALE o OLOBLASTICA - PARZIALE o MEROBLASTICA



Segmentazione parziale discoidale



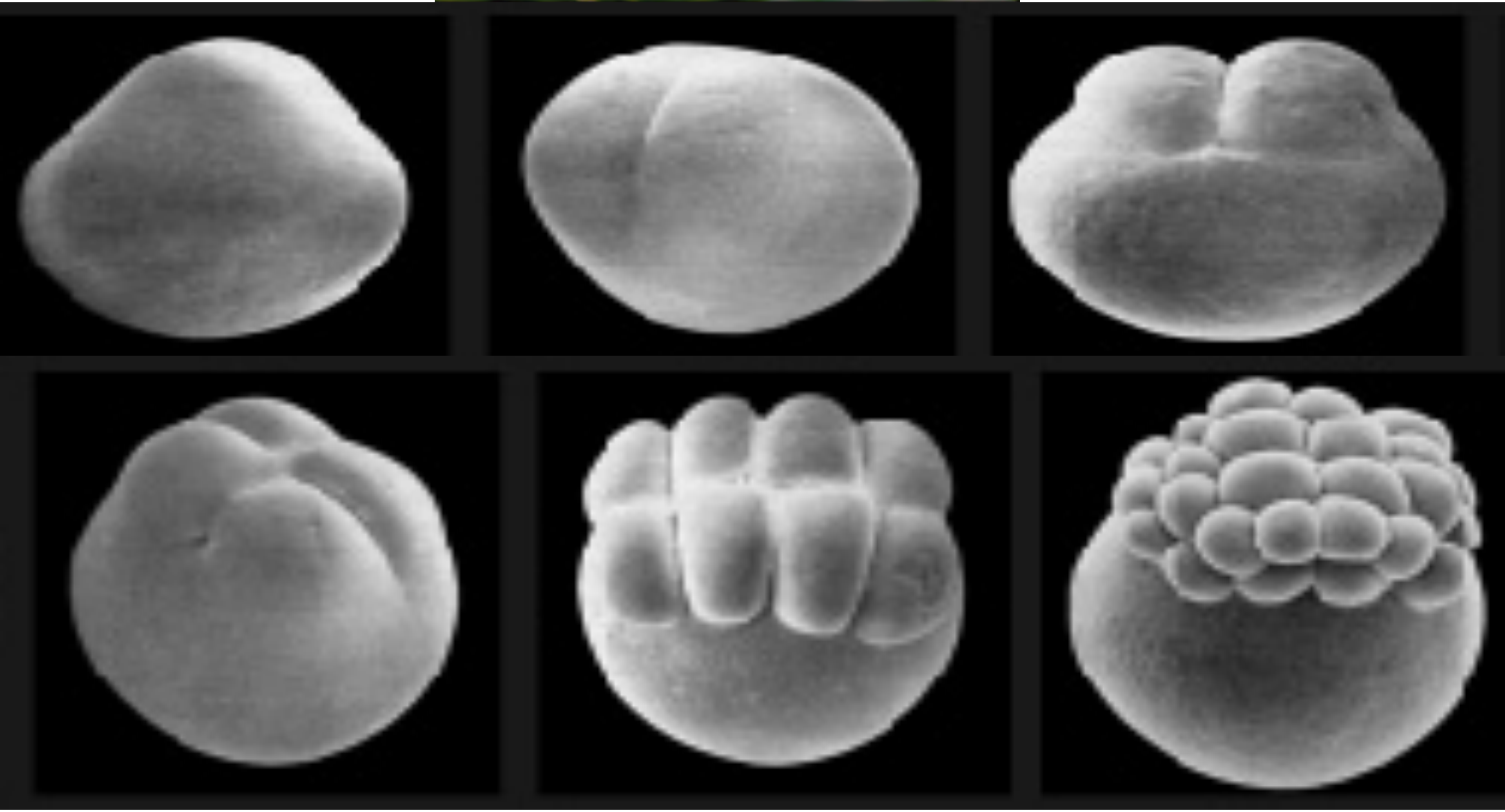
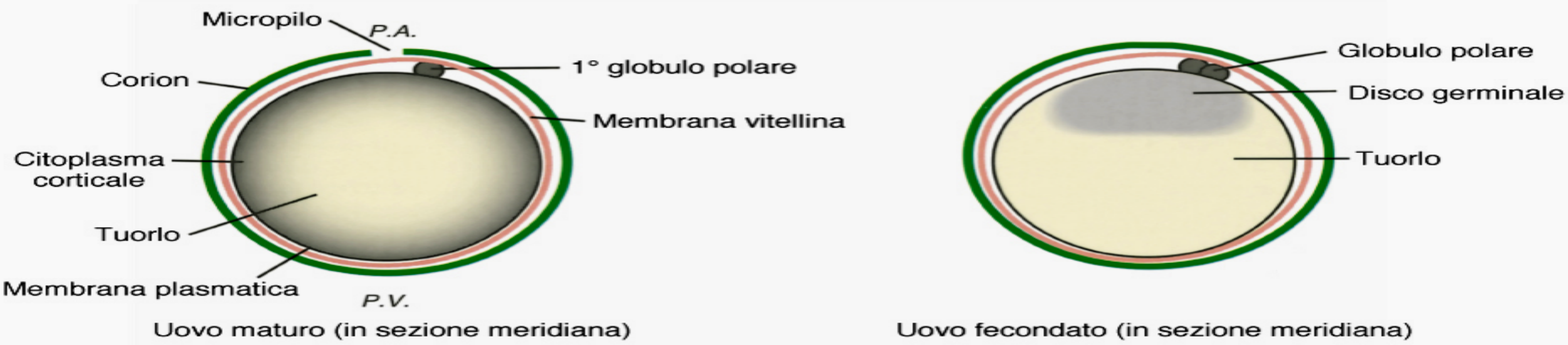


Fig. 7.1: ***Prime tappe della segmentazione***

a) L'uovo prima e dopo la fecondazione



b) La segmentazione: primi stadi (vedute laterali esterne)

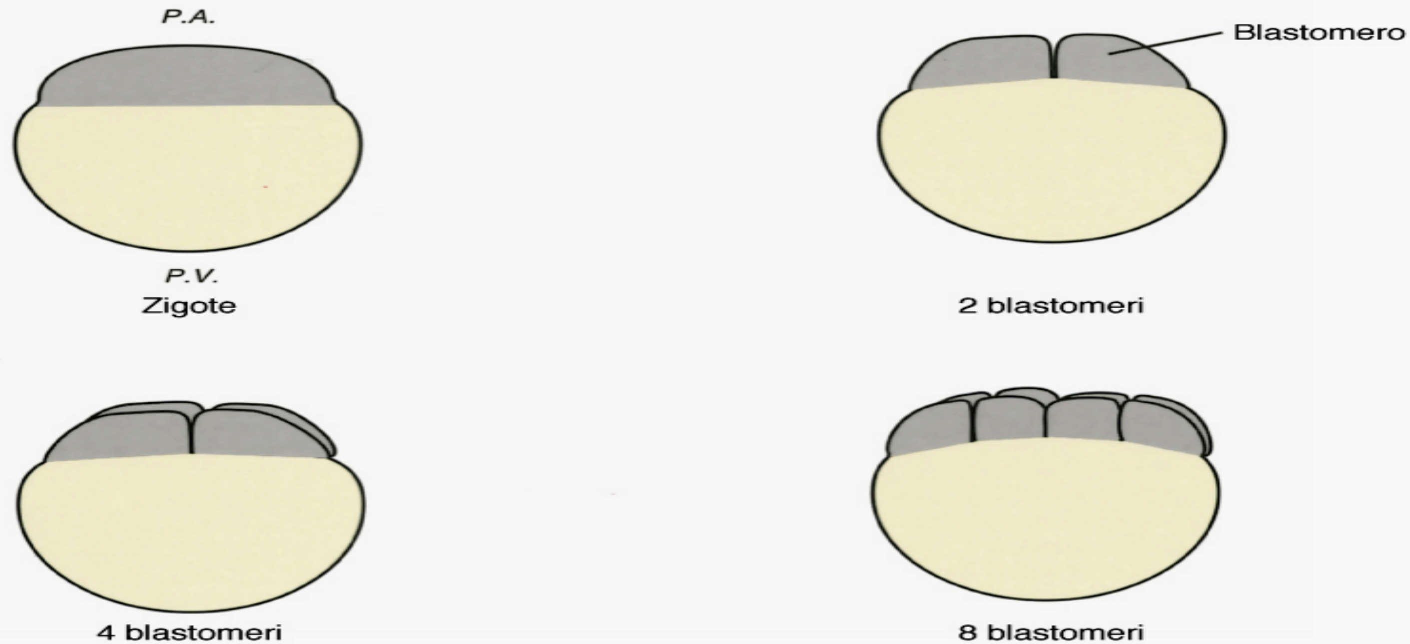
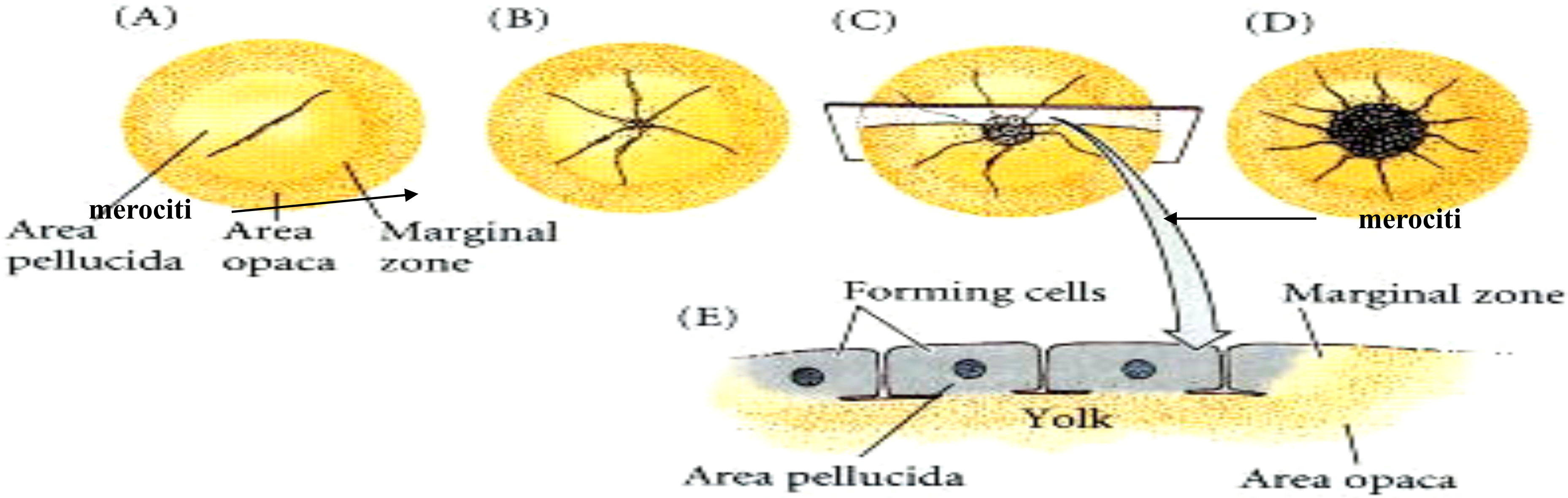
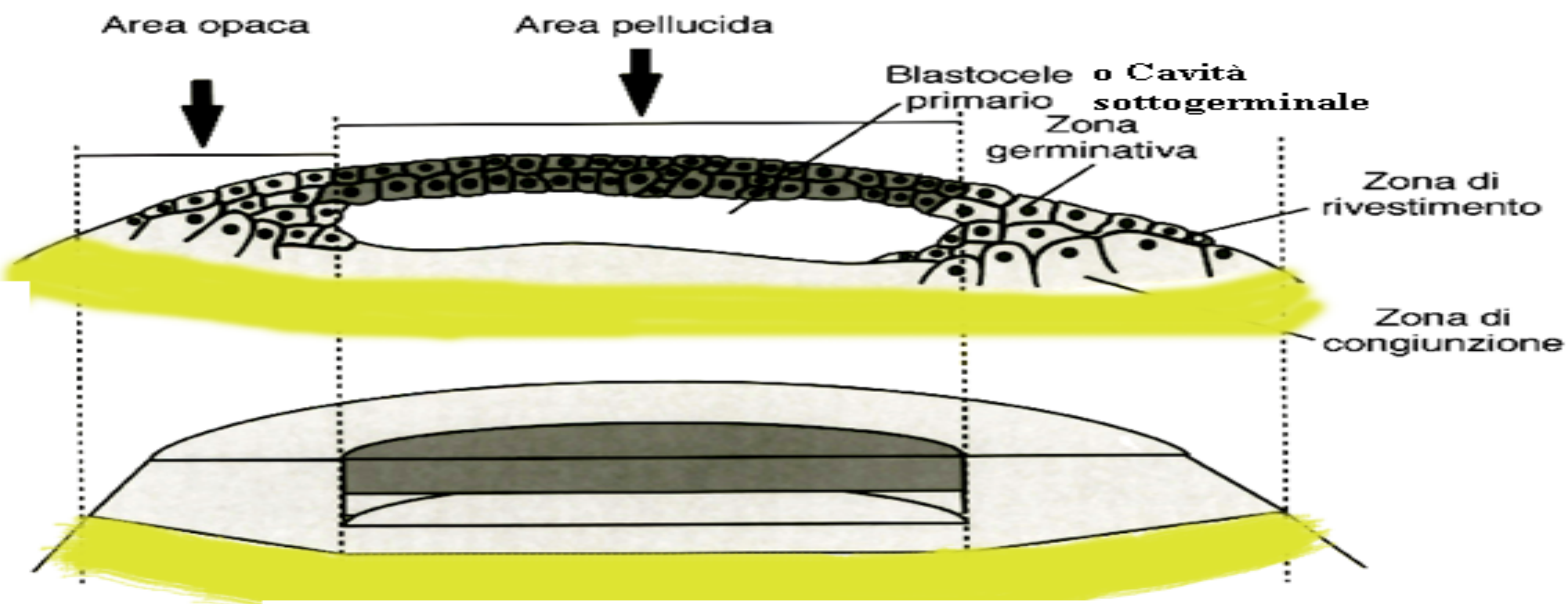


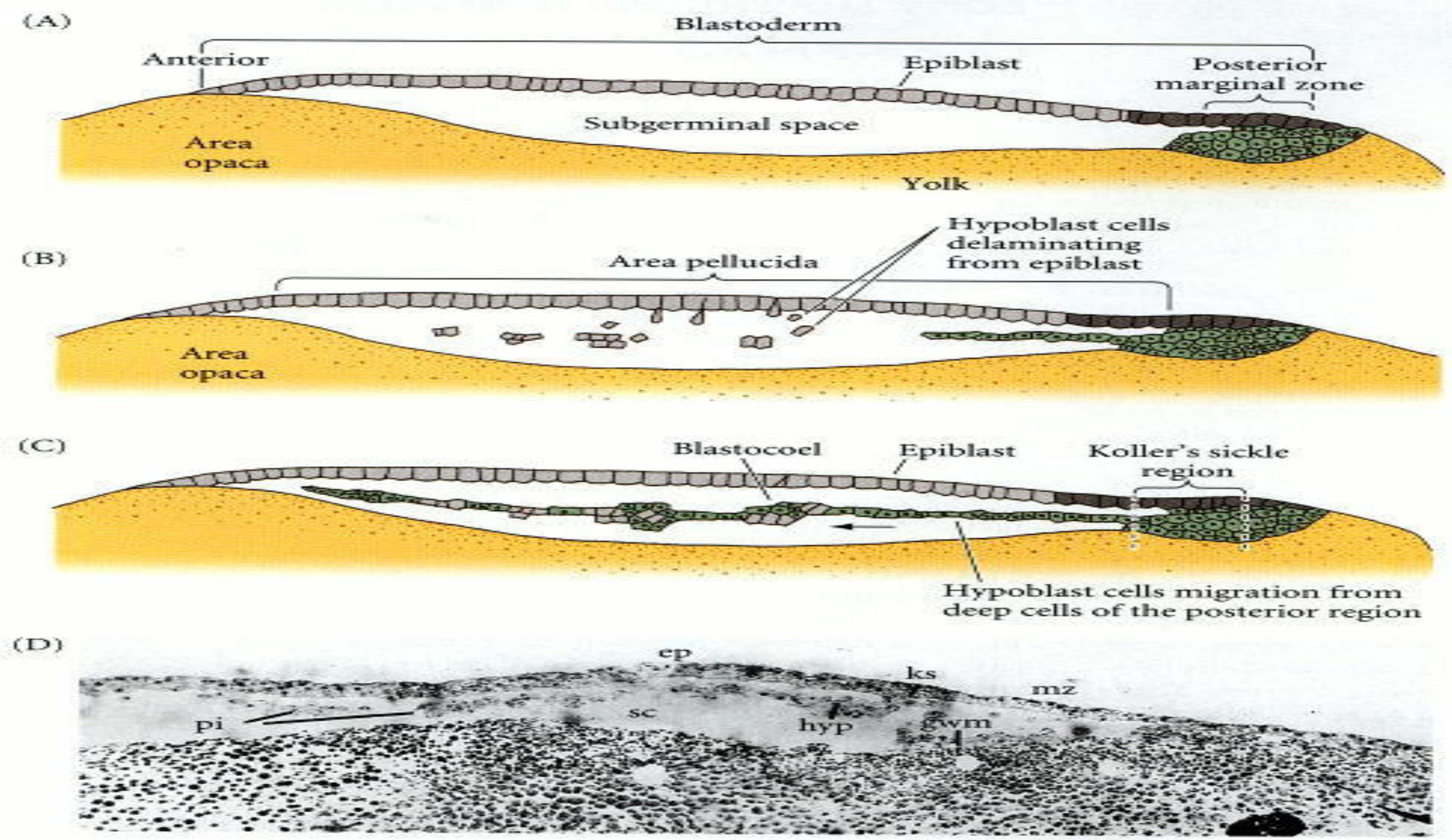
Fig. 9.2: *La segmentazione*

a) Osservazione ed evoluzione in una veduta polare del disco germinativo

b) Osservazioni in sezione del disco germinativo

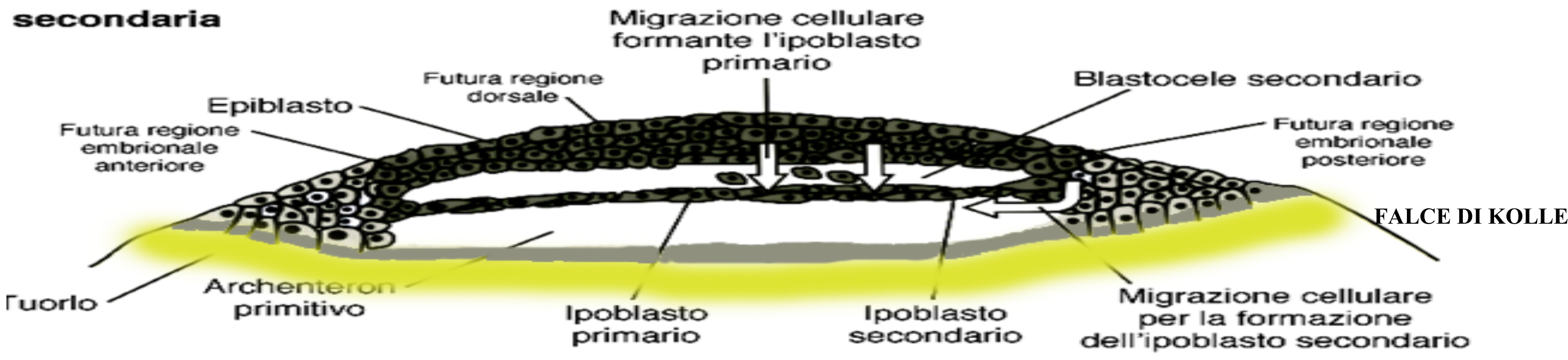

(A)
(B)
(C)
(D)
merociti
Area pellucida
Area opaca
Marginal zone
merociti
(E)
Forming cells
Marginal zone
Yolk
Area pellucida
Area opaca


Area opaca
Area pellucida
Blastocele primario o Cavità sottogerminale
Zona germinativa
Zona di rivestimento
Zona di congiunzione



(A)
Blastoderm
Anterior
Epiblast
Posterior marginal zone
Subgerminal space
Area opaca
Yolk
(B)
Hypoblast cells delaminating from epiblast
Area pellucida
Area opaca
(C)
Blastocoel
Epiblast
Koller's sickle region
Hypoblast cells migration from deep cells of the posterior region
(D)
ep
ks
mz
pi
sc
hyp

secondaria

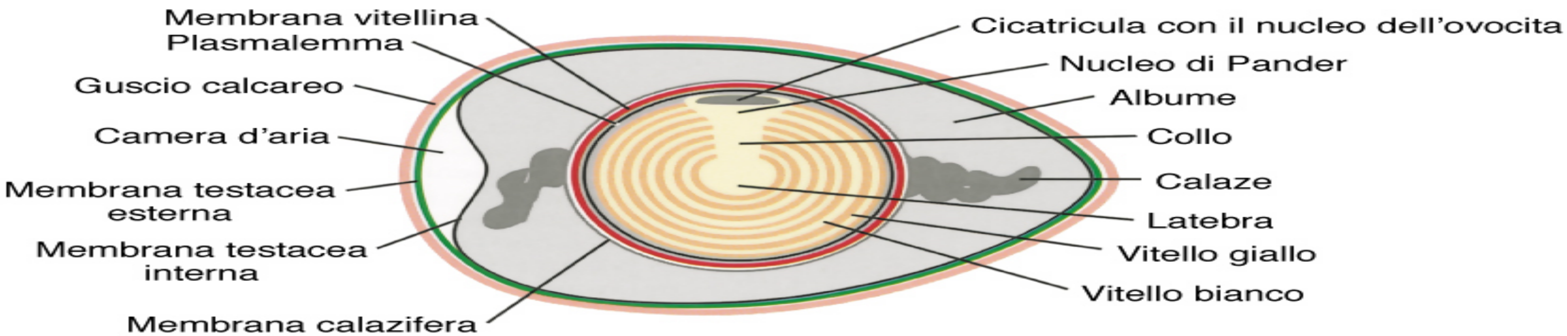


Migrazione cellulare formante l'ipoblasto primario
Futura regione dorsale
Blastocele secondario
Epiblasto
Futura regione embrionale anteriore
Futura regione embrionale posteriore
FALCE DI KOLLE
Tuorlo
Archenteron primitivo
Ipoblasto primario
Ipoblasto secondario
Migrazione cellulare per la formazione dell'ipoblasto secondario

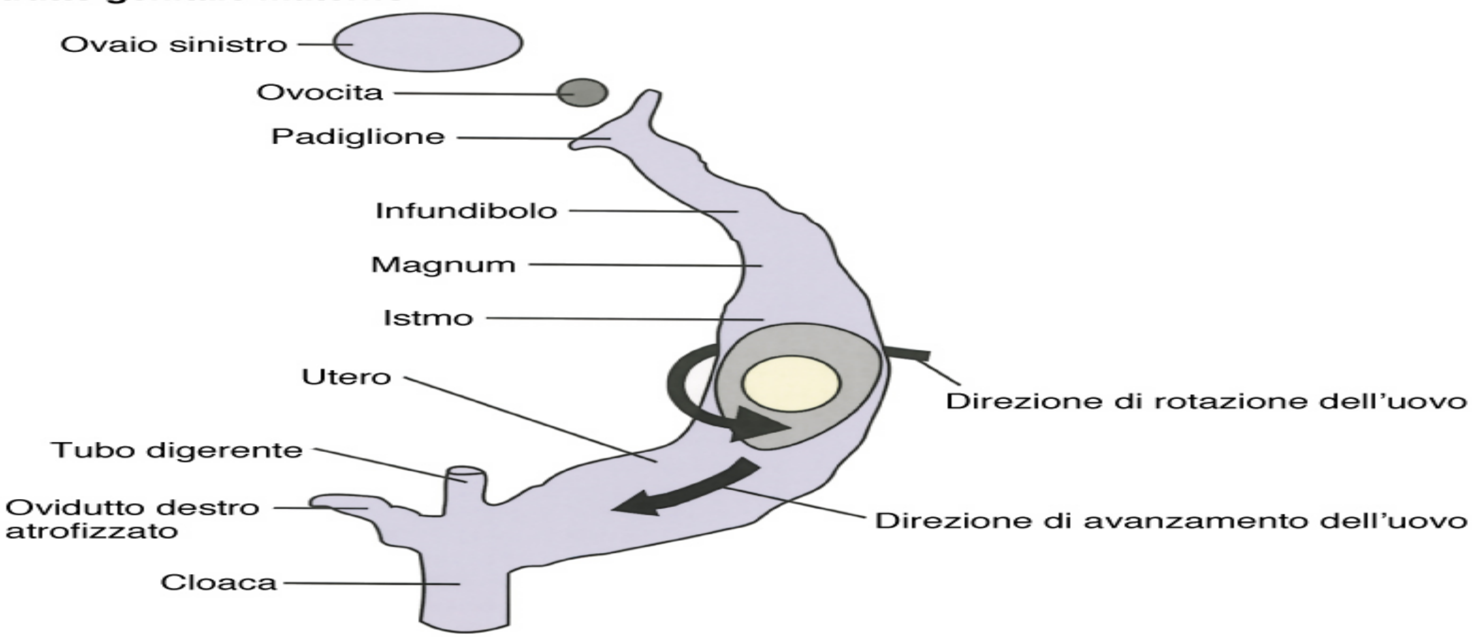
https://www.youtube.com/watch?v=-Ah-gT0hTto

Fig. 9.1: ***Organizzazione dell'uovo e transito nel tratto genitale materno***

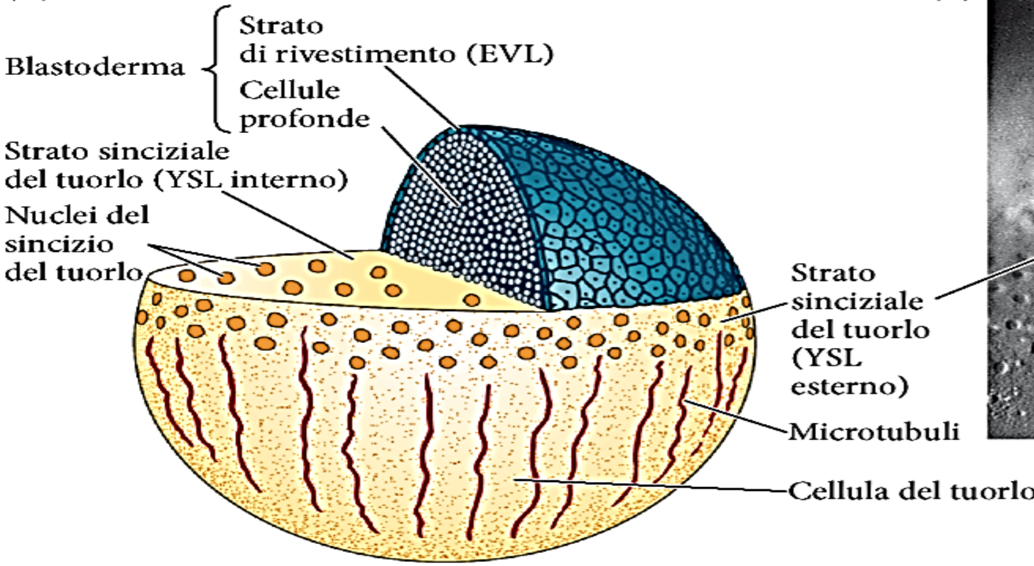
a) Organizzazione dell'uovo



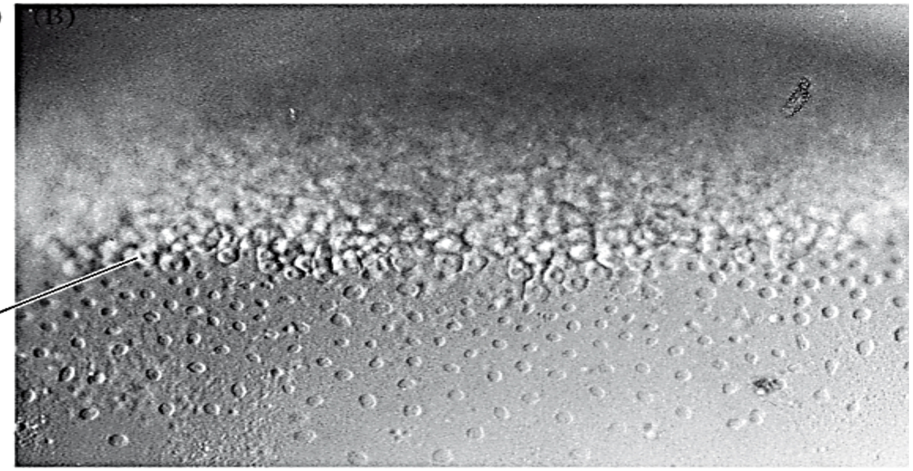
b) Transito nel tratto genitale materno



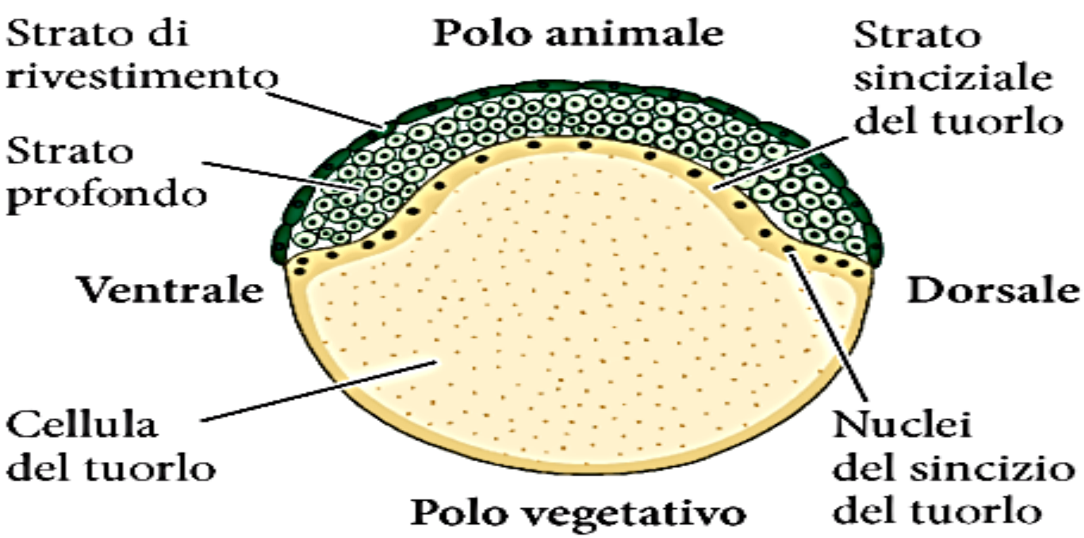
(A)


Blastoderma
Strato di rivestimento (EVL)
Cellule profonde
Strato sinciziale del tuorlo (YSL interno)
Nuclei del sincizio del tuorlo
Strato sinciziale del tuorlo (YSL esterno)
Microtubuli
Cellula del tuorlo

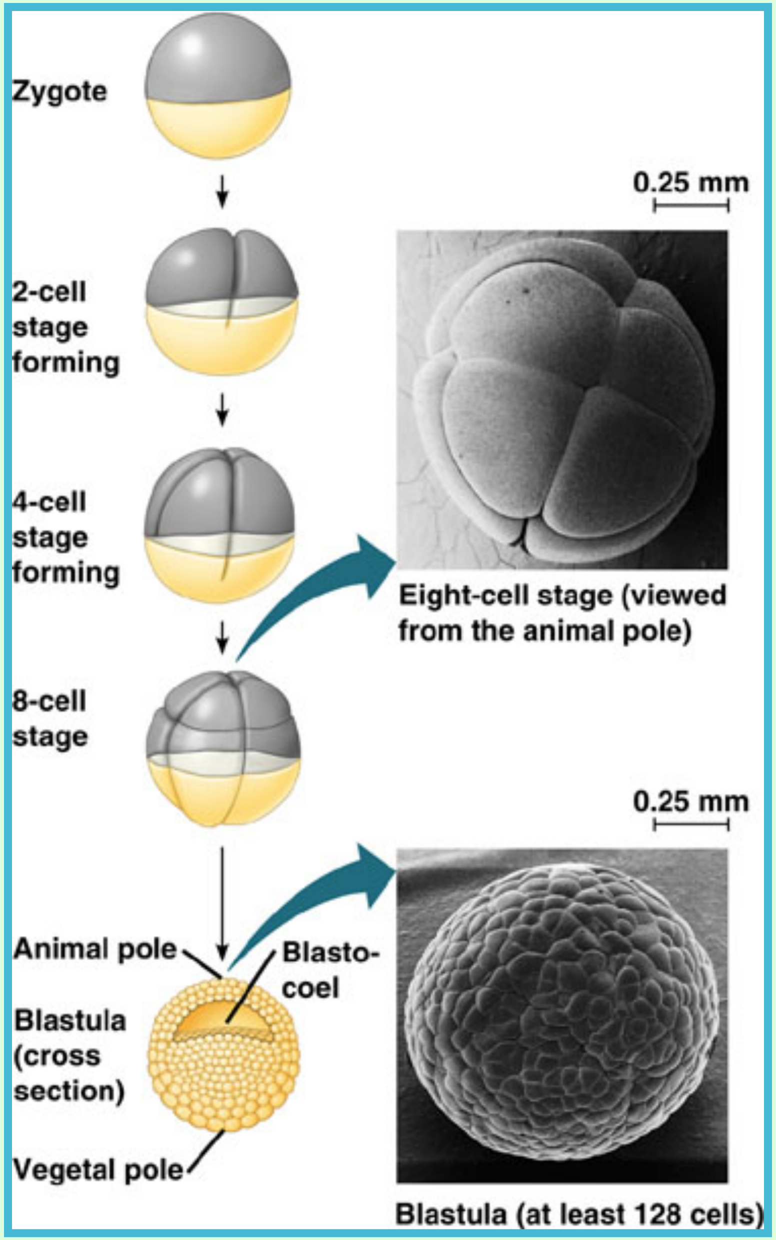
(B)

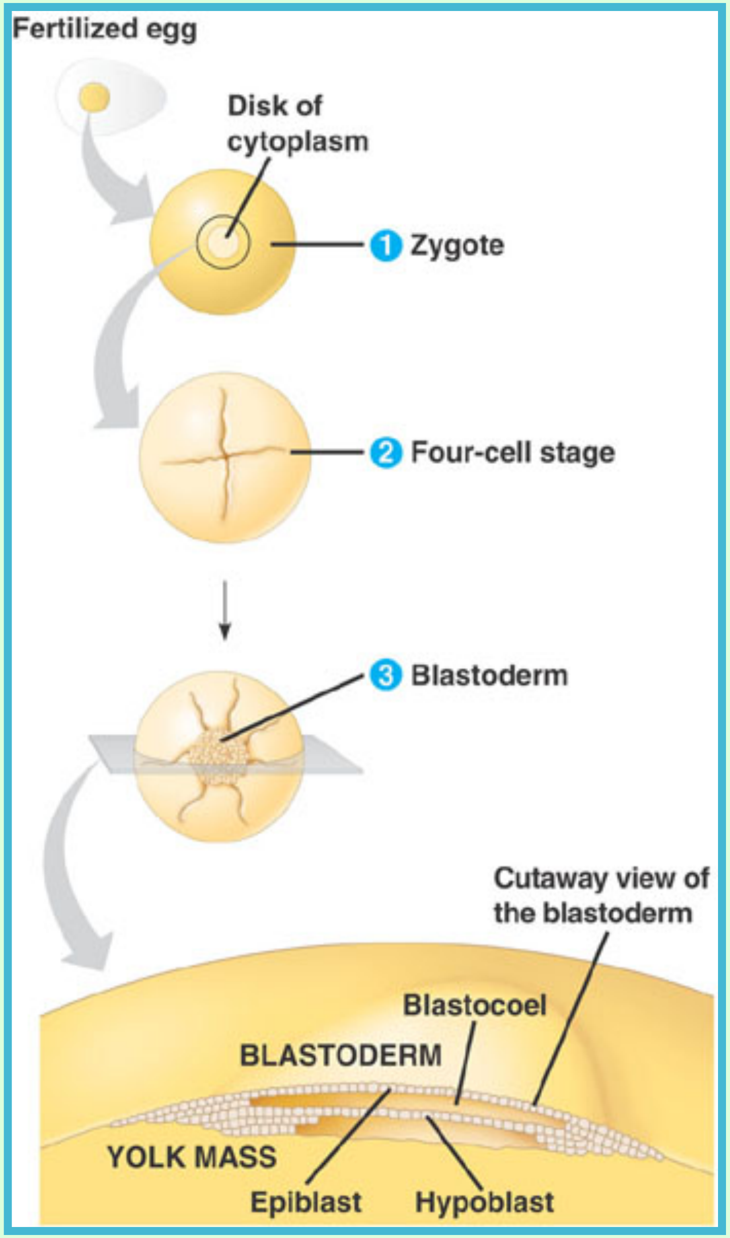


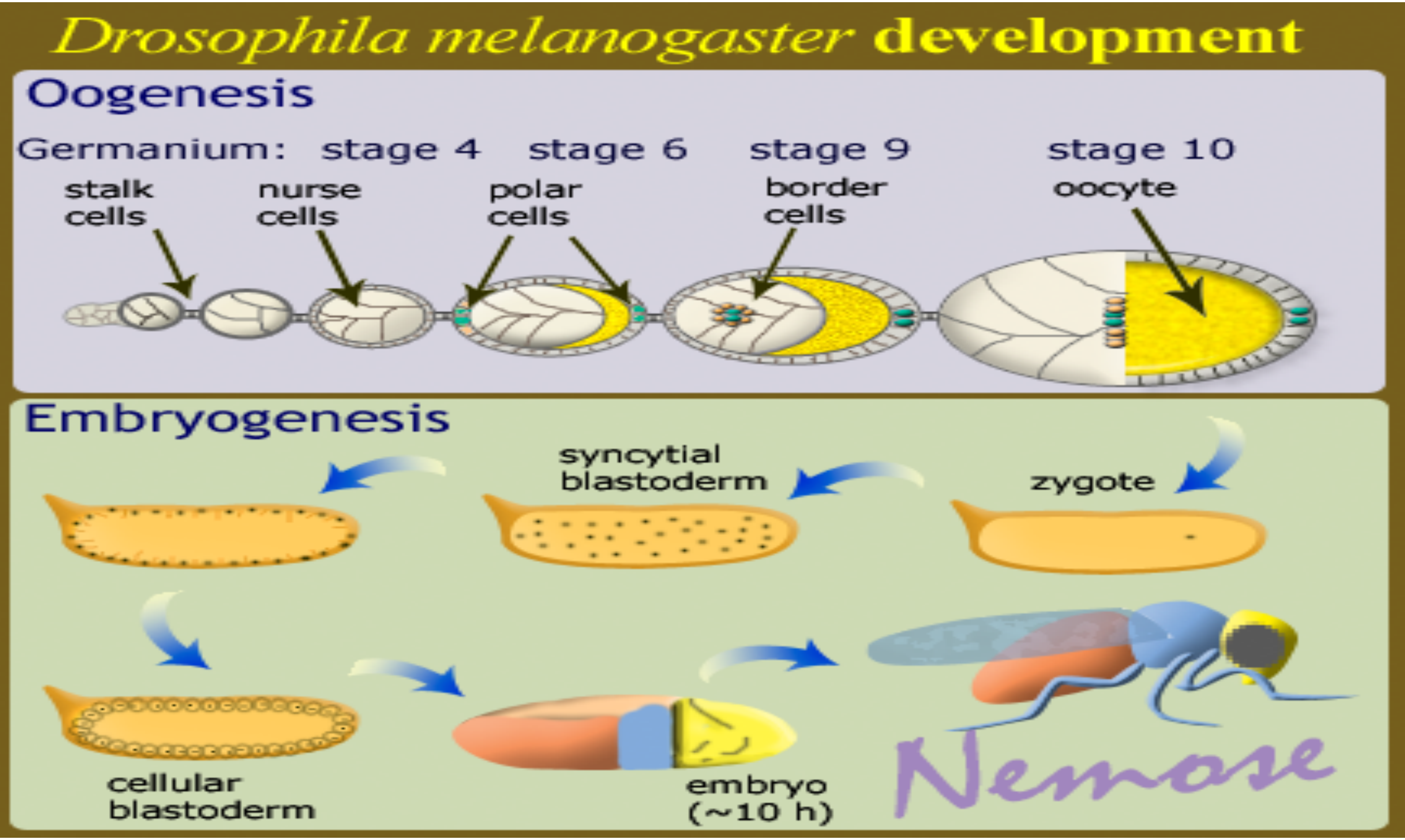
(A)


Strato di rivestimento
Polo animale
Strato sinciziale del tuorlo
Strato profondo
Ventrale
Dorsale
Cellula del tuorlo
Nuclei del sincizio del tuorlo
Polo vegetativo

Segmentazione in Anfibi e in Uccelli






Drosophila melanogaster development
Oogenesis
Germanium: stage 4 stage 6 stage 9 stage 10
stalk cells
nurse cells
polar cells
border cells
oocyte
Embryogenesis
syncytial blastoderm
zygote
cellular blastoderm
embryo (~10 h)
Nemose

Segmentazione parziale superficiale

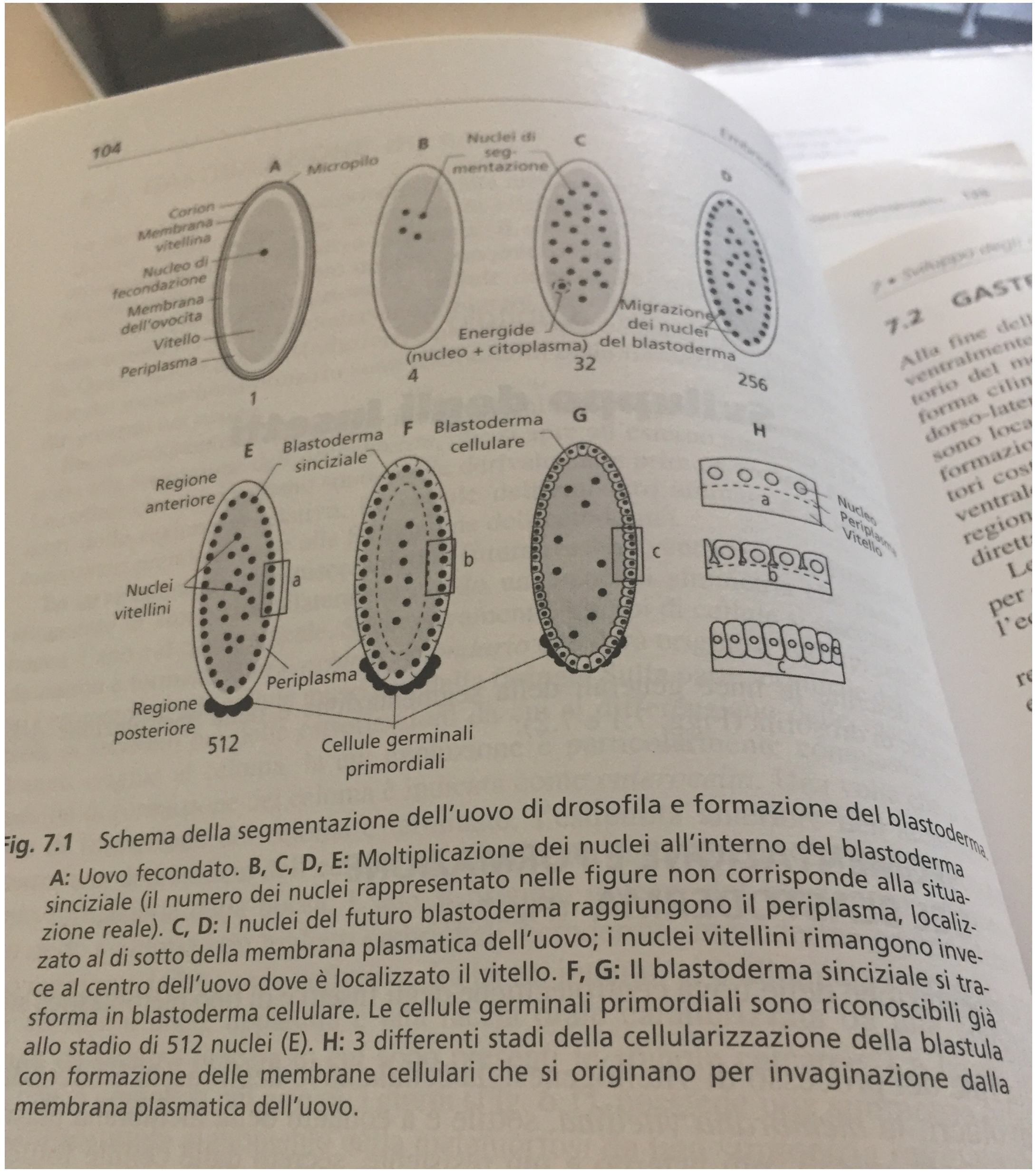


Fig. 7.1 Schema della segmentazione dell'uovo di drosofila e formazione del blastoderma. **A:** *Uovo fecondato.* **B, C, D, E:** Moltiplicazione dei nuclei all'interno del blastoderma sinciziale (il numero dei nuclei rappresentato nelle figure non corrisponde alla situazione reale). **C, D:** I nuclei del futuro blastoderma raggiungono il periplasma, localizzato al di sotto della membrana plasmatica dell'uovo; i nuclei vitellini rimangono invece al centro dell'uovo dove è localizzato il vitello. **F, G:** Il blastoderma sinciziale si trasforma in blastoderma cellulare. Le cellule germinali primordiali sono riconoscibili già allo stadio di 512 nuclei (E). **H:** 3 differenti stadi della cellularizzazione della blastula con formazione delle membrane cellulari che si originano per invaginazione dalla membrana plasmatica dell'uovo.

Segmentazione parziale superficiale