

# BIOLOGIA DELLO SVILUPPO

## INTRODUZIONE:

### SVILUPPO→

- processi da un uovo fecondato→embrione→organismo
- si studia per la comprensione dei meccanismi cellulari e molecolari e manipolazione
- unica via per andare dal genotipo al fenotipo è lo sviluppo embrionale
- gli organismi pluricellulari si formano per cambiamenti: SVILUPPO, che avviene partendo da una cellula diploide (zigote) che tramite divisioni e dislocazioni di gruppi di cellule, produce e delinea il corpo dell'animale
- generare nuovi individui per riprodursi
- assemblare la diversità cellulare in modo corretto e funzionale
- definire le coordinate dell'organismo (asse antero/posteriore, dorso/ventrale)

### DIFFERENZIAMENTO→

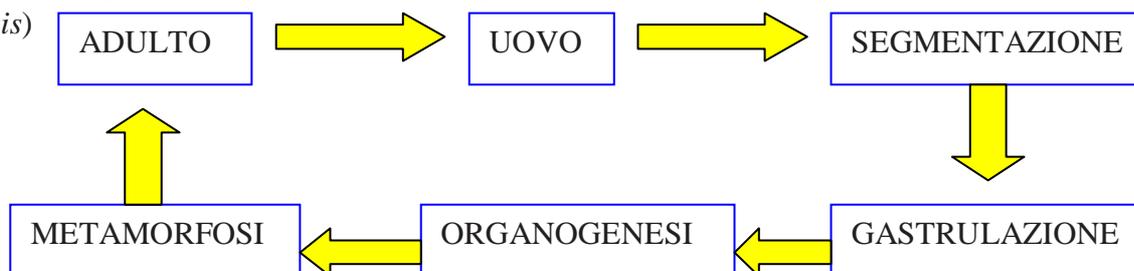
- generazione della diversità cellulare

### MORFOGENESI→

- l'organizzazione dei vari tessuti, ecc.

### SVILUPPO EMBRIONALE DI RIFERIMENTO ANIMALE:

(*Xenopus laevis*)



### UOVO FECONDATO→

- pluripotente perché può formare un nuovo organismo
- lo sviluppo però restringe progressivamente questa potenzialità

### DIFFERENZIAMENTO→

- lo sviluppo da un singolo uovo fecondato di tipi cellulari specializzati

### DETERMINAZIONE→

- cambiamenti biochimici e funzionali cellulari durante il differenziamento che sono preceduti da questo fenomeno
- **Commitment**→arrivare a un punto di differenziamento in cui si capisce come sarà ma all'inizio solo geneticamente

### SPECIFICAZIONE→

- una cellula o tessuto sono specifici se in ambiente neutro si differenziano in maniera autonoma

### DETERMINAZIONE→

- una cellula o tessuto sono determinati quando messi in un'altra regione dell'embrione sono in grado di differenziarsi autonomamente

### METODI D'INDAGINE→

#### 1) Morfologici ed ultrastrutturali

- microscopia ottica
- microscopia elettronica (trasmissione e scansione)
- microscopia confocale

#### 2) Biochimici

- SDS – PAGE
- 2D – PAGE
- WESTERN BLOT
- DEGLICOSILAZIONI

### 3) Molecolari

I modelli animali sono:

- Nematode (C. elegans)
- Drosophila
- Zebrafish
- Pollo
- Xenopus
- Topo

Il modello vegetale è l'Arabidopsis

### **IBRIDAZIONE IN SITU**→

Visualizzare cellule o gruppi di cellule che esprimono un certo gene

TECNICA:

- costruzione di un mRNA complementare chiamato **mRNA ANTISENSO**
- attaccare a questo certe molecole “bandiera” x il riconoscimento
- ci dice che il gene è acceso nelle cellule che formano per esempio la zampa e coda. Questi geni si accendono in un dato stadio embrionale

### **GAMETOGENESI:**

#### **Spermatogenesi**→

Lo spermatozoo è costituito da:

- vescicola acrosomiale→deriva dall'apparato di Golgi con enzimi litici che intervengono durante la fecondazione
- nucleo→cromatina condensata x occupare meno spazio possibile
- guaina postacrosomiale
- centrioli→2
- flagello→9 coppie di microtubuli (braccia di dineina con attività ATPasica) + 2
- mitocondrio→nell'intermedio, produce ATP



#### **OVOGENESI**→

La cellula UOVO:

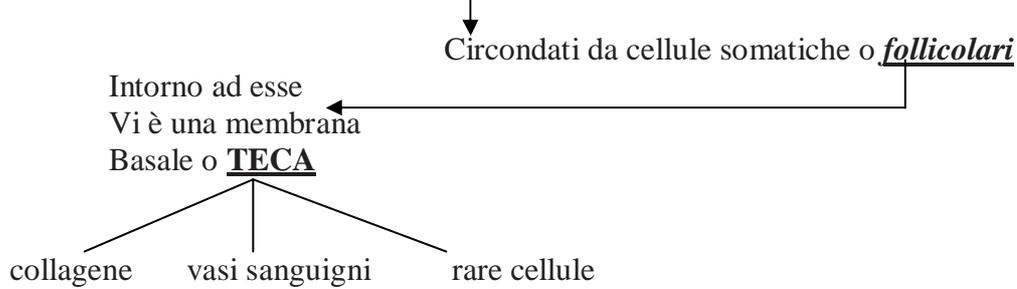
- cellula di grosse dimensioni (~60µm)
- nucleo di grosse dimensioni (detto anche vescicola germinale)
- presenza di materiale di accumulo e vitello (nei mammiferi è il 5%, per altri animali il 95%)
- polarità della cellula→polarità dell'embrione (polo animale e vegetale)
- presenza di granuli corticali→reazione corticale (spermatozoo + ovulo; prevenzione polispermia)
- presenza di un rivestimento esterno (matrice extracellulare composta da proteine e glicoproteine) ad esempio la zona **pellucida** (mammiferi) o membrana **vitellina** (echinodermi)→specie – specificità.

La cellula UOVO dall'esterno all'interno presenta:

- involucri gelatinoso (jelly coat)

- membrana vitellina
- membrana plasmatica
- granuli corticali
- placchette vitelline o deutoplasma o vitello (riserva)
- organelli
- nucleo → fisicamente visibile (solo nel riccio di mare)

**OVARIO** → organo dove maturano gli **OOCITI**



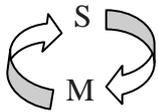
L'arrivo di sostanze dall'esterno (per es. dal fegato) → circolo sanguigno → follicolo ovarico. Inizialmente il citoplasma è povero ma pian piano accumula granuli e si accresce.

L'ovocita diventa + grosso → 1.200 – 1.300 μm

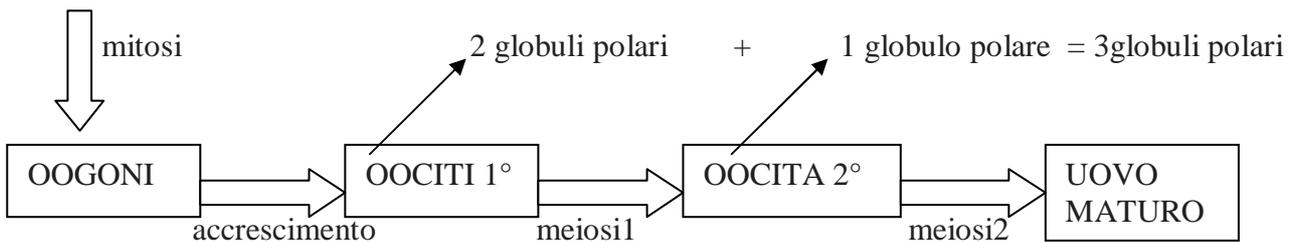
Nel citoplasma che matura → immesso **mRNA** di 2 tipi:

- 1) → mRNA di **mantenimento**: codifica per molecole di mantenimento del metabolismo
- 2) → mRNA **informativo**: codifica per fattori che codificano in maniera specifica il differenziamento

Durante la segmentazione → duplicazione DNA (mitosi) ma non trascrive e qui entrano in gioco i 2 mRNA altrimenti la cellula morirebbe in quanto durante queste fasi il ciclo cellulare è BIFASICO:



Dalle cellule primordiali:



La maggior parte degli oociti maturi → no nucleo visibile in quanto si trova nella metafase 2 e non è + organizzato.

**ACCUMULO DI SOSTANZE DI RISERVA:**

- fosfolipidi
- proteine
- carboidrati (glicogeno)
- sali (nelle specie di acqua dolce)
- goccioline di olio (specie acquatiche con uova planctoniche)
- piccoli metabolici arrivano all'ovocita tramite le GAP JUNCTION che le uniscono alle cellule follicolari (90% contro 10% di assunzione diretta da parte dell'ovocita)

- i precursori del vitello prodotti in alti distretti corporei (ETEROSINTESI) vengono assunti direttamente dall'ooocita tramite MICROPINOCITOSI → vescicole → placchetta vitellina

### VITELLO →

- massa inerme dentro l'uovo e può diminuire o limitare la divisione cellulare dopo la fecondazione

	QUANTITA'	DISTRIBUZIONE
<b>UOVA</b>	Oligolecitiche	isolecitiche
<u>ENDOLECITICHE</u>	Mesolecitiche	Eterolecitiche
	Macrolecitiche	Telolecitiche/centrolecitiche

Il TUORLO è passivo e non si divide, infatti nel pollo si divide solo il citoplasma formativo.

### STADI DI CRESCITA DELL'UOVO →

- crescita 1°: comparsa di numerosi nucleoli (**multinucleolare**) con amplificazione dei geni ribosomali; **balbiani bodies** → materiale elettrondenso estruso a livello dei pori nucleari, RNA, mitocondri, elementi del Golgi, cisterne del reticolo; **microvilli**; **matrice precursore** dei rivestimenti (involucri)
- \_\_\_\_\_ critical size
- crescita 2°: **vitello**; **granuli corticali**; ed è regolata da ormoni
- maturazione: **ripresa meiosi** (conclusione 1° divisione meiotica) ed espulsione del 1° globulo polare; **idratazione**
- ovulazione 2° divisione meiotica
- fecondazione → ZIGOTE

### INVOLUCRI dell'UOVO →

Responsabili del processo della fecondazione interna od esterna.

#### FECONDAZIONE ESTERNA:

- lo sperma viene depositato sulle uova non appena queste vengono rilasciate in acqua
- ingresso dello spermatozoo nell'uovo
- fusione con membrana citoplasmatica
- ATTIVAZIONE UOVO: blocco polispermia; rotazione uovo; ripresa meiosi
- fusione dei pronuclei maschile e femminile
- rotazione citoplasma corticale e formazione della semiluna grigia (1 – 2 hpf)

#### PRINCIPALI FUNZIONI DEI RIVESTIMENTI DELLE UOVA:

- *primario* → precursore degli involucri, sintetizzato dall'ooocita e svolge la sua funzione nel coinvolgimento nel riconoscimento e/o legame specie – specifico fra spermatozoo e uovo che precede la fusione dei gameti
- *secondario* → prevenzione della polispermia ed è sintetizzato nelle cellule follicolari (jelly coat)
- *terziario* → sintetizzato in altri distretti non ovarici; protezione del gamete e dell'embrione dall'ambiente esterno.

#### ZONA PELLUCIDA:

- 3 glicoproteine: **ZP1-ZP2-ZP3**
- reticolo di maglie fibrillo – reticolari, strati interni + compatti ed esterni – compatti
- filamenti interconnessi

- lunghezza di 2-3  $\mu\text{m}$  e diametro di 7  $\mu\text{m}$
- ripetizione strutturale di 14-15  $\mu\text{m}$  di un eterodimero fatto di **ZP2 e ZP3**  $\rightarrow$  interazioni non covalenti
- **ZP1**  $\rightarrow$  dimero di 2 catene associate che interagiscono su 2 diversi filamenti (trattamento con ditiotritolo  $\rightarrow$  no ponti S—S intermedi di ZP1  $\rightarrow$  dissoluzione della ZP)
- Queste proteine hanno funzione STRUTTURALE
- Durante la fecondazione la zona pellucida cambia
- Hanno anche altre funzioni  $\rightarrow$  **ZP3** attaccata alla testa degli spermatozoi
- Con l'esperimento di competizione  $\rightarrow$  ZP3 è il recettore primario che inizia la fecondazione.

## BIOLOGIA DELLO SVILUPPO DELLE PIANTE

Negli animali i fenomeni caratteristici dello sviluppo avvengono prima della nascita e la crescita è determinata.

Nelle piante i fenomeni dello sviluppo avvengono durante tutta la vita e la crescita è indeterminata.

Il DIFFERENZIAMENTO  $\rightarrow$  espressione di alcuni geni x formazione di organi e nelle piante:

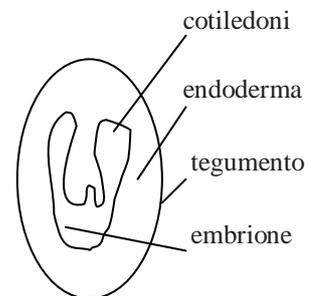
- stretto controllo divisione cellulare
- limitazione delle zone di divisione
- numero di divisioni
- orientamento del piano di divisione
- morte programmata delle cellule

I fenomeni caratteristici dello SVILUPPO:

- **crescita** (aumento numero cellule)
- **organogenesi** (comparsa abbozzi e sviluppo organi)
- **differenziamento cellule** (formazione tessuti specializzati)

**EMBRIONE**  $\rightarrow$

- parte del seme
- asse embrionale
- cotiledoni
- zone meristematiche  $\rightarrow$ 
  - cellule in attiva divisione
  - pianta intera
  - *apicale*  $\rightarrow$  parte aerea della pianta
  - *radicale*  $\rightarrow$  apparato radicale
  - accrescimento per tutto il periodo della pianta



Le piante sono + “plastiche” degli animali in termini di mutazioni.

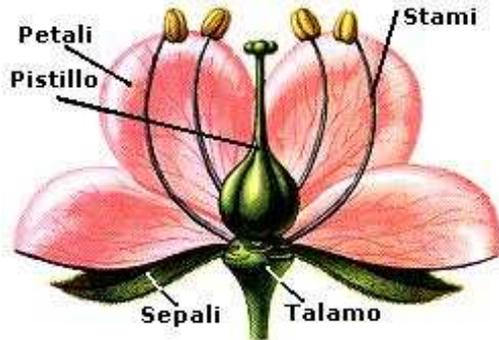
**Mutante**  $\rightarrow$  qualcosa di diverso che è ereditabile

*Arabidopsis thaliana:*

- fam. Brassicacee
- ciclo vitale breve (6-8 settimane)
- cresce bene in ambiente interno
- piccole dimensioni
- ben caratterizzate
- genoma piccolo (dimensioni di DNA che non codifica)

## FIORE→

- origina nei semi
- dal meristema vegetativo a riproduttivo



- sepali-petali-stami-pistilli (o carpelli)
- controllo su posizione, identità e numero
- i fiori di cereali non hanno sepali e petali
- fiori senza 1 dei 2 apparati (kiwi, mais)
- fiori perfetti→tutti e 4 gli organi; è ermafrodita

### ORGANOGENESI:

Dal meristema si formano i primordi di:

- sepali (+ esterni al meristema)
- petali (+ interni dei sepali)
- stami (+ interni dei petali)
- pistilli (centrale)

Per ogni specie è determinato il numero dei primordi.

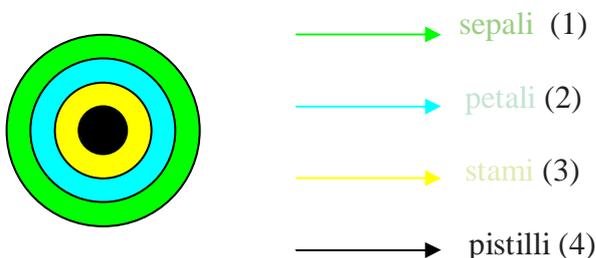
Si differenziano (assumono identità) le diverse parti.

Il *meristema riproduttivo*→DETERMINATO: una volta che è in grado di formare gli organi del fiore, perde la capacità di dividersi.

È importante studiare i mutanti per capire il funzionamento dello sviluppo. Le **mutazioni omeotiche**→organi normali in posizione sbagliata.

### LO SVILUPPO DEL FIORE:

Con la formazione del carpello, il meristema si differenzia; gli organi fiorali sono disposti a verticilli:



**MUTANTE 1**→*pistillata*: presenta tanti pistilli. 2-3 = pistilli

**MUTANTE 2**→*apetala 2*: non presenta i petali. 1 = somiglianza a pistilli; 2-3 = stami

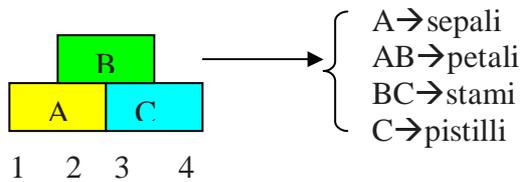
**MUTANTE 3**→*agamous*: senza gametie ha perso la determinazione. 2-3 = petali; 4 = fiore

Questi sono mutanti omeotici→geni omeotici.

Il **modello ABC**:

- modello genetico per spiegare come avviene lo sviluppo florale studiando mutanti fiorali
- la formazione degli organi fiorali è sotto il controllo di 3 classi di geni: A-B-C
- nel 1° e 2° verticillo (sepali e petali)→gene A

- nel 2° e 3° verticillo (petali e stami) → gene B
- nel 3° e 4° verticillo (stami e pistilli) → gene C



Viene formulato che:

- dove c'è A non c'è C
- dove c'è C non può esserci A
- A e C sono **mutui antagonisti**
- C è determinante anche per il meristema florale, per l'indeterminazione, e per lo sviluppo di un nuovo fiore con petali e sepali
- Questi geni sono solo per la partenza del programma di sviluppo, poi ne entreranno in gioco molti altri per l'espressione

#### DETERMINAZIONE SESSO IN PIANTE:

- sviluppato meccanismi indipendenti, tipici della specie
- piante con fiori "unisex" → promuovere il *vigor ibrido*

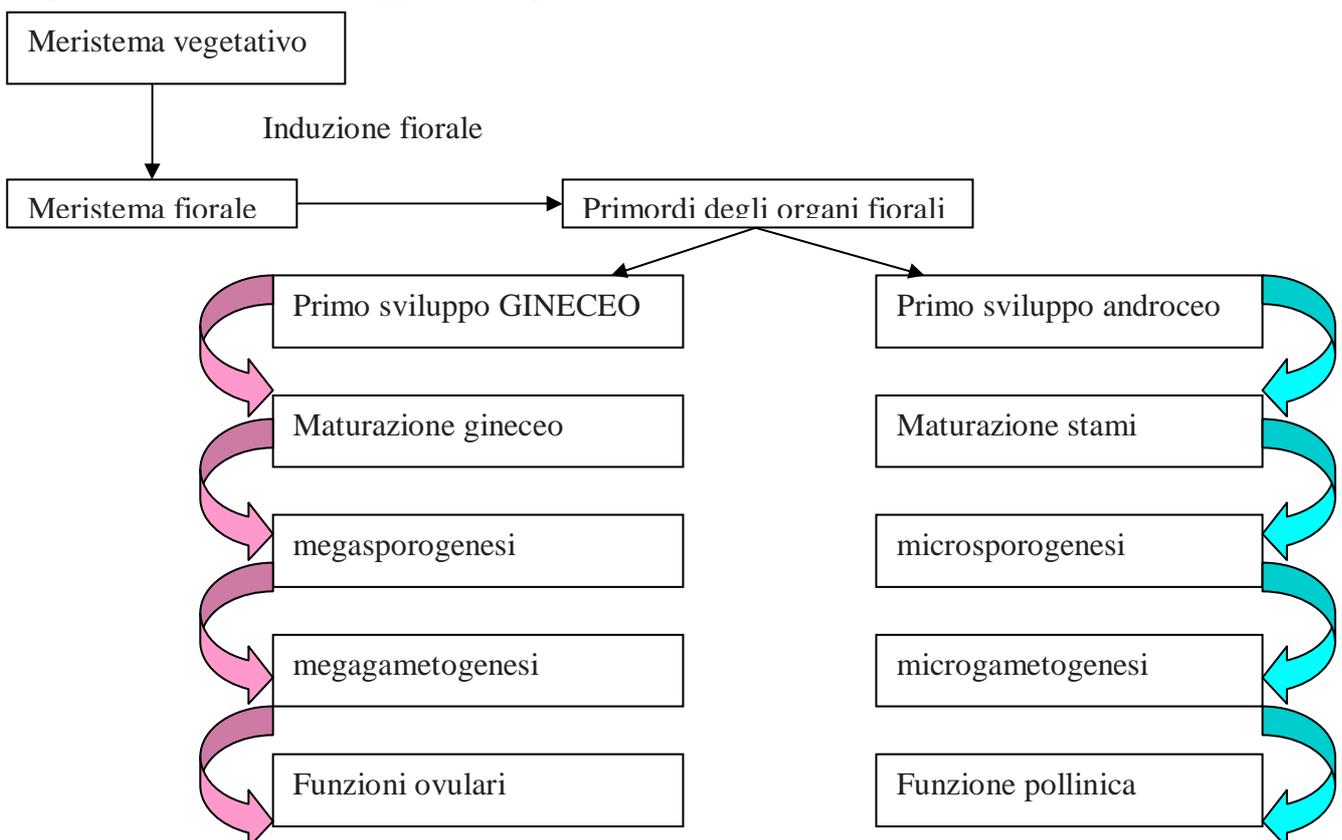
#### **FIORI:**

- ermafroditi
- maschili
- femminili

Piante → MONOICHE (entrambi i fiori maschili e femminili sulla stessa pianta)

→ DIOICHE (piante con soli fiori maschili e piante con soli fiori femminili)

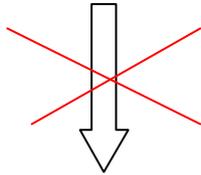
Le piante dioiche sono vantaggiose solo per la fecondazione incrociata.



I cromosomi X e Y determinano il sesso ma sono rari nelle angiosperme. Si ha formazione di primordi e poi si bloccano ed entrano in gioco altri meccanismi.

Senza A-B-C → FOGLIE e **INDETERMINAZIONE**

1) INFIORESCENZA



blocco il passaggio e ottengo solo una infiorescenza (si blocca il gene responsabile del passaggio da 1 a 2)

2) FIORE

Il gene *CAULIFLOWER* ha come effetto l'ottenimento del mutante "cavolfiore" ed è responsabile della transizione da meristema florale a infiorescenza.

Vi sono GENI coinvolti nella divisione cellulare prima dei geni ABC.

#### FORMAZIONE EMBRIONE:

2 zone meristematiche con cellule totipotenti per il differenziamento della pianta e nelle piante le cellule non si muovono.

È molto importante lo studio dei MUTANTI e a seconda della zona mutata:

- apicali → senza cotiledoni
- centrali → senza porzione centrale
- basale → senza parte basale
- terminale → senza parte apicale e basale

Questi mutanti non potendo dare origine ad una pianta, sono studiati a livello di seme, prima della germinazione.

I mutanti vengono anche usati per la difesa delle piante stesse.

#### COME SI ISOLANO I MUTANTI:

- le mutazioni possono essere indotte con mutagenesi chimica o raggi X
- EMS (etil metil solfato): mutagenesi chimica
- Si trattano i semi con dentro l'embrione
- La mutazione riguarda il contenuto di DNA di una cellula e per aver un individuo mutato si mira ai gameti
- Si cambia 1 delle cellule del meristema apicale (poche cellule) che darà origine a una parte della pianta mutata → settore pianta normale e settore pianta mutata.

Le mutazioni sono sempre ETEROZIGOTI (Aa) e la parte che non presenta mutazioni produce semi normali dopo la fecondazione mentre la parte mutata produce semi secondo un rapporto 1:2:1. Per capire se la mutazione è nel seme occorre guardare se tutti i semi germinano.

#### EMBRIONE:

- 1) nella > parte delle Angiosperme la prima divisione dello zigote è TRASVERSALE; si forma così un embrione polarizzato e la cellula vicino al micropilo → SOSPENSORE (connette l'embrione con la pianta madre)
- 2) Si ha una seconda divisione trasversale di quello che diventerà l'embrione
- 3) Altre divisioni LONGITUDINALI nell'embrione e il sospensore si forma con divisioni trasversali
- 4) Le divisioni continuano → stadio embrionale a cuore e abbozzi cotiledoni
- 5) Formazione cotiledoni e asse embrionale → forma a TORPEDO. La forma è data dai setti di divisione perché le cellule non si muovono mai nelle piante.

I geni omeotici → fattori di trascrizione.

### MERISTEMA APICALE:

Durante la divisione 1 cellula si differenzia e 1 è sempre meristema, non deve mai esaurirsi altrimenti non sopravvive.

L'*embrioflower* → mutante che germinando forma un fiore.

In un meristema apicale è presente una **tunica** e un **corpus**.

**Tunica** → cellule dell'epidermide che vanno incontro a divisione longitudinale x allargare

**Corpus** → parte del fusto e va incontro a divisioni trasversali.

### SVILUPPO della RADICE:

Il meristema radicale presenta →

- **cellule della cuffia:** nella mitosi si ha 1 cellula della cuffia + 1 cellula meristemica
- **cellule dell'epidermide:** peli radicali x assorbimento
- **cellule sistema vascolare:** legno e libro

ESPERIMENTO: con un laser → ablazione di 1 cellula vascolare e in teoria si forma un buco ma quella di fianco (parenchimatica) va in mitosi ma invece di dividersi verso l'alto lo fa orizzontalmente e quella + a destra si differenzia in cellula vascolare.

All'interno della radice secondaria → struttura simile al meristema radicale.

Il MERISTEMA RADICALE → struttura ordinata e presenta una funzione a seconda della posizione.

### ANCORA SUL MERISTEMA FIOREALE:

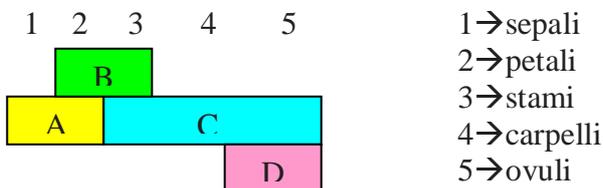
Gli **ovuli** si sono sviluppati prima degli altri organi e il modello ABC non li considera.

L'OVULO →

- si forma dalla placenta in una regione chiamata nocella dove si differenzia la madre delle megaspore
- meiosi → 3 degenerano e 1 si sviluppa → 3 mitosi → sacco embrionale
- alla base del sacco embrionale → 2 tegumenti che ricoprono il sacco embrionale tranne che il micropilo x la fecondazione
- il tutto è attaccato alla pianta con *funicolo*

Per studiare le regolazioni dell'ovulo occorre come sempre studiare i mutanti (per es. il mutante "spaghetti" di *Arabidopsis* presenta la posto degli ovuli i pistilli).

Quindi il modello ABC è carente per cui occorre il nuovo modello **ABCD** →



**PARTENOCARPIA** → sviluppo frutto senza fecondazione

**RIPRODUZIONE VEGETATIVA** → riproduzione con mezzi diversi da semi

**APOMISSIA** → riproduzione via seme senza fecondazione

Questa ultima si studia studiando le specie apodittiche e studiando il processo di sviluppo del seme in specie modello (*Arabidopsis*) x capire che meccanismi chiave ci sono per iniziare il processo di sviluppo del seme che comincia dopo la fecondazione.

L'apomissia avviene in piante poliploidi e serve per ottenere figli = alla madre → fissare le caratteristiche produttive.

- occorre ottenere una mutazione in *Arabidopsis*

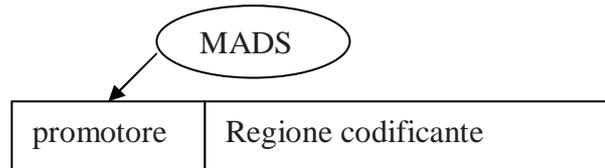
- si ottiene pistillata
- si mettono in serra chiusa (5.000 piante)
- si sono visti mutanti che facevano pistilli con alcuni semi
- i semi però non germinavano, sono sterili, ma non hanno l'embrione, solo l'endosperma

#### FATTORI DI TRASCRIZIONE:

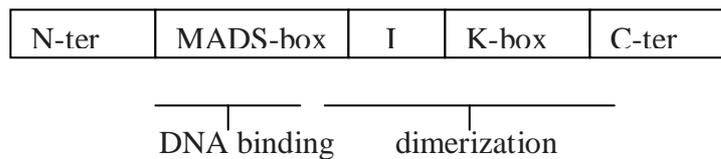
Sono geni che producono proteine (TF) che regolano altri geni

Geni **MADS-box** (MCM 1 in lievito; **Agamous** in Arabidopsis; **Deficiens** in bocca di leone; **SRF** in uomo).

Questi geni codificano per fattori di trascrizione e si attaccano al promotore:



I MADS hanno una sequenza altamente conservata perché sono molto importanti e codificano per proteine con determinati "moduli":



## BIOLOGIA DELLO SVILUPPO DEGLI ANIMALI

Lo **ZIGOTE**  $2n$  subisce un riarrangiamento citoplasmatico e la prima fase consiste nella:

#### **SEGMENTAZIONE:**

- produrre la multicellularità
- a seconda del tipo di uova (oloblastiche o meroblastiche)
- ciclo cellulare bifasico

Gli schemi di divisione sono:

- 1) → piano meridiano
- 2) → piano ortogonale al 1 → 4 blastomeri
- 3) piano equatoriale → 4 cellule al P.A. e 4 al P.V.
- 4) 5) ecc → palla di cellule ± cava

**BLASTOMERI** → cellule dell'embrione e nel riccio di mare vi è una serie di blastomeri di diversa grandezza e contenuto informativo. Alla fine della segmentazione si ha:

- blastomeri della fascia ANIMALE 1 e 2
- blastomeri della fascia VEGETATIVA 1 e 2
- alla base piccole cellule dette MICROMERI

I blastomeri del P.A. → *ectoderma*

I blastomeri del P.A. → *endoderma*

I blastomeri del P.V. → *mesoderma o mesenchima* (riccio di mare)

Si è potuto formulare ciò in base ad osservazioni ottenute coltivando in vitro le calotte animali e vegetali (calotta = polo A. o V.) dell'embrione:

I **micromeri** → differenziamento dell'embrione:

- emisfero animale → *dawerblastula*: embrione senza futuro, completamente animalizzato
- emisfero animale + strato vegetale 1 → abbozzo del tubo digerente: animalizzazione incompleta
- emisfero animale + vegetativo 2 → larva + piccola del normale: nei blastomeri del vegetativo 2 ci sono quindi informazioni importanti
- emisfero animale + micrometri → larva + bella della precedente

In questo esperimento il mesoderma deriva dal vegetativo 2 e l'endoderma dai micromeri.

Uova di Xenopus essendo ricche di vitello ciò rallenta il processo di divisione e alla fine della segmentazione si avrà un blastocele piccolo e cellule + piccole al P.A. e + grosse al P.V.

Le prime divisioni della segmentazione sono **sincrone**, alla 12° divisione si perde la sincronia dovuta alla transizione del ciclo bifasico al ciclo cellulare vero e proprio che vede l'introduzione della fase G<sub>1</sub>: questo stadio → **midblastula transition**: inizio della trascrizione. Ora i geni dell'embrione iniziano a funzionare.

### **GASTRULAZIONE-INTRODUZIONE:**

Consiste nei movimenti di cellule e se si colorano con coloranti vitali le varie zone (poco prima della gastrulazione) con 11 macchie colorate e si fa proseguire lo sviluppo embrionale → definizione dell'asse e strutture embrionali → si guarda l'embrione:

- macchie 1-2-3 → corda neurale dorsale
- macchie 4 → struttura posteriore embrione (mesoderma)
- macchie 5 → notocorda
- ecc...

Con questa tecnica si vede dunque quale sarà il destino dell'embrione in quanto **ogni cellula sa già cosa dovrà fare da grande**.

### **DIFFERENZIAMENTO-INTRODUZIONE:**

- 1) **MOSAICO** → (es. Nematodi): cellule di grandezza e forma differente; alcuni blastomeri estrudono materiale dal nucleo che è costituito da DNA satellite o sequenze non codificanti; il blastomero che non butta fuori niente è di tipo **germinativo**.
- 2) **REGOLATIVO** → nei **MAMMIFERI**:
  - allo stadio di 8 blastomeri, dopo pochi minuti, questi si fondono → **compattazione**
  - si forma un ambiente interno separato da quello esterno
  - entrano in gioco processi giunzionali mediati da processi molecolari: **CADERINE** → molecole di membrana che regolano il Ca e favoriscono la compattazione
  - proliferazione interna: **blastocisti**
  - cellule del **trofoblasto** → embrione in mucosa uterina
  - cellule della **massa interna** → danno luogo all'embrione
- 3) **SINCIZIALE** → (es. *Drosophila*)
  - uovo macrocentrico e una volta fecondato i nuclei si dividono
  - i nuclei migrano in periferia
  - a 512 nuclei → cellule polari → linea germinale
  - tutti i nuclei in periferia → **BLASTODERMA SINCIZIALE** ma non ancora separati da membrane; le molecole circolano liberamente e i nuclei comunicano tra loro
  - cellularizzazione → comunicazione tra cellule

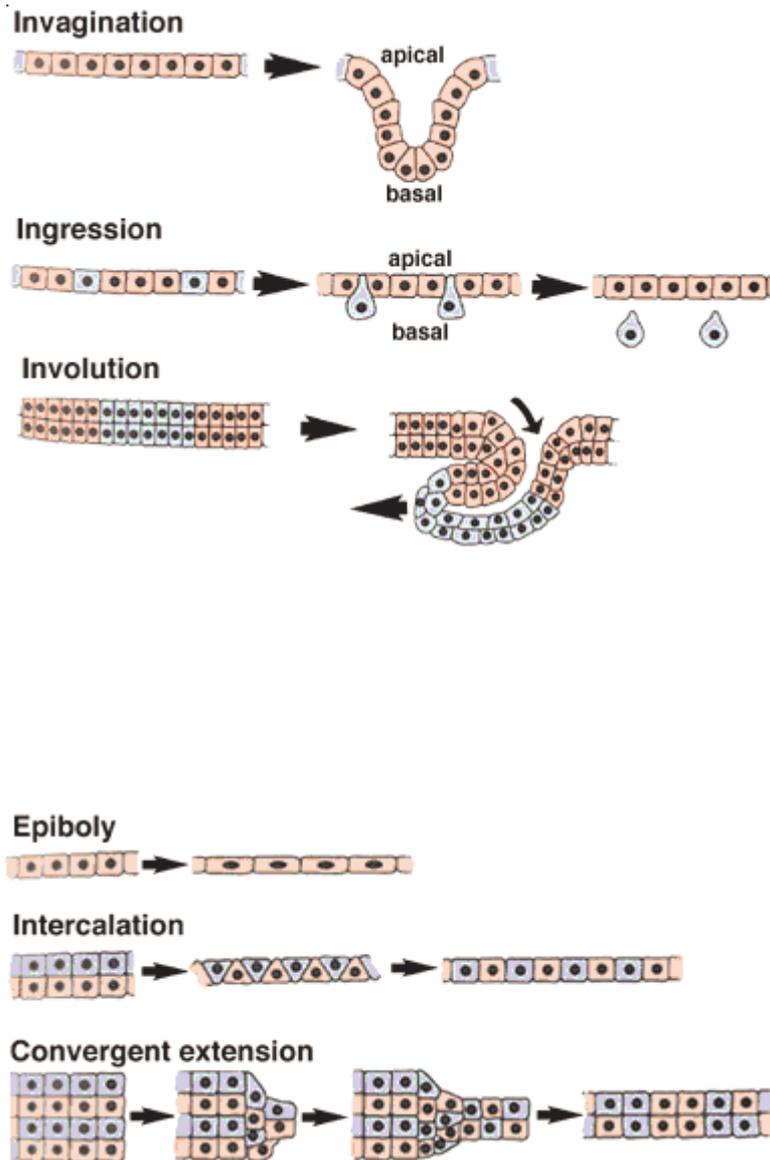
**GASTRULAZIONE** → spostamento di singole cellule o gruppi o lamine che raggiungono il posto giusto al momento giusto e a seconda dell'uovo e della blastula → **3 foglietti e assi**

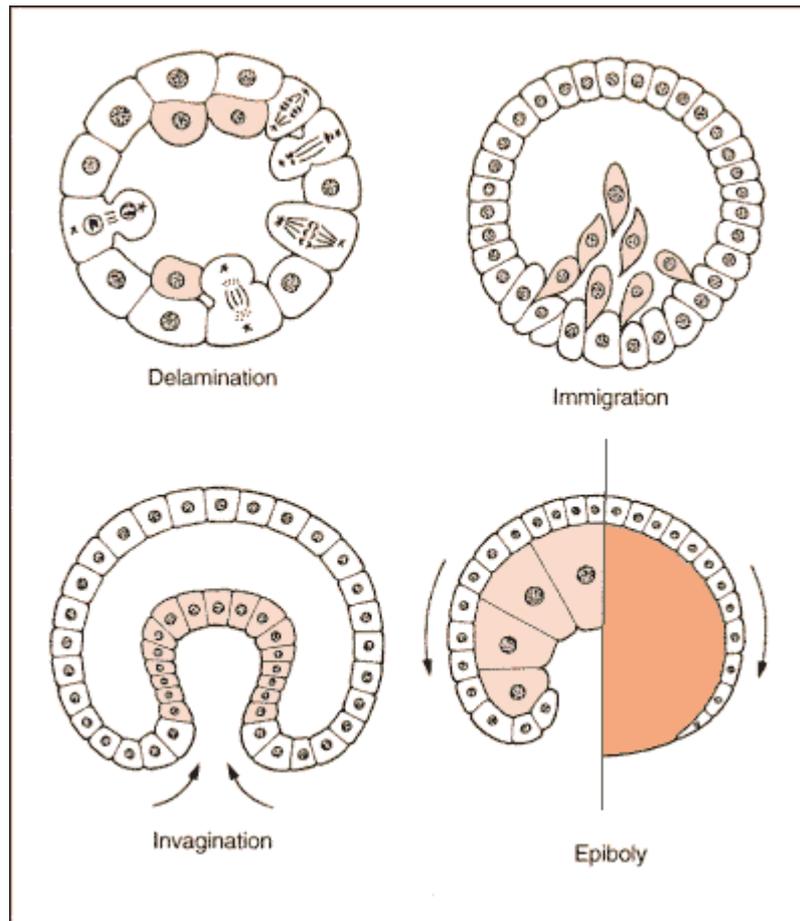
**principali embrionali**: antero-posteriore (A/P); dorso-ventrale (D/V); destro-sinistro (Dx/Sx)

I meccanismi di base sono 5:

- a) **epibolia**: movimento di foglietti epiteliali che si muovono come un tutt'uno avvolgendo gli strati + profondi dell'embrione (es. Teleostei)

- b) invaginazione: trasferimento in profondità di regione cellulare in modo simile all'infossamento
- c) involuzione: ripiegarsi verso l'interno di un foglietto esterno in espansione di modo che esso si estende sulla superficie interna delle cellule che rimangono all'esterno
- d) ingressione: migrazione di cellule singole dai foglietti superficiali verso l'interno dell'embrione
- e) delaminazione: dividersi di una lamina cellulare in 2 lamine + o - parallele





### XENOPUS

#### MOVIMENTI DELLA GASTRULAZIONE →

- formazione del labbro dorsale (organizzatori di Spema, sono cellule clavate) e si formano cellule del Ruffini → queste sono cellule che danno solo il segnale di inizio
- queste cellule entrano → cavità dell' ARKENTERON o intestino primitivo e si va a chiudere il blastocele
- si forma poi la notocorda → struttura cilindrica, assile, portante coinvolta nella formazione del sistema nervoso che diventa dorsale

Se si trapianta il labbro dorsale di un embrione in un altro, si formano 2 embrioni gemelli e si può desumere che il labbro dorsale del blastoporo → ASSE EMBRIONALE ANTEROPOSTERIORE

### TELEOSTEI

- uovo macrolecítico – telolecítico
- gastrulazione per EPIBOLIA
- formazione del **germring** → ispessimento che circonda il margine equatoriale della blastula e consiste in epiblasto e ipoblasto; si forma uno **scudo** → punto in cui le cellule convergono
- questo è dovuto ad un gene che si trova nella corda: la marcatura assume poi la forma di un ASSE.

## UCCELLI

- epiblasto che poggia sulla cavità (blastocele) che è la cavità SUBGERMINALE
- zona MARGINALE anteriore e posteriore
- **GASTRULAZIONE**→per ingressione e vi sono cellule che formano parte dell'ipoblasto→corda di cellule
- **Estensione + ingressione**→2 lamine di cellule (epiblasto e ipoblasto) + blastocele
- Nella parte anteriore si forma il nodo di **HENSEN**
- Nella linea primitiva le cellule si invaginano e nel nodo di Hense entrano anche anteriormente
- Il nodo di Hense arretra e si ritrova poi posteriormente

## MAMMIFERI

- l'embrione si forma a carico dell'epiblasto, l'ipoblasto fa altro
- si forma una linea primitiva con gli stessi meccanismi degli uccelli

Una volta formati i foglietti embrionali→**DIFFERENZIAMENTO**

La prima cosa che si forma è il **SISTEMA NERVOSO**

Il **CERVELLO**: 3 vescicole→5 vescicole

- nella **gastrulazione**→2 epiteli: quello *neurale* e l'*epidermide presuntiva*
- la **PIASTRA NEURALE**→piega i bordi→tubo neurale→cresta neurale→tanti derivati
- **ISTMO**: zona in cui si forma il cervelletto
- I geni coinvolti nell'SNC rostrale sono **OTX, ETX**; nel cervelletto sono **ENGRAILED, FGF8**; nella corda spinale sono **HOX**

Gli **OCCHI** si formano da un diverticolo della parte di encefalica→**VESCICOLA OTTICA** che induce l'epitelio vicino a differenziarsi→placode del cristallino. L'induzione dell'okkio è secondaria.

La teralmente al tubo nervoso→2 masse mesodermiche che si vanno allargando lungo tutto il tubo→**SOMITI**.

Il **SOMITE**→2 zone: **MEDIALE** (dermamiotomo→miotomo + dermatomo) e una **LATERALE** (sclerotomo)

**SHH**→segnale che parte dalla zona ventrale del tubo neurale e dalla notocorda→sclerotomo

**MESODERMA**→segnale x tutta la muscolatura del corpo

**PARTE DORSALE TUBO NEURALE**→derma e apaxial muscolatura

**MYOD**→geni guida x formazione e differenziamento cellule muscolari (queste sono **SINCIZI**:

**MIOTUBI**→mioblasti che si uniscono)

La proliferazione→inibizione di MyoD (differenziazione)

La differenziazione→inibizione di proliferazione col gene p21

Le **cycline**→regolano il ciclo cellulare

## RICCIO DI MARE

- si forma una cellula primaria mesenkimale e si ha gastrulazione per **INGRESSIONE**.
- **CAVI SINCIZIALI**
- **MESENKIMA 1°**→mesoderma del riccio di mare e produrrà le spicole silicee nella larva

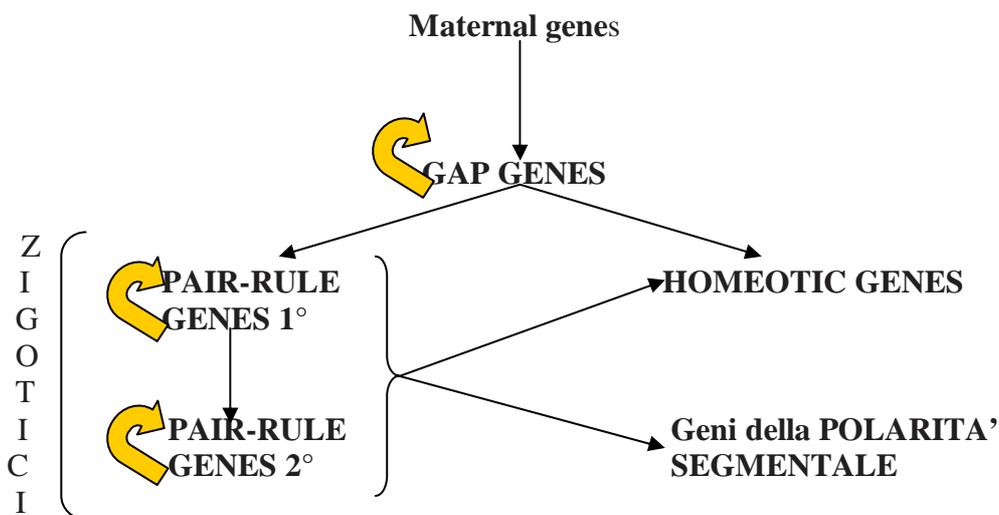
- Alla base si forma la cavità **ARKENTERICA** con conseguente riduzione del blastocele
- Il foglietto di cellule vegetative poggia su uno strato IALINO (parte interna e parte esterna lamina)
- Le cellule della piastra vegetativa producono un proteoglicano detto **CONDROITINSOLFATO** nella parte interna lamina e attira H<sub>2</sub>O che rigonfia la membrana interna e si gonfia la membrana basale → curvatura. Questa cavità si dovrà estendere x formare l'arkenteron → cellule che emettono pseudopodi → **MESENKIMA 2°**
- Si ha redistribuzione delle cellule e gli pseudopodi si attaccano agli strati di cellule superiori; vanno in questa direzione perché le cellule della volta secernono molecole **CHEMIOTATTILI** (esercitano attrazione sulle cellule che si muovono)
- Non c'è blastoporo; labbro dorsale e organizzatore di Spemann

Se si trapiantano micrometri anche nell'atro polo → embrione con 2 archenteron che si formano e quindi i **MICROMERI** → modello di gastrulazione diverso da quello dei Cordati.

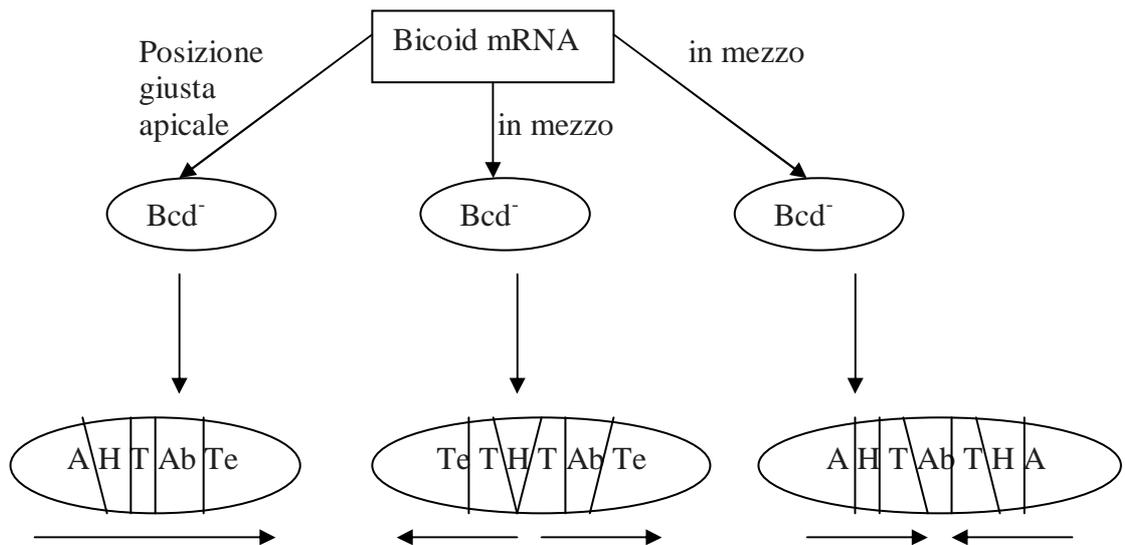
I micrometri servono quindi per costruire una larva completa e posseggono informazioni importanti

**DROSOPHILA M.**

- se si fa uno screening dei geni ci si accorge che sono omologhi a quelli dei vertebrati e ciò significa che sono stati selezionati evolutivamente prima della divisione tra prolostomi e deuterostomi
- dall'embrione → **LARVA**
- questa acquisizione di fenotipo è dovuta a: **geni materni** → espressi durante l'ovogenesi (viene fatto RNA) ma non viene tradotto, viene lasciato in zone precise del citoplasma dell'uovo. Il prodotto di questi geni materni è attivato subito dopo la fecondazione. Durante l'oogenesi viene espresso mRNA che rimane mascherato prima della fecondazione. Questi geni svolgono il loro ruolo nella parte anteriore dell'embrione difatti se distruggo questi geni → solo grande addome. **Geni zigotici** → si attivano dopo la fecondazione e viene tradotto l'mRNA.



- I geni materni dividono l'embrione in 2 metà → *medio-anteriore* e *medio-posteriore*
- I geni GAP dividono l'embrione in 3 o 4 settori → *anteriore*, *addome*, *posteriore*
- I geni della "regola pari" dividono l'embrione in 7 strisce → *parte segmentata*
- I geni della "polarità segmentale" dividono l'embrione in 14 segmenti e dicono ad ogni segmento quale è la parte anteriore e posteriore; confini tra segmenti
- I geni omeotici → specializzazione di ogni segmento
- **GENI** → **anteriori**: bicoid; **posteriori**: nanos; **terminali**: torso; **gene GAP**: hunchback
- Se si altera bicoid → delezione testa e torace → solo addome quindi è un gene morfogeno che presiede alla formazione della parte anteriore dell'embrione
- Se si altera nanos → delezione addome quindi è un gene morfogeno posteriore
- Se si altera torso → non si hanno parti terminali



- i figli sono sempre *bcd<sup>-</sup>*. A questi embrioni abbiamo dato solo l'informazione al posto giusto per ottenere il fenotipo ma il genotipo è sempre *bcd<sup>-</sup>*.
- Questi geni codificano per fattori di TRASCRIZIONE cioè molecole che si attaccano ad un promotore
- I geni GAP controllano territori + piccoli rispetto a quelli di geni materni

**CRESTA NEURALE:**  
 Le cellule della cresta neurale

- Cefalica (glia, tasche faringee, timo, denti, osso, cartilagine)
- Tronco (melanociti, radici dei gangli dorsali, ecc)
- Vagale e sacrale (gangli del parasimpatico)
- Cardiaca

Un tipo di proteina (**n-caderina** = camerina neuronale) vede la sua regolazione coinvolta nell'inizio del segnale di regolazione, poi scende a 0 e le cellule non hanno + ricambi in membrana x mantenere costanti i livelli di N-CADERINA → cellule libere e iniziano la migrazione che avviene su percorsi definiti segnati dalla presenza della matrice extracellulare su cui si muovono con l'aiuto del citoscheletro.

### SPECIFICAZIONE:

- 1) **AUTONOMA** → parte degli invertebrati, derivata dall'acquisizione di molecole citoplasmatiche presenti nell'uovo
  - segmentazione invariabile → stesse genealogie cellulari

- i destini dei blastomeri sono invariati
- linee di cellule fondatrici sono specificate in modo autonomo ai poli degli assi embrionali
- la specificazione precede tutte le migrazioni su larga scala delle cellule embrionali
- produce uno sviluppo a mosaico (determinativo): le cellule non possono modificare il loro destino se viene rimosso un blastomero

**2) CONDIZIONALE** → tutti i vertebrati e qualche invertebrato

- specificazione x interazione tra cellule
- le reciproche posizioni sono importanti
- segmentazione variabile → cellule con destini modificabili
- estese riorganizzazioni e migrazioni delle cellule precedono o accompagnano la specificazione
- capacità di sviluppo regolativi consente alle cellule di acquisire differenti funzioni

**3) SINCIZIALE** → tipica di molti insetti

- specificazioni regioni del corpo con interazioni tra regioni citoplasmatiche prima della cellularizzazione del blastoderma
- segmentazione variabile che non produce destini cellulari rigidi per nuclei particolari
- dopo la cellularizzazione → specificazione condizionale

Nel riccio di mare:  
 → embrione diviso lungo l'asse equatoriale < daweblastula / quasi larva  
 → Embrione diviso lungo l'asse mediano → 2 larve

**MESODERMA:**

- importante perché forma la corda e vari organi
- Speman e Mangold → trapianto labbro dorsale del blastoporo in un altro embrione (nella zona dell'epidermide presuntiva)

Se si trapiantano labbri dorsali sempre + tardivi (+ avanti nello sviluppo) → viene meno induzione da trapianto

All'inizio della gastrulazione l'ECTODERMA presuntivo non è stato determinato e si forma l'epidermide; a gastrulazione avanzata → 2° piastra neurale e le cellule sanno cosa devono fare.

Zigote di *Xenopus* + UV → distruzione RNA materni e come risultato si ha una vntalizzazione ma se si trapianta un blastomero → recupero del fenotipo.  
 Se invece il donatore è normale e anche il ricevente → 2 embrioni

Il centro di NIEUWKOOP → segnali molecolari x l'organizzazione e fan sì che l'organizzatore di Speman entra in azione.

**L'ORGANIZZATORE di SPEMAN:**

- istruzioni alle cellule che iniziano l'ingresso x la formazione del labbro dorsale del blastoporo
- differenziare una notocorda dorsale e dorsalizzare il mesoderma laterale
- indurre il sovrastante ectoderma a diventare tessuto neurale
- piastra neurale → tubo neurale

Gli induttori del mesoderma dorsale → PGF<sub>5</sub> (activina, noggin, VG1)

Gli induttori del mesoderma semidorsale → PGF<sub>5</sub> (FGF → FGF2 o bFGF) e BMP-4

- 1) ogni nucleo cellulare contiene il genoma completo fissato nell'uovo fecondato. In termini molecolari i DNA di tutte le cellule differenziate sono identici
- 2) i geni non utilizzati nelle cellule differenziate non vengono distrutti o mutati e conservano il loro potenziale x venir espressi

- 3) solo una piccola % di menoma viene espressa in ogni cellula e una parte dell'RNA sintetizzato è specifico x quel tipo di cellula

ESPERIMENTO di SPEMAN: si mette il nucleo di cellula differenziata in uovo ospite; se ogni nucleo è => dirigere il differenziamento. Ci sono 3 limitazioni:

- 1) raffinare il metodo x asportare il nucleo delle uova
- 2) metodo per isolare i nuclei dei donatori
- 3) metodo per trasferire nuclei nell'uovo senza danni

Esistono meccanismi di controllo di base dello sviluppo embrionale.

**METAPLASIA** → rigenerazione del cristallino

- nei Tritoni si asporta il cristallino e si assiste a rigenerazione:
- capacità di rifare parti ferite
- i bordi della retina → nuclei cambiano forma
- il citoplasma → ricco di ribosomi
- osservazione di molte divisioni cellulari
- depigmentazione e macrofagi che ingeriscono rifiuti
- differenziamento
- il cristallino è acellulare → prodotto trasparente
- proteine tipiche del cristallino e perdita della cellularità
- CRISTALLINO

Le cellule dell'iride e del cristallino hanno origine embrionale diversa ma in questo caso l'iride → cristallino

Se si esegue l'IBRIDAZIONE IN SITU → cromosomi politecnici → si prende un gene → VITELLOGENINA → ibridazione → visualizza la vitellogenina.

Altro esperimento è con i DISCHI IMMAGINALI di DROSOFILA in cui vi sono le informazioni per produrre tessuto adulto.

Meccanismo ON/OFF del menoma.

Nei protostomi e deuterostomi → geni che controllano la polarità del sistema nervoso.