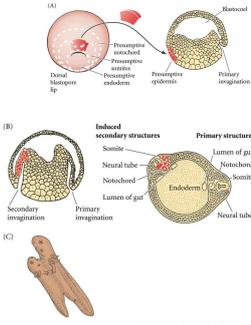


5)Veja o seguinte experimento em *Xenopus*. Foi realizado um transplante do lábio do blastôpor dorsal de um embrião para a região ventral de outro embrião. O embrião receptor gastrulou em dois locais e formou dois sistemas nervosos e duas cabeças. As células transplantadas formaram a notocórda, mas não o tubo neural secundário. Considerando as bases moleculares da sinalização celular, proponha para o efeito que o transplante tem sobre o embrião receptor. Como você provaria a sua hipótese?



(A) Dorsal blastopore lip, Transplanted notochord, Transplanted somite, Transplanted endoderm, Primary epidermis, Primary invagination, Mouthbud.

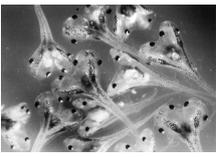
(B) Induced secondary structures: Somite, Neural tube, Notochord, Endoderm, Lumen of gut. Primary structures: Lumen of gut, Notochord, Somite, Neural tube.

(C) Secondary invagination, Primary invagination.

1. Proteína secretada
2. Proteína na membrana
3. Proteína nuclear

Prêmio Nobel em 1935



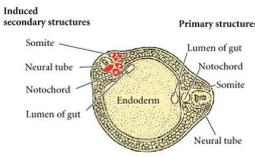


Resultados:

1. Gerou dois eixos embrionários
2. O segundo embrião é composto de células doadoras E receptoras.

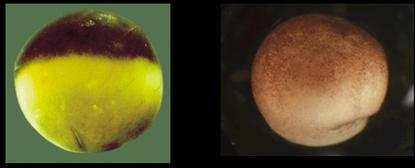
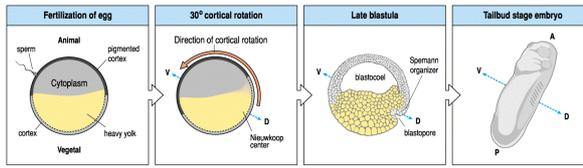
Conclusão:
O Lábio dorsal do blastôporo tem capacidade INDUTIVA

O ORGANIZADOR



Induced secondary structures: Somite, Neural tube, Notochord, Lumen of gut. Primary structures: Lumen of gut, Notochord, Somite, Neural tube, Endoderm.

A origem das células do blastôporo dorsal (Organizador)

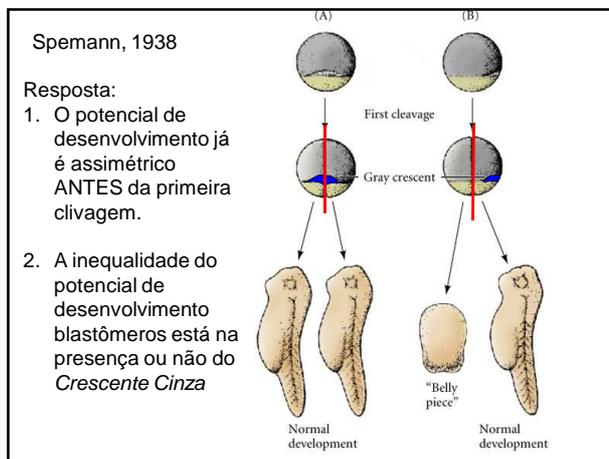
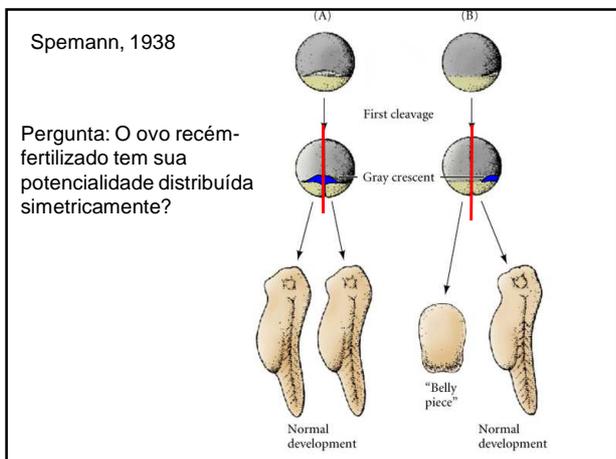
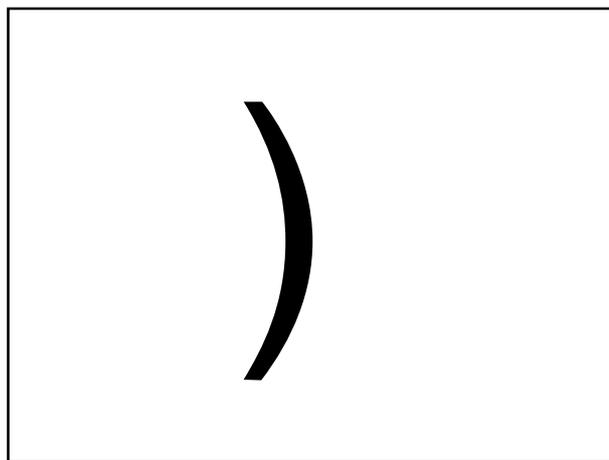
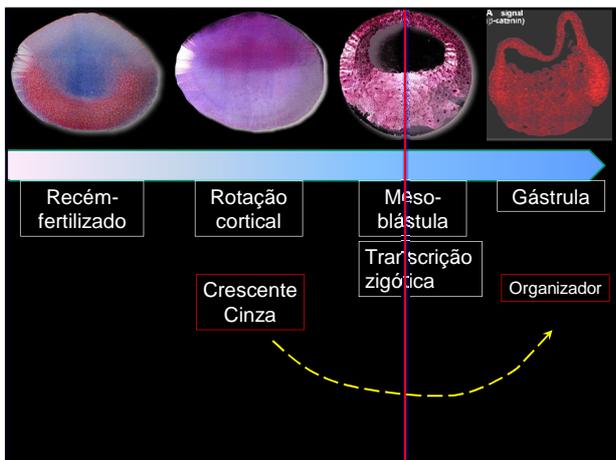
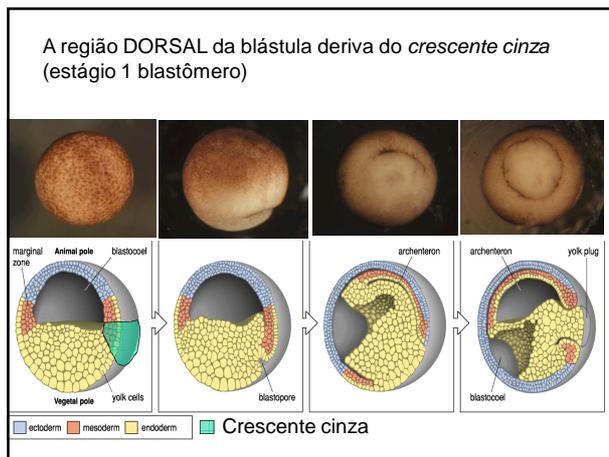



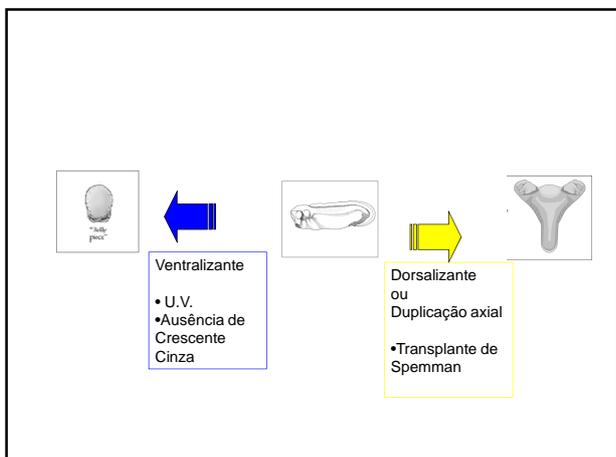
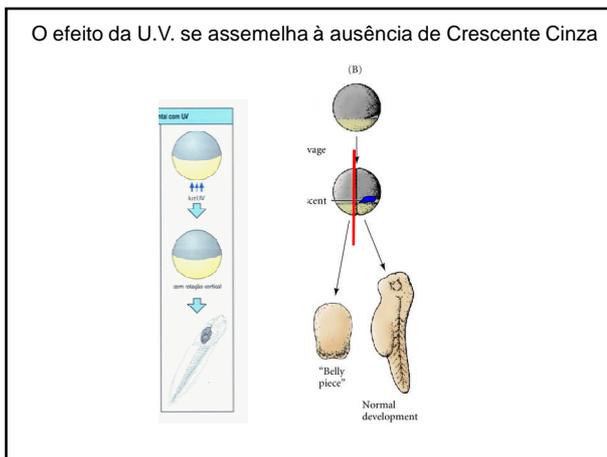
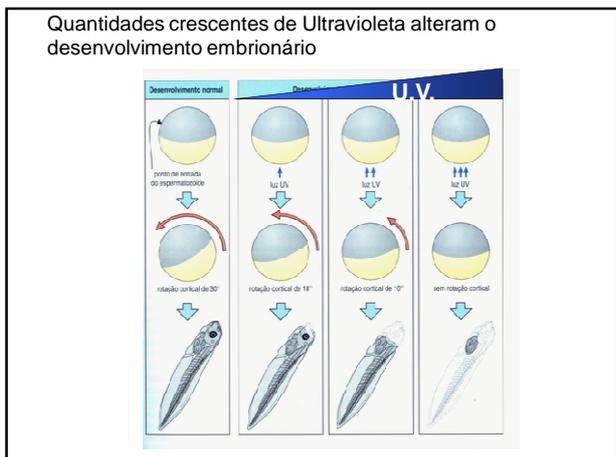
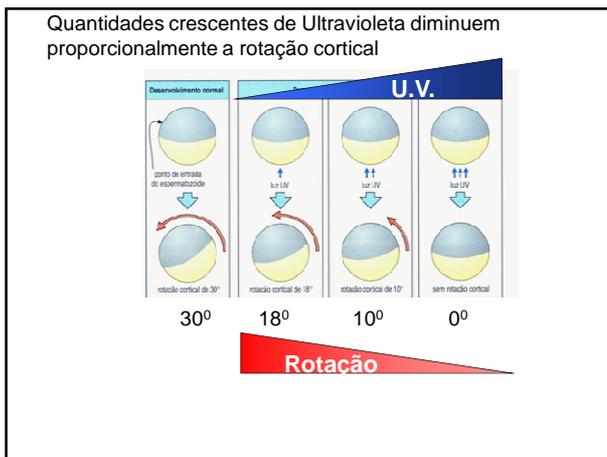
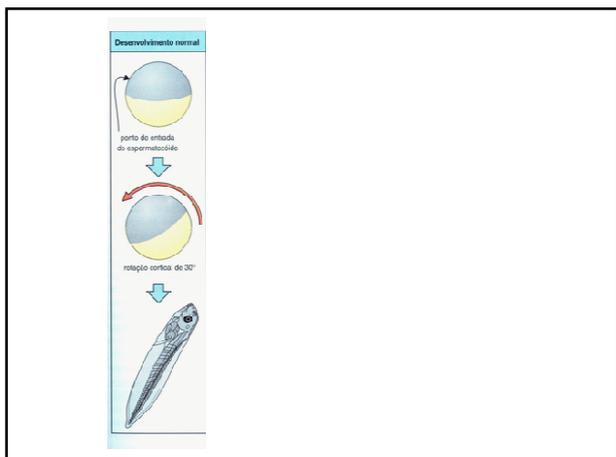
Fertilization of egg: sperm, Animal, pigmented cortex, Cytoplasm, heavy yolk, Vegetal, cortex.

30° cortical rotation: Direction of cortical rotation, V, D, New cleavage center.

Late blastula: blastocoel, Somite organizer, D, blastopore.

Tailbud stage embryo: A, D, P.



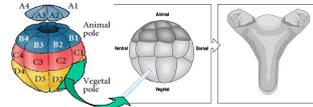


1. O que é que há entre o **crenente cinza** e a **região dorsal**?
2. O que é que há entre o **crenente cinza** e a **gastrulação**?

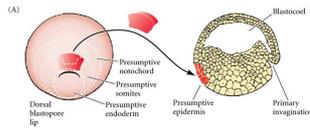
Injeção de fatores citoplasmáticos de blastômeros que herdaram o crescente cinza na região ventral causa duplicação axial também

(Holawacz, T. and R.P. Elinson. 1993. Development 119: 277-285)

Holawacz, 1993



Spemann, 1924



1. O que é que há entre o crescente cinza e a região dorsal?
Sem Crescente cinza não há região dorsal

ENTÃO, qual o elemento ativo no crescente cinza?
2. O que é que há entre o crescente cinza e a gastrulação?

Um gene candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Um gene candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

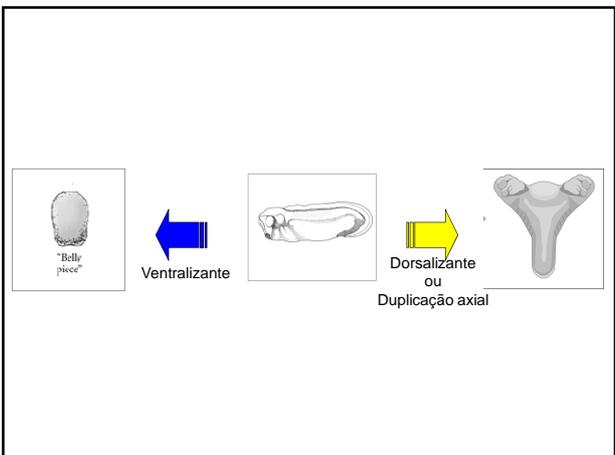
1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna

Um gene candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

•A TRANSCRIÇÃO no embrião de Xenopus só ocorre NA BLÁSTULA

•Os fatores indutivos do Organizador estão presentes ANTES da blástula

1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna



Experimentos de identificação dos fatores ativos no pólo vegetal dorsal

1. Formação de Eixo Secundário
(reprodução do efeito do Organizador)

Experimentos de identificação dos fatores ativos no pólo vegetal dorsal

2. Recuperação do eixo em embriões tratados com U.V. (que teoricamente não tem organizador)

Experimentos de identificação dos fatores ativos no pólo vegetal dorsal

2. Recuperação do eixo em embriões tratados com U.V.

Experimentos de identificação dos fatores ativos no pólo vegetal dorsal

2. Recuperação do eixo em embriões tratados com U.V.

Experimentos de identificação dos fatores ativos no pólo vegetal dorsal

1. Formação de Eixo Secundário

2. Recuperação do eixo em embriões tratados com U.V.

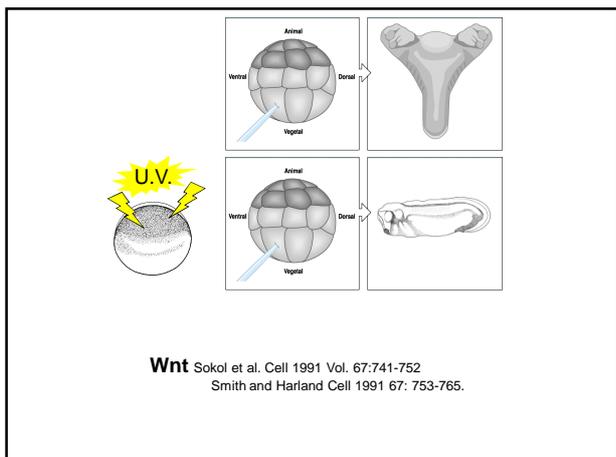
Membros da Família Wnt

Table 1. Molecules that rescue the UV phenotype

Complete axis	Incomplete axis	Reference
*Xwnt-8		Smith and Harland, 1991
*noggin		Smith and Harland, 1992
Vg1 (only modified form)		Thomsen and Melton, 1993
Xwnt-8b		Cui et al., 1995
*Xnr1 & 2		Jones et al., 1995
*Siamois		Lemaire et al., 1995
*chordin		Sasai et al., 1994
	*gsc	Cho et al., 1991
	activin	Smith and Harland, 1991
	*Xbra	Smith et al., 1991
	Xdsh	Sokol et al., 1995
	Xwnt11	Ku and Melton, 1993
	dom. neg. BMP receptor	Graff et al., 1994
	*Xnr4	Joseph and Melton, 1997
	*Xnr3	Smith et al., 1995

Obs.: Wnt=Wingless +int

Heasman, J. Development 124, 4179-4191 (1997)



Um gene/sinal candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

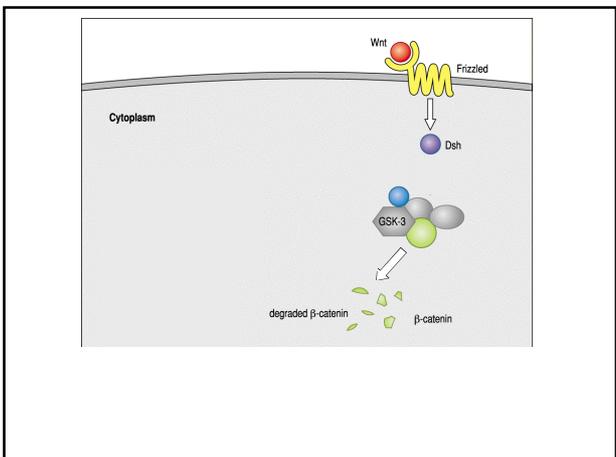
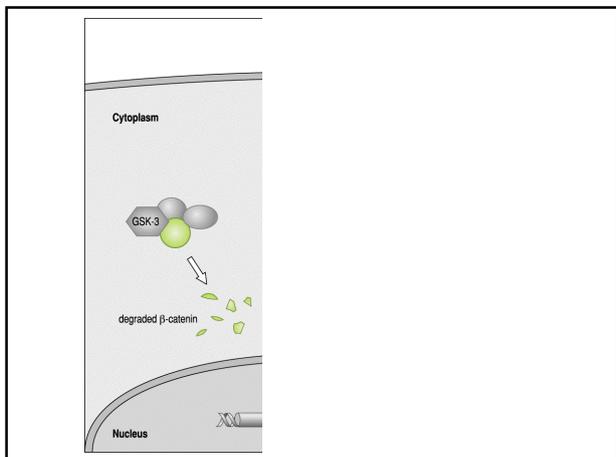
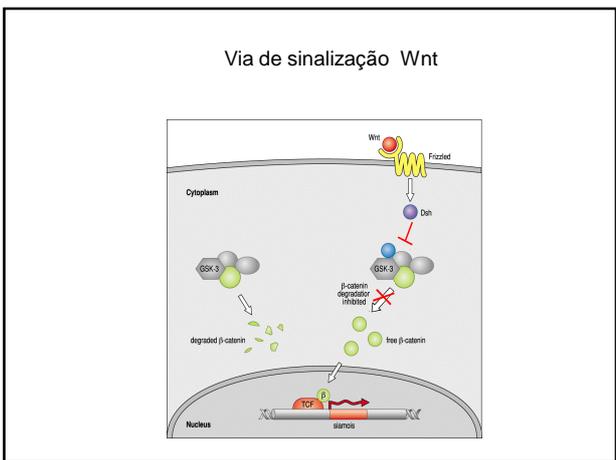
Candidato: Wnt

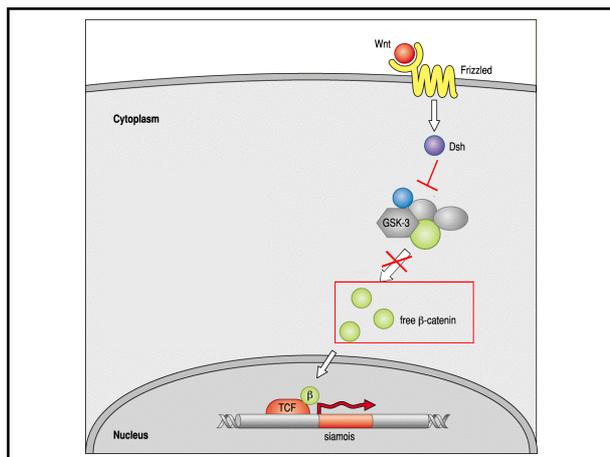
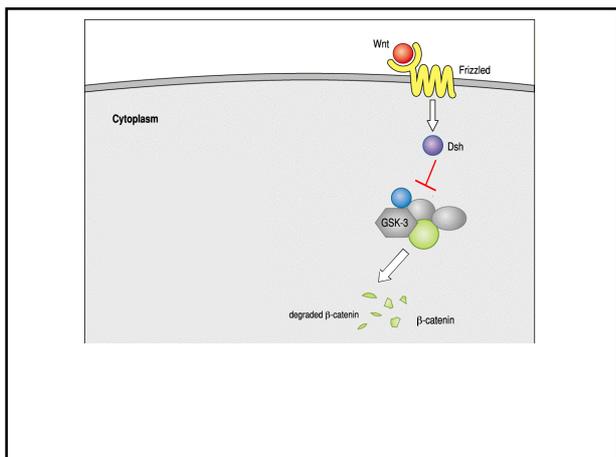
1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna

Um gene/sinal candidato a dorsalizador endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Candidato: Wnt

1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna





Establishment of the Dorsal-ventral Axis in *Xenopus*
 Embryos Is Presaged by Early Asymmetries in β -Catenin
 That Are Modulated by the Wnt Signaling Pathway
 Carolyn A. Larabell,¹ Monica Torres,² Brian A. Rowling,^{3,4} Cynthia You,¹ Jeffrey R. Miller,⁵ Mike Wu,¹
 David Kimelman,² and Randall T. Moon^{1*}

O embrião de *Xenopus* expressa beta-catenina desde cedo

Micrographs showing the expression of beta-catenin in *Xenopus* embryos. The top row shows whole embryos. The bottom row shows cross-sections labeled A, B, and C, with ventral and dorsal axes indicated.

Um gene/sinal candidato a dorsalizador endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Candidato: VIA DO Wnt (beta-catenina)

1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna

Localização da beta-catenina na blástula de *Xenopus*

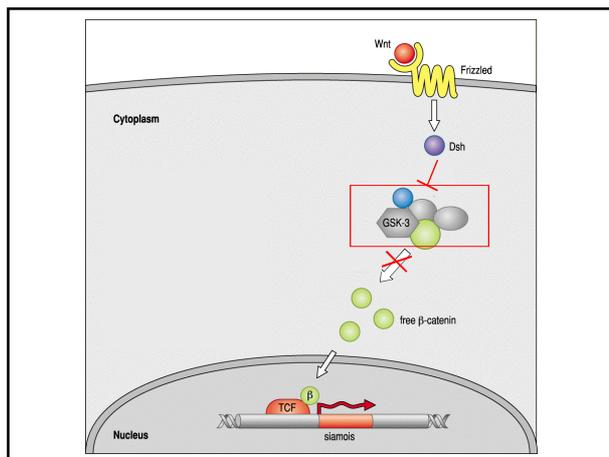
Fluorescence micrograph showing the localization of beta-catenin in a *Xenopus* blastula. A schematic diagram shows the dorsal-ventral axis. The main image shows a red signal (beta-catenin) localized to the dorsal side.

Schohl and Fagotto Development 129, 37-52 (2002)

Um gene/sinal candidato a dorsalizador endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Candidato: VIA DO Wnt (beta-catenina)

1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna



O Gsk-3 **reduz** os níveis de beta-catenina (marcado em laranja)

Presença de GSK-3:

- Maternal
- Presente em todo o embrião

a controle

b controle

c Gsk-3

d DN-Gsk-3

Larabell et al. JCB Vol 136 :1123-1136(1997)

Establishment of the Dorsal-Ventral Axis in *Xenopus* Embryos Coincides with the Dorsal Enrichment of Dishevelled That Is Dependent on Cortical Rotation

Jeffrey R. Miller,* Brian A. Rowling,*† Carolyn A. Larabell,¹ Julia A. Yang Snyder,* Rebecca L. Bates,* and Randall T. Moon*

*Howard Hughes Medical Institute, Department of Pharmacology, and Center for Developmental Biology, University of Washington School of Medicine, Seattle, Washington 98195; and †Lawrence Berkeley National Laboratory, University of California at Berkeley, Berkeley, California 94720
The Journal of Cell Biology, Volume 146, Number 2, July 26, 1999 427-437
http://www.jcb.org

Wnt

Frizzled

Cytoplasm

Dsh

GSK-3

degraded β -catenin

free β -catenin

Nucleus

TCF

β

siamois

O Dsh, assim como o Wnt, causa duplicação axial

controle Injetados com XDsh

A controle

B Injetados com XDsh

C controle

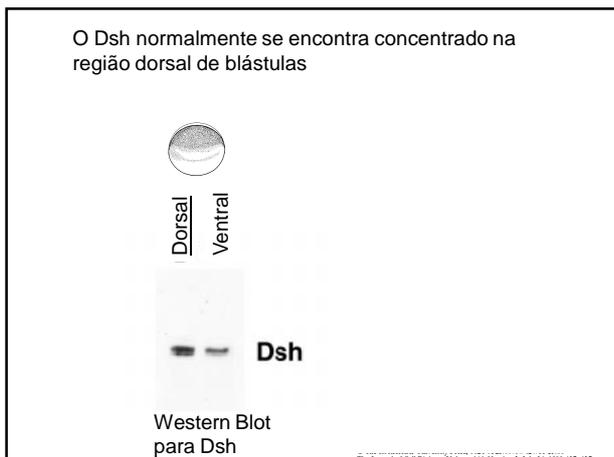
D Injetados com XDsh

Sokol et al., Development 121:1637-1647 (1995)

Um gene/sinal candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Candidato: Wnt/Dsh

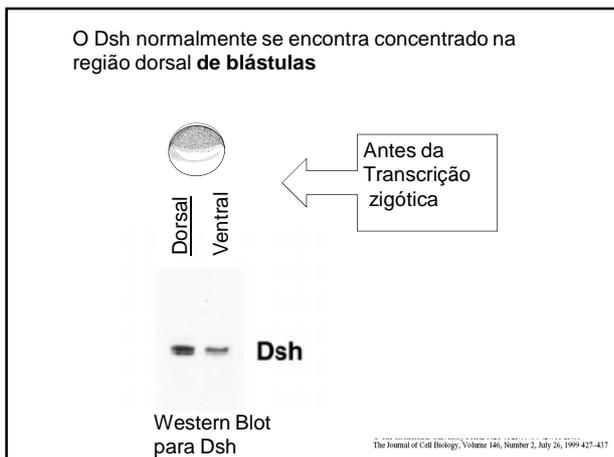
1. Expressão na região dorsal
2. Capaz de causar duplicação axial
3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
4. Ser de origem materna



Um gene/sinal candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Candidato: Wnt/Dsh

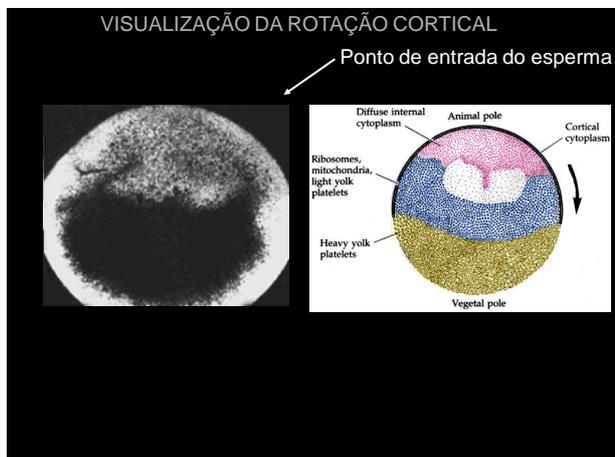
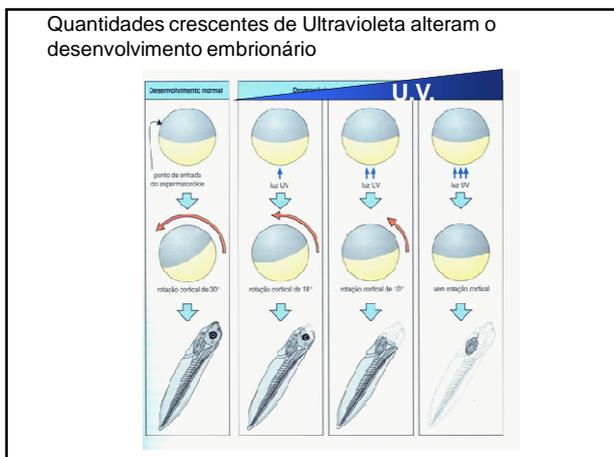
- ☑1. Expressão na região dorsal
- ☑2. Capaz de causar duplicação axial
- ☑3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
- 4. Ser de origem materna



Um gene/sinal candidato a indutor endógeno deve ter a seguintes propriedades:

Candidato: Wnt/Dsh

- ☑1. Expressão na região dorsal
- ☑2. Capaz de causar duplicação axial
- ☑3. Capaz de compensar pelo efeito do UV
- ☑4. Ser de origem materna



Development 1992 Mar;114(3):699-709.
Organization and regulation of cortical microtubules during the first cell cycle of *Xenopus* eggs.
 Schroeder MM, Gard DL

(A) Fertilization (B) Cortical rotation

O áster do esperma organiza a polimerização dos microtúbulos que resultam na rotação cortical

(A) Fertilization (B) Cortical rotation (C) Dorsal enrichment of Dsh

BEFORE ROTATION LATE ROTATION

Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 94, pp. 1224-1229, February 1997

(A) Fertilization (B) Cortical rotation (C) Dorsal enrichment of Dsh

Development 130, 5425-5436 © 2003 The Company of Biologists Ltd

(A) Fertilization (B) Cortical rotation (C) Dorsal enrichment of Dsh

(D) Dorsal inhibition of GSK-3 (E) Dorsal enrichment of beta-catenin

1. Fertilização
2. Polimerização polarizada dos microtúbulos pelo aster espermático
3. Rotação cortical
4. Concentração de Dsh na região vegetal-dorsal
5. Inibição de GSK-3 na região vegetal-dorsal
6. Atividade da beta-catenina na região vegetal-dorsal

Região Ventral Região Dorsal

Cytoplasm Nucleus

Wnt Fzd3 Dsh Axin GSK-3 beta-catenin degraded beta-catenin free beta-catenin TCF

1. O que é que há entre o crescente cinza e a região dorsal?
Acúmulo de beta catenina nuclear.
2. O que é que há entre o crescente cinza e a gastrulação?

A região DORSAL da blástula deriva do *crescente cinza* (estágio 1 blastômero)

Legend:
■ ectoderm ■ mesoderm ■ endoderm ■ Crescente cinza

Considerando a conservação evolutiva de mecanismos do desenvolvimento, como você aplicaria a sua hipótese formulada para os micrômeros de ouriço-do-mar nesta situação? Ou será que é aplicável?

1. Proteína secretada
2. Proteína na membrana
3. Proteínas do tipo junções GAP

1. O que é que há entre o crescente cinza e a região dorsal?
Acúmulo de beta catenina nuclear.
2. O que é que há entre o **crescente cinza** e a **gastrulação**?
Sem Crescente Cinza não há Organizador e não há gastrulação.

Recém-fertilizado Rotação cortical Meso-blástula Gástrula

Crescente Cinza Organizador

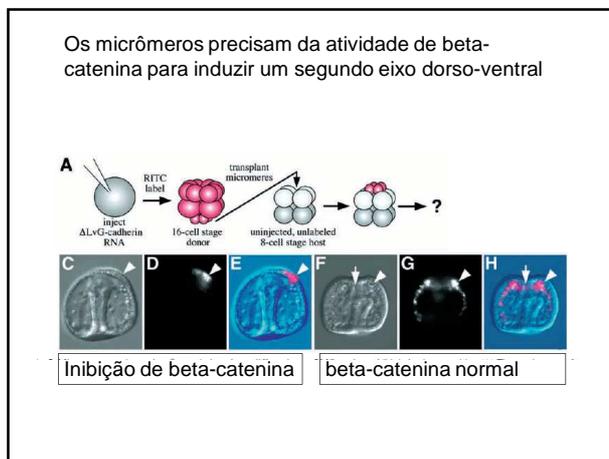
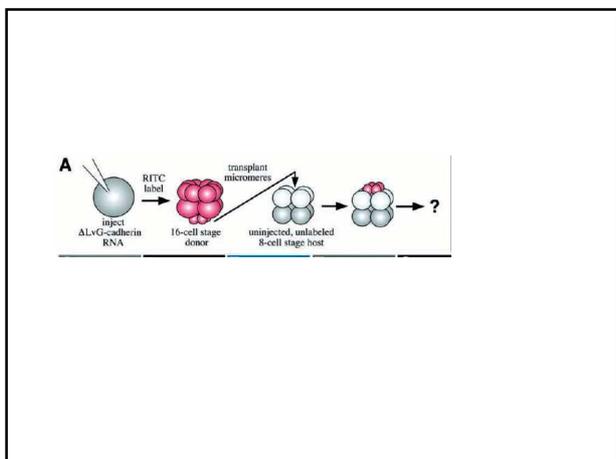
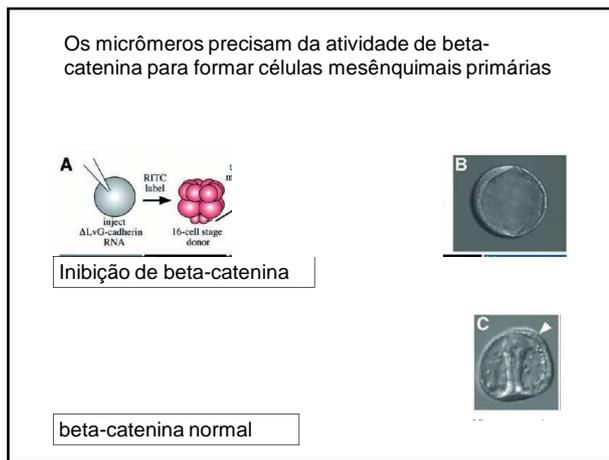
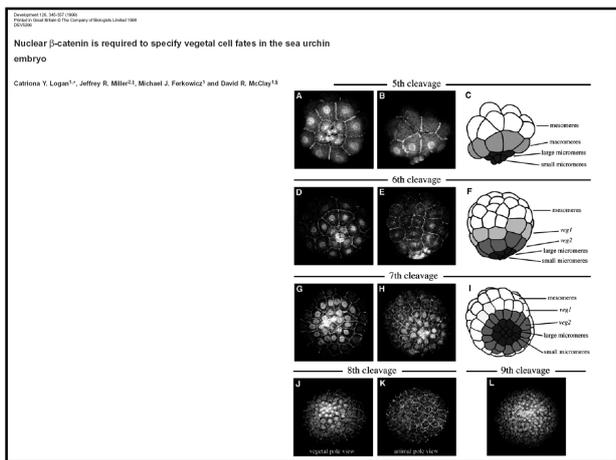
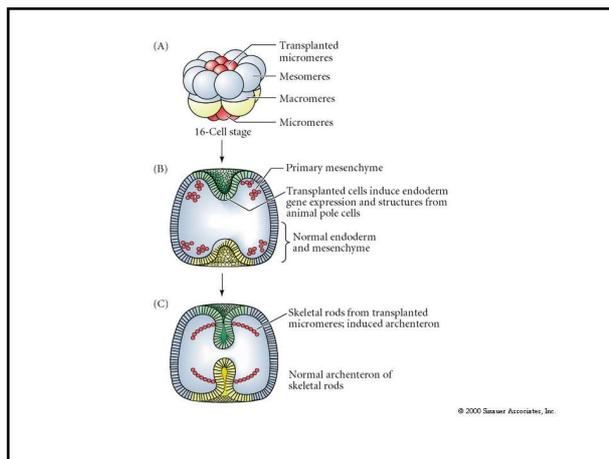
Recém-fertilizado Rotação cortical Meso-blástula Gástrula

Crescente Cinza Organizador

?

Recém-fertilizado Rotação cortical Meso-blástula Gástrula

Dsh no pólo vegetal Dsh no crescente cinza Transcrição zigótica Organizador



An ancient role for nuclear β -catenin in the evolution of axial polarity and germ layer segregation

Athala H. Wikramanayake¹, Meisnie Hong^{1,2}, Patricia H. Lee¹, Kevin Pang¹, Christine A. Byrum¹, Joanna M. Sisco¹, Ronghui Xu¹ & Mark O. Martindale¹

NATURE | VOL 426 | 27 NOVEMBER 2003 | www.nature.com/nature

b
Nematostella vectensis (Cnidaria, Anthozoa)

Aboral

Oral

A inibição da beta-catenina elimina a identidade axial

	plânula	pólipo
Controle		
Beta-catenina inibida		

