

O parassegmentos

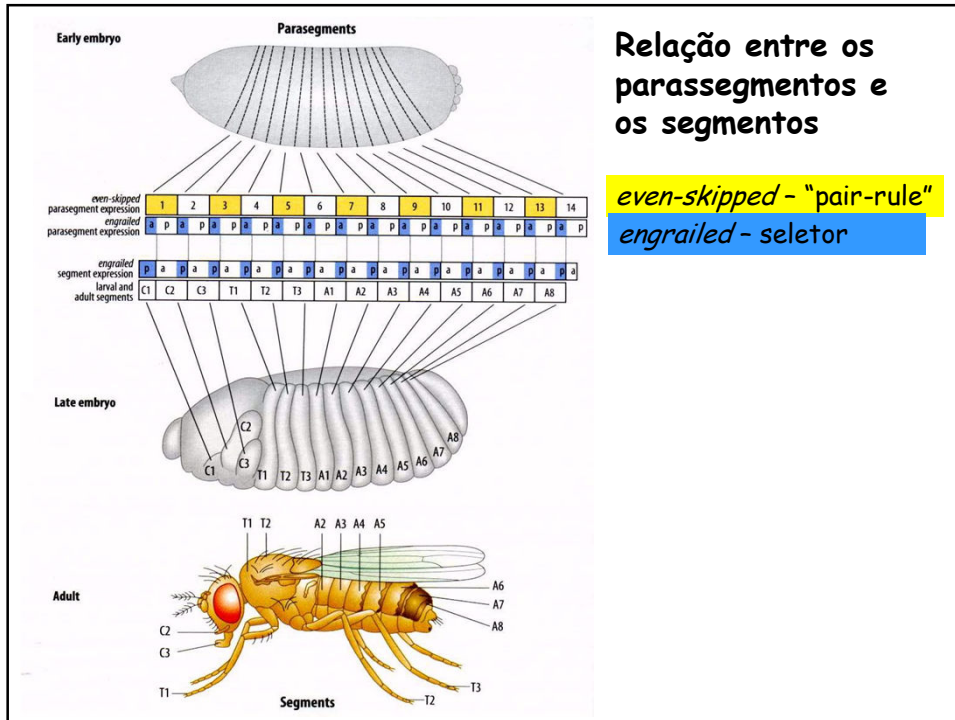
Os primeiros sinais visíveis de segmentação no embrião são sulcos transitórios na superfície do embrião após a gastrulação.

Esses sulcos definem os parassegmentos.

Há 14 parassegmentos -> unidades fundamentais

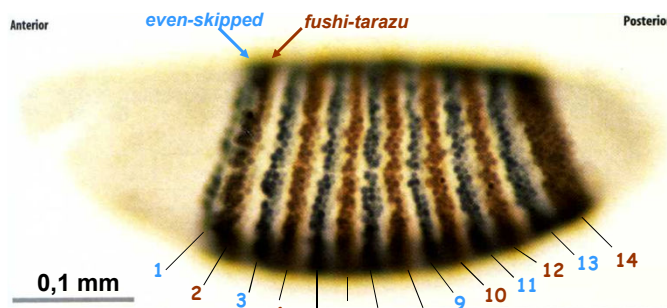
Cada parassegmento se comporta independentemente, sob o controle de um conjunto específico de genes.

Os parassegmentos estão fora de fase em relação aos segmentos



Os genes "pair-rule"

Delimitam os parassegmentos e são expressos em séries de sete faixas transversais ao eixo a-p do embrião



A posição da faixas repetidas dos genes "pair-rule" é estabelecida pelo padrão não repetido dos "gap genes"

Posicionamento das faixas dos "pair-rule"

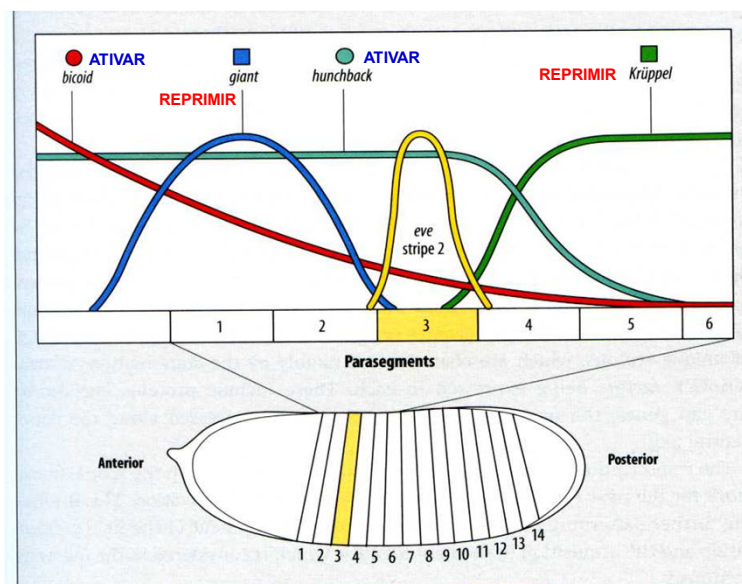
Mutações nesses genes afetam segmentos alternados

Alguns deles afetam parassegmentos ímpares (*even-skipped*)

Outros afetam parassegmentos pares (*fushi tarazu*)

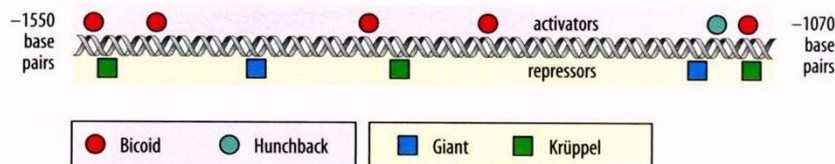
O padrão em faixas dos "pair-rule" surge antes da celularização da blastoderme

Como a 2ª faixa de eve é estabelecida



em cada faixa os "pair-rule" respondem a diferentes concentrações e combinações dos fatores de transcrição dos "gap-genes".

Binding of gap-gene proteins to one of the regulatory regions in the promoter of *even-skipped*



região reguladora do gene *even-skipped*, com ~500pb de comprimento, mostra diferentes elementos que controlam a expressão de cada faixa -> *lacZ*

Genes de segmentação e compartimentos

Diferentemente dos "pair-rule" que são todos fatores de transcrição, os genes de segmentação são mais diversos.

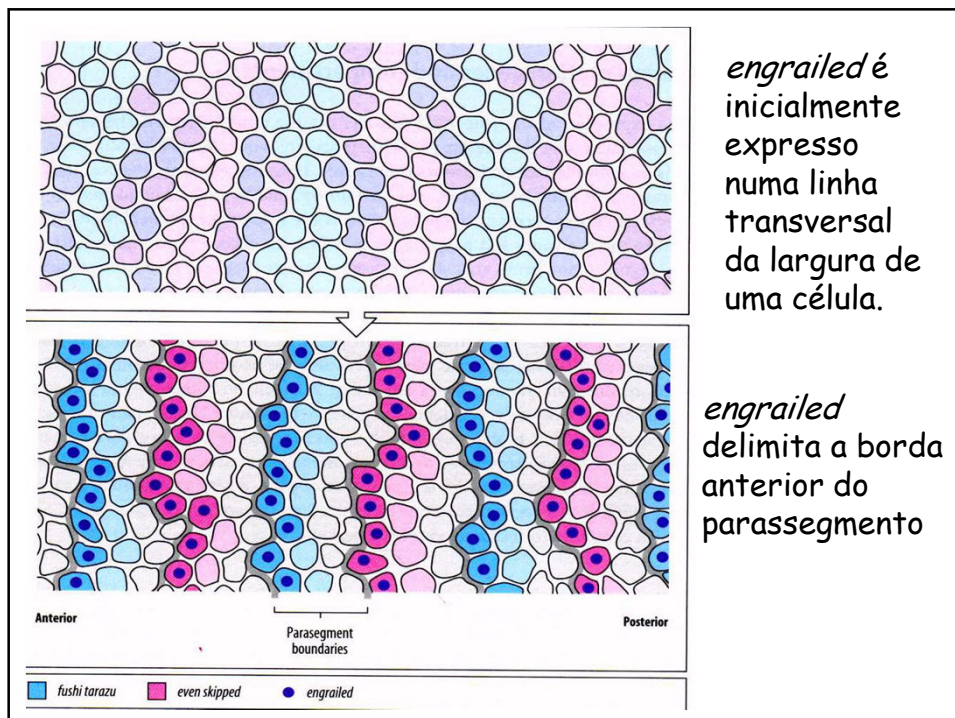
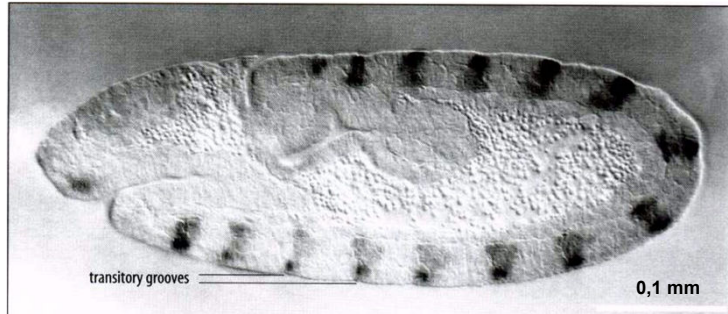
São expressos em 14 faixas transversais, uma para cada parassegmento.

Nesse momento a blastoderme está celularizada e portanto os genes de segmentação agem num ambiente celular.

Um dos genes de segmentação é *engrailed*, expresso na parte anterior de cada parassegmento.

engrailed é também um **gene seletor** que continua agindo em estágios posteriores.

Expressão de *engrailed* no embrião de estágio 11



A expressão de *engrailed* é controlada por genes "pair-rule"

Mutantes sem *fushi-tarazu* não expressam *engrailed* nos segmentos pares (onde *ftz* é normalmente expresso)

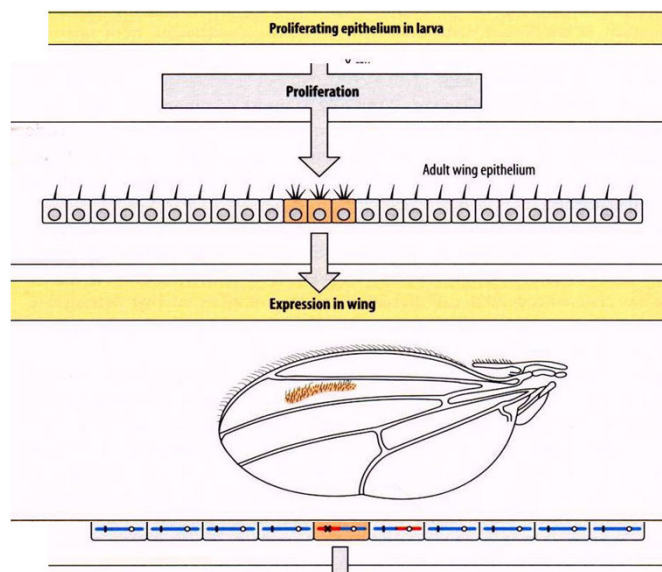
A margem anterior do parassegmento é o limite de uma **restrição de linhagem celular**

Células de um parassegmento ou seus descendentes nunca se movem para um parassegmento vizinho

Domínios deste tipo com restrição de linhagem são conhecidos como **compartimentos**

engrailed define o compartimento posterior do segmento

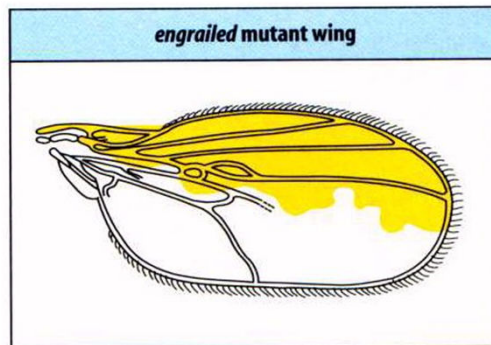
Estudo de compartimentos definidos por restrição de linhagens pode ser melhor observado em adultos



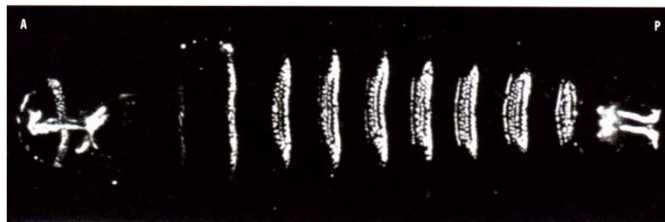
Linhagens podem ser estudadas por meio de mosaicos genéticos

Para melhor visualizar os compartimentos pode-se usar a mutação *Minute*

Mutantes *Minute* crescem mais devagar. Recombinação em células *Min/+* induz clones que crescem mais rápido e podem ser visualizados mais facilmente



Genes de segmentação estabilizam limites dos parassegmentos



Segmentos na parte ventral da larva possuem dentículos na parte anterior e são carecas na parte posterior

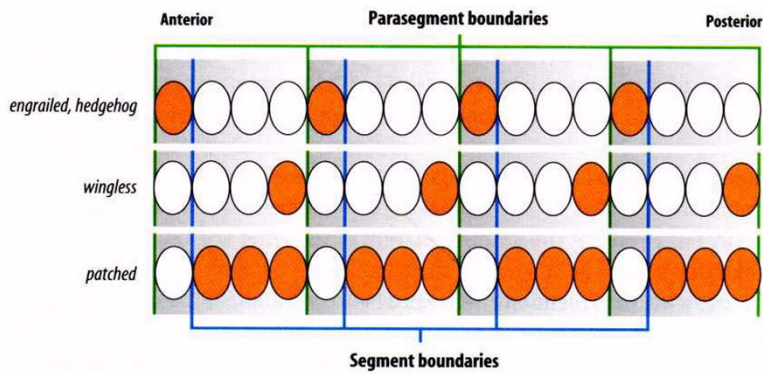
Mutações em genes de segmentação alteram o padrão de dentículos:

wingless -> dentículos em todo o segmento. Parte posterior perdida e anterior duplicada especularmente

hedgehog -> mesmo fenótipo



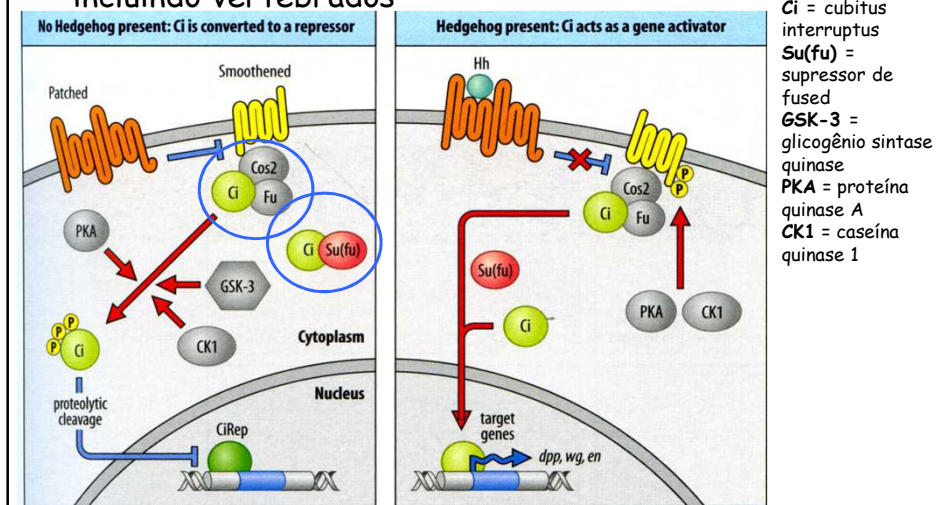
Estabelecimento dos limites do parassegmento depende de um circuito de sinalização intercelular envolvendo os genes de segmentação *wingless*, *hedgehog* e *engrailed*



engrailed codifica um fator de transcrição, enquanto *Wingless* e *Hedgehog* são proteínas sinalizadoras secretadas

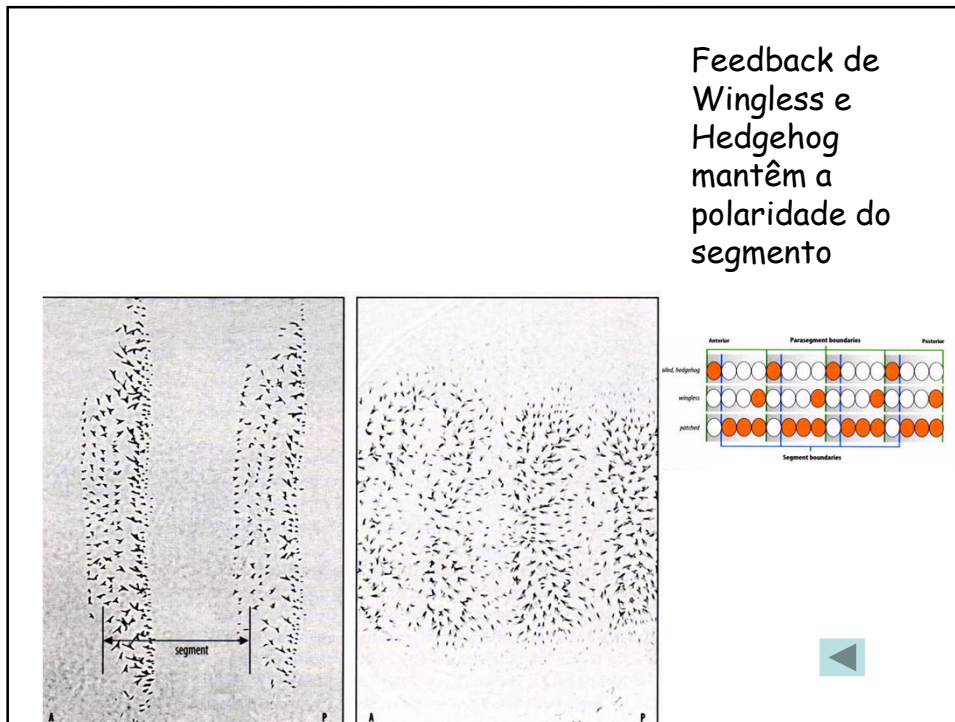
Wingless é o membro prototípico da família **Wnt**, com homólogos importantes no desenvolvimento de invertebrados e vertebrados

Hedgehog também possui homólogos em outros animais, incluindo vertebrados

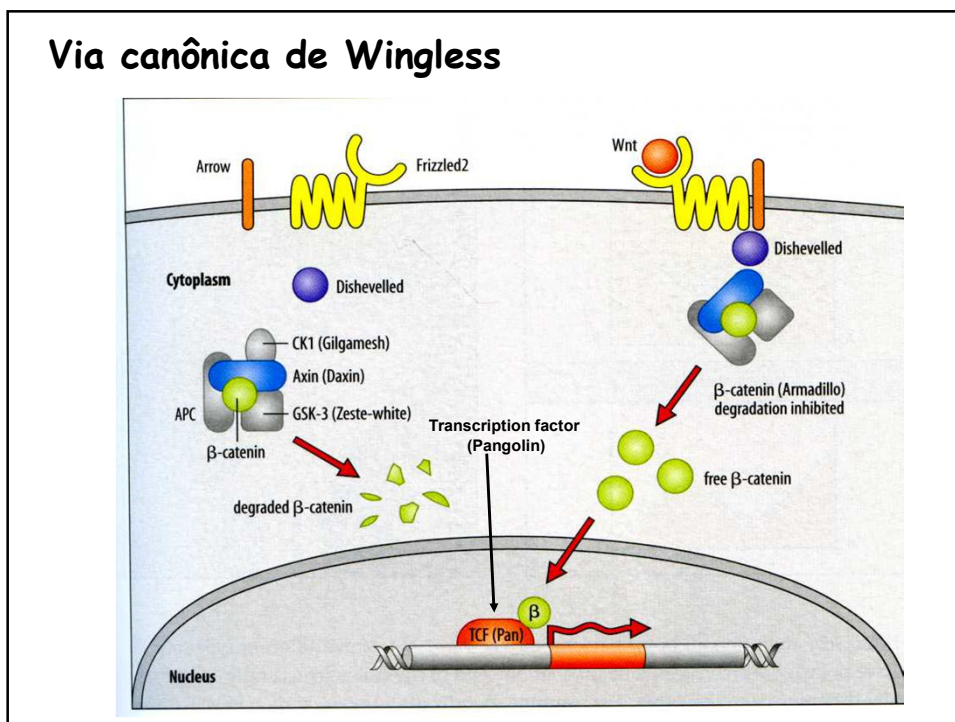


Ci = cubitus interruptus
 Su(fu) = supressor de fused
 GSK-3 = glicogênio sintase quinase
 PKA = proteína quinase A
 CK1 = caseína quinase 1

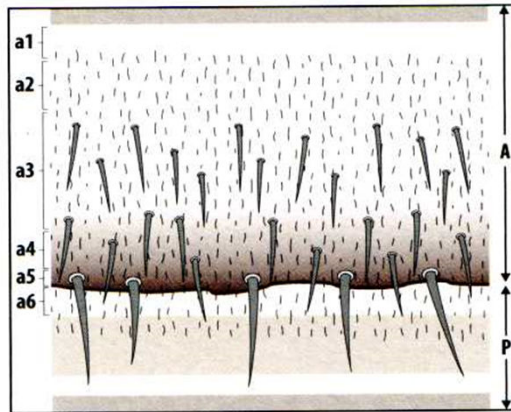
Feedback de Wingless e Hedgehog mantêm a polaridade do segmento



Via canônica de Wingless



Wingless se move uma distância mais curta posteriormente do que anteriormente pois é mais rapidamente degradado no compartimento posterior



A epiderme de cada segmento no abdômem da drosófila adulta é dividida em um compartimento anterior e um posterior

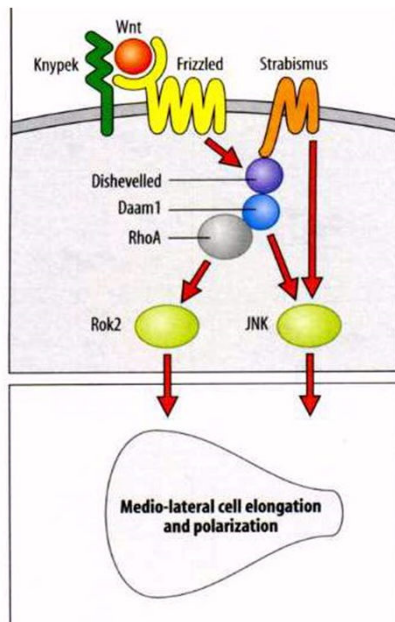
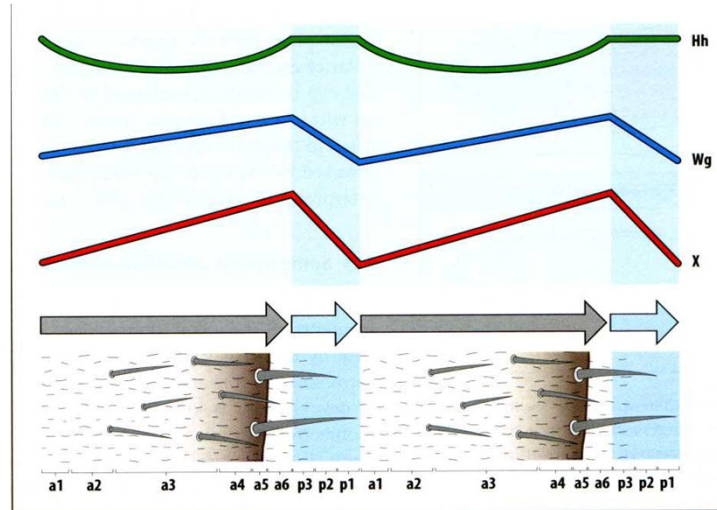
Cada célula da epiderme de drosófila adquire uma polaridade antero-posterior individual

Muitas células apresentam **polaridade celular plana** -> um lado da célula é diferente do outro

As células epidermais da asa de drosófila apresentam cerdas somente na parte **distal**

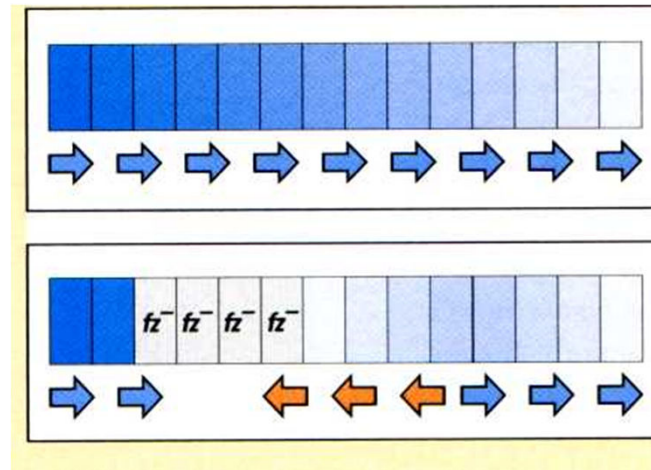
Qual o mecanismo pelo qual isso ocorre não está completamente estabelecido

Ao longo do tecido X forma um gradiente informacional em resposta a Hedgehog (Hh) e Wingless (Wg) nos limites dos compartimentos

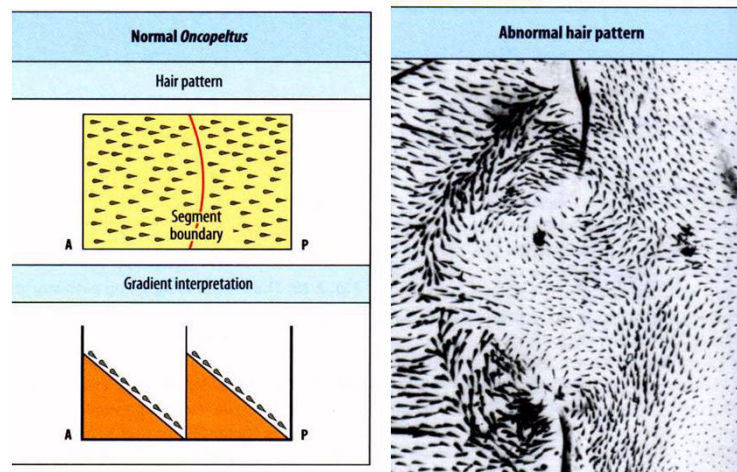


Mutações em Frizzled resulta em perda completa ou parcial da polaridade das cerdas abdominais através da via não canônica por ligantes desconhecidos

Gradiente de Frizzled em azul e flechas orientação das cerdas. Clone de células sem Frizzled reverte o gradiente e a orientação das cerdas



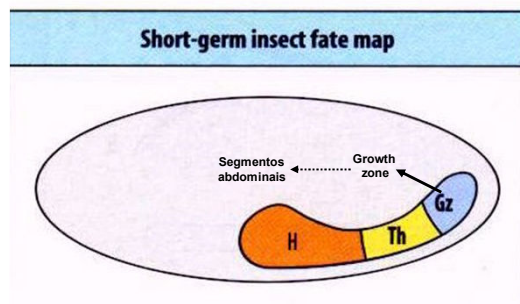
Em *Oncopeltus* alguns indivíduos tem um espaço no limite dos segmentos com cerdas de orientação alterada



Oncopeltus, hemíptero fitófago (=pulgão), tem um padrão de cerdas como drosófila

Outros insetos usam mecanismos diferentes para estabelecer o padrão do corpo

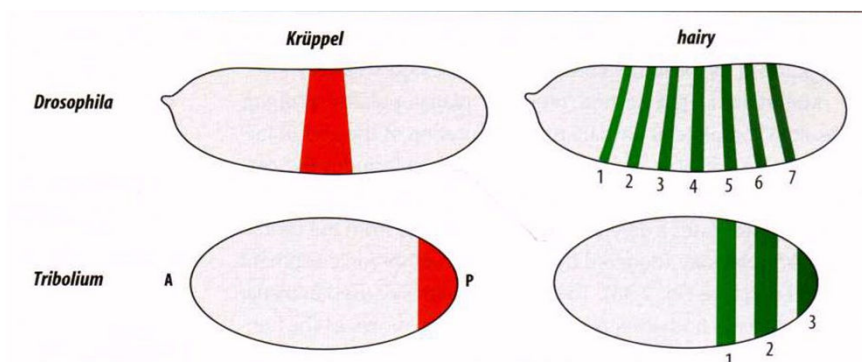
Drosófila pertence a um grupo de insetos que apresentam **desenvolvimento de germe longo**



Outros insetos como o besouro-da-farinha *Tribolium*, têm **desenvolvimento de germe curto**

Nos insetos de germe curto a blastoderme é curta e forma somente os segmentos anteriores. Os segmentos posteriores são formados após a gastrulação.

Os mesmos genes estão envolvidos em ambos os padrões e especificam porções semelhantes



Algumas vespas parasitas possuem um padrão semelhante a mamíferos!!!

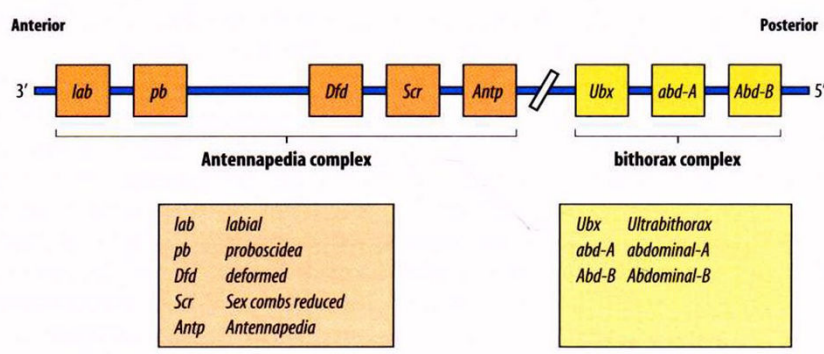
Especificação da identidade do segmento

Cada segmento possui uma identidade única especificada por uma classe de genes reguladores mestres conhecidos como **genes homeióticos** seletores

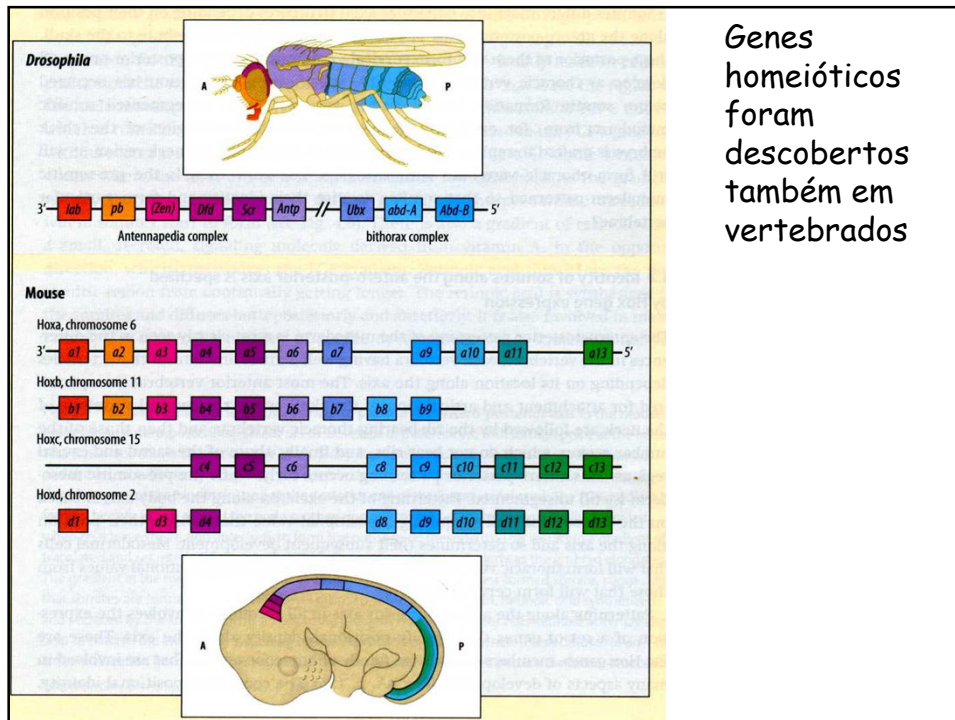
Transformação homeiótica -> conversão de um segmento em outro, causada por mutações nos **genes Hox**

Os genes Hox codificam fatores de transcrição e derivam o seu nome de um motivo no seu DNA, a **homeobox**, que codifica parte do sítio de ligação ao DNA destas proteínas chamada de **homeodomínio**

Os dois conjuntos de genes Hox de drosófila são chamados de complexo bithorax e Antennapedia



Mutações nos genes homeióticos resultam em **homeiose** -> transformação de todo um segmento ou estrutura em uma relacionada, p. ex. antena em pata



Genes homeióticos foram descobertos também em vertebrados

O complexo bithorax controla o desenvolvimento dos parassegmentos 5-14 enquanto Antennapedia controla a identidade dos parassegmentos mais anteriores

O complexo bithorax compreende três genes homeióticos:

Ultrabithorax é expresso nos parassegmentos 5 a 12

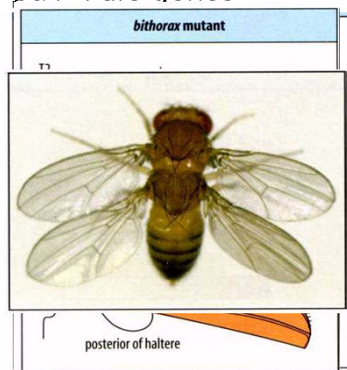
abdominal-A é expresso nos parassegmentos 7-13

Abdominal-B é expresso do parassegmento 10 para trás

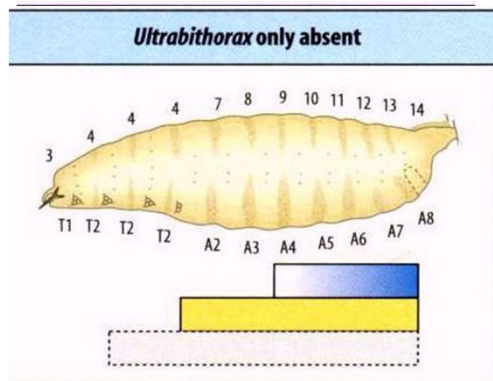
A combinação da expressão diferente desses três genes estabelece a identidade do parassegmento

Abdominal-B suprime *Ultrabithorax*, de modo que a expressão de *Ultrabithorax* diminui em direção ao parassegmento 14, a medida que a expressão de *Abd-B* aumenta

A expressão dos genes bithorax é controlada por "gap" e "pair-rule genes"



Mutações no complexo bithorax afetam o desenvolvimento das asas e balancins no adulto



O complexo bithorax é essencial para a diversificação dos segmentos, cujo padrão básico é representado pelo parassegmento 4

Abd-B

abd-A

even-skipped parasegment expression	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
engrailed parasegment expression	a	p	a	p	a	p	a	p	a	p	a	p	a	p
engrailed segment expression larval and adult segments	C1	C2	C3	T1	T2	T3	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8

O caráter dos parassegmentos é especificado pelos genes do complexo bitórax agindo de maneira combinada

As proteínas dos "gap genes" e os "pair rule genes" desaparecem após 4h. A expressão contínua e correta dos genes homeióticos envolve dois grupos de genes: Polycomb e Trithorax

As proteínas do **grupo Polycomb** mantêm repressão transcricional dos genes homeióticos onde eles estão desligados

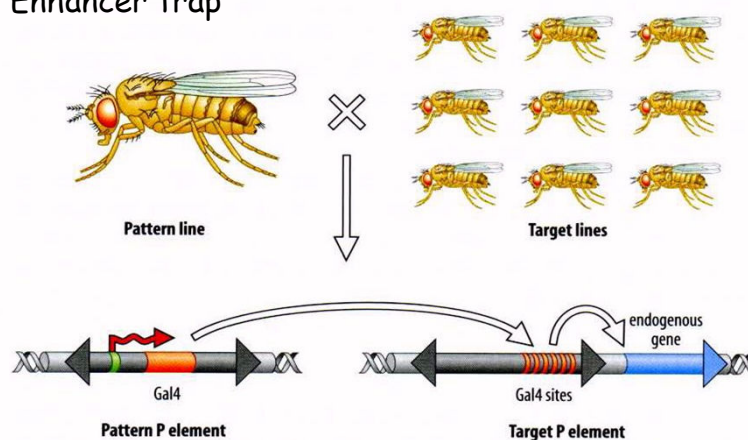
Proteínas do **grupo Trithorax** mantem a expressão nas células onde eles estão ligados

Os genes controlados pelas proteínas homeióticas são quase todos desconhecidos

A ordem de expressão dos genes Hox corresponde à ordem dos genes no cromossomo

Utilização de elementos P e Gal4 para análise de promotores específicos

"Enhancer trap"



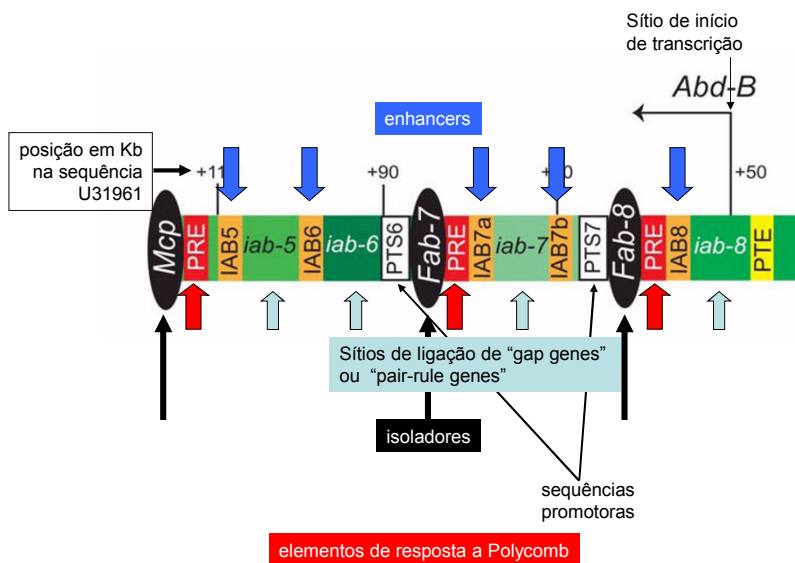
Evolução funcional de módulos reguladores em cis (CRM) num gene homeiótico de drosófila

A taxa de evolução de uma dada sequência de DNA é inversamente relacionada ao nível de "coação" funcional. Isso está bem estabelecido para os genes homeióticos.

Enquanto a conservação geral da sequência de DNA nos CRMs de drosófila não é diferente das regiões genômicas vizinhas, sítios críticos para fatores de transcrição dentro dessas CRMs são bastante conservados.

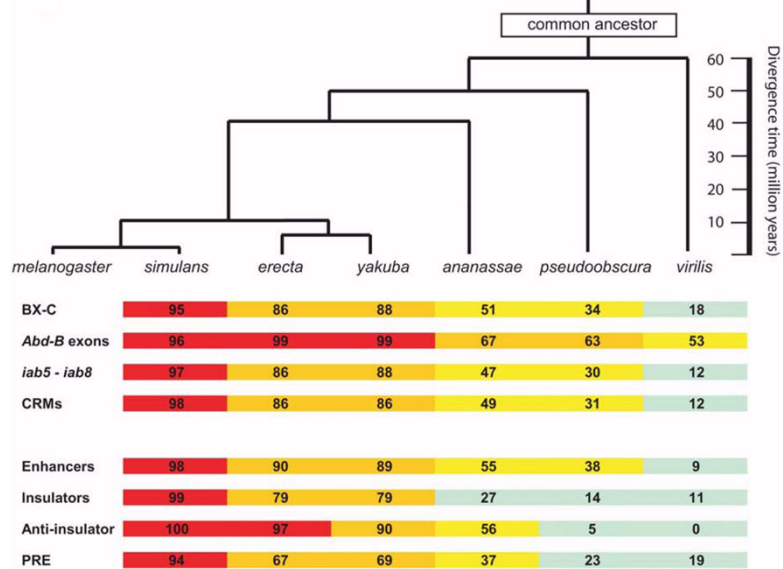
Ho et al., *PLoS Genet.* 5(11): e1000709. doi:10.1371/journal.pgen.1000709, no prelo, 2009.

CRMs na região 3' do gene *Abdominal-B*



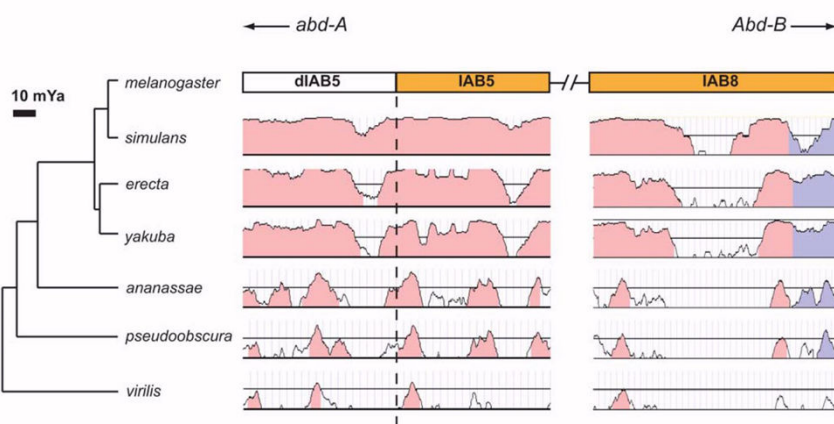
Ho et al., *PLoS Genet.* 5(11): e1000709. doi:10.1371/journal.pgen.1000709, no prelo, 2009.

Árvore de consenso das espécies de drosófila e conservação de sequência no gene *Abd-B*



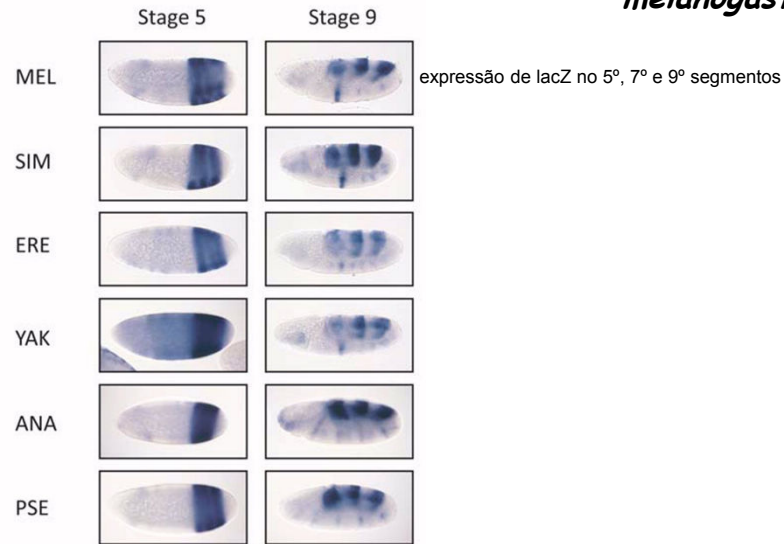
Ho et al., PLoS Genet. 5(11): e1000709. doi:10.1371/journal.pgen.1000709, no prelo, 2009.

Plot de conservação das regiões genômicas dos "enhancers" dIAB5, IAB5 e IAB8



Ho et al., PLoS Genet. 5(11): e1000709. doi:10.1371/journal.pgen.1000709, no prelo, 2009.

Ação do "enhancer" IAB5 de diferentes espécies na expressão de *eve-lacZ* em embriões transgênicos de *melanogaster*



Ho et al., PLoS Genet. 5(11): e1000709. doi:10.1371/journal.pgen.1000709, no prelo, 2009.