

BMC 0132
BMH5769
EMBRIOLOGIA MOLECULAR

<https://embriomol.wordpress.com/>

BMC0132 EMBRIOLOGIA MOLECULAR



Home Cronograma Modelos Animais Notas e Mídias

Sobre o site



Follow Blog via Email
 Enter your email address to follow this blog and receive notifications of new posts by email.

Este site foi originalmente criado para apoiar o Curso de Embriologia Molecular para Biologia-USP e Ciências Fundamentais da Saúde-USP. Os links aqui presentes têm informações adicionais para aqueles que se interessam pelo assunto. Divirtam-se!

BIBLIOGRAFIA (livros)
Developmental Biology Scott Gilbert Sexta Edição, Sinauer ISBN 0-87893-243-7

www.biocel.icb.usp.br



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS | Desenvolvimento Científico e Profissional | USP | Universidade de São Paulo

BCD Biologia Celular e do Desenvolvimento

HOME O DEPARTAMENTO GRADUAÇÃO PESQUISA PÓS-GRADUAÇÃO EXTENSÃO

Aulas e Recursos Didáticos

- MOL-MICROSCOPIA ONLINE
- LAMINÁRIO VIRTUAL
- Sites das disciplinas
- BMC0132 Embriologia Molecular**
- CCM0121 Biologia Celular para Ciências Moleculares

<https://embriomol.wordpress.com/>

6	10/04	IY	Somitogênese e determinação do campo de membro	Embrião in ovo turma A	Formação de somitos a partir do mesoderma Modelo sinalização FGF e ácido retinóico (clock-wavefront)
7	17/04	NC	Sinalização do desenvolvimento do membro	Discussão lista de exercícios	Desenvolvimento do membro superior vs inferior (Tbx4, Tbx5); Eixo proximo distal e anterior posterior e dorso ventral
8	24/04	IY	Organogênese	Embrião in ovo turma B	Embriologia Clássica Siste Cardíaco, Gastrointestinal
	01/05		Dia do Trabalho		

Material da Prática

- 1 pinça de relojoeiro tamanho 5
- 1 tesoura de manicure
- ROTEIRO de aulas práticas

REGRAS A SEREM CUMPRIDAS NAS AULAS PRÁTICAS

O CUMPRIMENTO DESTAS REGRAS É **OBRIGATÓRIO** PARA AS AULAS !!!!

1. **MELECA E MALOCA NÃO!!!** Vocês terão a sua disposição, baldes forrados com saco plástico e papel higiênico. Eles estão aí para que VOCE MANTENHA A SUA BANCADA, CHÃO, TETO ETC LIMPOS!! É imprescindível que a sala esteja limpa no final das aulas, caso contrário o curso perde o direito a aulas práticas.
2. **LAVE AS MÃOS.** Ovos podem ter *Salmonella*. Laven as mãos depois das aulas.
3. **LUPAS e MICROSCÓPIOS.** Cada dupla é responsável por retirar e guardar as lupas no armário. Use apenas a lupa designada para sua dupla.

<http://embriomol.wordpress.com>

27/03	Semana Santa		
5 03/04	PROVA TEÓRICA I		

25/04

DATA MÁXIMA PARA TRANCAMENTO DE MATRÍCULA EM DISCIPLINAS

Avaliação Teórica

- As provas teóricas terão duração de 120 minutos e serão dissertativas.
- Prova substitutiva: substitui provas perdidas pelo aluno, para situações comprovadamente emergenciais (saúde, acidente etc).
- Prova Recuperativa: Matéria toda, para alunos com >75% de presença com média entre 3-5

<http://embriomol.wordpress.com>

13	05/06	IY	Evolução e desenvolvimento : Genes Hox	IY/NC	PROPOSTA ORAL DE PROJETOS- discussão de metodologias	Mecanismos de evolução do plano corporal.
14	12/06	CD	Células-Tronco e regeneração		Tratamento do embrião com farmácias	ES, iPS, regeneração in vivo e em terapias
15	19/06	NC	Embriões e Ambiente; Teratogênese		Análise do fenotipo de teratogênicos	Plasticidade do desenvolvimento e teratogênese. Influência do ambiente no desenvolvimento
16	26/06	NC	PROVA TEÓRICA III		REFAZER A PROVA EM GRUPO (ESQUEMA NOVO DE NOTAS)	Entrega dos projetos escritos (5 paginas)

A avaliação do projeto experimental será feita pela **proposta escrita**

A **proposta escrita** do projeto experimental (maximo 3 pag, fonte 11pt espaço de linha 1,5) deve incluir:

Introdução, onde serão descritos os objetivos do projeto, a hipótese a ser comprovada,

Metodologia, onde deve ser descrito *em linhas gerais* os procedimento sexperimentais JUSTIFICANDO a escolha dos mesmos.

Resultados esperados e discussão.

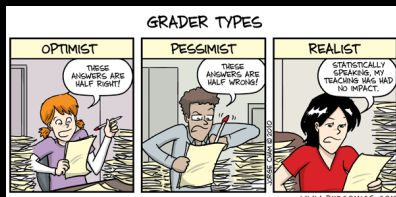
A apresentação oral do projeto deverá incluir breve introdução da problemática, hipótese formulada e os experimentos propostos para comprovação da hipótese .

A proposta experimental será discutida em sala com a banca e os demais alunos. AS SUGESTÕES DEVEM SER CONSIDERADAS PARA REDAÇÃO DA PARTE ESCRITA.

Média Final

(soma das notas das 3provas teóricas) + (projeto experimental)

4



<https://embriomol.wordpress.com/>

DISCIPLINA BMC-132 Embriologia Molecular Local: ICB I antiga sala 130 HORÁRIO: 8:30-12:30 3 ^o s						
			Aula teórica		Prática	OBJETIVOS DIDÁTICOS
1	07/03	IY	Apresentação do curso; (Clivagem)	IY	Apresentação de técnicas e conceito de upstream e downstream	Estrutura do curso Morfogênese comparativa das diferentes clivagens Experimentos em Ouriço Experimentos em Xenopus
2	14/03	NC	Gastrulação Fechamento do corpo e neurulação aspectos morfológicos (incluir drosophila).	NC	Origami de embrião, Gastrulação da meia	Movimentos celulares conservados Aspectos morfológicos da neurulação e migração de crista
3	21/03	IY	Determinação de eixo inicial em xenopus e ouriço (D/V). Definição do domínio neural	IY	Experimentos do Spemann interpretação resultados, experimentos de ouriço interpretação de resultados.	Conservação das vias de sinalização e do conceito de Organizador Determinação do domínio neural-ectodermia
4	28/03	IY	Determinação do eixo inicial em camudongo e aves (A/P e L/D)	IY	Embrião in ovo turma A	Sinalização na determinação do eixo antero-posterior e levo-dextro. Conservação das vias de sinalização



Você está investigando como as células de um embrião de sapo se diferenciam em epitélio ou células neuronais. Você faz dois experimentos:

A. Marca com corante fluorescente uma blastômero de um embrião jovem. Observa 2 dias depois que células contêm o corante.

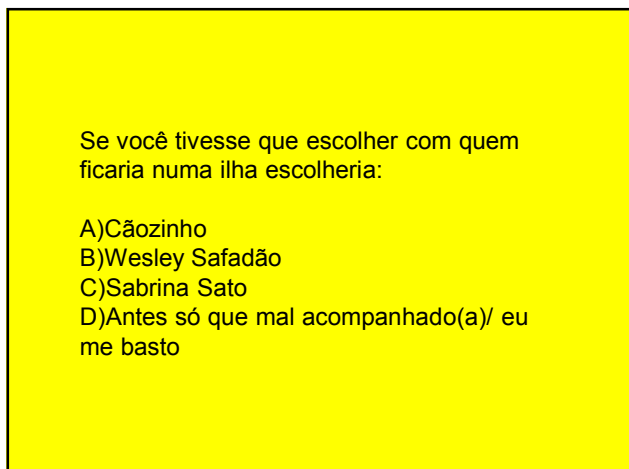
B. Isola o mesmo blastômero numa placa de cultura contendo nutrientes que sustentam a sua sobrevivência. Observa 2 dias depois que tipo de células são formadas.


Quanto você compara os resultados:

A: todas as células são neuronais

B: existem células neuronais e epiteliais.

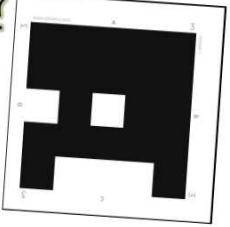
PORQUE OS RESULTADOS SÃO DIFERENTES?

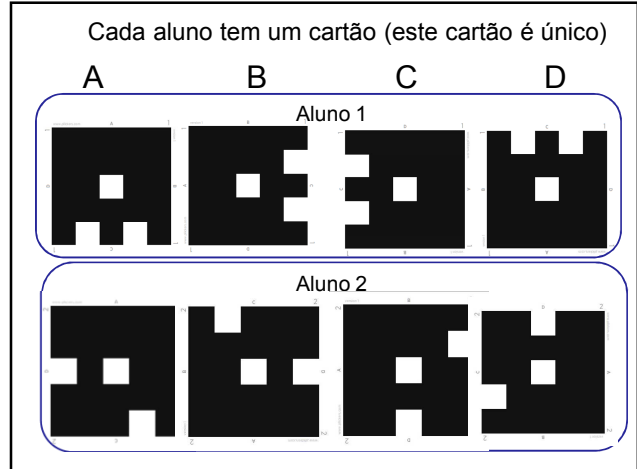
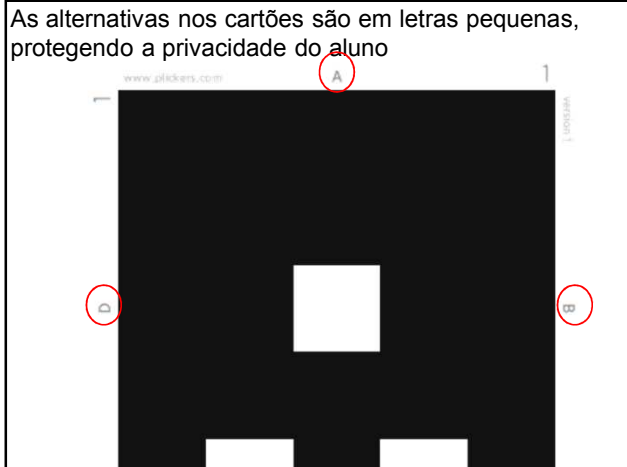


 plickers

How does it work?

- Cada aluno terá um cartão único com o código visual
- O código tem 4 lados: A, B, C e D
- Apresente a SUA OPÇÃO PARA CIMA





Se você tivesse que escolher com quem ficaria numa ilha escolheria:

A)Cãozinho
B)Wesley Safadão
C)Sabrina Sato
D)Antes só que mal acompanhado(a)/ eu me basto

Porque você escolheu esta disciplina?

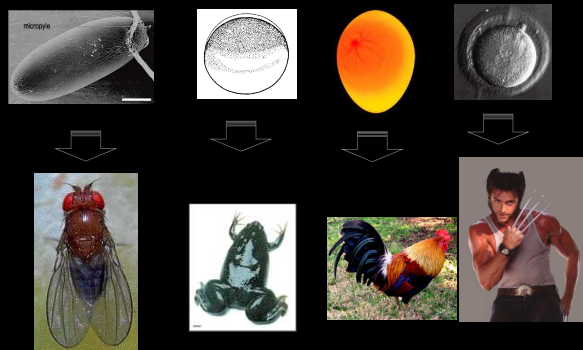
- A) Recomendação de Veteranos/Colegas
- B) "*fortemente recomendado*" por Professores/orientadores
- C) Falta de opção no Jupiter
- D) Se não gostar, posso sempre trancar

E) Sou do curso de CFS e esta é uma disciplina obrigatória. Não foi uma escolha. Não tive escolha.

O que você diria que é seu **principal** objetivo nesta disciplina?

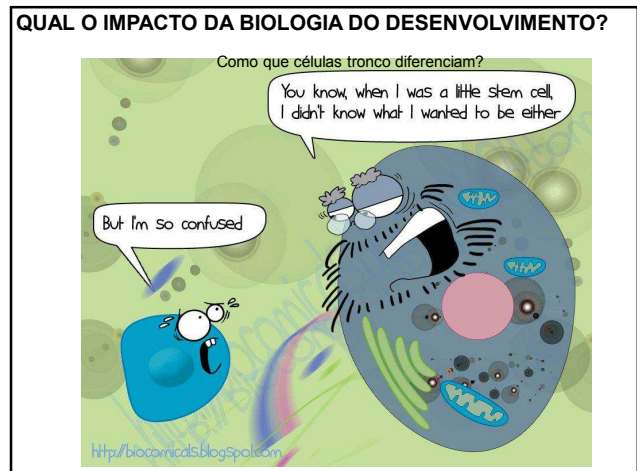
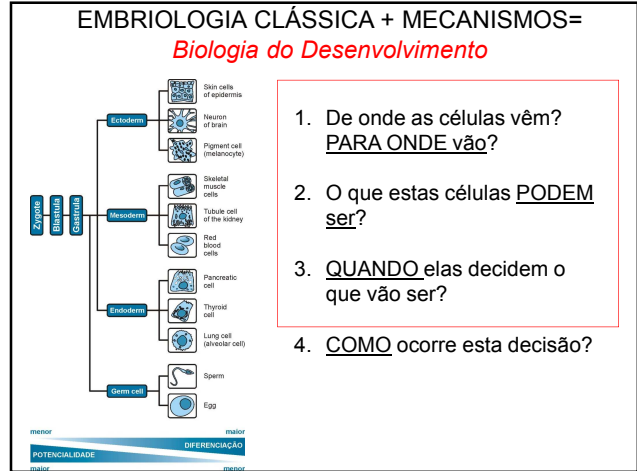
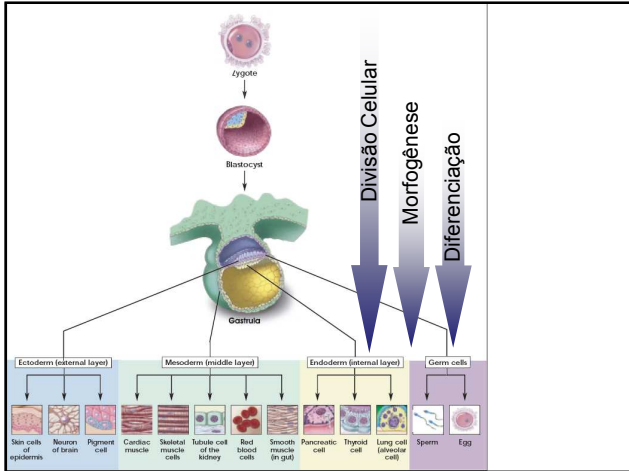
- A. Créditos para me formar
- B. Entender mais sobre evolução
- C. Entender mais sobre os mecanismos moleculares do desenvolvimento
- D. Eu sou contra este lance de "*objetivos na Vida*". Sou uma alma livre.

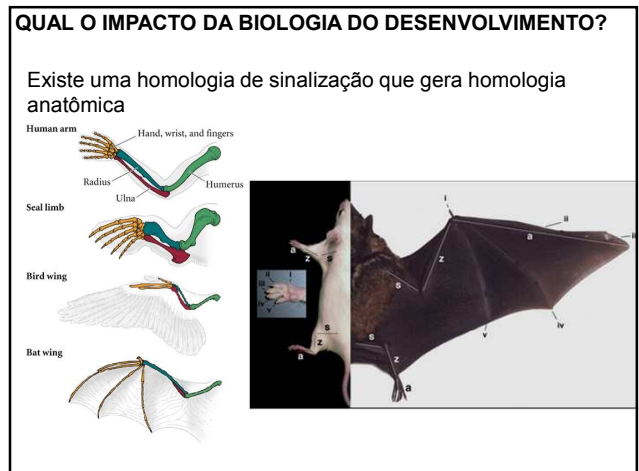
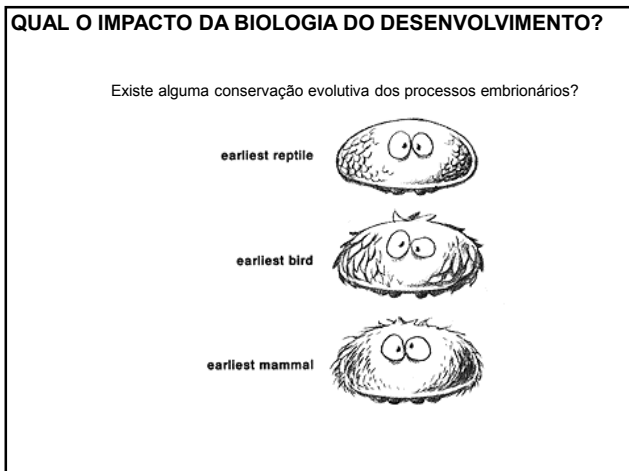
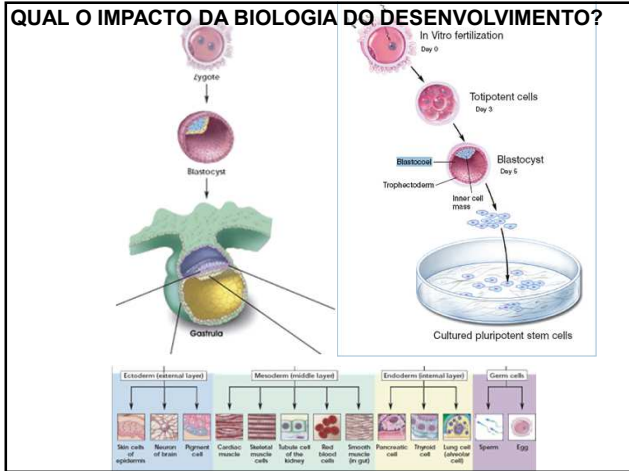
O que é Biologia do Desenvolvimento?



EMBRIOLOGIA CLÁSSICA






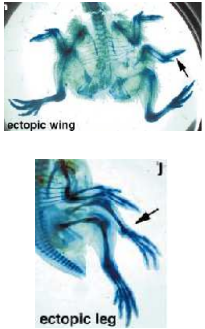


QUAL O IMPACTO DA BIOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO?

Por outro lado, como é que são geradas as diferenças entre segmentos do corpo?



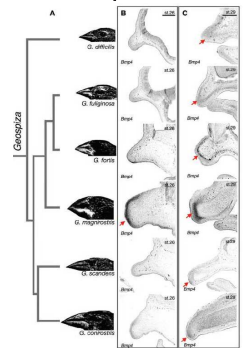
Drosophila m. ULTRABITHORAX



Gallus g. Com Tbx5 ectópico

A Biologia do Desenvolvimento explica os bicos dos tentilhões de Galápagos (helloooo, Darwin?!)

DEVELOPMENTAL BIOLOGY
Bonemaking Protein Shapes Beaks of Darwin's Finches




Origem da Vida

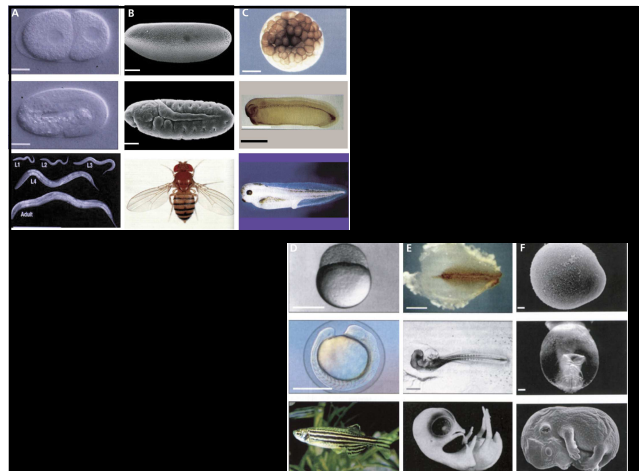
Morfogênese Anatómica

Evolução (Evo-Devo)

Diferenciação Celular

Hereditariedade

Ambiente e Especiação (ECO-Devo)



CLIVAGEM

- Aspectos Morfológicos
 - Planos de clivagem
 - Vitelo
- Consequências celulares
- Ciclo Celular durante as clivagens

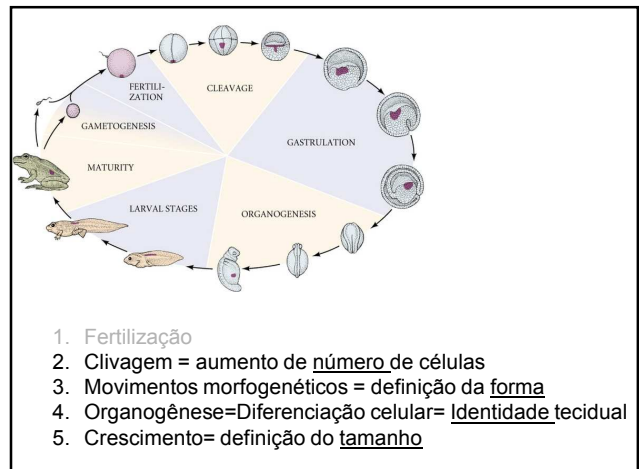
INSTRUMENTOS CELULARES E MOLECULARES EM BD
Pax6 no desenvolvimento do olho

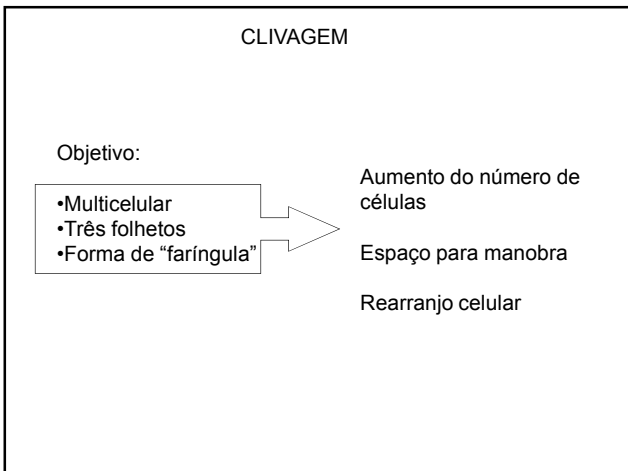
CLIVAGEM

- Aspectos Morfológicos
 - Planos de clivagem
 - Vitelo
- Consequências celulares
- Ciclo Celular durante as clivagens

INSTRUMENTOS CELULARES E MOLECULARES EM BD
Pax6 no desenvolvimento do olho

Fertilização	Externa	Externa	Externa	Interna	Interna
Desenvolvimento	Externo	Externo	Externo	Externo	Interno





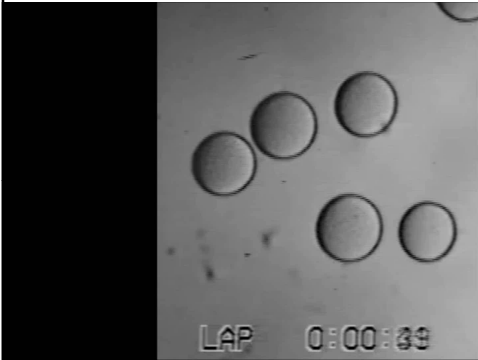
CLIVAGEM: o mesmo processo em espécies diferentes
1. Ouriço-do-mar

Early Sea Urchin Development
S. purpuratus


Time between frames = 1 min
Total time = 6 hrs
Filmed at the Marine Biology Laboratory
WoodsHole
by Paul Kulesa

As clivagens geram blastômeros (BLÁSTULA)






LAP 0:00:39



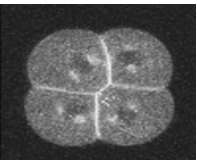
Oikopleura dioica
Scripps (tunicado)



Ouriço
Holoblástico radial

Anfíbio
Holoblástico radial

Peixe
Meroblástico

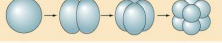









Caramujo
Holoblástico espiral

TIPOS DE CLIVAGENS

As clivagens são classificadas quanto a direção do plano de clivagem;

e quanto a totalidade da divisão

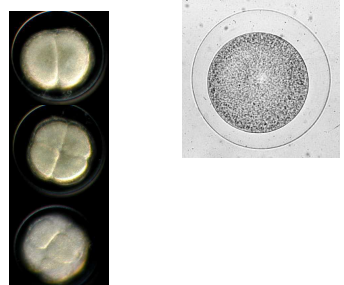
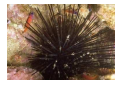
I. HOLOBLÁSTIC	
A. Isolecitalth	
1. Radial Echinoderms, amphioxus	
2. Spiral Annelids, molluscs, flatworms	
3. Bilateral Tunicates	
4. Rotational Mammals, nematodes	
B. Mesolecitalth	
Radial Amphibians	
	
II. MEROBLÁSTIC	
A. Telolecitalth	
1. Bilateral Cephalopod molluscs	
2. Discoidal Fish, reptiles, birds	
B. Centrolecitalth	
Superficial Most insects	
	

Tipos de Clivagem

- TOTALIDADE
- HOLOblástico

- VITELO
- Isolécito

•DIREÇÃO do plano de clivagem







Tipos de Clivagem

- TOTALIDADE
- HOLOblástico

- VITELO
- Mesolécito

•DIREÇÃO do plano de clivagem

A presença do vitelo diminui a velocidade da progressão da citocinese


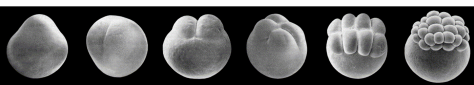



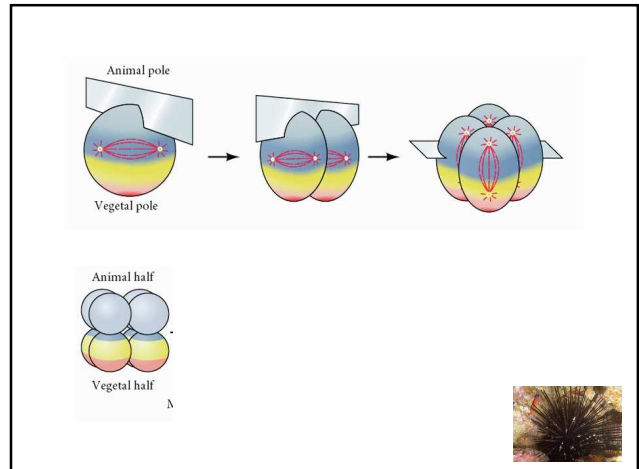
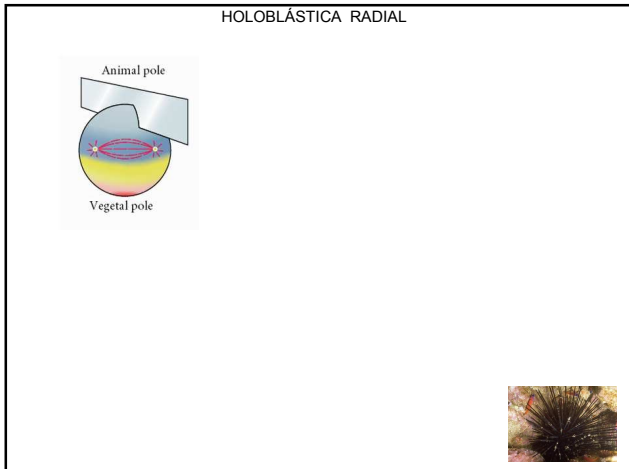
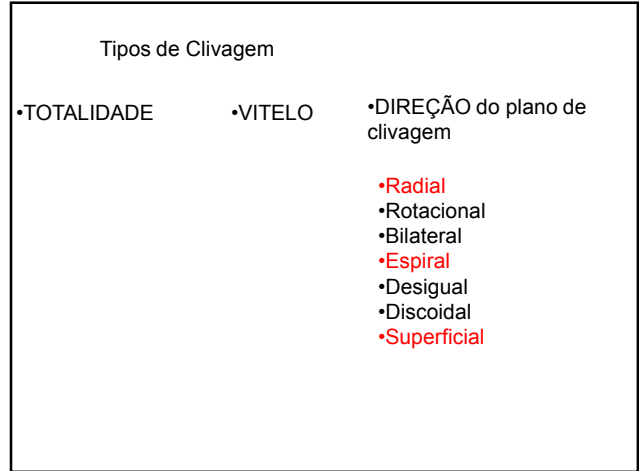
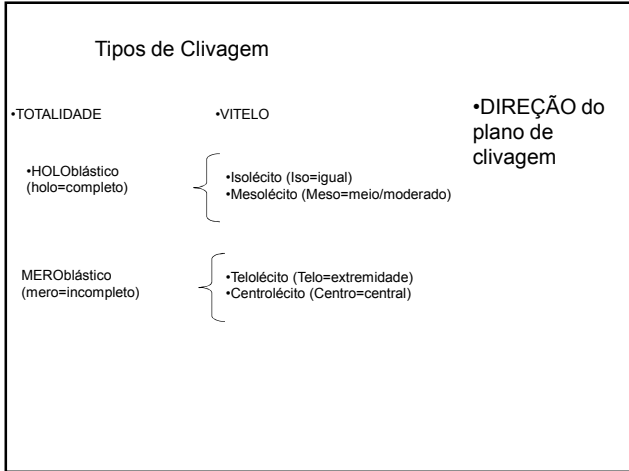
Tipos de Clivagem

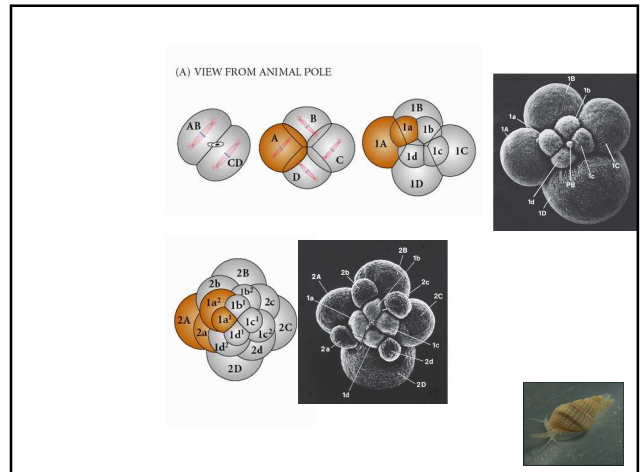
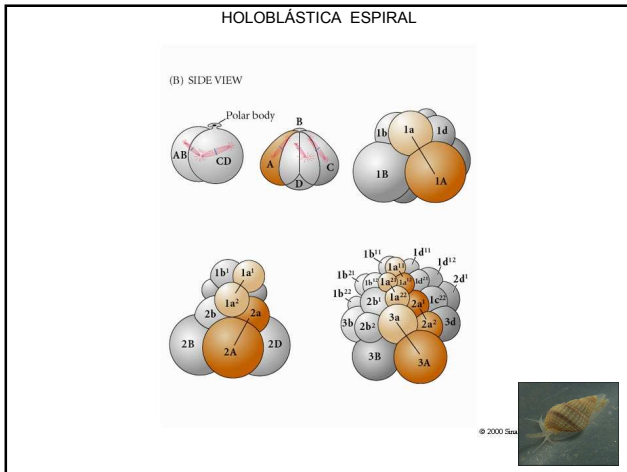
- TOTALIDADE
- Meroblástico

- VITELO
- Telolécito

•DIREÇÃO do plano de clivagem





Ou seja...

Na clivagem RADIAL, os 3 primeiros planos de clivagem são ortogonais ; enquanto que na clivagem ROTACIONAL, há um deslocamento dos plano de clivagens, que resulta na intercalação dos blastômeros.

RADIAL

ESPIRAL

Two-cell

Four-cell

Eight-cell

Compacted morula

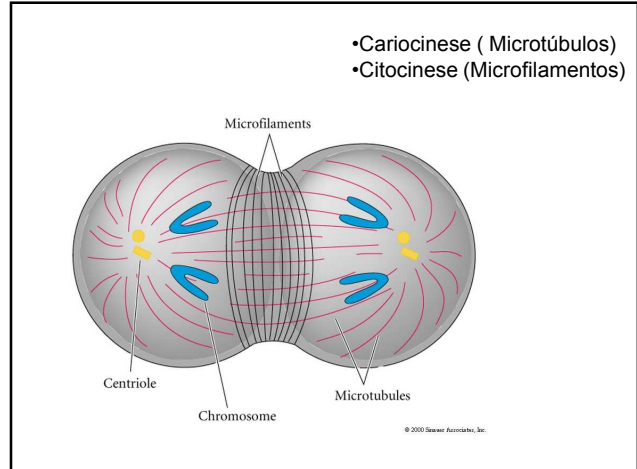
Blastocyst

MOUSE DEVELOPMENT

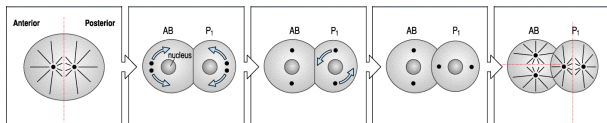
ANN SUTHERLAND
University of California
San Francisco

Holoblástico rotacional

COMO É GERADA ESTA VARIABILIDADE?



A posição do plano de clivagem é perpendicular ao fuso mitótico. E sua posição pode ser determinada por proteínas de membrana e elementos citoplasmáticos (ponto preto)

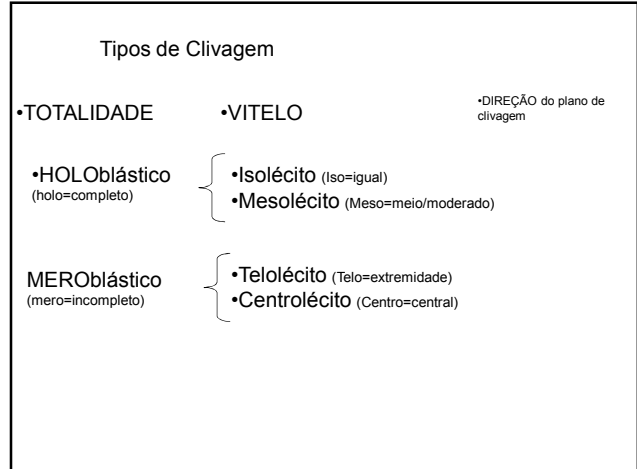
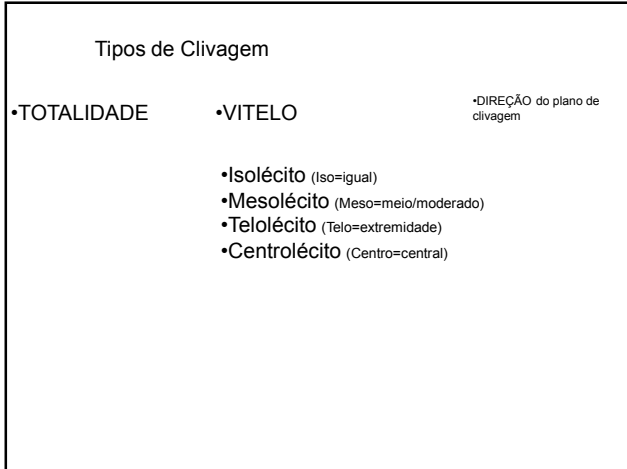


Tipos de Clivagem

- TOTALIDADE
- VITelo

•DIREÇÃO do plano de clivagem

- HOLOblástico (holo=completo)
- MEROblástico (mero=incompleto)



CLIVAGEM

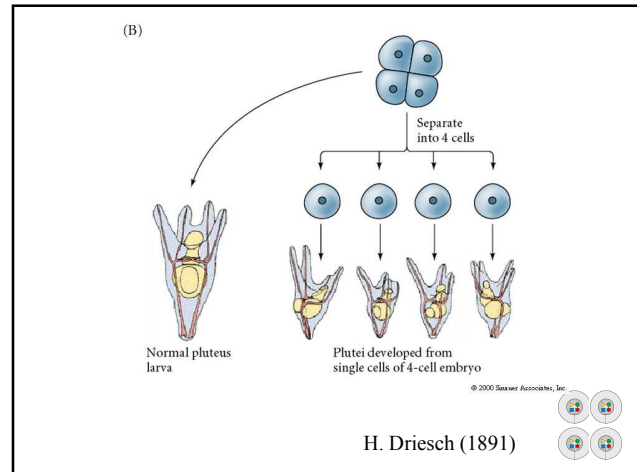
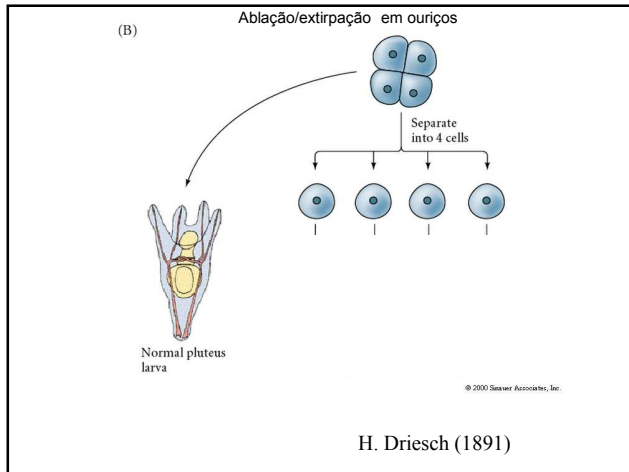
- Aspectos Morfológicos
 - Planos de clivagem
 - Vitelo
- Consequências celulares
- Ciclo Celular durante as clivagens

INSTRUMENTOS CELULARES E MOLECULARES EM BD

Pax6 no desenvolvimento do olho

EXISTE ALGUMA RAZÃO PARA ESTA VARIEBILIDADE?

1)Possivelmente para acomodar os diferentes tipos de ovos (distribuição de vitelo) ;

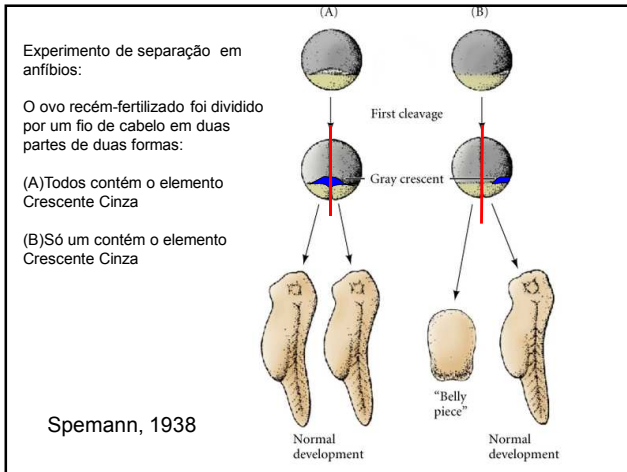


Este experimento prova que:

- a) Os blastômeros são equivalentes
- b) Os blastômeros dependem das células vizinhas para desenvolver
- c) O ouriço pode ser reproduzir de forma assexuada
- d) O núcleo é importante para o desenvolvimento

Este experimento prova que:

- a) Os blastômeros são equivalentes
- b) Os blastômeros dependem das células vizinhas para desenvolver
- c) O ouriço pode ser reproduzir de forma assexuada
- d) O núcleo é importante para o desenvolvimento

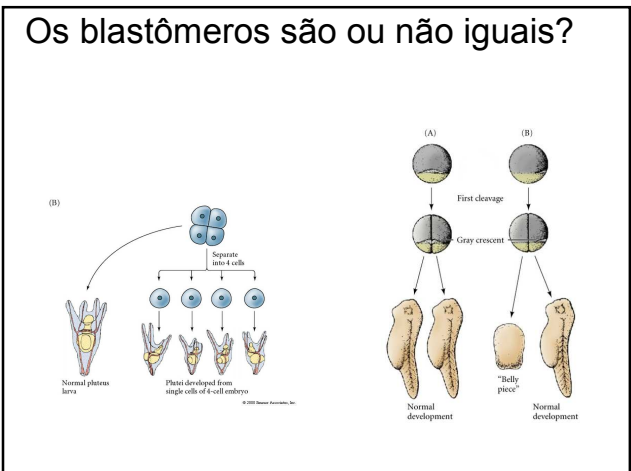


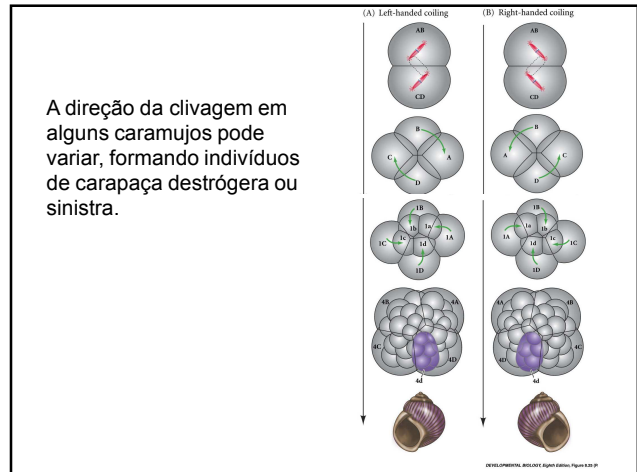
Este experimento prova que:

- a) Os blastômeros resultantes são equivalentes
- b) Os blastômeros dependem das células vizinhas para desenvolver
- c) Os blastômeros não são equivalentes
- d) O procedimento experimental foi mutagênico

Este experimento prova que:

- a) Os blastômeros resultantes são equivalentes
- b) Os blastômeros dependem das células vizinhas para desenvolver
- c) Os blastômeros não são equivalentes
- d) O procedimento experimental foi mutagênico





EXISTE ALGUMA RAZÃO PARA ESTA VARIABILIDADE?

1) Possivelmente para acomodar os diferentes tipos de ovos (distribuição de vitelo) ;

2) O posicionamento relativo dos blastômeros é importante para:

- a) divisão assimétrica de elementos citoplasmáticos e
- b) eventos de indução.

CLIVAGEM

- Aspectos Morfológicos
 - Planos de clivagem
 - Vitelo
- Consequências celulares
- Ciclo Celular durante as clivagens

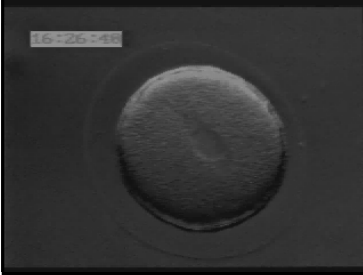
INSTRUMENTOS CELULARES E MOLECULARES EM BD

Pax6 no desenvolvimento do olho

CLIVAGEM

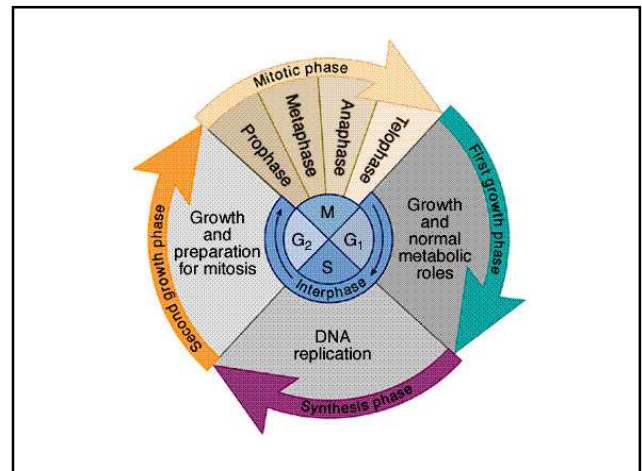
1. Frequência
2. Sincronia
3. Padrão de clivagem

CLIVAGEM

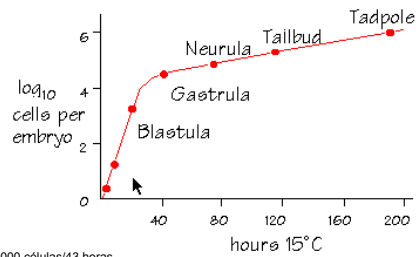


As clivagens ocorrem de SINCRONIZADA (BLÁSTULA)

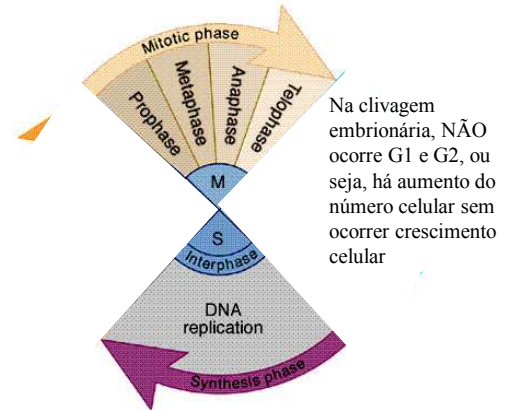
CLIVAGEM: o mesmo processo em espécies diferentes
3. Peixe



O período até a gástrula é o de maior divisão celular.
Mas.. Quanto tempo tem uma blástula?



Anfíbio: 1-37.000 células/43 horas
=15 células/min
Drosophila: 1-50.000/12 horas
=70 células/min



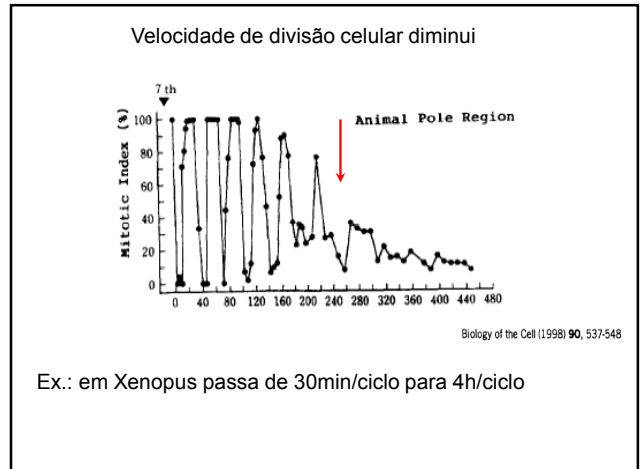
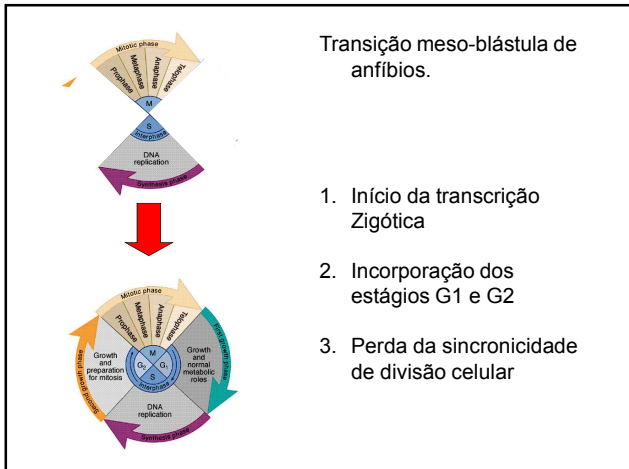
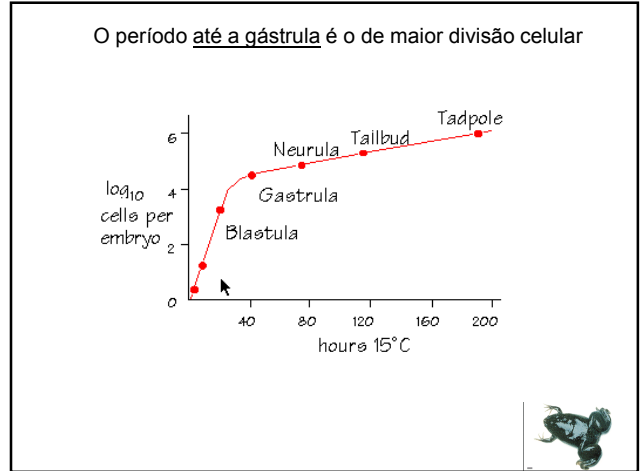
Nos animais de desenvolvimento externo:

1) O período imediatamente após a fertilização é seguido de divisões celulares com ciclo celular abreviado

ciclo celular abreviado

2) Não há tempo para transcrição






3) Dependem de estoques maternos, i.e. presentes no citoplasma do ovo



CLIVAGEM

- 1. Frequência → Velocidade= ciclo celular abreviado
- 2. Sincronia → Até a transição zigótica (mãe é mãe)
- 3. Padrão de clivagem →


E OS MAMÍFEROS?

					
Fertilização	Externa	Externa	Externa	Interna	Interna
Desenvolvimento	Externo	Externo	Externo	Externo	Interno

1.5 DIAS PARA 2 CÉLULAS
MÉDIA DE 12h-24h/CICLO CELULAR

↓

2,2 h/ciclo no embrião de 6,5 dias

Farrell et al., Current Biology 2004 

MOUSE DEVELOPMENT

ANN SUTHERLAND
University of California
San Francisco

MOUSE DEVELOPMENT

ROGER PEDERSEN
University of California
San Francisco

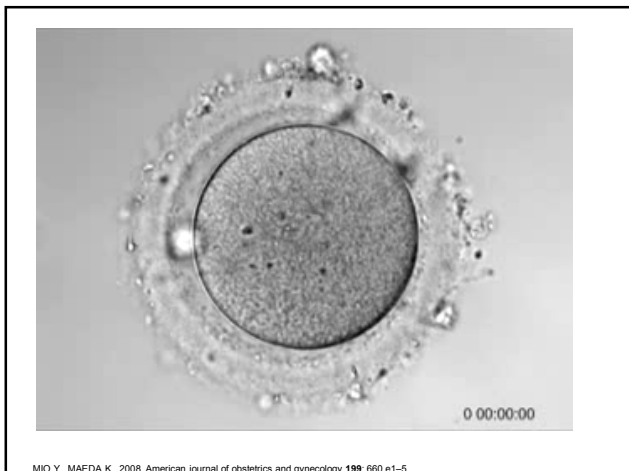
Holoblástico rotacional



E OS MAMÍFEROS?

As primeiras clivagens são assíncronas.
Como é o ciclo celular?

Tem G1 e G2



MIO Y., MAEDA K., 2008 American journal of obstetrics and gynecology 199: 660.e1-5.

TABLE
Sequence of events in the fertilization analyzed by time-lapse cinematography^a

Hours postinsemination	Phenomenon observed in oocytes
1.5 ± 0.2	Sperm penetrated
2.4 ± 2.2	Sperm incorporated
2.5 ± 1.2	Second polar body extruded
2.5 ± 0.5	Cone appearance
3.7 ± 0.7	Flare appearance
4.5 ± 0.8	Cone disappearance
5.5 ± 0.5	Flare disappearance
6.6 ± 0.3	Male pronucleus formed
6.8 ± 0.3	Female pronucleus formed
8.8 ± 0.7	Both pronuclei abutted
9.0 ± 0.5	Halo appearance
19.2 ± 1.1	Halo disappearance
24.8 ± 1.0	Syngamy
27.3 ± 1.0	First cleavage commenced

E OS MAMÍFEROS?

As primeiras clivagens são assincrônicas.
Como é o ciclo celular?

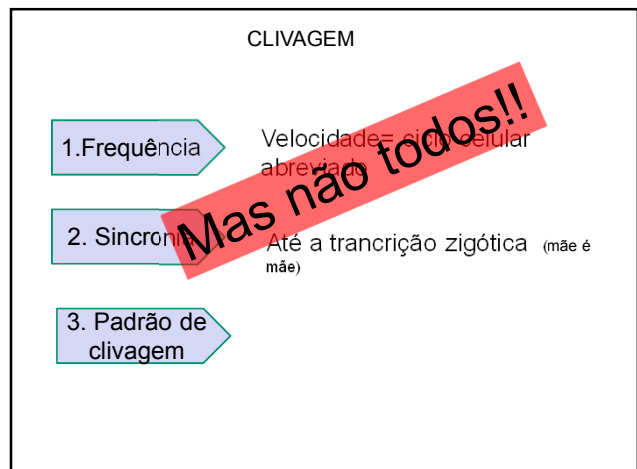
Tem G1 e G2

Transcrição zigótica a partir de 2-células

					
Fertilização	Externa	Externa	Externa	Interna	Interna
Desenvolvimento	Externo	Externo	Externo	Externo	Interno
Anexos embrionários	ausentes	ausentes	ausentes	Âmnio, saco vitelínico, alantóide, córion	Âmnio, saco vitelínico, alantóide, córion
Interface materno-fetal	Não	Não	Não	Não	SIM

E OS MAMÍFEROS?

FOCO na segregação de células embrionárias e extraembrionárias. E não no aumento acelerado de n. de células.





Você trata um embrião de *Xenopus* logo após a fertilização com um fármaco que inibe a RNA polimerase II. O que é esperado da clivagem e da gastrulação?

- a) Normal
- b) Clivagem anormal e gastrulação normal
- c) Clivagem anormal e gastrulação anormal
- d) Clivagem normal e gastrulação anormal.



Você trata um embrião de *Xenopus* logo após a fertilização com um fármaco que inibe a RNA polimerase II. O que é esperado da clivagem e da gastrulação?

- a) Normal
- b) Clivagem anormal e gastrulação normal
- c) Clivagem anormal e gastrulação anormal
- d) Clivagem normal e gastrulação anormal.

CLIVAGEM

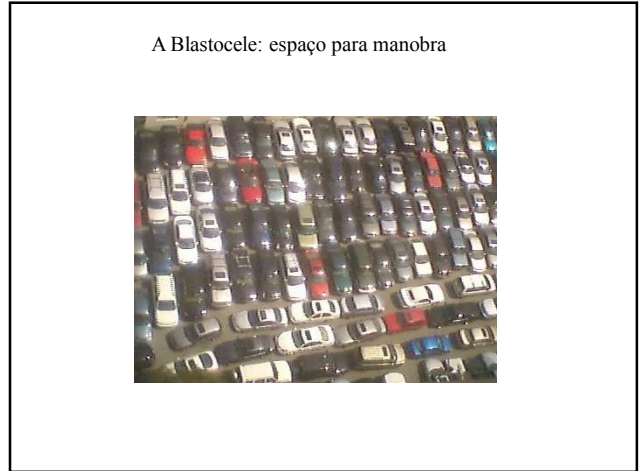
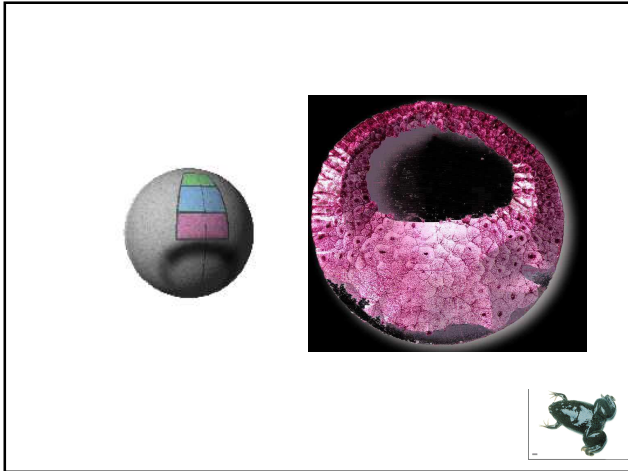
Objetivo:

- Multicelular
- Três folhetos
- Forma de "farínghula"



Aumento do número de células
 Espaço para manobra
 Rearranjo celular





* Blastocelo= Cavidade interna da Blástula

1. Permite migração celular
2. Compartimentaliza regiões diferentes

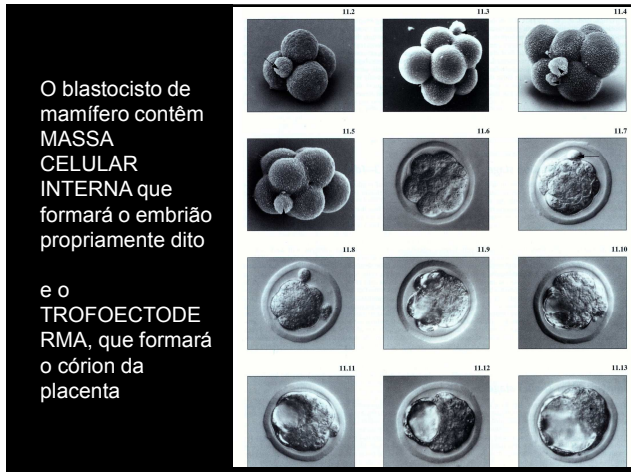
MOUSE DEVELOPMENT

ANN SUTHERLAND
University of California
San Francisco

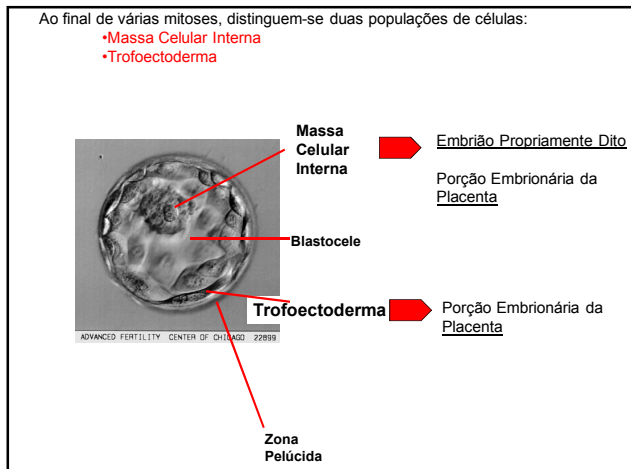
MOUSE DEVELOPMENT

ROGER PEDERSEN
University of California
San Francisco

Holoblástico rotacional



Fertilização	Externa	Externa	Externa	Interna	Interna
Desenvolvimento	Externo	Externo	Externo	Externo	Interno
Anexos embrionários	ausentes	ausentes	ausentes	Âmnio, saco vitelínico, alantóide, córion	Âmnio, saco vitelínico, alantóide, córon
Interface materno-fetal	Não	Não	Não	Não	SIM

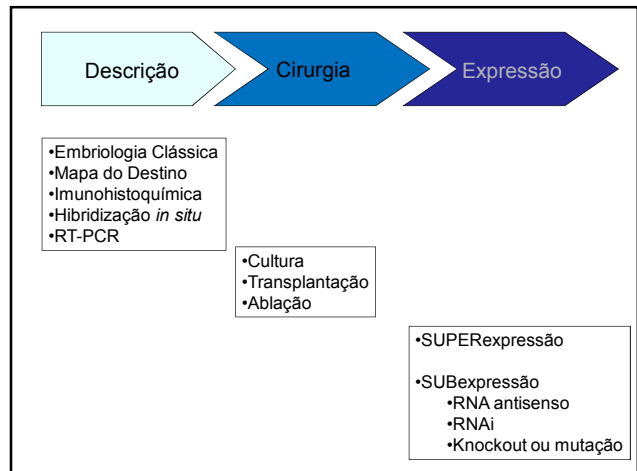
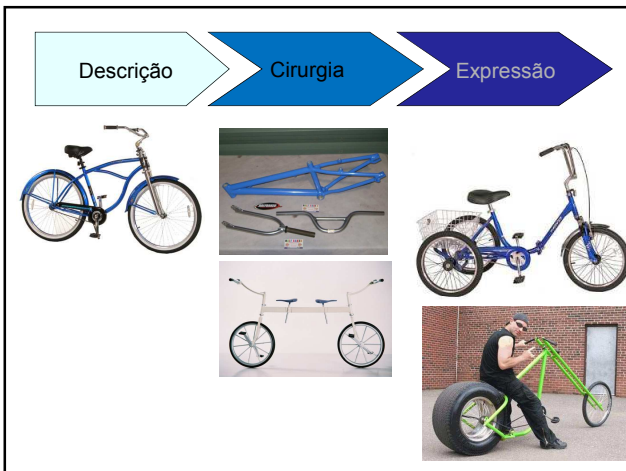
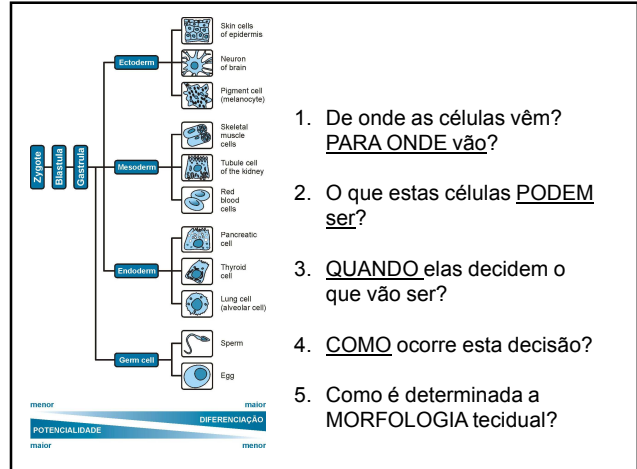


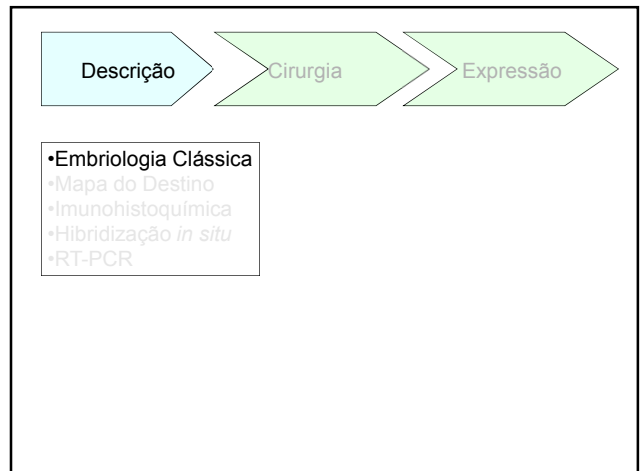
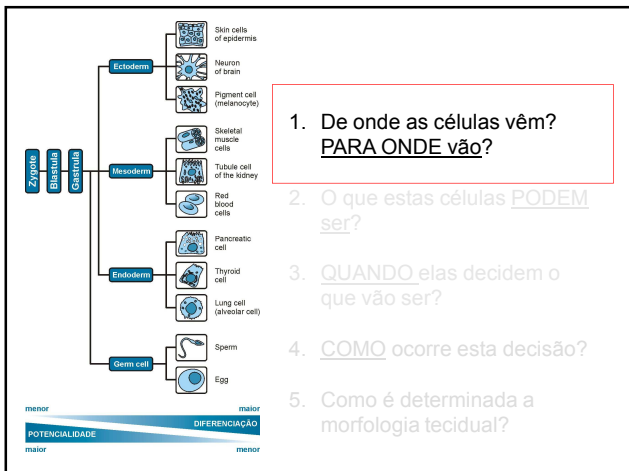
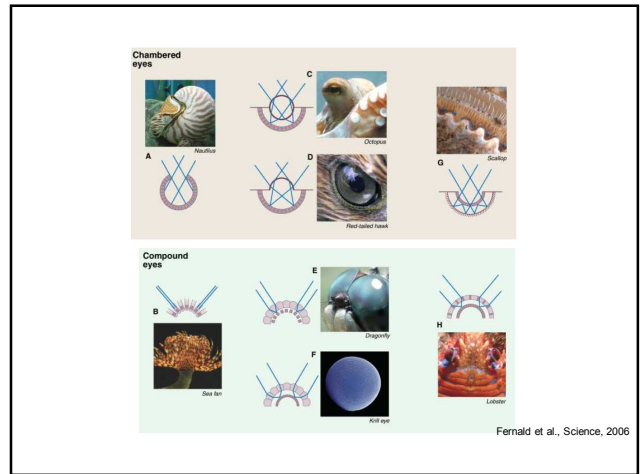
CLIVAGEM

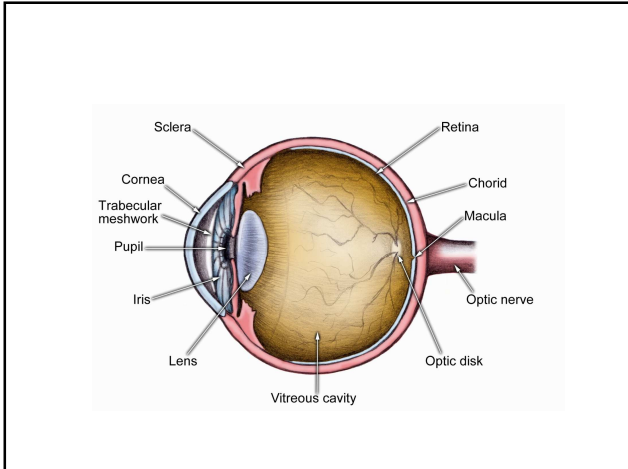
- Aspectos Morfológicos
 - Planos de clivagem
 - Vitelo
- Consequências celulares
- Ciclo Celular durante as clivagens

INSTRUMENTOS CELULARES E MOLECULARES EM BD

Pax6 no desenvolvimento do olho

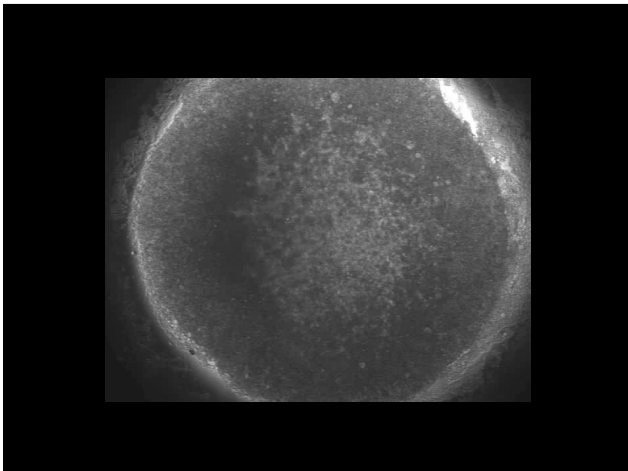


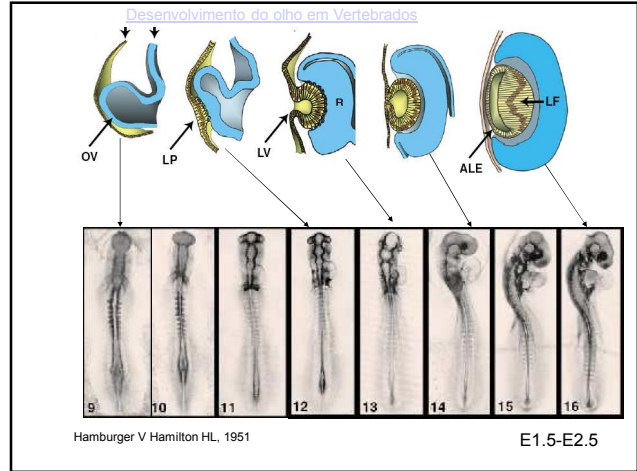
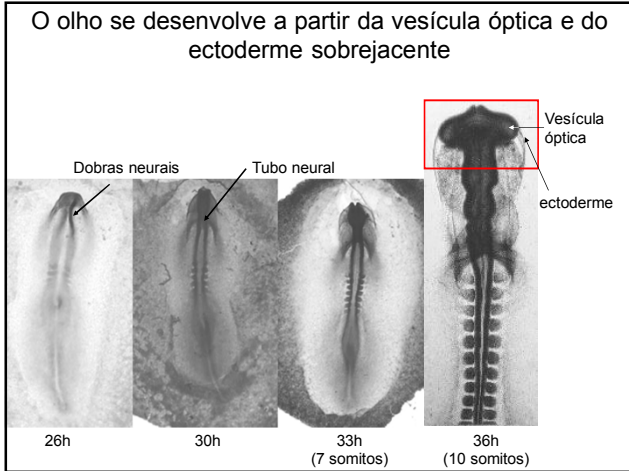




Gallus gallus
Embriogênese: 21 dias

VANTAGENS	DESVANTAGENS
Desenvolvimento quase todo externo	Estádios posteriores diferentes do mamífero
Estádios iniciais similares ao mamífero	Ausência de ferramentas genômicas rápidas
Ferramentas de interferência gênica	Não há problemas éticos com parental
Não há problemas éticos com parental	Dificuldade em analisar efeitos maternos





Descrição

Cirurgia

Expressão

- Embriologia Clássica
- Mapa do Destino
- Imunohistoquímica
- Hibridização *in situ*
- RT-PCR

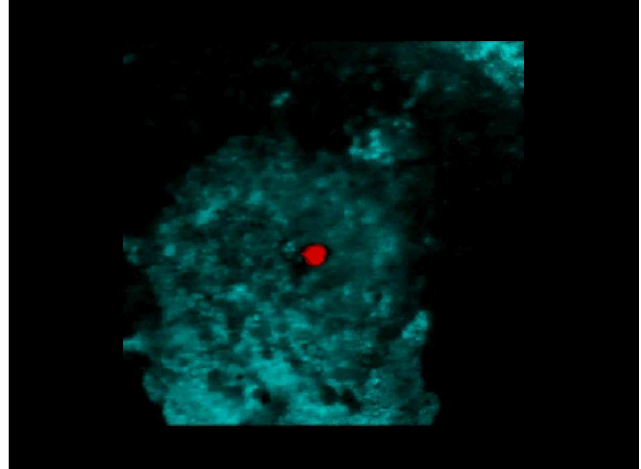
Pergunta: Daonde vêm as células que irão formar o olho?

Como seguir uma célula entre várias?
Método: MAPA DO DESTINO

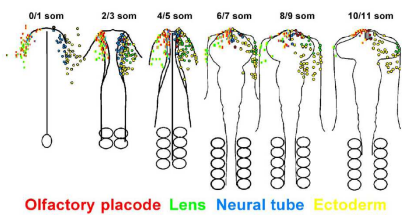
A injeção de corante fluorescente permite acompanhar o destino celular



Gilbert 8th Edition



A região que originará o olho (*campo óptico*) fica gradativamente mais distinta da região nasal



Developmental Biology 271 (2004) 403-414

Descrição

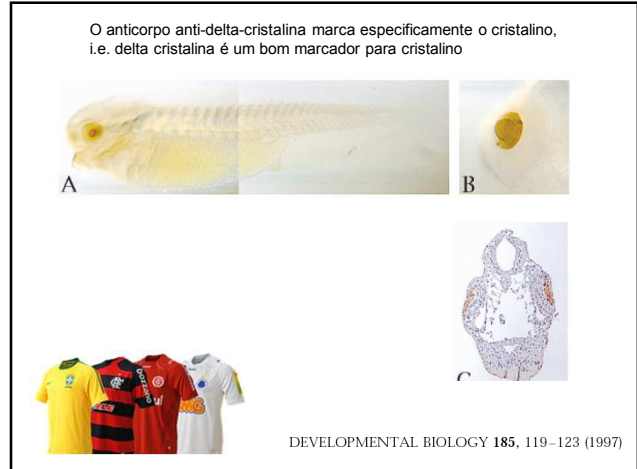
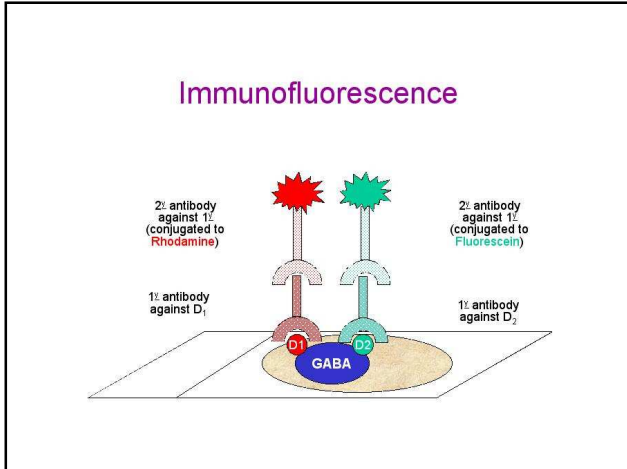
Cirurgia

Expressão

- Mapa do Destino
- Imunohistoquímica
- Hibridização *in situ*
- RT-PCR

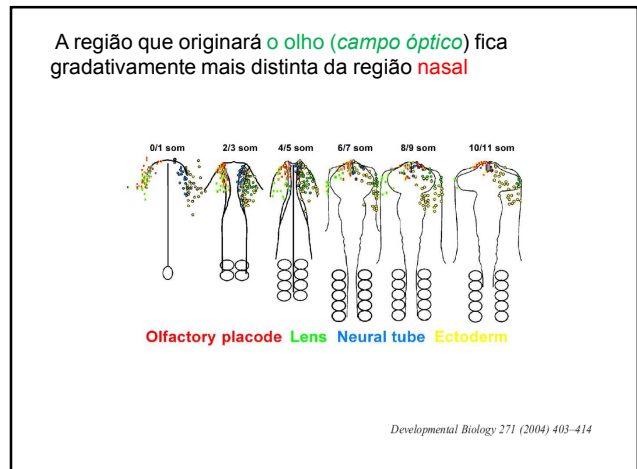
Pergunta: Que tipo de proteínas as células oculares expressam durante a sua diferenciação?





Marcadores Moleculares (*molecular markers*) são genes/proteínas característicos para cada tecido

	Neural	Hoxb-9 N-CAM
	Notochord	Tor70, Keratan Sulphate (MZ15)
	Muscle	MyoD
	Kidney	xPax-2
	Blood	GATA-2/4



PODE-SE CONCLUIR DESTE EXPERIMENTO QUE:

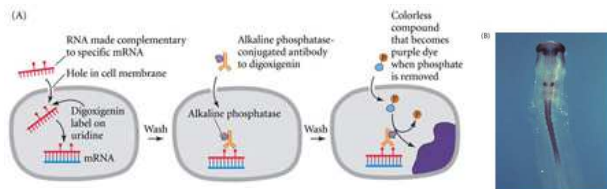
- a) As células mudam de expressão gênica com o tempo
- b) As células migraram
- c) a) e b)
- d) Nenhuma das acima

PODE-SE CONCLUIR DESTE EXPERIMENTO QUE:

- a) As células mudam de expressão gênica com o tempo
- b) As células migraram
- c) a) e b)
- d) Nenhuma das acima

Pergunta: A segregação espacial de precursores nasais e ópticos é acompanhada da segregação de marcadores moleculares?

Método: Hibridação in situ para detecção de RNAm



A expressão de *Pax6* (marcador de campo óptico) progressivamente segrega da expressão de *Dlx5* (marcador de campo nasal)

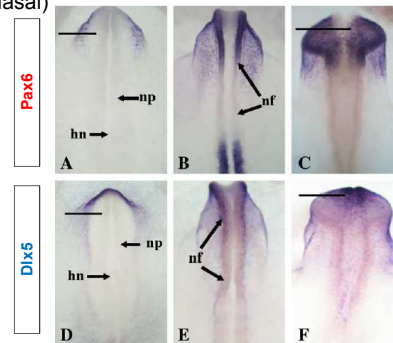
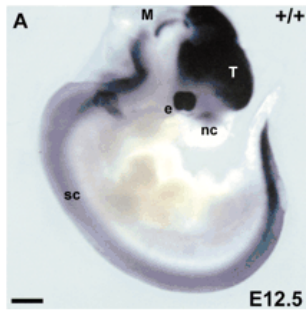


Fig. 6. Changes in *Dlx5* and *Pax6* expression reflect the spatial arrangement of nasal and lens precursors.

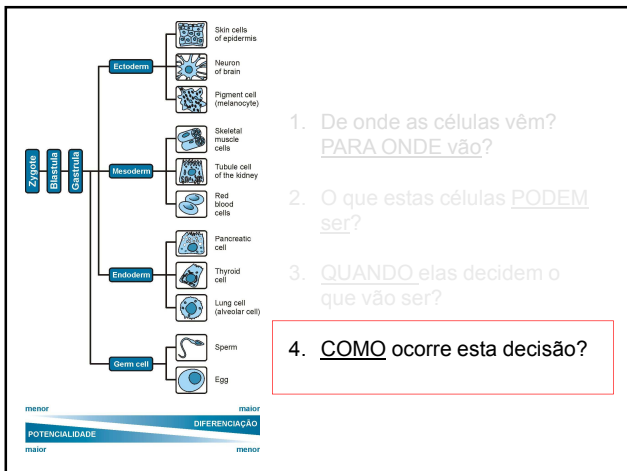
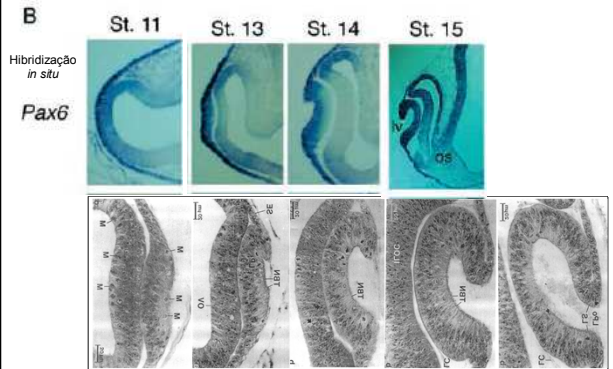
Developmental Biology 271 (2004) 403-414

Hibridização *in situ* para expressão de PAX6 em embrião de anfíbio



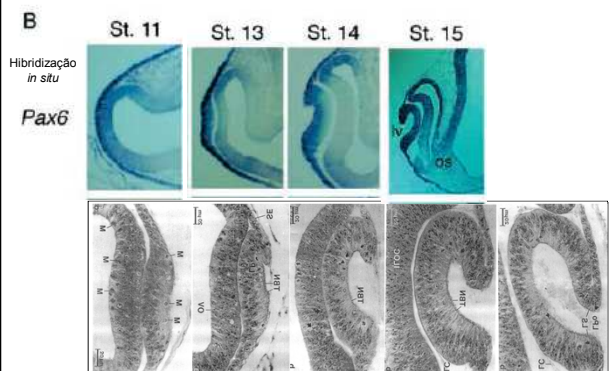
November 1, 2002 Development 129, 5041-5052.

O fator de transcrição Pax6 fica com expressão restrita aos tecidos ópticos em desenvolvimento



1. De onde as células vêm?
PARA ONDE vão?
2. O que estas células PODEM ser?
3. QUANDO elas decidem o que vão ser?
4. COMO ocorre esta decisão?

O fator de transcrição Pax6 fica com expressão restrita aos tecidos ópticos em desenvolvimento



Hipótese: A presença do fator de transcrição Pax6 é necessária para formação de olho

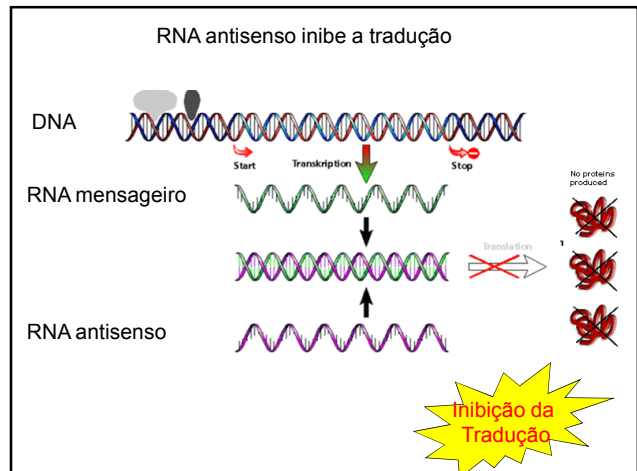
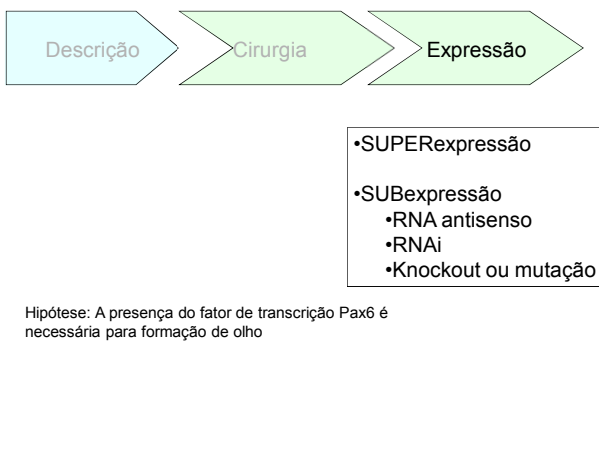
COIMO PROVAR ISTO??

- a) Não precisa, o padrão de expressão já prova isto
- b) Fazer imunohistoquímica/fluorescência para Pax6
- c) Remover PAX6
- d) Aumentar a expressão de Pax6

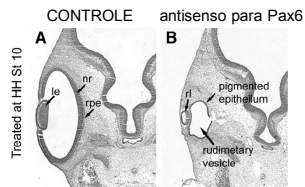
Hipótese: A presença do fator de transcrição Pax6 é necessária para formação de olho

COIMO PROVAR ISTO??

- a) Não precisa, o padrão de expressão já prova isto
- b) Fazer imunohistoquímica/fluorescência para Pax6
- c) **Remover PAX6**
- d) Aumentar a expressão de Pax6

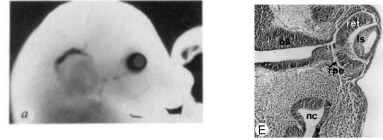


A eletroporação de antígeno para Pax6 em galinha altera o desenvolvimento ocular



Developmental Biology 294 (2006) 119-132

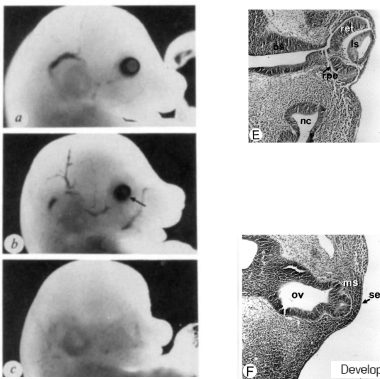
O que acontece com mamíferos? **KNOCKOUT** de PAX-6



NATURE · VOL 354 · 19/26 DECEMBER 1991

Development 121, 1433-1442 (1995)

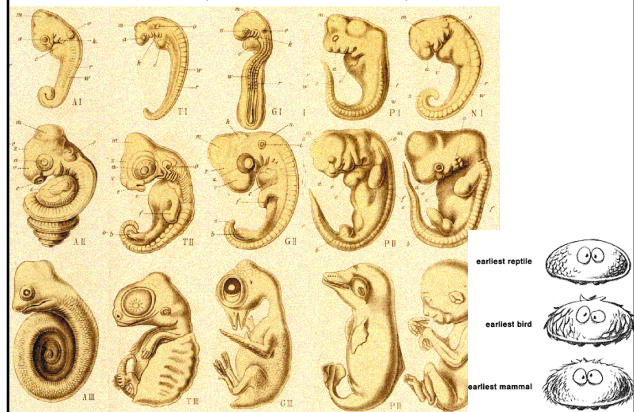
A mutação do gene Pax6 é deletéria para o desenvolvimento ocular em camudongos



NATURE · VOL 354 · 19/26 DECEMBER 1991

Development 121, 1433-1442 (1995)

“A Ontogenia recapitula a Filogenia”
(Ernst Haeckel, 1891)



Humanos com defeito de expressão de Pax6 têm defeitos oculares congênitos

Human	Mouse	Fruit fly	
			Functional Pax6 gene
			Non-functional Pax6 gene
(One non-functional copy)	(Two non-functional copies)		

<http://learn.genetics.utah.edu/content/variation/book/>

O peixe-cego das cavernas mexicanas

Astyanax fasciatus mexicanus

Os peixes de cavernas são anoftálmicos porque não expressam Pax6 por tempo suficiente

A **C**
F F
ailbud

D **E**

Journal of Heredity 2005;96(3):185-196
Dev Genes Evol (2001) 211:138-144
 NATURE | VOL 431 | 14 OCTOBER 2004 |

A lente e apenas a lente é transplantada de uma espécie para outra e foram avaliadas a formação de olhos (lente e retina)

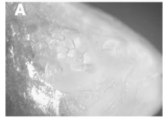
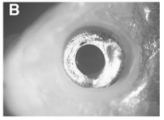
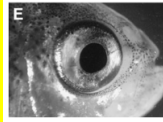
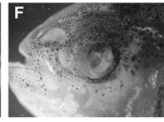
DE	PARA	Control Side	Transplant Side
Superfície	Caverna		
Caverna	Superfície		

Podemos concluir que:

a) A lente transplantada e os tecidos em volta se desenvolvem de acordo com a espécie aceptora.

b) A lente transplantada e os tecidos em volta se desenvolvem de acordo com a espécie doadora.

c) Não entendi o experimento

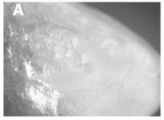
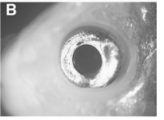
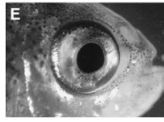
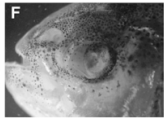
Control Side	Transplant Side
	
	

Podemos concluir que:

a) A lente transplantada e os tecidos em volta se desenvolvem de acordo com a espécie aceptora.

b) A lente transplantada e os tecidos em volta se desenvolvem de acordo com a espécie doadora.

c) Não entendi o experimento


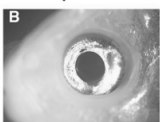
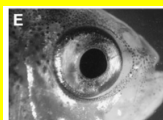
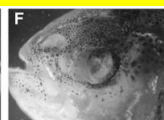
Control Side	Transplant Side
	
	

"A lente transplantada e os tecidos em volta se desenvolvem de acordo com a espécie doadora." quer dizer que:

a) O transplante influencia o tecido circundante;

b) O tecido circundante influencia o transplante;

c) Ninguém influencia ninguém. O transplante forma lente e retina.


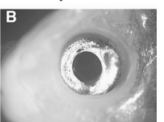
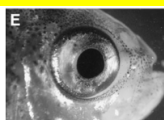
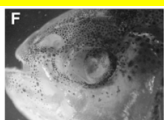
Control Side	Transplant Side
	
	

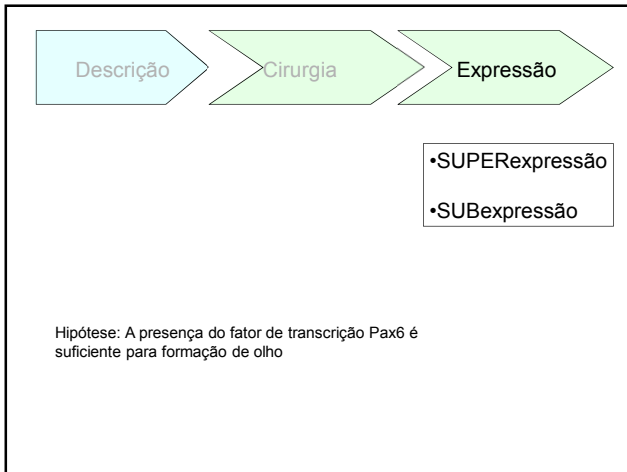
"A lente transplantada e os tecidos em volta se desenvolvem de acordo com a espécie doadora." quer dizer que:

a) O transplante influencia o tecido circundante;

b) O tecido circundante influencia o transplante;

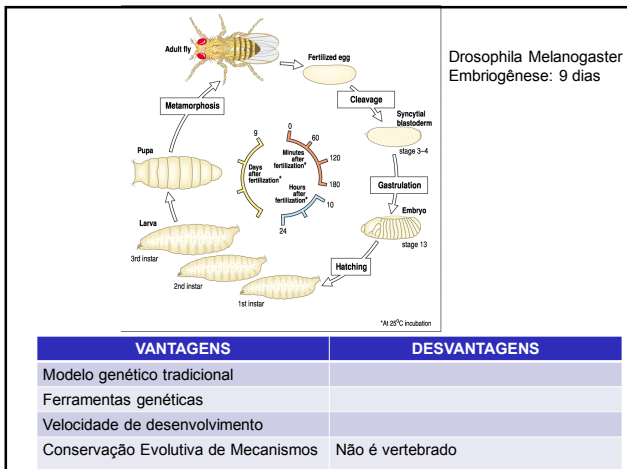
c) Ninguém influencia ninguém. O transplante forma lente e retina.

Control Side	Transplant Side
	
	



uper Expressão Gênica!!!!

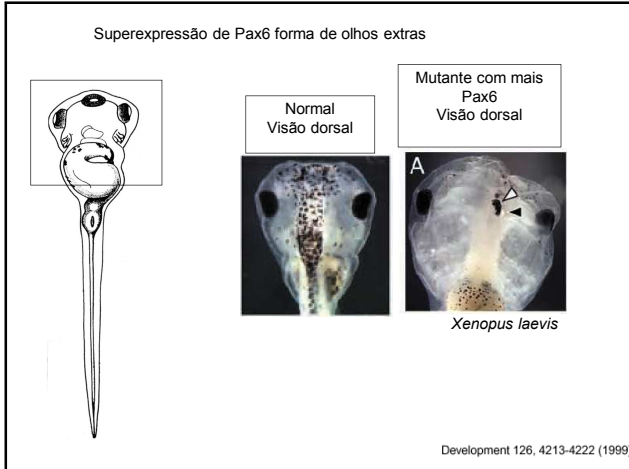
- Microinjeção de RNA
- Eletroporação
- Infecção
- Transgênese



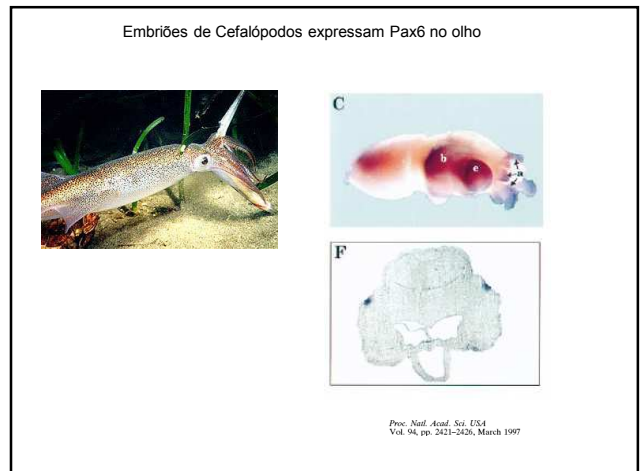
Pax6 comanda o desenvolvimento ocular:
A expressão de Pax6 em patas cria olhos ectópicos

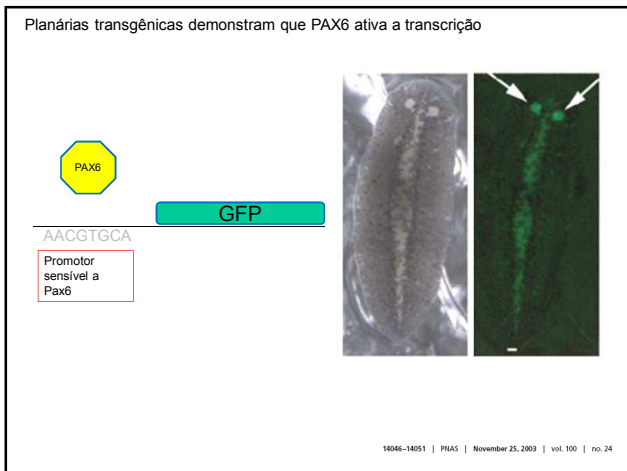
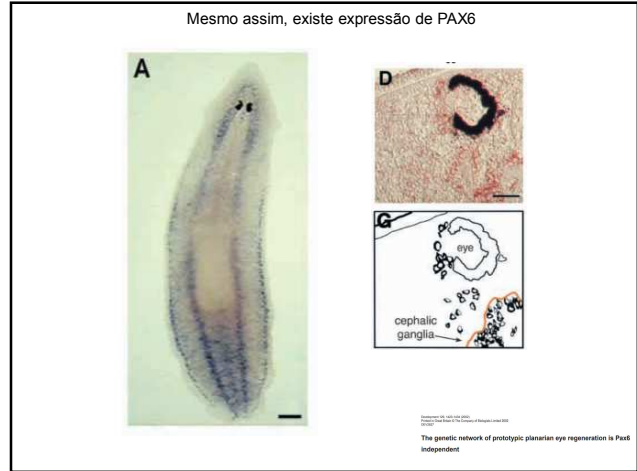
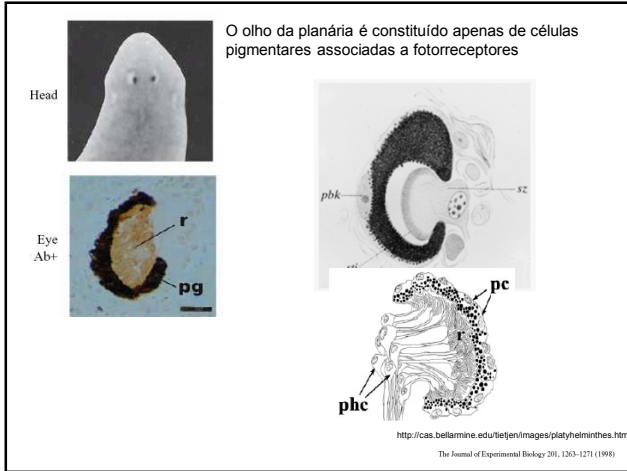
Drosophila melanogaster

Journal of Heredity 2005;96(3):171-184



Conclusão: Pax 6 é necessário e suficiente para induzir formação de olho





Conclusão: Pax 6 tem a função evolutivamente conservada de coordenar o desenvolvimento embrionário de órgãos fotossensíveis

