

## **GENÈTICA I BIOLOGÍA MOLECULAR DEL DESENVOLUPAMENT**

**Codi:** 234043

**Tipus d'assignatura:** Optativa segon cicle

**Departament responsable:** GENETICA

**Coordinadors:** J. BAGUÑA

**Distribució temporal:** Febrer-.Juny. Cada grup de pràctiques les realitzarà de forma intensiva durant els matins o tardes de dues setmanes (35h)

**Grau d'exigència i criteris d'avaluació:** L'avaluació de l'assignatura es farà mitjançant un examen que cobreix teoria i seminaris. Els seminaris consistiran en l'exposició d'un determinat tema científic per part dels professors de l'assignatura, de conferenciants invitats o dels propis alumnes.

Les pràctiques són d'assistència obligatòria. L'avaluació pràctica considerarà l'assistència, actitud i resultats obtinguts així com la presentació d'un póster-resum del treball que serà defensat per l'alumne davant els professors de l'assignatura.

### **OBJECTIUS (teoria i pràctiques)**

L'objectiu global de l'assignatura és demostrar a l'alumne com la informació genètica present en el nucli de la cèl.lula-ou conté el programa per "fabricar" un nou organisme semblant als progenitors. Introduïrem a l'alumne en les tècniques bàsiques de l'anàlisi cel.lular, genètica i molecular, i demostrarem la importància de la informació materna en el desenvolupament del patró inicial de l'embrió. Tot seguit es demostrarà com aquesta informació inicia un programa d'expressió diferencial en l'espai i el temps de gens i grups de gens que, afectant propietats i comportaments cel.lulars, generen progressivament la forma de l'embrió. Aquest procés es repeteix a escala reduïda durant la morfogènesi i l'organogènesi i, en un contexte més puntual, al llarg de la diferenciació cel.lular. Al llarg de l'assignatura donem un èmfasi molt especial en els mecanismes moleculars (cadena de transducció, jerarquia de gens, combinatòria de senyals,...) a la base dels principals processos de desenvolupament. Es clou l'assignatura amb una reflexió sobre els mecanismes invariants del desenvolupament al llarg de l'escala animal i vegetal, i en com d'aquests estudis en pot sortir una millor comprensió dels fenòmens evolutius i una millor entesa per a una millora genètica de les espècies.

Els seminaris que s'impartiran familiaritzaran l'alumne amb les fonts d'informació científica més rellevants, en com tractar i condensar aquesta informació, i en com saber presentar-la de manera adequada. Alhora, seminaris i teoria tractaran de fer copsar a l'alumne la complexitat dels problemes, les limitacions dels mètodes i tècniques a l'abast, i el valor, sempre relatiu, de les respostes obtingudes.

L'objectiu de les pràctiques és el de donar a conèixer algú dels sistemes model en Genètica i Biologia Molecular del Desenvolupament i en estimular a l'alumne a raonar conceptes teòrics a partir dels resultats experimentals. Les

pràctiques programades introdueixen en primer lloc un dels sistemes model en Genètica del Desenvolupament, el nemàtode *Caenorhabditis elegans*, del que s'observaran els principals mutants i es farà una discussió de les principals estratègies d'anàlisi genètica. La segona i tercera pràctica tracten de donar un enfocament global, emprant tècniques diverses, de la expressió diferencial d'un gen del desenvolupament de *Drosophila*: el gen *engrailed*. Es realitzarà una anàlisi clonal, estudis d'expressió per hibridació in situ i amb anticossos, i l'efecte de la sobre-expressió del gen en regions ectòpiques.

## **PROGRAMA**

### TEORIA

#### Part I. CONCEPTES BÀSICS DEL DESENVOLUPAMENT EMBRIONARI

##### **Tema 1.-El desenvolupament dels organismes pluricel·lulars**

Que és el desenvolupament? Característiques i fenomenologia. L'anàlisi morfològica, cel·lular, genètica i molecular del desenvolupament. L'enfoc reduccionista i l'enfoc sintètic.

##### **Tema 2.-Organismes model**

El desenvolupament del nemàtode *Caenorhabditis elegans*. El desenvolupament de *Drosophila*.

El desenvolupament de *Xenopus* (Amfibis) i *Mus* (Mamífers). El desenvolupament de *Arabidopsis thaliana* (Vegetals). L'elecció d'un model experimental. Criteris

#### Part II. ESTABLIMENT I DETERMINACIÓ DEL PATRÓ EMBRIONARI INICIAL

##### **Tema 3.-L'establiment del patró embrionari a l'ovogènesi**

Informació materna. Concepte de gens d'efecte matern. Localització diferencial de RNA i proteïnes.

El concepte de determinants. L'anàlisi genètica de l'ovogènesi. Mutants fs a *Drosophila*.

La determinació dels eixos embrionaris: mutants materns que afecten la polaritat a-p i d-v del cigot i de l'embrió a *Drosophila* i *C.elegans*. La determinació de la línia germinal a *Drosophila*, *C.elegans* i Amfibis. Mutants

##### **Tema 4.-La determinació territorial a l'embrió. I. *Drosophila* i *C. elegans*.**

Concepte de determinació. L'inici de les determinacions territorials:

- Anàlisi genètica-molecular de la segmentació. Mutants embrionaris.
- Interaccions entre mutants materns i embrionaris de polaritat A-P.
- Interaccions entre els gens de segmentació. Jerarquització i combinatòria.
- Segments i parasegments a *Drosophila*.
- La determinació dorso-ventral a *Drosophila*. Mutants embrionaris.
- Interaccions entre mutants materns i embrionaris de polaritat D-V.
- Mutants materns i cigòtics de polaritat i llinatge a *C.elegans*.

##### **Tema 5.-La determinació territorial a l'embrió. II. Altres sistemes.**

La determinació axial i la determinació del mesoderm a *Xenopus*. Gens

implicats. La determinació de neuròmers i somites als Amniotes. Llinatge, anàlisi clonal i mutants. La determinació del patró inicial a Arabidopsis. Mutants.

### **Tema 6.-Diversificació i especificació de territoris. I. Els gens homeòtics**

Substitucions de patró durant el desenvolupament: mutants homeòtics. Control genètic de l'especificació segmental a Drosophila: els complexos genètics

Bithorax (BX-C) i

Antennapedia (ANT-C). Expressió dels gens homeòtics durant el desenvolupament: anàlisi clonal i anàlisi molecular. Parasegments, segments, compartiments i gens

homeòtics El model dels gens selectors. Gens realitzadors. Mutants homeòtics a C.elegans. Anàlisi genètica i cel.lular. Mutants homeòtics a plantes (Arabidopsis i blat de moro).

### **Tema7.-Diversificació i especificació de territoris. II. Regulació dels gens homeòtics.**

Regulació dels complexos homeòtics a Drosophila:

- activació i repressió dels complexos BX-C i ANT-C
- interaccions entre els gens dels complexos BX-C i ANT-C
- seqüències de consens als gens homeòtics: "l'homeobox"; significat i funció.

Detecció i aïllament de gens reguladors del desenvolupament a diferents grups d'organismes:

- complexos homeòtics a animals i plantes
- altres gens del desenvolupament. Estructura i expressió.

Homeosi i evolució. El concepte de zootipus.

### **Tema 8.-El manteniment de l'estat determinat**

L'adquisició progressiva de l'estat determinat. Exemples. L'estabilitat de l'estat determinat. Mecanismes moleculars del manteniment de l'estat determinat. Models

## **Part III. LA MORFOGÈNESI I L'ORGANOGENÈSI: ANÀLISI GENÈTICA I MOLECULAR**

### **Tema 9.-Anàlisi genètica-molecular de la morfogènesi.**

Paràmetres morfogenètics. La morfogènesi de l'ala i les extremitats a Drosophila: Establiment de la polaritat A/P, V/D i Pr/Ds als discs imaginals.

Gens i molècules. La determinació 'fina' del patró: venes i quetes. La morfogènesi de la vulva a C. elegans. Cèl.lules, gens i molècules. La morfogènesi de les extremitats als Vertebrats. Gens i molècules

### **Tema 10.-Organogènesi. I. Determinació i diferenciació sexual**

Determinació del sexe i desenvolupament dels caràcters sexuals a C. elegans.

Determinació del sexe a Drosophila. Mecanismes i gens principals. La compensació de dosi. Mecanismes i gens que la controlen. Determinació del sexe als Mamífers: control genètic i hormonal.

### **Tema 11.- Organogènesi. II. Determinació i diferenciació del Sistema**

## **Nerviós.**

Determinació de la zona neurogènica i dels neuròmers a *Drosophila*.

- llinatge cel.lular. Cèl.lules neurogèniques, neuroblasts i neurones.
- acció dels gens de segmentació, homeòtics, pro-neurals i neurogènics

La morfogènesi de l'ull a *Drosophila*:

- singularització d'elements,
- autoengalament, interaccions cel.lulars, gens i molècules.

## Part IV. LA DIFERENCIACIÓ CEL.LULAR. EXPRESSIÓ DE PROGRAMES I GENS ESPECÍFICS

### **Tema 12.-La diferenciació cel.lular terminal.**

Determinació cel.lular i diferenciació cel.lular terminal. Diferències Exemples de diferenciació cel.lular: diferenciació espora/tija a *Dictyostelium*, la diferenciació miogènica, la diferenciació dels limfòcits T. L'estabilitat de l'estat diferenciat: transdiferenciació, desdiferenciació i metaplàsia. Exemples

### **Tema13.- Anàlisi molecular i genètica de la diferenciació cel.lular.**

Diversitat d'mRNA i proteïnes durant la diferenciació. La línia miogènica: gens implicats. Expressió seqüencial de gens durant la diferenciació a *Dyctiostelium*. Mutants de diferenciació a *Drosophila* i *C. elegans*. Interaccions cel.lulars i diferenciació: exemples a *Drosophila* i *C. elegans*

### **Tema 14.-Expressió de gens específics durant la diferenciació**

Amplificació i expressió dels gens del corion a *Drosophila*. Expressió dels gens de la globina i la ovoalbúmina. Regulació. Expressió dels antçgens de diferenciació als limfòcits T. Regions de control als extrems 5' i 3' dels gens eucariotes. Exemples. El control combinatorial i la modulació de l'expressió gènica.

## Part V. CONCLUSIONS I PERSPECTIVES

### **Tema 15.-Com es genera un patró? Conceptes i models**

Què es un patró?.La gènesi de les asimetries inicials. Mecanismes. La gènesi d'estructures periòdiques (iterades). Mecanismes i significat. La gènesi d'asimetries tardanes. Mecanismes. Relacions entre creixement (proliferació) i morfogènesi.

### **Tema 16.- Cap a una teorça sintètica del Desenvolupament.**

Els conceptes de programa i subprograma. Les determinacions territorials inicials:

histològiques o topogràfiques?. Les iteracions (periodicitats) morfològiques: variabilitat dels mecanismes de gènesi.

El control genètic del desenvolupament:

- xarxes jeràrquiques
- aspectes combinatorials
- homologies dels gens reguladors entre diferents grups d'organismes
- els complexos homeòtics, el zootipus i l'estadi filotípic.

Consideracions generals sobre l'arquitectura dels sistemes de regulació.

## BIBLIOGRAFIA

- BOWMAN, J (ed).1993. Arabidopsis. An Atlas of Morphology and Development. Springer-Verlag
- DAVIDSON, E.H.,1986. Gene Activity in Early Development. (3a. edició). Academic Press London
- GILBERT, S.F. 1987. Biología del Desarrollo. Omega, Barcelona
- GILBERT, S.F.1991. Developmental Biology (3a. edició). Sinauer, Sunderland (USA)
- GOULD, S.J.1977. Ontogeny and Phylogeny. Harvard. Univ. Press, Cambridge, USA
- HOGAN, B., COSTANTINI, F i LACY, E. 1986. Manipulating the Embryo. A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Lab
- LAWRENCE, P.A. 1992. The Making of a Fly. Blackwell).
- RAFF, R.A. i KAUFMAN, T.C. 1983. Embryos, Genes and Evolution. MacMillan, New York
- ROBERTS, E.D. (ed.) 1986. Drosophila. IRL Press
- WILKINS, A.S. 1993. Genetic Analysis of Animal Development. John Wiley & Sons, 2a ed.
- WOOD, E.B. (ed).1988. The nematode Caenorhabditis elegans. Cold Spring Harbor Lab
- STERN, C.D. i HOLLAND, P.W.H.1993. Essential Development Biology A Practical Approach. IRL Press
- WOLPERT, L. 1991. The Triumph of the Embryo. Oxford Univ Press

## PRÀCTIQUES

### Pràctica 1. Control genètic del desenvolupament

Observació in vivo del desenvolupament inicial del nemàtode *Caenorhabditis elegans*, distinció entre organismes hermafrodites i mascles. Classificació segons el fenotip de diferents soques mutants. Descripció de les diferents estratègies per realitzar una anàlisi genètica.

### Bibliografia

SCHIERENBERG, E.1990.Genealogy, geometry and genes: Experimental embryology of *Caenorhabditis elegans*. Experimental Embryology in Aquatic Plants and Animals. H.J. Marthy, Plenum Press, New York, pp 163-176

### Pràctica 2.Expressió gènica durant el desenvolupament

Estudi del gen *engrailed* a *Drosophila* emprant una soca transgènica que conté el promotor del gen *engrailed* fusionat al gen bacterià de la *b-galactosidasa*. S'obtindran organismes en diferents fases del desenvolupament: embrions, discs imaginals de larves i abdomens de adults acabats de desclosar i es realitzarà un protocol per tenir l'activitat *b-galactosidasa*.

### **Bibliografia**

HAMA, C., ALI, Z. & KORNBERG, T,B.1990. Region-specific recombination and expression are directed by portions of the Drosophila engrailed promoter. Genes & Development 4:1079-1093.

STERN, C.D. I HOLLAND, P.W.H. 1993.Essential Development Biology A Practical Approach. IRL Press

### **Pràctica 3. Determinació dels compartiments a-p i estudi de l'expressió gènica mitjançant mosaics genètics a Drosophila.**

Anàlisi clonal als discs imaginals d'ala de Drosophila : s'induirà per recombinació mitòtica amb R.X. clons multiple wing hair (mwh) i Minute, M(3) que permetran estimar paràmetres de creixement i compartimentació durant el desenvolupament dels discs imaginals. Paralelament s'induiran clons engrailed per caracteritzar les regions de funció d'aquests gens.

### **Bibliografia**

LAWRENCE P.A. & MORATA, G. 1976.Compartments in the wing of Drosophila : A study of the engrailed gene. Developmental Biology 50, 321-337.