
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ROSALBA LANZANI MACI

**Sintesi di acido ribonucleico durante la neurulazione
del pollo**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 59 (1975), n.5, p. 559–563.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_5_559_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_5_559_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

SIMAI & UMI

<http://www.bdim.eu/>

Zoologia. — *Sintesi di acido ribonucleico durante la neurulazione del pollo* (*). Nota di ROSALBA LANZANI MACI, presentata (**) dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — The neurulation in chick embryo has been investigated in order to study the synthesis of RNA. The synthesis of RNA reaches its maximum in the neural folds. An intense mitotic activity has been observed when the neural folds close.

These data are in accordance with the observations during the earliest stages of development. The embryos show a great incorporation of uridine in the neural rudiment during the earliest stages (up to 2 somites) and an intense mitotic activity in more advanced stages (3-4 somites). This happens even if there are cellular divisions without an increase in volume (Table I). These divisions can be considered a continuation of the cleavage stages.

La formazione del tubo neurale nell'embrione di pollo è stato oggetto di numerose ricerche che hanno esaminato i movimenti cellulari ed i cambiamenti che intervengono in questi stadi (bibliografia in Camatini e Ranzi [1]). Nel giovane embrione di pollo sono presenti in tutte le cellule ectodermiche desmosomi che non si osservano nella piastra neurale una volta individuata, mentre permangono nell'ectoderma che non partecipa alla formazione di essa. Durante la flessione della piastra neurale si osserva la comparsa di nuove giunzioni, di membrane e di microtubuli.

Scopo di questa ricerca è di vedere la sintesi di RNA e il numero di mitosi durante questi particolari momenti.

Gillet [2] in *Ambystoma maculatum* aveva visto che durante la neurulazione si aveva un aumento del 23 % del numero totale delle cellule ectodermiche senza un aumento di volume dell'ectoderma in maniera che si assisteva solo ad una riduzione del volume cellulare. L'attività mitotica porta cioè divisioni cellulari senza aumento in volume.

Barbieri [3] studiando con metodo autoradiografico l'incorporazione di adenina ^{14}C in embrioni di pollo a 4, 5, 8, 12 somiti, aveva visto che essa era incorporata soprattutto nel tubo neurale secondo un gradiente caudo-cefalico e ventro-dorsale.

Anche in embrioni di pollo allo stadio di 10-12 somiti Lanzani Maci e Sotgia [4] hanno osservato che il tubo neurale e i somiti incorporano rispetto alla corda una quantità maggiore di uridina e di leucina tritiata.

Embrioni di pollo espantati *in vitro* secondo la tecnica di New [5] allo stadio compreso tra processo cefalico e 5 somiti secondo Hamburger-Hamilton [6] sono posti ad incubare per un'ora in uridina tritiata (25 μC per embrione). Alla fine dell'incubazione gli embrioni vengono fissati in Carnoy.

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università statale di Milano Contributo C.N.R. n. 74.00250.040.

(**) Nella seduta del 15 novembre 1975.

L'incorporazione dell'uridina tritiata viene valutata con tecnica autoradiografica. Dagli embrioni fissati ed inclusi in paraffina, sono state fatte sezioni seriate dello spessore di 5μ e su di esse, poste su vetrini accuratamente puliti con CCl_4 e sparaffinate, è stato steso uno "stripping film" Kodak AR 10.

I preparati sono posti al riparo della luce in camera fredda ($\pm 2^\circ\text{C}$) per 5 giorni, tempo necessario per fare in modo che la lastra sia impressionata, e quindi sviluppati con i comuni metodi fotografici e colorati con ematossilina di Ehrlich.

L'incorporazione dei precursori marcati appare nei preparati autoradiografici come grani neri.

Per valutare la sintesi RNA sono stati fatti conteggi in aree di $100 \mu^2$ ai diversi livelli del tubo neurale nei quali sono stati pure conteggiate le mitosi presenti.

I dati riportati nei grafici (fig. 1, 2, 3) rappresentano medie ottenute su 3-5 embrioni.

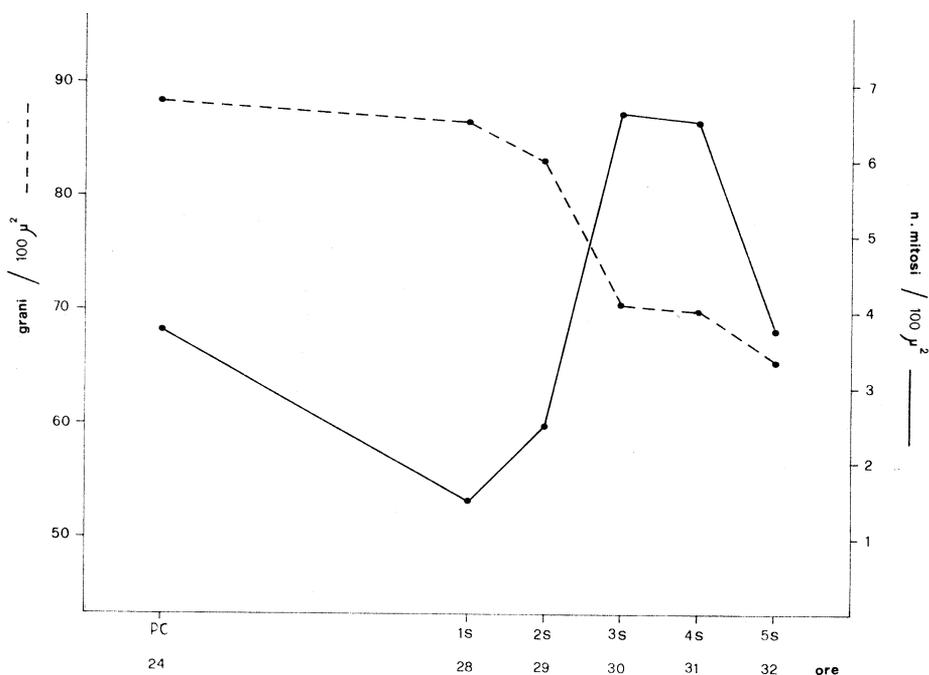


Fig. 1. - Numero medio dei grani (uridina tritiata) per $100 \mu^2$ e di mitosi nell'abbozzo neurale in sezioni di 5μ per $100 \mu^2$ in embrioni di pollo di differenti età.

Dall'analisi dell'andamento dei grafici (fig. 2) che indicano l'incorporazione di uridina tritiata durante i diversi stadi di flessione delle pieghe neurali si può vedere che la sintesi di RNA è massima quando le pieghe neurali sono sollevate e tende poi a diminuire quando il tubo neurale comincia a chiudersi. Il massimo di mitosi si osserva invece in stadio un po' posteriore cioè nella zona nella quale le pieghe neurali ormai sollevate tendono a saldarsi per formare il tubulo (fig. 3). È d'altra parte lo studio di 3-4 somiti quello nel quale il numero di mitosi è più elevato (fig. 1).

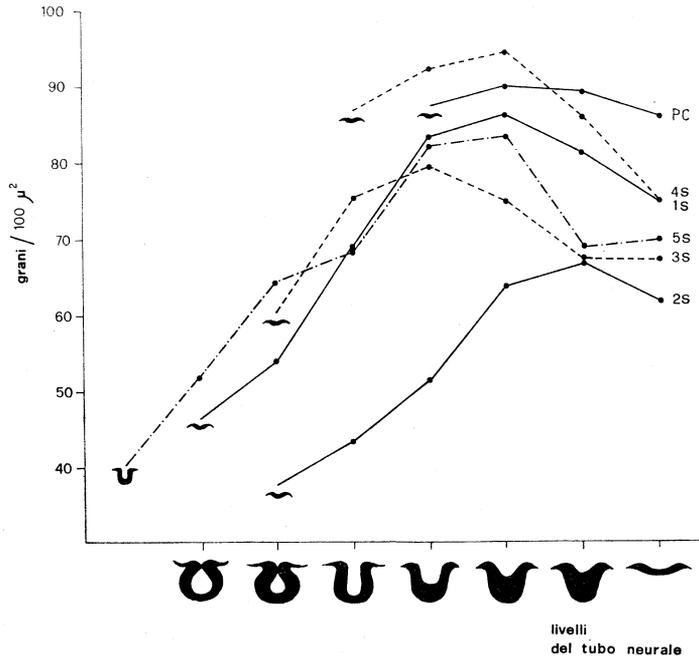


Fig. 2. - Numero medio di grani (incorporazione di uridina tritiata per $100 \mu^2$) nelle differenti regioni della piastra neurale in embrioni di pollo.

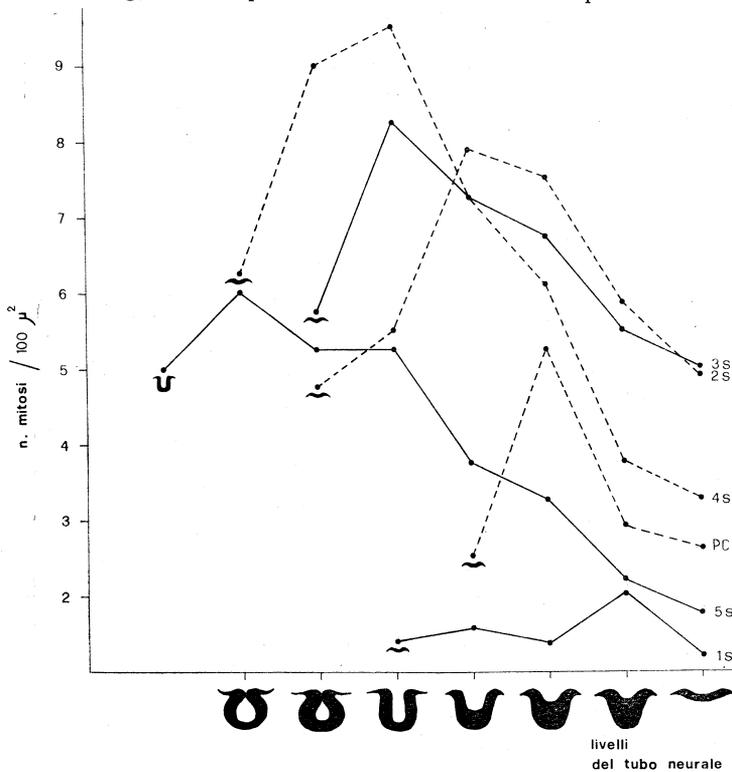


Fig. 3. - Numero medio di mitosi per $100 \mu^2$ nelle differenti regioni della piastra neurale in embrioni di pollo.

Per vedere cosa realmente significano le mitosi ho preso in esame il numero di nuclei presenti in un dato volume della piastra neurale e poi in tutti gli stadi fino alla formazione del tubo neurale. I nuclei sono stati contati in un'area standard di $100 \mu^2$ in sezioni di spessore di 5μ .

TABELLA I.

Nuclei presenti in $500 \mu^3$ (media di 10 letture)

Giovane piastra	Piastra appena flessa	Piastra flessa	Inizio sollevamento pieghe neurali	Pieghe neurali	Tubo neurale appena chiuso
5,5	6,2	6,8	7,5	8,7	11,1

I dati sopra riportati dimostrano che per unità di volume di tessuto i nuclei raddoppiano e cioè statisticamente tutte le cellule della piastra neurale si dividono una volta quando la piastra si piega. Non si osserva però un aumento di volume. Si osserva cioè nel pollo lo stesso fenomeno osservato da Gillet nell'*Ambystoma*, e cioè divisione di cellule senza aumento di volume del tubo neurale e questo ad onta delle notevoli differenze tra Anfibi Urodela e Uccelli, i primi con uova a segmentazione totale e con granuli vitellini nelle cellule, i secondi con uova a segmentazione parziale con voluminoso sacco del tuorlo. Le divisioni cellulari senza aumento di volume dimostrano che l'osservata sintesi di RNA non è in rapporto con l'accrescimento, ma a qualche processo di differenziamento cellulare.

Può magari trattarsi di un semplice aumento di ribosomi ma può anche essere in rapporto alla sintesi di particolari proteine che a questi stadi appaiono. Le ricerche di Camatini e Ranzi dimostrano la sintesi di nuove membrane e giunzioni cui potrebbe corrispondere una parte dell'RNA sintetizzato. Si osserva anche a questo stadio la comparsa di numerosi microtubuli per i quali è difficile dire se provengono da nuove sintesi o da polimerizzazione di preesistente tubulina.

Resta a vedere se questa sintesi di RNA sia in qualche maniera collegata con la presenza negli stadi successivi di preesistente acido ribonucleico, presenza che emerge dalle ricerche di Leonardi Cigada, Laria De Bernardi e Scarpetti Bolzern [7].

Le presenti ricerche dimostrano pertanto che nella chiusura del tubo neurale del pollo la sintesi di RNA, massima quando le pieghe neurali si sollevano, precede lo stadio di intensa attività mitotica che si osserva quando le pieghe neurali cominciano a chiudersi. Questo reperto è in accordo con quanto si osserva eseguendo la determinazione negli embrioni nei quali la chiusura del tubo neurale è in atto. Questi embrioni mostrano massima incorporazione di uridina nel tubo neurale degli stadi più precoci (fino a 2 somiti) e massimo numero di mitosi in stadi più avanzati 3-4 somiti, anche se c'è un processo

di divisione cellulare che prescinde da un aumento in volume (Tabella I) e che può essere descritto come un prolungamento dei molto più precoci fenomeni di segmentazione.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. CAMATINI e S. RANZI (1973) - *Tubo neurale, vescicole e calice ottico nell'embrione di pollo nei loro meccanismi morfogenetici*, « Atti Acc. Lincei (Rend. Cl. Sc.) », (8), 54, 961.
- [2] R. GILLET (1944) - *Cell number and cell size in the ectoderm during neurulation (Amblystoma maculatum)*, « J. exp. Zool. », 96, 201.
- [3] F. D. BARBIERI (1960) - *Incorporation de l'adenine ¹⁴C dans l'embryon de Poulet*, « J. embryol. and exp. Morphol. », 8, 174.
- [4] R. LANZANI MACI e C. SOTGIA (1972) - *Cambiamenti della precoce determinazione embrionale e sintesi di acido ribonucleico e di proteine nell'embrione di pollo*, « Atti Acc. Naz. Lincei (Rend. Cl. Sc. fis.) » (8), 53, 602.
- [5] D.A.T. NEW (1966) - *The culture of Vertebrate embryos*. Logos Press, London.
- [6] V. HAMBURGER e H. L. HAMILTON (1951) - *A series of normal stages in the development of the chick embryo*, « J. Morphol. », 3, 326.
- [7] LEONARDI GIGADA M., LARIA DE BERNARDI F. e SCARPETTI BOLZERN A.M. (1975) - *Sintesi di acidi nucleici e di proteine nelle diverse regioni dell'embrione di Xenopus laevis*, « Atti Acc. Naz. Lincei (Rend. Cl. Sc. fis.) », (8), 59 (in stampa).