



UNIVERSITÀ DI PISA

Università degli studi di Pisa
Facoltà di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali
Corso di Laurea in Neurobiologia

Tesi di Laurea
Anno accademico 2009-2010

**Analisi funzionale del ruolo del
recettore 5-HT_{2B} nella morfogenesi
oculare di *Xenopus laevis***

Candidato

Elisa Pietrasanta

Relatori

Dott.ssa Michela Ori

Prof.ssa Irma Nardi

INDICE

RIASSUNTO	I
ABSTRACT	III
1. INTRODUZIONE	1
1.1. Serotonina	1
1.2. Ruolo della serotonina dello sviluppo embrionale	6
1.3. I recettori della serotonina	11
1.4. Il recettore 5-HT2B	14
1.5. Morfogenesi oculare	21
1.6. Il fattore di trascrizione <i>Pitx2</i>	24
1.7. <i>Xenopus laevis</i> come sistema modello	26
2. SCOPO DELLA TESI	29
3. MATERIALI E METODI	31
3.1. Trasformazione di cellule di E. coli ed amplificazione del DNA plasmidico	31
3.1.1. Trasformazione	31
3.1.2. Inoculo ed estrazione di DNA plasmidico	32
3.2. Digestione di plasmidi con enzimi di restrizione	32
3.3. Purificazione del DNA	33
3.3.1. Estrazione fenolica	33
3.3.2. Precipitazione alcolica	34
3.4. Elettroforesi su gel di agarosio	34
3.5. Embrioni di <i>Xenopus laevis</i>	36
3.6. Microiniezione	37
3.6.1. Microiniezione in embrioni di <i>Xenopus laevis</i>	37

3.6.2. <i>Morpholino</i>	38
3.6.3. <i>Sintesi in vitro dei trascritti da microiniettare</i>	39
3.7. Ibridazione in situ	41
3.7.1. <i>Preparazione della sonda</i>	41
3.7.2. <i>Cloni usati per l'ibridazione in situ</i>	42
3.7.3. <i>Ibridazione in situ "whole mount"</i>	43
3.7.4. <i>Depigmentazione ("bleaching")</i>	46
3.8. Taglio al vibratomo di embrioni processati per ibridazione in situ "whole mount"	46
3.9. Immunoistochimica "whole mount"	48
4. RISULTATI	50
4.1. Esperimenti di perdita e guadagno di funzione del gene per il recettore 5-HT2B	50
4.2. Il gene Pitx2 è espresso nel mesenchima perioculare di <i>Xenopus</i>	52
4.3. La perdita di funzione del gene 5-HT2B altera la morfogenesi oculare	53
4.4. La sovraespressione del gene 5-HT2B altera la morfogenesi oculare	55
4.5. Analisi della muscolatura extraoculare	58
4.6. Esperimenti di recupero funzionale	60
5. DISCUSSIONE	62
6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE	66
7. BIBLIOGRAFIA	68
RINGRAZIAMENTI	