

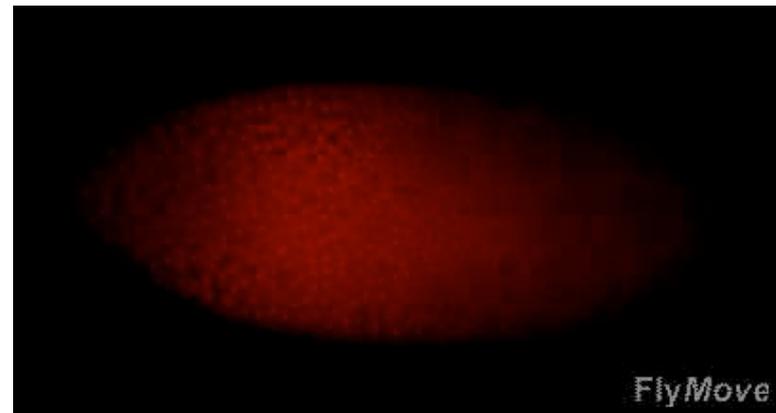
Princípios gerais do desenvolvimento



COMPORTAMENTOS CELULARES NO DESENVOLVIMENTO

MORFOGÊNESE, GRADIENTES E INDUÇÃO

ESPECIFICAÇÃO: COMPROMISSO E DETERMINAÇÃO



Princípios gerais do desenvolvimento

COMPORTAMENTOS CELULARES NO DESENVOLVIMENTO:

- a) Dividir
- b) Diferenciar (cambiar forma)
- c) Morer

MORFOGÊNESE, GRADIENTES E INDUÇÃO:

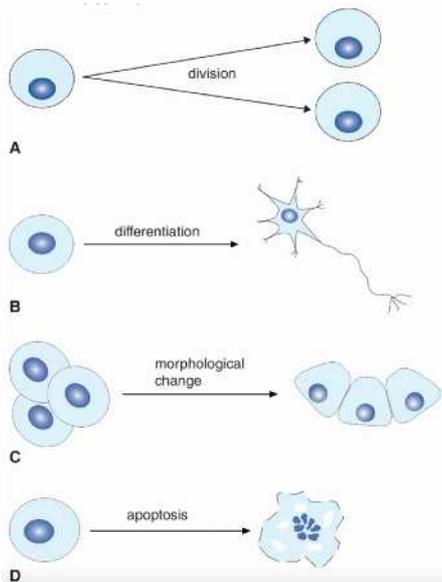
- a) Os genes codificam informação importante que dirige **comportamentos temporais e espaciais** das células
- b) Comunicação intercelular (e.g. **gradientes morfogénéticos e processos de indução**)

ESPECIFICAÇÃO: COMPROMISSO E DETERMINAÇÃO

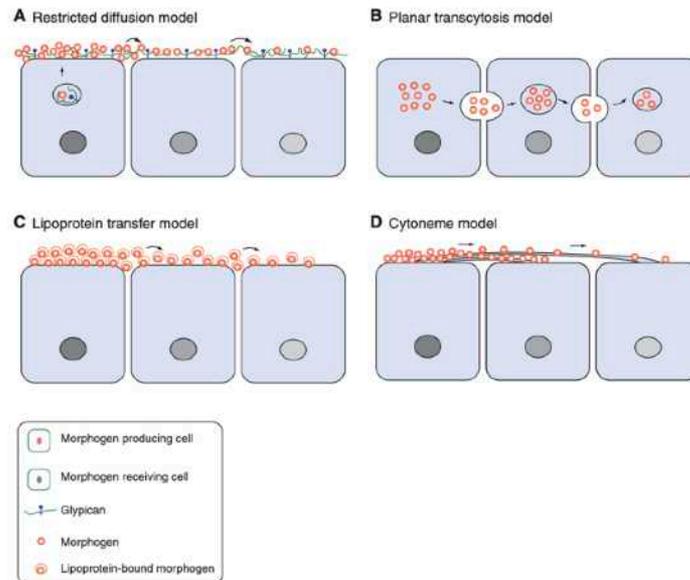
- a) O desenvolvimento de linhagens celulares é progressivo e restritivo (e.g. mudanças intracelulares): células não diferenciada → célula **comprometida** → célula **determinada** – célula **diferenciada**
- b) A expressão dos genes é regulada diferenciadamente pelo ambiente celular (e.g. células e tecidos)

Princípios gerais do desenvolvimento

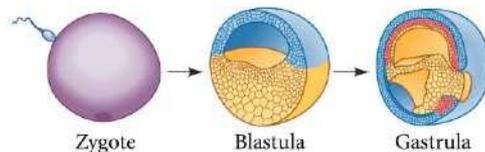
a. Respostas e comportamentos celulares



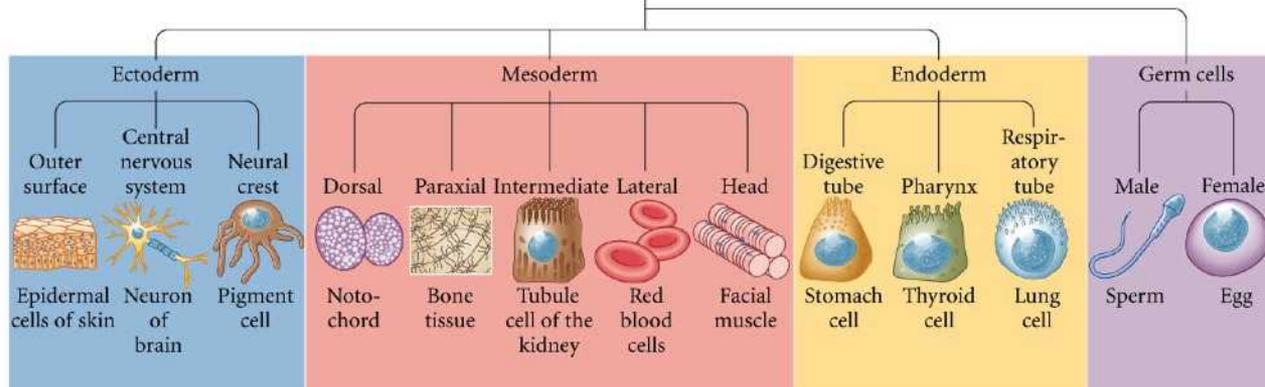
b. Morfógenos e gradientes



c. Especificação (compromisso e determinação) e diferenciação celular no embrião:

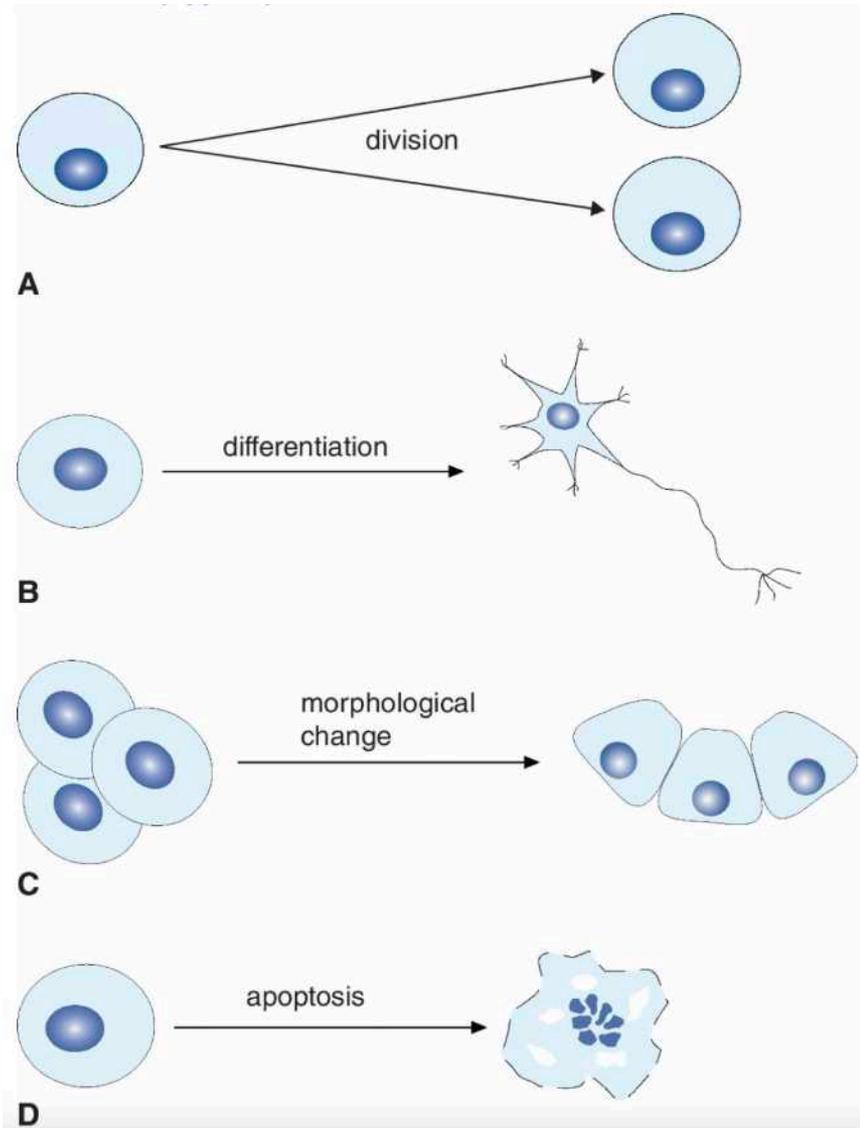


- I. esp. autónomo
- II. esp. condicional
- III. esp. syncicial



Princípios gerais do desenvolvimento

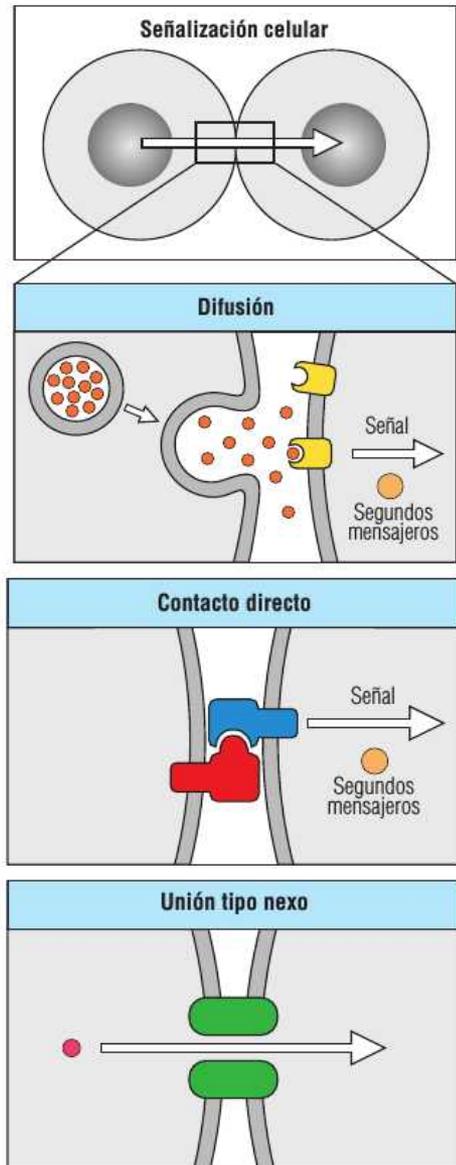
a. Respostas e comportamentos celulares



Morfógeno: molécula difusível que pode determinar o destino celular dependendo da sua concentração, e que determina os padrões de expressão.

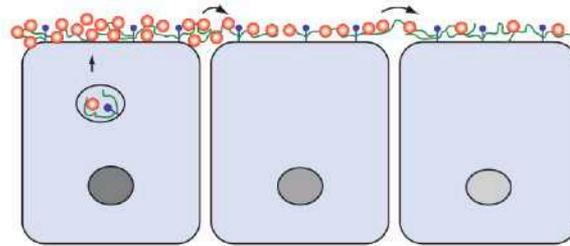
Principios gerais do desenvolvimento:

b. Morfógenos e gradientes

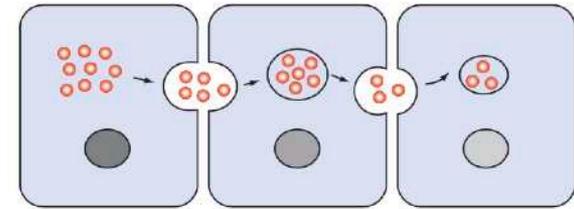


Formação de gradientes

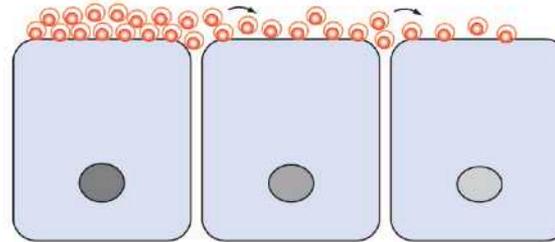
A Restricted diffusion model



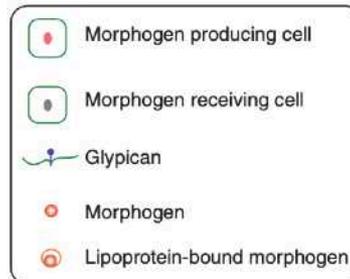
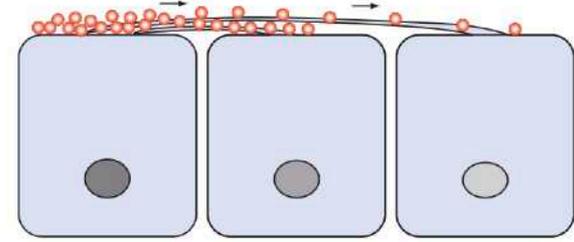
B Planar transcytosis model



C Lipoprotein transfer model



D Cytoneur model



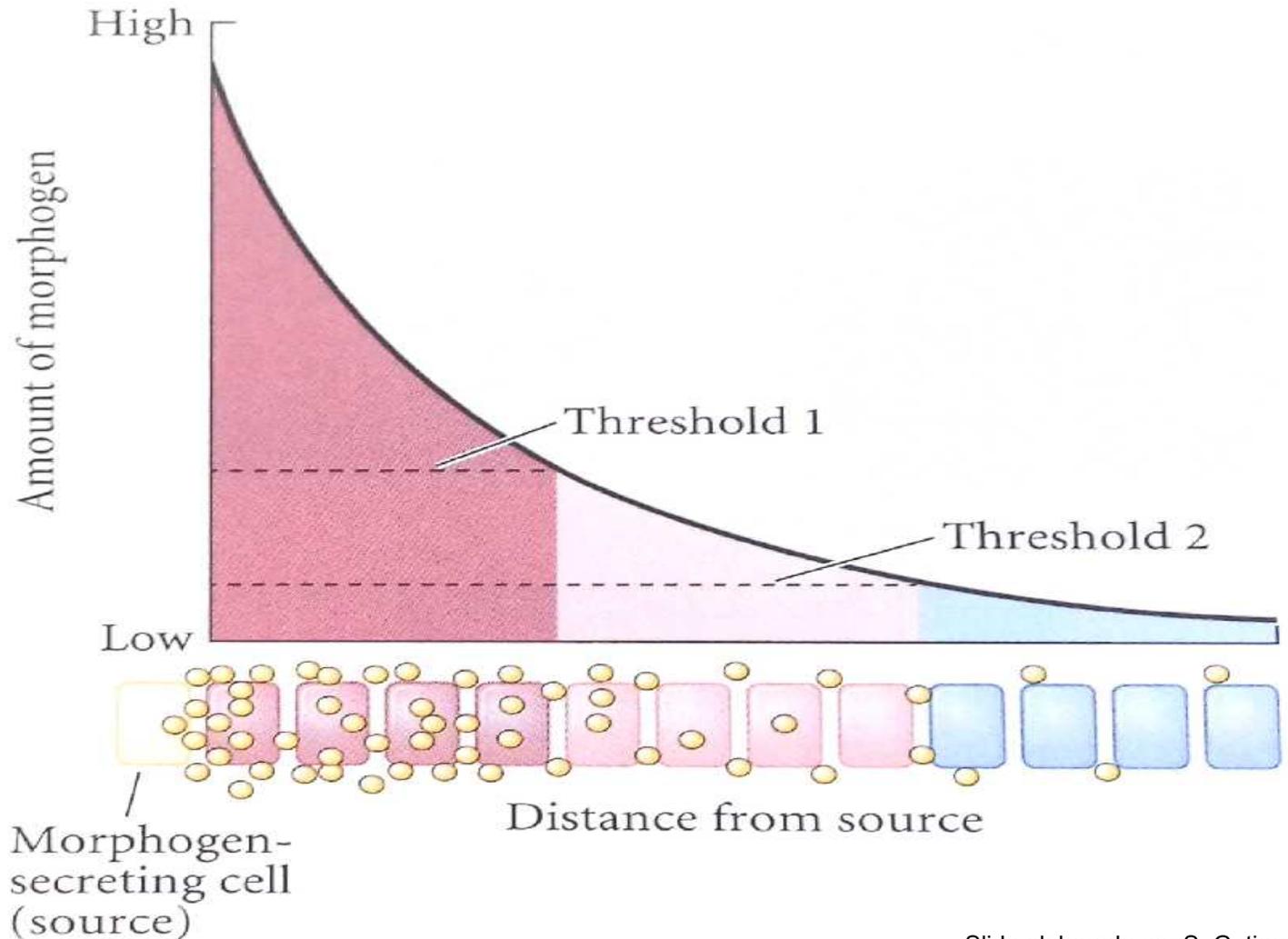
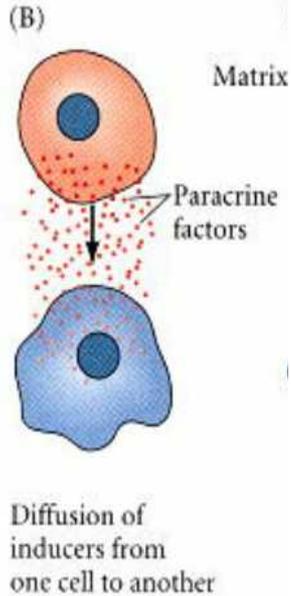
Yan & Lin, 2009

Princípios gerais do desenvolvimento

b. Morfógenos e gradientes



c. Especificação e diferenciação celular



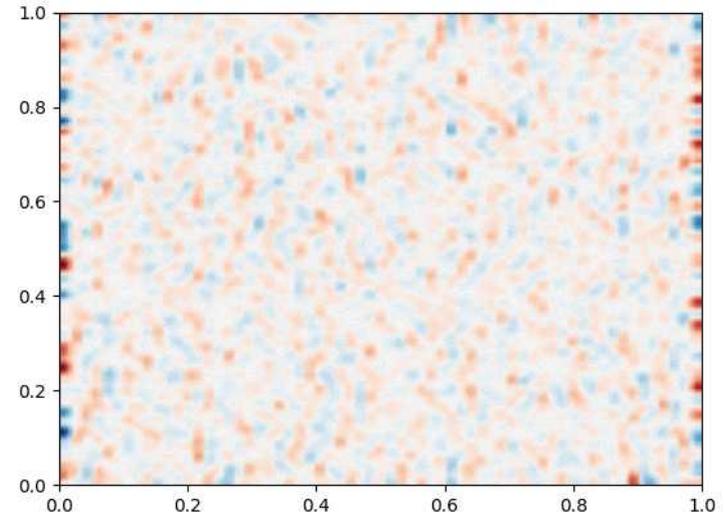
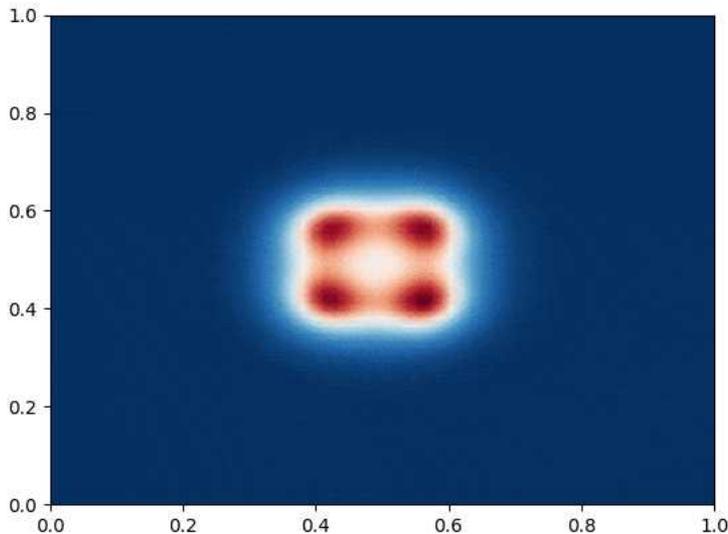
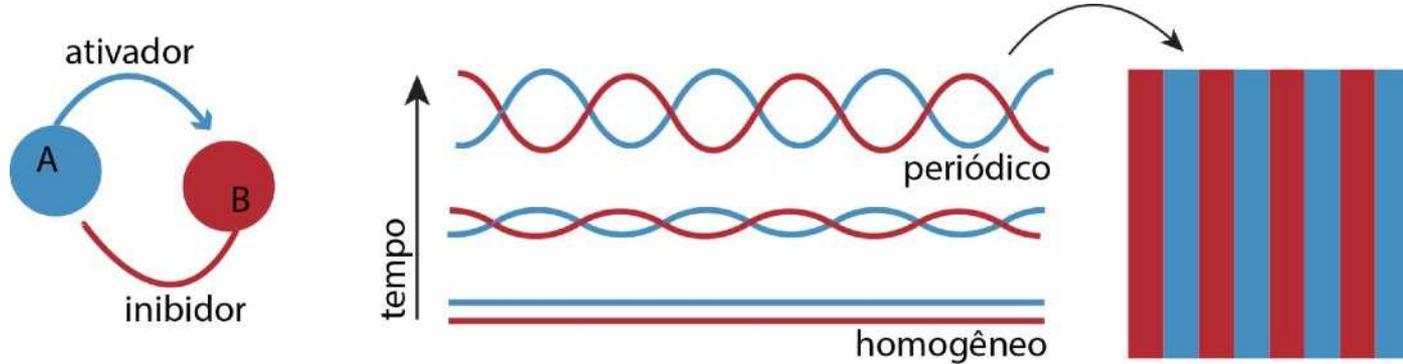
Princípios gerais do desenvolvimento

b. Morfógenos e gradientes



c. Especificação e diferenciação celular

O modelo de reacção e difusão do Alan Turing explica padrões da natureza:



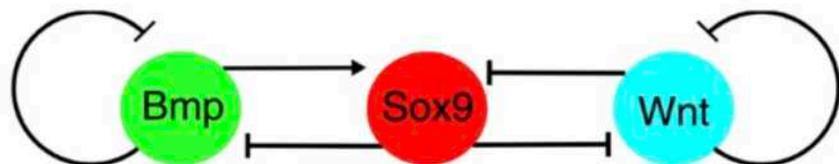
Princípios gerais do desenvolvimento

b. Morfógenos e gradientes



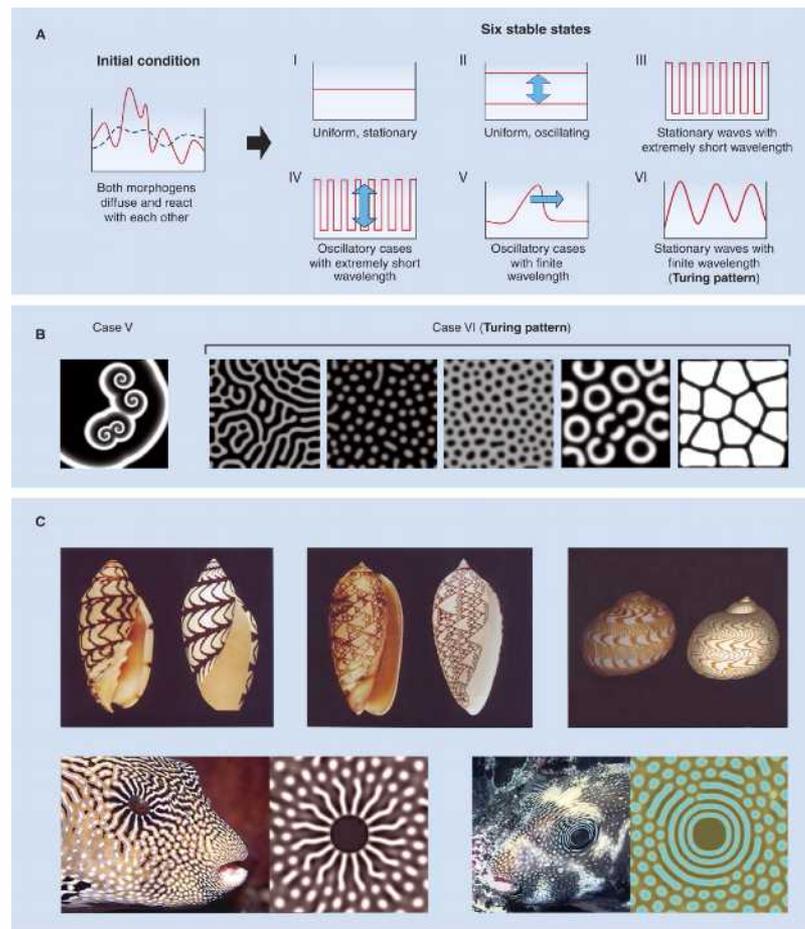
c. Especificação e diferenciação celular

O modelo de reacção e difusão do Alan Turing explica padrões da natureza:



Onimaru et al. 2016

Alan Turing na palma da mão - João Botelho, *Darwinianas*



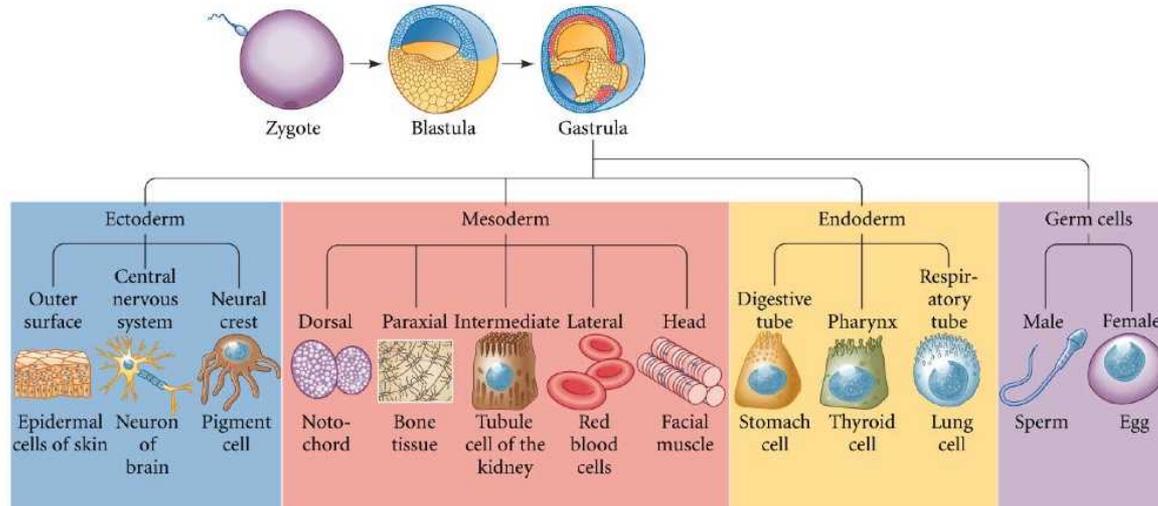
Kondo & Miura, 2010

Milestone 4: Quebres de simetria e simulações computacionais de A. Turing (1952)

Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação (compromisso e determinação) e diferenciação celular no embrião

- I. Especificação autônoma
- II. Especificação condicional
- III. Especificação sincicial



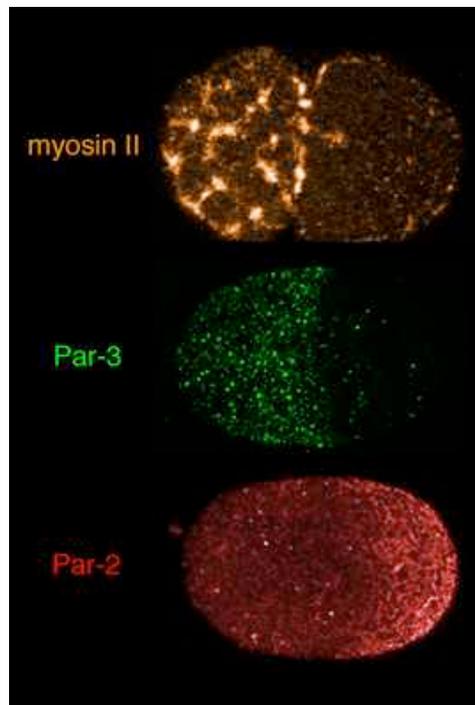
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação (compromisso e determinação) e diferenciação celular no embrião

I. Especificação autónoma

- Especificação por aquisição diferenciada de moléculas do citoplasma do ovo.
- Padrões de clivagem invariáveis e destino celular dos blastômeros invariável.
- Especificação celular precede qualquer uma migração de células em grande escala no embrião.
- Produz desenvolvimento em “mosaico” (no caso de remoção de um blastômero o destino do resto das células do embrião se mantem).
- É comum em invertebrados.

Milestone 18: Divisiones asimétricas: Kempthues (1988) identifica PARs en nemátodos



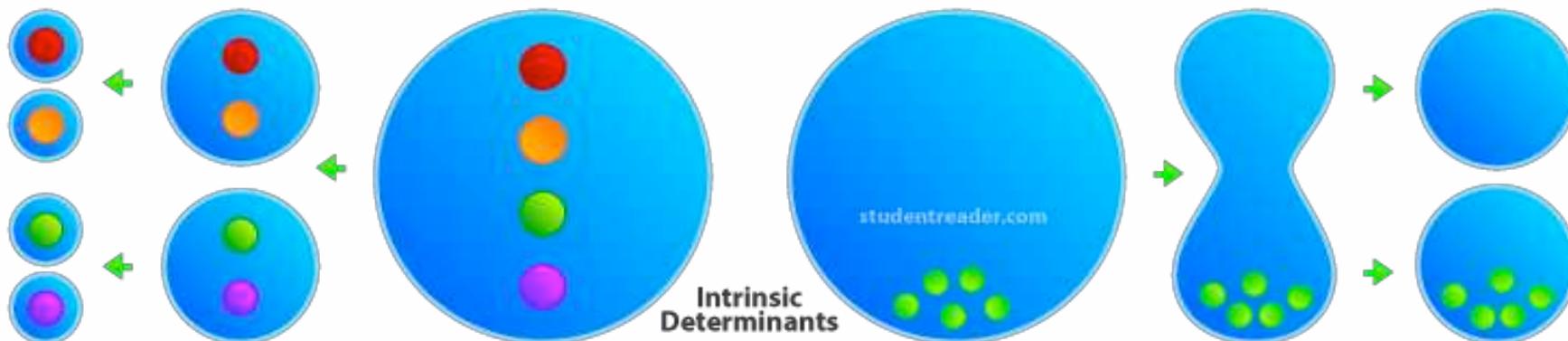
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação (compromisso e determinação) e diferenciação celular no embrião

I. Especificação autónoma

- Especificação por aquisição diferenciada de moléculas do citoplasma do ovo.
- Padrões de clivagem invariáveis e destino celular dos blastômeros invariável.
- Especificação celular precede qualquer uma migração de células em grande escala no embrião.
- Produz desenvolvimento em “mosaico” (no caso de remoção de um blastômero o destino do resto das células do embrião se mantem).
- É comum em invertebrados.

Distribuição de determinantes durante as primeiras divisões da embriogénese resulta em **especificação autónoma**



Nota: importante na pre-formação, desenvolvimento autónomo (desenvolvimento determinativo)

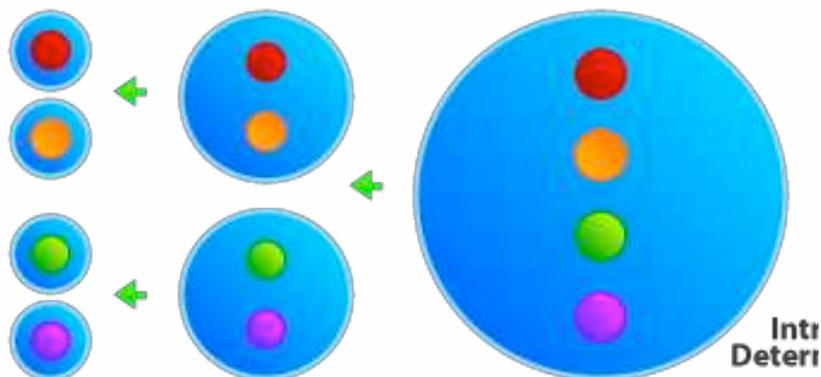
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação (compromisso e determinação) e diferenciação celular no embrião

I. Especificação autónoma

- Especificação por aquisição diferenciada de moléculas do citoplasma do ovo.
- Padrões de clivagem invariáveis e destino celular dos blastômeros invariável.
- Especificação celular precede qualquer uma migração de células em grande escala no embrião.
- Produz desenvolvimento em “mosaico” (no caso de remoção de um blastômero o destino do resto das células do embrião se mantem).
- É comum em invertebrados.

Distribuição de determinantes durante as primeiras divisões da embriogênese resulta em **especificação autónoma**



Nota: importante na pre-formação, desenvolvimento autónomo (desenvolvimento determinativo)

Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

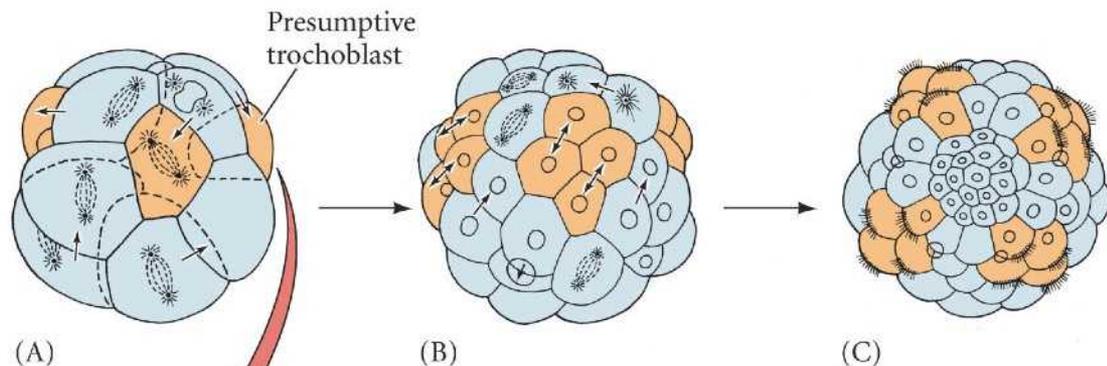
I. Especificação autónoma

- Especificação por aquisição diferenciada de moléculas do citoplasma do ovo.
- Padrões de clivagem invariáveis e destino celular dos blastômeros invariável.
- Especificação celular precede qualquer uma migração de células em grande escala no embrião.
- Produz desenvolvimento em “mosaico” (no caso de remoção de um blastômero o destino do resto das células do embrião se mantem).
- É comum em invertebrados.

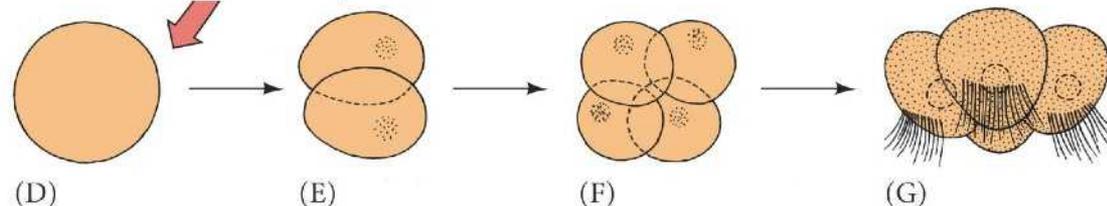
Especificação autónoma nos animais ‘espiralados’

(ex. lapas, gastrópodes, moluscos)

Normal development of *Patella*



Isolated trochoblast development



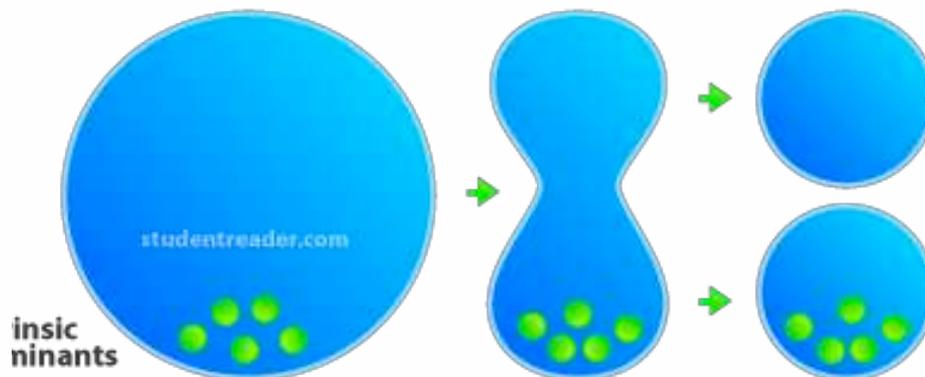
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

I. Especificação autónoma

- Especificação por aquisição diferenciada de moléculas do citoplasma do ovo.
- Padrões de clivagem invariáveis e destino celular dos blastômeros invariável.
- Especificação celular precede qualquer uma migração de células em grande escala no embrião.
- Produz desenvolvimento em “mosaico” (no caso de remoção de um blastômero o destino do resto das células do embrião se mantem).
- É comum em invertebrados.

Distribuição de determinantes durante as primeiras divisões da embriogénese resulta em **especificação autónoma**

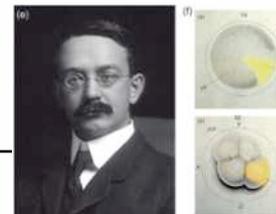


Nota: importante na pre-formação, desenvolvimento autónomo (desenvolvimento determinativo)

Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

Desenvolvimento de *Styela partita*:



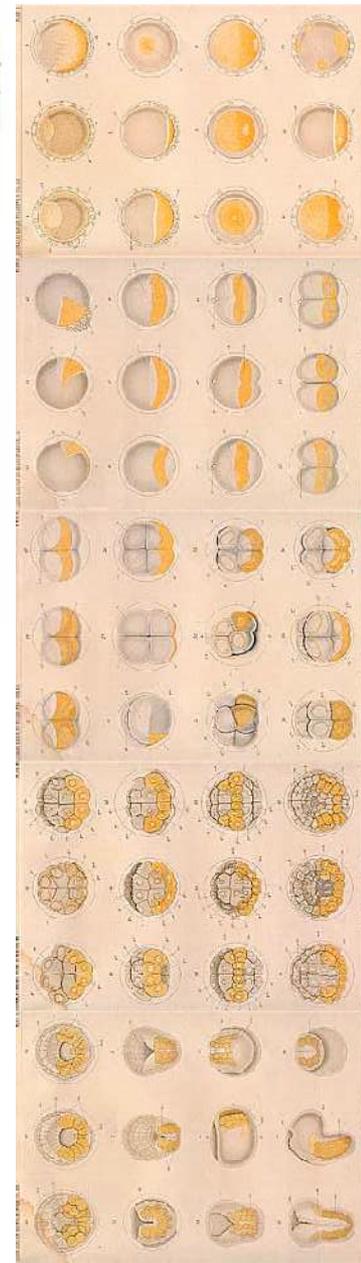
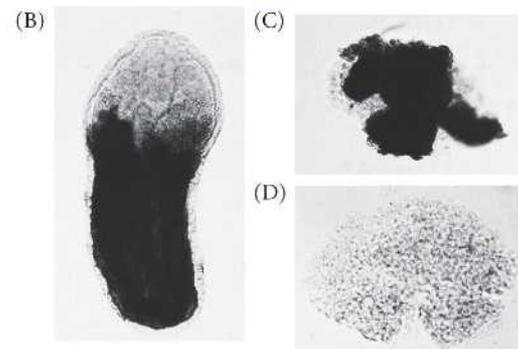
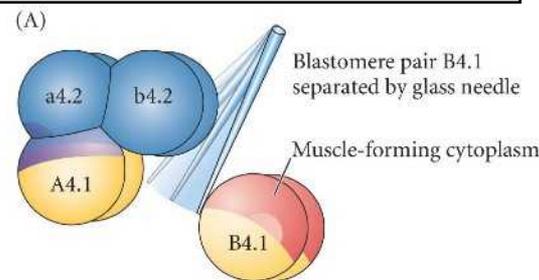
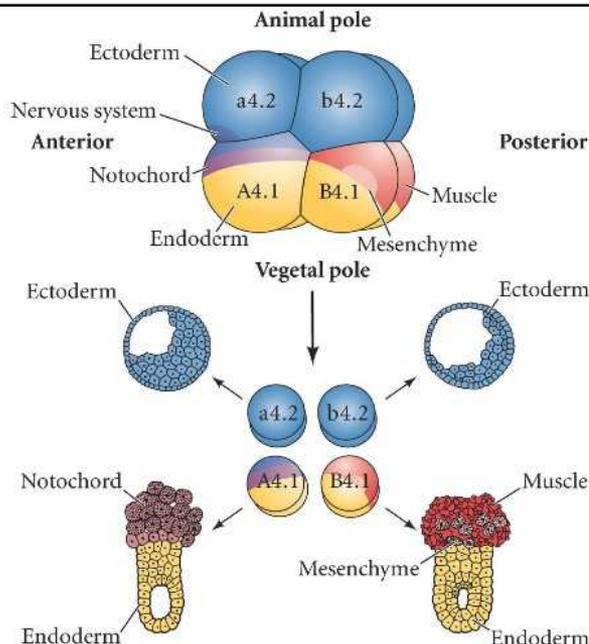
E. Conklin

I. Especificação autónoma

- Especificação por aquisição diferenciada de moléculas do citoplasma do ovo.
- Padrões de clivagem invariáveis e destino celular dos blastômeros invariável.
- Especificação celular precede qualquer uma migração de células em grande escala no embrião.
- Produz desenvolvimento em “mosaico” (no caso de remoção de um blastômero o destino do resto das células do embrião se mantem).
- É comum em invertebrados.

Especificação autónoma em tunicados

(ex. ascídias)



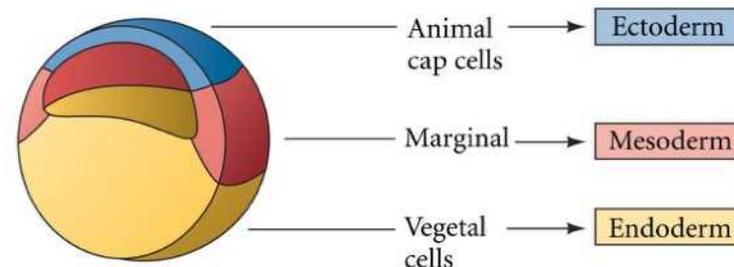
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

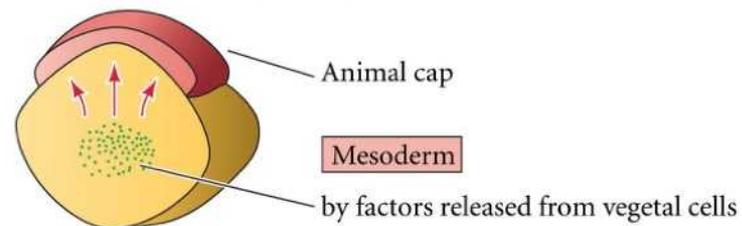
II. Especificação condicional

- Especificação por interações entre células. Posições relativas são importantes.
- Arranjos massivos e migrações precedem ou acompanham a especificação celular.
- Capacidade de um desenvolvimento “regulativo” (permite que células adquiram novas funções e destinos)
- É comum em vertebrados.

(A) Dissected blastula fragments give rise to different tissue in culture:



(B) Animal and vegetal fragments give rise to mesoderm



Milestone: Mesoderm induction (1969): Nieuwkoop, JMW Slack, Kimmelman & Kirschner, and JC Smith find that FGF and TGF- β is important

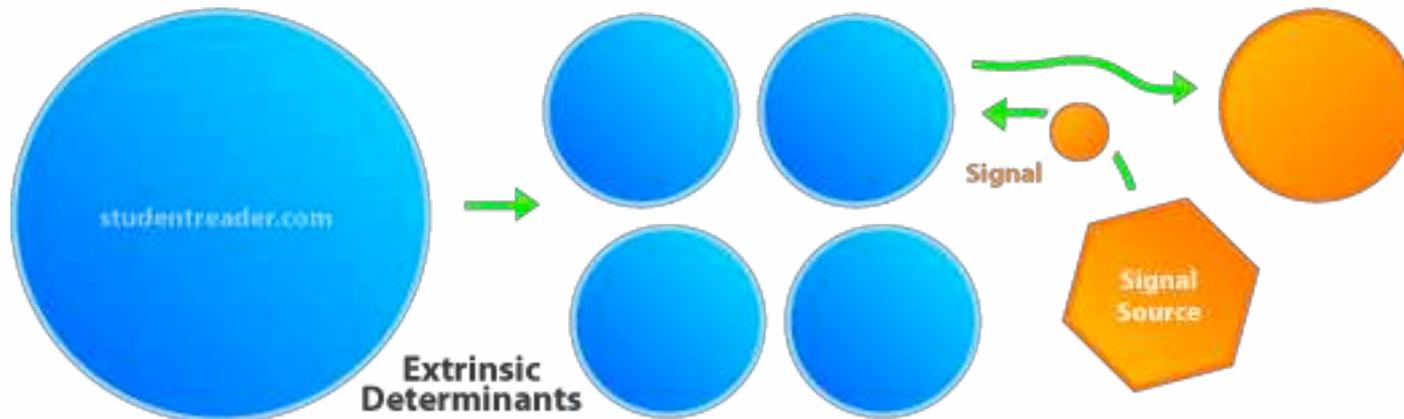
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

II. Especificação condicional

- Especificação por interações entre células. Posições relativas são importantes.
- Arranjos massivos e migrações precedem ou acompanham a especificação celular.
- Capacidade de um desenvolvimento “regulativo” (permite que células adquiram novas funções e destinos)
- É comum em vertebrados.

Processos de indução mediante sinais extracelulares durante a embriogênese resulta em **especificação condicional**



Princípios gerais do desenvolvimento

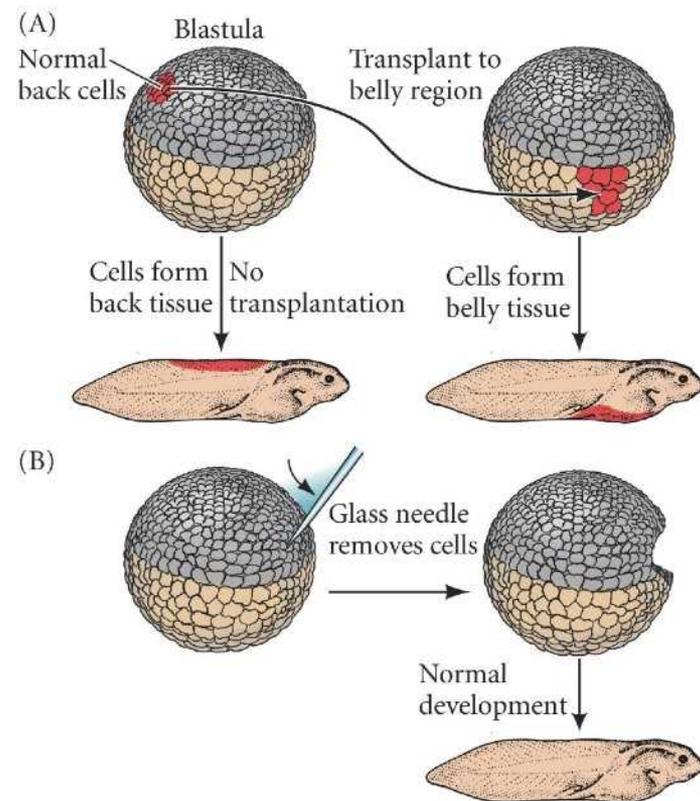
c. Especificação e diferenciação celular

II. Especificação condicional

- Especificação por interações entre células. Posições relativas são importantes.
- Arranjos massivos e migrações precedem ou acompanham a especificação celular.
- Capacidade de um desenvolvimento “regulativo” (permite que células adquiram novas funções e destinos)
- É comum em vertebrados.

Especificação condicional:

desenvolvimento regulativo em rãs



Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

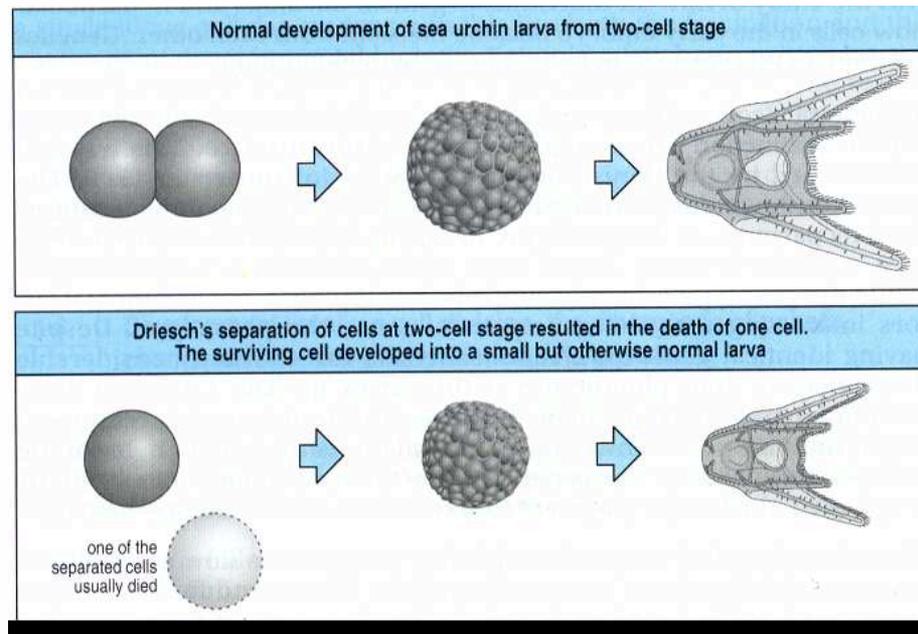
II. Especificação condicional

- Especificação por interações entre células. Posições relativas são importantes.
- Arranjos massivos e migrações precedem ou acompanham a especificação celular.
- Capacidade de um desenvolvimento “regulativo” (permite que células adquiram novas funções e destinos)
- É comum em vertebrados.

Especificação condicional:

desenvolvimento

“regulativo” em ouriços



Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

II. Especificação condicional

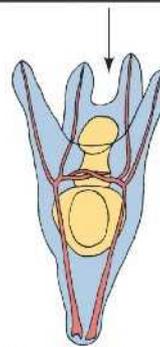
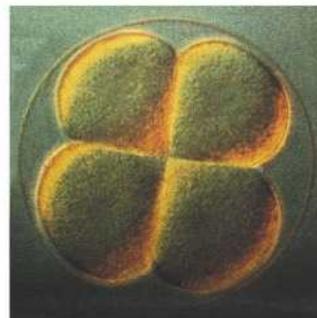
- Especificação por interações entre células. Posições relativas são importantes.
- Arranjos massivos e migrações precedem ou acompanham a especificação celular.
- Capacidade de um desenvolvimento “regulativo” (permite que células adquiram novas funções e destinos)
- É comum em vertebrados.



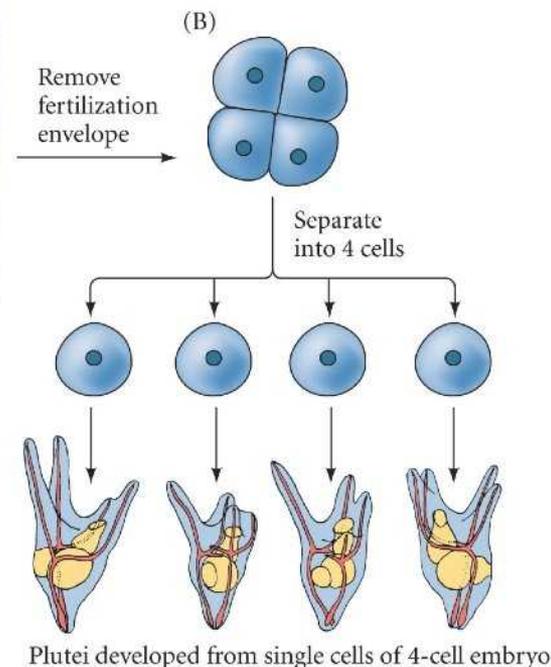
H. Driesch

Especificação condicional:
desenvolvimento
“regulativo” em ouriços

(A) Fertilization envelope



Normal pluteus larva

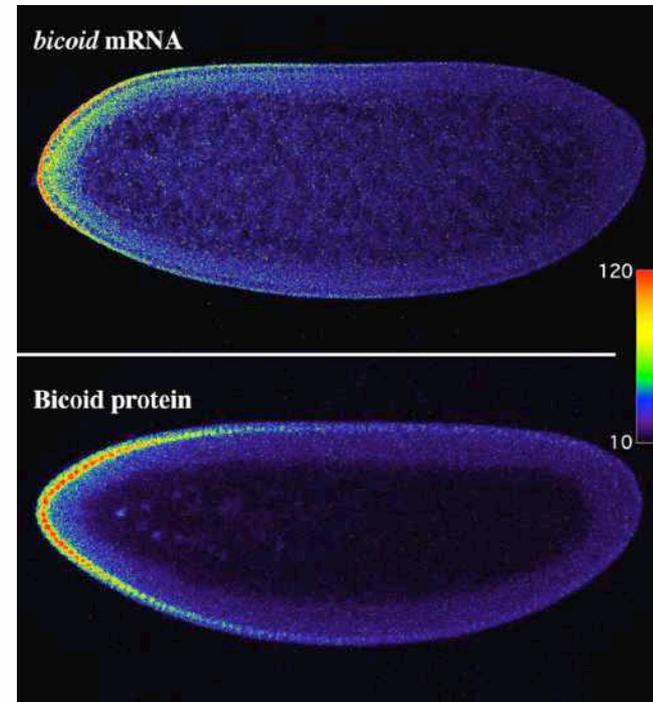


Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

III. Especificação sincicial

- Especificação de regiões do corpo por interações entre regiões citoplasmáticas, prévio à celularização da blastoderme.
- Os padrões de divisão dos núcleos (pre celularização) são variáveis e não condicionam o destino celular desses núcleos.
- A especificação condicional é comum após a celularização.
- É comum em muitas classes de insetos.



Milestone: Gradientes de morfógenos: Fronhofer, Dravis y Nusslein Volhardt (1986) identifican Bicoid como morfógeno

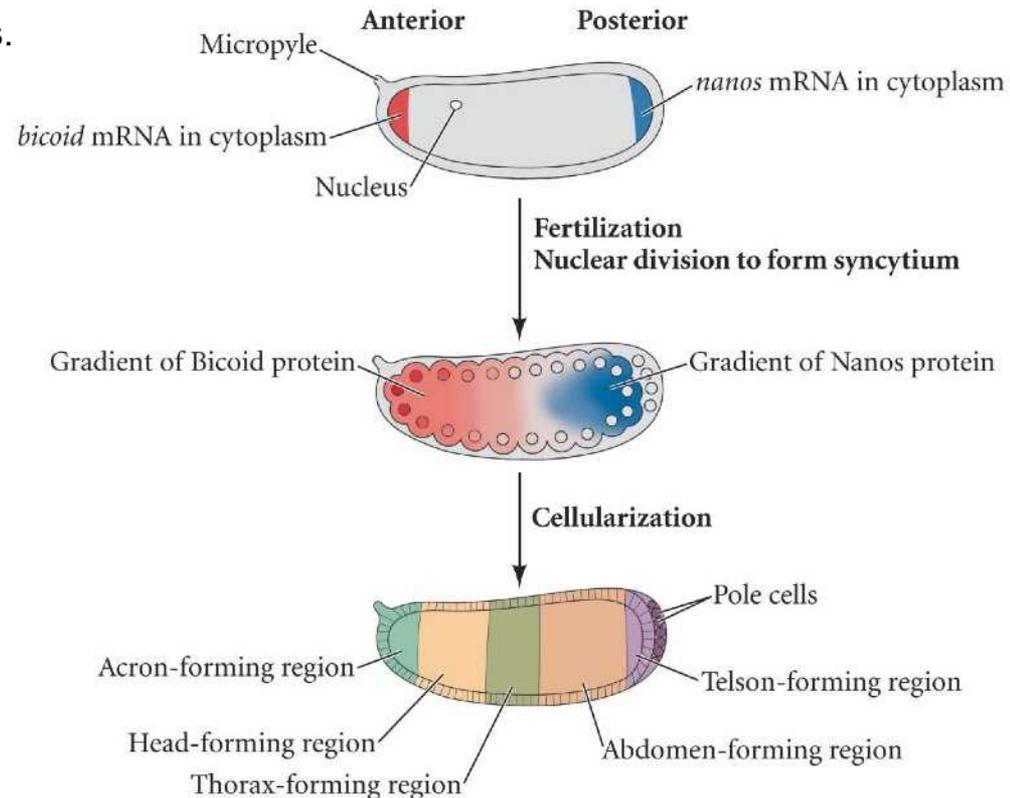
Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

III. Especificação sincicial

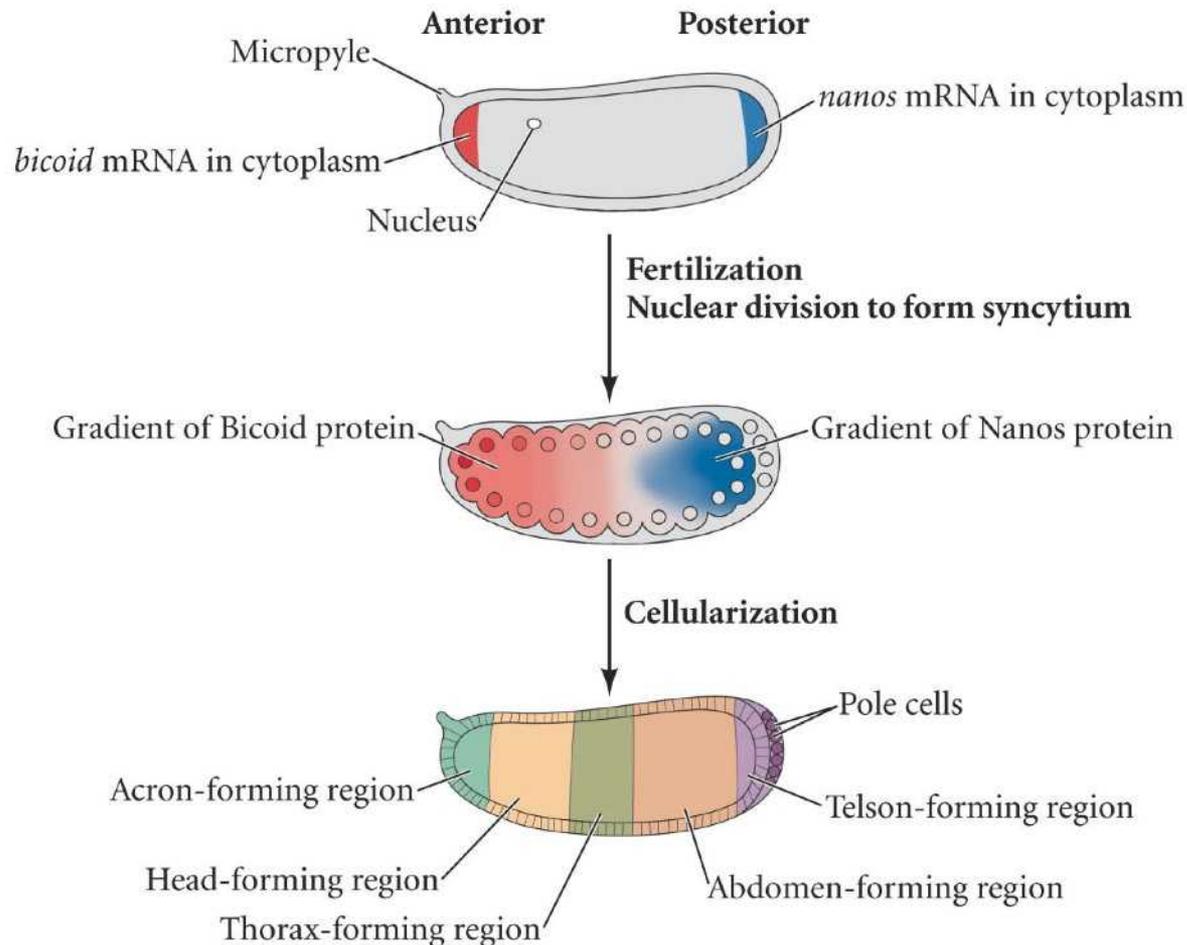
- Especificação de regiões do corpo por interações entre regiões citoplasmáticas, prévio à celularização da blastoderme.
- Os padrões de divisão dos núcleos (pre celularização) são variáveis e não condicionam o destino celular desses núcleos.
- A especificação condicional é comum após a celularização.
- É comum em muitas classes de insetos.

Distribuição de determinantes intrínsecos antes da celularização (formação das primeiras células) resulta na especificação de regiões corpóreas (autónoma), e determinantes extrínsecos regulam a especificação após a celularização (condicional)



Princípios gerais do desenvolvimento

O padrão de expressão sugere que *bicoid* seria o morfógeno ou determinante de cabeça em *Drosophila*. Pense em experimentos que provariam isso.

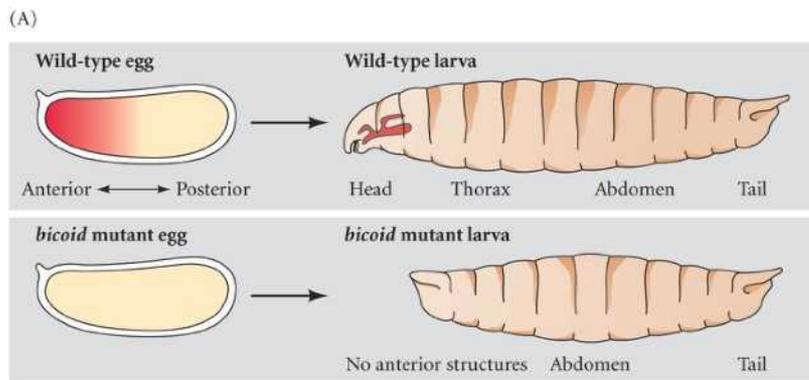


Princípios gerais do desenvolvimento

c. Especificação e diferenciação celular

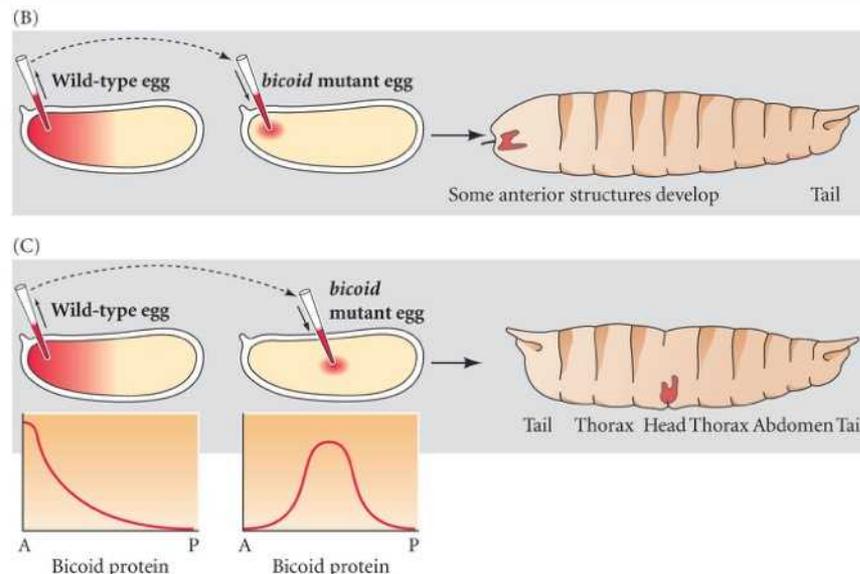
III. Especificação sincicial

- Especificação de regiões do corpo por interações entre regiões citoplasmáticas, prévio à celularização da blastoderme.
- Os padrões de divisão dos núcleos (pre celularização) são variáveis e não condicionam o destino celular desses núcleos.
- A especificação condicional é comum após a celularização.
- É comum em muitas classes de insetos.



Mutação de perda de função

→ larva sem estruturas anteriores (duas caudas)



Transplante citoplasmático de Bicoid

→ larva forma regiões anteriores ectópicas

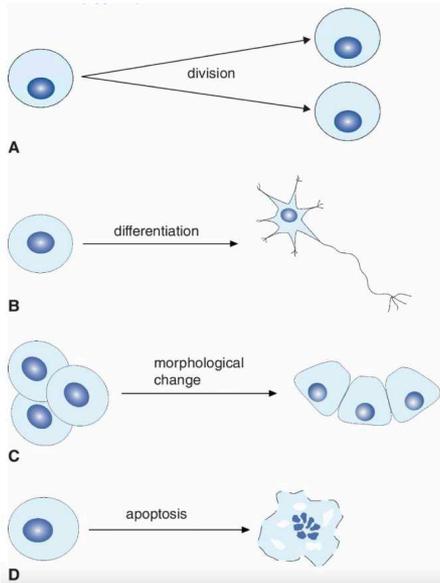
Conclusão: Bicoid é necessário e suficiente para o desenvolvimento da região anterior do corpo

Conclusões

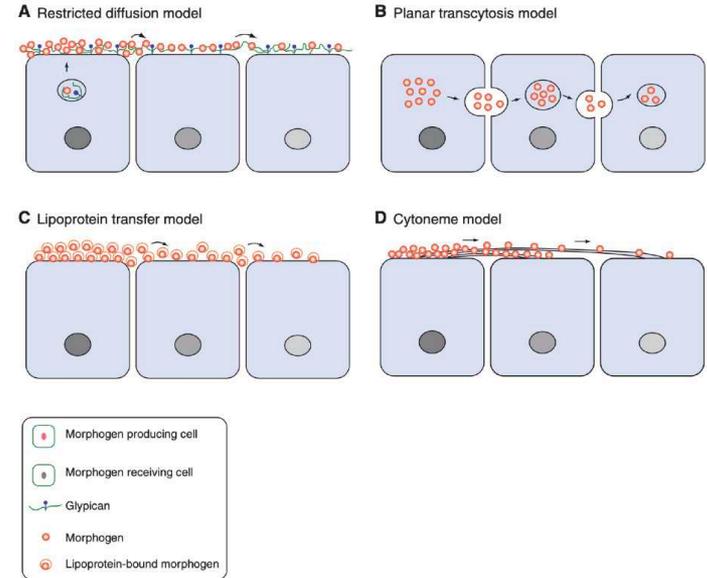
- O comportamento celular durante o desenvolvimento e a morfogênese são controlados por gradientes morfogenéticos ou processos de indução no ambiente celular.
- As células do embrião passam por processos de especificação mediante a acumulação de determinantes intrínsecos ou em resposta de processos de indução.
- Observamos três processos de especificação celular nos embriões de animais: autônoma (em mosaico), condicional (regulativa), e sincicial.

Princípios gerais do desenvolvimento

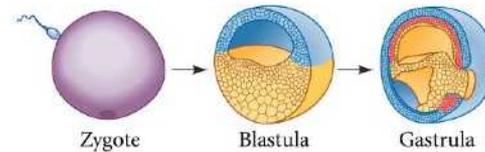
a. Respostas e comportamentos celulares



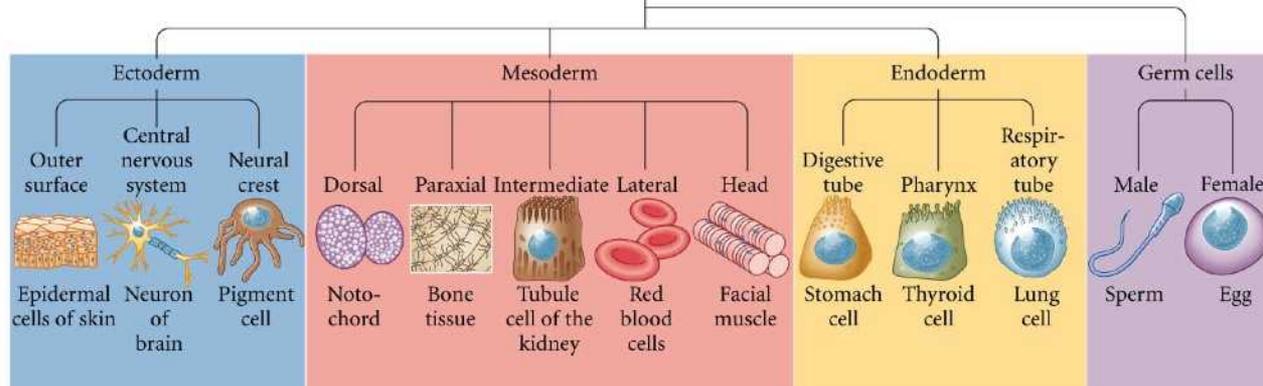
b. Morfógenos e gradientes



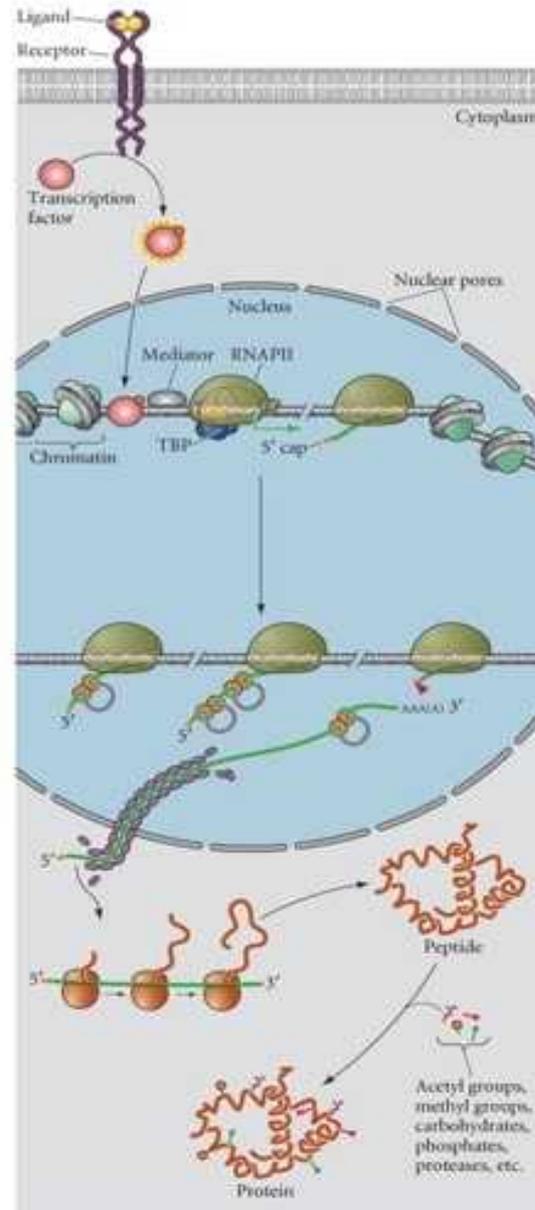
c. Especificação (compromisso e determinação) e diferenciação celular no embrião:



- I. esp. autónomo
- II. esp. condicional
- III. esp. syncycial



Regulação genica: expressão dos genes pode ser regulado em vários níveis



Nível 1:

Ambiente extracelular

→ Cascatas de sinalização

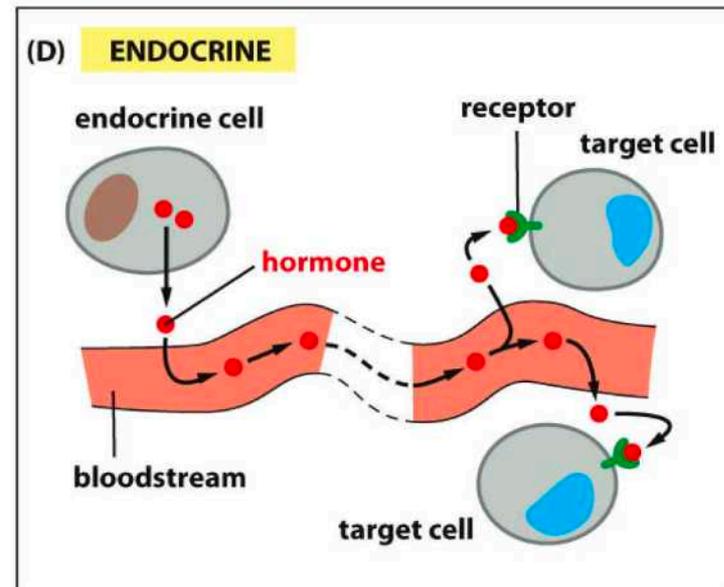
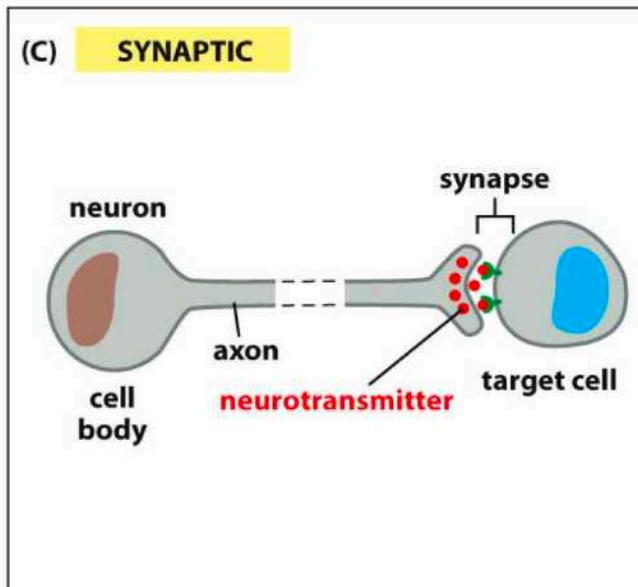
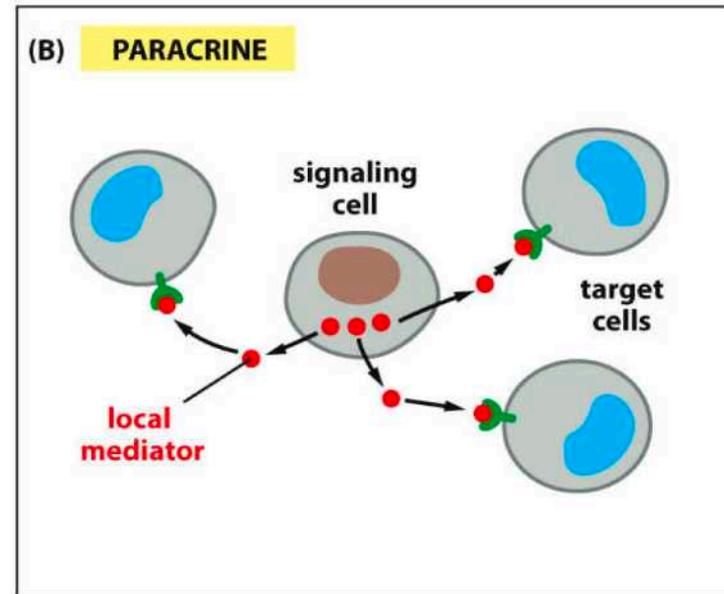
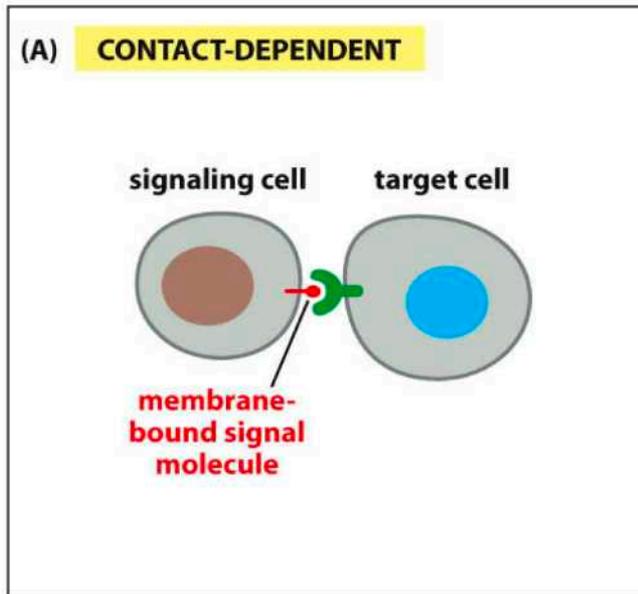
Nível 2:

- Cromatina - acesso aos genes
- Transcrição - fatores de transcrição
- Splicing alternativo

Nível 3:

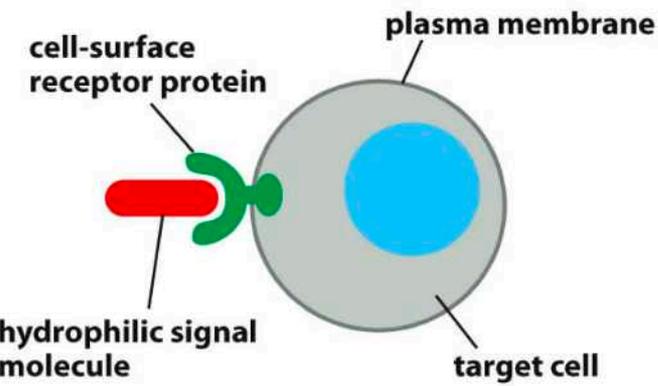
- Sublocalização celular de mRNAs/proteínas
- Tradução diferenciada por variação ribossomal
- RNA interference

Regulação gênica: Ambiente extracelular (Nível 1)

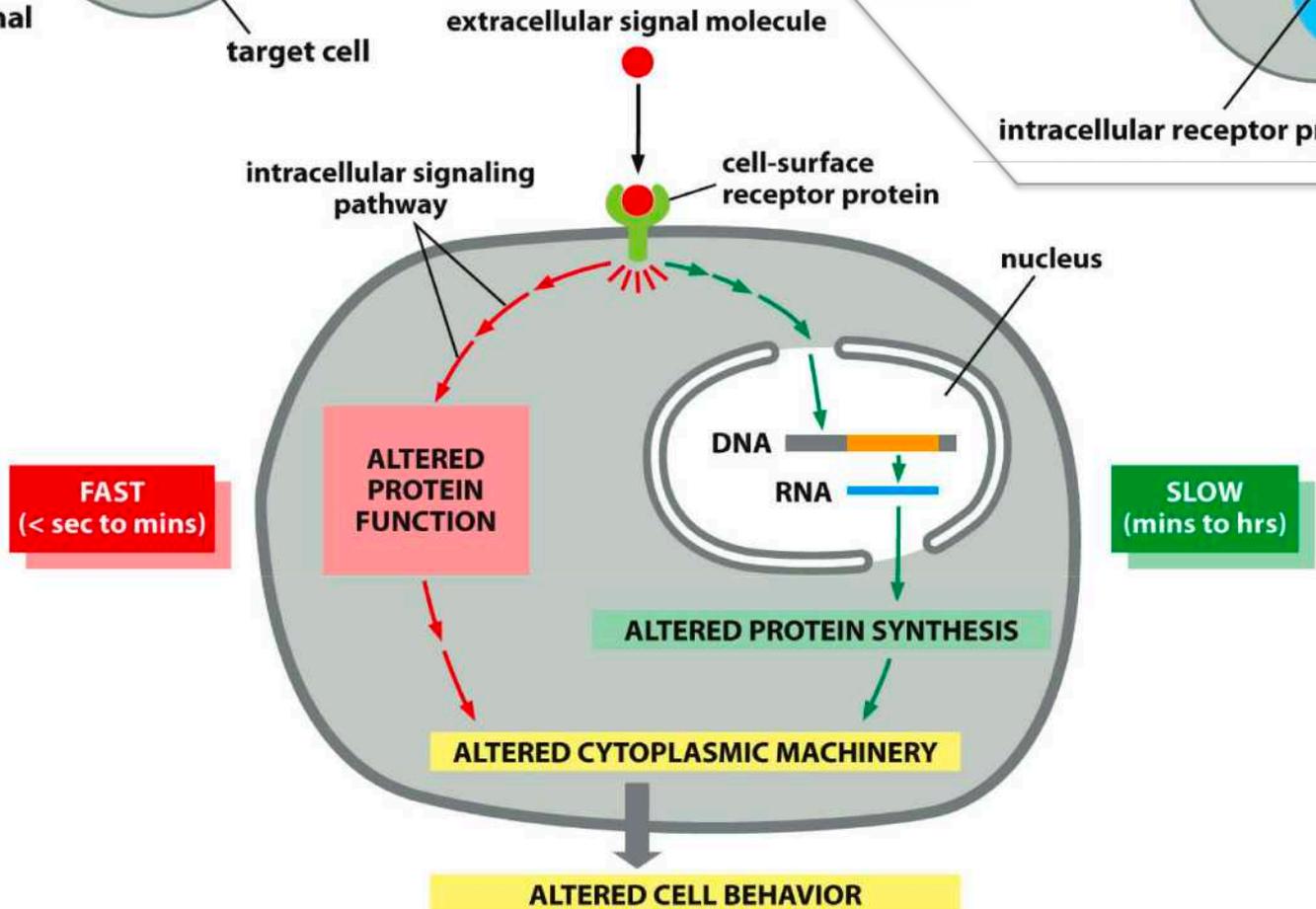
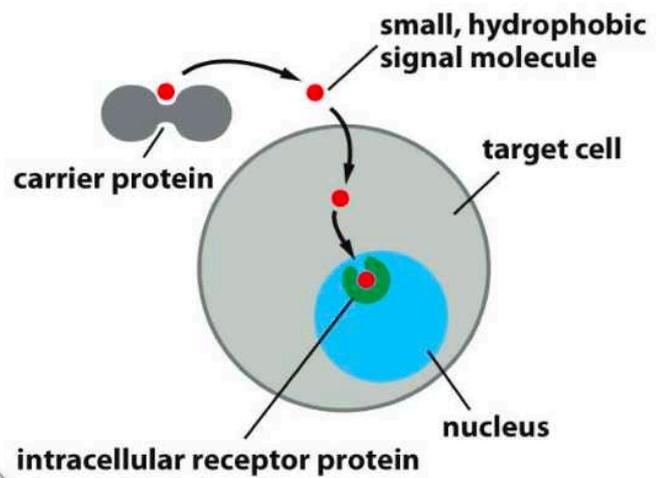


Regulação gênica: Cascatas de sinalização (Nível 1)

(A) CELL-SURFACE RECEPTORS



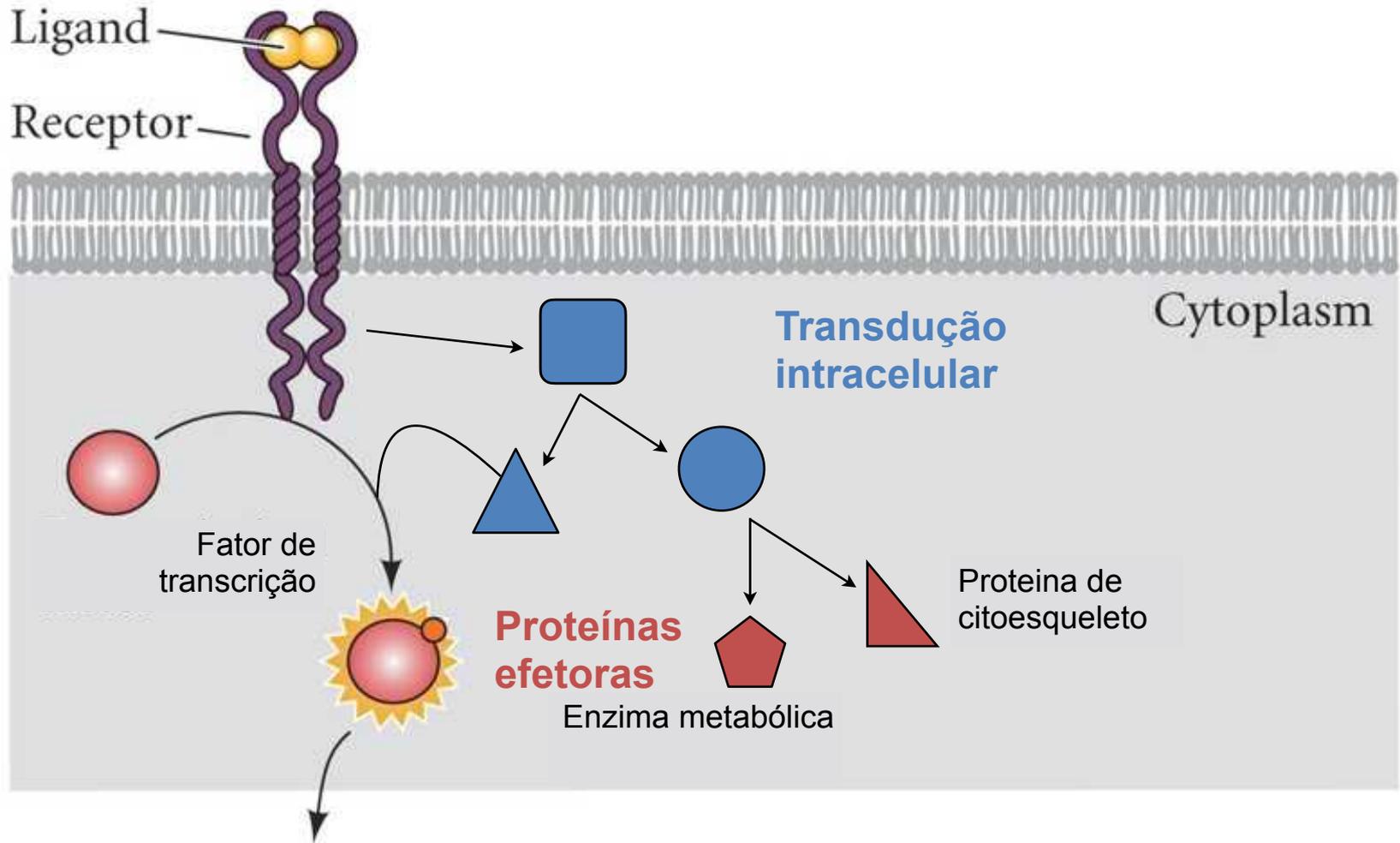
(B) INTRACELLULAR RECEPTORS



Regulação gênica: Cascatas de sinalização (Nível 1)

Exemplo Nível 1:

Nanismo pituitário (Síndrome de Laron ou GHRD)



Cascatas de sinalização (nível 1): Nanismo pituitário

Crescimento corpóreo em humanos é comprometido



Rosenbloom et al. 1999

TABLE 1. Clinical features of GHRD

Growth
 Birth weight-normal; birth length-usually normal^a
 Severe growth failure, from birth, with growth velocity ½ normal^a
 Height deviation correlates with (low) serum levels of IGF-I and IGFBP-3^b
 Delayed bone age, but advanced for height age^a
 Small (<10th percentile for height) hands or feet (70%)^a
 Body segment ratios normal for bone age in children, abnormal (reduced upper/lower, arms span) in adults^b

Craniofacial characteristics
 Sparse hair before age 7 (70%); frontal temporal hairline recession all ages^a
 Prominent forehead
 Head size more normal than stature with impression of large head^b

Hypoplastic nasal bridge, shallow orbits
 Decreased vertical dimension of face^a
 "Setting sun sign" under 10 yr of age (25%)^a
 Blue scleras^b
 Prolonged retention of primary dentition with decay; normal, crowded permanent teeth
 Sculpted chin^b
 Unilateral ptosis, facial asymmetry (15%)^b

Musculoskeletal/body composition
 Hypomuscularity with delay in walking (70%)^a
 Hip dysplasia: avascular necrosis of femoral head (25%)^b
 High pitched voices in all children, 90% adults^a

Thin, prematurely aged skin

Limited elbow extensibility (acquired; 85% after age 5 yr)^a
 Children underweight to normal for height, most adults overweight for height; markedly decreased ratio of lean mass to fat mass, compared to normal, at all ages^b

Osteopenia^a

Metabolic

Hypoglycemia (fasting)
 Increased cholesterol and LDL-C^b
 Decreased sweating

Sexual development

Small penis in childhood; normal genital growth with adolescence
 Delayed puberty (50%) in both sexes^a
 Normal reproductive function^a

Efeitos sobre o crescimento

Efeitos na substituição celular e homeostasis da epidermis

Efeitos na reprodução

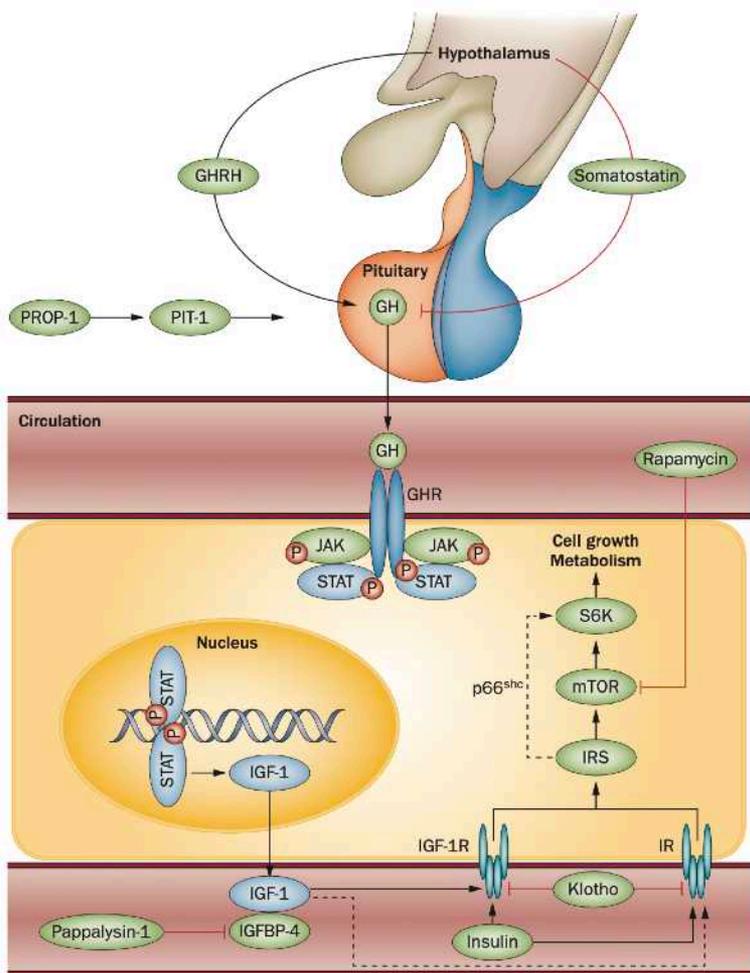
^a Observations expanded, modified, or quantified in the Ecuadorian cohort.

^b New observations in the Ecuadorian cohort.

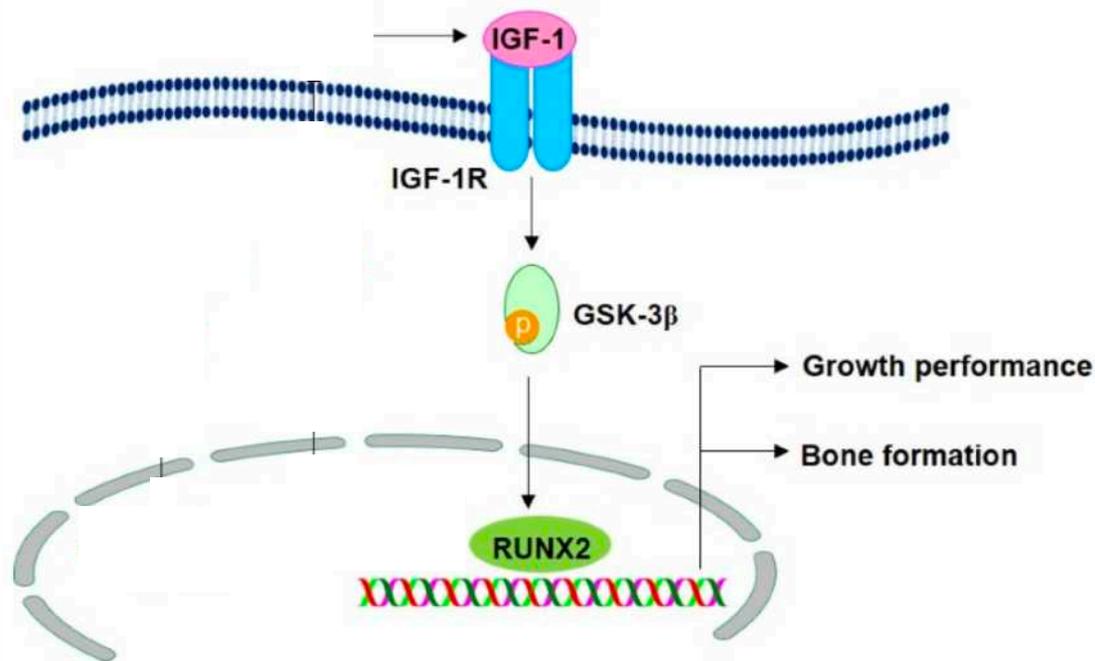
Cascatas de sinalização (nível 1): Nanismo pituitário

Cascatas de sinalização de GH e IGF:

Sinalização do GH no fígado:



Sinalização do IGF nos ossos (osteoblastos):



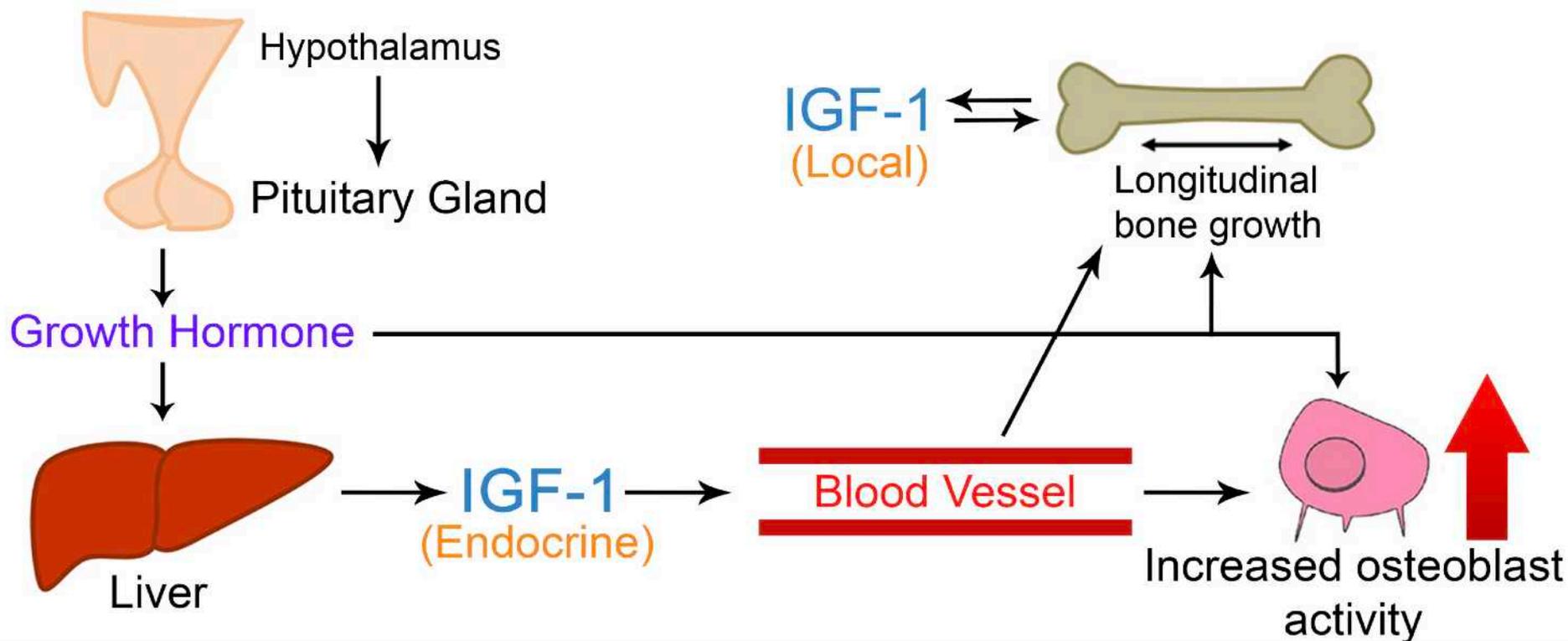
Modified from Molagoda et al. 2020

Cascatas de sinalização (nível 1): Nanismo pituitário

Se você fosse o médico, o qual tratamento você aplicaria à seus pacientes?

Cascatas de sinalização (nível 1): Nanismo pituitário

Fatores de crescimento GH e IGF



Cascatas de sinalização (nivel 1): Nanismo pituitário

Tratamento com IGF-I

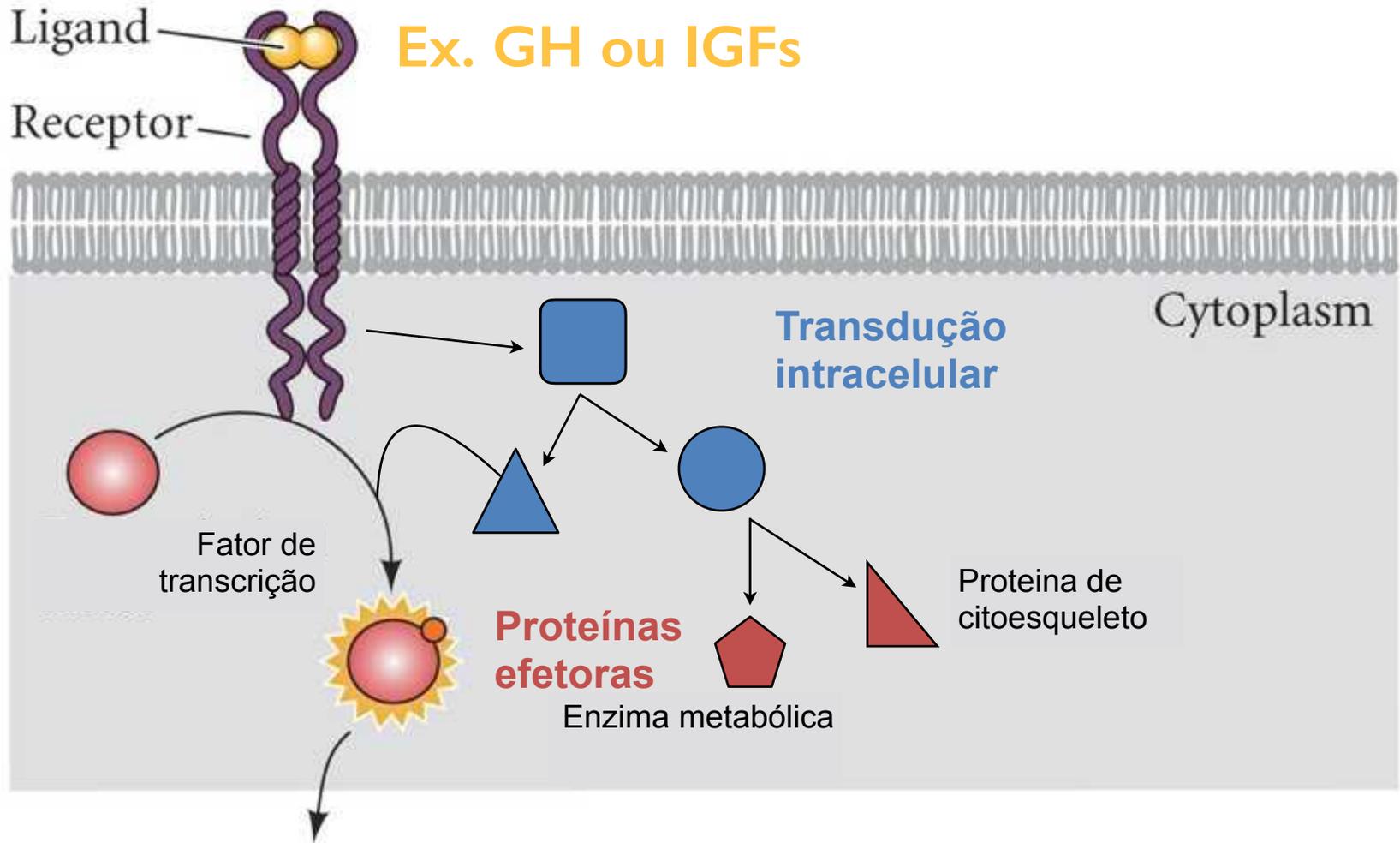


Paciente de 18 años, seis meses después de tratamiento

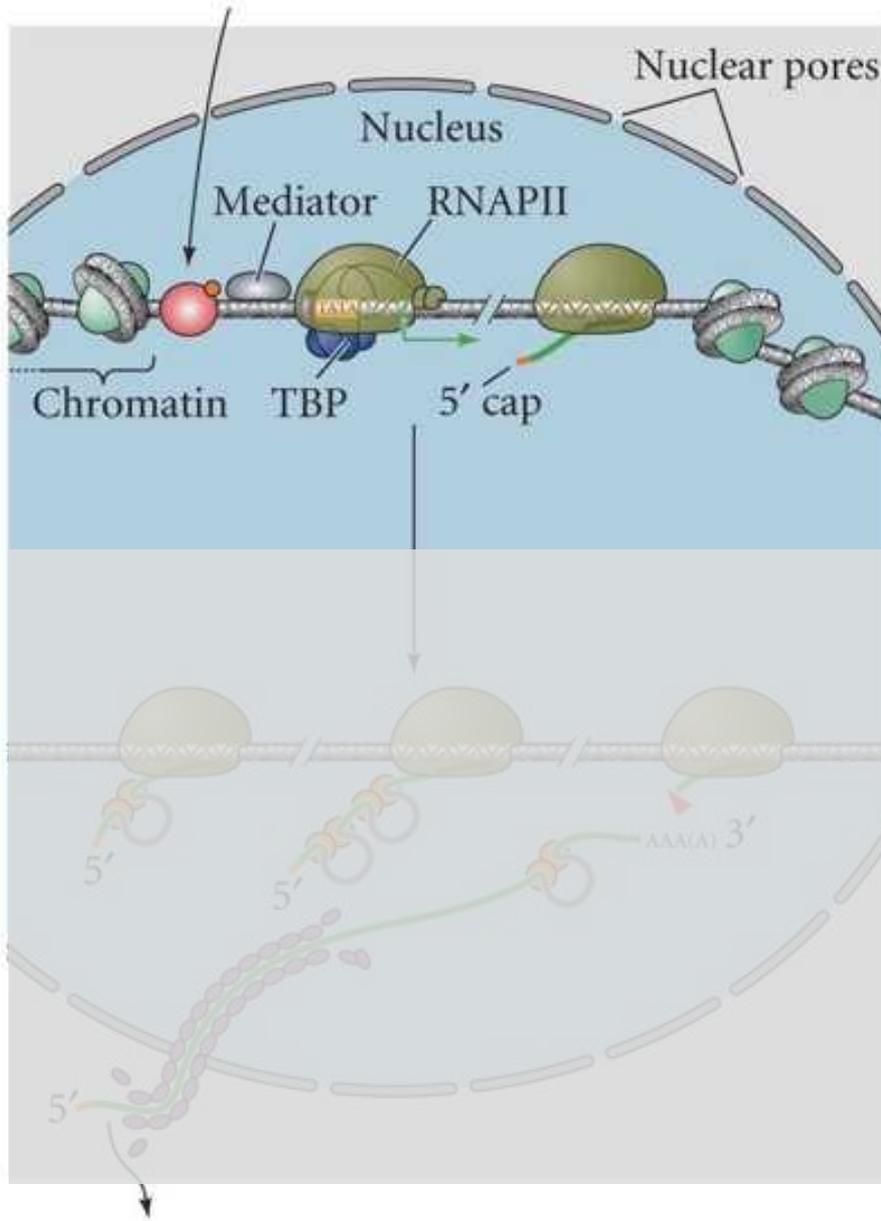
Regulação gênica: Cascatas de sinalização (Nível 1)

Exemplo Nível 1:

Nanismo pituitário (Síndrome de Laron ou GHRD)



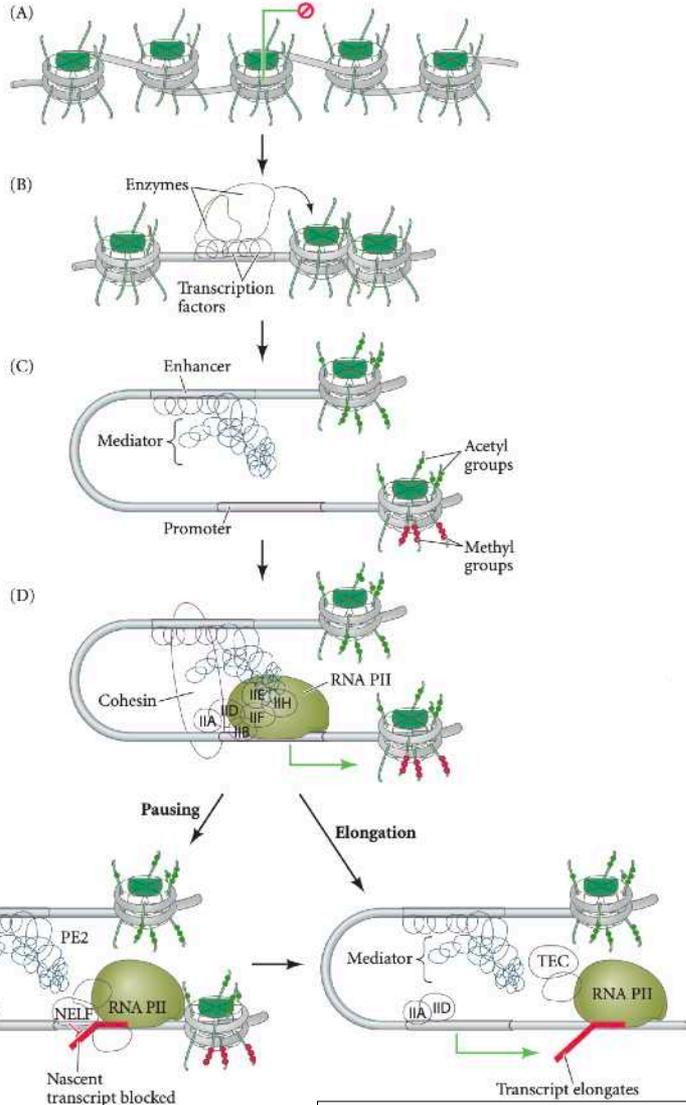
Regulação gênica: Cromatina (Nível 2)



No núcleo o DNA está empacotado num complexo DNA-proteínas. Para iniciar a transcrição gênica, o acesso à região dos enhancers e promotora deve estar livre para o complexo de pre-iniciação (RNA polimerase II + cofatores).

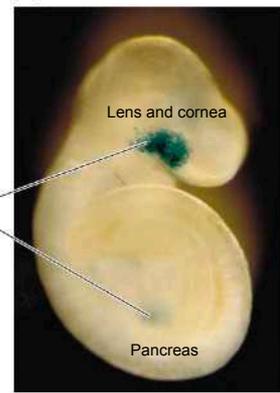
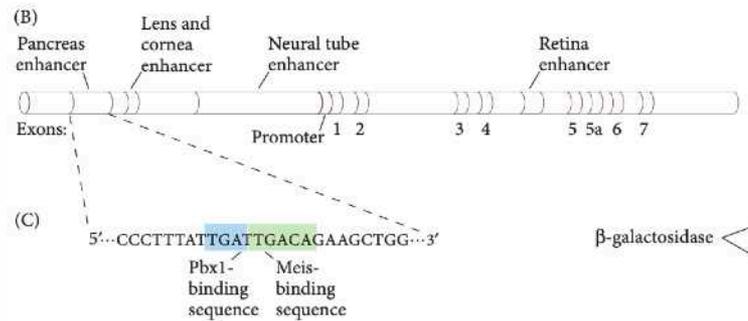
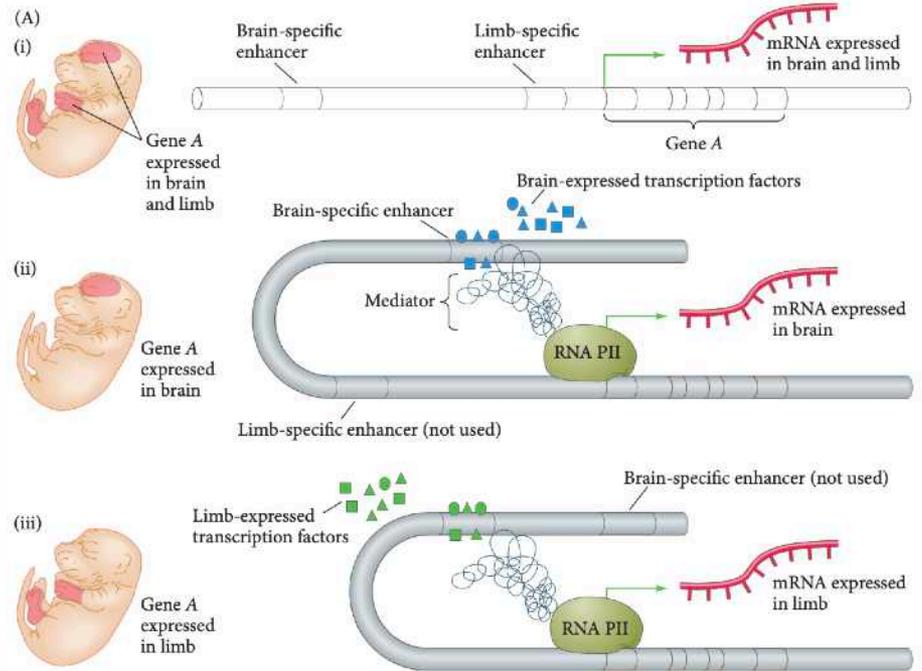
Regulação gênica: Cromatina (Nível 2)

A formação do complexo de pre-iniciação da transcrição:



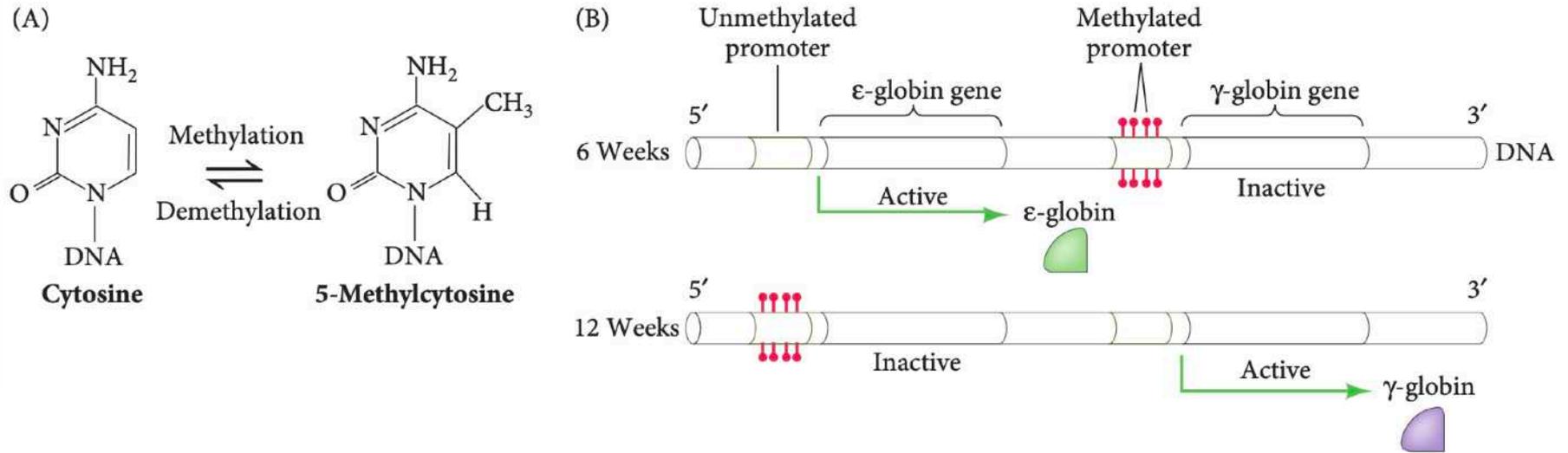
TEC=Transcription elongation complex

Expressão espacial de um gene pode ser modulada pelos enhancers:



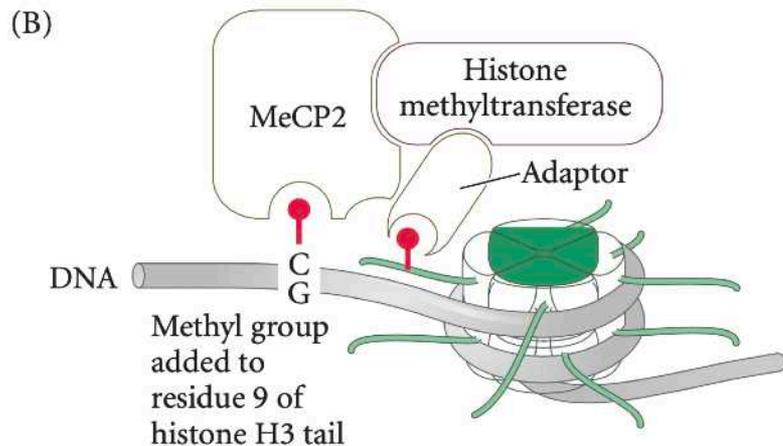
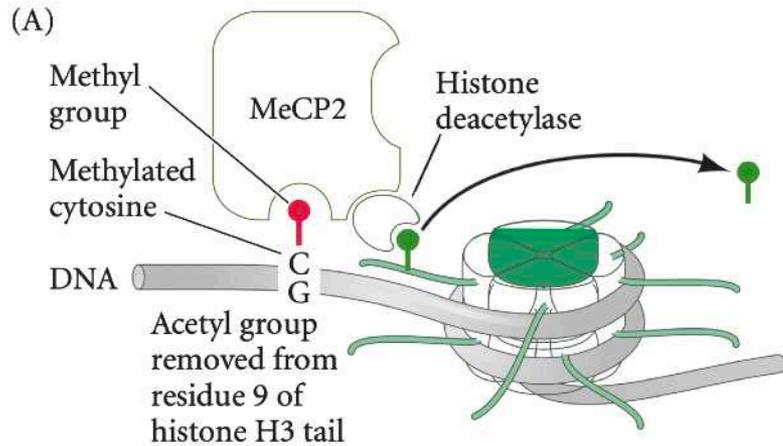
Regulação gênica: Cromatina (Nível 2)

Expressão temporal de genes pode ser modulada pelo **estado de metilação da citosina nos enhancers**:

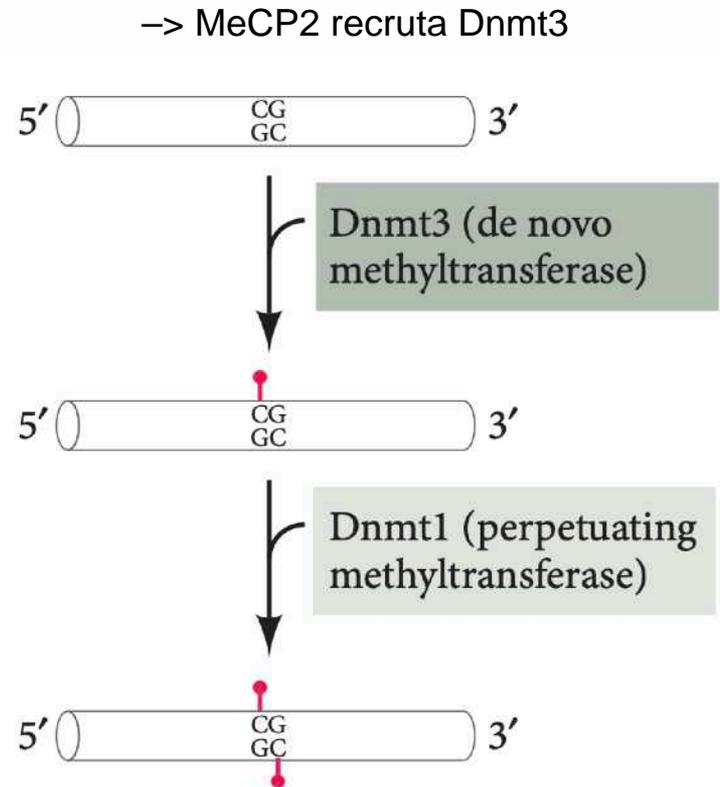


Regulação gênica: Cromatina (Nível 2)

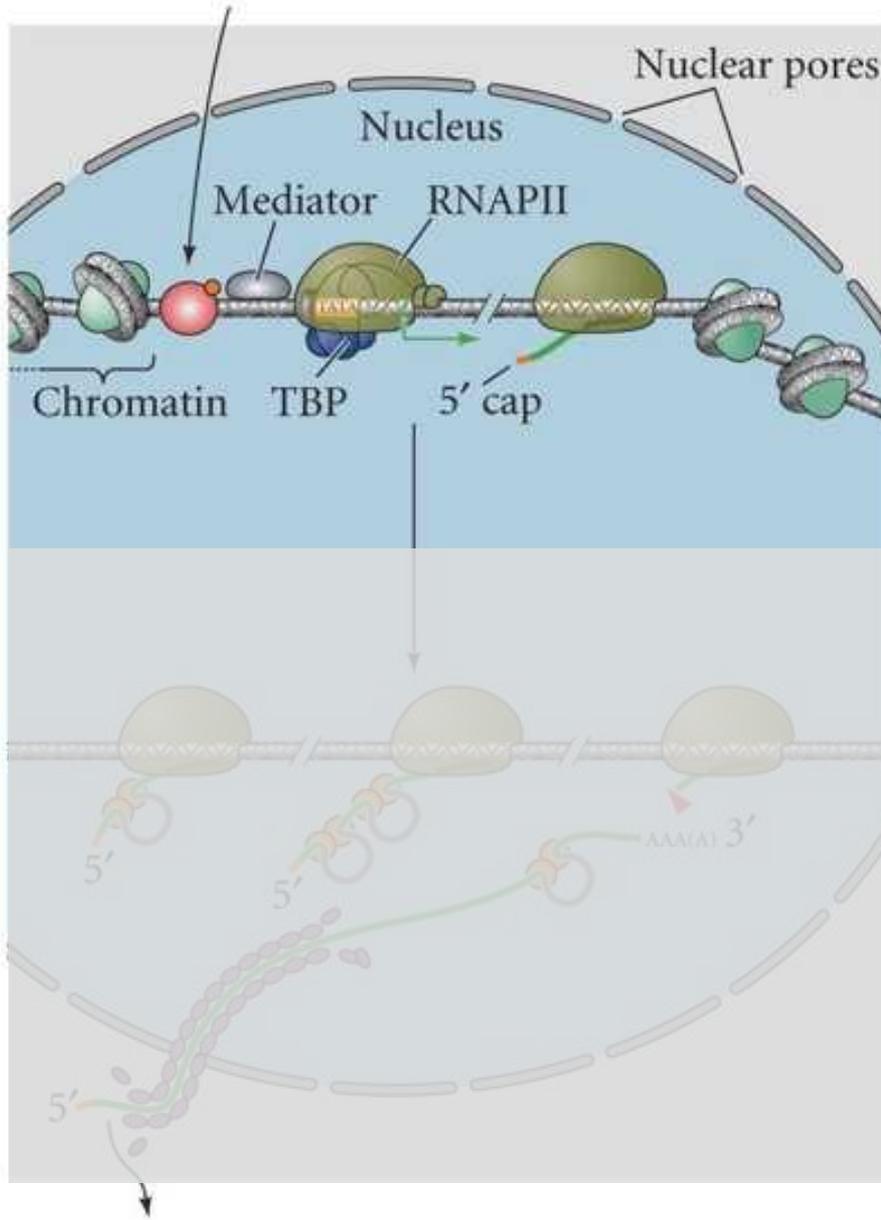
Metilação no DNA podem **reprimir** a transcrição mediante a metilação de histonas (H3):



Metilação no DNA pode promover uma modificação estável e hereditária do DNA (impressão genômica ou herança epigenética):



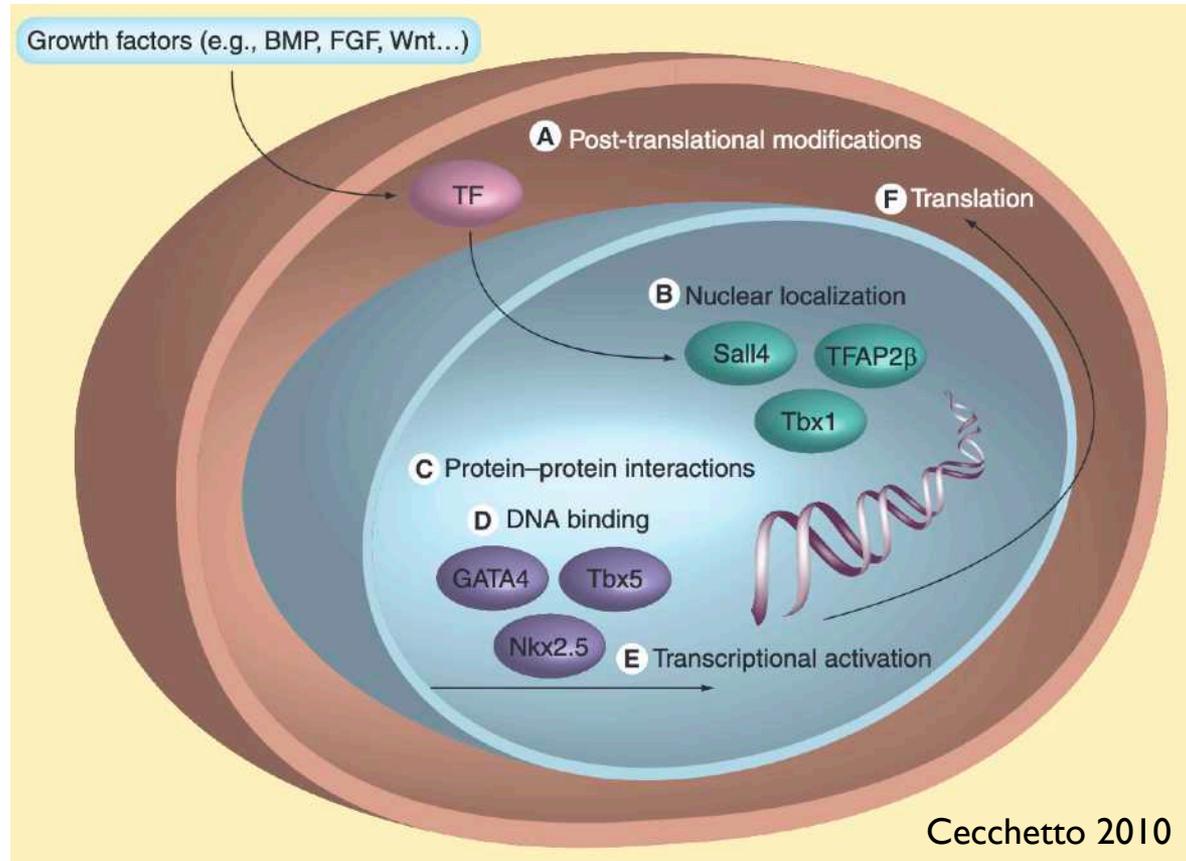
Regulação gênica: Fatores de transcrição (Nível 2)



Exemplo Nivel 2:

Fator de transcrição
Tin (Nkx2.5) no
desenvolvimento
coração.

Fatores de transcrição (nível 2): Tin (Nkx2.5)

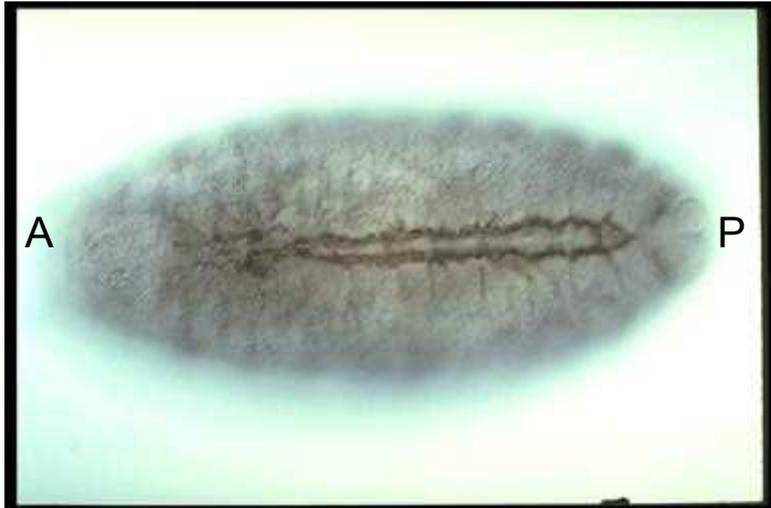


Várias rotas de sinalização ativam o fator de transcrição Nkx2.5 que junto com outros fatores ativam o desenvolvimento de varias outros rotas envolvidas no desenvolvimento do coração.

Fatores de transcrição (nível 2): Tin (Nkx2.5)

○ mutante Tinman (*tin*):

○ coração de *Drosophila*:



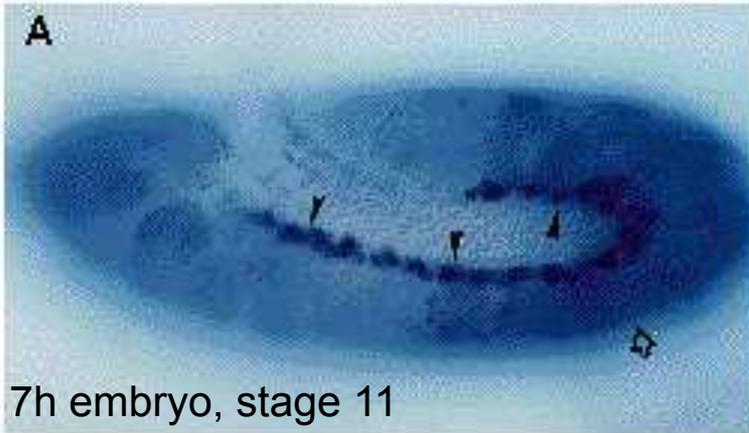
Vista dorsal



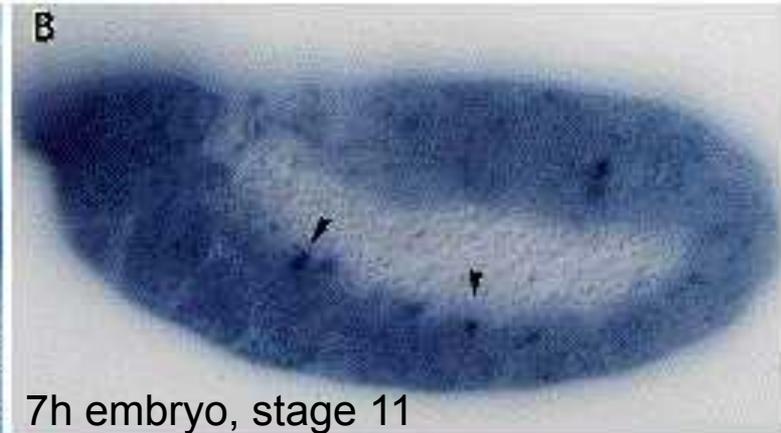
Fatores de transcrição (nível 2): Tin

Mutante tinman (tin) de *Drosophila melanogaster*

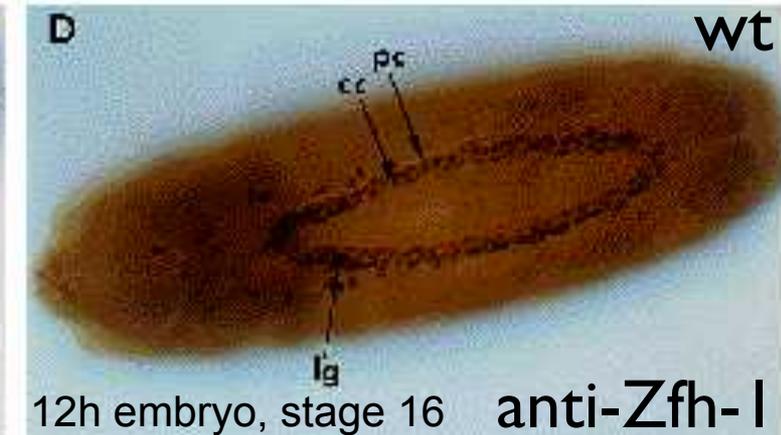
wt



*tin*EC40 (mutante)



wt



wt

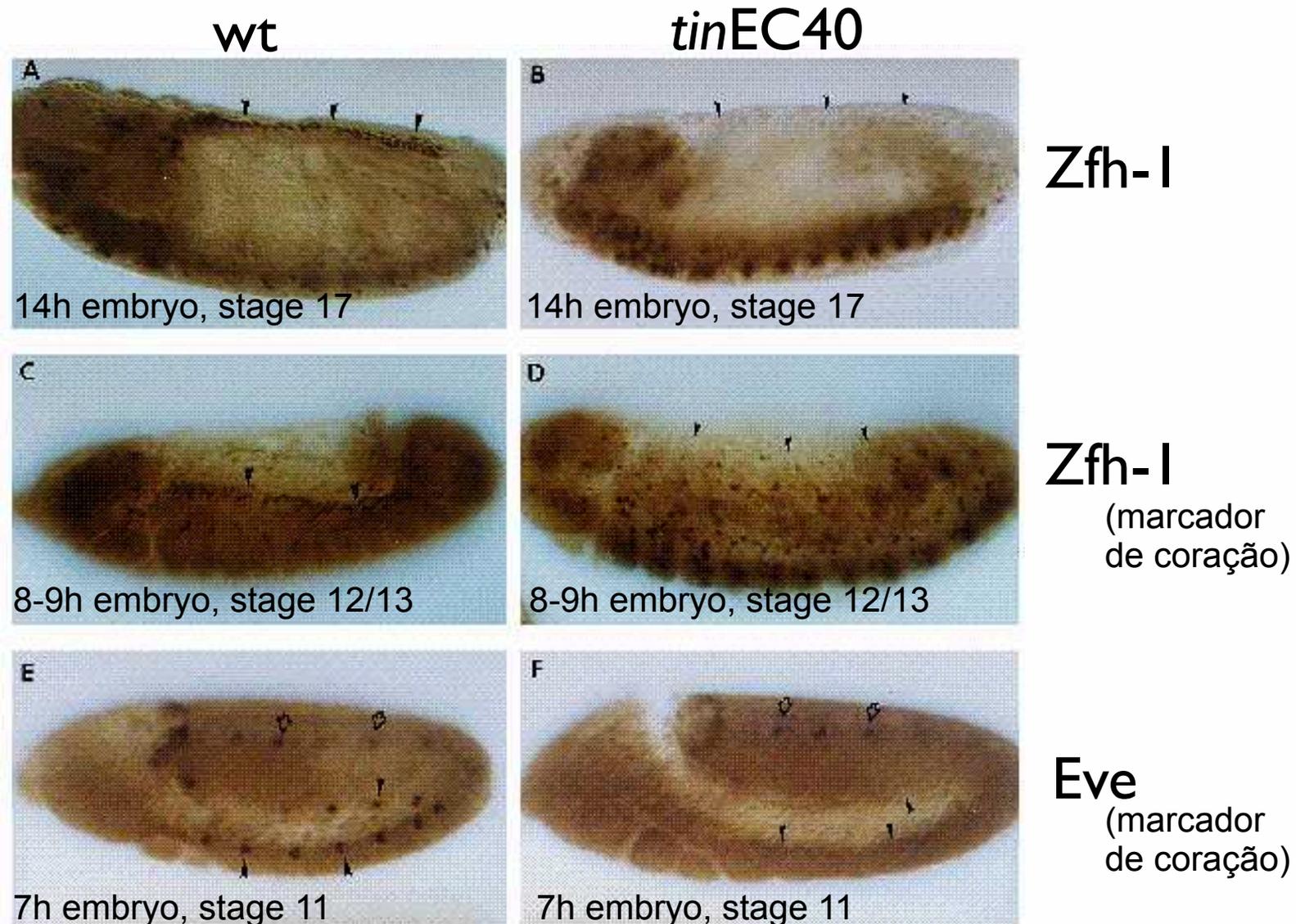
anti-Zfh-1

Bodmer 1993

(marcador
de coração)

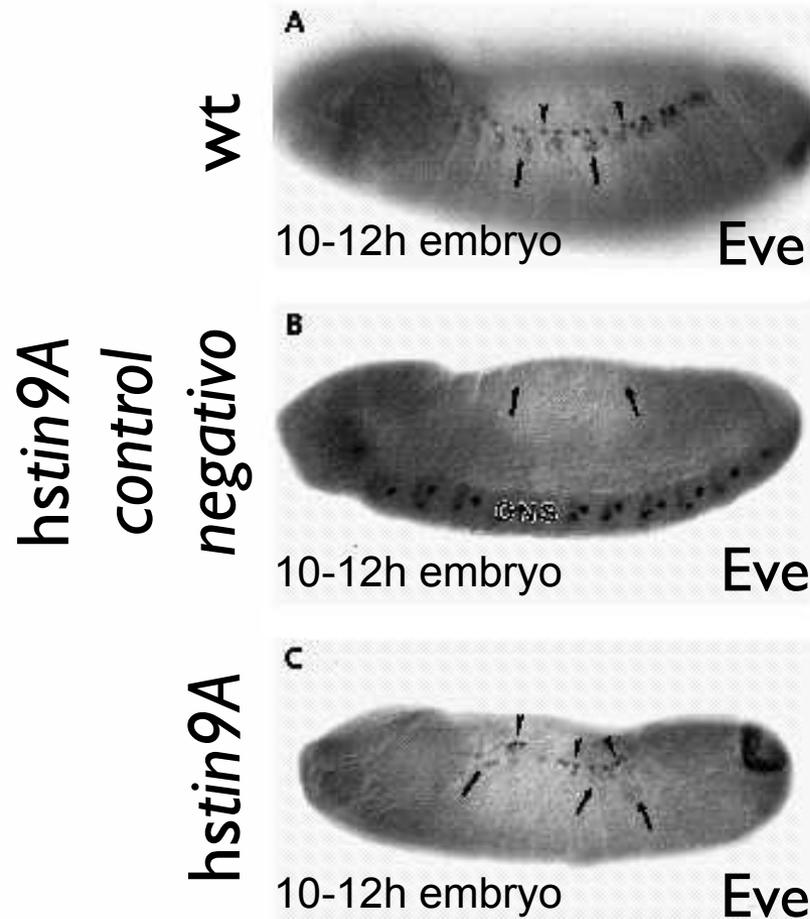
Fatores de transcrição (nível 2): Tin

Caracterizando mutante *tin* com marcadores de coração



Fatores de transcrição (nível 2): Tin (Nkx2.5)

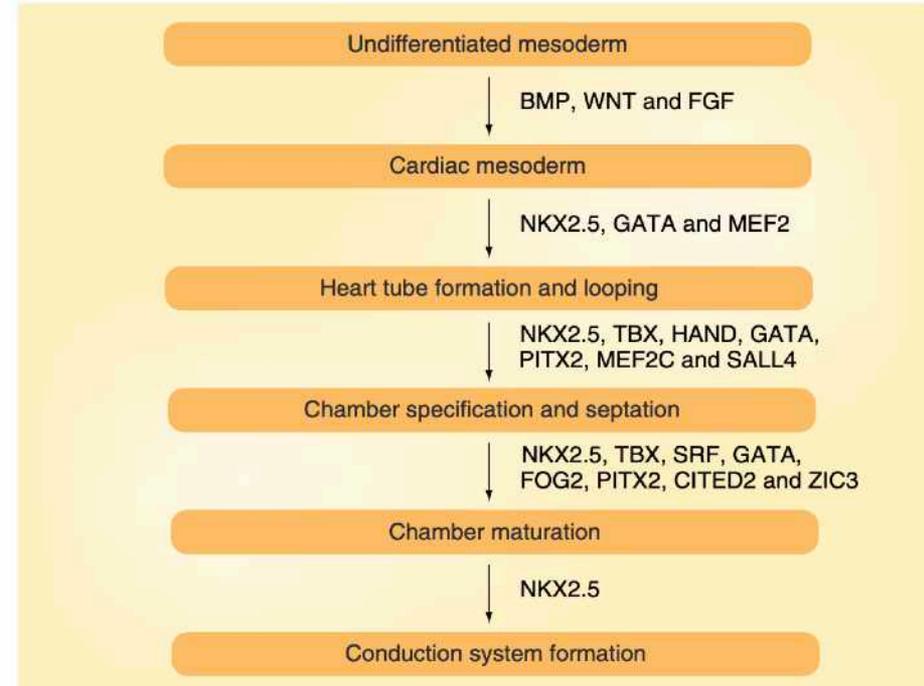
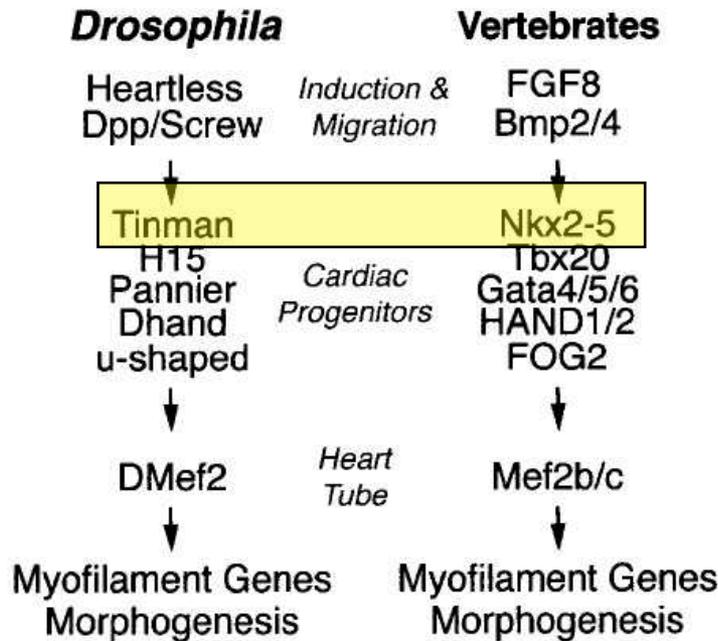
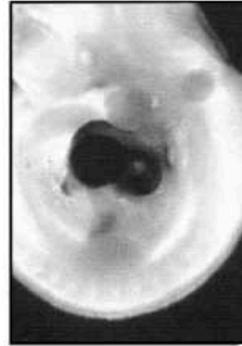
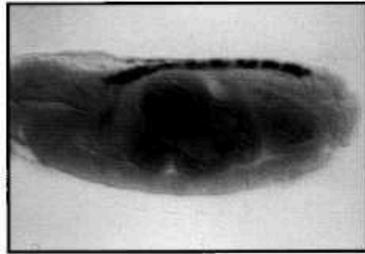
Rescate do mutante *tin*



Bodmer 1993

Fatores de transcrição (nível 2): Tin (Nkx2.5)

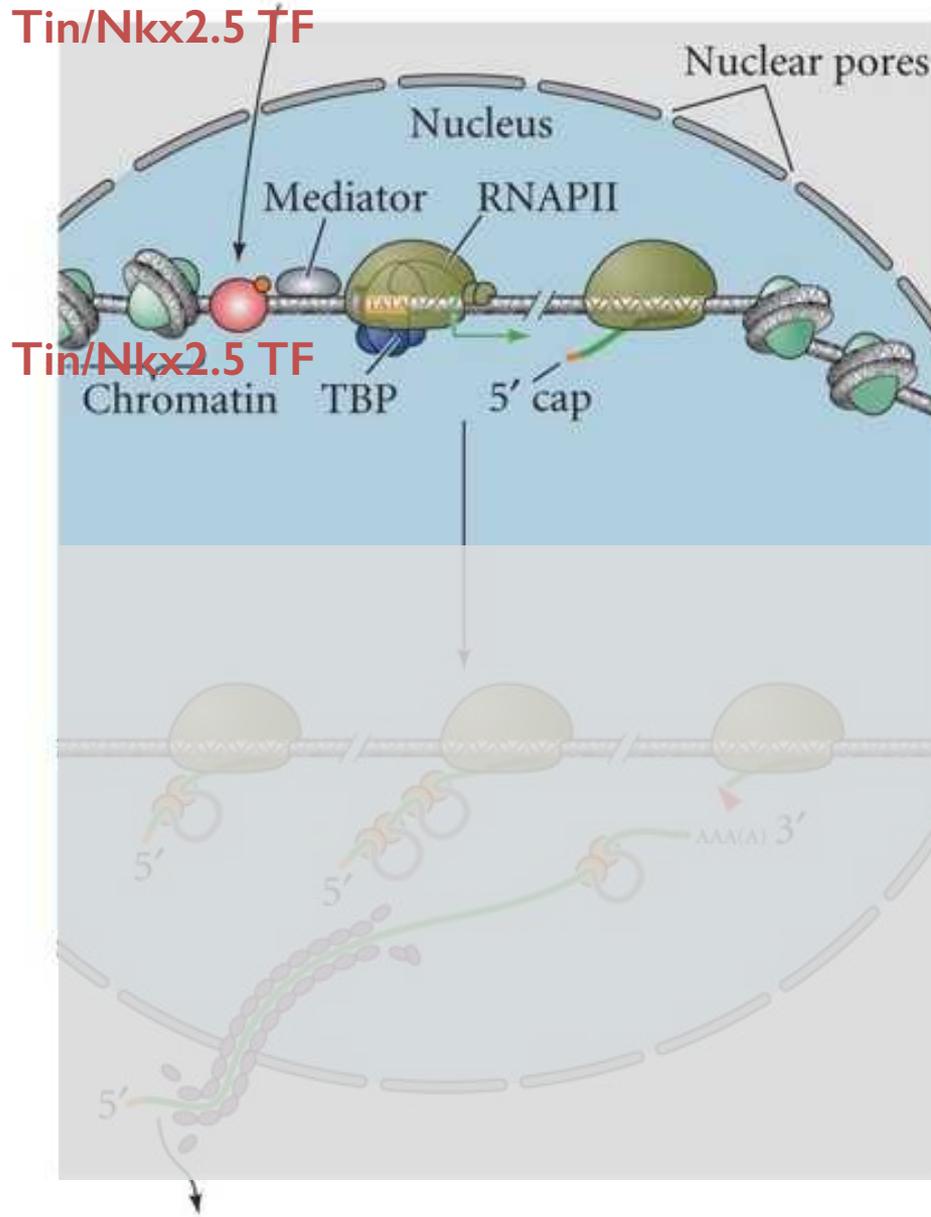
Genes conservados na ruta regulatória de tinman entre a mosca e o camondongo/humanos.



Cecchetto 2010

Nkx2.5 é um dos fatores de transcrição que se expressa mais cedo no desenvolvimento cardíaco e é importante em vários processos do desenvolvimento do coração.

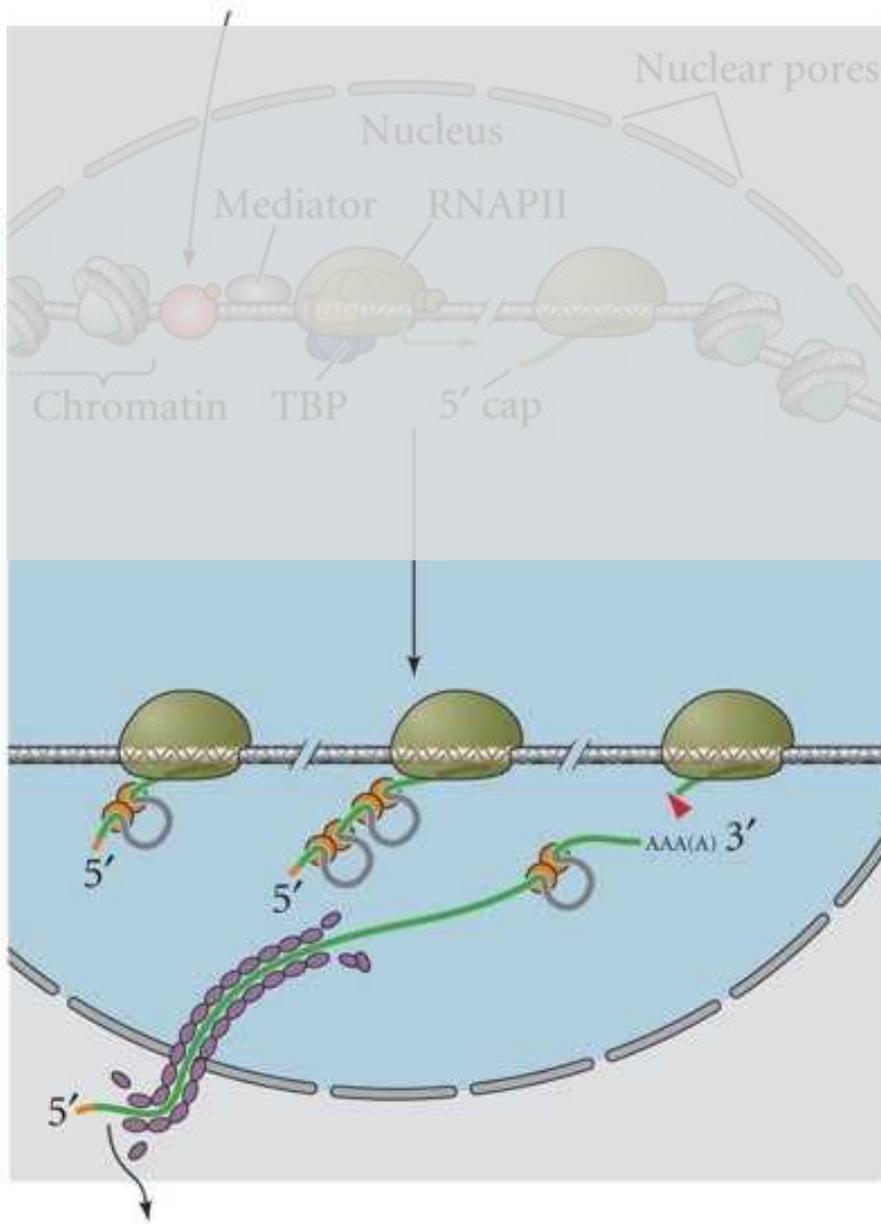
Regulação gênica: Fatores de transcrição (Nível 2)



Exemplo Nível 2:

Fator de transcrição
Tin (Nkx2.5) no
desenvolvimento
coração.

Regulação gênica: Splicing alternativo (Nível 2)

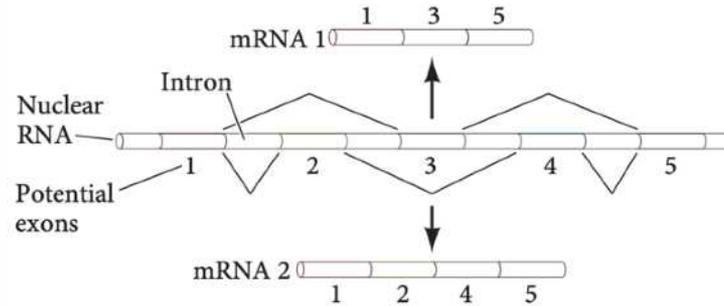


Exemplos Nivel 2:

- Gene Dscam no desenvolvimento neural da mosca/ síndrome de Down
- Hipertrofia muscular em camundongo

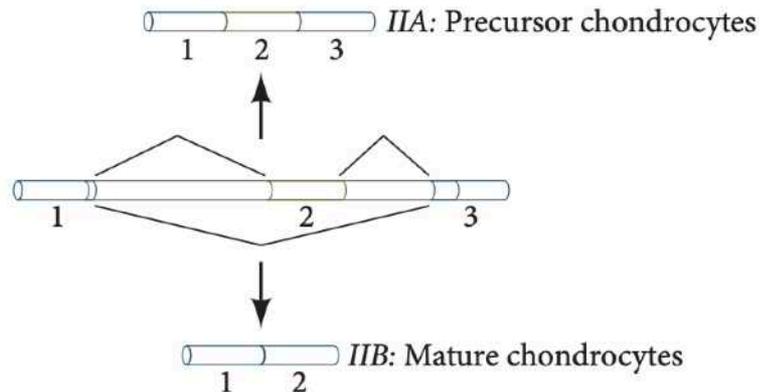
Regulação génica: Splicing alternativo (Nível 2)

O splicing alternativo pode formar distintos mRNAs:

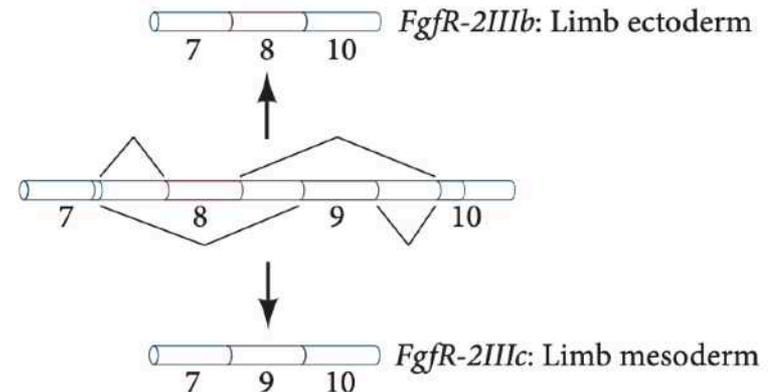


O splicing alternativo pode formar distintos mRNAs no desenvolvimento:

(A) Cassette exon: Type II procollagen



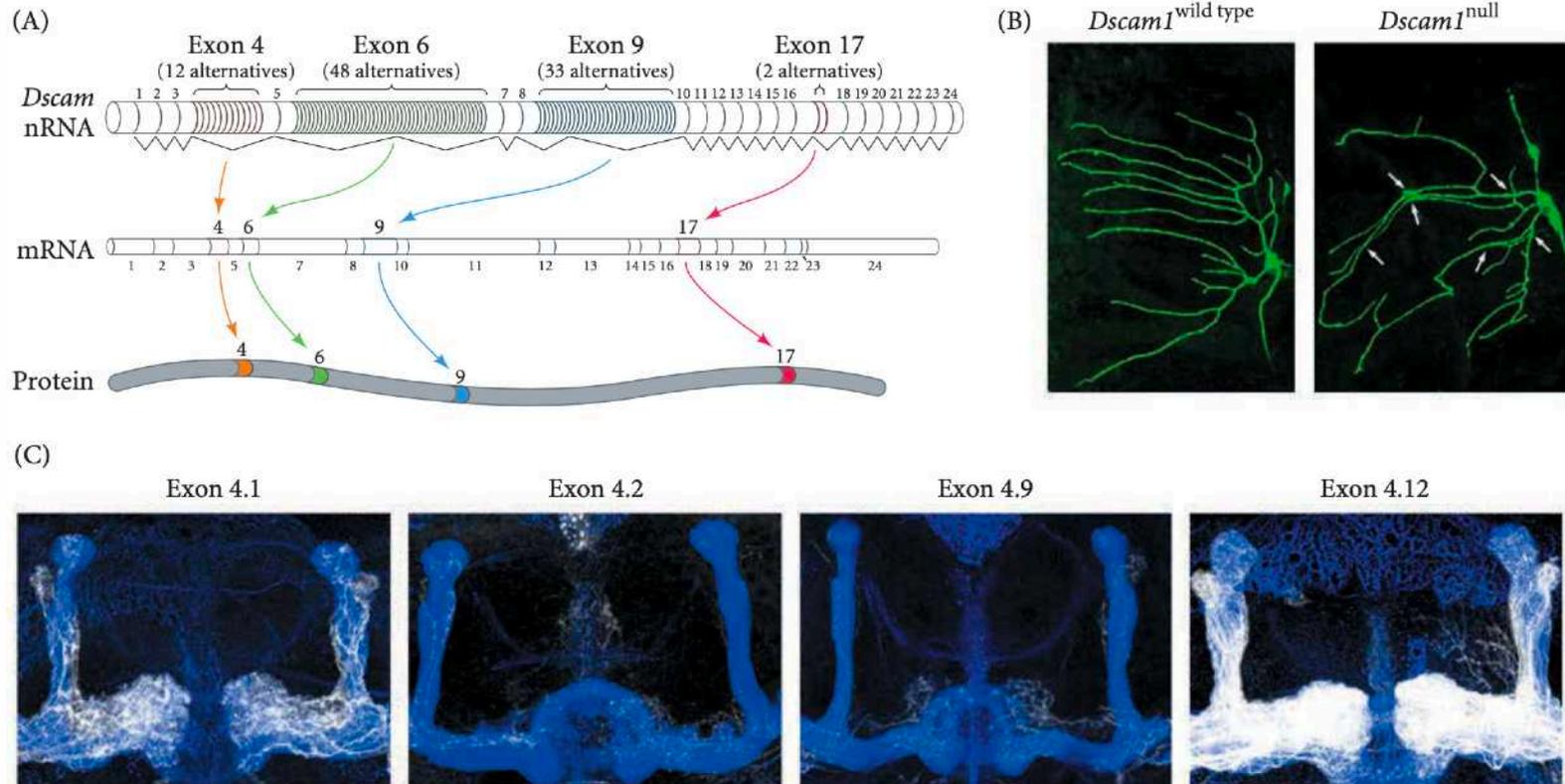
(B) Mutually exclusive exons: FgfR2



Splicing alternativo (nivel 2): Dscam na mosca

O gene *Dscam* de *Drosophila* pode produzir 38.016 tipos diferentes de proteínas por splicing alternativo de nRNA.

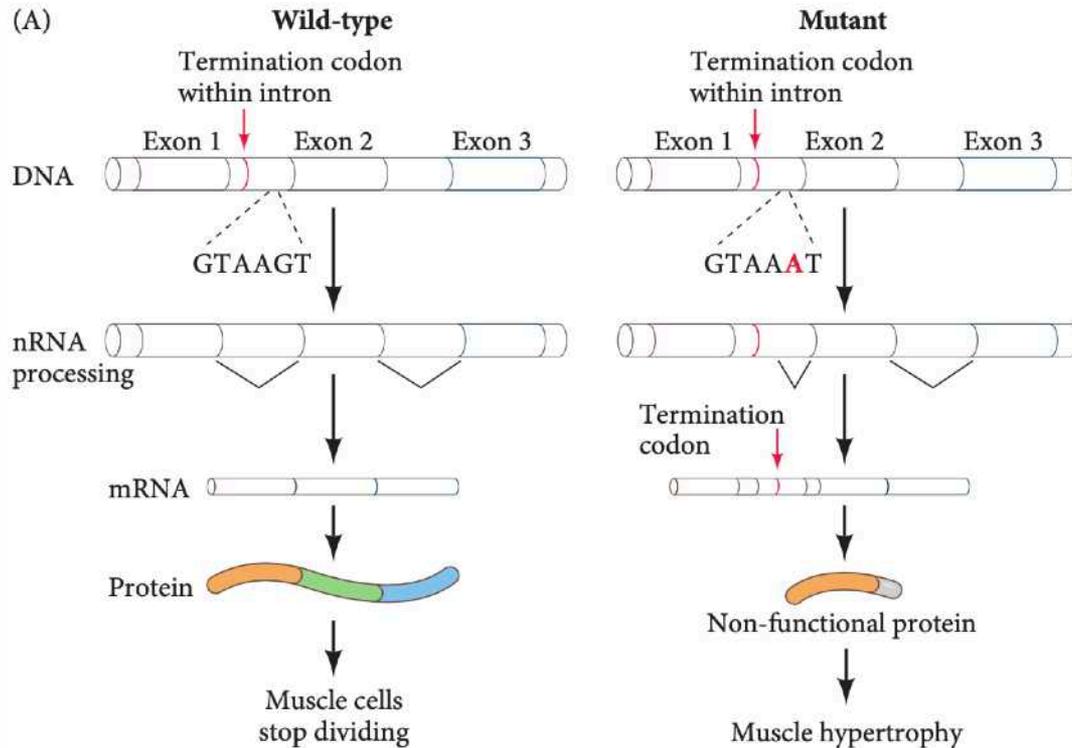
O gene *Dscam* ajuda evitar o cruzamento e crescimento fasciculado de dendritos durante o desenvolvimento neural.



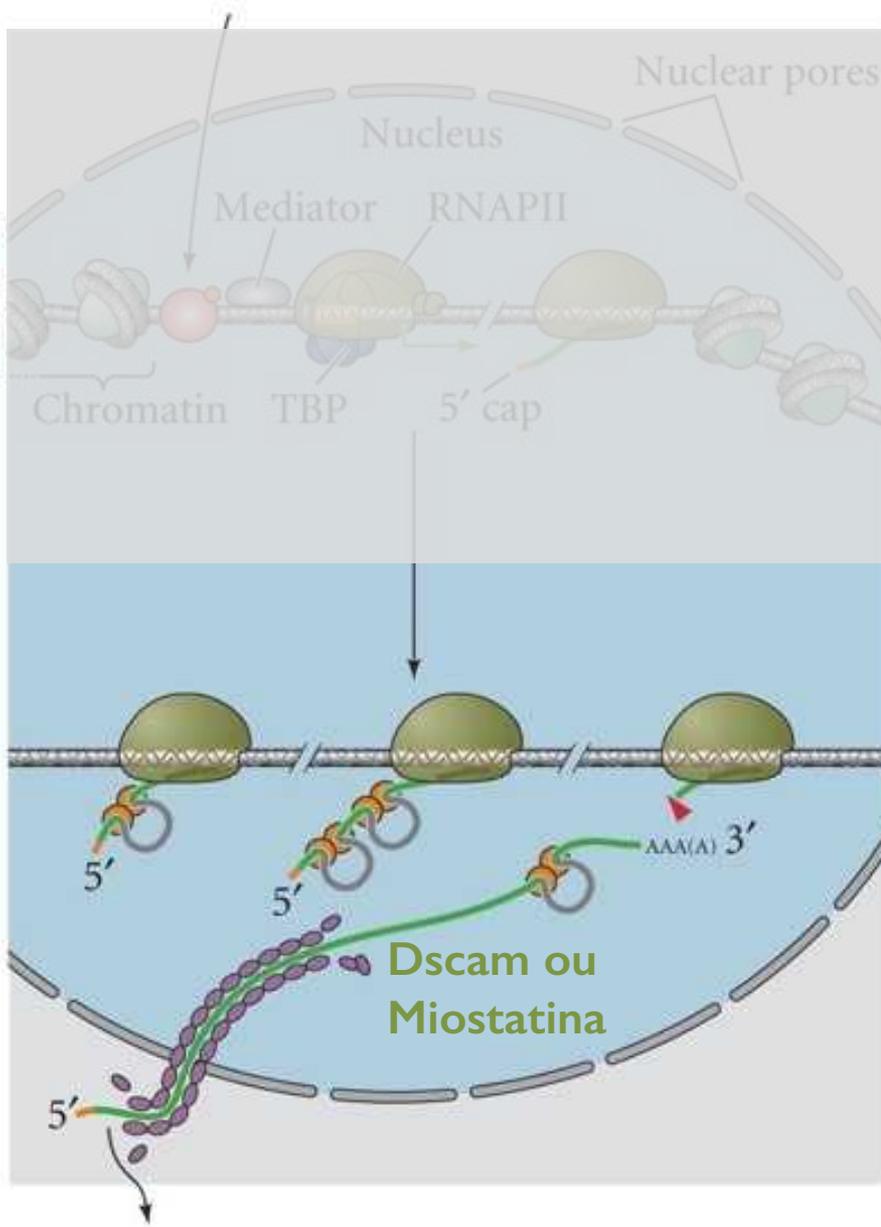
Isoformas ‘emendadas’ alternativamente (alternatively spliced isoforms) geram distintos padrões de desenvolvimento de células neurais na corpora pedunculata ou “mushroom body” da mosca *Drosophila melanogaster*.

Splicing alternativo (nivel 2): Hipertrofia muscular

Uma mutação de G para um A no primeiro intron da miostatina cria um novo 'site' de splicing, que causa um splicing incompleto do nRNA com a inclusão de um códon de terminação gerando uma proteína truncada.



Regulação gênica: Splicing alternativo (Nível 2)



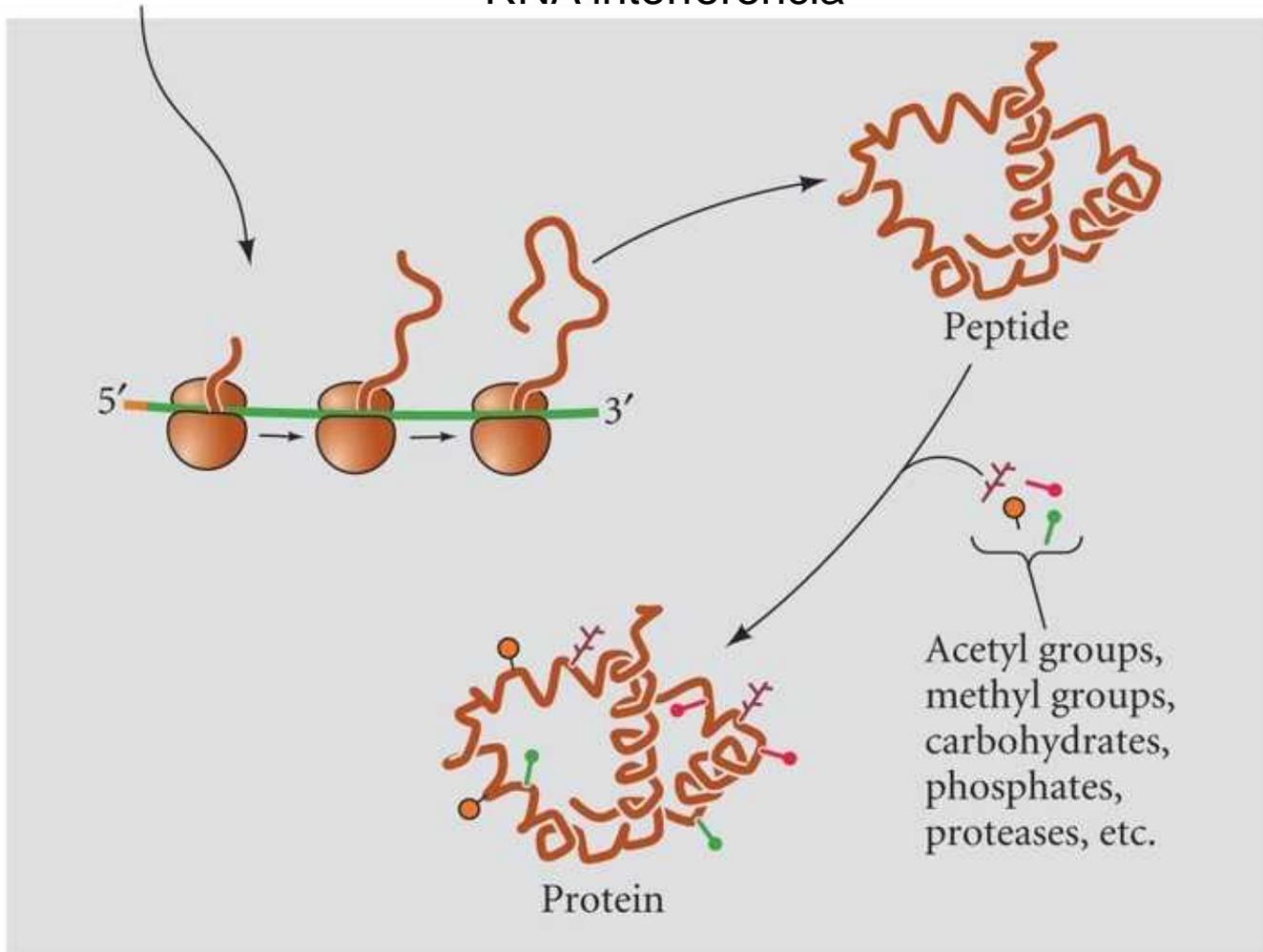
Exemplos Nivel 2:

- Gene Dscam no desenvolvimento neural da mosca
- Hipertrofia muscular em camundongo

Regulação gênica: Modificações pós-transcricionais (Nível 3)

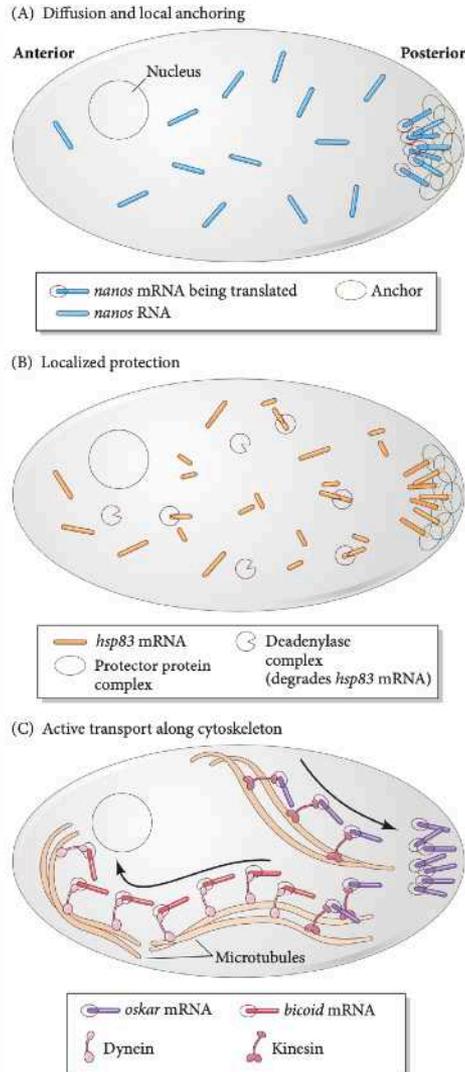
Exemplos Nível 3:

- Sublocalização celular de mRNAs/proteínas
- Tradução diferenciada por variação ribossomal
- RNA interferência

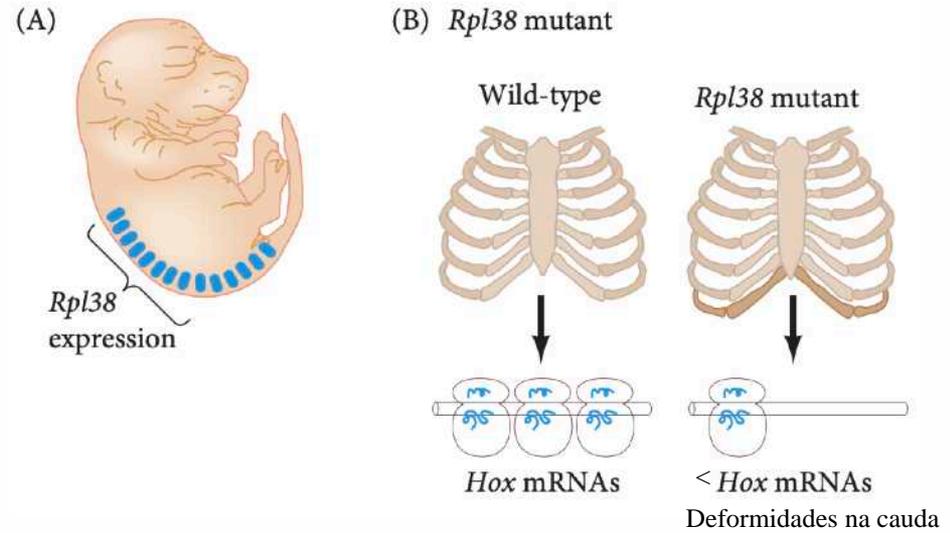


Regulação gênica: Modificações pós-transcricionais (Nível 3)

Sublocalização intracelular de mRNAs no ovo da mosca *Drosophila melanogaster*.

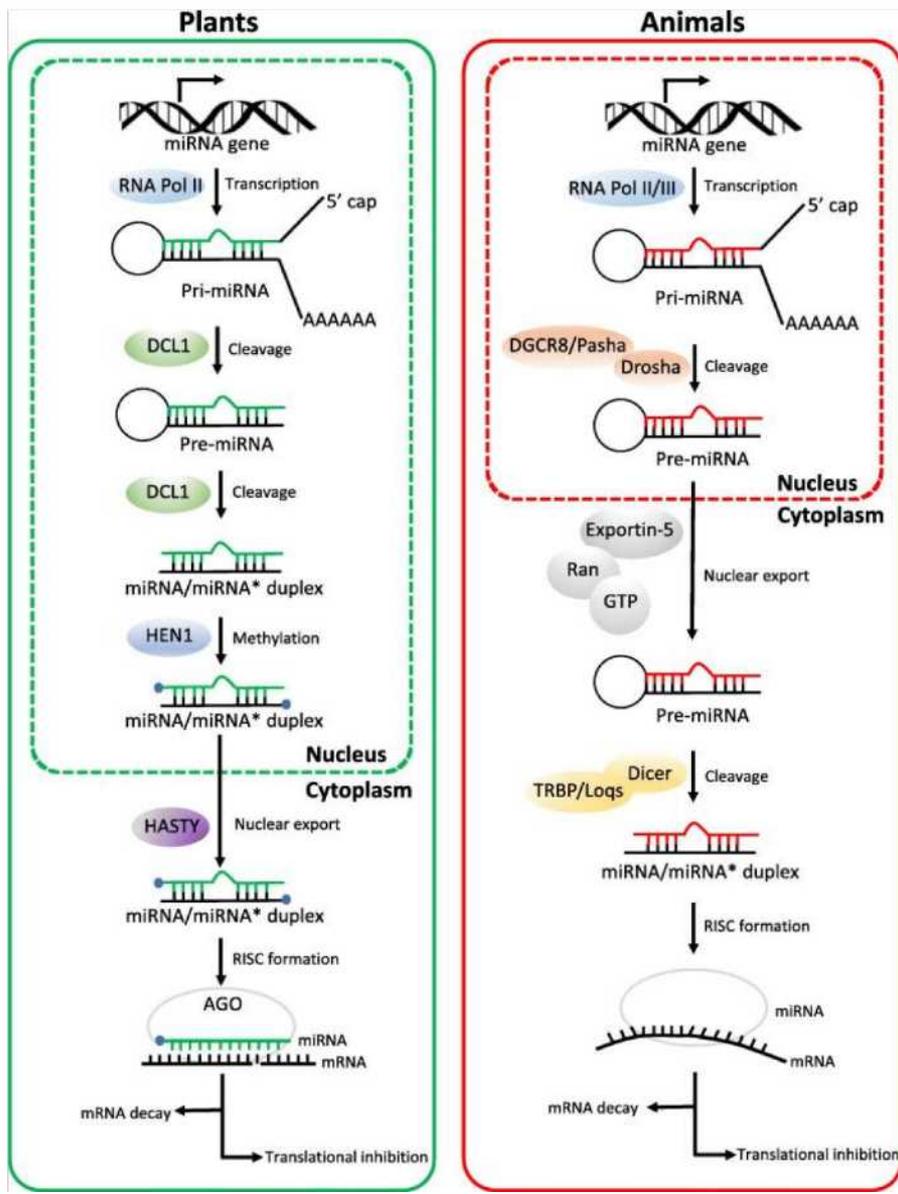


Tradução diferenciada por variação ribossomal:



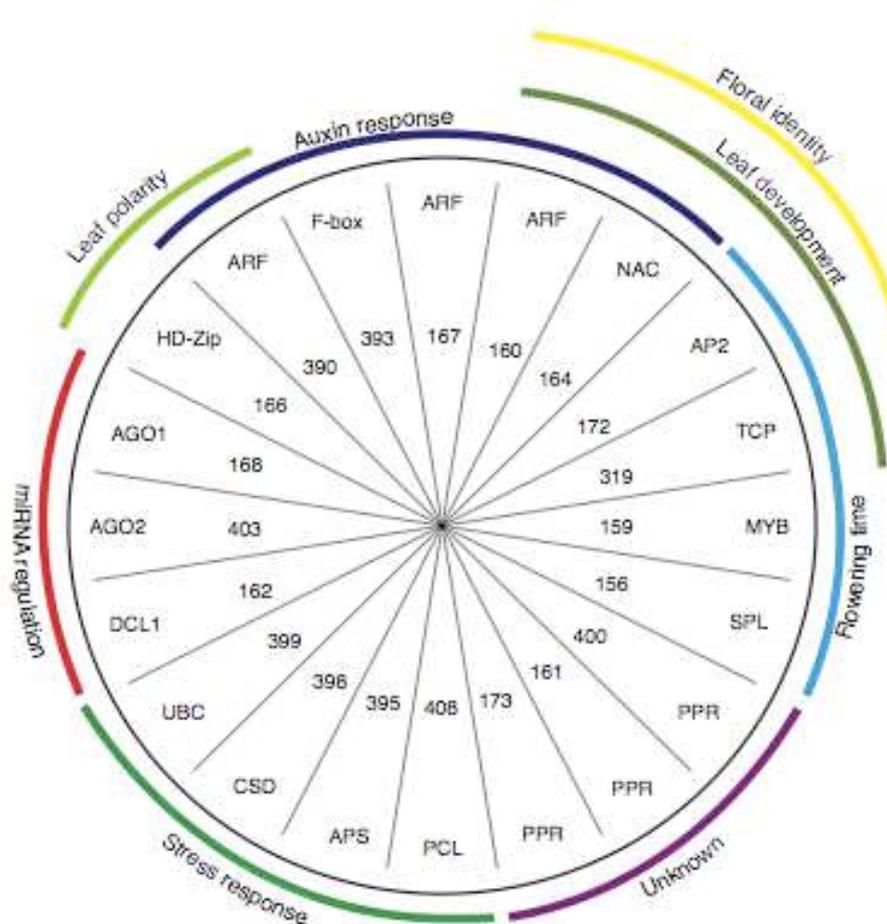
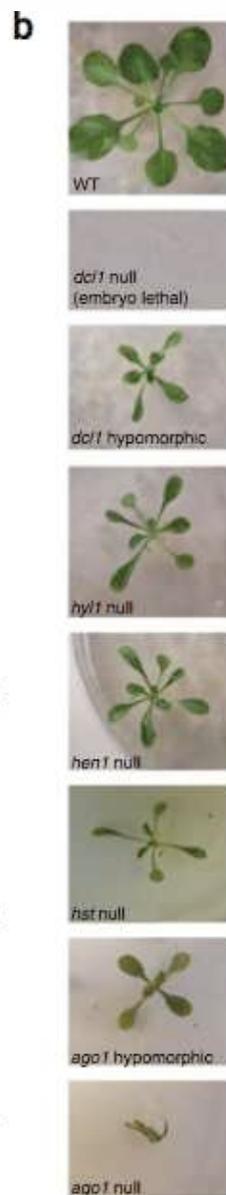
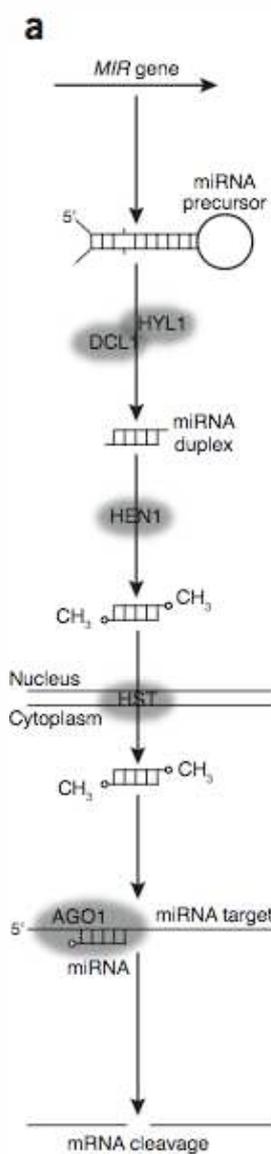
Regulação gênica: RNA interferencia (Nível 3)

Comparação da biogênese de miRNAs em plantas e animais



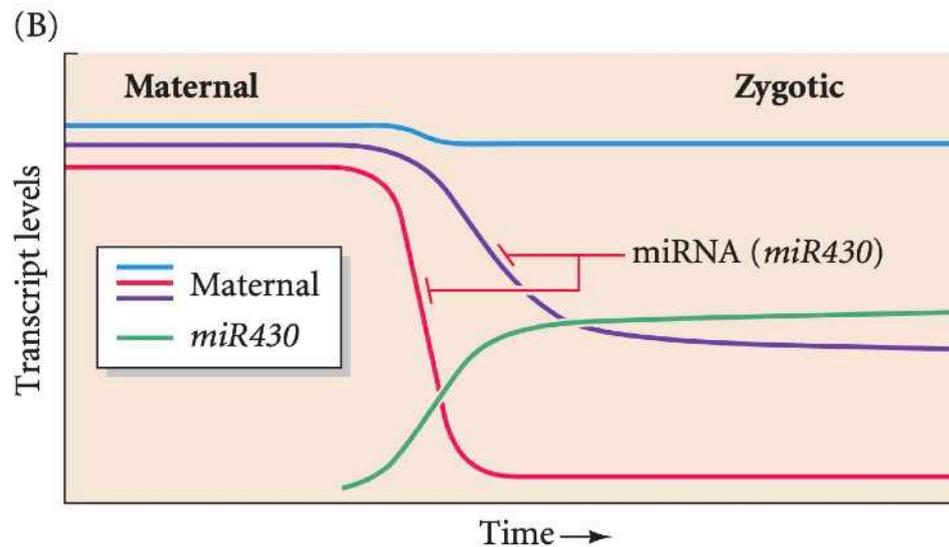
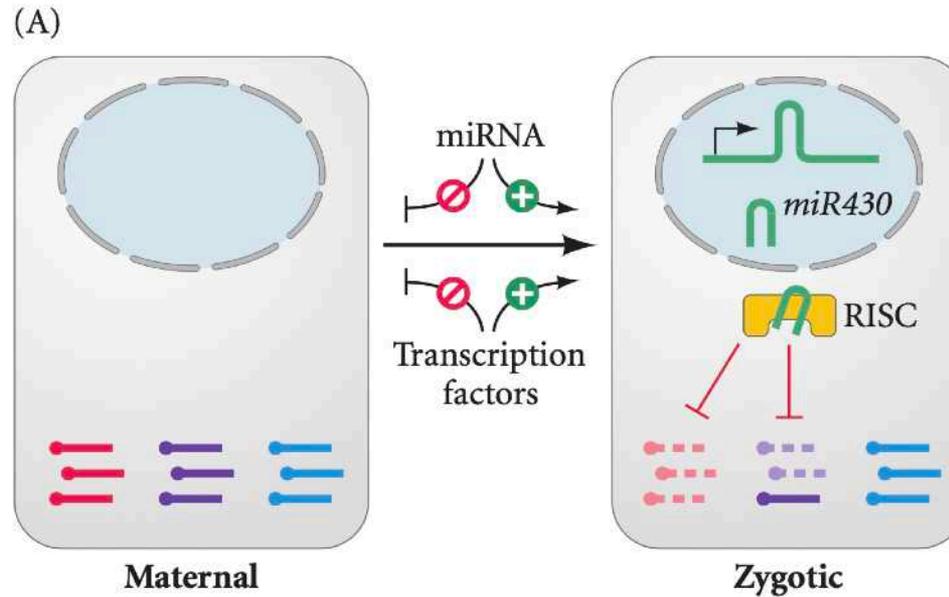
Regulação génica: RNA interferencia (Nível 3)

Disrupção do silenciamento por miRNAs em plantas



Regulação gênica: RNA interferencia (Nível 3)

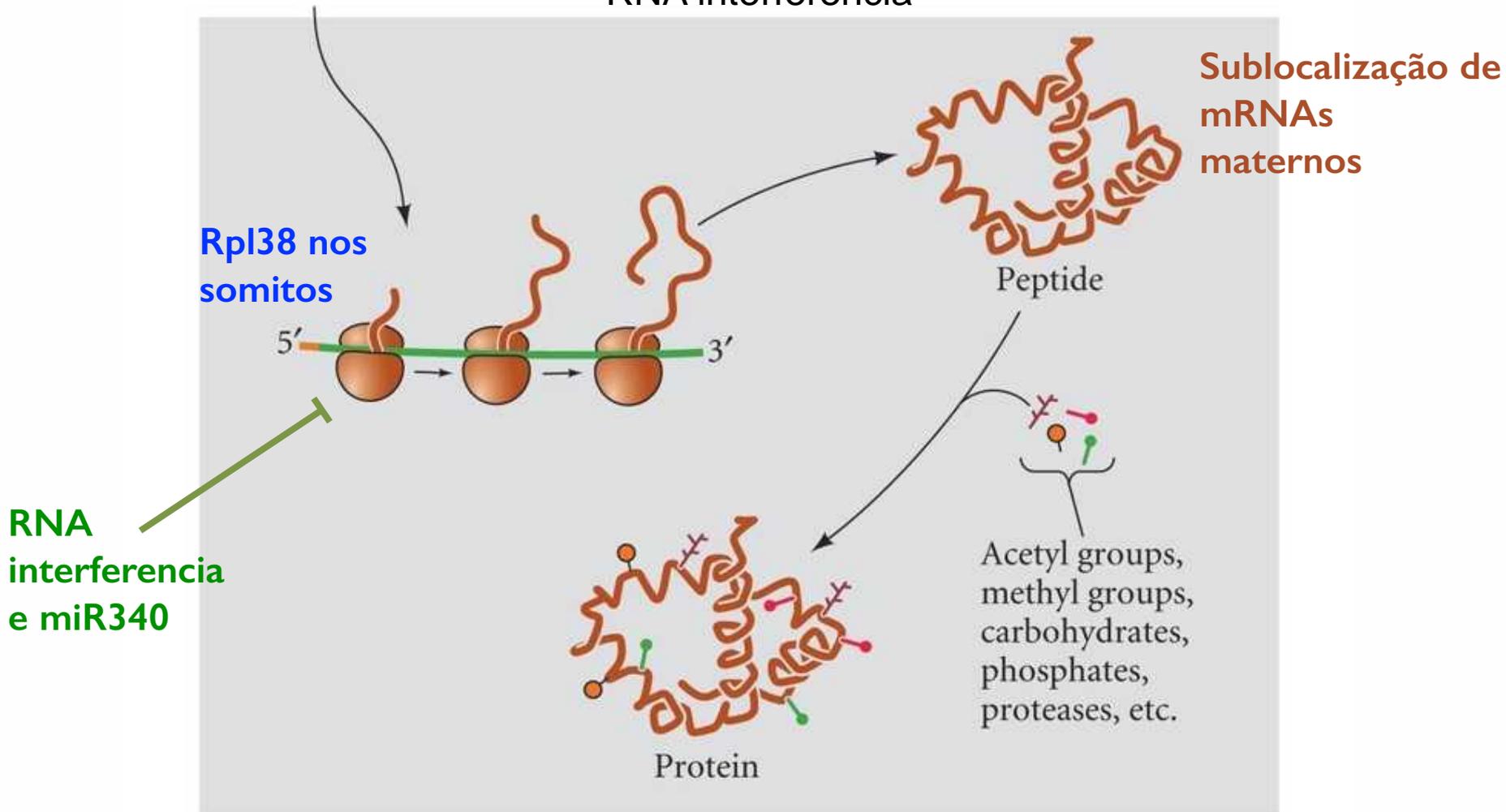
miR430 durante a transição materno-zigótica no peixe-zebra



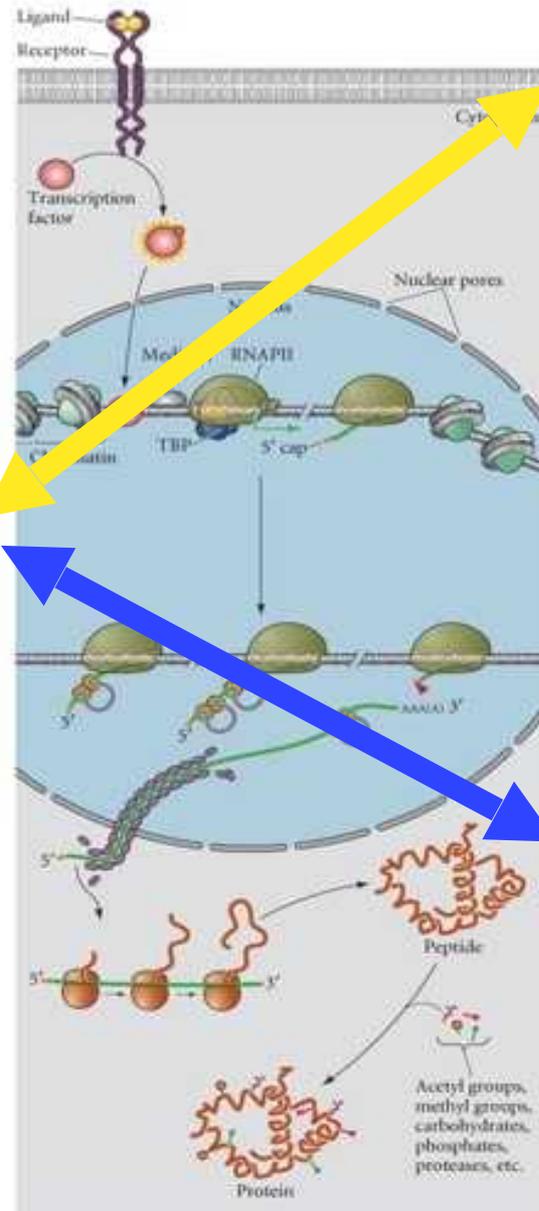
Regulação gênica: Modificações pós-transcricionais (Nível 3)

Exemplos Nível 3:

- Sublocalização celular de mRNAs/proteínas
- Tradução diferenciada por variação ribossomal
- RNA interferência



Regulação genica: expressão dos genes pode ser regulado em vários níveis



Nível 1:

Ambiente extracelular

→ Cascatas de sinalização

Nível 2:

- Cromatina - acesso aos genes
- Transcrição - fatores de transcrição
- Splicing alternativo

Nível 3:

- Sublocalização celular de mRNAs/ proteínas
- Tradução diferenciada por variação ribossomal
- RNA interference

Redes de regulação gênica

A regulação da linhagem endodérmica do ouriço

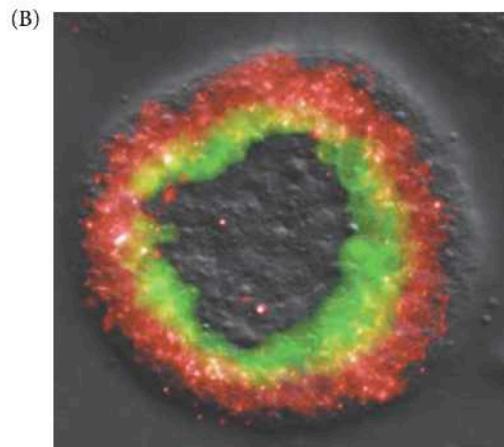
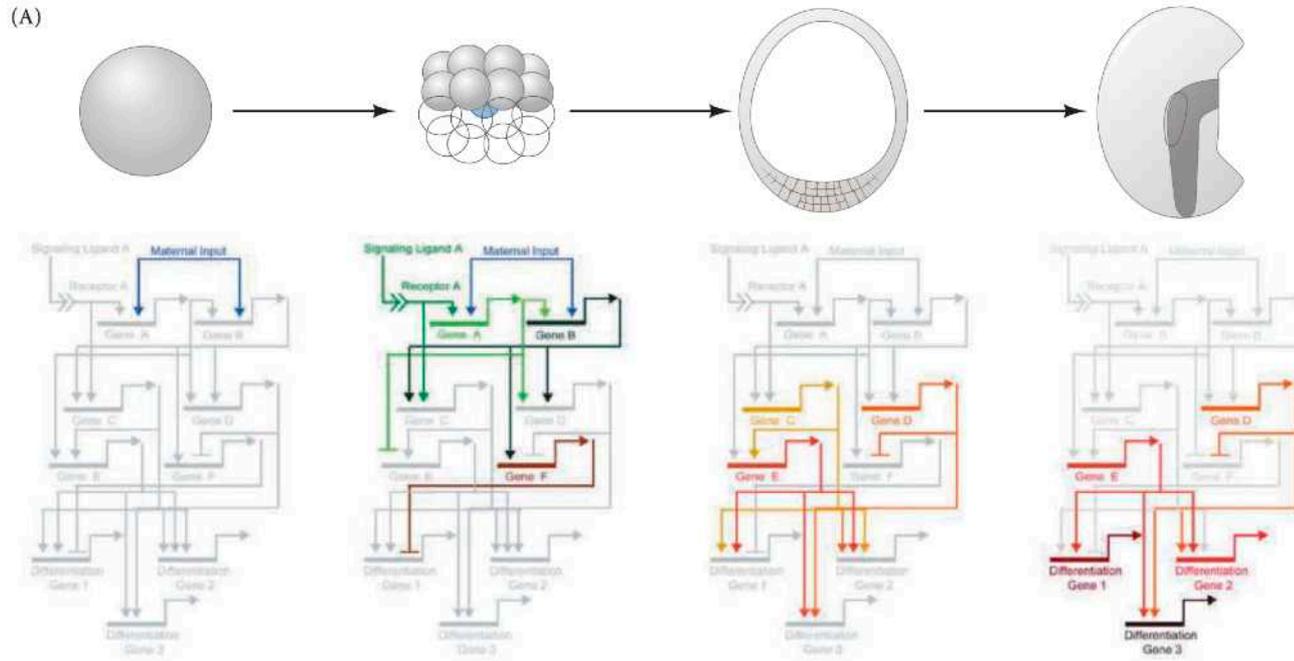


FIGURE 3.16 Gene regulatory networks of endodermal lineages in the sea urchin embryo. (A) Schematics of the sea urchin embryo across four developmental stages showing the progressive specification of endodermal cell fates (top) and the corresponding gene regulatory model of this specification from maternal contributions and signals to master regulatory transcription factors leading to the final differentiation genes (bottom). (B) Double fluorescent in situ hybridization at 24 hours post fertilization showing the restricted expression of *hox11/13b* only in veg1-derived cells (red), whereas *foxa* expression is in the veg2-derived cells (green). (A after Hinman and Cheate Jarvela 2014; B from Peter and Davidson 2011.)