

Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
125° (2007), Vol. XXXI, P. II, t. I, pp. 7-17

GIOVANNI GIUDICE *

L'uovo e l'embrione del riccio di mare **

L'uovo e l'embrione di riccio di mare hanno rappresentato nel passato e continuano oggi a rappresentare un modello fondamentale per la soluzione di una serie di problemi di biologia dello sviluppo.

Il primo è quello della fecondazione. Va ricordato infatti che la fecondazione fu descritta nel riccio di mare *Toxopneustes lividus* da Oskar Hertwig già nel 1875, che descrive per primo la formazione dell'aster e conclude che la fecondazione consiste nell'unione di due cellule sessualmente differenti (fig. 1).



Fig. 1. Uovo di riccio vergine e fecondato.

Ancora sul riccio di mare Edmund B. Wilson nel 1906 (fig. 2) scrive che la fecondazione ... consiste di due fenomeni distinti: primo l'introduzione nell'uovo di caratteristiche ereditarie paterne contenute, in maniera non ancora nota, nella sostanza del nucleo dello spermio o nei cromosomi nei quali esso si risolve;

* Socio dell'Accademia. Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo, Università di Palermo, Viale delle Scienze, 90128 Palermo. E-mail: giudice@unipa.it

** Prolusione tenuta in occasione dell'inaugurazione del 225° anno accademico. Roma, 22 maggio 2007, Biblioteca dell'Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL, Scuderie Vecchie di Villa Torlonia.



Fig. 2. Edmund Wilson.

che preoccupazione, perché qualcuno persino consigliò alle signore di evitare i bagni di mare per paura della partenogenesi.

Lo studio degli ibridi di riccio di mare condusse Theodor Boveri (fig. 3) nel 1889 a concludere che i cromosomi sono responsabili della trasmissione genetica dei caratteri, avendo osservato che la mancanza di alcuni caratteri in ibridi merogoni nei quali mancano alcuni cromosomi.

Una serie di fenomeni legati allo sviluppo del riccio di mare sono stati spiegati intorno al 1920 da una serie di esperimenti di Sven Hörstadius, che, mediante micromanipolazione, dimostrò che l'uovo vergine ha una polarità, con un polo, detto animale, dal quale si svilupperanno alcune strutture ed uno opposto, detto vegetativo, dal quale si svilupperanno altre strutture. Da questi esperimenti di Hörstadius prese origine la teoria dei due gradienti del suo connazionale e contemporaneo J. Runnström.

Pur non essendo un materiale elettivo per gli studi di genetica, come invece è la *Drosophila*, il riccio di mare ha rappresentato e rappresenta a tuttoggi un modello molto importante per gli studi di biologia molecolare applicata allo sviluppo. Questa parte della storia ha inizio con i lavori di Alberto Monroy, che dimostrò intorno al 1950, in collaborazione con Eizo Nakamo, che la sintesi

secondo nell'introduzione nell'uovo di un centrosoma, che dà origine ai meccanismi per mezzo dei quali l'uovo si divide e la sostanza ereditaria viene distribuita tra le cellule risultanti.

Anche il concetto di centrosoma deriva pertanto dal riccio di mare. Per una descrizione attuale del fenomeno della fecondazione del riccio di mare si consigliano alcune riviste sintetiche tra le quali quella di E. Briggs e G.M. Wessel, pubblicata su *Devel. Biol.* Vol. 300, anno 2006, pp. 15-26.

Fu ancora Hertwig che nel 1895 descrisse sempre sul riccio di mare la partenogenesi, ottenibile ad esempio per trattamento con acqua di amrepertonica.

Cosa che suscitò nell'opinione pubblica notevole interesse ed anche qual-



Fig. 3. Theodor Boveri.

proteica poco attiva nell'uovo vergine del riccio, diviene molto attiva a seguito della fecondazione. Ottenne questa dimostrazione precaricando il pool di amminoacidi dell'uovo vergine con un amminoacido radioattivo, mediante sua iniezione nel riccio adulto ed osservando il trasferimento della radioattività alla frazione proteica dopo la fecondazione. Ecco come un disegnatore dell'epoca, cioè io, allora giovane collaboratore di Monroy, descrisse l'esperimento (fig. 4).

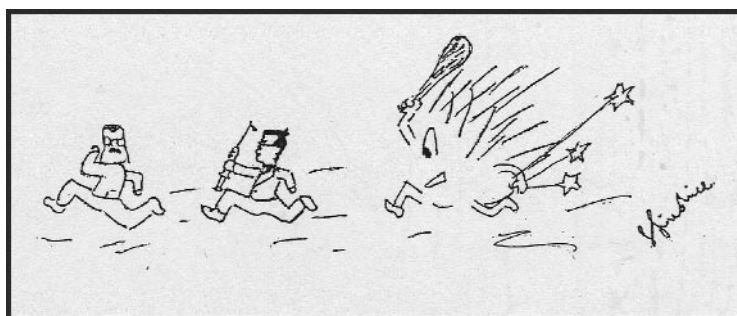


Fig. 4. Riccio di mare Monroy e Nakano.
(la figura rappresenta nell'ordine Monroy e Nakano, inseguiti dal riccio)

Molti aspetti fondamentali della Biologia dello sviluppo del riccio di mare sono stati descritti a Palermo nel laboratorio per molti anni diretto da me stesso. Ne elencherò qui in breve alcuni:

1) Il chiarimento che le hsp sono necessarie per il corretto sviluppo del riccio, come trovato da Sconzo, e Roccheri e riassunto nella rivista sintetica di Giudice (in *Dev. Growth Differ.* volume 31, anno 1989, pp. 103-106).

2) La scoperta di Rinaldi che la sintesi di mitocondri molto attiva nell'ovogenesi, si blocca fino a prisma per un effetto inibitore da parte del nucleo, come riassunto in A.M. Rinaldi e G. Giudice «nuclear-cytoplasmic interactions in early development» In *Biology of fertilization* volume 3 anno 1985, di C.B. Metz e A. Monroy, ed. Academic Press.

3) Le scoperte di Spinelli innanzi tutto sui geni degli istoni che sono riuniti in gruppi la cui espressione è diversamente regolata nello sviluppo (vedasi riassunto in *Bio Essays* Vol. 24, anno 2002, pp. 850-857); poi su geni con omeobox, con funzioni nell'orientamento dorsoventrale dell'embrione (vedasi *Develop.* Vol. 126, anno 1999 pp. 2171-2179), ed infine nella scoperta nel riccio di mare di un isolatore cromatinico, che è attivo anche in altre specie, inclusa l'umana (come descritto in *Blod Cells Mol. Dis.* vol. 35, anno 2005, pp. 339-344). Le scoperte sui geni per gli istoni sono state riprese e confermate oggi per lo *S.purpuratus* da Marzluff *et al.* (*Dev. Biol.* vol 300, anno 2006, pp. 308-320) a seguito della scoperta della sequenza genomica di questa specie.

4) Le scoperte di Roccheri sull'apoptosi fisiologica nel riccio di mare (vedasi ad esempio Bioch. Biophys Res. Comm. Vol. 240, anno 1997, pp. 359-366) ripresa oggi da A.J. Robertson *et al.* per *S.purpuratus*, in Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 321-334. E quelle dello stesso autore in collaborazione con Matranga sulla metamorfosi del riccio di mare *P.lividus*. Vedasi ad esempio Yokota *et al.* «The sea Urchin from basic Biology to Aquaculture» Balkema publishers, anno 2000, pp. 37-93 e 201-223.

5) Le scoperte di Gianguzza e Casano sulle tubuline nello sviluppo del riccio di mare, con l'isolamento dei rispettivi geni e la loro espressione connessa allo sviluppo del sistema nervoso (vedasi ad esempio Gianguzza *et al.* Int. J. Biol. volume 39, anno 1995, pp. 477-483, e Costa *et al.* Bioch. Biophys. Res. Comm. volume 316, anno 2004, pp. 446-453)

6) Le scoperte di Giudice e collaboratori sulla regolazione della sintesi dell'RNA ribosomale nello sviluppo (vedasi ad esempio quanto riassunto nell'introduzione di A.M. Pirrone *et al.* Dev. Biol. volume 49, anno 1976, pp. 311-329), seguite dalle scoperte di Barbieri sulla maturazione dell'RNA ribosomale e sull'RNA ribosomale 5S (vedasi ad esempio rispettivamente Mol. Biol. Rep. volume 18, anno 1995 pp. 137-141, e Cantone *et al.* Acta Embriol. Morph. Exper. volume 12, anno 1991, pp. 89-90.

7) La scoperta, rilevante ai fini della reversibilità del differenziamento, che è possibile dissociare gli embrioni di riccio in singole cellule e che è possibile riaggregare queste ultime riottenendo degli embrioni interi (primo esempio nella storia dell'embriologia), come descritto in Giudice (Dev. Biol. volume 5, anno 1962, pp. 402-411. Ricerca continuata poi a Palermo da H. Noll, Vittorelli e Matranga con la scoperta e lo studio del «toposoma» (vedasi Proc. Natl. Acad. Sci. USA, volume 82, anno 1985, pp. 8062-8066)

8) La scoperta che il polo animale dell'uovo vergine è riconoscibile dalla localizzazione del pronucleo femminile e che gli RNA per le proteine dette bep (cioè estraibili con butanolo) che potrebbero avere un'influenza nella formazione dell'intestino condizionando il trasferimento della beta catenina ai nuclei, si trovano localizzati nella metà animale dell'uovo vergine (vedasi «Molecular Mechanism for establishment of animal-vegetal axis in sea urchin development» in Rend. Fis. Acc. Lincei, serie 9, volume 7, anno 1996, pp. 43-50).

9) La messa a punto di una tecnica per isolare gli ovociti del riccio di mare e studiarne l'attività di sintesi dell'RNA ribosomale (vedasi Giudice *et al.* «Studies on sea urchin oocytes. I. Purification and cell fractionation» in Exper. Cell Res. volume 72, anno 1972, pp. 90-94) oggi ripresa per *S.purpuratus* da J.L. Song *et al.* in Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 385-405.

10) La scoperta di Giudice e collaboratori che la sintesi dell'RNA ribosomale a gastrula è dovuta pressoché esclusivamente alle cellule intestinali, come descritto da Roccheri *et al.* «Archenteron cells are responsible for the increase in ribosomal RNA synthesis in sea urchin gastrulae» vedasi Cell. Biol. Int. Rep. volume 3, anno 1979, pp. 733-737.

11) La scoperta di I. Pucci sulla sintesi di collagene in connessione con la formazione delle spicole in *P.lividus*. (vedasi «Collagen synthesis and spicule formation in sea urchin embryos» Cell. Differ. volume 1, anno 1972, pp. 157-165.

12) La scoperta di Matranga e collaboratori di un gene per una proteasi tipo univina nel riccio *P.lividus* (vedasi Dev. Biol. volume 264, anno 2003, pp. 217-227).

La biologia molecolare ha seguito una serie di evoluzioni che hanno spiegato una varietà di fenomeni legati allo sviluppo. Pur non entrando nel dettaglio, desidero ricordare che i più recenti di questi essi fanno capo fondamentalmente alla scuola di Eric Davidson del Caltech per la parte molecolare ed a David McClay, ideale continuatore alla Duke University della Carolina, degli esperimenti di micro-manipolazione di Hörstadius, addizionati di una ulteriore abilità nel trapiantare gruppi di cellule selezionate in zone scelte dell'embrione e di seguirne i movimenti mediante le nuove tecniche di marcatura con anticorpi fluorescenti ed il metabolismo attraverso le nuove tecniche di Biologia molecolare (figura 5, tratta da McClay, copertina di Devel, 133, 3), nella quale si vedono colorati per immunofluorescenza una blastula alla quale è stato inibito di gastrulare, ed un pluteo normale perché vi è stato iniettato il recettore Frizzled 5/8.

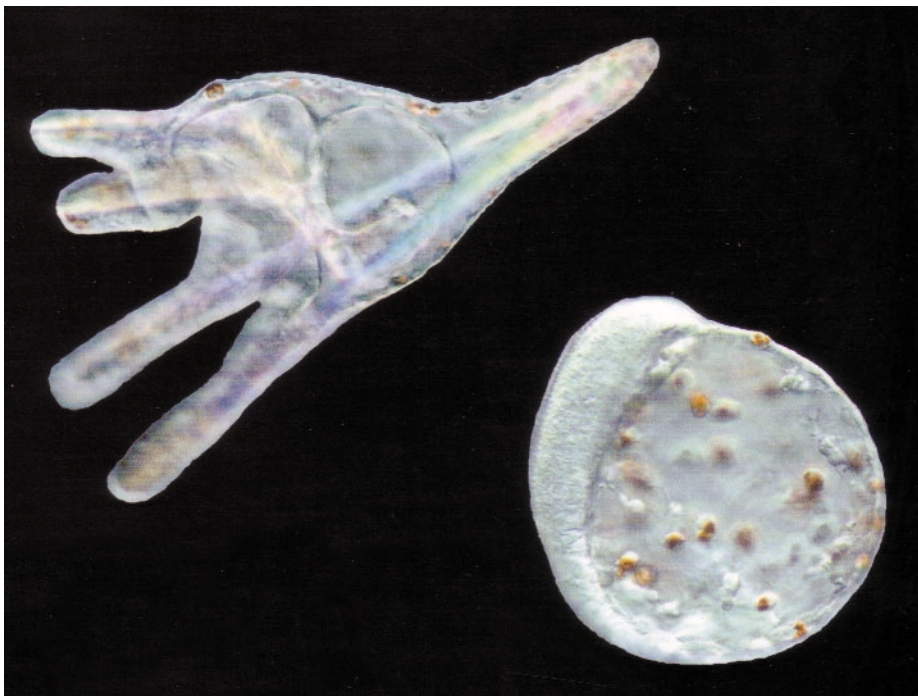


Fig. 5.

Quello che McClay ha tra l'altro dimostrato è ben riassunto in una rivista sintetica pubblicata da J.C. Croce e D.R. McClay su *Seminars in Cell and Developmental Biology* Vol. 17, anno 2006, pp. 168-174, intitolata «The canonical Wnt pathway in embryonic axis polarity», dove si dà spiegazione molecolare del fenomeno della polarità dell'uovo e dell'embrione di riccio di mare in termini del cosiddetto pathway di Wnt (figura 5 Pathway di wnt), che, scoperto in *Drosophila*, è stato dallo stesso McClay esteso al riccio di mare nel quale è responsabile del trasferimento ai nuclei della beta catenina, ciò che li rende capaci di indurre la formazione dell'intestino (figura 6 figura mostrante l'importanza del pathway di wnt nell'induzione delle potenzialità animali-vegetative, di Christian Gache e collaboratori (vedasi F. Emily-Fenouil *et al.* in *Devel.* volume 125, anno 1998, pp. 2489-2498) ed in particolare spiega il noto effetto vegetativizzante del Litio attraverso il pathway di wnt.

La figura mostra come nel secondo rigo, dall'alto in basso, sia stata inibita la distribuzione dell'enzima della schiusa (HE, in rosso) per trattamento con Litio (più un un dominante negativo di GSK3 β kdGSK3 β), il quale porta, terzo rigo a destra a vegetalizzazione con sviluppo di una esogastrula, mentre nell'embrione in cui queste due potenzialità sono indisturbate si ha lo sviluppo di un pluteo normale; quando invece si nietta GSK3 β (selvatico, wt GSK3 β) e si esaltano le potenzialità animali si ha sviluppo di una blastula iperciliata, segno di animalizzazione.

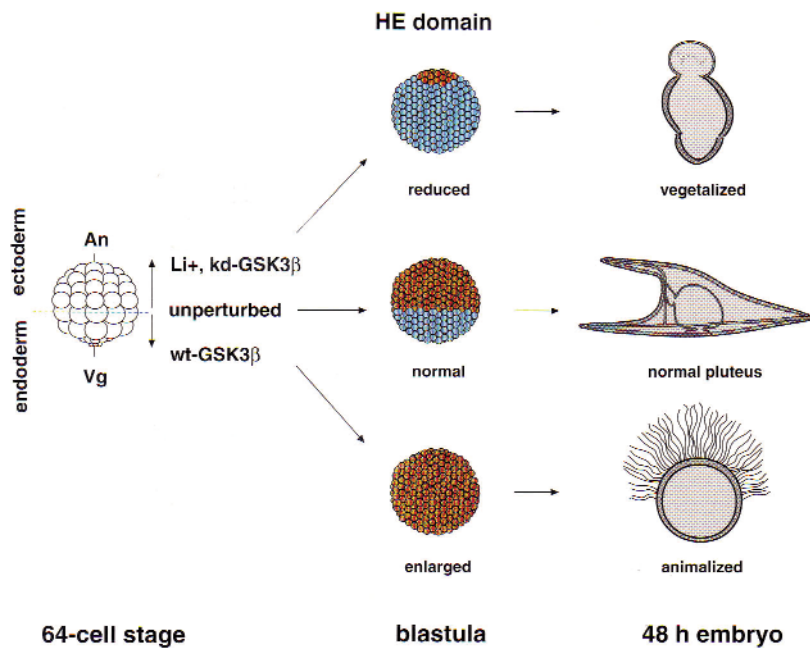


Fig. 6.

L'altro autore contemporaneo più importante che contribuisce oggi all'avanzamento delle conoscenze sul riccio di mare è Eric H. Davidson del Caltech. Per comonciare dirò che egli è riuscito oggi a far dedicare un intero volume di Dev. Biol., appunto il 300 al riccio di mare (fig. 8 quella di Science 314 (2006) 938) cosa citata anche dalla prestigiosa rivista americana Science. Inoltre tra i suoi grandi meriti va quello di aver creato un sistema mnemonico da lui battezzato network, che consente di avere una visione di insieme di vasti tratti della biologia molecolare del riccio di mare con le loro interdipendenze e i loro rispettivi ruoli (Figura 7).

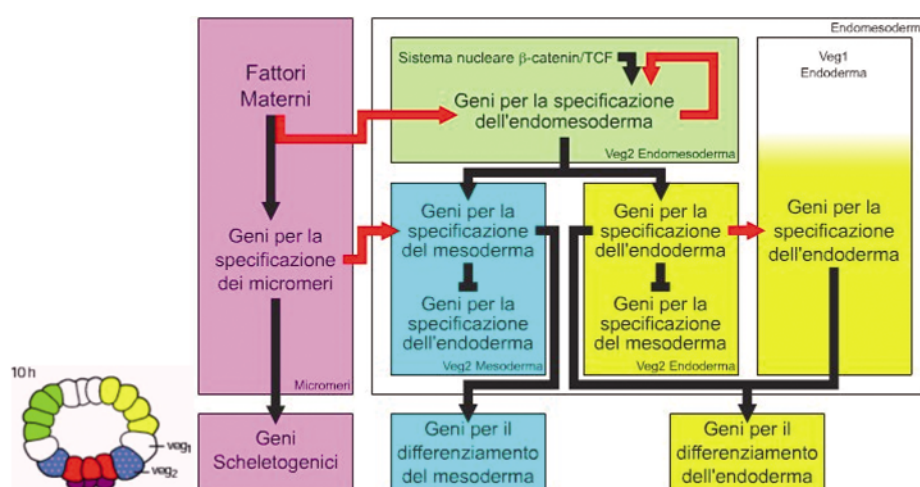


Fig. 7.

Uno dei collaboratori più importanti di Davidson, R. Andrew Cameron ha ripreso una antica questione già parzialmente risolta da studi di Hörstadius e cioè quella di quando diventino irreversibili le scelte di differenziamento del riccio di mare.

Hörstadius aveva concluso che esso è già irreversibilmente fissato allo stadio di uovo vergine per quanto riguarda le potenzialità animali-vegetative, ma che lo diviene solamente allo stadio di 32 blastomeri per le potenzialità dorso-ventrali.

Ebbene Cameron, con un ingegnoso esperimento di microiniezione di coloranti vitali, e cioè lisil-rodamina-destrano in uno dei primi due blastomeri di *Strongylocentrotus purpuratus* dimostrò che, anche se non irreversibilmente fissata tale capacità è riconoscibile già nei primi due blastomeri (V. figura 8).

In questo esperimento si dimostra anche che il primo piano di divisione cellulare cade a 45° dall'asse del futuro pluteo. Nel Novembre 2006 Cameron (vedasi Science volume 341, anno 2006, pp. 941-942 lanciò l'idea di un consorzio per stabilire la sequenza genomica del riccio *Strongylocentrotus purpuratus* riportando la sequenza e l'analisi di 814 megabasi, e che in totale questo riccio ha 23000 geni. Davidson commentò nei suoi articoli «The glorious sea urchin» (vedasi Science,

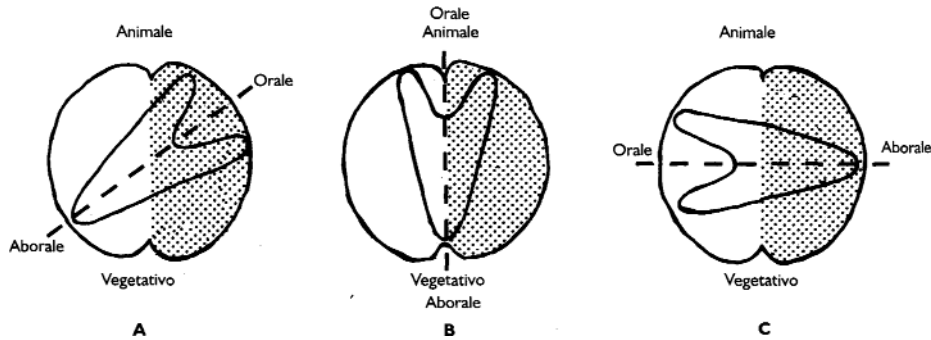


Fig. 8.

volume 314, anno 2006, pp. 938, 940 e 941 che questa è la prima sequenza genica di un duterostoma non cordato, dove ci porterà? (Vedasi anche Davidson in Dev. Biol. volume 300, anno 2006, p. 1). Si veda anche il commento di T. Pederson sull'utilità dello studio del riccio di mare come sistema modello, in Dev. Biol. volume 300, anno 2006 pp. 9-14. Da quel momento, in ogni caso, prende origine una serie di pubblicazioni che prendono spunto dalla disponibilità di questa sequenza e ne traggono varie conclusioni. Pearse commentò sul ruolo ecologico dello *S.purpuratus* (vedasi Science, volume 314, anno 2006, pp. 941 e 942. Mentre J.P. Rast *et al.* (vedasi Science, volume 314, anno 2006, pp. 952-956) dedussero dalla sequenza il sistema immunitario dello *S.purpuratus* trovando circa 222 reattori tipo Toll. D.J. Bottier *et al.*, tra cui Cameron, vedasi Science, volume 314, anno 2006, pp. 956-959) descrissero la paleogenomica degli echinodermi, trovando che i primi echinodermi sono comparsi circa 520 milioni di anni fa. Un commento sull'evoluzione del riccio di mare si trova anche in M. Howard-Ashby *et al.* (tra cui Davidson) in Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 27-34, dove si enuncia il concetto di «reguloma» e si dice che di circa 280 geni regolatori, codificanti per fattori di trascrizione, almeno l'80% in *S.purpuratus*, vengono espressi prima dello stadio di gastrula avanzata. M.P. Samanta *et al.* (vedasi Science, volume 314 anno 2006, pp. 960-999) hanno studiato il trascrittoma di *S.purpuratus* e trovato che durante l'embriogenesi fino a gastrula avanzata vennero trascritti a 11000 a 12000 geni.

La struttura genomica di *S.purpuratus* è stata descritta, come detto, da Cameron, (come ad esempio riportato da S.C. Materna *et al.* in Dev Biol volume 300, anno 2006, pp. 485-495) e lì commentata in chiave evolutiva.

Sempre come interpretazione della sequenza genomica di *S.purpuratus*. M. Goel e A. Mushegian hanno ripreso nel volume 300 di Dev. Biol. anno 2006, pp. 283-292 una questione, cioè quella del metabolismo intermedio del riccio di mare, già ampiamente descritta da Monroy e collaboratori, (si vedano i lavori di Maggio, R. sulla citocromo ossidasi su Exper. Cell Res, volume 16, anno 1959 pp. 272-278, nonché di altri autori riportati nel capitolo 8 di G. Giudice «Developmental Bio-

logy of the sea urchin embryo» anno 1973 editore Academic Press, New York e Londra). La conclusione di M. Goel e A. Mushegian è che in *S.purpuratus* esistono almeno 2300 proteine implicate nel metabolismo intermedio. Questi due autori concludono anche che i ricci somigliano in proposito ai vertebrati, con differenze piccole ma importanti sia dai verebrati che dai protosotmi.

Un'altra delle conseguenze positive della disponibilità della sequenza del genoma di *S.purpuratus* è stata quella di estendere le conoscenze sui geni che regolano la trascrizione, come descritto da J. Morales *et al.* in Dev. Biol., volume 300, anno 2006, pp. 293-307, che concludono che hanno molta importanza al riguardo i fattori di allungamento della serie EF (di vario tipo) e di inizio eIF (anche essi di vario tipo); sottolineano l'importanza della dipendenza dal cap dopo la fecondazione (in ciò riprendendo vecchie osservazioni del gruppo di Giudice: Pirrone *et al.* «The RNA of unfertilized egg is capped» in Cell Differ. Vol. 5, anno 1977, pp. 335-343). J. Morales *et al.* trovano che esiste un sostituzione di un amminoacido specifica del riccio di mare in una delle proteine eIF4E.

Sull'aspetto delle difese del riccio di mare hanno pubblicato di recente J.V. Goldstone *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 366-384) e Hibino *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 349-365), riprendendo in parte così il già citato aspetto del ruolo difensivo delle proteine da shock da calore.

L.A. Romano e G.A.Wray (vedasi Dev.Growth Differ. volume 48 anno 2006 pagg. 487-497) ribadiscono che il fattore endo 16, noto come una delle proteine specifiche dell'endoderma, è necessario per la gastrulazione nella specie atlantica *Lytechinus varigatus*. Ancora dalla sequenza del genoma di *S.purpuratus* R.D. Burke *et al.* (vedasi Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 434-480) deducono i geni implicati nel suo sistema nervoso, in ciò ampliando i risultati ottenuti a Palermo da Gianguzza su specie mediterranee. F Raible *et al.* (vedasi Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 461-475) producono dati su *S.purpuraztus* relativi alla presenza di opsine ed altri recettori in riccio di mare, discutendone il significato evolutivo. S. Damle *et al.* (tra cui Davidson), determinano, con un nuovo metodo al confocale, l'espressione in vivo di un gene per la proteina a fluorescenza verde (GFP) vedasi Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 543-550. A. Ransick e E.H. Davidson dimostrano che se si abolisce l'espressione del gene Notch in *S. purpuratus* con morpholino, non si formano le cellule del pigmento perché vengono distrutte le cellule del mesoderma precursori, vedasi. Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 587-602. E. Sodergren *et al.* in Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 2-8 scrivono una rivista sintetica nella quale si rassume la tecnica usata da Cameron per sequenziare il genoma di *S.purpuraztus*.

Q. Tu *et al.* (tra cui Davidson) in Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 49-62 identificano in *S. purpuratus* un fattore di trascrizione della famiglia forkhead, cosa effettuata anche da Smolenicka *et al.* (Cell Biol Int. volume 27, anno 2003, pp. 81-87), per *Paracenrotus lividus*, e ne discutono la filogenesi, trovando che esso è ortologo ai geni trovati nei vertebrati, mentre altri due geni di questa famiglia sono spe-

cifici del riccio di mare come sequenza; studiano anche la loro espressione embrionale, che è molto variabile a seconda dei vari tipi di fork head, che vegono distinti da A fino ad X e studiati ciascuno per whole mount quantitativa in modo da descrivere per ognuno la quantità dell'espressione nel tempo e nello spazio, cosa che risulta estremamente variabile, a testimonianza della ubiquità di questi fattori di trascrizione. Un altro studio sui fattori di trascrizione di *S. purpuratus* è stato condotto alla Stazione Zoologica di Napoli da Rizzo *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 35-48), che hanno trovato che 9 geni di tipo ETS sono espressi nell'embriogenesi, 5 di questi vengono espressi anche nell'ovogenesi, più altri 3 espressi ubiquitariamente nell'embriogenesi, mentre 2 sono trascritti solo allo stadio larvale; essi sono importanti per la scheletogenesi. M. Howard-Asby *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 74-89) descrivono i fattori di trascrizione contenenti omeobox in *S. purpuratus* e ne identificano 96; operano un paragone con quelli di topo, uomo e Drosophila, costruendo un albero filogenetico; determinano anche i loro pattern di trascrizione nell'embriogenesi del riccio di mare fino a gastrula avanzata, dimostrando per whole mount che essi partecipano a molte e diverse funzioni nello sviluppo e che il 65% di loro sono espressi entro, lo stadio di gastrula avanzata. I fattori di trascrizione contenenti omeobox sono già stati ampiamente descritti in *P. lividus* a Palermo da Spinelli, come già citato. F Lapaz *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 132-152) descrivono in *S. purpuratus* i pathways di RTK e TGFbeta, trovano che nel genoma esistono almeno 20 geni per i recettori a tirosina chinasi, e almeno 6 per TGFbeta; di questi ultimi i geni per nodal e lefty sono espressi nell'ectoderma orale, il che fa pensare che siano implicati nello stabilirsi dell'asse orale-aborale dell'embrione (si vedano in proposito i già citati lavori di Spinelli); trovano infine che il riccio di mare contiene tutti i geni per le proteine inibitrici di BMP tipo cordina, noggina etc.. M. Kiyomoto *et al.* (Marine Biology, volume 149, anno 2006, pp. 57-63) trattano dell'effetto del diethylestradiol sull'accelerazione del metamorfosi, un argomento, quello della metamorfosi, già trattato, come accennato, da gruppo di Palermo. A.F. Fernandez-Guerra *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno, 2006, pp. 238-251) deducono dal genoma di *S. purpuratus* tutti i geni connessi con la moltiplicazione cellulare; vale la pena di ricordare qui che la ciclina fu scoperta da Tim Hunt e collaboratori nel 1983 proprio nel riccio di mare. C.A. Whitaker *et al.* (Dev. Biol. Volume 300, anno 2006, pp. 252-266) trattano dell'adesoma, degli echinodermi, un argomento che riprende quanto già trattato da Giudice nei suoi esperimenti di riagggregazione cellulare nel riccio di mare e continuato da Hans Noll e Vittorelli a Palermo con i loro esperimenti su quanto da loro battezzato «toposoma». Whitaker *et al.* notano che il riccio di mare manca di alcuni geni di adesione presenti nei cordati. Z. Wei *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 476-484) descrivono l'espressione nello sviluppo di *S. purpuratus* di geni espressi nell'ovogenesi e negli stadi embrionali da 2 cellule fino a gastrula avanzata per mezzo della tecnica dei micro arrays, che consente di rivelare da 200 fino ad oltre 150000 copie di RNA per embrione, trovando che circa il

5% degli RNA sono fatti nell'ovogenesi ed il 24% nello sviluppo, durante il quale la concentrazione di oltre l'80% viene modulata di un fattore di più di 3. B.T. Livingstone *et al.* (Dev. Biol. volume 300, anno 2006, pp. 335-348) studiano le proteine correlate alla biomineralizzazione nell'embrione di *S. purpuratus*, in ciò riprendendo e ampliando anche gli studi, già citati, condotti nel gruppo di Palermo da I. Pucci; descrivono una somiglianza tra ricci di mare e vertebrati per molte di esse, mentre sottolineano le differenze. L. Angere, *et al.* descrivono per *S. purpuratus* la presenza di proteine di tipo tolloid, MMP e membri della famiglia ADAM, in ciò riprendendo ed ampliando quanto già descritto a Palermo da Matranga e collaboratori.