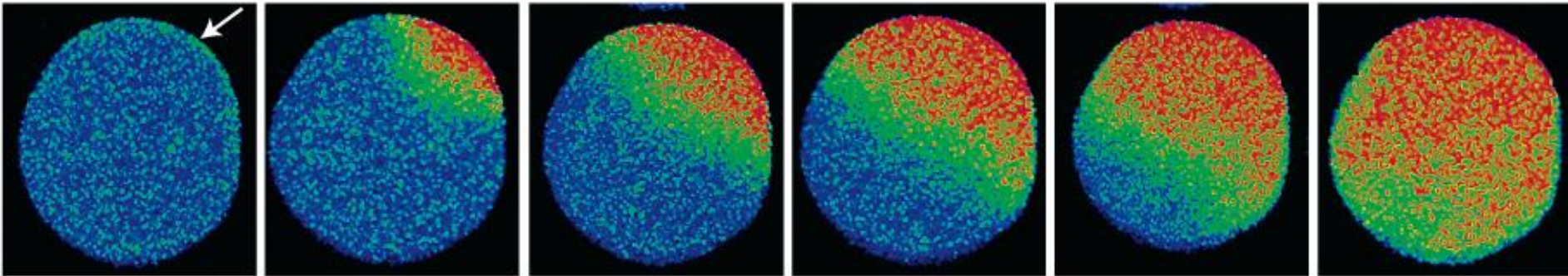


Effetti metabolici della fecondazione nell'uovo di riccio di mare

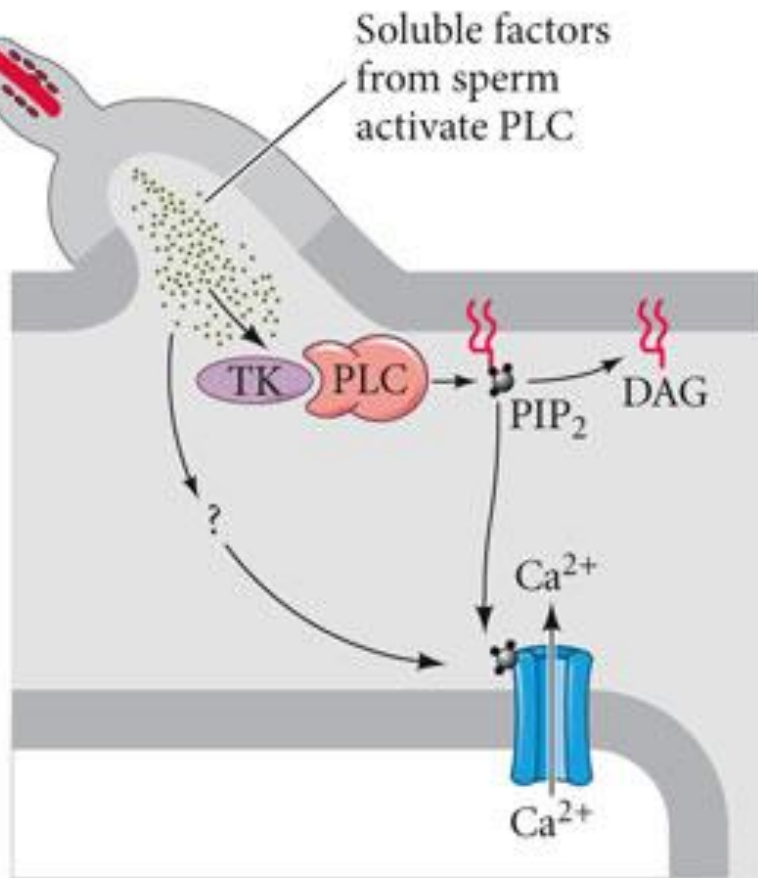
Aumento del Calcio citoplasmatico dovuto al rilascio di Calcio intracellulare dal reticolo endoplasmatico.

Attivazione di pompa H^+/Na^+ , ingresso di Na^+ e **aumento del pH**.

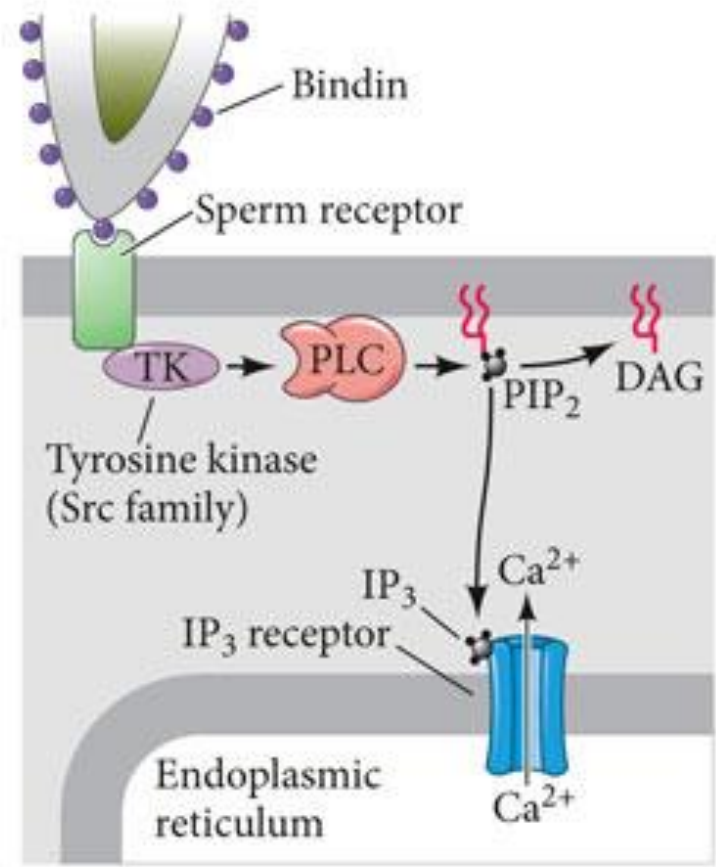


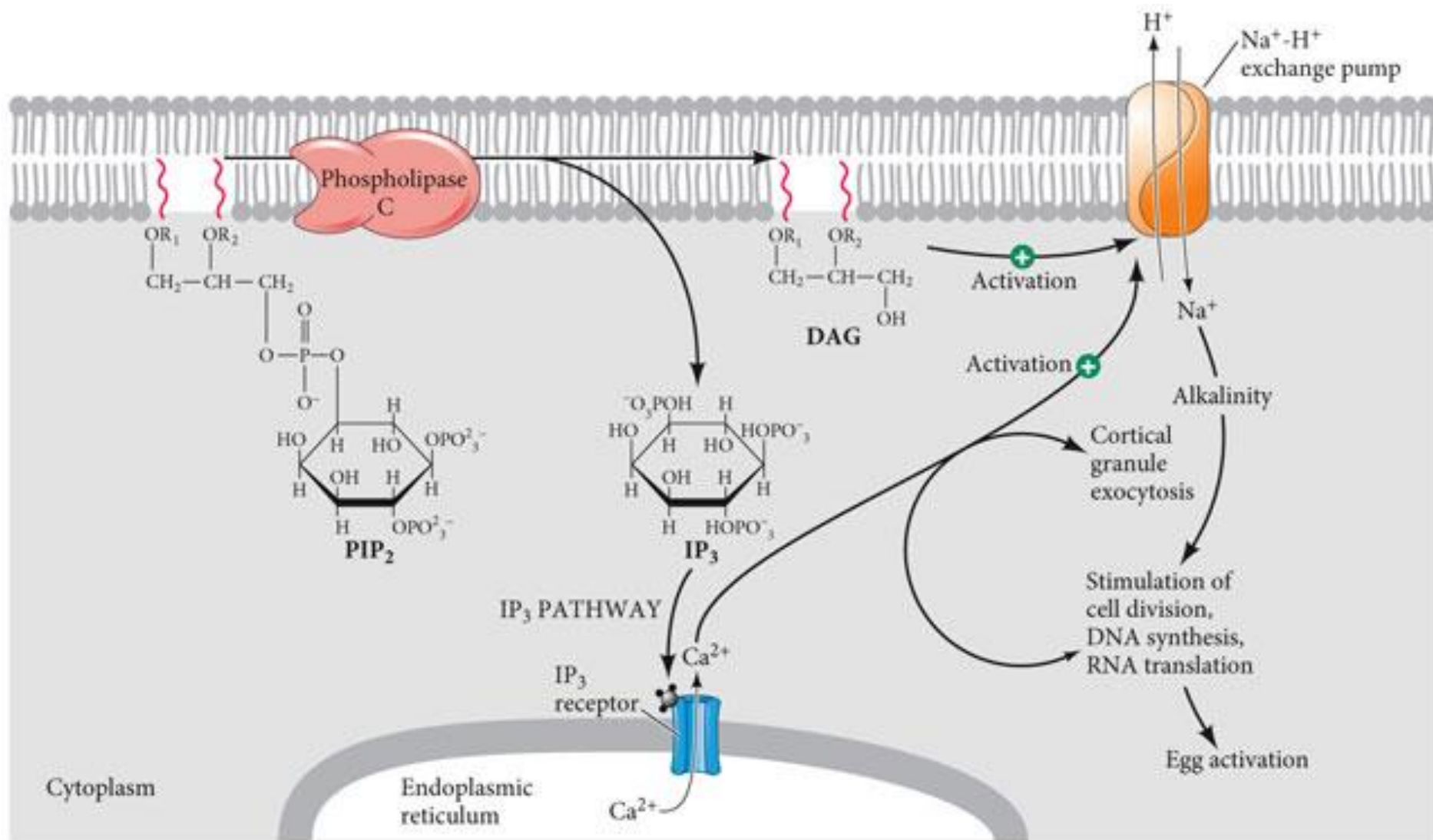
15 μm

(A) ACTIVATION AFTER GAMETE MEMBRANE FUSION

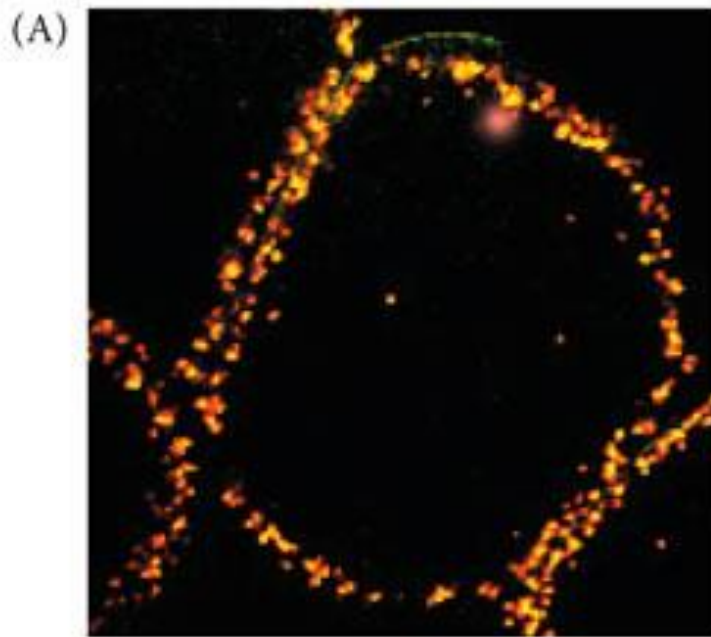


(B) ACTIVATION PRIOR TO GAMETE FUSION

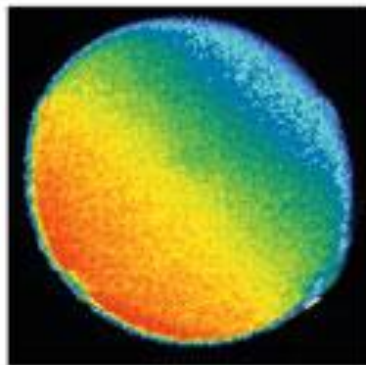




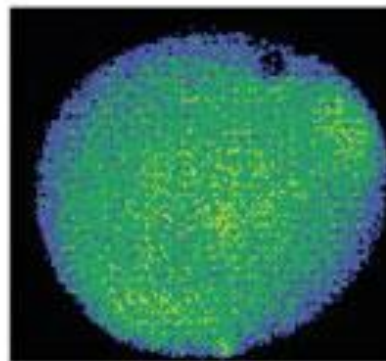
DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 7.21



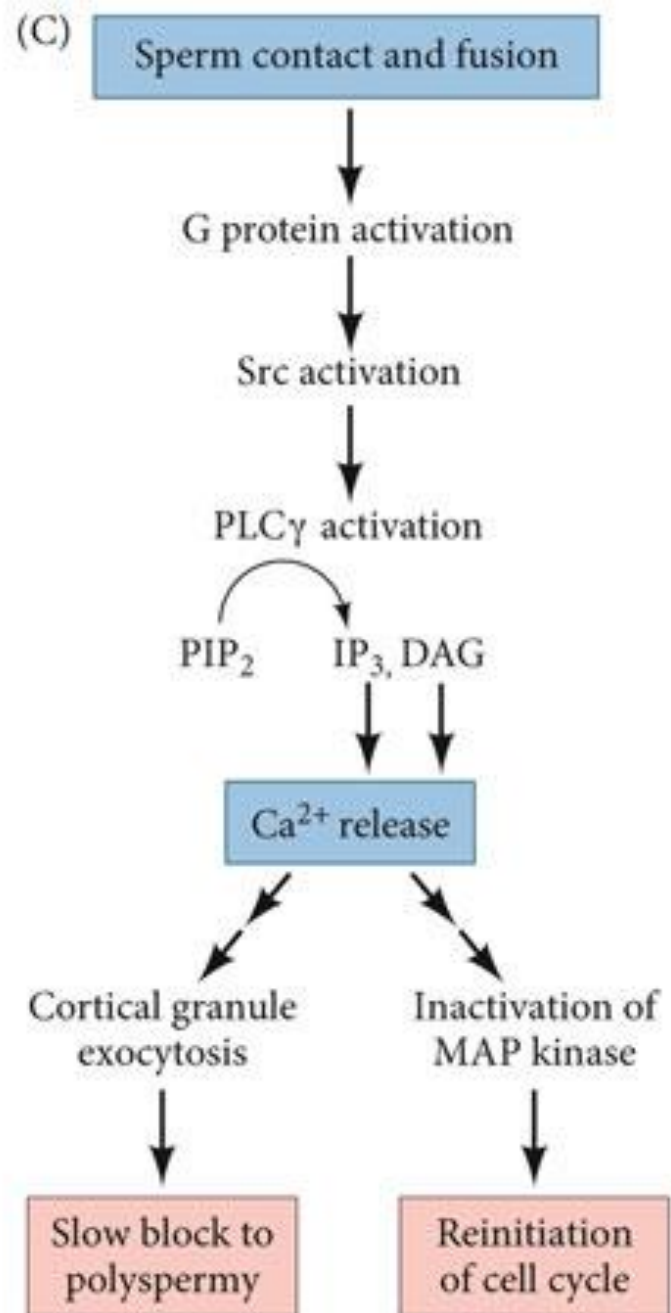
(B)

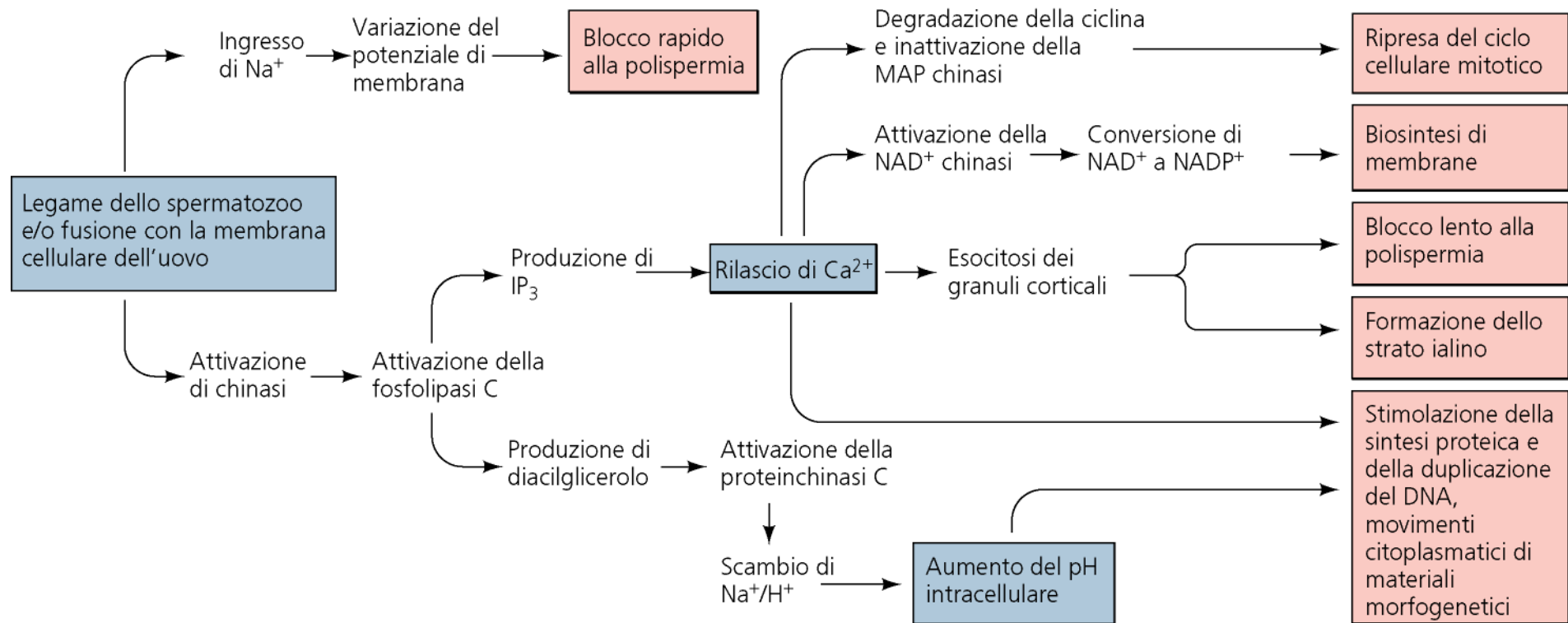


Control



G α q inhibitor added





pH 6.8

pH 7.2

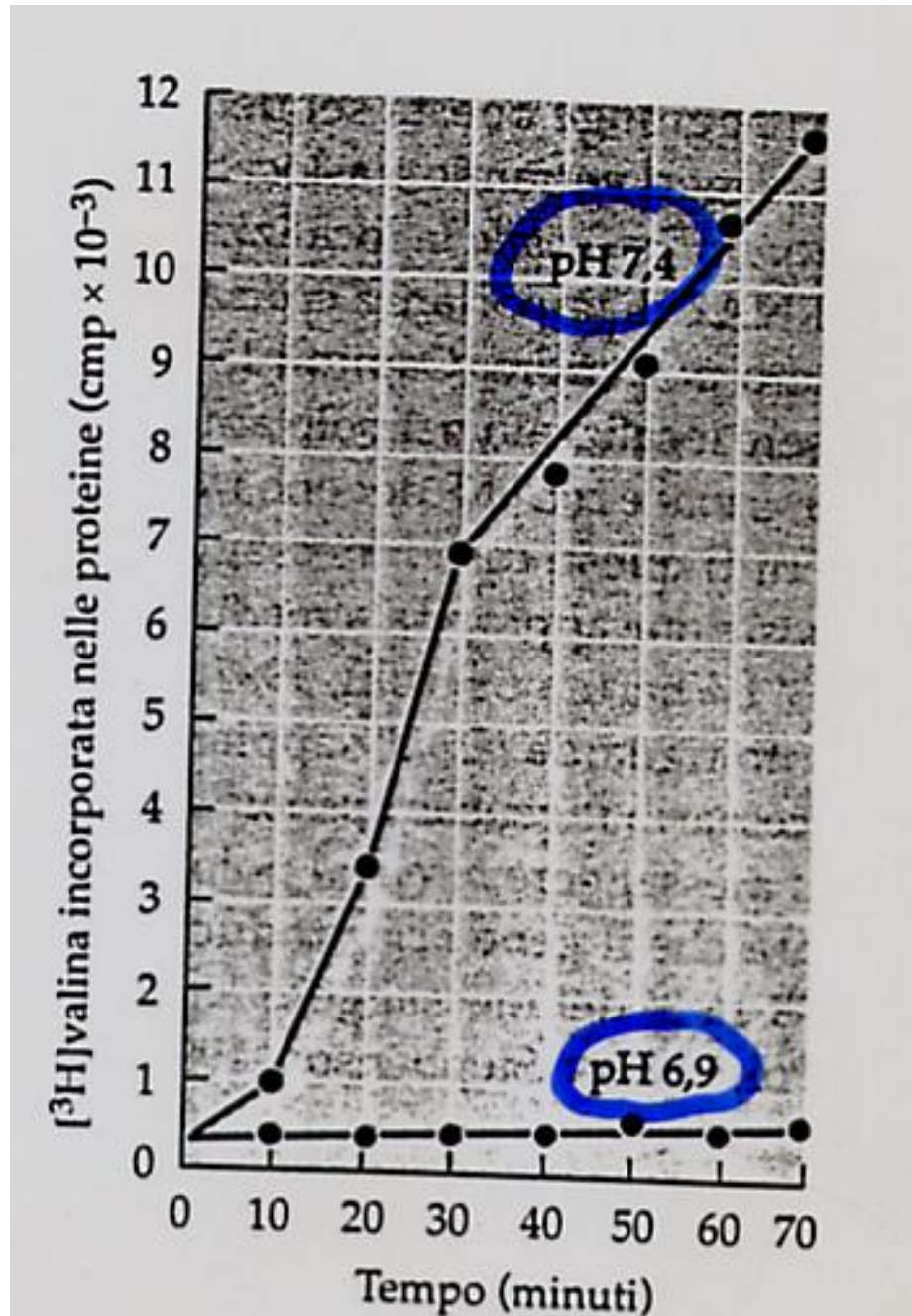
SCHEMA 1

Schema cronologico dei cambiamenti che avvengono alla fecondazione dell'uovo del riccio di mare *Strongylocentrotus purpuratus* a 17°C

Tempo in secondi

1	Legame spermatozoo/uovo Depolarizzazione della membrana Idrolisi della PIP_2
10	Liberazione di Ca^{2+} <ul style="list-style-type: none">- esocitosi dei granuli corticali- attivazione della NAD-chinasi- scambio $Na^+ - H^+$- aumento del pH interno- aumento del consumo di ossigeno- produzione di H_2O_2
100	Polimerizzazione dell'actina Aumento di conduttanza di K^+ Cambiamenti di trasporto transmembrana Endocitosi Aumento sintesi proteica Movimento dei pronuclei Accumulo di ciclina
1000	Sintesi di DNA Attivazione del MPF Rottura dell'involucro nucleare
10000	Divisione cellulare

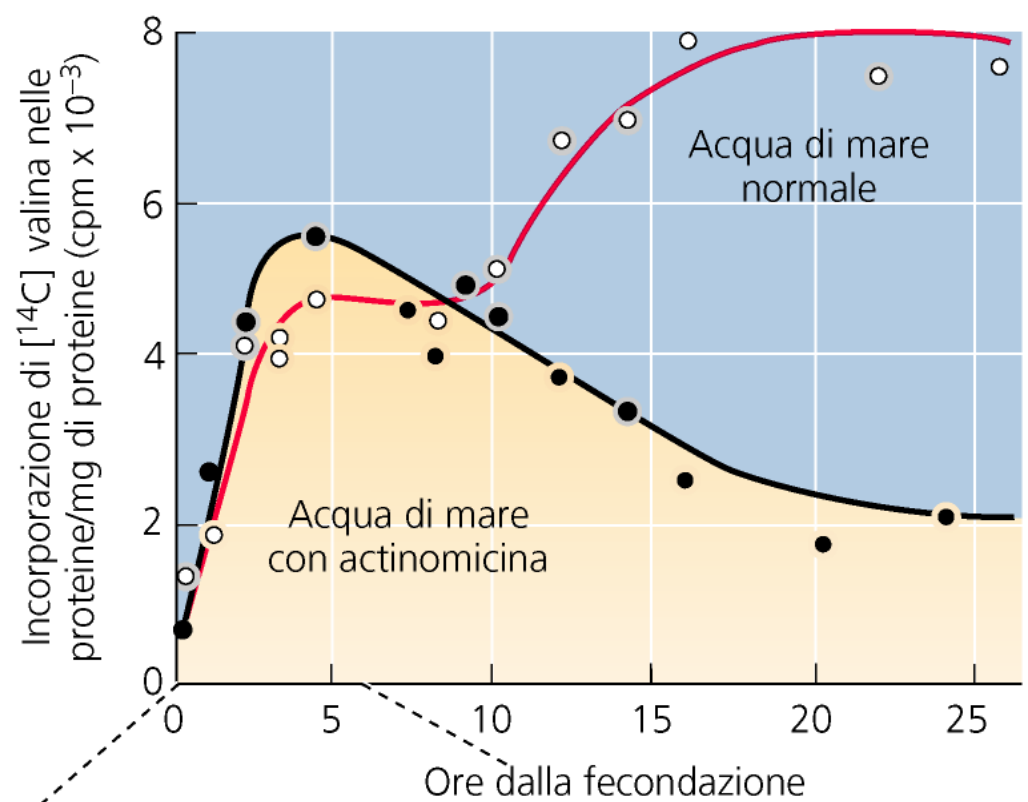
Attivazione della sintesi proteica dopo la fecondazione del riccio di mare



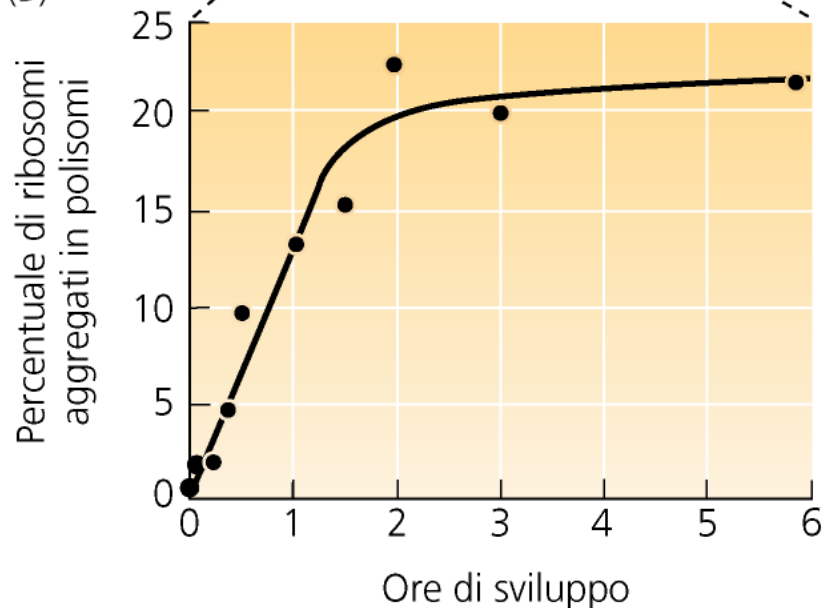
(A)

Actinomicina D - Inibizione della trascrizione
(blocco ritardato dello sviluppo embrionale)

Cicloeximide - Inibizione della traduzione
(blocco rapido dello sviluppo embrionale)



(B)



Fecondazione nei mammiferi

The ovum

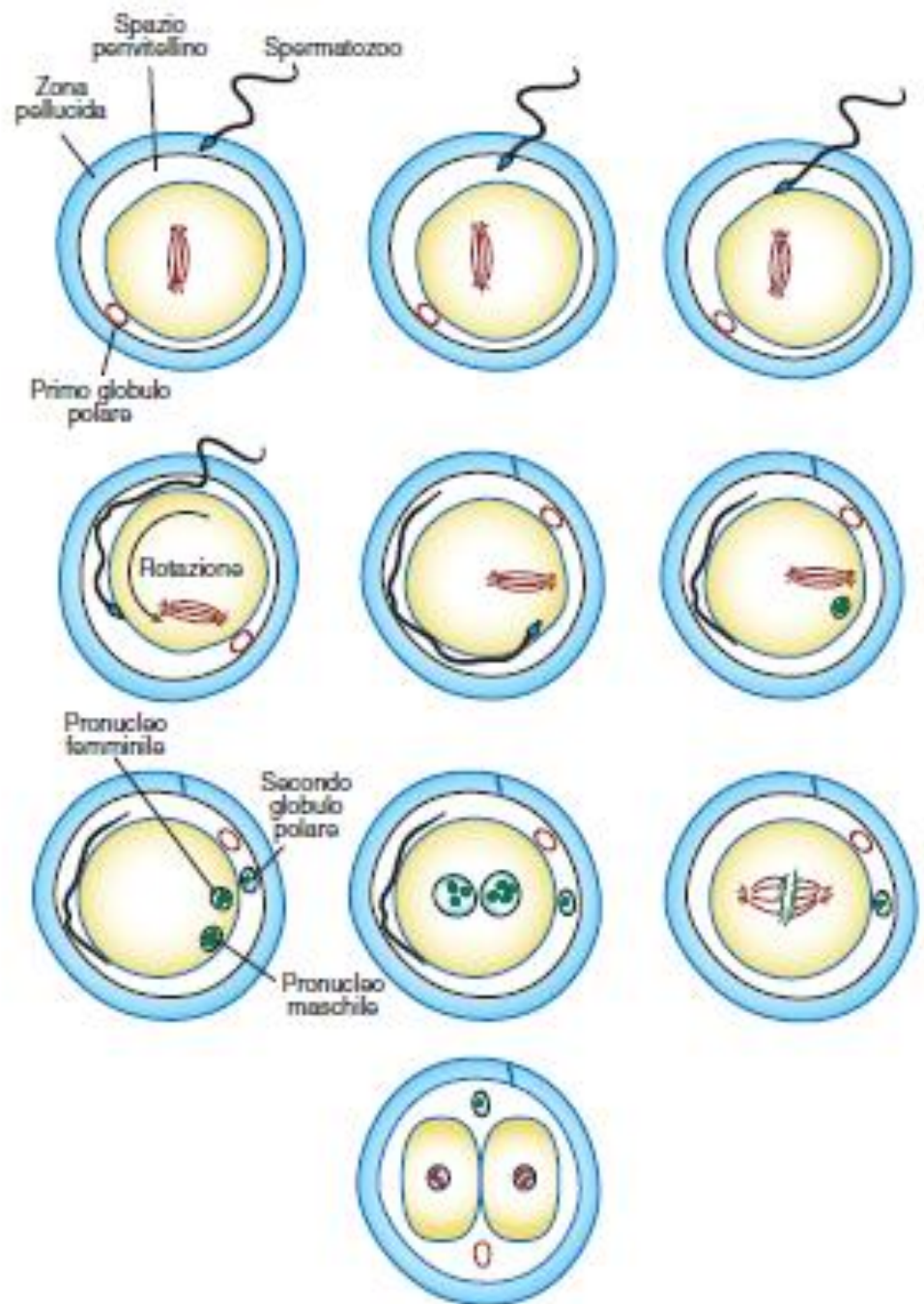
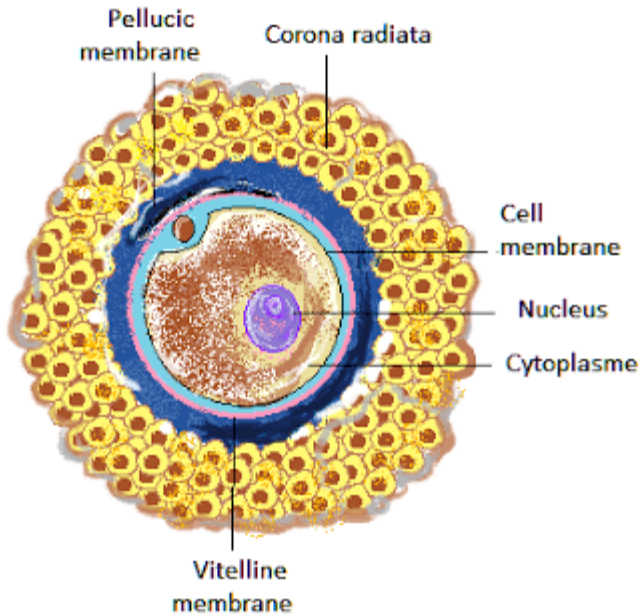
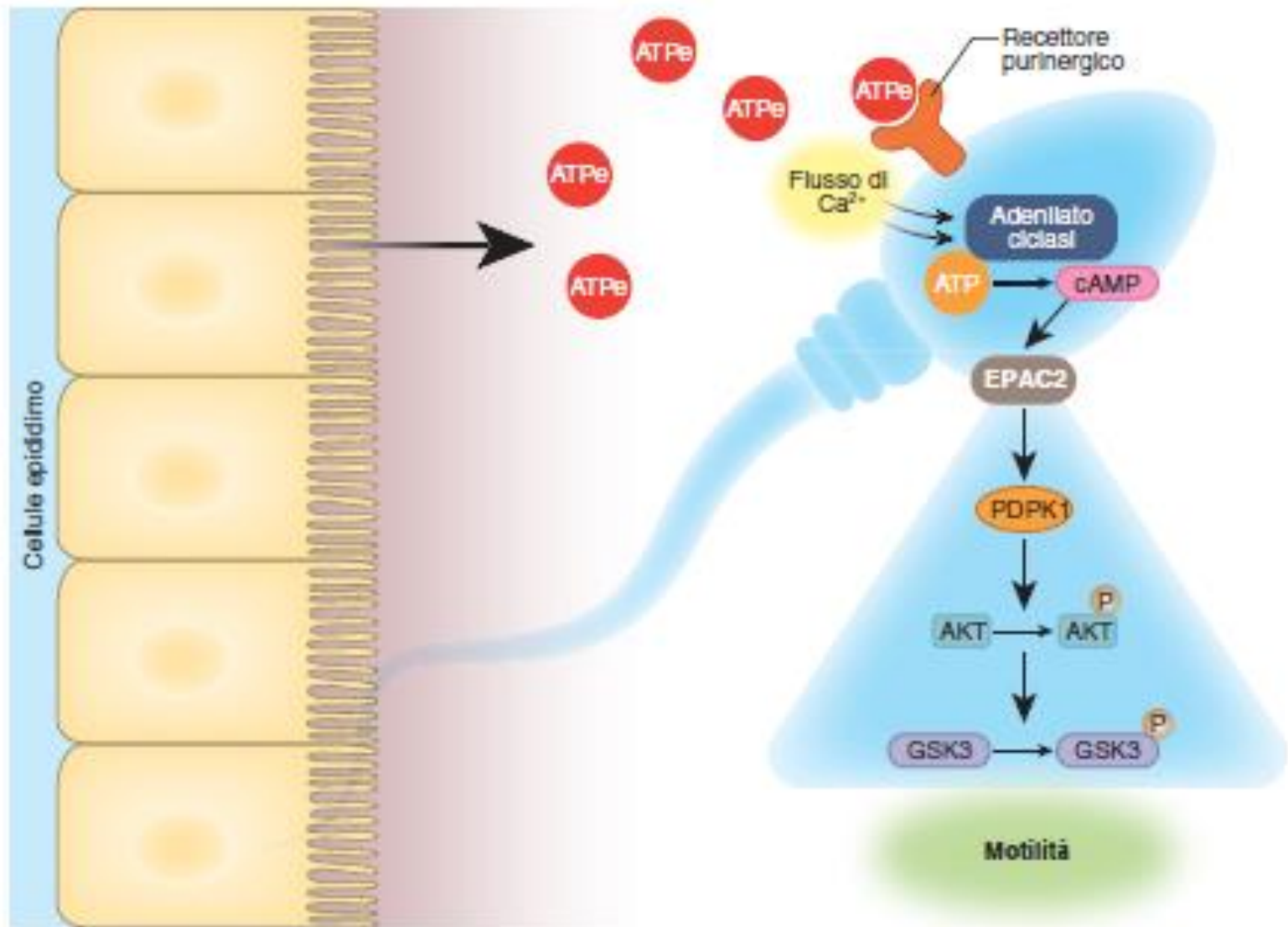


Figura 16



Durante il transito nell'**epididimo**, gli spermatozoi acquistano motilità grazie a vie di segnalazione attivate da molecole rilasciate dalle cellule dell'epididimo nel microambiente luminale.

Fattori che guidano lo spermatozoo verso l'uovo:

Reotassi: migrazione in senso contrario a un flusso di liquido dall'ovidotto all'utero

Termotassi: migrazione in direzione opposta a un gradiente termico di 2 gradi fra l'ampolla e l'ovidotto

Chemiotassi: rilascio di molecole chemiotattiche da parte del cumulo ooforo, fra cui il progesterone, che attiva la motilità del gamete

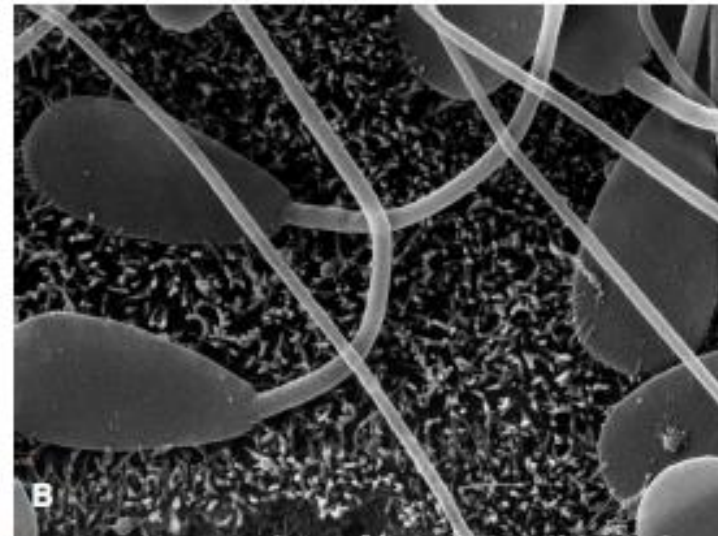
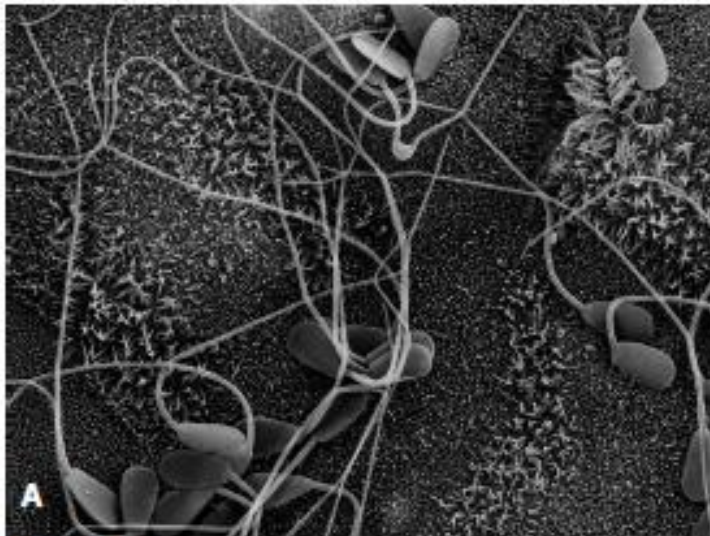
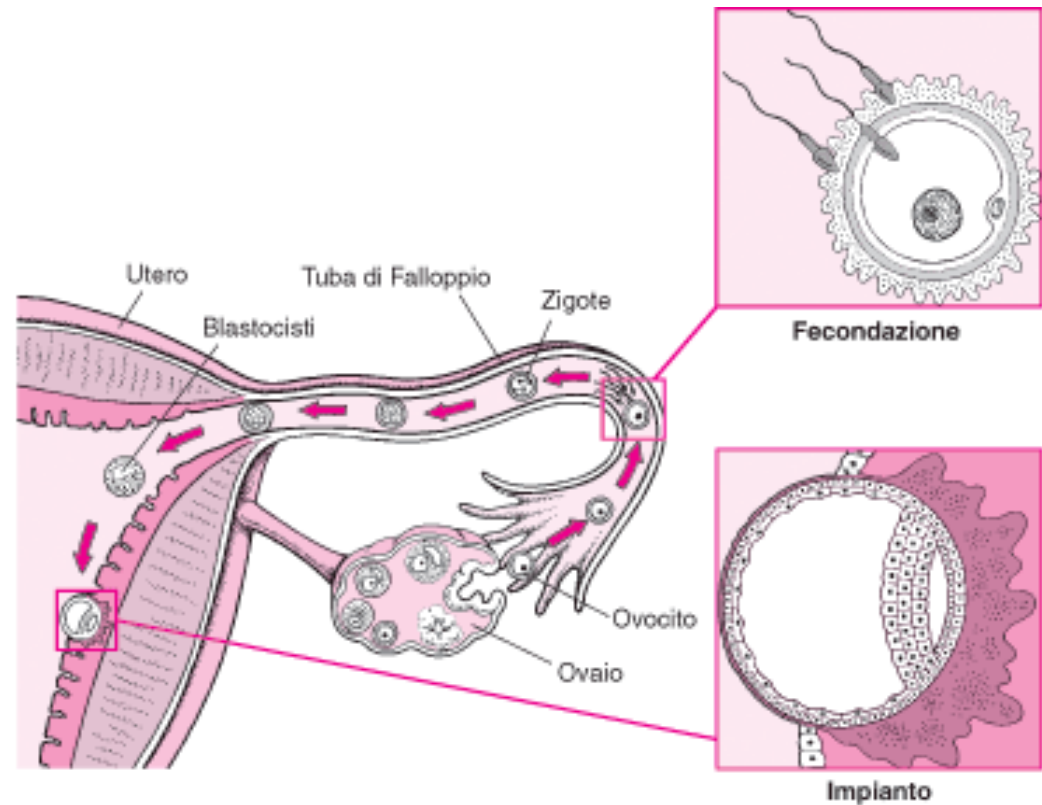


Figura 19

CAPACITAZIONE: acquisizione della capacita' di fecondare

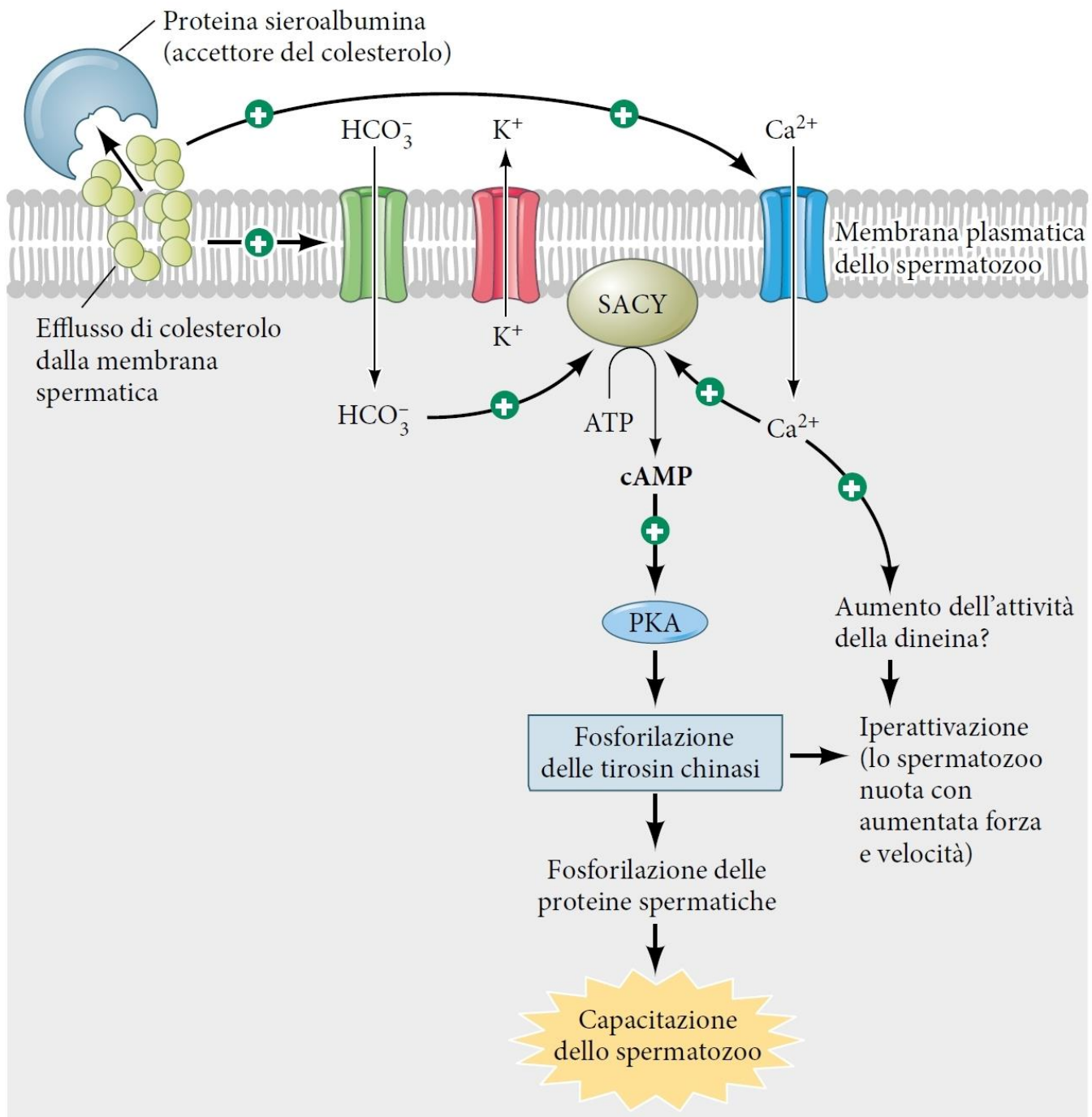
Modificazioni di membrana

Albumina presente nelle vie genitali femminili **rimuove il colesterolo** dalla membrana dello spermatozoo. Cio' aumenta la fluidità della membrana rendendo possibile la reazione acrosomiale, e permette di esporre in superficie e localizzare nella parte anteriore dello spermatozoo molecole necessarie all'interazione con l'uovo. Avviene rimozione di proteine/carboidrati dalla membrana che potrebbero inibire le interazioni con l'uovo. Anche la membrana dell'acrosoma si modifica in preparazione per la reazione acrosomale.

Modificazioni biochimiche intracellulari

Rilascio di ioni K^+ causa iperpolarizzazione di membrana nello spermatozoo e, insieme all'efflusso di colesterolo, conduce all'**ingresso di ioni Ca^{++} e HCO_3^-** e all'aumento dei livelli di cAMP, con attivazione di vie di segnale che promuovono ulteriore aumento della motilità e regolano l'attività di proteine importanti per la fecondazione.

Prima della capacitazione, lo spermatozoo aderisce alle pareti dell'ovidotto e questa interazione prolunga la vitalità del gamete. La capacitazione provoca **iperomotilità** dello spermatozoo e indebolisce il suo legame all'ovidotto. La capacitazione è un evento asincrono, e potrebbe essere importante anche per massimizzare la possibilità di un evento di fecondazione al tempo stesso diminuendo la probabilità di polispermia.



Proteina sieroalbumina (accettore del colesterolo)

HCO₃⁻

K⁺

Ca²⁺

Membrana plasmatica dello spermatozoo

Efflusso di colesterolo dalla membrana spermatica

SACY

ATP

cAMP

PKA

Fosforilazione delle tirosin chinasi

Fosforilazione delle proteine spermatiche

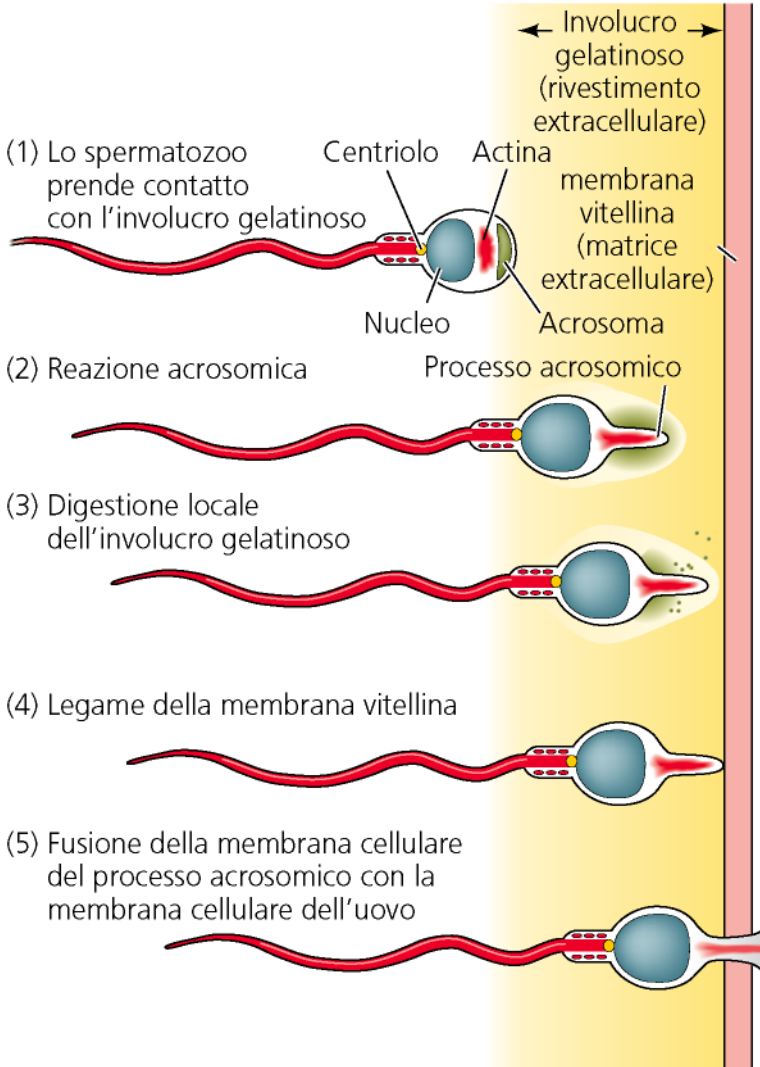
Capacitazione dello spermatozoo

Aumento dell'attività della dineina?

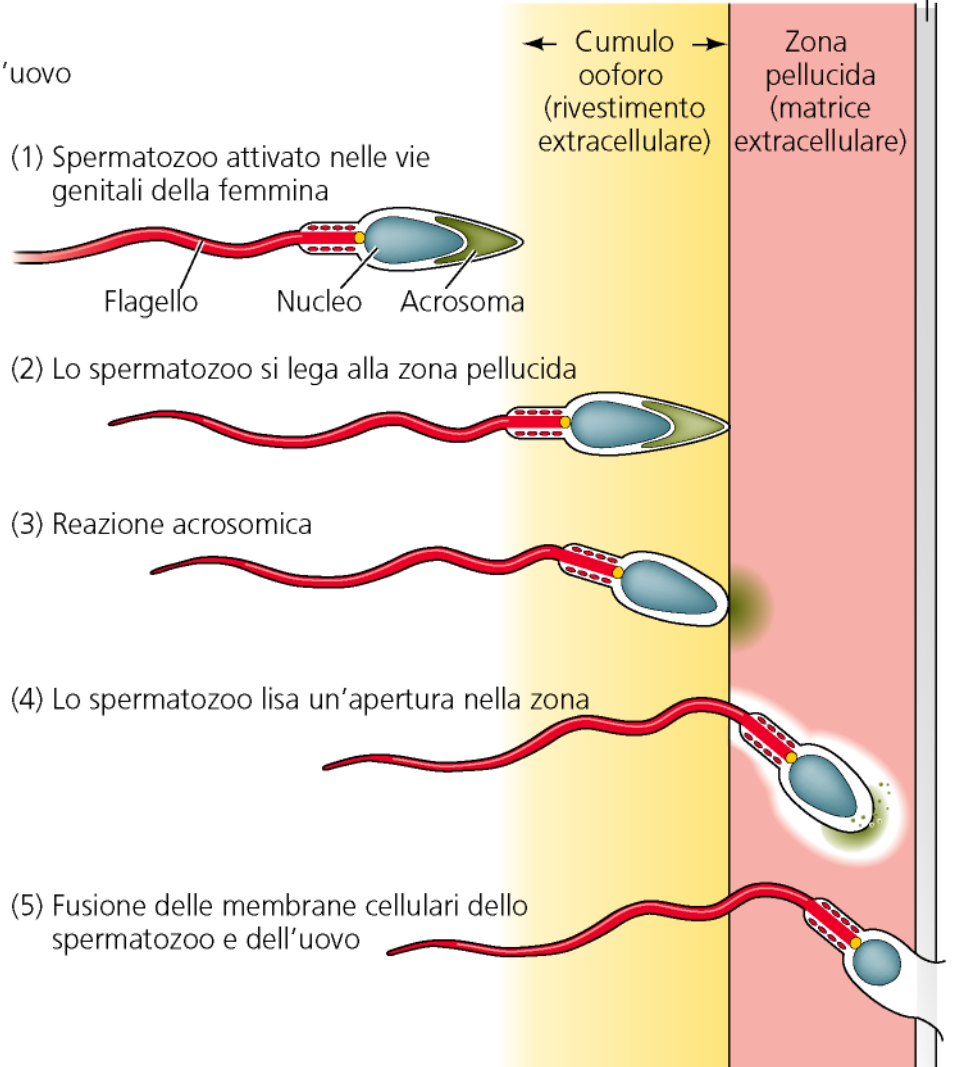
Iperattivazione (lo spermatozoo nuota con aumentata forza e velocità)

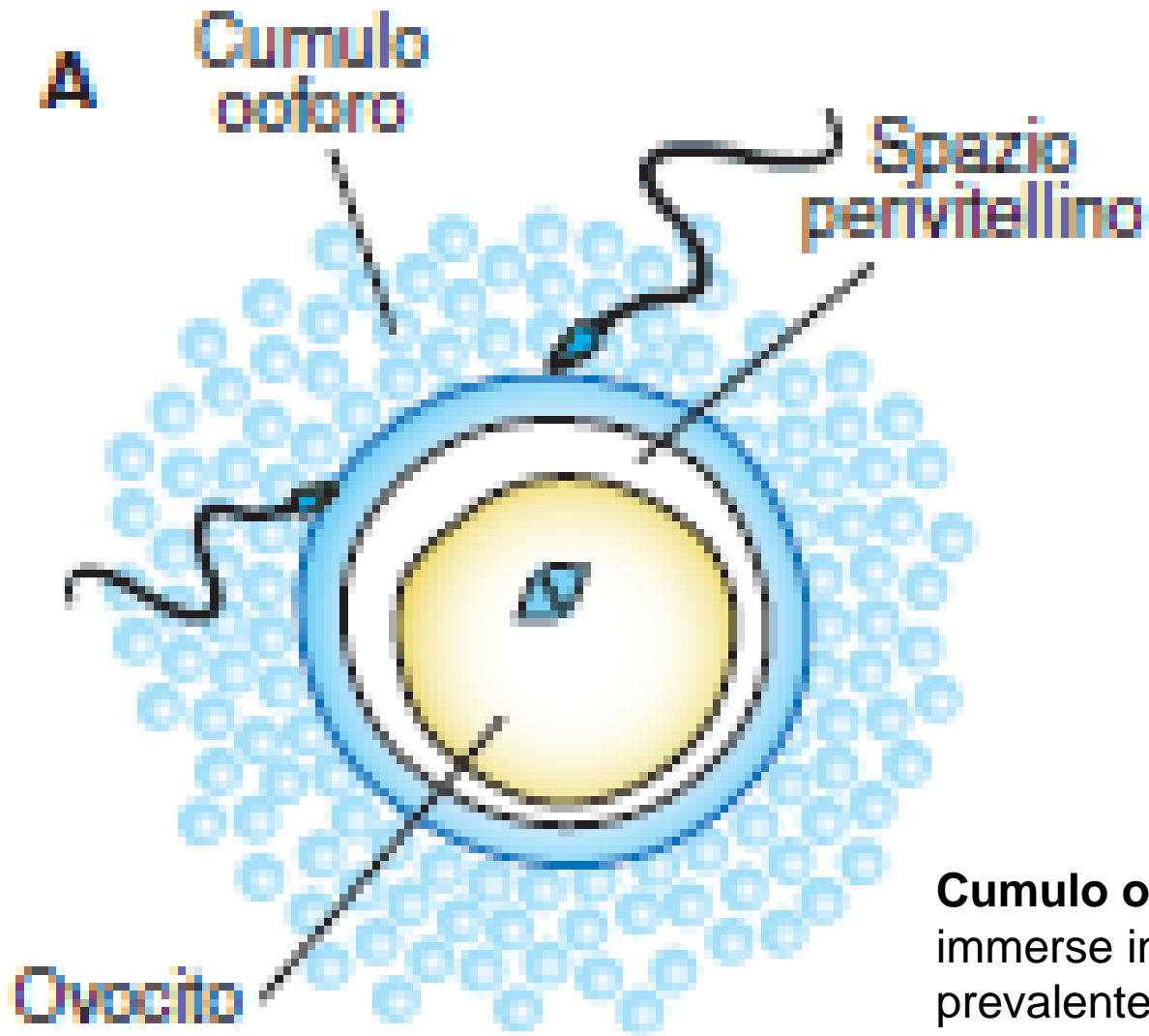
Membrana cellulare dell'uovo

(A) RICCIO DI MARE



(B) TOPO

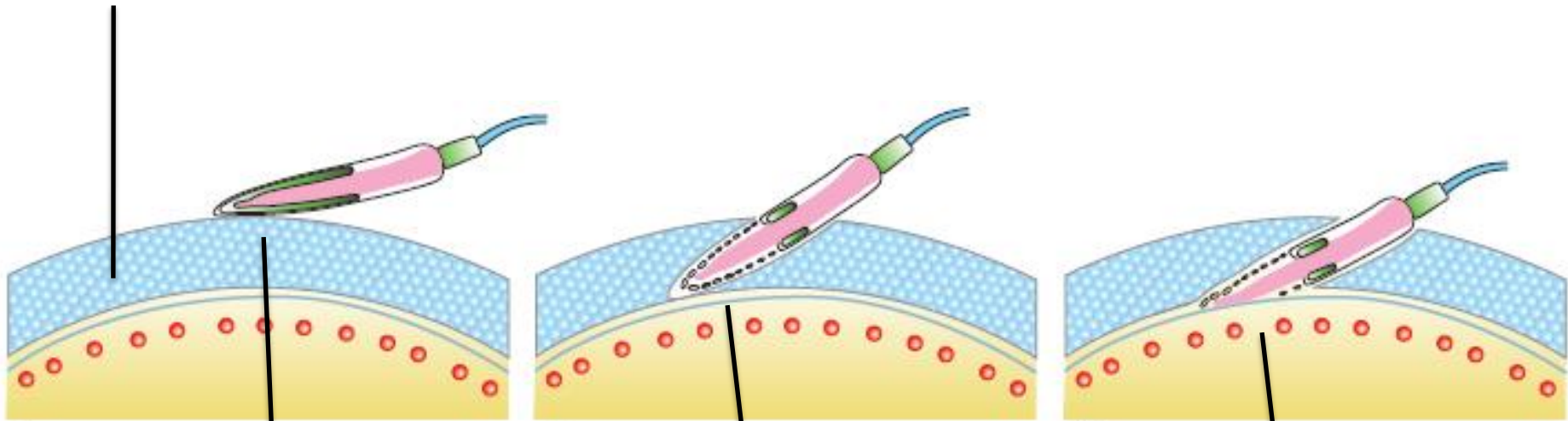




Cumulo ooforo: cellule follicolari immerse in matrice gelatinosa formata prevalentemente da acido ialuronico. Gli spermatozoi l'attraversano mediante il movimento del flagello e ialuronidasi presente sulla loro membrana.

La reazione acrosomica permette allo spermatozoo di attraversare la zona pellucida e venire a contatto con l'uovo

Zona pellucida



A

B

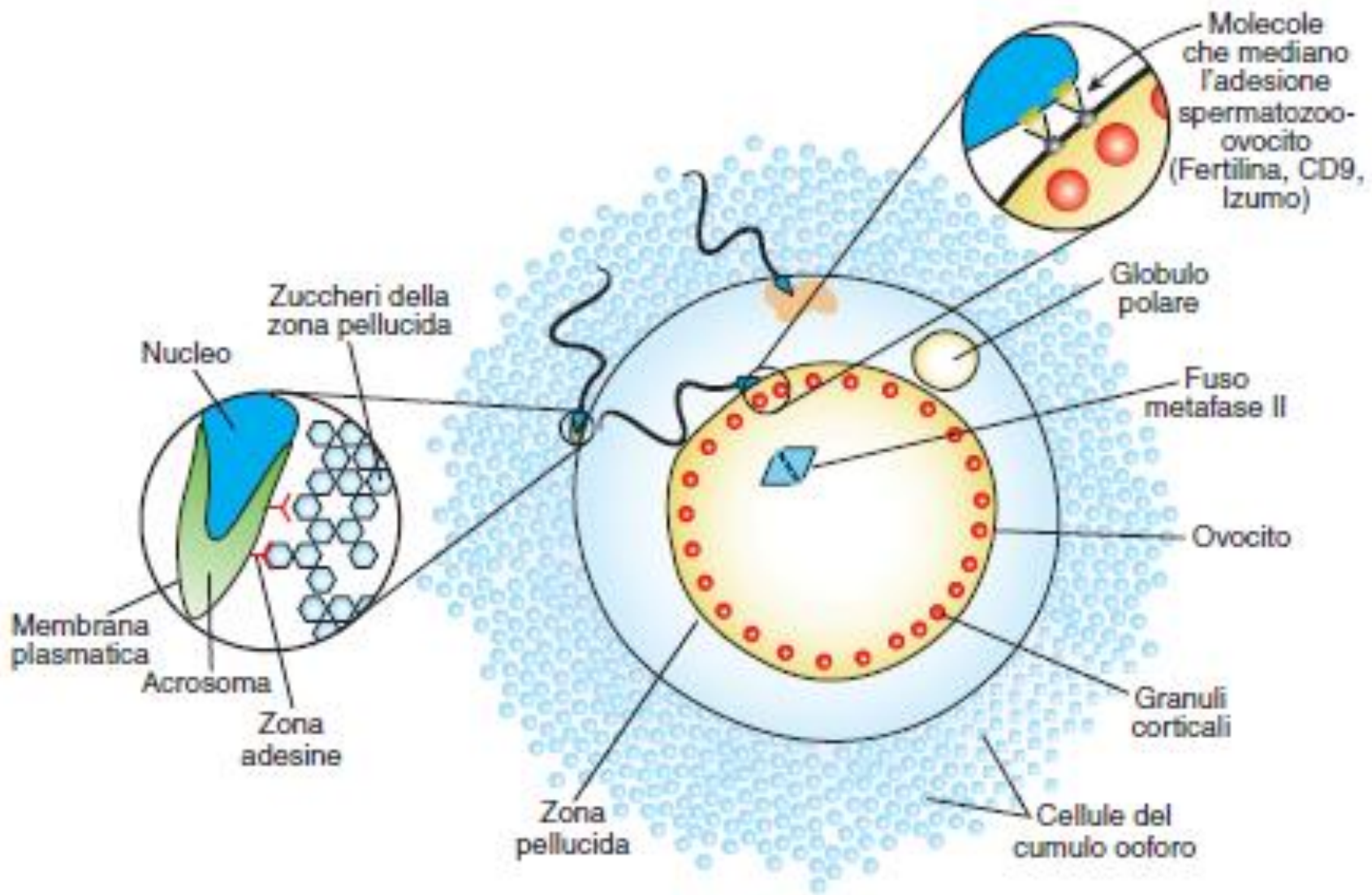
C

Figura 22

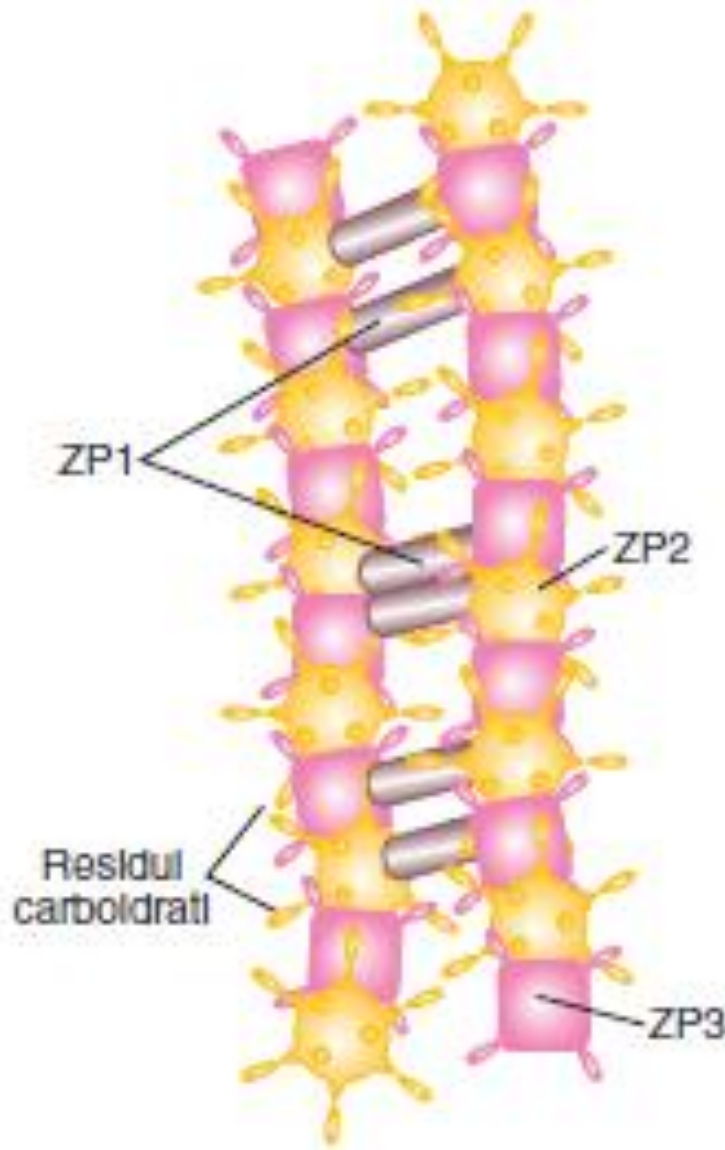
Legame primario
Attivazione reazione
acrosomica

Legame secondario
Attivazione acrosina
e digestione della
zona pellucida

Legame terziario
con la membrana dell'uovo

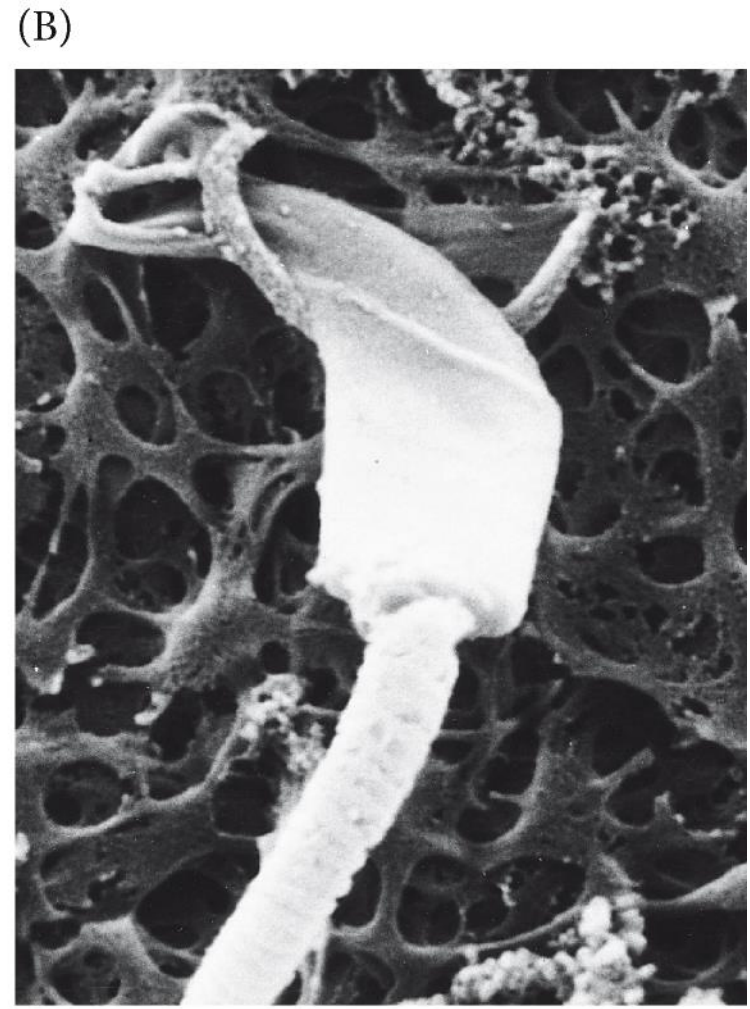
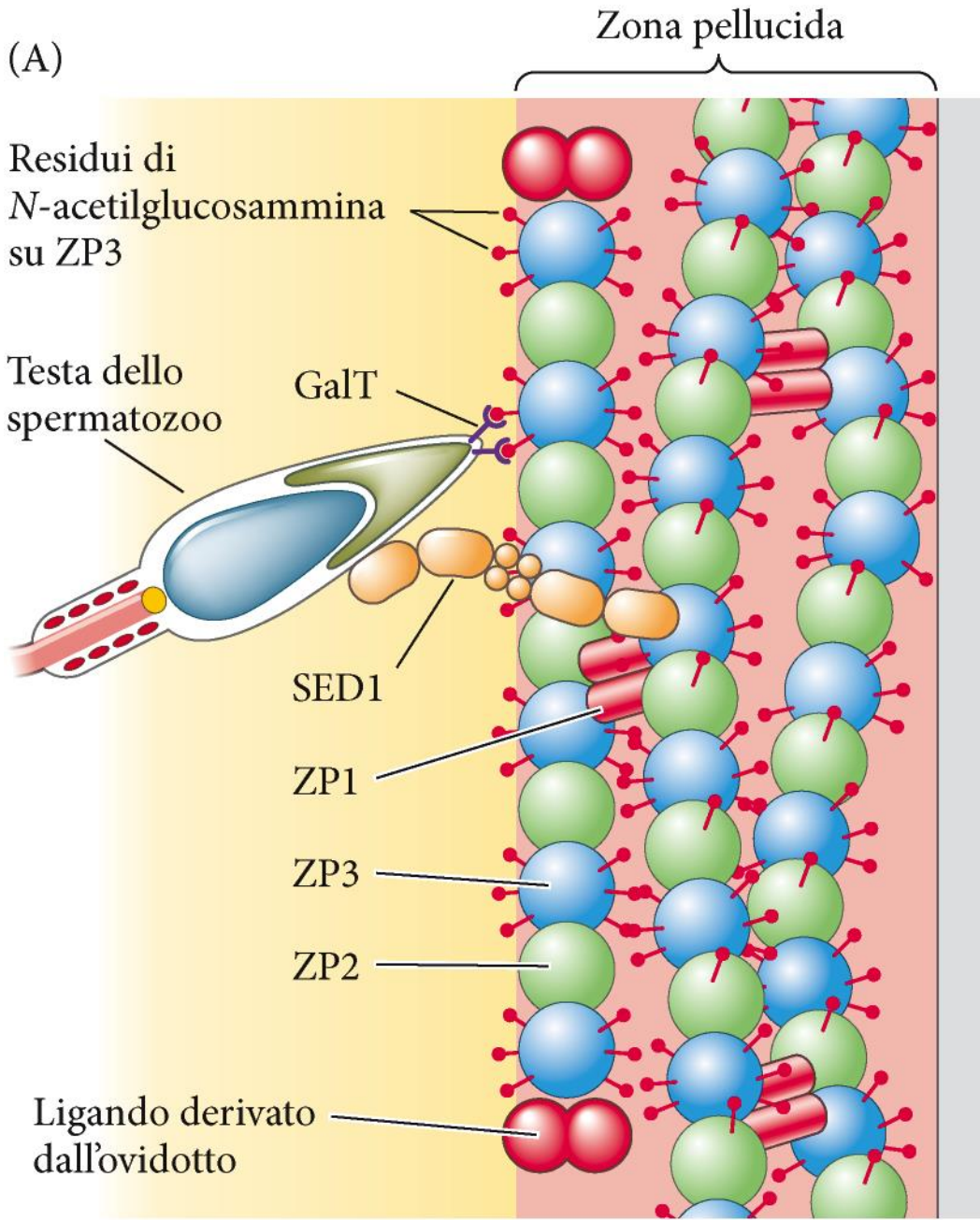


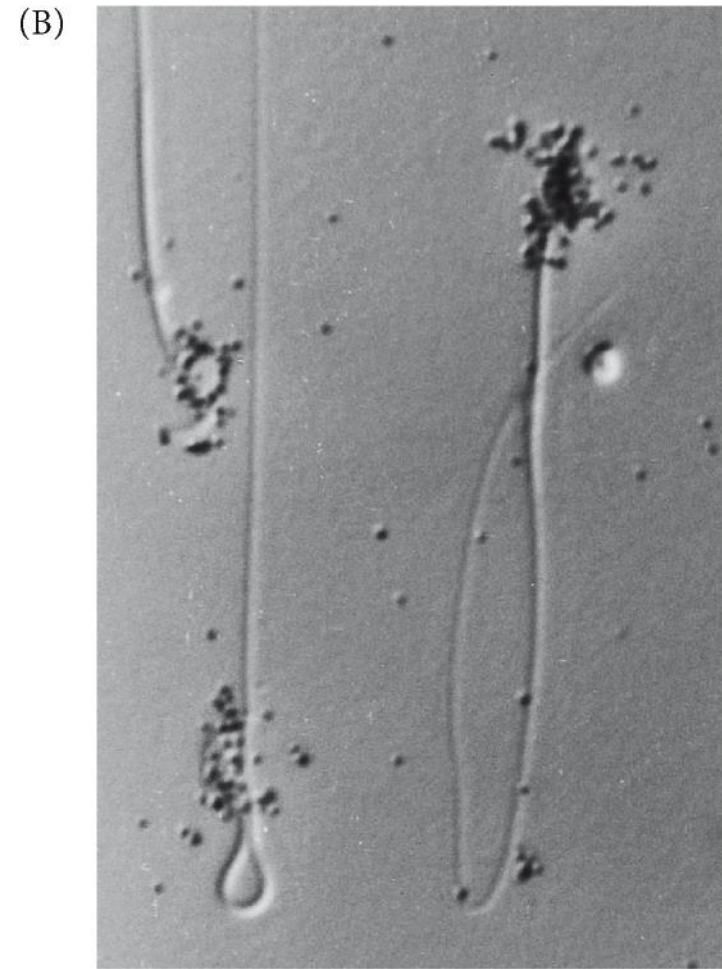
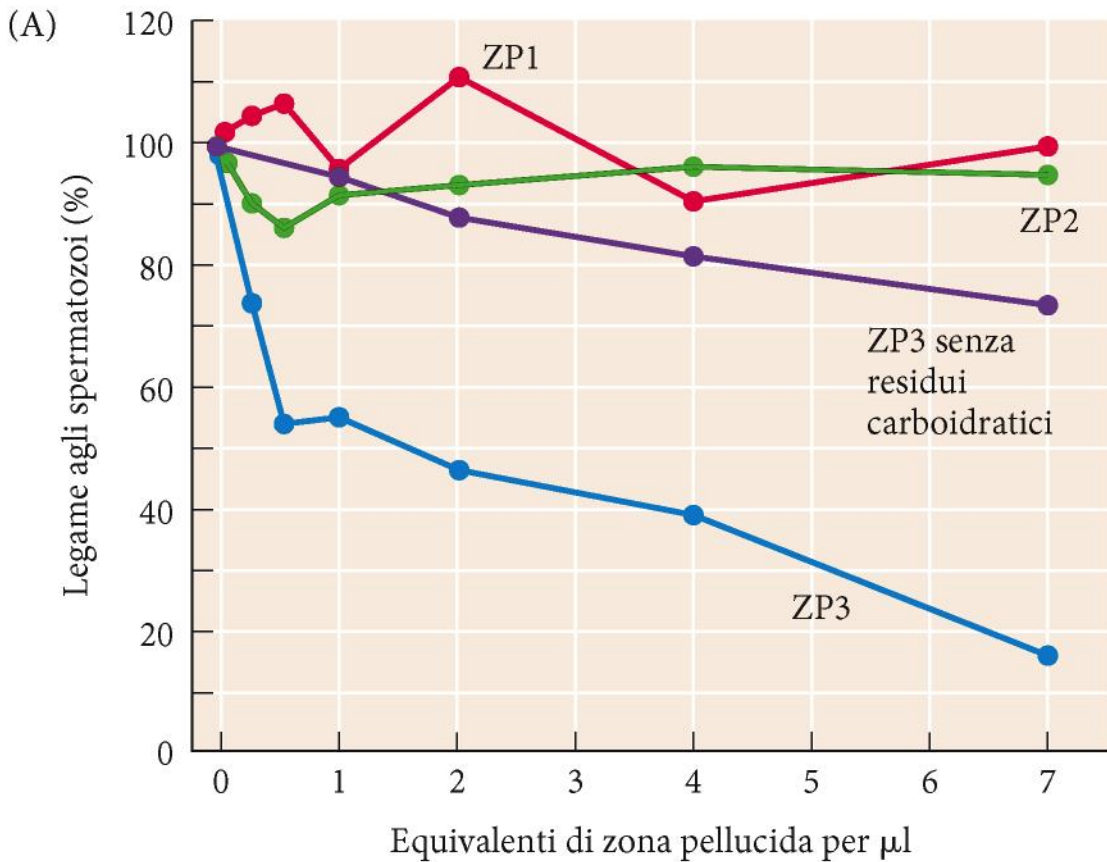
La zona pellucida e' costituita da una rete di filamenti di glicoproteine



Le proteine **ZP2** e **ZP3** sono coinvolte nel legame con la membrana degli spermatozoi che li trattiene nella zona pellucida (legame primario)

Figura 21



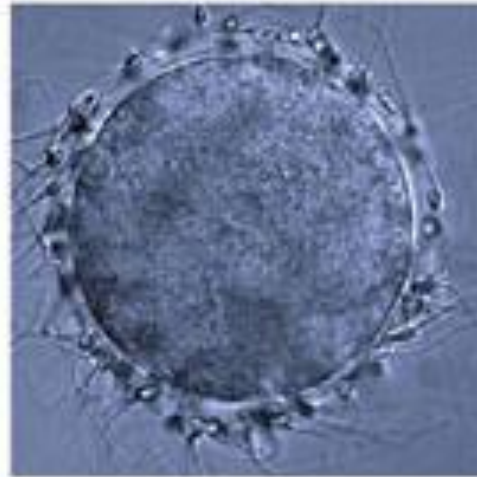


Modello classico dei meccanismi molecolari del legame primario e dell'attivazione della reazione acrosomiale: proteine di membrana degli spermatozoi interagiscono con gruppi glucidi e residui amminoacidici presenti nella ZP3, attivando cascate di trasduzione del segnale nello spermatozoo che portano alla reazione acrosomica.

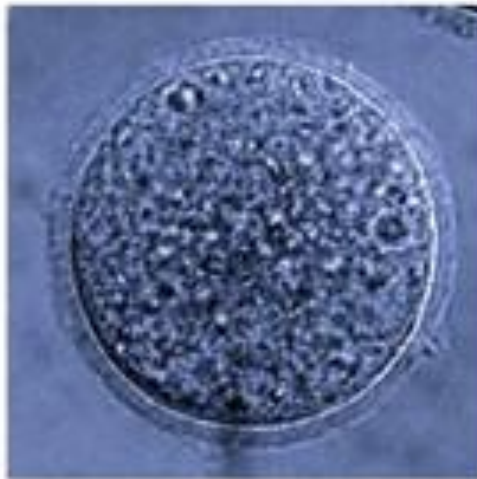
(B)



ZP1



ZP2



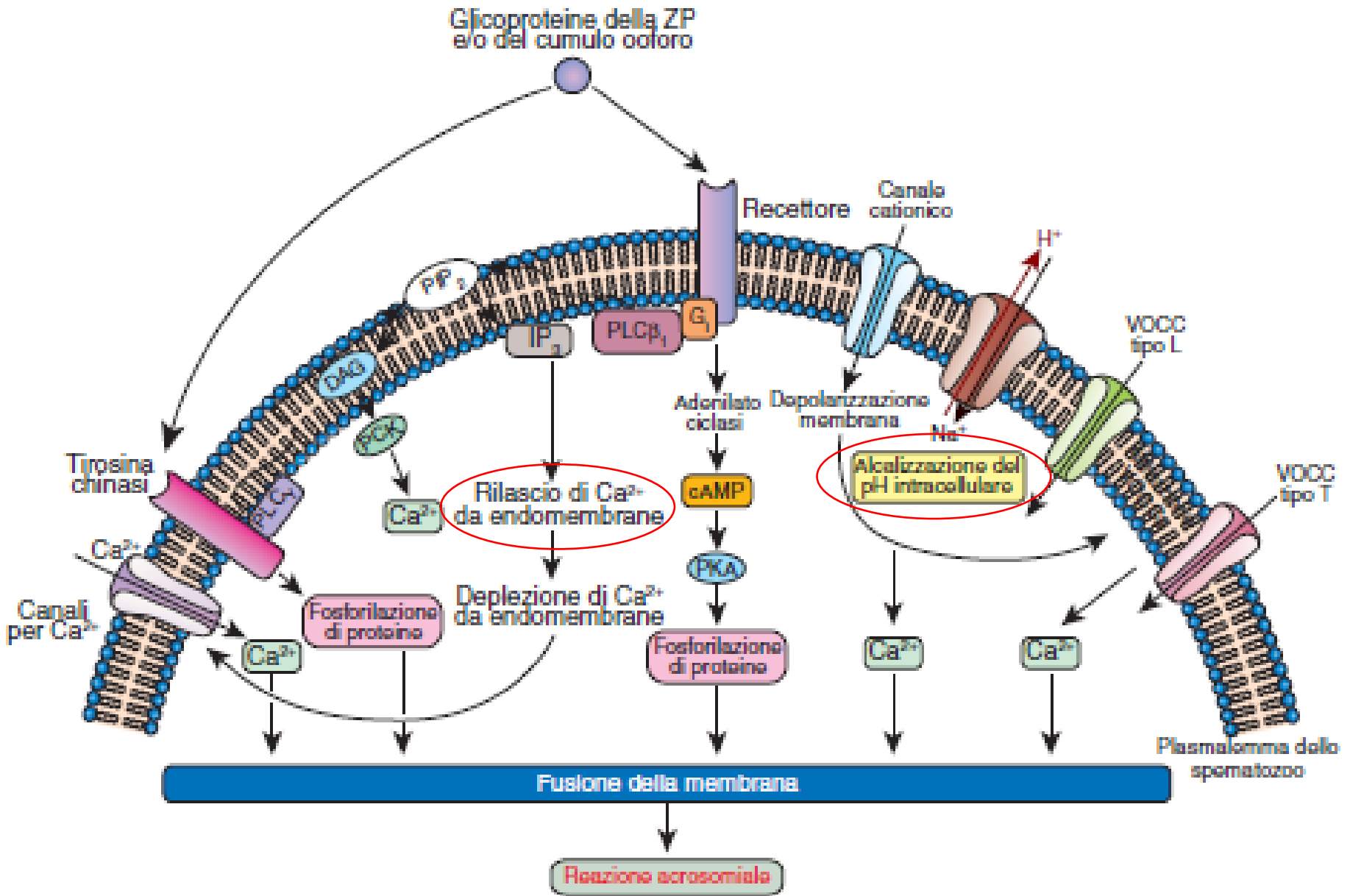
ZP3



ZP4

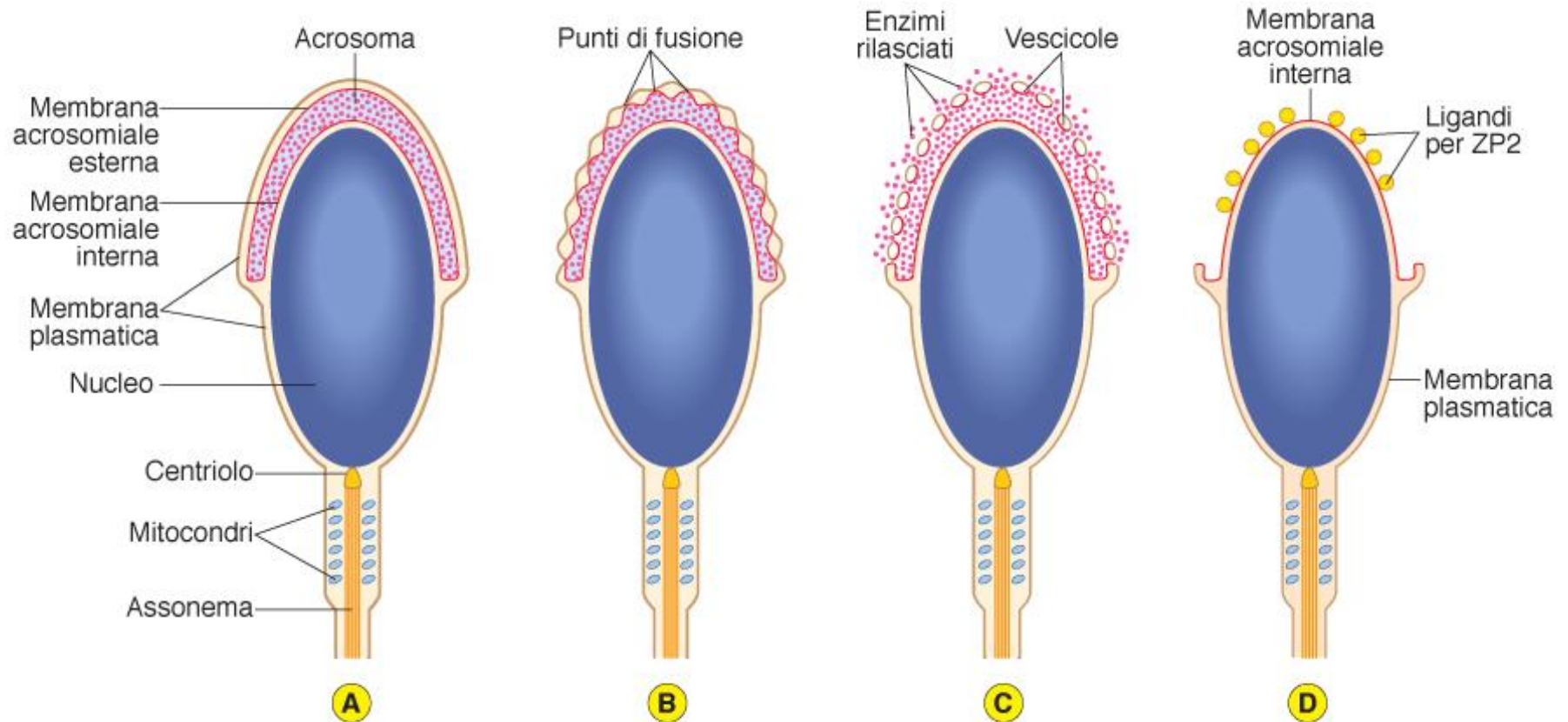
Evidenze recenti suggeriscono che anche la proteina ZP2 svolga un ruolo nel legame primario. Gli spermatozoi umani non legano la zona pellucida di topo. Possono farlo se in essa viene espressa la proteina ZP2 umana, ma non le proteine ZP1, ZP3, ZP4. D'altra parte, uova di topo con mutazioni nella ZP3 possono ancora essere fecondate.

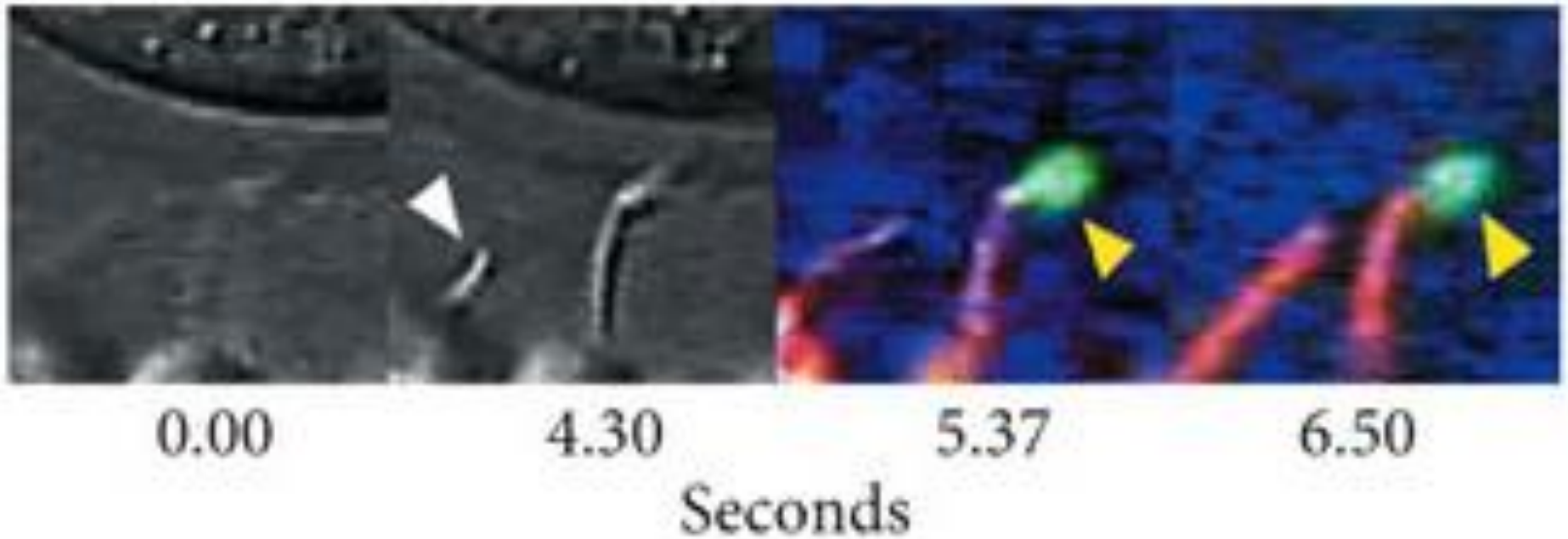
Interazioni biochimiche fra la zona pellucida e gli spermatozoi



Reazione acrosomica negli spermatozoi di mammiferi

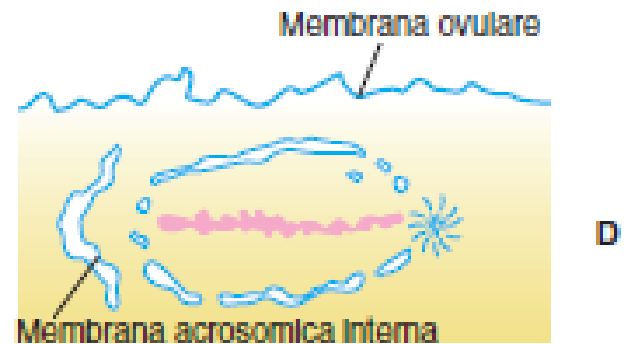
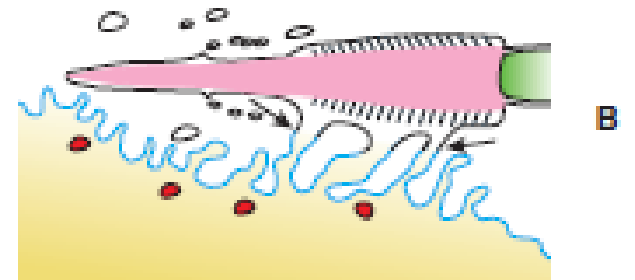
Dall'acrosoma si rilascia **acrosina** che digerisce un passaggio nella zona pellucida. La reazione acrosomiale espone **proteine di legame alla ZP2** nella membrana acrosomiale interna, che mediano il legame secondario alla zona.





Sembrano esistere diversi meccanismi di attivazione della reazione acrosomiale. La reazione acrosomiale può avvenire al livello del cumulo ooforo o al contatto con la zona pellucida.

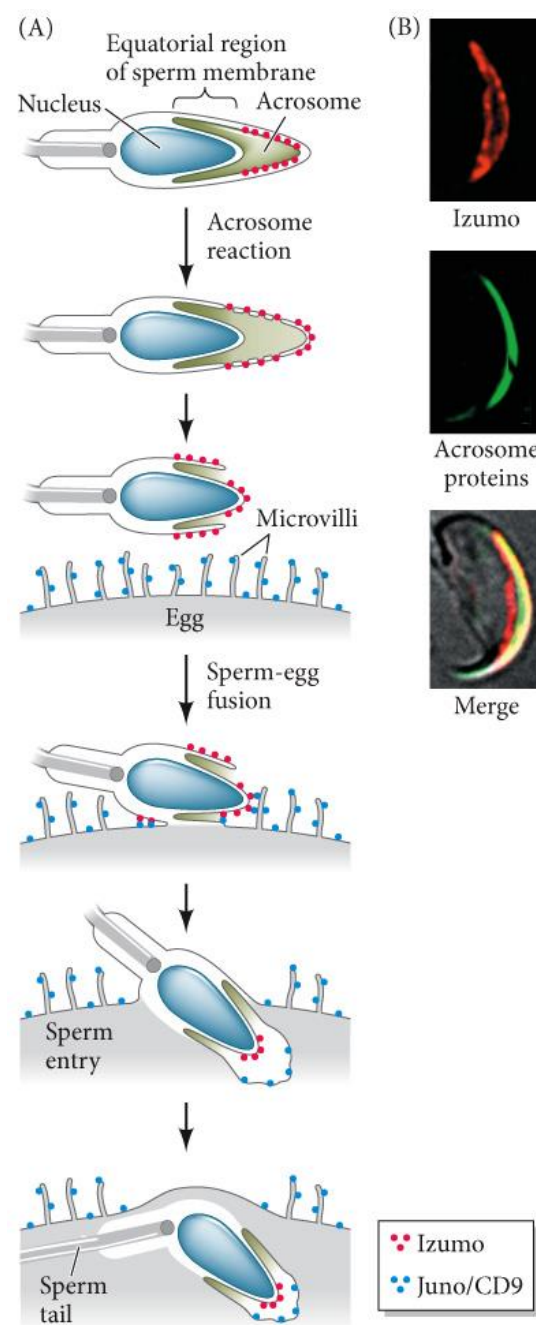
Fasi di fusione dello spermatozoo con l'uovo nei mammiferi



Una proteina simile alle immunoglobuline, **Izumo**, si trova sulla membrana dell'acrosoma e viene localizzata sulla superficie dello spermatozoo in seguito alla reazione acrosomale.

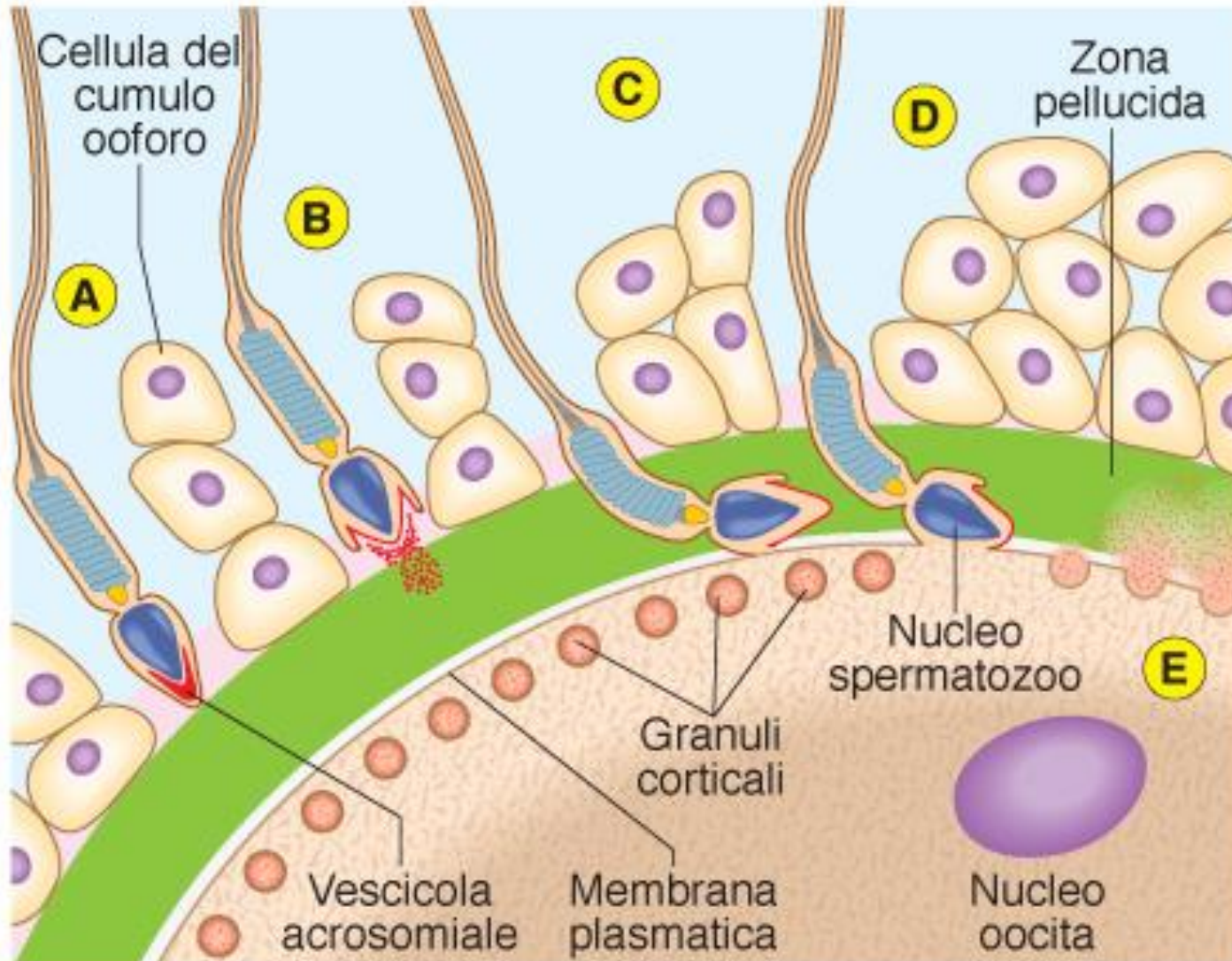
Izumo lega il complesso proteico **Juno/CD9** sui microvilli della membrana dell'uovo, avviando la fusione dei gameti.

Dopo l'ingresso del primo spermatozoo, Juno viene rilasciata dalla membrana impedendo il legame di altri spermatozoi.



Reazioni di blocco della polispermia nei mammiferi

Non si ha reazione di blocco rapido con variazione del voltaggio di membrana
Reazione corticale non solleva la zona pellucida (già distanziata da membrana dell'uovo), ma porta a **reazione della zona**: modificazione della zona pellucida che impedisce l'ingresso nell'uovo di altri spermatozoi.

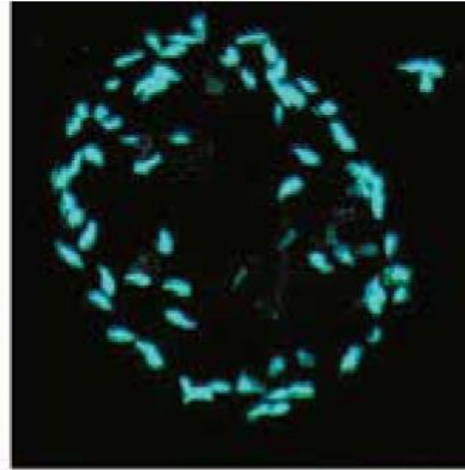
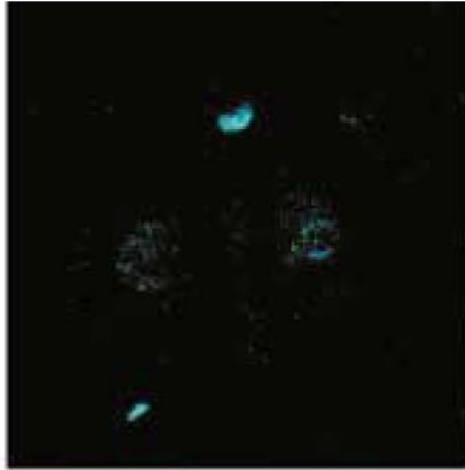
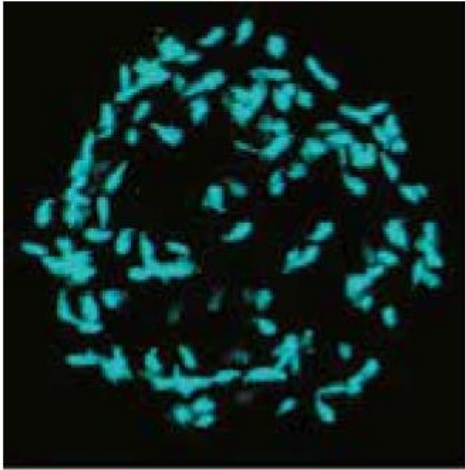


Uovo $ZP2^{Mut}$

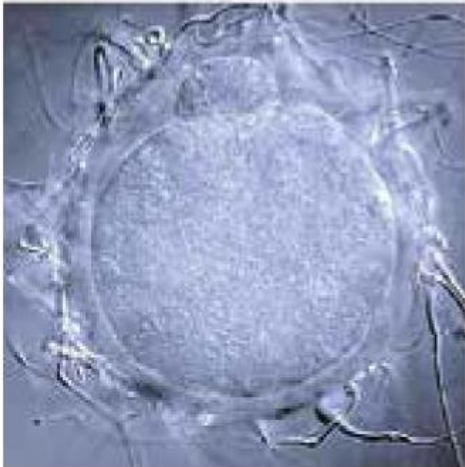
$ZP2^{Mut}$ egg

Stadio a 2
blastomeri normale

Stadio a 2
blastomeri $ZP2^{Mut}$

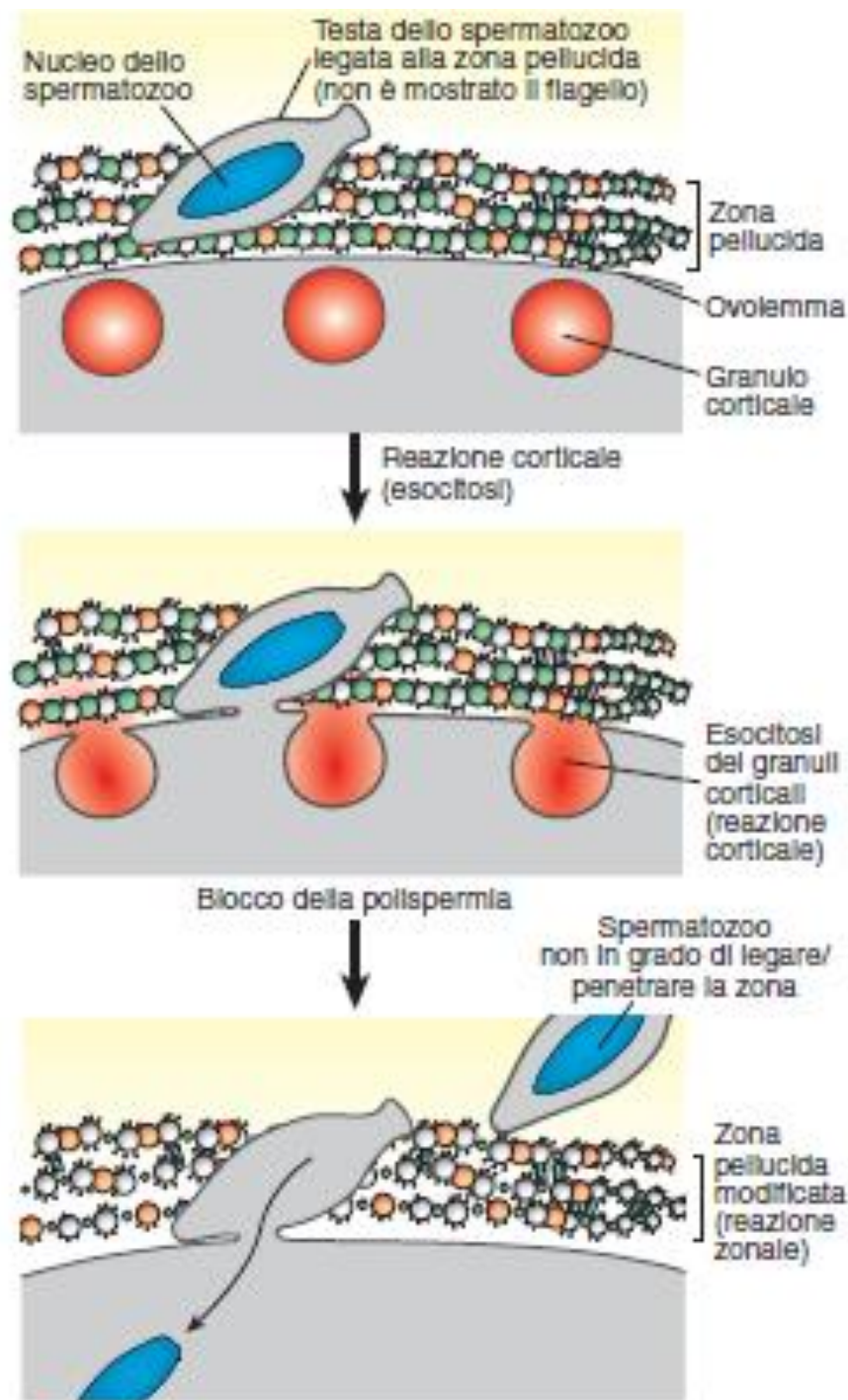


Nuclei degli
spermatozoi

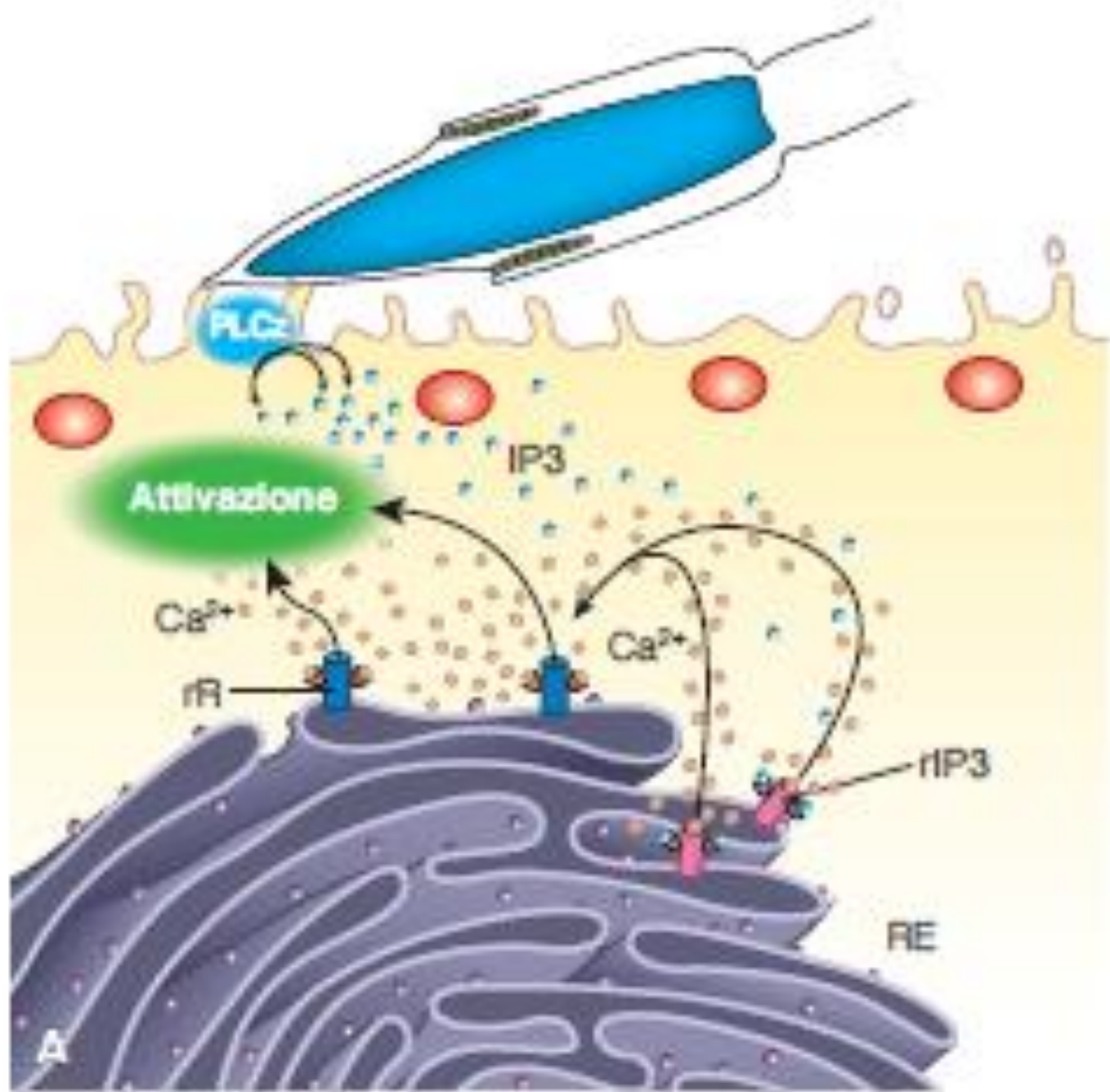


Code degli
spermatozoi

Modello classico: rimozione siti di legame agli spermatozoi in ZP2 e ZP3 da parte di proteasi ovastacina causa distacco di spermatozoi già legati e impedisce il legame di altri spermatozoi.



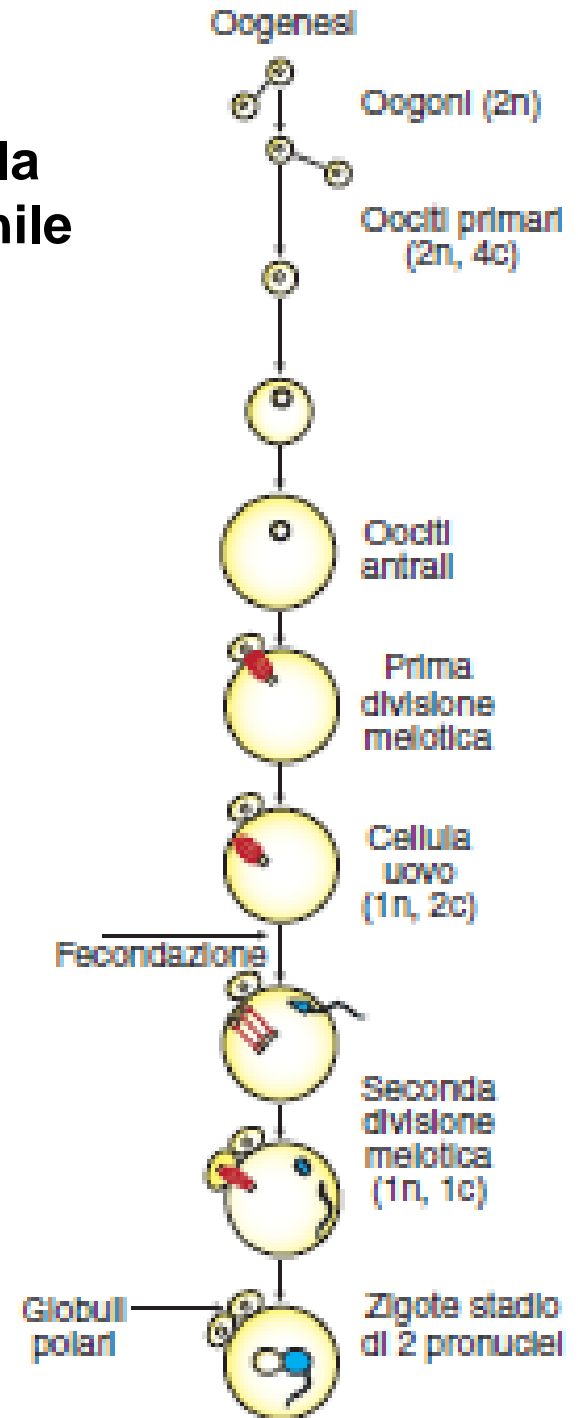
Modello alternativo: reazione della zona modifica la zona pellucida impedendo non tanto il legame degli spermatozoi ad essa, quanto la capacità di attraversarla.

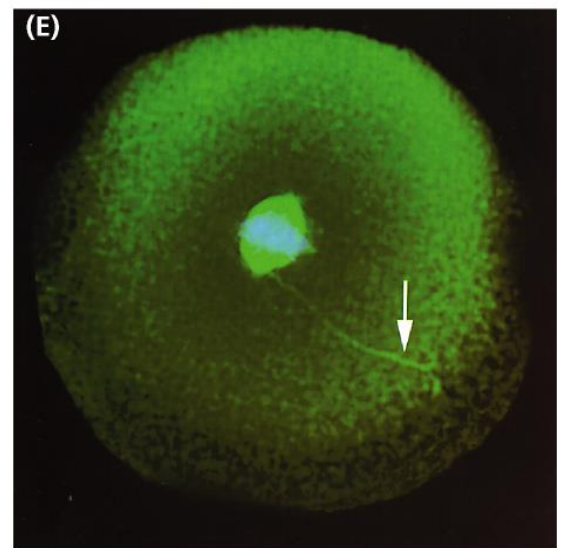
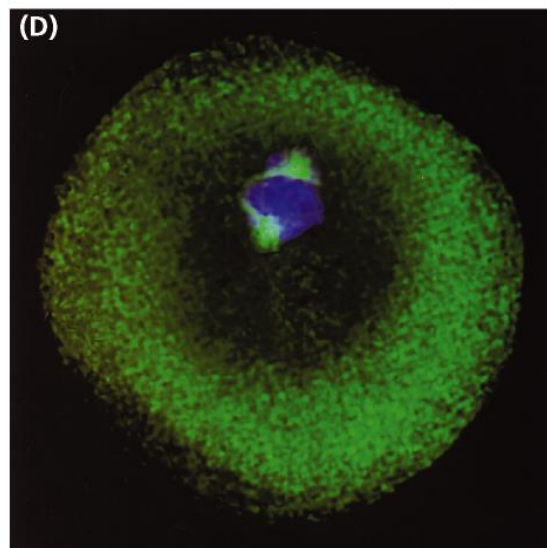
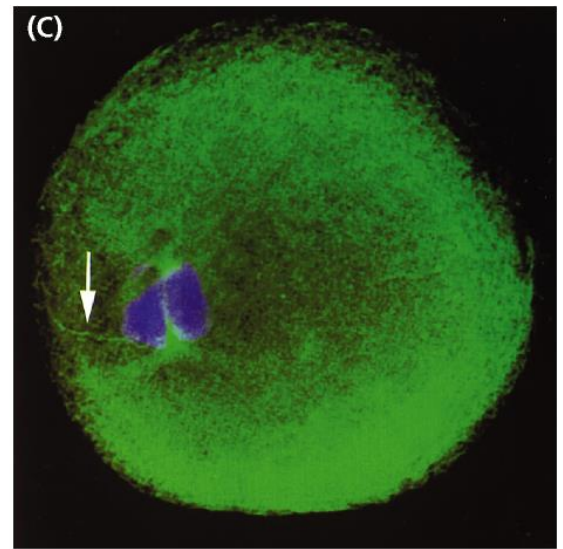
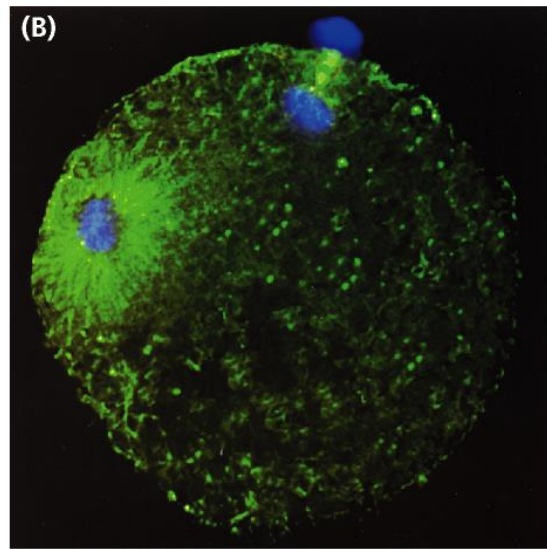
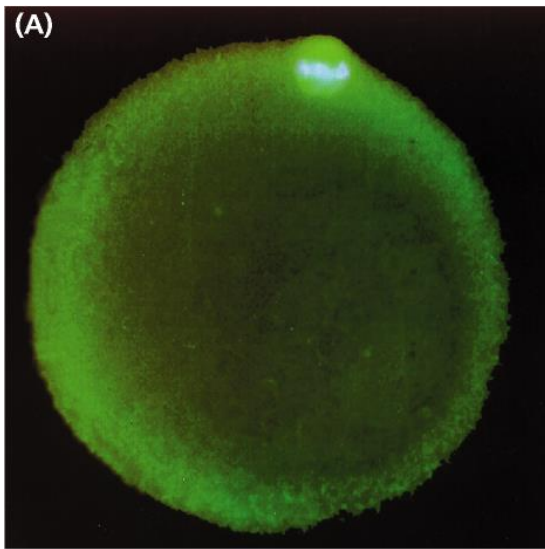


Il pronucleo femminile deve completare la meiosi prima di unirsi al pronucleo maschile



Figura 23





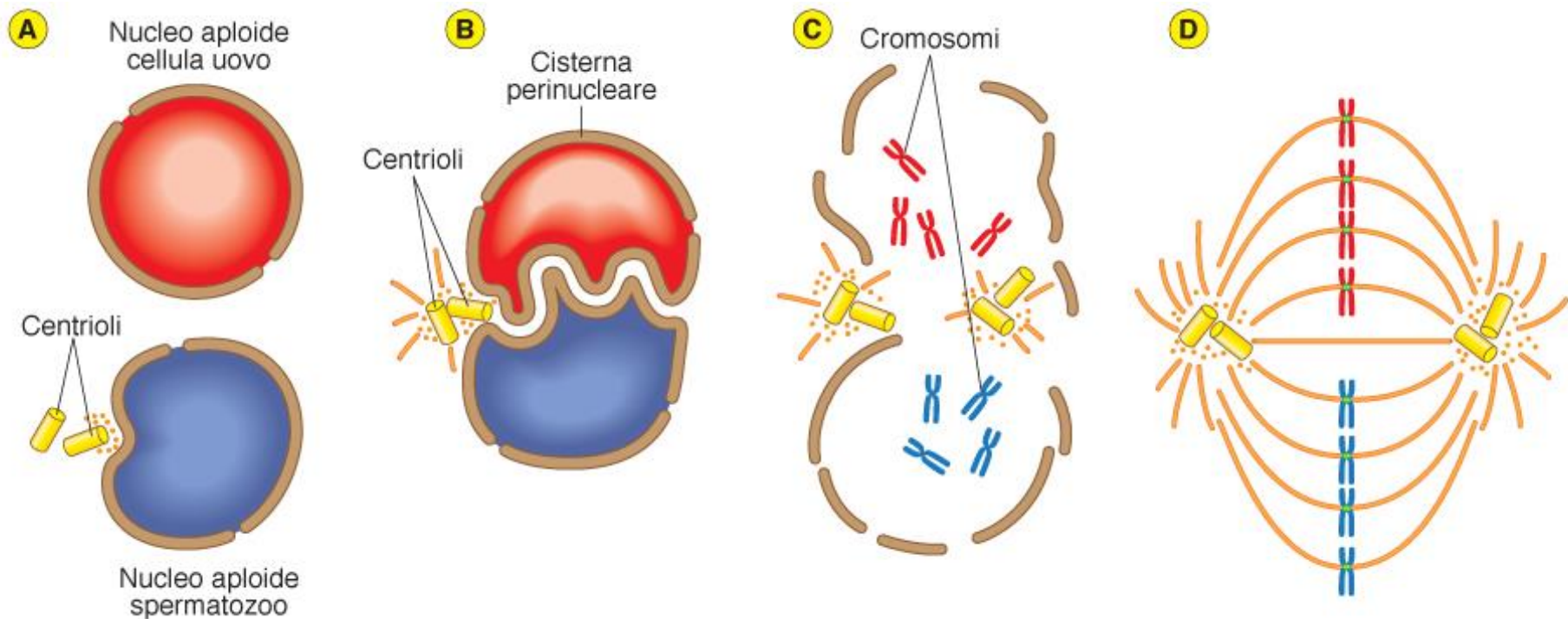


FIGURA 7.19

Rappresentazione schematica della fusione dei pronuclei maschile e femminile nei Mammiferi. **A)** Lo spermatozoo fornisce all'ovocita il nucleo e i centrioli e attiva l'ovocita secondario che completa la meiosi II. Nel frattempo i due pronuclei rimangono separati. **B)** Successivamente i pronuclei migrano verso il centro dell'uovo e, quando si avvicinano, i loro involucri nucleari si interdigitano. In

questa fase il DNA si duplica. **C)** Segue la duplicazione dei centrosomi, la disgregazione degli involucri nucleari e la condensazione della cromatina. **D)** I cromosomi di entrambi i gameti si allineano sulla piastra metafisica di un solo fuso mitotico, che organizza la prima divisione di segmentazione dello zigote.

- Nei Mammiferi \Rightarrow
- la fusione dei pronuclei dura circa 12 ore
 - cromatina del pronucleo maschile si decondensa
 - Pronucleo femminile completa la meiosi

- 1) migrazione dei due pronuclei e duplicazione del DNA
- 2) Rottura delle membrane nucleari
- 3) Cromatina si condensa in cromosomi i quali si orientano nella regione equatoriale e contattano il fuso mitotico

- a) Manca una reale fusione del materiale genico proveniente dai due gameti dopo la fecondazione
- b) Il nucleo zigotico è realmente visibile solo dopo la prima divisione**

Centrioli sono in alcune specie di origine paterna, l'uovo perde i suoi durante la meiosi. I mitocondri sono solo di origine materna, quelli paterni vengono distrutti (studi recenti indicano parziale trasmissione dei mitocondri paterni alla progenie).