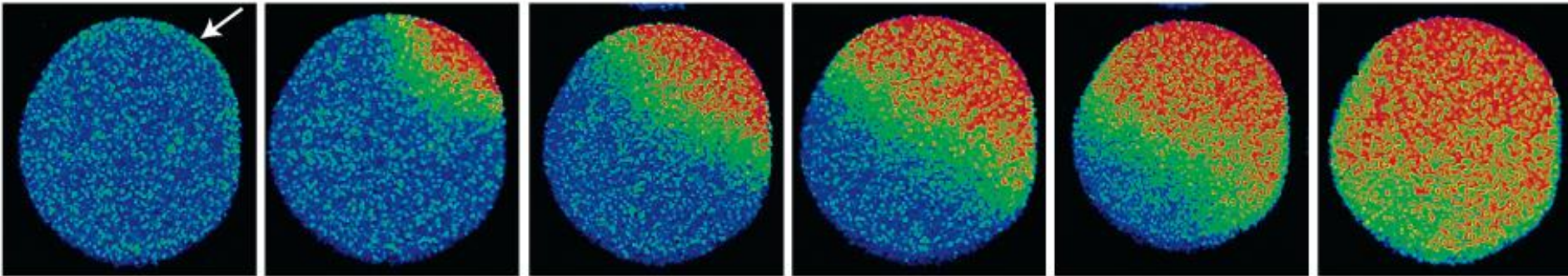


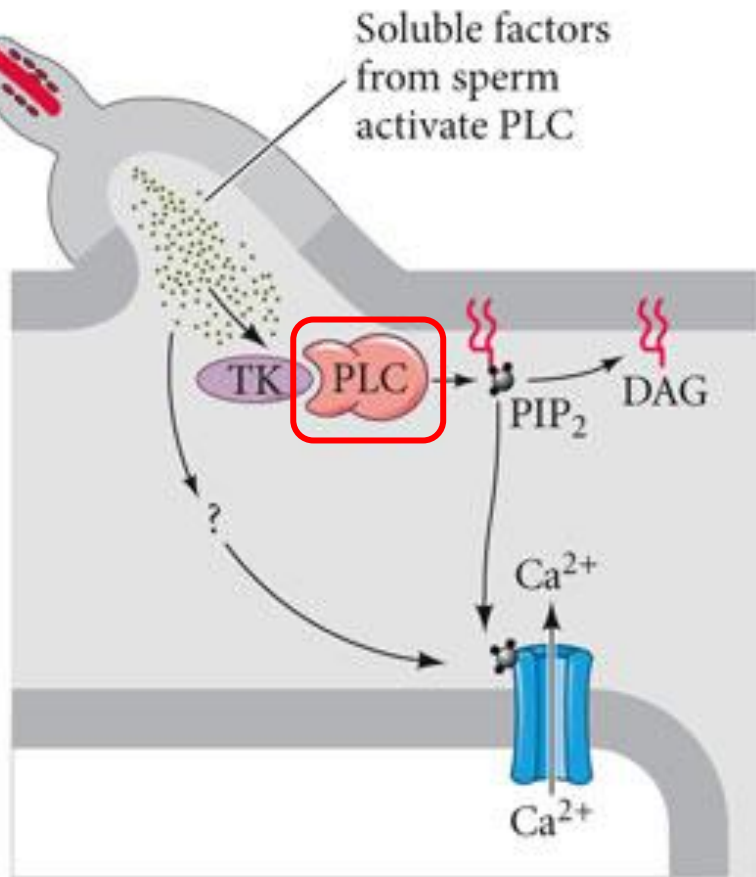
Effetti metabolici della fecondazione nell'uovo di riccio di mare

- **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**.

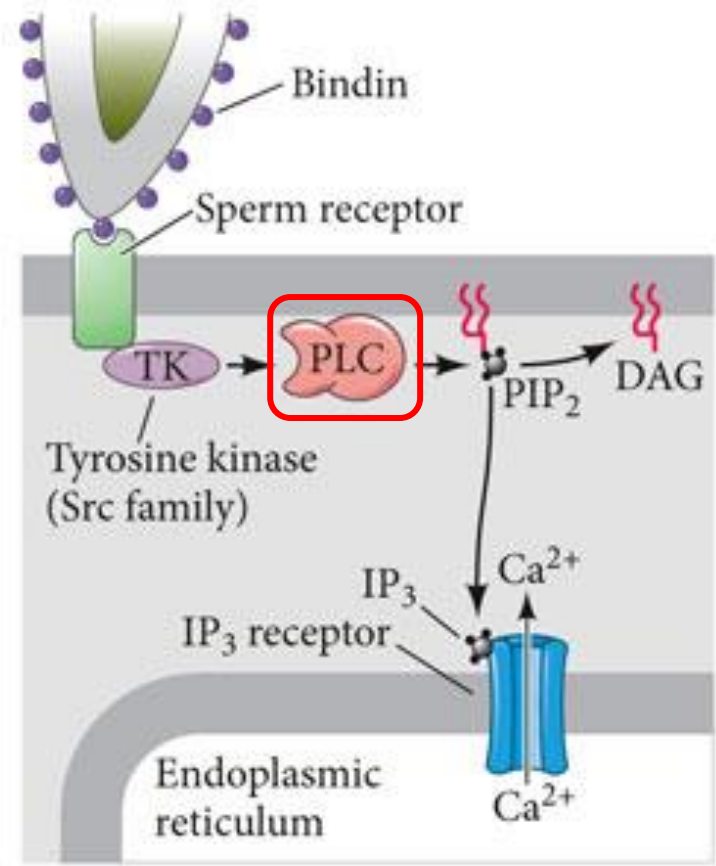


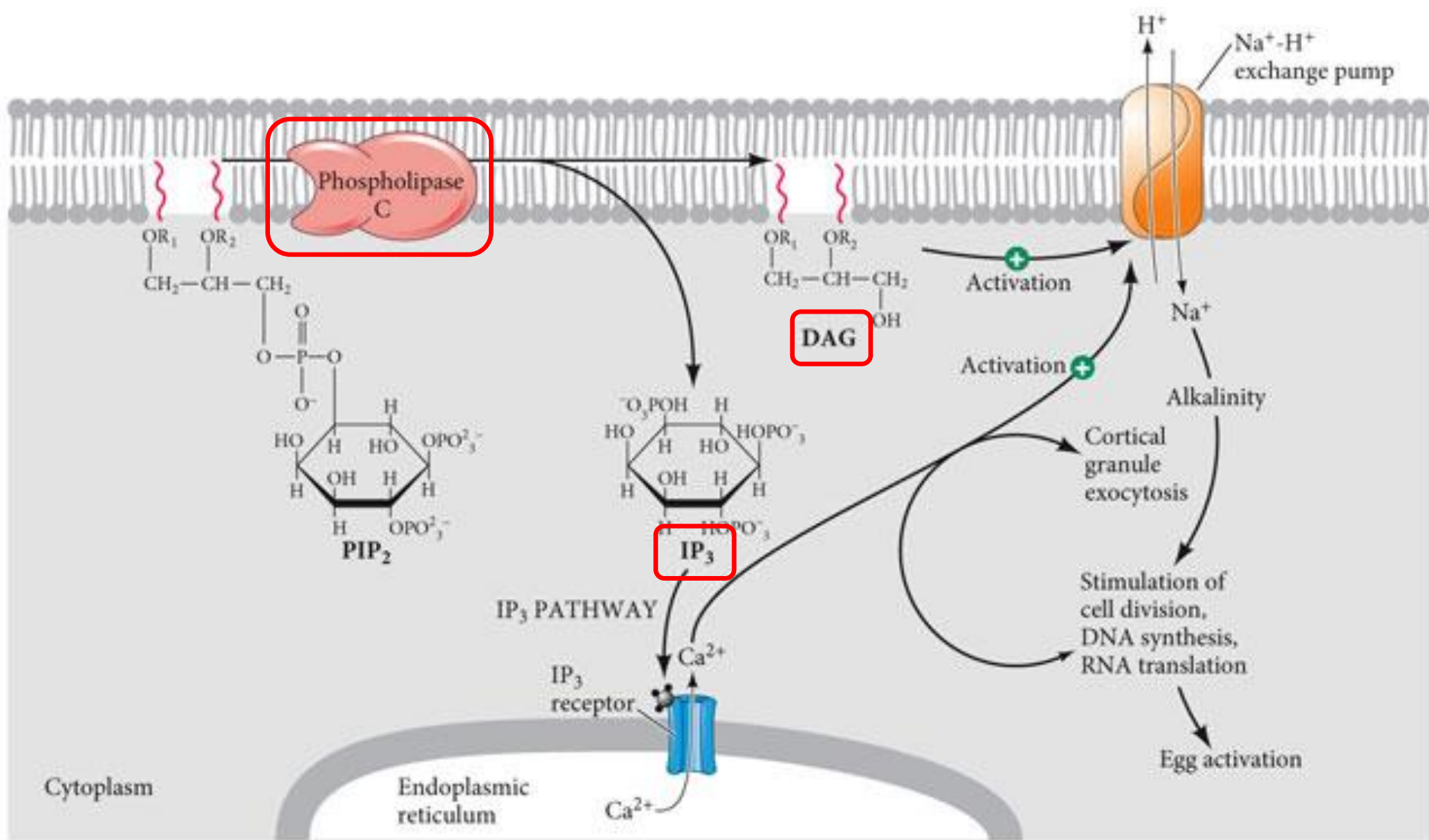
15 μm

(A) ACTIVATION AFTER GAMETE MEMBRANE FUSION



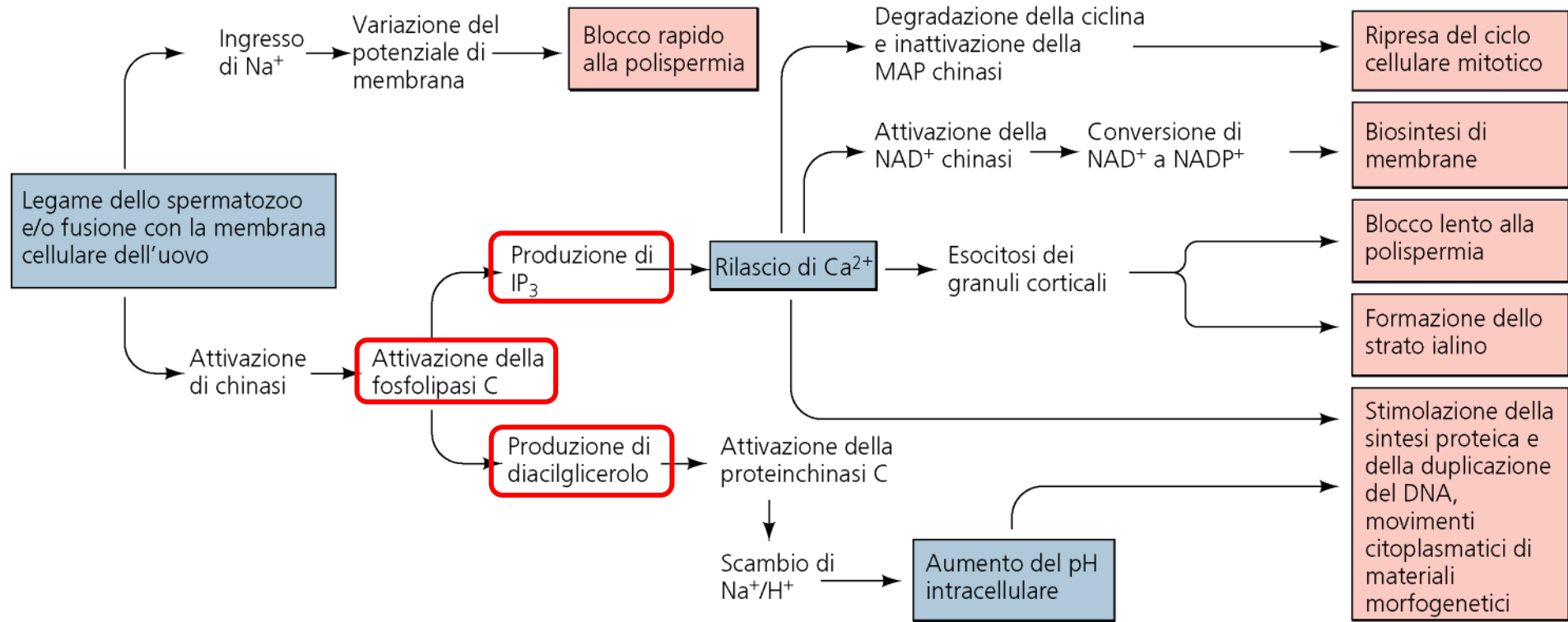
(B) ACTIVATION PRIOR TO GAMETE FUSION





DEVELOPMENTAL BIOLOGY 11e, Figure 7.21
 © 2016 Sinauer Associates, Inc.

IP_3 : inositolo-tri-fosfato \rightarrow apertura canali per il Calcio
 DAG: diacilglicerolo \rightarrow attivazione trasportatore Na^+/H^+



pH 6.8

pH 7.2

mRNA
accumulati
durante
l'ovogenesi e
tradotti dopo la
fecondazione

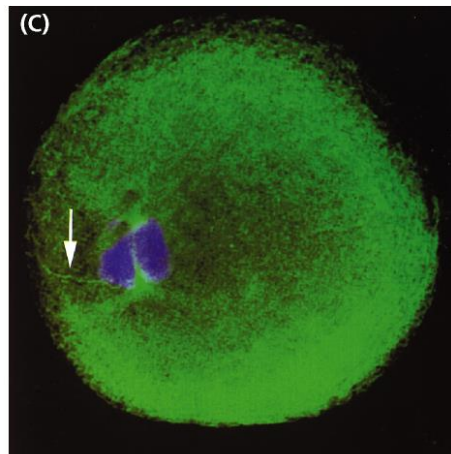
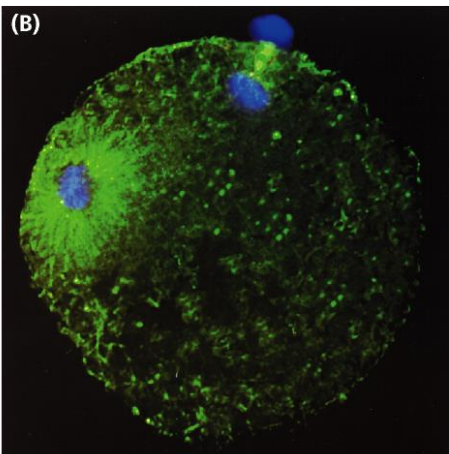
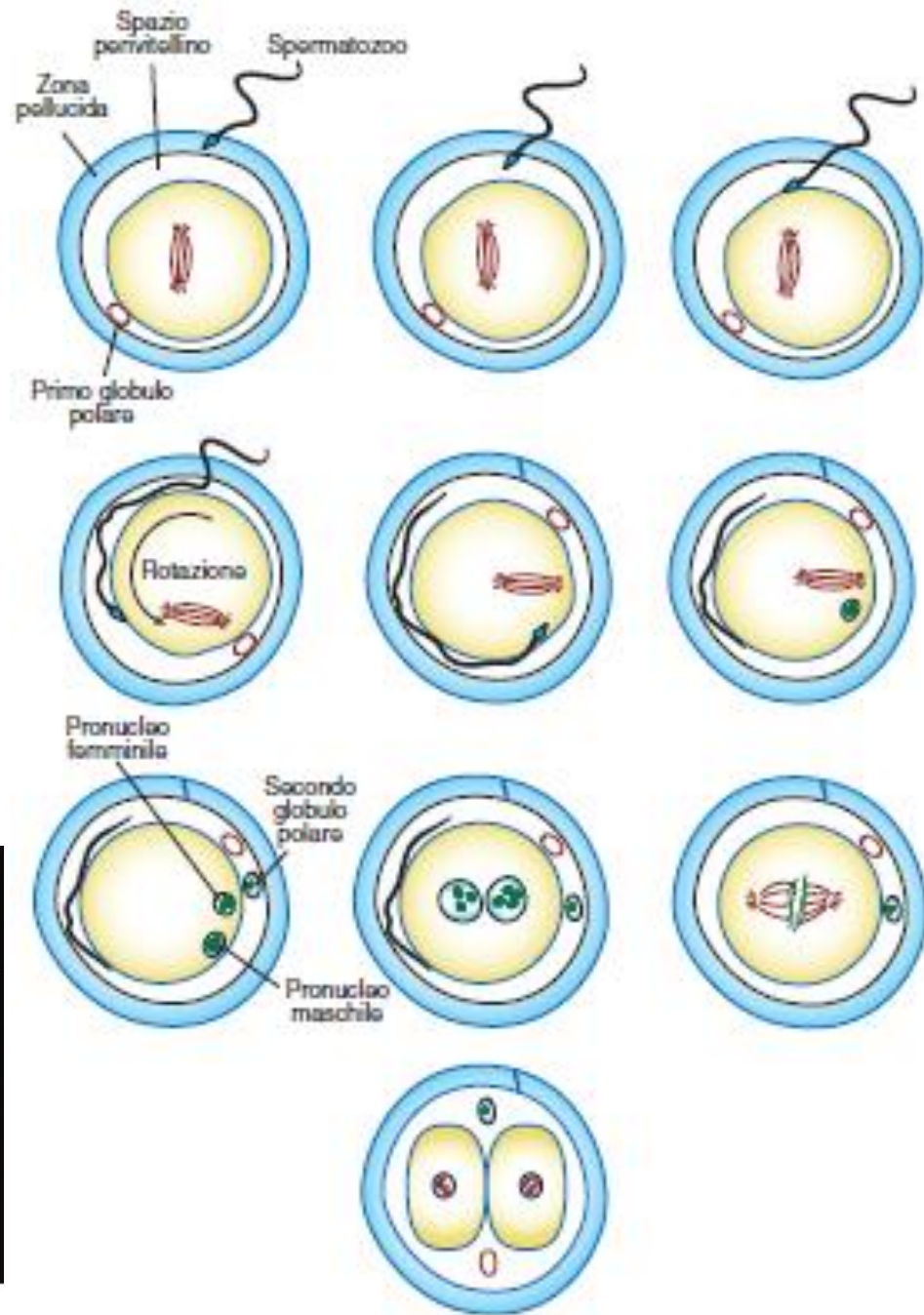
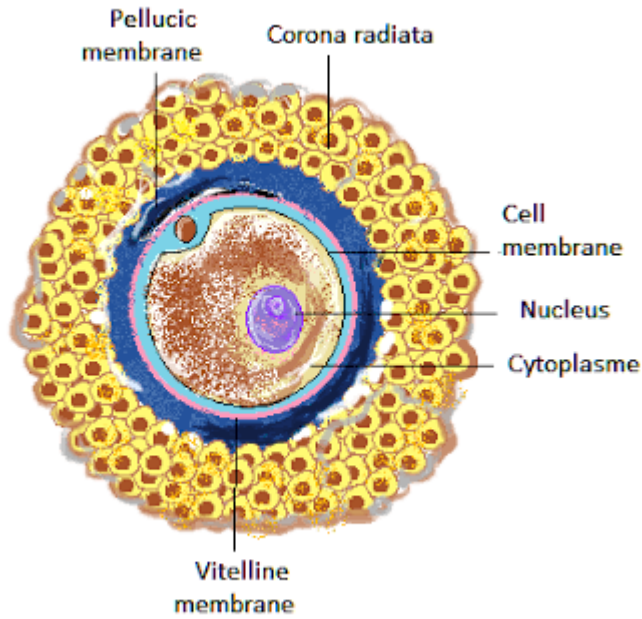
Tabella 13.4 Alcuni mRNA che vengono accumulati nel citoplasma degli oociti e tradotti al momento della fecondazione o poco prima

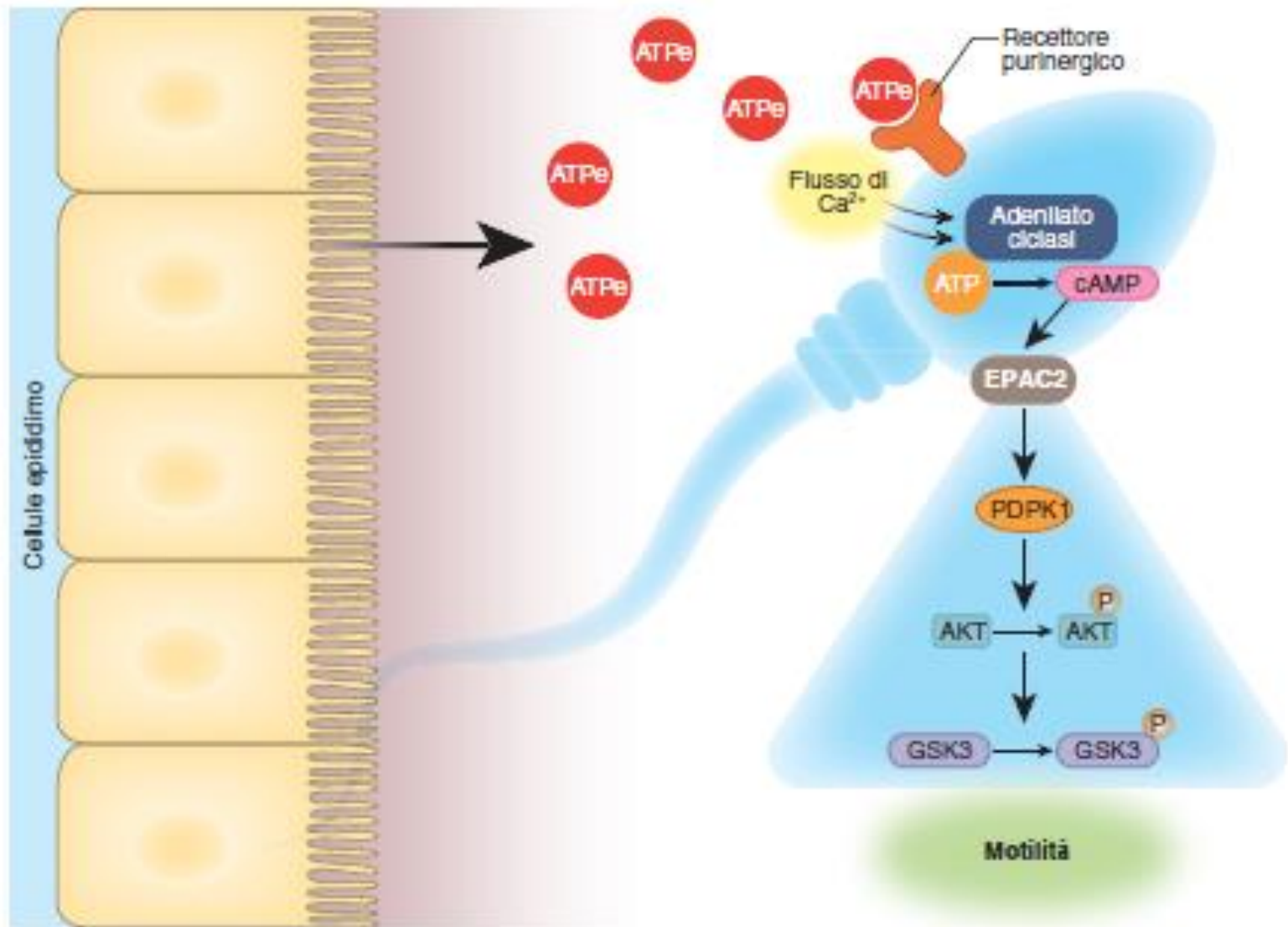
| Prodotti dell'mRNA | Funzioni | Organismi |
|--|--|--|
| → Cicline | Regolazione della divisione cellulare | Riccio di mare, mollusco bivalve, stella di mare, rana |
| → Actina | Movimento cellulare e contrazione | Topo, stella di mare |
| → Tubulina | Forma fusi mitotici, ciglia e flagelli | Mollusco bivalve, topo |
| Subunità minore della ribonucleotide reductasi | Sintesi di DNA | Stella di mare, mollusco bivalve, riccio di mare |
| Ipoxantina fosforibosil-transferasi | Sintesi di purine | Topo |
| Vg1 | Determinazione del mesoderma (?) | Rana |
| → Istoni | Formazione della cromatina | Riccio di mare, rana, mollusco bivalve |
| Caderine | Adesione dei blastomeri | Rana |
| Metalloproteinasi | Impianto in utero | Topo |
| Fattori di crescita | Crescita cellulare; crescita cellule uterine (?) | Topo |
| Fattore di determinazione sessuale fem-3 | Formazione spermatozoi | <i>C. elegans</i> |
| Prodotti del gene <i>par</i> | Determinanti della segregazione morfogenetica | <i>C. elegans</i> |
| Proteina <i>skn-1</i> | Determinazione del destino dei blastomeri | <i>C. elegans</i> |
| Morfogeno bicoid | Determinazione del destino del polo anteriore | <i>Drosophila</i> |
| Morfogeno nanos | Determinazione del destino del polo posteriore | <i>Drosophila</i> |
| Proteina germ cell-less | Determinazione delle cellule germinali | <i>Drosophila</i> |
| Proteina oskar | Localizzazione delle cellule germinali | <i>Drosophila</i> |
| Ornitina transcarbamilasi | Ciclo dell'urea | Rana |
| Fattore di allungamento 1a | Sintesi proteica | Rana |
| Proteine ribosomiali | Sintesi proteica | Rana, <i>Drosophila</i> |

Fonti: compilata utilizzando numerose fonti, incluso Raff, 1980; Shioikawa *et al.*, 1983; Rappole *et al.*, 1988; Brenner *et al.*, 1989; Standart, 1992.

Fecondazione nei mammiferi

The ovum





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

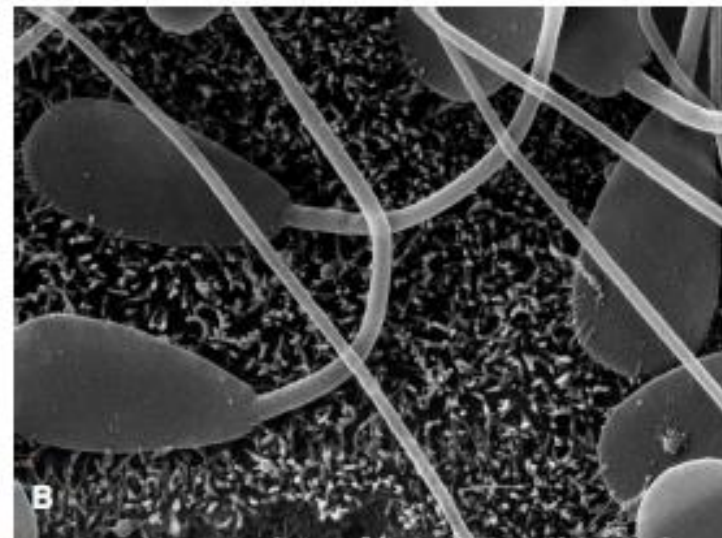
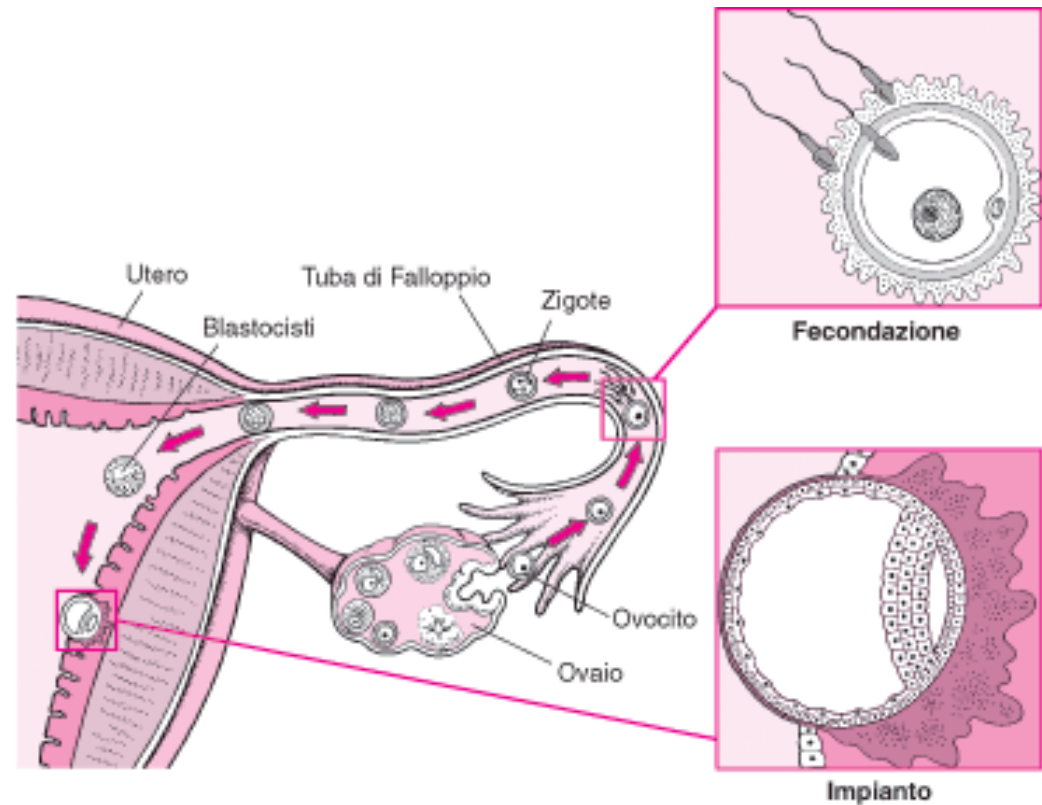


Figura 19

CAPACITAZIONE: acquisizione della capacita' di fecondare

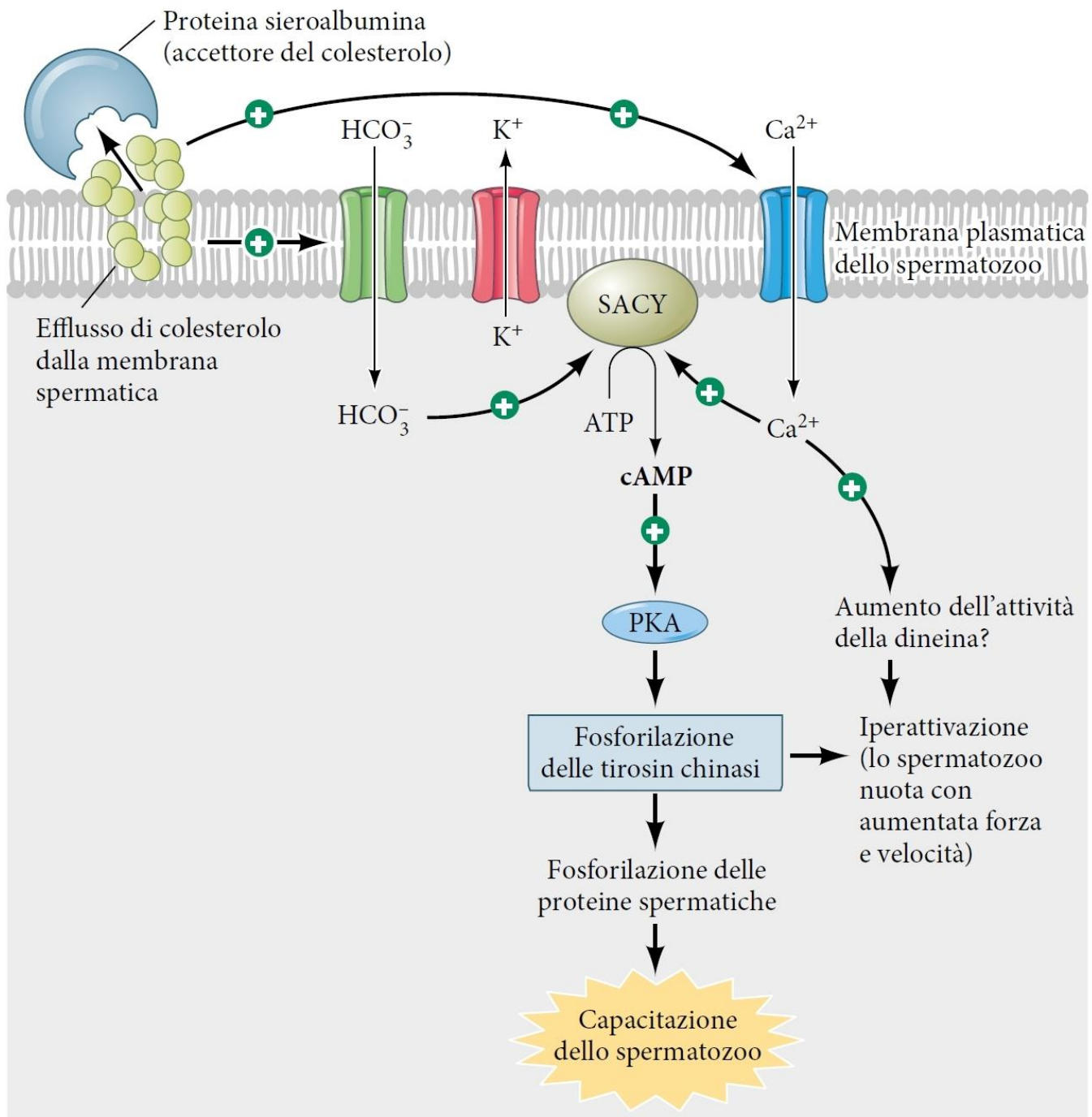
Modificazioni di membrana

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

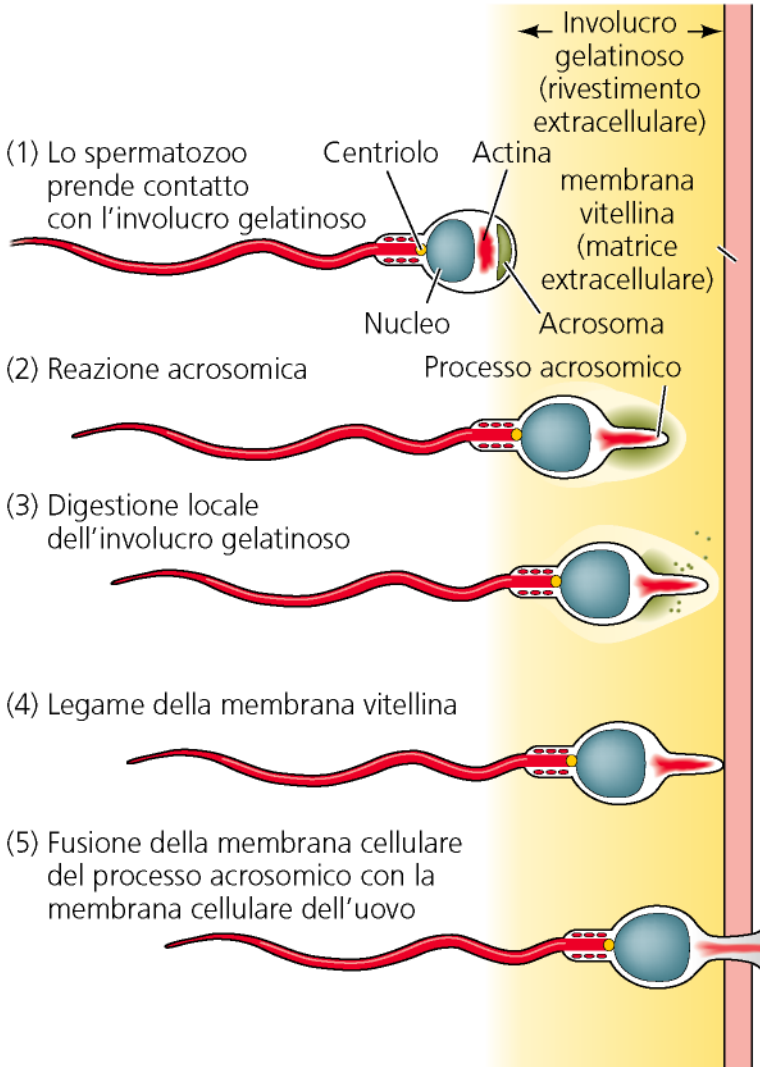
Rilascio di ioni K^+ causa iperpolarizzazione di membrana nello spermatozoo e, insieme all'efflusso di colesterolo, conduce all'**ingresso di ioni Ca^{++}** e HCO_3^- e all'aumento dei livelli di cAMP, con attivazione di vie di segnale che promuovono ulteriore aumento della motilità e regolano l'attività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

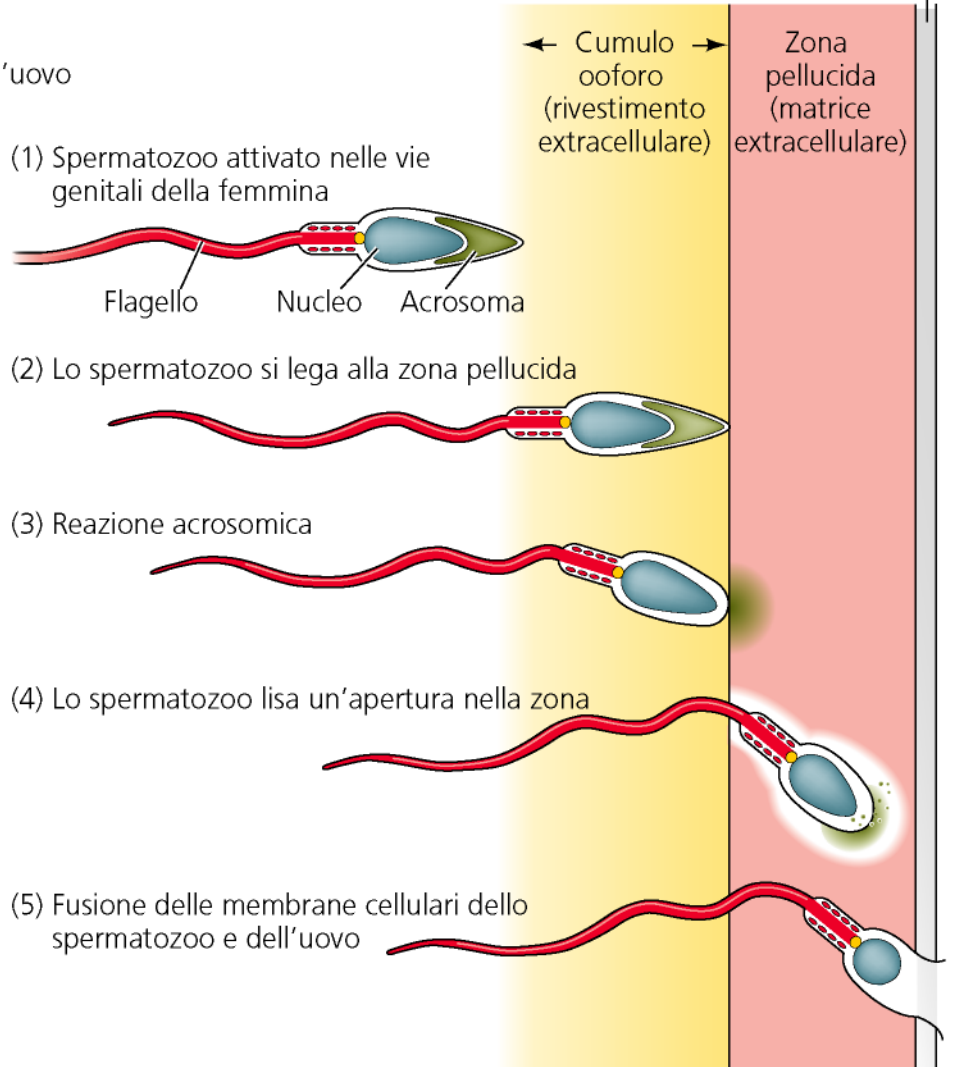


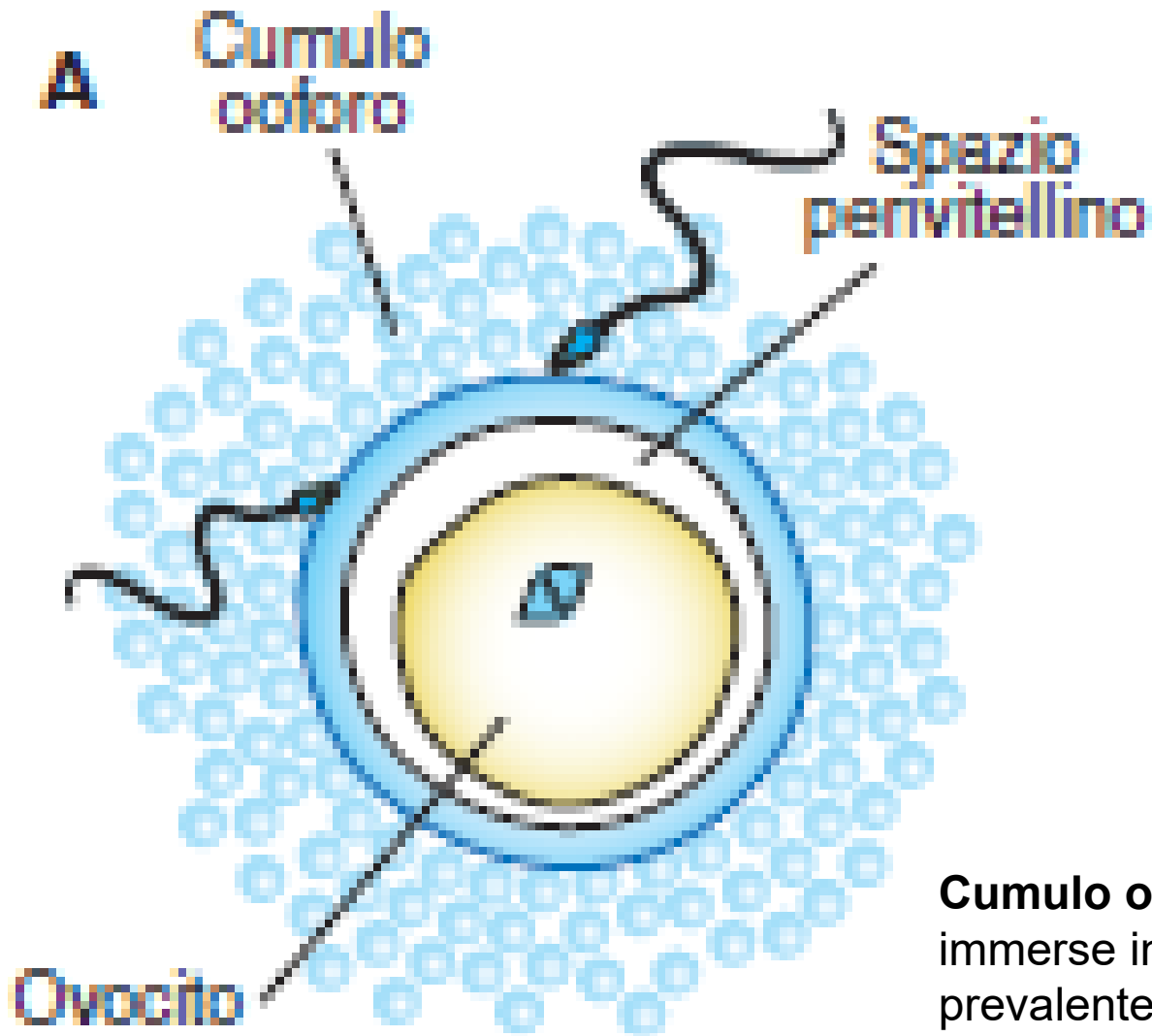
Membrana cellulare dell'uovo

(A) RICCIO DI MARE



(B) TOPO

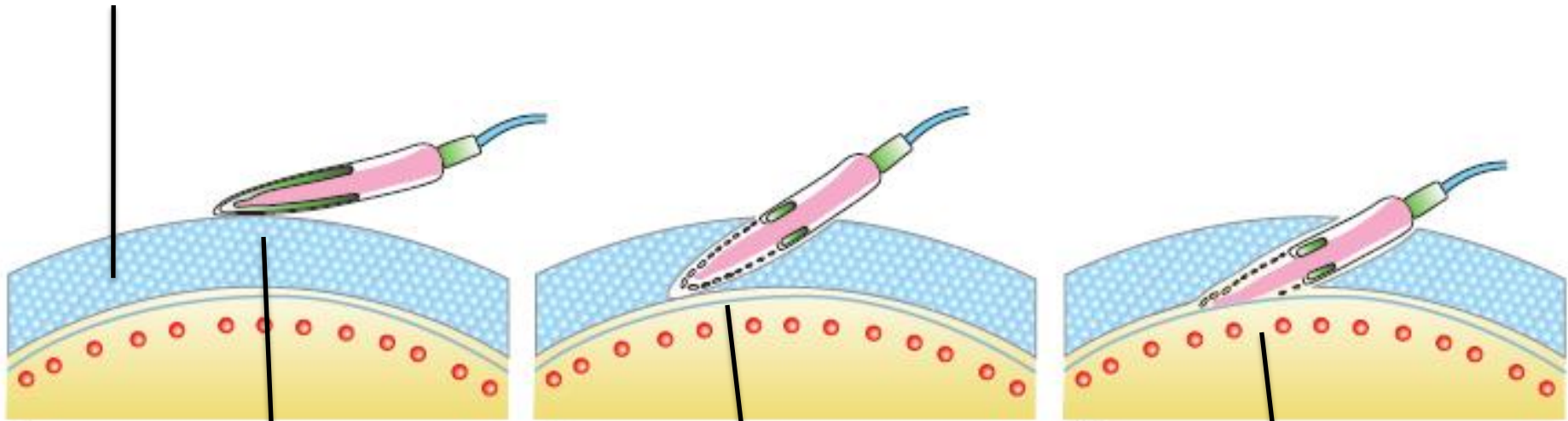




Cumulo ooforo: cellule follicolari immerse in matrice gelatinosa formata prevalentemente da acido ialuronico. Gli spermatozoi l'attraversano mediante il movimento del flagello e ialuronidasi presente sulla loro membrana.

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

Zona pellucida



A

B

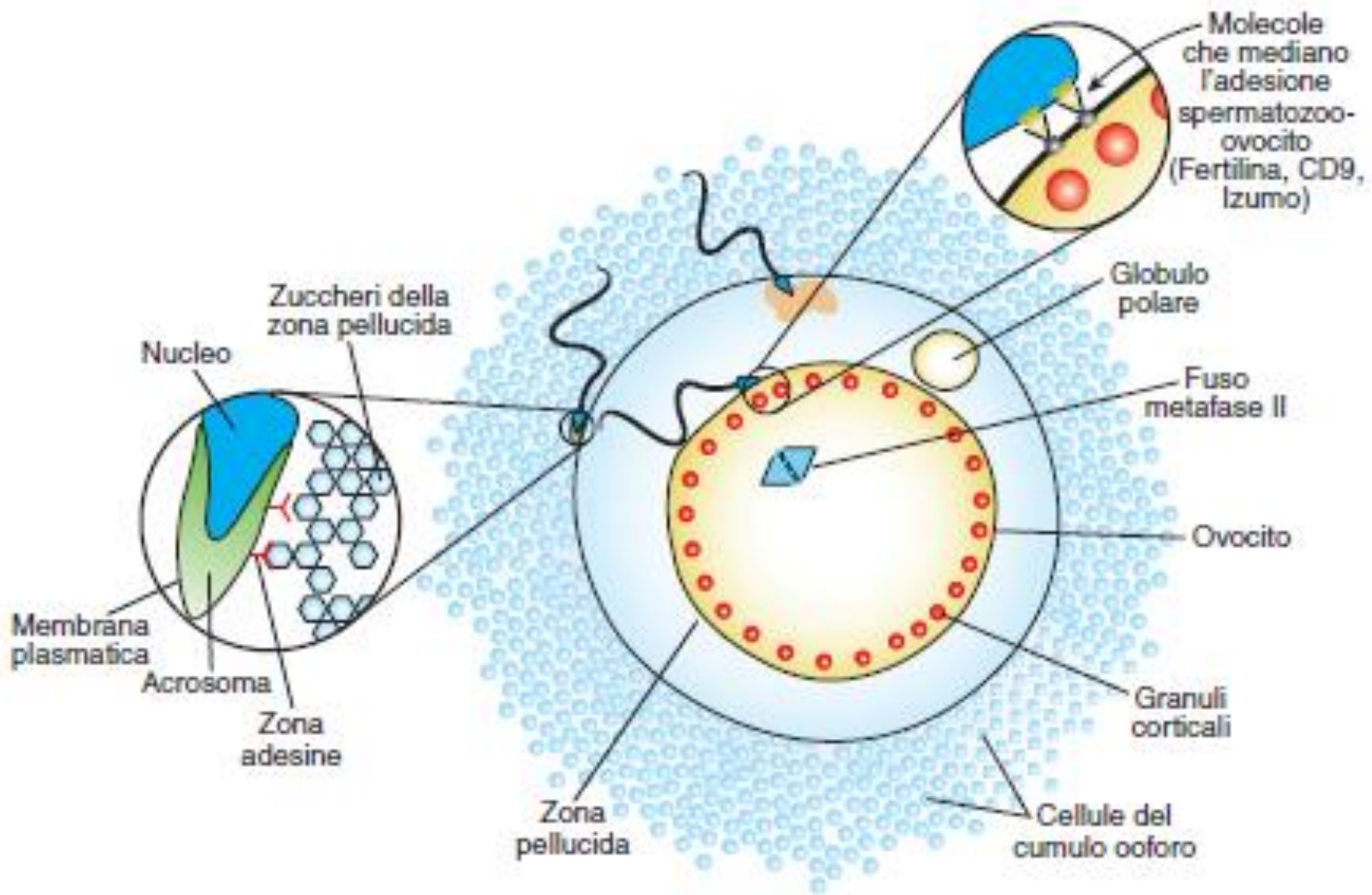
C

Figura 22

Legame primario
Attivazione reazione
acrosomica

Legame secondario
Attivazione acrosina
e digestione della
zone pellucida

Legame terziario
con la membrana dell'uovo



Nucleo

Zuccheri della zona pellucida

Membrana plasmatica

Acrosoma

Zona adesine

Zona pellucida

Globulo polare

Fuso metafase II

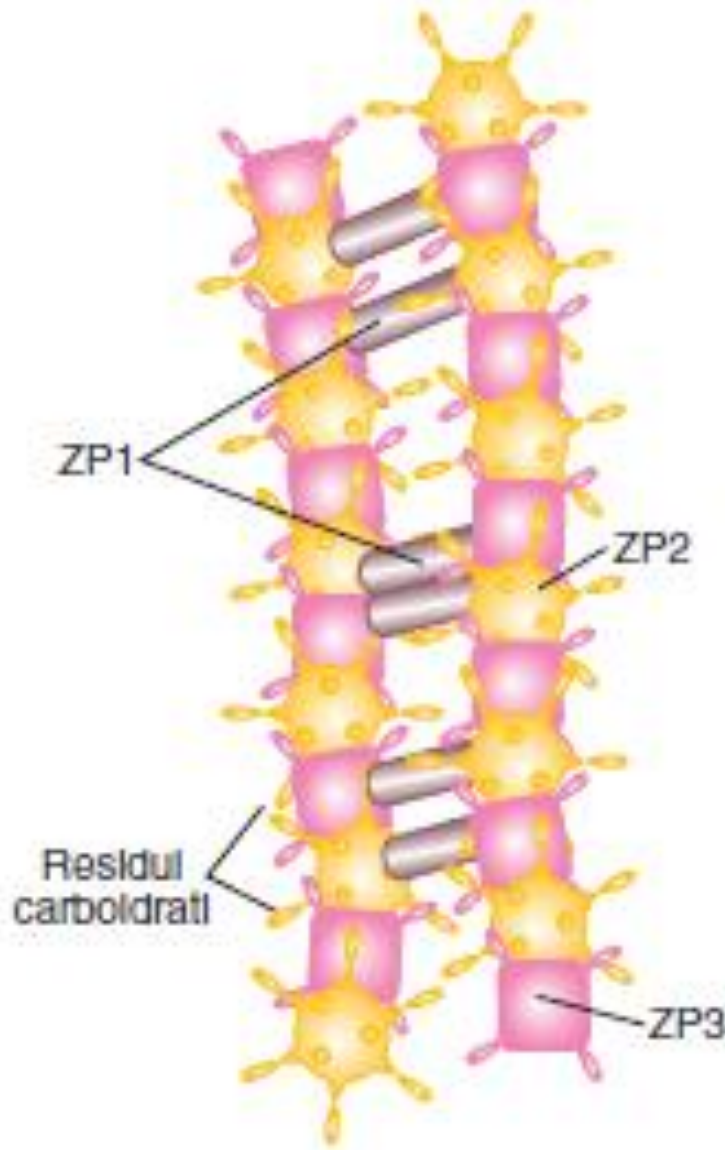
Ovocito

Granuli corticali

Cellule del cumulo ooforo

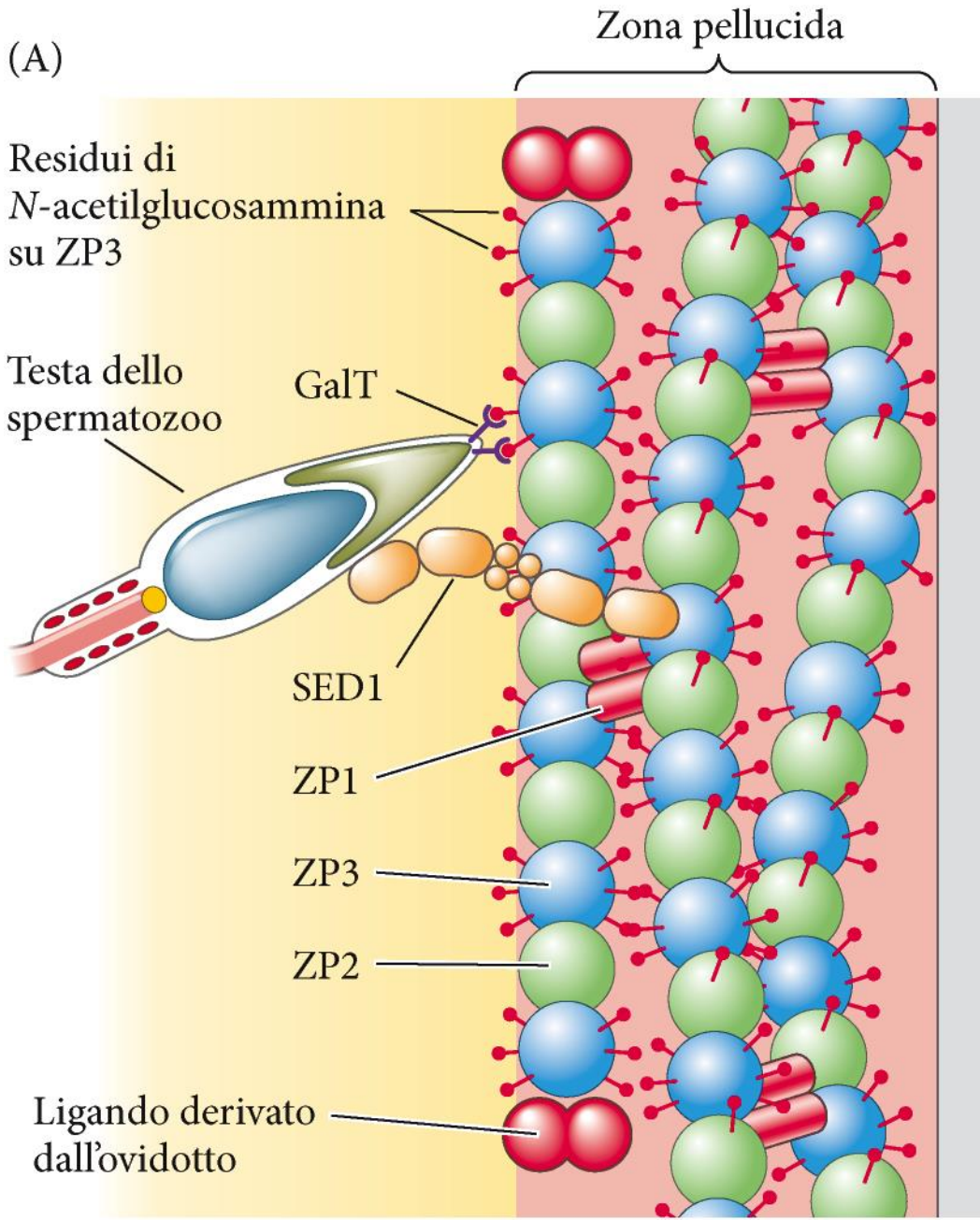
Molecole che mediano l'adesione spermatozoo-ovocito (Fertilina, CD9, Izumo)

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)

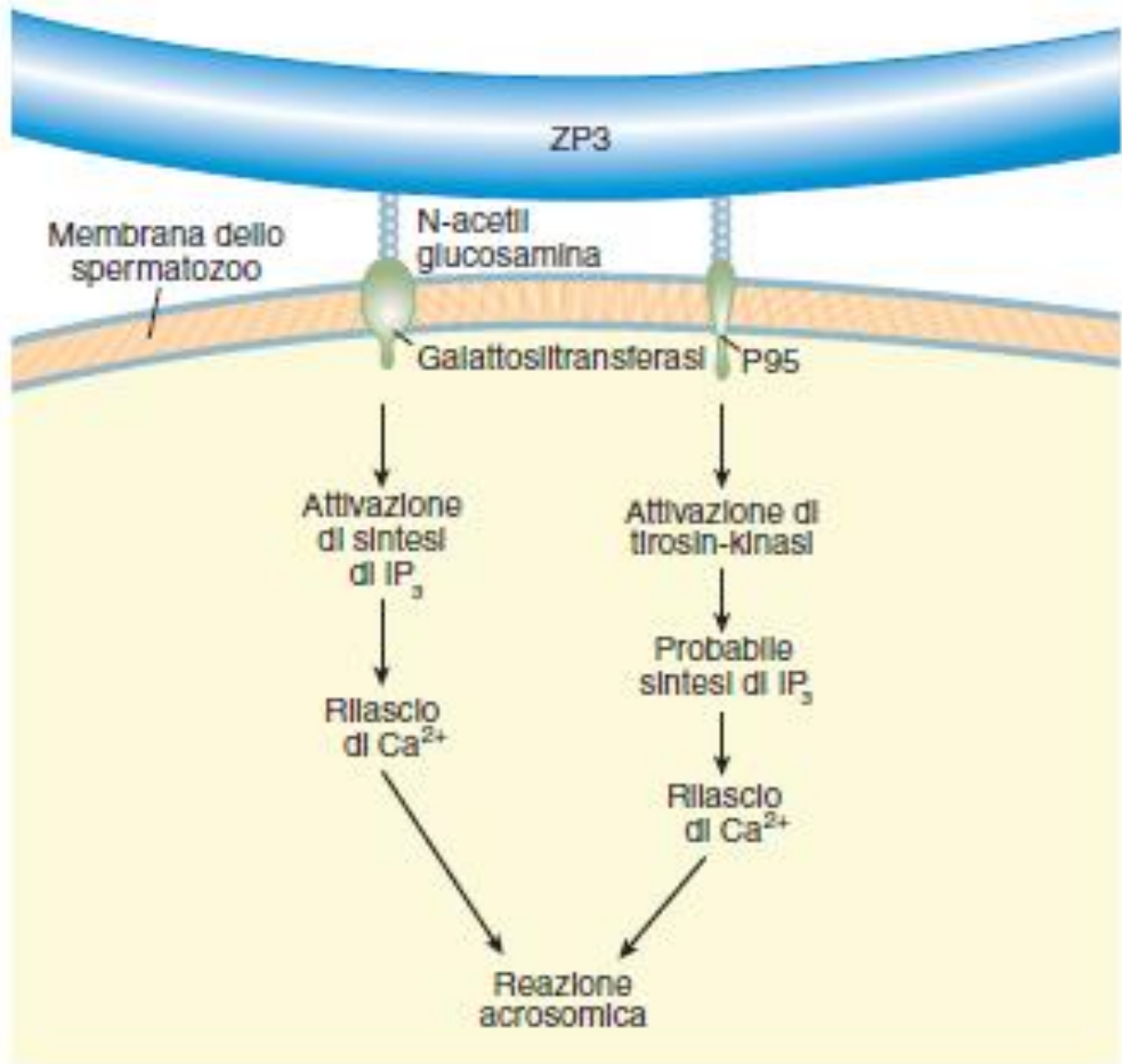
Figura 21



Interazioni biochimiche fra la zona pellucida e gli spermatozoi

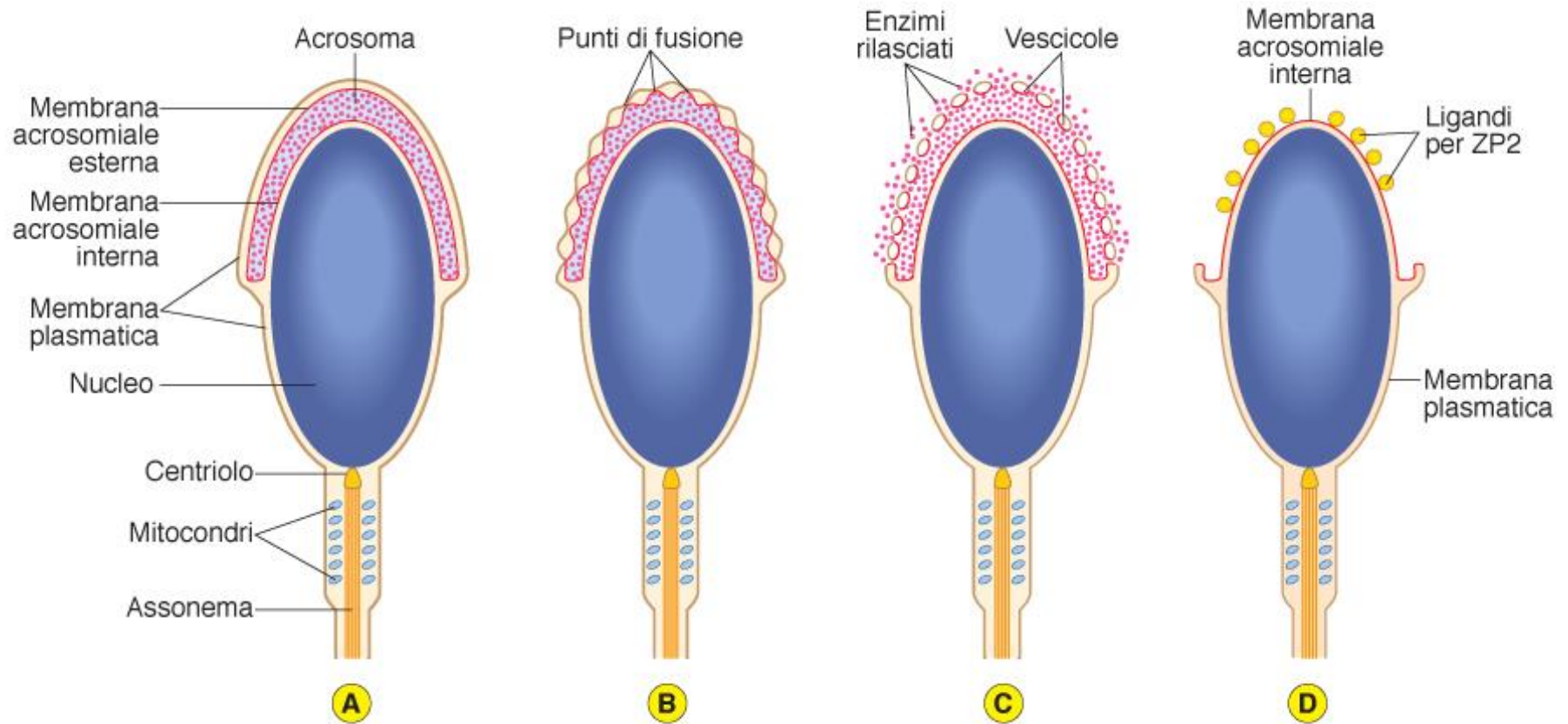
Modello classico dell'attivazione della reazione acrosomiale: proteine di membrana degli spermatozoi interagiscono con gruppi glucidici presenti nella ZP3, attivando cascate di trasduzione del segnale nello spermatozoo che portano alla reazione acrosomica.

Sembrano però esistere diversi meccanismi di attivazione della reazione acrosomiale. La reazione acrosomiale può iniziare o avvenire anche al livello del cumulo ooforo.

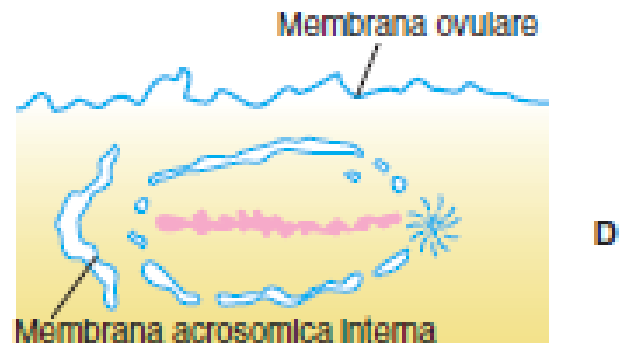
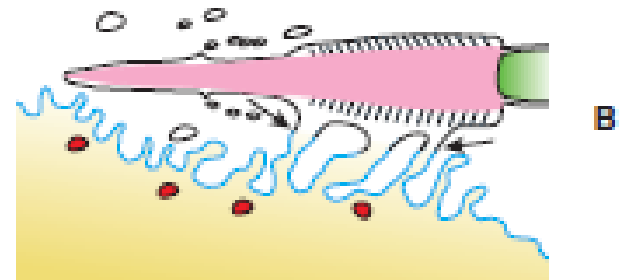


Reazione acrosomica negli spermatozoi di mammiferi

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.



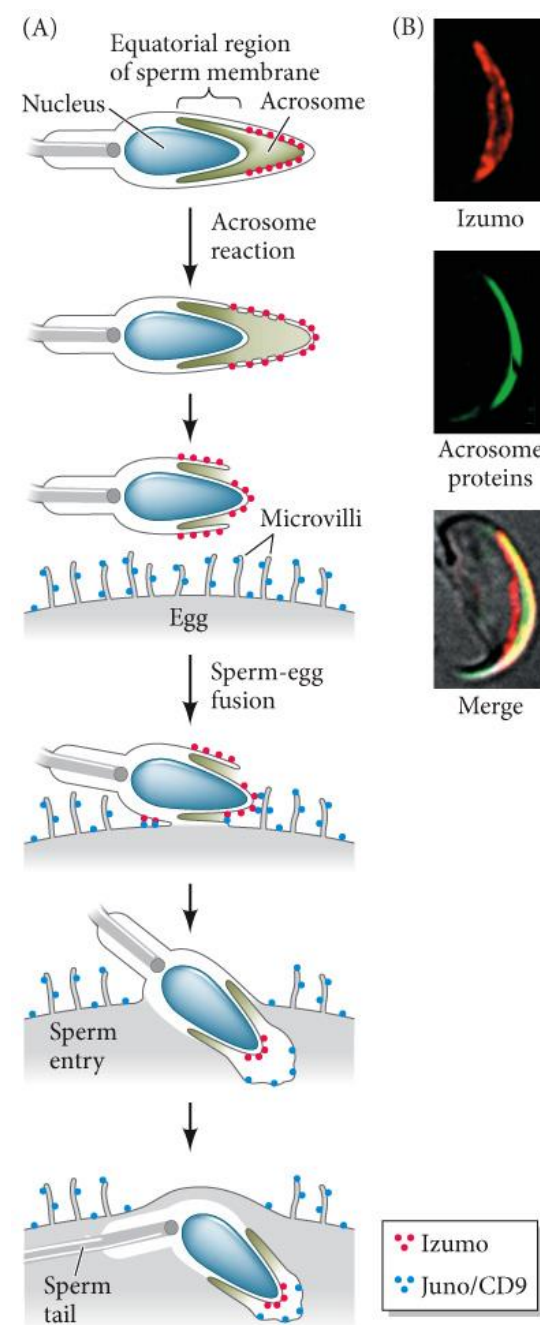
Fasi di fusione dello spermatozoo con l'uovo nei mammiferi



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.

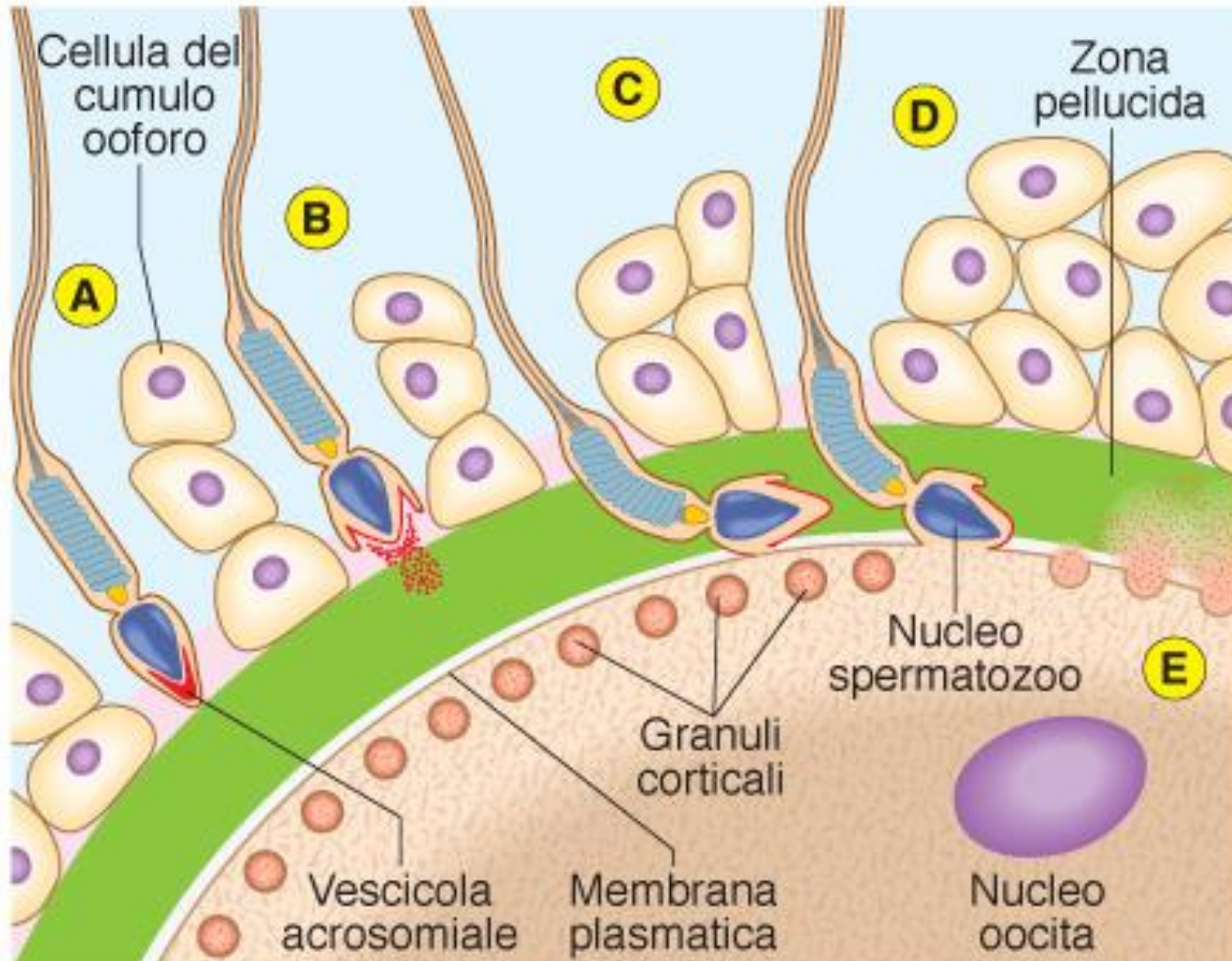
Dopo l'ingresso del primo spermatozoo, **Juno viene rilasciata** dalla membrana impedendo il legame di altri spermatozoi.

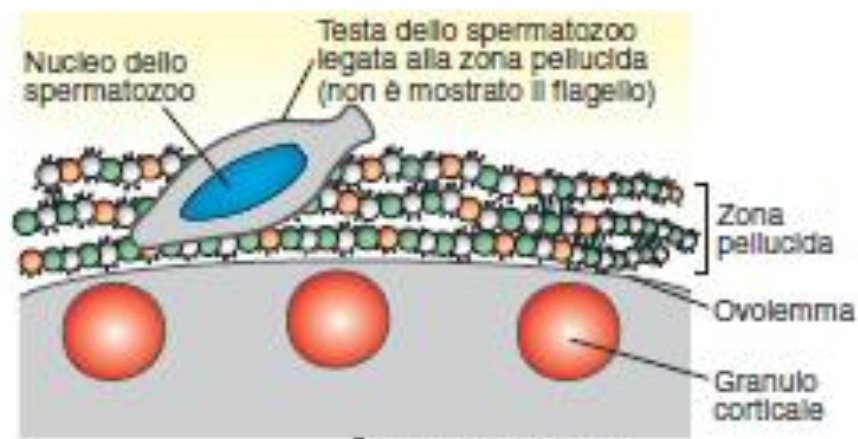


Reazioni di blocco della polispermia nei mammiferi

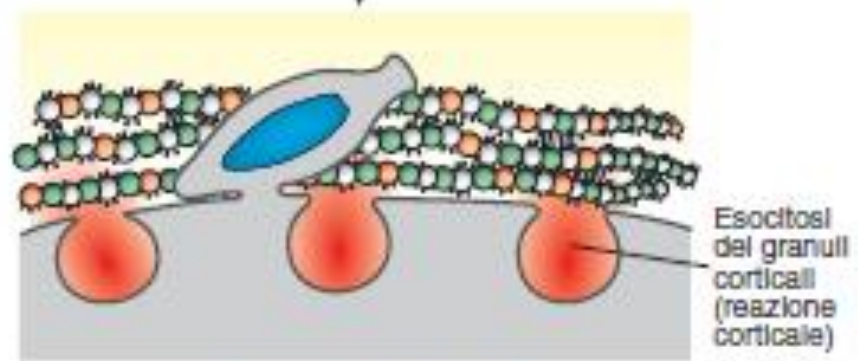
Non si ha reazione di blocco rapido con variazione del voltaggio di membrana

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.



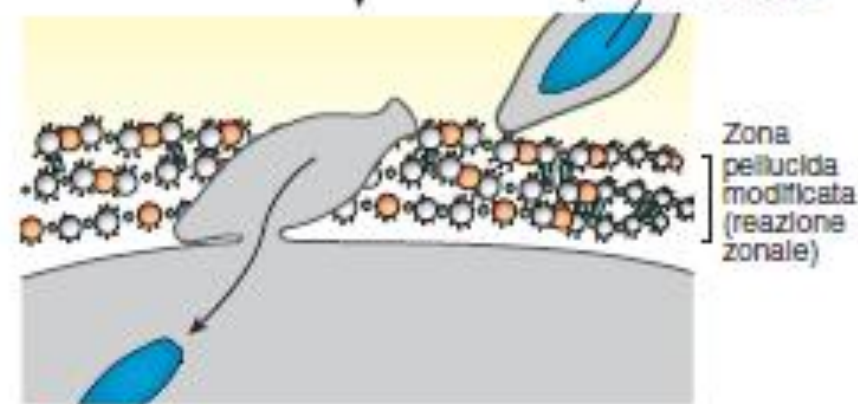


Reazione corticale (esocitosi)



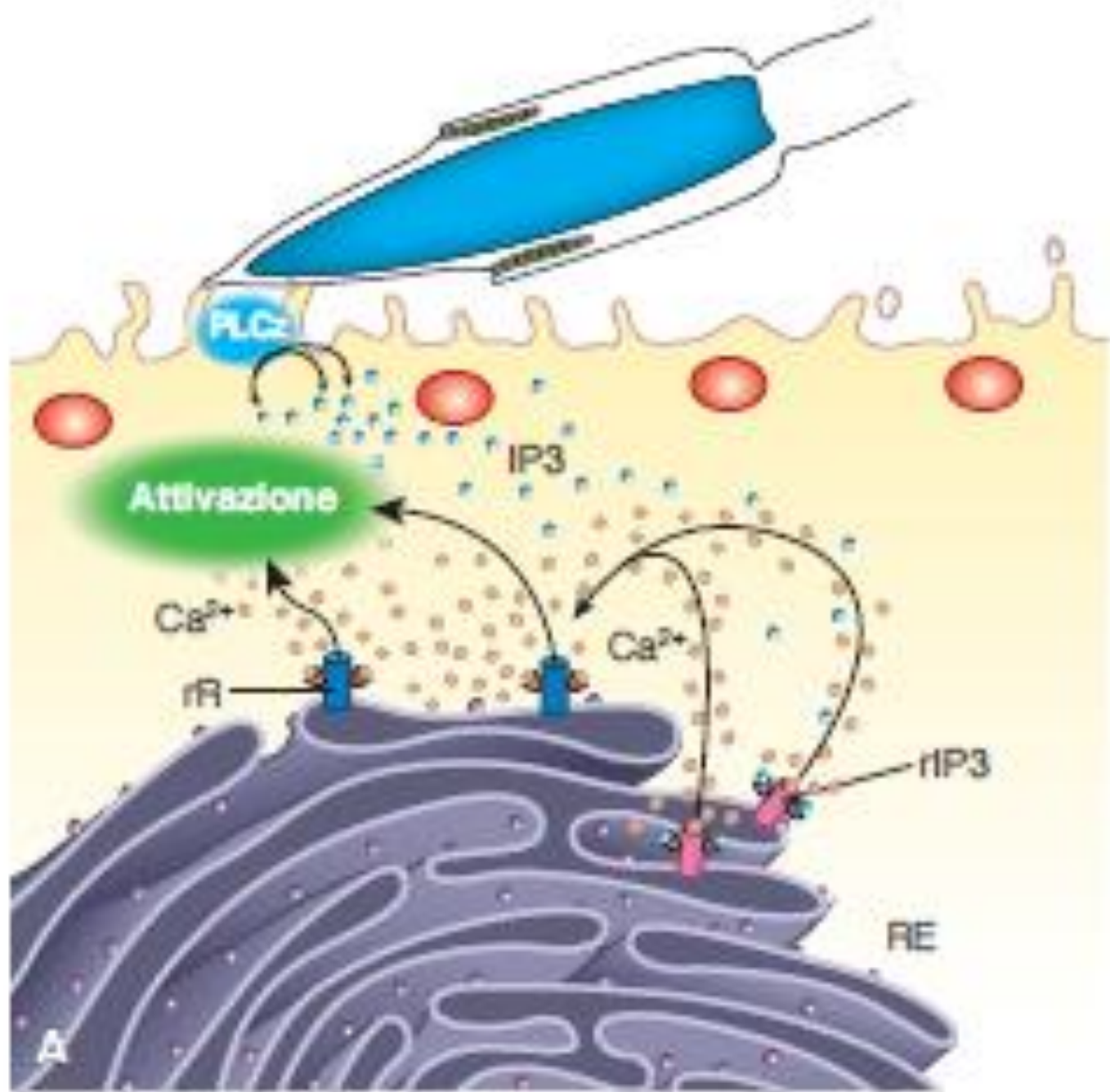
Blocco della polispermia

Spermatozoo non in grado di legare/penetrare la zona



Modello classico: reazione della zona causa rimozione siti di legame agli spermatozi 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.



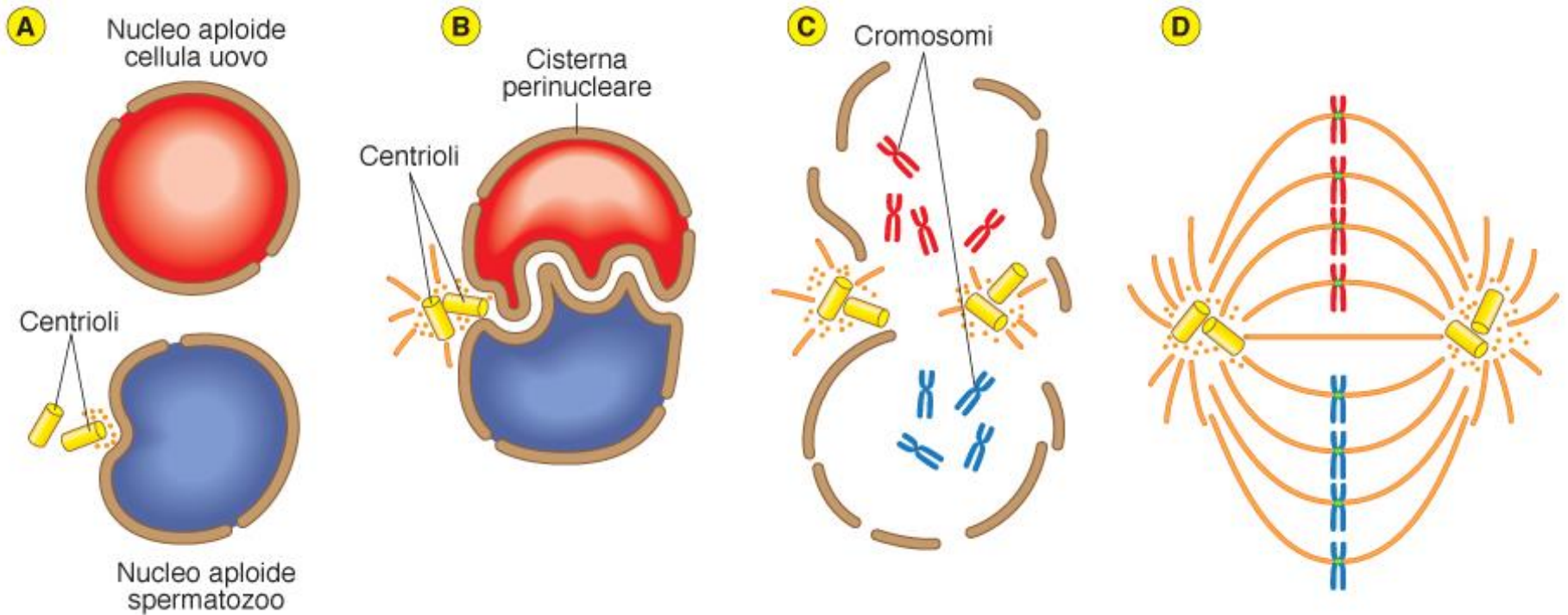


FIGURA 7.19

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.

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).