

Meiosi

La meiosi è forse la più rivoluzionaria invenzione degli eucarioti. È difficile apprezzare ora come potesse risultare sorprendente questo concetto ai biologi della fine del Diciannovesimo secolo. La meiosi non è soltanto un elenco di nomi greci assegnati alle diverse fasi del ciclo delle cellule germinali ma, al contrario, la sua scoperta ha segnato una svolta fondamentale nello studio dell'ereditarietà. Nel 1883, le osservazioni di Van Beneden su come le divisioni delle cellule germinali consentissero ai gameti risultanti di contenere la metà del numero standard diploide di cromosomi «hanno dimostrato che i cromosomi della prole derivano, in numero uguale, dai nuclei di due cellule germinali coniugate e, quindi, allo stesso modo dai due genitori» (Wilson 1924). Tutte le teorie successive sull'ereditarietà, fra le quali il modello di Sutton-Boveri, che fuse la genetica mendeliana con la biologia cellulare, si basano sulla meiosi come meccanismo di riproduzione sessuale e trasmissione dei geni da una generazione a quella successiva. Ritorniamo però adesso alle cellule germinali primordiali che sono migrate sino alle gonadi.

Una volta nella gonade, le cellule germinali primordiali continuano a dividersi per mitosi, producendo milioni di potenziali precursori dei gameti. Le cellule germinali della gonade, sia essa maschile o femminile, devono poi affrontare il compito di ridurre il loro corredo cromosomico da diploide ad aploide. Nella condizione di aploidia, ogni cromosoma è rappresentato da una sola copia, mentre le cellule diploidi hanno due copie di ciascun cromosoma. Per effettuare questa riduzione, le cellule germinali attuano la **meiosi** (vedi Figura 1.5). Quest'ultima differisce dalla mitosi in quanto (1) le cellule meiotiche effettuano due divisioni cellulari senza una fase intermedia di duplicazione del DNA, e (2) i cromosomi omologhi (costituiti ciascuno da due cromatidi fratelli uniti a livello del cinetocore) si appaiano e ricombinano il materiale genetico. La meiosi è dunque al centro della riproduzione sessuata. Come concludono Villeneuve e Hillers (2001), «l'essenza vera e propria del sesso è la ricombinazione meiotica». Eppure, nonostante tutta la sua centralità nella genetica, nello sviluppo e nell'evoluzione, della meiosi conosciamo davvero poco.

Dopo l'ultima divisione mitotica delle cellule germinali, si verifica un periodo di sintesi del DNA, necessario affinché la cellula che inizia la meiosi abbia prima duplicato il suo DNA nucleare. A questo punto, ogni cromosoma è costituito da due **cromatidi** fratelli uniti a livello del centromero (cinetocore)³. In altre parole, il nucleo contiene quattro copie di ciascun cromosoma. La meiosi comporta due divisioni cellulari. Nella prima divisione, i cromosomi omologhi (per esempio, la coppia di cromosomi 3 di una cellula diploide) si uniscono e sono poi separati in due cellule differenti. Quindi, la prima divisione meiotica *separa i due cromosomi omologhi* ripartendoli nelle due cellule figlie, in modo tale che ciascuna cellula riceva una sola copia del cromosoma. Ciascun cromosoma, però, si era già dupli-

cato (ed era quindi formato da due cromatidi). La seconda divisione meiotica *separa poi i due cromatidi fratelli l'uno dall'altro*. Di conseguenza, ciascuna delle quattro cellule che si formano alla fine della meiosi possiede un'unica copia (aploide) di ciascun cromosoma.

La prima divisione meiotica inizia con una lunga profase, che è suddivisa in cinque stadi. Allo stadio di **leptotene** (dal greco, *leptòs*, sottile e *tainìa*, nastro: "nastro sottile"), la cromatina dei cromatidi è distesa ed estremamente sottile, per cui non è possibile identificare i singoli cromosomi. La duplicazione del DNA, comunque, è già avvenuta e ogni cromosoma è costituito da due cromatidi paralleli. Allo stadio di **zigotene** (dal greco, *zìgòn*, giogo, unione e *tainìa*, nastro: "nastri uniti") i cromosomi omologhi si appaiano longitudinalmente. Tale appaiamento è detto **sinapsi** ed è caratteristico della meiosi: nelle divisioni mitotiche, infatti, *non* si verifica. Sebbene non sia ancora noto con quale meccanismo ogni cromosoma riconosca il suo omologo (vedi Barzel e Kupiec 2008), la sinapsi sembra richiedere la presenza della membrana nucleare e la formazione di un nastro proteico, il **complesso sinaptinemale**. Questo complesso ha una struttura simile a una scala a pioli, con un elemento centrale e due montanti laterali (von Wettstein 1984; Schmekel e Daneholt 1995). La cromatina si associa ai due elementi laterali e i cromosomi sono così uniti l'uno all'altro (Figura 16.17A,B).

L'osservazione al microscopio elettronico dei nuclei di cellule in meiosi (Moses 1968; Moens 1969) fa ritenere che i cromosomi appaiati si leghino alla membrana nucleare; a questo proposito, Comings (1968) ha avanzato l'ipotesi che l'involucro nucleare contribuisca a unire i cromosomi omologhi. La configurazione formata dai quattro cromatidi e dal complesso sinaptinemale è nota come **tetrade** o **bivalente**.

Nello stadio successivo della profase meiotica, i cromatidi si ispessiscono e si accorciano. Questo stadio è detto stadio di **pachitene** (dal greco, *pachìs*, grasso e *tainìa*, nastro: "nastro spesso"). I singoli cromatidi sono ora distinguibili al microscopio ottico e può avvenire il **crossing over**, che rappresenta uno scambio di materiale genetico nel quale i geni di un cromatide sono scambiati con i geni omologhi di un altro cromatide. Il **crossing over** può proseguire nello stadio successivo, lo stadio di **diplotene** (dal greco, *diplòs*, doppio e *tainìa*, nastro: "nastro doppio"). A questo punto, il complesso sinaptinemale si disgrega e i due cromosomi omologhi cominciano a separarsi. Di solito, tuttavia, restano attaccati in vari punti, detti **chiasmi**, che si ritiene rappresentino le regioni in cui avviene il **crossing over** (Figura 16.17C). Lo stadio di diplotene è caratterizzato da un alto livello di trascrizione. In alcune specie, i cromosomi delle cellule germinali sia maschili sia femminili assumono un aspetto "a spazzola", caratteristico dei cromosomi in un'attiva sintesi di RNA (vedi oltre).

Nello stadio successivo, la **diacinesi** (dal greco, "separazione"), i cinetocori si allontanano l'uno dall'altro e i cromosomi restano uniti soltanto alle estremità dei cromatidi. Quest'ultimo stadio della profase meiotica termina con la disgregazione dell'involucro nucleare e la migrazione dei cromosomi nella **piastra metafasica**.

L'anafase I non inizia fino a quando i cromosomi non sono adeguatamente allineati sulle fibre del fuso mitotico. Questo allineamento è reso possibile da proteine che impe-

³ Sebbene il termine *centromero* e *cinetocore* siano spesso usati in modo interscambiabile, il *cinetocore* è la complessa struttura proteica che si assembla su una sequenza di DNA conosciuta come *centromero*.

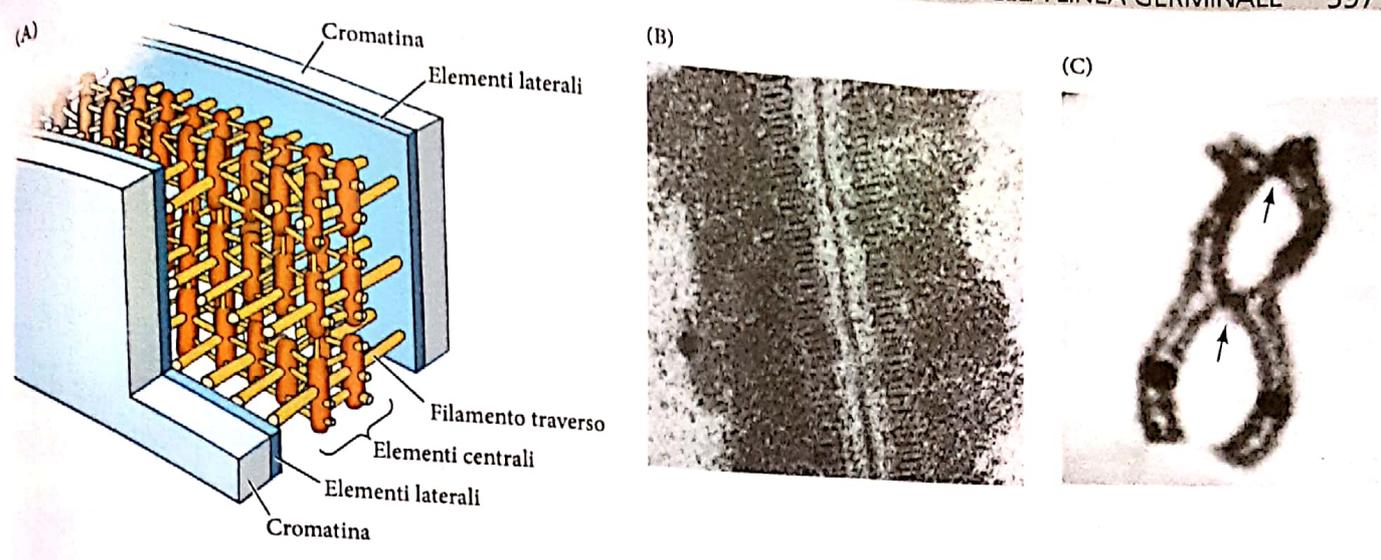


FIGURA 16.17 Il complesso sinaptonemiale e la ricombinazione. (A) Schema interpretativo della struttura a forma di "scala a pioli" del complesso sinaptonemiale. (B) Cromosomi omologhi appaiati nel complesso sinaptonemiale, durante la fase di zigotene della prima profase meiotica in un oocita di *Neottiella* (un fungo autunnale). (C) Chiasmi nel bivalente diplotenico

di un oocita di salamandra. I cinetocori appaiono come dischi scuri; le frecce indicano due chiasmi. (A, tratta da Schmekel e Daneholt 1995; B, tratta da von Wettstein 1971; per gentile concessione di D. von Wettstein; C, per gentile concessione di J. Kezer.)

discono la degradazione della ciclina B, fino a quando tutti i cromosomi sono stati saldamente fissati ai microtubuli. Se le cellule sono prive di queste proteine, possono verificarsi aneuploidie, come nella sindrome di Down (Homer et al. 2005; Steuerwald et al. 2005).

Durante l'anafase I, i cromosomi omologhi si separano l'uno dall'altro in modo indipendente. Questa fase porta alla telofase I, in cui si formano due cellule figlie, ciascuna delle quali contiene un cromosoma di ciascuna delle coppie di omologhi. Dopo una breve **intercinesi**, ha luogo la seconda divisione meiotica. In questa divisione, il cinetocore di ogni cromosoma si divide durante l'anafase, cosicché ciascuna delle due nuove cellule riceve uno dei due cromatidi, con il risultato della formazione di quattro cellule aploidi. Va notato che la meiosi comporta anche il riassortimento dei cromosomi in nuove combinazioni. In primo luogo, ciascuna delle quattro cellule aploidi ha un differente assortimento di cromosomi. Nell'uomo, in cui le coppie di cromosomi sono 23, si possono avere 2^{23} (quasi 10 milioni) tipi differenti di cellule aploidi, formate dal genoma di un singolo individuo. Inoltre, il *crossing over* che si verifica negli stadi di pachitene e diplotene della profase I amplifica ulteriormente il grado di diversità genetica e rende il numero di gameti differenti sostanzialmente incalcolabile.

Q Vedi SITO WEB 16.4
La meiosi umana
Human meiosis

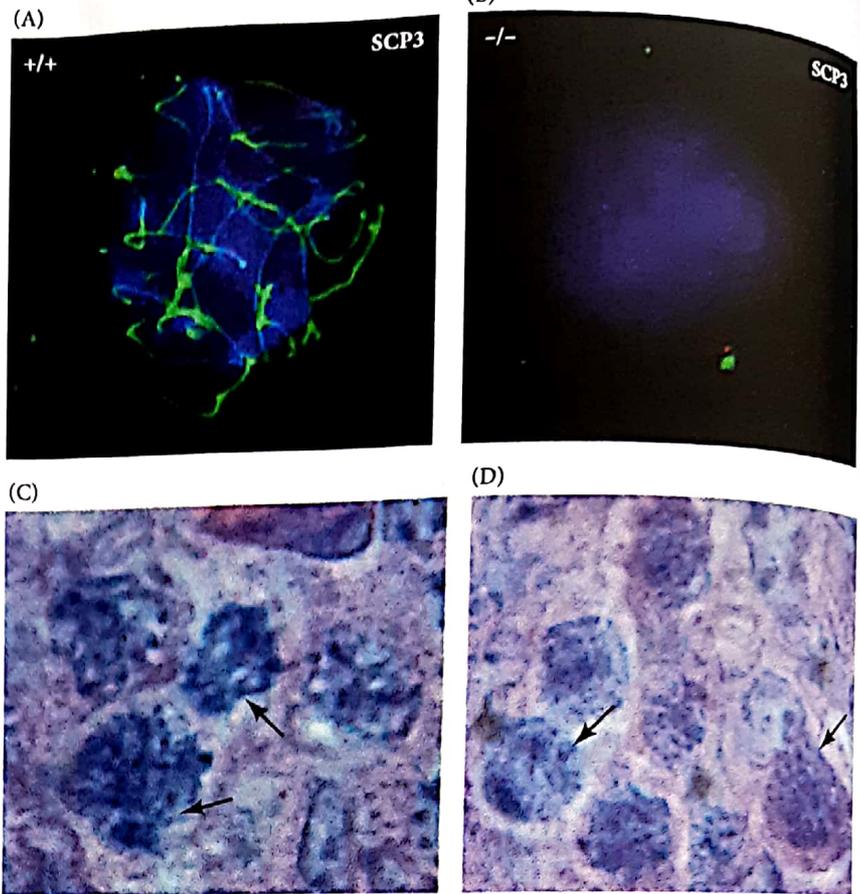
La meiosi è il centro della riproduzione sessuata, e sembra si sia affermata nell'antenato comune di funghi, piante e animali. In effetti, quasi tutti i geni e le proteine impiegati nella meiosi dei lieviti (che sono funghi) agiscono anche nella meiosi dei mammiferi. Tale osservazione ha consentito di identificare un "complesso centrale di ricombinazione

meiotica" che è utilizzato dalle piante, dai funghi, dagli animali. Questo complesso di ricombinazione meiotica è costruito sugli anelli del **complesso della coesina**, che circondano i cromatidi fratelli. Gli anelli di coesina resistono alle forze di trazione dei microtubuli del fuso e mantengono uniti i cromatidi fratelli (Haering et al. 2008; Brar et al. 2009). Questo complesso recluta un'altra serie di proteine che intervengono nel promuovere l'appaiamento dei cromosomi omologhi e nel consentire la ricombinazione (Pelttari et al. 2001; Villeneuve e Hillers 2001). Queste proteine che inducono la ricombinazione prendono parte alla formazione e alla riparazione di rotture nel DNA a doppia elica. Il complesso della coesina verrà poi degradato nel corso della seconda divisione meiotica.

Sebbene il rapporto tra il complesso sinaptonemiale e il complesso di ricombinazione reclutato dalla coesina non sia chiaro, sembra che nei mammiferi il complesso sinaptonemiale stabilizzi le associazioni avviate dal complesso di ricombinazione, fornendo un'impalcatura morfologica alle tenui connessioni proteiche (Pelttari et al. 2001). Se il complesso sinaptonemiale non si forma, le cellule germinali si bloccano allo stadio di pachitene e i loro cromosomi si frammentano (Figura 16.18). Nel topo, se il complesso sinaptonemiale si forma, ma mancano determinate proteine, non si ha la formazione dei chiasmi e le cellule germinali sono spesso aneuploidi, con copie multiple di uno o più cromosomi (Tay e Richter 2001; Yuan et al. 2002). Gli eventi della meiosi sembrano essere coordinati per mezzo di connessioni citoplasmatiche tra le cellule che si stanno dividendo. Mentre le cellule figlie che si formano alla mitosi abitualmente si separano l'una dall'altra, i prodotti della divisione delle cellule in meiosi restano uniti tra loro da **ponti citoplasmatici**.

In alcune specie animali, la meiosi è soggetta a evidenti modifiche e variazioni. Alcune delle variazioni più inte-

FIGURA 16.18 Importanza del complesso sinapteinemale. La proteina CPEB è un componente del complesso sinapteinemale e quando, nel topo, il suo gene è inattivato, il complesso sinapteinemale non si forma. (A, B) Colorazione delle proteine del complesso sinapteinemale in topi di tipo selvatico (normali) (A) e con deficit di CPEB (B). Il complesso sinapteinemale è colorato in verde, il DNA è colorato in blu. Nei nuclei mutanti, il complesso sinapteinemale è assente e il DNA non è organizzato in cromosomi distinti. (C, D) In preparati colorati con ematossilina-eosina, si possono osservare i cromosomi nello stadio di pachitene, nelle cellule di tipo selvatico (C), e frammentati, nelle cellule mutanti (D). (Tratta da Tay e Richter 2001; fotografie per gentile concessione di J. D. Richter.)



ressanti si osservano in specie animali che non presentano individui di sesso maschile. In queste specie, la meiosi è modificata affinché il gamete risultante sia diploide e non necessiti della fecondazione per svilupparsi. Questi animali attuano la **partenogenesi** (dal greco, "generazione virgine"). Nel moscerino *Drosophila mangabeirai*, uno dei globuli polari (una cellula meiotica che ha pochissimo citoplasma) funziona da spermatozoo e "feconda" l'oocita dopo la seconda divisione meiotica. In altri insetti e nella lucertola *Cnemidophorus uniparens*, gli oogoni, prima della meiosi, raddoppiano il numero dei loro cromosomi, cosicché il dimezzamento dei cromosomi ristabilisce il numero diploide. Le cellule germinali della cavalletta *Pycnoscelus surinamensis* eliminano del tutto la meiosi, formando uova diploidi attraverso due divisioni mitotiche successive (Swanson et al. 1981). Tutte queste

specie sono interamente costituite da individui di sesso femminile. In altre specie, la partenogenesi aploide è largamente utilizzata non soltanto come modalità di riproduzione, ma anche come meccanismo di determinazione del sesso. Negli imenotteri (come api, vespe e formiche), le uova non fecondate si sviluppano in maschi, mentre le uova fecondate, diploidi, si sviluppano in femmine. I maschi aploidi sono in grado di produrre spermatozoi eliminando la prima divisione meiotica e formando così due spermatozoi alla seconda divisione meiotica.

APPROFONDIMENTI CONSIDERAZIONI

Decisioni importanti: mitosi o meiosi? Spermatozoo o uovo?

In molte specie, le cellule germinali che migrano nella gonade sono bipotenti e possono differenziarsi in spermatozoi o in uova, in base al loro ambiente gonadico. Quando degli ovari di salamandra sono sperimentalmente trasformati in testicoli, le cellule germinali residenti cessano il loro differenziamento oogenetico e cominciano a svilupparsi in spermatozoi (Burns 1930; Humphrey 1931). Analogamente, nella mosca domestica e nel topo, la gonade è in grado

di indirizzare il differenziamento delle cellule germinali (McLaren 1983; Inoue e Hiroyoshi 1986). Nella maggior parte degli organismi, il sesso della gonade e delle sue cellule germinali quindi è lo stesso.

Ma che cosa accade negli animali ermafroditi, nei quali il cambiamento da produzione di spermatozoi a produzione di uova è un evento fisiologico naturale? Come può lo stesso animale produrre spermatozoi in un periodo della sua vita

e oociti in un altro? In *Caenorhabditis elegans*, Kimble e collaboratori hanno individuato due "decisioni" che le cellule germinali presuntive devono prendere. La prima è se entrare in meiosi o permanere nello stato di cellula staminale che si divide per mitosi. La seconda è se diventare un uovo o uno spermatozoo. Recenti prove sperimentali dimostrano che queste decisioni sono strettamente collegate. La decisione mitosi/meiosi in *C. elegans* è regolata da un'unica cellula

(segue)

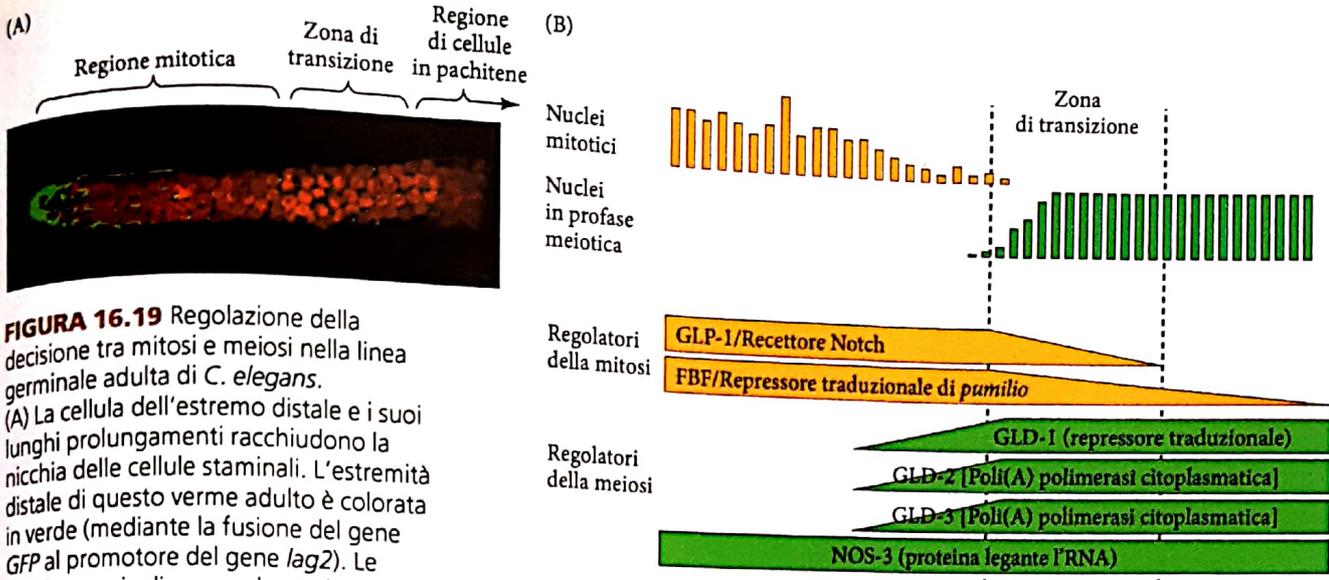


FIGURA 16.19 Regolazione della decisione tra mitosi e meiosi nella linea germinale adulta di *C. elegans*. (A) La cellula dell'estremo distale e i suoi lunghi prolungamenti racchiudono la nicchia delle cellule staminali. L'estremità distale di questo verme adulto è colorata in verde (mediante la fusione del gene *GFP* al promotore del gene *lag2*). Le cellule germinali sono colorate in rosso; vengono mostrate la regione mitotica, la zona di transizione e la regione in pachitene. (B) L'equilibrio fra proteine regolative di mitosi e meiosi determina se una cellula rimane in mitosi o entra in meiosi. Le barre verticali gialle rappresentano il numero relativo di nuclei mitotici in ogni posizione all'interno della regione mitotica. La transizione da mitosi a meiosi inizia dove il 60% dei nuclei ha la morfologia a forma di mezzaluna, tipica della prima profase meiotica (alcune mezzelune rosse sono visibili in A). Le barre verdi rappresentano la percentuale di nuclei in profase meiotica in ogni determinata posizione lungo l'asse distale-proximale. I livelli dei regolatori mitotici GLP-1 ed FBF sono elevati in tutta la regione mitotica e diminuiscono drasticamente non appena le cellule germinali entrano in meiosi (bande orizzontali gialle). Al contrario, i livelli della maggior parte dei regolatori meiotici (bande orizzontali verdi) aumentano gradualmente nella parte proximale della regione mitotica, raggiungendo livelli elevati non appena le cellule germinali entrano in meiosi (un'eccezione è costituita da NOS-3, che è distribuito uniformemente in tutta la linea germinale). (C) Sintesi semplificata della rete di controllo sulla decisione mitosi/meiosi. Il segnale Notch attiva FBF-2; FBF-1 ed FBF-2 sono proteine molto simili, il cui effetto di retroazione negativa può specificare la dimensione della regione mitotica, regolando negativamente i livelli di GLD-1 e GLD-3, e inibendo quindi la meiosi nella regione distale della linea germinale. (Tratta da Kimble e Crittenden 2005; per gentile concessione di S. Crittenden e J. Kimble.)

che non si divide, situata all'estremità di ogni gonade, la **cellula dell'estremo distale**. I precursori delle cellule germinali vicini a questa cellula si dividono per mitosi, formando il *pool* delle cellule germinali. Ma quando queste cellule si allontanano dalla cellula dell'estremo distale, entrano in meiosi. Se si dirige con un raggio laser la cellula dell'estremo distale, tutte le cellule germinali entrano in meiosi; e se la cellula dell'estremo distale è collocata in una posizione differente della gonade, si generano cellule staminali della linea germinale vicino alla sua nuova collocazione (Kimble 1981; Kimble e White 1981).

La cellula dell'estremo distale emette lunghi prolungamenti che prendono contatto con le cellule germinali distali (Figura 16.19A). I prolungamenti contengono sulla loro membrana cellulare la proteina LAG-2, omologa, in *C. elegans*, di Delta (Henderson et al. 1994; Tax et al. 1994; Hall et al. 1999). La proteina LAG-2 mantiene le cellule germinali in mitosi e inibisce il loro differenziamento meiotico. Austin e Kimble (1987) hanno isolato una mutazione che imita il fenotipo ottenuto mediante rimozione della cellula dell'estremo distale. Non sorprende che questa mutazione interessi il gene che

codifica GLP-1, l'omologo di Notch, il recettore di Delta, in *C. elegans*. Tutti i precursori delle cellule germinali dei nematodi omozigoti per la mutazione recessiva di *glp-1* iniziano la meiosi, annullando sostanzialmente la popolazione mitotica. Invece delle 1500 cellule germinali abitualmente presenti nel quarto stadio larvale dello sviluppo ermafrodita, questi mutanti formano soltanto 5-8 cellule spermatiche. Quando si producono chimere genetiche, nelle quali i precursori delle cellule germinali di tipo selvatico si trovano in una larva mutante, le cellule di tipo selvatico sono in grado di rispondere alle cellule dell'estremo distale e di andare incontro a mitosi. Quando invece i precursori delle cellule germinali mutanti si trovano in larve di tipo selvatico, entrano tutti in meiosi. Dunque, dal gene *glp-1* dipende la capacità delle cellule germinali di rispondere al segnale della cellula dell'estremo distale*. Come succede abitualmente nello sviluppo, la decisione binaria comporta

* In *C. elegans*, il gene *glp-1* interviene in numerose interazioni induttive. Ricordiamo che la proteina GLP-1 è anche necessaria al blastomero AB per ricevere segnali induttivi dal blastomero EMS, al fine di formare i muscoli faringei (vedi Capitolo 5).

(segue) →

APPROFONDIMENTI **CONSIDERAZIONI**

(continua)

sia una spinta che una trazione (Figura 16.19B). La decisione di entrare in meiosi deve essere amplificata dalla decisione di porre fine alla mitosi. Questo si ottiene grazie alle proteine della famiglia FBF (*fem-3 mRNA-binding factor*, fattore di legame all'mRNA *fem-3*), simili alla proteina di legame all'RNA di *Drosophila* chiamata Pumilio già discussa nel Capitolo 6. Notch attiva gli FBF, repressori tradizionali delle proteine GLD (*germline development*, sviluppo della linea germinale). GLD-1 (in combinazione con le proteine Nanos) sopprime la traduzione di messaggeri specifici per la mitosi. Fra questi è presente l'mRNA *gpl-1* (Eckmann et al. 2002, 2004; Marin ed Evans 2003; Kimble e Crittenden 2005). FBF reprime anche la traduzione di GLD-2 e GLD-3, due proteine necessarie per la poliadenilazione di messaggeri specifici della meiosi, permettendo la loro traduzione. In conclusione, il segnale Notch, che agisce attraverso FBF, allo stesso tempo promuove la mitosi e blocca la meiosi (Figura 16.19C).

Dopo avere iniziato la divisione meiotica, le cellule germinali devono ancora diventare spermatozoi o uova. Generalmente, in ogni gonade ermafrodita (definita *ovotestis*) le cellule germinali più prossimali producono spermatozoi, mentre quelle più distali (vicino all'estremità) diventano uova (Hirsh et al. 1976). Ciò significa che le cellule germinali che entrano presto in meiosi diventano spermatozoi, mentre quelle che entrano in meiosi più tardi diventano uova (e anche che, a differenza di quanto accade nei vertebrati, le cellule germinali si formano nelle gonadi). Si sta attualmente studiando la genetica di questo passaggio. Nei laboratori di Hodgkin (1985) e di Kimble (Kimble et al. 1986) sono stati isolati diversi geni necessari per la selezione del percorso delle cellule germinali, ma la commutazione

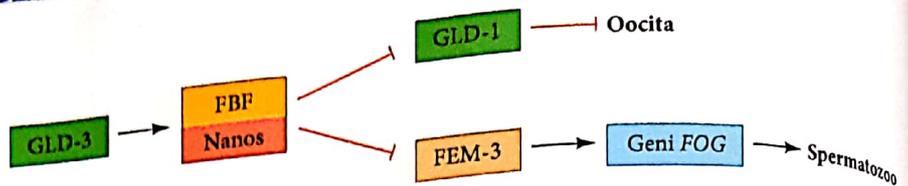


FIGURA 16.20 Modello del cambio di determinazione del sesso nella linea germinale degli individui ermafroditi, in *C. elegans*. FBF e Nanos allo stesso tempo promuovono l'oogenesi (bloccandone un inibitore) e inibiscono la spermatogenesi (bloccandone un attivatore). L'espressione dei geni *FBF* e *Nanos* è regolata dalla proteina GLD-3. Finché GLD-3 viene prodotta, sono prodotti spermatozoi. Quando la produzione di GLD-3 si interrompe, le cellule germinali diventano oociti. (Tratta da Eckmann et al. 2004.)

sembra implicare l'attività o l'inattività dell'mRNA *fem-3*. La Figura 16.20 presenta uno schema di come potrebbero funzionare questi geni.

Nello sviluppo iniziale, i geni *fem*, specialmente *fem-3*, svolgono un ruolo cruciale nella specificazione delle cellule spermatiche. Mutazioni con perdita di funzione di questi geni convertono i nematodi XX in femmine (cioè in ermafroditi privi di spermatozoi). Finché nelle cellule germinali sono prodotte proteine FEM, si formano spermatozoi. Si ritiene che la proteina FEM attivi i geni *fog* (le cui mutazioni con perdita di funzione provocano la femminilizzazione della linea germinale ed eliminano la spermatogenesi). Il prodotto dei geni *fog* attiva i geni coinvolti nella trasformazione delle cellule germinali in spermatozoi e inibisce inoltre i geni che altrimenti indirizzerebbero le cellule germinali a iniziare l'oogenesi.

L'oogenesi può iniziare soltanto quando l'attività di FEM è repressa. Tale repressione agisce a livello di traduzione dell'RNA. La regione 3' non tradotta (3'UTR) dell'mRNA *fem-3* contiene una sequenza che, durante lo sviluppo normale, è legata da un repressore. Se questa regione è mutata in modo da non potere più essere riconosciuta o legata dal repressore,

l'mRNA *fem-3* rimane traducibile e non si verifica mai l'oogenesi. Ne risulta un organismo ermafrodita che produce soltanto spermatozoi (Ahringer e Kimble 1991; Ahringer et al. 1992). Il repressore del messaggero *fem-3*, che agisce in *trans*, è un complesso formato dalle proteine Nanos e Pumilio (la stessa combinazione che in *Drosophila* reprime la traduzione del messaggero *hunchback*). Come nella decisione fra meiosi e mitosi, esistono eventi di spinta e trazione anche nei percorsi della determinazione sessuale. Gli stessi segnali Nanos ed FBF che inibiscono il messaggero *fem-3*, responsabile della produzione dello spermatozoo, inibiscono anche il messaggero *gld-1*, che inibisce un destino oocitario. Il segnale Nanos/FBF blocca dunque la produzione di spermatozoi (inibendo un attivatore), promuovendo al contempo la produzione di oociti (inibendone l'inibitore). L'uso delle stesse proteine in entrambe le decisioni mitosi-meiosi e spermatozoo-oocita ha permesso a Eckmann e collaboratori (2004) di ipotizzare come questi due percorsi si siano evoluti da un unico percorso originale, la cui funzione era quella di regolare l'equilibrio tra l'accrescimento e il differenziamento cellulare.

■ La maturazione dei gameti

La regolazione della meiosi può differire drasticamente tra maschi e femmine. L'uovo è di solito una cella pressoché immobile, che conserva il suo citoplasma e accumula ribosomi, mitocondri ed mRNA necessari per iniziare lo sviluppo. Lo spermatozoo è generalmente più piccolo, una cellula molto mobile che ha eliminato gran parte del suo citoplasma per divenire un nucleo dotato di un sistema propulsivo. Come vedremo presto, esistono spesso grandi differenze tra l'oogenesi, la produzione delle uova, e la spermatoge-

nesi, la produzione degli spermatozoi. La gametogenesi è quindi molto più che un processo in grado di rendere il nucleo aploide. La formazione dello spermatozoo implica la costruzione del flagello e dell'acrosoma. La costruzione dell'oocita implica la generazione di organelli coinvolti nella fecondazione, la sintesi e il posizionamento degli mRNA e delle proteine usate nelle prime fasi dello sviluppo, l'accumulo di fonti di energia e di organelli atti alla produzione di energia (ribosomi, tuorlo e mitocondri) nel citoplasma. Un elenco parziale del materiale accumulato nel citoplasma degli oociti degli anfibii è consultabile nella Tabella 16.1; una

TABELLA 16.1 • Componenti cellulari accumulati nell'ocita maturo di *Xenopus laevis*

Componente	Eccedenza approssimativa sulla quantità totale presente nelle cellule larvali
Mitocondri	100 000
RNA polimerasi	60 000-100 000
DNA polimerasi	100 000
Ribosomi	200 000
rRNA	10 000
Istoni	15 000
Desossiribonucleosidi trifosfati	2500

Fonte: tratta da Laskey 1979.

lista parziale degli mRNA identificati negli oociti di diversi organismi è stata già mostrata nella Tabella 2.2.

I meccanismi dell'oogenesi variano da specie a specie, assai più di quelli della spermatogenesi. Questa variazione non dovrebbe sorprendere, dato che i profili generali di riproduzione variano così tanto tra le specie. In alcune di esse, come i ricci di mare e le rane, la femmina produce regolarmente centinaia o migliaia di uova, mentre in altre specie, come gli esseri umani e molti altri mammiferi, solo poche uova sono prodotte durante tutta la vita di un individuo. Nelle specie che producono migliaia di uova, le cellule germinali (**oogoni**) sono cellule staminali in grado di autorinnovarsi, che perdurano per tutta la vita dell'organismo. Nelle specie che producono un minor numero di uova, gli oogoni si dividono formando un numero limitato di precursori cellulari delle uova.

● **Maturazione dell'ocita nelle rane**

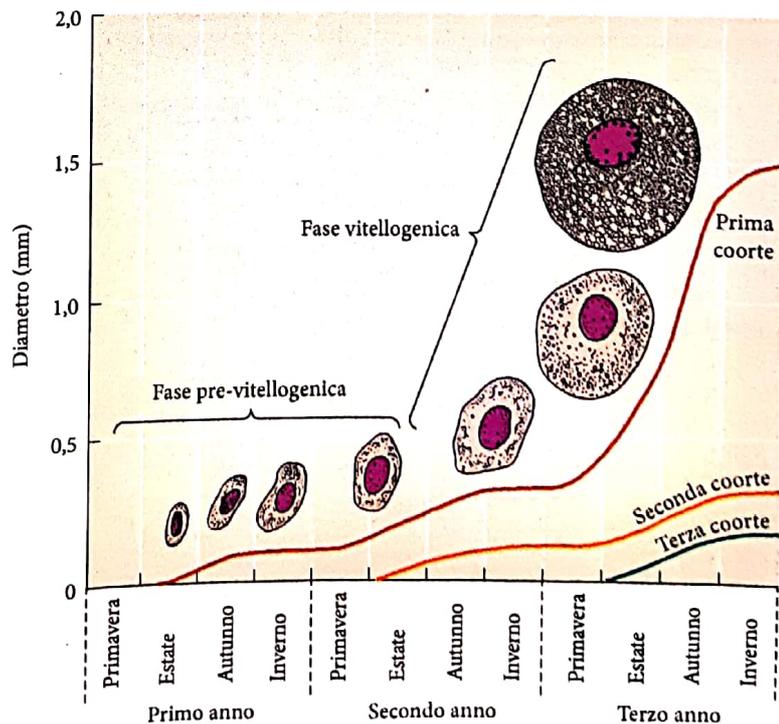
Le uova dei ricci di mare, dei pesci e degli anfi bi derivano da una popolazione di cellule staminali oogoniali che può generare, ogni anno, una nuova coorte di uova. Nella specie *Rana pipiens*, l'oogenesi richiede 3 anni. Nei primi 2 anni, l'ocita si accresce in modo molto graduale. Nel terzo anno, invece, il rapido accumulo di tuorlo nell'ocita determina un aumento dimensionale dell'uovo fino alle sue misure, di norma voluminose (Figura 16.21). Le uova maturano in gruppi annuali, con la prima coorte che matura poco dopo la metamorfosi; il gruppo successivo matura un anno dopo.

FIGURA 16.21 Accrescimento degli oociti nella rana. Nei primi 3 anni di vita, vengono prodotte 3 coorti di oociti. I disegni seguono l'accrescimento della prima generazione di oociti. (Tratta da Grant 1953.)

Vitellogenesi La **vitellogenesi**, ossia l'accumulo di proteine del tuorlo (detto anche "vitello", dalla parola latina *vitellus* usata per indicare il rosso d'uovo, N.d.T.), si ha quando l'ocita giunge allo stadio di diplotene della I profase meiotica. Il tuorlo non è un'unica sostanza, ma una miscela di materiali che servono per la nutrizione dell'embrione. Nelle uova di rana, il componente principale del tuorlo è una proteina di 470 kDa, la **vitellogenina**, che non è prodotta dall'ocita (come avviene per le principali proteine del tuorlo, in organismi quali anellidi e aragoste), ma è sintetizzata nel fegato e trasportata all'ovario con la circolazione sanguigna (Flickinger e Rounds 1956; Danilchik e Gerhart 1987).

Completamento della meiosi degli anfi bi: progesterone e fecondazione Gli oociti primari di anfi bi possono restare nello stadio di diplotene della profase meiotica per anni. Questa condizione assomiglia alla fase G₂ del ciclo cellulare mitotico. Il ripristino della meiosi nell'ocita di anfi bi richiede progesterone. Questo ormone è secreto dalle cellule follicolari, in risposta agli ormoni gonadotropi secreti dall'ipofisi. Entro 6 ore dalla stimolazione del progesterone, si verifica la **disgregazione della vescicola germinativa** (*germinal vesicle breakdown, GVBD*), i microvilli si retraggono, i nucleoli scompaiono, i cromosomi si contraggono e migrano verso il polo animale per iniziare la divisione. Subito dopo, si ha la prima divisione meiotica e l'uovo viene rilasciato dall'ovario con un processo detto **ovulazione**. Quando viene ovulato, l'uovo è nella metafase della seconda divisione meiotica (Figura 16.22).

Come fa il progesterone a far sì che l'uovo interrompa la sua quiescenza e riprenda la meiosi? Per comprendere il meccanismo con cui si compie questa attivazione, è necessario richiamare in breve il profilo di divisione dei primi blastomeri (vedi Capitolo 5). L'ingresso nella fase mitotica (M) del ciclo cellulare (sia nella meiosi che nella mitosi) è



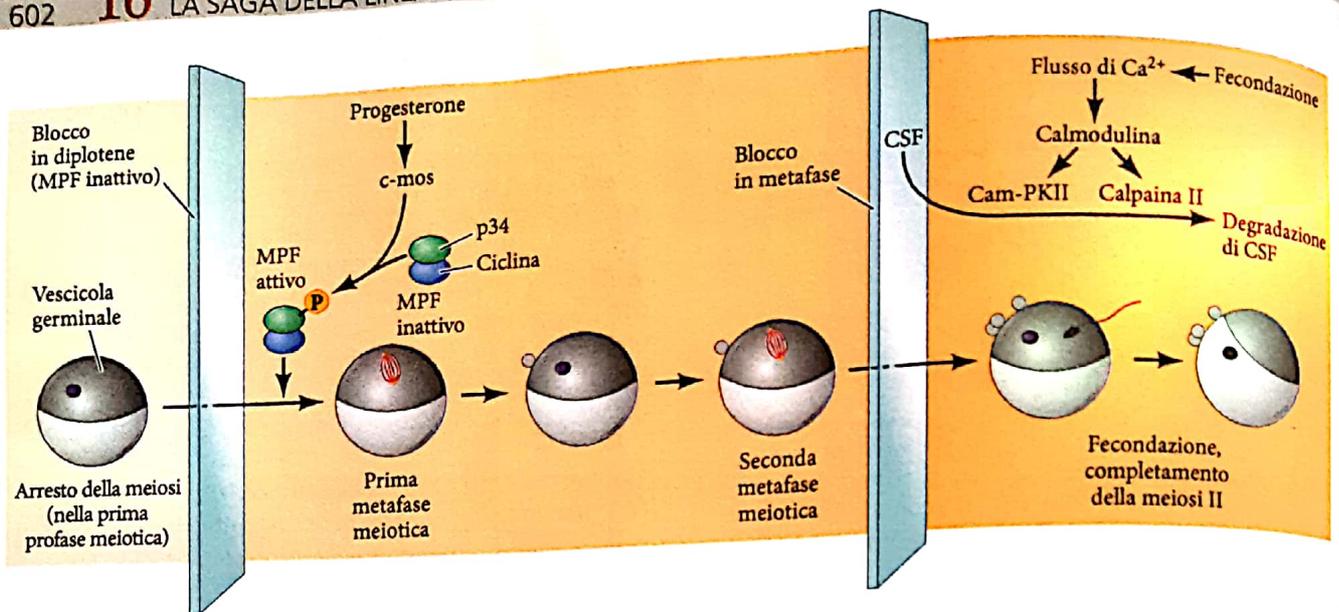


FIGURA 16.22 Rappresentazione schematica della maturazione degli oociti in *Xenopus*, che illustra la regolazione della divisione meiotica da parte del progesterone e della fecondazione. La maturazione dell'ovocita si arresta allo stadio di diplotene della prima profase meiotica, a causa dell'assenza di MPF attivo. Il progesterone attiva la produzione della proteina c-mos; questa avvia una cascata di fosforilazioni che, alla fine, porta alla fosforilazione della subunità p34 dell'MPF, consentendo l'attivazione dell'MPF stesso. L'MPF fa procedere il ciclo cellulare attraverso la prima divisione meiotica, ma la

divisione successiva è bloccata dal CSF, un composto formato da c-mos, dalla chinasi 2 dipendente dalla ciclina e da Erp1. Il CSF inibisce il complesso promotore dell'anafase dal degradare la ciclina. Alla fecondazione, gli ioni calcio liberati nel citoplasma si legano alla calmodulina e servono ad attivare due enzimi, la chinasi II calmodulina-dipendente e la calpaina II, che inattivano e degradano il CSF. La seconda divisione meiotica viene completata e i due pronuclei aploidi possono unirsi. A questo punto, viene di nuovo sintetizzata ciclina B, che permette l'inizio del primo ciclo cellulare di segmentazione.

regolato dal **fattore di promozione della mitosi**, o **MPF** (*mitosis-promoting factor*, in origine chiamato fattore di promozione della *maturazione*, per la sua funzione durante la meiosi). L'MPF contiene due subunità, la **ciclina B** e la proteina **p34**. La proteina p34 è una chinasi la cui attività dipende dalla presenza delle cicline. Poiché nell'ovocita di anfibio sono presenti tutti i componenti dell'MPF, si ritiene generalmente che il progesterone in qualche modo converta un complesso pre-MPF in MPF attivo.

Il segnale del progesterone è mediato dalla proteina **c-mos**. Il progesterone fa riprendere la meiosi inducendo l'uovo a poliadenilare l'mRNA materno *c-mos*, immagazzinato nel citoplasma (Sagata et al. 1988; Sheets et al. 1995; Mendez et al. 2000). Questo messaggero viene tradotto in una fosfoproteina di 39 kDa. La proteina c-mos è riscontrabile soltanto nel corso della maturazione dell'ovocita e viene rapidamente distrutta alla fecondazione. Eppure, in questo breve tempo, essa svolge un ruolo cruciale nel risvegliare l'uovo dallo stato di quiescenza. La proteina c-mos, infatti, attiva una cascata di fosforilazioni che porta alla fosforilazione e attivazione della subunità p34 dell'MPF (Ferrell e Machleder 1998; Ferrell 1999). L'MPF attivo consente la disgregazione della vescicola germinativa e la divisione dei cromosomi. Se si inibisce la traduzione di *c-mos* iniettando nell'ovocita mRNA antisense, non si ha la disgregazione della vescicola, né il ripristino della maturazione dell'ovocita.

La maturazione dell'ovocita, tuttavia, incontra poi un secondo blocco. L'MPF può portare i cromosomi soltanto

attraverso la prima divisione meiotica e la profase della seconda. L'ovocita si arresta di nuovo nella metafase della seconda divisione meiotica. Tale blocco metafasico è dovuto al **fattore citostatico** (*cytostatic factor*, **CSF**; Matsui 1974). CSF è in realtà un complesso di proteine che include c-mos, la chinasi 2 dipendente dalla ciclina, la chinasi MAP ed Erp1 (Gabielli et al. 1993; Inoue et al. 2007; Nishiyama et al. 2007). Erp1 è la proteina attiva ed è sintetizzata immediatamente dopo la prima divisione meiotica. Le proteine del complesso CSF interagiscono con Erp1, attivandolo mediante fosforilazione. Erp1 fosforilato blocca la degradazione della ciclina da parte del complesso che promuove l'anafase.

Il blocco in metafase è interrotto dalla **fecondazione**. Il **flusso di ioni calcio** che accompagna la fecondazione consente infatti l'attivazione della proteina **calmodulina**, che lega il calcio. La calmodulina, a sua volta, può attivare due enzimi che inattivano il CSF: la chinasi II calmodulina-dipendente, che inattiva la chinasi cdk2, e la calpaina II, una proteasi dipendente dal calcio che degrada c-mos (Watanabe et al. 1989; Lorca et al. 1993). Tale azione promuove la divisione cellulare in due modi. In primo luogo, in assenza di CSF, la ciclina può essere degradata e si può completare la divisione meiotica. Secondo, la chinasi II calmodulina-dipendente consente anche la duplicazione del centrosoma, formando in tal modo i poli del fuso meiotico (Matsumoto e Maller 2002). Nel 1911, Frank Lillie scrisse: «La natura dell'inibizione, che rende necessaria la fecondazione, è il problema fondamentale». La soluzione

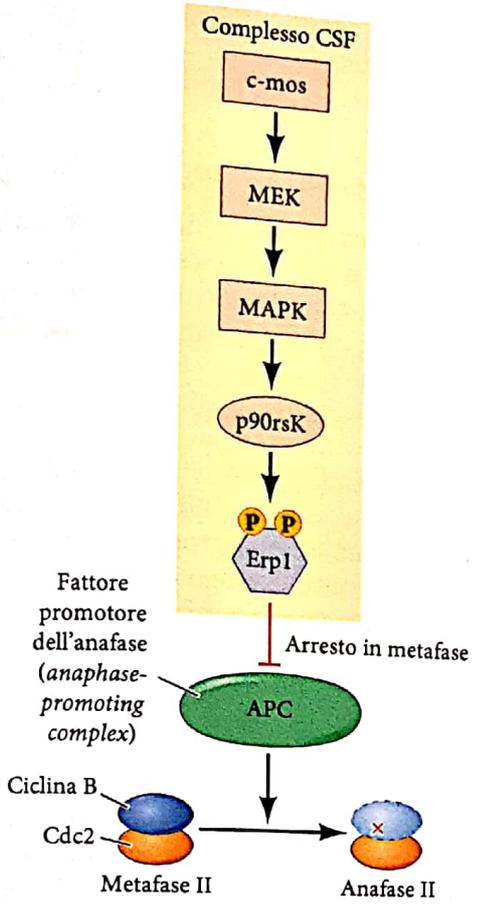


FIGURA 16.23 La via principale che porta all'arresto in metafase nella seconda divisione meiotica. Il complesso proteico CSF è composto da c-mos, tre chinasi di trasduzione e la proteina effettrice Erp1. L'attivazione di c-mos attiva le chinasi che, alla fine della cascata regolativa, fosforilano Erp1. Erp1 fosforilato si lega e inibisce il complesso di promozione dell'anafase, bloccando in tal modo la degradazione della ciclina B, che permette alla cellula di entrare in anafase. (Tratta da Inoue et al. 2007.)

dell'RNA. Si possono incubare i cromosomi degli oociti con una sonda di RNA radioattivo, per poi visualizzare mediante autoradiografia le sedi precise nelle quali vengono trascritti i geni (Figura 16.24A). Le immagini al microscopio elettronico dei trascritti di geni di cromosomi a spazzola consentono anche di osservare catene di RNA che si allungano da ogni gene mentre viene trascritto (Figura 16.24B; vedi anche Hill e MacGregor 1980).

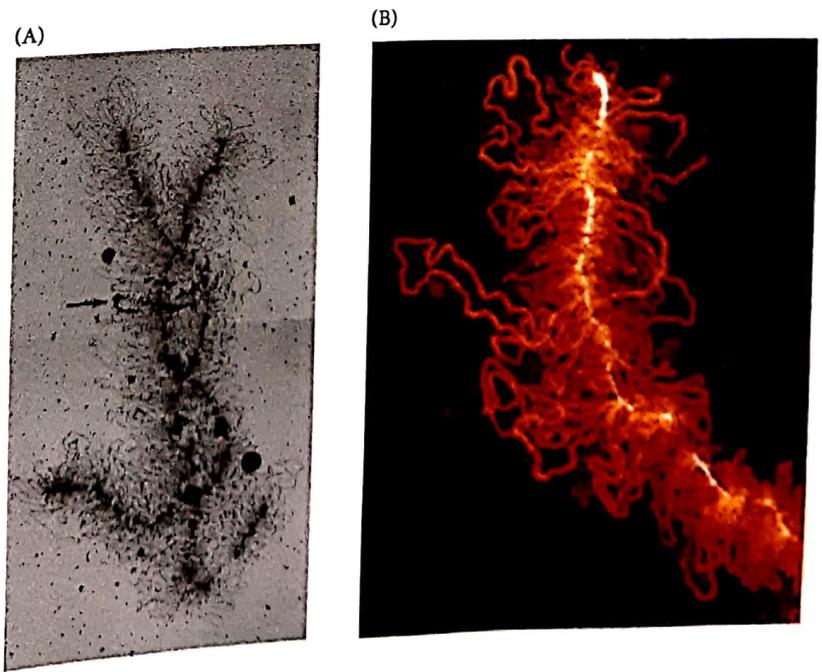
Oltre alla sintesi di mRNA, durante l'oogenesi si ha anche la trascrizione di RNA ribosomale e di RNA transfer. La Figura 16.25A mostra il profilo della sintesi di rRNA e di tRNA che caratterizza l'oogenesi di *Xenopus*. La trascrizione comincia negli oociti a stadi iniziali (stadio I, 25-40 μm), alla fase di diplotene della meiosi. In questa fase, sono prodotti tutti gli rRNA e i tRNA necessari per la sintesi delle proteine fino allo stadio di blastula intermedia, e sono trascritti tutti gli mRNA materni necessari per lo sviluppo iniziale. In *Xenopus*, questo stadio ha una durata di mesi. Il ritmo di produzione dell'RNA ribosomale è prodigioso. Il genoma dell'oocita di *Xenopus* contiene oltre 1800 geni codificanti gli rRNA 18S e 28S (i due RNA di grandi dimensioni presenti nei ribosomi); questi geni sono selettivamente amplificati, cosicché nell'oocita si trovano oltre 500 000 geni che producono RNA ribosomale (Figura 16.25B; Brown e Dawid 1968). Quando l'oocita maturo (stadio VI)

a questo problema sono il CSF di derivazione oocitaria e l'onda di ioni calcio indotta dallo spermatozoo.

● **Trascrizione genica negli oociti degli anfibii**

L'oocita degli anfibii presenta determinati periodi di attivissima sintesi dell'RNA. Durante lo stadio di diplotene, certi cromosomi estendono lunghe anse di DNA che li fanno assomigliare agli spazzolini impiegati un tempo per pulire manualmente le provette (prima dell'epoca delle provette usa e getta in plastica). Mediante l'ibridazione *in situ* si può dimostrare come questi cromosomi a spazzola siano sede di sintesi

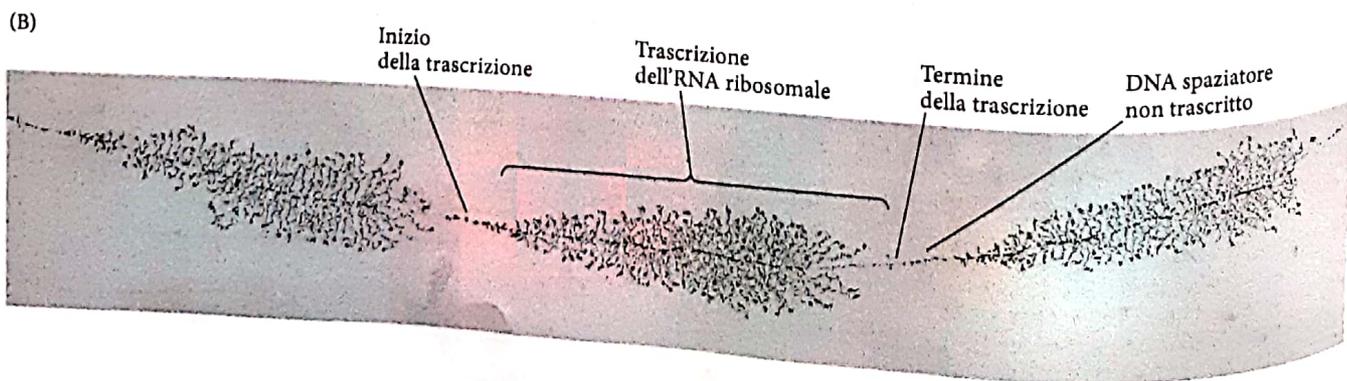
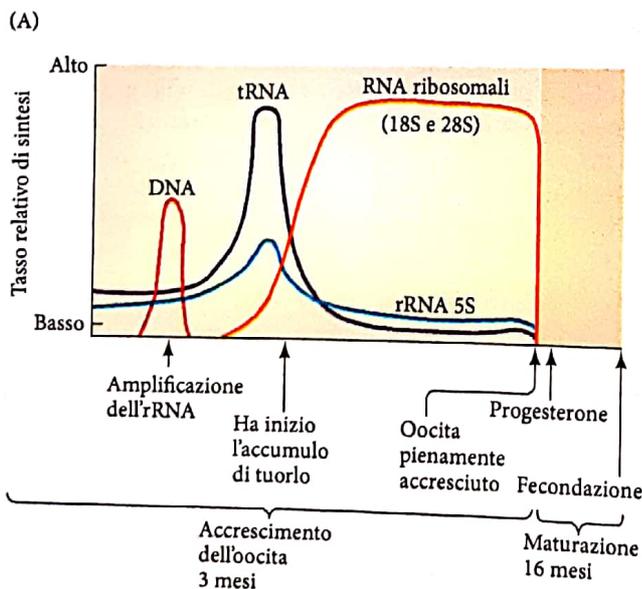
FIGURA 16.24 Negli oociti di anfibio, i cromosomi a spazzola sono attivi nella vescicola germinativa in fase di diplotene della prima profase meiotica. (A) Autoradiografia del cromosoma I del tritone *Triturus cristatus*, dopo ibridazione *in situ* con l'mRNA radioattivo per uno degli istoni. Il gene per l'istone (o un insieme di geni per gli istoni) viene trascritto (freccia) a partire da una delle anse di questo cromosoma a spazzola. (B) Cromosoma a spazzola della salamandra *Notophthalmus viridescens*. Il DNA disteso (in bianco) forma anse e viene trascritto in RNA (rosso). (A, tratta da Old et al. 1977, per gentile concessione di H. G. Callan; B, per gentile concessione di M. B. Roth e J. Gall.)



raggiunge una certa dimensione, i suoi cromosomi si condensano e i geni dell'rRNA non sono più trascritti. Anche questa condizione di "oocita maturo" può durare dei mesi. In condizioni di stimolazione ormonale, l'oocita completa la sua prima divisione meiotica e viene ovulato. Gli mRNA accumulati nell'oocita si uniscono a quel punto ai ribosomi per dare inizio alla sintesi delle proteine. Nell'arco di alcune ore, riprende la seconda divisione meiotica e l'oocita secondario viene fecondato. Poi, come ben sappiamo, i geni dell'embrione non iniziano a trascrivere attivamente fino alla transizione della blastula intermedia (Newport e Kirschner 1982).

Come si è visto nel Capitolo 2, gli oociti di diverse specie producono due classi di mRNA, quelli per l'uso immediato nell'oocita e quelli da immagazzinare per l'impiego nelle fasi iniziali dello sviluppo. Nelle rane, la traduzione dei messaggeri accumulati nell'oocita (mRNA materni) è attivata dal progesterone quando l'uovo sta per essere ovulato. Una delle conseguenze dell'attività dell'MPF indotta dal progesterone può essere la fosforilazione di proteine posizionate sulla regione 3' UTR degli mRNA immagazzinati nel-

FIGURA 16.25 Produzione di RNA ribosomale in oociti di *Xenopus*. (A) Livelli relativi di sintesi di DNA, tRNA e rRNA, nell'oogenesi di anfibio durante gli ultimi tre mesi che precedono l'ovulazione. (B) Trascrizione del grande RNA precursore degli RNA ribosomali 28S, 18S e 5,8S. Queste unità sono unite in tandem, in numero di circa 450 per genoma aploide. (A, tratta da Gurdon 1976; B, per gentile concessione di O. L. Miller, Jr.)



l'oocita. La fosforilazione di questi fattori è stata associata all'allungamento delle code di poli(A) dei messaggeri accumulati e alla loro successiva traduzione (Paris et al. 1991).

● Oogenesi meroistica negli insetti

Negli insetti, esistono diversi tipi di oogenesi, ma la maggior parte degli studi si è concentrata su quegli insetti, come la *Drosophila* e le falene, che hanno un'oogenesi meroistica, nella quale rimangono connessioni citoplasmatiche tra le cellule prodotte dall'oogonio.

Gli oociti degli insetti meroistici non attraversano uno stadio di attiva trascrizione, né hanno cromosomi a spazzola. La sintesi dell'RNA è invece confinata in larga misura nelle cellule nutrici, e l'RNA da queste prodotto è trasportato attivamente al citoplasma dell'oocita (vedi Figura 6.7). L'oogenesi ha luogo in soli 12 giorni; quindi, in questo periodo, le cellule nutrici sono metabolicamente molto attive. Alla loro efficienza trascrizionale contribuisce il fatto di divenire politeniche. Anziché possedere due copie di ciascun cromosoma, replicano i loro cromosomi fino a produrne 512 copie. Le 15 cellule nutrici trasferiscono nel citoplasma dell'oocita RNA ribosomali e messaggeri, oltre che proteine, e anche interi ribosomi. Gli mRNA non si associano ai polisomi e ciò fa ritenere che non siano immediatamente attivi nel processo di sintesi proteica (Paglia et al. 1976; Telfer et al. 1981).

L'ovario meroistico ci mette di fronte ad alcuni interessanti problemi. Se tutti i 16 cistociti derivati dalla PGC sono connessi in modo tale che proteine ed RNA passino liberamente dall'uno all'altro, come mai 15 cistociti diventano cellule nutrici che producono RNA mentre uno solo dei cistociti è destinato a divenire l'oocita? Perché il flusso di proteine ed RNA è unidirezionale?

Quando i cistociti si dividono, si forma una grande struttura ricca di spectrina, denominata **fusoma**, che si estende attraverso i canali anulari intercellulari (vedi Figura 16.4A). È costruita in modo asimmetrico, perché si accresce sempre dal polo del fuso che rimane in una delle cellule dopo la prima divisione (Lin e Spradling 1995; de Cuevas e Spradling 1998). La cellula che mantiene la parte più grande del fusoma durante la prima divisione diventa l'oocita. Non è ancora chiaro se il fusoma contenga deter-

Oogenesi (nella femmina)

La meiosi inizia una sola volta in una popolazione finita di cellule
 Ogni meiosi produce un solo gamete
 Il completamento della meiosi è sospeso per mesi o anni
 La meiosi si arresta alla prima profase meiotica e riprende in una popolazione cellulare più piccola
 Il gamete si differenzia mentre è diploide, nella prima profase meiotica
 Tutti i cromosomi mostrano un'equivalente trascrizione e ricombinazione, durante la prima profase meiotica

Spermatogenesi (nel maschio)

La meiosi inizia in modo continuo in una popolazione di cellule staminali che si dividono per mitosi
 Ogni meiosi produce quattro gameti
 Il completamento della meiosi avviene in giorni o settimane
 La meiosi e il differenziamento procedono in modo continuo, senza arresto del ciclo cellulare
 Il gamete si differenzia quando è aploide, dopo che la meiosi è completata
 I cromosomi del sesso sono esclusi dalla ricombinazione e dalla trascrizione, durante la prima profase meiotica

Fonte: Handel ed Eppig 1998.

minanti oogenetici o se diriga il trasporto di materiali in questa particolare cellula.

Una volta stabiliti i vari profili di trasporto, il citoscheletro viene impegnato attivamente nel trasferimento degli mRNA dalle cellule nutrici al citoplasma dell'oozita (Cooley e Theurkauf 1994). Per la determinazione dell'oozita, è decisivo uno specifico riassortimento dei microtubuli che si estendono attraverso i canali anulari (vedi Figura 16.4C). Nelle cellule nutrici, la proteina Exuperantia lega il messaggero *bicoid* ai microtubuli e lo trasporta nella parte anteriore dell'oozita (Cha et al. 2001; vedi Capitolo 6). Se l'organizzazione dei microtubuli è alterata (farmacologicamente o mediante mutazioni quali *bicaudal-D* o *egalitarian*), i prodotti dei geni delle cellule nutrici sono trasmessi in tutte le direzioni e tutte le cellule si differenziano in cellule nutrici (Gutzeit 1986; Theurkauf et al. 1992, 1993; Spradling 1993).

Le proteine Bicaudal-D ed Egalitarian sono probabilmente componenti centrali di un sistema motore basato sulla dineina, che trasporta mRNA e proteine da un capo all'altro dell'oozita (Bullock e Ish-Horowicz 2001). È possibile che alcuni composti trasportati dalle cellule nutrici nell'oozita siano associati a proteine di trasporto, quali dineina e chinesina, che consentono il loro spostamento lungo binari di microtubuli che attraversano i canali anulari (Theurkauf et al. 1992; Sun e Wyman 1993). Il messaggero *oskar*, per esempio, è legato alla chinesina per mezzo della proteina Barentsz, e la chinesina può trasportarlo nella parte posteriore dell'oozita (van Eeden et al. 2001; vedi Figura 6.7).

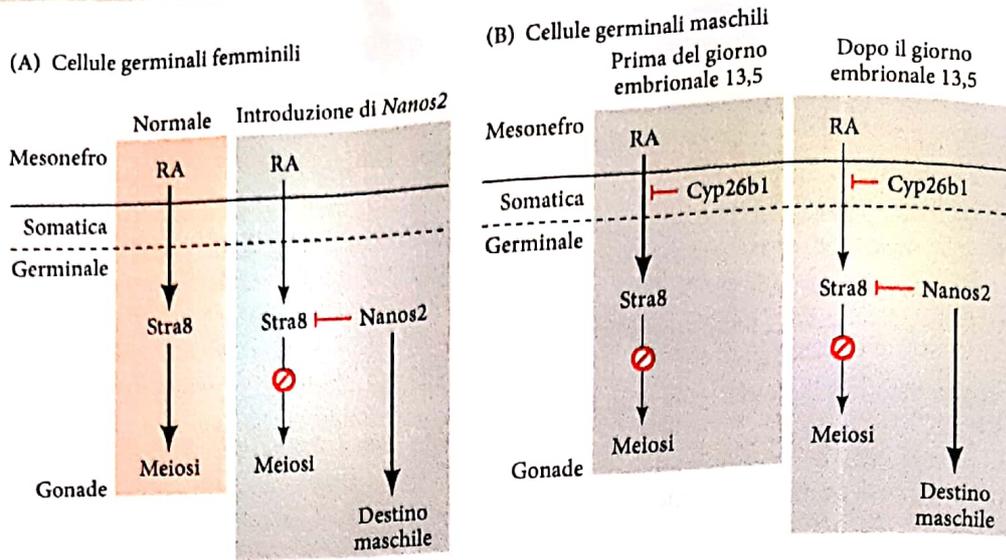
L'actina può divenire importante nel mantenere la polarità del trasporto negli stadi avanzati dell'oogenesi. Mutazioni che impediscono l'allineamento dei microfilamenti actinici lungo i canali anulari impediscono il trasporto degli mRNA dalle cellule nutrici all'oozita, e la disorganizzazione dei microfilamenti actinici rende casuale la distribuzione degli mRNA (Cooley et al. 1992; Watson et al. 1993). Il citoscheletro regola quindi il movimento di organelli e mRNA tra le cellule nutrici e l'oozita, in modo tale che le istruzioni per lo sviluppo siano scambiate soltanto nella direzione appropriata.

Gametogenesi nei mammiferi

Così come indicato nella Tabella 16.2, esistono profonde differenze tra oogenesi e spermatogenesi nei mammiferi. Una differenza fondamentale riguarda i tempi di insorgenza della meiosi. Nelle femmine, la meiosi inizia nelle gonadi embrionali; nei maschi non inizia fino alla pubertà. La sostanziale differenza nei tempi è dovuta all'acido retinoico (RA) prodotto dal rene mesonefrico (Figura 16.26). L'acido retinoico stimola le cellule germinali ad andare incontro a un nuovo ciclo di replicazione del DNA e a iniziare la meiosi (Baltus et al. 2006; Bowles et al. 2006; Lin et al. 2008). Nei maschi, tuttavia, i testicoli embrionali secernono l'enzima Cyp26b1 che degrada l'acido retinoico. Ciò impedisce che quest'ultimo promuova la meiosi. Successivamente, Nanos2 verrà espresso nelle cellule germinali maschili e anche questo evento impedirà la meiosi e garantirà che tutte le cellule seguano il percorso spermatico (Koubova et al. 2006; Suzuki e Saga 2008).

● **Spermatogenesi**

Una volta che le PGC dei mammiferi arrivano alla cresta genitale di un embrione di sesso maschile, prendono il nome di **gonociti** e vengono incorporate nei cordoni sessuali (Culty 2009). I gonociti rimangono in quella sede fino alla maturità, momento in cui i cordoni sessuali si cavitano per formare i **tubuli seminiferi**. L'epitelio dei tubuli si differenzia in cellule di Sertoli, che nutrono e proteggono le cellule spermatiche in via di sviluppo. I gonociti si differenziano in una popolazione di cellule staminali, recentemente definite **spermatogoni indifferenziati di tipo A** (Yoshida et al. 2007). Queste cellule possono riattivare la spermatogenesi se sono trasferite in topi, la cui spermatogenesi è stata inibita da composti tossici. Tali spermatogoni risiedono in nicchie di cellule staminali create dalla giunzione fra cellule di Sertoli, cellule interstiziali (che producono testosterone) e vasi sanguigni. La scelta fra proliferazione e differenziamento può implicare varie interazioni tra le vie di Wnt e BMP. Il segnale Wnt promuove la proliferazione delle cellule staminali e gli spermatogoni



(C) L'RA viene sintetizzato



Maschio Femmina

(D) L'RA viene degradato



Maschio Femmina

FIGURA 16.26 L'acido retinoico (RA) determina la regolazione temporale della meiosi e il differenziamento sessuale delle cellule germinali nei mammiferi. (A) Negli embrioni di topo di sesso femminile, l'RA secreto dal mesonefro raggiunge la gonade e innesca l'inizio della via meiotica, mediante l'induzione del fattore di trascrizione Stra8 nelle cellule germinali femminili (in rosa). Tuttavia, se geni *Nanos2* attivati vengono introdotti nelle cellule germinali femminili, questi reprimono l'espressione di Stra8, portando le cellule germinali verso un destino maschile (in grigio). (B) Nei testicoli embrionali, Cyp26b1 blocca il segnale dell'acido retinoico, impedendo in tal modo alle cellule germinali maschili di avviare la meiosi fino al giorno embrionale 13,5 (riquadro a sinistra). Dopo il

giorno embrionale 13,5, quando l'espressione di Cyp26b1 è diminuita, Nanos2 può essere espressa e impedisce l'avvio della meiosi, bloccando l'espressione di Stra8. Questo induce il differenziamento delle cellule germinali in senso maschile (riquadro di destra). (C, D) Mesonefros, dissezionati da embrioni di topo al giorno 12,0 di sviluppo, sono stati colorati per l'mRNA che codifica l'enzima Aldh1a2, necessario per la sintesi di RA (C), e per l'mRNA che codifica l'enzima Cyp26b1, responsabile della degradazione di RA (D). L'enzima che sintetizza l'RA viene espresso nel mesonefro sia maschile che femminile; l'enzima che degrada l'RA si osserva solo nella gonade maschile. (A, B tratte da Saga 2008; C, D tratte da Bowles et al. 2006, per gentile concessione di P. Koopman.)

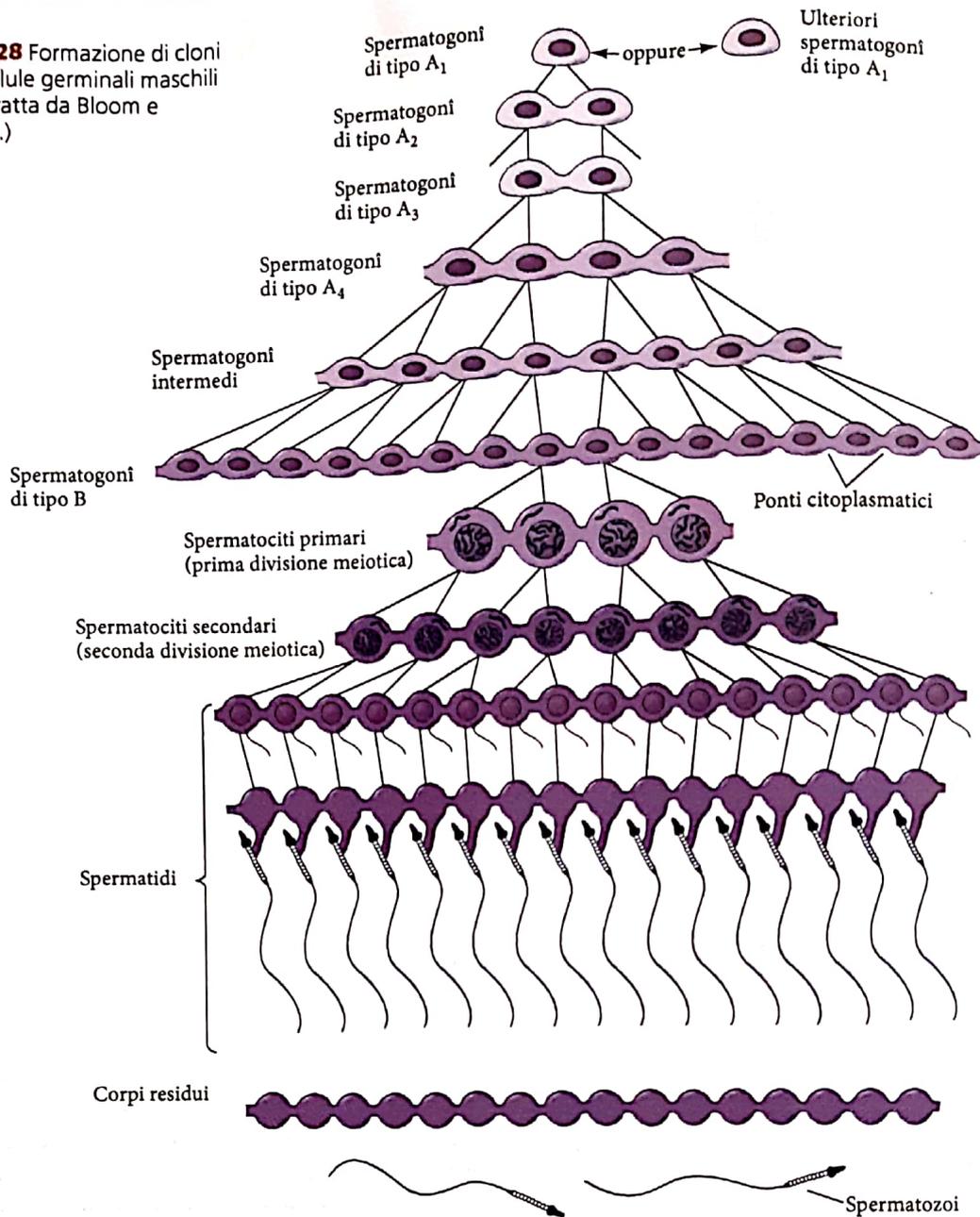
possiedono i recettori sia per Wnt che per le proteine BMP (Golestaneh et al. 2009). L'inizio della spermatogenesi, durante la pubertà, è probabilmente regolato dalla sintesi di BMP da parte delle cellule germinali spermatogeniche, gli spermatogoni. Quando BMP8b raggiunge una concentrazione soglia, le cellule staminali germinali iniziano a differenziarsi. Il differenziamento cellulare produce livelli elevati di BMP8b, che possono poi ulteriormente stimolare il loro differenziamento. Topi privi di BMP8b non iniziano la spermatogenesi alla pubertà (Zhao et al. 1996).

Le cellule germinali spermatogeniche sono legate alle cellule di Sertoli da molecole di N-caderina, presenti sulla superficie di entrambi i tipi cellulari, e da molecole di galattosil transferasi delle cellule spermatogeniche, che si legano

a un recettore glucidico delle cellule di Sertoli (Newton et al. 1993; Pratt et al. 1993). La spermatogenesi, ossia il percorso di sviluppo che porta dalla cellula germinale allo spermatozoo maturo, avviene nei recessi che si snodano tra le cellule di Sertoli (Figura 16.27).

Formazione dello spermatoide aploide Gli spermatogoni indifferenziati di tipo A₁ (a volte definiti anche spermatogoni densi di tipo A) si trovano adiacenti alla lamina basale esterna dei cordoni sessuali. Sono cellule staminali e, alla maturità, sembra si dividano producendo un altro spermatogonio di tipo A₁ e un secondo tipo di cellula, più traslucida, lo spermatogonio di tipo A₂. Gli spermatogoni A₂ si dividono, producendo gli spermatozoi A₃, che poi

FIGURA 16.28 Formazione di cloni sinciziali di cellule germinali maschili nell'uomo. (Tratta da Bloom e Fawcett 1975.)



dellati e sostituiti da varianti specifiche degli spermatozoi (vedi dopo), ma perfino i fattori di trascrizione basali della RNA polimerasi II vengono sostituiti da specifiche varianti spermatiche. Il complesso TFIID, che contiene la proteina legante la regione TATA e 14 proteine TAF, svolge il suo ruolo nel processo di riconoscimento della RNA polimerasi. Una di queste proteine TAF, TAF4b, è specifica degli spermatozoi ed è necessaria per la spermatogenesi murina (Falender et al. 2005). Senza questo fattore, le cellule staminali spermatogoniali non riescono a produrre Ret (il recettore per GDNF) o il fattore di trascrizione Luxoid, e la spermatogenesi non avviene.

Spermiogenesi: il differenziamento dello spermatozoo

Lo spermatozoo aploide dei mammiferi è una cellula rotondeggiante, priva di flagello, per nulla simile allo spermatozoo maturo dei vertebrati. Il passaggio successivo della maturazione degli spermatozoi è quindi la **spermiogenesi** (o **spermateliosi**): il differenziamento dello spermatozoo.

Perché la fecondazione avvenga, lo spermatozoo deve incontrare un uovo e legarsi a esso, e la spermiogenesi prepara lo spermatozoo a queste funzioni di motilità e interazione. Il processo di differenziamento dello spermatozoo dei mammiferi è illustrato nella Figura 4.2. Il primo stadio è la formazione della vescicola acrosomale a partire dall'apparato di Golgi. L'acrosoma forma un cappuccio che ricopre il nucleo dello spermatozoo. Quando si è formato il cappuccio acrosomale, il nucleo ruota in modo che il cappuccio sia rivolto verso la membrana basale del tubulo seminifero. Questa rotazione è necessaria, poiché il flagello, che comincia a formarsi dal centriolo al lato opposto del nucleo, si prolungherà nel lume. Nell'ultimo stadio della spermiogenesi, il nucleo si appiattisce e si condensa, il citoplasma restante (corpo residuo o "goccia citoplasmatica") viene eliminato, e i mitocondri si dispongono a spirale attorno alla base del flagello.

Durante la spermiogenesi, gli istoni degli spermatogoni sono spesso sostituiti da varianti istoniche, e avviene una

diffusa dissociazione dei nucleosomi. Questo rimodellamento dei nucleosomi potrebbe anche segnare il momento in cui viene rimosso il profilo di metilazione genica della PGC e sul DNA dello spermatozoo si stabilisce il profilo di metilazione specifico del genoma maschile (vedi Wilkins 2005). Quando la spermiogenesi finisce, gli istoni dei nuclei aploidi sono alla fine sostituiti dalle protamine⁴. Tale sostituzione ha come conseguenza la completa interruzione della trascrizione nucleare e facilita il nucleo ad assumere una struttura quasi cristallina (Govin et al. 2004). Lo spermatozoo definitivo si immette, quindi, nel lume del tubulo seminifero.

Q Vedi SITO WEB 16.5

Il Nebenkern

The Nebenkern

uomo 69

Nel topo, lo sviluppo da cellula staminale a spermatozoo richiede 34,5 giorni. Gli stadi spermatogoniali durano 8 giorni, la meiosi dura 13 giorni e la spermiogenesi impiega altri 13,5 giorni. Nell'uomo, lo sviluppo dello spermatozoo richiede un tempo circa doppio. Dato che gli spermatogoni di tipo A₁ sono cellule staminali, la spermatogenesi può avvenire in modo continuo. Ogni giorno si producono circa 100 milioni di spermatozoi in ognuno dei testicoli umani, e ogni eiaculazione libera 200 milioni di spermatozoi. Gli spermatozoi inutilizzati sono riassorbiti o emessi dall'organismo con le urine. Nell'arco della vita, un individuo di sesso maschile della specie umana può produrre da 10¹² a 10¹³ spermatozoi (Reijo et al. 1995).

• **Oogenesi**

Nell'embrione umano, circa mille oogoni si dividono rapidamente tra il secondo e il settimo mese di vita intrauterina, formando circa 7 milioni di cellule germinali (Figura 16.29). Dopo il settimo mese di sviluppo, tuttavia, il numero delle cellule germinali precipita bruscamente. La maggior parte degli oogoni muore in questo periodo, mentre quelli restanti iniziano la prima divisione meiotica (Pinkerton et al. 1961). Queste ultime cellule, gli oociti primari, procedono negli stadi della prima profase meiotica fino allo stadio di diplotene, e permangono in questo finché la femmina non ha raggiunto la maturità sessuale. Con l'inizio della pubertà, gruppi di oociti riprendono periodicamente la meiosi. Nelle femmine della specie umana, la prima parte della meiosi inizia quindi nell'embrione e il segnale per il ripristino della meiosi viene dato soltanto 12 anni dopo. In realtà, alcuni oociti permangono in prima profase meiotica per circa 50 anni. Come è indicato nella Figura 16.29, gli oociti primari continuano a

⁴ Le protamine sono proteine relativamente piccole, costituite per oltre il 60% da arginina. La trascrizione dei geni per le protamine si rileva nei primi spermatidi aploidi, sebbene la loro traduzione sia sospesa per diversi giorni (Peschon et al. 1987). La sostituzione, tuttavia, non è completa, e nucleosomi "d'attivazione", caratterizzati da H3K4 trimetilato, si raggruppano intorno a loci significativi per lo sviluppo, fra i quali quelli contenenti i promotori dei geni *Hox*, i geni per certi microRNA e alcuni altri loci sottoposti a imprinting, la cui espressione ha una regolazione a origine paterna (Hammoud et al. 2009).

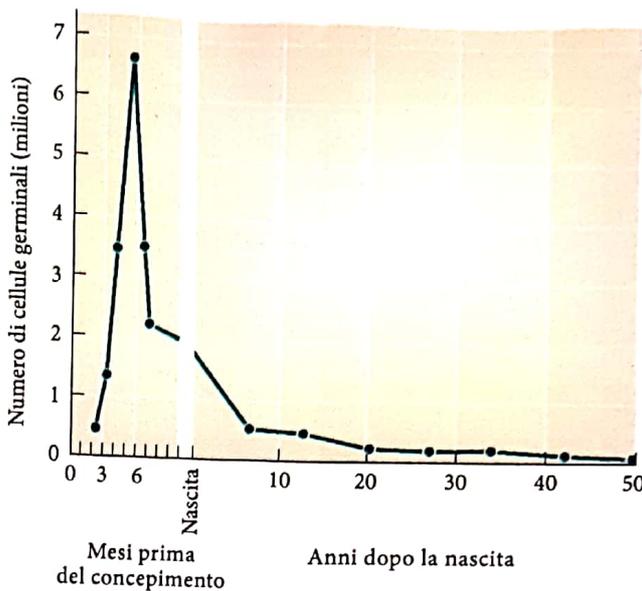


FIGURA 16.29 Variazioni del numero delle cellule germinali nell'ovario umano, in tutto l'arco della vita. (Tratta da Baker 1970.)

morire anche dopo la nascita. Dei milioni di oociti primari presenti alla nascita, soltanto 400 circa matureranno nel corso della vita di una donna⁵.

Q Vedi SITO WEB 16.6

La sintesi dei ribosomi negli oociti

Synthesizing oocyte ribosomes

La meiosi nell'oogenesi La meiosi dell'oogenesi differisce dalla meiosi della spermatogenesi anche per la posizione della piastra metafase. Quando l'oocita primario si divide, il suo nucleo, la **vescicola germinativa**, si disgrega e il fuso metafase migra alla periferia della cellula. Alla telofase, una delle due cellule figlie non contiene quasi per niente citoplasma, mentre l'altra conserva pressoché l'intero volume dei costituenti cellulari (Figura 16.30). La cellula più piccola è il **primo globulo polare**, quella più grande è l'**oocita secondario**. Una citodieresi ineguale simile a questa avviene nella seconda divisione meiotica; la maggior parte del citoplasma rimane nell'uovo maturo e un secondo globulo polare riceve poco più che un nucleo aploide (il primo globulo polare solitamente non si divide). La meiosi dell'oogenesi mantiene dunque il volume del citoplasma

⁵ Si è pensato a lungo che il numero di oociti, in un mammifero di sesso femminile (inclusa la specie umana), fosse stabilito durante l'embriogenesi e non potesse mai aumentare (Zuckerman 1951). Esperimenti di marcatura radioattiva dei nuclei oocitari hanno persino rafforzato l'ipotesi che il numero di oociti fosse immutabile rispetto a quello stabilito durante la vita embrionale (vedi Telfer 2004). Recentemente, tuttavia, Zou e collaboratori (2008) hanno sostenuto di aver identificato cellule staminali germinali femminili negli ovari di topi adulti. Tale osservazione potrebbe implicare che la perdita della fecondità femminile nei mammiferi non sia dovuta esclusivamente all'invecchiamento degli oociti, ma anche all'esaurimento di cellule PGC staminali di questo tipo (Oktem e Oktay 2009). L'ovario potrebbe quindi possedere alcune capacità rigenerative, sinora sconosciute.

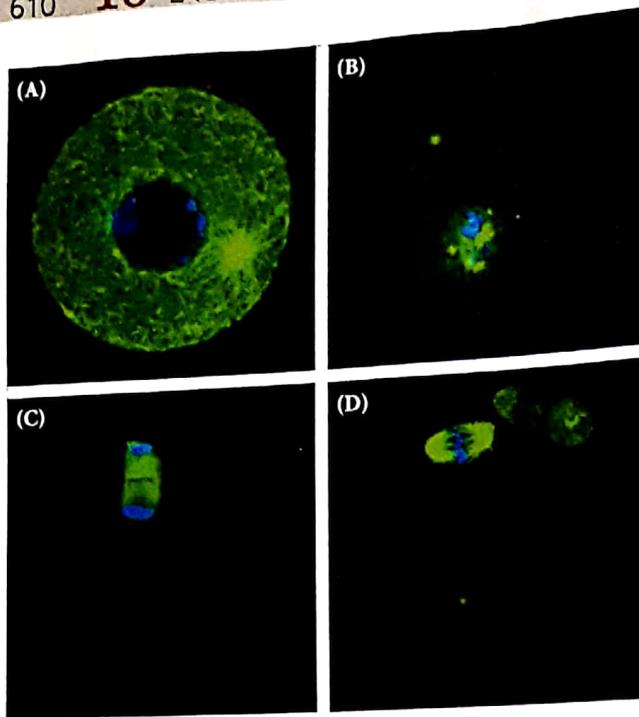


FIGURA 16.30 Meiosi nell'ocita di topo. La tubulina dei microtubuli è colorata in verde; il DNA è colorato in blu. (A) Oocita nella prima profase meiotica. Il voluminoso nucleo (vescicola germinativa) è ancora integro. (B) L'involucro nucleare della vescicola germinativa si disgrega allorché inizia la metafase. (C) Anafase della I divisione meiotica, durante la quale il fuso migra alla periferia dell'uovo, dove viene emesso un piccolo globulo polare. (D) Metafase della II divisione meiotica, che genererà il secondo globulo polare (in questo caso anche il primo globulo polare si è diviso). (Tratta da De Vos 2002; fotografie per gentile concessione di L. De Vos.)

dell'ocita in un'unica cellula, anziché suddividerlo in parti uguali tra le quattro cellule figlie.

Maturazione dell'ocita dei mammiferi Nei mammiferi, l'ovulazione segue l'uno o l'altro di due profili, a seconda della specie. Un profilo di ovulazione è stimolato dall'atto della copulazione. La stimolazione fisica della cervice uterina scatena la liberazione di gonadotropine da parte dell'ipofisi. Tali gonadotropine segnalano all'uovo di riprendere la meiosi e di dare inizio agli eventi che porteranno alla sua espulsione dall'ovario. Questo meccanismo assicura che la maggior parte delle copulazioni dia come risultato la fecondazione delle uova, e gli animali che utilizzano questo metodo di ovulazione, come i conigli e i visoni, hanno fama di grande successo riproduttivo.

La maggior parte dei mammiferi, tuttavia, mostra un profilo di ovulazione periodico, nel quale l'ovulazione della femmina avviene soltanto in specifici periodi dell'anno. Questo periodo ovulatorio è denominato **estro** (o il suo equivalente, in linguaggio colloquiale, "calore"). In questi animali, stimoli ambientali, come soprattutto la quantità e il tipo di luce diurna, inducono l'ipotalamo a liberare l'**ormone di rilascio delle gonadotropine** (*gonadotropin-releasing hormone*, **GRH**). Questo fattore stimola l'ipofisi a rilasciare le gonadotropine, ovvero l'**ormone follicolo-stimolante** (*follicle-stimulating hormone*, **FSH**) e l'**ormone luteinizzante** (*luteinizing hormone*, **LH**), che inducono le

cellule del follicolo ovarico a proliferare e secernere estrogeni. Gli estrogeni entrano in determinati neuroni ed evocano il profilo comportamentale dell'accoppiamento, caratteristico di ogni specie. Le gonadotropine stimolano anche l'accrescimento dei follicoli e danno inizio all'ovulazione. Il comportamento dell'accoppiamento e l'ovulazione quindi si verificano insieme.

La specie umana presenta una variazione sul tema dell'ovulazione periodica. Sebbene gli individui di sesso femminile abbiano un'ovulazione ciclica (in media, circa una volta ogni 29,5 giorni) e non presentino un estro annuale, la fisiologia della riproduzione umana è in gran parte condivisa con altri primati. La periodicità della maturazione e liberazione delle uova caratteristica dei primati è detta **ciclo mestruale**, perché comporta la periodica perdita di sangue e tessuto endometriale dall'utero a intervalli mensili⁶. Il ciclo mestruale rappresenta l'integrazione di tre cicli assai differenti.

1. Il **ciclo ovarico**, la cui funzione è la maturazione e la liberazione di un oocita.
2. Il **ciclo uterino**, che ha la funzione di fornire l'ambiente adatto allo sviluppo della blastocisti.
3. Il **ciclo cervicale**, che ha la funzione di consentire agli spermatozoi di entrare nelle vie genitali della femmina soltanto al momento appropriato.

Queste tre funzioni sono integrate per mezzo degli ormoni secreti dall'ipofisi, dall'ipotalamo e dall'ovario.

Nell'ovario umano adulto, la maggioranza degli oociti si trova allo stadio di diplotene della prima profase meiotica (spesso indicata anche come **dictiotene**, dal greco *dictià*, reti, e *tainia*, nastro: "nastro reticolato"). Ogni oocita è contenuto in un **follicolo primordiale**, costituito da un unico strato di cellule epiteliali della granulosa e da uno strato meno organizzato di cellule mesenchimali della teca (Figura 16.31). Periodicamente, un gruppo di follicoli primordiali entra in uno stadio di accrescimento follicolare. In questo periodo, l'ocita aumenta il suo volume di 500 volte (che corrisponde a un aumento del diametro dell'ocita da 10 μm nel follicolo primordiale a 80 μm nel follicolo a sviluppo completato).

Q Vedi SITO WEB 16.7

Gli ormoni e la maturazione delle uova nei mammiferi

Hormones and mammalian egg maturation

Q Vedi SITO WEB 16.8

Il ripristino della meiosi nei mammiferi

The reinitiation of mammalian meiosis

⁶ Lo sfaldamento della mucosa uterina è un tema controverso. Alcuni studiosi considerano la mestruazione un processo attivo, con un significato adattativo nell'evoluzione. Profet (1993) e Howes (2010) hanno ipotizzato che la mestruazione sia un cruciale adattamento immunologico, in grado di proteggere l'utero dalle infezioni contratte dallo sperma o da altri agenti ambientali. Strassmann (1996) ha ipotizzato che la ciclicità dell'endometrio sia un adattamento finalizzato al risparmio energetico, importante in periodi di scarsa nutrizione. Il sanguinamento vaginale sarebbe null'altro che un effetto collaterale di questo processo adattativo. Finn (1998) ha sostenuto come la mestruazione non abbia valore adattativo e sia invece necessaria per le crisi immunologiche che conseguono al contatto nell'utero di due organismi geneticamente diversi. Martin (1992) ha rilevato che potrebbe anche essere sbagliato ritenere che la mestruazione abbia una sola funzione, e che il suo ruolo potrebbe cambiare durante il ciclo vitale della donna.

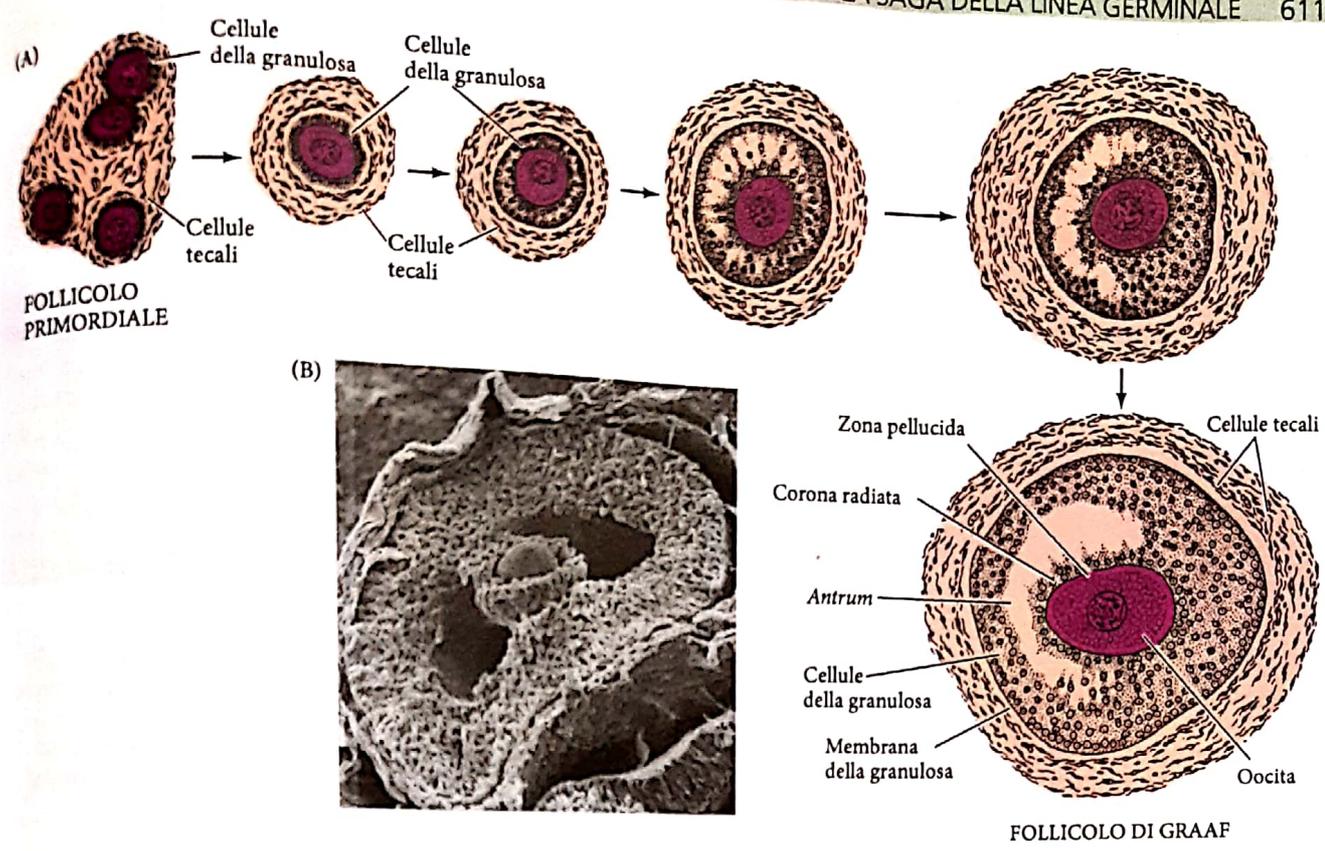


FIGURA 16.31 Il follicolo ovarico dei mammiferi. (A) Maturazione del follicolo ovarico. Il follicolo maturo è spesso definito follicolo di Graaf. (B) Immagine al microscopio elettronico a scansione di un follicolo maturo di ratto.

L'oocita (al centro) è circondato da cellule della granulosa, più piccole, che formano il cumulo ooforo. (A, tratta da Carlson 1981; B, per gentile concessione di P. Bagavandoss.)

In concomitanza con l'accrescimento dell'oocita, aumenta il numero delle **cellule della granulosa**, che formano strati concentrici attorno all'oocita. La proliferazione delle cellule della granulosa è mediata da un fattore paracrino, il GDF9, un componente della famiglia TGF- β (Dong et al. 1996). Durante tutto questo periodo di accrescimento, l'oocita rimane allo stadio di diplotene. Il follicolo che ha completato l'accrescimento contiene quindi un voluminoso oocita, circondato da numerosi strati di cellule della granulosa. Le più interne di queste resteranno insieme all'uovo al momento dell'ovulazione, formando il **cumulo ooforo** che circonda l'uovo nella tuba uterina. Inoltre, durante l'ac-

che circonda l'uovo nella tuba uterina. Inoltre, durante l'ac-

crescimento del follicolo, si forma una cavità (**antrum**) che si riempie di una complessa miscela di proteine, ormoni e altre molecole. Proprio come l'oocita che sta maturando sintetizza fattori paracrini che permettono la proliferazione delle cellule follicolari, così le cellule follicolari secernono fattori di crescita e di differenziamento (TGF- β 2, VEGF, leptina, FGF2) che permettono l'accrescimento dell'oocita e l'ingresso di vasi sanguigni nella regione del follicolo (Antczak et al. 1997). Gli oociti sono mantenuti nello stadio di diplotene dalle cellule del follicolo ovarico. Il rilascio da questa condizione e il ripristino della meiosi sono guidati dall'ormone luteinizzante di origine ipofisaria. Esso viene ricevuto dalle cellule della granulosa che inviano un segnale paracrino o juxtacrino in grado di indurre l'attivazione di MPF nell'oocita (Eppig et al. 2004; Mehlmann et al. 2004).

Contemporaneamente, l'oocita in accrescimento trascrive attivamente dei geni i cui prodotti sono neces-

sari per il metabolismo cellulare, per i processi specifici dell'oocita, o per le fasi iniziali dello sviluppo, prima che comincino a funzionare i nuclei dello zigote. Nel topo, per esempio, l'oocita in diplotene trascrive attivamente i geni per le proteine della zona pellucida ZP1, ZP2 e ZP3 (vedi Figura 4.31). Inoltre, questi geni sono trascritti soltanto nell'oocita e in nessun altro tipo di cellula, un fenomeno confinato quindi a questa cellula in modo simile alla sintesi delle proteine essenziali per la fecondazione (Figura 16.32; Roller et al. 1989; Lira et al. 1990; Epifano et al. 1995).

L'oocita pronto alla fecondazione viene bloccato dall'MPF nella seconda divisione meiotica. Negli oociti degli anfibi, un fattore citostatico stabilizza i dimeri dell'MPF costituiti da ciclina B e Cdc2. Shoji e collaboratori (2006) hanno dimostrato che la perdita del fattore citostatico si verifica al momento dell'attivazione dell'uovo.

Conclusioni

Ora torneremo indietro da dove abbiamo iniziato: il palcoscenico della fecondazione è stato allestito. Sia l'uovo che lo spermatozoo sono entrambi destinati a morire, qualora non si incontrino. Come, nel 1919, riconobbe F. R. Lillie: «Gli elementi che si uniscono sono singole cellule, ognuna in punto di morte; ma grazie alla loro unione si forma un nuovo e giovane individuo, che costituisce il loro legame all'eterno processo della vita».



FIGURA 16.32 Espressione del gene *ZP3* nello sviluppo dell'ocita di topo. (A) Northern blot che mostra l'accumulo di mRNA *ZP3* nei tessuti di un embrione di topo di 13 giorni. Una sonda radioattiva per il messaggero di *ZP3* dimostra che questo è espresso soltanto nell'ovario e specificamente negli oociti. (B) Quando si colloca il gene reporter della luciferasi sotto il controllo del promotore di *ZP3*, e lo si inserisce nel genoma del

topo, il messaggero per la luciferasi è rilevabile soltanto negli oociti in via di sviluppo nell'ovario. (C) Maggiore ingrandimento di un particolare di (B), che mostra due follicoli ovarici contenenti oociti in via di maturazione. (A, tratta da Roller et al. 1989; B, C, tratte da Lira et al. 1990; fotografie per gentile concessione di P. Wassarman.)

ISTANTANEA DEL CAPITOLO

La saga della linea germinale

1. I precursori dei gameti, spermatozoi e uova, sono le cellule germinali primordiali. Queste si formano al di fuori delle gonadi e migrano nelle gonadi durante lo sviluppo.
2. In molte specie esiste un plasma germinale distinto, che spesso contiene le proteine Oskar, Vasa e Nanos o gli mRNA che le codificano.
3. In *Drosophila*, il plasma germinale si localizza nella parte posteriore dell'embrione (plasma polare) e forma le cellule polari, che sono i precursori dei gameti. Nelle rane, il plasma germinale si origina nella parte vegetativa dell'ocita.
4. Il plasma germinale, in molte specie, contiene inibitori della trascrizione e della traduzione, in modo che le loro PGC possano essere silenziate sia a livello traduzionale che a livello trascrizionale.
5. Negli anfibi, le cellule germinali migrano su una matrice di fibronectina dall'intestino posteriore della larva verso le gonadi. Nei mammiferi, si osserva una migrazione simile e possono analogamente essere utilizzati percorsi di fibronectina. In questa migrazione, ha un ruolo cruciale il fattore delle cellule staminali (*stem cell factor*, SCF), e le cellule germinali proliferano durante il tragitto.
6. Negli uccelli, il plasma germinale è inizialmente osservabile nella semiluna germinale. Le cellule germinali sono trasportate nel sangue, poi escono dai vasi e migrano nelle creste genitali.
7. In zebrafish, i determinanti molecolari del plasma germinale entrano in specifiche cellule che sono richiamate verso le gonadi da gradienti chemiotattici, quali quello della proteina Sdf1.
8. In *Drosophila*, la migrazione delle cellule germinali avviene in diverse fasi, che comportano il trasporto passivo, la repulsione da parte dell'endoderma e l'attrazione verso le gonadi.
9. Una volta che le cellule germinali raggiungono le gonadi, possono iniziare la meiosi. La sequenzialità e i dettagli di questo processo dipendono dalle specie e dal sesso dell'organismo. Negli esseri umani e nei topi, le cellule germinali che entrano negli ovari iniziano la meiosi mentre sono ancora in fase embrionale; le cellule germinali che entrano nei testicoli non iniziano la meiosi fino alla pubertà.
10. Prima della meiosi, il DNA viene duplicato e i cromatidi fratelli risultanti restano uniti a livello del cinetocore. I cromosomi omologhi sono uniti l'uno all'altro per mezzo del complesso sinaptonemiale.
11. La prima divisione meiotica separa i cromosomi omologhi. La seconda divisione meiotica divide il cinetocore e separa i cromatidi.
12. Nei nematodi, la decisione meiosi/mitosi è regolata da un'omologa della proteina Delta, presente sulla membrana della cellula dell'estremo distale. La decisione secondo la quale una cellula germinale

- diventa spermatozoo oppure uovo è regolata a livello di traduzione del messaggero *fem-3*.
13. Nei mammiferi, la meiosi della spermatogenesi è caratterizzata dalla produzione di quattro gameti per processo meiotico e dalla mancanza di arresti nella meiosi. La meiosi dell'oogenesi è caratterizzata dalla produzione di un solo gamete per processo meiotico e dall'arresto nella prima profase meiotica, che consente l'accrescimento dell'uovo.
 14. In alcune specie, la meiosi è modificata in modo tale da produrre un uovo diploide. Queste specie possono formare una nuova generazione per partenogenesi, senza fecondazione.
 15. L'uovo non soltanto sintetizza numerosi composti, ma anche assume materiali prodotti da altre cellule. Inoltre, localizza molte proteine e messaggeri in regioni specifiche del citoplasma, spesso ancorandoli al citoscheletro.
 16. L'oocita di *Xenopus* trascrive attivamente dai cromosomi a spazzola durante la prima profase meiotica.

17. In *Drosophila*, le cellule nutrici producono degli mRNA che entrano nell'oocita in via di sviluppo. Quale delle cellule prodotte dalla cellula germinale primordiale diventi l'oocita e quali diventino cellule nutrici è determinato dal fusoma e dallo schema delle divisioni.
18. Nei mammiferi, l'acido retinoico prodotto dal mesonefro dà avvio alla meiosi delle cellule germinali negli ovari. Nei testicoli, tuttavia, l'acido retinoico è degradato e la meiosi è bloccata fino alla pubertà.
19. Nei mammiferi di sesso maschile, le PGC generano cellule staminali che durano per il resto della vita dell'organismo. Negli individui di sesso femminile, questo non accade (sebbene in molti altri gruppi di animali, le PGC diventino cellule staminali negli ovari).
20. Nei mammiferi di sesso femminile, le cellule germinali iniziano la meiosi e permangono in prima profase meiotica (stadio di dictiotene) fino all'ovulazione. In questa fase, sintetizzano gli mRNA e le proteine che saranno usati per il riconoscimento dei gameti e per lo sviluppo iniziale delle uova fecondate.

ULTERIORI LETTURE

Le citazioni bibliografiche complete per tutti i riferimenti di letteratura citati in questo capitolo possono essere scaricate dal sito internet ad accesso libero www.devbio.com.

- Bowles, J. et al. 2006. Retinoid signaling determines germ cell fate in mice. *Science* 312: 596-600.
- Decotto, E. e A. C. Spradling. 2005. The *Drosophila* ovarian and testis stem cell niches: similar somatic stem cells and signals. *Dev. Cell* 9: 501-510.
- Doitsidou, M. et al. 2002. Guidance of primordial germ cell migration by the chemokine SDF-1. *Cell* 111: 647-659.
- Ephrussi, A. e R. Lehmann. 1992. Induction of germ cell formation by oskar. *Nature* 358: 387-392.
- Extravour, C. G. e M. Akam. 2003. Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation. *Development* 130: 5869-5884.
- Hayashi, Y., M. Hayashi e S. Kobayashi. 2004. Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germ line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 10338-10342.
- Knaut, H., C. Werz, R. Geisler, The Tübingen 2000 screen consortium, e C. Nüsslein-Volhard. 2003. A zebrafish homologue of the chemokine receptor *Cxcr4* is a germ-cell guidance receptor. *Nature* 421: 279-282.
- Molyneaux, K. A., J. Stallock, K. Schaible e C. Wylie. 2001. Time-lapse analysis of living mouse germ cell migration. *Dev. Biol.* 240: 488-498.
- Ohinata, Y. et al. 2005. *Blimp1* is a critical determinant of the germ cell lineage in mice. *Nature* 436: 207-213.
- Saga, Y. 2008. Mouse germ cell development during embryogenesis. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 18: 337-341.
- Seydoux, G. e S. Strome. 1999. Launching the germline in *Caenorhabditis elegans*: Regulation of gene expression in early germ cells. *Development* 126: 3275-3283.
- Stewart, T. A. e B. Mintz. 1981. Successful generations of mice produced from an established culture line of euploid teratocarcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 6314-6318.
- Weidinger, G., U. Wolke, M. Kopranner, M. Klingler e E. Raz. 1999. Identification of tissues and patterning events required for distinct steps in early migration of zebrafish primordial germ cells. *Development* 126: 5295-5307.

VAI ONLINE

► SITO WEB 16.1 *Germline sex determination in C. elegans*. **Determinazione del sesso nella linea germinale di *C. elegans***. La decisione secondo la quale una cellula germinale diventa uno spermatozoo o un uovo implica livelli multipli di inibizione. La regolazione traduzionale è coinvolta in molti di questi passaggi.

► SITO WEB 16.2 *Mechanisms of chromosome diminution*. **Meccanismi di riduzione cromosomica**. Le cellule somatiche non perdono DNA in modo casuale. Piuttosto, specifiche regioni di DNA sono rimosse nel processo di riduzione cromosomica.