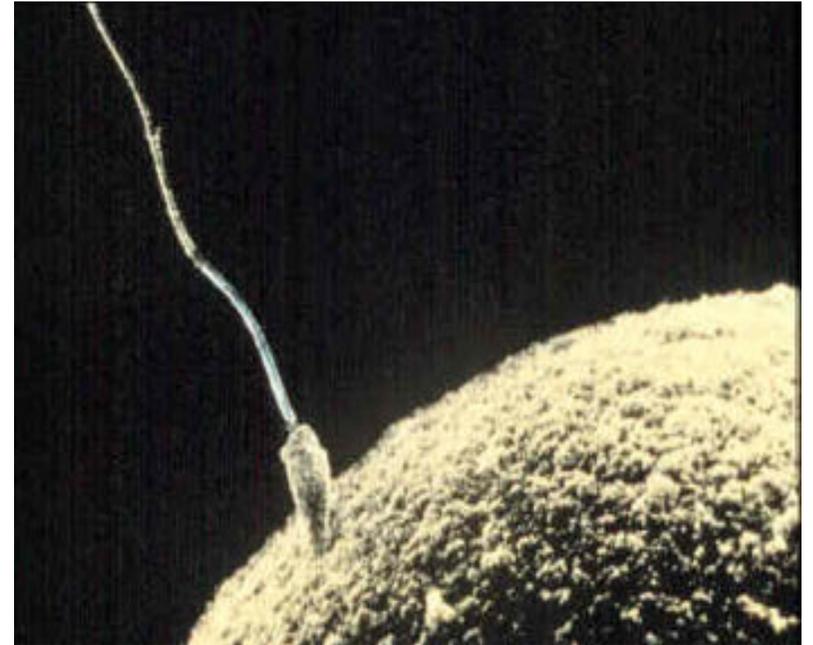
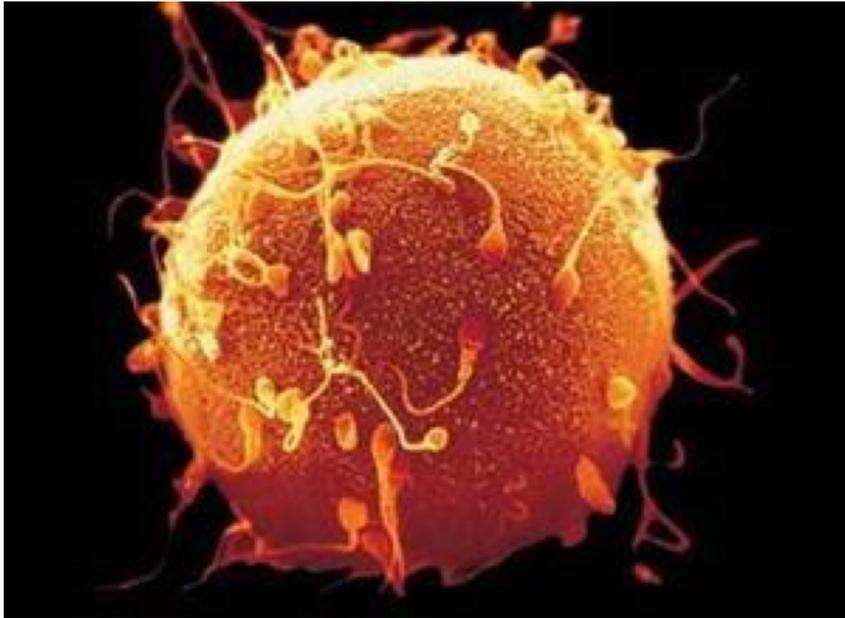


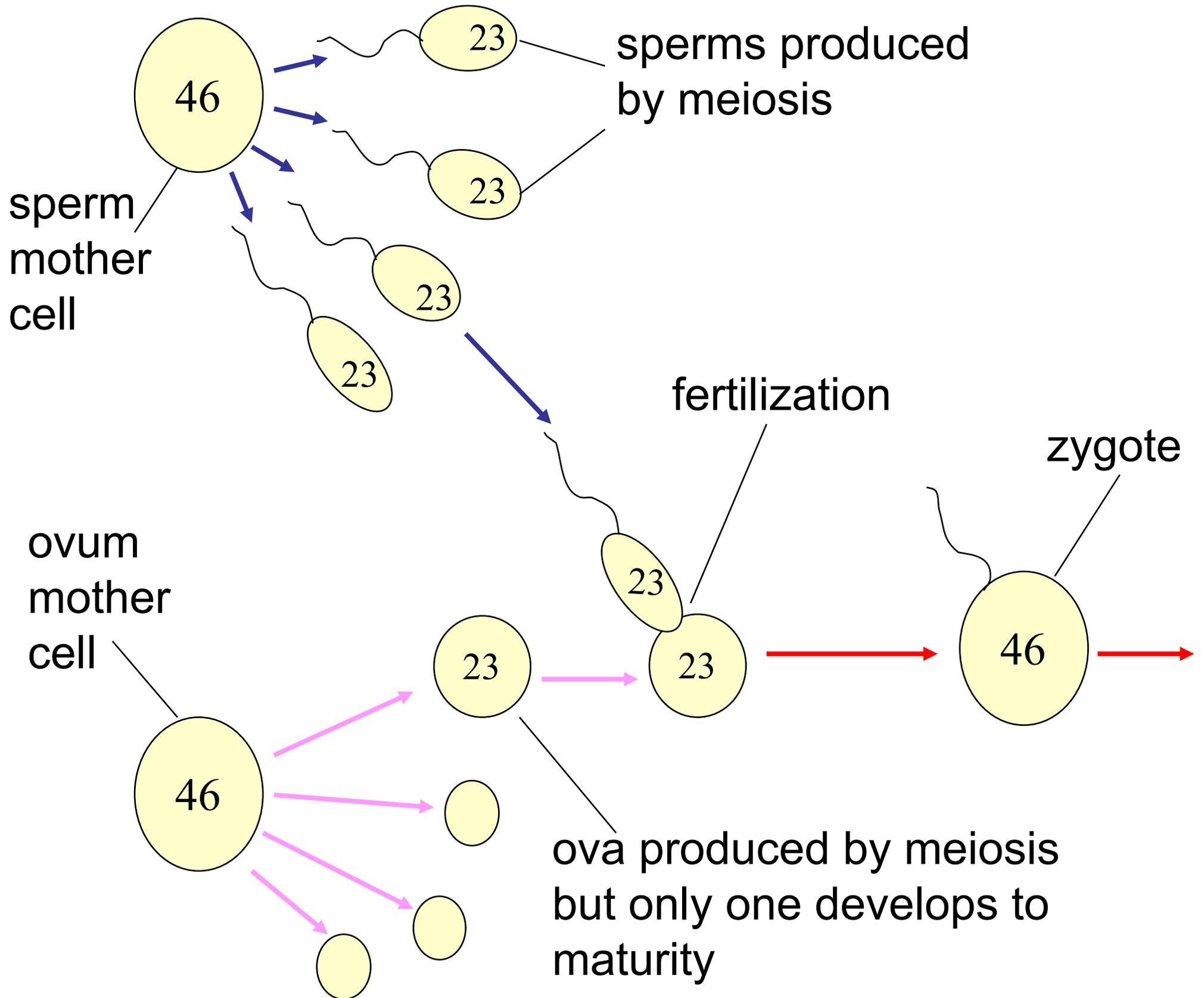
# Fecondazione



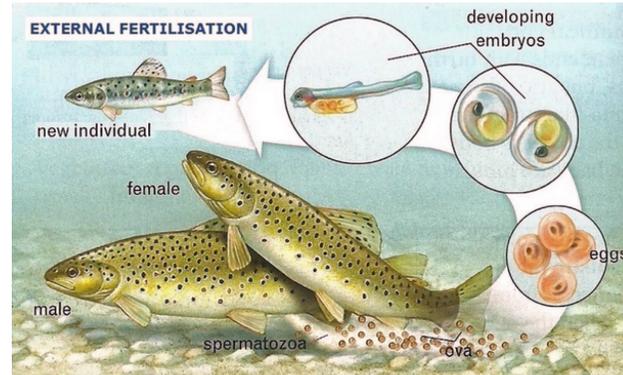
La fecondazione è quel processo per cui si attuano insieme la *sessualità* (l'unione dei geni dei genitori) e la *riproduzione* (l'origine di un nuovo individuo). Cellule aploidi specializzate, i *gameti*, si devono incontrare, fondere ed infine unire i loro genomi per dar luogo allo zigote o uovo fecondato, ristabilendo così il corredo diploide tipico della specie:

FUSIONE DEI NUCLEI DELLO SPERMATOZOO E DELLA CELLULA UOVO CON LA FORMAZIONE DELLO ZIGOTE

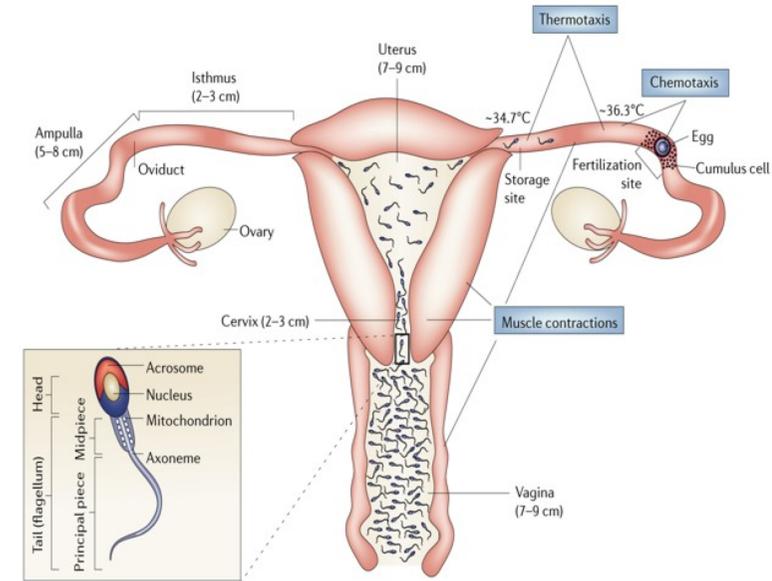
# Fecondazione



# Fecondazione



First, the female releases the unfertilised eggs (ova) into water and then the male releases sperm (full of spermatozoa) over them.



**Esterna**, coi gameti rilasciati in ambiente acquatico: senza copulazione, prevede la produzione di un gran numero di gameti; generalmente non vi sono cure parentali; tipica di molti invertebrati, pesci e anfibi.

**Interna**, nelle vie genitali femminili: prevede la copula e la produzione di un numero ridotto di gameti (soprattutto uova); generalmente sono presenti cure parentali; tipica di condroitti (squali e razze), rettili, uccelli e mammiferi, con alcune eccezioni tra gli invertebrati e gli anfibi.

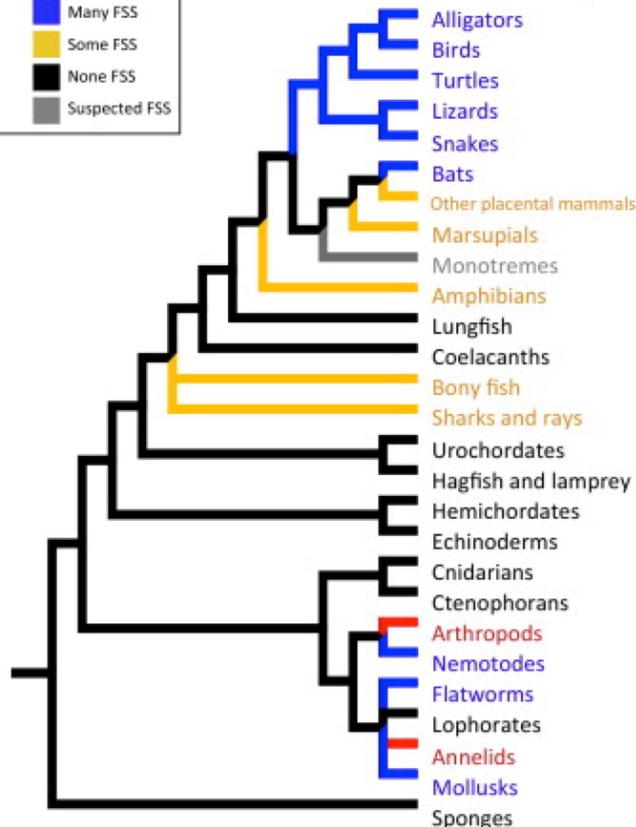
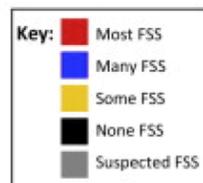
# Fecondazione

**Strategie riproduttive: sincronizzazione dei cicli riproduttivi, per cui i gameti maschili e femminili maturano in sincronia e gli zigoti hanno maggiori probabilità di svilupparsi.**

**Vi sono delle eccezioni:**

**Pipistrello: gli spermatozoi sono conservati nell'utero per mesi**

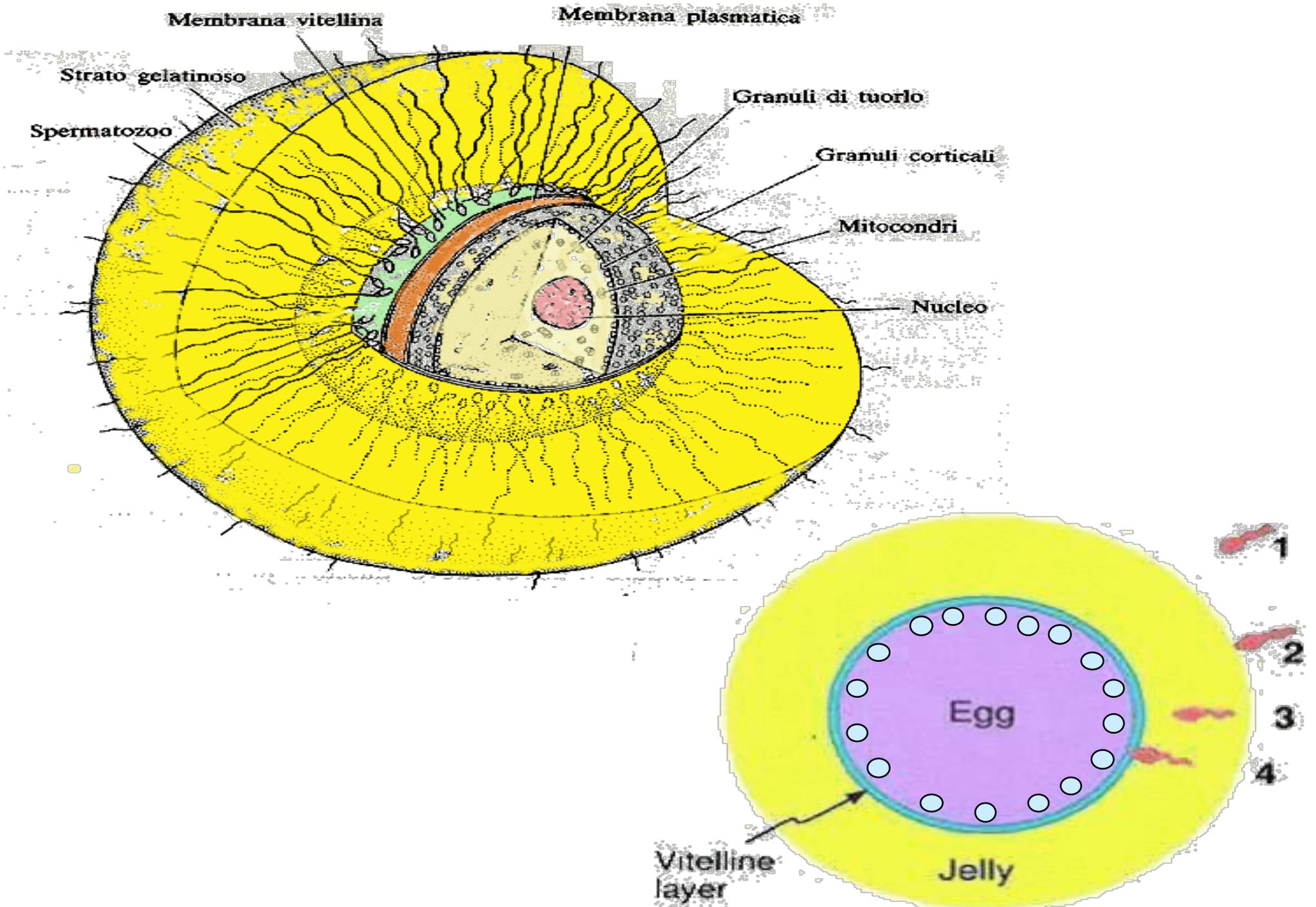
**Ape: conserva gli spermatozoi per tutta la vita**



Fertilization	Duration	Location
I	7	Oviduct
I	7-117	SSTs in uterovaginal junction
I	90-1,460	Albumin glands in oviduct
I	14-540	SSTs, sacs, crypts in oviduct, infundibulum, vagina, uterovaginal junct.
I	90-2,555	SSTs in uterine tube
I	16-300	Oviduct, utero-tubal junction, uterus
I	0.5-30	Uterine glands, vagina, cervix
I	0.5-16	Furrows, crypts, reservoirs in oviduct
I	unk.	unk.
I/E	120-900	Spermathecal tubules, cloacal glands, spermathecae
E	-	-
I	-	-
I/E	90-240	Infundibulum, ovarian follicles, ovary
I/E	30-730	Oviductal glands
E	-	-
E	-	-
E	-	-
E	-	-
E/I	-	-
I	14-4,000	Spermathecae, seminal receptical
I	5	Spermathecae
I	55	Tubae organs near oviduct
E/I	-	-
I	180-365	Spermathecae
E/I	70-1,460	Spermathecae
E	-	-

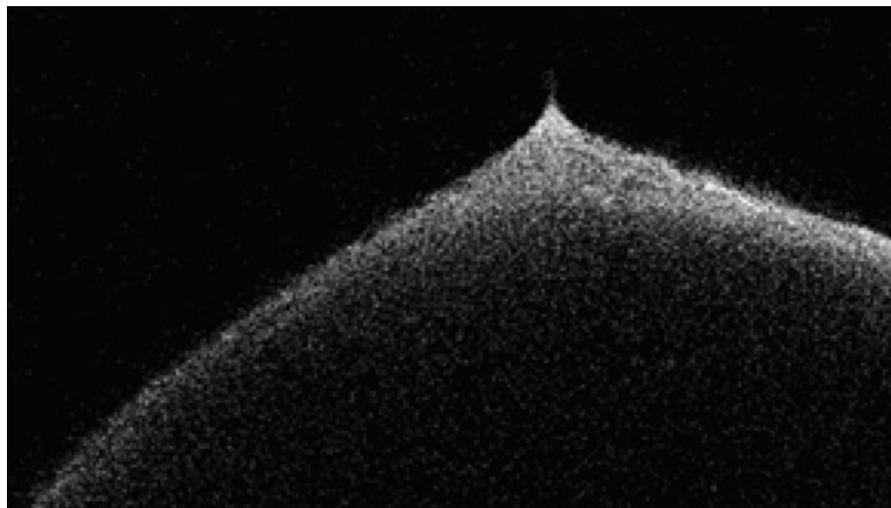
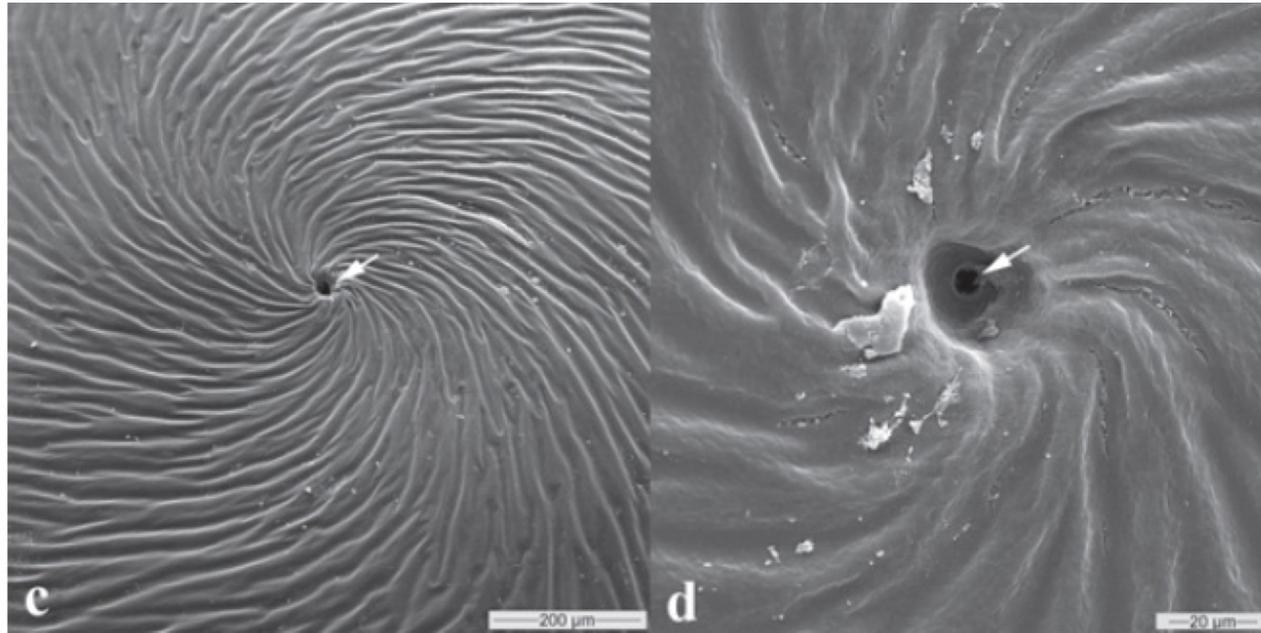
# Fecondazione

L'ovocita è circondato da vari strati di materiale, che lo spermatozoo deve attraversare per poter arrivare alla membrana plasmatica.



# Fecondazione

**Strategie riproduttive:** meccanismi chemiotattici che attraggono in maniera specie-specifica gli spermatozoi, guidandoli verso l'uovo. Vengono rilasciati dagli involucri ovulari sostanze chemioattrattanti per gli spermatozoi (la *fertilizina* nel riccio di mare studiata dal Lillie, 1912). L'esistenza di tali sostanze è stata ad es. ipotizzata per spiegare l'aggregazione degli spermatozoi vicino al micropilo del corion dei pesci.



# Fecondazione

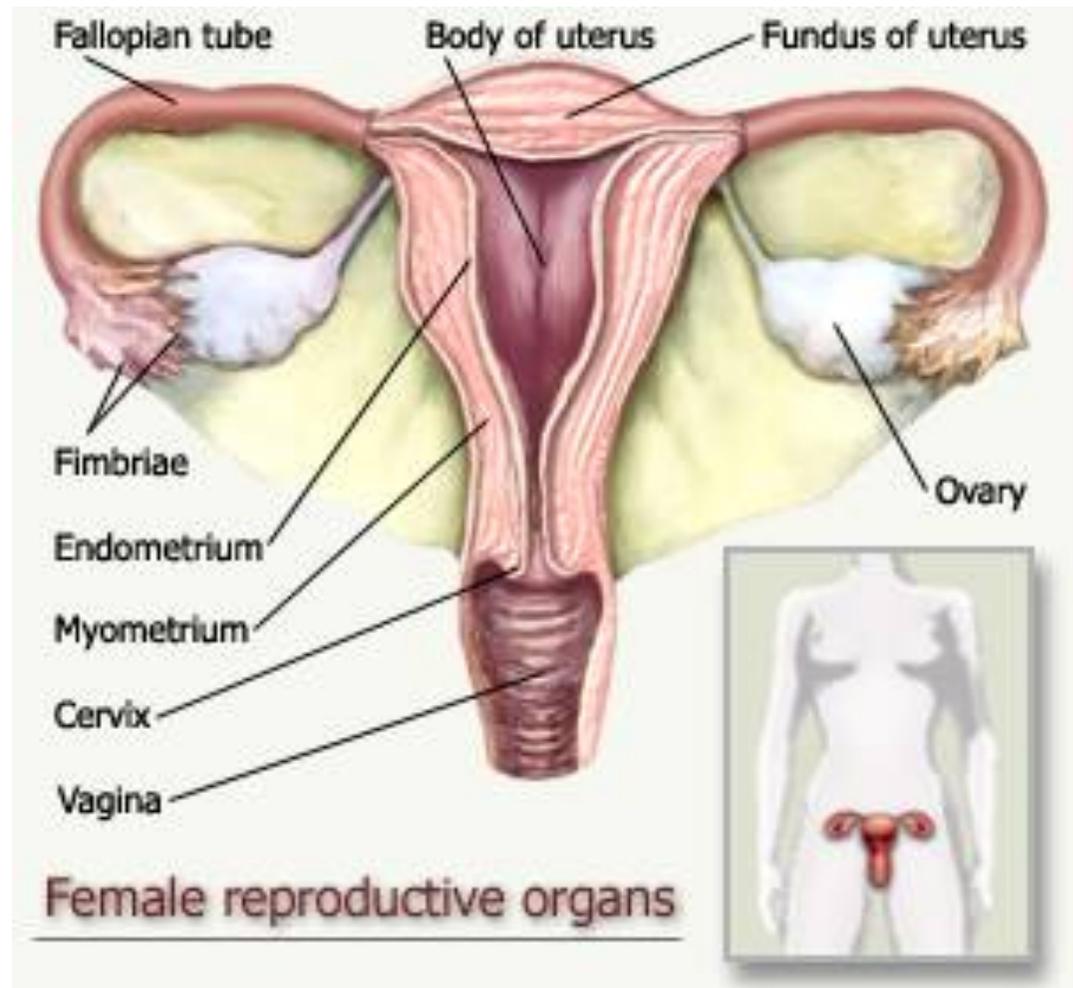
**La fecondazione mette in atto tutte le strategie che permettono l'incontro di *gameti della stessa specie e non di specie diverse*. Gli ibridi interspecifici sono sterili.**

**Pur con differenze fra le varie specie, perché si attui con successo la fecondazione, devono avvenire diverse interazioni fra i gameti:**

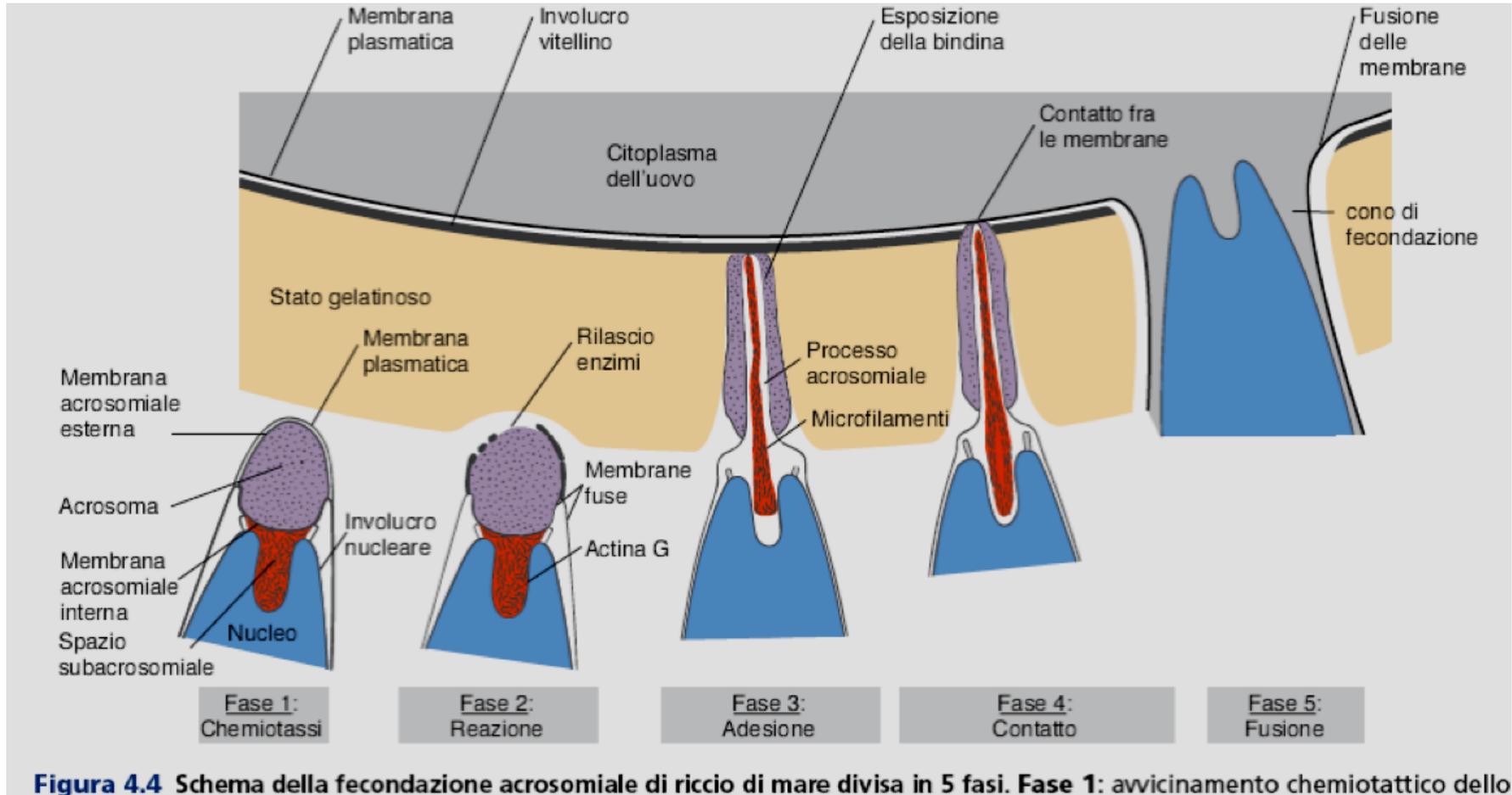
- 1) Avvicinamento dello spermatozoo all'uovo**
- 2) Attivazione e penetrazione dello spermatozoo attraverso gli involucri ovulari**
- 3) Contatto e fusione della membrana plasmatica dei due gameti**
- 4) Attivazione dell'uovo**

# Fecondazione nella specie umana

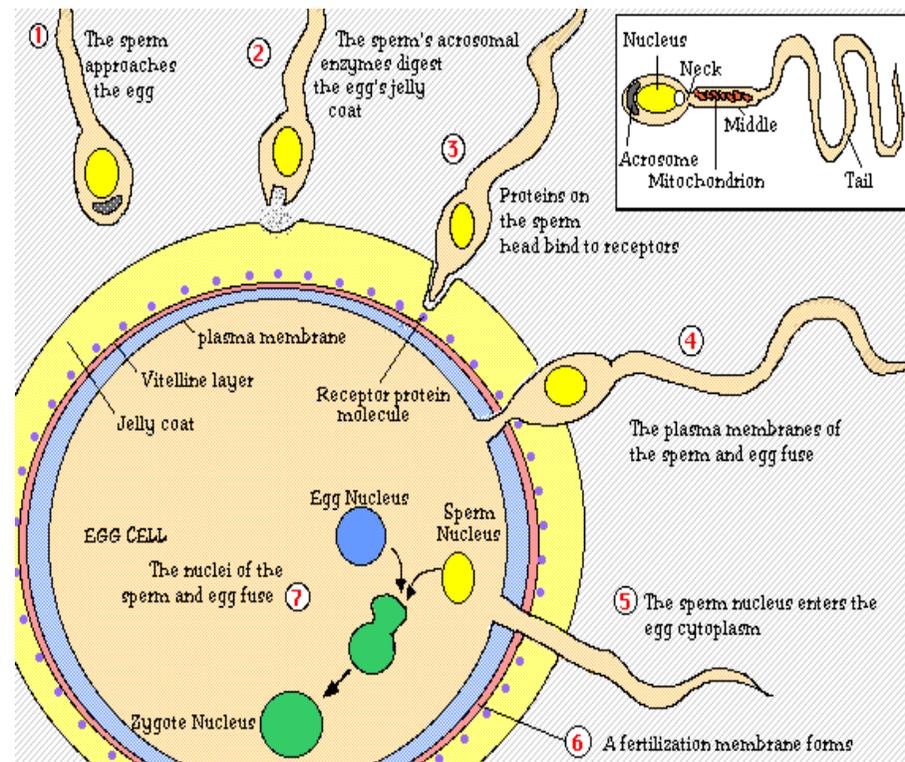
- fertilization in mammals occurs in the oviduct
- The ova is viable for approximately 24 hours after ovulation



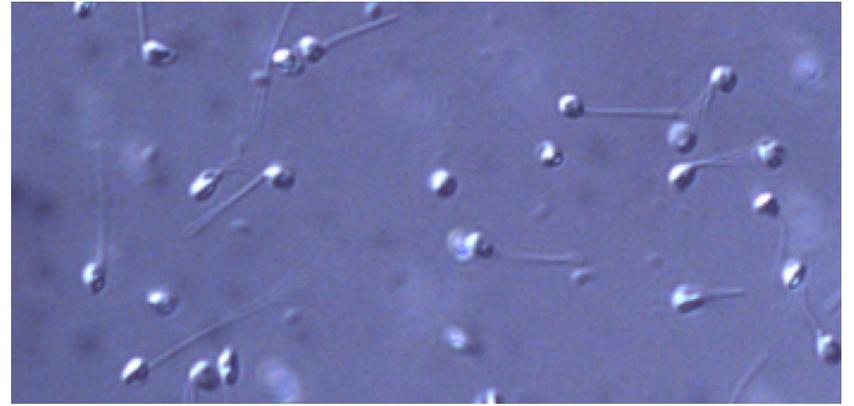
# Fecondazione



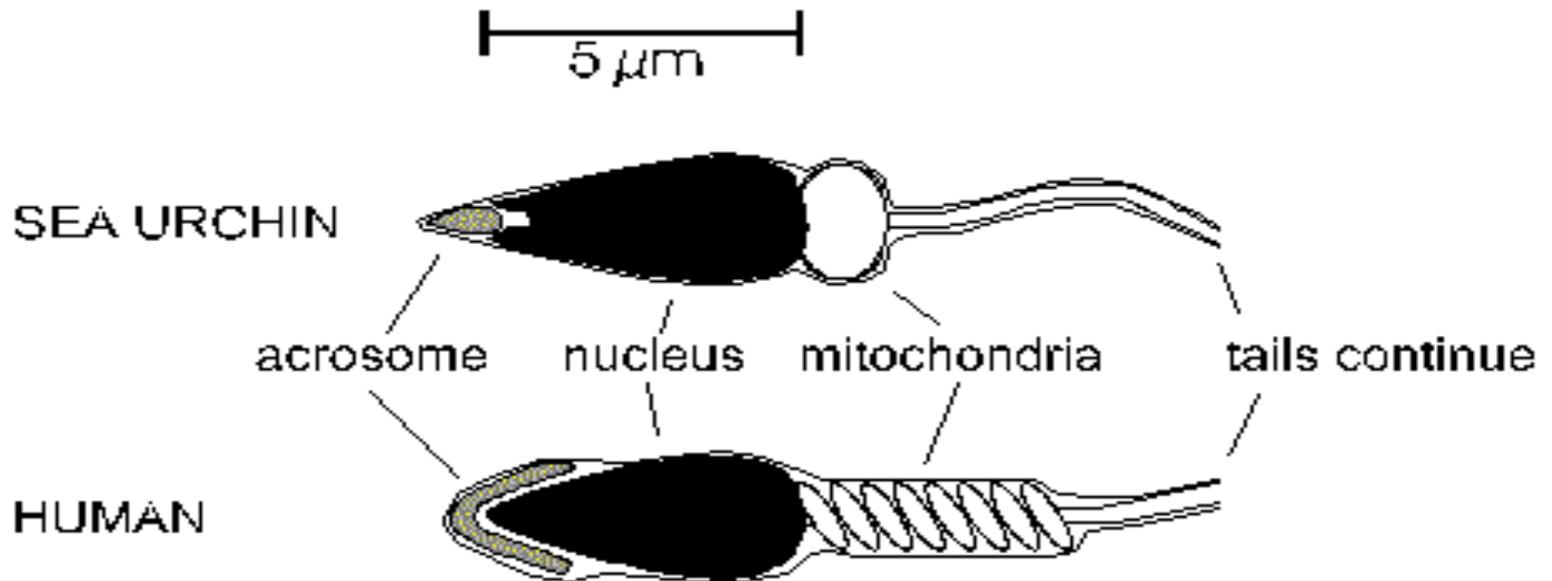
**Figura 4.4** Schema della fecondazione acrosomiale di riccio di mare divisa in 5 fasi. Fase 1: avvicinamento chemiotattico dello



# Fecondazione nel riccio di mare

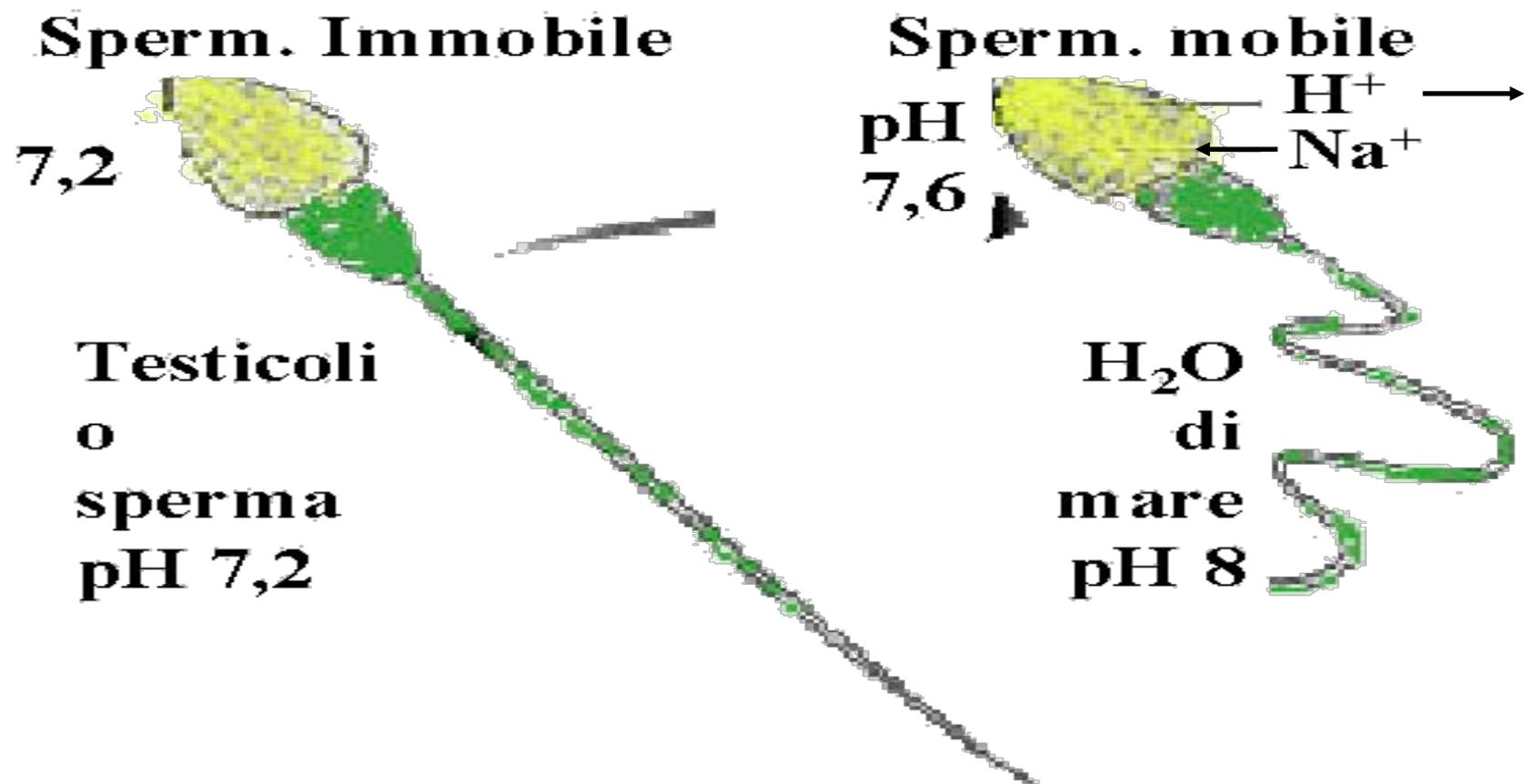


## Lo spermatozoo



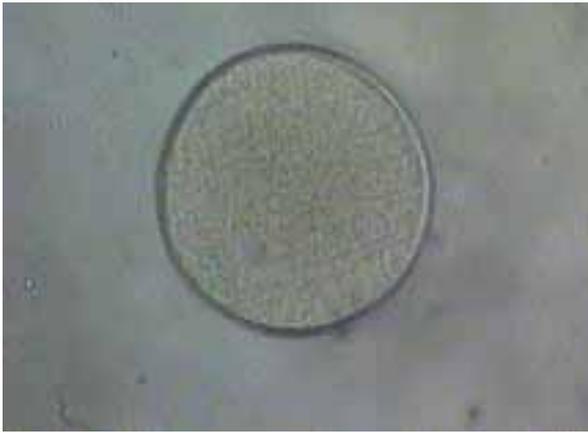
Gli spermatozoi degli invertebrati acquatici sono più semplici di quelli dei vertebrati. Nella testa presentano un piccolo acrosoma e sono forniti di un breve pezzo intermedio con pochi mitocondri sferoidali.

# Fecondazione nel riccio di mare

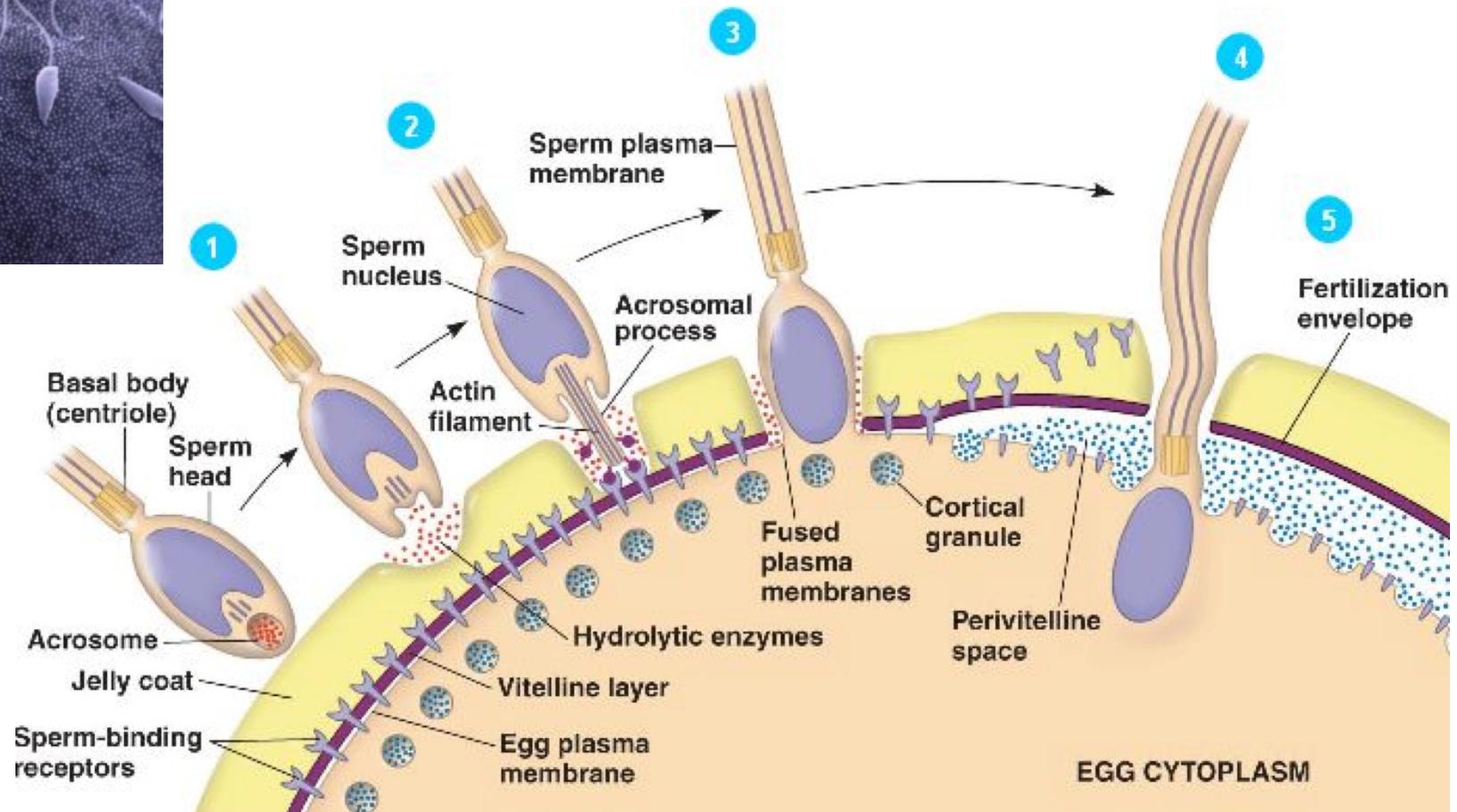


Lo spermatozoo degli echinodermi diventa mobile a contatto con l'acqua di mare per la penetrazione di  $\text{Na}^+$  e contemporanea fuoriuscita di  $\text{H}^+$  che fa aumentare il pH interno da 7,2 a 7,6, che a sua volta attiva l'attività ATPasica della dineina.

# Fecondazione nel riccio di mare



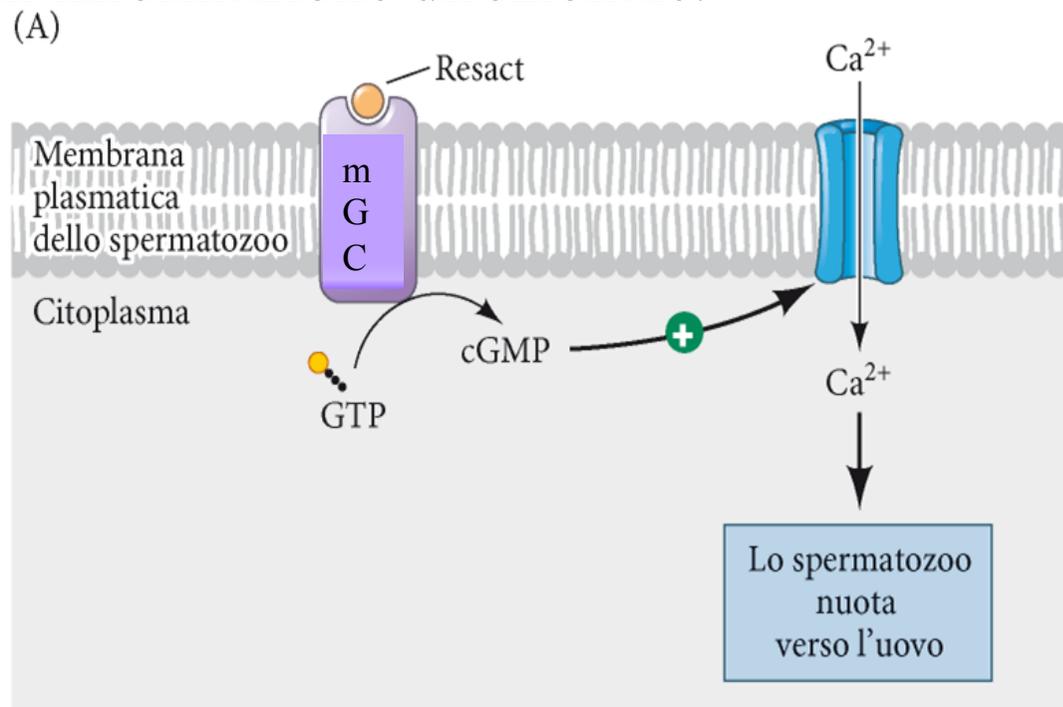
## Fertilization in sea urchin.



# Fecondazione nel riccio di mare

## Attrazione specie-specifica degli spermatozoi

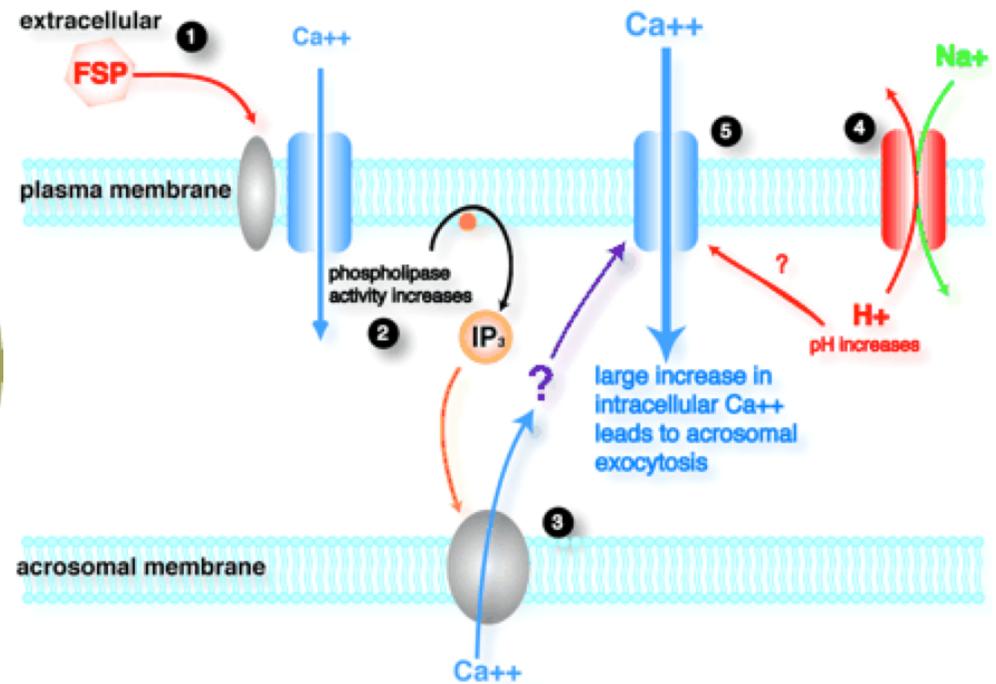
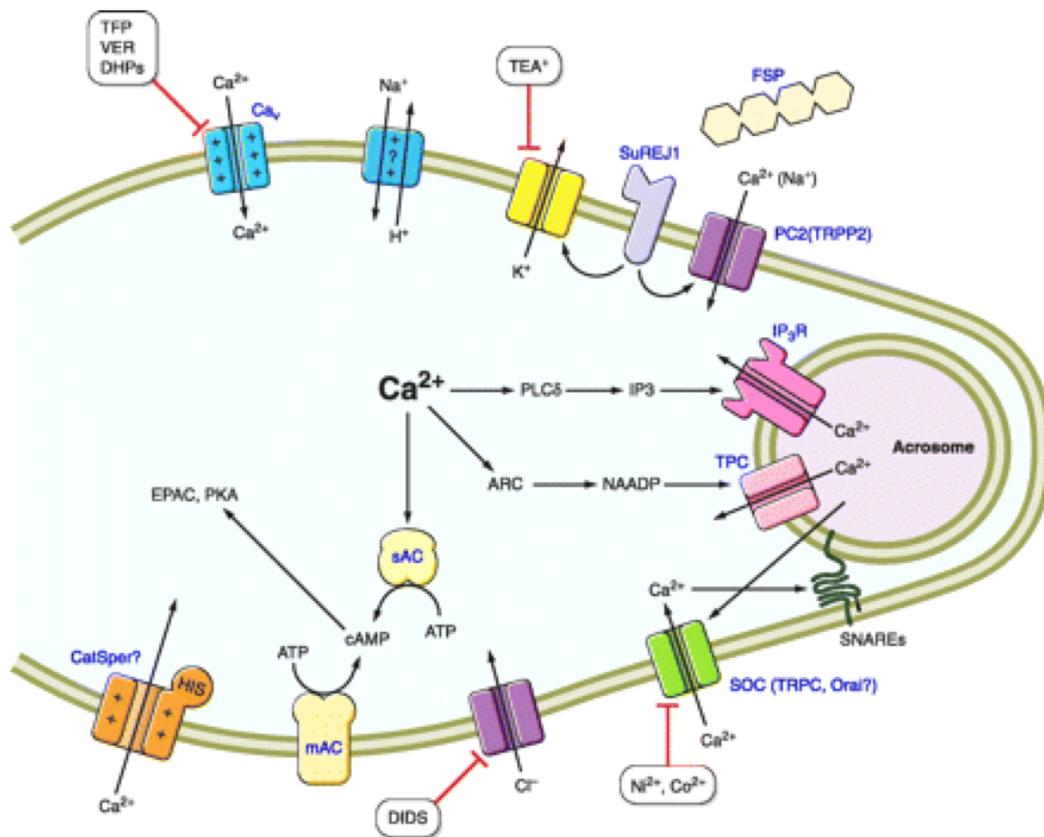
Il *resact*, un piccolo peptide di 14 aa., prodotto dall'involucro gelatinoso dell'uovo, agisce chemiotatticamente anche a concentrazioni bassissime per guidare gli spermatozoi alle uova del riccio di mare seguendo il suo gradiente di concentrazione. Il resact è specie-specifico in quanto attira solo gli spermatozoi di *Arbacia punctulata* e non quelli di altre specie di riccio. Altro piccolo peptide è lo *speract* che, come il resact, attiva gli spermatozoi utilizzando nucleotidi ciclici come II messaggeri. Infatti il recettore dello spermatozoo del riccio di mare presenta attività guanilil-ciclastasi (mGC) e lo speract tramite la mGC innalza i livelli di cGMP, il quale attiva un canale di  $\text{Ca}^{2+}$  permettendo un afflusso di tale ione dall'acqua di mare fornendo così allo spermatozoo un'informazione direzionale.



# Fecondazione nel riccio di mare

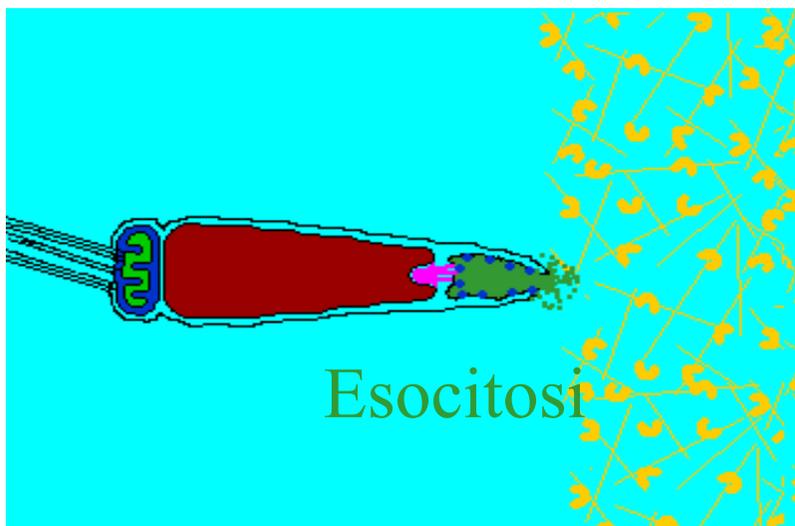
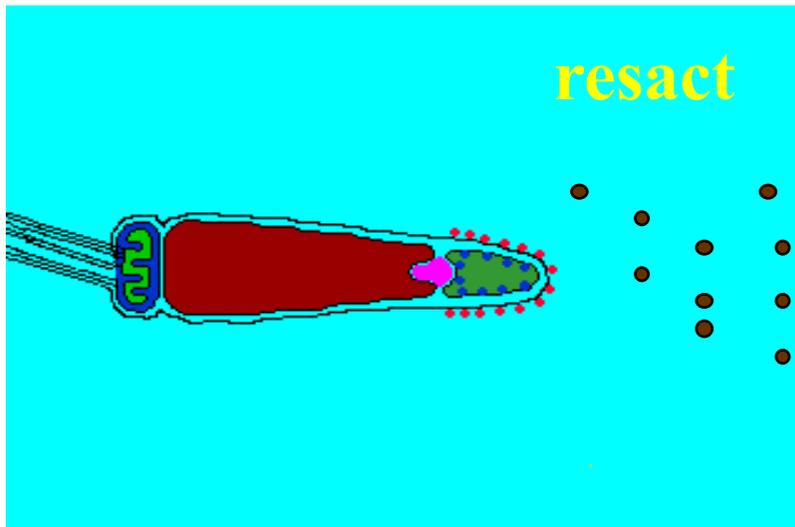
## Attivazione degli spermatozoi: Reazione acrosomiale

Nel riccio di mare un polimero solforato del fucosio contenuto nell'involucro gelatinoso dell'uovo innesca la reazione acrosomiale, che consta di due fasi: *1-la fusione della membrana acrosomiale esterna con la conseguente esocitosi degli enzimi acrosomiali e l'esposizione di quella interna, 2-la protrusione del processo acrosomiale.*



# Fecondazione nel riccio di mare

Gradiente di chemioattrattante che attira gli spermatozoi verso l'uovo



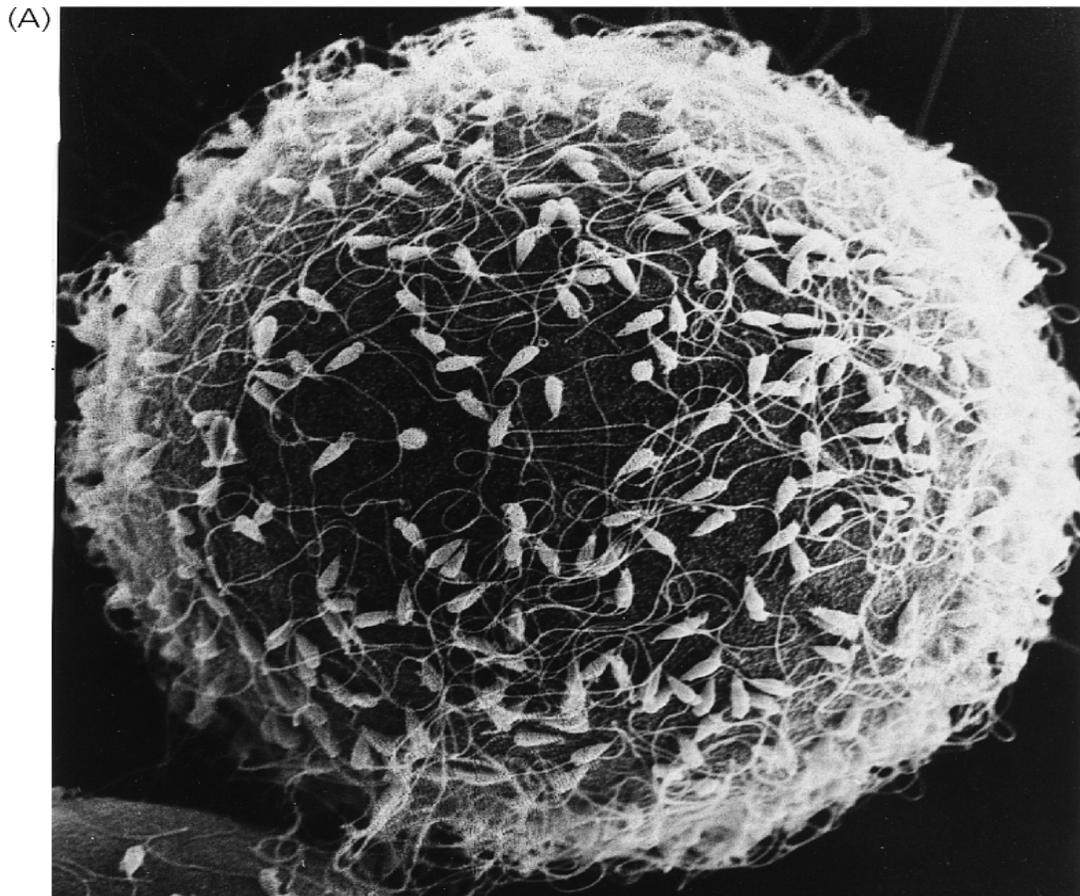
Involucro gelatinoso: nel momento in cui le molecole recettrici della membrana plasmatica dello spermatozoo reagiscono legandosi al polimero del fucosio del jelly coat, attivano:

- 1) un canale di trasporto del  $\text{Ca}^{+2}$  e si ha uno scambio ionico con entrata di  $\text{Ca}^{+2}$  e fuoriuscita di  $2\text{K}^{+}$
- 2) uno scambiatore  $\text{Na}^{+}/\text{H}^{+}$
- 3) l'enzima fosfolipasi che produce  $\text{IP}_3$ .

Ciò provoca l'esocitosi del contenuto acrosomico: gli enzimi acrosomiali digerendo il jelly coat permettono il passaggio dello spermatozoo

# Fecondazione nel riccio di mare

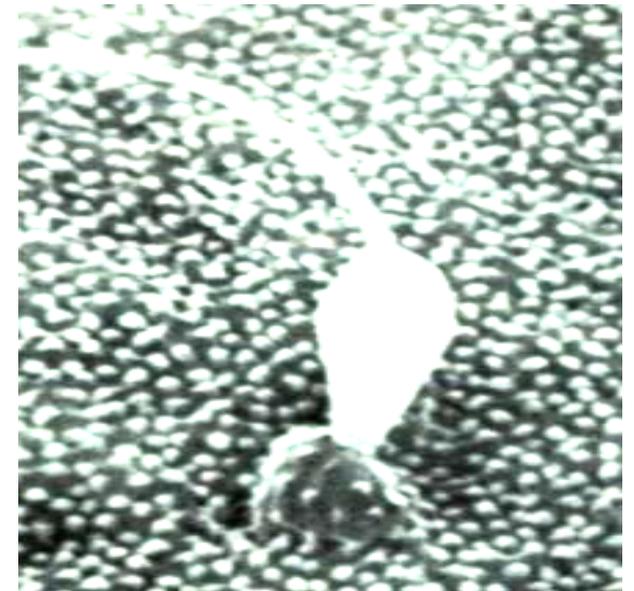
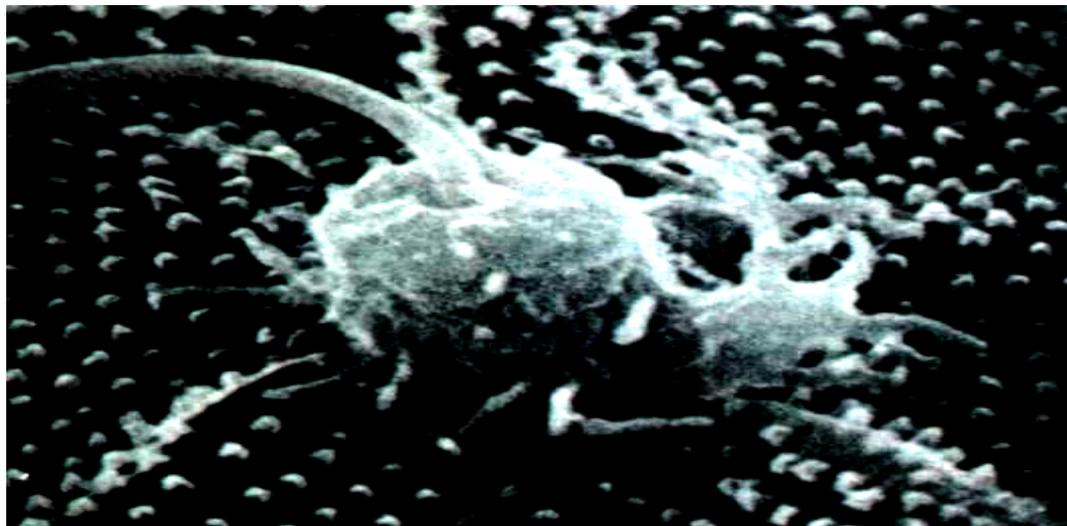
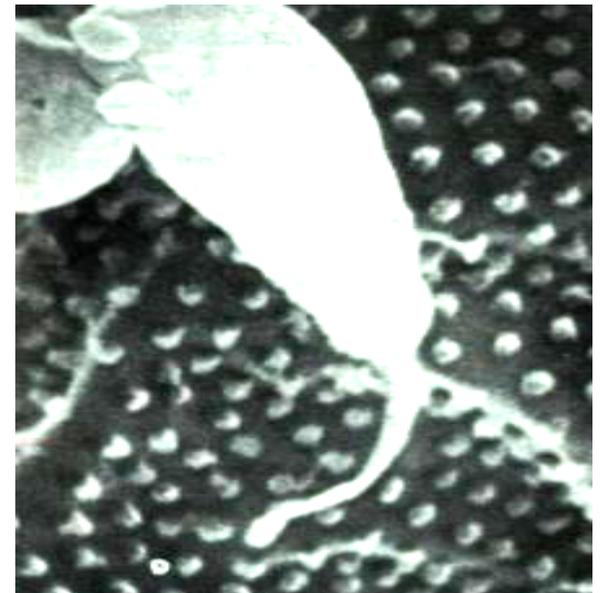
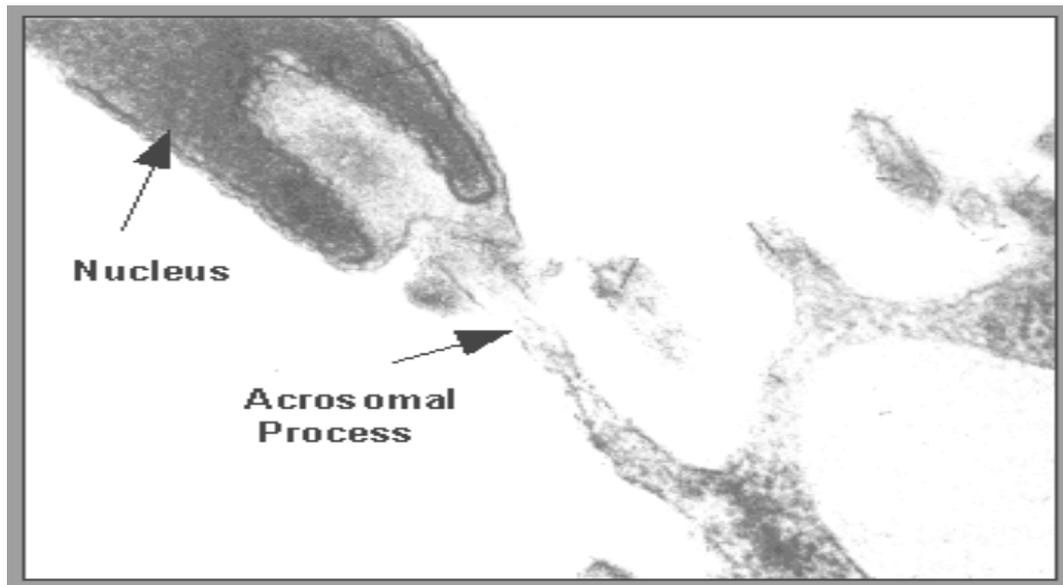
## Legame dello spermatozoo all'involucro dell'uovo



Palline di polistirolo rivestite del possibile recettore della bindina a cui si lega lo spermatozoo

# Fecondazione nel riccio di mare

Una volta avvenuto il legame specie-specifico comincia la fusione delle membrane dei gameti: la ligandina presenta un gruppo di aa idrofobici responsabili di causare la fusione di vescicole fosfolipidiche tra di loro. Generalmente l'intero spermatozoo entra nel citoplasma ovulare. La sua membrana plasmatica diventa parte della membrana plasmatica ovulare. Dopo che lo spermatozoo si fonde con l'uovo, un'estensione del citoplasma ovulare, il *cono di fecondazione*, avvolge la testa dello spermatozoo



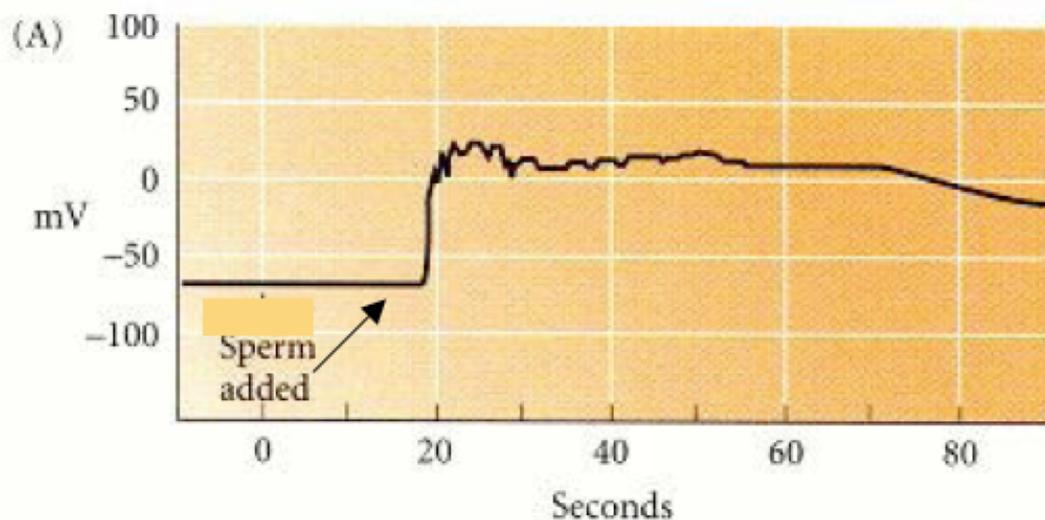
# BLOCCO DELLA POLISPERMIA

Vi sono due meccanismi che bloccano la polispermia:

Il **blocco rapido**, dovuto ad un cambiamento del potenziale elettrico della membrana ovulare.

Il **blocco lento**, dovuto all'esocitosi dei granuli corticali e perciò detto *reazione corticale*

## Blocco rapido della Polispermia



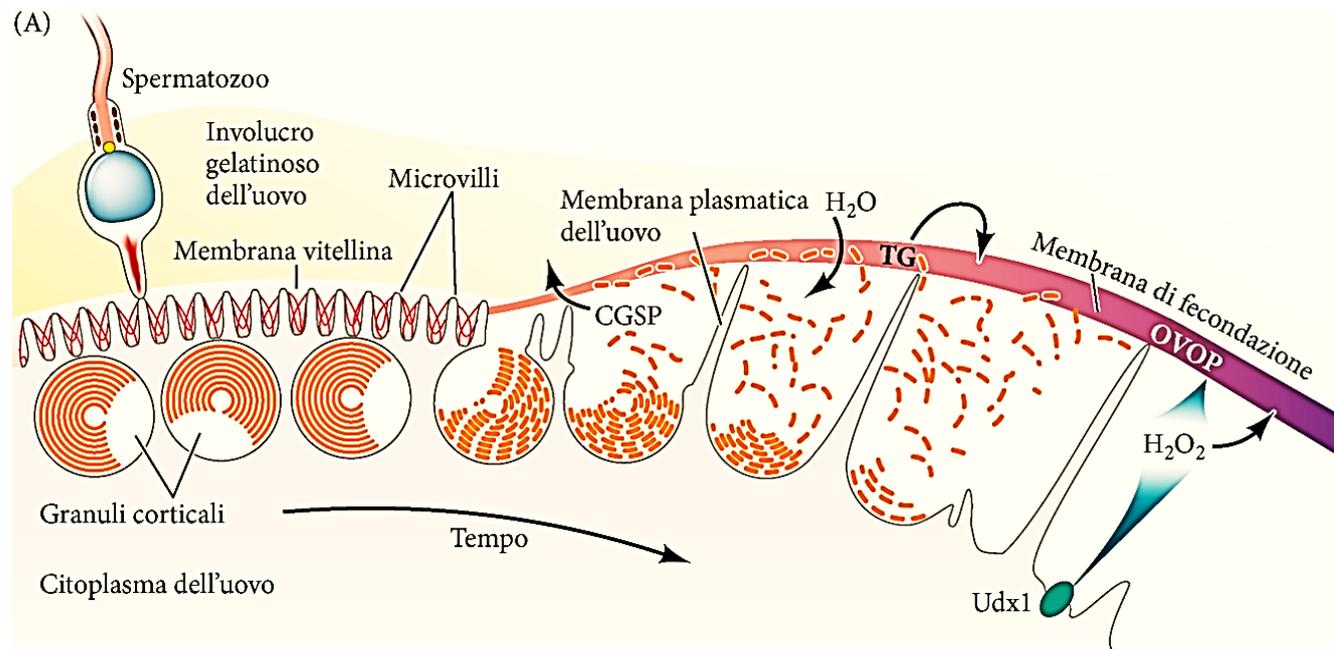
Na <sup>+</sup> (mM)	Percentage of polyspermic eggs
490	22
360	26
120	97
50	100

Entro pochi sec. dal 1° contatto dello spermatozoo con la superficie dell'uovo si ha depolarizzazione della membrana plasmatica ovulare per un piccolo afflusso di Na<sup>+</sup>. La membrana diventa positiva e nessuno spermatozoo si può più legare

# Blocco lento della Polispermia

Il  $\text{Ca}^{+2}$  rilasciato nel citoplasma ovulare provoca la fusione della membrane dei granuli corticali e di quella plasmatica col rilascio del contenuto dei granuli nello spazio compreso fra membrana vitellina e plasmatica, lo *spazio perivitellino*: qui *proteasi* degradano i recettori per la ligandina ed i pilastri che ancorano la membrana vitellina alla plasmatica. *Mucopolisaccaridi* per osmosi richiamano acqua nello spazio perivitellino e rigonfiandosi, **fanno sollevare la membrana vitellina che diviene membrana di fecondazione**. *Perossidasi* legano residui di tirosine di proteine della membrana di fecondazione indurendola. La *proteina ialina* infine forma un involucro intorno all'uovo.

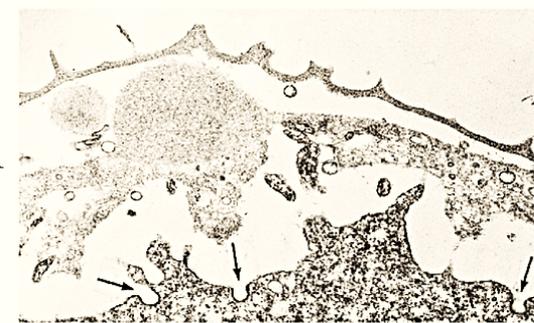
- |                       |  |
|-----------------------|--|
| 1. Proteasi           | a. Taglio delle proteine che connettono MV a MP<br>b. Taglio dei recettori della bindina |
| 2. Mucopolisaccaridi  | Gradiente osmotico   |
| 3. Enzima perossidasi | Rinforzo della MF mediante legame trasversale sui residui tirosinici                     |
| 4. Proteina ialina    | Rivestimento interno dell'uovo   |



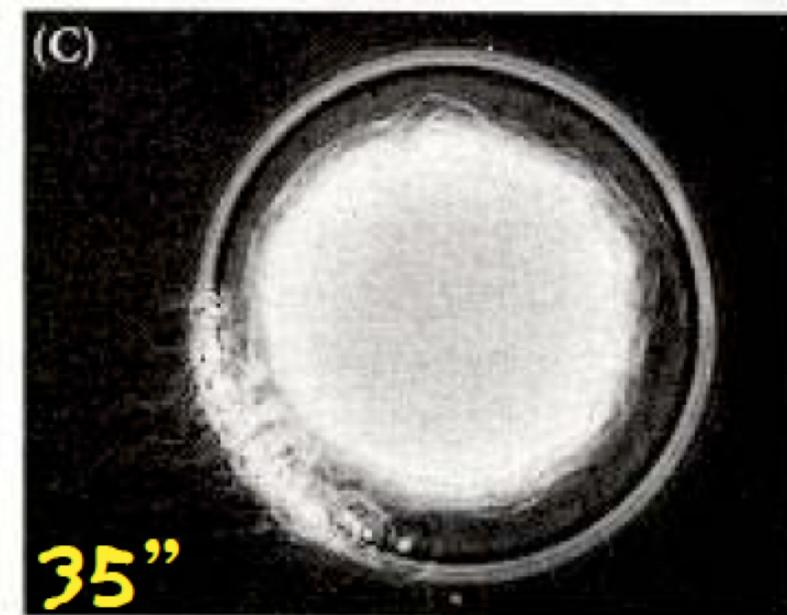
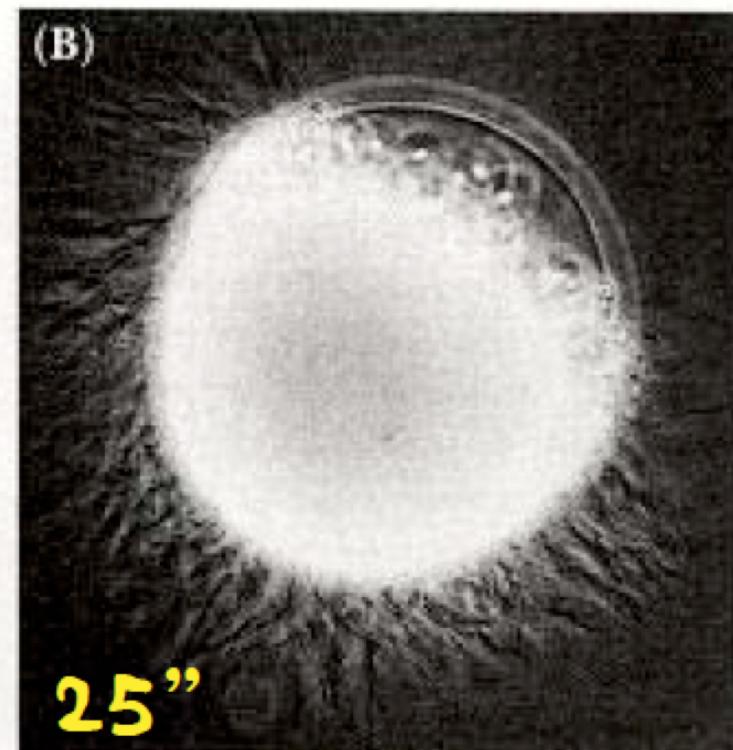
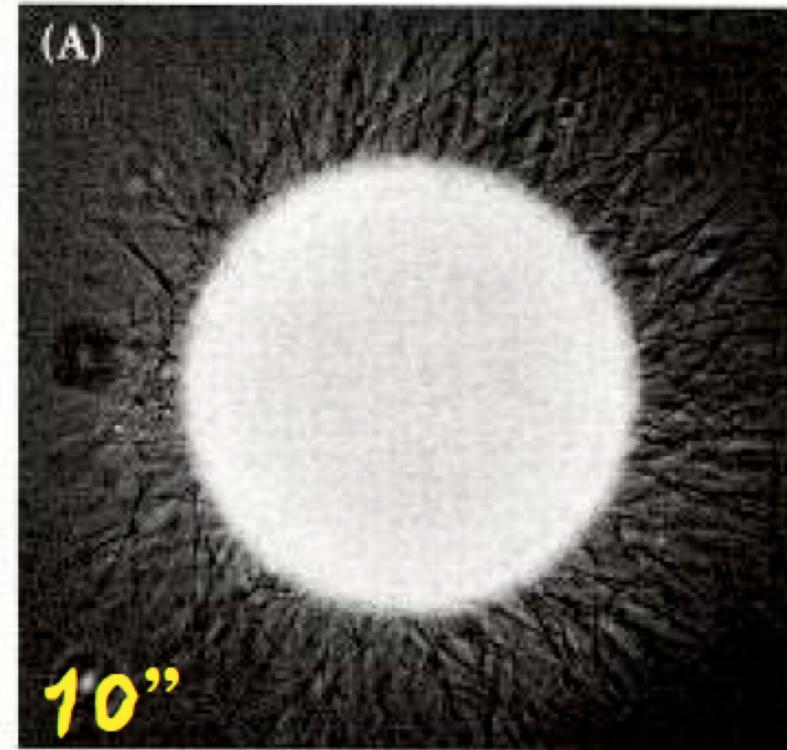
(B)



(C)

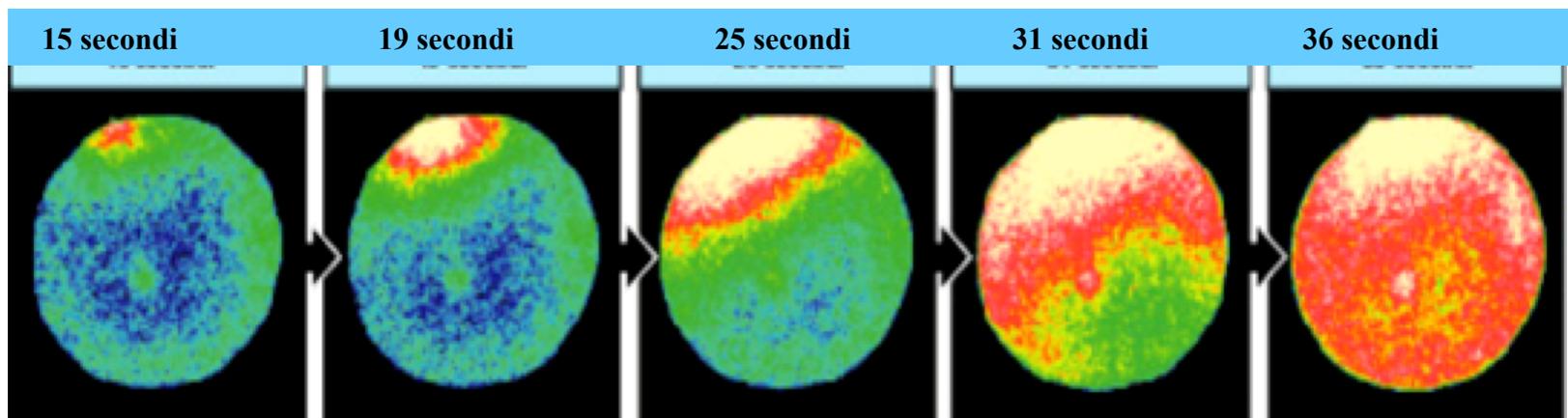


# Formazione dell'involucro di fecondazione e rimozione dell'eccesso di sperma



# Sollevamento della membrana di fecondazione

Il calcio libero nel citoplasma scatena l'esocitosi dei granuli corticali, che a loro volta contengono  $\text{Ca}^{+2}$ , innescando una reazione a cascata. Con l'equorina, un colorante fluorescente estratto dalle meduse, si può seguire l'onda del calcio che attraversa l'ovocita



# ATTIVAZIONE DEL METABOLISMO DELL'UOVO

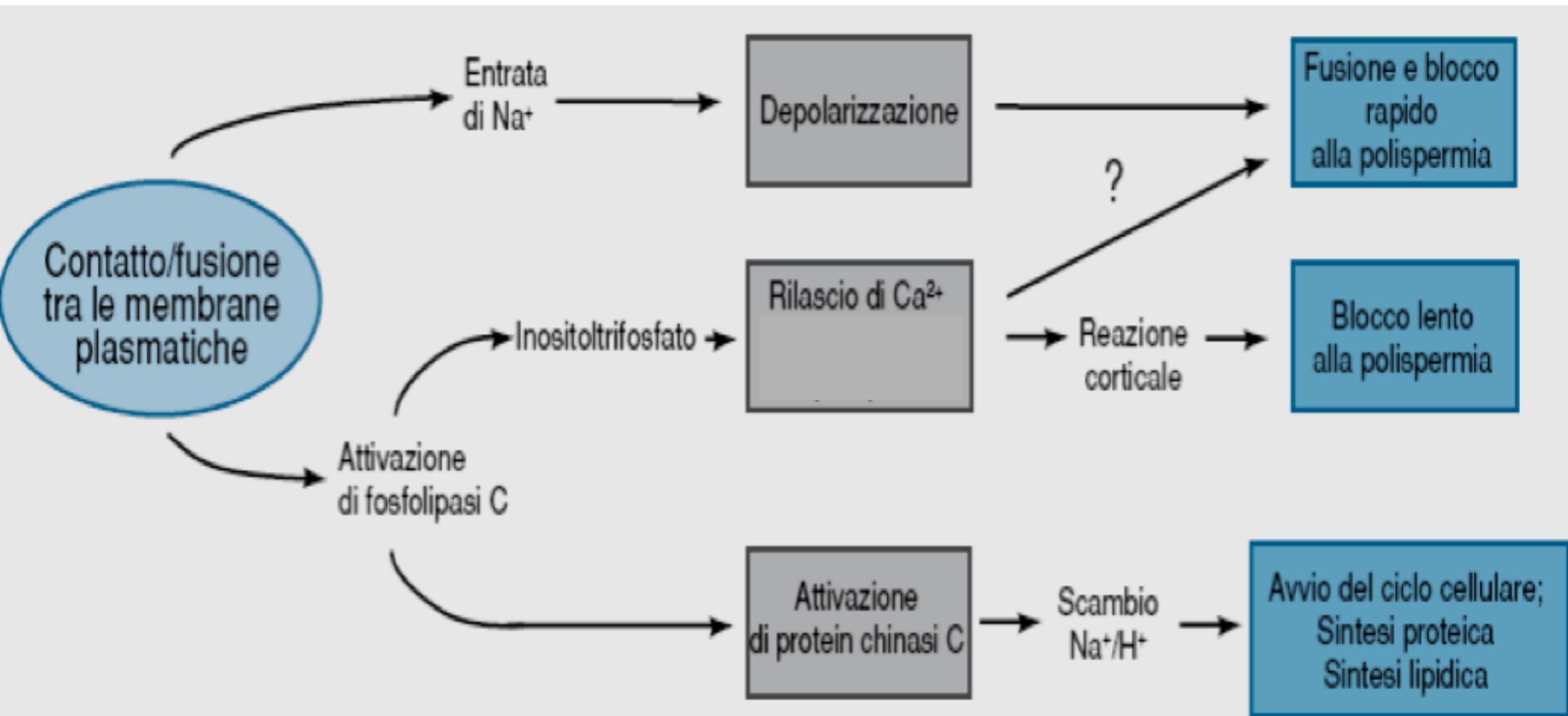
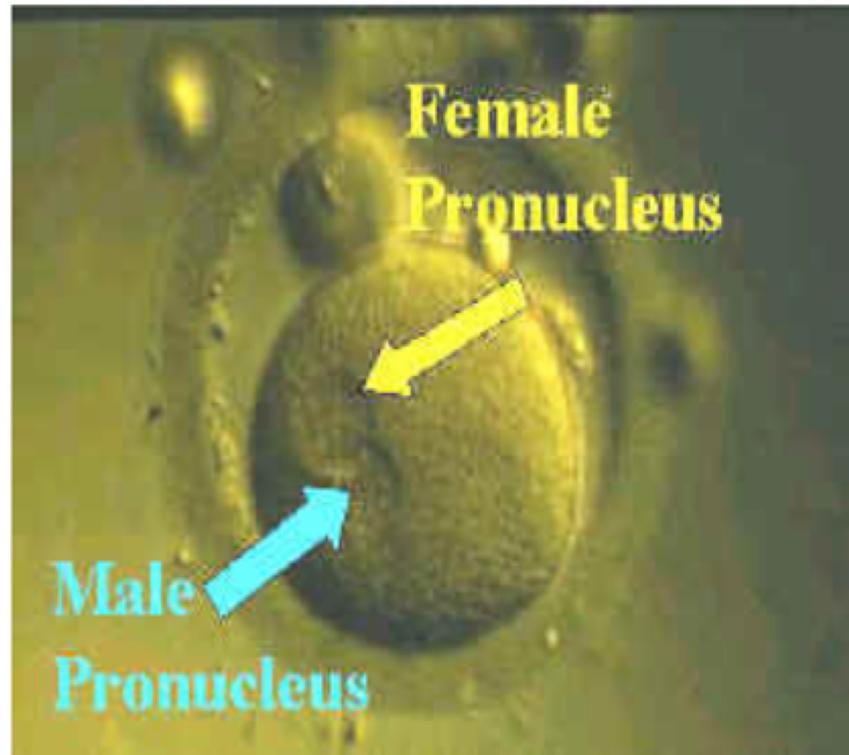
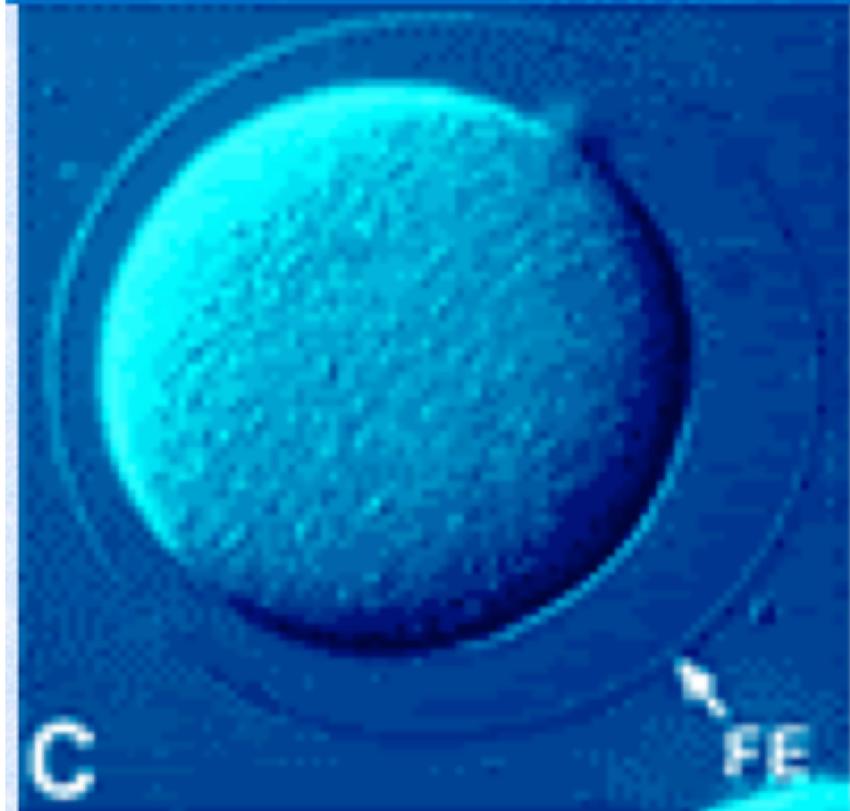
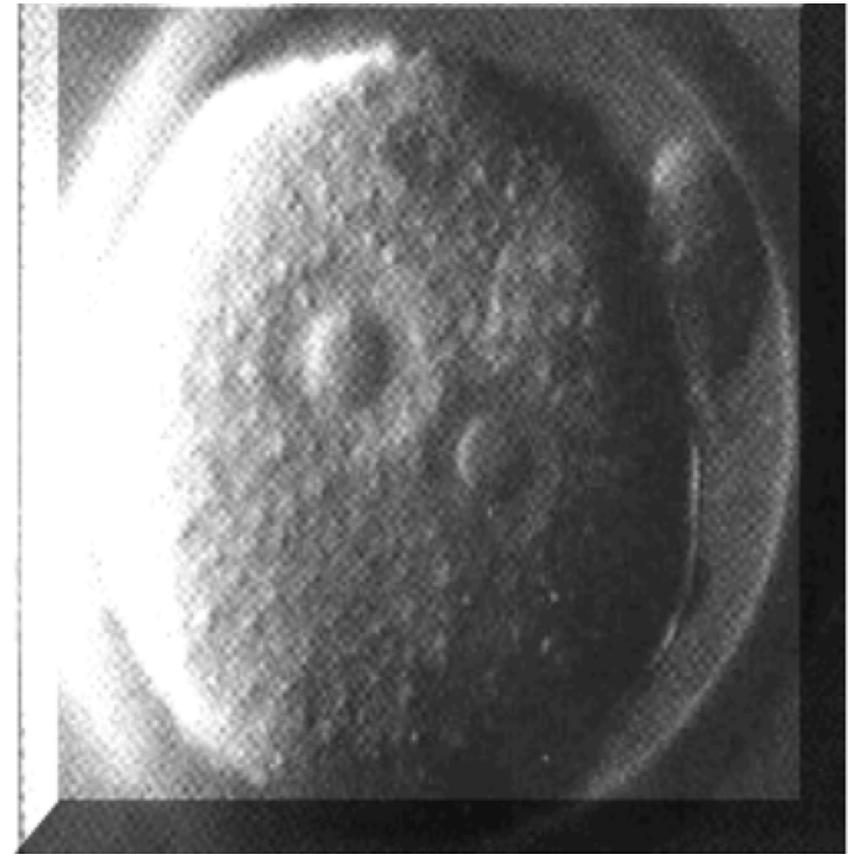
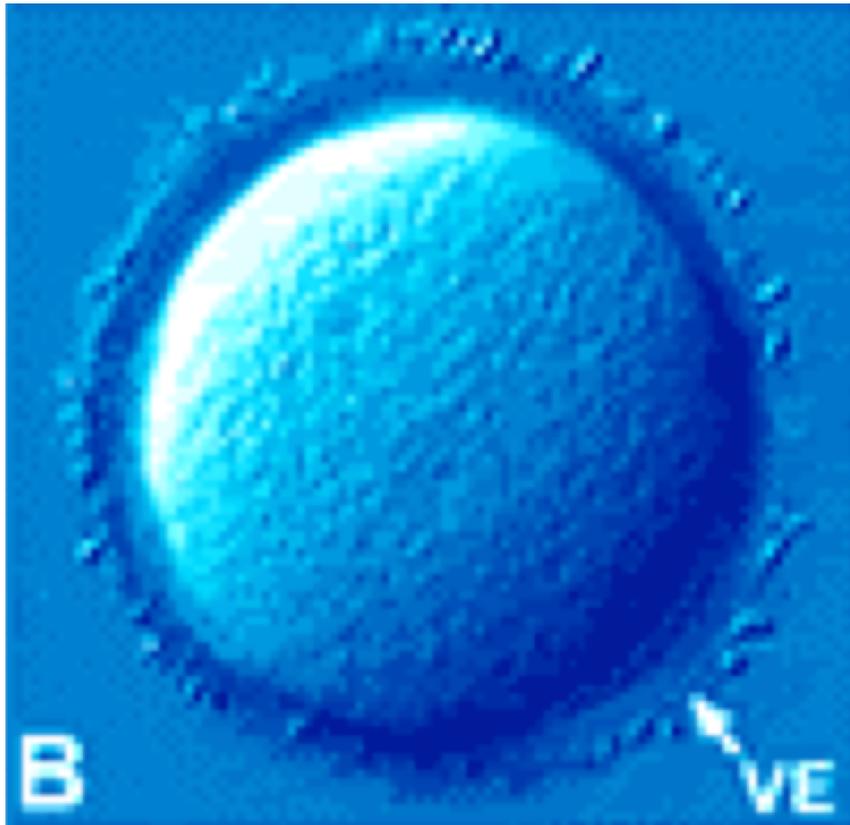


Fig. 4.14 Temporizzazione schematica degli eventi chiave nell'attivazione dell'uovo di riccio di mare (vedi anche Tabella 4.1)

Sintesi di acidi nucleici e proteine a partire dall'mRNA materno

# Globulo polare, membrana di fecondazione e pronuclei in riccio di mare



# La fecondazione di riccio di mare e di mammifero

