

http://tinyurl.com/USPvet

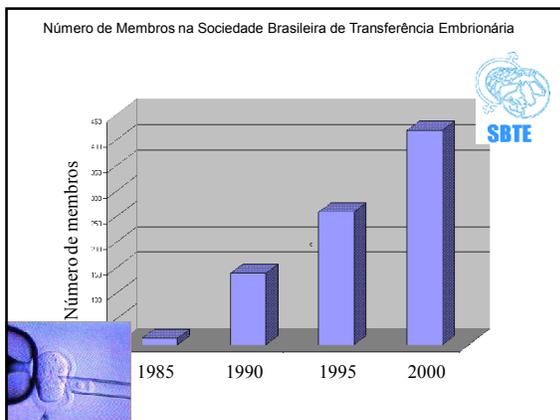
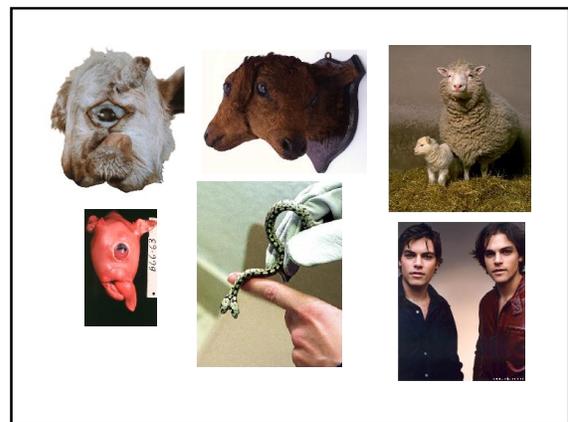
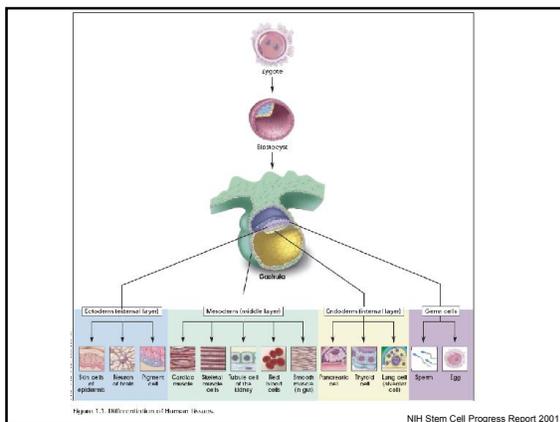
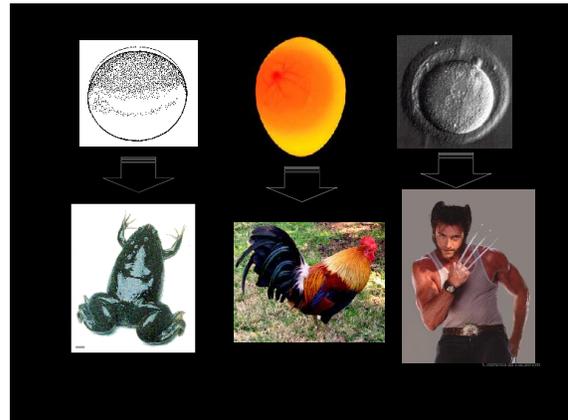
LABORATÓRIO DE EMBRIOLOGIA MOLECULAR DE VERTEBRADOS  
Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento USP

Linhas de pesquisa: **Manipulação do citoplasma** / **Caracterização de proteínas da família Scavenger**

Alcides Gastaldi

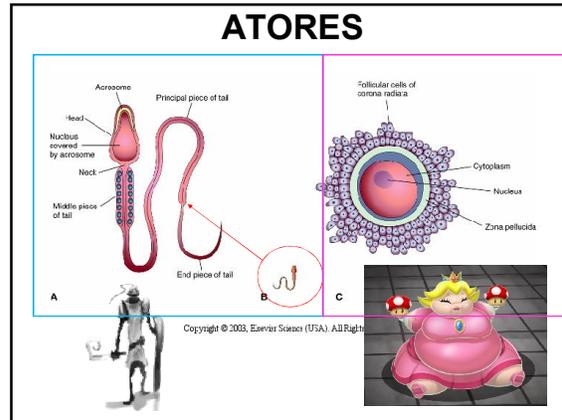
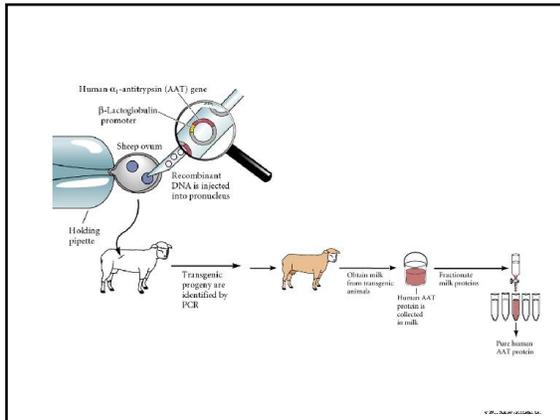
PAUCSTRAS da Universidade de São Paulo

Esta unidade é formada por células diferenciadas, como as progenitoras que se dividem para produzir as células da linhagem germinativa. O sistema de desenvolvimento celular pode ser regulado e controlado geneticamente e o conhecimento sobre a identidade do gene e o mecanismo de sua expressão é fundamental na embriologia e na pesquisa médica relacionada à diferenciação das células. O conhecimento sobre o sistema de desenvolvimento celular é fundamental para a compreensão dos mecanismos de controle da expressão gênica e para a compreensão dos mecanismos de controle da expressão gênica e para a compreensão dos mecanismos de controle da expressão gênica.

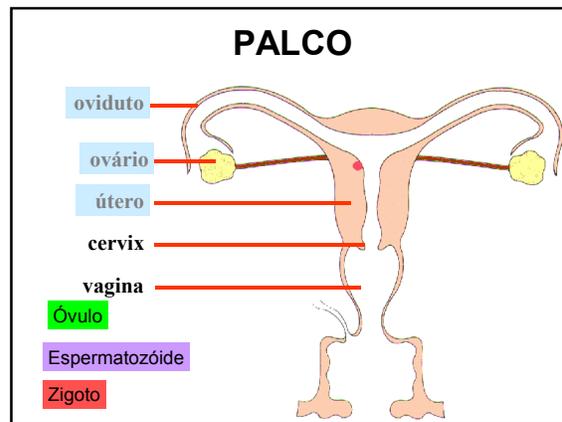


Ranking dos 10 países com maior número de embriões transferidos fora da América do Norte

PAÍS	COLETAS	EMBRIÕES TRANSFERIDOS	PAÍS	COLETAS	EMBRIÕES TRANSFERIDOS
Brasil	12.369	116.376	Holanda	2.971	13.374
Inglaterra	6.303	32.983	Áustria	1.686	13.157
Rep. Pop. China	7.285	37.823	Alemanha	2.567	10.141
Francia	6.797	32.710	Argentina	1.694	8.290
Austrália	5.645	29.894	Rep. Checa	1.321	6.608



Espermatozóide	Ovócito
Contribuição gènica	Contribuição gènica
Motilidade	
Reconhecimento espécie-específico	Reconhecimento espécie-específico
Penetração de barreiras mecánicas e químicas	Prevenção da Polispermia
	Nutrição do zigoto

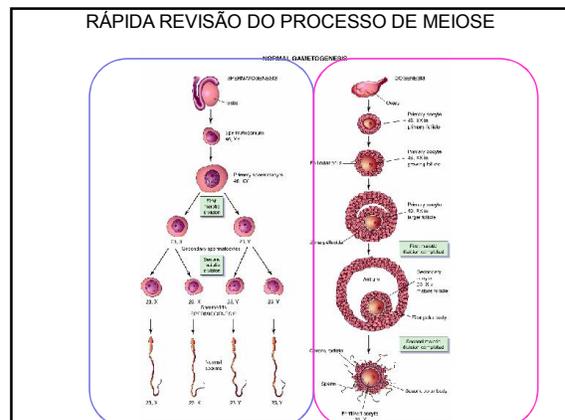
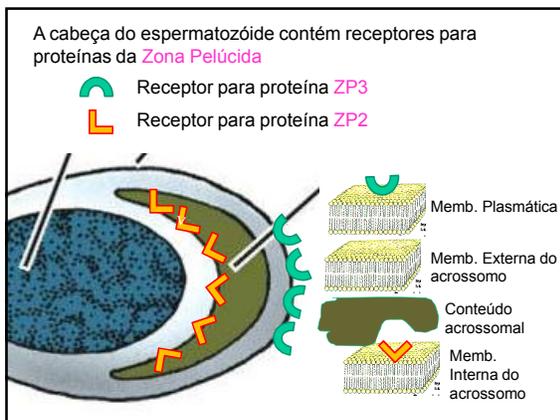
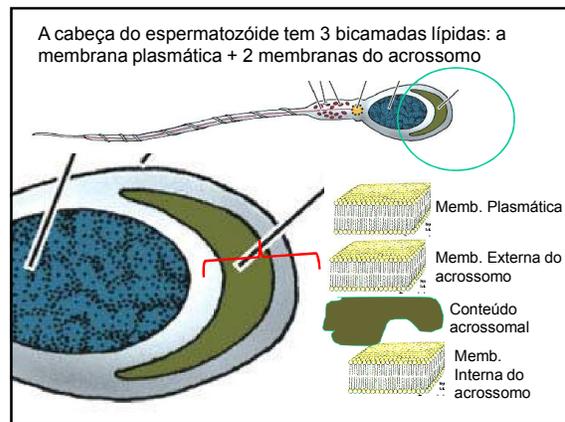
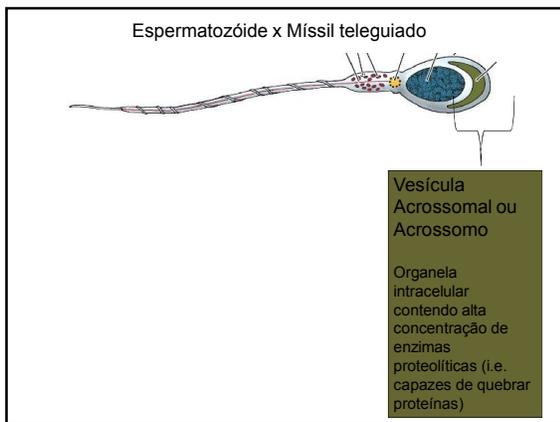
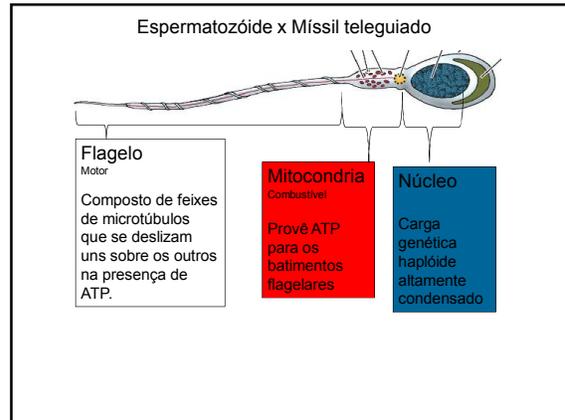
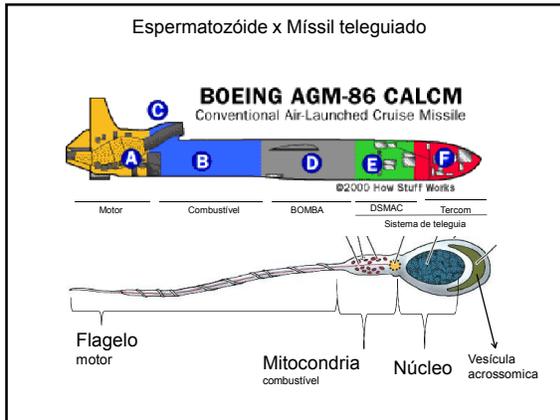


### FINAL FELIZ

Zigoto diplóide (2n)  
 com os dois prónucleos da mesma espécie.

Espermatozóide	Estrutura
Contribuição gènica	Núcleo Haplóide
Motilidade	Flagelo
Reconhecimento espécie-específico	Proteínas na membrana
Penetração de barreiras mecánicas e químicas	Acrossoma

5 µm  
 5 µm  
 Mitochondria  
 Acrosome  
 Bainha  
 Cabeça (com Núcleo + Mitochondrial + ACROSSOMA)  
 FLAGELO  
 ESPERMATOZÓIDE



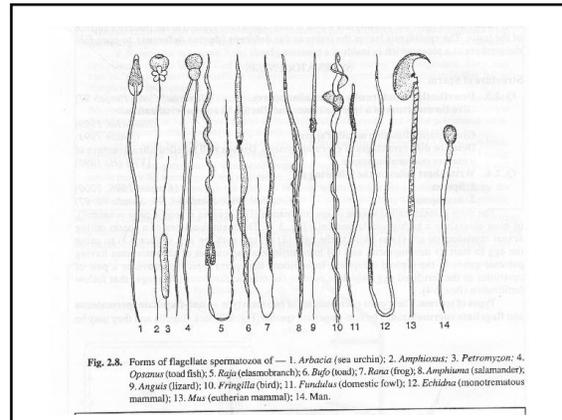


**No Núcleo:**

- Remoção de água
- Eliminação de RNAs
- Alongamento da forma nuclear
- Condensação nuclear

**No Citoplasma**

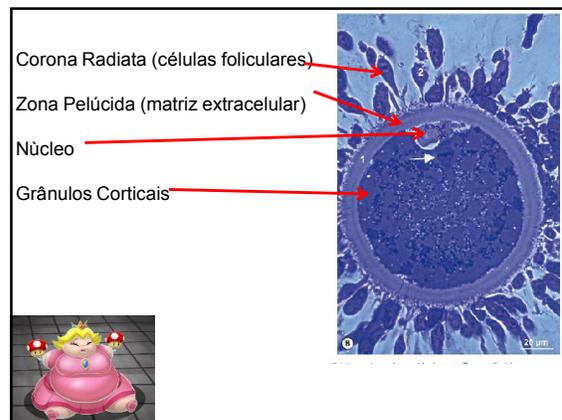
- Fusão do Golgi, formando o Acrossoma
- Concentração de mitocôndrias perto do flagelo
- Formação do flagelo

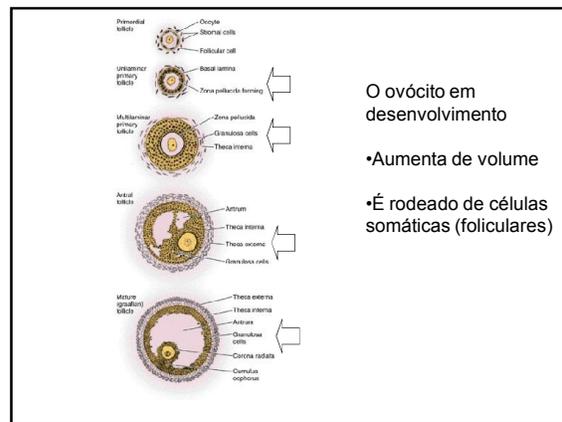
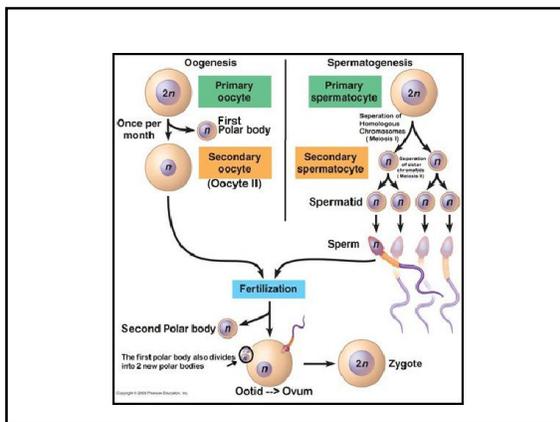
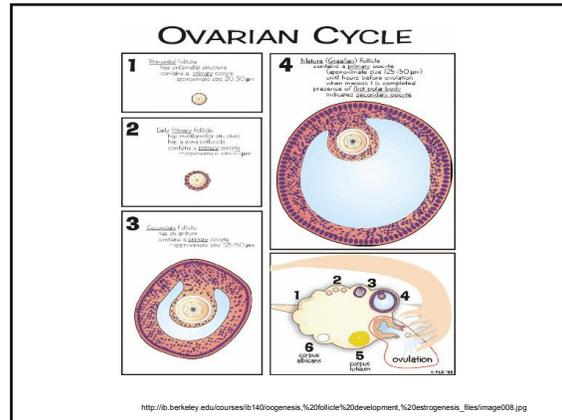
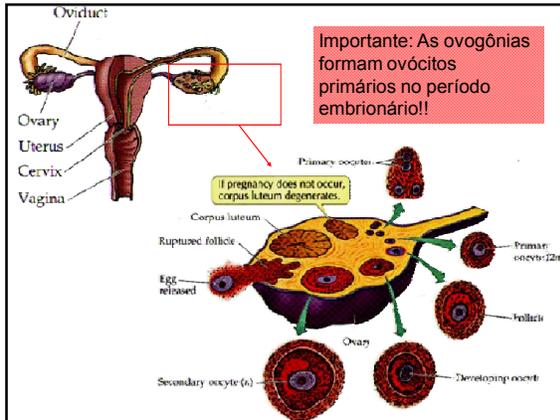


A motilidade do espermatozoide aumenta à medida que progride pelo trato reprodutório.

Ovócito	Núcleo Haplóide
Contribuição gênica	Zona Pelúcida
Reconhecimento espécie-específico	Zona Pelúcida Modificada
Prevenção da Polispermia	Citoplasma
Nutrição do zigoto	

Ovócito	DIFERENCIAÇÃO
Indução da Motilidade	Fatores Quimiotáticos (identificados em animais de fert. Ext)
Reconhecimento espécie-específico	Proteínas de <u>Zona Pelúcida</u>
Prevenção da Polispermia	•Grânulos corticais •Expressão de canais iônicos na memb.
Fusão dos prónucleos	
Nutrição do Zigoto	Acúmulo de proteínas e RNA





O ovócito em desenvolvimento

- Aumenta de volume
- É rodeado de células somáticas (foliculares)

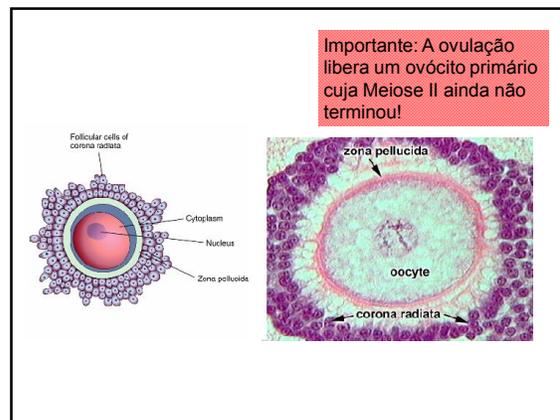
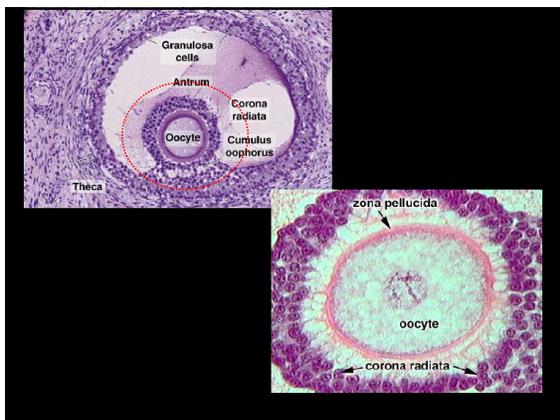
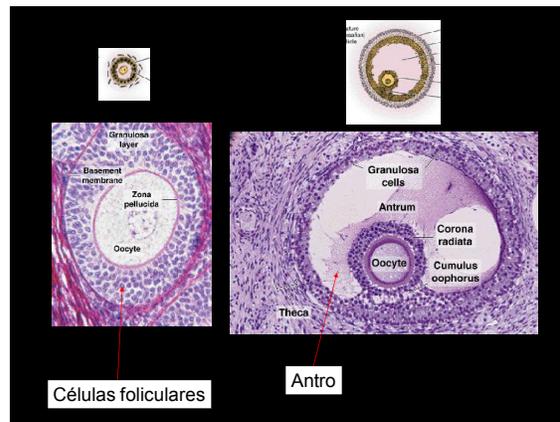
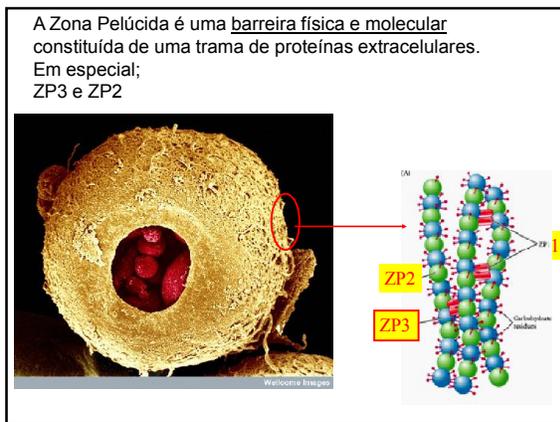
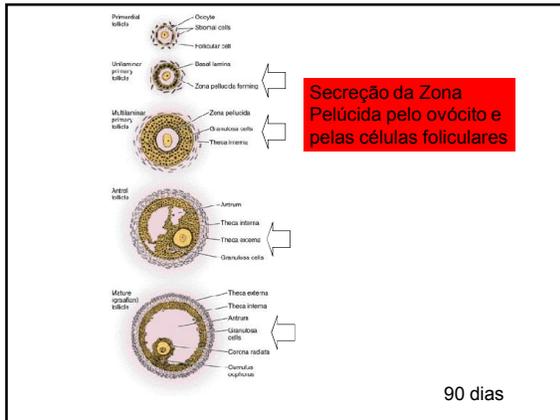
Notem o aumento de VOLUME CELULAR:  
Relacionado à disponibilidade de nutrientes para o embrião

	Aumento em volume
Anfíbio (desenvolvimento externo)	27.000x
Galinha (desenvolvimento externo)	200x
Camudongo (desenvolvimento interno)	43x



Células Foliculares/Granulosa

- São células que auxiliam na maturação do ovócito
- Iniciam com uma camada epitelial ao redor do ócito
- Síntetizam a Zona Pelúcida
- Transferem ao ovo alguns elementos do vitelo



O ovócito é liberado em conjunto com células somáticas (2n) do óvulo: as CÉLULAS FOLICULARES = CORONA RADIATA



- Reação Acrossomal
- Reconhecimento de proteínas da Zona Pelúcida
- Reação da Zona Cortical

**Especificidade de espécie:**

- **Rituais de côrte**
- **Proteínas da Zona Pelúcida**

**Capacitação :**

Maturação molecular do espermatozóide no trato uterino:

- Aumento da fluidez de membrana com a remoção de colesterol.
- Modificação das proteínas da membrana plasmática do espermatozóide

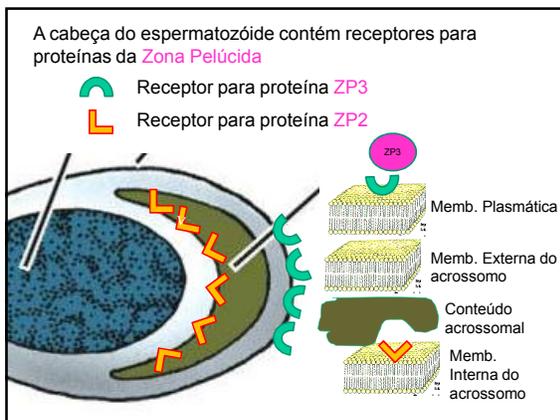
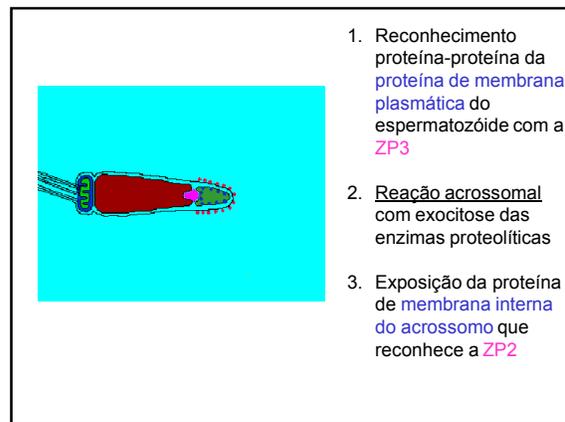
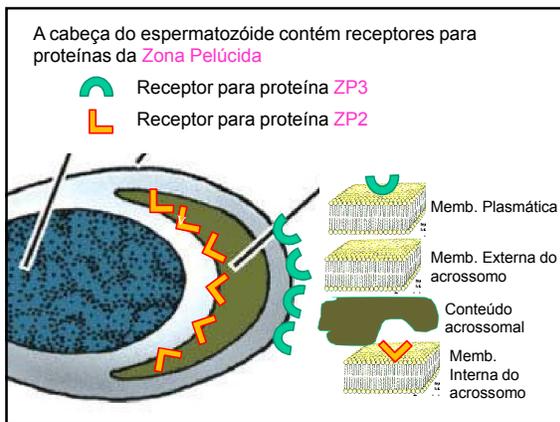
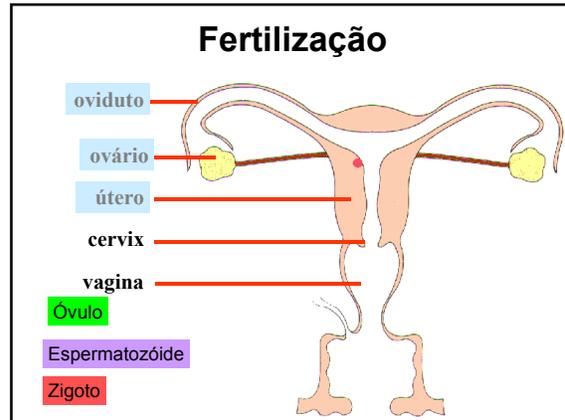
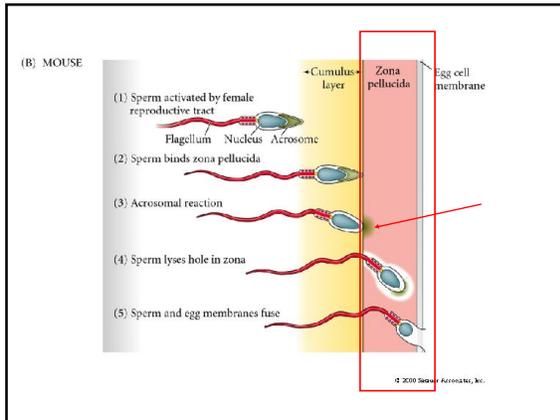
**Capacitação :**

Maturação molecular do espermatozóide no trato uterino:

- Aumento da fluidez de membrana com a remoção de colesterol.
- Modificação das proteínas da membrana plasmática do espermatozóide

Auxilia na fusão do membr do espermatozóide com o óvulo

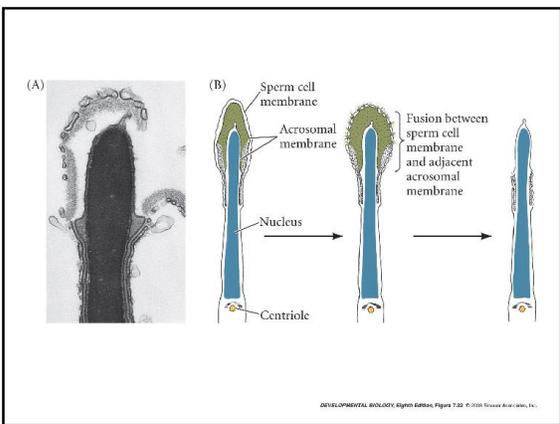
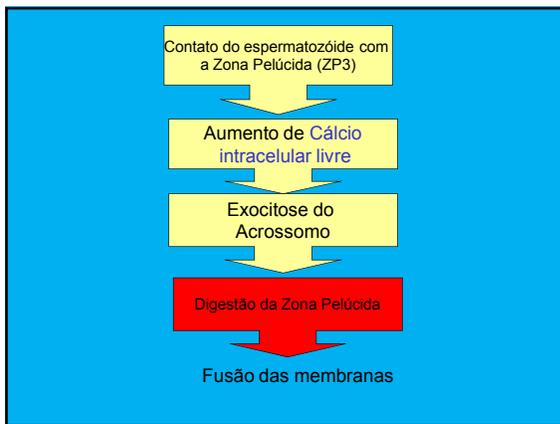
Facilita o reconhecimento de proteínas da **Zona Pelúcida**



A interação entre as proteínas de membrana do espermatozóide e as proteínas da Zona Pelúcida é ESPÉCIE-ESPECÍFICA



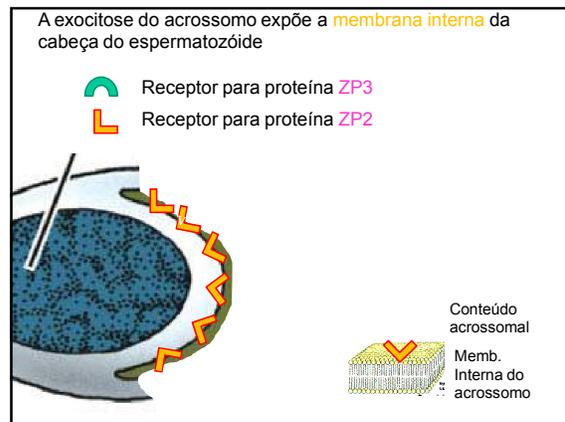
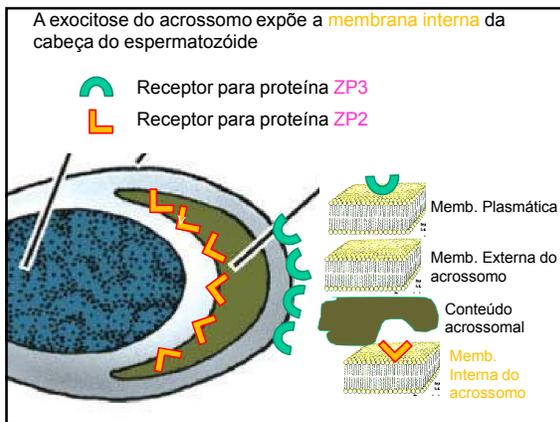
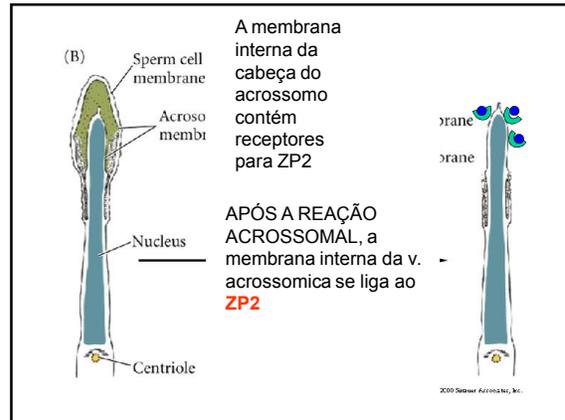
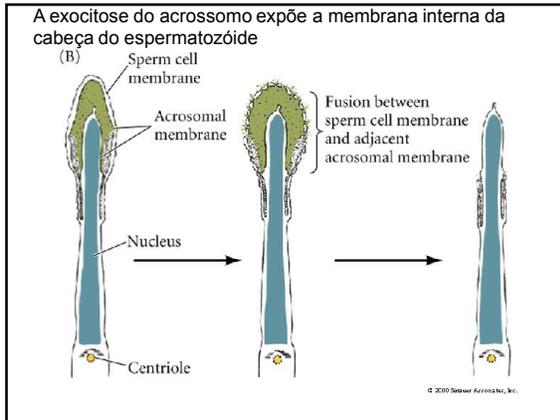
Reação acrossomal = Exocitose do conteúdo do acrossoma



Após contato com a Zona Pelúcida (ZP3):

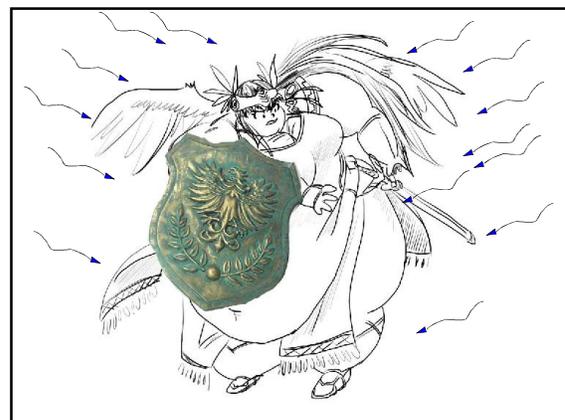
1. Aumento de Cálcio citoplasmático proveniente dos estoques intracelulares
2. Exocitose do Acrossoma
3. Exposição da membrana interna do Acrossoma

Mas, se na exocitose do acrossomo é perdida a proteína de membrana que reconhece a ZP3, como que o espermatozóide permanece aderido a Zona Pelúcida?

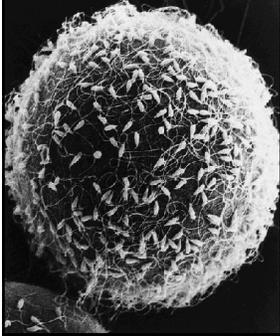


**FINAL FELIZ ???**

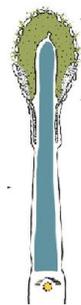
Zigoto diplóide (2n) **E APENAS DIPLÓIDE**  
com os dois prónucleos da mesma espécie.



O PROBLEMA DA POLISPERMIA...



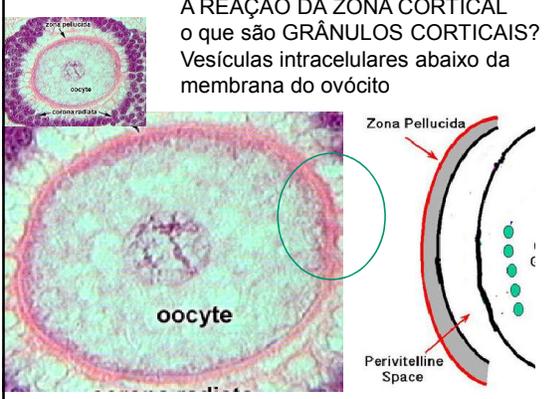
- Concentração reduzida de esperma durante a fertilização (~200/200M)
- Reação da zona cortical (exocitose de grânulos corticais) modificação do ZP3 e ZP2



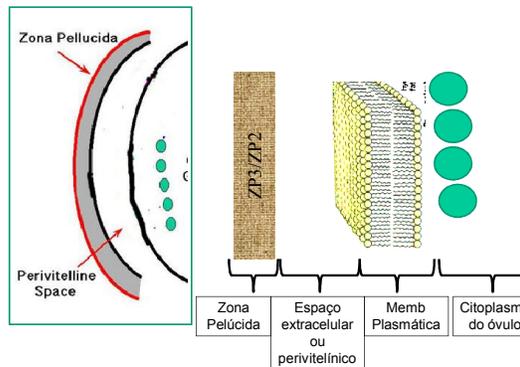
O Acrossoma contém enzimas que auxiliam na:

- penetração do espermatozóide, DIGERINDO A TRAMA DA Zona pelúcida
- Deflagração da **REAÇÃO CORTICAL**

A REAÇÃO DA ZONA CORTICAL o que são GRÂNULOS CORTICAIS? Vesículas intracelulares abaixo da membrana do ovócito

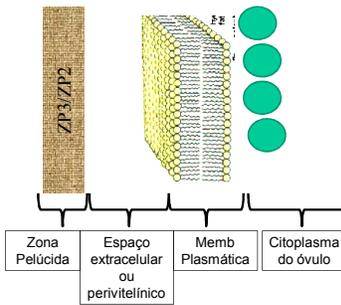


Labels: Zona Pellúcida, Perivitelline Space, oocyte



Labels: Zona Pelúcida, Espaço extracelular ou perivitelinico, Memb Plasmática, Citoplasma do óvulo

Os GRÂNULOS CORTICAIS contêm enzimas modificam a ZP2 e ZP3, de forma que não são mais reconhecidas pelo espermatozóide

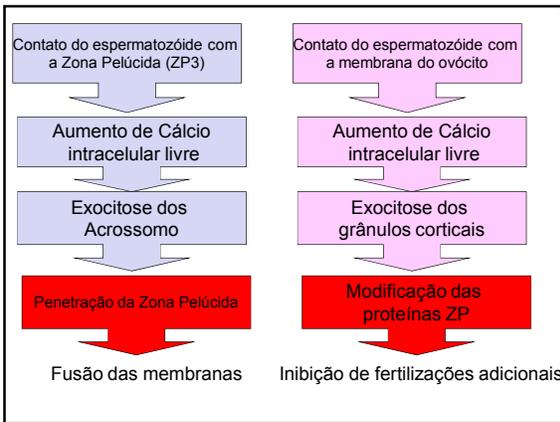
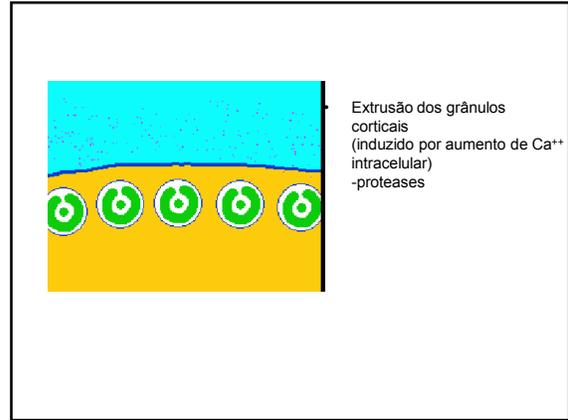
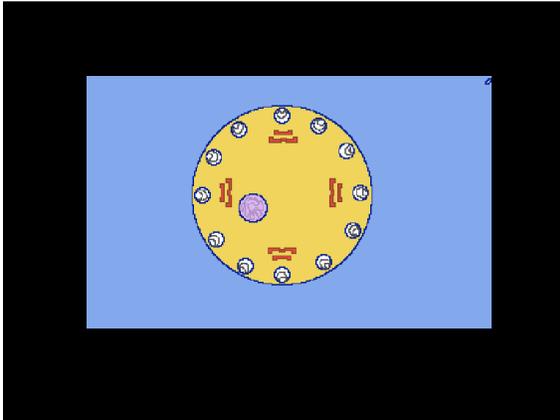


Labels: Zona Pelúcida, Espaço extracelular ou perivitelinico, Memb Plasmática, Citoplasma do óvulo



```

    graph TD
      A[Contato do espermatoz. com a membrana do ovócito] --> B[Aumento de Cálcio intracelular livre]
      B --> C[Exocitose dos grânulos corticais]
      C --> D[Modificação das proteínas ZP]
      D --> E[Inibição de fertilizações adicionais]
    
```



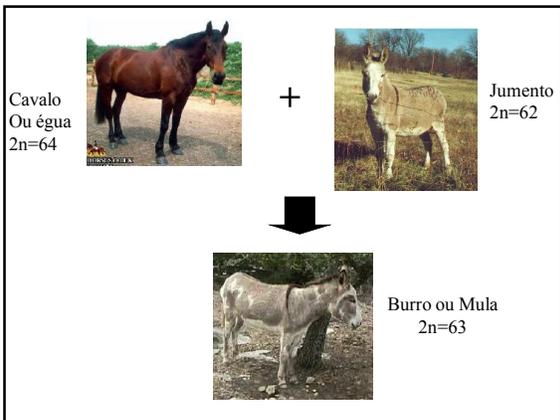
**Em animais com Fertilização Interna**

**Especificidade de espécie:**

- Rituais de corte
- Proteínas da Zona Pelúcida

**Bloqueio de polyspermia**

- Concentração reduzida de espermatozóides durante a fertilização (~200/200M)
- Reação de zona (exocitose de grânulos corticais) — digestão do ZP3

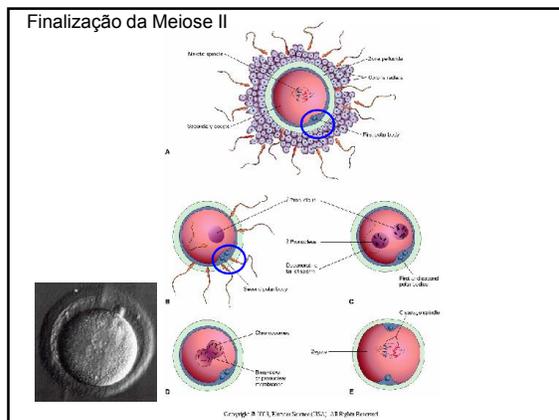
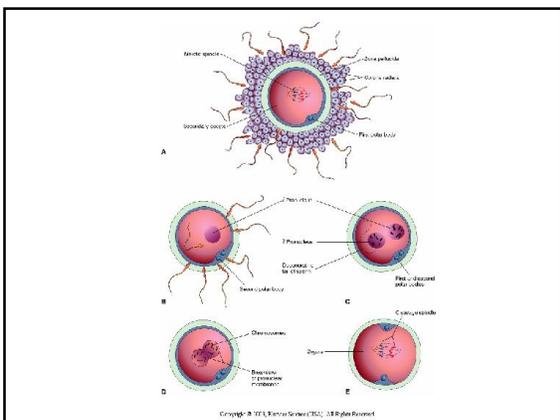
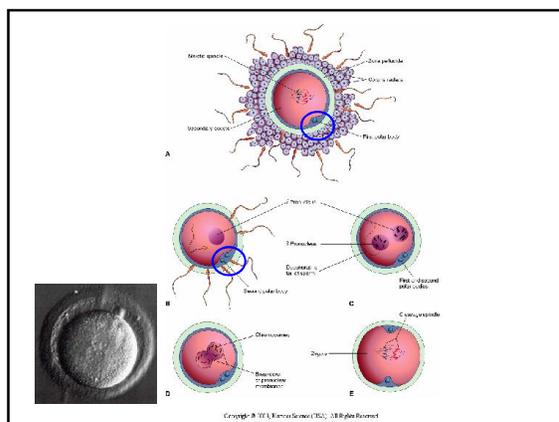
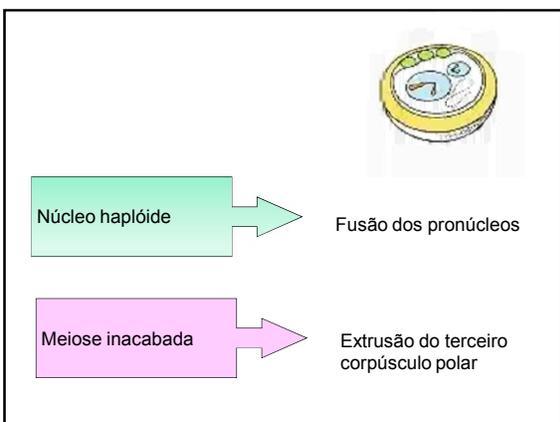
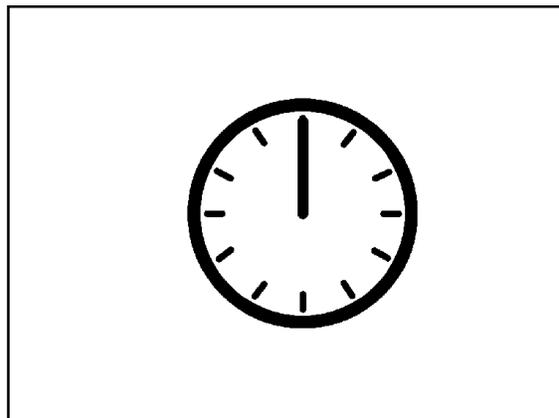


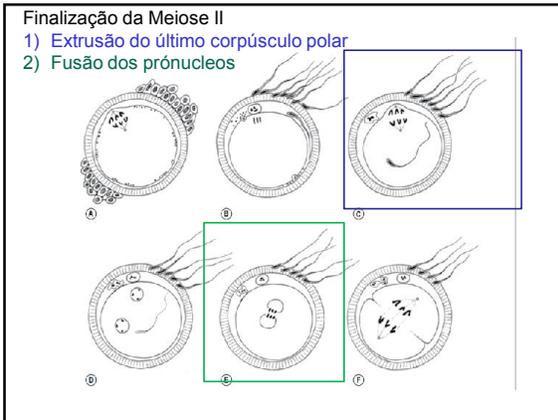
Numa situação de fertilização *in vitro*, a remoção das proteínas de membrana dos espermatozóides afetará que eventos? (pode existir mais de uma alternativa)

A) Reação Acrossomal  
 B) Reconhecimento espécie-específico  
 C) Motilidade espermática  
 D) Integridade do núcleo haplóide  
 E) Composição da Zona Pelúcida

Numa situação de fertilização *in vitro*, a remoção das proteínas de membrana dos espermatozoides afetará que eventos? (pode existir mais de uma alternativa)

- A) Reação Acrossomal
- B) Reconhecimento espécie-específico
- C) Motilidade espermática
- D) Integridade do núcleo haplóide
- E) Composição da Zona Pelúcida





### CLIVAGEM

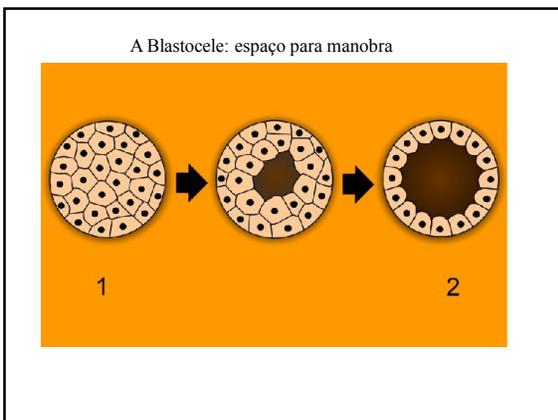
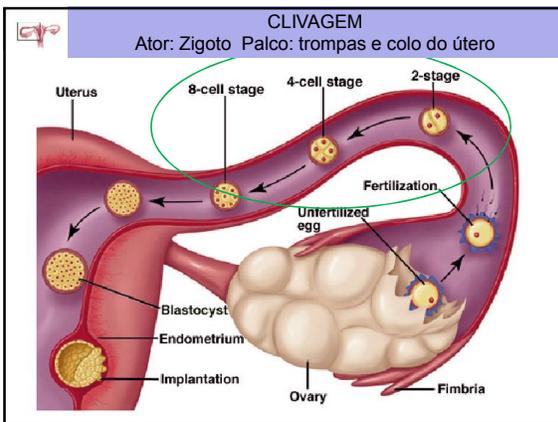
Objetivo:

- Multicelular
- Três folhetos
- Forma de "farínghula"

→ Aumento do número de células

→ Espaço para manobra

→ Rearranjo celular



(A) 16-cell stage. (B) 32-cell stage.

**Cavitação/ Compactação: Cria um ambiente interno: a BLASTOCELE**

(A) Early cleavage, 16 cells. (B) Early cleavage, 32 cells. (C) Blastocyst formation, 128 cells. (D) Blastocyst formation, 256 cells. (E) Blastocyst formation, 512 cells.

Labels in diagrams: Apical, Lateral, Basal, Tight junctions, Microvilli, Zona Pelúcida, Trophoblast, Inner cell mass (ICM), Outer cell mass (OCM).

**MOUSE DEVELOPMENT**

**ANN SUTHERLAND**  
University of California  
San Francisco

**MOUSE DEVELOPMENT**

**ROGER PEDERSEN**  
University of California  
San Francisco

Holoblástico rotacional

(A) 16-cell stage. (B) 32-cell stage. (C) Hatched blastocyst.

**"Ecloração" da Zona P.**

Permite expansão do blástula e implantação

**MOUSE DEVELOPMENT**

**ANN SUTHERLAND**  
University of California  
San Francisco

**MOUSE DEVELOPMENT**

**ROGER PEDERSEN**  
University of California  
San Francisco

Holoblástico rotacional

Ao final do período de clivagem, o embrião é constituído de

**MASSA CELULAR INTERNA**  
e  
**TROFOECTODERME**

Ao final de várias mitoses, distinguem-se duas populações de células:

- Massa Celular Interna
- Trofoectoderme

→ **Embrião Propriamente Dito**

Porção Embrionária da Placenta

→ **Porção Embrionária da Placenta**



A Massa Celular Interna se diferencia em EPIBLASTO E HIPOBLASTO  
**EPIBLASTO:** Fica mais distante da Blastocèle  
**HIPOBLASTO:** Mais próximo da Blastocèle

**IMPLANTAÇÃO**

As clivagens iniciais ocorrem enquanto o ovo se desloca pela trompa de Falópio, e a implantação é no ENDOMÉTRIO do colo do útero.

Trompa de Falópio      Útero

Em Humanos, o blastocisto com a Massa Celular Interna e o disco germinativo implanta no colo do útero.

Trompa de Falópio      Útero

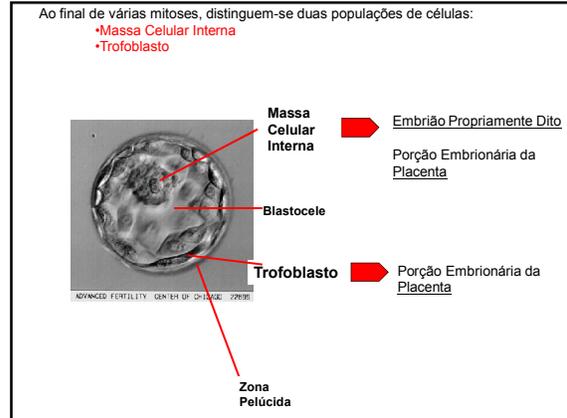
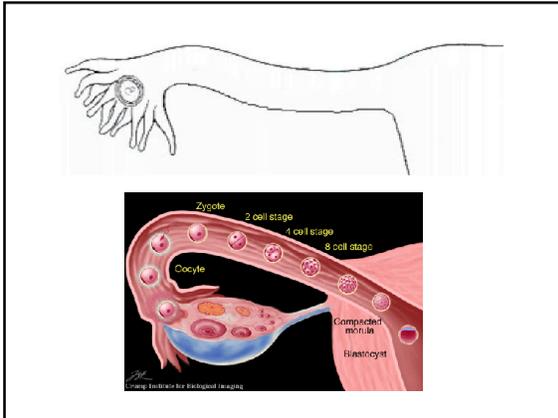
Antes da implantação, os embriões de ungulatos sofrem **ALONGAMENTO** e **não** se implantam de imediato.

Disco bilaminar

DOMESTIC ANIMAL EMBRYOLOGY

ESPÉCIE	ALONGAMENTO (DIAS)
Ovinos	11 – 16 dias
Bovinos	12 – 18 dias
Suínos	10- 16 dias
Equinos	Não ocorre
Humanos	Nem pensar

Resumindo...  
 Em termos de implantação



It is not birth, marriage or death, but gastrulation,  
 which is truly the most important time in your life  
*Lewis Wolpert (1986)*

**O evento mais importante da sua vida  
 não é o seu nascimento, seu casamento,  
 sequer a sua morte. É a Gastrulação**