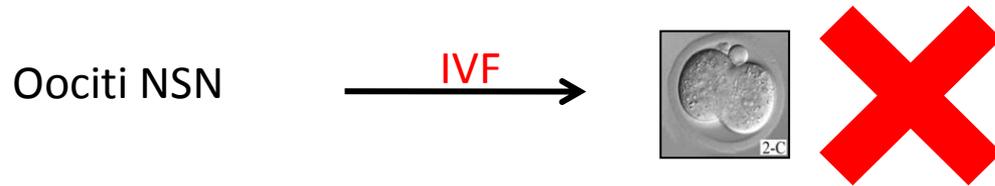
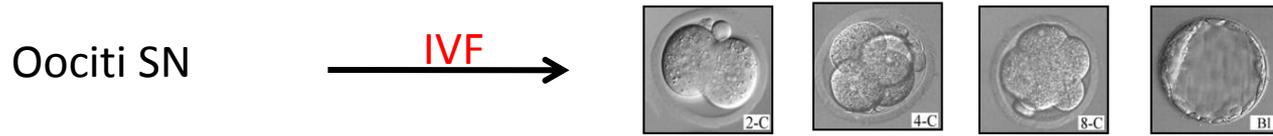
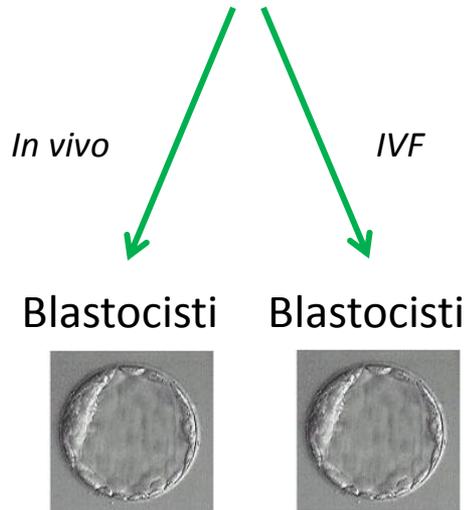


L'eredità
citoplasmatica
dell'oocita
determina il destino
dello sviluppo
embrionale

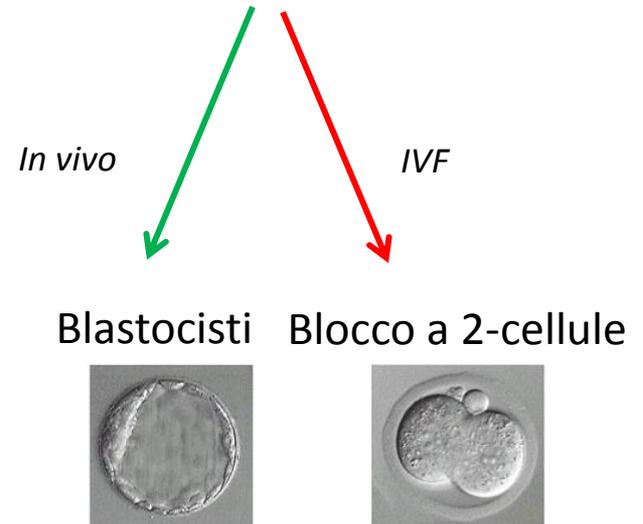
Il blocco a 2-cellule



Ceppo B6C3F1



Ceppo CD1



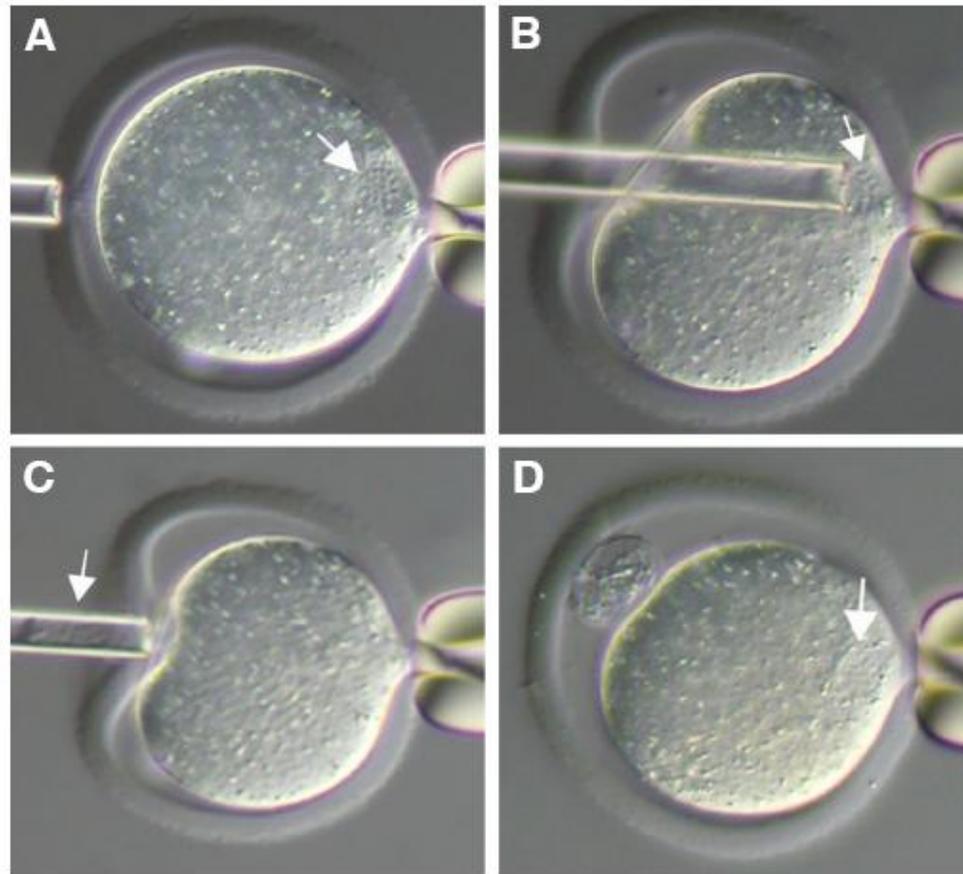
Zygotic gene activation

Gli mRNA materni cominciano a essere degradati poco dopo la fecondazione.

Transizione dal controllo materno al controllo embrionale del programma di sviluppo.

Pecora e coniglio (morula), uomo e bovino (4-/8-cellule), topo (2-cellule).

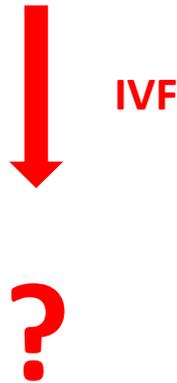
Nuclear transfer



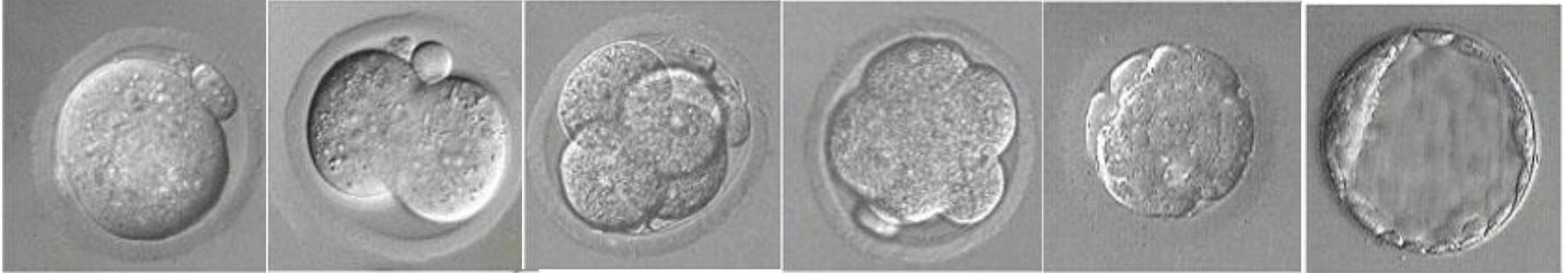
Piano sperimentale – nuclear transfer

CD1 nucleus in B6C3F1 cytoplasm

B6C3F1 nucleus in CD1 cytoplasm



Piano sperimentale – analisi dell'espressione genica



Geni a effetto
materno



Stella
Oct4
Npm2
Smarca4
Zar1

Risultati – Competenza allo sviluppo

RECIPROCAL MII-PLATE TRANSFER

Enucleated MII oocyte	Transferred MII-plate	N. of reconstructed MII oocytes	% ± S.D. (N.) of preimplantation embryos			
			2-cell	4-cell*	Morula	Blastocyst
F1	F1	89	100 (66)	89.4 ± 10.1 (59)	75.7 ± 9.1 (50)	63.3 ± 13.8 (42)
CD1	CD1	54	100 (34)	26.5 ± 13.2 (9)	20.6 ± 11.2 (7)	5.9 ± 7.3 (2)
CD1	F1	87	100 (69)	18.8 ± 6.3 (13)	7.2 ± 3.6 (5)	0
F1	CD1	89	100 (71)	78.9 ± 10.1 (56)	54.9 ± 9.1 (39)	42.2 ± 10.1 (30)

Reciprocal MII-plate transfer between enucleated MII oocytes of a non-blocking inbred strain (F1) and enucleated MII oocytes of a blocking outbred strain (CD1). Reconstructed oocytes were inseminated with F1 spermatozoa and preimplantation development beyond the 2-cell stage was analysed.

*: the percentage was calculated considering the 2-cell stage as 100%.

Risultati/Nuclear transfer

Oociti ricostruiti con citoplasma CD1 non sono in grado di raggiungere lo stadio di blastocisti

Embrioni ricostruiti con citoplasma F1 raggiungono lo stadio di blastocisti

Risultati/gene expression

Negli embrioni CD1 l'aumento dei trascritti, probabilmente dovuto alla ZGA, è ritardato rispetto agli embrioni F1.

Negli embrioni F1 l'aumento dei trascritti avviene nel passaggio tra lo stadio di 2c e lo stadio 2c late.

Dati in letteratura suggeriscono che il blocco a 2c possa essere dovuto a un ritardo nell'attivazione del genoma embrionale (Qiu et al., 2003).

Conclusioni

Gli esperimenti di IVF e NT consentono di correlare una scarsa competenza allo sviluppo con fattori citoplasmatici dell'oocita CD1

Embrioni CD1 coltivati in vitro presentano un ritardo nella trascrizione dei geni analizzati che potrebbe contribuire al 2-cell block.

Work in progress

L'analisi dell'espressione genica in embrioni ricostruiti consentirà di approfondire la nostra conoscenza dei meccanismi molecolari alla base del 2-cell block e della ZGA.

Prospettive

Analisi della competenza allo sviluppo e dell'espressione genica in embrioni derivati da oociti NSN microiniettati con porzioni di citoplasma da oociti SN.



Michele Bellone
Valeria Merico
Paola Rebuzzini
Chiara Vasco
Mario Zanoni

Prof. Silvia Garagna
Prof. Carlo Alberto Redi
Prof. Maurizio Zuccotti