

L'INTERACTION GAMETIQUE

H. Lucas, C. De Vantery-Arrighi

20/06/01

[Cliquez ici pour démarrer](#)

Table des matières

[Conférence d'actualité : L'INTERACTION GAMÈTIQUE](#)

[Diapositive PPT](#)

14.08.2001



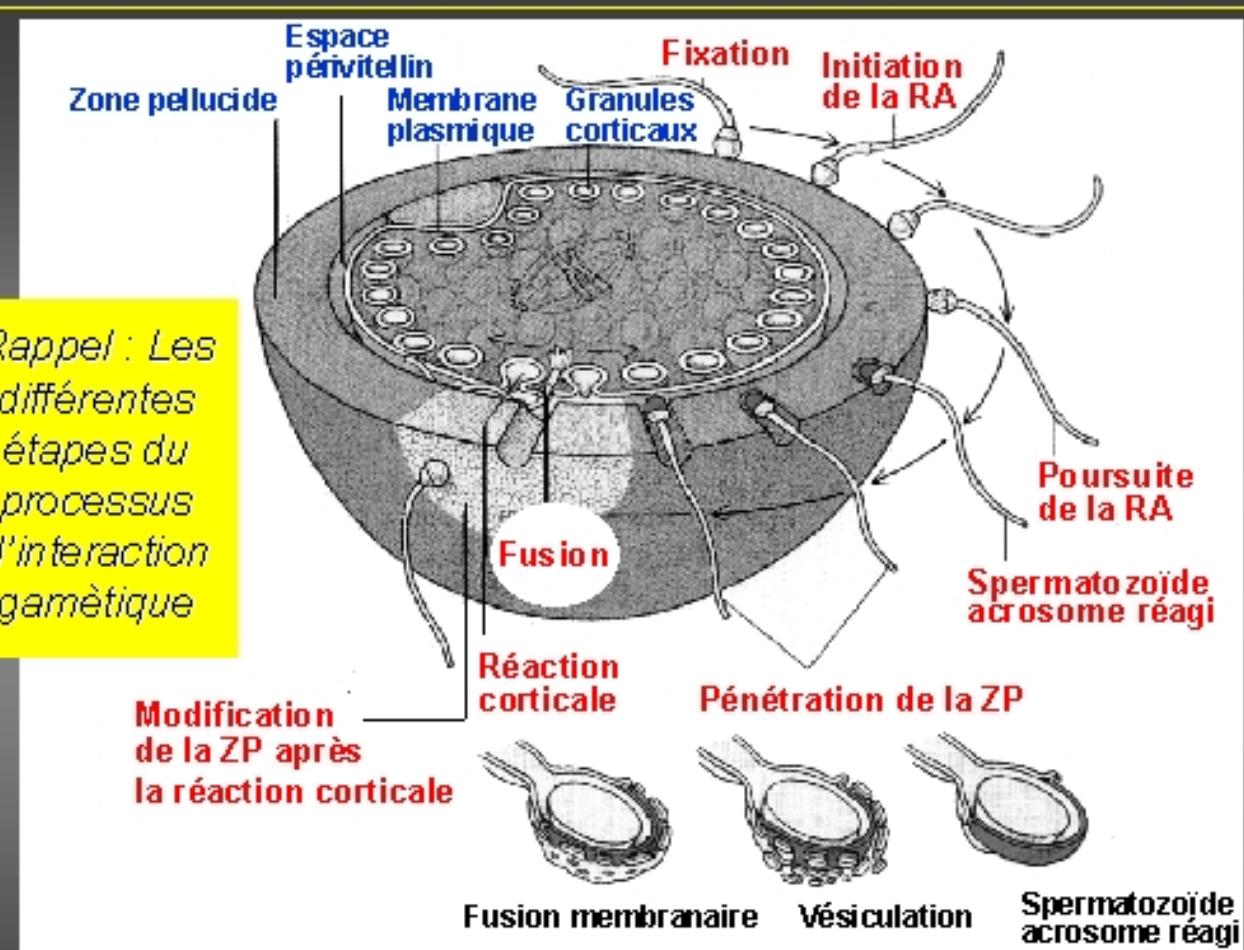
Conférence d'actualité : L'INTERACTION GAMÈTIQUE

Hervé LUCAS, Corinne DE VANTERY ARRIGHI

Laboratoire des Gamètes
Hôpitaux Universitaires de Genève



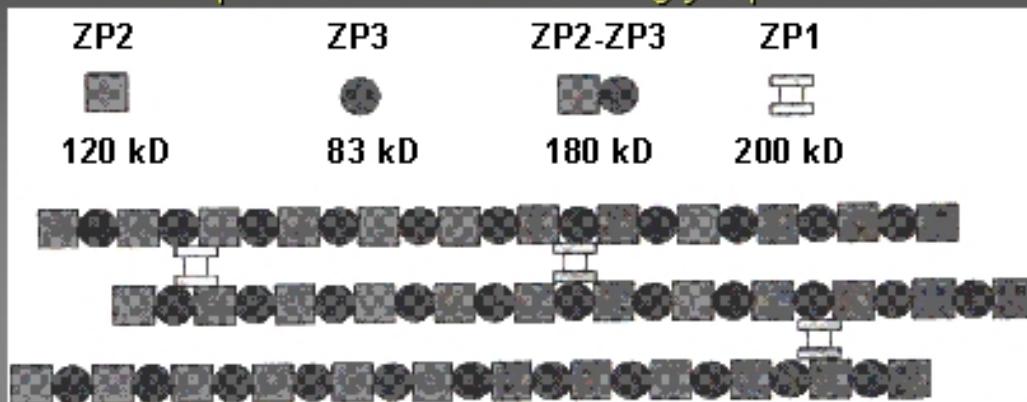
Diapositive 1 sur 22



D'après P. Wassarman

Structure de la zone pellucide

Description chez la souris : 3 glycoprotéines



(D'après P. Wasserman)

ZP1 : pontage des chaînes glycoprotéiques ZP2-ZP3

ZP3 : fixation des spermatozoïdes et induction de la réaction acrosomique (RA)

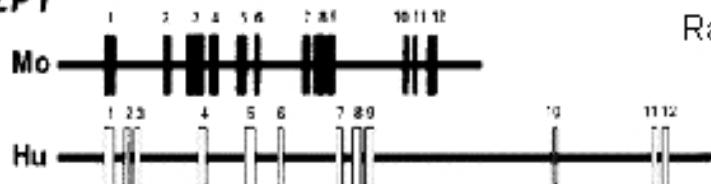
ZP2 : fixation secondaire des spermatozoïdes acosome réagi, traversée de la ZP

Nouvelle nomenclature (Harris et al., 1994) : ZPA = ZP2

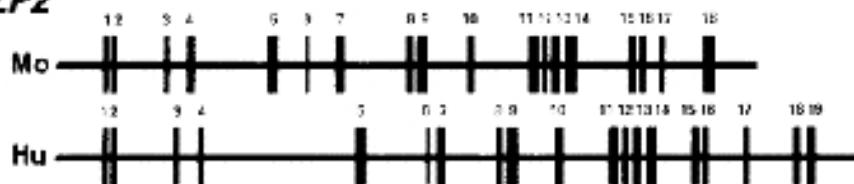
ZPB = ZP1

ZPC = ZP3

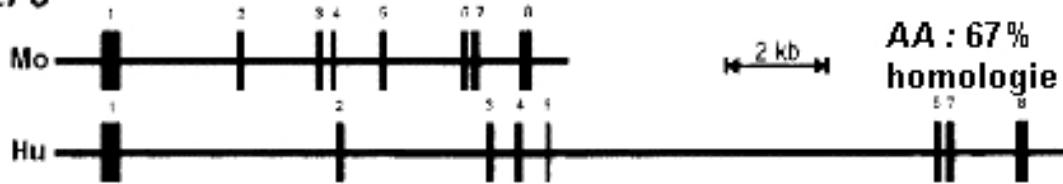


(a) **ZP1**

Rankin et Dean, 1996

(b) **ZP2**AA : 61%
homologie

Cartographie des gènes Zp1, Zp2 et Zp3 chez l'homme (Hu) et la souris (Mo)

(c) **ZP3**AA : 67%
homologie*Zp1* : 12 exons (Epifano *et al.*, 1995; Harris *et al.*, 1994).*hZp2* : 19 exons ; *mZp2* : 18 exons (Liang *et al.*, 1990; Liang et Dean, 1993).*Zp3* : 8 exons ; la taille des introns très différente (Kinloch *et al.*, 1988; Chamberlain et Dean, 1989, 1990).



Biosynthèse des glycoprotéines pellucidaires

(Soyal et al., 2000)

Rôle de *FIGα* (*Factor in the Germinal*) :

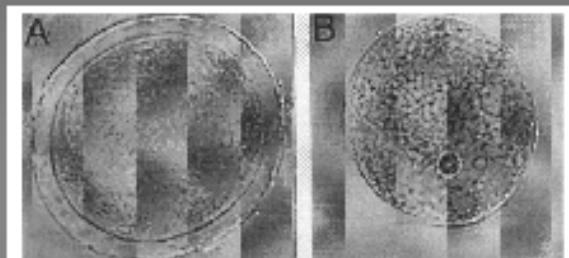
- DéTECTé dans l'embryon murin de 13 j
- Mutagénèse dirigée de *FIGα* produit :
 - gonadogénèse normale
 - absence de follicules primordiaux à la naissance
 - stérilité des femelles vs fertilité normale des mâles
 - absence de transcrits ZP1, 2, 3.
- Persistance de *FIGα* chez l'adulte → rôle dans folliculogénèse



Assemblage des glycoprotéines pellucidaires ZP1, ZP2, ZP3

Les trois glycoprotéines sont nécessaires à la formation d'une ZP normale

Si la structure de ZP2 ou ZP3 est modifiée, pas d'incorporation de l'autre protéine dans la ZP (Tong et al., 1995)



Zp3^{+/+} *Zp3^{-/-}*
(Liu et al., 1996 ; Rankin et al., 1996)

Souris *Zp3^{-/-}* (ou *Zp2^{-/-}*) :

Absence de ZP

Désorganisation du cumulus

Faible production ovocytaire

Absence d'embryons

Souris *Zp1^{-/-}* (Rankin et al., 1999) :

Présence d'une ZP anormale (ZP2 et ZP3 seulement)

Désorganisation du cumulus (cellules de la granulosa dans l'EP)

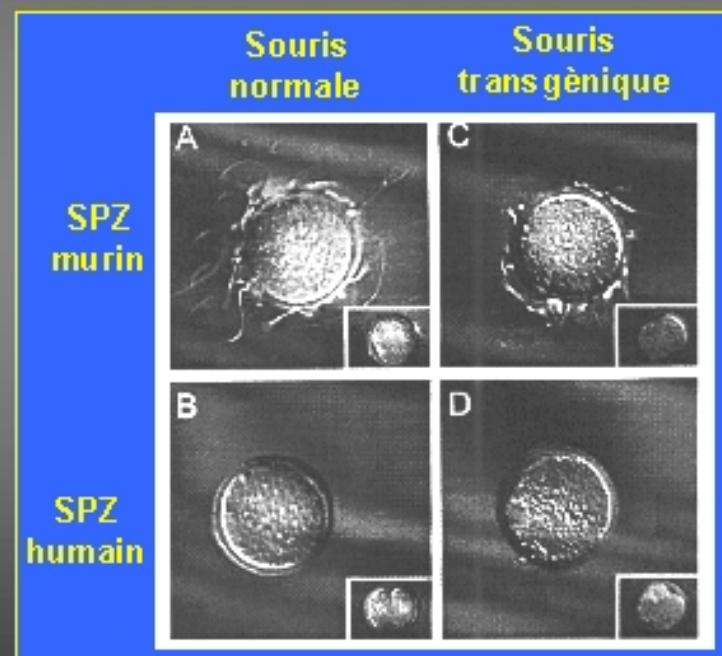
Production ovocytaire normale

Moins d'embryons (éclosion trop précoce)

De plus en plus fort !...

Humanisation de la ZP de souris, création d'une chimère (Rankin et al., 1998)

Souris Zp3^{-/-} chez lesquelles le gène homologue humain Zp3 a été inséré :



Ovogénèse normale

Structure de la ZP normale

Ovulation normale

Spermatozoïdes de souris peuvent se fixer à la ZP et féconder avec naissances normales

Par contre, les spermatozoïdes humains ne se fixent pas à la ZP



Conclusion :

Les phénomènes post-traductionnels (glycosylation ...) sont très important pour la fonction de liaison des spermatozoïdes à la ZP et pour l'induction de la RA

Spécificité d'espèce de certaines glycotransférases

Gal β 1,4[Fuc α 1,3]GlcNAc β 1,4GlcNAc
Gal α 1,3 Gal β 1,4[Fuc α 1,3]GlcNAc

(Johnston *et al.*, 1998)

Chez la souris, deux types d'oligosaccharides d'affinité différente pour les spz

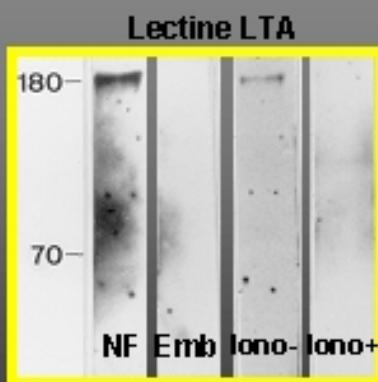
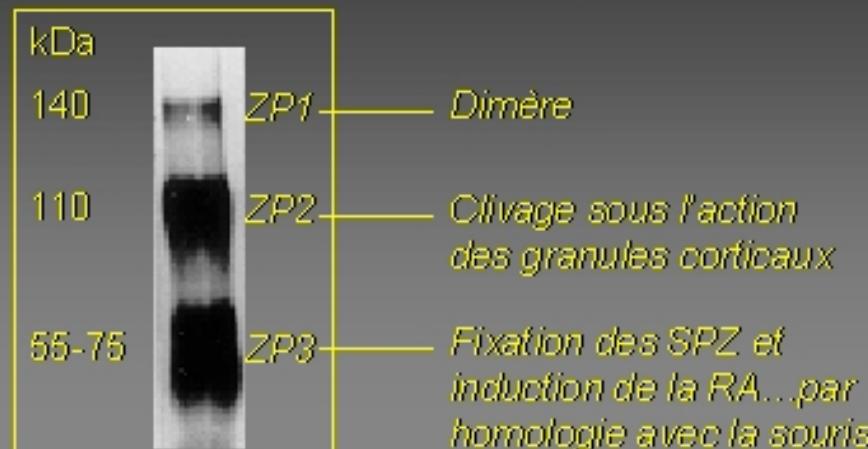
Inhibition de la fixation mais pas d'inhibition de la RA

La conformation spatiale de la ZP est également très importante pour l'agrégation des récepteurs spermatiques lors de l'induction de la RA



Qu'en est-il chez l'homme ?

(Travaux de Shabanowitz et O 'Rand 88-91; Bercegeay et coll., 95; Moos et coll, 1995)



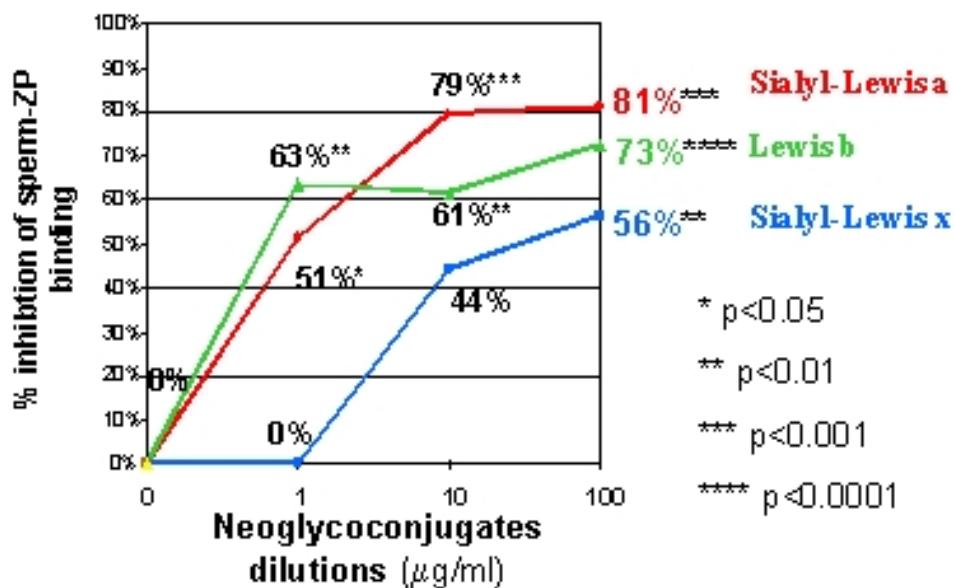
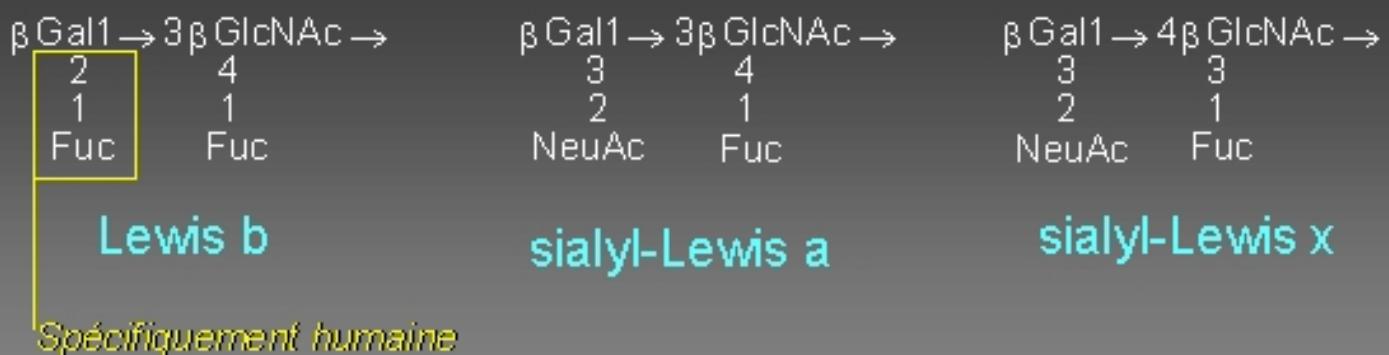
Protéine de 180 kDa très faiblement représentée dans la ZP (ZPB-ZPC chez le porc)

Glycosylation modifiée après la fécondation

Glycoprotéine comprenant les motifs Lewis b, sialyl-Lewis a et sialyl -Lewis x



Marquage par Ac anti-ZP animaux (antisera, monoclonaux, porc); Ac anti-ZP-humain polyclonal



Implication de ces oligosaccharides dans la reconnaissance et la fixation spermatozoïde-ZP

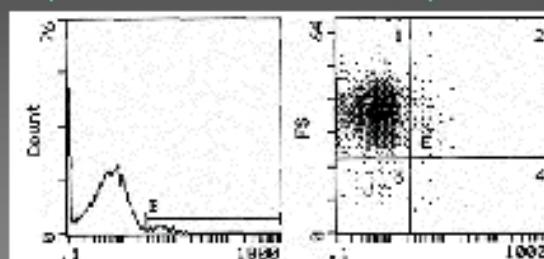
Un récepteur spermatique pour le Lewis b

(Lucas et al., 1994; Lucas et al., en préparation)

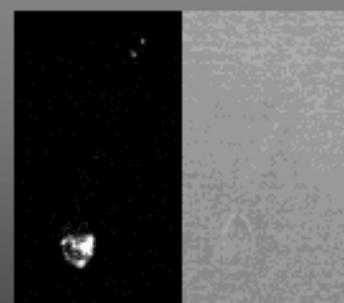
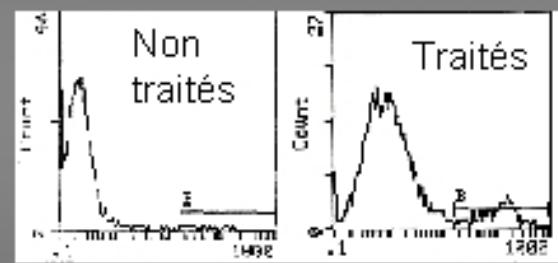
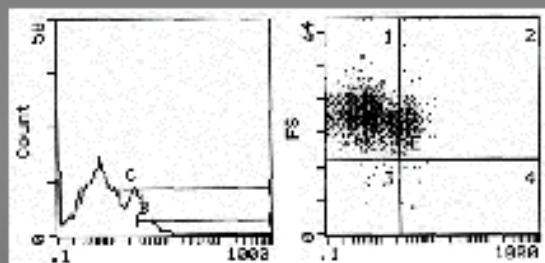
Spermatozoïdes non capacités



Capacitation 4 heures



Traitement par Neuraminidase



Marquage des spermatozoïdes par Lewis b

HUG Hôpital Universitaire de Genève

Participation d'une β -hexosaminidase spermatique dans l'interaction spermatozoïde - ZP humaine ?

Miranda et al., 2000 : β -hexosaminidase recombinante inhibe la fixation des spermatozoïdes à la ZP.

La préincubation de ZP avec l'enzyme aboli la fixation spermatique ultérieure.

La préincubation des spermatozoïdes avec du GlcNAc aboli également la fixation ultérieure aux ZP.



Le Lewis b pourrait être son ligand pellucidaire.

Cette enzyme pourrait avoir le même rôle que la GalTase chez la souris

**RECEPTEURS SPERMATIQUES IMPLIQUES
DANS L'INTERACTION GAMETIQUE HUMAINE**

FA-1	fixation pellucidaire	Naz <i>et al.</i> , 1992
p95 (ZRK)	fixation pellucidaire	Burks <i>et al.</i> , 1995
α-D-mannosidase	fixation pellucidaire	Tulsiani <i>et al.</i> , 1990
Enzyme trypsine-like	fixation pellucidaire	Llanos <i>et al.</i> , 1993
Protéine de 20 kDa	fixation pellucidaire	Boettger-Tong <i>et al.</i> , 1993
Antigène de 94 kDa et 95 kDa, FA-2, HU9	fixation pellucidaire	Moore <i>et al.</i> , 1987; Naz <i>et al.</i> , 1993; Emiliozzi et Fénichel, 1997
mannose-lectine	fixation pellucidaire	Benoff, 1997
galactose-lectine	fixation pellucidaire	Goluboff <i>et al.</i> , 1995
fucose-lectine	fixation pellucidaire	Mahony <i>et al.</i> , 1993
P34H	fixation pellucidaire	Boué <i>et al.</i> , 1996
SP-10	fixation pellucidaire	Wright <i>et al.</i> , 1990
P sélectine	fixation à la membrane ovocytaire	Fusi <i>et al.</i> , 1996
Intégrines, vitronectine, fibronectine	fixation à la membrane ovocytaire	Bronson et Fusi, 1996
PH-30 ou fertiline	fixation à la membrane ovocytaire	Gupta <i>et al.</i> , 1996

..... *Liste non exhaustive*



La P34H

(Sullivan et Bleau, 1985; Sullivan et Robitaille, 1989)

Protéine homologue de la P28h (hamster) et de la P25b (bovine).

Origine epididymaire

Localisée sur la portion antérieure de la tête des spermatozoïdes

Anticorps polyclonal anti-P34H (Boué et al., 1994) :

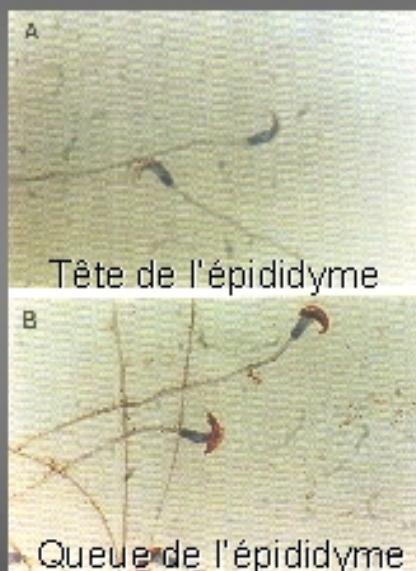
- Inhibe la fixation des spermatozoïdes à la ZP
- Sans action sur la mobilité des spermatozoïdes
- Sans action sur la fusion avec l'ooplastme



Mécanisme permettant le transfert de P26h aux spermatozoïdes durant le transit épididymaire

(Légaré et al., 1999)

P26h



Transfert de P26h actif par l'intermédiaire de prostasomes

Liaison aux spermatozoïdes par l'intermédiaire de « phosphatidylinositol-anchored proteins »

Phospholipase C spécifique a permis de démontrer le rôle des phosphatidylinositol-anchored proteins dans l'ancre de P26h aux prostasomes et aux spermatozoïdes.

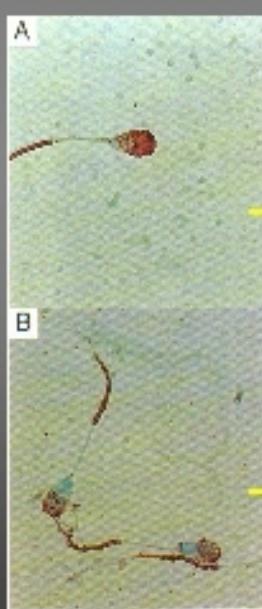
Corrélation entre fertilité et P25b

(Parent et al., 1999)

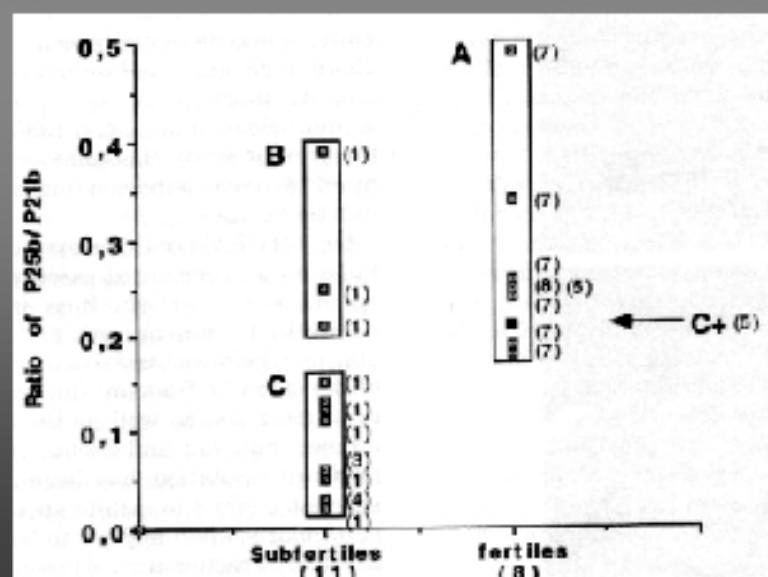
P21b et P25b détectées par antisérum anti-P26h

P21b est flagellaire et non corrélée avec la fécondance.

P21b / P25b



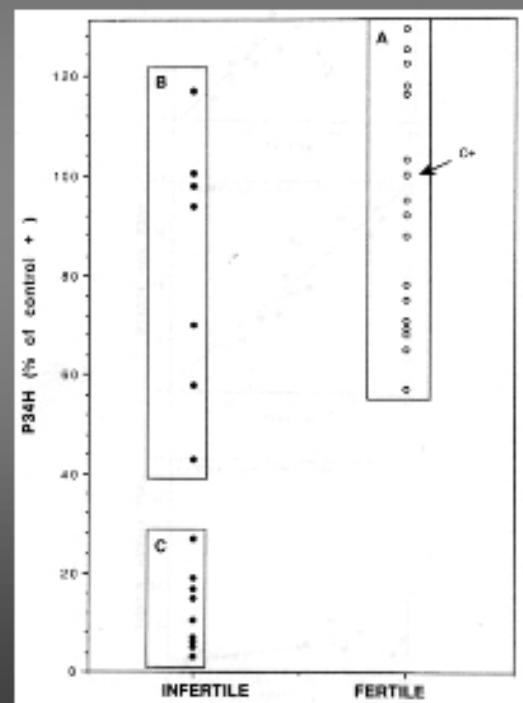
P25b est sur la portion antérieure de la tête et corrélée avec la fécondance.



Corrélation entre fertilité et P34H (1)

(Boué et Sullivan, 1996)

Comparaison de la protéine P34H chez les hommes fertiles versus infertiles (Infertilités idiopathiques)



P34H en moyenne moins représentée chez les infertiles

Certains infertiles ont un taux normal de P34H

Infertilités idiopathiques se subdivise
en 2 populations d'hommes

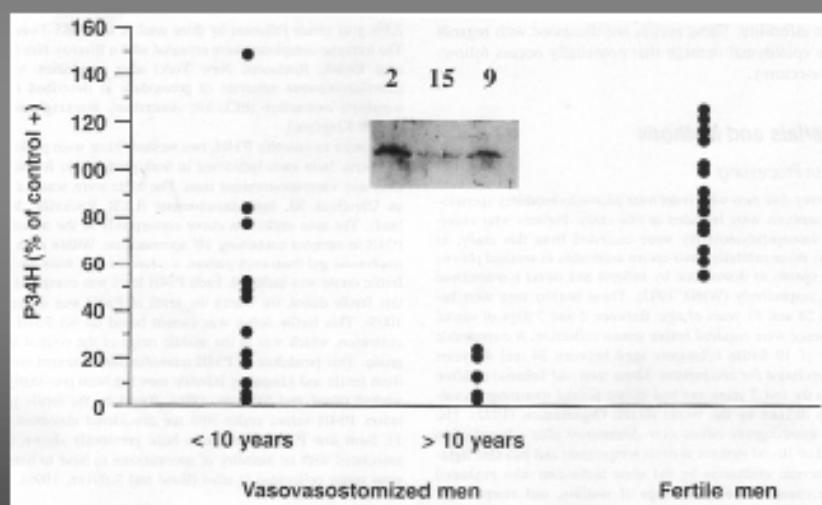


HUG

Corrélation entre fertilité et P34H (2)

(Guillemette et al., 1999)

Le délai entre la vasectomie et la vaso-vasostomie est important à considérer pour estimer les chances de restauration de la fertilité



P34H très basse chez les vasectomisés > 10 ans

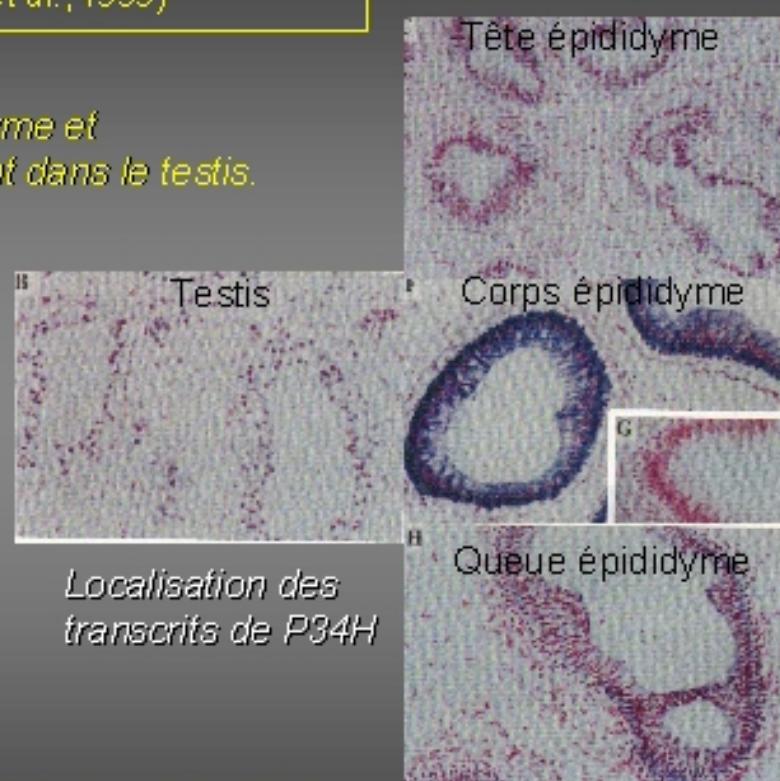
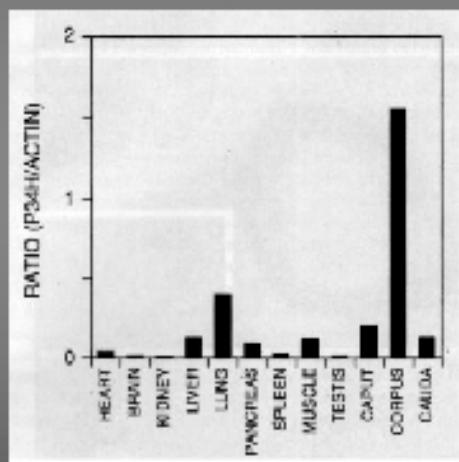
P34H parfois normale chez les vasectomisés < 10 ans

P34H est un marqueur épididymaire qui démontre que la vasectomie cause des altérations de l'épithélium épididymaire

Clonage de la protéine P34H

(Légaré et al., 1999)

Transcription du gène dans l'épididyme et principalement dans le corps. Absent dans le testis.



Homologie à 71 % avec la carbonyl réductase intestinale porcine, membre de la famille des protéines SDR (short-chain deshydrogenase / reductase).

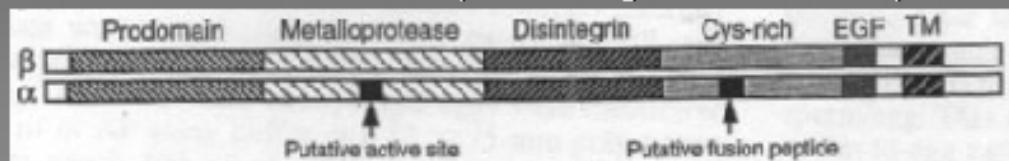


La Fertiline

(Blobel et al., 1992)

Hétérodimère composée de deux sous unités α et β caractérisées chez la souris, le cochon d'Inde, le bovin, et l'homme.

Protéine de la famille ADAM (A Disintegrin And M η talloproteïnase)



Synthèse testiculaire mais maturation épididymaire

Synthèse conjointe des 2 sous unités

Sous unité β : Rôle dans l'adhésion à la membrane plasmique ovocytaire

Sous unité α : Rôle controversé (Evans et al., 1998; Cho et al., 2000) dans la fusion

Souris mâle transgénique fertiline α et β -/- fécondent 50% / taux de fécondation des souches sauvages.





Phénotypage spermatique

- ✿ Kit en préparation pour la P34 H (R.Sullivan et coll.)
- ✿ Appréciation moléculaire du pouvoir fécondant des spermatozoïdes
- ✿ D'autres Kits suivront probablement et donneront en cytométrie en flux une appréciation moléculaire des molécules spermatiques participant au pouvoir fécondant (interaction spz-ZP et fusion gamétique), en complément du spermogramme.



L'équipe de Recherche du Laboratoire des Gamètes

Farah HOSSEINI, PhD

Greet LUISIER, PhD

Françoise URNER, PhD

Corinne de VANTÉRY ARRIGHI, PhD

Le groupe d'andrologie au sein du dpt gynécologie-Obstétrique (Pr A. Campana)

Christophe MEIER, Endocrinologue

Georges DE BOCCARD, Urologue

Francesco BIANCHI de MICHELI, Psychiatre Sexologue

Didier CHARDONNENS, Gynécologue Endocrinologue

