

## Mechanisms of Disease

### **Spermatozoal RNA profiles of normal fertile men**

G. Charles OSTERMEIER et al.

THE LANCET. Vol 360. September 7, 2002.

Dr Hervé LUCAS (MD, PhD),

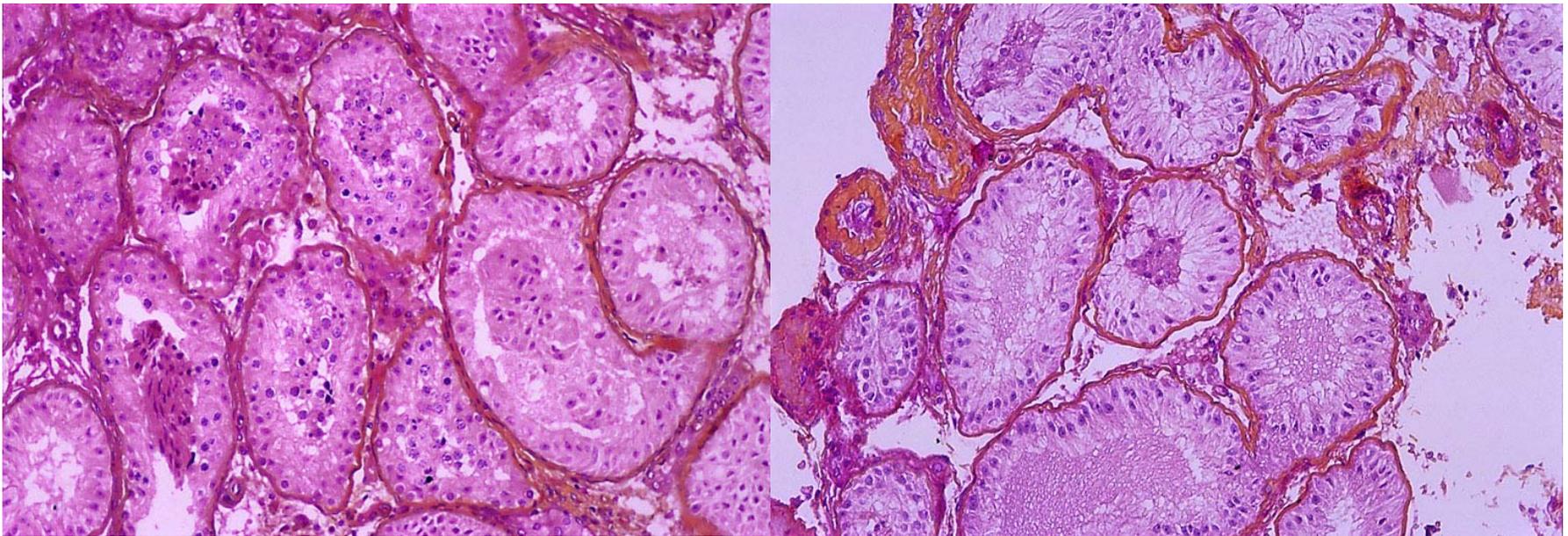
Le spermatozoïde,

La structure de son noyau, de sa chromatine

Infertilités masculines d'origine génétique

La spermatogénèse normale et pathologique

Les ARNm et leurs rôles éventuels



- Les ARNm des spermatozoïdes sont le reflet des événements intervenus lors de la spermatogenèse,
- Le/Les profil(s) de ces ARNm n'ont jamais été clairement établis,
- L'objectif de ce travail a été de déterminer comment on pourrait utiliser les ARNm extraits des spermatozoïdes de l'éjaculat pour donner une « empreinte génétique » de la spermatogénèse humaine normale.

# METHODE

---

Utilisation de la technique du microarray pour identifier les gènes correspondants aux ARNm transcrits.

---

## Echantillons

Ejaculats poolés/9 hommes fertiles

Ejaculat/1 homme fertile

Testis/19 victimes d'accidents

Microarrays : ~ 30'000 ESTs (Expressed Sequence Tags)

Application des cDNA marqués des différents échantillons

Détection des spots après exposition photo, analyse informatisée,

Détermination des protéines correspondantes aux gènes exprimés.

---

## Technique

Extraction des ARNm ,  
purification,

rtPCR, synthèse de cDNA,  
marquage au  $^{32}\text{P}$ ,

# RESULTATS

Fig 3 :

cDNA **testis** reconnaît : 7157 ESTs

cDNA **pool d'éjaculats** : 3281 ESTs  
tous reconnus par **testis**

cDNA **éjaculats isolé** : 2780 ESTs  
tous reconnus par **testis** et **pool d'éjaculats**

cDNA **éjaculat isolé** : 4 ESTs  
non reconnus par **testis** et **pool d'éjaculats**

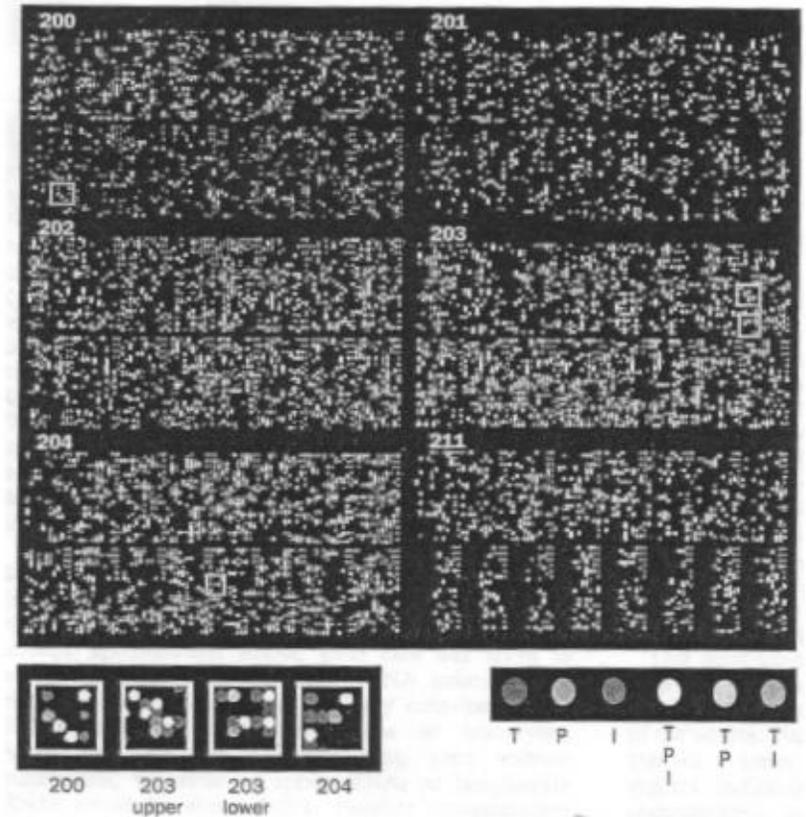


Figure 3: Fingerprint of human testicular and spermatozoal RNAs

Each numbered panel identifies specific Gene Filter. Expressed sequence tags (ESTs) hybridised by the testicular cDNAs (T), pooled-ejaculate cDNAs (P), and individual-ejaculate cDNAs (I) are colour-coded as shown. Enlarged sections show the four ESTs that hybridised to the individual but not the pooled ejaculate cDNAs.

9 ARNm présents dans testis et éjaculats poolés dont les protéines ont été identifiées :

**FOXG1B, WINT5A, SOX13, clusterin, AKAP4, oscillin, HSBP1**

Protéines correspondant aux gènes exprimés

Prot membranaires et nucléaires

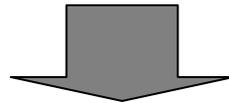
Rôle : transduction signaux, prolifération cellulaire dans spermatogenèse (?), fécondation, développement embryonnaire.

Comparaison transcrits OVOCYTES HUMAINS Non Fécondés  
et transcrits des spermatozoïdes

**Aucun ARN en commun**

**Idem chez la souris**

Les transcrits de ZYGOTES (échec de fécondation) possèdent en plus de ceux détectés dans des OVOCYTES NON FECONDES des **ARNm associés avec la fécondation, l'embryogenèse et la morphogenèse.**



ROLES IMPORTANTS POUR LES ARNm DES SPERMATOZOÏDES  
DURANT PUIS APRES LA FECONDATION ?

ETABLISSEMENT D'UNE EMPREINTE GENETIQUE DES SPZ

VALIDATION TECHNIQUE

# CONCLUSION

---

Que doit-on penser de l'utilisation des spermatozoïdes en ICSI et de l'incidence éventuelle sur le conceptus ....

