

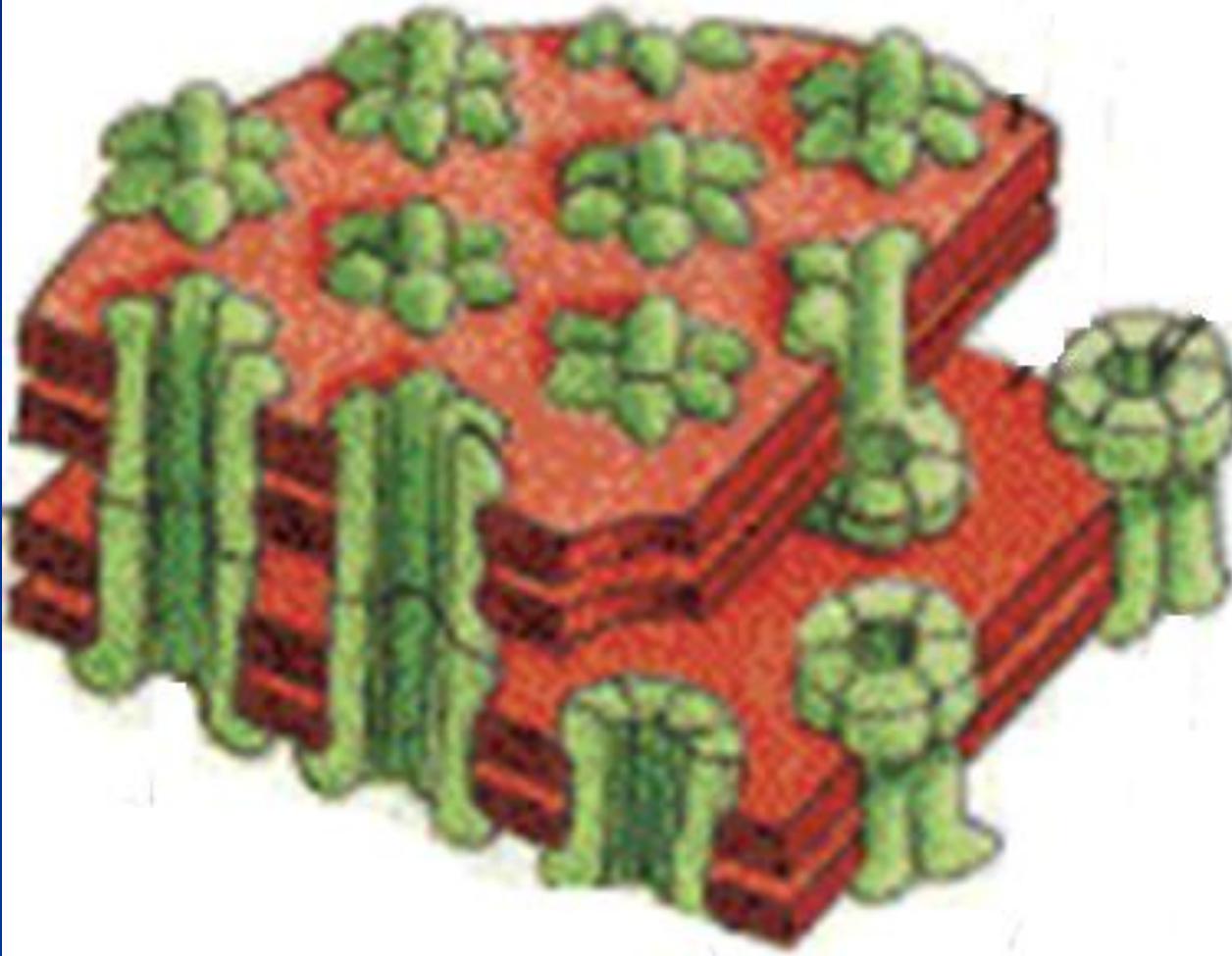
**Corso di laurea magistrale in  
BIOTECNOLOGIE DELLA RIPRODUZIONE**

UNIVERSITA'  
DEGLI STUDI  
DI **TERAMO**

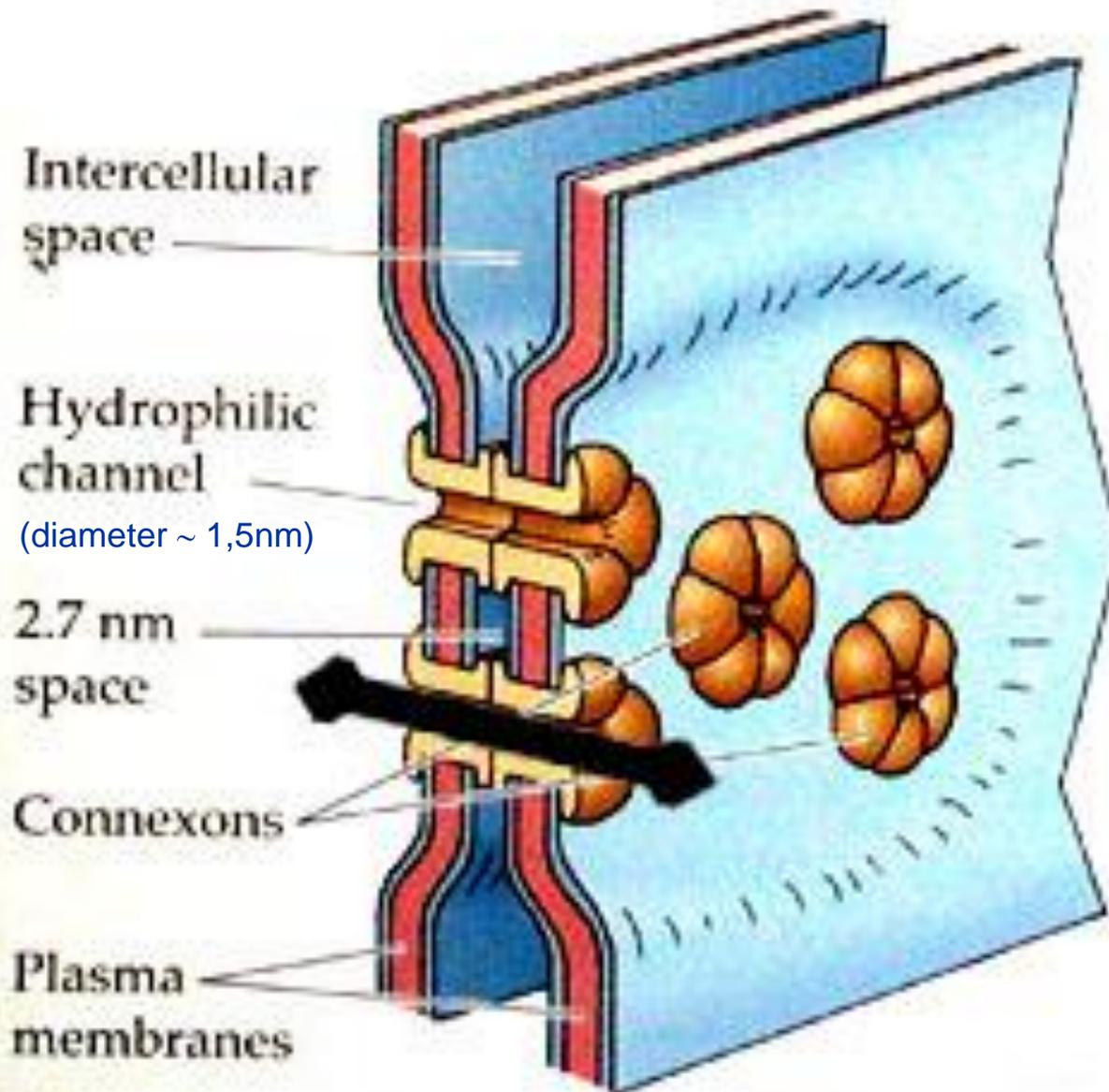
***Corso di recupero***  
**Fisiologia cellulare/  
Laboratorio di colture  
cellulari**

***Prof.ssa Luisa Gioia***

# Gap junctions



# Gap junctions



**Connexons**  
composed of  
six subunits  
(**connexins**)

## The permeability of GJs to molecules of different size is dependent on **CONNEXIN** composition and permeant-pore affinities

- Differences in permeability to natural metabolites have been reported for different connexins
- Different members of the **connexin(Cx) family** (**Cx43, Cx32, Cx37, Cx26, Cx40, Cx45**) mediate quite distinct physiological processes and are often not interchangeable.

# Gap junctions (canali ionici)

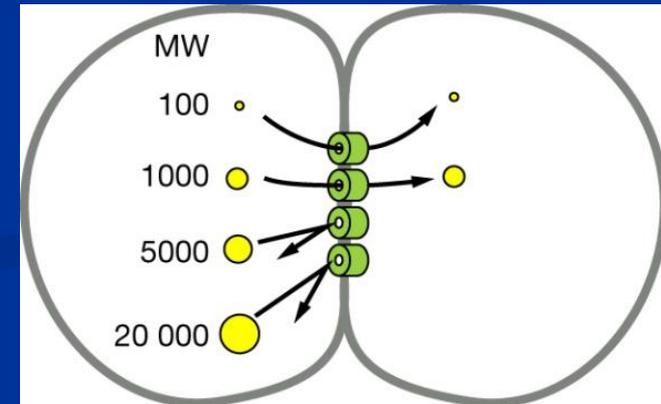
Permettono a piccole molecole idrofile di passare **direttamente** da cellula a cellula

Formano **pori idrofilici** attraverso le membrane di 2 cellule adiacenti

- **Accoppiamento elettrico**
- **Accoppiamento metabolico**

IMPLICAZIONI FUNZIONALI

→ **strutture  
dinamiche**



diametro di esclusione di  
circa **1000 dalton**  
(canali relativamente grandi  
e permissivi)

# Accoppiamento elettrico

**Nel sistema nervoso esistono due tipi di sinapsi:**

**1. Sinapsi elettrica**

**2. Sinapsi chimica (più frequente)**

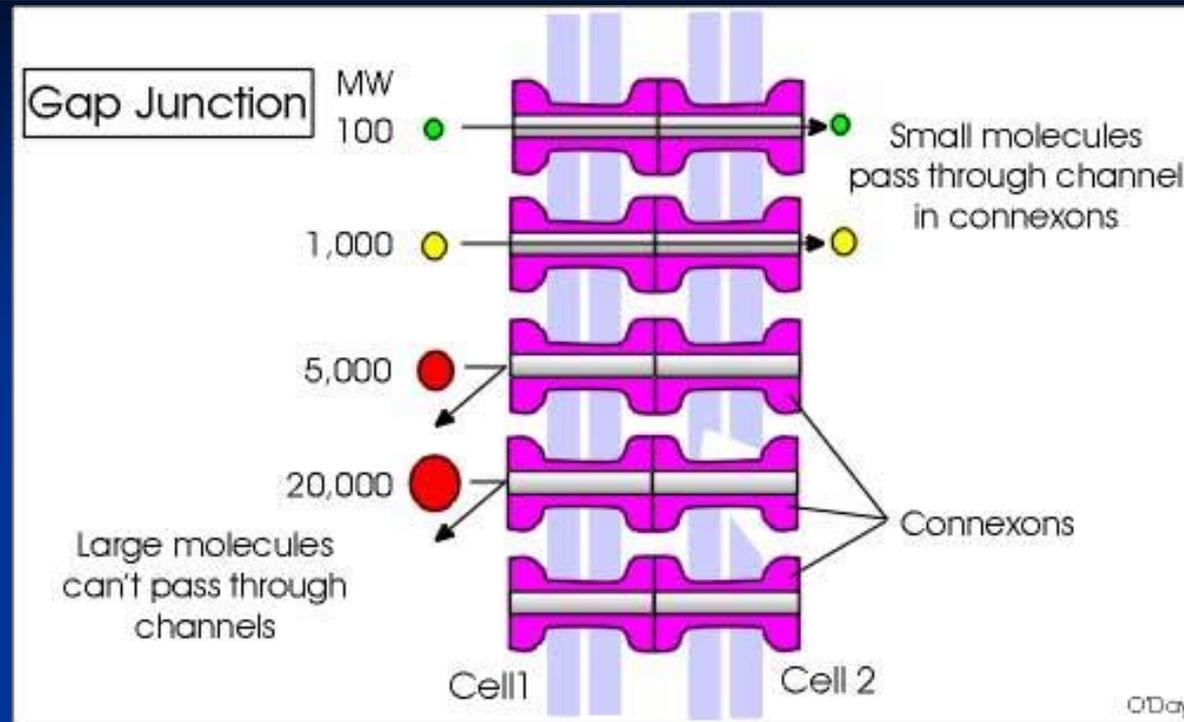
## **Sinapsi elettrica:**

- Tra due cellule adiacenti accoppiate mediante giunzioni gap
- Passaggio diretto di corrente elettrica
- Conduzione dell'impulso in entrambe le direzioni

## **Sinapsi chimica:**

- Possibile anche tra 2 cellule molto distanti
- Costituita da tre componenti:
  - 1) la membrana pre-sinaptica
  - 2) la fessura sinaptica
  - 3) la membrana post-sinaptica
- Conduzione dell'impulso in un'unica direzione

# Accoppiamento metabolico e funzionale



Ioni inorganici

Zuccheri

Polisaccaridi

Proteine

Acidi nucleici

Aminoacidi

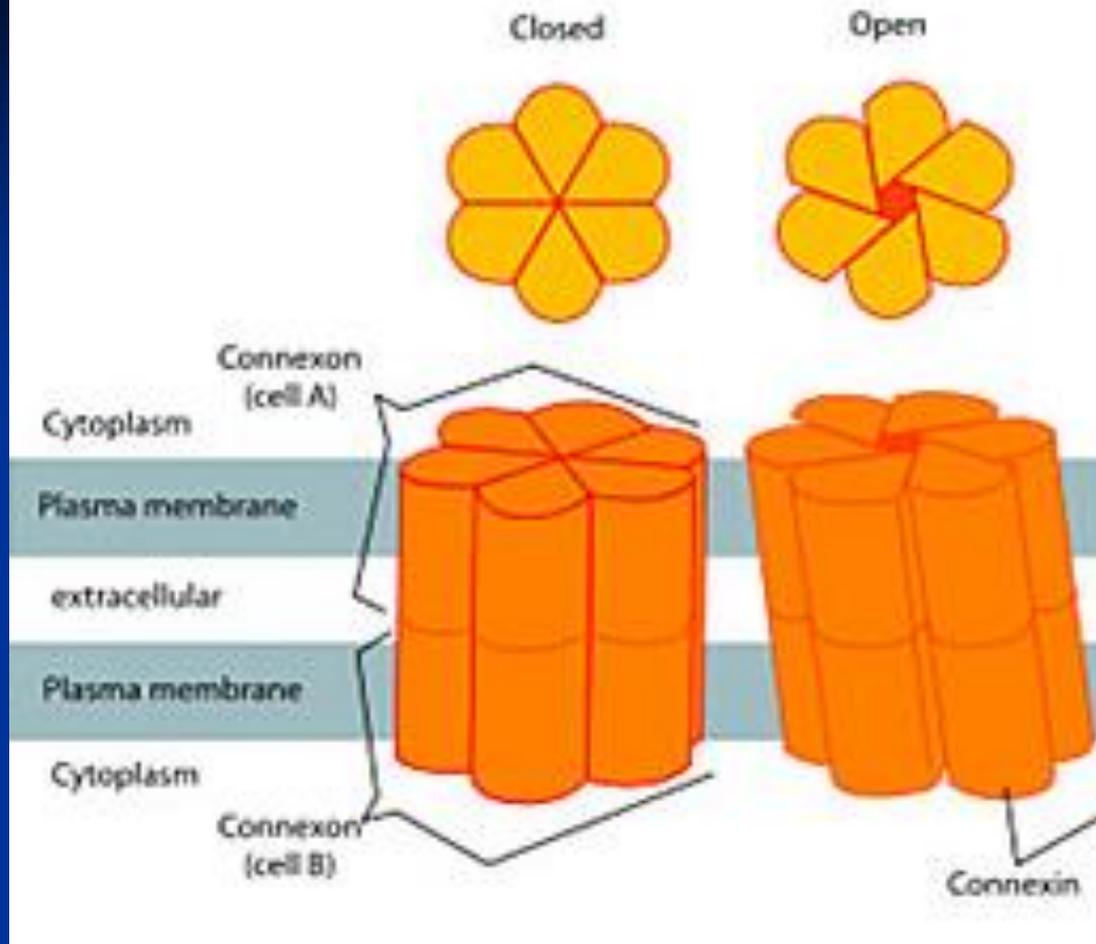
Nucleotidi

Vitamine

Mediatori intracellulari



# Gap junctions



➔ **Gap junction channels can be regulated by several agents** including **voltage**, **phosphorylation**, **intracellular calcium** and **pH**, **adhesion proteins**, **extracellular matrix**, and **hormones**

# Gap junctions

tramite esse la maggior parte delle cellule nei tessuti animali è in comunicazione con le cellule vicine

*eccezioni*



cellule muscolo scheletrico  
sangue

**The degree of intercellular coupling is finely regulated in three main aspects:**

1. the number of channels present in the membrane
2. their functional state
3. their permeability

**These channels are critical to several physiological roles** such as:

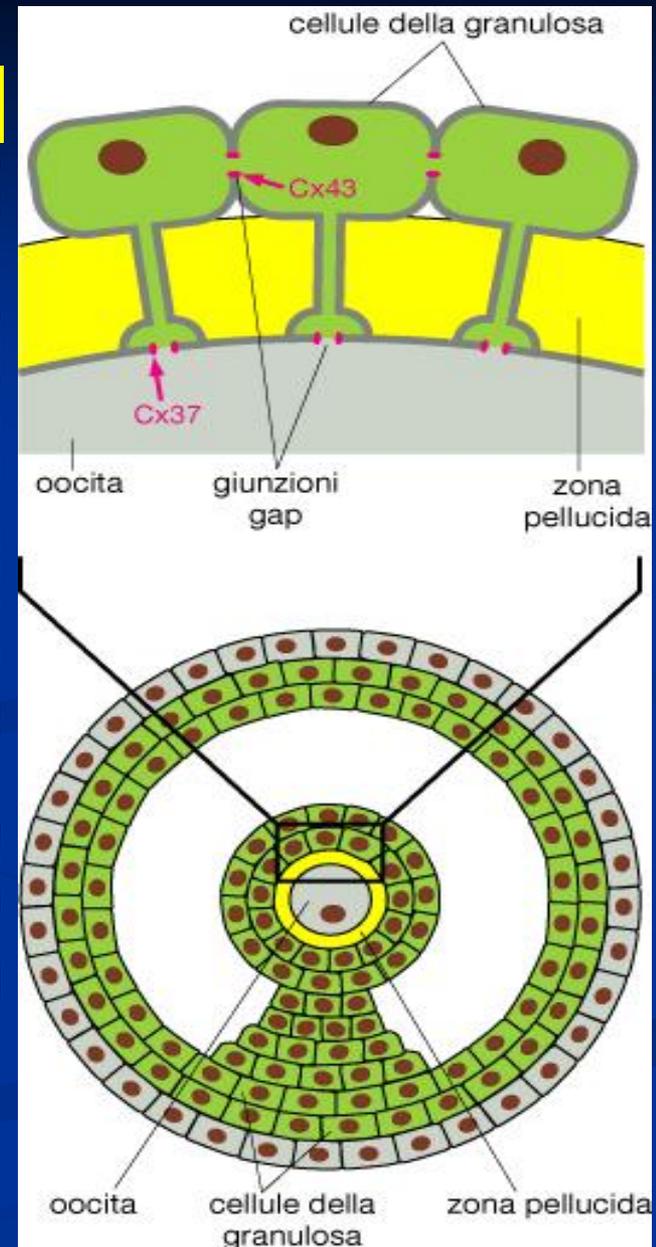
- **impulse propagation in the heart and neurons**
- **response of tissues to hormones**
- **regulation of embryonic development**
- **homeostasis**
- **regulation of cellular proliferation**
- **oocyte growth and maturation**

# Gap junctions

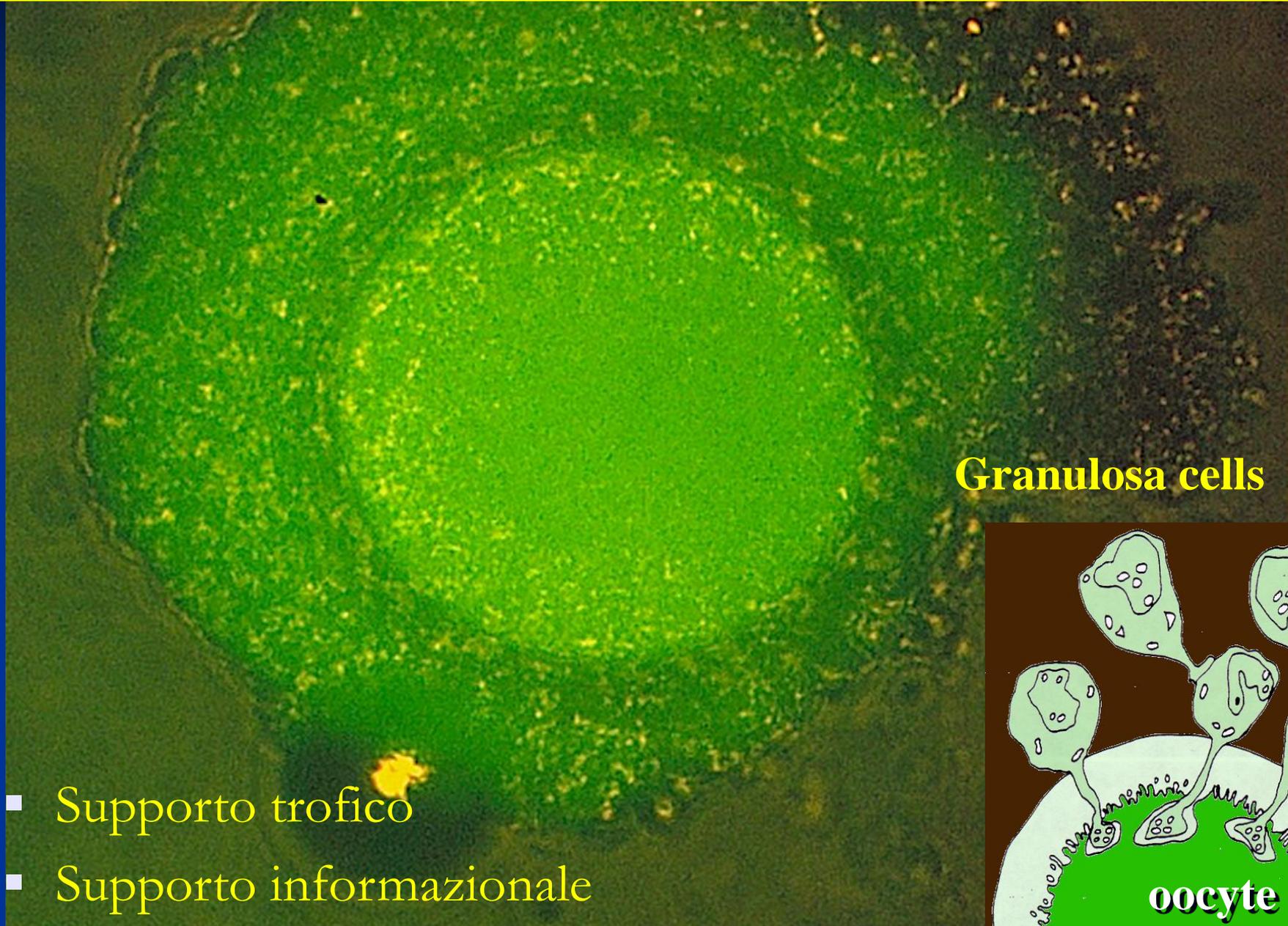
gamete femminile



Complesso cumulo-oocita

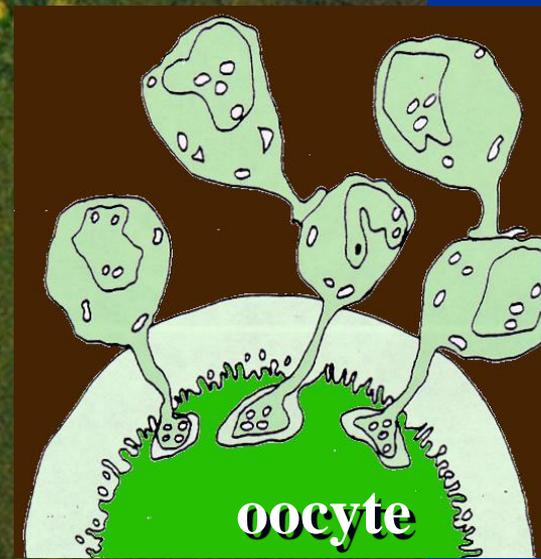


# Fundamental role of oocyte-cumulus cells coupling during oocyte growth and maturation

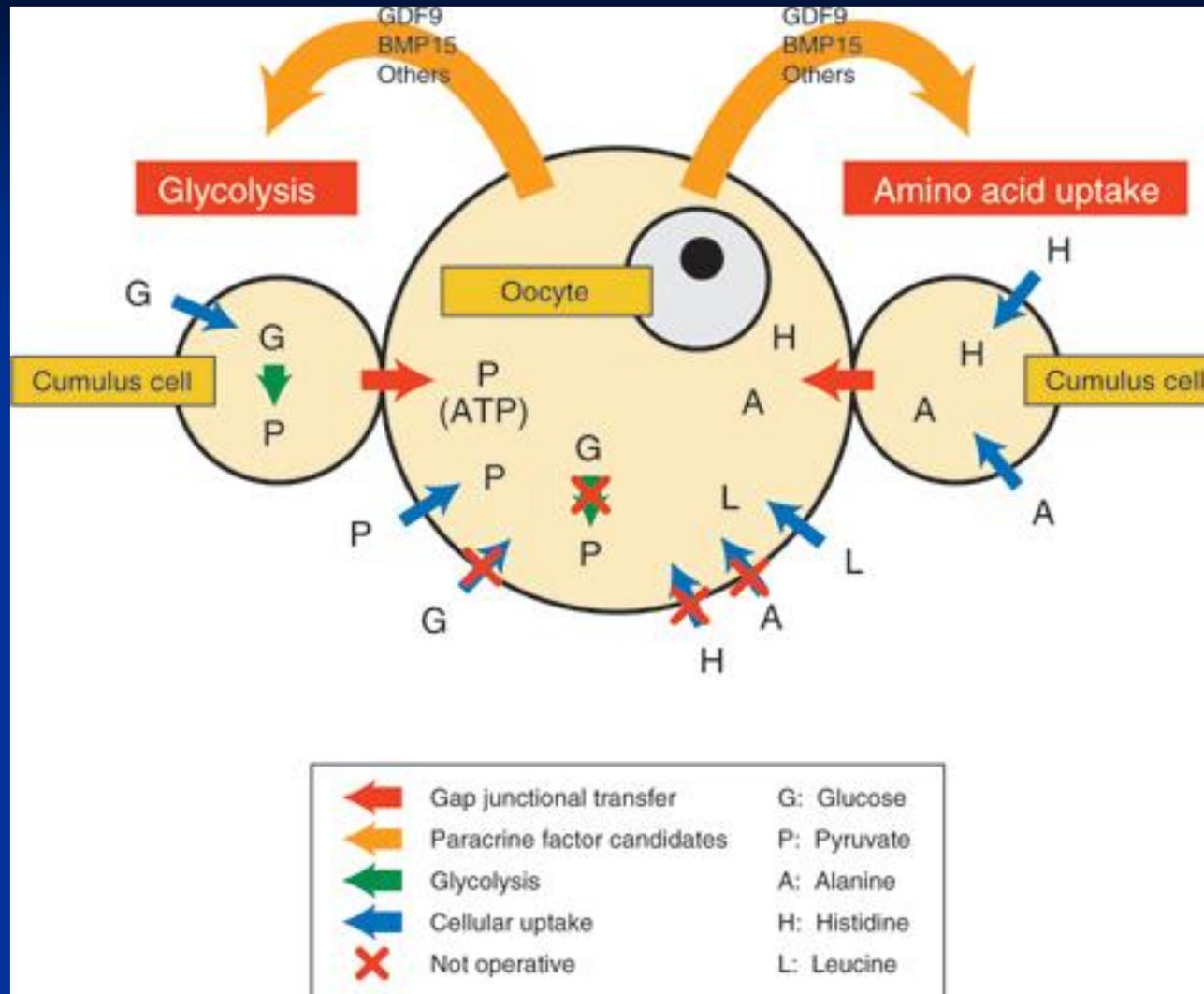


Granulosa cells

- Supporto trofico
- Supporto informazionale



# Nutritional support from cumulus cells through GJs is essential for growth and development of the oocyte



The oocyte directs its growth by influencing the microenvironment

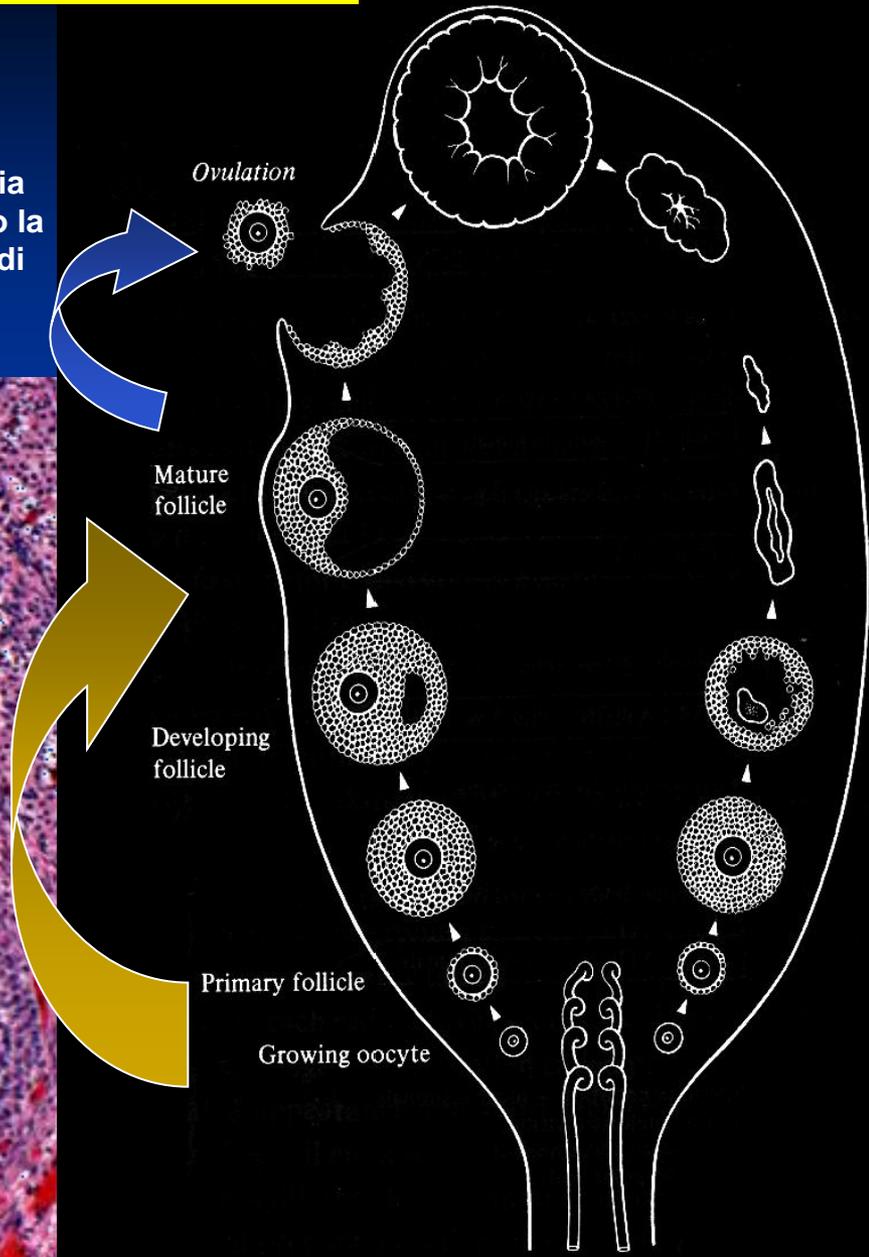
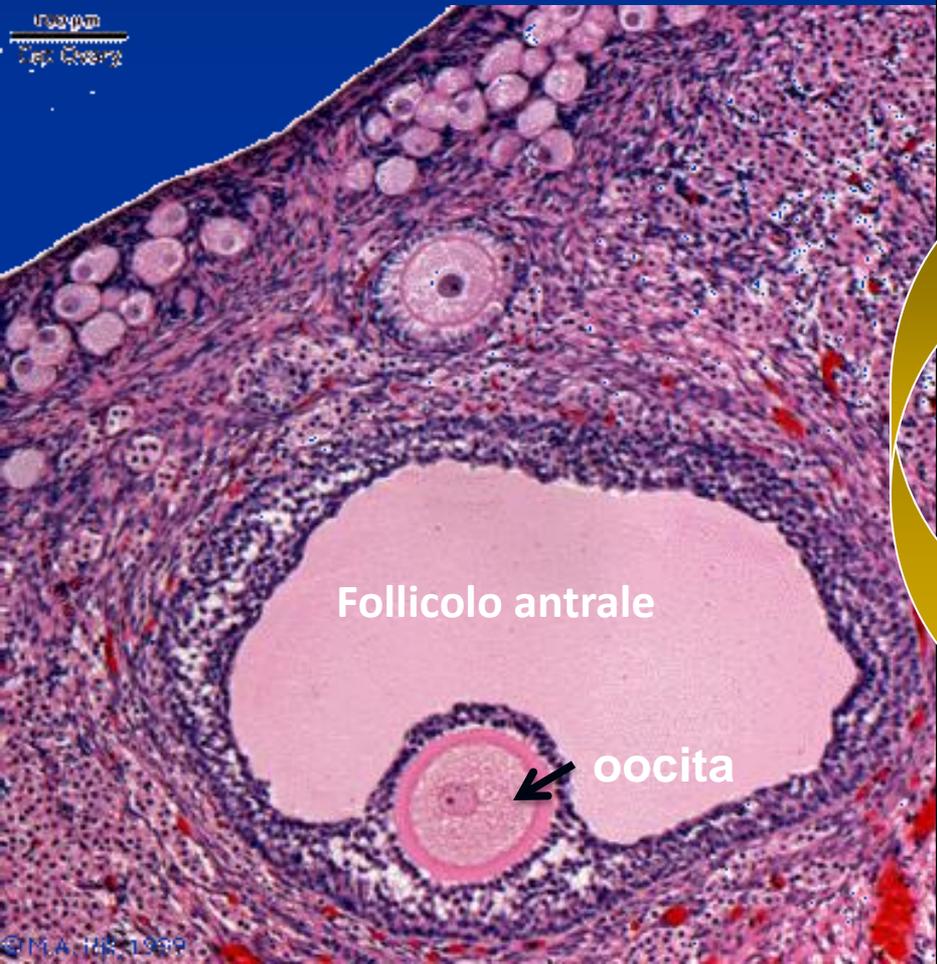
fully grown oocytes regulate the proliferation, gene expression and function of cumulus cells

# Follicologenesi/oogenesi

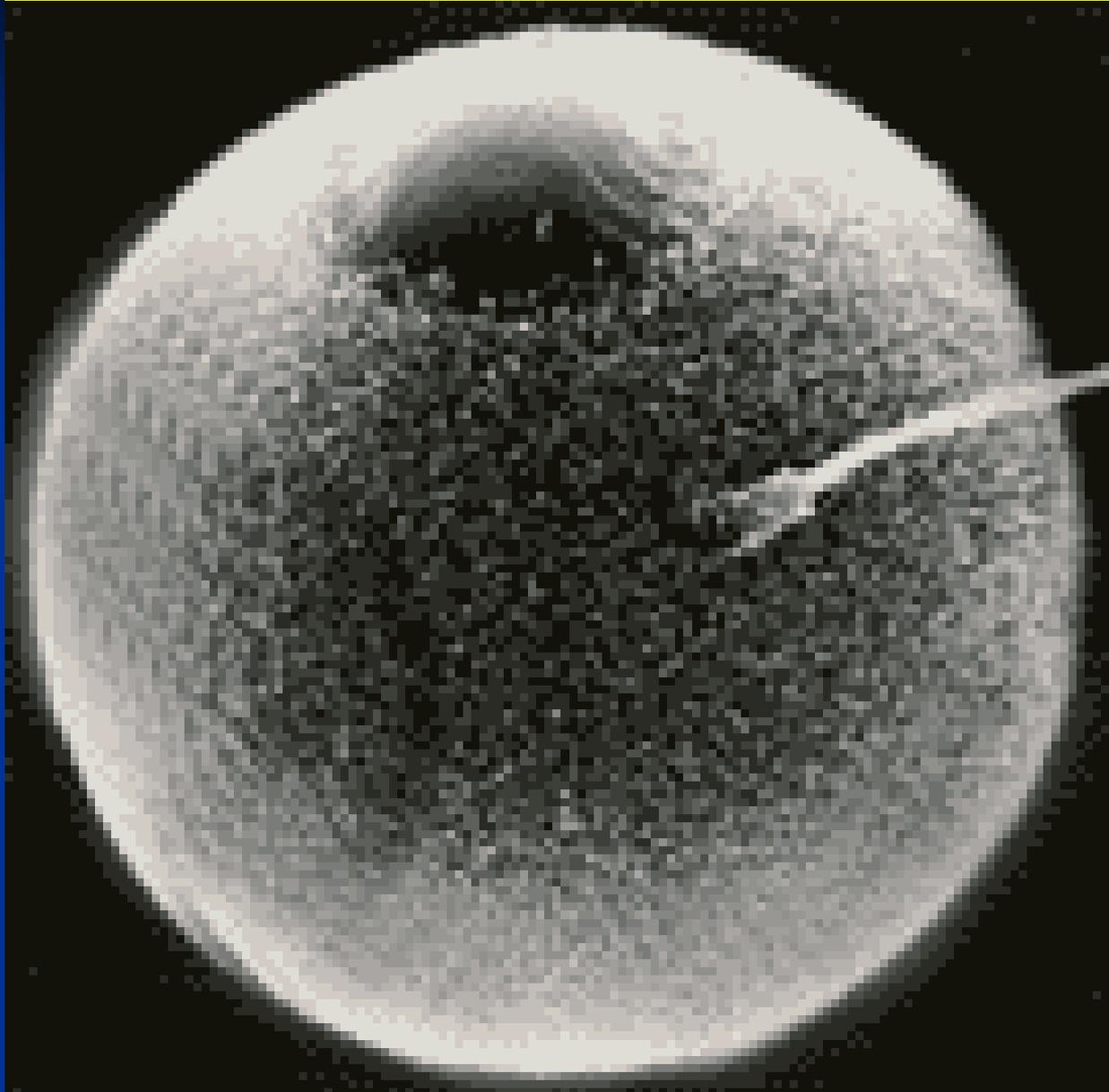
Corpus luteum

L'accrescimento del gamete femminile (**cellula uovo**) si realizza parallelamente alla crescita e differenziazione follicolare e le **GJs** che accoppiano il gamete alle cellule somatiche follicolari consentono al gamete di ricevere sia supporto trofico sia supporto di regolazione. In tal modo la cellula uovo cresce e matura correttamente e potrà quindi sostenere l'evento fecondativo

Fig. 10-10  
Fig. 10-11



**Cellula uovo e spermatozoo**  
**Il processo di FECONDAZIONE**



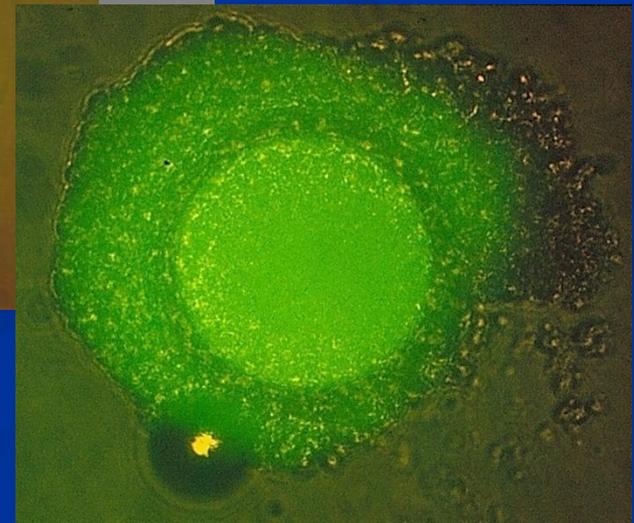
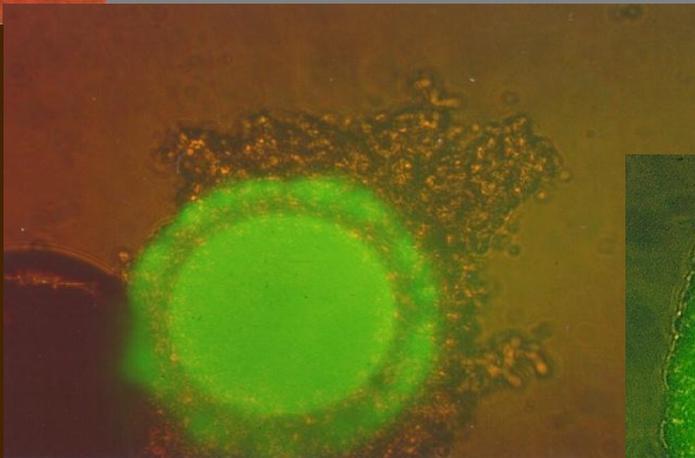
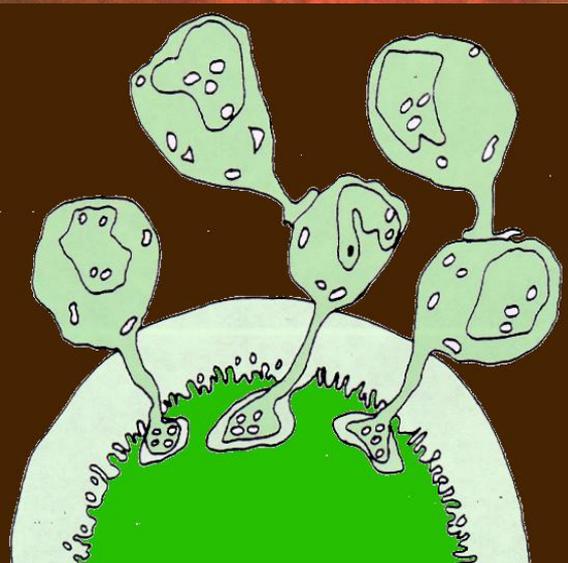
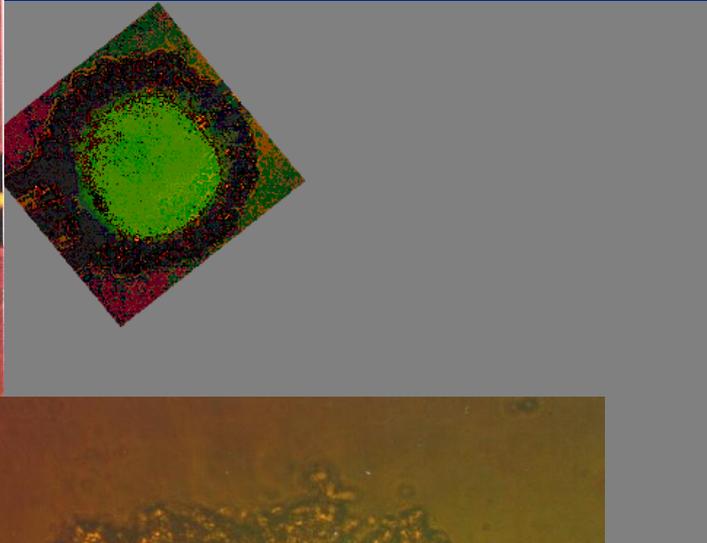
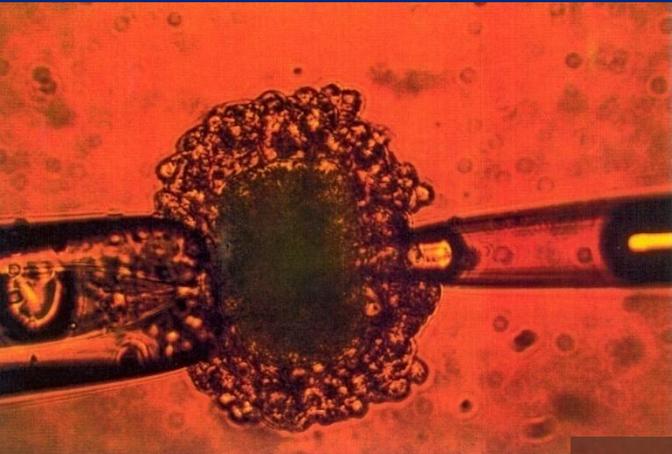
# Valutazione dell'accoppiamento intercellulare

- Microiniezione probes fluorescenti

- Incorporazione  $^3\text{H}$ -uridina

# Valutazione dell'accoppiamento intercellulare

- Microiniezione fluoresceina nell'ocita



## *Oocyte-Cumulus Cell Coupling*

- Incubazione in medium contenente 3H-Uridina per 3h a 37°C
- Denudamento oociti
- Lavaggio per rimuovere 3H-Uridina in eccesso
- Trasferimento oociti in mini-vials da scintillazione
- Solubilizzazione oociti con 1 N NaOH e neutralizzazione con 1 N HCl
- Conteggio radioattività allo scintillatore

