



Proyectos de la Secretaría de Investigación, Internacionales y Posgrado

Convocatoria: PROYECTO SIIP TIPO 1 BIENAL 2019
Título: ESFINGOLÍPIDOS INVOLUCRADOS EN LA INDUCCIÓN FISIOLÓGICA DE LA EXOCITOSIS ACROSOMAL DEL ESPERMATOZOIDE HUMANO

Director: BELMONTE, SILVIA ALEJANDRA
Codirector: MORALES, ALFONSINA
Área: BIOLOGIA-BIOQUIMICA

Resumen de Proyecto:

El espermatozoide posee una única vesícula secretoria que exocita frente a diferentes estímulos. Este proceso se denomina reacción acrosomal (RA) y es requerido para la penetración de la zona pelúcida (ZP) del ovocito por el espermatozoide y para la fertilización. Es una exocitosis calcio dependiente. Como objetivo general este trabajo pretende esclarecer los mecanismos moleculares que involucran esfingolípidos durante la exocitosis acrosomal. Enfocaremos nuestra atención en las vías de señalización inducidas por esfingosina 1-fosfato (S1P) y ceramidas, descritas por primera vez en nuestro laboratorio. La ZP es uno de los inductores fisiológicos de la RA más importantes. Sin embargo la cascada de señalización que dispara está parcialmente descrita y existen numerosos interrogantes por develar. La identificación y caracterización de los lípidos que participan en la fusión de membranas inducida por ZP no se conoce. Pretendemos determinar si los mecanismos de transducción disparados por S1P están relacionados a los inducidos por ZP humana y si la ceramida induce la síntesis de S1P o afecta la exocitosis acrosomal por otro mecanismo. Por esa razón el objetivo general de esta propuesta consistirá en investigar los mecanismos moleculares de la exocitosis acrosomal del espermatozoide humano que involucren esfingolípidos y relacionarlos a procesos fisiológicos como la RA inducida por ZP. En este proyecto nos proponemos: I-Identificar la presencia y actividad de las enzimas responsables del metabolismo de esfingolípidos en el espermatozoide humano; II) Identificar qué receptores a S1P están presentes e involucrados en la RA, si ERK interviene en la vía de señalización inducida por S1P y cómo el esfingolípidos producido intracelularmente es capaz de salir del espermatozoide; III- Determinar el mecanismo molecular por el cual las ceramidas, tanto endógenas como exógenas, afectan la RA; IV) Evaluar si existe conexión entre la vía de señalización disparada por ZP y la inducida por S1P o ceramida mediante ensayos de exocitosis acrosomal. Estos interrogantes se responderán a través de ensayos de exocitosis, bioquímicos como Western Blot, inmunofluorescencia, microscopía electrónica, espectrofluorometría, TLC, utilización de sondas fluorescentes para los diferentes iones en ensayos de célula única. Esperamos demostrar una cooperación funcional entre las vías de señalización disparadas por inductores fisiológicos de la RA y las de esfingolípidos.

Palabras Claves : 1- EXOCITOSIS ACROSOMAL 2- ESFINGOLIPIDOS 3- ESPERMATOZOIDE HUMANO



**Titulo (Inglés): SPHINGOLIPIDS INVOLVED IN THE PHYSIOLOGICAL ACROSOMAL EXOCYTOSIS
INDUCTION IN HUMAN SPERM**

Resumen de Proyecto (inglés):

During fertilization, the spermatozoon penetrates the zona pellucida to reach the oolema. Only sperm that have completed the acrosome reaction (AR) can accomplish this task. The AR is a calcium-regulated exocytosis where the membrane of the acrosome fuses to the plasma membrane. Exocytosis is a complicated and finely tuned process involving a large number of components. The general goal of this proposal is to identify and characterize sphingolipids' role and elucidate the sequence of the reactions they take part in during the physiological induction of the AR. We will focus in the signaling cascade triggered by sphingosine 1-phosphate (S1P) and ceramide, described for the first time in our laboratory. Human zona pellucida (ZP) matrix, a delicate network of thin interconnected filaments, is primarily composed of four glycoproteins, namely, ZP1, ZP2, ZP3, and ZP4. Recombinant human ZP3 and ZP4 lead to dose-dependent increase in acrosome reaction. Even that, the molecular mechanisms involved in ZP-induced AR still need to be unveiled. Further, the sphingolipids involved in ZP-triggered exocytosis are largely unknown as well as if a cross talk between ZP and S1P or ceramide pathways exist. To solve these issues we propose: I) to identify the presence and activity of sphingolipid metabolism enzymes in human sperm; II) to determine which S1PRs are present and involved in the AR, ERK participation in S1P signaling, and how the S1P synthesized intracellularly reaches the extracellular media; III) to elucidate the signaling network triggered by endogenous and exogenous ceramides; IV) to evaluate if there is a connection between the signaling pathway induced by human recombinant ZP and that induced by S1P or ceramides by using exocytosis assays. To assess these aims we will perform exocytosis assays in sperm (evaluated by flow cytometry or epifluorescence microscopy) in combination with other biochemical approaches namely Western blot, immunofluorescence, confocal microscopy, thin layer chromatography, calcium measurements in life cells, in real time with high spatial and temporal resolution, and spectrofluorometry among others. We hope this project will allow significant advances in our understanding of sperm AR at the physiological level unveiling a functional cooperation between signaling pathways triggered by ZP and sphingolipids.

Palabras Claves : 1- ACROSOMAL EXOCYTOSIS 2- SPHINGOLIPIDS 3- HUMAN SPERM



EQUIPO DE TRABAJO

BELMONTE, SILVIA ALEJANDRA

belmonte.silviaalejandra@gmail.com	Director
INSTITUTO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA DE MENDOZA DR. MARIO H. BURGOS	

RESA JURIN, LUCAS ARMANDO

Iresajurin@gmail.com	Estudiante de Grado
INSTITUTO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA DE MENDOZA DR. MARIO H. BURGOS	

ALTAMIRANO, KARINA NOEL

karina.altam@gmail.com	Becario
INSTITUTO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA DE MENDOZA DR. MARIO H. BURGOS	

MORALES, ALFONSINA

amorales@fcm.uncu.edu.ar	Codirector
INSTITUTO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA DE MENDOZA DR. MARIO H. BURGOS	

PAVAROTTI, MARTIN

martinpavarotti@gmail.com	Investigador
INSTITUTO HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA D/MEND DR.M.BURGOS	

VAQUER, CINTIA CELINA

vaquer.cintia@gmail.com	Becario
INSTITUTO DE HISTOLOGIA Y EMBRIOLOGIA DE MENDOZA DR. MARIO H. BURGOS	

Este objeto está alojado en la Biblioteca Digital en la URL: sijp2019-2021.bdigital.uncu.edu.ar .

Se ha aportado el día 12/06/2020 a partir de la exportación de la plataforma SIGEVA de los proyectos bianuales de la SIIP 2019-2021