

DALLA SELEZIONE ALL'APPLICAZIONE: IL RUOLO DELLE BIOTECNOLOGIE DELLA RIPRODUZIONE

Paola Toschi

Grugliasco, 02.10.26



UNIVERSITÀ
DI TORINO



BIOTECNOLOGIE DELLA RIPRODUZIONE

CONTROLLO E SUPPORTO DEI PROCESSI RIPRODUTTIVI



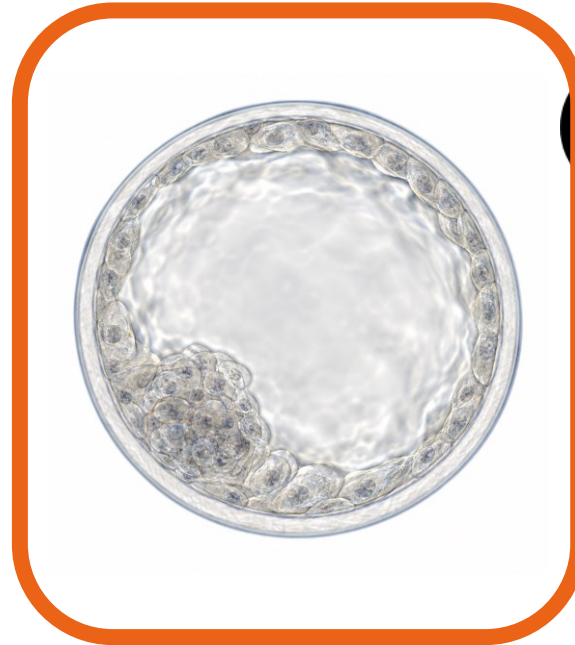
SPERMATOZOO

Conservazione
Selezione
Sessaggio



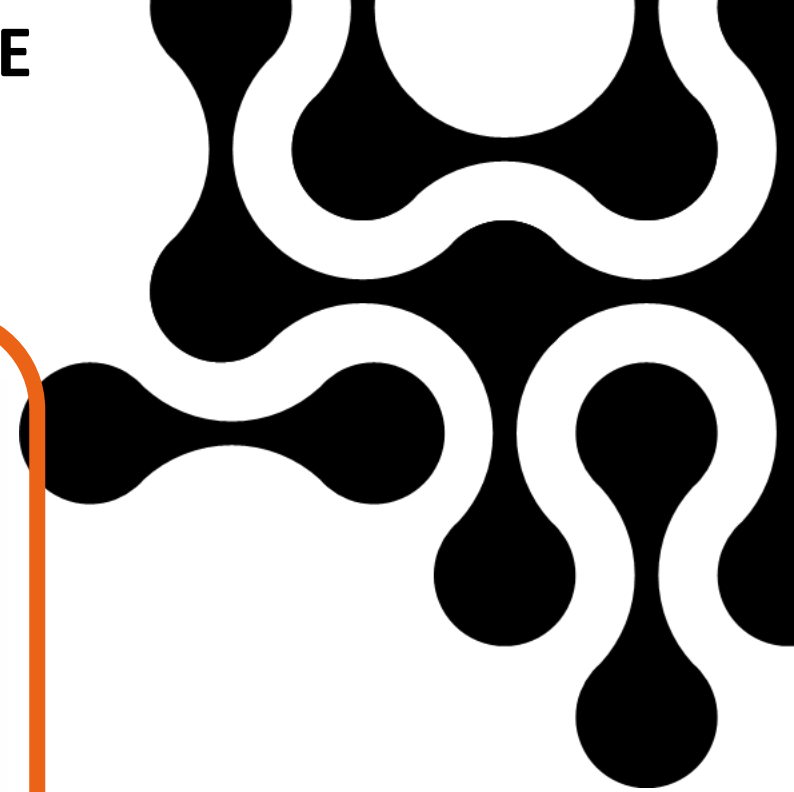
OOCITA

Recupero
Maturazione
Fecondazione



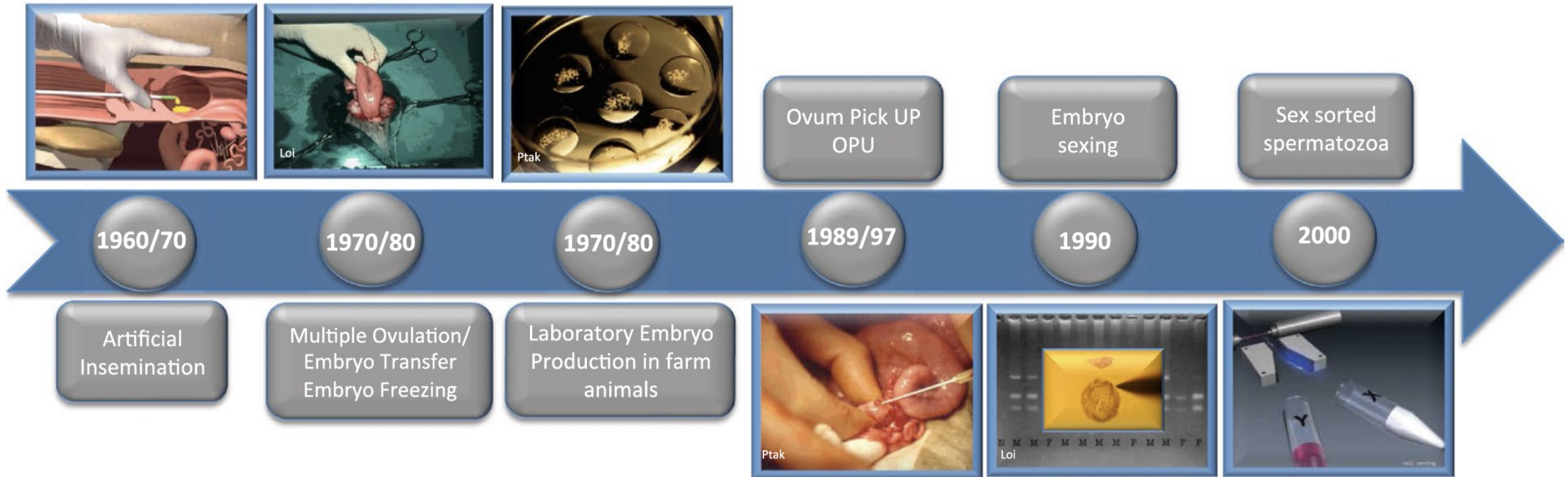
EMBRIONE

Recupero
Analisi
Trasferimento



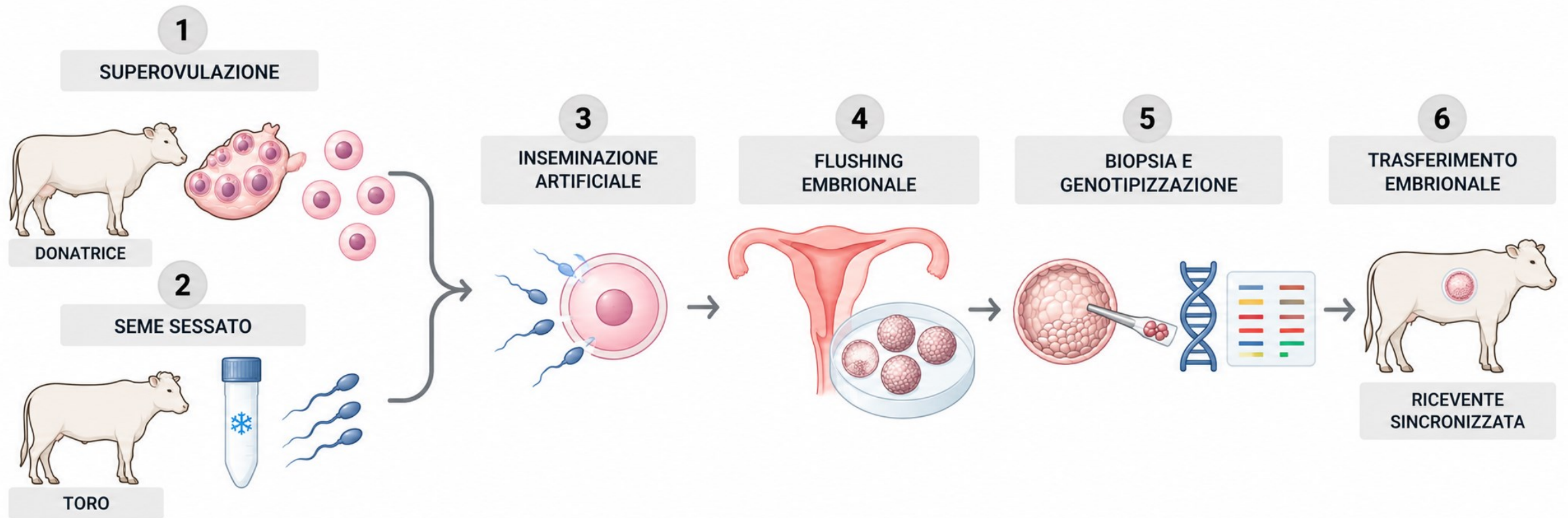
L'EVOLUZIONE DELLE BIOTECNOLOGIE DELLA RIPRODUZIONE NEGLI ANIMALI DA REDDITO

Da gestione della riproduzione a interventi sempre più avanzati su gameti ed embrioni.



- Aumentare l'efficienza riproduttiva → favorire la diffusione del patrimonio genetico degli animali selezionati

ESEMPIO DI INTEGRAZIONE DI DIVERSE TECNOLOGIE RIPRODUTTIVE

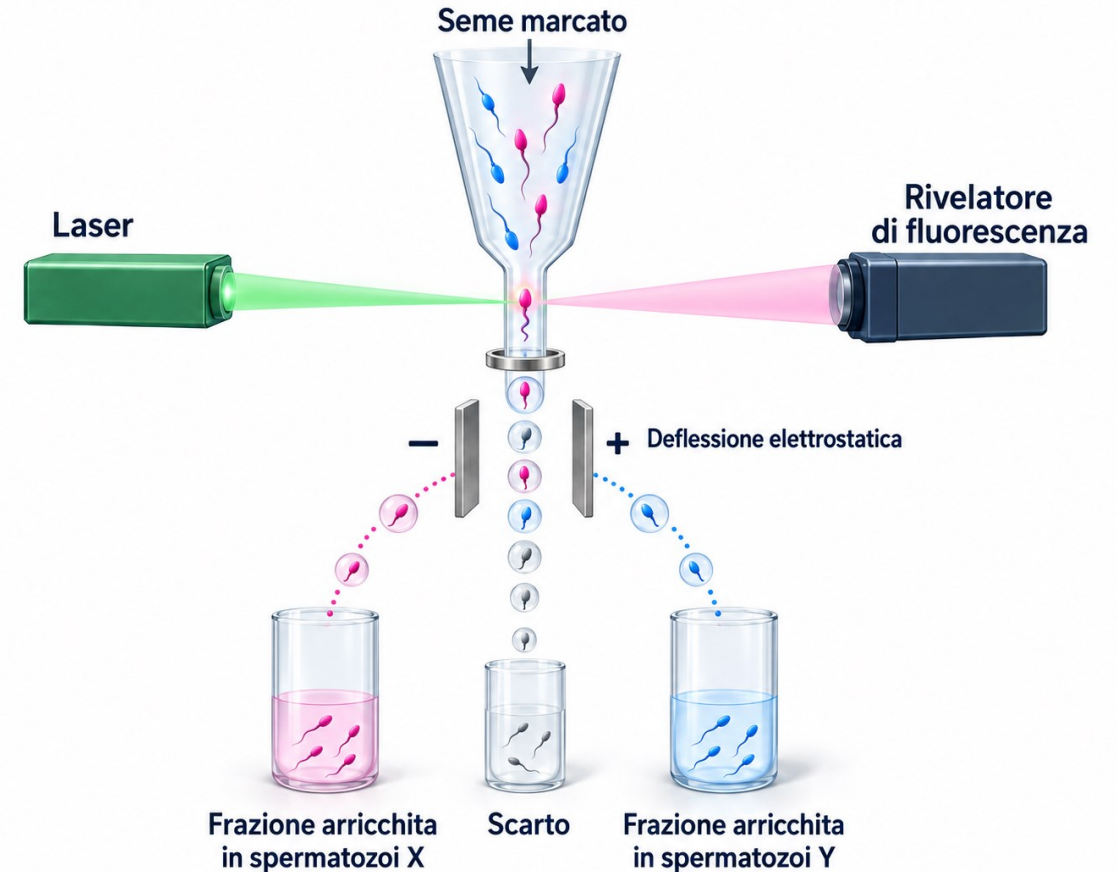


SESSAGGIO DEGLI SPERMATOZOI

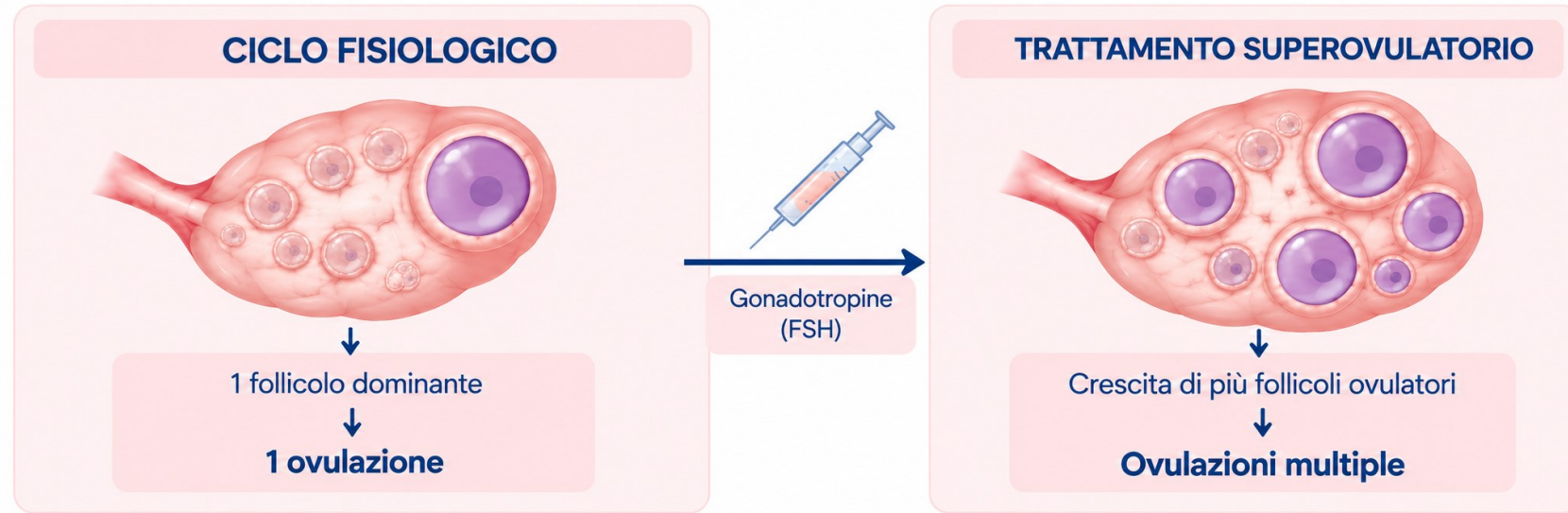
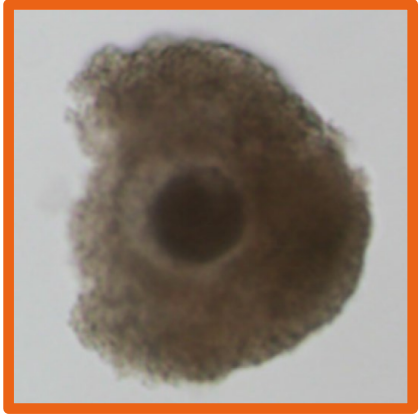
Una differenza di circa il **4%** nel contenuto di DNA permette di distinguere gli spermatozoi **X** e **Y**



DIFFERENZA viene rilevata mediante **CITOMETRIA A FLUSSO** e utilizzata per separare le due popolazioni spermatiche.



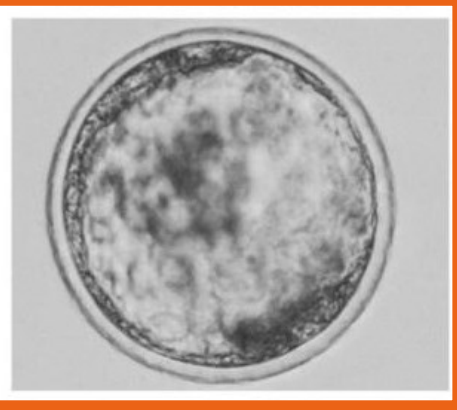
SUPEROVULAZIONE



FINALITA': aumentare il numero di OOCITI (potenziali EMBRIONI) ottenibili dalla donatrice

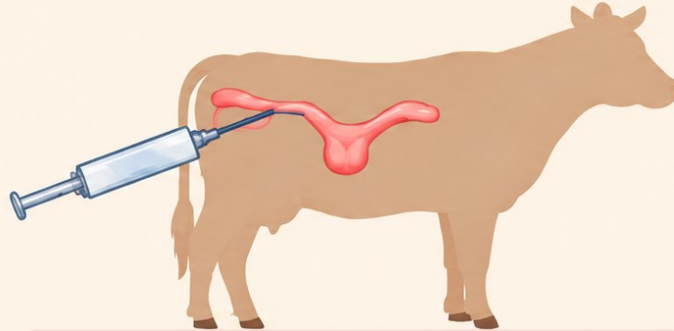
LIMITE: Risposta variabile tra le donatrici, qualità oocitaria

DALL'OOCITA ALL'EMBRIONE



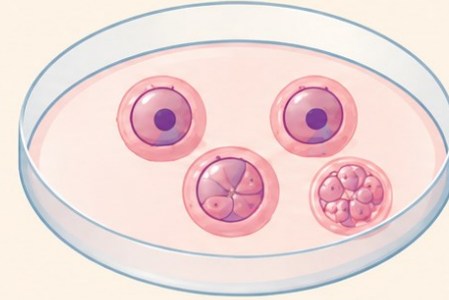
Dopo la superovulazione, due principali strategie per ottenere embrioni

PRODUZIONE DI EMBRIONI IN VIVO



Inseminazione artificiale

PRODUZIONE DI EMBRIONI IN VITRO



OPU + IVP

Approcci diversi ma stessa **finalità**: produrre embrioni vitali e trasferibili.

EMBRIONE *IN VIVO*



VANTAGGI

- Costo generalmente più contenuto
- Infrastruttura semplice



LIMITI

- Risposta superovulatoria variabile
- Numero e qualità degli embrioni non prevedibili



ASPETTO PRODUTTIVO-ECONOMICO

- Conveniente se la donatrice risponde bene alla superovulazione

EMBRIONE *IN VITRO*



VANTAGGI

- Raccolte ripetute dalla stessa donatrice
- Uso efficiente del seme



LIMITI

- Dipendenza dalla qualità degli ovociti
- Maggiore complessità tecnica
- Recupero degli ovociti non sempre possibile in tutte le donatrici



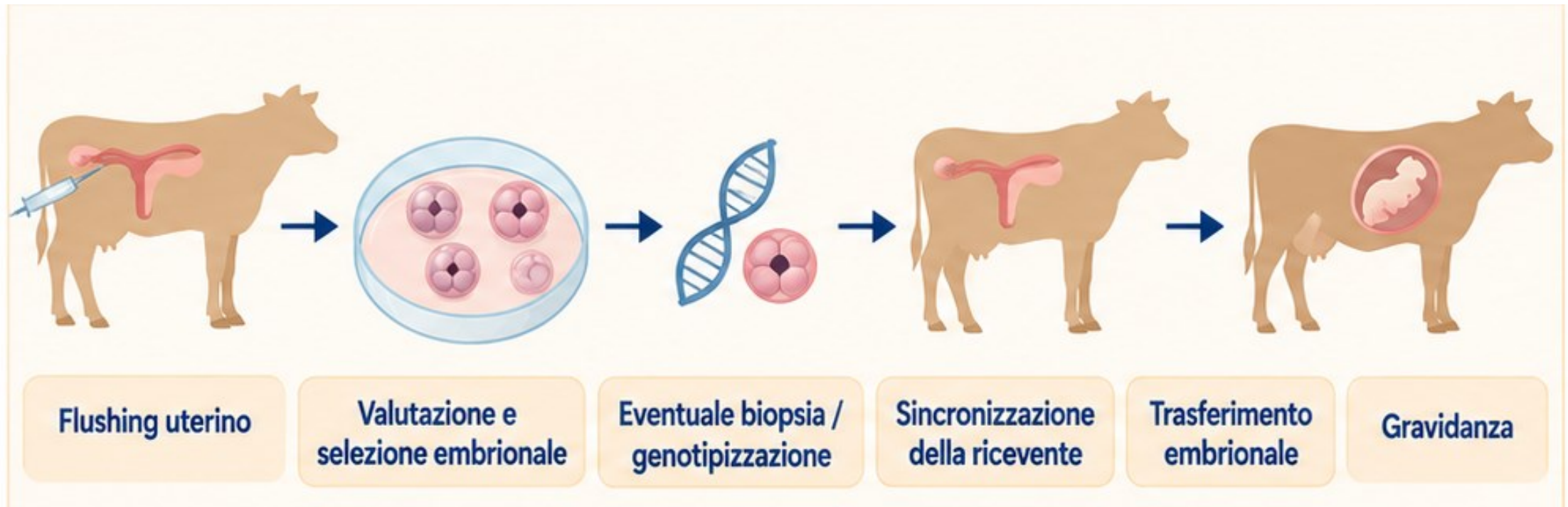
ASPETTO PRODUTTIVO-ECONOMICO

- Maggiore investimento tecnico
- Può essere più efficiente in donatrici di elevato valore genetico o con bassa resa in vivo



La convenienza dipende dal costo per embrione trasferibile e, soprattutto, per gravidanza ottenuta.

DALL'EMBRIONE ALLA GRAVIDANZA

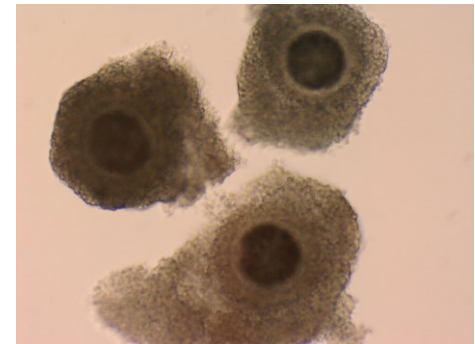


Il **SUCCESSO** del transfer dipende dalla **QUALITÀ** dell'embrione e dalla corretta **SINCRONIA** tra stadio embrionale e ambiente uterino della ricevente.

OVUM PICK-UP (OPU) – recuperare ovociti direttamente dalla donatrice

- **principio:** aspirazione transvaginale ecoguidata dei follicoli ovarici;
- **cosa si recupera:** complessi cumulo-ovocita (COCs)
- **vantaggio:** possibilità di effettuare raccolte ripetute dalla stessa donatrice;
- **limite :** in alcune donatrici meno efficiente per numero, dimensione o accessibilità dei follicoli.

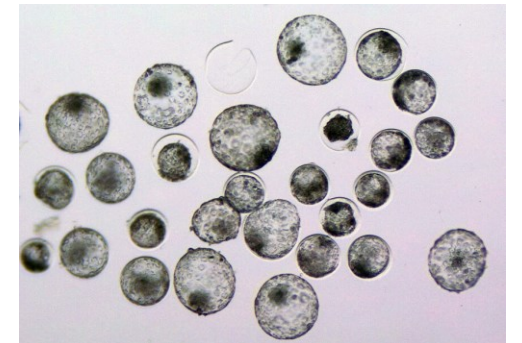
Aspirare più follicoli non significa necessariamente ottenere più embrioni!



FLUSHING EMBRIONALE – recuperare ciò che è stato prodotto in vivo

- **Quando si effettua:** circa giorno 7
- **Principio:** lavaggio uterino non chirurgico
- **Cosa si recupera :** embrioni, ovociti non fecondati, strutture degenerate
- **Limite:** resa variabile; numero di ovulazioni $\neq$ numero di embrioni recuperati

Produrre più embrioni non significa necessariamente recuperarli tutti!



DALL'EMBRIONE ALL'INFORMAZIONE – valutazione, biopsia e genotipizzazione

1. VALUTAZIONE MORFOLOGICA – è un embrione trasferibile?

stadio di sviluppo;
qualità e integrità morfologica;
idoneità al transfer o alla crioconservazione.

2. BIOPSIA – ottenere materiale biologico senza sacrificare l'embrione

prelievo di un numero limitato di cellule;
mantenimento della capacità di sviluppo dell'embrione.

3. GENOTIPIZZAZIONE – quali informazioni possiamo ottenere?

sex;
presenza/assenza di specifici alleli o mutazioni;
marcatori/genotipo di interesse.

La morfologia dice “come appare”; la genotipizzazione dice “che cosa porta geneticamente”.

EMBRYO TRANSFER – l’embrione giusto, nel momento giusto

Qualità embrionale + ricevente idonea + corretta sincronia → probabilità di gravidanza
la ricevente deve trovarsi in uno stadio fisiologico compatibile con l’età dell’embrione;
la qualità della ricevente è importante quanto quella dell’embrione.

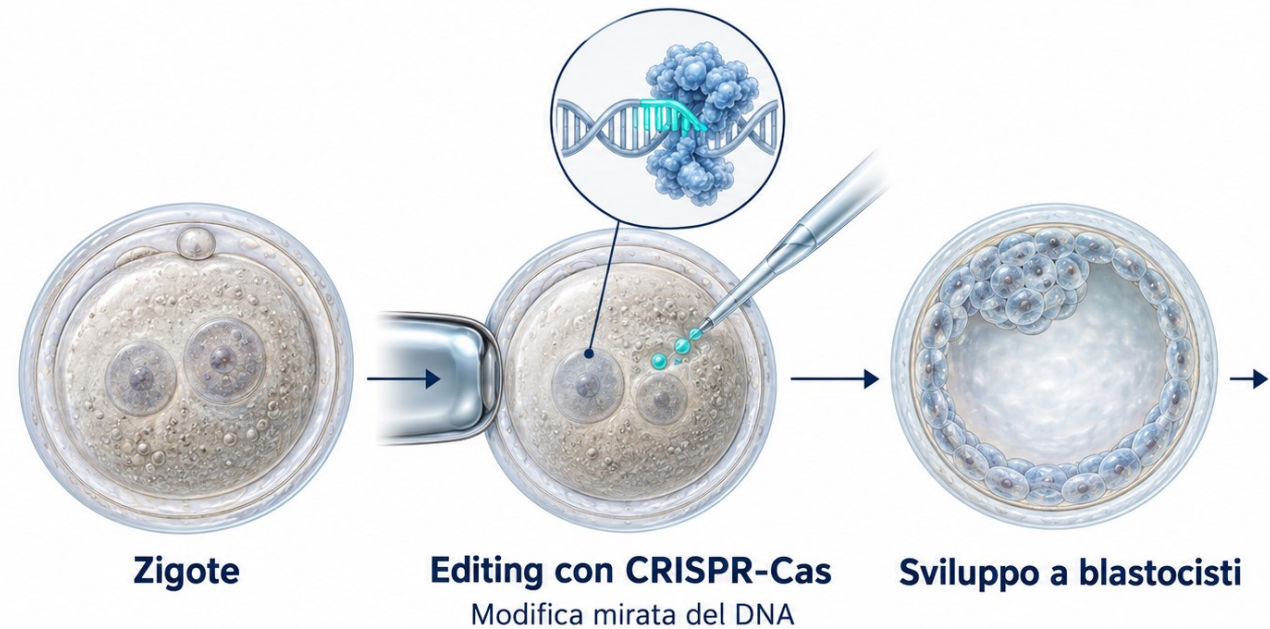
Il transfer non è semplicemente trasferire un embrione in una bovina: significa creare la corretta corrispondenza tra embrione e ambiente uterino.

CRISPR-Cas9: modifica mirata del DNA

RNA guida: riconosce la sequenza bersaglio.

Cas9: taglia il DNA.

Riparazione cellulare: consente di ottenere modifiche della sequenza.



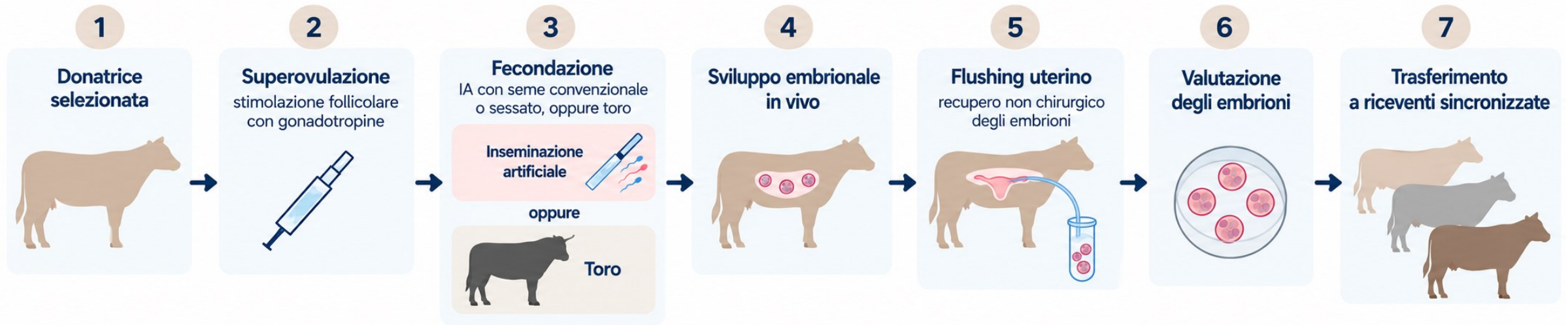
Applicazione nell’embrione bovino

- Introduzione del sistema nello **zigote**, mediante microiniezione o elettroporazione.
- Coltura embrionale e **caratterizzazione genetica**.
- Trasferimento delle blastocisti idonee in **riceventi sincronizzate**.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE



MOET: Ovulazione Multipla seguita da Trasferimento Embrionale



OBIETTIVO: Moltiplicare il potenziale riproduttivo della femmina selezionata