

Generation of mouse oocytes defective in  
cAMP synthesis and degradation:  
Endogenous cyclic AMP is essential for  
meiotic arrest

---

by Sergio Vaccari, Kathleen Horner, Lisa M. Mehlmann,  
Marco Conti

Prezentacja  
Krzysztof Paruk



# Cele pracy

---

- określenie sposobu regulacji poziomu cAMP w oocytach mysich,
- zbadanie roli GPR3 i PDE3A w blokowaniu wzrostu oocytów.



# Materiały

---

- kolonie myszy *Gpr3*<sup>+/-</sup> i *Pde3a*<sup>-/-</sup> ,
- oocyty mysie ze wszystkimi wariantami alleli/nokautów genów *Pde3a* i *Gpr3*.



# Metody

---

- mikroiniekcja
  - nokaut *Gpr3* oligonukleotydem morpholino (MO),
  - wyciszanie Gs przeciwciałami,
- znakowanie radioimmunologiczne.

# Wyniki

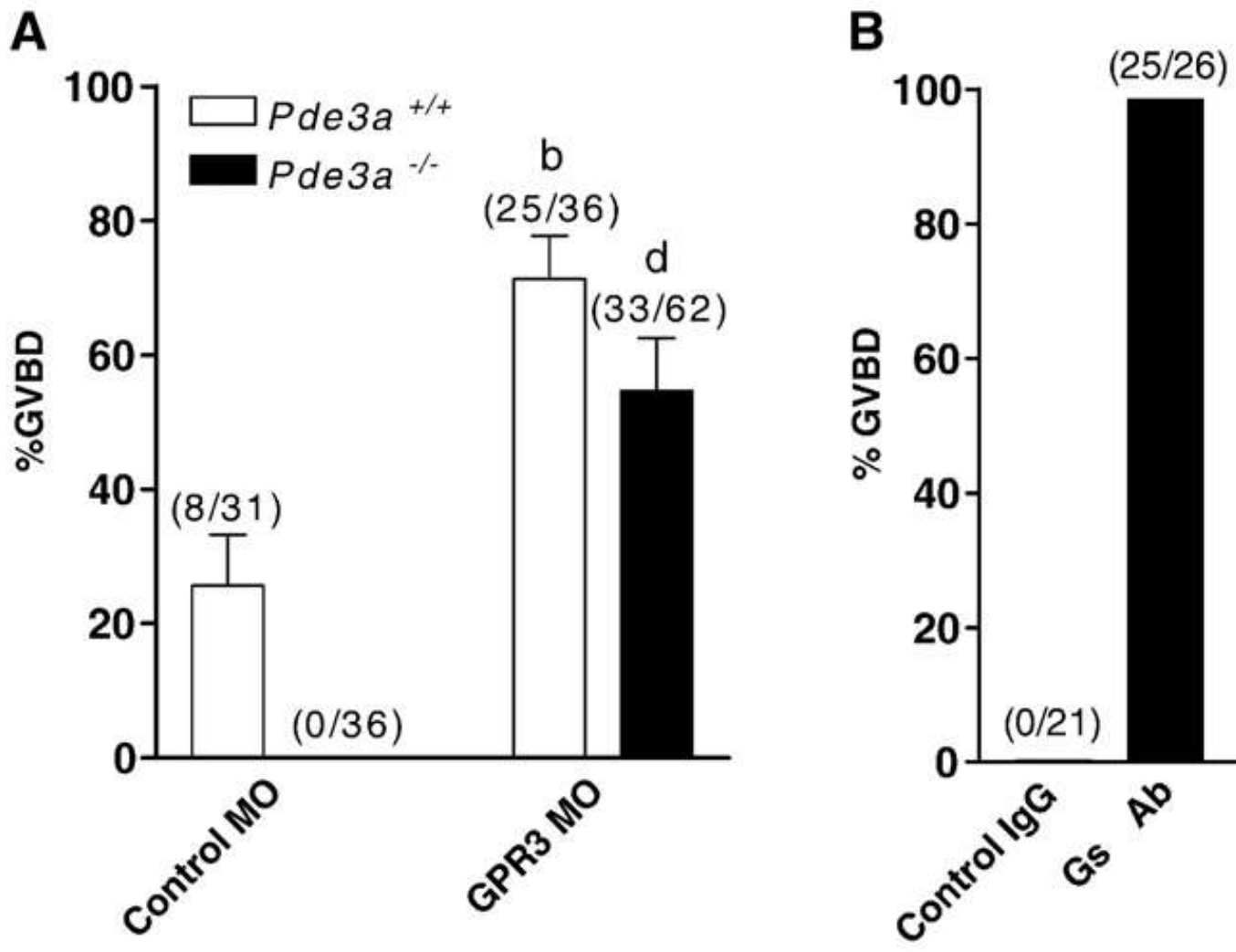
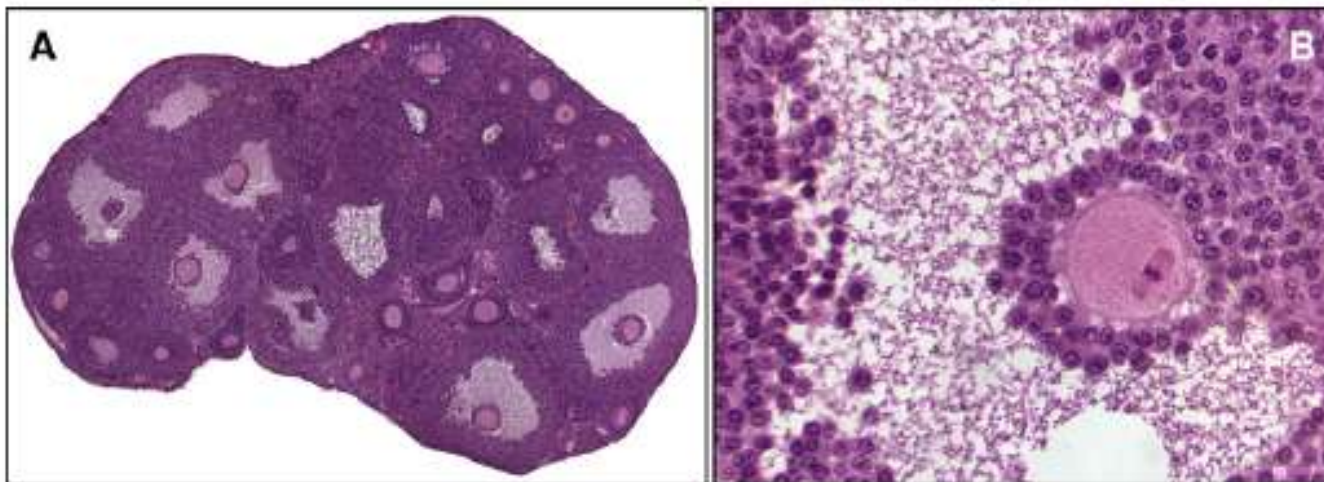


Table 1

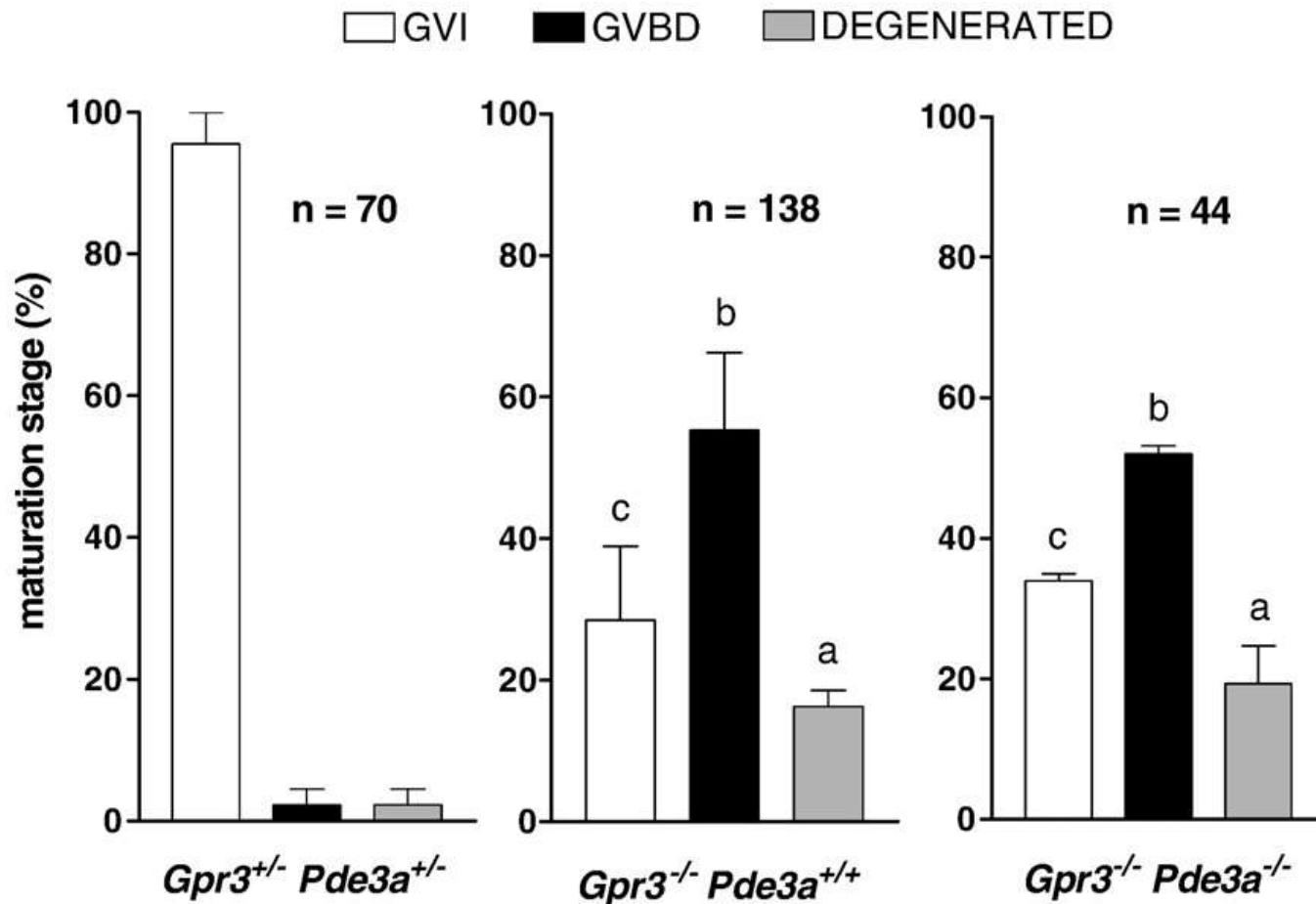
Crossing between females of different genotypes with wild type males

| ♀ Genotype                                             | Litters/month          | Pups/litter             |
|--------------------------------------------------------|------------------------|-------------------------|
| <i>Gpr3</i> <sup>+/+</sup> <i>Pde3a</i> <sup>+/+</sup> | 0.8 ± 0.1 <sup>a</sup> | 9.5 ± 0.7 <sup>a</sup>  |
| <i>Gpr3</i> <sup>+/+</sup> <i>Pde3a</i> <sup>+/-</sup> | 0.8 ± 0.1 <sup>a</sup> | 10.2 ± 1.2 <sup>a</sup> |
| <i>Gpr3</i> <sup>+/+</sup> <i>Pde3a</i> <sup>-/-</sup> | 0 <sup>b</sup>         | 0 <sup>b</sup>          |
| <i>Gpr3</i> <sup>-/-</sup> <i>Pde3a</i> <sup>+/+</sup> | 0.4 ± 0.1 <sup>c</sup> | 4.6 ± 0.5 <sup>c</sup>  |
| <i>Gpr3</i> <sup>-/-</sup> <i>Pde3a</i> <sup>-/-</sup> | 0.3 ± 0.1 <sup>c</sup> | 4.5 ± 0.5 <sup>c</sup>  |

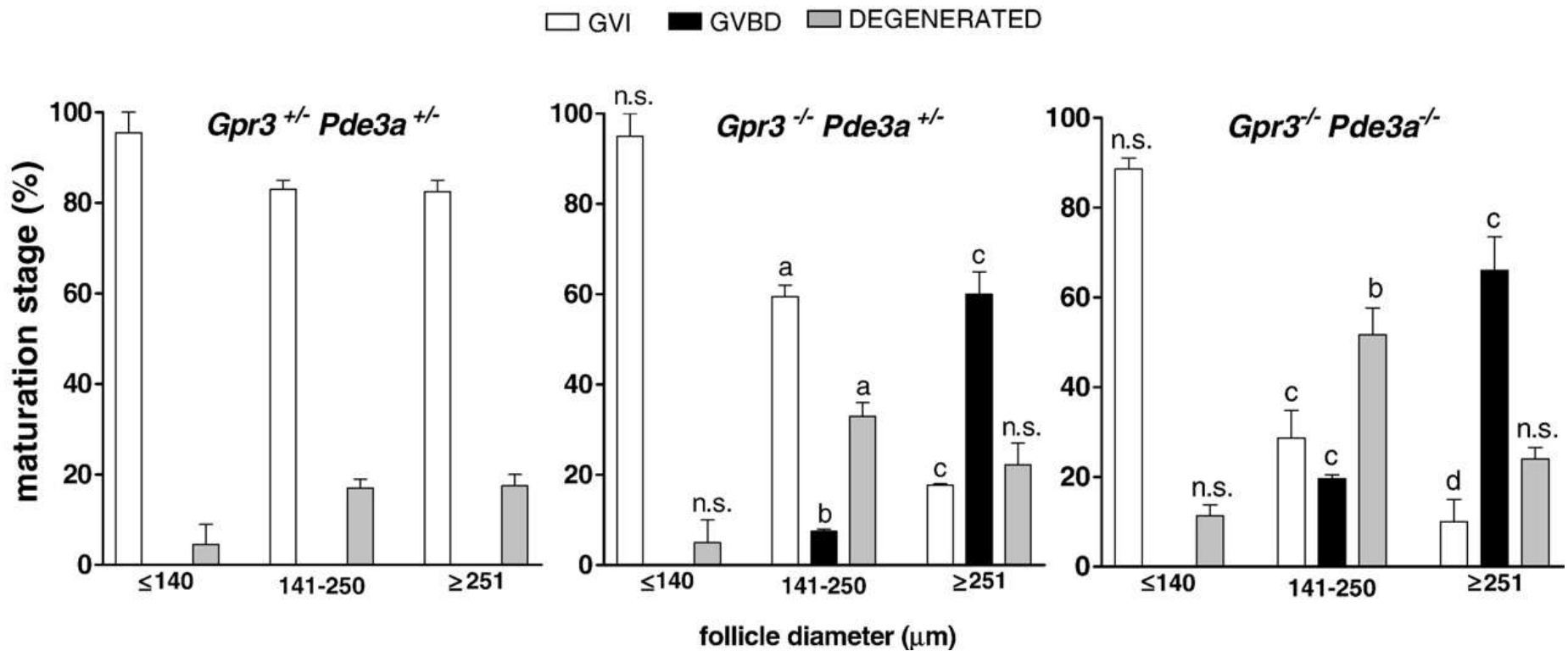
Two-month-old females were mated with 4-month-old males of proven fertility. After 3 months of mating, the WT males were replaced with 4-month-old WT males. The result represents the mean ± S.E. of three mating couples studied over a period of 5 months. A total of 5 litters were obtained from the mating of double KO females and WT males. Different superscripts mean statistical difference,  $p < 0.05$ .



# Stopień dojrzałości oocytów



# St. dojrzałości oocytów cd.

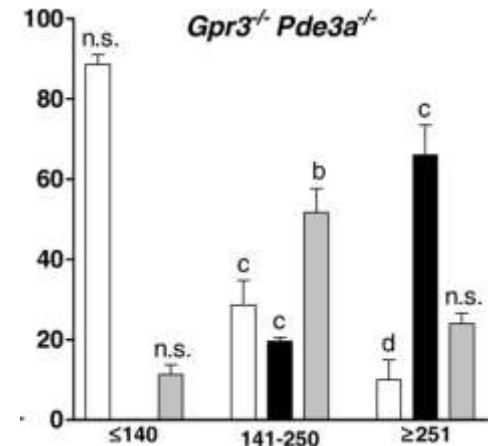
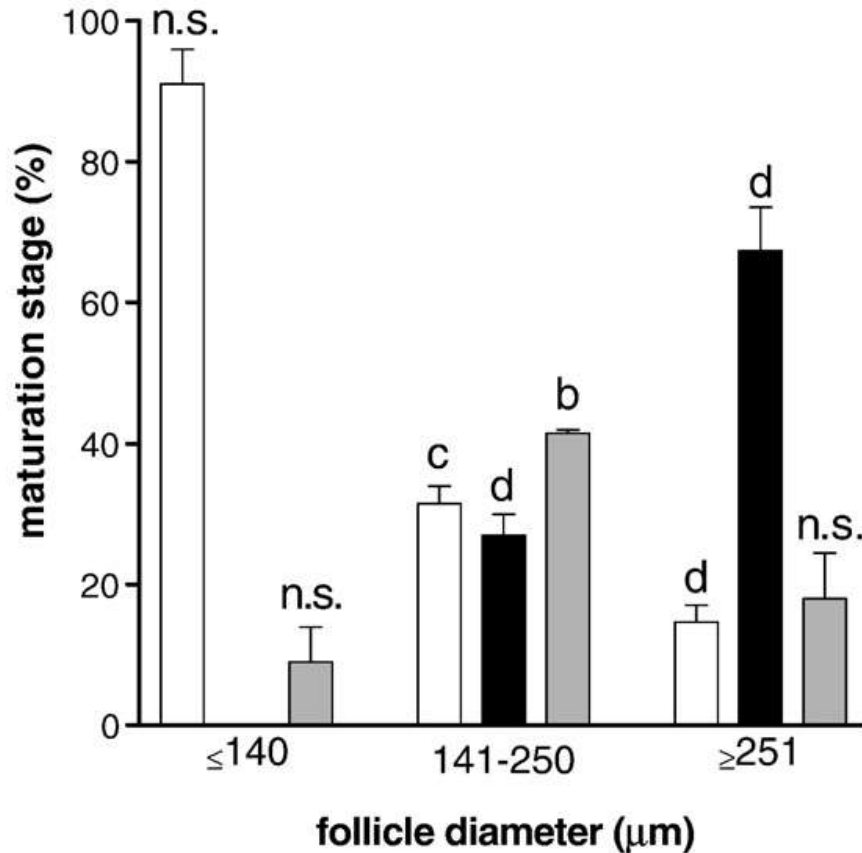




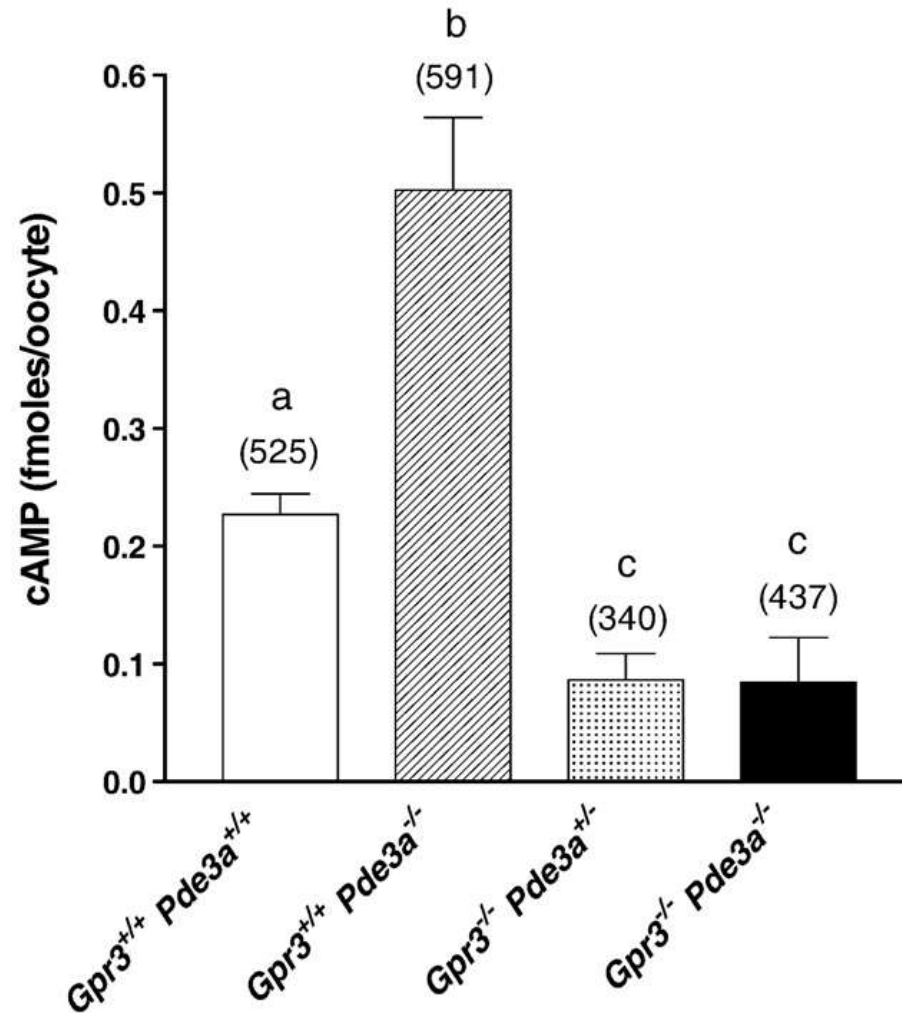
# Gpr12 jako substytut Gpr3?

*Gpr3*<sup>-/-</sup> *Gpr12*<sup>-/-</sup>

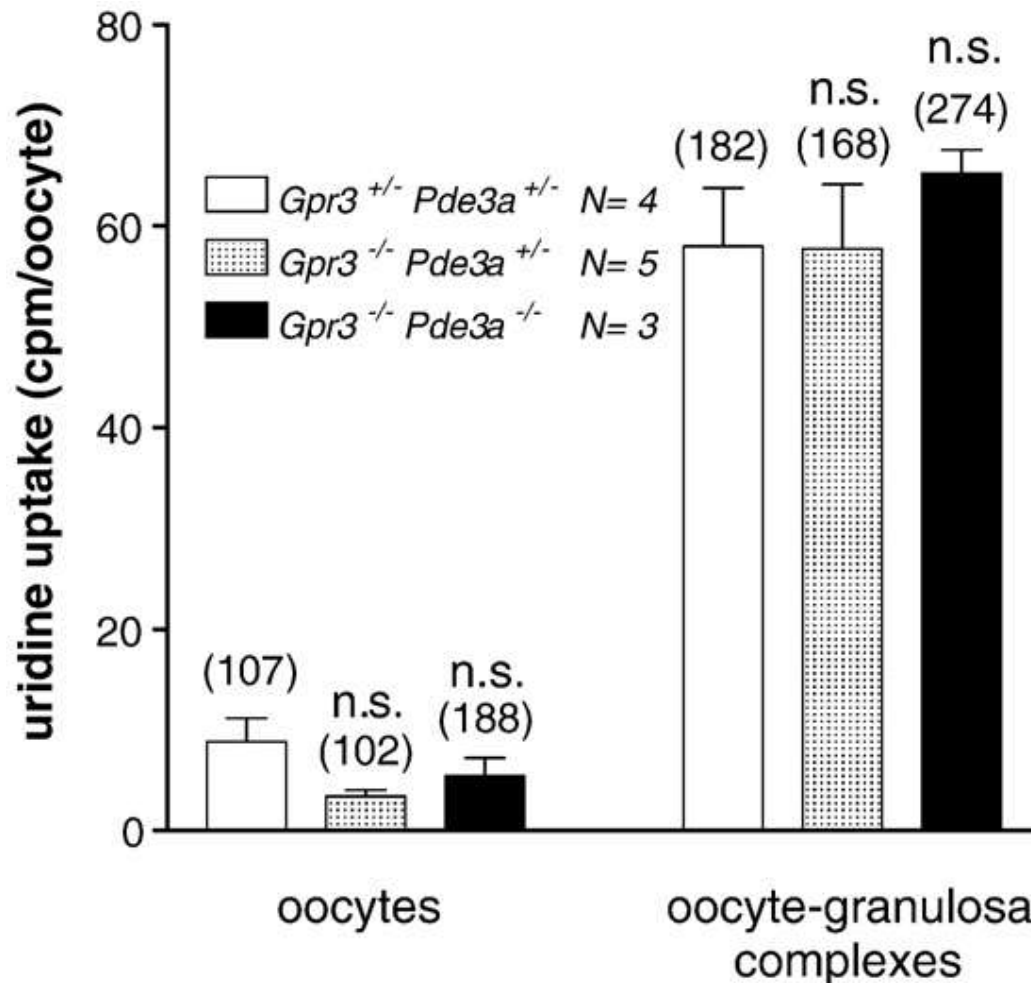
□ GVI    ■ GVBD    ▒ DEGENERATED



# Poziom cAMP w młodych pęcherzykach zarodkowych



# Przepływ metabolitów między oocytami a komórkami ziarnistymi





# Wnioski

---

- potwierdzono rolę GPR3 i PDE3A w procesie dojrzewania oocytów,
- w podwójnym KO możliwe jest dojrzewanie oocytów,
- GPR12 nie przyczynia się znacząco w zatrzymaniu mejozy,
- możliwy jest wpływ komórek somatycznych.



Dziękuję za uwagę

---