Identificazione di peptidi bioattivi nel polpo in grado di favorire/assistere la riproduzione dell'animale



F.E.P. – CAMPANIA 2007/2013 – AVVISO PUBBLICO PROGETTI RETROSPETTIVI – MISURA 3.5 "Progetti Pilota" – UOD Pesca, acquacoltura e caccia –

Responsabile: Dott. Anna Maria Salzano

Nel periodo 01/02/2011 – 31/01/2013 è stata svolta presso l'Istituto per il Sistema Produzione Animale in Ambiente Mediterraneo una ricerca scientifica volta all'identificazione di peptidi bioattivi in grado di favorire la riproduzione nel polpo comune (*Octopus vulgaris)*. Tra le specie oggetto di pesca e di interesse economico da parte degli operatori del settore, il polpo comune è considerata una specie pregiata ed una risorsa alieutica ad alta redditività.

Gli invertebrati marini utilizzano peptidi e feromoni proteici per la comunicazione tra individui e per la modulazione di alcuni aspetti del comportamento sociale, tra cui la riproduzione. L'*Octopus vulgaris,* in particolare, adotta una peculiare strategia di fertilizzazione interna che non è ancora conosciuta in dettaglio. Nello specifico, il polpo maschio introduce uno spermatoforo contenente gli spermatozoi nell'ovidotto del tratto genitale della femmina e questi ultimi rimangono immobilizzati in una spermateca finché non ne viene indotta la mobilizzazione verso le uova mature. In tal senso, l'*Octopus vulgaris,* è da considerarsi un modello per lo studio delle strategie adottate per la comunicazione sessuale nella

fertilizzazione interna di organismi marini che non prevedono la deposizione in acqua delle uova.

Obiettivo della ricerca è stato lo studio del meccanismo alla base delle strategie di fertilizzazione indiretta interna adottate dall' *Octopus vulgaris*. Nel particolare, la ricerca ha riguardato l'identificazione di peptidi "chemotattici", isolati dall'apparato riproduttivo della femmina del polpo, in grado di favorire la mobilità dello sperma del maschio ed il relativo comportamento direzionale nell'organo genitale.

Metodo. La ricerca ha previsto l'analisi delle uova, degli spermatofori, e dello sperma in essi contenuto, prelevati da organismi presenti nel Golfo di Napoli (3 femmine e 3 maschi). L'analisi delle uova è stata realizzata attraverso approcci integrati di peptidomica basati sull'analisi dei relativi estratti/secreti peptidici mediante diversi passaggi di cromatografia ad alta pressione (HPLC), che sono stati accoppiati a saggi di attività sugli spermatozoi (saggio di chemotassi), e chimico-strutturale delle molecole bioattive, mediante spettrometria di massa basata su ionizzazione indotta da irraggiamento laser (MALDI-TOF-MS) e/o sequenziamento amminoacidico con degradazione automatizzata secondo metodo di Edman. L'analisi sullo sperma è stata anche effettuata attraverso l'uso di una camera di chemotassi di Zigmond abbinata ad una telecamera, per lo studio delle traiettorie degli spermatozoi, ed attraverso saggi immunoenzimatici, per lo studio dell'attivazione di specifici segnali chimici, in seguito alla percezione dei peptidi bioattivi.

Risultati. Lo studio ha permesso l'isolamento di un glicopeptide bioattivo secreto dalle uova della femmina, denominato Octo-SAP, in grado di condizionare la mobilità ed il movimento direzionale degli spermatozoi contenuti negli spermatofori. La molecola è stata caratterizzata strutturalmente e clonata. Una volta percepito da opportuni recettori presenti sulla membrana cellulare degli spermatozoi, tale glicopeptide è stato dimostrato essere in grado di attivare fenomeni di signaling molecolare legati alla relativa fosforilazione di queste proteine mediati anche dalla presenza di calcio extra-cellulare.

I risultati della ricerca potranno avere un'ampia applicazione in impianti marini dedicati all'allevamento di tale animale, facilitandone la riproduzione, in quanto definenti le basi molecolari del processo di fecondazione. I risultati ottenuti sono stati in seguito pubblicati dalla prestigiosa rivista internazionale Journal of Experimental Biology, e sono stati oggetto di disseminazione/valorizzazione per la

loro importanza da parte della rivista stessa e della rivista internazionale National Geographics, ben nota al pubblico dei non addetti al settore.