

Abstrakt

Přechod z oocytů na embryo (OET) je jednou z nejkompexnějších vývojových událostí, během níž se diferencovaný oocyt promění v totipotentní blastomery embrya. Během OET transkripčně neaktivní oocyt prochází masivním přeprogramováním genové exprese, které ho transformuje do transkripčně aktivní zygoty. Přestože četné studie přispěly k pochopení mechanismu OET, mnoho genů zapojených do OET je neznámých. Úplně nová úroveň možné regulace OET přišla s objevem dlouhých nekódujících RNA (lncRNA). LncRNAs jsou transkripty pol II delší než 200 nukleotidů, které jsou typicky sestřižené a polyadenylované, ale nekódují proteiny. Zatímco lncRNA byly studovány v mnoha modelových systémech včetně embryonálních kmenových buněk, jejich exprese v oocytech a časných embryích a příspěvek k OET byly na začátku tohoto projektu neznámé.

Ve svém doktorském projektu jsem se zaměřila na identifikaci, anotaci a analýzu lncRNA objevujících se během OET. Pomocí analýzy RNA-Seq bylo identifikováno 1600 lncRNA, které byly anotovány v myších oocytech a časných embryích. Většina lncRNA byla nová s expresí výlučně během OET. Významná část těchto lncRNA souvisela s LTR retrotransposony, což zřejmě souvisí s jejich nedávným vznikem a evolucí. Expresní analýza OET lncRNA odhalila kromě výrazně odlišných maternálních a zygotických expresních profilů také dvě unikátní třídy maternálních lncRNA. (I) Byla identifikována skupina maternálních lncRNA, která zřejmě prochází cytoplazmatickou polyadenylací, která byla dříve spojena s dormantními maternálními mRNA. (II) Bylo identifikováno 100 lncRNA s antisense pseudogenní inzercí, které slouží jako substráty pro endo-RNAi mechanismus v oocytech a vznikají z nich endo-siRNA. Pro funkční analýzu role lncRNA během OET byly připraveny genomové delece pěti vybraných lncRNA; tři z nich jsou popsány v této práci. Ačkoliv u mutantů nebyly pozorovány žádné fenotypové změny týkající se fertility, byla potvrzena cytoplazmatická polyadenylace (tzv. lncRNA dormance) a identifikovány maternální lncRNA sloužící jako substráty pro RNAi. Celkově tato práce poskytuje komplexní analýzu lncRNA během OET s originálním pohledem na příspěvek retrotransposonů LTR k vývoji lncRNA v oocytech a zygotách a přináší identifikaci dvou unikátních tříd mateřských lncRNA.