

Radim Žídek

**“Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace ve vývoji mořského kroužkovce *Platynereis dumerilii*”**

(disertační práce)

**Abstrakt:**

Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace je zásadní pro raný embryonální vývoj mnohobuněčných živočichů, od ustavení tělních os, přes určení zárodečných listů a tkání až po vývoj orgánových soustav. Použil jsem farmakologické ovlivnění aktivity Wnt/ $\beta$ -kateninové dráhy u planktonních larev mořského mnohoštětinatého kroužkovce, nereidky *Platynereis dumerilii*, zástupce skupiny Spiralia, abych prošetřil úlohu Wnt/ $\beta$ -kateninové signalizace ve vývoji a evoluci tří charakteristických znaků dvoustraně souměrných živočichů (Bilateria): centrální nervové soustavy, tělního článkování a trávicí trubice.

Wnt proteiny jsou u nereidky produkovány ve všech tří výše zmíněných soustavách, kde spouští Wnt/ $\beta$ -kateninovou dráhu v sousedních buňkách. Vůbec poprvé zde u nereidky popisují homolog koncového transkripčního faktoru celé dráhy, *Pdu-Tcf*, který je předmětem alternativního sestřihu a spolu s cílovým genem Wnt signalizace, *Pdu-Axinem*, exprimován v tkáních s aktivní Wnt signalizací – v mozkových gangliích, v neuroektodermu podél břišní středové linie, v člancích, v posteriorní růstové zóně a ve střevě.

Farmakologické manipulace naznačují, že Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace v ektodermu nereidky specifikuje progenitory neuronů a podporuje jejich proliferaci, ale není zapojena do členění nervového systému, jelikož výrazně neposouvá hranice expresních domén neurospecifických transkripčních faktorů. Analýza jejich normální exprese odhalila pravděpodobnou homologii signálního centra obratlovčího a hmyzího mozku, isthmického organizátoru, s obrvenou zadní hranicí peristomia a kryptického nultého segmentu a napověděla existenci homologu dalšího organizátoru na přední hranici peristomia. Předkládám hypotézu, podle níž jsou organizátory vývoje mozku odvozeny od obrvených pásů dávného planktonního předka dvoustraně souměrných živočichů.

Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace pozitivně reguluje segmentační gen *Pdu-Engrailed* na hranici mezi segmenty, což potvrzuje současný model segmentace u nereidky mechanismem, který je zachován mezi nereidkou a octomilkou a značí přítomnost vzájemně vylučné neautonomní pozitivní zpětnovazebné smyčky mezi Wnt a Hedgehog signalizací. Nadměrná aktivace Wnt/ $\beta$ -kateninové dráhy vede ke ztrátě vaků se štětinami a morfologických, avšak nikoliv molekulárních hranic mezi segmenty. Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace je taktéž aktivní v posteriorní růstové zóně, kde je pravděpodobně zapojena do tvorby nových článků.

Vývoj středního střeva je opožděn v porovnání s jeho přední a zadní částí kvůli velkému množství žloutku v makromerách, které brání buněčnému dělení. Jeho vývoj je znovu aktivován mnohem později ve stádiu nektochéty a zahrnuje expresi neurálních transkripčních faktorů *Pdu-Otx* a *Pdu-Nk2.1*. Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace pozitivně reguluje *Pdu-Cdx* v zadním střevě a v dříve nerozpoznaných doménách ve ventrální středové linii středního střeva a na hranici předního a zadního střeva. Inhibice Wnt/ $\beta$ -kateninové dráhy v celém těle larvy zcela zablokuje proliferaci a zastaví diferenciaci střevního endodermu v trávící epitel. Typická exprese trávících enzymů ze středního střeva vymizí, a to si namísto nich podrží expresi *Pdu-Legumainu*, který je zde exprimován dříve, ale v této fázi je normálně přítomen již pouze v zadním střevu. Tento stav však není stálý a diferenciace pokračuje, jakmile je inhibice uvolněna. Navrhují, že Wnt/ $\beta$ -kateninová signalizace specifikuje endodermální střevní progenitory, podněcuje jejich proliferaci a spouští kroky, které posléze vedou k jejich diferenciaci.