

Abstrakt (česky)

Samičí zárodečné buňky (známé též jako oocyty) se u savců nacházejí ve vaječnicích, kde je jejich vývoj zastaven ve stádiu profáze 1. meiotického dělení (profáze I). Teprve až v průběhu puberty dochází k selekci oocytů, které následně rostou, uvolňují se z výše zmíněného profázního bloku, ovulují a stávají se pak schopnými být oplodněny a dát základ budoucímu embryu. Polovina genetické informace embrya tedy pochází přímo z oocytu a tudíž kvalita oocytu a jeho meiotického zrání hraje v reprodukci klíčovou úlohu.

Jedním z faktorů, který může dramaticky snížit kvalitu oocytů u několika druhů savců je pokročilý věk samic. Jak u myši, tak u člověka se snížená kvalita oocytů pocházejících od starších matek projevuje především zvýšením výskytu chromozomální aneuploidie. Důsledkem je přítomnost nesprávného počtu chromozomů v embryu, což snižuje jeho viabilitu a může se projevit i dalšími klinickými příznaky. Práce, která je obsahem této dizertace byla primárně zaměřena na pochopení příčin zvýšeného výskytu chromozomálních aneuploidií v myších oocytech pocházejících od starších samic.

Jedním z nejdůležitějších znaků, kterými se oocyty vyznačují, je to, že po překonání profázního bloku a zahájení meiotického dělení je jejich transkripční aktivita prakticky nulová a vlastní regulace průběhu meiózy je řízena na úrovni translace. V této práci ukazujeme, že po rozpadu jaderné membrány (NEBD – nuclear envelope breakdown), dochází v oocytech k výraznému navýšení aktivity protein kinázy mTOR, která je hlavním regulátorem iniciace translace a v důsledku toho je její substrát, inhibiční protein 4E-BP1 inaktivován. Tato skutečnost poukazuje na úzké propojení mezi NEBD a přesně načasovanou iniciací translace, vzhledem k tomu, že oba proteiny jsou důležitou součástí této signální dráhy.

Naše výsledky ukazují, že v oocytech pocházejících ze starších samic (AF – aged females, 12 měsíců staré) dochází k rychlejšímu průběhu meiotického zrání než v oocytech pocházejících z mladších samic (YF – young females, 2 měsíce staré). To znamená, že u AF oocytů docházelo k NEBD a vyloučení polárního tělíska (PB – polar body) přibližně o 30 minut dříve než u YF oocytů. Zjistili jsme také, že rychlejší NEBD bylo doprovázeno rychlejší fosforylací proteinu jaderné laminy LAMINu A/C. V souladu s těmito zjištěními jsou i naše další výsledky, které ukazují na zvýšenou aktivitu hlavního regulátoru meiotického zrání – “zrání vyvolávajícího faktoru” (MPF – maturation promoting factor) v AF oocytech, což může vysvětlit jejich rychlejší průchod meiózou.

Kromě toho jsme v rámci této dizertace adaptovali metodu polyzomového profilování, která nám umožnila izolovat ty RNA, které jsou vázány na polyzomy (a tím i pravděpodobně aktivně translatované) z oocytů ve stádiu po NEBD jak z AF, tak i z YF oocytů, následované NGS sekvenační analýzou. S využitím této metody jsme byli schopni nalézt poměrně velké množství RNA molekul, které byly rozdílně exprimovány mezi AF a YF oocyty. Tyto rozdíly jsme validovali v oocytech z obou věkových skupin ve stádiu po NEBD i na úrovni exprese proteinů

a pro další studie jsme vybrali čtyři nejzajímavější proteiny: SGK1, CASTOR1, AIRE a EG5. Všechny čtyři proteiny byly lokalizovány v oblasti dělicího vřeténka. Navíc v případě, kdy jsme cíleně modifikovali expresi/aktivitu proteinů SGK1 či CASTOR1 v YF oocytech jsme zjistili, že u nich dochází ve zvýšené míře k defektům v uspořádání chromozomů na dělicím vřeténku a v cytokinezi, což naznačilo možnou úlohu těchto proteinů při vzniku chromozomální aneuploidie v souvislosti s věkem samic.

V souhrnu naše výsledky ukazují, že stádium vývoje oocyty těsně po NEBD (1. meiotického dělení) je kritickým bodem, ve kterém se začínají projevovat rozdíly mezi oocyty z AF a YF, což je dané s největší pravděpodobností rozdílnou úrovní translace specifických mRNA molekul v těchto oocytech. Rozdílné úrovně translace těchto specifických RNA pak mohou vysvětlit zvýšený výskyt chromozomálních aneuploidií v oocytech ze starších samic, a to i vzhledem k tomu, že cílená modifikace hladin exprese či aktivity proteinů exprimovaných těmito RNA může vést ke vzniku abnormalit v cytokinezi i v oocytech z mladších samic.