

Abstrakt

Proměna vajíčka (oocyty) na embryo je jednou z nejsložitějších vývojových událostí, během které se diferencované vajíčko promění v totipotentní zygotu. Během růstové fáze oocyt hromadí mRNA, proteiny a další molekuly dokud nedosáhne stavu plně vzrostlého oocyty, ve kterém se transkripce zastaví. Plně vzrostlý oocyt má schopnost dokončit meiozu, být oplodněn a aktivovat zygotický genom. V období transkripčního klidu mezi plně vzrostlým oocytem a aktivací zygotického genomu je proto posttranskripční kontrola genové exprese nesmírně důležitá. Studie posttranskripčních regulačních drah v myších oocytech odhalily, že v myších oocytech existují v jedinečné sestavě regulační mechanismy využívající malé RNA. Zatímco mechanismus endogenní RNA interference (RNAi) je nezbytný pro normální vývoj oocyt, mikroRNA (miRNA) mechanismus, který je přítomný prakticky ve všech buněčných typech, je víceméně neaktivní a pro růst, zrání a oplodnění oocytů postradatelný.

Můj doktorský projekt byl zaměřen na zodpovězení otázky proč jsou miRNA v oocyty nefunkční. Jelikož plně vzrostlý oocyt je mimořádně velká buňka s proporčně velkým mateřským transkriptomem, můj výzkum se soustředil na změny stochiometrie miRNA: mRNA, ke kterým dochází od zahájení růstu k plně dospělému myšímu oocyty. Ukázalo se, že miRNA se neakumulují během růstové fáze růstu oocytů, což v konečném důsledku vede k jejich naředění v plně dospělém oocyty a tím je omezena jejich aktivita. Nízké koncentrace miRNA byly pozorovány také u oocytů potkanů, křečků, prasat a skotu, což dokazuje, že nečinnost miRNA není specifická pro myš, ale je běžným rysem savčích oocytů. Injekce miRNA molekul stačila pro obnovení funkční represe mRNA, což naznačuje, že nečinnost miRNA pramení z malého množství miRNA a ne z aktivního potlačení dráhy. Zároveň se podařilo ukázat, že existují výjimečně hojné a aktivní miRNA v oocytech prasat a skotu. Zároveň byly při studiu proteinů tvořících mechanismus miRNA v myších oocytech objeveny dvě nové adaptace proteinu AGO2, které se zřejmě vyvinuly k regulaci endogenní RNAi v myších oocytech. Jedna z nich vznikla skrze inserce mobilních elementů rodiny MT do lokusu *Ago2*, což v myších oocytech vede k předčasnému zakončení transkripce a produkci zkrácené izoformy AGO2, čímž je omezena exprese proteinu AGO2 o plné délce. Nicméně význam této evoluční adaptace se nepodařilo na modelu delečních mutantů definovat. Druhou adaptací myšího

maternálního AGO2 je oocyt-specifický první exon prodující alternativní N-konec, což vede k izoformě AGO2 se sníženou aktivitou v RNAi.