

Komunikace zprostředkovaná různými chemickými substancemi se vyskytuje u organismů již od buněčné úrovně. V průběhu evoluce vznikají specifické systémy přenosu a zachycení informačních molekul, zahrnující vznik čichových receptorů nebo diverzifikaci přenašečů těchto substancí (např. lipokaliny). Lipokaliny jsou proteiny, které díky své konzervativní terciární struktuře mají schopnost vázat malé těkavé ligandy a na základě této vlastnosti je jim často přisuzována významná role při přenosu signálů (odorantů nebo feromonů) v chemické komunikaci.

Nejznámější a nejlépe prostudované lipokaliny jsou Hlavní močové proteiny (Mupy) u myši a Odorant vázající proteiny (Obp), existuje ale mnoho dalších lipokalinů, o jejichž funkci se spekuluje nebo není vůbec známa. Cílem mé práce bylo přispět k pochopení variability lipokalinů a utvořit tak komplexnější obraz o těchto proteinech. V rámci této disertační práce předkládám dvě publikace, které prošly recenzním řízením a třetí publikaci předloženou do časopisu. Součástí třetí publikace jsou tři nové sekvence genů pro lipokaliny, které jsme identifikovali u normika rudého (*Myodes glareolus*), předložené do databáze GenBank. Charakteristika těchto nových lipokalinů vede k dalším úvahám o jejich funkci a může tak přispět k upřesnění představy o mechanismech pachové komunikace.

**Stopková R., Stopka P., Janotová K., Jedelský P.L. 2007: Druhově specifická exprese Hlavních močových proteinů u myši domácí (*Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*). J. Chem. Ecol. 33: 861-869.**

Stopková R., Stopka P., Janotová K., Jedelský P.L. 2007: Species-specific expression of Major urinary proteins in the house mouse (*Mus musculus musculus* and *Mus musculus domesticus*). J. Chem. Ecol. 33: 861-869.

Analyzovali jsme expresi feromonálního přenašeče (Hlavní močový protein - Mup) u dvou poddruhů domácí myši (*Mus m. musculus*, *Mus m. domesticus*). Jak bylo již dříve popsáno, komenzální populace těchto dvou poddruhů se rozpoznávají na základě signálů v moči. MUPy jsou hlavní močové proteiny, které přenáší a chrání feromony před rychlou degradací v hydrofilním prostředí a jedinci *M. m. musculus* mají tendenci využívat tyto močové značky v procesu rozpoznávání více než jedinci *M. m. domesticus*. Ačkoliv není známo, co ovlivňuje fenotypické a epigenetické změny exprese Mupů, naše výsledky ukazují, že u poddruhu *M. m. musculus* je pohlaví signifikantním faktorem, který ovlivňuje množství Mupů exprimovaných v játrech. Navíc, samci *M. m. musculus* mají expresi Mupů signifikantně vyšší než samci i samice *M. m. domesticus*. Vzorec exprese na úrovni mRNA koreloval s celkovou koncentrací Mupů v moči, tj. i na proteinové úrovni byl prokázán pohlavní dimorfismus, který byl navíc specifický pro oba poddruhy. Naše zjištění vede k hypotéze, že kvantitativní rozdíly v produkci těchto proteinů mohou být esenciální pro rozpoznávání poddruhu a udržování páření s jedinci stejného poddruhu.



**Stopková R., Hladocová D., Kokavec J., Vyoral D. and Stopka P. 2009: Vícečetná role vylučovaných lipokalinů (MUP, OBP) u myši. Folia Zool. in press**

**Stopková R., Hladocová D., Kokavec J., Vyoral D. and Stopka P. 2009: Multiple roles of secretory lipocalins (MUP, OBP) in mice. Folia Zool. in press, xxx**

V mnoha biologických procesech hrají roli globulární transportní proteiny, které patří do rodiny nazývané lipokaliny. Hlavním znakem lipokalinové struktury je jejich specifická terciální struktura formující osmilistý beta barel, který má schopnost vázat na sebe různé ligandy. Význam lipokalinů je zřejmý z výčtu esenciálních substancí (tj. hydrofobní ligandy zahrnující např. vitamin A, steroidy, biliny, lipidy, feromony atd.), které tyto proteiny přenášejí a také z množství tkání, které exprimují tyto proteiny. Z širokého spektra lipokalinů, Hlavní močové proteiny (Mup) a Odorant vázající proteiny (Obp) jsou známé svou schopností vázat a přenášet odoranty/feromony a byly detailně studovány u různých modelových druhů zahrnující myši, potkany a křečky. Mnoho lipokalinů (včetně Mupů) bylo také dříve popsáno v souvislosti s jejich ochrannou funkcí savčího organismu, kde transportují potenciálně škodlivé molekuly k místům degradace (např. lysozomy) nebo přímo ven z těla. V důsledku společné terciální struktury lze předpokládat, že obě role lipokalinů, tj. jak transport feromonů tak vynášení toxických látek, se mohou u některých lipokalinů vyskytovat zároveň. Tato práce prezentuje lipokaliny nejen z pohledu chemické komunikace, ale také diskutuje "hypotézu odpadkového koše". Tato hypotéza předpokládá, že lipokaliny spojené s metabolickou degradací ligandů byly ideálním zdrojem přírodního výběru díky schopnosti případných příjemců rozpoznávat hladiny těchto ligandů jako signál.

**Stopková R., Zdráhal Z, Ryba Š., Šandera M. and Stopka P. Nové lipokalinové geny podobné křeččímu afrodisinu u norníka rudého *Myodes glareolus*. Submitted.**

**Stopková R., Ryba Š., Zdráhal Z., Šandera M. and Stopka P. Novel lipocalin genes similar to hamster aphrodisin in the bank vole *Myodes glareolus*. Submitted...**

Chemická komunikace savců je zprostředkována globulárními lipokaliny, které ochraňují a přenášejí feromony vylučované ven z těla. Komunikace pomocí těchto protein-feromon komplexů je důležitá neboť spouští nejrůznější odpovědi zahrnující agresivní chování, pohlavní výběr, kopulační chování a synchronizaci estru. Role lipokalinů v chemické komunikaci je známa především u myši, které produkují velké množství Hlavních močových proteinů (Mupů) v moči a ve slinách. Jiným savcům však často geny pro Mupy chybí nebo je jejich exprese velmi nízká. Naším cílem bylo identifikovat lipokaliny u druhu *Myodes glareolus*, které by mohly hrát roli v chemické komunikaci u tohoto druhu. Kandidátním genem je Afrodisin, což je unikátní lipokalin izolovaný z vaginálního výtěru křečka, který váže feromony a stimuluje kopulační chování samců.

#### **Výsledky**

Potvrdili jsme existenci genů podobných Afrodisinu, které svou strukturou patří mezi Odorant binding proteiny (Obp). Na rozdíl od popsaného Afrodisinu, který je exprimován pouze ve vaginálním traktu samic křečka, námi identifikované geny byly nalezeny u obou pohlaví ve všech testovaných tkáních – prostata, prepuciální/klitoriální žlázy, slinné žlázy, játra a uterus. Na úrovni mRNA jsme identifikovali tři varianty genu. Hledali jsme, zda se tyto geny vyskytují v moči, slinách či vaginálním sekretu, což je předpoklad k tomu aby mohli tyto proteiny

