

## Abstrakt

Cílem této práce bylo nalézt a charakterizovat geny, které jsou potenciálně nezbytné pro normální preimplantační vývoj. Podrobněji jsme charakterizovali tři geny – CENPF (centromeric protein F; mitosin), UCHL1 (ubiquitin C-terminal hydrolase-L1) a nukleofosmin (NPM1, B23, numatrin; NO38). Embryonální transkripce *CENPF* a nukleofosminu je aktivována v pozdním 8-buněčném stádiu (tj. v době embryonální genomové aktivace – EGA), a proto lze předpokládat, že jsou pro normální preimplantační vývoj nezbytné. CENPF je důležitý pro buněčné dělení, především zprostředkuje interakci mezi kinetochorem a mikrotubuly. Nukleofosmin je multifunkční jadérový fosfoprotein, který se podílí zejména zpracování rRNA, biogenezi ribozómů, duplikaci centriol a uplatňuje se také jako chaperon. Dále jsme na základě předpokládané úlohy během fertilizace vybrali gen UCHL1 a popsali jeho úlohu během oplození bovinních oocytů. UCHL1 je deubikvitinylační enzym, který koordinuje degradaci cytoplazmatických proteinů, recyklaci volného ubikvitinu z proteazomu a podílí se na regulaci fyziologické apoptózy.

Úlohu CENPF a nukleofosminu jsme sledovali pomocí RNA interference (RNAi). Protein UCHL1 je velmi stabilní, a proto není pro jeho studium RNAi vhodná. Místo toho jsme využili dvou UCHL1 specifických inhibitorů, které inhibují jeho hydrolázovou aktivitu. Embrya s umlčenou *CENPF* mRNA se zastavují v 8-buněčném stádiu a vykazují nižší morfologickou kvalitu než odpovídající kontrolní embrya. Vývoj embryí až do 8-buněčného stádia je pravděpodobně umožněn díky uchování maternálního proteinu. Zatímco u embryí po EGA a u somatických buněk je CENPF na konci každého buněčného cyklu degradován, u embryí před EGA jsme takovouto degradaci proteinu nenašli. Podobně jsme potvrdili úlohu UCHL1 během fertilizace bovinních oocytů. U oocytů maturovaných s UCHL1 inhibitorem jsme po oplození našli velké množství dispermičtých zygot. To bylo pravděpodobně způsobeno defekty relokalizace a vylití obsahu kortikálních granulí. Naopak embrya s umlčenou mRNA nukleofosminu byla schopna se vyvíjet až do stádia blastocysty. Přestože velká část maternálního proteinu byla degradována, dostatečné množství proteinu zůstalo uchováno během celé preimplantační embryogeneze a umožnilo tak vývoj embryí bez detekovatelných defektů.

Dále jsme se zaměřili na identifikaci nových potenciálně důležitých genů, jejichž exprese a funkce bude určena v navazujících studiích. Z těchto genů zejména cullin 1 pravděpodobně hraje během preimplantačního vývoje velmi podstatnou úlohu. Exprese cullinu 1 z embryonálního genomu je zahájena v pozdním 8-buněčném stádiu. Nedochozí však pouze k přechodu z maternální na embryonální transkripci, ale také ke změně ve využití dvou různých genů – z cullin 1-like (XM\_589507.3) na cullin 1 (XM\_876699). Tyto geny jsou z 83% homologní, oba jsou přítomné na chromozomu 4, avšak v odlišných oblastech.