

## Abstrakt (česky)

Meiotické dělení samičí zárodečné buňky, oocyty, je více náchylné k chybám a následně k aneuploidii, než je tomu během meiózy spermií. Aneuploidie a chromozomální aberace se u oocytů zvyšují se zvyšujícím se věkem matky a to jak u lidí, tak u myši. Zahájení meiotického zrání je spojeno s aktivací cyklin-dependentní kinázy 1 (CDK1), což vede k rozpadu jaderné membrány. Kromě toho je pro správný průběh meiózy nezbytná regulace translace klíčových transkriptů. V této disertační práci jsou shrnuty poznatky ze čtyř vědeckých publikací.

Analyzovali jsme čas rozpadu jaderné membrány (NEBD) a vydělení prvního pólového tělíska u oocytů pocházejících od samic 2 rozdílných věkových kategorií: mladých (2 měsíce věku) a starých (12 měsíců věku). Zjistili jsme, že meiotické zrání u oocytů starých samic probíhá výrazně rychleji díky dřívější fosforylaci Laminu A/C, který je komponentem jaderné laminy, a rychlému rozpadu jaderného obalu. Mimo to oocyty starých samic vykazují unikátní charakteristické invaginace jaderné membrány a také signifikantně delší obvod jaderného obalu v porovnání s oocyty mladých samic. Tato data spolu se zvýšenou aktivitou CDK1 a Cyklinu B a také se zvýšenou translací faktorů účastnících se regulace translace naznačují, že oocyty starých samic procházejí předčasným meiotickým dělením, které může přispívat k chromozomálním chybám během meiózy I.

Pro zjištění vlivu funkce CDK1 během meiotického zrání jsme také objasnili úlohu cyklin-dependentní kinázy vázajícího proteinu 2 (CKS2). *Cks2*<sup>-/-</sup> myši obou pohlaví jsou neplodné a jejich oocyty a spermatocyty zastaví meiotické dělení v metafázi I. Tyto oocyty mají sníženou a zpožděnou aktivaci metafázi podporujícího faktoru (MPF), což vede ke zpoždění NEBD a poruchám v aktivaci anafázi podporujícího komplexu/cyklozomu (APC/C) a také k chybnému utváření meiotického vřeténka. U *Cks2*<sup>-/-</sup> zárodečných buněk je snižená exprese CDK1 a Cyklinů A1/B1.

Zjistili jsme že aktivní CDK1 fosforyluje a aktivuje protein „mammalian target of rapamycin“ (mTOR). Aktivita mTOR kinázy vede k hyperfosforylaci a inhibici translačního represoru 4E-BP1. Inaktivní 4E-BP1 je uvolněn z vazby s eukaryotním iniciačním faktorem 4E (eIF4E), který v tuto chvíli může formovat funkční iniciační komplex a cap-dependentní translaci může být zahájena. Tímto způsobem CDK1 ovlivňuje translaci RNA důležitých při zahájení meiózy. Kromě translace probíhající v oblasti vznikajícího meiotického vřeténka jsme pozorovali specifickou jadernou lokalizaci množství RNA před rozpadem jádra. Mimo RNA je v jádře uložen aktivní inhibitor cap-dependentní translace 4E-BP1 a také proteiny spojené s posttranskripčními modifikacemi mRNA (hnRNPA1 a eIF4A3). Jelikož je specifická lokalizace RNA předpokladem pro její následnou translaci, je pravděpodobné, že RNA uložená v jádře je translačně dormantní a následně dochází k její translaci po NEBD.

Tyto výsledky ukazují, že MPF je důležitým regulátorem mnoha procesů meiotického zrání. Také je potřebný pro úplnou aktivaci mTOR kinázy, která inhibuje represor cap-dependentní translace 4E-BP1. Inhibice 4E-BP1 probíhá po NEBD, kdy jsou původně dormantní RNA přístupné pro cap-dependentní translaci. Aberantní aktivita MPF, která se vyskytuje u oocytů starých samic nebo u oocytů s delecí *Cks2* může vést k nárůstu chromozomálních chyb během dělení, zpoždění průběhu meiotického zrání nebo k problémům s vydělením pólového tělíska. Naše zjištění přináší lepší porozumění molekulárním základům samičí/ženské reprodukční fyziologie a mohou najít uplatnění v dalším výzkumu či praxi.