

Disertační práce: Úloha Wnt signalizace v embryonální vývoj

Naoko Dupačová (Fujimura)

Abstrakt

Wnt signalizace hraje důležitou roli v mnoha vývojových procesech. Vazba ligandu Wnt na příslušné receptory následně aktivuje tři hlavní dráhy: kanonickou Wnt/ β -catenin signalizaci, která má za následek aktivaci β -catenin/Tcf zprostředkované genové exprese a nekanonické Wnt/PCP a Wnt/ Ca^{2+} dráhy. V této práci jsem se zaměřila na studium úlohy Wnt/ β -catenin signalizace během embryonálního vývoje, zejména v koncovém mozku (telencefalonu) a očích.

Wnt/ β -catenin signalizace je nezbytná pro zachování proliferace neurálních progenitorových buněk a pro dorzo-ventrální specifikaci koncového mozku. V této práci jsme se zabývali transkripčními cíly kanonické Wnt signalizace během tohoto procesu. Ukázali jsme, že výsledkem ektopické aktivace Wnt/ β -catenin signalizace je zvýšená exprese genu *Sp5*, který kóduje protein Sp5 z rodiny Sp1 transkripčních faktorů. Proximální promotor genu *Sp5* obsahuje pět Tcf/Lef vazebných míst, která zprostředkují přímou regulaci *Sp5* v důsledku kanonické Wnt signalizace. Dále jsme prokázali, že Sp5 funguje jako transkripční represor, mající stejnou DNA vazebnou specifitu jako Sp1, a tudíž potlačuje expresi Sp1 cílových genů, jako je *p21*. Došli jsme k závěru, že transkripční faktor Sp5 zprostředkovává efekt Wnt/ β -cateninové signalizace přímým potlačením Sp1 cílových genů.

Wnt/ β -catenin signalizace je velmi aktivní v dorzální oblasti pigmentového epitelu sítnice (RPE) během vývoje oka. Roli Wnt/ β -catenin signalizace ve vývoji RPE jsme studovali pomocí podmíněné inaktivace nebo ektopické aktivace Wnt/ β -catenin signalizace v RPE. Inaktivace Wnt/ β -catenin signalizace vedla k transdiferenciaci RPE na nervovou sítnici (neuroretina). Naproti tomu ektopická aktivace Wnt/ β -catenin signalizace vede k narušení patterningu RPE, což naznačuje, že přesná prostorová a časová regulace Wnt/ β -catenin signalizace je nezbytná pro normální vývoj RPE. Dále jsme prokázali, že *Otx2* a RPE-specifické izoformy *Mitf* jsou přímé transkripční cíle Wnt/ β -catenin signalizace, což vysvětluje zásadní roli Wnt/ β -catenin signalizace ve vývoji RPE zachováním nebo potlačením exprese genů *Mitf* a *Otx2*.

Dále jsme studovali roli Wnt/beta-cat signalizace během časného vývoje čočky. Jedním z předpokladů pro její normální vývoj je, potlačení Wnt/ β -catenin signalizace v periokulárním ektodermu. Přesný mechanismus této inhibice není znám. Ukazujeme, že Pax6 přímo řídí expresi několika Wnt inhibitorů jako *Sfrp1*, *Sfrp2*, a *Dkk1* při formaci čočky. V souladu s tímto tvrzením se ukázalo, že absence genu *Pax6* vede k abnormální aktivitě kanonické Wnt signalizace v budoucí čočce, která následně brání jejímu normálnímu vývoji. Z uvedeného vyplývá, že Pax6 je nezbytný pro potlačení kanonické Wnt signalizace při formování čočkového ektodermu.