

STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE

Klonowanie somatyczne ssaków stwarza ogromne możliwości praktyczne dla biomedycyny i biofarmacji (poprzez produkcję zwierząt transgenicznych oraz ich multiplikację), hodowli (poprzez powielanie zwierząt o wartościowych genotypach), a także dla ratowania ginących ras i gatunków. Jednak, wydajność somatycznego klonowania ssaków od 20 lat pozostaje na stałym, stosunkowo niskim poziomie, i - z reguły - nie przekracza 5%. Uważam, że zaproponowany w niniejszym projekcie kierunek badań, polegający na dokładnym zbadaniu morfologii, prawidłowego funkcjonowania i roli mitochondriów w rozwoju przed- i poimplantacyjnym klonowanych zarodków oraz uzyskanego potomstwa może przyczynić się do przełamania dotychczasowego impasu w efektywności klonowania ssaków.

Mitochondria odkrywają kluczową rolę w komórce i najważniejszą ich funkcją jest produkcja ATP, utrzymywanie homeostazy wapniowej, apoptoza, termogeneza oraz produkcja reaktywnych form tlenu. Mitochondria są niezwykle dynamicznymi organellami, które nieustannie podlegają procesom fragmentacji i fuzji co pozwala na wymianę zawartości macierzy mitochondrialnej (cząsteczek mitochondrialnego DNA, enzymów, lipidów czy metabolitów) i utrzymanie puli funkcjonalnych i „zdrowych” mitochondriów w komórce. Głównym białkiem zaangażowanym w proces fuzji jest - zakotwiczona w zewnętrznej błonie mitochondrialnej i kodowana przez gen jądrowy – mitofuzyna 2 (Mfn2). Białko to, co jest istotne dla proponowanego projektu, odgrywa kluczową rolę w rozwoju zarodkowym. Brak jest jednak danych naukowych, które pozwoliłyby zrozumieć funkcje mitochondriów w rozwoju klonowanych zarodków oraz urodzonych zwierząt.

Projekt ma kilka głównych zadań, które pozwolą udowodnić postawioną w nim hipotezę, że jednym z głównych powodów niskiej wydajności klonowania somatycznego są zaburzenia mitochondrialne, będące efektem nieprawidłowej ekspresji białek mitochondrialnych, głównie Mfn2. W projekcie badane będą bardzo dokładnie zarodki we wczesnym etapie rozwoju embrionalnego (stadium 2-4 komórkowe, blastocysty), komórki łożyska jak również zostaną wyprowadzone linie komórkowe z trofoblastu, łożyska i skóry potomstwa. Badania obejmować będą analizę mitochondriów pod kątem morfologicznym, organizacyjnym, aktywności i funkcjonalności, jak również ekspresji głównych białek mitochondrialnych i ścieżek przekazywania sygnałów, w które mitochondria są zaangażowane.

Projekt składa się z trzech głównych zadań badawczych: 1) Pierwszym zadaniem jest udowodnienie, że klonowane zarodki mają nieprawidłowo funkcjonujące mitochondria skutkiem zaburzonej ekspresji białka Mfn2. 2) Drugim będzie udowodnienie, że przywrócenie prawidłowej ekspresji białka Mfn2 pozwoli na zmniejszenie lub wyeliminowanie mitochondrialnych anomalii w zarodkach i komórkach łożyska. 3) W trzecim zadaniu, sprawdzone będzie jak zaburzenia w funkcjonowaniu mitochondriów wpływają na rozwój uzyskanego potomstwa oraz udowodnienie, iż przywrócenie prawidłowej ekspresji białka Mfn2 pozwoli na zwiększenie wydajności klonowania somatycznego ssaków.

Dokładne zbadanie funkcjonowania mitochondriów w rozwoju przed- i poimplantacyjnym klonowanych zwierząt zwiększy szansę uzyskania ich prawidłowego rozwoju. Dodatkowo, wyniki te potwierdzą zawarte w projekcie przypuszczenia, że istotną rolę w nieprawidłowym funkcjonowaniu mitochondriów w komórkach klonowanych zwierząt odgrywa nieprawidłowe przeprogramowanie genomu jądrowego. W dostępnej literaturze nie ma danych na temat oceny wpływu nieprawidłowego funkcjonowania mitochondriów na potencjał rozwojowy zarodków uzyskiwanych metodą klonowania somatycznego, co czyni ten projekt oryginalnym i nowatorskim.