

Rola aktywiny A w regulacji rozwoju przedimplantacyjnego zarodka ssaka

Rozwój zarodkowy ssaków jest procesem, w trakcie którego potencjał rozwojowy komórek ulega stopniowemu ograniczeniu. W wyniku zapłodnienia oocytu przez plemnik powstaje zygota, która przechodzi kolejne podziały mitotyczne zwane bruzdkowaniem. Powstające w ich wyniku komórki (blastomery) stopniowo tracą swe potencje rozwojowe, różnicując i tworząc pierwotne linie komórkowe, z których w dalszym rozwoju powstaną wszystkie tkanki płodu oraz błony płodowe i łożysko. W ten sposób powstaje blastocysta – pęcherzyk wypełniony płynem, którego ścianę tworzy pojedyncza warstwa ściśle przylegających do siebie komórek trofektodermi (TE, ang. *trophectoderm*), tworząca w trakcie dalszego rozwoju zarodkową część łożyska. Wewnątrz, na jednym z biegunów trofektodermi znajduje się grupa pluripotencjalnych komórek węzła zarodkowego (ICM, ang. *inner cell mass*), która początkowo zawiera wymieszane komórki prekursorowe dwóch linii komórkowych: pierwotnej endodermi (PE, ang. *primitive endoderm*) i epiblastu (EPI, ang. *epiblast*). Gdy blastocysta implantuje się w macicy, ma miejsce wyodrębnienie na powierzchni węzła zarodkowego warstwy pierwotnej endodermi, która następnie wejdzie w skład jednej z błon płodowych - pęcherzyka żółtkowego. Z kolei, pomiędzy pierwotną endodermą a trofektodermą lokalizuje się pluripotencjalny epiblast, stanowiący materiał na ciało płodu i większość błon płodowych.

Wiadomo, że przedimplantacyjny zarodek ssaka, w odróżnieniu od zarodków innych kręgowców, a także bezkręgowców, charakteryzuje się bardzo dużą zdolnością do regulacji własnego rozwoju w odpowiedzi na eksperymentalną zmianę liczby i pozycji tworzących go komórek. Komórki zarodka komunikując się ze sobą "wyczuwają" ten nadmiar lub niedobór i wykorzystują różne strategie, aby się dostosować i kontynuować z powodzeniem dalszy rozwój. Komunikacja ta polega na wysyłaniu informacji w postaci wydzielanych białek, które łącząc się ze swoimi receptorami na powierzchni sąsiednich komórek kierują je na drogę różnicowania w konkretną linię komórkową. Wiedza ta znalazła zastosowanie m.in. w klinikach zapłodnienia *in vitro*, w których wykorzystuje się diagnostykę preimplantacyjną do badania genetycznego zarodków przed przeniesieniem ich do macicy przyszłej matki, a także pomogła wyjaśnić przyczyny powstawania ciąży bliźniaczych jednojajowych, które są wynikiem podziału jednej zapłodnionej komórki jajowej na dwa odrębne zarodki. Pomimo wielu dowodów na regulacyjny charakter rozwoju zarodków ssaków, mechanizmy odpowiedzialne za ten fenomen nie są do końca poznane. Jedną ze ścieżek sygnalizacyjnych potencjalnie zaangażowanych w regulację rozwoju zarodka myszy (i innych ssaków) może być ścieżka aktywiny A, białka należącego do rodziny TGF β (ang. *transforming growth factor*). Względnie dobrze poznana jest rola ścieżki aktywowanej przez to białko w rozwoju poimplantacyjnym zarodka myszy. Jednakże, pomimo obecności jej komponentów już w przedimplantacyjnym zarodku, jej znaczenie w tym wczesnym okresie embriogenezy nie jest znane.

Celem proponowanego projektu jest zbadanie, czy aktywina A odgrywa rolę w tworzeniu i segregacji linii komórkowych w zarodku ssaka, gwarantując powstanie prawidłowej blastocysty zdolnej do implantacji. W tym celu planujemy sprawdzić, jakie będą konsekwencje rozwojowe całkowitego braku genu kodującego interesujące nas białko. Planujemy również zbadać, czy komórki w zarodku komunikują się za pośrednictwem aktywiny A oraz czy w komunikacji tej oprócz aktywiny A bierze udział również ścieżka sygnalizacyjna Fgf4/MAPK (ang. *fibroblast growth factor/mitogen-activated protein kinase*). Aby to sprawdzić, chcemy eksperymentalnie zaburzyć interakcje między komórkami, wprowadzając zarodkowe komórki macierzyste, które produkują i wydzielają Fgf4 i aktywinę A, lub pozbawionych genu kodującego Fgf4, do 8-komórkowych zarodków myszy, a następnie hodując je w pożywce zawierającej specyficzne inhibitory, które dzięki zablokowaniu receptorów jednej lub obu ścieżek jednocześnie, uniemożliwiają odebranie wysyłanego sygnału. Oczekujemy, że brak tej komunikacji będzie skutkował zaburzeniami w formowaniu blastocysty.

Ponieważ ostatnie badania molekularne ujawniły nieoczekiwane różnice między różnymi gatunkami ssaków i wzbudziły obawy dotyczące zakresu, w jakim badania prowadzone na myszy, będącej modelowym ssakiem, można odnieść do człowieka, postanowiliśmy rozszerzyć nasze badania również na inny model badawczy, niebędący gryzoniem (królik).

Wyniki naszych doświadczeń pozwolą nie tylko na poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów kontrolujących losy komórek w zarodku ssaków, odpowiedzialnych za ich niezwykle zdolności regulacyjne, ale mogą również dać podstawy do optymalizacji technik wspomaganego rozrodu u człowieka oraz techniki tworzenia zwierząt transgenicznych.