

Cel projektu

Badania procesów kierujących powstawaniem i rozwojem komórek płciowych jest kluczowe dla zrozumienia przyczyn niepłodności stanowiącej ważny problem medyczny we współczesnym świecie. Wykryliśmy mutację genu *NANOS1* u niepłodnych mężczyzn charakteryzujących się brakiem komórek płciowych w jądrach. Pokazaliśmy, że powstałe nieprawidłowe białko NANOS1 powodowało obniżenie liczby komórek TCam-2, naśladujących męskie komórki płciowe, aż o około 50%. Wynik ten był zgodny z obserwowanym brakiem komórek płciowych w jądrach pacjentów. Ponadto, nieprawidłowe białko NANOS1 stymulowało zaprogramowaną śmierć komórki, zwaną apoptozą. Wzmocnienie apoptozy przez nieprawidłowe białko NANOS1 mogłoby stanowić jeden z mechanizmów przyczyniających się do obniżenia liczby komórek płciowych w jądrach pacjentów. Te wstępne wyniki stanowią cenną wskazówkę, że białko NANOS1 jest istotne dla prawidłowego funkcjonowania komórek płciowych oraz płodności człowieka. Ponadto, NANOS1 oddziałuje z cząsteczkami RNA kodującymi białka oraz kilkoma białkami. W dodatku, w nieprawidłowym białku NANOS1 zaburzone zostaje oddziaływanie z białkiem GEMIN3. Stąd ogólnym celem tego projektu jest uzyskanie możliwie najszerszego wglądu w kontrolowane przez białko NANOS1 interakcje RNA/białka oraz ich dynamikę w czasie powstawania oraz we wczesnych etapach rozwoju komórek płciowych. Równoległe do prawidłowego będziemy badać białko zmutowane, pochodzące od niepłodnych pacjentów. Oczekujemy, że porównanie funkcjonowania prawidłowego białka ze zmutowanym, pozwoli nam dostrzec procesy najważniejsze dla powstawania i wczesnego rozwoju męskich komórek płciowych.

Planowane badania

Biorąc pod uwagę zdolność białka NANOS1 wiązania się z innymi białkami oraz cząsteczkami RNA, planujemy badać powyższe procesy po pierwsze, poprzez identyfikację białek a po drugie cząsteczek RNA które z białkiem NANOS1 oddziałują. Jednak z powodów etycznych nie jest możliwe wykonanie badań u człowieka a tym mniej we wczesnych ludzkich embrionach, w których powyższe procesy mają miejsce. Z tych powodów zastosujemy dwa modele ludzkich komórek, które są reprezentatywne dla procesu powstawania oraz wczesnych etapów rozwoju ludzkich komórek płciowych. Jeden z nich to posiadane przez nas embrionalne komórki macierzyste (hESCs) rosnące w naczyniu które poddamy różnicowaniu, by uzyskać 3 jedno po drugim wczesne stadia rozwojowe komórek płciowych. Drugi model to używane od lat w naszym laboratorium komórki TCam-2, które reprezentują nieco późniejsze, choć nadal wczesne stadium, jednak już zdeterminowane jako męskie, nazwane stadium 4. Zastosujemy najbardziej nowoczesną metodologię by zidentyfikować wszystkie cząsteczki RNA z którymi wiąże się prawidłowe oraz nieprawidłowe białko NANOS1 w poszczególnych stadiach różnicowania. Podobnie w następnym etapie projektu, również z zastosowaniem najbardziej nowoczesnych metod, przeprowadzimy identyfikację białek, wiążących się z prawidłowym oraz nieprawidłowym białkiem NANOS1. Być może owe białka będą specyficzne dla poszczególnych stadiów rozwojowych komórek płciowych. Dane uzyskane z tych badań będą użyte do zbudowania siedzi oddziaływań białek i RNA (tzw. interaktomu RNP) kontrolowanego przez białko NANOS1, przy zastosowaniu odpowiednich programów bioinformatycznych. Poznanie struktury takiego interaktomu będzie pomocne by ocenić potencjalne współzależności funkcjonalne budujących ją elementów. Oczekujemy, że interaktom zbudowany na bazie prawidłowego białka NANOS1 będzie odmienny od utworzonego na bazie nieprawidłowego białka NANOS1 a także odmienny dla różnych stadiów rozwojowych komórek płciowych. Na koniec, najbardziej obiecujące elementy interaktomu, np. wybrane białka kodowane przez wiążące się z NANOS1 mRNA będą sprawdzone, czy rzeczywiście ich ilość w komórce jest kontrolowana przez białko NANOS1. Taka zależność będzie w kolejnym etapie analizowana pod kątem wpływu na takie procesy jak, podział komórki, apoptoza lub inne, które mogłyby tłumaczyć brak komórek płciowych w jądrach niepłodnych mężczyzn w których funkcjonuje nieprawidłowe białko NANOS1.

Uzasadnienie celowości prowadzenia powyższych badań

Niepłodność dotyka około 15% par w różnych częściach świata. defekty genetyczne są przyczyną 15-30% przypadków niepłodności mężczyzn. Niepłodność męska jest ponadto czynnikiem ryzyka dla nowotworu jądra wywodzącego się z komórek płciowych, na wczesnym etapie ich rozwoju (TGCT). Oczekujemy, że przedstawiony plan badań pozwoli nam na dokonanie głębokiego wglądu w procesy którymi kieruje białko NANOS1. Ciężki defekt płodności z którym mamy tutaj do czynienia, tzn. całkowity brak komórek płciowych w jądrach pacjentów, pozwala przypuszczać, że procesy kontrolowane przez białko NANOS1 są kluczowe dla płodności. W ramach tego projektu zidentyfikujemy zaangażowane w te procesy cząsteczki RNA oraz białka. Ich poznanie może posłużyć wypracowaniu lepszych narzędzi diagnostycznych w badaniu par, które nie mogą uzyskać potomstwa. Oczekujemy, że wyniki naszych badań będą również wartościowe dla przyszłych terapii niepłodności. Mamy nadzieję, że również rzucą światło na mechanizmy, które powodują rozwój nowotworów jąder u niepłodnych mężczyzn. Byłoby to szczególnie cenne wobec coraz częstszego występowania tych nowotworów u mężczyzn w wieku rozrodczym.