

Analiza prędkości ruchu cytoplazmy jako narzędzie do oceny jakości cytoszkieletu aktyno-miozynowego w oocyty ssaka

Niepłodność nie jest już problemem rodem z dystopijnego science-fiction, a stała się globalnym kryzysem. Technologie wspomaganego rozrodu (ang. *assisted reproductive technologies*, ART) mogą pomóc przeciwdziałać następstwom zmian stylu życia we współczesnym świecie, takich jak opóźniający się wiek rodzicielski i związany z tym spadek płodności. Zapłodnienie *in vitro* (ang. *in vitro fertilization*, IVF) stało się jedną z najważniejszych procedur leczenia niepłodności. Pomimo ostatnich postępów zwiększających skuteczność IVF do nawet 55% u pacjentek w wieku poniżej 35 lat, efektywność IVF jest nadal uderzająco niska u kobiet w wieku powyżej 40 lat, osiągając mniej niż 18%. Techniki wspomaganego rozrodu są również coraz częściej stosowane w medycynie weterynaryjnej do wspomaganego rozrodu zwierząt gospodarskich i zwierząt zagrożonych wyginięciem. Chociaż rocznie produkuje się ponad milion krowich zarodków, uzyskiwanie zarodków końskich lub owczych nadal ma ponad czterystukrotnie niższą skuteczność. Przemysł ART wciąż wymaga rozwoju i optymalizacji procedur, dlatego też naukowcy stale poszukują nowych sposobów na ulepszenie procedur selekcji komórek jajowych (oocytów) i zarodków w celu zwiększenia sukcesu reprodukcyjnego. Sukces ART, zarówno w przypadku leczenia niepłodności u ludzi, jak i hodowli zwierząt gospodarskich czy ratowania zagrożonych wyginięciem gatunków, jest często związany z jakością oocytów wybranych do procedur, dlatego też potrzebne są skuteczne metody oceny jakości gamet. Naszymi badaniami chcemy przyczynić się do rozwoju ART i przetestować prostą, nieinwazyjną metodę oceny jakości oocytów, opartą na właściwościach cytoszkieletu aktyno-miozynowego.

Cytoszkielet odgrywa kluczową rolę w wielu procesach, takich jak segregacja chromosomów, podział komórkowy i transport organelli, z których każdy jest niezbędny dla postępu cyklu komórkowego. Aktyno-miozyna to kompleks białkowy złożony z cząsteczek aktyny i miozyny, który jest odpowiedzialny za kurczliwość komórek. Rozległa sieć białek regulatorowych wchodzi w interakcje z aktyno-miozyną, kontrolując funkcjonowanie, kształt i elastyczność komórki. Cytoszkielet aktyno-miozynowy w oocytach może ulec uszkodzeniu z powodu starzenia się, zarówno matczynego (tj. wieku matki), jak i poowulacyjnego (tj. przedłużonego okresu między owulacją a zapłodnieniem), a także procedur związanych z ART, takich jak krioprezerwacja i, potencjalnie, dojrzewanie oocytów w warunkach *in vitro*. Uszkodzenia cytoszkieletu mogą być częściowo spowodowane przez szkodliwe modyfikacje białek, powstające w wyniku stresu oksydacyjnego. Jakość cytoszkieletu może być odzwierciedlona przez właściwości biomechaniczne oocyty lub zarodka, co można zbadać poprzez analizę prędkości ruchu cytoplazmy (CMV). Według naszej wiedzy, dotychczas nikt nie zastosował tej techniki do oceny jakości niezapłodnionych dojrzałych oocytów. Nasze wstępne dane sugerują, że dynamika ruchu cytoplazmy jest zaburzona w oocytach poddanych starzeniu matczynemu i poowulacyjnemu, w porównaniu ze świeżo owulowanymi oocytami pobranymi od młodych myszy.

Proponowany projekt ma na celu weryfikację następujących hipotez: (1) analiza CMV odzwierciedla jakość cytoszkieletu aktyno-miozynowego w oocytach dojrzałych i niedojrzałych, a także w oocytach o zaburzonych kompetencjach rozwojowych (np. poddanych krioprezerwacji, dojrzewaniu *in vitro* czy starzeniu); (2) analiza CMV może być zastosowana do oceny jakości oocytów przed ich zapłodnieniem, co pozwoli na przewidywanie jego skuteczności.

W naszych badaniach wykorzystamy współczesne techniki biologii komórki, m.in. przyżyciowe filmowanie oocytów, pomiar ich właściwości biomechanicznych czy fluorescencyjne znakowanie białek cytoszkieletu. Planujemy skorelować CMV w oocytach z ich sukcesem rozwojowym po zapłodnieniu. Zbadamy również, w jaki sposób różnorodne pochodzenie oocytów (np. starzenie) i działania związane z ART (krioprezerwacja, dojrzewanie *in vitro*) wpływają na budowę cytoszkieletu aktyno-miozynowego i właściwości biomechaniczne oocyty, w tym CMV. W końcu, jako pierwsi zbadamy wpływ oksydacyjnych uszkodzeń białek na właściwości biomechaniczne oocyty. Nasz projekt może stanowić podstawę do dalszych badań nad mechanizmami usuwania uszkodzonych białek z komórki i poszerzyć repertuar technik selekcji oocytów stosowanych w medycynie reprodukcyjnej i weterynaryjnej, przyczyniając się do optymalizacji procedur ART.