

Rozmnażanie płciowe wymaga powstania haploidalnych gamet – plemników i komórek jajowych – podczas procesu zwanego gametogenezą. Komórki te łączą się tworząc zygotę, która rozwija się w zarodek i nowy organizm. Zwierzęta wytwarzają plemniki w męskich gonadach (jądrach), które są następnie transportowane do najądrzy. **Dojrzałe najądrze** u ssaków jest podzielone na kilka anatomicznych segmentów. Początkowy odcinek najądrza to luźno zwinięty kanalik o dużej średnicy i małej liczbie plemników. Komórki nabłonkowe w tym segmencie są wydłużone i posiadają duże mikrokosmki. Głowa najądrza charakteryzuje się wąską średnicą, która powiększa się (podobnie jak liczba plemników) w obrębie kolejnych segmentów – trzonu i ogona najądrza. Różne typy komórek nabłonka w tych segmentach są odpowiedzialne za tworzenie mikrośrodowiska, które sprzyja dojrzewaniu plemników (w głowie i trzonie), a następnie ich przechowywaniu (w ogonie). Utworzenie unikalnego mikrośrodowiska w poszczególnych segmentach najądrza bazuje na zróżnicowanej aktywności endocytarnej i egzocytarnej wyspecjalizowanych komórek **nabłonka najądrza**.

Wciąż niewiele wiadomo na temat mechanizmu molekularnego, który kontroluje te uzupełniające się szlaki transportu komórkowego w komórkach nabłonkowych najądrza. Od dawna wiadomo, że **cytoszkielet aktynowy** wraz z białkami wiążącymi aktynę odgrywa ważną rolę w specjalizacji i funkcjonowaniu różnych komórek i tkanek. Filamenty aktynowe uczestniczą w utrzymaniu komunikacji międzykomórkowej, która warunkuje morfologię i integralność tkanek. Także kształt komórek i rozwój wyspecjalizowanych cech, takich jak mikrokosmki czy stereocilia w domenie wierzchołkowej komórek nabłonka, wymaga polimeryzacji aktyny. Jednym z białek zaangażowanych w organizację i dynamikę aktyny w spolaryzowanych nabłonkach u ssaków jest **miozyna VI (MYO6)**. To unikalne białko motoryczne cytoszkieletu aktynowego jest niezbędne dla prawidłowej struktury komórek włoskowatych w uchu wewnętrznym, ponieważ mutacja w genie *Myo6* u myszy Snell's waltzer prowadzi do głuchoty. Myszy te wykazują także inne defekty, takie jak zaburzenie morfologii aparatu Golgiego, obniżona sekrecja, wadliwa endocytoza i upośledzona morfologia rąbka szczoteczki enterocytów i neuronów hipokampu. Jak dotąd, nie potwierdzono udziału MYO6 w funkcjonalnej organizacji spolaryzowanego nabłonka najądrza. Jednak niedawno wykazaliśmy, że brak ekspresji MYO6 u myszy Snell's waltzer prowadzi do zaburzeń podczas spermiogenezy i spermacji, a defekty strukturalne w rozwijających się spermatydach mają wpływ na zmniejszenie liczby plemników i płodność samców. Możliwe, że obniżona płodność samców myszy Snell's waltzer może być również wynikiem upośledzonego dojrzewania plemników w najądrzach.

Dlatego **głównym celem projektu** jest określenie potencjalnej roli MYO6 w funkcjonalnej organizacji nabłonka najądrza u myszy. Podczas badań porównawczych u samców myszy kontrolnych i mutantów Snell's waltzer zamierzamy odpowiedzieć na następujące pytania: Czy ekspresja i wzorzec lokalizacji MYO6 różni się w różnych segmentach najądrza? Czy brak MYO6 wpływa na strukturę i skład molekularny nabłonka najądrza? Jaka jest główna funkcja MYO6 podczas dojrzewania plemników w najądrzu? **Postulujemy**, że MYO6 może uczestniczyć w funkcjonalnej organizacji nabłonka najądrza na różne sposoby. Po pierwsze, może być zaangażowana w transport pęcherzyków z kompleksu Golgiego do światła najądrza lub dojrzewających plemników oraz odgrywać bardzo specyficzne role podczas endocytozy z domeny wierzchołkowej komórek nabłonka. Oprócz roli transportowej, MYO6 może kotwiczyć błonę apikalną komórek nabłonka w cytoszkielecie aktynowym, wspierając w ten sposób organizację spolaryzowanych komórek nabłonka najądrza. Wówczas byłaby elementem strukturalnym zapewniającym integralność specyficznych kompleksów białkowych odpowiedzialnych za utrzymanie unikalnej architektury nabłonka najądrza.

Proponowany projekt badawczy obejmuje prace eksperymentalne na poziomie tkankowym, komórkowym i molekularnym z wykorzystaniem szerokiego spektrum metod histo/cytochemicznych, immunohisto/cytochemicznych, biochemicznych i technik biologii molekularnej, takich jak hybrydyzacja fluorescencyjna *in situ* (FISH), znakowanie immunofluorescencyjne w połączeniu z barwieniem F-aktyny, mikroskopia konfokalna/wysokorozdzielcza mikroskopia fluorescencyjna STED skrawków mrożeniowych, znakowania immunozłotowe przy użyciu transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) oraz ultrastrukturalne analizy. Wysokorozdzielcza mikroskopia STED lub TEM zostanie wykorzystana głównie do przeprowadzenia ko-lokalizacji (współwystępowania) określonych kompleksów białkowych tworzonych z MYO6 w różnych segmentach i komórkach nabłonka najądrza. Proponowany projekt jest **innowacyjny**, ponieważ dostarczy **nowych danych** na temat funkcji MYO6 w spolaryzowanych nabłonkach ssaków. Ponadto, może pomóc w zrozumieniu przyczyn męskiej płodności w kontekście antykoncepcji i diagnostyki niepłodności.