Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie

Tereza Kubíková

Ribozomy během vývoje savčího oocytu a embrya

Ribosomes during development of oocyte and embryo in mammals

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Denisa Jansová, Ph.D.

Praha, 2024

Poděkování

Nejprve bych chtěla poděkovat své školitelce Denise Jansové, Ph.D. za vedení práce a poskytnutí užitečných rad. Taktéž za trpělivost a čas, který konzultacím a práci věnovala. Další velké poděkování patří celé mé rodině, která mě při studiu neustále podporovala, blízkým přátelům a mé nejlepší kamarádce.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 8. 8. 2024

Podpis

……

Tereza Kubíková

Abstrakt

Ribozomy jsou buněčné organely, které jsou naprosto klíčové pro tvorbu proteinů. Bezchybná proteosyntéza je současně základním faktorem pro regulaci genové exprese, která je mimo jiné podstatná i pro vývoj savčího oocytu a následně embrya. Existuje mnoho mechanismů regulujících celý tento proces, aby došlo k jeho přizpůsobení konkrétním fyziologickým potřebám buňky. Použitím nových přístupů se podařilo odhalit, že se ribozomy mezi sebou vyznačují svou významnou heterogenitou a také heterogenitou ribozomálních proteinů, která jim umožňuje překlad některých specifických maternálních mRNA. Translace maternálních mRNA je významná pro zrání a vývoj oocytu a embrya.

Cílem této bakalářské práce je shrnout a popsat dosavadní poznatky týkající se specializovaných ribozomů a ribozomálních proteinů a jejich roli v savčím oocytu a embryu.

Klíčová slova

Ribozomy, vývoj oocytu, embryogeneze, místně specifická translace, ribozomová heterogenita, specializované ribozomy

Abstract

Ribosomes are subcellular components that play a key role in protein synthesis. The precise and error-free process of protein synthesis is a critical determinant of gene expression and is indispensable for normal mammalian oogenesis and subsequent embryonic development. Many regulatory mechanisms are known to control this process and adapt it to particular physiological needs of the cell. Through using new methods, it has been discovered that ribosomes represent heterogeneous population and also contain many heterogeneous ribosomal proteins. That is what allows them to translate specific maternal mRNAs. Translation of maternal mRNAs is significant for oocyte and embryo maturation and development.

The aim of this bachelor thesis is to summarize and describe existing knowledge concerning specialized ribosomes and ribosomal proteins and determine their role in mammalian oocytes and embryos.

Key words

Ribosomes, oocyte development, embryogenesis, localized translation, ribosome heterogenity, specialized ribosomes

Seznam zkratek

ADP	Adenosindifosfát
AML	Akutní myeloidní leukémie
ATP	Adenosintrifosfát
cAMP	Cyklický adenosin monofosfát
CB	Cystoblast
CPL	*Cytoplasmic lattice-like structures*; cytoplasmatické struktury podobné mřížce
CTA	*Chromosomal translational area*; chromozomální translační oblast
DBA	Diamond-Blackfanovu anémii
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
elF4F	Eukaryotický translační iniciační faktor 4F
ER	Endoplazmatické retikulum
ERK	*Extracellular Signal-Regulated Kinase*; kináza regulovaná extracelulárními signály
ES	*Expansion segment*; segment expanze
FMRP	Protein mentální retardace způsobené fragilním X chromozomem
GSC	Zárodečná kmenová buňka
GTP	Guanosintrifosfát
GV	*Germinal vesicle*; germinální váček
GVBD	*Germinal vesicle breakdown*; rozpad germinálního váčku
LH	Luteinizační hormon
MAPK	*Mitogen-Activated Protein Kinase*; protein kináza aktivovaná mitogeny
MARDO	*Mitochondria-associated ribonucleoprotein domain;* mitochondrií asociovaná ribonukleoproteinová doména
MDS	Myelodysplastický syndrom
Met-tRNA	Methionyl-tRNA
MI	První meiotické dělení
MII	Druhé meiotické dělení
MTOC	Mikrotubulární organizační centrum
mTOR	*Mammalian target of rapamycin*; savčí cíl rapamycinu
NEBD	Rozpad jaderného obalu
NOP56	Nukleolární protein 56
NSN	Neobklopené jadérko
PGC	Primordiální zárodečná buňka
PI3K-AKT-mTOR	Fosfatidylinositol-3kináza – protein kináza B – savčí cíl rapamycinu; signální dráha

PKM	Pyruvát kináza M
POF	Předčasné ovariální selhání
POLR1C/D	RNA polymeráza I a III podjednotka C/D
pre-rRNA	Prekurzor ribozomální RNA
PTA	*Perispindular translational area,* perispindulární translační oblast
RACK1	Receptor pro aktivovanou C kinázu 1
RAN	Ras-příbuzné nukleární proteiny
RB	Ribozomální protein
RBP	RNA-vázající protein
RMRP	*RNA component of mitochondrial RNA processing endoribonuclease*. RNA složka mitochondriální RNA zpracovávající endonukleáza
RNA	Ribonukleová kyselina
RNP	Ribonukleoproteinový komplex
ROS	Reaktivní kyslíkové radikály
RPL	Ribozomální protein velké podjednotky
RPS	Ribozomální protein malé podjednotky
rRNA	Ribozomální RNA
SBDS	Shwachman-Bodian-Diamond syndrom gen
SDS	Shwachman-Diamondův syndrom
SHB	*Src homology 2 domain-containing adapter protein B*, Src homolog 2 doménu obsahující adapterová protein B
SN	Obklopené jadérko
snoRNP	Malé jaderkové ribonukleoproteiny
TCOF1	*Treacle Ribosome Biogenesis Factor 1*
TCS	Treacher-Collinsův syndrom
tRNA	Transferová RNA

Obsah

Úvod 1
1. Savčí oocyt a embryogeneze 2
1.1. Vývoj oocytu *mus musculus* 3
1.2. Fertilizace a embryogeneze *mus musculus* 4
2. Role ribozomů a translace 6
2.1. Ribozomy a obecná struktura 7
2.2. Ribozomopatie u člověka 9
2.3. Místně specifická translace v savčím oocytu 10
3. Heterogenita ribozomů, teorie specializovaných ribozomů 13
3.1. Heterogenita na úrovni proteinů 14
3.1.1. Proteiny asociované s ribozomy 15
3.1.2. Specializované ribozomy v savčím oocytu a embryu 17
3.1.2.1. Ribozomální protein S26 (RPS26) 17
3.1.2.2. Ribozomální protein S6 (RPS6) 17
3.1.2.3. Ribozomální protein L38 (RPL38) 18
3.1.2.4. Ribozomální protein L10 (RPL10) 19
Závěr 20
Seznam použité literatury 21

Úvod

Tato bakalářská práce se zaměřuje na ribozomy a jejich spojitost s vývojem savčího oocytu a embrya. Práce je členěna na tři hlavní kapitoly. Z nichž první kapitola poskytne důležitý úvod k savčím pohlavním buňkám – oocytům, jejich maturaci, fertilizaci a přechodu do rané embryogeneze.

Druhá kapitola se věnuje ribozomům, jakožto velkým buněčným komplexům makromolekul, jejichž hlavní funkcí je regulace proteosyntézy v buňce. Jsou složené z rRNA a ribozomálních proteinů. K tomu interagují při průběhu proteosyntézy se spoustou ne-ribozomálních faktorů např. mRNA, tRNA a RNA vazebnými proteiny (Green a Noller 1997). Translační kapacita dané buňky je významně regulována například ze strany ribozomální biogeneze, a to se odráží na růstu buňky (Warner 1999; Granneman a Tollervey 2007). Přestože ribozomy byly objeveny už v 50. letech 20. století (Palade 1955), jsou tedy zkoumány už několik desítek let, tak se stále najdou neobjasněné informace v rámci jejich působení právě v savčích oocytech. Druhá kapitola se dále bude soustředit na tzv. lokalizovanou translací, což je mechanismus, který umožňuje časovou a prostorovou produkci specifických proteinů, což se ukazuje jako zásadní proces pro dozrávání oocytu a pro následnou časnou embryogenezi (Susor et al. 2016).

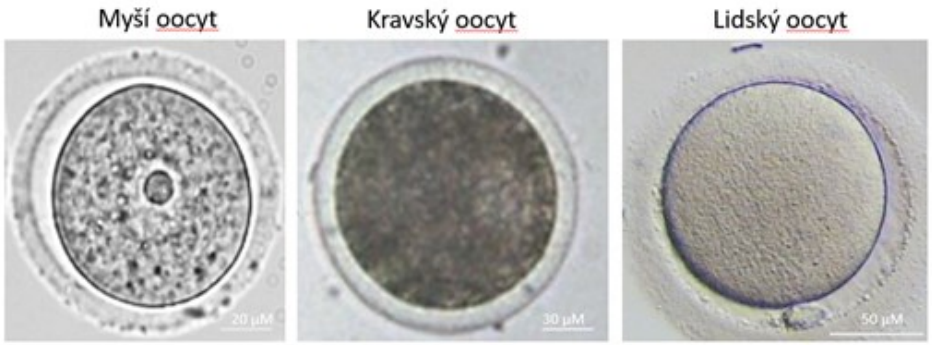
Finální třetí kapitola objasní odhalení značné heterogenity u ribozomů. Ta se může projevit hned na několika úrovních – v rámci ribozomálních proteinů, rRNA, složení ribozomálních komplexů, specificitě ribozomů (Li a Wang 2020). Zkoumané budou specializované ribozomy, jelikož mají významnou roli zejména v procesech embryogeneze, spermatogeneze, oogeneze, neurogeneze nebo rozvržení tělního plánu (Norris et al. 2021).

V neposlední řadě se ve třetí kapitole práce budou zkoumat čtyři příklady kandidátních ribosomálních proteinů, konkrétně ribozomálního proteinu S26, S6, L38 a L10 a jejich vlivu v rámci oogeneze a embryogeneze u myši domácí (*mus musculus*).

1. Savčí oocyt a embryogeneze

Oocyty jsou samičími pohlavními buňkami, takzvanými samičími gametami. Jedná se o buňky, které jsou nesmírně důležité, protože po fertilizaci samčí gametou (spermií) dávají v procesu embryogeneze vzniku novému jedinci (Duncan et al. 2020). Oocyty jsou poměrně specifické pro každého savce (tedy species specific cells). Stejně tak je pro jednotlivé savce velmi specifická celá reprodukční fyziologie. Velké a dobře patrné rozdíly můžeme nacházet například mezi člověkem, myší a krávou (viz obrázek 1) (Betteridge a Rieger 1993; Ménézo a Hérubel 2002). Jeden z hlavních rozdílů je například ve velikosti zralého oocytu. Ta se u myší pohybuje přibližně kolem 80 μm (Santos et al. 2014a), u krávy ideálně nad 115-120 μm (Hazeleger et al. 1995)a u člověka kolem 110 μm (Gougeon 1986).

Dalším důležitým rozdílem je doba zrání oocytu u jednotlivých savců. Například u myší trvá oogeneze pouze několik týdnů, kdežto u krav a u člověka až několik měsíců. Finální maturace (tedy obnovení meiotického dělení v období ovulace, popřípadě fertilizace) poté trvá u myší asi 14 hodin, u krav 20-24 hodin a u člověka 24-40 hodin. Samozřejmě i v samotném procesu oogeneze a finální maturace jsou mezi jednotlivými savci určité odlišnosti. Jde například o konkrétní chromatinovou konfiguraci ve stádiu označovaném jako germinal vesicle (GV). Následně dochází ke germinal vesicle breakdown (GVBD) nutnému k průběhu syntézy určitých proteinů. Jedním z posledních významných rozdílu mezi savci je odlišně probíhající časná embryogeneze, a tedy zejména trvání jejích jednotlivých fází (Santos et al. 2014b). U myší dochází k fertilizaci oocytu běžně do 5 hodin od ovulace. Maximálně však k fertilizaci dochází přibližně do 12 hodin (McGaughey et al. 1968). U člověka by mělo dojít k fertilizaci maximálně do 24 hodin od ovulace. Stádium moruly vzniká přibližně během 4. dne. Navazuje stádium blastocysty vznikající v průběhu 5. dne (Khan a Ackerman 2023). U krav by mělo dojít k fertilizaci oocytu nejlépe do 4-12 hodin od ovulace (Bombardelli et al. 2016).



Obrázek 1: Porovnání savčích oocytů (převzato z archivu Dr. Jansové)

1.1. Vývoj oocytu *mus musculus*

Vývoj savčího oocytu je zahájen v rané embryogenezi organismu formací tzv. primordiálních zárodečných buněk (PGC), které následně migrují z vrstvy proximálního epiblastu do oblasti genitální rýhy. Zárodečné buňky se mitoticky dělí a postupně také diferencují v primární oocyty. Ty jsou dále postupně obaleny vrstvou folikulárních buněk a následně také kumulárními buňkami (cumulus oophorus). Celý útvar se obecně označuje jako folikul. V první fázi jde konkrétně o primordiální folikul, jenž postupně dozrává až do antrálního folikulu. Celý tento vývoj probíhá v ováriích (Grover et al. 2018).

Samotný oocyt vstupuje celkem do dvou cyklů meiotického dělení, každopádně ani jeden z těchto cyklů není plynule dokončen. Dochází totiž k tzv. "meiotic arrests", kdy je meiotické dělení na nějakou dobu pozastaveno. Druhé meiotického dělení je navíc dokončeno až po fertilizaci oocytu. Do prvního meiotického dělení (MI) vstupuje primární oocyt již prenatálně. Na počátku dochází v oocytu nejprve k replikaci jeho DNA a až následně může vstoupit do jednotlivých fází MI (profáze 1, metafáze 1, anafáze 1, telofáze 1). Profáze 1 se dělí celkem do 5 stádií (leptotene, zygotene, pachytene, diplotene, diakineze) podle toho, jak jsou chromozomy v oocytu kondenzovány a co se s nimi děje. Jak již bylo zmíněno, tak konkrétně diplotenní stádium profáze 1 není dokončeno a nastává arrest, který přetrvává až postnatálně do pohlavní dospělosti (Nikolic et al. 2016). Zastavení vývoje oocytu je umožněno díky udržování zvýšené hladiny cAMP uvnitř oocytu. Samotné cAMP je pravděpodobně produkováno zejména buňkami granulózy, které obklopují oocyt. Existuje však i hypotéza, že je cAMP částečně produkováno i samotným oocytem, jenž obsahuje všechny komponenty potřebné pro jeho tvorbu (Sen a Caiazza 2013).

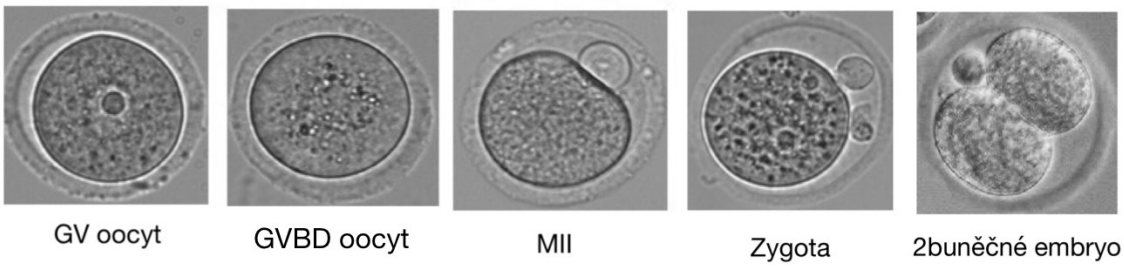
V okamžiku dosažení pohlavní dospělosti dojde ke zvýšení hladiny luteinizačního hormonu (LH), což má vliv na pokles množství cAMP uvnitř oocytu. Pokles cAMP umožní pokračování meiotického dělení. Dochází tedy k tzv. germinal vesicle breakdown (GVBD), což je hlavní marker obnovení meiózy (viz obrázek 2). Následně je dokončeno poslední stádium profáze 1 a oocyt pak přechází do metafáze 1, kde jsou jednotlivé páry homologních chromozomů připojeny na tubuly dělícího vřeténka. V anafázi 1 dochází k rozdělení homologních chromozomů, které jsou stále dvouchromatidové. Jednotlivé homologní chromozomy jsou přitahovány pomocí dělícího vřeténka k opačným pólům buňky, kde vznikají v telofázi 1 nová haploidní dceřiná jádra a následně po rozdělení cytoplazmy i haploidní dceřiné buňky, jejichž jádra stále obsahují dvouchromatidové chromozomy. V průběhu MI vzniká také první pólové tělísko (Sen a Caiazza 2013). Vlivem hormonálních změn dochází k ovulaci, při

níž je oocyt uvolněn z folikulu a přechází vejcovodem postupně do dělohy a následně buď dochází k jeho oplodnění a usídlení v děloze, nebo je oocyt vypuzen z těla ven. Současně vstupuje oocyt v době ovulace do druhého meiotického dělení (MII). Těsně před tím však prochází krátkou interfází, v jejímž průběhu dochází hlavně k dekondenzaci chromozomů a syntéze ribozomů (replikace DNA už znovu neprobíhá). Samotné druhé meiotické dělení je velmi podobné mitóze, jelikož se v něm oddělují jednotlivé chromatidy a nikoli celé dvouchromatidové chromozomy jako u MI. Meióza je i v průběhu druhého meiotického cyklu pozastavena. Konkrétně k tomu dochází v metafázi 2, která je dokončena až v okamžiku, kdy dojde k oplození oocytu spermií. V případě, že by k oplození nedošlo, je oocyt vyloučen z těla a metafázi MII nikdy nedokončí. Naopak po oplození oocytu dochází k jeho finální maturaci a současně také ke vzniku druhého pólového tělíska (viz obrázek 2) (Cakmak et al. 2012).

1.2. Fertilizace a embryogeneze *mus musculus*

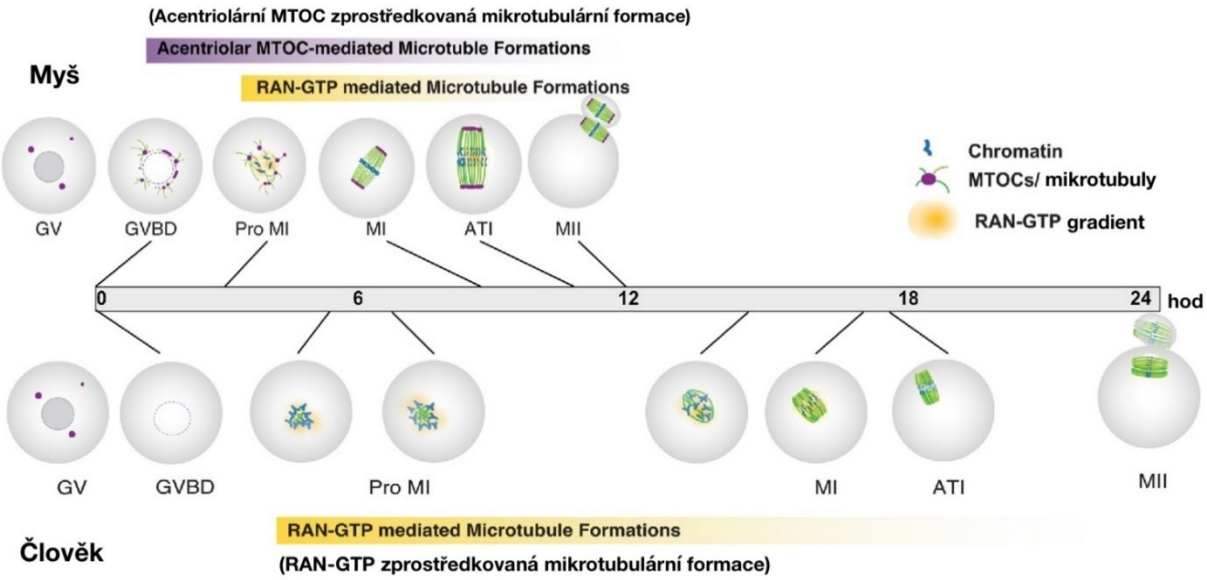
U myši tedy dochází k fertilizaci oocytu přibližně do 12 hodin od ovulace. Oocyt následně po fúzi se spermií dokončuje druhé meiotické dělení a postupně dochází ke započetí procesu embryogeneze. Oplodněný oocyt se mění v zygotu. Jedná se o buňku v počáteční fázi embryogeneze, která má kompletní sadu chromozomů, polovina sady pochází od matky a druhá polovina od otce. Zygota se začíná vyvíjet velmi rapidně a podstupuje řadu mitotických dělení, při kterých dochází k významnému zvýšení počtu buněk, ze kterých je tvořena (Oliver a Basit 2023).

První mitotické dělení proběhne již do 30 až 35 hodin, kdy se zygota rozdělí na 2 buňky. Druhá mitóza nastává již po 50 až 65 hodinách a zygota v tuto chvíli obsahuje celkem 3-4 buňky. Přibližně po 70 až 90 hodinách dochází dalšími mitózami ke zvýšení počtu buněk na 16. Od tohoto okamžiku se celý útvar označuje jako morula (Knoblochova et al. 2023). Do tohoto okamžiku nedochází k objemovému růstu nově se vyvíjející moruly. Buňky vznikající mitotickým dělením tedy celý útvar nezvětšují, jsou velmi malé. Dochází pouze ke změně rozložení cytoplazmy. Přibližně v průběhu 4. dne se buňky tvořící morulu dále dělí a začínají formovat dutiny. Začíná tedy probíhat proces takzvaná blastulace. Během 5. dne vzniká útvar zvaný blastocysta (Li a Winuthayanon 2017).



Obrázek 2: Vývojová stádia u *mus musculus*. (převzato z archivu Dr. Jansové)

Na 1. obrázku zleva označeném GV oocyt je uprostřed viditelné kulaté jádro, právě onen germinalní váček. Oocyt je obalen zonou pellucidou, rozložení cytoplazmy je homogenní. Na 2. obrázku zleva popsaném GVBD oocyt je patrný rozdíl v rozpadu germinálního váčku, cytoplazma je lehce granulovaná. Signalizuje to začátek maturace a pokračování v meióze. 3. obrázek zleva vyobrazuje oocyt zastavený ve fázi MII s dokončeným dělením MI, to potvrzuje první vyloučené pólové tělísko. Oocyt je připravený na fertilizaci. Na 4. obrázku zleva lze spatřit zygotu po fertilizaci vzniklou splynutím dvou haploidních gamet. Cytoplazma je opět lehce granulovaná. Po mitotickém dělení vzniká dvoubuněčné embryo patrné na finálním 5. obrázku zleva.



Obrázek 3: Časová osa vývoje oocytů a formování dělícího vřeténka s porovnáním myších a lidských oocytů. (převzato z Namgoong a Kim 2018, upraveno)

Z osy je patrný značný časový rozdíl v maturaci MII oocytů, která u myši proběhne za 12 hod a u člověka za 24 hod. Odlišná je při vývoji oocytů u těchto organismů právě i doba potřebná k vytvoření dělícího vřeténka. U myši se na formaci mikrotubulů a dělícího vřeténka podílí MTOC (značena fialovou barvou) a RAN-GTP dráha (označena žlutou barvou), oproti tomu u lidských oocytů zprostředkovává tvorbu mikrotubulů a dělícího vřeténka pouze dráha RAN-GTP.

2. Role ribozomů a translace

Ribozomy jsou zásadní složkou molekulárního fungování každé buňky. Slouží jako translační aparát a umožňují převod genetických informací zakódovaných v mRNA do sekvence aminokyselin (Thomson et al. 2013). Celá translace probíhá na ribozomu, který je součástí tzv. translačního aparátu spolu s tRNA, mRNA, iniciačními (eIF) a elongačními faktory. Dále je k tomuto procesu potřeba přítomnost GTP, ATP a také aminokyselin (Murray et al. 2009).

Na ribozomech se nacházejí 3 zásadní vazebná místa pro tRNA – místo A (pro aminoacyl-tRNA), P (pro peptidyl-tRNA), E (exit – pro uvolnění volných tRNA) (Green a Noller 1997). Celý proces, a tedy i pohyb tRNA mezi jednotlivými místy ribozomu zahrnuje celkem několik fází – fázi iniciace, elongace, terminace a recyklace ribozomu (Dever a Green 2012).

Prvním krokem počínající translace je navázání eIF2, eIF3, tRNA (Met-tRNA) a GTP na malou podjednotku ribozomu. Pro další progresi je však nutné také navázání fosforylovaného eIF4E na ribozom, což umožní napojení 5'methylguanosyltrifosfátové čepičky na preiniciační komplex 43S. V ten okamžik proběhne hydrolýza ATP a vznikne iniciační komplex 48S (Scheper et al. 2002; Wells et al. 1998). Celý ribozomální komplex se dá do pohybu po vlákně mRNA a zastaví se až ve chvíli, kdy narazí na tzv. start kodón, kterým je většinou AUG. V tuto chvíli je start kodón rozpoznán antikodónem iniciační tRNA (Met-tRNA). Následným uvolněním eIF2 a eIF3 je umožněno spojení velké a malé podjednotky ribozomu. Iniciační tRNA je při spojení podjednotek umístěna to místa P. Hydrolýzou vazby eIF5B-GTP a uvolněním eIF5B dochází k vytvoření iniciačního komplexu 80S, kde může vzniknout první peptidická vazba. Tím je vlastně ukončena první tzv. iniciační fáze (Jackson et al. 2010).

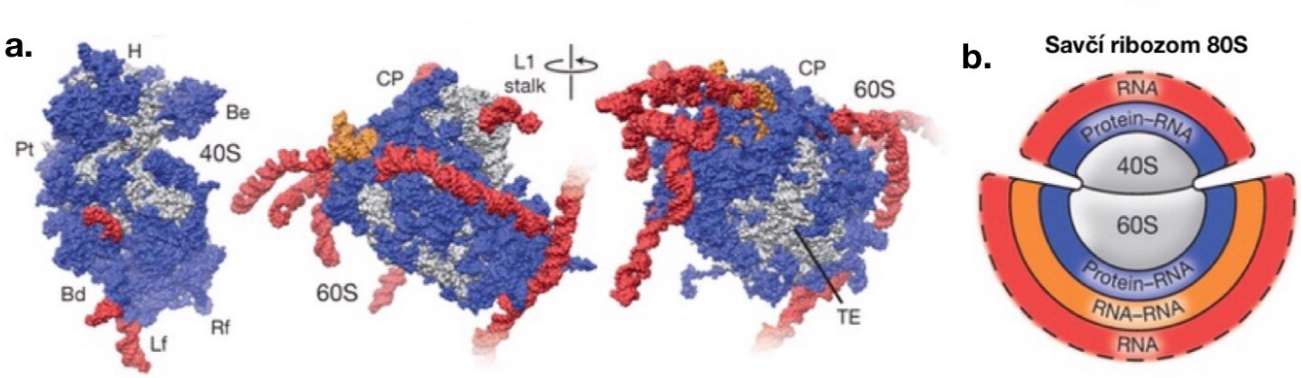
Dalším bodem translace je elongace. Ta probíhá tak, že dochází k zařazování aminoacyl-tRNA do místa A tak, aby byla komplementární ke kodónu na přilehlé mRNA. Následně se vytváří peptidová vazba a prodlužuje se tak peptidový řetězec (Rodnina a Wintermeyer 2009). Jakmile vznikne tato nová peptidová vazba mezi aminoacyl-tRNA v místě A a prodlužujícím se peptidovým řetězcem, který je původně navázán na tRNA v místě P, tak dojde k přerušení této původní vazby a v místě P setrvává jen volná tRNA, kdežto v místě A je peptidyl-tRNA prodloužená o jednu aminokyselinu. Nově vzniklá peptidyl tRNA se přesouvá z místa A do místa P. Celý pochod je katalyzován zmiňovanými elongačními faktory (Rodnina a Wintermeyer 2009). Dále se také přesouvá volná tRNA z místa P do místa E, odkud ribozom

následně opouští. Následuje hydrolýza další molekuly GTP na GDP, což uvolní energii potřebnou pro posun mRNA o jeden kodón. Celý cyklus se dále několikrát zopakuje (Murray et al. 2009).

Proces je zastaven až v okamžiku, kdy se na mRNA identifikován stop (terminační) kodón, který je rozpoznán komplexem uvolňujících faktorů (release factors, RF). Uvolňovací faktor eRF1 rozpozná stop kodón a spustí hydrolýzu vazby mezi peptidem a tRNA. Poté se do děje zapojuje eFR3, který způsobí uvolnění tRNA a mRNA z ribosomu. Následně se ribozom opět rozpadá na malou a velkou podjednotku. Tyto konečné události můžeme označit jako "recyklaci ribozomů", přičemž všechny komponenty mohou být opět využity (Beaudet a Caskey 1971; Zhouravleva et al. 1995; Dever a Green 2012).

2.1. Ribozomy a obecná struktura

Obecná struktura ribozomů je založena na tom, že se celá organela skládá ze dvou základních podjednotek – malé a velké, které se následně spojí a vytvoří kompletní ribozom. Konkrétně eukaryotické ribozomy jsou daleko větší a komplexnější než ty prokaryotické (Klinge et al. 2012). Jejich velikost se pohybuje přibližně od 3,5 megadaltonu (MDa) u nižších eukaryot a do 4 MDa u vyšších eukaryot (Melnikov et al. 2012; Yusupova a Yusupov 2017). Eukaryotické ribozomy se značí 80S a jsou tvořeny malou podjednotkou 40S a velkou 60S. Obě podjednotky jsou komponovány z rRNA a proteinů. Ribozom 80S je kódován více než 5500 nukleotidy rRNA a obsahuje 79 až 80 ribozomálních proteinů (r-proteinů/RP) (Klinge et al. 2012).



Obrázek 4: Znázornění eukaryotického ribozomu u *Homo sapiens* (převzato z Anger et al. 2013, upraveno). Označení **a.** ukazuje povrchové zobrazení ribozomu a písmeno **b.** značí schéma ribozomu 80S u člověka.

Eukaryotický ribozom se vyznačuje tím, že obsahuje na malé ribozomální podjednotce 5 expansion segments (konkrétně $ES3^S$, $ES6^S$, $ES7^S$, $ES9^S$ a $ES12^S$) a 5 „variable regions" (konkrétně VRs h6, h16, h17, h33 a h41) a dále na velké ribozomální podjednotce ještě 16 „expansion segments" ($ES3^L$, $ES4^L$, $ES5^L$, $ES7^L$, $ES9^L$, $ES10^L$, $ES12^L$, $ES15^L$, $ES19^L$, $ES20^L$, $ES24^L$, $ES26^L$, $ES27^L$, $ES31^L$, $ES39^L$ a $ES41^L$) a 2 variable regions (h16-18 a h38). Většina ES je navíc na velké podjednotce lokalizována zejména po bocích a ze zadní strany, přičemž plocha, která se vyskytuje mezi oběma podjednotkami je ponechána téměř volná. Na malé podjednotce jsou ES koncentrovány do jednoho prostoru a remodelují tak levou nohu (left foot) podjednotky. Celkově pak na malé podjednotce můžeme odlišovat několik regionů. Konkrétně regiony hlavy (head), zobáku (beak), platformy, těla (body), ramena (shoulder), levé nohy (left foot) a pravé nohy (right foot). Tyto specifické úseky (ES) navíc obsahují různé množství nukleotidů v souvislosti s tím, o kterou konkrétní eukaryotickou buňku jde. Co se dále týká rRNA, tak je také důležité zmínit, že rRNA vytváří na ribozomu 3 konkrétní místa pro navázání tRNA, což hraje zásadní roli v samotném procesu translace. První místo označujeme jako A-site, kam se navazuje aminoacyl-tRNA. Dalším místem je P-site, kde nacházíme peptidyl-tRNA se vznikajícím peptidovým řetězcem. A posledním místem je E-site, což je místo, které rozpozná stop kodón a umožní odpojení vzniklého proteinu od ribozomu (Klinge et al. 2012)

Další významnou strukturní součástí ribozomů jsou r-proteiny. Na 40S podjednotce nacházíme celkem 33 r-proteinů, které jsou lokalizovány zejména na povrchu podjednotky vystavěném rozpouštědlům. Některé z těchto 33 proteinů jsou však specifické pouze pro eukaryotické ribozomy. Mezi ty specifické patří rpS7, rpS10, rpS12, RACK1 a také jejich prodloužené úseky (extensions). Na 60S podjednotce je celkem 46 proteinů (u vyšších eukaryot se přidává jeden r-protein navíc, L28e, takže celkový počet vzroste na 47) a všechny jsou lokalizovány stejně jako u malé podjednotky. Také se mezi těmito proteiny vyskytují některé charakteristické jen pro eukaryotické ribozomy. Jde o RPL6, RPL22, RPL27, RPL28, RPL29 a RPL36. R-proteiny se spolu s rRNA podílí na tvorbě obou ribozomálních podjednotek a mimo jiné jejich interakce hrají také velmi podstatnou roli v samotném vzájemném propojení podjednotek do celého ribozomu v průběhu translace (Wilson a Doudna Cate 2012).

2.2. Ribozomopatie u člověka

Ribozomopatie zahrnují rozsáhlou skupinu onemocnění, které jsou podmíněné poruchou produkce ribozomů. Nejedná se o jednotnou skupinu onemocnění, jelikož konkrétní příčina se nachází v různých krocích ribozomální biogeneze. Ribozomy mají v buňkách klíčovou úlohu a jejich úplná ztráta by byla neslučitelná se životem. Redukce počtu nebo funkce ribozomů je sice v řadě případů se životem slučitelná, ale projeví se na celkové funkci konkrétních tkání (zejména hematopoetická a kostní tkáň). Každopádně tato tkáňová specifita nebyla dosud plně objasněna. S ribozomopatiemi se setkáme také u člověka. Jedná se například o Treacher-Collinsův syndrom (TCS), Diamond-Blackfanovu anémii (DBA) Shwachman-Diamondův syndrom (SDS), RPS23 ribozomopatii a další. Mohou hrát také velmi významnou roli v karcinogenezi, protože řada ribozomálních proteinů zastává funkci tumor-supresorů (zejména v Drosophile a řadě obratlovců) (Farley-Barnes et al. 2019).

Konkrétním příkladem ribozomopatie je autozomálně recesivně dědičný Shwachman-Diamondův syndrom. Jde o onemocnění asociované se selháním kostní dřeně, s poruchami vývoje (včetně narušení růstu), exokrinní insuficiencí pankreatu, skeletálními abnormalitami (metafyzární chondroplazie, osteopenie a žeberní dysplazie) a s kognitivním deficitem. Dále se také pojí se zvýšeným rizikem myelodysplastického syndromu (MDS) či akutní myeloidní leukémie (AML) (Myers et al. 2014). Nejvýraznějšími projevy jsou však potlačení funkce exokrinního pankreatu a hematologické abnormality (zejména deprese myeloidní linie) (Ginzberg et al. 1999). Jako příčina byla až v 89 % případů identifikována bialelická mutace genu Shwachman-Bodian-Diamond syndrom gen (SBDS) (Boocock et al. 2003). Bylo zjištěno, že SBDS protein pravděpodobně spolupracuje s EFL1 (elongační faktor podobný GTPáze 1) v posledním kroku dozrávání velké 60S podjednotky ribozomu a jeho nefunkčnost způsobí, že nedojde k zahájení translace (Weis et al. 2015). Příkladem další mutace, kterou můžeme u pacientů detekovat, je mutace genu pro zmiňovaný EFL1. Tato mutace tedy způsobuje také nemožnost zahájení translace (Tan et al. 2019). EFL1 totiž za normálních okolností katalyzuje uvolnění anti-asociačního faktoru eIF6 z podjednotky 60S ribozomu, čímž umožní spojení velké a malé ribozomální podjednotky a zahájení translace (Weis et al. 2015). Dále se také uvádí, že jednou z mutací, které můžeme u pacientů detekovat, je mutace pro tumor protein p53 (TP53). Tato mutace bývá spojována s vyšším rizikem rozvoje malignit a celkově s horší prognózou pacienta (Lindsley et al. 2017). Přibližně u 10 % pacientů nenacházíme mutaci SBDS. V takovém případě může být přítomna mutace DnaJ heat shock protein (proteiny teplotního šoku) family (Hsp40) member C21 (DNAJC21). Funkce DNAJC21 je také velmi

úzce spjata s ribozomy, podílí se na dozrávání velké ribozomální podjednotky 60S (Dhanraj et al. 2017).

Poměrně významné množství ribozomopatií je způsobeno právě narušením ribozomální biogeneze na úrovni transkripce a modifikace pre-rRNA. Konkrétním příkladem je Treacher-Collinsův syndrom. TCS je konkrétně způsoben mutací TCOF1 (Treacle ribosome biogenesis factor 1, ribozomální faktor melázy biogeneze 1) a RNA polymerázy I a III podjednotek C a D (POLR1C a POLR1D) (Dauwerse et al. 2011). Při pozorování modelových systémů bylo zjištěno, že nefunkční TCOF1 vede až k 50% redukci transkripce 47S, a tedy velmi významná redukce produkce ribozomů (Valdez et al. 2004). TCOF1 také interaguje s box C/D snoRNP (malé jaderkové ribonukleoproteiny), NOP56 (nukleolární protein 56) a u zvířecích modelů má také vliv na 2'-O-metylaci pre-18S rRNA (Gonzales et al. 2005).

Další možností může být i chyba na úrovni přeměny 47S pre-rRNA na funkčního rRNA. Jedním z příkladů je syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů způsobený mutací RMRP. Ribozomopatie však mohou vycházet také z poruchy na úrovní r-proteinů a tzv. asembly faktorů. Příkladem může být mutace v genu r-proteinu RPL10, která byla původně asociovaná s autismem. Nověji je také spojena s X-vázanou mikrocefalií, záchvaty a poruchou intelektu (Brooks et al. 2014).

2.3. Místně specifická translace v savčím oocytu

Místně specifická nebo také lokalizovaná translace plní pro oocyt důležitou roli. Je to mechanismus, který umožňuje určitou prostorovou i časovou produkci specifických proteinů, které jsou esenciální jak pro dozrávání oocytu (Romasko et al. 2013), tak pro následnou časnou embryogenezi. Má to zásadní význam pro reprodukční biologii, potažmo také v rámci řešení problematiky týkající se fertility a vývoje embrya (Susor et al. 2016).

K uskutečnění procesu translace je nejprve nutná přítomnost mRNA v buňce, tu je předem potřeba nasyntetizovat prostřednictvím transkripce. Oocyt ve svém růstovém období je nejprve transkripčně aktivní a v okamžiku, kdy je jeho růst plně dokončen, přechází do transkripčního útlumu (Schultz a Wassarman 1977). Například rostoucí myší oocyt je transkripčně velmi aktivní a produkuje velké množství maternální RNA (zejména rRNA, tRNA a také mRNA, z čehož 60 % zabírá právě rRNA), která je nezbytná ve fázi transkripční inaktivity. Dokonce se ukazuje jako pravděpodobné, že savčí oocyty regulují svoji zásobu rRNA a ribozomů tak, aby odpovídala zásobě mRNA a proteinů. To znamená s vysokými

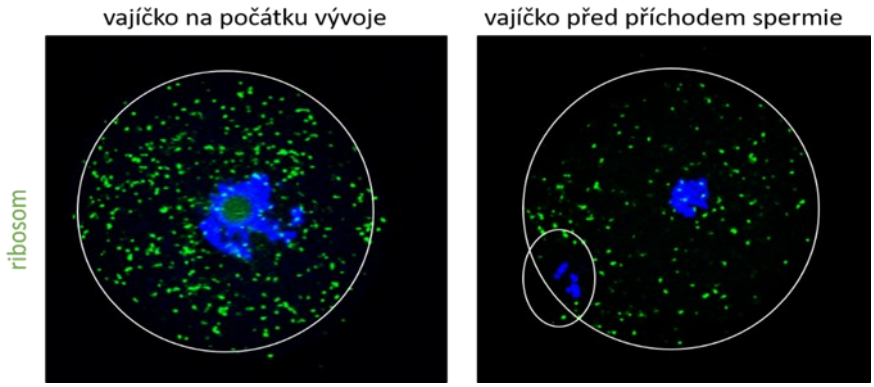
hladinami v období růstu oocytu a následně s útlumem v období druhého meiotického dělení a na počátku embryogeneze (Schultz a Wassarman 1977; Susor et al. 2016).

Většina mRNA je v oocytech využita ihned po své syntéze v procesu translace. Část mRNA je tzv. dormantní, tedy není ihned zapojena do translace a je nezbytná právě v období transkripční inaktivity oocytu. O aktivitě mRNA rozhodují dva hlavní mechanismy – polyadenylace a decapping. Molekuly RNA jsou uspořádány v tzv. ribonukleoproteinových komplexech (RNP), kde jejich konkrétní kompozice ovlivňuje jejich lokalizaci, translační represi, míru translace a stabilitu (Jansova et al. 2018).

Velmi významná je pro oocyt lokalizace molekul mRNA, a tedy i samotná lokalizace translační aktivity. Důležitou roli v tomto prostorovém rozložení mají RNA-binding proteiny a molekulární motory, které umožňují transport mRNA podél buněčného cytoskeletu a tím dochází k jejich asymetrické distribuci (Jansova et al. 2018). Celkovou translaci můžeme sledovat za pomoci detekce nově syntetizovaných proteinů pomocí inkorporace methioninového analogu (L-homopropargylglycin) (Dieterich et al. 2010). Z výsledků zkoumání vyplývá, že se sice celý oocyt jeví jako translačně aktivní, ale v jeho jádru se translační aktivita soustředí zejména perinukleárně. Po rozpadu jaderného obalu (NEBD) je však možné identifikovat dvě oblasti. První oblast je v bezprostřední blízkosti chromozomů kolem nově se tvořícího vřeténka (chromosomal translational area, CTA) a druhá je kolem vřeténka (perispindular translational area, PTA). Translace v oblasti PTA je možným zdrojem proteinů pro ER a cytoplazmu. Je možné, že rozložení translace mezi CTA a PTA má také pravděpodobně význam např. v asymetrické lokalizaci vřeténka uvnitř oocytu (Susor et al. 2015).

Translace lokalizované maternální mRNA vede v oocytech k tomu, že se v určitých místech buňky výrazněji hromadí syntetizované proteiny, kdežto v jiných částech je jejich koncentrace nižší (viz obrázek obrázek 5). Současně tím však dochází k minimalizaci rizika potenciálního deficitu nebo výrazného nadbytku ve zbytku ooplasmy. Lokalizovaná translace se také podílí na správném formování a funkci dělícího vřeténka, které je důležitým prvkem pro buněčné dělení embrya a následnou buněčnou polarizaci. Translace mRNA v oocytech je řízena osou mTOR/eIF4F (mTOR – mammalian target of rapamycin; savčí cíl rapamycinu, eIF4F – eukaryotický translační iniciační faktor 4F) a dysregulace této osy může vést k anomáliím v meiotickém dělení a k aneuploidiím (Susor et al. 2015; Iyyappan et al. 2023).

V publikaci Jansova et al. (2018) autorka pomocí fluorescenční imunocytochemie nazývané proximity ligační esej prezentuje detekci sestaveného ribozomu, což je skvělý nástroj pro detekci a kvantifikaci aktivity globální translace *in situ* v oocytu a embryu (viz obrázek 5).



Obrázek 5: Pohled do vajíčka na svítící ribozomy (převzato z archivu Dr. Jansová). Měnící se počet zeleně svítících ribozomů v různých fázích buněčného cyklu však odráží množství vytvářených bílkovin**.**

V 60. letech byly v savčích oocytech objeveny cytoplazmatické struktury (Hadek 1966; Weakley 1968). Tyto struktury hojně vyplňují cytoplazmu savčích oocytů a také jejich embryí před implantací. Lze je zobrazit pouze pomocí elektronového mikroskopu (Zamboni 1970). Studie s elektronovým mikroskopem odhalily, že zralé oocyty hlodavců (zejména krys, myší a křečků) obsahují velké množství spirálních lamel, paralelních řetězců nebo mřížkám podobných struktur (cytoplasmic lattice-like structures, CPL). Tyto studie také poukázaly na skutečnost, že CPL skladují většinu ribozomů, které oocyt má (Burkholder et al. 1971). Většina ribozomů, které jsou uložené v CPL je však dle všeho inaktivní, a tedy na nich v průběhu ovulace neprobíhá translace (Bachvarova a De Leon 1977). Dodnes nejsou k dispozici žádné konkrétní studie, které by odhalovaly konkrétní funkce CPL (Jentoft et al. 2023), každopádně zdá se být pravděpodobné, že CPL pomáhají koordinovat dynamiku organel a mikrotubulární skelet v oocytu (Kan et al. 2011).

Důležitou strukturou v savčím oocytu je také tzv. s mitochondrií asociovaná ribonukleoproteinová doména (mitochondria-associated ribonucleoprotein domain, MARDO). Jde o doménu, která se vyskytuje v cytoplazmě oocytu v oblasti mitochondrií a je tvořena RNA-binding proteiny (konkrétně ZAR1, YBX2, DDX6, LSM14B a 4E-T) a molekulami mRNA. Hlavní funkcí MARDO je skladování translačně neaktivní maternální mRNA s dlouhými polyA ocasy v oocytech myší, krav, prasat a člověka. Tvorba MARDO je stimulována zvýšením membránového potenciálu mitochondrie a RBP (RNA-binding proteiny) ZAR1, který potlačuje maternální mRNA (Cheng et al. 2022).

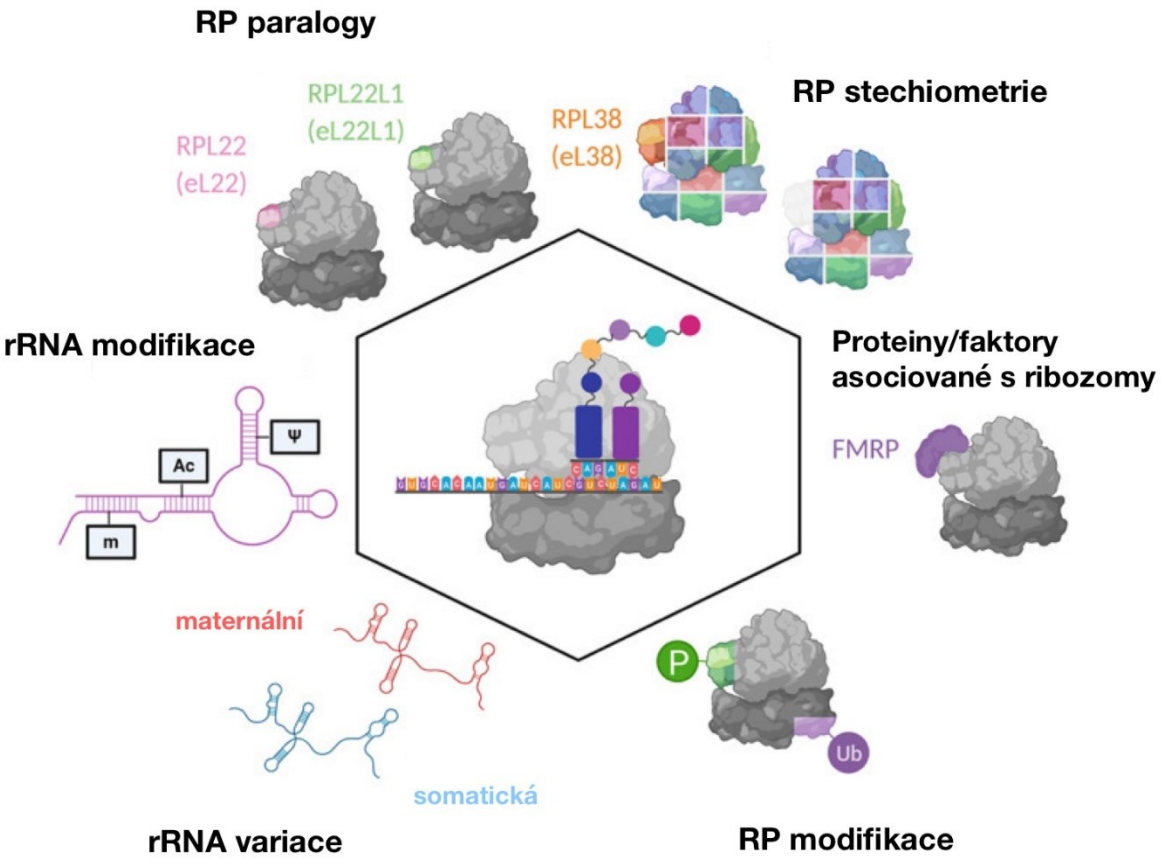
3. Heterogenita ribozomů, teorie specializovaných ribozomů

Dříve se předpokládalo, že jsou ribozomy ve všech buňkách stejné – jejich struktura i jejich funkce. Novější výzkumy však už poukazují na skutečnost, že mezi jednotlivými ribozomy existuje značná variabilita, která může ovlivnit jejich funkci a specifitu v rámci syntézy proteinů (Li a Wang 2020).

Heterogenita ribozomů se může projevit na několika úrovních. Konkrétně tedy na úrovni ribozomálních proteinů, rRNA, složení ribozomálních komplexů, specificitě ribozomů a současně tedy i na úrovni funkce jednotlivých ribozomů (viz obrázek 6) (Poitevin et al. 2020). Odlišnosti v rámci ribozomálních proteinů mohou být podloženy např. mírou a způsobem jejich exprese v jednotlivých buňkách (může být různá, v některých buňkách dokonce nulová), množstvím a poměrem těch proteinů a samozřejmě jejich strukturou,která může být ovlivněna alternativním splicingem jejich mRNA (vznikají pak různé izoformy) a post-translačními úpravami. Dále také může jít např. o interakce se specifickými regulačními faktory. Příkladem významného ribozomálního proteinu je RPS25 (ribozomální protein malé podjednotky S25), který podmiňuje translaci specifických molekul mRNA (Shi et al. 2017). Změny na úrovni rRNA vychází z variací v sekvencích rRNA, ale také z jejich post-transkripčních modifikací (Islam a Rallis 2023). Heterogenita ribozomů vychází také částečně z různé aktivity tzv. faktorů asociovaných s ribozomy. Všechny tyto faktory pravděpodobně dávají vzniku tzv. "specializovaným ribozomům", které mají velký vliv na to, jakým způsobem probíhá translace a zda vznikají funkční proteiny (Xue a Barna 2012).

Specializované ribozomy tedy obsahují konkrétní proteiny anebo konkrétní molekuly rRNA, které jsou zásadní pro translaci konkrétních molekul mRNA. Jak samotná ribozomální heterogenita, tak i specifita, hrají významnou roli zejména v procesech jako je embryogeneze, spermatogeneze, oogeneze, neurogeneze nebo rozvržení tělního plánu (Mauro a Edelman 2002).

Byly odhaleny určité faktory, které poměrně výrazně podporují platnost teorie o specializovaných ribozomech. Mezi zmiňované faktory se řadí například tkáňově-specifická exprese určitých ribozomálních proteinů (Bortoluzzi et al. 2001a; Kondrashov et al. 2011a) a charakteristický fenotyp při narušení exprese určitých ribozomálních proteinů. Příkladem může být mutace genu pro ribozomální protein malé podjednotky 9 (RPS9), což se projevuje typicky jako Diamond-Blackfanova anémie (Draptchinskaia et al. 1999).



Obrázek 6: Schématické znázornění různých typů ribozomové heterogenity (převzato z Norris et al. 2021, upraveno)

3.1. Heterogenita na úrovni proteinů

Jak již bylo zmíněno, tak heterogenitu ribozomů můžeme popisovat na několika úrovních a jednou z těchto úrovní je právě heterogenita ribozomálních proteinů. Ta vychází ze skutečnosti, že se mezi sebou jednotlivé proteiny mohou lišit svou strukturou a současně také i svou funkcí. Tato heterogenita může mít také mimo jiné vliv například na regulaci translace a tím tedy potažmo i celkově na regulaci genové exprese. Stále však není plně objasněno, jakým způsobem ribozomy v konkrétní buňce dokážou v průběhu její postupné diferenciace změnit a tím změnit i své proteinové složení a funkci (Genuth et al. 2022a).

Příkladem konkrétního proteinu podílejícího se na heterogenitě je již dříve zmíněný RPS25 (Genuth a Barna 2018). Dále lze uvést i protein RPS3 (ribozomální protein malé

podjednotky S3). Ten je součástí ribozomální podjednotky 40S a vyznačuje se svou multifunkčností. Protein RPS3 se samozřejmě účastní procesu a regulace translace, ale současně má také určité extra-ribozomální funkce, hraje významnou roli v rámci oprav DNA (Yadavilli et al. 2007), apoptózy, zánětlivých procesů, tumorgeneze a také v rámci regulace transkripce. Heterogenita tohoto proteinu je dána zejména jeho post-translačními úpravami, které mohou přímo ovlivnit jeho celkovou funkci v ribozomu, nebo také kupříkladu jeho schopnost interagovat s dalšími faktory (Gao a Hardwidge 2011). V neposlední řadě lze zmínit i protein RPL38 (ribozomální protein velké podjednotky L38), který vykazuje tkáňově specifickou expresi. Je významně zapojen do regulace vývoje tkání a může ovlivňovat translaci specifických mRNA (Kondrashov et al. 2011b). Dá se tedy říct, že proteinů podporujících heterogenitu ribozomů je poměrně široké spektrum.

Pro ucelenost informací je podstatné dodat i fakt, že ribozomální proteiny jsou u eukaryotických buněk tvořeny ve formě paralogových párů. Tyto paralogy vznikají v organismu duplikací konkrétního genu. Paralogové páry (respektive jejich genové sekvence) jsou si navzájem velmi podobné a mohou být až téměř identické. Každopádně co se týká jejich funkce, tak ta se může navzájem velmi odlišovat. Jednotlivé paralogy z páru mohou mít zásadně odlišný vliv na regulaci a průběh různých celulárních procesů. Příkladem jsou geny RPL1a a RPL1b (geny pro ribozomální proteiny velké podjednotky L1a a L1b), které sice kódují identické proteiny, ale jejich vliv na ribozom je odlišný. Při různých pokusech se ukazuje, že pokud ribozom obsahuje konkrétně protein RPL1b, tak u něj probíhá daleko efektivnější translace proteinů důležitých pro buněčně dýchání (Segev a Gerst 2018).

3.1.1. Proteiny asociované s ribozomy

Eukaryotické ribozomy jsou poměrně velké útvary, které se skládají v základu zejména z rRNA a z ribozomálních proteinů. Současně je však s ribozomy asociováno poměrně velké množství tzv. ne-ribozomálních faktorů (proteinů), které jsou důležité především pro syntézu, zpracování a transport ribozomů, ale také pro zajištění správného průběhu translace a dalších procesů (Zhou et al. 2015). Lze tedy říct, že v oblasti ribozomu dochází k interakci spousty proteinů, a proto se také celý tento komplex (ribozomu a s ním asociovaných proteinů) označuje jako ribo-interaktom. Ribo-interaktom celkem obsahuje okolo 430 různých proteinů. Vyjma již dříve zmiňovaných ribozomálních proteinů lze zmínit také proteiny ovlivňující translaci (iniciační eukaryotické faktory – elF2, elF3, elF4F a elongační eukaryotické faktory – eEF1a, eEF2, elF5A), RNA-binding proteiny (RBP), enzymy účastnící se post-transkripčních nebo

post-translačních úprav a další enzymy (RNA-helikáza, tRNA-ligáza, fosfatázy, kinázy), proteiny se schopností číst provedené post-transkripční modifikace (např. YTHDF1 a YTHDF3 – YTH N6-methyladenosin RNA vázající proteiny F1 a F3), atd. (Simsek et al. 2017).

Součástí ribo-interaktomu jsou právě například RBP. Ty jsou velmi významné pro regulaci genové exprese. Účastní se různých post-transkripčních procesů jako je regulace splicingu, transport mRNA, modulace translace a degradace mRNA (Oliveira et al. 2017). Zástupcem RBP je neuronální protein FMRP (Fragile X mental retardation protein). V řadě studií se ukazuje, že tento protein hraje klíčovou roli v regulaci procesu neuronální translace specifických mRNA. Navíc ztráta funkce FMRP je spojována se syndromem fragilního X a s autistickými znaky (Darnell et al. 2011).

Další součástí ribo-interaktomu je UFL1, jedná se o enzym UFM1 specific ligase 1 (ubiquitin-like modifier 1 ligase 1). Tento enzym se účastní post-translačních modifikací proteinů. Jeho hlavní úlohou je připojování UFM1 (ubiquitin-fold modifier 1, ubikvitinu podobný protein) k nově translatovaným proteinům. Tato reakce je označována jako ufmylace a je naprosto klíčová v rámci embryogeneze a erythroidní diferenciace (Simsek et al. 2017).

Významným enzymem asociovaným s ribozomy je také pyruvát kináza M (PKM). U savců existují celkem 4 isoformy pyruvátkinázy (PKM1, PKM2, PKR, PKL). Konkrétně PKM1 nacházíme zejména v tkáních s vysokou katabolickou aktitivtou (srdce, svaly, mozek). PKM2 nacházíme v embryu a ve vyvíjejících se tkáních, v nádorových buňkách, zdravých proliferujících se buňkách (včetně lymfocytů, střevního epitelu) (Israelsen a Vander Heiden 2015). Činnost PKM je regulována prostřednictvím hladiny ADP a spočívá v propojení metabolismu sacharidů a translace mRNA. Konkrétní funkcí PKM je zejména katalýza konverze phosphoenolpyruvátu a ADP na pyruvát a ATP v průběhu glykolýzy. Každopádně PKM má význam i v celkové regulaci buněčného metabolismu (Kejiou et al. 2023). PKM1 i 2 se vážou na ribozomy a regulují translaci konkrétních mRNA (Simsek et al. 2017). Jednou ze základních funkcí PKM1 a PKM2 v oocytu je zajišťování dostatečného množství energie ve formě ATP pro buňku. Nedostatek PKM1 se v oocytu projeví poklesem ATP, redukcí počtu prvních polárních tělísek, redukcí mitochondriálního membránového potenciálu a současně navýšení ROS. Funkce PKM2 je velmi obdobná. Tyto poznatky poukazují na fakt, že PKM1 i PKM2 hrají naprosto zásadní roli v ovlivnění kvality oocytu (Li et al. 2019).

3.1.2. Specializované ribozomy v savčím oocytu a embryu

Jak již bylo výše zmíněno, dnešní výzkumy poukazují na to, že v oocytu (i dalších buňkách) existují specializované ribozomy (Gilbert 2011; Xue a Barna 2012), které hrají významnou roli zejména v regulaci translace, tedy syntézy proteinů. Specializovaná funkce může záviset například i na konkrétních ribozomálních proteinech, které daný ribozom obsahuje (Bortoluzzi et al. 2001b).

3.1.2.1. Ribozomální protein S26 (RPS26)

Gen pro ribozomální protein malé podjednotky 26 (RPS26) je velmi aktivně exprimován právě v ováriích a konkrétně v oocytech, kde RPS26 slouží k regulaci translace. Konkrétně jde o protein, který je napojen na ribozom a rozeznává mRNA s Kozákovou sekvencí. Následně u této mRNA dochází k iniciaci translace. Naopak mRNA, která neobsahuje Kozákovu sekvenci je rozpoznána pomocí ribozomů bez RPS26 (Ferretti et al. 2017). U lidí je často mutace RPS26 spojena s Diamond-Blackfanovou anémií (Doherty et al. 2010).

Knockout tohoto genu u myší způsobil poruchu vývoje pre-antrálních folikulů v antrální folikuly. Současně došlo k zastavení chromatinové konfigurace při tranzici z neobklopeného (non-surrounded nucleolus, NSN) na obklopené jadérko (surrounded nucleolus, SN). Všechny oocyty zanikly do 84. postnatálního dne, což vedlo k předčasnému ovariálnímu selhání (POF) (Liu et al. 2018).

3.1.2.2. Ribozomální protein S6 (RPS6)

PS6 je součástí malé ribozomální podjednotky 40S (Wool 1996; Mok et al. 2013). Konkrétní funkce a vlastnosti proteinu RPS6 byly sledovány na pokusech s myšími oocyty a embryi, u nichž byla provedena delece alely tohoto proteinu. V případě delece obou alel RPS6 bylo na základě histologického zkoumání zjištěno, že postrádání proteinu RPS6 způsobí neschopnost buněčného růstu. V modelu byly detekovány pouze primordiální folikuly, ale žádné sekundární či terciární folikuly. Naopak v případě delece pouze jediné alely proteinu RPS6 byla v histologickém preparátu detekovatelná všechna stádia folikulů. Delece jediné alely se projevila až v průběhu embryogeneze, kde došlo k zabránění vstupu buněk do M-fáze buněčného cyklu a apoptóze (Panić et al. 2006).

Nové studie poukazují na skutečnost, že je protein RPS6 naprosto zásadní v procesu buněčné proliferace. A je tedy velmi významný i v rámci samotné oogeneze. Aby bylo vůbec buněčné dělení možné, tak je potřeba zajistit pro buňky ideální prostředí. Potřebují ve svém

okolí dostatečné množství růstových faktorů, živin, energie, ale také si musí samy nasyntetizovat poměrně velké množství různých makromolekul, včetně proteinů. Tím pádem je pro umožnění buněčného růstu zásadní, aby probíhala translace a spolu s ní tedy i ribozomální biogeneze (Panić et al. 2006). Jednou z objevených hlavních funkcí proteinu RPS6 je právě stimulace translace a současně i ribozomální biogeneze (Habara et al. 2021). Obecně bylo zjištěno, že RPS6 ovlivňuje buněčný růst prostřednictvím signální dráhy PI3K-AKT-mTOR v procesu aktivace primordiálního folikulu (primordial follicle activation, PFA) (Reddy et al. 2008; Habara et al. 2021). Aby byl protein RPS6 aktivní a mohl stimulovat translaci konkrétních mRNA v oocytu, je nutná nejprve jeho fosforylace. Tu zajišťuje ribozomální S6-kináza. Tento enzym však musí být nejprve sám fosforylován prostřednictvím mTORC1 (případně některé studie naznačují, že toho lze docílit pravděpodobně i prostřednictvím MAPK dráhy, konkrétně ERK) (Kalab et al. 1996). Za zmínku stojí i SHB (Src homology 2 domain-containing adapter protein B), což je adaptérový protein obsahující SH2 doménu. Je zásadní pro mnoho procesů včetně například proliferace a apoptózy, ale i spousty dalších. Jeho význam spočívá zejména v zapojení do řady signálních drah, u nichž umožňuje zejména kontakt mezi povrchovými buněčnými receptory a intracelulárními signálními molekulami. Studie poukazují na vztah mezi absencí SHB a zvýšenou fosforylací ERK a následně i S6 kinázy, což vede ke zvýšené fosforylaci a aktivaci proteinu RPS6 (Calounova et al. 2010).

3.1.2.3. Ribozomální protein L38 (RPL38)

Jedním z příkladů ribozomálního proteinu, který stojí za specializací ribozomů v savčí embryogenezi, je protein RPL38. Z nejnovějších studií vyplývá, že protein RPL38 je důležitým faktorem v regulaci translace konkrétních mRNA zapojených do vývoje axiální kostry (Kondrashov et al. 2011b).

Pokusy na myších, u nichž proběhla delece lokusu pro RPL38, odhalily specifický fenotyp, kdy došlo k defektu ve vývoji axiálního skeletu a mnohdy byla narušena i osteogeneze. Jmenovitě měly tyto myši například výrazně kratší a malformovaný ocas. Tento fenotyp je charakteristický pro heterozygotní myší embrya (potažmo myši obecně) (Gopanenko et al. 2021). Homozygotní embrya ve většina případů zahynula už během časného embryonálního vývoje kolem gestačního dne E3,5 až E5,5. U heterozygotních embryí dochází ještě navíc mnohdy k přechodné anémii, která je doprovázena opožděným růstem a rozvojem skeletálních abnormalit.

Ukazuje se, že skeletální abnormality u myší zasahují i oblast ucha. Změny sluchu a jejich histologické známky se objevují až po narození. Typicky v období kolem třetího měsíce po narození. Histologicky můžeme detekovat známky neo-osifikace kostěného labyrintu vnitřního ucha, která může významně zasahovat až do středního ucha. Také je možné sledovat ukládání drobných krystalků ve středním uchu, dále se poměrně velké shluky krystalků ukládají i v oblasti okrouhlého a oválného okénka a velmi často zasahují i stapes. Abnormální mineralizace středního ucha byla u myší také spojena s chronickou otitis media. V souvislosti s těmito změnami byla popsána převodní sluchová vada až hluchota (Noben-Trauth a Latoche 2011).

3.1.2.4. Ribozomální protein L10 (RPL10)

Ribozomální protein velké podjednotky L10 má zásadní roli v rámci spojování velké a malé podjednotky ribozomu (Del Campo et al. 2013). RPL10 má v rámci embryogeneze význam zejména v procesu gastrulace a tvorby mezodermu. Také reguluje translaci proteinů, které jsou součástí Wnt signální dráhy (Genuth et al. 2022b).

Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo popsat roli ribozomů v oocytu a embryu, dále zaměřit pozornost na problematiku specializovaných ribozomů a shrnout nejnovější dostupné poznatky týkající se maturace oocytu a embryogeneze u savců. Práce se zabývá podrobněji strukturou specializovaných ribozomů a jejich funkcemi. Uvedla jsem konkrétní příklady ribozomálních proteinů a jejich významu především v rámci oogeneze, případně embryogeneze.

V dnešní době mluvíme o ribozomech jako o heterogenní skupině subcelulárních komponent, které se navzájem odlišují svou strukturou a funkcí. Mimo jiné existují i tzv. specializované ribozomy. Funkce těchto specializovaných ribozomů souvisí velmi úzce s konkrétními ribozomálními proteiny, které daný ribozom obsahuje. Kromě typu proteinů jde i o jejich množství, poměr, strukturu (např. jestli prošel nějakými post-translačními úpravami atd.). Příkladem ribozomálního proteinu v savčím oocytu je RPS26, který zejména reguluje translaci v oocytu a podporuje dozrávání folikulu. Konkrétní ribozomální protein v savčí embryogenezi je například RPL38, který je také důležitý pro regulaci translace mRNA v embryu, ale současně je zapojen i do vývoje axiální kostry.

Naprostá většina ribozomů je ve zralém oocytu skladována v CPL. V CPL jsou ribozomy považovány za inaktivní a nepodílejí se na translaci. Další specifické místo pro ribozomy v cytoplazmě jsou s mitochondrií asociované ribonukleoproteinové domény. MARDO je struktura, která se nachází kolem mitochondrie, a je tvořena RBP a mRNA. MARDO je detekovatelná spíše v pozdnějších stádiích oogeneze.

Na závěr je nutné zmínit, že výzkum specifity a heterogenity ribozomů je na počátku, ale je důležitý pro vývoj oocytu a diferenciaci buněk (v rámci embryogeneze), jelikož má dopad na regulaci translace a tím má význam pro pochopení neplodnosti.

Seznam použité literatury

Sekundární zdroje jsou označené hvězdičkou *.

ANGER, Andreas M., Jean-Paul ARMACHE, Otto BERNINGHAUSEN, Michael HABECK, Marion SUBKLEWE, Daniel N. WILSON a Roland BECKMANN, 2013. Structures of the human and Drosophila 80S ribosome. *Nature* [online]. **497**(7447), 80–85. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/nature12104

BACHVAROVA, R a V DE LEON, 1977. Stored and polysomal ribosomes of mouse ova. *Developmental biology* [online]. **58**(2), 248–54. ISSN 0012-1606. Dostupné z: doi:10.1016/0012-1606(77)90090-2

BEAUDET, A L a C T CASKEY, 1971. Mammalian peptide chain termination. II. Codon specificity and GTPase activity of release factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **68**(3), 619–24. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.68.3.619

BETTERIDGE, K J a D RIEGER, 1993. Embryo transfer and related techniques in domestic animals, and their implications for human medicine. *Human reproduction (Oxford, England)* [online]. **8**(1), 147–67. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a137864

BOMBARDELLI, Gabriel D., Henrique F. SOARES a Ricardo C. CHEBEL, 2016. Time of insemination relative to reaching activity threshold is associated with pregnancy risk when using sex-sorted semen for lactating Jersey cows. *Theriogenology* [online]. **85**(3), 533–539. ISSN 0093691X. Dostupné z: doi:10.1016/j.theriogenology.2015.09.042

BOOCOCK, Graeme R B, Jodi A MORRISON, Maja POPOVIC, Nicole RICHARDS, Lynda ELLIS, Peter R DURIE a Johanna M ROMMENS, 2003. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nature genetics* [online]. **33**(1), 97–101. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/ng1062

BORTOLUZZI, S, F D'ALESSI, C ROMUALDI a G A DANIELI, 2001a. Differential expression of genes coding for ribosomal proteins in different human tissues. *Bioinformatics (Oxford, England)* [online]. **17**(12), 1152–7. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/17.12.1152

BORTOLUZZI, S, F D'ALESSI, C ROMUALDI a G A DANIELI, 2001b. Differential expression of genes coding for ribosomal proteins in different human tissues. *Bioinformatics (Oxford, England)* [online]. **17**(12), 1152–7. ISSN 1367-4803. Dostupné z: doi:10.1093/bioinformatics/17.12.1152

BROOKS, Susan S, Alissa L WALL, Christelle GOLZIO, David W REID, Amalia KONDYLES, Jason R WILLER, Christina BOTTI, Christopher V NICCHITTA, Nicholas KATSANIS a Erica E DAVIS, 2014. A novel ribosomopathy caused by dysfunction of RPL10 disrupts neurodevelopment and causes X-linked microcephaly in humans. *Genetics* [online]. **198**(2), 723–33. ISSN 1943-2631. Dostupné z: doi:10.1534/genetics.114.168211

BURKHOLDER, G D, D E COMINGS a T A OKADA, 1971. A storage form of ribosomes in mouse oocytes. *Experimental cell research* [online]. **69**(2), 361–71. ISSN 0014-4827. Dostupné z: doi:10.1016/0014-4827(71)90236-9

CAKMAK, Hakan, Victor Y. FUJIMOTO, A. Musa ZAMAH, Mitchell P. ROSEN, Nam D. TRAN, Marcelle I. CEDARS a Paolo F. RINAUDO, 2012. Metaphase II (MII) oocytes obtained at different time points in the same in vitro fertilization cycle. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* [online]. **29**(11), 1203–1205. ISSN 1058-0468. Dostupné z: doi:10.1007/s10815-012-9852-5

CALOUNOVA, Gabriela, Gabriel LIVERA, Xiao-Qun ZHANG, Kui LIU, Roger G GOSDEN a Michael WELSH, 2010. The Src homology 2 domain-containing adapter protein B (SHB) regulates mouse oocyte maturation. *PloS one* [online]. **5**(6), e11155. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0011155

DARNELL, Jennifer C, Sarah J VAN DRIESCHE, Chaolin ZHANG, Ka Ying Sharon HUNG, Aldo MELE, Claire E FRASER, Elizabeth F STONE, Cynthia CHEN, John J FAK, Sung Wook CHI, Donny D LICATALOSI, Joel D RICHTER a Robert B DARNELL, 2011. FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell* [online]. **146**(2), 247–61. ISSN 1097-4172. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.06.013

DAUWERSE, Johannes G, Jill DIXON, Saskia SELAND, Claudia A L RUIVENKAMP, Arie VAN HAERINGEN, Lies H HOEFSLOOT, Dorien J M PETERS, Agnes Clement-de BOERS, Cornelia DAUMER-HAAS, Robert MAIWALD, Christiane ZWEIER, Bronwyn KERR, Ana M COBO, Joaquín F TORAL, A Jeannette M HOOGEBOOM, Dietmar R LOHMANN, Ute HEHR, Michael J DIXON, Martijn H BREUNING a Dagmar WIECZOREK, 2011. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. *Nature genetics* [online]. **43**(1), 20–2. ISSN 1546-1718. Dostupné z: doi:10.1038/ng.724

DEL CAMPO, Eva M, Leonardo M CASANO a Eva BARRENO, 2013. Evolutionary implications of intron-exon distribution and the properties and sequences of the RPL10A gene in eukaryotes. *Molecular phylogenetics and evolution* [online]. **66**(3), 857–67. ISSN 1095-9513. Dostupné z: doi:10.1016/j.ympev.2012.11.013

*DEVER, Thomas E a Rachel GREEN, 2012. The elongation, termination, and recycling phases of translation in eukaryotes. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* [online]. **4**(7), a013706. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a013706

DHANRAJ, Santhosh, Anna MATVEEV, Hongbing LI, Supanun LAUHASURAYOTIN, Lawrence JARDINE, Michaela CADA, Bozana ZLATESKA, Chetankumar S TAILOR, Joseph ZHOU, Roberto MENDOZA-LONDONO, Ajoy VINCENT, Peter R DURIE, Stephen W SCHERER, Johanna M ROMMENS, Elise HEON a Yigal DROR, 2017. Biallelic mutations in DNAJC21 cause Shwachman-Diamond syndrome. *Blood* [online]. **129**(11), 1557–1562. ISSN 1528-0020. Dostupné z: doi:10.1182/blood-2016-08-735431

DIETERICH, Daniela C, Jennifer J L HODAS, Géraldine GOUZER, Ilya Y SHADRIN, John T NGO, Antoine TRILLER, David A TIRRELL a Erin M SCHUMAN, 2010. In situ visualization and dynamics of newly synthesized proteins in rat hippocampal neurons. *Nature neuroscience* [online]. **13**(7), 897–905. ISSN 1546-1726. Dostupné z: doi:10.1038/nn.2580

DOHERTY, Leana, Mee Rie SHEEN, Adrianna VLACHOS, Valerie CHOESMEL, Marie-Françoise O'DONOHUE, Catherine CLINTON, Hal E SCHNEIDER, Colin A SIEFF, Peter E NEWBURGER, Sarah E BALL, Edyta NIEWIADOMSKA, Michal MATYSIAK, Bertil GLADER, Robert J ARCECI, Jason E FARRAR, Eva ATSIDAFTOS, Jeffrey M LIPTON, Pierre-Emmanuel GLEIZES a Hanna T GAZDA, 2010. Ribosomal protein genes RPS10 and RPS26 are commonly mutated in Diamond-

Blackfan anemia. *American journal of human genetics* [online]. **86**(2), 222–8. ISSN 1537-6605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajhg.2009.12.015

DRAPTCHINSKAIA, N, P GUSTAVSSON, B ANDERSSON, M PETTERSSON, T N WILLIG, I DIANZANI, S BALL, G TCHERNIA, J KLAR, H MATSSON, D TENTLER, N MOHANDAS, B CARLSSON a N DAHL, 1999. The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nature genetics* [online]. **21**(2), 169–75. ISSN 1061-4036. Dostupné z: doi:10.1038/5951

DUNCAN, Francesca E, Karen SCHINDLER, Richard M SCHULTZ, Cecilia S BLENGINI, Paula STEIN, Stephen A STRICKER, Gary M WESSEL a Carmen J WILLIAMS, 2020. Unscrambling the oocyte and the egg: clarifying terminology of the female gamete in mammals. *Molecular human reproduction* [online]. **26**(11), 797–800. ISSN 1460-2407. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gaaa066

*FARLEY-BARNES, Katherine I, Lisa M OGAWA a Susan J BASERGA, 2019. Ribosomopathies: Old Concepts, New Controversies. *Trends in genetics : TIG* [online]. **35**(10), 754–767. ISSN 0168-9525. Dostupné z: doi:10.1016/j.tig.2019.07.004

FERRETTI, Max B, Homa GHALEI, Ethan A WARD, Elizabeth L POTTS a Katrin KARBSTEIN, 2017. Rps26 directs mRNA-specific translation by recognition of Kozak sequence elements. *Nature structural & molecular biology* [online]. **24**(9), 700–707. ISSN 1545-9985. Dostupné z: doi:10.1038/nsmb.3442

GAO, Xiaofei a Philip R HARDWIDGE, 2011. Ribosomal protein s3: a multifunctional target of attaching/effacing bacterial pathogens. *Frontiers in microbiology* [online]. **2**, 137. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2011.00137

GENUTH, Naomi R a Maria BARNA, 2018. The Discovery of Ribosome Heterogeneity and Its Implications for Gene Regulation and Organismal Life. *Molecular cell* [online]. **71**(3), 364–374. ISSN 1097-4164. Dostupné z: doi:10.1016/j.molcel.2018.07.018

GENUTH, Naomi R, Zhen SHI, Koshi KUNIMOTO, Victoria HUNG, Adele F XU, Craig H KERR, Gerald C TIU, Juan A OSES-PRIETO, Rachel E A SALOMON-SHULMAN, Jeffrey D AXELROD, Alma L BURLINGAME, Kyle M LOH a Maria BARNA, 2022a. A stem cell roadmap of ribosome heterogeneity reveals a function for RPL10A in mesoderm production. *Nature communications* [online]. **13**(1), 5491. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/s41467-022-33263-3

GILBERT, Wendy V, 2011. Functional specialization of ribosomes? *Trends in biochemical sciences* [online]. **36**(3), 127–32. ISSN 0968-0004. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibs.2010.12.002

GINZBERG, H, J SHIN, L ELLIS, J MORRISON, W IP, Y DROR, M FREEDMAN, L A HEITLINGER, M A BELT, M COREY, J M ROMMENS a P R DURIE, 1999. Shwachman syndrome: phenotypic manifestations of sibling sets and isolated cases in a large patient cohort are similar. *The Journal of pediatrics* [online]. **135**(1), 81–8. ISSN 0022-3476. Dostupné z: doi:10.1016/s0022-3476(99)70332-x

GONZALES, Bianca, Dale HENNING, Rolando B SO, Jill DIXON, Michael J DIXON a Benigno C VALDEZ, 2005. The Treacher Collins syndrome (TCOF1) gene product is involved in pre-rRNA methylation. *Human molecular genetics* [online]. **14**(14), 2035–43. ISSN 0964-6906. Dostupné z: doi:10.1093/hmg/ddi208

GOPANENKO, Alexander V, Alena V KOLOBOVA, Maria I MESCHANINOVA, Alya G VENYAMINOVA, Alexey E TUPIKIN, Marsel R KABILOV, Alexey A MALYGIN a Galina G KARPOVA, 2021. Knockdown of the mRNA encoding the ribosomal protein eL38 in mammalian cells causes a substantial reorganization of genomic transcription. *Biochimie* [online]. **184**, 132–142. ISSN 1638-6183. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2021.02.017

GOUGEON, A, 1986. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Human reproduction (Oxford, England)* [online]. **1**(2), 81–7. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a136365

GRANNEMAN, Sander a David TOLLERVEY, 2007. Building ribosomes: even more expensive than expected? *Current biology : CB* [online]. **17**(11), R415-7. ISSN 0960-9822. Dostupné z: doi:10.1016/j.cub.2007.04.011

GREEN, R a H F NOLLER, 1997. Ribosomes and translation. *Annual review of biochemistry* [online]. **66**, 679–716. ISSN 0066-4154. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.biochem.66.1.679

GROVER, Allison R., Barbara FEGLEY, Timothy V. DUNCAN a Francesca E. DUNCAN, 2018. The Oocyte. In: *Encyclopedia of Reproduction* [online]. B.m.: Elsevier, s. 21–28. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.64390-8

HABARA, Okiko, Catriona Y LOGAN, Masami KANAI-AZUMA, Roeland NUSSE a Hinako M TAKASE, 2021. WNT signaling in pre-granulosa cells is required for ovarian folliculogenesis and female fertility. *Development (Cambridge, England)* [online]. **148**(9). ISSN 1477-9129. Dostupné z: doi:10.1242/dev.198846

HADEK, R, 1966. Cytoplasmic whorls in the golden hamster oocyte. *Journal of cell science* [online]. **1**(3), 281–2. ISSN 0021-9533. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.1.3.281

HAZELEGER, N L, D J HILL, R B STUBBING a J S WALTON, 1995. Relationship of morphology and follicular fluid environment of bovine oocytes to their developmental potential in vitro. *Theriogenology* [online]. **43**(2), 509–22. ISSN 0093-691X. Dostupné z: doi:10.1016/0093-691x(94)00043-t

CHENG, Shiya, Gerrit ALTMEPPEN, Chun SO, Luisa M WELP, Sarah PENIR, Torben RUHWEDEL, Katerina MENELAOU, Katarina HARASIMOV, Alexandra STÜTZER, Martyn BLAYNEY, Kay ELDER, Wiebke MÖBIUS, Henning URLAUB a Melina SCHUH, 2022. Mammalian oocytes store mRNAs in a mitochondria-associated membraneless compartment. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **378**(6617), eabq4835. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.abq4835

ISLAM, Rowshan Ara a Charalampos RALLIS, 2023. Ribosomal Biogenesis and Heterogeneity in Development, Disease, and Aging. *Epigenomes* [online]. **7**(3). ISSN 2075-4655. Dostupné z: doi:10.3390/epigenomes7030017

ISRAELSEN, William J a Matthew G VANDER HEIDEN, 2015. Pyruvate kinase: Function, regulation and role in cancer. *Seminars in cell & developmental biology* [online]. **43**, 43–51. ISSN 1096-3634. Dostupné z: doi:10.1016/j.semcdb.2015.08.004

IYYAPPAN, Rajan, Daria ALESHKINA, Hao MING, Michal DVORAN, Kianoush KAKAVAND, Denisa JANSOVA, Edgar DEL LLANO, Lenka GAHUROVA, Alexander W BRUCE, Tomas

MASEK, Martin POSPISEK, Filip HORVAT, Michal KUBELKA, Zongliang JIANG a Andrej SUSOR, 2023. The translational oscillation in oocyte and early embryo development. *Nucleic Acids Research* [online]. **51**(22), 12076–12091. ISSN 0305-1048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkad996

*JACKSON, Richard J, Christopher U T HELLEN a Tatyana V PESTOVA, 2010. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation. *Nature reviews. Molecular cell biology* [online]. **11**(2), 113–27. ISSN 1471-0080. Dostupné z: doi:10.1038/nrm2838

JANSOVA, Denisa, Anna TETKOVA, Marketa KONCICKA, Michal KUBELKA a Andrej SUSOR, 2018. Localization of RNA and translation in the mammalian oocyte and embryo. *PloS one* [online]. **13**(3), e0192544. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0192544

JENTOFT, Ida M A, Felix J B BÄUERLEIN, Luisa M WELP, Benjamin H COOPER, Arsen PETROVIC, Chun SO, Sarah Mae PENIR, Antonio Z POLITI, Yehor HOROKHOVSKYI, Iina TAKALA, Heike ECKEL, Rüdiger MOLTRECHT, Peter LÉNÁRT, Tommaso CAVAZZA, Juliane LIEPE, Nils BROSE, Henning URLAUB, Rubén FERNÁNDEZ-BUSNADIEGO a Melina SCHUH, 2023. Mammalian oocytes store proteins for the early embryo on cytoplasmic lattices. *Cell* [online]. **186**(24), 5308-5327.e25. ISSN 1097-4172. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2023.10.003

KALAB, P, J Z KUBIAK, M H VERLHAC, W H COLLEDGE a B MARO, 1996. Activation of p90rsk during meiotic maturation and first mitosis in mouse oocytes and eggs: MAP kinase-independent and -dependent activation. *Development (Cambridge, England)* [online]. **122**(6), 1957–64. ISSN 0950-1991. Dostupné z: doi:10.1242/dev.122.6.1957

KAN, Rui, Piraye YURTTAS, Boram KIM, Mei JIN, Luccie WO, Bora LEE, Roger GOSDEN a Scott A COONROD, 2011. Regulation of mouse oocyte microtubule and organelle dynamics by PADI6 and the cytoplasmic lattices. *Developmental biology* [online]. **350**(2), 311–22. ISSN 1095-564X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ydbio.2010.11.033

KEJIOU, Nevraj S, Lena ILAN, Stefan AIGNER, Enching LUO, Tori TONN, Hakan OZADAM, Muyoung LEE, Gregory B COLE, Ines RABANO, Nishani RAJAKULENDRAN, Brian A YEE, Hamed S NAJAFABADI, Trevor F MORAES, Stephane ANGERS, Gene W YEO, Can CENIK a Alexander F PALAZZO, 2023. Pyruvate Kinase M (PKM) binds ribosomes in a poly-ADP ribosylation dependent manner to induce translational stalling. *Nucleic acids research* [online]. **51**(12), 6461–6478. ISSN 1362-4962. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkad440

*KHAN, Yusuf S. a Kristin M. ACKERMAN, 2023. *Embryology, Week 1*.

*KLINGE, Sebastian, Felix VOIGTS-HOFFMANN, Marc LEIBUNDGUT a Nenad BAN, 2012. Atomic structures of the eukaryotic ribosome. *Trends in biochemical sciences* [online]. **37**(5), 189–98. ISSN 0968-0004. Dostupné z: doi:10.1016/j.tibs.2012.02.007

KNOBLOCHOVA, Lucie, Tomas DURICEK, Michaela VASKOVICOVA, Chrysoula ZORZOMPOKOU, Diana RAYOVA, Ivana FERENCOVA, Vladimir BARAN, Richard M SCHULTZ, Eva R HOFFMANN a David DRUTOVIC, 2023. CHK1-CDC25A-CDK1 regulate cell cycle progression and protect genome integrity in early mouse embryos. *EMBO reports* [online]. e56530. ISSN 1469-3178. Dostupné z: doi:10.15252/embr.202256530

KONDRASHOV, Nadya, Aya PUSIC, Craig R STUMPF, Kunihiko SHIMIZU, Andrew C HSIEH, Junko ISHIJIMA, Toshihiko SHIROISHI a Maria BARNA, 2011a. Ribosome-mediated specificity in

Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning. *Cell* [online]. **145**(3), 383–397. ISSN 1097-4172. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2011.03.028

LI, Dan a Jianlong WANG, 2020. Ribosome heterogeneity in stem cells and development. *The Journal of cell biology* [online]. **219**(6). ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.202001108

LI, Shuai a Wipawee WINUTHAYANON, 2017. Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. *The Journal of endocrinology* [online]. **232**(1), R1–R26. ISSN 1479-6805. Dostupné z: doi:10.1530/JOE-16-0302

LI, Yan-Ru, Rui-Rui PENG, Wen-Yi GAO, Peng LIU, Liang-Jian CHEN, Xiao-Lan ZHANG, Na-Na ZHANG, Yang WANG, Lei DU, Feng-Yu ZHU, Li-Li WANG, Cong-Rong LI, Wen-Tao ZENG, Jian-Min LI, Fan HU, Dong ZHANG a Zhi-Xia YANG, 2019. The ubiquitin ligase KBTBD8 regulates PKM1 levels via Erk1/2 and Aurora A to ensure oocyte quality. *Aging* [online]. **11**(4), 1110–1128. ISSN 1945-4589. Dostupné z: doi:10.18632/aging.101802

LINDSLEY, R Coleman, Wael SABER, Brenton G MAR, Robert REDD, Tao WANG, Michael D HAAGENSON, Peter V GRAUMAN, Zhen-Huan HU, Stephen R SPELLMAN, Stephanie J LEE, Michael R VERNERIS, Katharine HSU, Katharina FLEISCHHAUER, Corey CUTLER, Joseph H ANTIN, Donna NEUBERG a Benjamin L EBERT, 2017. Prognostic Mutations in Myelodysplastic Syndrome after Stem-Cell Transplantation. *The New England journal of medicine* [online]. **376**(6), 536–547. ISSN 1533-4406. Dostupné z: doi:10.1056/NEJMoa1611604

LIU, Xiao-Man, Ming-Qi YAN, Shu-Yan JI, Qian-Qian SHA, Tao HUANG, Han ZHAO, Hong-Bin LIU, Heng-Yu FAN a Zi-Jiang CHEN, 2018. Loss of oocyte Rps26 in mice arrests oocyte growth and causes premature ovarian failure. *Cell death & disease* [online]. **9**(12), 1144. ISSN 2041-4889. Dostupné z: doi:10.1038/s41419-018-1196-3

MAURO, Vincent P a Gerald M EDELMAN, 2002. The ribosome filter hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **99**(19), 12031–6. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.192442499

MCGAUGHEY, R W, J H MARSTON a M C CHANG, 1968. Fertilizing life of mouse spermatozoa in the female tract. *Journal of reproduction and fertility* [online]. **16**(1), 147–50. ISSN 0022-4251. Dostupné z: doi:10.1530/jrf.0.0160147

MELNIKOV, Sergey, Adam BEN-SHEM, Nicolas GARREAU DE LOUBRESSE, Lasse JENNER, Gulnara YUSUPOVA a Marat YUSUPOV, 2012. One core, two shells: bacterial and eukaryotic ribosomes. *Nature structural & molecular biology* [online]. **19**(6), 560–7. ISSN 1545-9985. Dostupné z: doi:10.1038/nsmb.2313

*MÉNÉZO, Yves J R a François HÉRUBEL, 2002. Mouse and bovine models for human IVF. *Reproductive biomedicine online* [online]. **4**(2), 170–5. ISSN 1472-6483. Dostupné z: doi:10.1016/s1472-6483(10)61936-0

MOK, Ka Wai, Dolores D MRUK a C Yan CHENG, 2013. Regulation of blood-testis barrier (BTB) dynamics during spermatogenesis via the „Yin" and „Yang" effects of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) and mTORC2. *International review of cell and molecular biology* [online]. **301**, 291–358. ISSN 1937-6448. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-407704-1.00006-3

*MURRAY, K., V. RODWELL, D. BENDER, K. M. BOTHAM, P. A. WEIL a P. J. KENNELLY, 2009. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26. vyd.

MYERS, Kasiani C, Audrey Anna BOLYARD, Barbara OTTO, Trisha E WONG, Amanda T JONES, Richard E HARRIS, Stella M DAVIES, David C DALE a Akiko SHIMAMURA, 2014. Variable clinical presentation of Shwachman-Diamond syndrome: update from the North American Shwachman-Diamond Syndrome Registry. *The Journal of pediatrics* [online]. **164**(4), 866–70. ISSN 1097-6833. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpeds.2013.11.039

NAMGOONG, Suk a Nam-Hyung KIM, 2018. Meiotic spindle formation in mammalian oocytes: implications for human infertility. *Biology of reproduction* [online]. **98**(2), 153–161. ISSN 1529-7268. Dostupné z: doi:10.1093/biolre/iox145

NIKOLIC, Aleksandar, Vladislav VOLAREVIC, Lyle ARMSTRONG, Majlinda LAKO a Miodrag STOJKOVIC, 2016. Primordial Germ Cells: Current Knowledge and Perspectives. *Stem cells international* [online]. **2016**, 1741072. ISSN 1687-966X. Dostupné z: doi:10.1155/2016/1741072

NOBEN-TRAUTH, Konrad a Joseph R LATOCHE, 2011. Ectopic mineralization in the middle ear and chronic otitis media with effusion caused by RPL38 deficiency in the Tail-short (Ts) mouse. *The Journal of biological chemistry* [online]. **286**(4), 3079–93. ISSN 1083-351X. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M110.184598

*NORRIS, Karl, Tayah HOPES a Julie Louise ASPDEN, 2021. Ribosome heterogeneity and specialization in development. *Wiley interdisciplinary reviews. RNA* [online]. **12**(4), e1644. ISSN 1757-7012. Dostupné z: doi:10.1002/wrna.1644

OLIVEIRA, Camila, Helisson FAORO, Lysangela Ronalte ALVES a Samuel GOLDENBERG, 2017. RNA-binding proteins and their role in the regulation of gene expression in Trypanosoma cruzi and Saccharomyces cerevisiae. *Genetics and molecular biology* [online]. **40**(1), 22–30. ISSN 1415-4757. Dostupné z: doi:10.1590/1678-4685-GMB-2016-0258

*OLIVER, Rebecca a Hajira BASIT, 2023. *Embryology, Fertilization*.

PALADE, G E, 1955. A small particulate component of the cytoplasm. *The Journal of biophysical and biochemical cytology* [online]. **1**(1), 59–68. ISSN 0095-9901. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.1.1.59

PANIĆ, Linda, Sanda TAMARUT, Melanie STICKER-JANTSCHEFF, Martina BARKIĆ, Davor SOLTER, Miljana UZELAC, Kristina GRABUSIĆ a Sinisa VOLAREVIĆ, 2006. Ribosomal protein S6 gene haploinsufficiency is associated with activation of a p53-dependent checkpoint during gastrulation. *Molecular and cellular biology* [online]. **26**(23), 8880–91. ISSN 0270-7306. Dostupné z: doi:10.1128/MCB.00751-06

POITEVIN, Frédéric, Artem KUSHNER, Xinpei LI a Khanh DAO DUC, 2020. Structural Heterogeneities of the Ribosome: New Frontiers and Opportunities for Cryo-EM. *Molecules (Basel, Switzerland)* [online]. **25**(18). ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25184262

REDDY, Pradeep, Lian LIU, Deepak ADHIKARI, Krishna JAGARLAMUDI, Singareddy RAJAREDDY, Yan SHEN, Chun DU, Wenli TANG, Tuula HÄMÄLÄINEN, Stanford L PENG, Zi-Jian LAN, Austin J COONEY, Ilpo HUHTANIEMI a Kui LIU, 2008. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science (New York, N.Y.)* [online]. **319**(5863), 611–3. ISSN 1095-9203. Dostupné z: doi:10.1126/science.1152257

*RODNINA, Marina V a Wolfgang WINTERMEYER, 2009. Recent mechanistic insights into eukaryotic ribosomes. *Current opinion in cell biology* [online]. **21**(3), 435–43. ISSN 1879-0410. Dostupné z: doi:10.1016/j.ceb.2009.01.023

ROMASKO, Edward J, Dasari AMARNATH, Uros MIDIC a Keith E LATHAM, 2013. Association of maternal mRNA and phosphorylated EIF4EBP1 variants with the spindle in mouse oocytes: localized translational control supporting female meiosis in mammals. *Genetics* [online]. **195**(2), 349–58. ISSN 1943-2631. Dostupné z: doi:10.1534/genetics.113.154005

*SANTOS, Regiane R, Eric J SCHOEVERS a Bernard AJ ROELEN, 2014a. Usefulness of bovine and porcine IVM/IVF models for reproductive toxicology. *Reproductive Biology and Endocrinology* [online]. **12**(1), 117. ISSN 1477-7827. Dostupné z: doi:10.1186/1477-7827-12-117

SEGEV, Nadav a Jeffrey E GERST, 2018. Specialized ribosomes and specific ribosomal protein paralogs control translation of mitochondrial proteins. *The Journal of cell biology* [online]. **217**(1), 117–126. ISSN 1540-8140. Dostupné z: doi:10.1083/jcb.201706059

SEN, Aritro a Francesco CAIAZZA, 2013. Oocyte maturation: a story of arrest and release. *Frontiers in bioscience (Scholar edition)* [online]. **5**(2), 451–77. ISSN 1945-0524. Dostupné z: doi:10.2741/s383

SHI, Zhen, Kotaro FUJII, Kyle M KOVARY, Naomi R GENUTH, Hannes L RÖST, Mary N TERUEL a Maria BARNA, 2017. Heterogeneous Ribosomes Preferentially Translate Distinct Subpools of mRNAs Genome-wide. *Molecular cell* [online]. **67**(1), 71-83.e7. ISSN 1097-4164. Dostupné z: doi:10.1016/j.molcel.2017.05.021

*SCHEPER, Gert C, Barbara VAN KOLLENBURG, Jianzhong HU, Yunjing LUO, Dixie J GOSS a Christopher G PROUD, 2002. Phosphorylation of eukaryotic initiation factor 4E markedly reduces its affinity for capped mRNA. *The Journal of biological chemistry* [online]. **277**(5), 3303–9. ISSN 0021-9258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.M103607200

SCHULTZ, R M a P M WASSARMAN, 1977. Biochemical studies of mammalian oogenesis: Protein synthesis during oocyte growth and meiotic maturation in the mouse. *Journal of cell science* [online]. **24**, 167–94. ISSN 0021-9533. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.24.1.167

SIMSEK, Deniz, Gerald C TIU, Ryan A FLYNN, Gun W BYEON, Kathrin LEPPEK, Adele F XU, Howard Y CHANG a Maria BARNA, 2017. The Mammalian Ribo-interactome Reveals Ribosome Functional Diversity and Heterogeneity. *Cell* [online]. **169**(6), 1051-1065.e18. ISSN 1097-4172. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2017.05.022

SUSOR, Andrej, Denisa JANSOVA, Martin ANGER a Michal KUBELKA, 2016. Translation in the mammalian oocyte in space and time. *Cell and tissue research* [online]. **363**(1), 69–84. ISSN 1432-0878. Dostupné z: doi:10.1007/s00441-015-2269-6

SUSOR, Andrej, Denisa JANSOVA, Renata CERNA, Anna DANYLEVSKA, Martin ANGER, Tereza TORALOVA, Radek MALIK, Jaroslava SUPOLIKOVA, Matthew S COOK, Jeong Su OH a Michal KUBELKA, 2015. Temporal and spatial regulation of translation in the mammalian oocyte via the mTOR-eIF4F pathway. *Nature communications* [online]. **6**, 6078. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:10.1038/ncomms7078

TAN, Shengjiang, Laëtitia KERMASSON, Angela HOSLIN, Pekka JAAKO, Alexandre FAILLE, Abraham ACEVEDO-AROZENA, Etienne LENGLINE, Dana RANTA, Maryline POIRÉE, Odile FENNETEAU, Hubert DUCOU LE POINTE, Stefano FUMAGALLI, Blandine BEAUPAIN, Patrick NITSCHKÉ, Christine BÔLE-FEYSOT, Jean-Pierre DE VILLARTAY, Christine BELLANNÉ-CHANTELOT, Jean DONADIEU, Caroline KANNENGIESSER, Alan J WARREN a Patrick REVY, 2019. EFL1 mutations impair eIF6 release to cause Shwachman-Diamond syndrome. *Blood* [online]. **134**(3), 277–290. ISSN 1528-0020. Dostupné z: doi:10.1182/blood.2018893404

THOMSON, Emma, Sébastien FERREIRA-CERCA a Ed HURT, 2013. Eukaryotic ribosome biogenesis at a glance. *Journal of cell science* [online]. **126**(Pt 21), 4815–21. ISSN 1477-9137. Dostupné z: doi:10.1242/jcs.111948

VALDEZ, Benigno C, Dale HENNING, Rolando B SO, Jill DIXON a Michael J DIXON, 2004. The Treacher Collins syndrome (TCOF1) gene product is involved in ribosomal DNA gene transcription by interacting with upstream binding factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **101**(29), 10709–14. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0402492101

WARNER, J R, 1999. The economics of ribosome biosynthesis in yeast. *Trends in biochemical sciences* [online]. **24**(11), 437–40. ISSN 0968-0004. Dostupné z: doi:10.1016/s0968-0004(99)01460-7

WEAKLEY, B S, 1968. Comparison of cytoplasmic lamellae and membranous elements in the oocytes of five mammalian species. *Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie (Vienna, Austria : 1948)* [online]. **85**(1), 109–23. ISSN 0340-0336. Dostupné z: doi:10.1007/BF00330591

WEIS, Félix, Emmanuel GIUDICE, Mark CHURCHER, Li JIN, Christine HILCENKO, Chi C WONG, David TRAYNOR, Robert R KAY a Alan J WARREN, 2015. Mechanism of eIF6 release from the nascent 60S ribosomal subunit. *Nature structural & molecular biology* [online]. **22**(11), 914–9. ISSN 1545-9985. Dostupné z: doi:10.1038/nsmb.3112

WELLS, S E, P E HILLNER, R D VALE a A B SACHS, 1998. Circularization of mRNA by eukaryotic translation initiation factors. *Molecular cell* [online]. **2**(1), 135–40. ISSN 1097-2765. Dostupné z: doi:10.1016/s1097-2765(00)80122-7

WILSON, Daniel N a Jamie H DOUDNA CATE, 2012. The structure and function of the eukaryotic ribosome. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* [online]. **4**(5). ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:10.1101/cshperspect.a011536

WOOL, I G, 1996. Extraribosomal functions of ribosomal proteins. *Trends in biochemical sciences*. **21**(5), 164–5. ISSN 0968-0004.

XUE, Shifeng a Maria BARNA, 2012. Specialized ribosomes: a new frontier in gene regulation and organismal biology. *Nature reviews. Molecular cell biology* [online]. **13**(6), 355–69. ISSN 1471-0080. Dostupné z: doi:10.1038/nrm3359

YADAVILLI, Sridevi, Vijay HEGDE a Walter A DEUTSCH, 2007. Translocation of human ribosomal protein S3 to sites of DNA damage is dependant on ERK-mediated phosphorylation following genotoxic stress. *DNA repair* [online]. **6**(10), 1453–62. ISSN 1568-7864. Dostupné z: doi:10.1016/j.dnarep.2007.04.009

*YUSUPOVA, Gulnara a Marat YUSUPOV, 2017. Crystal structure of eukaryotic ribosome and its complexes with inhibitors. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* [online]. **372**(1716). ISSN 1471-2970. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2016.0184

ZAMBONI, L, 1970. Ultrastructure of mammalian oocytes and ova. *Biology of reproduction. Supplement*. **2**, 44–63. ISSN 0523-6754.

ZHOU, Xiang, Wen-Juan LIAO, Jun-Ming LIAO, Peng LIAO a Hua LU, 2015. Ribosomal proteins: functions beyond the ribosome. *Journal of molecular cell biology* [online]. **7**(2), 92–104. ISSN 1759-4685. Dostupné z: doi:10.1093/jmcb/mjv014

ZHOURAVLEVA, G, L FROLOVA, X LE GOFF, R LE GUELLEC, S INGE-VECHTOMOV, L KISSELEV a M PHILIPPE, 1995. Termination of translation in eukaryotes is governed by two interacting polypeptide chain release factors, eRF1 and eRF3. *The EMBO journal* [online]. **14**(16), 4065–72. ISSN 0261-4189. Dostupné z: doi:10.1002/j.1460-2075.1995.tb00078.x