



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0620-07

Molekulárne mechanizmy regulácie vývinu preimplantačného embrya

Zodpovedný riešiteľ **Doc. MVDr. Juraj Koppel, DrSc.**

Príjemca

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

1. ÚFŽG AV ČR Liběchov, ČR
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. ČIKOŠ, Štefan - KOPPEL, Juraj. Transformation of real-time PCR fluorescence data to target gene quantity. In Analytical Biochemistry, 2009, vol. 384, p. 1-10. (3.088 - IF2008).
2. FABIAN, Dušan - ČIKOŠ, Štefan - KOPPEL, Juraj. Gene Expression in Mouse Preimplantation Embryos Affected by Apoptotic Inductor Actinomycin D. In Journal of reproduction and development, 2009, vol. 55, no. 5, p. 576-582. (1.609 - IF2008).
3. FABIAN, Dušan - BUKOVSKÁ, Alexandra - JUHÁS, Štefan - KOPPEL, Juraj. Apoptotic processes and DNA cytosine methylation in mouse embryos arrested at the 2-cell stage. In Zygote, 2009, vol. 17, no. 3, p. 269-279. (1.067 - IF2008).
4. ČIKOŠ, Štefan - BURKUŠ, Ján - BUKOVSKÁ, Alexandra - FABIAN, Dušan - REHÁK, Pavol - KOPPEL, Juraj. Expression of adiponectin receptors and effects of adiponectin

isoforms in mouse preimplantation embryos. In Human reproduction, 2010, vol. 25, no. 9, p. 2247-2255. (3.859 – IF2009).

5. FABIAN, Dušan - BYSTRIANSKY, Ján - ČIKOŠ, Štefan - BUKOVSKÁ, Alexandra - BURKUŠ, Ján - KOPPEL, Juraj. The effect on preimplantation embryo development of non-specific inflammation localized outside the reproductive tract. In Theriogenology : international journal of animal reproduction Theriogenology (Los Altos), 2010, vol. 74, p. 1652-1660. (2.073 - IF2009).

Uplatnenie výsledkov projektu

Získané výsledky môžu prispieť v oblasti aplikovaného výskumu pri rozvoji biotechnologických metód použiteľných v poľnohospodárskej praxi s cieľom zvýšiť úspešnosť in vitro embryo manipulácií, pričom v budúcnosti bude možné využiť tieto výsledky aj v programoch ľudskej IVF. Bližšie poznanie úlohy niektorých typov študovaných receptorov môže poskytnúť aj nové informácie o nepriaznivých faktoroch v organizme matky (napr. stres), ktoré môžu ovplyvniť vývin embrya v období pred implantáciou do maternice.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

U preimplantačných embryí myši sme preukázali expresiu mRNA dvoch typov dopamínových receptorov. U blastocýst kráľiaka a hovädzieho dobytku sme zistili expresiu viacerých subtypov beta-, alfa 2- a alfa 1- adrenergických receptorov. Popísali sme expresný profil adiponektínových receptorov počas preimplantačného vývinu myši a preukázali sme rozdielny efekt rôznych izoformi adiponektínu na preimplantačný vývin. Zaznamenali sme rozdielny expresný profil mRNA vybraných bunkových receptorov a enzýmu adenylát cyklázy u myšacích preimplantačných embryí, primárnych embryonálnych fibroblastov a línie myšacích embryonálnych kmeňových buniek C57/BL6. Po aktivácii alebo aplikácii špecifických ligandov (mediátorov sprevádzajúcich zápal a metabolické poruchy in vivo, inhibítora transkripcie a bunkového cyklu in vitro) sme zistili špecifické zmeny v expresii rôznych génov a v aktivácii reparačných mechanizmov (apoptóza), ktoré viedli k negatívnym zmenám v raste a kvalite preimplantačných embryí. Pri štúdiu signálnych dráh zahrnutých do regulácie vývinu oocyty a preimplantačného embrya sme zistili, že Aurora-A neiniciuje vstup oocyty do meiózy, ale spolu s Plk1 kinázou sa podieľa na vytváraní deliaceho vretienka. Overexpresia Aurora-A spôsobuje predĺženie deliaceho vretienka a zvýšenú akumuláciu γ -Tubulínu a tiež prekonáva kontrolné mechanizmy vzniku deliaceho vretienka. Selektívna inhibícia aktivity Akt/PKB a CDK1 zastavuje vstup preimplantačného embrya do prvej mitózy. Inhibícia Akt/PKB spôsobuje prirodzenú elimináciu embrya procesom apoptózy, na rozdiel od embrya s inhibovanou aktivitou CDK1, čo naznačuje, že Akt/PKB kináza sprostredkujúva anti-apoptotické signály v jednobunkovom myšacom embryu.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

We demonstrated expression of mRNA for two types of dopamine receptors in mouse preimplantation embryos. In rabbit and bovine blastocysts, we found expression of several subtypes of beta-, alpha 2- and alpha 1- adrenoceptors. We described the expression profile of adiponectin receptor mRNAs during mouse preimplantation development, and showed different effects of various adiponectin isoforms on the preimplantation development. We found differences in mRNA expression of selected receptors and adenylyl cyclase in mouse preimplantation embryos, primary embryonal fibroblasts, and C57/BL6 line of mouse embryonic stem cells. We showed that the presence of specific ligands (mediators accompanying inflammation and metabolic disorders in vivo, transcription and cell cycle inhibitors in vitro) in microenvironment of developing embryo can cause specific changes in gene expression and in the activity of cell reparatory mechanisms, which can negatively affect embryo growth and quality. Examining signaling pathways involved in the regulation of oocyte

and preimplantation embryo development, we found that Aurora-A does not initiate the oocyte enter into the meiosis but cooperates with Plk1 in spindle assembly. Overexpression of Aurora-A led to prolongation of spindle and to increased accumulation of γ -Tubulin. In addition, overexpression of Aurora-A is able to overcome spindle assembly check-point. Selective inhibition of Akt/PKB or CDK1 activity arrested enter into the first mitosis. The comparison of Akt/PKB and CDK1 inhibited embryos showed that, apoptosis occurred in the embryos with inhibited Akt/PKB kinase, only. We assume that, Akt/PKB is a primary target responsible for mediating an anti-apoptotic signals in one-cell mouse embryo.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Doc. MVDr. Juraj Koppel, DrSc.

V Košiciach 26. 01. 2011

Štatutárny zástupca príjemcu

Doc. MVDr. Štefan Faix, CSc.

V Košiciach 26. 01. 2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu