

STRESZCZENIE

Choć rozwój komórek gametogenicznych u różnych gatunków zwierząt przebiega odmiennie, wiele czynników zaangażowanych w ten proces jest silnie zachowanych w ewolucji, w szczególności białka wiążące RNA (RBP) takie jak NANOS. Molekularny mechanizm działania tych RBP jest znany, jednak docelowe mRNA białek NANOS1 i NANOS3 oraz biologiczne konsekwencje regulacji tych mRNA przez białka NANOS w ludzkich komórkach gametogenicznych pozostawały w znacznej mierze niezbadane.

W niniejszej rozprawie zidentyfikowano i scharakteryzowano pod względem funkcjonalnym docelowe mRNA białek NANOS1 i NANOS3 za pomocą sekwencjonowania RNA (RNA-Seq) w warunkach podwyższonego poziomu białek NANOS1 i NANOS3 w linii komórkowej TCam-2 reprezentującej ludzkie pomigracyjne pierwotne komórki gametogeniczne. Tym sposobem wśród mRNA regulowanych przez NANOS1 zidentyfikowano kilka messengerów kodujących białka proapoptotyczne, zaangażowane w szlak apoptozy kontrolowany przez białko p53. Pokazano, że ten proapoptotyczny szlak jest hamowany przez białko NANOS1. Oznacza to, że NANOS1 chroni pierwotne komórki rozrodcze przed apoptozą poprzez obniżenie ekspresji genów proapoptotycznych. Oprócz tego pokazano, że białko NANOS1 [(Pro34Thr);(Ser83del)] obecne u nieplodnych mężczyzn, utraciło zdolność hamowania ekspresji tych proapoptotycznych genów w komórkach TCam-2 (Artykuł 1). Sekwencjonowanie RNA ujawniło ponadto, że podwyższony poziom NANOS1 i NANOS3 powoduje obniżenie poziomu setek mRNA kodujących białka cyklu komórkowego odmiennych dla NANOS1 i dla NANOS3. Docelowe mRNA białka NANOS1 są zaangażowane w regulację przejścia G1/S. Zgodnie z tym pokazano, że NANOS1 wpływa na regulację tej fazy cyklu. Z kolei docelowe mRNA białka NANOS3 są zaangażowane na różnych etapach cyklu komórkowego, podczas gdy sam NANOS3 reguluje fazę G2/M. Pokazano również, że NANOS3 reguluje tę fazę cyklu komórkowego wraz z innym RBP, PUM1. Ma to miejsce poprzez regulację mRNA *FOXM1* kodującego czynnik transkrypcyjny kluczowy dla ekspresji genów fazy G2/M. Wśród mRNA kodujących białka cyklu komórkowego regulowanych przez NANOS1 i NANOS3 są mRNA kluczowe dla płodności, a także geny wykazujące wysoką ekspresję w komórkach rozrodczych oraz w komórkach nowotworowych. (Artykuł 2). Biorąc pod uwagę, że NANOS1 i NANOS3 są zaangażowane w procesy takie jak apoptoza i cykl komórkowy, a także regulują geny, których ekspresja jest zaburzona w nowotworach, zbadaliśmy potencjalną rolę białek NANOS w nowotworach człowieka. Analiza danych RNA-Seq z publicznie dostępnych baz pokazała, że *NANOS1* i

NANOS3 ulegają istotnej nadekspresji w różnych typach nowotworów (Artykuł 3). Podsumowując, niniejsza rozprawa przedstawia pierwszą globalną charakterystykę mRNA regulowanych przez białka *NANOS1* i *NANOS3* oraz wskazuje na biologiczne konsekwencje tej regulacji dla rozwoju komórek gametogenicznych oraz chorób człowieka.