

Regulace proteosyntézy v savčím oocytu

Kontrola a řízení proteosyntézy, respektive translace mRNA hraje zásadní roli v regulaci genové exprese během oogeneze a rané embryogeneze. Při regulaci translace záleží především na její iniciaci, která je řízena pomocí 5' a 3' nepřekládané oblasti mRNA (5' a 3' untranslated region, 5'UTR a 3'UTR) a začíná formováním 48S pre-iniciačního komplexu. Ten váže 40S ribozomální podjednotku a řadu eukaryotních iniciačních faktorů (Rhoads, 1993; Gray a Wickens, 1998). Vazba ribozom-mRNA při cap-dependentní translaci zahrnuje interakce zprostředkované eukaryotním translačním iniciačním faktorem 4F (eIF4F), který je také nazýván čepičkou vázající komplex. Tento faktor sestává ze tří podjednotek: eIF4E (specificky rozeznává 7-methylguanoinovou čepičkovou strukturu na 5' konci mRNA), eIF4A (má helikázovou aktivitu) a eIF4G (spojuje faktory eIF4E a eIF4A) (Mader *et al.*, 1995).

Kromě iniciace translace, která je závislá na čepičkové struktuře, existuje u eukaryot mechanismus na čepičce nezávislý, tzv. IRES (interní vstupní místo ribozomu, internal ribosome entry site). Spočívá v nasedání ribozomu na specifické sekundární struktury mRNA, 19 které se nacházejí uvnitř 5'UTR ve značné vzdálenosti od čepičkové struktury (Ellederová *et al.*, 2004).

Míra translace je hlavním determinantem buněčného růstu, diferenciaci a vývoje (Tomek *et al.*, 2002).

2.2.1. Transkripce v oocytu

Během růstové fáze jsou savčí oocyty transkripčně aktivní. Tato transkripční aktivita je nezbytná pro nabytí meiotické kompetence, a tedy i pro schopnost dokončit meiózu, pro fertilizaci a časný embryonální vývoj. V období růstu se totiž v oocytu díky vysoké míře transkripce mohou kumulovat potřebné cytoplazmatické organely a makromolekuly (Eppig *et al.*, 2004). V době, kdy oocyty dosahují své plné velikosti, se transkripce rychle snižuje na velmi nízkou až nedetekovatelnou úroveň a na této úrovni zůstává po celou dobu meiotického zrání oocytu (Obrázek 7).

Pozastavení transkripce je spojeno se změnami v distribuci chromatinu v jádře. Tyto změny jsou již zmíněné konformace non-surrounding nucleolus (NSN) a surrounded nucleolus (SN) (Zuccotti *et al.*, 1998; 2002; Liu a Aoki, 2002).

Také po oplození je transkripce nízká; opětovně se zvyšuje až po aktivaci embryonálního genomu – ve stádiu, které je druhově specifické, např. u myši se jedná o dvoubuněčné embryo, u člověka o čtyřbuněčné a u krávy o osmi až šestnáctibuněčné stádium (Clarke, 2012). 20

2.2.2. Translace v oocytu

Z výše uvedeného vyplývá, že celé období od pozdního růstu oocytu až po časný embryonální vývoj je závislé na RNA, která byla syntetizována během růstu oocytu. Plně dorostlý oocyt obsahuje téměř dvakrát tolik mRNA než je přítomno v blastocystě (Clarke, 2012).

Některá mRNA nově syntetizovaná v rostoucím oocytu musí být translatována na podporu právě probíhajících biologických dějů, naproti tomu jiná musí být bezpečně uložena a translatována až ve vhodném stádiu oogeneze nebo rané embryogeneze. Navíc musí být maternální mRNA následně degradována, aby byla umožněna kontrola vývoje nově syntetizovanou embryonální mRNA (Clarke, 2012).

Mnohé mRNA syntetizované v rostoucích oocytech jsou tedy okamžitě translatovány, ale část mRNA, až 30 %, je skladována ve stabilní formě ribonukleoproteinových částic (RNPs) a translace je u nich potlačena až do meiotického zrání nebo do fertilizace, kdy je mnoho mRNA translačně aktivováno (Piqué *et al.*, 2008; Clarke, 2012; Ellederová *et al.*, 2004).

Jeden možný mechanismus represe translace je uskutečňován pomocí cytoplazmatického polyadenylačního elementu (CPE) (Brook *et al.*, 2009, Kang a Han, 2011, Radford *et al.*, 2008). Tato sekvence bohatá na uracil (UUUUA(A)U) se vyskytuje na 3'UTR (Clarke, 2012). 21

Obsahují ji jen mRNA, u kterých dochází k prodlužování poly(A) konce i v cytoplazmě (Ellederová *et al.*, 2004). Aktivace těchto mRNA je pak při meiotickém zrání závislá na prodlužování poly(A) konce a na CPE. V rostoucích a plně dorostlých nezralých oocytech jsou translačně potlačeny mRNA nesoucí CPE. Tyto mRNA jsou následně aktivovány během zrání. Naopak mRNA, které neobsahují CPE vykazují chování opačné (Clarke, 2012). Polyadenylaci a časově specifickou translaci některých maternálních transkriptů reguluje protein 1 vázající CPE (CPEB1), jehož fosforylace a degradace je zásadní pro vývoj oocytu (Karabínová *et al.*, 2011), nicméně dráhy, které regulují fosforylaci tohoto proteinu, nejsou ještě zcela objasněny, ačkoliv kandidátní kinázy jako je Aurora kináza A (Komrsková *et al.*, 2014), MAPK (Keady *et al.*, 2007) nebo CDK1 (Kuo *et al.*, 2011) jsou v současnosti studovány.

Další mechanismus represe translace se odvíjí od dostupnosti translačních iniciačních faktorů, které se podílejí na vazbě mezi mRNA a ribozomem. Z těchto faktorů byl nejvíce studován eIF4E (4E), protein, který je součástí komplexu eIF4F (4F) a je zodpovědný za vazbu k čepičkové struktuře (Mader *et al.*, 1995).

Během *in vitro* zrání myších (Gavin a Schorderet-Slatkine, 1997; Šušor *et al.*, 2015), bovinních (Tomek *et al.*, 2002) a prasečích (Ellederová *et al.*, 2006, 2008) oocytů je 4E postupně fosforylován, přičemž maximální fosforylace dosahuje ve stádiu MII. Některé dřívější studie indikovaly, že zvýšená úroveň fosforylace 4E u savčích buněk přímo pozitivně koreluje se zvýšenou úrovní translace (Fraser *et al.*, 1999) a také že fosforylace 4E zvyšuje *in vitro* jeho vazbu na čepičkovou strukturu (Minich *et al.*, 1994).

Na druhé straně jiné studie mají za to, že tvorba 4F komplexu nevyžaduje fosforylaci 4E a navíc že fosforylace 4E naopak snižuje jeho vazbu k čepičce (Morley a Naegele, 2002; Scheper *et al.*,

2002). Scheper *et al.* (2002) tato data vysvětlují tím, že snížení afinity k čepičkové struktuře fosforylací 4E by mohlo usnadnit uvolňování komplexu 4F z 5'konce mRNA a v důsledku toho zvýšit ribozomální migraci a iniciaci translace.

Z výše uvedeného vyplývá, že hlavním mechanismem regulace dostupnosti 4E pro translaci není fosforylace, která pravděpodobně neovlivňuje vazbu 4E na 4G (Morley a Naegele, 2002; Scheper *et al.*, 2002), ale spíše vazba 4E k proteinům – translačním represorům, tzv. 4E-BPs (4E vazebné proteiny, 4E binding proteins). Hypofosforylované 4E-BPs soutěží s 4G o společné vazebné místo na 4E (Mader *et al.*, 1995). Nejvíce studovaným z 4E-BPs je 4E-BP1, který ve své nefosforylované formě váže 4E a touto cestou zabraňuje 22

formování aktivního 4F komplexu. Po fosforylaci se 4E-BP1 uvolní od 4E, který je pak dostupný pro vazbu s 4G (Gingras *et al.*, 1999).

2.2.3. 4E-BP1

Jak již bylo zmíněno, protein 4E-BP1 je jedním z translačních represorů, které se váží na 4E, součást iniciačního komplexu 4F. Pokud je 4E-BP1 hypofosforylovaný, blokuje na 4E vazebné místo pro 4G, čímž znemožňuje tvorbu komplexu 4F a translace je tím potlačena. Naopak hyperfosforylovaný 4E-BP1 se uvolní od 4E a ten je díky tomu volný pro tvorbu iniciačního komplexu (obrázek 8) (Mader *et al.*, 1995; Gingras *et al.*, 1999).

Úlohou 4E-BP1 v savčích oocytech se zabývaly některé studie. Tomek *et al.* (2002) zjistili u bovinních oocytů pokles celkové proteosyntézy během *in vitro* zrání, spojený s defosforylací 4E-BP1 a formováním eIF4E – 4E-BP1 komplexu. Podle Ellederové *et al.* (2006) je u prasečích oocytů 4E-BP1 fosforylován v MI a ještě výrazněji v MII, takže jeho vazba k 4E je v těchto stádiích v porovnání s GV stádiem redukována. Navíc množství faktorů 4E a 4G navázaných na m⁷-methyl GTP-sefarózu výrazně roste v MI a MII oocytech, což naznačuje formování aktivního komplexu 4F v těchto stádiích. U MI a MII oocytů byl také zaznamenán výrazný pokles komplexu eIF4E – 4E-BP1 a samotného eIF4G.

Zároveň ovšem byly u prasečích oocytů zaznamenány úrovně proteosyntézy, které jsou nejvyšší v GV stádiu a postupně klesají v MI a MII (Ellederová *et al.*, 2006). Tyto rozdílné poznatky objasňují autoři studie dvěma možnými hypotézami. Buď translace během zrání prasečích oocytů probíhá cap-independentním mechanismem (pomocí IRES), nebo dochází k potlačení cap-dependentní translace jinou cestou než přes vazbu eIF4E – 4E-BP1, pomocí 3'UTR a CPE.

Zvýšená fosforylace 4E-BP1 během meiotického zrání byla zaznamenána také u myších oocytů. Navíc zde byla pozorována prostorová lokalizace fosforylovaného 4E-BP1 a to v oblasti meiotického vřeténka (Romasko *et al.*, 2013; Šušor *et al.*, 2015).

2.2.4. mTOR

mTOR („savčí cíl rapamycinu“, mammalian target of rapamycin) je Ser/Thr protein kináza z rodiny kináz spojených s fosfatidylinositol kinázami (phosphatidylinositol kinase-related kinase,

PIKK). Je katalytickou komponentou dvou odlišných signálních komplexů, mTOR – Raptor komplexu (mTORC1) a mTOR – Rictor komplexu (mTORC2) (Obrázek 9). Každý komplex je složen z proteinů mTOR, mLST8 neboli GβL (mammalian lethal with SEC13 protein 8/G protein beta subunit-like), který se váže ke kinázové doméně mTOR, a deptor (protein obsahující DEP doménu interagující s mTOR, DEP domain-containing mTOR-interacting protein). mTORC1 obsahuje navíc Raptor (regulační protein asociovaný k mTOR, regulatory-associated protein of mTOR) a PRAS40 (40 kDa substrát AKT bohatý na prolin, proline-rich AKT substrate of 40 kDa). mTORC2 obsahuje, kromě již uvedeného, Rictor (součást mTOR insenzitivní k rapamycinu, rapamycin-insensitive companion of mTOR), mSin1 (protein 1 interagující se stresem aktivovanou protein kinázou, stress-activated-protein-kinase-interacting protein 1) a PRR5/protor (protein 5 bohatý na prolin, 24

proline-rich protein 5). Molekulární funkce těchto kofaktorů zůstávají málo objasněné (Bhaskar a Hay, 2007; Cybulski a Hall, 2009; Huang a Manning, 2009; Wiza *et al.*, 2012; Kogasaka *et al.*, 2013).

Obecně je mTORC1 znám pro regulaci množství buněčných procesů, především translaci mRNA a proteosyntézy, kontrolu buněčného růstu a proliferace, progresu buněčného cyklu a apoptózy; díky jeho schopnosti integrovat signály z živin a růstových faktorů především přes ribozomální S6 kinázy (S6K) a přes 4E-BPs (Fingar a Blenis, 2004; Ruvinsky a Meyuhas, 2006; Astrinidis *et al.*, 2010); zatímco mTORC2 je spojen s kontrolou organizace aktinového cytoskeletu (Jacinto *et al.*, 2004).

U mitotických buněk je mTOR fosforylován na Ser 2448 nebo Ser 2481 a exprese a lokalizace těchto fosforylovaných forem byla popsána na mitotickém aparátu (Vazquez-Martin, 2009).

Inhibice mTOR v granulózních buňkách a buňkách ovariálního folikulu negativně ovlivňuje proliferaci granulózy a redukuje folikulární růst. Aktivita mTOR se totiž zvyšuje v průběhu M-fáze buněčného cyklu. mTOR-specifická fosforylace p70S6 kinázy a 4E-BP a také exprese Raptor jsou během M-fáze zvýšeny. Pokud je mTOR u somatických buněk v G1 fázi buněčného cyklu inhibován rapamycinem, specifickým inhibitorem mTORC1, je většina těchto buněk v této fázi zablokována. Buňky, které i přes přítomnost rapamycinu pokračují do M-fáze, vykazují v závislosti na dávce inhibitoru aberantní mitotické figury, tzv. anafázní mosty (Yu *et al.*, 2011). U oocytů *Xenopus laevis* naopak vystavení vlivu rapamycinu urychluje NEBD, protože v přítomnosti tohoto inhibitoru je potlačena translace RNA, která 25

v oblasti čepičky obsahuje úsek až třinácti pyrimidinů, tzv. 5'TOP (5'terminal oligopyrimidine tract); naopak translace RNA, které 5'TOP neobsahují nebo obsahují IRES je v přítomnosti rapamycinu efektivnější (Schwab *et al.*, 1999).

mTORC1 se během M-fáze podílí na fungování vřeténka. Například při vystavení vlivu rapamycinu byly jak u kvasinek, tak u savčích buněk i u oocytu pozorovány negativní změny v segregaci chromozomů (Bonatti *et al.*, 1998; Šušor *et al.*, 2015). Podle Astrinidis *et al.*, (2010) je také duplikace centrosomu regulována komponentami z dráhy mTORC1 a aberantní aktivace této dráhy může vést k amplifikaci centrosomu, chromozomální nestabilitě a aneuploidii

(Astridinis *et al.*, 2010). Lince-Faria *et al.* (2009) popsali lokalizaci mTOR na dynamické struktuře mitotického vřeténka a jeho nezbytnost pro normální časový průběh mitózy.

V případě signální dráhy pro regulaci translace přes translační represory bylo dokázáno, že *in vitro* je pomocí mTOR zprostředkována fosforylace 4E-BP1 na Thr 36 a Thr 45 a zabraňuje tím interakci 4E-BP1 s 4E. *In vivo* je fosforylace na Thr 45 hlavním regulátorem asociace 4E-BP1 – eIF4E. Tedy fosforylace 4E-BP1 prostřednictvím mTOR podporuje iniciaci translace (Burnett *et al.*, 1998).

2.2.4.1. MTOR v oocytu

Studie, kterou provedli Yang *et al.* (2009) na myších oocytech, ukázala, že mTOR mRNA je exprimována během meiotického zrání a že mTOR je v GV lokalizován na jaderné membráně, při NEBD se vyskytuje kolem chromozomů a v MII fázi na meiotickém vřeténku. Pokud byly oocyty vystaveny vlivu rapamycinu, pak se lokalizace mTOR změnila a jeho exprese byla výrazně nižší. V GV byl mTOR po kultivaci s rapamycinem distribuován více uvnitř jádra, po NEBD se nevyskytoval kolem chromozomů a v MII mTOR nebyl vůbec patrný. Po NEBD a v MII bylo také změněno samotné uspořádání chromozomů (Yang *et al.*, 2009).

Pomocí rapamycinu bylo také zjištěno, že mTOR je zapojen do migrace meiotického vřeténka a vydělení PB1, jelikož při déletrvajícím vystavení oocytů tomuto inhibitoru byla inhibována aktivita mTORC2 a také dráhy S6K1 a 4E-BP1/eIF4E, zprostředkované pomocí mTORC1, byly inhibovány. Tyto dráhy jsou nezbytné pro expresi malých GTPáz z Rho rodiny (RHO1, RAC1, CDC42) při buněčné motilitě a reorganizaci cytoskeletu v průběhu 26

meiotického zrání myších oocytů. Kultivací s rapamycinem tak byla v myších oocytech narušena migrace meiotického vřeténka a asymetrické dělení oocytu; tyto děje jsou zprostředkovány právě přes mTOR a GTPázy z Rho rodiny. Zajímavé je, že narušení asymetrie se obvykle objevuje u meiotického dělení oocytů s nízkou kvalitou nebo u oocytů, které prošly tzv. post-ovulatorním stárnutím (aging) a tyto vady jsou spojeny s neplodností u savců (Lee *et al.*, 2012). Nicméně autoři této studie uvádějí také nárůst v expresi mTOR mRNA při přechodu z MI do MII fáze, který se zdá být nepravděpodobný při přihlédnutí k faktu, že transkripce je během meiotického zrání v oocytu potlačena.

Odlišnými funkcemi jednotlivých komplexů mTORC1 a mTORC2 při meióze v myších oocytech a mitóze v kumulárních buňkách se zabývali Kogasaka *et al.* (2013). Výsledky této studie naznačují, že je to právě mTORC2, který je zodpovědný za kontrolu migrace meiotického vřeténka pomocí regulace reorganizace mikrofilamentů, jelikož Rictor byl lokalizován kolem pólů vřeténka pouze v MII oocytech a v kumulárních buňkách nikoliv (Kogasaka *et al.*, 2013). Naproti tomu mTORC1 se zdá být spojen s funkcí vřeténka během mitózy i meiotického zrání oocytů; jeho silná exprese byla pozorována na pólech i na středovém tělisku (midbody) vřetének v kumulárních buňkách i v oocytech (Kogasaka *et al.*, 2013; Romasko *et al.*, 2013; Šušor *et al.*, 2015).

Pomocí Torinu 2, což je inhibitor mTOR, byla sledována fosforylace 4E-BP1 (Mayer *et al.*, 2014). Po kultivaci bovinních oocytů v tomto inhibitoru byl zaznamenán pokles ve fosforylaci 4E-BP1 a přibližně 60 % oocytů bylo po 24 hodinách v inhibitoru zablokováno v MI stádiu. Pokles

fosforylace se ukázal jako reverzibilní, protože po dalších 24 hodinách v médiu bez Torinu 2 byla úroveň fosforylace srovnatelná s kontrolní skupinou. Nicméně oocyty zůstaly zablokované v MI, což může indikovat potřebu časově a prostorově regulované translace během meiotického zrání.

V této studii byly mimo jiné také sledovány fosforylace mTOR (Ser 2448), Rictor (Thr 1135) a Raptor (Ser 792). Ukázalo se, že fosforylace mTOR a Rictor jsou v GV nízké a narůstají v MII stádiu. Raptor vykazuje chování opačné. Fosforylace na Ser 792 a Thr 1135 mohou potenciálně inaktivovat celý mTOR komplex, takže výsledky této studie mohou indikovat fakt, že mTORC1 je inaktivní v GV stádiu, ale aktivní po NEBD, v MII. Nicméně je zajímavé, že na tyto fosforylace neměla vliv kultivace oocytů s Torinem 2 (Mayer *et al.*, 2014). 27

2.2.5. AKT

Ser/Thr protein kináza AKT, také známá jako protein kináza B (PKB) je centrálním uzlem v buněčné signalizaci růstových faktorů, cytokinů a dalších buněčných stimulů. Hypo- nebo hyperaktivace AKT vede k patofyziologickým dějům, které jsou podstatou různých onemocnění, například diabetu druhého typu nebo nádorového bujení. Lze tedy říci, že AKT má klíčovou roli v mnohých buněčných procesech jako je buněčná proliferace a migrace, metabolismus glukózy, apoptóza a transkripce (Manning a Cantley, 2007).

Aktivace AKT je závislá na třídě I fosfoinositid-3-kináz (PI3Ks), které jsou aktivovány pomocí dráh vedoucích od tyrosin kinázových receptorů, nebo od receptorů spojených s G-proteiny (Engelman *et al.*, 2006). PI3K vytváří lipidového druhého posla fosfatidylinositol-3,4,5-trifosfát (PIP₃), který se přímo váže na Pleckstrin homologní doménu AKT a Fosfoinositid-dependentní kinázu 1 (PDK1). PDK1 fosforyluje aktivační smyčku AKT na Thr 308, což je nezbytné pro aktivaci AKT (Alessi *et al.*, 1996, 1997). Fosforylace AKT na konzervativních zbytcích (Ser 473) vede k dalšímu nárůstu aktivity AKT (Alessi *et al.*, 1996).

Aktivní AKT fosforyluje množství substrátů zahrnutých v regulaci buněčného přežití, růstu a proliferace (Manning a Cantley, 2007). Mezi substráty AKT patří i mTOR, respektive mTORC1, který následně fosforyluje ribozomální S6 kinázy a 4E-BPs, což v konečném důsledku stimuluje výše zmíněné buněčné děje (Huang a Manning, 2009). mTOR může být ovšem kinázově nadřazený (upstream) i podřazený (downstream) AKT (Obrázek 10) (Huang a Manning, 2009; Takei a Nawa, 2014). 28

Obrázek 11 Schéma buněčných procesů ovlivněných AKT signální kaskádou

Kromě již zmíněných molekulárních cílů ovlivňuje dráha mTORC1 také protein kinázu ULK1 (savčí homolog proteinu 1 spojeného s autofágií, autophagy-related protein 1 homolog) a transkripční faktory SREBPs (proteiny vázající regulační element sterolu, sterol regulatory element binding proteins). Dráha mTORC2 ovlivňuje kromě jiného také protein kinázu C (PKC) a sérem a glukokortikoidy regulovanou kinázu (SGK, serum and glucocorticoid-regulated kinase) (Takei a Nawa, 2014).

AKT reguluje mTORC1 pomocí fosforylace TSC2 (tuberin), což je jeden ze dvou proteinů tvořících heterodimerický komplex, který funguje jako funkční jednotka v supresi mTOR. Druhým proteinem je hamartin (TSC1). TSC2 obsahuje tzv. GAP (protein aktivující GTPázu) doménu, která stimuluje

GTPázovou aktivitu malého G-proteinu RHEB (obohacený homolog Ras v mozku, Ras homolog enriched in brain), čímž zvyšuje přeměnu RHEB do inaktivního stavu vázajícího GDP (Manning a Cantley, 2003). Ačkoliv molekulární mechanismus není přesně znám, RHEB, který váže GTP, je účinný aktivátor mTORC1. V odpovědi na růstové faktory AKT přímo fosforyluje TSC2 na čtyřech nebo pěti aminokyselinových zbytcích, což mu znemožňuje jeho supresorovou funkci (Inoki *et al.*, 2002).

Na základě výsledků Gingras *et al.* (2014) je zřejmé, že PI3K a jí kinázově podřazená AKT jsou součástí dráhy vedoucí *in vivo* k fosforylaci 4E-BPs a tato fosforylace je senzitivní 29

k rapamycinu, což vede k závěru, že ve fosforylační kaskádě ovlivňující 4E-BP1 je mTOR podřazený AKT (Gingras *et al.*, 2014).

2.2.5.1. AKT v oocytu

Signální dráhy PI3K/AKT a mTOR se zdají být zásadními regulátory mimo jiné při znovuoobnovení meiózy a zrání oocytů u různých druhů (Makker *et al.*, 2014).

Výsledky získané z oocytů hvězdic (Asteroidea) indikují, že AKT stimuluje přechod z G2 do M-fáze díky tomu, že reguluje aktivitu MYT 1 (Okumura *et al.*, 2002). Díky tomu je snížena inhibiční fosforylace MPF a MPF může být aktivován prostřednictvím fosfatázy CDC25. Tyto experimenty identifikují AKT jako iniciátor M-fáze, nicméně u *Xenopus laevis* sice aktivita AKT roste během znovuoobnovení meiózy stimulovaného inzulinem, ale při znovuoobnovení meiózy indukovaném progesteronem, což je více fyziologický stimul, má aktivita AKT spíše pomocnou funkci (Andersen *et al.*, 2003).

AKT (společně s protein kinázou A, PKA) se u myších oocytů podílí na zvyšování enzymatické aktivity cAMP-fosfodiesterázy (PDE3A), která je zodpovědná za degradaci cyklického adenosin monofosfátu (cAMP) na počátku meiotického zrání (Han *et al.*, 2006; Vaccari *et al.*, 2008).

Během meiotického zrání myších oocytů fosforylace a aktivace AKT předchází rozpad jaderné membrány. Tato aktivita AKT je přechodná a značně klesá, jakmile oocyty projdou NEBD. Navíc bylo u myších oocytů zjištěno, že AKT se podílí na aktivaci CDK1 a tím i na znovuoobnovení meiózy (Kalous *et al.*, 2006).

Tomek a Smiljakovic (2005) na základě experimentů s bovinními oocyty zjistili, že AKT je detekována, stejně jako MAPK, po celou dobu meiotického zrání, bez žádných zvláštních změn v GV, MI a MII stádiích. Nicméně dříve publikované výsledky Vignerona *et al.* (2004) poukazují na žádné nebo jen velmi malé množství AKT v GV stádiu. Rozdílné výsledky mohou být vysvětleny použitím různých protilátek s různou specifitou (Tomek a Smiljakovic, 2005).

Ve své studii se Tomek a Smiljakovic (2005) také zabývali aktivitou AKT a vlivem inhibitoru SH6, analogu fosfatidylinositolu, na ni. Ukázalo se, že AKT je aktivní především v MI stádiu. Při kultivaci s SH6 byla většina oocytů zablokována v MI, nicméně také velké množství oocytů zrání až do MII, což může být způsobeno přítomností množství aktivované 30

AKT už v GV. Jelikož syntéza proteinů v bovinních oocytech je na svém maximu při NEBD a během MI stádia, je možné, že se AKT podílí na vyvážené proteosyntéze fosforylací 4E-BP1 (Tomek a Smiljakovic, 2005).

Zajímavé zjištění bylo učiněno u zrání myších oocytů. Jiang *et al.* (2014) prokázali zásadní úlohu Survivinu, nejmenšího člena rodiny inhibitorů apoptózy (inhibitor of apoptosis protein, IAP). Tento protein je kinázový cíl PI3K/AKT a mTOR signálních drah a u myší je důležitý pro produkci vajíček a samičí fertilitu. Ovlivňuje správnou organizaci meiotického vřeténka, aktivitu kontrolního bodu vřeténka, včasný přechod z metafáze do anafáze a cytokinezi (Jiang *et al.*, 2014, Šušor *et al.*, 2015).