

Rozglądając się dookoła nas widzimy, że ludzie różnią się od siebie wzrostem, proporcjami, kolorem oczu, włosów czy skóry. Jednak z genetycznego punktu widzenia wszyscy jesteśmy prawie identyczni. Patrząc dalej i porównując genomy pomiędzy gatunkami odkrywamy równie fascynujący fakt. Z molekularnego punktu widzenia dzielimy te same kodujące białka geny z muszką owocową (60%), rybką danio przegowanym (70%), prawie 90% z myszą, natomiast aż w 98% kod genetyczny małą odpowiada naszemu. Wieloletnie badania dowiodły, że nie tyle białka, ale sposób w jaki są regulowane stanowi o naszej różnorodności, a dokładnie jak jest rozdzielona w czasie i przestrzeni regulacja oraz intensywność ekspresji genów kodujących białka. Wiele poziomów tej regulacji były i są stale odkrywane. W 1965 roku Jacques Monod i Francois Jacob otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za odkrycie podstawowego układu regulacyjnego u bakterii – operonu Lac. Ten prosty model regulacji jest jednak niewystarczający, aby opisać złożoność krajobrazu regulacyjnego genów eukariotycznych. Choć obecnie całościowe badanie sieci regulacyjnych nie jest wykonalne, to możliwa jest analiza ich pewnych aspektów. Jeden z istotnych etapów czasoprzestrzennej regulacji ekspresji genów zachodzi na poziomie transkrypcji. W tym przypadku, informacja kodowana przez DNA jest przekształcana na RNA, które później będzie służyć jako matryca dla powstających białek. Czasoprzestrzenna regulacja transkrypcji, jak również jej intensywność zdeterminują późniejsze fenotypowe konsekwencje ekspresji genów. Jednym z przykładów takiej regulacji jest ekspresja genu Sonic hedgehog podczas rozwoju kończyn. Postuluje się, że czas trwania i intensywność tej ekspresji biorą udział w określaniu kształtu i wielkości naszych kończyn (praca laboratoriów John Fallon, Cliff Tabin, Cheryl Tickle i wielu innych). W związku z tym, badając regulację transkrypcyjną ważnym jest, aby zrozumieć różnorodność w obrębie oraz między gatunkami.

Ten projekt skupia się na badaniu ekspresji genów w obrębie nieodróżnionych mezenchymalnych komórek stawowych (NMKZ) (ang. *interzone*) – obszarze pomiędzy rozwijającymi się kośćmi kończyn, które później uczestniczą w tworzeniu przyczepów ścięgien, więzadeł, organizacji błony maziowej i torebki oraz innych struktur stawowych. Geny, które zamierzamy zbadać, *Smoc2* oraz *Dact2*, wykazują bardzo specyficzną ekspresję w strefie NMKZ. Ponadto mimo, iż są oddalone o 100,000 par zasad są transkrybowane w tym samym czasie i miejscu. Dlatego, aby mogło się tak odbywać, najprawdopodobniej dzielą one te same sekwencje regulatorowe zwane wzmacniaczami (ang. *enhancers*). Dodatkowo, prawdopodobnie są one aktywne w obrębie tej samej struktury chromatyny. Wzmacniacze mogą znajdować się w dowolnym obszarze tego samego chromosomu względem genu, który regulują. Kiedy struktura chromatyny podlega modyfikacjom jednym z następstw tego procesu jest zbliżenie do siebie wzmacniaczy i genów docelowych, co skutkuje wystąpieniem tkankowo i/lub czasowo specyficznej ekspresji. Zrozumienie tych mechanizmów jest istotne co najmniej z dwóch powodów. Z punktu widzenia **badan podstawowych** zbliży nas to do pełniejszego zrozumienia tego w jaki sposób regulacja ekspresji genów może uczestniczyć w powstawaniu różnic fenotypowych między gatunkami. Z kolei z **medycznego** punktu widzenia istotne jest odkrywanie związanych z chorobą mutacji w niekodujących fragmentach DNA, zwłaszcza, że jedynie około 2% genomu koduje białka, podczas gdy reszta jest przypisana sekwencjom regulacyjnym. Od wielu lat nasze laboratorium pracuje nad indukcją powstawania stawów, a możliwość badania transkrypcyjnej regulacji genów zaangażowanych w tym procesie stanowi unikalną możliwość lepszego poznania dynamiki tego procesu. Z uwagi na to, że *Smoc2* jest powiązany z chorobą zwyrodnieniową stawów, odkrycie mechanizmów jego ekspresji w obrębie stawu jest istotne w poznaniu roli/udziału *Smoc2* w owej chorobie.

Aby osiągnąć nasz cel wykorzystamy najnowocześniejsze dostępne technologie takie jak ukierunkowany wychwyty chromatyny połączony z równoległym sekwencjonowaniem nowej generacji, który pozwala na identyfikację aktywnych transkrypcyjnie domen chromatyny. Aby wykryć transkrypcyjnie aktywne domeny w pobliżu genów *Smoc2/Dact2*, zmapujemy je w rozwijającym się stawie *in vivo* przy użyciu metody immunoprecypitacji chromatyny. W tym celu zidentyfikujemy regiony chromatyny w pobliżu genów *Smoc2/Dact2*, które wiążą białka powiązane z aktywnymi wzmacniaczami. Następnie użyjemy rozwijające się zarodki kurze do testowania zidentyfikowanych wzmacniaczy *in vivo* oraz w celu zbadania konsekwencji mutacji, które są związane z chorobą stawów w czasoprzestrzennym wzorze ekspresji *Smoc2/Dact2*. Wyniki naszych prac mogą być wykorzystywane w przyszłości w przewidywaniu wystąpienia choroby stawów, zapewnią potencjalny cel interwencji terapeutycznej oraz mogą być wykorzystywane jako narzędzie diagnostyczne do identyfikacji pacjentów, u których istnieje ryzyko wystąpienia choroby.