

Rozwój embrionalny człowieka jest procesem niezwykle złożonym, zależnym od współdziałania wielu genów oraz sekwencji regulujących ich ekspresję. Aktywność genów zaangażowanych w proces embriogenezy jest określona czasowo i przestrzennie i zależy od ścisłej interakcji promotorów z elementami regulatorowymi (enhancery, represory, insulatory), które są często znacznie od siebie oddalone. Niemniej jednak, dzięki trójwymiarowej organizacji chromosomów, nawet dwa bardzo odległe w liniowej strukturze chromosomu fragmenty DNA mogą znaleźć się w bliskim sąsiedztwie. Tworzenie się pętli chromatynowych odgrywa w tym procesie znaczącą rolę. Sekwencje regulatorowe są najczęściej zlokalizowane w części niekodującej DNA, zwykle pomijanej w diagnostyce chorób genetycznych ze względu na ograniczoną wiedzę na temat biologicznej funkcji regionów niekodujących oraz trudności interpretacyjnych mutacji identyfikowanych w ich zakresie. U znacznego odsetka pacjentów dotkniętych wrodzonymi wadami kończyn opisuje się patogenne warianty strukturalne w niekodujących fragmentach genomu. To sugeruje, że przyczyną malformacji są zaburzenia w organizacji środowiska regulatorowego genów zaangażowanych w proces formowania się struktur kostnych.

W ramach planowanych badań chcielibyśmy przybliżyć odpowiedź na pytanie w jaki sposób submikroskopowe rearanżacje w genomie ludzkim (delecje, duplikacje, inwersje translokacje), identyfikowane często w sekwencjach niekodujących, prowadzą do zaburzeń oddziaływań pomiędzy genem, a elementami regulującymi jego aktywność, skutkując wystąpieniem nieprawidłowości rozwojowych kończyn. W celu realizacji niniejszych założeń wykorzystana zostanie nowatorska technika 4C-seq (ang. *Circularized Chromosome Conformation Capture sequencing*), umożliwiająca mapowanie długodystansowych interakcji wewnątrzchromatynowych, względem pojedynczego regionu. To podejście umożliwi identyfikację nowo powstałych i utraconych interakcji pomiędzy genem, a elementem regulatorowym. Przewidujemy, iż badania pozwolą zidentyfikować nowe sekwencje regulatorowe odpowiedzialne za morfogenezę struktur kostnych oraz potwierdzić rolę genów kandydujących w patogenezie wad kończyn.

Wyniki niniejszego projektu umożliwią zrozumienie mechanizmu regulacji ekspresji genów w stanach prawidłowych i patologicznych. Możliwe będzie opracowanie map interakcji regulatorowych dla wybranych genów oraz włączenie tej wiedzy w zakres dostępnej diagnostyki molekularnej wrodzonych wad kończyn. Wyniki badań będą miały zatem istotny wkład nie tylko w wiedzę z zakresu badań podstawowych, genetyki i biologii rozwoju, ale również w poprawę stanu poradnictwa genetycznego dla pacjentów i ich rodzin. Przewidujemy, iż efekt naszej pracy pozwoli na opracowanie nowych testów genetycznych, bazujących na analizie niekodujących sekwencji genomu o charakterze regulatorowym. Poszerzenie oferty testów molekularnych dla pacjentów dotkniętych wrodzonymi wadami kończyn jest niezwykle istotne ze względu na fakt, iż przyczyna genetyczna u ponad 50% pacjentów pozostaje niewyjaśniona. Poprawa poradnictwa genetycznego odgrywa znaczącą rolę w świadomym kształtowaniu planów prokreacyjnych, gdyż pozwala oszacować ryzyko wystąpienia wady w kolejnym pokoleniu lub u przyszłego potomstwa rodziców będących nosicielami nieprawidłowości genetycznej. Dzięki wynikom projektu zaistnieje możliwość zaoferowania diagnostyki prenatalnej lub preimplantacyjnej wybranym grupom pacjentów, co może przyczynić się do zmniejszenia częstości występowania wad wrodzonych. Przyjęta przez nas strategia eksperymentalna stanowi naturalną kontynuację oraz dopełnienie prowadzonych w naszym zespole badań nad podłożem genetycznym szeregu wrodzonych wad rozwojowych ze szczególnym uwzględnieniem wad układu kostnego.