

Wszystkie typy mutacji występujące w genomie mogą mieć zarówno wpływ na zmienność międzyosobniczą, jak również powodować wiele rodzajów wad rozwojowych, takich jak wrodzone wady kończyn (WWK), które są drugą co do częstości występowania grupą wad. Pomimo szerokiej oferty dostępnych badań diagnostycznych, przyczyny molekularne WWK są identyfikowane jedynie u ok. 50% pacjentów w skali światowej. Od czasów odkrycia struktury DNA i Projektu Sekwencjonowania Genomu Człowieka badacze skupili większość wysiłków na odkrywaniu tajemnic DNA w oparciu o jego strukturę. Postęp technik badających konfigurację przestrzenną genomu przyniósł przełomowe odkrycie jednostek funkcjonalnych genomu, tzw. domen topologicznych (ang. *Topologically Associated Domains*, TADs). Najnowsze badania funkcjonalne wariantów strukturalnych, tj. aberracji submikroskopowych (delecji, duplikacji, inwersji) pozwoliły zaobserwować powstanie nieprawidłowych interakcji w regionach genomu, w których warianty strukturalne zniszczyły granice domen topologicznych. Szacuje się, że przynajmniej 10% przypadków WWK o nieznanym podłożu genetycznym można by wytłumaczyć zmianami środowiska regulatorowego. Niniejszy projekt ma na celu identyfikację dotąd nieopisanych wariantów strukturalnych metodą całogenomowej porównawczej hybrydyzacji do mikromacierzy (ang. *array Comparative Genomic Hybridization*, array-CGH), które zaburzają mechanizmy regulujące ekspresję nieopisanych dotąd genów i regionów odpowiedzialnych za rozwój wad kończyn u człowieka. W ramach projektu grupa 24 pacjentów dotkniętych WWK, u których w przebiegu rutynowej diagnostyki nie wykryto genetycznej przyczyny wady, zostanie poddana badaniu array-CGH. Całogenomowe mikromacierze oligonukleotydowe zostaną wykorzystane do identyfikacji rzadkich, potencjalnie patogennych wariantów strukturalnych, które naruszają lokalne środowisko regulatorowe genów. Analiza wariantów zostanie przeprowadzona w oparciu o zbiór danych, zawierający informacje o aberracjach występujących w polskiej populacji (ang. *in-house data*) oraz publicznie dostępne bazy danych. Nowatorcki schemat analizy będzie zastosowany dla zmian o nieznanym patogenicznym (ang. *variants of unknown significance*, VUSs), który będzie opierał się na najnowszej wiedzy o organizacji i funkcjonalności domen topologicznych. Najbardziej obiecujące aberracje zostaną potwierdzone metodą Real-Time PCR. W oparciu o wywiad rodzinny i analizę ko-segregacji zostaną wytypowane warianty o największym potencjalnie patogennym. Przewidujemy, że w wyniku niniejszych badań u niektórych pacjentów zidentyfikujemy nowe przyczyny wrodzonych wad kończyn. Spodziewamy się również, że dzięki zaproponowanym badaniom zostaną odkryte geny, które odgrywają rolę w rozwoju embrionalnym kończyn u człowieka. Zważywszy na częstość występowania wad kończyn oraz dość niski odsetek wykrywania ich molekularnej przyczyny, który od wielu lat utrzymuje się na niezmiennym poziomie ok. 50% przypadków, istnieje wielka potrzeba zgłębienia wiedzy z zakresu ich powstawania. Spodziewamy się, że efekty zaproponowanych badań wpłyną w przyszłości na poszerzenie oferty badań diagnostycznych kierowanej do pacjentów z WWK. Wyniki niniejszego projektu pozwolą także na poszerzenie wiedzy z zakresu regulacji ekspresji genów i funkcjonalnej organizacji genomu, co będzie ważnym wkładem w rozwój genetyki medycznej i embrionalnej.