

Projekt: *Kompleksowa charakterystyka regionów kandydujących w genomie psa dla monogenowych zaburzeń rozwoju płci oparta o sekwencjonowanie nowej generacji (NGS) i cyfrowy emulsyjny PCR (ddPCR)*

Dziedziczne zaburzenia rozwoju płci, określane wcześniej terminami obojnactwo, hermafrodytyzm, czy interseksualizm, prowadzą zazwyczaj do bezpłodności i dlatego identyfikacja zdrowych nosicieli niepożądanych genów odpowiedzialnych za takie zaburzenia jest ważnym kryterium selekcyjnym w hodowli zwierząt gospodarskich i towarzyszących. W ostatnich latach badania genetyczne chorób i wad dziedzicznych psa rozwijają się bardzo dynamicznie, o czym może świadczyć największa wśród zwierząt domowych liczba scharakteryzowanych molekularnie mutacji je wywołujących. Dlatego pies jest obecnie uznawany za ważny gatunek modelowy w badaniach wad i chorób dziedzicznych. Niestety wiedza o mutacjach odpowiedzialnych za dziedziczne zaburzenia rozwoju płci psów jest skromna, pomimo tego, że są one dość często diagnozowane. Niniejszy projekt ma na celu poszerzenie tej wiedzy, w oparciu o nowoczesne techniki badania sekwencji DNA. Zakładamy, że ze względu na różnice między pulami genowymi różnych ras psów, mutacje sprawcze odpowiedzialne za dziedziczne formy zaburzeń rozwoju płci, mimo podobieństwa fenotypowego, mogą dotyczyć różnych regionów (genów) i być charakterystyczne dla konkretnej rasy. Celem badań jest poszukiwanie sprawczych mutacji w wybranych regionach genomu psa, obejmujących geny i ich sekwencje regulatorowe o kluczowym znaczeniu dla determinacji i rozwoju płci ssaków. Wśród wykrytych wariantów badanych regionów genomowych psa spodziewamy się znaleźć mutacje w obrębie genów i/lub sekwencji regulatorowych. Mutacje takie mogą być odpowiedzialne za zmianę sekwencji aminokwasów w kodowanych białkach lub zaburzenie poziomu ich ekspresji, co w konsekwencji może prowadzić do nieprawidłowego rozwoju płci psów posiadających prawidłowy układ chromosomów płci (XX u samic oraz XY u samców). Badaniem będzie objęta liczna grupa psów (n=38) z zaburzeniami rozwoju płci, dla której będą sekwencjonowane regiony genomowe o łącznej długości ponad 5 mln par zasad, w których występuje 15 genów kandydujących: *WNT4*, *RSPO1*, *CTNNB1*, *FOXL2*, *GATA4*, *NR5A1*, *AR*, *MIS*, *MISR2*, *SRD5A2*, *FGF9*, *HSD17B3*, *SOX3*, *DAX1* i *DMRT1* (geny *SRY* i *SOX9* nie będą objęte badaniami, ponieważ były wcześniej przez nas badane). Uzyskane wyniki będą porównywane z sekwencjami pochodzącymi od kontrolnych samic i samców. Sekwencjonowanie będzie prowadzone przy pomocy techniki NGS - sekwencjonowania nowej generacji (ang. *next generation sequencing*) i klasycznego sekwencjonowania techniką Sanger (walidacja wytypowanych wariantów DNA w liczniejszych grupach kontrolnych), a analiza zmienności liczby kopii (ang. *CNV – copy number variation*) będzie wykonana z zastosowaniem techniki cyfrowego emulsyjnego PCR (ang. *ddPCR – droplet digital PCR*). Spodziewanym efektem zaplanowanych badań jest identyfikacja mutacji odpowiedzialnych za zaburzenia rozwoju płci psów, co stworzy podstawy do prowadzenia skutecznej selekcji przeciw tym niepożądanym mutacjom. Ponadto zakładamy, że uzyskane wyniki będą mogły być wykorzystane do wskazywania regionów kandydujących w badaniach zaburzeń rozwoju płci u zwierząt gospodarskich.