

Epigenetyczna regulacja ekspresji genów u kur po podaniu prebiotyku i synbiotyku *in ovo*

Epigenetyczna regulacja ekspresji genów jest formą oddziaływania środowiska zewnętrznego na sposób odczytywania i przepisywania informacji genetycznej zakodowanej w kwasach nukleinowych, w tym dziedzicznych zmian, które są skutkiem modyfikacji sekwencji DNA. Regulacja ta odgrywa kluczową rolę w rozwoju i różnicowaniu komórek. Pod wpływem działania różnych czynników zewnętrznych, takich jak: żywienie, warunki sanitarne, stres czy klimat, zmianom ulega wieloetapowy proces przepisywania informacji genetycznej na białko, co skutkować może zmianami cech fenotypowych osobnika. **Do najważniejszych mechanizmów epigenetycznych należy: działanie mikroRNA oraz metylacja DNA.** MikroRNA (miRNA) stanowi frakcję małych cząsteczek RNA zakodowanych w genomie, które mają fundamentalny wpływ na ekspresję genów. Metylacja DNA polega na dodaniu reszt metylowych do cytozyn zawartych w obrębie wysp CpG, co blokuje dostęp enzymów (w tym transkryptaz) do DNA, hamując w ten sposób przepisanie informacji zakodowanej w DNA do mRNA.

Hipoteza badawcza proponowanego projektu zakłada iż **u kur stymulowanych substancjami bioaktywnymi - prebiotykiem lub synbiotykiem *in ovo* w 12 dobie rozwoju zarodkowego wykształcił się epigenetyczny mechanizm wyciszania ekspresji genów związanych z układem immunologicznym za pośrednictwem metylacji promotorów genów i/lub aktywności mikroRNA.**

Prebiotyki to nieulegające trawieniu składniki pokarmowe, które korzystnie wpływają na selektywną stymulację wzrostu lub aktywności bakterii obecnych w przewodzie pokarmowym gospodarza (w tym przypadku - kury). Synbiotyk to natomiast określenie odnoszące się do jednoczesnego podania w jednej dawce prebiotyku i probiotyku oraz ich synergistycznego oddziaływania. Podanie prebiotyków i probiotyków w jednym produkcie jakim jest synbiotyk daje możliwość poprawy żywotności bakterii probiotycznych przez dostarczenie im substratu do fermentacji w postaci prebiotyku. Przeprowadzone przez nasz zespół badania wykazały znaczny wpływ podawanych *in ovo* prebiotyków i synbiotyków nie tylko na skład mikrobiomu i zmiany w ekspresji genów, ale również na poprawę wielu cech fizjologicznych i produkcyjnych kurcząt brojlerów.

Proponowany projekt ma na celu:

1. Analizę bioinformatyczną (meta - analizę) danych dotyczących ekspresji genów w całym genomie, pochodzących z innych projektów w których zastosowano stymulację prebiotykiem/synbiotykiem *in ovo*. Efektem tych analiz ma być wytypowanie genów kandydujących do analiz miRNA oraz metylacji DNA
2. Analizę ekspresji kandydujących miRNA oraz oszacowanie poziomu metylacji wysp CpG genów kandydujących w tkankach kurcząt stymulowanych prebiotykiem/synbiotykiem *in ovo*
3. Zaproponowanie modelu epigenetycznej regulacji genów u kurcząt których mikroorganizmy zasiedlające przewód pokarmowych (mikrobiom) były stymulowane prebiotykiem i synbiotykiem w czasie rozwoju embrionalnego (*in ovo*)

Koncepcja badań proponowanego projektu zakłada weryfikację epigenetycznego charakteru modulacji ekspresji genów za pośrednictwem mechanizmów: metylacji cytozyn w sekwencjach CpG regionów promotorowych wyciszanych genów oraz działania cząsteczek regulujących miRNA. Materiał przeznaczony do badań stanowi unikatowa kolekcja tkanek pobranych od dorosłych brojlerów kurzych, którym podano *in ovo* w 12 dobie rozwoju embrionalnego prebiotyki oraz synbiotyki. W synbiotykach wykorzystane były bakterie probiotyczne z rodzaju: *Lactobacillus* i *Lactococcus*. Tkanki przeznaczone do badań w projekcie zostały poddane analizom pod kątem ekspresji genów w całym genomie. Analiza ta wykazała **istotny efekt wyciszania ekspresji genów związanych m.in. z funkcjonowaniem układu immunologicznego.** Uzyskane dane posłużą do meta-analizy mającej na celu wybór genów związanych z układem immunologicznym, których ekspresja zostaje wyciszona na poziomie nici DNA (analiza metylacji DNA) lub/oraz obróbki post-translacyjnej (aktywność miRNA) na skutek stymulacji mikrobiomu kury we wczesnych etapach rozwoju zarodkowego przy pomocy prebiotyków/synbiotyków, co pozwoli na selekcję *in silico* sekwencji promotorowych genów i mikroRNA.

Proponowane w tym projekcie badania dostarczą nowej wiedzy na temat mechanizmów wyciszania genów, których regulacja jest stymulowana podaniem substancji bioaktywnych (prebiotyk, synbiotyk) *in ovo*. Tematyka projektu wpisuje się w szeroki nurt badań nad interakcjami i zależnościami pomiędzy gospodarzem (w tym przypadku - kura) a jego mikroflorą jelitową.. **Wyniki proponowanych doświadczeń znacząco pogłębią wiedzę o reprogramowaniu mikrobiomu u drobiu oraz przeanalizują jego epigenetyczny charakter. Tego typu badania nie były dotychczas realizowane.**