

## Pierwotne komórki płciowe - nowe podejście do badań epigenetycznych u kurcząt

Epigenetyka zajmuje się badaniem zmian w funkcji genów, które są dziedziczne mitotycznie i / lub meiotycznie i które nie pociągają za sobą zmiany w sekwencji DNA. U kręgowców kluczowe epigenetyczne zdarzenia występują podczas rozwoju komórek rozrodczych i wczesnej embriogenezy. Prekursorami komórek rozrodczych są pierwotne komórki płciowe (PGCs), które jako jedyne są zdolne do przekazywania z pokolenia na pokolenie informacji zapisanej w materiale genetycznym. W proponowanych badaniach użyty zostanie zarodek kurzy jako źródło PGCs, ponieważ jest łatwo dostępny, możliwy do hodowli w warunkach laboratoryjnych, a przede wszystkim umożliwia izolację komórek we wczesnych stadiach rozwojowych. Ważnym argumentem za zastosowaniem tego modelu jest fakt, że niektóre PGCs mogą zachować potencjał do tworzenia linii płciowych, nawet po długim czasie hodowli *in vitro*. Niektóre egzogenne PGCs, wprowadzone do krwiobiegu innego zarodka biorcy są niekiedy zdolne do różnicowania się w gamety w warunkach *in situ*, co sprawia, że PGCs są nowym, dobrym modelem w badaniach nad biologią rozwoju oraz epigenetycznych. Mechanizmy tych procesów, a przede wszystkim czynniki które sprawiają, że tylko niektóre PGCs posiadają w/w właściwości nie są znane. Celem naukowym projektu jest poznanie zmian molekularnych jakim podlegają PGCs izolowane z kurzego zarodka dawcy, hodowane *in vitro* oraz iniekowane do zarodka biorcy i poddane interakcji PGCs dawcy/PGCs biorcy w środowisku zarodka biorcy. Kolejnym celem jest stwierdzenie czy te zmiany mają charakter epigenetyczny i w jaki sposób wpływają na właściwości potomstwa chimer płciowych. Szczegółowo zaplanowana cztery doświadczenia, których celem jest porównanie ekspresji wybranych genów PGCs dawców pozyskiwanych w różnych stadiach rozwojowych od zarodków obu płci; ocena wpływu długości hodowli (krótka terminowa lub długo terminowa) i warunków hodowli (różne media hodowlane) oraz określenie wpływu środowiska zarodka biorcy /hetero- homogeniczny transfer komórek/ na ekspresję określonych genów w PGCs dawców. Analizie podlegać będą następujące geny odpowiedzialne za: stres oksydacyjny (*GPX1*, *GPX4*, *GPX7*); apoptozę (*CASP2*, *CASP3*, *CASP8*, *CASP9*, *XIAP*); związane z pluripotencją (*cPOUV*, *NANOG*, *SOX2*); powiązane z płcią (*Dazl*, *CDH*, *CVH*); związane z migracją (*CXCR4*). Wreszcie, określony zostanie wpływ środowiska zarodka biorcy (różna płeć, allogeniczny transfer) na ekspresję ranskryptomu z wykorzystaniem wysoko przepustowej analizy RNA (całogenomowa analiza RNA). Przejście PGCs dawców przez zarodek biorcy hipotetycznie może wpływać na wzór metylacji DNA potomków chimery. W celu weryfikacji tej hipotezy, zostanie wybrany panel dziesięciu genów do analizy epigenetycznej oraz wzoru metylacji (metoda MSRE-qPCR; LightCycler II 480) pomiędzy wyjściowymi PGCs dawcy i PGCs potomstwa chimer płciowych. Badania realizowane na wczesnych, migrujących PGCs, umożliwią zrozumienie przeprogramowania epigenetycznego, pluripotencji i międzypokoleniowego dziedziczenia epigenetycznego. Z pragmatycznego punktu widzenia, wyniki niniejszego projektu mogą stanowić podstawę nowej strategii w celu utrzymania zagrożonych gatunków ptaków, z użyciem dostępnych ptaków hodowlanych i chimer płciowych, wytwarzających płodne potomstwo. Ponadto, w przyszłości udoskonalone strategie epigenetyczne umożliwią skuteczną profilaktykę chorób i utrudnią możliwości ukierunkowanej selekcji wspomaganą markerami (MAS) lub selekcji genomowej w hodowli zwierząt.