

Autofagia jest niezbędnym do przetrwania mechanizmem komórkowym, aktywowanym w komórkach ssaczy w odpowiedzi na różne sygnały śmierci i tylko w warunkach krytycznych prowadzi do śmierci komórkowej. Wcześniejsze badania przeprowadzone przez naszą grupę wykazały, że częstość autofagii jest zwiększona w łożyskach zarodków, które miały jedynie genom ojcowski, oraz zmniejszona w łożyskach zarodków o tylko matczynym genomie. Bazując na tym, *hipotetyzuję, że genom ojcowski pozytywnie reguluje aktywację autofagii, podczas gdy genom matczyny ją hamuje*. Aby tę hipotezę zweryfikować, planuję zbadać przypadki autofagii podczas Diapauzy Zarodkowej (*Embryonic Diapause, ED*). ED jest odwracalnym zatrzymaniem rozwoju zarodka podczas oczekiwania na sygnał gotowości macicy. Przeżywalność zarodków podczas diapauzy przypisywana jest szczególnie wysokiemu poziomowi autofagii.

Ogólnym celem tego projektu jest więc **weryfikacja regulacji autofagii przez genom ojcowski i matczyny podczas Diapauzy Zarodkowej**. W tym celu, zbadam żywotność zarodków po diapauzie, mających jedynie ojcowski (androgenoty) lub matczyny (partenogenoty) genom (**Dokładny cel 1 – Ocena żywotności zarodków androgenetycznych i partenogenetycznych podczas Diapauzy zarodkowej**) Następnie, rozpatrzę kwestię aktywacji/postępu autofagii w androgenicznych i partenogenicznych zarodkach podczas ED (**Dokładny cel 2 – Rola genomu rodzicielskiego w występowaniu autofagii podczas Diapauzy Zarodkowej**).

Androgenoty, partenogenoty oraz zarodki kontrolne będą tworzone na modelu myszy, jako że ED może być w nich łatwo indukowana. Androgenoty będą tworzone *in vitro* poprzez zapłodnienie dojrzałych enukleowanych oocytów przez dwa plemniki. Partenogenoty będą tworzone przez chemiczną aktywację dojrzałych oocytów, symulując proces zapłodnienia bez użycia plemników. Zarodki kontrolne będą izolowane z jajowodów samic po naturalnej koncepcji. Wszystkie zarodki będą hodowane *in vitro*, a następnie transferowane do matek-biorczyń. Aby zaindukować Diapauzę, matkom-biorczyniom usunięte zostaną jajniki, w celu uniknięcia sygnału estrogenowego niezbędnego do implantacji, a także podawane będą codzienne zastrzyki progesteronu aż do dnia izolacji zarodków. Zarodki będą izolowane z macic matek-biorczyń co dwa dni od indukcji Diapauzy Zarodkowej aż do momentu, kiedy nie będzie można znaleźć więcej żywotnych zarodków. Aktywność autofagiczna w tych zarodkach będzie analizowana na podstawie Transmisyjnej Mikroskopii Elektronowej (TEM), barwień immunocytochemicznych powszechnych markerów autofagii oraz poziomu ekspresji genów związanych z autofagią.

Wyniki tych badań będą stanowiły weryfikację, czy mechanizm śmierci komórkowej regulowany jest przez genomy rodzicielskie oraz potwierdzenie jego występowania w fizjologicznych procesach, takich jak Diapauza Zarodkowa. Jest to projekt pionierski, jako że rola genomu ojcowskiego w regulacji przetrwania podczas ED nie była jeszcze badana. Nasza hipoteza, jeśli zostanie potwierdzona, będzie miała istotny wpływ na zrozumienie procesu autofagii i otworzy drogę dla badań dotyczących korzyści mechanizmów śmierci komórkowej.