

## **Tytuł: Identyfikacja markerów genetycznych i epigenetycznych związanych z wnetrostwem psów**

### **STRESZCZENIE**

Pies jest najważniejszym gatunkiem towarzyszącym człowiekowi. Efektem pracy hodowlanej prowadzonej na całym świecie jest wyodrębnienie ok. 400 ras psów o niespotykanej u innych gatunków zmienności fenotypowej. W pulach genowych wielu ras niestety występują również warianty genowe odpowiedzialne za dziedziczne wady monogenowe, jak i wady o złożonym, poligeniczno-środowiskowym uwarunkowaniu. Wśród zaburzeń rozwoju płci (ang. disorder of sex development – DSD) psów wnetrostwo, czyli zaburzenie zstąpienia jąder do worka mosznowego, jest najczęściej obserwowane. W niektórych rasach (np. chihuahua, sznaucer miniaturowy, owczarek niemiecki, buldog) wada ta jest częściej obserwowana, co może wskazywać, że w pulach genowych tych ras częściej występują warianty związane z tą wadą. Nieliczne badania dotyczące odziedziczalności wnetrostwa wskazują, że jej wskaźnik odziedziczalności ( $h^2$ ) wynosi nie więcej niż 0.3. Wada ta ma dwie istotne konsekwencje hodowlane – ograniczenie płodności lub bezpłodność oraz zwiększone ryzyko wystąpienia nowotworów jąder u psów nie poddanych kastracji.

**Hipoteza badawcza** niniejszego projektu oparta jest na założeniu, że porównawcza analiza ekspresji genów w jądrach zstąpionych i niezstąpionych ujawni geny związane z wnetrostwem. **Celem** badań jest wielostopniowa analiza ekspresji genów w gonadach psów poddanych kastracji. Badaniami będą objęte psy z jednostronnym lub dwustronnym wnetrostwem oraz zdrowe psy z zstąpionymi jądrami (grupa kontrolna), które poddane były kastracji na wniosek właścicieli. Rutynowa kastracja będzie przeprowadzana w lecznicach weterynaryjnych przez lekarzy weterynarii, a jądra bezpośrednio po usunięciu będą zamrożone w ciekłym azocie. Ocena poziomu ekspresji genów będzie przeprowadzona przy użyciu: (i) wysokoprzepustowych technik RNA-seq (geny kodujące białka) i small RNA-Seq (geny niekodujących cząsteczek RNA: long-noncoding RNA, microRNA and piRNA), (ii) RT-PCR w czasie rzeczywistym lub emulsyjny PCR – ddPCR (walidacja poziomu transkryptu w większej grupie zwierząt), (iii) elektroforezy białek/, western blotting wytypowanych na podstawie RNA-seq i RT-PCR genów kodujących białka, (iv) analizy metylacji promotorów wytypowanych genów przy pomocy pirosekwencjonowania konwertowanego DNA i (v) sekwencjonowania promotorów wytypowanych genów techniką Sangera, w celu identyfikacji polimorfizmów, które mogą mieć związek z wiązaniem czynników transkrypcyjnych.

Zakłada się, że tak zaplanowane badania pozwolą na identyfikację markerów genetycznych lub epigenetycznych związanych z rozwojem wnetrostwa psów. Markery takie będą mogły być wykorzystane w programach hodowlanych psów, zmierzających do ograniczenia częstości występowania tej wady. Ponadto, badania te będą miały znaczenie modelowe dla innych gatunków zwierząt domowych – np. świnia i koń, w których wnetrostwo jest również problemem hodowlanym.