

U wielu gatunków zwierząt a także i człowieka, embrionalne komórki macierzyste można pozyskać z węzłów zarodkowych przedimplantacyjnych zarodków, tzw. blastocyst. Tego typu linie komórek mogą się same odnawiać i wzrastać *in vitro* nieskończenie wiele razy. Jakkolwiek, pomimo licznych starań w badaniach naukowych, stabilne pluripotentne (czyli takie zdolne do zróżnicowania się w dowolny typ komórek somatycznych) linie komórek macierzystych, nie zostały do tej pory scharakteryzowane u większości zwierząt domowych w tym u bydła. Niewielki postęp zanotowano w kwestii pozyskania komórek podobnych do bydłych komórek macierzystych, jakkolwiek bez potwierdzenia możliwości ich różnicowania w kierunku wszystkich linii komórek płodu, szczególnie w kierunku możliwości tworzenia chimer. Ostatnio, linie zarodkowych komórek macierzystych zostały wyizolowane z zarodków świni, przy zastosowaniu innowacyjnych tzw. „poszerzonych warunków hodowli“. Ten typ komórek, zwany „komórki macierzyste o rozszerzonym potencjale (EPSCs)“, posiada unikatowe możliwości różnicowania nie tylko w kierunku różnych typów komórek, ale również w kierunku tkanek pozazarodkowych.

Celem proponowanych badań jest wyizolowanie i charakterystyka bydłych zarodkowych komórek macierzystych o rozszerzonym potencjale z przedimplantacyjnych zarodków hodowanych *in vitro*. Zakładamy, że komórki te będą, w określonych warunkach hodowlanych, z jednej strony zachowywały niezróżnicowanie a z drugiej będą zdolne do różnicowania, zarówno *in vitro* jak i *in vivo* do komórek pochodzących ze wszystkich zespołów komórek powstających w czasie rozwoju zarodkowego, tzw. listków zarodkowych, w tym także komórek rozrodczych.

W proponowanych badaniach planujemy zastosowanie nowej pożywki hodowlanej (EPSC) w celu izolacji komórek. Pluripotentne komórki macierzyste będą izolowane z 8-16 komórkowych przedimplantacyjnych zarodków bydłych, oraz z blastocyst (**Cel 1**). Następnie komórki charakteryzowane będą w aspekcie ich morfologii, wzrostu *in vitro* i stabilności kariotypu. Zostanie również przeprowadzona analiza sekwencjonowania nowej generacji, analiza profilu ekspresji genów pluripotencji, zdolności różnicowania *in vitro*, manipulacji genetycznych oraz zdolności do tworzenia chimer *in vitro* (**Cel 2**). Na koniec oceniona zostanie możliwość tworzenia chimer zarodków po introdukcji charakteryzowanych komórek do przedimplantacyjnych zarodków bydłych (**Cel 3**).

Zakładamy, że przeprowadzone badania doprowadzą do wyizolowania i scharakteryzowania stabilnych, unikatowych pluripotentnych linii komórek macierzystych, o rozszerzonym potencjale, zdolnych do różnicowania się w wiele różnych linii komórek, w tym gamet, które będą mogły w przyszłości znaleźć zastosowanie jako nowe narzędzie biotechnologiczne w innowacyjnych metodach biotechnologii rozrodu bydła.