

## „Markery pluripotencji zarodkowych komórek bydła”

### Maciej Orsztynowicz

Stypendysta projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Praca doktorska wiąże się z ciekawym i atrakcyjnym naukowo zagadnieniem zarodkowych komórek macierzystych (ESC) ssaków. Ze względu na duże podobieństwo wczesnego rozwoju zarodkowego bydła i człowieka (m.in. profile ekspresji genów istotnych dla rozwoju, chronologia rozwoju przedimplantacyjnego, moment uruchomienia genomu zarodka) bydło uznaje się za gatunek modelowy do badań mechanizmów regulujących wczesny rozwój zarodkowy człowieka. Dodatkowym atutem prowadzenia doświadczeń na bydło jest fakt, że w przeciwieństwie do człowieka, badania na tym gatunku umożliwiają kompleksową, nieograniczoną aspektami etycznymi, szczegółową analizę zagadnień dotyczących zarodków i ESC. Należy również pamiętać, że mimo wyprowadzenia ESC m.in. myszy i szczura, uzyskanie stabilnych linii ESC bydła zakończyło się niepowodzeniem, co sprawia, że omawiane zagadnienia są bardzo interesujące.



Fot. P. Pawlak

Uzyskanie linii zarodkowych komórek macierzystych otwiera szerokie pole badawcze w medycynie człowieka. Tu na szczególną uwagę zasługują badania biomedyczne, w tym modelowanie chorób genetycznych, badania z zakresu terapii genowej, tworzenie podwalin do rozwoju techniki indukowanych komórek pluripotentnych (iPS). W dotychczasowych badaniach ESC człowieka stwierdzono, że długotrwałej hodowli linii komórkowych in vitro może towarzyszyć niestabilność liczby chromosomów będąca efektem zaburzeń podziałów

komórkowych. Tego typu zaburzenia zaburzają funkcjonowanie komórek. Ponadto, utrzymywanie się takiego zaburzenia może prowadzić to powstania linii nieprawidłowych komórek, co sprzyja nowotworzeniu. Ocena stabilności chromosomowej w uzyskanych liniach ma określić ich przydatność do celów terapeutycznych. Oryginalnym wkładem pracy doktorskiej będzie bezpośrednio wzbogacenie dotychczasowej wiedzy dotyczącej ESC, a pośrednio ocena ich przydatności np. do terapii komórkowej (m. in. przeszczep szpiku kostnego).

Podjęty w pracy doktorskiej wątek nie jest łatwy, jednakże tematyka badań wychodzi naprzeciw zapotrzebowaniu środowiska naukowego. Celami niniejszej pracy jest 1) monitorowanie stabilności kariotypu blastomerów przedimplantacyjnych zarodków (od zygoty do blastocysty) oraz linii komórkowych uzyskanych z wężła zarodkowego (ICM) i trofoblastu (TE) blastocysty byłą na różnych etapach inkubacji (liczba pasaży) oraz 2) ocena przydatności wybranych genów będących markerami różnicowania ESC myszy w analizie pluripotencji komórek byłą. Szczególne znaczenie w badaniach będzie miało zastosowanie nowatorskiej techniki 3D FISH, która umożliwi analizę tzw. terytoriów chromosomowych (CT) w jądrach interfazowych blastomerów oraz wskazanie miejsca danego genu w tym terytorium, co prawdopodobnie ma związek z jego aktywnością transkrypcyjną. Przedmiotem zainteresowania niniejszego projektu są CT chromosomów mieszczących znane geny markerowe różnicowania blastomerów myszy w przedimplantacyjnych zarodkach byłą. Chcemy prześledzić ewentualne zmiany położenia tych chromosomów oraz genów w rozwijającym się zarodku byłą od zygoty do wylęgłej blastocysty. W tym celu wykorzystamy kompleksową procedurę pozyskiwania zarodków byłą *in vitro* oraz hybrydyzację *in situ* 3D. Analizą będą objęte chromosomy byłą par 5, 12, 23 i 24 oraz mieszczące się w tych chromosomach geny *NANOG* (5), *CDX2* (12), *OCT4* (23) i *GATA6* (24).

Niniejsze badania niosą określone korzyści dla Wielkopolski. Przede wszystkim poprzez promowanie Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu w kraju (współpraca z Zakładem Biotechnologii Rozrodu i Komórek Macierzystych Instytutu Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu) i za granicą (współpraca z Uniwersytetem w Hanowerze, Niemcy, Uniwersytetem w Manchester, Wielka Brytania, Instytutem Weterynarii w Brnie, Czechy). Ponadto badania zaowocują wartościowymi publikacjami w czasopismach o znaczącej randze międzynarodowej (*Development*, *Biology of Reproduction*, *Molecular Reproduction and Development*) oraz prezentacją wyników na międzynarodowych konferencjach naukowych.