



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TERAMO

P.O.R. ABRUZZO – OBIETTIVO 3 PER IL 2000/2006
PROTOCOLLO DI INTESA TRA REGIONE ABRUZZO,
COMITATO DI COORDINAMENTO REGIONALE DELLE UNIVERSITA' ABRUZZESI
E
UFFICIO SCOLASTICO REGIONALE
PER L'ATTUAZIONE DEL MACROPROGETTO
INNOVAZIONE, COMPETITIVITÀ, GOVERNANCE
(PROGETTO REGIONALE FORMAZIONE TECNICO SCIENTIFICA
E
PROGETTO IN_CO: AZIONI INTEGRATE PER LO SVILUPPO DI
“INTERMEDIARI DELLA CONOSCENZA TECNOLOGICA, ORGANIZZATIVA E GESTIONALE”)
“ASSEGNI REGIONALI PER ATTIVITÀ DI RICERCA E ALTA FORMAZIONE “ IN MATERIE TECNICO
SCIENTIFICHE, INTERVENTO IC4E – SOTTO - UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO-

ASSEGNISTA DI RICERCA:

Gabriella Di Rocco

Tutor/ Responsabile Scientifico:

Prof.ssa Barbara Barboni

Nome istituzione a cui afferisce laboratorio ospitante:

Università degli studi “G. D’Annunzio” di Chieti

Nome e qualifica del responsabile del laboratorio ospitante:

Prof. Liborio Stuppia, Professore straordinario di genetica medica

Durata soggiorno laboratorio ospitante:

Sei mesi

DEFINIZIONE DEI PRINCIPALI MECCANISMI MOLECOLARI E FUNZIONALI COINVOLTI NEL PROCESSO DI MATURAZIONE DEL GAMETE FEMMINILE

OBIETTIVI

Il presente progetto di ricerca sarà finalizzato allo studio dei processi fisiologici di maturazione del gamete femminile, focalizzandosi sui cambiamenti epigenetici che avvengono nelle cellule uovo durante le fasi terminali dell'accrescimento cellulare e sull'analisi di espressione globale confrontando ovociti in diverse fasi nucleari. I cambiamenti epigenetici verranno valutati mediante lo studio dello stato di metilazione di geni sottoposti ad imprinting in ovociti isolati da follicoli preantrali, early-antral, e antrali nella specie ovina, mediante sequenziamento genico dopo modificazione chimica del DNA con sodio-bisolfito. Le indagini dei profili di espressione globale verranno condotte in modo cinetico dall'oocita (GV e MII) alla blastocisti, mediante metodiche di microarray su cDNA totale di specie suina.

METODOLOGIE

Lo stato di metilazione dei molti siti presenti nelle DMR (different methylated regions) dei geni imprantati si raggiunge durante il processo di maturazione dei gameti e può variare fino alle ultime fasi di tale processo. Il DNA estratto da ovociti isolati da follicoli in diverse fasi di accrescimento verrà modificato con sodio-bisolfito, amplificato utilizzando primers specifici per le regioni DMR, e clonato in batteri. Ciascun clone verrà infine analizzato mediante sequenziamento automatizzato per ottenere una stima quantitativa del livello di metilazione nelle isole CpG di tali geni.

Recentemente la tecnica della analisi di espressione mediante microarray ha consentito di acquisire informazioni importanti riguardanti i profili di espressione tessuto-specifici in situazioni di normale funzionalità rispetto a condizioni patologiche, ma anche in funzione di diverse fasi di sviluppo di un determinato organo o tessuto. La tecnologia a microarray verrà utilizzata per identificare nuovi geni a specifica espressione ovocitaria e differenzialmente espressi in ovociti maturati *in vivo* e maturati *in vitro* utilizzando diverse procedure di conservazione e/o condizioni di coltura.

Per quanto riguarda la metodologia impiegata, il progetto di ricerca si propone di oltrepassare alcuni problemi tecnici derivanti dallo scarso quantitativo di mRNA ottenibile in talune condizioni sperimentali, e dalla assenza in commercio di microarray specifici per la specie animale suina. A tale scopo si utilizzeranno microarray contenenti cDNA umani e si valuteranno le procedure ottimali per ottenere una cross-ibridazione.

RISULTATI ATTESI

La presente ricerca si propone nel primo semestre di descrivere le modificazioni epigenetiche che si verificano a carico di geni ovini noti (per es. IGF2R, DIO3, BEGAIN, H19) sottoposti ad imprinting materno/paterno e nel secondo semestre di verificare quali geni presentino un pattern di espressione alterato rispetto alle condizioni fisiologiche, in modo da comprendere come l'alterazione di tali pattern possa essere responsabile di malformazioni nell'embrione derivato dagli ovociti sottoposti a tali trattamenti.