Abstract (Polish)

Analiza polimorfizmu DNA oraz ekspresji wybranych genów związanych ze zróżnicowaną przydatnością plemników knura do kriokonserwacji

Przedłożona rozprawa doktorska została przygotowana w oparciu o wyniki uzyskane i zaprezentowane w cyklu trzech publikacji naukowych. W pierwszej z prac wykorzystano dane RNA-Seq uzyskane podczas porównania profili transkryptomicznych plemników knura o zróżnicowanej przydatności do kriokonserwacji nasienia. Wykorzystując analizę „variant calling", zidentyfikowano ponad 1000 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów tzw. SNP i wykazano, że większość z nich znajdowała się w rejonach 3′-niepodlegających translacji (3′-UTR) sekwencjonowanych transkryptów plemnikowych. Do genotypowania populacji knurów wykorzystano technologię KASP. Czterdzieści z wykrytych SNP zostało wykorzystanych w badaniach populacyjno-asocjacyjnych knura rasy wielkiej białej polskiej, podczas których analizowano zależności pomiędzy genotypami poszczególnych loci a wybranymi parametrami charakteryzującymi jakość nasienia po rozmrożeniu. Analiza potwierdziła istotne związki pomiędzy polimorfizmem SNP w genach: *APPL1, PLBD1, FBXO16, EML5, RAB3C, OXSR1*, *PRICKLE1* i *MAP3K20* a cechami jakościowymi nasienia po zamrożeniu-rozmrożeniu. Zidentyfikowane SNP mogą być potencjalnymi markerami genetycznymi jakości i przydatności nasienia knura po kriokonserwacji.

W drugiej pracy analizowano związek pomiędzy polimorfizmami DNA w sekwencjach 5′-flankujących genów *STK35* i *IFT27* (funkcjonalnie związanych odpowiednio z odpowiedzią na bodźce stresowe oraz z ruchliwością plemników) a zróżnicowaną ekspresją białek STK35 i IFT27 w nasieniu knurów klasyfikowanych do grup o dobrej i złej przydatności do kriokonserwacji (grupy GSF i PSF). Za pomocą sekwencjonowania Sangera zidentyfikowano obecność tranzycji C > T (rs327863835) w promotorze genu *STK35* oraz dwóch substytucji A > T i T > C (rs337563873; rs331520020) w promotorze genu *IFT27*.

Zaobserwowano statystycznie istotne różnice we frekwencjach poszczególnych alleli analizowanych promotorów pomiędzy grupami knura GSF i PSF. Analizy bioinformatyczne wykazały, że mutacje *STK35* rs327863835 i *IFT27* rs331520020 mogą skutkować powstaniem dodatkowych miejsc wiązania dla czynników transkrypcyjnych takich jak: NFATC2, ELK1 i GR-β, co może różnicować poziom ekspresji *STK35* i *IFT27* w nasieniu knura o zróżnicowanej przydatności do technologii kriokonserwacji. Ponadto wykazano różnice w ekspresji białek STK35 i IFT27 pomiędzy nasieniem świeżym i mrożonym oraz że ekspresja białka IFT27 była najwyższa w plemnikach po rozmrożeniu z grupy GSF. Uzyskane wyniki sugerują, że warianty alleliczne w *STK35* i *IFT27* mogą być uznane za potencjalne markery genetyczne przydatności nasienia knura do kriokonserwacji.

W trzeciej pracy badano, czy ekspresja genów związanych ze stresem (*TXNRD1*, *HSPA4L* i *ATP1B1*) wpływa na kriotolerancję plemników knura. Na poziomie mRNA stwierdzono wyższą ekspresję genów *TXNRD1* i *HSPA4L* w nasieniu po rozmrożeniu z grupy PSF w porównaniu z nasieniem świeżym. Podobnie, ekspresja białka HSPA4L była wyraźnie wyższa w nasieniu po rozmrożeniu z grupy PSF, podczas gdy świeże nasienie wykazywało istotnie wyższą ekspresję białka TXNRD1 w grupie GSF. Istotnie wyższy poziom ekspresji mRNA *ATP1B1* w świeżym nasieniu o dobrej zamrażalności może być wykorzystany jako obiecujący marker kriotolerancji nasienia. Ponadto, różnice w ekspresji białek TXNRD1 i HSPA4L oraz profile elektroforetyczne białek nasienia po rozmrożeniu pomiędzy grupami GSF i PSF dostarczają nowych danych pozwalających ocenić ich znaczenie w procesach powstawania kriouszkodzeń plemników.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że uzyskane wyniki wskazują na możliwość zastosowania markerów genetycznych w ocenie przydatności nasienia knura do kriokonserwacji i uzyskania postępu w tej dziedzinie na drodze selekcji osobników o korzystnych genotypach.