

UNIwersytet WarMińsko-Mazurski w Olsztynie

Wydział Bioinżynierii Zwierząt



ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Dorota Maria Hering

**IDENTYFIKACJA MARKERÓW GENETYCZNYCH
I POLIMORFIZMU GENÓW ZWIĄZANYCH
Z KONCENTRACJĄ I RUCHLIWOŚCIĄ PLEMNIKÓW
U BUHAJÓW RASY POLSKIEJ HOLSZTYŃSKO – FRYZYJSKIEJ**

Rozprawa doktorska wykonana

w Katedrze Genetyki Zwierząt

pod kierunkiem

prof. dr hab. Stanisława Kamińskiego

oraz promotora pomocniczego

dr inż. Marka Lecewicza

Olsztyn 2016

Streszczenie

Identyfikacja markerów genetycznych i polimorfizmu genów związanych z koncentracją i ruchliwością plemników u buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej

Słowa kluczowe: ruchliwość plemników, koncentracja plemników, analiza GWAS, buhaje

Celem podjętych badań było wskazanie markerów SNP oraz genów kandydujących odpowiedzialnych za zróżnicowanie koncentracji oraz ruchliwości plemników u buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej, a następnie ocena wpływu polimorfizmu wybranego genu na parametry nasienia świeżego. Badaniami objętych zostało 1581 buhajów, których dane o koncentracji i ruchliwości plemników dostępne były w bazie INSEMIK.

Przeprowadzono dwie niezależne analizy GWAS, do których wytypowano buhaje reprezentujące skrajnie różne fenotypowo grupy osobników. U wszystkich buhajów oznaczono genotypy markerów SNP przy użyciu mikromacierzy Bovine 50K BeadChip firmy Illumina. Wskazanie istotnych markerów genetycznych oraz mapowanie genów metodą GWAS przeprowadzono z użyciem programu komputerowego SVS firmy Golden Helix. Do wskazania istotnych markerów SNP wykorzystano model addytywny oraz testy statystyczne: Cohrana-Armitage oraz Correlation/Trend z uwzględnieniem poprawki Bonferroniego. W wyniku przeprowadzonych badań wskazano 34 markery SNP istotnie związane z ruchliwością plemników oraz 13 markerów SNP istotnie związanych z koncentracją plemników. Zastosowano dwa podejścia typowania genów kandydujących: fizyczne i funkcjonalne. W pierwszym, fizycznym, za gen kandydujący uznawano gen najbliższej położony istotnego markera. W drugim natomiast, funkcjonalnym, analizowano region odległy o ok. 1 milion par zasad od istotnego markera, wskazując na geny, których udział w kształtowaniu cech związanych z nasieniem potwierdzony był w wynikach innych autorów. Znana pozycja genomowa istotnych markerów SNP umożliwiła wskazanie genów kandydujących bezpośrednio związanych z badanymi cechami nasienia oraz wiele innych wykazujących związki pośredni.

Najbardziej istotne markery SNP dla ruchliwości plemników zlokalizowano na chromosomie 1 (rs110596818), 5 (rs110827324 oraz rs29011704) oraz 24 (rs110876480). Wytypowano geny

kandydujące m.in. SOX5, HIBADH, CFTR oraz CATSPER1, których związek z cechami nasienia został potwierdzony w literaturze.

Najbardziej istotne markery dla koncentracji plemników zlokalizowano na chromosomie 3 (rs109154964 oraz rs108965556), 14 (rs41621145) oraz 18 (rs41615539). Wytypowano geny kandydujące m.in. GSTM1, PRMT6, HDAC9, mogące brać udział w różnicowaniu koncentracji plemników buhajów lub uczestniczyć w innych procesach biochemicznych nasienia.

Z grupy genów kandydujących, do dalszej analizy wybrano gen SOX5, położony 80 kbp od istotnego markera rs29011704 zlokalizowanego na chromosomie 5. W grupie 368 buhajów identyfikowano mutację zmiany sensu (C/T) i wykazano jej związek z ruchliwością i koncentracją plemników mierzoną w nasieniu świeżym ($p < 0,05$).

Identyfikacja istotnych markerów SNP reprezentujących subregiony genomu bydła oraz rozmieszczenie markerów w genomie sugeruje poligenowe uwarunkowanie badanych cech nasienia.

Wyniki badań przedstawiono w trzech publikacjach, stanowiących podstawę niniejszej dysertacji doktorskiej.

Hering Donata

Summary

Identification of genetic markers and polymorphism of genes associated with sperm concentration and motility in Polish Holstein-Friesian bulls.

Key words: sperm motility, sperm concentration, GWAS analysis, bulls

The aim of the study was to identify SNP markers and candidate gene underlying sperm concentration and sperm motility in Polish Holstein-Friesian bulls followed by evaluation of the influence of the polymorphism in candidate gene on fresh semen parameters. The analyzed dataset consisted of 1581 bulls. Sperm concentration and sperm motility of bulls were available from INSEMIK database.

Two independent GWAS analysis were performed in which two groups of individuals of extreme phenotype were represented. All bulls were genotyped using the Illumina Bovine 50K BeadChip. Genome-wide association analysis, which identifies significant genetic markers and maps candidate genes was performed with the use of SVS Golden Helix software. An additive model with a Cochran-Armitage test, Correlation/Trend adjusted by Bonferroni test was used to estimate the effect of SNP markers on analyzed traits. Thirty four SNP markers were found as significantly associated with sperm motility and 13 SNP markers turned out to be significantly associated with sperm concentration. Two approaches were used to identify candidate genes for both traits: physical and functional. In the physical approach, candidate genes were found in the closest vicinity of significant marker. In the functional approach, the candidate genes were identified by screening a distance of approximately 1 Mb around significant SNP to find genes participated in the sperm traits. Their participation in analyzed had to be confirmed by other authors. Genomic position of significant SNP marker allowed to identify candidate genes that were directly associated with studied traits as well as many genes of indirect association.

The most significant SNP markers for sperm motility were located on chromosome 1 (rs110596818), 5 (rs110827324 and rs29011704) and 24 (rs110876480). For sperm motility candidate genes were proposed i.e. SOX5, HIBADH, CFTR and CATSPER1. Their association with semen parameters was confirmed in literature.

The most significant SNP markers for sperm concentration were located on chromosome 3 (rs109154964 and rs108965556), 14 (rs41621145) and 18 (rs41615539). For that trait candidate

genes were also proposed i.e. GSTM1, PRMT6, HDAC9, as genes participating in the variation of sperm concentration or semen biochemical pathways.

From all candidate genes, SOX5 gene located 80 kbp from significant marker rs29011704 on chromosome 5 was selected to further analysis. Missense mutation (C/T) was identified in the population of 368 bulls and significant association with sperm motility and sperm concentration in fresh semen was found ($p < 0,05$).

Identification of the significant SNP markers represented subregions of bull genome and the distribution of marker effects indicate on primarily polygenic inheritance of analyzed sperm traits.

Results of the doctoral dissertation were presented in three publications.

Glening Doneta