

Генетические основы качества криоконсервированной спермы у голштинского скота: полногеномный анализ ассоциаций

Автор: м.н.с. лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ,
Дысин Артем Павлович



Исследование выполнено в рамках государственного задания 124020200114-7



Введение



Криоконсервация - широко распространенный метод сохранения спермы в программах разведения животных.



Однако этот процесс может оказывать пагубное влияние на качество спермы, особенно на ее морфологию.

Такие нарушения спермы повышают риск снижения способности сперматозоидов к оплодотворению

Введение

- Цель исследования - выявить генетические маркеры и гены-кандидаты, связанные с аномалиями в замороженно-оттаянной сперме голштинского скота, и тем самым раскрыть молекулярные механизмы, лежащие в основе морфологии и аномалий спермы после;
- Важность исследования заключается в том, что оно может способствовать улучшению воспроизводства и разведения животных.



Материалы и методы

1. Контроль качества генотипирования:

- Выделение ДНК из 50 образцов спермы голштинских быков;
- Контроль качества с использованием высокоплотного чипа BovineSNP50 v3 BeadChip;
- Критерии исключения SNPs и животных (частота встречаемости SNP $<95\%$, частота минорных аллелей $<5\%$ и равновесие Харди-Вайнберга);

2. Оценка спермы:

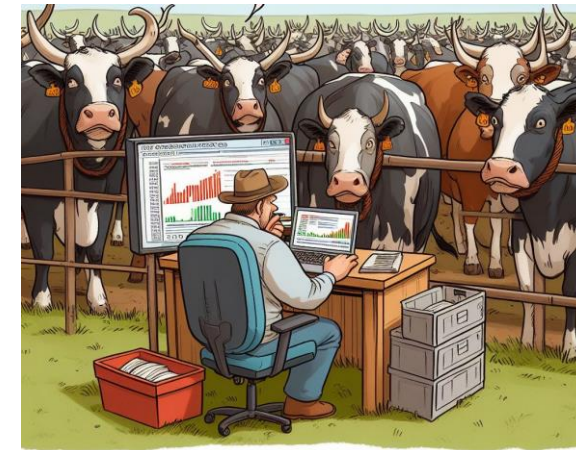
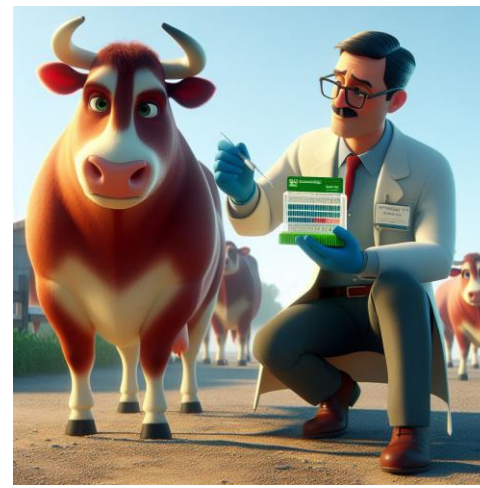
- Компьютерный анализ спермы (CASA) для определения подвижности;
- Микроскоп Axio Imager для определения морфологии;

3. Анализ геномных ассоциаций:

- Программное обеспечение EMMA для анализа смешанных линейных моделей;
- Учет структуры популяции и родства;
- Оценка влияния SNP на признаки качества спермы;

4. Порог значимости и визуализация:

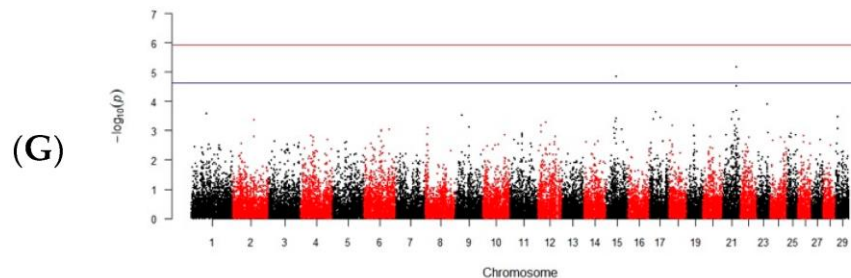
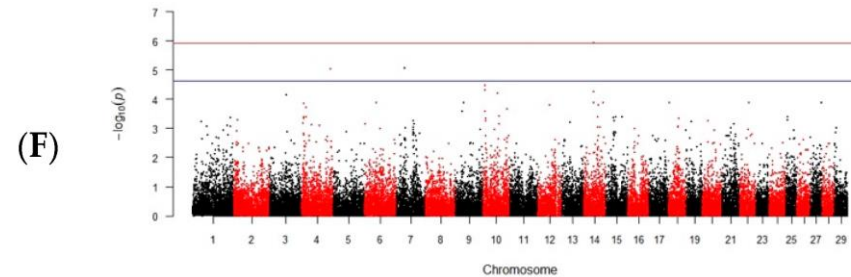
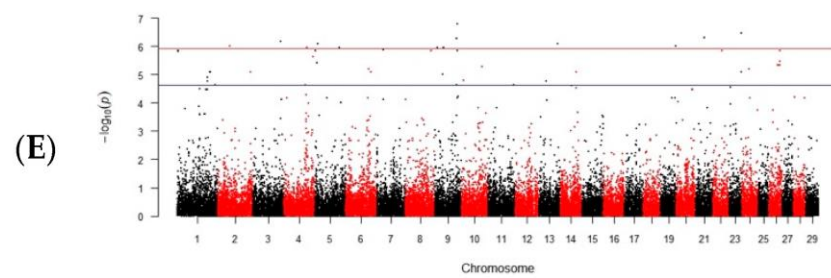
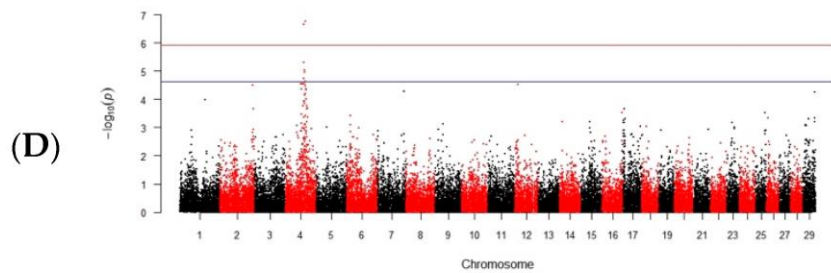
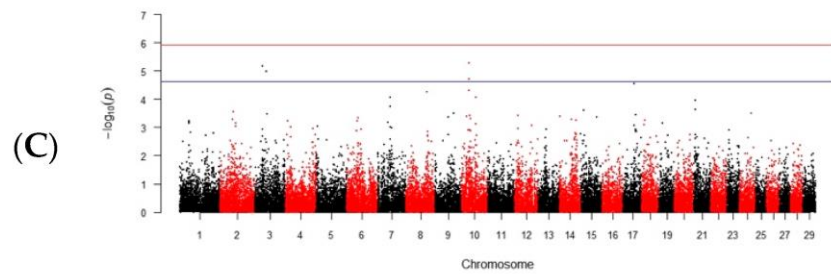
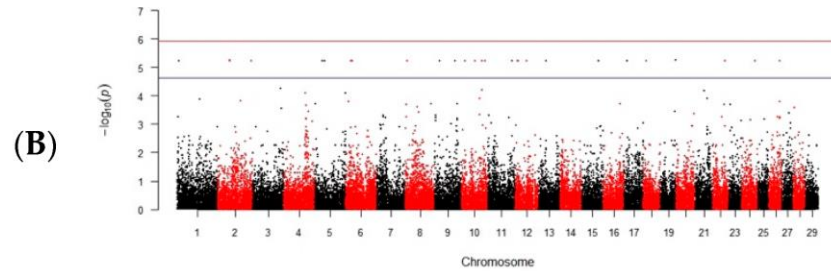
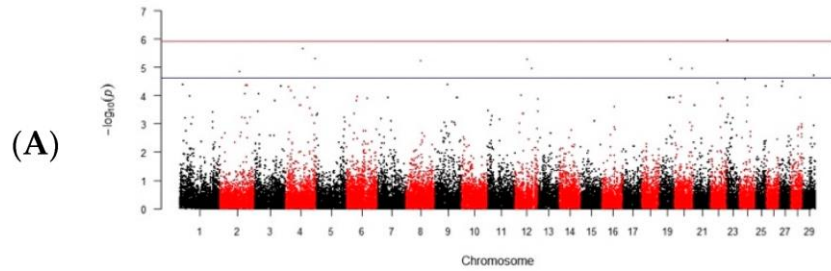
- Коррекция Бонферрони для ассоциаций SNP;
- Манхэттенские диаграммы для визуализации результатов геномных ассоциаций.



Результаты

Графики Манхэттена для показателей нарушения сперматозоидов после криоконсервации:

- (A) отсутствие акросом,
- (B) аномальная головка,
- (C) набухшие акросомы,
- (D) сморщенные акросомы,
- (E) поврежденные хвосты и шейки клеток,
- (F) прогрессивная подвижность
- (G) общая подвижность.



Результаты

Диапазоны локализации некоторых обнаруженных геномных ассоциаций с нарушениями спермы у быков.

Нарушение	Хромосома	Локализация SNP, Mb	Кандидатные гены
Отсутствие акросом	4	82,4–82,9	POU6F2 , VPS41, AMPH,
	11	70,9–72,5	TCF23 , SPDYA, PPP1CB, ABHD1
Аномалии головки сперматозоида	2	47,8–48,4	ORC4 , EPC2, MBD5
Набухшие акросомы	10	28,3–28,5	LPCAT4 , CACNB2
Сморщенные акросомы	4	72,0–76,6	IGFBP3 , MON2, NPY, STEAP1
Поврежденные хвосты сперматозоидов и шейки клеток.	1	1,2–5,9	GRIK1, SON, GART
	2	47,7–48,4	EPC2, MBD5, ORC4
	5	9,6–10,3	PTPRQ, ATF7IP
	9	32,2–35,1	MAN1A1, FRK
		90,2–91,3	PGC17, ESR1
	10	14,3–14,4	C10H15orf61, MAP2K5
		80,2–80,3	ZFYVE26, RAD51B
	17	11,5–11,7	TTC29, POU4F2
26	33,2–38,6	ACSL5, RAB11FIP2	
	42,0–43,7	SPADH2, GPR26, SPAD, FGFR2, ATE1	

Молекулярные механизмы действия некоторых найденных генов

- LPCAT4 участвует в синтезе фосфатидилхолина, основного компонента мембран сперматозоидов, который имеет решающее значение для ремоделирования и стабильности мембран сперматозоидов во время криоконсервации.
- PYD, SLC39A12 и CACNB2 также связаны с целостностью акросомы и TTC29, NEDD4, RAD51B и KLHL1, которые потенциально важны для поддержания качества и жизнеспособности сперматозоидов после криоконсервации и играют роль в функционировании сперматозоидов, динамике цитоскелета и восстановлении ДНК.

Выводы

- Мы выявили значимые SNP, связанные с отсутствием акросомы после криоконсервации, и гены-кандидаты, связанные с аномалиями головки, поврежденными шейками и хвостами клеток и набухшими акросомами;
- Наше исследование вносит вклад в понимание молекулярных механизмов, вовлеченных в морфологию сперматозоидов и лежащих в основе нарушений качества спермы крупного рогатого скота после криоконсервации;
- Необходимы дальнейшие исследования с использованием большего объема выборки, более широкого геномного покрытия и функциональной валидации.

Благодарю за внимание!