

Streszczenie popularnonaukowe

Kriokonserwacja nasienia jest jedną z najważniejszych technik wspomaganego rozrodu (ART) stosowanych u zwierząt, zarówno gospodarskich, jak i towarzyszących czy dzikich. Przechowywanie komórek w bardzo niskich temperaturach (zwykle w ciekłym azocie, -196°C) zatrzymuje wszystkie procesy biologiczne i utrzymuje komórki w stanie tzw. anabiozy (życia utajonego). Dzięki temu komórki można bezpiecznie przechowywać przez dłuższy czas bez zmiany ich właściwości. Umożliwia to tworzenie banków genów i ułatwia wysyłkę materiału biologicznego na cały świat - znacznie łatwiej jest transportować pojemnik z zamrożonym nasieniem niż żywe zwierzę.

Jednak kriokonserwacja jest bardzo destrukcyjnym procesem. Podczas zamrażania komórki muszą stawić czoła nagłym zmianom warunków w swoim otoczeniu, tworzeniu się wewnątrzkomórkowych kryształków lodu, które mechanicznie uszkadzają struktury komórkowe, dezorganizacji błony cytoplazmatycznej i atakom reaktywnych form tlenu. W rezultacie przeciętnie tylko połowa plemników przeżywa proces kriokonserwacji.

W przypadku zwierząt domowych protokoły mrożenia nasienia były przez lata optymalizowane tak, aby zapewnić jak najlepszą jakość nasienia po rozmrożeniu. Jednak nawet przy doskonale opracowanej procedurze i dobrej wyjściowej jakości nasienia istnieją różnice w kriooporności nasienia między poszczególnymi osobnikami - plemniki niektórych samców potrafią łatwo przetrwać zamrażanie-rozmrażanie, a innych w większości tego procesu nie przeżywają. Na podstawie jakości nasienia po rozmrożeniu można podzielić samce na te o dobrej lub złej oporności nasienia na kriouszkodzenia. Kierowani nauką ciekawością i względami ekonomicznymi (straty związane ze złą jakością porozmrożeniową), badacze od lat próbowali zgłębić tajniki kriooporności. Choć badania przeprowadzono u wielu różnych gatunków, dokładne przyczyny i mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska są wciąż zagadką. Istnieje kilka hipotez wyjaśniających zróżnicowaną kriooporność plemników od różnych osobników, w tym genetycznie uwarunkowane różnice w kształcie gamet, właściwości błon cytoplazmatycznych, ekspresji białek itp. Dużo wysiłku wkłada się w znalezienie markerów, które oznaczone w świeżym nasieniu pozwolą przewidzieć wynik kriokonserwacji.

U kotów obszar ten jest zdecydowanie słabo poznany i nie zidentyfikowano dotąd takich wyznaczników. Ze względu na rosnące zainteresowanie ze strony hodowców kotów mrożeniem nasienia kocurów, markery kriooporności byłyby cennym narzędziem. Ponadto kot domowy jest zwierzęciem modelowym dla swoich dzikich krewnych. Ponieważ większość gatunków z rodziny Felidae jest zagrożona, kriokonserwacja nasienia jest czasem jedynym rozwiązaniem pozwalającym zachować materiał genetyczny od rzadkich i cennych osobników - dlatego też i dzikie kotowate mogłyby skorzystać z rozwoju wiedzy w tej dziedzinie.

Celem tego projektu jest ocena czynników odpowiedzialnych za różną przeżywalność procesu kriokonserwacji przez plemniki kota domowego i poszukiwanie potencjalnych markerów pozwalających prognozować podatność na kriouszkodzenia.

Aby zrealizować ten cel, do oceny nasienia zostanie zastosowana szeroka gama narzędzi i oznaczeń - od komputerowo wspomaganą analizę morfologii plemników, poprzez testy osmotyczne, analizę ekspresji różnych białek (akwaporyny, proAKAP4), aż po dokładne zbadanie struktury błon komórkowych plemników i ocenę jej właściwości przy użyciu spektrofotometru i cytometru przepływowego. Wyniki tych analiz zostaną porównane między samcami o dobrej lub złej oporności nasienia na kriouszkodzenia. Takie kompleksowe podejście zwiększy szanse na znalezienie markerów kriooporności plemników, które będą mogły zostać zastosowane w praktyce klinicznej. Ponadto realizacja projektu pogłębi naszą wiedzę na temat fizjologii i kriobiologii nasienia kotów, co może posłużyć jako podstawa teoretyczna do dalszych badań mających na celu poprawę kriokonserwacji nasienia, zarówno u kotów domowych, jak i zagrożonych gatunków dzikich kotowatych.