

## **TYTUŁ: SSc5D - rozpuszczalny receptor zmiatacz bogaty w cysteinę, nowy gracz w odporności nieswoistej nasienia indora (*Meleagris galopavo*) w odniesieniu do syndromu żółtego nasienia**

### **POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU**

**Cel.** Celem projektu jest uzyskanie nowych informacji na temat białka nasienia indora SSc5D, należącego do rodziny receptorów zmiataczy bogatych w cysteinę (SRCR), które u ssaków są elementem nieswoistego układu immunologicznego. SRCR należą do receptorów rozpoznających patogeny a ich obecność potwierdzono w komórkach układu immunologicznego - makrofagach oraz w układzie rozrodczym samców ssaków. Obecnie brak jest informacji na temat specyficznych funkcji SSc5D w nasieniu ptaków. Uważamy, iż SSc5D obecny w nasieniu indora jest nowym, niezmiernie ważnym elementem odpowiedzi nieswoistego układu immunologicznego ptaków. W związku z tym przedstawiony projekt został opracowany w celu dostarczenia szczegółowych informacji na temat struktury, tkankowej lokalizacji i roli SSc5D w antybakteryjnej ochronie nasienia. Badanie roli SSc5D rozszerzone zostanie o badania syndromu żółtego nasienia (YSS), który jest chorobą endemiczną w obrębie populacji indyka. Niska jakość nasienia YSS prowadzi do spadku zapłodnienia i wylęgowości piskląt. Żółte nasienie charakteryzuje podwyższoną liczbą nieprawidłowych plemników i spermatozoidów oraz spermiofagów (makrofagi obecne w nasieniu), co wskazuje na stan zapalny układu rozrodczego. Dlatego przy użyciu wysokoprzepustowych metod sekwencjonowania uzupełnione zostaną luki w wiedzy dotyczącej składowych elementów układu immunologicznego, włączając rodzinę receptorów SRCR oraz mikrobiomu nasienia w odniesieniu do patologii YSS. Ponieważ receptory zmiatacze są zaangażowane w patogenezę wielu chorób, interesujące jest określenie, czy białko SSc5D może być zaangażowane w patogenezę YSS. Pogłębienie wiedzy na ten temat może mieć znaczenie dla poprawy rozrodczości indyków, ważnego gospodarczo gatunku ptaków hodowlanych w Polsce.

Hipoteza badawcza zakłada, że (i) SSc5D obecny w plazmie nasienia jest ważnym elementem układu immunologicznego zaangażowanym w ochronę nasienia przed bakteriami, (ii) SSc5D jest wydzielany przez tkanki układu rozrodczego i/lub aktywowane spermiofagi, (iii) profil ekspresji SSc5D w układzie rozrodczym indora jest zależny od występowania YSS, (iv) obecność spermiofagów w nasieniu odzwierciedla jakość nasienia, (v) mikrobiom i elementy układu immunologicznego, włączając receptory SRCR, różnicują jasne, dobrej jakości nasienie (WS) od nasienia YSS.

**Opis badań.** Białko SSc5D zostanie wyizolowane z plazmy nasienia z wykorzystaniem chromatografii jonowymiennej, filtracji żelowej oraz chromatografii w układzie odwróconych faz. Przy użyciu technik elektroforetycznych i spektrometrii mas scharakteryzowane zostaną właściwości fizykochemiczne SSc5D, tj. masa cząsteczkowa, punkt izoelektryczny, oraz potranslacyjne modyfikacje (glikozylacja i fosforylacja). Przeciwciała przeciwko SSc5D wyprodukowane zostaną poprzez immunizację królika i użyte zostaną do immunohistochemii i opracowania testu ELISA. Właściwości antybakteryjne określone zostaną za pomocą wskaźnika CFU (jednostka tworząca kolonię) oraz testowania lekowrażliwości drobnoustrojów. Tkankowa lokalizacja SSc5D w układzie rozrodczym samca (włączając YSS) zostanie określona za pomocą metod immunohistochemicznych i ilościowej analizy PCR. Ponadto przy użyciu wspomnianych technik, spermiofagi nasienia analizowane zostaną jako potencjalne źródło sekrecji SSc5D w nasieniu WS o dobrej jakości oraz nasieniu YSS. Następnie, wpływ spermiofagów na jakość nasienia określony zostanie metodami cystometrii przepływowej, testów ELISA, oraz komputerowej analizy ruchu plemników. Przy użyciu technik proteomicznych (2DE-DIGE and MALDI TOF/TOF) porównane zostaną profile białkowe aktywowanych spermiofagów z nasienia WS oraz YSS. Sekwencjonowanie RNAseq oraz 16S rRNA wykorzystane zostaną do analizy różnicujących genów układu rozrodczego oraz mikrobiomu nasienia w odniesieniu do YSS.

**Uzasadnienie.** Obecność białka SSc5D, należącego do rodziny receptorów SRCR, wykazano w plazmie nasienia indora. W przeciwieństwie do ssaków, gdzie SSc5D odgrywa rolę w regulacji nieswoistej odpowiedzi immunologicznej, brak jest informacji na temat funkcji białka SSc5D w nasieniu ptaków. Dlatego niezwykle ważne jest uzyskanie rzetelnych informacji na temat SSc5D, zarówno dotyczących jego struktury i lokalizacji w tkankach układu rozrodczego i komórkach układu immunologicznego, jak i również jego antybakteryjnej roli w nasieniu. Luki w wiedzy dotyczącej składowych elementów układu immunologicznego, włączając rodzinę receptorów SRCR oraz mikrobiomu nasienia zostaną uzupełnione w odniesieniu YSS. Obecnie nie wiadomo, czy SSc5D może mieć udział w patogenezie YSS. Poszerzenie wiedzy na ten temat może mieć znaczenie dla poprawy rozrodu indyków.

**Oczekiwane efekty.** Naszym zdaniem projekt wniesie niezmiernie ważny wkład do wiedzy dotyczącej immunologii rozrodów ptaków poprzez opisanie nieznanego do tej pory mechanizmu obrony nasienia przed drobnoustrojami. Uzyskane wyniki mają szansę przyczynić się do pogłębienia wiedzy nad temat roli SSc5D w zwalczaniu chorób bakteryjnych nasienia ptaków. Poszerzona zostanie wiedza na temat molekularnych podstaw zaburzeń jakości nasienia - YSS.