

Tyúkok fiatalkori hőkezelésének hatására létrejövő hőstressz indukálta mikroRNS-ek expressziójának vizsgálata

Investigation of the expression of heat stress induced microRNAs resulting from the effect of heat treatment of chicken at a young age

TOKODYNÉ SZABADI Nikolett

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
(Hungarian University of Agriculture and Life Sciences)
Állattenyésztési tudományok Doktori Iskola
(Doctoral School of Animal Science)
Gödöllő, 2024.

Témavezető (supervisor): GÓCZA Elen MTA levelező tagja

ÖSSZEFOGLALÁS

A baromfitenyésztésnek világviszonylatban is nagy jelentősége van, évről évre növekszik a baromfihús fogyasztás. Ennek a megnövekedett igényeknek a kielégítése nem egyszerű, mivel a globális klímaváltozás következtében megemelkedett átlaghőmérséklet negatív hatással van a termelés hatékonyságának emelésére. A hőstressz minden szaporodásbiológiai, növekedési és termelési paramétert negatívan befolyásol. Lehetőség van a tartástechnológia fejlesztésére, akár a takarmányozás, akár az elhelyezés tekintetében, azonban ezek az alternatívák végesek. Szükségessé vált az állatállomány alkalmazkodó képességének segítése és javítása. Az ipari körülmények között zajló termelés a házasítástól eljutott az egy-egy adott tulajdonságra célzottan történő tenyésztésig. Azonban ez számos értékes genetikai információ elvesztéshez vezetett, ami értékes fajták eltűnését eredményezte.

A technológia- és kutatásfejlesztés előrehaladtával elérhetővé vált genetikai vizsgálatok végzése. Olyan információk tárultak fel, amelyek célzottan képesek támogatni a baromfik adaptációs képességének javítását az által, hogy fel tudtuk térképezni a háttérben zajló molekuláris útvonalakat, valamint házityúk esetében megvalósíthatóvá vált a genetikai anyag hosszú idejű megőrzése a primordiális ősvarsejt tenyészetek létrehozásával. Ezen két problémakörre adhat megoldását a PGC tenyészetek alkalmazása a kutatásokban, lehetőség nyílt hőtűrő fajták előállítására és megőrzésére.

A házityúk adaptációs képessége hőkondicionálással javítható, amit molekuláris biológiai vizsgálatokkal nyert adatokkal is alá tudunk támasztani. Lehetőség van közvetlenül a kezeléseken átesett állomány tanulmányozására, azok szöveteiből kinyert DNS és RNS alapú tesztek elvégzésével, valamint ezen állatok utód generációjából alapított PGC-k DNS és RNS mintáinak vizsgálatára is.

Kutatásaim során elvégeztem a hőkondicionálási kísérletből származó házityúk agyszöveti minták elemzését. Szakirodalomban leírt hőstressz kapcsolt markerek expresszióját térképeztem fel a kutatócsoportunk által beállított kísérleti paraméterek mellett. Eredményeim alapján az általunk alkalmazott hőkondicionálás

minden marker esetében emelkedést mutatott a kontrollhoz képest, ami ivarérett korban a HSF1 és miR-138-5P esetében szignifikáns volt.

Továbbiakban megkezdtem a hőkezelt és hőstresszelt házityúk utód generációjából alapított PGC-k karakterizálását, amely segíti a genetikai anyag megőrzéséhez szükséges génbank létrehozását. Ezt követően pedig ezen PGC-tenyészeteket, mint modell rendszert alkalmaztam a hőstresszel kapcsolt markerek vizsgálatára. Eredményeim segíthetik a PGC-tenyésztés és hosszútávú tárolásának optimalizálását. Míg az RNS szekvenálással, DNS metilációs mintázat elemzéssel és qPCR tesztekkel kapott adatok kiértékelésével és szakirodalommal való ok-okozati összefüggések meghatározásával járulhatok hozzá az adaptációs képességet eredményező jelátviteli útvonalak feltárásához. Kimutattam, hogy a miR-92-3P expressziójára is hatással van a hőstressz, ami igazolja a folyamatban való jelenlétét. A miR-138-5P expressziója összhangban van a szöveti mintákban kapott eredményekkel. Mindkét miRNS-nek target helye van a RUNX2 génen, amelyről már beigazolódt, hogy szerepe van a hőstressz indukálta útvonalakban, illetve az RNS szekvenálás során az általam vizsgált PGC RNS-ekben is kimutatható expressziós szintkülönbség jellemzi. Igazoltam a DMRT1 gén részvételét a hőstressz indukálta jelátviteli útvonalakban, ezen gén esetében is kimutattam expressziós szint változást hőkezelést követően. Korábbi adatok szerint pedig a miR-138-5P és miR6545 targettálja a DMRT1-et, amelyek expressziós szint változása is beigazolódt az RNS szekvenálás és qPCR vizsgálatok során.

Munkám során nyert információkkal (akár közvetlenül a kezelt állatokból, akár közvetve az utód generációból) megerősítettem a házityúk esetében alkalmazható hőkondicionálás hatásosságát, amelynek időzítése fiatal korban a legoptimálisabb. Eredményeim segíthetik a gazdasági termelés hatékony működését klímaváltozás idejében, illetve a hazai házityúk génbank bővítését.

SUMMARY

The importance of poultry farming can also be measured in global terms, which shows an increasing trend every year. Economic production meeting the increased global consumption of poultry meat is becoming more and more difficult due to the increased environmental temperature generated by global warming. Heat stress negatively affects all reproductive, growth and production parameters. It is possible to improve husbandry technology, either in terms of feeding or housing, but these alternatives are finite. It has become necessary to help and improve the adaptability of livestock. Production under industrial conditions has progressed from domestication to targeted breeding for specific traits. However, this contributed to the loss of valuable genetic material, which led to the disappearance of breeds.

As technology and research progressed, it became possible to carry out tests at the genetic level. Information was revealed that can support the improvement of the adaptability of poultry by being able to map the molecular pathways taking place in the background, and in the case of domestic fowls, the long-term preservation of genetic material can be achieved with the existence of primordial germ cell cultures. The use of PGC cultures in research can solve

these two problems. Therefore, creating varieties resistant to heat stress while preserving genetic material.

The adaptability of domestic hens can be improved by heat conditioning, which we can also support with data obtained from molecular biological tests. It is possible to directly study the flock that has undergone the treatments, by carrying out tests based on DNA and RNA extracted from their tissues, as well as to examine the DNA and RNA samples of PGCs established from the offspring of these animals.

During my research, I analyzed the brain tissue samples of domestic hens from the heat conditioning experiment. It maps the expression of heat stress linked markers described in the literature in addition to the experimental parameters set by our research group. Based on my results, the heat conditioning we used showed an increase for all markers compared to the control, which was significant for HSF1 and miR-138- 5P at puberty.

Furthermore, I started the characterization of PGCs established from the offspring generation of heat-treated and heat-stressed domestic chickens, which helps to create the gene bank necessary for the preservation of genetic material. After that, I used these PGC cultures as a model system for the examination of heat stress-related markers. My results can help to optimize the cultivation and long-term storage of PGC. While by evaluating the data obtained by RNA sequencing, DNA methylation pattern analysis and qPCR tests and by determining the cause and effect relationships with the literature, I can contribute to the discovery of the signalling pathways resulting in the ability to adapt. I showed that the expression of miR-92-3P is also affected by heat stress, which confirms its presence in the process. The expression of miR-138-5P is consistent with the results obtained in tissue samples. Both miRNAs have a target site on the RUNX2 gene, which has already been confirmed to play a role in pathways induced by heat stress and is characterized by the difference in expression levels that can also be detected in the PGC RNAs I examined during RNA sequencing. I also confirmed the participation of the DMRT1 gene, and I also showed a change in the expression level of this gene after treatment. According to previous data, miR-138-5P and miR6545 target DMRT1, whose expression level changes were also confirmed during RNA sequencing and qPCR tests.

With the information obtained during my work (either directly from the treated animals or indirectly from the next generation), I confirmed the effectiveness of heat conditioning for domestic hens, the timing of which is most optimal at a young age. My results can help the efficient operation of economic production in times of climate change, as well as the expansion of the gene bank of domestic chickens.

Forrás (source): https://phd.mater.uni-mate.hu/291/1/TSZN_Vegleges_Disszertacio_DOI.pdf