

ZAŁĄCZNIK II
AUTOREFERAT
(OPIS DOROBKU I OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH)

DR MARIA OCZKOWICZ

DZIAŁ GENOMIKI I BIOLOGII MOLEKULARNEJ ZWIERZĄT
INSTYTUT ZOOTECHNIKI PIB
W KRAKOWIE
ul. Sarego 2
31-047 Kraków
Tel. 666 081 109
e-mail: maria.oczkowicz@izoo.krakow.pl

KRAKÓW 2015

1. Dane personalne

Imię i nazwisko: Maria Oczkowicz
Data urodzenia: 07.03.1979
Miejsce urodzenia: Katowice

Miejsce pracy: Instytut Zootechniki PIB
ul. Sarego 2
31-047 Kraków

Dane kontaktowe: Instytut Zootechniki PIB
ul. Krakowska 1
32-083 Balice
Tel. 666 081 109
e-mail: maria.oczkowicz@izoo.krakow.pl

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

09.09.2002 Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, specjalność biotechnologia roślin i mikroorganizmów- stopień magistra- praca magisterska pt. „Analiza anatomiczna i cytogenetyczna wątrobowca *Pellia borealis*” promotor: prof. dr hab. Jolanta Małuszyńska

28.09.2006 Instytut Zootechniki w Krakowie, stopień doktora nauk rolniczych – praca doktorska pt. „Polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych DNA, sprzężonych z genem insulinopodobnego czynnika wzrostu II (*IGF2*) oraz ich związek z mięsnością świń” promotor: prof. dr hab. Barbara Rejduch

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

od 01.07.2006 adiunkt w Dziale Genetyki i Hodowli Zwierząt w Instytucie Zootechniki PIB

od 01.07.2011 adiunkt w Samodzielnej Pracowni Genomiki (obecnie Dział Genomiki i Biologii Molekularnej Zwierząt) w Instytucie Zootechniki PIB

4. WSKAZANIE OSIĄGNIĘCIA STANOWIĄCEGO PODSTAWĘ POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO

Osiągnięciem naukowym wynikającym z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) jest jednotematyczny cykl publikacji naukowych pt. **„Analiza polimorfizmu i ekspresji wybranych genów podlegających piętnowaniu gametycznemu u świń w aspekcie kształtowania cech związanych z użytkowością zwierząt”**

Publikacje wchodzące w skład rozprawy habilitacyjnej:

A1. Oczkowicz M., Piestrzyńska-Kajtoch A., Ropka-Molik K., Rejduch B., Eckert R., 2012. Expression and imprinting analysis of the *NESP55* gene in pigs. *Gene Expression Patterns* 12, 18-23 (**IF=1,967; MNiSW=20; cytowania=7**)

Indywidualny wkład (75%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, wiodący udział w planowaniu doświadczeń, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja DNA, RNA, reakcje PCR, sekwencjonowanie, wiodący udział w analizie uzyskanych wyników, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

A2. Oczkowicz M., Mucha A., Tyra M., Ropka-Molik K., Piórkowska K. 2012. Lack of the Associations of the Polymorphisms in *IGF2*, *MC4R* and *GNAS* Genes with Reproduction Traits in Pigs and Imprinting Analysis of *IGF2* Gene in Ovary and Cornus Uteri. *Reproduction in Domestic Animals* 48, 562-568 (**IF=1,823; MNiSW=30**)

Indywidualny wkład (70%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, planowanie doświadczeń, projektowanie starterów, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja DNA i RNA, reakcje PCR-RFLP, sekwencjonowanie, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

A3. Oczkowicz M., Ropka-Molik K., Tyra M. Analysis of the associations between polymorphisms in *GNAS* complex locus and growth, carcass and meat quality traits in pigs. *Molecular Biology Reports* 40, 6419-27 (**IF=2,506; MNiSW=15; cytowania=1**)

Indywidualny wkład (80%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, planowanie doświadczeń, projektowanie starterów, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja DNA, reakcje PCR, sekwencjonowanie, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

A4. Oczkowicz M., Piestrzyńska-Kajtoch A., Ropka-Molik K 2015. Guanine nucleotide binding protein (*GNAS* complex locus) gene produces biallelically expressed and paternally expressed transcripts in pigs. *Annals of Animal Science* (**IF=0,41(2013); MNiSW=20 (2014)**)

Indywidualny wkład (75%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, planowanie doświadczeń, projektowanie starterów, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja DNA, RNA, reakcje PCR, sekwencjonowanie, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

A5. Oczkowicz M., Piórkowska K., Piestrzyńska-Kajtoch A., Rejduch B., Różycki M., 2010, Expression of *DLK1* and *MEG3* genes in porcine tissues during postnatal development *Genetics and Molecular Biology*, 33, 790-794 **IF=0,899; MNiSW=15; cytowania=2**

Indywidualny wkład (75%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, planowanie doświadczeń, projektowanie starterów, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja , RNA, reakcje real-Time PCR, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

A6. Oczkowicz M., Ropka-Molik K., Piórkowska K., Różycki M., Rejduch B., 2011, Frequency of *DLK1* c.639C>T polymorphism and the analysis of *MEG3/DLK1/PEG11* cluster expression in muscle of swine raised in Poland. *Meat Science* 88, 627-630 **IF=3,04; MNiSW=40; cytowania=1**
Indywidualny wkład (75%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, planowanie doświadczeń, projektowanie starterów, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja DNA, RNA, reakcje Real-Time PCR, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

A7. Oczkowicz M., Tyra M., Ropka-Molik K., Mucha A., Żukowski K., 2012. Effect of *IGF2* intron3-g.3072G>A on intramuscular fat (IMF) content in pigs raised in Poland *Livestock Science* 149, 301-304. **IF=1,249; MNiSW=30; cytowania=3**
Indywidualny wkład (75%): pomysłodawca koncepcji przeprowadzenia badań, planowanie doświadczeń, projektowanie starterów, udział w pracach laboratoryjnych: izolacja DNA, reakcje Real-Time PCR, sformułowanie wniosków, przygotowanie manuskryptu

Łącznie: IF=11,88; MNiSW=170; cytowania=14

Oświadczenia współautorów wyżej wymienionych prac wraz z określeniem ich indywidualnego wkładu stanowi załącznik nr 8.

SYNTETYCZNE OMÓWIENIE PUBLIKACJI WCHODZĄCYCH W SKŁAD ROZPRAWY

Piętnowanie gametyczne – imprinting to zjawisko polegające na niejednakowej ekspresji alleli rodzicielskich w potomstwie. Kiedy ekspresji ulega allel ojcowski mówimy o piętnowaniu matczynym, natomiast gdy aktywny jest allel matczyny, o piętnowaniu ojcowskim. Fenomen ten wydaje się być niekorzystny dla gatunku z punktu widzenia ewolucji, ponieważ naraża organizm na ujawnienie się szkodliwych recesywnych mutacji.

W 1991 roku powstała teoria, która tłumaczy zjawisko imprintingu jako efekt konkurencji pomiędzy rodzicami o zasoby energetyczne przekazywane potomstwu (Moore i Haig, 1991). W interesie matki leży minimalny przepływ substancji odżywczych z jej ciała do płodu, tak aby zachować ich jak najwięcej dla kolejnego potomstwa. W związku z tym, że większość gatunków ssaków jest poligamiczna, w interesie ojca leży maksymalny przepływ substancji odżywczych z organizmu matki do płodu, ponieważ najprawdopodobniej, kolejne potomstwo pochodzić będzie od innego ojca. Istnieje wiele dowodów na poparcie tej teorii. Większość genów podlegających imprintingowi koduje substancje odgrywające ważną rolę w rozwoju płodu i łożyska. Najlepszym przykładem jest tu gen *IGF2* kodujący insulinopodobny czynnik wzrostu II. Produkt tego genu stymuluje rozwój łożyska i płodu. W potomstwie aktywny jest jedynie allel ojcowski (De Chiara et. al., 1991).

Aktualnie zidentyfikowanych jest około 100 genów podlegających imprintingowi u różnych gatunków ssaków (<http://www.geneimprint.com/site/home>). U człowieka, zaburzenia imprintingu wywołują poważne zespoły chorobowe np. zespół Prader - Williego, zespół Angelmana, zespół Beckwith-Wilsona i w tym aspekcie zjawisko to jest najszerzej badane. Z kolei u zwierząt gospodarskich, geny piętnowane są genami kandydującymi do miana genów głównych związanych z różnymi cechami użytkowości tucznej, rzeźnej i rozplodowej. Zjawisko imprintingu występuje również u roślin okrytonasiennych, co ciekawe, geny imprintingowane ulegają ekspresji w endospermie – tkance odżywczej zarodka roślinnego.

U zwierząt gospodarskich zjawisko piętnowania gametycznego badane jest głównie pod kątem wykorzystania imprintingowanych genów jako markerów w selekcji pośredniej - Marker Assisted Selection (MAS). Badania te dotyczą trzech głównych obszarów: identyfikacja piętnowanych QTL (Quantitative Trait loci), weryfikacja konserwatywności piętnowania (ocena sposobu ekspresji w genomie zwierząt gospodarskich genów o których wiadomo, że podlegają imprintingowi u człowieka i myszy), ustalenie asocjacji pomiędzy konkretnym loci a daną cechą użytkową w różnych populacjach oraz wyjaśnienie molekularnego podłoża zaistnienia określonej asocjacji. Po raz pierwszy analiza QTL u świni z zastosowaniem metod statystycznych umożliwiających identyfikację loci podlegających piętnowaniu gametycznemu przeprowadzona została w 1998 roku (Knott et. al., 1998). Zidentyfikowano wtedy QTL podlegające piętnowaniu rodzicielskiemu na chromosomie 4, wpływające na grubość tłuszczu brzuszego. Niedługo potem zidentyfikowano QTL podlegające piętnowaniu matczynemu w telomerowym odcinku chromosomu 2 w dwóch niezależnych krzyżowaniach. Nezer i inni (1999) zidentyfikowali QTL wpływające na mięsność i odkładanie się tłuszczu po skrzyżowaniu świni ras Pietrain z Wielką Białą, natomiast Jeon i inni w tym samym rejonie zmapowali QTL wpływające na masę mięśniową i masę serca po skrzyżowaniu świń ras Wielkiej Białej z dzikiem (Jeon i inni, 1999). Rok później De Konning i inni (2000) przeprowadzili skanowanie całego genomu po skrzyżowaniu świń Meischan z Duńskim Landrasem, w wyniku którego wykryli 4 QTL podlegające piętnowaniu gametycznemu. Eksperyment ten podkreślił ważną rolę imprintingu w kształtowaniu cech użytkowości świń, dzięki czemu aktualnie większość podobnych eksperymentów rozróżnia QTL dziedziczone mendlowsko od dziedziczonych zgodnie z piętnowaniem matczynym i ojcowskim.

W ostatnich badaniach przeprowadzonych po skrzyżowaniu świń rasy Meishen, Pietrain i dzika spośród 44 zidentyfikowanych QTL, 12 dziedziczyło się zgodnie z piętnowaniem rodzicielskim (Ruckert i Bennewitz, 2011). Wagę stosowania odpowiednich metod statystycznych podkreśliło również porównanie wyników analiz symulowanych danych QTL, przeprowadzonych przez różne zespoły, w ramach XIV konferencji QTLMAS (Mucha i inni, 2011). Wykazano, że QTL o dużym efekcie, podlegające piętnowaniu gametycznemu mogą pozostać nie wykryte przy zastosowaniu klasycznych metod.

IGF2- gen insulinopodobnego czynnika wzrostu II jest pierwszym i jak dotąd jedynym imprintingowanym genem o dużym efekcie w genomie świni. Ze względu na swoje położenie na chromosomie, jak również na specyficzny sposób dziedziczenia, gen ten wskazany został jako gen kandydujący, po identyfikacji piętnowanego QTL w telomerowej części chromosomu 2 (Jeon i inni, 1999, Nezer i inni, 1999). Po zsekwencjonowaniu 28,6 kbp DNA obejmujące kluster *INS-IGF2-TH*, wykazano, że mutacją przyczynową jest pojedyncza zamiana typu SNP (Single Nucleotide Polymorphism) w intronie 3 genu *IGF2*. Mutacja ta (*IGF2* intron3- G > A 3072) najprawdopodobniej zmienia powinowactwo represora do DNA, co wpływa na poziom ekspresji mRNA w mięśniach (Van Laere i inni, 2003). Wpływ mutacji *IGF2* intron3- g.3072 G > A na miękkość i otłuszczenie świń był analizowany w wielu różnych populacjach i rasach świń. Wyniki wszystkich analiz jednoznacznie potwierdzają istotny efekt tego polimorfizmu na grubość słoniny, procentową zawartość mięsa w tuszy, czy masę szynki (Estelle i inni, 2005, Oczkiewicz i inni, 2009, Fontanesi i inni, 2010, Burgos i inni, 2011). W niektórych populacjach obserwowano również istotne asocjacje z cechami tucznymi (Oczkiewicz i inni, 2009, Fontanesi i inni, 2010, Burgos i inni, 2011). Kwestią wymagającą dalszych badań jest wpływ mutacji *IGF2* intron3- G > A 3072 na zawartość tłuszczu śródmięśniowego - Intramuscular Fat (IMF), cechy jakości mięsa i cechy rozplodowe, ponieważ przeprowadzone dotąd badania dają niejednoznaczne wyniki. W badaniach przeprowadzonych na polskich rasach świń (PBZ- Polska Biała Zwisłoucha, WBP- Wielka Biała Polska, puławska - Pu) obserwowano istotny dodatni efekt allelu G mutacji *IGF2* intron3- g.3072 G > A na zawartość IMF, jednak nie stwierdzono asocjacji z pH i wodochłonnością mięsa. (A7 Oczkiewicz i inni, 2012). Z kolei w hiszpańskich badaniach przeprowadzonych na świnich pochodzących z krzyżowania Landrasu, Wielkiej Białej i Duroca nie stwierdzono istotnych asocjacji z pH a jedynie z jednym z parametrów barwy (Burgos i inni, 2011) Stwierdzono natomiast, że allel A korzystnie wpływa na zawartość IMF w mięśniach najdłuższym połędwicy, przeciwnie do wyników analiz przeprowadzonych na polskich rasach świń. Ponadto, badania przeprowadzone na rasach Pietrain, Duroc i Wielkiej Białej wykazały, że wyższa ekspresja genu *IGF2* w mięśniach związana jest z większą zawartością IMF (Aslan i inni, 2011). W badaniach tych zidentyfikowano trzy nowe polimorfizmy zlokalizowane w regionie promotorowym genu *IGF2*, prawdopodobnie sprzężone z *IGF2* intron3- g.3072 G > A. Stwierdzono, że jeden z haplotypów (sprzężony z allelem A *IGF2* intron3- g.3072 G > A) związany jest z wyższą zawartością IMF (Aslan i inni, 2011). Aktualny stan badań wskazuje na potrzebę kolejnych eksperymentów, które pozwoliłyby jednoznacznie określić związek mutacji *IGF2* intron3- g.3072 G > A z cechami jakości mięsa, przed wykorzystaniem tej mutacji jako markera do selekcji pośredniej.

Bardzo podobnie kształtują się wyniki analiz dotyczących efektu *IGF2* intron3- g.3072 G > A na cechy rozplodowe. Przy zastosowaniu modelu piętnowania matczyngo, Munoz i inni (2010) wykryli istotny korzystny efekt allelu A *IGF2* intron3- g.3072 G > A na ilość prosiąt urodzonych w późnych miotach (3+). Zależność ta nie była widoczna w miotach 1i 2. Z kolei Buys i inni 2006 obserwowali korzystny efekt allelu G na ilość prosiąt w miocie. Istotny wpływ innych polimorfizmów w genie *IGF2* obserwowany był również w polskich i czeskich rasach świń (Kątska-Książkiewicz i inni, 2006, Horak i inni, 2001). Badania przeprowadzone przez nasz zespół

na 460 osobnikach ras WBP i PBZ nie wykazały żadnych zależności pomiędzy polimorfizmem *IGF2* intron3- g.3072 G > A a cechami rozplodowymi zebranymi z czterech kolejnych miotów (A2 Oczkowicz i inni, 2012). Poza polimorfizmem w genie *IGF2* analizowano również polimorfizmy w genie *MC4R* oraz *GNAS* complex locus jednak dla żadnego z nich nie stwierdziliśmy asocjacji z badanymi cechami. W badaniach zastosowaliśmy złożony model statystyczny uwzględniający wiele czynników, co mogło w pewien sposób podwyższyć próg wykrywalności różnic statystycznie istotnych, nie mniej jednak nasze badania nie potwierdziły wpływu polimorfizmu *IGF2* intron3- g.3072 G > A na cechy rozplodowe u świń. W badaniach, stwierdziliśmy również, że gen *IGF2* podlega piętnowaniu gametycznemu w układzie rozrodczym świni (A2 Oczkowicz i inni, 2012). Zarówno w jajniku jak i w rogu macicy obserwowano monoalleliczną ekspresję tego genu, co jest cenną informacją w związku z ewentualnym wykorzystaniem polimorfizmu *IGF2* intron3- g.3072 G > A w selekcji.

IGF2 należy do genów, których imprinting jest tkankowo specyficzny i zależny od fazy rozwojowej osobnika. Po raz pierwszy piętnowanie tego genu u świń badali Nezer i inni (1999). Stwierdzili, że w cDNA wątroby i mięśnia płodu obecny jest tylko ojcowski allel. W mięśniu dorosłych osobników imprinting jest zachowany, natomiast w wątrobie występuje bialleliczna ekspresja genu *IGF2*. Kolejne badania potwierdziły te obserwacje (Van Laere i inni, 2003, Wrzeska i inni, 2006), ponadto zaobserwowano, że w mózgu dorosłych osobników imprinting zanika podobnie jak w wątrobie (Wrzeska i inni, 2006). Li i inni (2008) przeprowadzili analizę różnych izoform genu *IGF2*, stwierdzili, że transkrypty pochodzące z promotora 1 ulegają biallelicznej ekspresji, natomiast transkrypty pochodzące z promotorów 2-4 podlegają piętnowaniu matczynemu. W większości tkanek przeważa ekspresja z promotorów 2-4, prawdopodobnie w wątrobie i mózgu znaczny udział mają izoformy pochodzące z promotora 1. Kolejne badania dowodzą, że utrata imprintingu w mniejszym stopniu dotyczy również innych tkanek dorosłych osobników (Braunschweig i inni, 2011). W oparciu o analizę powierzchni pików uzyskanych po rozdzieleniu w sekwenatorze kapilarnym mikrosatelity *SWC9* stwierdzono obecność niewielkiej ilości transkryptu matczynego również w mięśniu i nerce dorosłych świń. (Braunschweig i inni, 2011).

Z kolei, Callipyge to nazwa charakterystycznego fenotypu, charakteryzującego się wybitnym rozrostem tkanki mięśniowej w okolicy zadniej u owiec. Fenotyp ten pojawił się u potomków tryka „Solid Gold”, który cechował się wybitnym umięśnieniem, jednak cechą tą przekazywał jedynie na 15% swojego potomstwa. Po serii krzyżowań i sekwencjonowaniu odpowiedniego regionu zidentyfikowano mutację przyczynową (*CLPG*) w regionie międzygenowym pomiędzy genami *DLK1* (Dorosophilia homolog like 1) i *MEG3* (Maternally Expressed gene 3) (Freking 2002). Stwierdzono również, że fenotyp callipyge ujawnia się tylko u tych osobników, które zmutowany allel otrzymają od ojca a allel dziki od matki. Zwierzęta o pozostałych genotypach mają normalny fenotyp. Ten charakterystyczny sposób dziedziczenia nazwano polarną naddominacją (ang. polar overdominance). Geny *DLK1* i *MEG3* ulegają piętnowaniu gametycznemu, podobnie jak inne sąsiadujące geny: *PEG11* (Paternally Expressed Gene 11) i *MEG8* (Maternally Expressed gene 8) (Charlier i inni, 2001). Na podstawie analizy ekspresji genów zlokalizowanych w sąsiedztwie mutacji w mięśniu zwierząt o różnych genotypach zaproponowano teorię tłumaczącą molekularny mechanizm powstawania fenotypu „callipyge” (Chartier 2001). Zakłada on, że mutacja *CLPG* zmienia ekspresję sąsiadujących, piętnowanych genów. Gdy mutacja znajduje się na chromosomie ojcowskim ekspresja genów podlegających piętnowaniu matczynemu zwiększa się (*DLK1*, *PEG11*), natomiast gdy mutacja znajduje się na chromosomie matczynym, zwiększa się ekspresja genów ulegających piętnowaniu ojcowskiemu (*MEG3*, *MEG8*). Fenotyp callipyge powstaje gdy transkrypty z chromosomu ojcowskiego ulegają

silnej ekspresji, przy równocześnie niskim poziomie transkryptów pochodzących z matczynego chromosomu (genotypu *CLPG^{pat}/N^{mat}*), praca przeglądowa (Oczkowicz, 2009). Spektakularny efekt mutacji *CLPG* sprawił, że zaczęto poszukiwać podobnej mutacji w genomach innych zwierząt gospodarskich. W genomie świni nie znaleziono mutacji w homologicznym rejonie, zidentyfikowano jednak mutację typu SNP (*DLK1* c.639C>T) w części kodującej genu *DLK1*, która to dziedziczyła się w sposób zgodny z modelem polarnej naddominacji i wpływała na otluszczenie i przyrosty świń (Kim i inni, 2002). Ta obserwacja została potwierdzona analizą QTL, ustalono również, że *DLK1* podlega piętnowaniu matczynemu a *MEG3* ojcowskiemu u świń, podobnie jak u innych gatunków ssaków (Li i inni, 2008). Molekularny mechanizm efektu tej mutacji jest trudny do wytłumaczenia, ponieważ mutacja ta nie zmienia sekwencji aminokwasów, nie leży też w części regulatorowej genu. Niemniej jednak podjęto próbę oceny jej wpływu na poziom ekspresji w mięśni genów *DLK1* i sąsiadujących *MEG3* i *PEG11* (A6 Oczkowicz i inni, 2011). Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy osobnikami o genotypach C/C i T/T w poziomie ekspresji żadnego z badanych genów. Sugeruje to, że mutacja *DLK1* c.639C>T nie jest mutacją przyczynową odpowiedzialną za zmieniony fenotyp. W celu sprawnego oznaczenia frekwencji genotypów w mutacji *DLK1* c.639C>T w polskich rasach świń opracowano metodę opartą o Real-Time alleli discrimination. Metodą tą zgenotypowano 402 zwierzęta należące do ras WBP, PBZ, Pietrain, Puławska i Duroc. Frekwencja alleli *DLK1* c.639C>T kształtowała się odmiennie w poszczególnych rasach, co sugeruje, że mutacja ta może mieć związek z cechami użytkowości świń. Najprawdopodobniej, mutacja *DLK1* c.639C>T sprzężona jest z innym, dotychczas niezidentyfikowanym polimorfizmem zlokalizowanym w obrębie klasteru genów *DLK1/MEG3/PEG11*.

Spośród genów mieszczących się w klastrze „callipyge”, geny *MEG3* i *MEG8* kodują RNA, nieprzepisywane na białko, natomiast *DLK1* i *PEG11* kodują białka o stosunkowo słabo poznanej roli. *DLK1* jest śródbłonowym białkiem sygnałnym, którego jedną z funkcji jest utrzymywanie preadipocytów w stanie niezróżnicowanym. Przypuszcza się, że nadekspresja tego białka umożliwia nadmierny rozrost tkanki mięśniowej u owiec „callipyge”. U świń, stwierdzono, że imprinting genów *DLK1/MEG3/PEG11* jest konserwatywny tzn. w mięśni i tkance tłuszczowej ekspresji ulega ojcowski allel genu *DLK1* i *PEG11* oraz matczyny allel genu *MEG3* (Li i inni, 2008, Jiang i Yang, 2009, Yang i inni, 2009), jednak ich funkcja i ekspresja jest słabo poznana, dlatego przeprowadzono ilościową analizę metodą Real-Time PCR ekspresji genów *DLK1* i *MEG3* tkankach świni na różnych etapach rozwoju postnatalnego. Analizie poddano dwa warianty genu *MEG3*, stwierdzono, że jeden z nich (wariant 2) występuje w największej ilości w mięśni i sercu, natomiast wariant 1 genu *MEG3* i gen *DLK1* przeważa w tkance mózgowej. Ponadto zaobserwowano silny spadek poziomu ekspresji badanych genów w trakcie rozwoju osobniczego we wszystkich tkankach za wyjątkiem mózgu. Wskazywać to może na odmienną funkcję tych genów w tkance mózgowej (A5 Oczkowicz i inni, 2010).

Kolejny gen - *GNAS* complex locus jest uważany za najbardziej skomplikowany gen w genomie ssaków. U człowieka znanych jest około 30 różnych wariantów transkrypcyjnych tego genu. U świń dotychczas zidentyfikowanych jest 7 transkryptów, jednak w bazie vegaensembl (<http://vega.sanger.ac.uk/>) przewidywane są 22 różne warianty splajsingowe. Mutacje w ludzkim genie *GNAS* powodują powstawanie ciężkich zaburzeń endokrynologicznych (zespół McCune-Albrighta), gdzie jednym z objawów jest otyłość. Zidentyfikowano również szereg mutacji typu SNP w genie *GNAS* u bydła, które wpływają na pokrój ciała i cechy rozplodowe (Sikora i inni, 2011). U człowieka, myszy i bydła transkrypty genu *GNAS* podlegają piętnowaniu gametycznemu. Piętnowanie to jest różne dla różnych wariantów, zaobserwowano też odmienne piętnowanie w poszczególnych tkankach. U świń gen ten jest dotychczas słabo poznany. W celu identyfikacji

polimorfizmów przydatnych do analizy imprintingu genu *GNAS* tkankach świni, zastosowano przesiewową technikę PCR-SSCP. Metodą tą zidentyfikowano 12 nukleotydowa delecję w części kodującej jednego z wariantów genu *GNAS* – *NESP55*, którą zdeponowano w bazie NCBI dbSNP (numer akcesyjny: rs196955709). Delecja ta powodowała wypadnięcie 4 aminokwasów z łańcucha polipeptydowego i występowała wyłącznie w postaci heterozygotycznej, co sugeruje, że w formie homozygotycznej może być letalna. Zwierzęta będące nosicielami tej delecji miały normalny fenotyp. Po zsekwencjonowaniu cDNA pochodzącego z tkanek heterozygotycznych osobników stwierdzono, że we wszystkich badanych próbkach (mięsień, wątroba, pień mózgu, serce) obecny jest tylko allel z 12 nukleotydową delecją. Sekwencjonowanie DNA ojca heterozygotycznych osobników dowiodło, że allel w cDNA pochodzi od matki, ponieważ ojciec był homozygotą pozbawioną mutacji (A1 Oczkowicz i inni, 2012). Przeprowadzone badania pokazały, że u świń gen *NESP55* podlega piętnowaniu ojcowskiemu, podobnie jak u myszy, bydła i człowieka. Analiza ekspresji transkryptu *NESP55* w różnych tkankach świni wykazała, że gen ten ulega silnej ekspresji w centralnym układzie nerwowym (przysadka, pień mózgu, śródmózgowie, kora) i nieco słabszej w mięśni, jadrach i nerce. Badaniami objęto również pozostałe transkrypty *GNAS* complex locus w celu sprawdzenia czy u świń, podobnie jak u myszy obecne są transkrypty pochodzące wyłącznie z allelu ojcowskiego i transkrypty o biallelicznej ekspresji. Zaprojektowano startery do reakcji PCR i sekwencjonowania tak aby amplifikowały tylko wybrane transkrypty i w oparciu o mutację SNP *GNAS* g.314T<324C przeanalizowano ekspresję alleli w genie *GNAS* w szeregu tkanek w różnych okresach rozwojowych świni. Wykazano, że wzór imprintingu pokrywa się z tym obserwowanym u myszy tzn. część transkryptów ulega ekspresji tylko z ojcowskiego allelu a część transkryptów ulega biallelicznej ekspresji (A4 Oczkowicz i inni 2015).

W obrębie genu *GNAS* zidentyfikowano jeszcze kilka nowych mutacji, z których najciekawszą była sekwencja mikrosatelitarna - rs196952953. Po analizie sprzężeń w programie Arlequin okazało się, że mutacja ta sprzężona jest z inną, wcześniej zidentyfikowaną mutacją SNP *GNAS* g.314T<324C (Stratil i inni, 2008). Przeprowadzono analizę asocjacji tego polimorfizmu z cechami użytkowości rozplodowej świń i stwierdzono, że nie wpływa on na cechy rozplodowe (A2 Oczkowicz i inni, 2012), jednak jest wysoce istotnie skorelowana z cechami użytkowości tucznej i rzeźnej (A3 Oczkowicz i inni, 2013)

PODSUMOWANIE BADAŃ

Gen *IGF2* jest pierwszym genem podlegającym piętnowaniu gametycznemu, który istotnie wpływa na cechy użytkowości świń. Badania dowodzą, że inne imprintingowane geny jak *DLK1/MEG3/PEG11* czy *GNAS complex locus* są ważnymi kandydatami do miana genów głównych, odpowiedzialnych za ekonomicznie istotne cechy zwierząt. Konieczne są jednak dalsze badania w celu identyfikacji nowych polimorfizmów w tych genach i zrozumienia molekularnego podłoża ich asocjacji z cechami fenotypowymi. Przeprowadzone badania obejmowały trzy loci podlegające piętnowaniu gametycznemu: *IGF2*, locus *callipyge* oraz *GNAS complex locus*. W ich wyniku wykazano, że polimorfizm *IGF2* intron3- g.3072 G > A istotnie wpływa na zawartość tłuszczu śródmięśniowego (IMF), jednak nie wpływa na cechy użytkowości rozplodowej w badanych populacjach świń. Podobnie jak w kilku innych tkankach, gen *IGF2* podlega piętnowaniu gametycznemu w układzie rozrodczym świni. Stwierdzono również, że frekwencja alleli polimorfizmu *DLK1* c.639C>T w różnych rasach świń wskazuje na możliwość udziału tej mutacji w kształtowaniu cech użytkowości świń, jednak nie wpływa ona bezpośrednio na poziom ekspresji genów *DLK1* i *MEG3* w mięśni świni. Profil ekspresji genów *DLK1* i *MEG3* wskazuje na spadek poziomu ekspresji tych genów w trakcie rozwoju postnatalnego we wszystkich tkankach

za wyjątkiem mózgu, co sugeruje odmienną rolę tych genów w tkance nerwowej. Ponadto, polimorfizm w genie *GNAS* nie wpływa na użytkowość rozplodową świni, jednak jest wysoce istotnie skorelowany z cechami użytkowości tucznej i rzeźnej. Wzór imprintingu w *GNAS* complex locus odpowiada wzorowi obserwowanemu u myszy tzn. odpowiednie transkrypty ulegają piętnowaniu matczynemu, ojcowskiemu oraz biallelicznej ekspresji w szeregu przebadanych tkanek we wszystkich analizowanych stadiach rozwojowych.

CYTOWANA LITERATURA:

1. ASLAN O, HAMILL RM, DAVEY G, MCBRYAN J, MULLEN AM, GISPERT M, SWEENEY T. 2011 Variation in the IGF2 gene promoter region is associated with intramuscular fat content in porcine skeletal muscle. *Mol Biol Rep*. DOI: 10.1007/s11033-011-1192-5
2. BRAD A. FREKING, SUSAN K. MURPHY, ANDREW A. WYLIE, SIMON J. RHODES, JOHN W. KEELE, KREG A. LEYMASTER, RANDY L. JIRTLE, TIMOTHY P.L. SMITH 2002 Identification of the Single Base Change Causing the Callipyge Muscle Hypertrophy Phenotype, the Only Known Example of Polar Overdominance in Mammals. *Genome Res*. 12, 1496–1506.
3. BRAUNSCHWEIG MH, OWCZAREK-LIPSKA M, STAHLBERGER-SAITBEKOVA N. 2011 Relationship of porcine IGF2 imprinting status to DNA methylation at the H19 DMD and the IGF2 DMRs 1 and 2. *BMC Genet*. 12: 47.
4. BURGOS C, GALVE A, MORENO C, ALTARRIBA J, REINA R, GARCÍA C, LÓPEZ-BUESA P. 2012 The effects of two alleles of IGF2 on fat content in pig carcasses and pork. *Meat Sci*. 90, 309-13.
5. CHARLIER C, SEGERS K, KARIM L, SHAY T, GYAPAY G, COCKETT N, GEORGES M. 2001 The callipyge mutation enhances the expression of coregulated imprinted genes in cis without affecting their imprinting status. *Nat Genet*. 27, 367-9.
6. CHOMCZYNSKI P, SACCHI N. 1987 Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 162, 156-9.
7. DE KONING DJ, RATTINK AP, HARLIZIUS B, VAN ARENDONK JA, BRASCAMP EW, GROENEN MA. 2000 Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 97, 7947-50.
8. DECHIARA TM, ROBERTSON EJ, EFSTRATIADIS A. 1991 Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. *Cell*. 64, 849-59.
9. ESTELLÉ J, MERCADÉ A, NOGUERA JL, PÉREZ-ENCISO M, OVILO C, SÁNCHEZ A, FOLCH JM 2005 Effect of the porcine IGF2-intron3-G3072A substitution in an outbred Large White population and in an Iberian x Landrace cross. *J Anim Sci*. 83, 2723-8.
10. FONTANESI L, SPERONI C, BUTTAZZONI L, SCOTTI E, DALL'OLIO S, NANNI COSTA L, DAVOLI R, RUSSO V. 2010 The insulin-like growth factor 2 (IGF2) gene intron3-g.3072G>A polymorphism is not the only *Sus scrofa* chromosome 2p mutation affecting meat production and carcass traits in pigs: evidence from the effects of a cathepsin D (CTSD) gene polymorphism. *J Anim Sci*. 88, 2235-45.
11. HORAK, P., MIKOVA, G., URBAN, T., KNOLL, A., DVORAK, J. 2001. Association of polymorphism in the IGF2 gene with litter size in Black Pied Prestice pigs. *Czech J. Anim. Sci*. 46, 505-508.

12. JEON JT, CARLBORG O, TÖRNSTEN A, GIUFFRÀ E, AMARGER V, CHARDON P, ANDERSSON-EKLUND L, ANDERSSON K, HANSSON I, LUNDSTRÖM K, ANDERSSON L. 1999 A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus. *Nat Genet.* 21, 157-8.
13. JIANG C., YANG Z., 2010 Characterization, Imprinting Status and Tissue Distribution of Porcine GTL2 Gene. *Agricultural Sciences in China* 8, 216-222
14. KAŹSKA-KSIAŻKIEWICZ L, LECHNIAK-CIEŚLAK D, KORWIN-KOSSAKOWSKA A, ALM H, RYŃSKA B, WARZYCH E, SOSNOWSKI J, SENDER G. 2006 Genetical and biotechnological methods of utilization of female reproductive potential in mammals. *Reprod Biol.* 6 Suppl 1:21-36.
15. KIM KS, KIM JJ, DEKKERS JC, ROTHSCILD MF. 2004 Polar overdominant inheritance of a DLK1 polymorphism is associated with growth and fatness in pigs. *Mamm Genome.* 15, 552-9.
16. KNOTT SA, MARKLUND L, HALEY CS, ANDERSSON K, DAVIES W, ELLEGREN H, FREDHOLM M, HANSSON I, HOYHEIM B, LUNDSTRÖM K, MOLLER M, ANDERSSON L. 1998 Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. *Genetics* 149, 1069-80.
17. LI C, BIN Y, CURCHOE C, YANG L, FENG D, JIANG Q, O'NEILL M, TIAN XC, ZHANG S. 2008 Genetic imprinting of H19 and IGF2 in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Anim Biotechnol.* 19, 22-7.
18. Li XP, Do KT, Kim JJ, Huang J, Zhao SH, Lee Y, Rothschild MF, Lee CK, Kim KS. Molecular characteristics of the porcine DLK1 and MEG3 genes. *Anim Genet.* 2008 Apr;39(2):189-92. Epub 2008 Feb 15.
19. MOORE T, HAIG D. 1991 Genomic imprinting in mammalian development: a parental tug-of-war. *Trends Genet.* 7, 45-9. Review.
20. MUCHA S, PSZCZOŁA M, STRABEL T, WOLC A, PACZYŃSKA P, SZYDŁOWSKI M. 2011 Comparison of analyses of the QTLMAS XIV common dataset. II: QTL analysis. *BMC Proc.* 5 Suppl 3, S2.
21. MUÑOZ M, FERNÁNDEZ AI, OVILO C, MUÑOZ G, RODRIGUEZ C, FERNÁNDEZ A, ALVES E, SILIÓ L. 2010 Non-additive effects of RBP4, ESR1 and IGF2 polymorphisms on litter size at different parities in a Chinese-European porcine line. *Genet Sel Evol.* 42: 23.
22. NEZER C, MOREAU L, BROUWERS B, COPPIETERS W, DETILLEUX J, HANSET R, KARIM L, KVASZ A, LEROY P, GEORGES M. 1999 An imprinted QTL with major effect on muscle mass and fat deposition maps to the IGF2 locus in pigs. *Nat Genet.* 21, 155-6.
23. OCZKOWICZ M, PIETRZYŃSKA-KAJTOCH A, ROPKA-MOLIK K, REJDUCH B, ECKERT R. 2011 Expression and imprinting analysis of the NESP55 gene in pigs. *Gene Expr Patterns.* doi:10.1016/j.gep.2011.10.002
24. OCZKOWICZ M, PIETRZYŃSKA-KAJTOCH A, PIÓRKOWSKA K, REJDUCH B, RÓŻYCKI M. 2010 Expression of DLK1 and MEG3 genes in porcine tissues during postnatal development. *Genet Mol Biol.* 33, 790-4.
25. OCZKOWICZ M, ROPKA-MOLIK K, PIÓRKOWSKA K, RÓŻYCKI M, REJDUCH B. 2011 Frequency of DLK1 c.639C>T polymorphism and the analysis of MEG3/DLK1/PEG11 cluster expression in muscle of swine raised in Poland. *Meat Sci.* 88, 627-30

26. OCZKOWICZ M, TYRA M, WALINOWICZ K, RÓŻYCKI M, REJDUCH B. 2009 Known mutation (A3072G) in intron 3 of the IGF2 gene is associated with growth and carcass composition in Polish pig breeds. *J Appl Genet.* 50, 257-9.
27. OCZKOWICZ M. 2009 Polar overdominance – a putative molecular mechanism and the new examples in mammals *Journal of Animal and Feed Sciences*, 18, 17–27
28. RÜCKERT C, BENNEWITZ J. 2010 Joint QTL analysis of three connected F2-crosses in pigs. *Genet Sel Evol.* 42: 40.
29. SIKORA KM, MAGEE DA, BERKOWICZ EW, BERRY DP, HOWARD DJ, MULLEN MP, EVANS RD, MACHUGH DE, SPILLANE C. 2011 DNA sequence polymorphisms within the bovine guanine nucleotide-binding protein Gs subunit alpha (Gs α)-encoding (GNAS) genomic imprinting domain are associated with performance traits. *BMC Genet.* 12:4.
30. STRATIL A, KNOLL A, HORÁK P, BÍLEK K, BECHYNOVÁ R, BARTENSCHLAGER H, VAN POUCKE M, PEELMAN LJ, SVOBODOVÁ K, GELDERMANN H., 2008 Mapping of the porcine FBN2, YWHAQ, CNN3, DCN, POSTN, SPARC, RBM39 and GNAS genes, expressed in foetal skeletal muscles. *Anim Genet.* 39, 204-5.
31. VAN LAERE AS, NGUYEN M, BRAUNSCHWEIG M, NEZER C, COLLETTE C, MOREAU L, ARCHIBALD AL, HALEY CS, BUYS N, TALLY M, ANDERSSON G, GEORGES M, ANDERSSON L. 2003 A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. *Nature.* 425, 832-6.
32. WRZESKA M., A. ŻYGA, B. REJDUCH, SŁOTA E. 2006. A note on biallelic expression of the IGF2 gene in the liver and brain of adult pigs. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15, 57–60.
33. YANG Z., CHENG H., XIA Q., JIANG C., DENG C., LI Y., 2010 Imprinting analysis of RTL1 and DIO3 genes and their association with carcass traits in pigs (*Sus scrofa*), *Agricultural Sciences in China*, 8, 613-619. 44(11):1029-37.

5. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

W 2002 roku rozpoczęłam studia doktoranckie w Instytucie Zootechniki – PIB w Dziale Immuno i Cytogenetyki, gdzie rozpoczęłam badania do mojej pracy doktorskiej. Byłam głównym wykonawcą grantu promotorskiego pt. „Polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych sprzężonych z genem insulinopodobnego czynnika wzrostu II (*IGF2*) oraz ich związek z mięsnością świń. Gen *IGF2* jest jednym z pierwszych genów dla których stwierdzono obecność piętnowania gametycznego, dlatego też moje zainteresowanie tym zjawiskiem rozpoczęło się w tym okresie. Wtedy też prowadziłam badania nad wzorem imprintingu tego genu u świń w różnych tkankach i wykazałam, wraz z zespołem, że gen ten podlega biallelicznej ekspresji w wątrobie i mózgu dorosłych świń (**B2** Wrzeska i inni, 2006). Napisałam również dwie prace przeglądowe, dotyczące teorii ewolucyjnych, tłumaczących powstawanie zjawiska imprintingu, mechanizmów molekularnych oraz konsekwencji zaburzeń w prawidłowym wzorze imprintingu (**B22** Wrzeska, 2003, **B23** Wrzeska, Rejduch, 2004). Kontynuowałam także badania dotyczące asocjacji pomiędzy polimorfizmem w genie *IGF2* a cechami użytkowości tucznej i rzeźnej świń. Wykazałam wraz z zespołem, że polimorfizm *IGF2* intron3- g.3072 G > A wysoce istotnie wpływa na otluszczenie i umięśnienie tuszy świń a także na cechy tuczne (**B7** Oczkowicz i inni, 2009). Do genotypowania polimorfizmu *IGF2* intron3- g.3072 G > A zastosowaliśmy metodą Real-Time PCR allelic

discrimination, podobnie jak w przypadku polimorfizmu w genie receptora melanokortyny 4 – (Asp298Asn *MC4R*), dla którego stwierdziliśmy asocjacje z cechami tucznymi i rzeźnymi (**B12** Piórkowska i inni., 2010).

W tym czasie byłam również wykonawcą grantu pt.: „Polimorfizm wybranych genów warunkujących mięśność świń rasy wielkiej białej polskiej”, w ramach którego badałam polimorfizm w genie *GHRH* metodą PCR-RFLP (**B15** Rejduch i inni, 2007).

Po obronie doktoratu objęłam stanowisko adiunkta w Dziale Genetyki i Hodowli Zwierząt Instytutu Zootechniki PIB. Rozpoczęłam badania polimorfizmu i ekspresji genów potencjalnie wpływających na użytkowość trzody chlewnej. Byłam wykonawcą dwóch zadań w ramach projektu zamawianego: „Genomika funkcjonalna komórek mięśniowych oraz polimorfizm, sekwencji regulatorowych genów związanych z cechami ilościowymi i jakościowymi mięsa bydła i świń”. Brałam wtedy udział w opracowaniu metodyki oceny poziomu ekspresji techniką Real-Time PCR genów osi somatotropowej - *IGF1*, *IGF2*, *IGFBP3* i *IGFBP5*, genów troponiny i tropomizyny - *TPM2* i *TNNT3* oraz fibronektyny - *FN1*. Uzyskane wyniki – profile ekspresji w trakcie rozwoju postnatalnego świń, opublikowane zostały w czterech pracach oryginalnych (**B6** Natonek i inni., 2009, **B13** Rejduch i inni, 2010, **B14** Rejduch i inni 2010, **B19** Różycki i inni, 2011). W ramach projektu zamawianego ukazał się podręcznik pt. „ Genomika bydła i świń - wybrane problemy” pod red. L. Zwierchowski i M. Świtoński, w którym byłam współautorem rozdziału: „Imprinting – piętno gametyczne” (**P1** Rejduch i Oczkowicz, 2009)

Jednocześnie zostałam kierownikiem tematu statutowego „Polimorfizm i ekspresja genów zlokalizowanych w locus *CLPG* u świń” , w ramach którego prowadziłam badania będące przedmiotem niniejszej rozprawy habilitacyjnej a także napisałam pracę przeglądową dotyczącą polarnej naddominacji (**B24** Oczkowicz, 2009). W tym czasie byłam również wykonawcą grantu pt. „Ocena zmienności i ekspresji genów *PIT1*, *GHRL*, *GHRH*, *LEP* współdziałających w regulacji poziomu otluszczenia u świń”, w ramach którego analizowaliśmy stabilność różnych genów kontroli endogennej w tkance tłuszczowej oraz żołądka świni (**B8** Oczkowicz i inni, 2010, **B10** Piórkowska i inni, 2011). Porównywaliśmy również poziom ekspresji genu greliny (*GHRL*) w żołądku oraz genu leptyny (*LEP*) w tłuszczu świń należących do różnych ras. Zidentyfikowaliśmy także kilka nowych mutacji w genie *GHRL* oraz analizowaliśmy ich wpływ na poziom ekspresji tego genu (**B18** Ropka-Molik i inni, 2011). W 2010 roku zostałam kierownikiem grantu pt. „Ocena sposobu ekspresji wybranych genów podlegających piętnowaniu gametycznemu w rozwoju postnatalnym świni”, w ramach którego realizowałam badania będące przedmiotem niniejszej rozprawy habilitacyjnej. Byłam również wykonawcą grantu pt. „Poprawa użytkowości rozplodowej loch w oparciu o selekcję na markery genów odpowiedzialnych za implantację zarodków (*EGF*, *AREG* i *LIF*)”, w ramach którego wykonywałam analizy poziomu ekspresji tych genów w jajniku, jajowodach, rogu macicy i trzonie macicy u loch na różnych etapach cyklu owulacyjnego. Badaliśmy także asocjacje pomiędzy polimorfizmami w tych genach a cechami użytkowości rozplodowej loch. Wykazaliśmy, że polimorfizmy w genach *EGF*, *LIF1* i *LIF3* i *AREG* wpływają między innymi na liczbę prosiąt żywo urodzonych (**B5** Mucha i inni, 2011). Stwierdziliśmy również istotne różnice pomiędzy ekspresją genu *LIF* w różnych częściach układu rozrodczego i w różnych fazach cyklu owulacyjnego, co potwierdziło istotną rolę tego genu w przygotowaniu macicy do implantacji zarodków (**B17** Ropka-Molik i inni, 2012).

Od 2011 roku zatrudniona jestem w Samodzielnej Pracowni Genomiki i od tego czasu moje zainteresowania badawcze skupiają się głównie wokół różnic w ekspresji genów w odpowiedzi na czynniki genetyczne i środowiskowe w skali całego transkryptomu. Możliwe jest to dzięki zastosowaniu metody sekwencjonowania RNA Nowej Generacji (NGS- Next Generation Sequencing, RNA-seq). Przy zastosowaniu tej metody porównywaliśmy transkryptomy mięśnia półbłoniastego szynki (*musculus semimembranosus*) świń należących do dwóch ras o różnym stopniu umięśnienie – Pietrain i Polska Biała Zwiśloucha (PBZ). Po zastosowaniu bardzo restrykcyjnej analizy statystycznej, zidentyfikowaliśmy 35 geny o różnej ekspresji (*Differentially Expressed Genes* -DEG) pomiędzy badanymi rasami świń, na podstawie których stworzyliśmy panel nowych genów potencjalnie wpływających na cechy użytkowości świń (**B16** Ropka-Molik i inni, 2014). Uczestniczyłam również w badaniach dotyczące detekcji i identyfikacji cząstek mikroRNA (miRNA) w wątrobie świni z zastosowaniem metody RNA-seq. Na podstawie liczby uzyskanych odczytów, z wykorzystaniem programu do bioinformatycznej analizy (UEA sRNA workbench), zidentyfikowano 206 cząstek miRNA, wśród których było 68 nowych. Wśród zidentyfikowanych cząstek zaobserwowano warianty długości i polimorfizmy sekwencji, stanowiące tzw. isomiRs, jak również wykryto klastry genów kodujących miRNA. Natomiast na podstawie poziomu ekspresji określono najczęściej występujące miRNA, dla których przewidziano geny docelowe z wykorzystaniem dwóch algorytmów do predykcji a także określono ścieżki biologiczne, w których mogą brać udział. Przeprowadzone badania są pierwszymi, które miały na celu określenie profilu miRNA ekspresjonowanych w wątrobie świni, z wykorzystaniem wysokoprzepustowej technologii jaką jest sekwencjonowanie następnej generacji (**B19** Pawlina i inni, 2014)

Obecnie jestem kierownikiem grantu pt. "Ocena wpływu żywienia różnymi rodzajami tłuszczu na zmiany transkryptomu, poziomu metylacji wysp CpG oraz profilu mikroRNA w tkankach świni", finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki. W ramach projektu pobrane zostały tkanki (mięsień, wątroba, tłuszcz okrywowy) od świń żywionych paszą zawierającą różne źródła tłuszczu (olej rzepakowy, łój wołowy, olej kokosowy). Przeprowadzono już pierwsze analizy transkryptomu z wątroby, metodą RNA-seq i zidentyfikowano szereg genów różniących się poziomem ekspresji u zwierząt otrzymujących tłuszcze pochodzące z różnych źródeł. Obecnie tworzone są biblioteki cDNA i miRNA z pozostałych tkanek. Planuję kontynuować badania nutrigenomiczne poprzez analizę zmian w transkrypcji w tkankach świń suplementowanych różnymi dawkami witaminy D. W dalszym ciągu realizuję także badania imprintingu genomowego u świń w oparciu o technikę RNA-seq.

WYKAZ PROJEKTÓW BADAWCZYCH W KTÓRYCH UCZESTNICZYŁAM Z OKREŚLENIEM CHARAKTERU MOJEGO UDZIAŁU

- **2P06D 02326** „Polimorfizm sekwencji mikrosatelitarnych sprzężonych z genem insulinopodobnego czynnika wzrostu II oraz ich związek z mięsnością świń **grant promotorski, główny wykonawca**
- **2P06D 02527** „Polimorfizm wybranych genów warunkujących mięsność świń rasy wielkiej białej polskiej” **wykonawca**
- **PBZ-KBN-113/P06/2005/07** „Genomika funkcjonalna komórek mięśniowych oraz polimorfizm sekwencji regulatorowych genów związanych z cechami ilościowymi i jakościowymi mięsa bydła i świń” **wykonawca**
- **BDGzp-2910B-9/07, MRiRW** – „Badania częstotliwości występowania genotypów wrażliwych na encefalopatię w populacji owiec w Polsce” **wykonawca**
- **NN311102834** „Ocena zmienności i ekspresji genów PIT1, GHRL, GHRH, LEP współdziałających w regulacji poziomu otluszczenia tusz świń” – Instytut Zootechniki PIB (2008-2011) **wykonawca**
- **NN311220938** „Poprawa użytkowości rozplodowej loch w oparciu o selekcję na markery genów odpowiedzialnych za implantację zarodków (EGF, AREG i LIF)” **wykonawca**
- **NN311608638** „Ocena sposobu ekspresji wybranych genów podlegających piętnowaniu gametycznemu w rozwoju postnatalnym świni”, **kierownik projektu**
- **NN31140633** „Geny związane z metabolizmem białka prionowego i ocena ich wpływu na zmiany neurodegeneracyjne mózgu owiec” **wykonawca**
- **09/D/NZ9/02452** „Zastosowanie ukierunkowanego sekwencjonowania następnej generacji NGS w szacowaniu markerów genetycznych związanych z jakością mięsa wieprzowego **wykonawca**
- **13/B/NZ9/02134** „Ocena wpływu żywienia różnymi rodzajami tłuszczu na zmiany transkryptomu, poziomu metylacji wysp CpG oraz profil mikroRNA w tkankach świni” **kierownik projekt**

LICZBOWE ZESTAWIENIE DOROBKU NAUKOWEGO *)

	PRZED DOKTORATEM			PO DOKTORACIE			ŁĄCZNIE	
	LICZBA	PKT (MNIŚW)	IF	LICZBA	PKT (MNIŚW)	IF	LICZBA	PKT (MNIŚW)
1). Oryginalne prace twórcze:	5	65	2,43	27	600	38,27	32	665
- wykorzystane w monotematycznym cyklu publikacji								40,7
a) publikacje w czasopiśmie znajdujących się w bazie <i>Journal Citation Reports (JCR)</i>				7	170	11,88	7	170
b) publikacje w innych czasopiśmie recenzowanych								11,88
- publikacje poza monotematycznym cyklem								
a) publikacje w czasopiśmie znajdujących się w bazie <i>Journal Citation Reports (JCR)</i>	3	55	2,43	20	430	26,47	23	485
b) publikacje w innych czasopiśmie recenzowanych	2	10					2	10
2). Monografie:				1			1	
3). Pozostałe publikacje naukowe:	3			33			36	
- prace konferencyjne								
a) opublikowane w materiałach z konferencji międzynarodowych	1			17			18	
b) opublikowane w materiałach z konferencji krajowych	2			16			18	
Indeks Hirsha=6								

Oczkiewicz