

Natalia Sawka

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt. "Molekularne mechanizmy determinacji typów płciowych u wybranych gatunków zespołu *Paramecium aurelia*"

Zespół gatunków bliźniaczych *Paramecium aurelia* składa się z 15 identycznych morfologicznie gatunków, reprodukcyjnie izolowanych (Sonneborn 1975). Wszystkie gatunki posiadają dwa typy płciowe: O (ang. Odd) i E (ang. Even). Ze względu na sposób dziedziczenia typów płciowych zostały sklasyfikowane do jednego z trzech systemów determinacji: zgodnym z prawami Mendla, losowym (karionidalnym) bądź matczynym (cytoplazmatycznym).

Celem prowadzonych badań było poznanie genów typów płciowych oraz mechanizmów determinacji typów płciowych u dwóch kolejnych gatunków zespołu *P. aurelia*: *P. biaurelia* i *P. tredecaurelia*.

Hipoteza badawcza stanowiła, że determinacja typu płciowego E jest zawsze związana z ekspresją genu *mtA*, nawet jeśli gen ten nie odpowiada bezpośrednio za determinację typów płciowych w badanym gatunku. Hipoteza ta opiera się na wynikach badań nad determinacją typów płciowych u *P. tetraurelia*, gdzie wykazano zaangażowanie co najmniej trzech genów wymaganych do ekspresji typu płciowego E (*mtA*, *mtB*, *mtC*). Gen *mtA* koduje białko transbłonowe, specyficzne dla typu płciowego E i odpowiedzialne za aglutynację z komórkami typu płciowego O. Z kolei geny *mtB* i *mtC* kodują czynniki transkrypcyjne konieczne do aktywacji genu *mtA* (Singh i in. 2014).

Stosując standardowe metody hodowli *Paramecium*: krzyżówki genetyczne i testy typów płciowych, a także metody molekularne takie jak: izolacje DNA i RNA, PCR, sekwencjonowanie, hybrydyzacja Northern, konstruowanie plazmidów oraz metody genomiki funkcjonalnej takie jak wyciszanie genów metodą feeding (Galvani i Sperling 2001), bazującą na iRNA oraz komplementację funkcji genów metodą mikroiniekcji plazmidowego DNA (Ruiz i in 1998) poznano sekwencje genów typów płciowych oraz ich udział w procesach determinacji typów płciowych u badanych gatunków.

*P. biaurelia* charakteryzuje się matczynym dziedziczeniem typów płciowych. Po zejściu procesu płciowego, autogamii bądź koniugacji, typy płciowe w komórkach dziedziczone są zgodnie z typem płciowym komórki rodzicielskiej. W systemie tym, ich determinacja zachodzi poprzez procesy epigenetyczne w trakcie reorganizacji nowego genomu makrojądrowego przy udziale szlaku skanowania genomu. Przeprowadzone badania wykazały, że w sekwencji kodującej gen *mtB* występuje delecja 168 pz, co skutkuje brakiem kodowania funkcjonalnego białka. Brak kodowanego przez gen *mtB* czynnika transkrypcyjnego aktywującego gen *mtA* skutkuje ekspresją typu płciowego O. W komórkach typu płciowego E gen *mtB* koduje funkcjonalne białko, które aktywuje gen *mtA*, co z kolei skutkuje ekspresją typu płciowego E.

*P. tredecaurelia* jest jedynym gatunkiem zespołu *P. aurelia* u którego typy płciowe dziedziczone są zgodnie z prawami Mendla, a za ich determinację odpowiedzialny jest jeden gen (Sonneborn 1974). Przeprowadzone badania wykazały, że gen *mtA* ulega ekspresji w typie płciowym E, jednak geny kodujące czynniki transkrypcyjne - *mtB* i *mtC* nie są zaangażowane w proces determinacji typów płciowych. Gen *mtB* w obu typach płciowych jest pseudogenem, z kolei wyciszenie genu *mtC* wykazało, że gen ten nie jest konieczny do ekspresji typu płciowego E. Przeprowadzone badania sugerują, że w proces aktywacji genu *mtA* jest zaangażowany nowy, nie opisany gen kodujący czynnik transkrypcyjny, który w typie płciowym O nie funkcjonuje.

Przeprowadzone badania potwierdziły testowaną hipotezę, gdyż w obu gatunkach ekspresja genu *mtA* występuje tylko w reaktywnych komórkach typu płciowego E.

Wyniki niniejszych badań w porównaniu z wynikami u *P. tetraurelia*, *P. octaurelia*, *P. septaurelia* (Singh i in. 2014) oraz wynikami badań wstępnych innych gatunków (Sawka nieopublikowane) sugerują, że w zespole gatunków *P. aurelia* doszło do ewolucji kilku mechanizmów determinacji typów płciowych, niezależnych od siebie.