

## **Krążące we krwi małe niekodujące RNA (c-sncRNAs) jako nieletalne biomarkery statusu reprodukcyjnego i jakości gamet sandacza (Akronim: sAnDeRNA)**

Sandacz (*Sander lucioperca* L.), należący do rodziny ryb okoniowatych, jest ważnym gatunkiem modelowym w badaniach nad biologią rozrodu i rozwoju ryb słodkowodnych, hodowanym w systemach recyrkulacyjnych (RAS). Jednakże pomimo ogromnego postępu w intensyfikacji akwakultury sandacza, ekspansja tej technologii jest utrudniona przez negatywny wpływ warunków RAS na jego rozród. Obniżona zdolność reprodukcyjna hodowlanego sandacza jest głównie związana z bardzo niską jakością gamet u ryb niedoświadczonych reprodukcyjnie (tzw. ryb dziewiczych, definiowanych jako ryby podchodzące po raz pierwszy do tarła, posiadające gonady we wczesnej fazie rozwoju), a także nieprzewidywalną i zmienną jakością gamet u ryb doświadczonych rozrodczo (definiowanych jako ryby podchodzące przynajmniej po raz drugi do tarła). W związku z tym istnieje pilna potrzeba zidentyfikowania procesów wpływających na prawidłowy rozwój gonad (u ryb dziewiczych), jak również mających wpływ na zmienną jakość gamet u ryb doświadczonych. W tym celu niezwykle ważne jest opracowanie innowacyjnych i precyzyjnych markerów molekularnych, do których zaliczyć można **krążące we krwi małe niekodujące cząsteczki RNA (krążące sncRNA)**, których profil mógłby być stosowany jako przyżyciowy wskaźnik (nieinwazyjny dla ryb i łatwy do oznaczenia we krwi), umożliwiający precyzyjne monitorowanie ich statusu reprodukcyjnego. Dotychczas, krążące małe cząsteczki RNA zostały wykorzystane jako markery statusu reprodukcyjnego jedynie u pstrąga tęczowego oraz jako markery płci oraz stresu u labraksa. W dostępnej literaturze nie ma informacji na temat wykorzystania krążących we krwi sncRNA w monitorowaniu sukcesu reprodukcyjnego u ryb okoniowatych (zarówno u samic, jak i u samców), a także zmian w profilu krążących cząsteczek RNA w trakcie dojrzewania u jakiegokolwiek gatunku ryb.

Głównym celem projektu jest szczegółowe zbadanie zmian w profilu krążących we krwi sncRNA we krwi sandacza w ciągu dwóch kolejnych cykli reprodukcyjnych (I cykl - ryby dziewicze oraz II cykl - ryby doświadczone rozrodczo), i ich potencjalnego wykorzystania do monitorowania statusu reprodukcyjnego oraz powiązania z jakością gamet, zarówno u samic jak i samców. Projekt będzie obejmował cztery zadania badawcze: (1) Określenie charakterystycznych profili sncRNA dla różnych tkanek sandacza; (2) Charakterystyka zmian w profilu krążących cząsteczek sncRNA podczas indukcji dojrzewania ryb dziewiczych oraz analiza ekspresji genów docelowych dla sncRNA (mRNA) osi reprodukcyjnej (obejmującej podwzgórze, przysadkę, gonady i wątrobę); (3) Charakterystyka zmian w profilu krążących cząsteczek sncRNA podczas cyklu rozrodczego ryb doświadczonych oraz analiza ekspresji genów docelowych dla sncRNA (mRNA) osi reprodukcyjnej oraz (4) Identyfikacja specyficznych krążących we krwi cząsteczek sncRNA u ryb doświadczonych powiązanych z jakością gamet (jaj i plemników). W obrębie każdego zadania badawczego wykonane zostaną niezależne procedury chowu tarlaków (przygotowanie tarlaków, monitorowanie ich dojrzałości płciowej, pobieranie gamet, zapłodnienie w warunkach kontrolowanych, inkubacja jaj), a następnie analizy molekularne, obejmujące sekwencjonowanie RNA oraz analiza bioinformatyczna. Wykonane zadania w ramach projektu doprowadzą do identyfikacji nowych form małych cząsteczek RNA, ich genów docelowych oraz wnioskowania o ich możliwych funkcjach w rozrodzie sandacza. Proponowany projekt pozwoli na uzyskanie kompleksowej wiedzy z zakresu krążących małych cząsteczek RNA u ryb (zarówno samic, jak i samców), obejmującej pełną charakterystykę cząsteczek sncRNA w tkankach, jak również dotyczącej dynamiki zmian w profilach krążących we krwi sncRNA podczas cykli reprodukcyjnych oraz związku między krążącymi sncRNA a jakością gamet. Uzyskane wyniki w trakcie realizacji projektu będą miały istotne znaczenie w wykorzystaniu krążących we krwi sncRNA jako fizjologicznie istotnych, nieletalnych biomarkerów statusu reprodukcyjnego sandacza oraz zapewni innowacyjne podejście w prognozowaniu jakości gamet. W długoterminowej perspektywie końcowe osiągnięcia projektu pozwolą na optymalizację warunków hodowlanych oraz technik reprodukcyjnych, a tym samym polepszenie efektywności rozrodczej, nie tylko ryb okoniowatych, ale też innych gatunków ryb.