

Gen PRLR – marker cech użytkowości rozrodczej loch?

ARKADIUSZ TERMAN, MAREK KMIEĆ, INGA KOWALEWSKA-ŁUCZAK

Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR,
ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin

Terman A., Kmiec M., Kowalewska-Łuczak I.

PRLR gene – a marker for reproduction performance traits in sows?

Summary

Reproduction rate, and litter size in particular, is one of the most economically important aspects of pig production. Progress in researching the porcine genome has enabled polymorphic loci controlling reproduction characteristics in animals to be identified. An example of a gene affecting reproduction is the prolactin receptor (PRLR) gene, which has been mapped to chromosome 16 in pigs. The mechanism through which the PRLR gene affects litter size is not yet known, nor is it known whether the PRLR polymorphism itself causes differences in litter size or whether this polymorphism is a marker for the closely linked major gene for litter size.

Keywords: prolactin receptor, pig

Prolaktyna jest hormonem o działaniu ogólnoustrojowym, wydzielanym głównie przez przedni płat przysadki mózgowej, jednakże została wykryta również w mózgu, łożysku, jelicie, błonie mięśniowej macicy, grasicy, śledzionie oraz tkankach układu immunologicznego. Prolaktyna obecna jest również w niektórych płynach ustrojowych: mleku, płynie mózgowo-rdzeniowym, pocie czy łzach (2). Charakteryzuje ją duża homologia w sekwencji aminokwasów oraz w masie cząsteczkowej pomiędzy różnymi gatunkami zwierząt. Prolaktyna świni zbudowana jest ze 198 aminokwasów, jej masa cząsteczkowa wynosi 22,4 kDa i jest w ponad 80% homologiczna z prolaktyną bydła i owiec. Do tej pory udokumentowanych zostało ponad trzysta różnych rodzajów oddziaływań tego hormonu na określone funkcje biologiczne organizmu.

Hormony białkowe, do których należy prolaktyna czy hormon wzrostu, działają na tkanki docelowe najczęściej drogą endokrynną, podczas której określony hormon zostaje uwolniony do krwiobiegu. Następnie razem z krwią dociera do odpowiednich narządów, gdzie łączy się z licznymi receptorami ulokowanymi w błonie komórkowej, przez co wywiera swoisty dla siebie efekt. Receptor prolaktyny (PRLR) został zidentyfikowany ponad 20 lat temu i pod koniec lat 90. wyizolowano cDNA szczura kodujące PRLR (4). Ponadto wykazano, że receptor prolaktyny jest białkiem transbłonowym należącym do rodziny receptorów cytokinowych klasy I i wykazuje duże podobieństwo do receptora hormonu wzrostu (GHR) (9). Dotychczas poznano kilka różnych izoform receptora prolaktyny, powstających w wyniku alternatywnego cięcia i składowania, jak również obróbki proteolitycznej. Do najbardziej znanych form PRLR zalicza się: krótką (sPRLR), średnią (mPRLR) oraz długą (lPRLR). Formy krótkie, średnie i długie posiadają identyczne domeny zewnątrzkomórkowe (EC – extracellu-

lar) i śródbłonowe (TM – transmembrane), różnią się natomiast długością domeny wewnątrzkomórkowej, czyli cytoplazmatycznej (CYD – cytoplasmic) (7).

W skład długiej formy receptora prolaktyny szczura wchodzi 591 aminokwasów, średniej – 393, zaś krótka forma złożona jest z 291 aminokwasów. U myszy zidentyfikowano jedną długą i trzy krótkie izoformy PRLR, które różniły się tylko kilkoma aminokwasami w C-końcowych odcinkach domeny cytoplazmatycznej (3). W gruczole mlekowym świni zidentyfikowano zaś dwie formy receptora prolaktyny: długą – złożoną z 592 aminokwasów i krótką – składającą się z 291 aminokwasów (13). Wykazano (5) ponadto, że występuje jeszcze rozpuszczalna forma receptora prolaktyny, która pozbawiona jest domeny śródbłonowej i cytoplazmatycznej i utożsamiana jest głównie z białkiem wiążącym prolaktynę (PRLBP – prolactin binding protein), które wiąże ligand i uczestniczy w transporcie prolaktyny np. do mleka czy płynu mózgowo-rdzeniowego poprzez spłot naczyński.

Białko wiążące prolaktynę (PRLBP) obecne we krwi wiąże około jednej trzeciej ilości PRL przyczyniając się do zwiększenia czasu jej półtrwania. W momencie połączenia się prolaktyny z jej receptorem nie dochodzi do aktywacji, jednakże uwidacznia się na jego powierzchni miejsce służące do przyłączenia drugiego receptora i dopiero taki kompleks receptor–prolaktyna–receptor staje się w pełni aktywny. Powoduje to uaktywnienie kinazy tyrozynowej JAK2 (kinaza Janusa 2) i fosforylację reszt tyrozynowych wewnątrzkomórkowej domeny lPRLR (5).

Jedną z głównych dróg oddziaływania prolaktyny połączonej z jej receptorem jest szlak związany z czynnikami transkrypcyjnymi STAT (signal transducer and activator of transcription). Białka z rodziny STAT są głównymi uczestnikami transdukcji sygnału receptorów cytokinowych. Białka te posiadają domenę SH2, dzięki której przyłączają się one do długiej formy receptora pro-

laktyny aktywowanej poprzez fosforylację reszt tyrozynowych bądź też do kinazy JAK2 w formie krótkiej. Następnie białka STAT ulegają fosforylacji i tworzą homo- (są to dwa ufosforylowane białka) bądź też heterodimery (kiedy ufosforylowane białko wiąże się z nieufosforylowanym). Powstały w taki sposób dimer wędruje do jądra komórkowego, gdzie pełni funkcję czynnika transkrypcyjnego, łącząc się z tzw. GAS – sekwencją aktywowaną przez interferon (interferon activated sequence), wchodzące w skład promotorów różnych genów (7).

W przekazywaniu sygnału prolaktynowego uczestniczyć mogą również inne mediatory wewnątrzkomórkowe: białka adaptorowe (Sec/Grb2/SOS), kinazy MAP (mitogen activated protein), kinazy tyrozynowe c-src i Fyn., jak również kinazy białkowe C (PKC) (3, 8).

Geny warunkujące syntezę hormonów wywierają istotny wpływ na regulację metabolizmu, a tym samym produktywność zwierząt. Wiedza o polimorfizmie w *loci* genów hormonów jest więc interesująca z kilku punktów widzenia. Po pierwsze, polimorfizm ten przyczynia się do pogłębienia genetycznej charakterystyki populacji, po drugie zaś, może okazać się przydatny w procesie doskonalenia zwierząt.

Gen kodujący receptor prolaktyny został zmapowany u ludzi i wielu gatunków zwierząt gospodarskich. Gen PRLR zlokalizowany jest w chromosomie 5 u człowieka i zawiera dziesięć eksonów o całkowitej, niezmienniej długości 100 kpz (1), zaś u świń gen receptora prolaktyny zlokalizowany został w 16 chromosomie (20).

Na podstawie analizy DNA grupa badaczy (16) wykazała istnienie miejsca polimorficznego w genie PRLR, które rozpoznawane jest przez enzym restrykcyjny AluI. Badania prowadzone były w stadzie loch linii PIC tworzonej przy udziale ras: wielka biała (2), biała zwiasłoucha, duroc, biała zwiasłoucha × pietrain i wielka biała × meishan. Wykazano, iż analizowany polimorfizm genu PRLR istotnie ($p \leq 0,05$) wpływał na ogólną liczbę prosiąt urodzonych w miocie i na liczbę prosiąt żywo urodzonych. Osobniki o genotypie AA charakteryzowały się wyższą całkowitą liczbą prosiąt w pierwszym miocie w porównaniu ze świniami o genotypie BB. Uzyskana różnica wynosiła 0,25 prosięcia na miot, jednakże większe efekty zaobserwowano w dalszych miotach. Interesującym było również, że analizując kolejne mioty nie obserwowano różnic w średniej masie ciała prosiąt pochodzących od loch z różnymi genotypami receptora prolaktyny. W późniejszym okresie wielu naukowców skoncentrowało swoją uwagę na polimorfizmie genu PRLR oraz jego związku z wielkością miotu u świń.

Kolejne doświadczenia prowadzone przez wielu badaczy (10, 14, 15, 17-19, 21) obejmowały stada loch należące do różnych ras i potwierdziły korzystny związek pomiędzy występowaniem allelu A receptora prolaktyny a liczebnością miotu świń. W wyniku tak przeprowadzonych badań wykazano, że lochy o genotypie receptora prolaktyny AA posiadały wyższą wartość cech związanych z liczebnością miotu (ogólna liczba prosiąt urodzonych, liczba prosiąt żywo urodzonych, liczba prosiąt odsadzonych) niż lochy o genotypie BB, a przewaga ta wahała się w granicach od 0,2 do ponad dwóch prosiąt

w miocie. Wyniki te były zgodne z uzyskanymi przez Kmiecica i Termana (11), którzy analizowali wpływ polimorfizmu genu PRLR na cechy nasienia knurów reprodukcyjnych rasy polskiej białej zwiasłouchej. Odmienne wyniki zostały przedstawione przez Drogemüller i wsp. (6) oraz Korwin-Kossakowską i wsp. (12), ukazując pozytywny wpływ allelu B na wielkość miotu u świń. Należy jednak nadmienić, iż powyższe wyniki zostały wykazane tylko u rasy duroc oraz świń z linii syntetycznej 990.

Rothschild i wsp. (16) stwierdzili, że na podstawie uzyskanych wyników własnych oraz dostępnych danych piśmiennictwa dotyczących analizowanego miejsca polimorficznego genu receptora protaktyny, można uznać go za „gen kandydat” bądź też marker genetyczny związany z cechami wpływającymi na wielkość miotu u loch. Wyniki analizy tego genu mogą stanowić w połączeniu z metodami tradycyjnymi doskonałe narzędzie w genetycznym doskonaleniu liczebności miotów w poszczególnych liniach i rasach świń.

Piśmiennictwo

1. Arden K. C., Bountin J.-M., Djiane J., Kelly P. A., Cavenee W. K.: The receptors for prolactin and growth hormone are localized in the same region of human chromosome 5. *Cytogenet. Cell Genet.* 1990, 53, 161-165.
2. Ben-Jonathan N., Mershon J. L., Allen D. L., Steinmetz R. W.: Extrahypothalamic prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects. *Endocr. Rev.* 1996, 17, 639-669.
3. Bole-Feysot C., Goffin V., Ederly M., Binart N., Kelly P. A.: Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 1998, 19, 225-268.
4. Boutin J. M., Jolicœur C., Okamura H., Gagnon J., Ederly M., Shiota M., Banville D., Dusanter-Fourt I., Djiane J., Kelly P. A.: Cloning and expression of the rat prolactin receptor, a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family. *Cell* 1988, 53, 69-77.
5. Clevenger C. V., Kline J. B.: Prolactin receptor signal transduction. *Lupus*. 2001, 10, 706-718.
6. Drogemüller C., Hamann H., Distl O.: Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.* 2001, 79, 2565-2570.
7. Freeman M. E., Kaniyńska B., Lerant A., Nagy G.: Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2000, 80, 1523-1631.
8. Grattan D. R.: Behavioural significance of prolactin signaling in the central nervous system during pregnancy and lactation. *Reprod.* 2002, 123, 497-506.
9. Kelly P. A., Djiane J., Postel-Vinay M. C., Ederly M.: The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr. Rev.* 1991, 12, 235-251.
10. Kmiec M., Terman A.: Polymorphism in the PRLR/AluI gene and its effect on litter size in Large White sows. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2004, 22, 523-527.
11. Kmiec M., Terman A.: Prolactin receptor gene polymorphism in Polish Landrace boars. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2004, 22, 529-532.
12. Korwin-Kossakowska A., Kamycezek M., Cieślak D., Pierzchała M., Kurył J.: Candidate gene markers for reproductive traits in polish 990 pig line. *J. Anim. Breed. Genet.* 2003, 120, 181-191.
13. Lesueur L., Ederly M., Ali S., Paly J., Kelly P. A., Djiane J.: Comparison of long and short forms of the prolactin receptor on prolactin-induced milk protein gene transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 824-828.
14. Linville R. C., Pomp D., Johnson R. K., Rothschild M. F.: Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. *J. Anim. Sci.* 2001, 79, 60-67.
15. Putnova L., Knoll A., Dvorak J., Cepica S.: A new HpaII PCR-RFLP within the porcine prolactin receptor (PRLR) gene and study of its effect on litter size and number of teats. *J. Anim. Breed. Genet.* 2002, 119, 57-63.
16. Rothschild M. F., Vincent A. L., Tuggle C. K., Evans G., Short T. H., Southwood O. I., Wales R., Plastow G. S.: A mutation in the prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. *Anim. Genet.* 1998, 29, 60-74.
17. Southwood O. I., Short T. H., Plastow G. S., Rothschild M. F.: A genetic marker for litter size in Landrace-based pig lines. *EAAP*. 1999, Zurich 22-26 August 5:1.
18. Terman A.: Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 2005, 122, 400-404.
19. Van Rens B. T. T. M., Van Der Lende T.: Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. *Theriogenol.* 2002, 57, 883-893.
20. Vincent A. L., Wang L., Tuggle C. K., Robic A., Rothschild M. F.: Prolactin receptor maps to pig Chromosome 16. *Mamm. Gen.* 1997, 8, 793-794.
21. Vincent A. L., Evans G., Short T. H., Southwood O. I., Plastow G. S., Tuggle C. K., Rothschild M. F.: The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. *Proc. 6th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.* 1998, 27, 15-18.

Adres autora: dr inż. Arkadiusz Terman, ul. Doktora Judydy 6, 71-466 Szczecin; e-mail: arek@biot.ar.szczecin.pl