

Chromosom 4 związany z QTL jakości tuszy u świń

ARKADIUSZ TERMAN, PAWEŁ URBAŃSKI*, MAREK KMIEĆ

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

*Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec, ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska

Terman A., Urbański P., Kmiec M.

Chromosome 4 and its relationship to QTL affecting carcass quality in pigs

Summary

The first study of quantitative trait loci (QTL) in pigs showed that genetic factors controlling important economic traits were located on swine chromosome 4. In recent years, the theory that chromosome 4 in pigs contains many QTL loci affecting growth, carcass and meat quality has been confirmed. It would be interesting to show porcine chromosome 4 as a genetic marker for carcass and meat quality traits.

Keywords: chromosome 4, pig, carcass quality

Uzyskanie wysokiej mięsności w tuszy świń to aktualnie jeden z podstawowych celów prowadzonej pracy hodowlanej trzody chlewnej ze względów ekonomicznych zarówno dla hodowcy, jak i przemysłu mięsnego oraz przetwórstwa. Znajomość genetycznych uwarunkowań tej cechy jest istotna nie tylko z poznawczego punktu widzenia, ale również dałaby możliwość praktyce hodowlanej wyboru osobników o preferowanych genotypach zarówno do tuczu, jak i hodowli zarodkowej.

Cechy związane z jakością tuszy i mięsa należą do grupy tzw. cech ilościowych, które są wynikiem oddziaływania poligenowego, jak również czynników środowiskowych. Geny wpływające na wartość tych cech nazywane są genami cech ilościowych (quantitative traits loci – QTLs) (8). W grupie tych genów wyróżnia się takie, których udział w kształtowaniu danej cechy jest szczególnie znaczący i wówczas określa się je mianem genów głównych (major genes). Zalicza się do nich m.in. gen podatności świń na stres (RYR1^T), gen kwaśnego mięsa świń (RN⁻) czy gen wysokiej plenności owiec booroola (Fec^B). Dzięki dynamicznemu rozwojowi metod genetyki molekularnej możliwe stało się poznanie lokalizacji, struktury oraz funkcjonowania genów odpowiedzialnych za kształtowanie się cech ilościowych. Zanim jednak określony gen zostanie uznany za gen główny, funkcjonuje pod mianem genu kandydata dla danej cechy ilościowej. Wykorzystując najnowsze metody laboratoryjne możliwe stało się analizowanie wpływu określonych mutacji punktowych w genach kandydujących do statusu genów głównych, których produkty uczestniczą w procesach fizjologicznych warunkujących daną cechę.

W identyfikacji genów wpływających na kształtowanie się cech ilościowych wykorzystuje się dwie

metody. Pierwsza obejmuje mapowanie QTLs polegające na analizie sprzężeń między wartością cech użytkowych a szeregiem polimorficznych markerów, głównie mikrosatelitarnych, o znanej lokalizacji w genomie. Istotność sprzężenia wskazuje położenie QTLs w odpowiednim chromosomie.

Druga metoda opiera się na znajomości procesów fizjologicznych warunkujących daną cechę oraz czynników, które w tych procesach uczestniczą (hormony i ich receptory, cytokiny, białka transportujące i inne). Czynniki te wraz z kodującymi je genami badane są pod kątem ich wpływu na ostateczny kształt cechy, a geny te określane są mianem genów kandydujących, czyli potencjalnie warunkujących poziom danej cechy.

Na podstawie analizy polimorfizmu genu uznanego za gen kandydujący, którego produkty uczestniczą w procesach fizjologicznych prowadzących do ekspresji danej cechy ilościowej, możliwe jest szybkie doskonalenie cech istotnych z ekonomicznego punktu widzenia. Celowe wydaje się więc podjęcie badań mających na celu poszukiwanie ewentualnego markera genetycznego powiązanego z jakością tuszy wieprzowej, jak również jakością mięsa u świń.

W ostatnim dziesięcioleciu, w różnych ośrodkach naukowych-badawczych poddawano analizie kolejne geny określane jako geny kandydujące dla cech jakości tuszy: geny czynników wzrostowych, geny z rodziny MyoD, gen leptyny i jej receptora, gen receptora melanokortyny (MC4R): (2, 8, 12, 15). Niektóre wyniki tych badań wykazały istotne zależności pomiędzy polimorfizmem w tym fragmencie genów a wartością analizowanych cech. Nie zidentyfikowano dotychczas takiego genu, którego polimorfizm miałby uniwersalne oddziaływanie dla wszystkich ras świń, co było charakterystyczne dotychczas dla mutacji punk-

towej genu RYR1 (C1843T). Dlatego też w dalszym ciągu prowadzi się badania mające na celu zidentyfikowanie określonego genu (genów), których polimorfizm warunkuje zróżnicowanie mięsności tuszy obserwowane między różnymi rasami świń.

W związku z tym, iż chromosom 4 od wielu lat znajduje się w centrum zainteresowań wielu naukowców jako miejsce położenia QTLs powiązanych z jakością tuszy, istnieje prawdopodobieństwo, że geny tam zlokalizowane mogą w sposób znaczący wpływać na poziom tych cech. W 1994 r. szwedzcy naukowcy z Uniwersytetu Rolniczego w Uppsali po raz pierwszy zmapowali QTLs zlokalizowane w chromosomie 4 (1). Naukowcy ci wykazali, że w rejonie chromosomu 4, zawartym między *loci* S0001 i ATP1B1 znajdują się geny wpływające na zawartość tłuszczu w tuszy oraz grubość słoniny grzbietowej. Wykazano ponadto, że poddany badaniom rejon chromosomu 4 ograniczony przez *loci* Sw835 i ATP1B1 zawiera geny wpływające na grubość tłuszczu podskórnego. Jako hipotetyczny gen ten oznaczono i nazwano symbolem FAT1. Mimo 10-letnich badań, w tym porównawczych analiz map SSC4 z HSA1 i HSA8, nie udało się dotychczas znaleźć nie tylko przyczynowej mutacji genowej, ale nawet wytypować obiecujących genów kandydujących (10).

W ostatnich latach w chromosomie 4 zmapowano wiele innych genów, które ze względu na produkty białkowe, jakie kodują, stały się przyczynkiem do badań w kierunku poprawy cech związanych z jakością mięsa wieprzowego.

Jednym z genów zmapowanym w chromosomie 4 świni, który wzbudził duże zainteresowanie w ostatnim okresie, jest gen diacylglicerolacylotransferazy 1 (DGAT1). Białko będące produktem tego genu posiada aktywność enzymatyczną i w związku z tym odgrywa bardzo istotną rolę w przemianach triglicerydów (3). Gen DGAT1 odgrywa również duże znaczenie w hodowli bydła jako potencjalny marker genetyczny dla cech związanych z mlecznością krów (5, 17). Wykryto bowiem, że zwierzęta nie będące nosicielami mutacji punktowej, powodującej zamianę lizyny w alaninę, cechowała wyższa zawartość tłuszczu w mleku.

Badania nad świńskim genem DGAT1 zostały podjęte stosunkowo niedawno – dopiero w 2002 r. Nonneman i Rohrer (11) zidentyfikowali 15 nowych mutacji punktowych typu SNPs zarówno w intronach, jak i w rejonach kodujących. Cztery z wykrytych mutacji, zlokalizowane kolejno w eksonach 8, 9, 13 i 17 stały się przedmiotem podjętych dwa lata temu badań hiszpańskich naukowców (9). Prowadząc badania na materiale obejmującym łącznie około 90 świń należących do pięciu ras europejskich: iberia, landrace, wielka biała, meishan i pietrain określono częstość występowania poszczególnych mutacji punktowych. W odniesieniu do transwersji C/G i dwóch tranzycji C/T zlokalizowanych w eksonach 8, 13 i 17 badane zwierzęta okazały się monomorficzne. Międzyrasowe zróżnicowanie

w częstotliwości alleli stwierdzono tylko dla tranzycji G/A. We wszystkich przebadanych rasach allel G występował ze znacznie wyższą frekwencją, jednak ze względu na małą liczbę przebadanych zwierząt poszczególnych ras badania te należy uznać jedynie za wstępne, które należałoby zweryfikować na bardziej liczonym stadzie zwierząt.

Ze względu na istniejący stan wiedzy na temat genu DGAT1 oraz produktu białkowego przez niego kodowanego celowe wydaje się więc podjęcie badań nad poszukiwaniem nowych mutacji w tym genie, a następnie zbadanie zależności między poszczególnymi genotypami a cechami mięsności tuszy.

Kolejnym genem mogącym mieć duże znaczenie w produkcji i hodowli trzody chlewnej ze względu na lokalizację w chromosomie 4 (4q21.-23) jest gen AGL. Produktem białkowym tego genu jest enzym zaangażowany w degradację glikogenu, posiadający aktywność 4- α -glukotransferazy i 1,6-amylo-glukozydazy, a jak wiadomo, poziom glikogenu w mięśniach jest jednym z ważniejszych wyznaczników jakości mięsa. Koćwin-Podsiadła i wsp. (7) wykazali, że wartość potencjału glikolitycznego przekraczająca 130 $\mu\text{mol/g}$ w momencie uboju zwierząt stwarza lepsze warunki do głębszej glikogenolizy, co z kolei powoduje silniejsze zakwaszenie tkanki mięśniowej w 24., 48. i 96. godz. *post mortem* oraz jaśniejszą barwę mięsa.

Ludzki gen AGL o wielkości 85 kbp zbudowany z 35 eksonów podzielonych sekwencjami intronowymi został zmapowany w chromosomie 1. Posłużył on następnie do badań nad świńskim genem AGL, ponieważ zaprojektowane sekwencje starterowe były wykonane na bazie sekwencji eksonów 26 i 27 genu AGL człowieka, a fragment wielkości około 4,2 kb sklonowano i zsekwencjonowano (13).

Stratil i wsp. (13) zidentyfikowali w świńskim genie AGL mutację typu Indel, polegającą na insercji/delecji fragmentu wielkości 275 pz. W przebadanych rasach świń allel L (long) będący wynikiem tej mutacji występował ze znacznie wyższą częstością w porównaniu do allelu S (short), a takie rasy, jak: wielka biała, pietrain, black pied prestige i hampshire cechowała całkowita monomorficzność względem allelu L. Podczas dalszej analizy opracowano kolejny polimorfizm w genie AGL, który rozpoznawany jest enzymem restrykcyjnym AvaII. Miejsce polimorficzne znajduje się w obrębie elementu SINE (735-739), sekwencji charakterystycznej dla allelu L. U zwierząt homozygotycznych SS względem mutacji Indel polimorfizm AvaII był nieobecny, podczas gdy u heterozygot LS występował tylko jeden z alleli (A lub B) będących wynikiem tej mutacji. Frekwencja alleli A i B była różna w różnych rasach. U świń meishan, duroc i czech meat pig wyższą częstość wykazywał allel A, natomiast u pietrain obydwie allele występowały z podobną częstością (13). Badania dotyczące powiązań tych polimorfizmów z jakością tuszy świń nie były dotychczas prowadzone.

Stratil i wsp. (14), analizując chromosom 4, opisali inny gen, a mianowicie AMPD1, który ze względu na położenie w chromosomie 4 w obrębie QTLs ważnych dla cech jakości tuszy może być rozpatrywany jako obiecujący gen kandydujący. Białko będące produktem tego genu należy do dużej rodziny enzymów charakterystycznych dla ssaków, a mianowicie katalizujących przemianę AMP w IMP w mięśniach szkieletowych i odgrywa ważną rolę w cyklu przemian zasad purynowych. W intronie 7 genu AGL zidentyfikowano transycję A→C, rozpoznawaną enzymem RsaI. Dwa allele, A i C, będące wynikiem transycji występowały tylko u świń meishan z częstością A = 0,33 i B = 0,67. Natomiast pozostałe poddane analizie rasy (wielka biała, krajowa, pietrain, hampshire, black pied prestige, czech meat pig, i duroc) charakteryzowały się monomorficznymi formami allelu A, jednak ze względu na małą liczbę zwierząt ujętych do tych badań oraz brak jakichkolwiek informacji na temat powiązań polimorfizmu z cechami tuszy, interesujące byłoby zwerfikowanie tych informacji.

Inni badacze (16), poszukując markerów genetycznych zlokalizowanych w chromosomie 4, związanych z QTLs dla cech jakości tuszy, wykryli kilka pojedynczych podstawień nukleotydowych w genie kodującym białko laminę LMNA, zarówno typu A, jak i C. Lamina jest białkiem zaangażowanym w aktywację replikacji, transkrypcji, jak również w regulację cykli komórkowych oraz wzrost i rozwój mięśni (6). Ze względu na pełnione funkcje oraz fakt umiejscowienia *locus* w 4 chromosomie (4) może stanowić w połączeniu z metodami genetyki molekularnej istotne źródło informacji w przypadku analizy cech związanych z użytkowością mięsną świń.

Z dostępnych danych piśmiennictwa wynika, że w chromosomie 4 u świni znajduje się wiele *loci* dla genów istotnych z punktu widzenia poprawy wartości cech związanych z użytkowością tuczną i mięsną świń. Istotnym więc wydaje się fakt próby podjęcia badań zmierzających do analizy już wykrytych oraz detekcji nowych mutacji punktowych w genach, które zlokalizowane są w chromosomie 4 w pobliżu QTLs powiązanych z jakością tuszy wieprzowej.

Piśmiennictwo

1. Andersson L., Haley C. S., Ellegren H., Knott A. S., Johansson M., Andersson K., Andersson-Eklund L., Lilja-Edfors I., Fredholm M., Hansson I., Hakansson J., Lundström K.: Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Sci.* 1994, 263, 1771-1774.
2. Bruun C. S., Jørgensen C. B., Nielsen V. H., Andersson L. M., Fredholm M.: Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire. *Anim. Genet.* 2006, 37, 359-362.
3. Cases S., Smith S. J., Zheng Y. W.: Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 13018-13023.
4. Goureau A., Yerle M., Schmitz A., Riquet J., Milan D., Pinton P., Frelat G., Gellin J.: Human and porcine correspondence of chromosome segments using bidirectional chromosome painting. *Genomics* 1996, 36, 252-262.
5. Grisart B. W., Coppieters F., Farnir L., Karini C., Forol P., Berzi N., Cambisano M., Mni S., Revol P., Simon R., Spelman M., Georges R.: Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle. Identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Gen. Res.* 2002, 12, 222-231.

6. Gruenbaum Y., Goldman R. D., Meyuhar R., Mills E., Margalit A., Fridkin A., Dayani Y., Prokocimer M., Enosh A.: The nuclear lamina and its functions in the nucleus. *Int. Rev. Cytol.* 2003, 226, 1-62.
7. Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Antosik K., Pośpiech E., Grześ B., Zybert A., Sieczkowska H.: The preliminary investigations under the determinant of culinary and technological usefulness of pork meat. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2004,
8. Kurył J.: Geny cech ilościowych zwierząt gospodarskich – aktualny stan badań. *Prace Mat. Zoot.* 2000, 56, 7-50.
9. Mercade A., Sanchez A., Folch J. M.: Exclusion of the acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 gene (DGAT1) as a candidate for a fatty acid composition QTL on porcine chromosome 4. *J. Anim. Breed. Genet.* 2005, 122, 161-164.
10. Moller M., Berg F., Riquet J., Pomp D., Archibald A., Anderson S., Feve K., Zhang Y., Rotschild M., Milan D., Andersson L., Tuggle Ch. K.: High-resolution comparative mapping of pig Chromosome 4, emphasizing the FAT1 region. *Mamm. Gen.* 2004, 109, 4823-4840.
11. Nonneman D., Rohrer G. A.: Linkage mapping of porcine DGAT1 to a region of chromosome 4 that contains QTL for growth and fatness. *Anim. Gen.* 2002, 33, 468-469.
12. Stachowiak M., Mackowski M., Madeja Z., Szydlowski M., Buszka A., Kaczmarek P., Rubis B., Mackowiak P., Nowak K. W., Switonski M.: Polymorphism of the porcine leptin gene promoter and analysis of its association with gene expression and fatness traits. *Biochem. Gen.* 2007, 45, 245-253.
13. Stratil A., Blažkova P., Kopečný M., Bartenschlager H., Van Poucke M., Peelman L. J., Fontanesi L., Davoli R., Scotti E., Russo V., Geldermann H.: Characterization of a SINE indel polymorphism in the porcine AGL gene and assignment of the gene to chromosome 4q. *Anim. Gen.* 2003, 34, 146-148.
14. Stratil A., Knoll A., Moser G., Kopečný M., Geldermann H.: The porcine adenosine monophosphate deaminase 1 (AMPD1) gene maps to chromosome 4. *Anim. Gen.* 2000, 31, 147-148.
15. Urbański P.: Geny warunkujące tempo wzrostu i otluszczenie tuszy świń. *Prace Mat. Zoot.* 2003, 49-65.
16. Wagenknecht D., Stratil A., Bartenschlager H., Van Poucke M., Peelman L. J., Majzik I., Geldermann H.: SNP identification, linkage and radiation hybrid mapping of the porcine lamin A/C (LMNA) gene to chromosome 4q. *J. Anim. Breed. Genet.* 2006, 123, 280-283.
17. Winter A., Kramer W., Werner F. A. O., Kollers S., Kata S., Durstewitz G., Buikamp J., Womack J. E., Thaller G., Fries R.: Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2002, 9300-9305.

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