

## **POLIMORFIZM W GENIE TYREOGLOBULINY U BYDŁA RASY JERSEY**

Inga Kowalewska-Łuczak, Hanna Kulig, Katarzyna Szewczyk

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

**Streszczenie.** Celem prowadzonych badań było oszacowanie ewentualnych zależności pomiędzy genotypami *TG/PsuI* a wybranymi cechami użytkowości mlecznej (wydajność mleka, białka, i tłuszczu oraz zawartość białka i tłuszczu). Badaniami objęto 180 krów rasy jersey. Genotypy poszczególnych osobników oznaczano za pomocą metody PCR-RFLP. Frekwencja genotypów i alleli była następująca: *CC* – 0,53, *CT* – 0,44, *CC* – 0,03 oraz *C* – 0,75 i *T* – 0,25. W prowadzonych badaniach nie wykazano statystycznie istotnych zależności pomiędzy genotypami *TG* a analizowanymi cechami, jednakże zaobserwowano tendencje do utrzymywania się powiązania genotypów z analizowanymi cechami użytkowości mlecznej.

**Słowa kluczowe:** bydło mleczne, cechy użytkowości mlecznej, gen tyreoglobuliny

### **WSTĘP**

Tyreoglobulina (TG) jest głównym białkiem tarczycy – stanowi ona 75% całkowitego białka gruczołu i jest produkowana w komórkach pęcherzykowych tarczycy. Ta glikoproteina jest substratem do produkcji hormonów tarczycy oraz nośnikiem trijodotyroniny (T3) i tyroksyny (tetrajodotyroniny, T4). Hormony tarczycy odgrywają ważną rolę w regulacji metabolizmu oraz wywierają ogromny wpływ na wzrost, różnicowanie i homeostatyczny skład komórek tłuszczowych [Ailhaud i in. 1992]. W ten sposób hormony T3 i T4 regulują rozwój komórek tłuszczu [Darimont i in. 1993, Smas i Sul 1995].

Gen kodujący tyreoglobulinę u bydła zlokalizowany jest na centromerycznym końcu chromosomu 14. Pomimo iż początkowo analizowano zależność pomiędzy metabolizmem kwasów tłuszczowych u bydła o mięsny kierunku użytkowania stwierdzono, że warto również zbadać wpływ tego genu na cechy użytkowości mlecznej bydła, ponieważ w chromosomie 14. bydła w pobliżu rejonu, w którym jest *locus* TG, wykazano obecność kilku QTL, które wpływają na produkcję mleka włącznie z wydajnością oraz zawartością tłuszczu w mleku [Khatkar i in. 2004].

---

Adres do korespondencji – Corresponding author: dr Inga Kowalewska-Łuczak, Katedra Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin, e-mail: kowalewska-luczak@zut.edu.pl

Bazując na powyższych przesłankach oraz na jedynej do tej pory pracy [Khatib i in. 2007], dotyczącej oszacowania związku pomiędzy genem *TG* a cechami użytkowości mlecznej bydła, podjęto badania mające na celu określenie częstości występowania alleli i genotypów w odniesieniu do polimorfizmu w genie tyreoglobuliny w stadzie krów rasy jersey oraz ustalenie ewentualnych zależności między genotypami *TG* a cechami użytkowości mlecznej badanego stada krów.

## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 180 krowach rasy jersey pochodzących ze stada utrzymanego na terenie Wielkopolski. Zwierzęta były żywione znormalizowanymi dawkami żywieniowymi, z możliwością korzystania z pastwiska w okresie wiosenno-letnim. Wszystkie badane osobniki ukończyły I laktację; spośród nich 151 krów ukończyło I i II laktację, a 96 krów ukończyło I, II i III laktację. Prowadzono dokumentację użytkowości mlecznej każdego z osobników, w której notowano wydajność mleczną, zawartość tłuszczu i białka oraz ich procentowy udział.

Do izolacji wykorzystano krew obwodową pobraną od każdego osobnika z żyły szyjnej do probówek próżniowych zawierających czynnik antykoagulujący  $K_3EDTA$ . Izolacja DNA została przeprowadzona zgodnie z protokołem dołączonym do zestawu do izolacji DNA z pełnej krwi – MasterPure™ (Epicenter Technologies).

Oznaczenie genotypów poszczególnych osobników dokonano metodą PCR-RFLP. W genie tyreoglobuliny analizowano miejsce polimorficzne w regionie 5' UTR-SNP (*C/T*) (GenBank AY615525). Za pomocą odpowiednio zaprojektowanych starterów amplifikowano fragment genu *TG*. Wykorzystano sekwencje starterowe:

TG\_F: 5'– CAA GTT GTT AAC TTT GGC CTG TA – 3'

TG\_R: 5'– GTG AAA ATC TTG TGG AGG CTG TA – 3' [Khatib i in. 2007].

Reakcja amplifikacji badanego fragmentu *TG* miała następujący profil termiczny: denaturacja wstępna 94°C/5 min, a następnie w 30 cyklach: denaturacja 94°C/30 s, przyłączenie starterów 51°C/30 s, wydłużanie łańcucha DNA 72°C/30s i synteza końcowa 72°C/5 min.

Kolejnym etapem przeprowadzonej analizy było trawienie otrzymanych produktów amplifikacji enzymem restrykcyjnym *PvuI* w temperaturze 37°C.

Otrzymane wyniki genotypowania poddano analizie statystycznej. Dokonano obliczeń częstości występowania genotypów *TG/PvuI* oraz frekwencji poszczególnych alleli.

Następnie analizowano zależności między poszczególnymi genotypami a cechami użytkowości mlecznej w trzech kolejnych laktacjach. Analizie poddano takie cechy jak: wydajność mleka, białka i tłuszczu (kg) oraz zawartość białka i tłuszczu w mleku (%).

Analizy statystycznej zależności pomiędzy polimorfizmem *TG/PvuI* a cechami użytkowości mlecznej dokonano za pomocą pakietu obliczeniowego STATISTICA®8 (Statsoft 2008). Do badań użyto następujący model liniowy z pakietu GLM (General Linear Model)

$$y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + e_{ijkl}$$

gdzie:

$y_{ijklmn}$  – wartość obserwowanej cechy u osobnika;  $\mu$  – średnia wartość cechy dla stada;  $a_i$  – efekt stały genotypu *TG/Psui* ( $i = 1, 2, 3$ ), I, II i III laktacja;  $b_j$  – efekt stały roku wycielenia ( $1 = 1, 2, 3, \dots, 7$ ) I, II i III laktacja;  $c_k$  – efekt stały miesiąca wycielenia ( $m = 1, 2, 3, \dots, 12$ ) I, II i III laktacja;  $d_l$  – efekt losowy ojca ( $n = 1, 2, 3, \dots, 35$ ) I, II i III laktacja;  $e_{ijkl}$  – błąd losowy.

Różnice między średnimi wartościami cech przeanalizowano za pomocą testu wielokrotnego rozstępu Duncana.

## WYNIKI I DISKUSJA

Analiza restrykcyjna fragmentu o długości 311 par zasad, po zastosowaniu enzymu restrykcyjnego *PsuI*, pozwoliła na zidentyfikowanie trzech genotypów: *CC* (178 pz oraz 133 pz), *CT* (178 pz, 133 pz, 311pz) i *TT* (311 pz). Obecność tych genotypów warunkowały dwa allele – allel *C* oraz allel *T*.

W analizowanym stadzie krów rasy jersey najczęściej występował genotyp *CC* (0,53), najrzadziej natomiast genotyp *TT* (0,03). W badanym stadzie krów allel *C* występował z częstością 0,75. W pracach prowadzonych z wykorzystaniem różnych ras bydła odnotowano zbliżoną frekwencję allelu *C* – niemiecka holsztyńska 0,75 [Thaller i in. 2003], brahman 0,96 [Casas i in. 2005], limousian 0,83, charolais 0,74, simmental 0,67 i hereford 0,98 [Pannier i in. 2010].

Analizowano wpływ polimorfizmu w regionie 5' UTR genu tyreoglobuliny na cechy użytkowości mlecznej takie jak: wydajność mleka, wydajność tłuszczu i białka (kg) oraz zawartość tłuszczu i białka (%) w mleku. Zestawienie wartości średnich i odchyłeń standardowych powyższych cech użytkowości mlecznej w odniesieniu do genotypów *TG/PsuI* przedstawiono w tab. 1.

W trzech kolejnych analizowanych laktacjach osobniki o genotypie *TT* cechowały się najniższą wydajnością mleka, natomiast najwyższą wydajność mleka stwierdzono głównie u krów o genotypie *CC* (II i III laktacja).

Analiza wydajności białka wykazała najwyższą wartość tej cechy u zwierząt o genotypie homozygotycznym *CC* (laktacja I i II). Najniższą wydajnością białka charakteryzowały się osobniki o genotypie *TT*.

Najwyższą średnią zawartością białka wykazała w mleku w I, II i III laktacji charakteryzowały się krowy o genotypie *TT*, natomiast osobniki o genotypie *CT* we wszystkich trzech laktacjach odznaczały się najniższą zawartością białka w mleku.

W przypadku wydajności tłuszczu mleka stwierdzono, że największą średnią wydajnością charakteryzowały się krowy o genotypie *CC* (II i III laktacja), natomiast najniższą wydajnością tłuszczu w mleku charakteryzowały się krowy o genotypie *TT* (I i II laktacja).

Rozpatrując zawartość tłuszczu w mleku stwierdzono, że najwyższą średnią wartość tej cechy przeważnie osiągały osobniki o genotypie *TT* (I i II laktacja), natomiast najniższą wartością tej cechy charakteryzowały się krowy o genotypie *CT*.

Tabela 1. Wartości średnie i odchylenie standardowe dla cech użytkowości mlecznej w odniesieniu do genotypów *TG/PsuI*

Table 1. The mean value and standard deviation for milk performance traits in relation to genotype *TG/PsuI*

Laktacja Lactation	Genotyp Genotype	n	Wydajność mleka, kg Milk yield, kg	Białko Protein		Tłuszcz Fat	
				kg	%	kg	%
I	<i>CC</i>	96	3946±605	152,7±20,0	3,92±0,36	223,0±31,0	5,69±0,56
	<i>CT</i>	79	4098±690	157,1±23,8	3,84±0,20	226,1±35,6	5,56±0,50
	<i>TT</i>	5	3689±601	147,2±19,3	4,01±0,20	214,2±17,0	5,87±0,52
	ogółem total	180	4006±647	154,5±21,7	3,89±0,30	224,1±32,8	5,64±0,54
II	<i>CC</i>	84	4528±671	178,7±26,9	3,99±0,24	256,3±36,8	5,71±0,58
	<i>CT</i>	63	4484±655	180,3±24,4	3,98±0,27	255,5±41,3	5,71±0,56
	<i>TT</i>	4	4293±446	171,0±11,0	4,00±0,26	250,5±3,4	5,88±0,62
	ogółem total	151	4504±657	179,4±25,2	3,99±0,25	255,8±38,2	5,71±0,57
III	<i>CC</i>	50	4874±664	195,9±26,1	4,02±0,20	282,2±35,1	5,82±0,56
	<i>CT</i>	43	4873±749	193,3±24,9	3,97±0,26	272,3±40,9	5,62±0,60
	<i>TT</i>	3	4833±1450	197,0±51,1	4,11±0,17	276,3±59,0	5,81±0,51
	ogółem total	96	4872±721	201,6±30,3	4,07±0,19	277,6±38,4	5,73±0,58

Analizując wartości średnie i odchylenie standardowe cech użytkowości mlecznej w I, II i III laktacji krów rasy jersey w odniesieniu do genotypów *TG/PsuI* nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic, natomiast wykazano jedynie pewne tendencje występujące między danym genotypem a poszczególnymi analizowanymi cechami. Stwierdzono, że w I laktacji krowy o genotypie *CT* cechowały się najwyższymi średnimi wartościami trzech badanych cech: wydajności mleka, wydajności białka oraz wydajności tłuszczu, natomiast w przypadku laktacji II i III były to osobniki o genotypie *CC*. Najniższymi średnimi wartościami badanych cech w laktacji I i II odznaczały się osobniki o genotypie *TT*, natomiast w III laktacji krowy heterozygotyczne. Analizując procentową zawartość białka i tłuszczu w mleku we wszystkich trzech laktacjach najwyższymi średnimi wartościami charakteryzowały się krowy o genotypie *TT*, natomiast najniższymi osobniki heterozygotyczne.

Pojedyncze podstawienie nukleotydu w regionie 5'UTR genu tyreoglobuliny w odniesieniu do różnych cech użytkowości bydła było badane w pracach wielu autorów [Casas i in. 2007, Khatib i in. 2007, Gan i in. 2008]. W pracach tych wykazano występowanie

pewnych zależności pomiędzy analizowanymi wariantami genetycznymi a cechami użytkowości, głównie mięsnej oraz mlecznej badanych ras bydła.

W pracy Casas i in. [2007] prowadzonej na *Bos indicus* wykazano, że gen tyreoglobuliny wpływa na grubość tłuszczu, a w niewielkim stopniu powiązany jest z marmurkowatością mięsa. Badania dotyczące polimorfizmu w genie kodującym TG w regionie 5' UTR w odniesieniu do cech jakości mięsa prowadzone były również przez innych autorów i na różnych rasach bydła. W pracach tych [Thaller i in. 2003, Shin i Chung 2007, Pannier i in. 2010] wykazano istnienie korelacji między poszczególnymi genotypami analizowanych polimorfizmów zlokalizowanych w tym rejonie a marmurkowatością mięsa.

Gan i in. [2008] badali potencjalne relacje pomiędzy polimorfizmami zlokalizowanymi w regionie 3' UTR genu kodującego tyreoglobulinę a jakością mięsa bydła i wykazali również powiązanie badanych miejsc polimorficznych z marmurkowatością mięsa.

W pracy Kathib i in. [2007] analizowano powiązanie SNP, zlokalizowanego w regionie 5' UTR, genu *TG* z cechami użytkowości mlecznej i wykazano negatywną korelację allelu *T* z cechami, takimi jak wydajność i zawartość tłuszczu w mleku.

W przeprowadzonych badaniach nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy poszczególnymi genotypami bydła rasy jersey w odniesieniu do wymienionych cech, ale dzięki tej analizie możliwe było wykazanie pewnych tendencji do osiągania niższych lub wyższych wartości danej cechy przez osobnika o określonym genotypie. W przyszłości konieczna będzie dalsza analiza miejsc polimorficznych w genie *TG* w celu oszacowania ewentualnych zależności między poszczególnymi wariantami genetycznymi a wybranymi cechami użytkowości mlecznej. Badania prowadzone na dużych stadach krów oraz na stadach różnych ras bydła mogłyby pomóc zweryfikować otrzymane wyniki analiz. Przy zastosowaniu takiego rozwiązania mogłyby powstać populacje bardziej wydajnego bydła mlecznego, co w konsekwencji zmniejszyłoby koszty utrzymania przy jednoczesnym zwiększeniu produkcji.

## PIŚMIENNICTWO

- Ailhaud G., Grimaldi P., Negrel R., 1992. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu. Rev. Nutr.* 12, 207–233.
- Casas E., White S.N., Shackelford S.D., Wheeler T.L., Koohmaraie M., Bennett G.L., 2007. Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85, 2807–2814.
- Darimont C., Gallard D., Ailhaud G., Negrel R., 1993. Terminal differentiation of mouse preadipocyte cells: adipogenic and antimitogenic role of triiodothyronine. *Mol. Cell. Endocr.* 98, 67–73.
- Gan Q.F., Zhang L.P., Li J.Y., Hou G.Y., Li D.H., Gao X., 2008. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *J. Appl. Gen.* 49, 251–255.
- Khatib H., Zaitoun I., Chang Y.M., Maltecca C., Boettcher P., 2007. Evaluation of association between polymorphism within the thyroglobulin gene and milk production traits in dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.* 124, 26–28.

- Khatkar M.S., Thomson P.C., Tammen I., Raadsma H.W., 2004. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genet. Sel. Evol.* 36, 163–190.
- Smas C.M., Sul H.S., 1995. Control of adipocyte differentiation. *Biochem. J.* 309, 697–710.
- Statistica®, 2008. ver. 8.0, StatSoft Poland.
- Pannier L., Mullen A.M., Hamill R.M., Stapleton P.C., Sweeney T., 2010. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in *DGAT1*, *TG* and *FABP4* genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Meat. Sci. J.* 85, 515–518.
- Shin S.C., Chung E.R., 2007. Association of SNP Marker in the thyroglobulin gene with carcass and meat quality traits in Korean Cattle. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 20, 172–177.
- Thaller G., Kuhn C., Winter A., Ewald G., Bellmann O., Wegner J., 2003. *DGAT1*, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Anim. Genet.* 34, 354–357.

#### THYROGLOBULIN GENE POLYMORPHISM IN CATTLE BREEDS JERSEY

**Abstract.** The aim of this experiment was to estimate possible associations between *TG/PsuI* genotypes and some milk performance traits (yields of milk, protein and fat and protein and fat content). The study included 180 Polish Jersey cows. The PCR-RFLP method was used to identification genotypes. The *TG/PsuI* frequencies were as follow: *CC* – 0.53, *CT* – 0.44, *CC* – 0.03 and *C* – 0.75, *T* – 0.25. In this study, no statistically significant correlation between *TG* genotypes and analyzed the traits, however, shown a tendency to maintain a relationship of genotypes with milk production traits.

**Key words:** dairy cattle, milk production traits, thyroglobulin gene

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 26.10.2010