

Analiza efektów genów warunkujących poziom tłuszczu śródmięśniowego (IMF) u świń oraz możliwości ich zastosowania w pracach selekcyjnych – praca przeglądowa

Ilona Mitka, Mirosław Tyra, Ewa Wojtylak-Jurkiewicz

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, Dział Genetyki i Hodowli Zwierząt,
32-083 Balice k. Krakowa*

W dwóch wcześniejszych artykułach* przedstawiliśmy rolę i znaczenie oraz możliwości poprawy krajowej populacji zarodowej trzody chlewnej pod względem poziomu tłuszczu śródmięśniowego (IMF). Istnieje ścisły i udokumentowany pozytywny związek pomiędzy poziomem tego tłuszczu w mięsie a jego walorami smakowymi, a także licznymi parametrami fizykochemicznymi określającymi jakość mięsa. Ze względu na brak możliwości oceny zawartości IMF na żywym zwierzęciu i stosowania tego wskaźnika w selekcji (próby oceny zawartości IMF na żywych zwierzętach przy wykorzystaniu metody ultrasonografii okazały się być mało dokładne, natomiast przy użyciu tomografii komputerowej zbyt kosztowne), najbardziej skuteczne wydają się być w tym zakresie metody genetyczne. Postęp w dziedzinie genetyki molekularnej otworzył możliwości poprawy strategii genetycznego doskonalenia świń poprzez bezpośredni wybór genów lub regionów chromosomów zawierających geny, które wpływają na cechy będące przedmiotem zainteresowania (Dekkers i Rothschild, 2007). Z tego też względu badania prowadzone w ostatnich latach na trzodzie chlewnej były skoncentrowane między innymi na poszukiwaniu genów kandydujących do warunkowania poziomu tego tłuszczu w tkance mięsnej.

Dotychczasowe badania dotyczące tej tematyki wskazują, że cechy odtuszczenia są wa-

runkowane poligenowo. Wyniki licznych badań wskazują na to, że loci cech ilościowych (QTL – ang. *Quantitative Trait Loci*) dla nich są zlokalizowane na kilku chromosomach: 1, 2, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 14 i 18 (Świtoński i in., 2003). Główne kierunki poszukiwania genetycznego podłoża depozycji IMF to analiza struktury genomu, analizy polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP – ang. *Single Nucleotide Polymorphism*) oraz analiza ekspresji poszczególnych genów w tkankach. Wiele różnych genów zostało zidentyfikowanych jako mające związek z zawartością IMF. Znaczna liczba badaczy skupiała się jednak przede wszystkim na genach z grupy FABP (ang. *Fatty Acid Binding Protein*), kodujących białka wiążące kwasy tłuszczowe. Gerbens jako pierwszy zainicjował badania nad markerami genetycznymi dla zawartości IMF (Gerbens i in., 1997). Badacz ten zasugerował, że gen H-FABP (ang. *Heart-type Fatty Acid Binding Protein*) może być odpowiedzialny za występowanie genetycznych różnic dla tej cechy. Wpływ tego genu na zawartość IMF został wykazany u czysto rasowych zwierząt hodowlanych rasy Duroc, a także u mieszańców z udziałem rasy Duroc (Gerbens i in., 1997). Kolejne badania z tego zakresu wykazały, że zależność taka potwierdziła się również u innych ras świń hodowanych w Austrii: Pietrain, Large White i Landrace (Nechtelberger i in., 2001), lokalnych ras hodowanych w Chinach: Neijiang, Rongchang, Hanjiang Black, Hanzhong White, Bamei, Yanan, Jinhua (Wei-Jun i in., 2006; Chen

* Wiad. Zoot., 2015, 4: 50–56; 2016, 1: 92–98.

i in., 2014) oraz Berkshire (Lee i in., 2010) i Yorkshire (Cho i in., 2011). W naszym kraju badania w tym zakresie prowadzono na rasach: Duroc, Pietrain, puławska, wielka biała polska, Polish Landrace (Tyra i in., 2011) i złotnicka pstra (Jankowiak i in., 2010). Tak duża liczba badań w obrębie jednego genu wymagała przeprowadzenia ich głębszej analizy.

Gen *FABP3* u świń jest umiejscowiony na 6 chromosomie. Jego ekspresja zachodzi w różnych tkankach, ale przede wszystkim w tkance mięśniowej serca oraz szkieletowej. Gen ten należy do rodziny wielogenowej i pełni istotną rolę w procesie β -oksydacji. Produkowane przez niego białko jest odpowiedzialne za transport i wewnątrzkomórkowy metabolizm długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Może być również odpowiedzialne za modulowanie wzrostu i proliferacji komórek. Poszukiwania w kierunku warunkowania zróżnicowanego poziomu IMF w mięsie świń w obrębie tego genu były prowadzone dla następujących polimorfizmów: polimorfizmu identyfikowanego enzymem restrykcyjnym *HinfI* (c.103C>T) zlokalizowanego w regionie 5'UTR, polimorfizmu identyfikowanego enzymem *HaeIII* (c.1811G>C) umiejscowionego w intronie 2 oraz enzymem *MspI* zlokalizowanym w tym samym intronie. Jankowiak i in. (2010) wykazali występowanie różnic pomiędzy polimorfizmem w locus *H-FABP/HinfI* a jakością tuszy i mięsa (w tym zawartością IMF). Wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach rasy złotnickiej pstrej wykazały, że mięso tuczników o genotypie *hh* odznacza się wyższą zawartością IMF w porównaniu do mięsa tuczników o genotypie *HH* ($P \leq 0,05$). Przeprowadzone przez wspomnianych autorów analizy dla innych cech użytkowych ważnych z hodowlanego punktu widzenia (takich jak np. grubość słoniny) nie wykazały istotnych zależności, co jest informacją pozytywną i daje możliwość wykorzystania tej mutacji jako markera genetycznego w procesie selekcji. Podobny rezultat, jeżeli chodzi o zawartość IMF, uzyskali Tyra i Ropka-Molik (2011) w badaniach nad polimorfizmem *HinfI FABP3:c.103C>T*. Mięso pochodzące od świń o genotypie *hh* odznaczało się wyższą zawartością IMF w porównaniu do mięsa pochodzącego od świń o genotypie *HH* ($P \leq 0,01$), jednocześnie istotnie negatywnie rzutując na wskaźniki związane z odtuszcze-

niem tuszy (grubość słoniny okrywowej). Jest to niekorzystna informacja hodowlana, bowiem obie cechy odtuszczenia ważne z hodowlanego punktu widzenia są antagonistyczne względem siebie, co jest niezgodne z aktualnym programem hodowlanym dla trzody chlewnej. Z kolei, badania przeprowadzone przez Lee i in. (2010) na świnich rasy Berkshire, jak i przez Chen i in. (2014) na rasach *DLY* i *Yanan* wskazały, że osobniki o genotypie *HH* odznaczają się wyższą zawartością IMF niż te o genotypie *hh*. Van Cuong i in. (2013) wykazali istnienie różnic pomiędzy polimorfizmem w locus *H-FABP/HaeIII* a zawartością IMF. Badania przeprowadzone na świnich rasy *NBP* wskazały, że mięso pochodzące od osobników o genotypie *dd* charakteryzuje się wyższą zawartością IMF w porównaniu do mięsa pochodzącego od osobników o genotypie *DD* ($P \leq 0,05$). Podobną zależność zaobserwowali Lee i in. (2010) w badaniach przeprowadzonych na świnich rasy Berkshire. Z kolei Tyra i Ropka-Molik (2011), prowadząc badania na zróżnicowanym rasowo materiale uzyskali odmienne wyniki. Mięso świń o genotypie *DD* charakteryzowało się wyższą zawartością IMF niż pochodzące od świń o genotypie *dd* ($P \leq 0,01$). Istnieją jednak również badania, przeprowadzone m.in. przez zespoły badawcze Urbana i in. (2002) nad polimorfizmem w locus *H-FABP/HinfI* oraz Árnýasi i in. (2006) nad polimorfizmem *H-FABP/HinfI* i *H-FABP/HaeIII*, w których nie wykazano oddziaływania danego genotypu na którykolwiek z badanych parametrów mięsa wieprzowego (w tym na zawartość IMF czy grubość tłuszczu okrywowego). Analizę kolejnego polimorfizmu, a mianowicie *H-FABP/MspI* (intron 2), wykazującego związek z zawartością IMF przeprowadzili Lee i in. (2010). Z badań przez nich prowadzonych wynika, że wyższą zawartością IMF cechowało się mięso pochodzące od tuczników o genotypie *aa* niż od osobników o genotypie *AA* ($P \leq 0,05$). Taką samą zależność uzyskali również Gerbens i in. (2001) w badaniach na mięsie pochodzącym od mieszańców *Large White x (Large White x Landrace)*, jednak obserwowane zależności nie potwierdziły się w poziomie ekspresji tego genu, jak i ilości produkowanego białka. Jak przedstawiono powyżej, liczne badania w obrębie tego genu nie zaowocowały jednoznacznymi wnioskami, które mogłyby być wykorzystane w prak-

tyce hodowlanej. Analiza trzech mutacji tego genu wykazała zróżnicowane oddziaływanie poszczególnych form polimorficznych na poziom IMF w zależności od badanej rasy, a nawet populacji w obrębie rasy. Uzyskane wyniki nie są jednoznaczne. W przypadku niektórych polimorfizmów obserwowano brak kierunkowego przełożenia (polimorfizm – poziom ekspresji – poziom białka – poziom IMF), co może wykluczać przyczynowy charakter tych mutacji. Należałoby zatem dla tego genu poszukać nowych mutacji w regionach kodujących lub promotorowych i dokonać stosownych analiz porównawczych.

Gen *A-FABP* (u świń również zlokalizowany na chromosomie 6), którego produkt zaangażowany jest w magazynowanie i przemiany tłuszczu w organizmie, został zakwalifikowany jako gen kandydujący dla cech jakości mięsa. Jego ekspresja zachodzi w adipocytach i makrofagach (Gao i in., 2011). Ponadto, gen ten może pełnić istotną rolę w utrzymaniu równowagi pomiędzy lipolizą i lipogenezą w adipocytach. Białko będące produktem tego genu wiąże długołańcuchowe kwasy tłuszczowe oraz kwas retinowy i uczestniczy w ich transporcie i prezentowaniu ich odpowiednim receptorom w jądrze komórkowym. Dotychczasowe badania nie wykazały jednak ścisłego związku między mutacjami tego genu a poziomem tłuszczu śródmięśniowego w mięsie. Jedynie Gao i in. (2011) wykazali związek pomiędzy polimorfizmem A3481C zlokalizowanym w intronie 1, a zawartością IMF. Wyniki przez nich uzyskane wskazują na istotne różnice w zawartości IMF pomiędzy genotypami (CC<CD<DD).

Na tym samym chromosomie co gen *FABP3* (H-FABP) i *FABP4* (A-FABP) u świń zlokalizowany jest również gen *LEPR* kodujący receptor leptyny, należący do receptorów dla cytokin klasy I. Białko kodowane przez ten gen jest wydzielane przede wszystkim przez komórki tłuszczowe (adipocyty) i odgrywa istotną rolę w regulacji pobierania pokarmu oraz gospodarki energetycznej organizmu. U człowieka mutacje w tym genie są związane z występowaniem otyłości oraz dysfunkcji mózgowej. U zwierząt gospodarskich niektóre polimorfizmy w obrębie tego genu zostały powiązane z procesem odkładania tłuszczu, jak i z wpływem na zawartość IMF. Li i in. (2010) wykazali, że polimorfizm *LEPR/AvaII*, występujący w eksonie 20 ma

związek z zawartością IMF. Mięso zwierząt o genotypie 12 charakteryzowało się wyższą zawartością IMF niż tych o genotypach 11 i 22 ($P \leq 0,05$). Z drugiej strony, obserwowane różnice pomiędzy poszczególnymi grupami (genotypami) nie są na tyle wysokie, aby wspomniana mutacja została wykorzystana w hodowli (selekcji). Badania przeprowadzone przez Tyrę i Ropkę-Molik (2011) także wykazały związek polimorfizmu *HpaII* tego genu z zawartością IMF. Mięso pochodzące od tuczników o genotypie BB wykazywało wyższą zawartość IMF niż pochodzące od tuczników o genotypie AB ($P \leq 0,01$). Frekwencja pożądanego genotypu (BB) była jednak w analizowanej grupie zwierząt na tyle wysoka, że w dłuższej perspektywie czasowej także uniemożliwiałaby wykorzystanie tej mutacji w selekcji opartej na markerach genetycznych.

Badania prowadzone w ostatnich latach w kierunku poszukiwania genów kandydujących, mających mieć potencjalny związek z zawartością IMF pokazują, że coraz większa liczba genów jest brana pod uwagę. Cánovas i in. (2010) przeprowadzili badania na świnich rasy Duroc. Obiektem ich zainteresowania był polimorfizm c.807A>G, zlokalizowany w eksonie 9 genu *HMGCR* (chromosom 2). Produktem tego genu jest enzym reduktaza HMG-CoA (reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-koenzymu A), ograniczająca syntezę cholesterolu *de novo*. Jej aktywność jest regulowana przez ujemne sprzężenie zwrotne za pośrednictwem steroli i niesteroidowych metabolitów, pochodnych mewalonianu, będącego produktem reakcji katalizowanej przez reduktazę.

Wyniki przez nich uzyskane wskazują, że mięso osobników o genotypie AA zawierało istotnie więcej tłuszczu śródmięśniowego. Niekorzystne zmiany w poziomie tego tłuszczu są warunkowane przez allel G. Podobnie jak w przypadku polimorfizmu *LEPR/HpaII*, obserwowano wysoką frekwencję pożądanego genotypu (AA), co także ogranicza zastosowanie tej mutacji w pracach selekcyjnych. Ponadto, w badaniach tych autorów obserwowano brak kierunkowego oddziaływania związanego z poziomem ekspresji poszczególnych form polimorficznych w wątrobie i mięśniach, a obserwowanym poziomem IMF w mięsie.

Hirose i in. (2011) prowadzili badania na tej samej rasie świń, jednak poddali analizie gen

PIK3C3, umiejscowiony na chromosomie 6. Produktem tego genu jest kinaza fosfatydylo-3-inozytoli, która katalizuje fosforylację fosfolipidów inozytoli do cząsteczki fosfatydyloinozytolo-3-fosforanu (PIP3), który bierze udział w aktywacji wielu procesów komórkowych (m.in. wzrostu, proliferacji, różnicowania, przeżycia, migracji oraz transportu wewnątrzkomórkowego). Badacze ci wykazali istnienie zależności pomiędzy polimorfizmem C2604T zlokalizowanym w eksonie 24 a zawartością IMF. Mięso od zwierząt, które posiadały w swoim genotypie allel C, charakteryzowało się wyższą zawartością IMF w porównaniu do zwierząt o genotypie TT ($P \leq 0,05$). Należy jednak zaznaczyć, że ten korzystny allel niesie równocześnie niepożądany efekt w postaci wzrostu poziomu tłuszczu okrywowego, co nie jest korzystne z hodowlanego i ekonomicznego punktu widzenia oraz nie jest zgodne z aktualnym kierunkiem programu hodowlanego krajowej populacji zarodowej trzody chlewnej.

Gen *ANK1* (Ankyrin 1) umiejscowiony na chromosomie 17 również został wytypowany jako mający związek z cechami jakości mięsa. Ankyriny to rodzina białek strukturalnych. Ekspresja tego białka zachodzi m.in. w erytrocytach, mięśniach oraz mózgu. W komórkach mięśniowych i mózgu *ANK1* wykazuje podobne funkcje. Wiążąc się do innych białek błonowych odgrywa rolę w stabilizacji, przemieszczaniu się komórek oraz innych funkcjach komórkowych. Aslan i in. (2012) przeprowadzili badania nad polimorfizmem w locus *ANK1/g.2726G>A* (region promotowy) na tucznikach kilku ras. Wyniki tych badań dla rasy Large White wskazują, że mięso zwierząt o genotypie 22 charakteryzuje się wyższą zawartością IMF w porównaniu do osobników o genotypie 11 ($P \leq 0,05$), jednakże analogicznych spostrzeżeń nie odnotowano w stosunku do dwu pozostałych ras (Duroc i Pietrain), które także były przedmiotem wspomnianych badań.

Kolejnym genem, który wzbudził zainteresowanie badaczy był gen *DIO3* (zlokalizowany na chromosomie 7), który odgrywa główną rolę w metabolizmie trójiodotyroniny (T3), głównego hormonu tarczycy u człowieka. T3 pełni istotną rolę w procesie wzrostu i rozwoju organizmu. Qiao i in. (2012) w swoich badaniach wykazali związek polimorfizmu A/C⁶⁸⁷

w populacji mieszańców LW x Meishan z zawartością IMF. Mięso pochodzące od tuczników o genotypie AC zawierało najwięcej IMF w porównaniu z mięsem pochodzącym od tuczników o genotypach AA i CC ($P \leq 0,01$). Równocześnie pożądanym genotypem przekładał się na obniżenie innych wskaźników ważnych z hodowlanego i ekonomicznego punktu widzenia. Jednocześnie gen ten jest obciążony imprintingiem ojcowskim, co ogranicza jego wykorzystanie w selekcji.

Zmapowany na chromosomie 5 u świń gen *ATP5B* również wykazuje związek z cechami jakości mięsa. Gen ten koduje syntazę ATP, znajdującą się w wewnętrznej błonie mitochondriów, która odpowiada za katalizowanie syntezy ATP. Energia niezbędna do tego procesu pochodzi z gradientu elektrochemicznego protonów przechodzących przez błonę wewnętrzną podczas fosforylacji oksydacyjnej. Xu i in. (2013) wykazali istotnie wyższą zawartość IMF w mięsie pochodzącym od mieszańców LW x Meishan (polimorfizm G75A) o genotypie AA niż w mięsie osobników o genotypie GG ($P \leq 0,05$). Należy jednak zaznaczyć, że w populacjach ras wysokoprodukcyjnych korzystny allel A praktycznie nie występuje. Odwrotną sytuację obserwowali wspomniani wyżej badacze w rasie Meishan. Tak więc, wykorzystanie zdobytej wiedzy jest ograniczone jedynie do tworzenia krzyżówek ras wysokoprodukcyjnych z rasami prymitywnymi, charakteryzującymi się obecnością allelu A.

Kolejnymi badaniami objęto gen *ACSL4* zlokalizowany na chromosomie X, odgrywający istotną rolę w biosyntezie lipidów, jak i degradacji kwasów tłuszczowych. Chen i in. (2014) wykazali istnienie zależności pomiędzy polimorfizmem w locus *ACSL4/RsaI* (w regionie 3'UTR) w populacji mieszańców DLY a zawartością IMF. Osobniki posiadające w swoim genotypie allel G wykazywały istotnie wyższą zawartość IMF w mięsie niż zwierzęta o genotypie AA ($P \leq 0,05$). Ograniczeniem wykorzystania tej mutacji w praktyce jest wysoka frekwencja korzystnego allelu w badanej populacji.

Korzystne w zakresie poszukiwań genetycznych mechanizmów warunkowania poziomu IMF w mięsie świń mogą być wyniki badań Ren i in. (2014). Obiektem przeprowadzonych przez tych naukowców badań był gen *ANGPTL4* umiejscowiony na chromosomie 2, kodujący

Tabela 1. Zestawienie wpływu polimorfizmu wybranych genów na poziom tłuszczu śródmięśniowego (IMF) i wybrane parametry tuszy świń (cz. 1)
 Table 1. The effect of selected genes polymorphism on intramuscular fat (IMF) content and other carcass parameters of pigs (Part 1)

Gen Gene	Enzym restrykcyjny (pozycja SNP) Restriction enzyme (polymorphism)	Autorzy (rok publikacji) Reference	Rasa Breed	IMF % Effect on IMF content (%)	Grubość stoininy (cm) Effect on backfat thickness (cm) % zawartość mięsa w tuszy Lean meat percentage
<i>ACSL4</i>	<i>RsaI</i> (G2645A)	Chen i in. (2014)	DLY	AA 2,10 a AG 2,24 ab GG 2,53 b	AA 1,43 AG 1,63 GG 1,68
<i>ANGPTL4</i>	(G2737A)	Ren i in. (2014)	LW x Meishan	AA 3,841 a AB 3,738 b BB 3,627 ab	
<i>ANK1</i>	(g.-272G>A)	Aslan i in. (2012)	LW	11 0,94 a 12 1,13 b 22 2,26 b	
<i>ATP5B</i>	(G75A)	Xu i in. (2013)	LW x Meishan	AA 3,923 a AG 3,686 a GG 3,663 b	AA 0,276 a AG 0,258 a GG 0,238 b
<i>DIO3</i>	<i>AcyI</i> (A/C ⁶⁸⁷)	Qiao i in. (2012)	LW x Meishan	AA 3,615 AB AC 3,772 A CC 3,619 B	AA 1,846 a AC 2,011 ab CC 2,041 b AA 0,549 a AG 0,542 b GG 0,543 b

Tabela 2. Zestawienie wpływu polimorfizmu wybranych genów na poziom tłuszczu śródmięśniowego (IMF) i wybrane parametry tuszy świń (cz. 2)
 Table 2. The effect of selected genes polymorphism on intramuscular fat (IMF) content and other carcass parameters of pigs (Part 2)

Gen Gene	Enzym restrykcyjny (pozycja SNP) Restriction enzyme (polymorphism)	Autorzy (rok publikacji) Reference	Rasa Breed	IMF % Effect on IMF content (%)		Grubość stoiny (cm) Effect on backfat thickness (cm) % zawartość mięsa w tuszy Lean meat percentage	
				DD	Dd	DD	Dd
FABP3 (H-FABP)	<i>HaeIII</i> (c.1811G>C)	Lee i in. (2010)	Berkshire	2,83	3,03	2,397	2,420
		Van Cuong i in. (2013)	NBP	3,70 a	3,86 a	3,405 b	3,441 b
		Tyra i Ropka-Molik (2011)	PLW, PL i DIF	2,00 B	1,96 b	1,75 b	1,72
	<i>HinfI</i> (g.103C>T)	Lee i in. (2010)	Berkshire	HH	Hh	HH	Hh
		Chen i in. (2014)	DLY	3,39 a	2,76 b	2,423	2,379
		Yanan	5,17 A	3,97 a	3,49	3,45	3,73
		Jankowiak i in. (2010)	Złotnicka Pstra	1,99 a	2,28 ab	2,48	2,85
	(c.103C>T)	Tyra i Ropka-Molik (2011)	PLW, PL i DIF	1,78 B	1,91 B	1,54 b	1,76
		<i>MspI</i> (T1556C)	Lee i in. (2010)	AA	Aa	AA	Aa
			Gerbens i in. (2001)	LWx(LWxL)	3,09 b	3,05 b	2,430
FABP4 (A-FABP)	(A3481C)	Gao i in. (2011)	Jummu	CC	CD	DD	
				2,165 a	2,483 b	2,849 c	

Tabela 3. Zestawienie wpływu polimorfizmu wybranych genów na poziom tłuszczu śródmięśniowego (IMF) i wybrane parametry tuszy świń (cz. 3)
 Table 3. The effect of selected genes polymorphism on intramuscular fat (IMF) content and other carcass parameters of pigs (Part 3)

Gen Gene	Enzym restrykcyjny (pozycja SNP) Restriction enzyme (polymorphism)	Autorzy (rok publikacji) Reference	Rasa Breed	IMF % Effect on IMF content (%)			Grubość stoniny (cm) Effect on backfat thickness (cm) % zawartość mięsa w tuszy Lean meat percentage		
HMGCR	<i>HhaI</i> (c.807A>G)	Cánovas i in. (2010)	Duroc	AA	AG	GG	AA	AG	GG
				5,66 a	5,17 b	4,72 b	40,65	40,94	39,33
LEPR	<i>AvalI</i> (c.2856C>T)	Li i in. (2010)	KNP x Yorkshire	11	12	22			
				1,070 a	1,072 a	1,062 b			
	<i>HpaII</i>	Tyra i Ropka-Molik (2011)	PLW, PL i DIF	AA	AB	BB	AA	AB	BB
				1,74 A	2,11 B			1,62	1,78
MYPN	<i>SphI</i> (231(G/A))	Zhai i in. (2010)	Yorkshire (Y)	AA	AG	GG			
				1,26	1,27 a	1,17 b			
	<i>Csp45 I</i> (298(G/T))	Zhai i in. (2010)	Landrace (L)	GG	GT	TT			
				1,21 A	1,23 A	1,40 B			
	<i>Afa I</i> (318(T/C))	Zhai i in. (2010)	Y x L	CC	CT	TT			
				1,41 A	1,25 Ba	1,16 Bb			
PIK3C3	Hpy81 (C2604T)	Hirose i in. (2011)	Duroc	TT	TC	CC	TT	TC	CC
				3,88 a	4,71 b	4,70 b	1,57 a	1,64 a	1,72 b

DLY – Duroc x (Landrace x Yorkshire); NBP – Native Black Pig of Vietnam; PLW – Polish Large White; PL – Polish Landrace; KNP – Korean Native Pig.

białko mogące hamować aktywność lipazy lipoproteinowej (LPL) (kierującej procesem lipolizy i lipogenezy) przez konwersję dimerów LPL do monomerów i stymulowanie lipolizy w tkance tłuszczowej. Białko to jest ponadto zaangażowane w regulację homeostazy glukozy, metabolizm lipidów oraz insulinowrażliwość. Wyniki przeprowadzonych badań wskazały na związek pomiędzy mutacją *G2737A*, zlokalizowaną w intronie 3 a zawartością IMF. Najwyższą zawartością tego tłuszczu charakteryzowało się mięso pochodzące od tuczników o genotypie AA, a najniższą – o genotypie BB ($P \leq 0,05$). Jednakże, należałoby te korzystne doniesienia potwierdzić analizą tego genu na populacjach świń wysokoprodukcyjnych, gdzie problem poziomu IMF jest szczególnie istotny.

Również duże nadzieje w związku z warunkowaniem genetycznym różnic w poziomie tłuszczu śródmięśniowego (IMF) związane są z genem *MYPN*, u świń umiejscowionym na chromosomie 14. Białko o masie 145 kDa, kodowane przez ten gen, nosi nazwę myopalladin. Jest to białko sarkomerowe, które wiąże nebulinę (w mięśniach szkieletowych) i izoform białka nebuliny – nebulette (w mięśniu sercowym) do α -aktyliny w linii Z. Zhai i in. (2010) wykryli 3 polimorfizmy w regionie 3'UTR mające związek z zawartością IMF. W przypadku pierwszego polimorfizmu – 231 (G/A) najlepsze parametry pod względem poziomu IMF uzyskało mięso pochodzące od osobników heterozygotycznych (AG). Bardziej obiecujące są kolejne dwa polimorfizmy. Polimorfizm 298 (G/T) statystycznie wysoko istotnie różnicował zwierzęta pod względem interesującego nas parametru. Obserwowano w tym przypadku negatywny wpływ allelu G (świnie o genotypie TT uzyskały najwyższą zawartość IMF). Trzeci z analizowanych polimorfizmów tego genu – 318 (T/C) najbardziej różnicował badaną populację pod względem tego wskaźnika. Obserwowano statystycznie wysoko istotny gradient poziomu IMF w analizowanym mięsie (CC>CT>TT). Badania tych autorów przynoszą jak najbardziej korzystne wyniki, jednakże należałoby je potwierdzić na szerszej grupie badawczej krajowej populacji i jednocześnie przeprowadzić analizy dla innych cech produkcyjnych, ważnych z hodowlanego punktu widzenia, aby wykluczyć ewentualny antagonizm pomiędzy nimi.

Osiągnięcia z zakresu transkryptomiki, dzięki zastosowaniu wysokoprzepustowych technik dają możliwość przeprowadzenia badań przesiewowych jednoczesnej ekspresji wielu genów w danej tkance. Szczególne zainteresowanie budzi tematyka rozwoju złożonych cech fenotypowych warunkowanych przez interakcje genetyczno-środowiskowe, a do takich właśnie cech zaliczamy jakość mięsa. Damon i in. (2013) przeprowadzili przy użyciu techniki mikromacierzy ekspresyjnych badania, mające na celu identyfikację biomarkerów dla wybranych cech jakości mięsa wieprzowego (w tym zawartości IMF). Badania przez nich przeprowadzone umożliwiły wskazanie 2219 genów związanych z zawartością IMF. Większość z nich należała do szlaków metabolizmu białek syntezy DNA, glikolizy, katabolizmu lipidów i włókien mięśniowych. Ponadto, badacze ci wybrali 40 genów spośród wszystkich uzyskanych po zastosowaniu techniki mikromacierzy do ilościowego oznaczenia ekspresji przy użyciu techniki RT-PCR. Uzyskane przez nich wyniki wskazały szereg genów, potencjalnych biomarkerów związanych z zawartością IMF, a największy związek zaobserwowano w odniesieniu do genów: *ACACB*, *ITIH3* i *ADAMTS8*. Badania z zastosowaniem nowych osiągnięć z zakresu transkryptomiki wydają się być bardzo obiecujące, jakkolwiek potrzebna jest większa ilość takich badań, jak i objęcie nimi bardziej zróżnicowanego pod względem rasowym materiału badawczego.

Podsumowanie

Selekcja prowadzona w oparciu o markery genetyczne wydaje się być bardzo obiecująca dla programów hodowlanych, m.in. dlatego, że informacja może być określana na żywych zwierzętach i to już na wczesnym etapie ich życia. Jak wynika z przedstawionych powyżej przykładów badań, cechy jakości mięsa są istotne z ekonomicznego punktu widzenia i warunkowane przez wiele różnych genów. Prezentowane powyżej wyniki dowodzą złożoności warunkowania wskaźników związanych z odtuszczeniem i nie do końca poznanej roli wytypowanych genów w tym procesie, a także ich współdziałania z poszczególnymi narządami i tkankami. Część badaczy zajmujących się tym zagadnieniem sugeruje wręcz zmianę poglądu odnośnie znaczenia i roli tkanki tłuszczowej określa-

nej dotychczas jako bierne repozytorium energii do roli ważnego i aktywnego narządu wydzielania wewnętrznego. Jest to uzasadnione ze względu na dużą liczbę białek i hormonów wydzielanych w komórkach tłuszczowych (Ailhaud i in., 2006). O złożoności procesu lipogenezy niech świadczy liczba ponad 900 genów będących kandydatami do roli QTL i dla cech odfuszczenia (Świtoński i in., 2010).

Tak duża ilość genów zaangażowana w warunkowanie cech związanych z odfuszczeniem i ich wzajemne interakcje nie pozwoliły, jak dotychczas, na znalezienie jednego czynnika, który charakteryzowałby się dużym efektem. Pomimo braku zadowalających efektów w tym

zakresie należy kontynuować ten kierunek badań, bowiem nawet niewielkie oddziaływanie, jakie wykazywałby kandydujący gen, wspomagane nowoczesnymi metodami oceny wartości hodowlanej, może teoretycznie przynieść korzystne zmiany w poziomie tłuszczu śródmięśniowego doskonałej populacji.

Tak więc, prowadzenie dalszych prac w kierunku identyfikacji markerów genetycznych (przede wszystkim wśród genów zaangażowanych w metabolizm kwasów tłuszczowych w mięśniach i tkance tłuszczowej) dla cech jakości mięsa wieprzowego – w tym jakże istotnej cechy, jaką jest zawartość IMF w mięsie – jest konieczne.

Literatura

- Ailhaud G., Massiera F., Alessandri J.M., Guesnet P. (2007). Fatty acid composition as an early determinant of childhood obesity. *Genes Nutr.* 2 (1): 39–40.
- Árnyasi M., Grindflek E., Jávora A., Lien S. (2006). Investigation of two candidate genes for meat quality traits in a quantitative trait locus region on SSC6: the porcine short heterodimer partner and heart fatty acid binding protein genes. *J. Anim. Breed. Genet.*, 123: 198–203.
- Aslan O., Hamill R.M., Mullen A.M., Davey G.C., Gil M., Gladney C.D., Sweeney T. (2012). Association between promoter polymorphisms in a key cytoskeletal gene (Ankyrin 1) and intramuscular fat and water-holding capacity in porcine muscle. *Mol. Biol. Rep.*, 39: 3903–3914.
- Cánovas A., Quintanilla R., Gallardo D., Díaz I., Noguera J.L., Ramírez O., Pena R.N. (2010). Functional and association studies on the pig HMGR gene, a cholesterol-synthesis limiting enzyme. *Animal*, 4 (2): 224–233.
- Chen J.N., Jiang Y.Z., Cen W.M., Xing S.H., Zhu L., Tang G.Q., Li M.Z., Jiang A.A., Lou P.E., Wen A.X., Wang Q., He T., Zhu G.X., Xie M., Li X.W. (2014). Distribution of *H-FABP* and *ACSL4* gene polymorphisms and their associations with intramuscular fat content and backfat thickness in different pig populations. *Gen. Mol. Res.*, 13 (3): 6759–6772.
- Cho K.H., Kim M.J., Jeon G.J., Chung H.Y. (2011). Association of genetic variants for *FABP3* gene with back fat thickness and intramuscular fat content in pig. *Mol. Biol. Rep.*, 38: 2161–2166.
- Cuong N. Van, Thi Dieu Thuy N., Thi Thu N., Van Anh N., Quoc Tuyen N. (2013). Genetic variation of the heart fatty acid-binding protein gene and their associations with meat quality in Native Black Pig of Vietnam. *Bulgarian J. Agr. Sci.*, 19 (5): 897–902.
- Damon M., Denieul K., Vincent A., Bonhomme N., Wyszynska-Koko J., Lebret B. (2013). Associations between muscle gene expression pattern and technological and sensory meat traits highlight new biomarkers for pork quality assessment. *Meat Sci.*, 95: 744–754.
- Dekkers J., Rothschild M. (2007). New tools to make genetic progress. *Proc. London Swine Conference: Today's challenges... Tomorrow's Opportunities.* 3–4 April 2007, London, pp. 53–63.
- Gao Y., Zhang Y., Zhang S., Li F., Wang S., Dai L., Jiang H., Xiao S., Liu D., Sun B., Zhao Z., Zhang J. (2011). Association of *A-FABP* gene polymorphism in intron 1 with meat quality traits in Junmu No. 1 white swine. *Gene*, 487: 170–173.
- Gerbens F., Rettenberger G., Lenstra J.A., Veerkamp J.H., Te Pas M.F. (1997). Characterization, chromosomal localization and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein gene. *Mamm. Genome*, 8: 328–332.
- Gerbens F., Verburg F.J., Moerkerk H.T.B. Van, Engel B., Buist W., Veerkamp J.H., te Pas M.F.W. (2001). Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs. *J. Anim. Sci.*, 79: 347–354.
- Hirose K., Takizawa T., Fukawa K., Ito T., Ueda M., Hayashi Y., Tanaka K. (2011). Association of an SNP marker in exon 24 of a class 3 phosphoinositide-3-kinase (*PIK3C3*) gene with production traits in Duroc pigs. *Anim. Sci. J.*, 82: 46–51.

- Jankowiak H., Sielska N., Kapelański W., Bocian M., Zmudzińska A. (2010). The effect of *H-FABP* polymorphism on carcass and meat quality in the Polish Native Złotnicka Spotted Pig. *J. Central Europ. Agr.*, 11, 4: 459–464.
- Lee S.H., Choi Y.M., Choe J.H., Kim J.M., Hong K.C., Park H.C., Kim B.C. (2010). Association between polymorphisms of the heart fatty acid binding protein gene and intramuscular fat content, fatty acid composition, and meat quality in Berkshire breed. *Meat Sci.*, 86: 794–800.
- Li X., Kim S.W., Choi J.S., Lee Y.M., Lee C.K., Choi B.H., Kim T.H., Choi Y.I., Kim J.J., Kim K.S. (2010). Investigation of porcine *FABP3* and *LEPR* gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content. *Mol. Biol. Rep.*, 37: 3931–3939.
- Nechtelberger D., Pires V., Sölkner J., Stur I., Brem G., Mueller M., Mueller S. (2001). Intramuscular fat content and genetic variants at fatty acid-binding protein loci in Austrian pigs. *J. Anim. Sci.*, 79: 2798–2804.
- Qiao M., Wu H.Y., Guo L., Mei S.Q., Zhang P.P., Li F.E., Zheng R., Deng C.Y. (2012). Imprinting analysis of porcine *DIO3* gene in two fetal stages and association analysis with carcass and meat quality traits. *Mol. Biol. Rep.*, 39: 2329–2335.
- Ren Z.Q., Wu W.J., Liu W.H., Zheng R., Li J.L., Zuo B., Xu D.Q., Li F.E., Lei M.G., Ni D.B., Xiong Y.Z. (2014). Differential expression and effect of the porcine *ANGPTL4* gene on intramuscular fat. *Genet. Mol. Res.*, 13 (2): 2949–2958.
- Świtoński M., Chmurzyńska A., Maćkowski M. (2003). Searching for genes controlling fatness traits in pigs – a review. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 21, 2: 73–86.
- Świtoński M., Stachowiak M., Cieślak J., Bartz M., Grześ M. (2010). Genetics of fat tissue accumulation in pigs: a comparative approach. *J. Appl. Genet.*, 51 (2): 153–168.
- Tyra M., Ropka-Molik K. (2011). Effect of the *FABP3* and *LEPR* gene polymorphisms and expression levels on intramuscular fat (IMF) content and fat cover degree in pigs. *Livest. Sci.*, 142: 114–120.
- Tyra M., Ropka-Molik K., Eckert R., Piórkowska K., Oczkiewicz M. (2011). *H-FABP* and *LEPR* gene expression profile in skeletal muscles and liver during ontogenesis in various breeds of pigs. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 40: 147–154.
- Urban T., Mikolášová R., Kuciel J., Ernst M., Ingr I. (2002). A study of associations of the *H-FABP* genotypes with fat and meat production of pigs. *J. Appl. Genet.*, 43 (4): 505–509.
- Wei-Jun P., Liang B., Gong-She Y. (2006). Relationship among *H-FABP* gene polymorphism, intramuscular fat content, and adipocyte lipid droplet content in main pig breeds with different genotypes in western China. *Acta Gen. Sin.*, 33 (6): 515–524.
- Xu H., Xu Y., Liang X., Wang Y., Jin F., Liu D., Ma Y., Yuan H., Song X., Zeng W. (2013). Porcine skeletal muscle differentially expressed gene *ATP5B*: molecular characterization, expression patterns, and association analysis with meat quality traits. *Mamm. Genome*, 24: 142–150.
- Zhai L.W., Wang L.X., Zhou W.L., Wang C.D. (2010). Association of the *MYPN* Gene polymorphism with meta quality in commercial pigs. *J. Anim. Vet. Adv.*, 9 (4): 705–709.

EFFECT ANALYSIS FOR GENES CONTROLLING INTRAMUSCULAR FAT (IMF) CONTENT IN PIGS AND POSSIBILITIES OF USING THEM IN SELECTION PROGRAMS – A REVIEW

Summary

Direct selection of genes or chromosomal regions containing genes responsible for IMF content gives us the opportunity to improve strategies for genetic improvement of pigs in this aspect. Fatness traits in pigs, are polygenic traits. Research has indicated that QTLs for fatness are located on numerous chromosomes. Also, many genes were indicated as being responsible for distribution of genetic differences for IMF content. The main research concerned genes which are members of the fatty-acid binding protein (FABP) family, mainly H-FABP and A-FABP. For the *H-FABP* gene, HinfI, HaeIII and MspI RFLP polymorphisms are reported to have association with IMF content in pigs. However, the research has not given a clear answer yet. The influence of polymorphic forms varied according to breed and population of animals. There was no full linear relationship between polymorphism – expression level – protein level – observed trait. Further research concerned such genes as: *LEPR*, *HMGCR*, *PIK3C3*, *ANK1*, *DIO3*, *ATP5B*, *ACSL4*, *ANGPTL4*, *MYPN* but also failed to produce groundbreaking results. The number of genes involved in fatness traits is large, but their functions and interactions are still not fully known. Meat quality traits are economically important. Marker-assisted selection seems to be promising for breeding programs because the information may be determined on live animals and at an early stage of their life. Previous research results are not sufficient to be used in breeding (selection) because one gene with strong effects has not been identified yet. Further research in this area is necessary.