

## **Polimorfizm genu PRNP rodzimych ras owiec w aspekcie podatności na trzęsawkę (scrapie)\***

**Agata Piestrzyńska-Kajtoch<sup>1</sup>, Aldona Kawęcka<sup>2</sup>, Grzegorz Smolucha<sup>1</sup>**

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy, <sup>1</sup>Dział Genomiki i Biologii Molekularnej Zwierząt, <sup>2</sup>Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt, 32-083 Balice k. Krakowa; agata.kajtoch@izoo.krakow.pl*

**P**rogram ochrony zasobów genetycznych owiec jest ważnym narzędziem ochrony bioróżnorodności tego gatunku. Od początku jego realizacji obserwuje się stały wzrost liczebności rodzimych ras owiec; obecnie wynosi ona ponad 63 tys. maciorek, co stanowi prawie 70% populacji aktywnej (PZO, 2017; [www.izoo.krakow/bioroznorodnosc/owce.pl](http://www.izoo.krakow/bioroznorodnosc/owce.pl)). Programem ochrony zasobów genetycznych owiec objętych jest 15 ras: należą do nich owce o wełnie mieszanej, do których zaliczamy świniarkę i wrzosówkę, cakła podhalańskiego, polską owcę górską odmiany barwnej; owce merynosowe – merynos w starym typie, merynos barwny; owce nizinne – wielkopolska, koridel, uhruska i żelaźnieńska; owce długowłniste – polska owca pogórza, pomorska, kamieniecka i olkuska oraz mięsna rasa – czarnogłówka. Hodowla rodzimych ras jest wspomagana dopłatami w ramach Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich.

Realizacji programu towarzyszą działania, które opierają się na wykorzystaniu pozaprodukcyjnej roli tego gatunku, takie jak ekstensywny wypas owiec jako forma ochrony przyrody, który służy zachowaniu cennych przyrodniczo obszarów. Związana z owczarstwem kultura lo-

kalnej społeczności wpływa na podniesienie atrakcyjności regionu. Pozytywnym aspektem hodowli zachowawczej jest rozwój działalności dotyczącej rynku produktów tradycyjnych i regionalnych, związanych bezpośrednio z lokalnymi rasami owiec. Obecnie na Liście Produktów Tradycyjnych zarejestrowanych jest kilkanaście produktów, wytwarzanych z mleka owiec górskich oraz mięsne produkty tradycyjne.

Utrzymanie i wzrost popytu na mięso, mleko i inne produkty pochodzenia owczego wymaga zapewnienia bezpieczeństwa i jakości tych produktów oraz stabilnej bazy genetycznej owiec z zachowaniem bioróżnorodności, przy jednoczesnym ograniczeniu potencjalnie niekorzystnych czynników genetycznych, np. powiązanych z różnymi chorobami. Ma to niezwykle istotne znaczenie szczególnie w rasach zachowawczych, których populacje charakteryzują się niską liczebnością, a selekcja, często skierowana na poprawę określonej grupy cech, może doprowadzić do zmniejszenia różnorodności genetycznej oraz ujawnienia się w populacjach rzadkich wariantów genów. Współczesne metody genetyki molekularnej umożliwiają identyfikację genów i mutacji odpowiedzialnych za cechy użytkowe i zdrowotne istotne dla produkcji zwierzęcej i bezpieczeństwa żywności oraz dają możliwość szybkiej i dość łatwej diagnostyki niektórych zidentyfikowanych cech. Wśród nich znalazła się genetyczna podatność/oporność na trzęsawkę owiec.

Trzęsawka (scrapie) to choroba neurodegeneracyjna owiec, należąca do grupy pasażalnych encefalopatii gąbczastych, która za-

\*Praca wykonana w ramach projektu „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016.

wsze kończy się śmiercią na skutek całkowitej, fizycznej i umysłowej niewydolności organizmu (Baylis i Goldmann, 2004). Trzęsawkę wywołuje akumulacja w mózgu patogennego białka prionowego (PrP<sup>Sc</sup>), tzw. białkowej cząstki zakaźnej (prion) w formie struktur włóknistych przypominających nieco płytki amyloidalne (ang. *scrapie associated fibrils* – SAF; prion rods). Agregacja i akumulacja prionów powoduje zamieranie komórek. Zamierające komórki nerwowe tworzą puste przestrzenie, przez co tkanka mózgu przypomina gąbkę (Karmysheva i in., 2004). Objawy tej choroby są niespecyficzne, co znacząco utrudnia jej rozpoznanie. Początkowo zmienia się zachowanie owiec, pogarsza się ich kondycja (utrata masy ciała, zaburzenia mleczności) i równowaga, potem obserwuje się gwałtowne i nagłe skurcze poszczególnych grup mięśniowych (mioklonie) oraz zaburzenia koordynacji ruchowej (ataksja). Diagnozę choroby prionowej potwierdza pośmiertne, histopatologiczne badanie wycinków mózgu i zastosowanie innych metod laboratoryjnych (tj. ELISA, Western-blot).

Trzęsawka owiec ma dwie postacie – klasyczną i atypową. Postać klasyczna różni się od atypowej m.in. profilem glikozylacji białka PrP (od którego zależy wzór elektroforetyczny białka), wrażliwością na trawienie enzymami (proteazami) oraz umiejscowieniem zmian patologicznych w mózgu (klasyczna: głównie pień mózgu; atypowa: głównie mózdzek i kora mózgowa) (Tranulis i in., 2011). Podatność na oba warianty choroby jest powiązana z polimorfizmem genu *PRNP*.

Priony są odporne na działanie enzymów proteolitycznych, wysoką temperaturę i promienie UV. Uważa się, że zakażenie może nastąpić na drodze pokarmowej, a u jagniąt również podczas porodu i laktacji. Choroba może też pojawić się spontanicznie (Baylis i Goldmann, 2004), a pierwsze objawy mogą wystąpić nawet po kilku latach od momentu kontaktu z patogennymi prionami. W latach 90. XX w. epidemię BSE (pasażowalna encefalopatia bydła) wywołało żywienie zwierząt mączkami mięsno-kostnymi. Obecnie uważa się, że to postać klasyczna trzęsawki naturalnie przenosi się pomiędzy zwierzętami (jest pasażowalna), a atypowa może być powodowana przez spontaniczne zmiany konformacji białka prionowego (Fast i Groschup, 2013; Greenlee

i West Greenlee, 2015).

Priony powstają na skutek zmian w konformacji występującego w zdrowych komórkach prawidłowego białka PrP<sup>C</sup> (ang. *cellular prion protein*), produkowanego przez organizm gospodarza, kodowanego przez gen *PRNP* (Prusiner, 1998). Gen *PRNP* znaleziono u wszystkich zbadanych pod tym kątem ssaków. Znaleziono liczne miejsca polimorficzne w kodującej części genu (Baylis i Goldmann, 2004; Piestrzyńska-Kajtoch i Rejduch, 2006). Stwierdzono, że zmienność kodującej części genu *PRNP*, której wynikiem jest polimorfizm aminokwasów białka PrP w kodonach 136, 154 i 171, jest powiązany z występowaniem klasycznej trzęsawki. Genotyp A<sub>136</sub>R<sub>154</sub>R<sub>171</sub>/ARR warunkuje oporność na klasyczną trzęsawkę, a genotypy z allelem VRQ znacząco zwiększają podatność na tę chorobę (Baylis i Goldmann, 2004). W krajach europejskich od lat były prowadzone programy monitoringu genotypów *PRNP*, mające na celu zwiększanie częstości genotypu ARR/ARR i zmniejszenie częstości genotypu VRQ/XXX w stadach owiec. Potwierdzono ich skuteczność. Z kolei, atypowa trzęsawka jest powiązana z allelem F w kodonie 141 i najczęściej występuje u owiec z allelami AL<sub>141</sub>HQ oraz AF<sub>141</sub>RQ. Pojawia się też u zwierząt posiadających allel ALRR, który warunkuje oporność na trzęsawkę klasyczną (Moum i in., 2005; Tranulis i in., 2011).

W pracy przedstawiono wstępne wyniki badań genotypów *PRNP* u owiec należących do programu ochrony zasobów genetycznych. Badanie zmienności genotypów genu *PRNP* w populacji i niedopuszczenie do rozrodu zwierząt o genotypach powiązanych z wysokim ryzykiem zachorowania na klasyczną trzęsawkę jest jednym z działań zapobiegających wystąpieniu tej postaci choroby.

## Material i metody

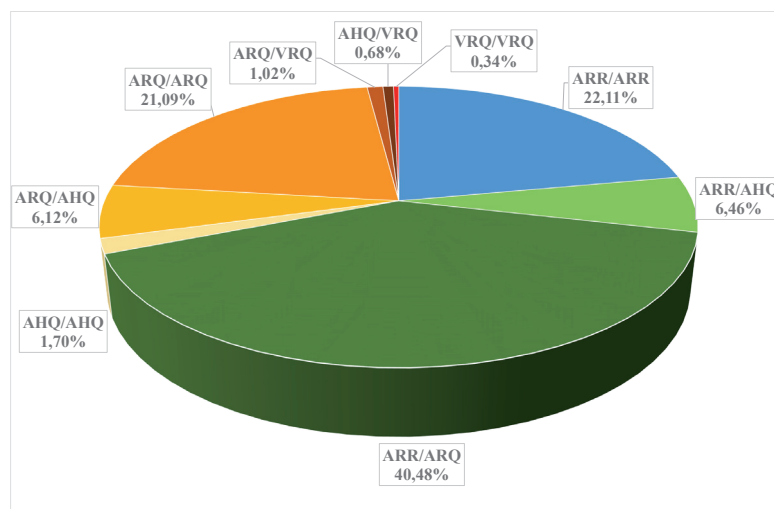
Polimorfizm genu *PRNP* zanalizowano u rodzimych ras owiec objętych programem ochrony zasobów genetycznych: merynos polski w starym typie (MST; 55 osobników), merynos polski barwny (MPB; 64), polska owca góraska (POG; 49), cakiel podhalański (CP; 72) i wrzosówka (WRZ; 54). Łącznie przebadano 294 osobniki. Do analizy wykorzystano DNA otrzymane

z próbek krwi z zastosowaniem kolumnowego zestawu do izolacji (Sherlock AX, *A&ABiotechnology*). W celu oznaczenia genotypów genu *PRNP* zastosowano dwie połączone i zmodyfikowane techniki, zaproponowane wcześniej przez Garcia-Crespo i in. (2004): polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP; z enzymem BspHI; oznaczanie kodonów 136 i 154) oraz dyskryminację alleli z sondami TaqMan MGB (oznaczanie kodonów 141 i 171) na aparacie StepOne-Plus Real-time PCR System (*Applied Biosystems*). Próbkę referencyjną zwalidowano poprzez sekwencjonowanie przy użyciu BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit i sekwenatora kapilarnego Genetic Analyzer 3500xl (*Applied Biosystems*). Wyniki zanalizowano w oprogramowaniu StepOne Software v2.3 (*Life Technologies*) dołączonym do aparatu StepOnePlus Real-time PCR System oraz w arkuszach kalkulacyjnych Excel (*Microsoft*).

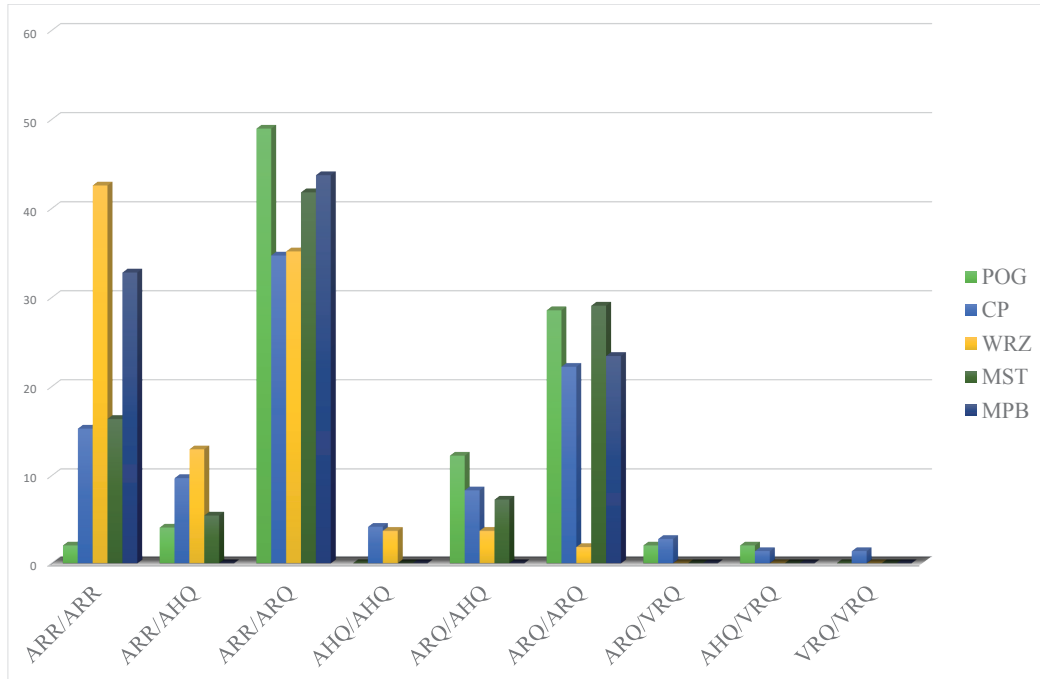
### Wyniki i ich omówienie

W badanej grupie zwierząt zidentyfikowaliśmy dziewięć różnych genotypów genu *PRNP*, a częstość ich występowania w poszczególnych rasach przedstawiliśmy na wykresie 1. Najczęściej obserwowanym genotypem był ARR/ARQ. Warunkujący oporność na klasyczną trzęsawkę genotyp ARR/ARR występował u około 22% wszystkich badanych owiec (wykres 1). Owca wrzosówka wydaje się być rasą najbardziej oporną na klasyczną trzęsawkę spośród wszystkich badanych ras, gdyż charakteryzuje się najwyższą

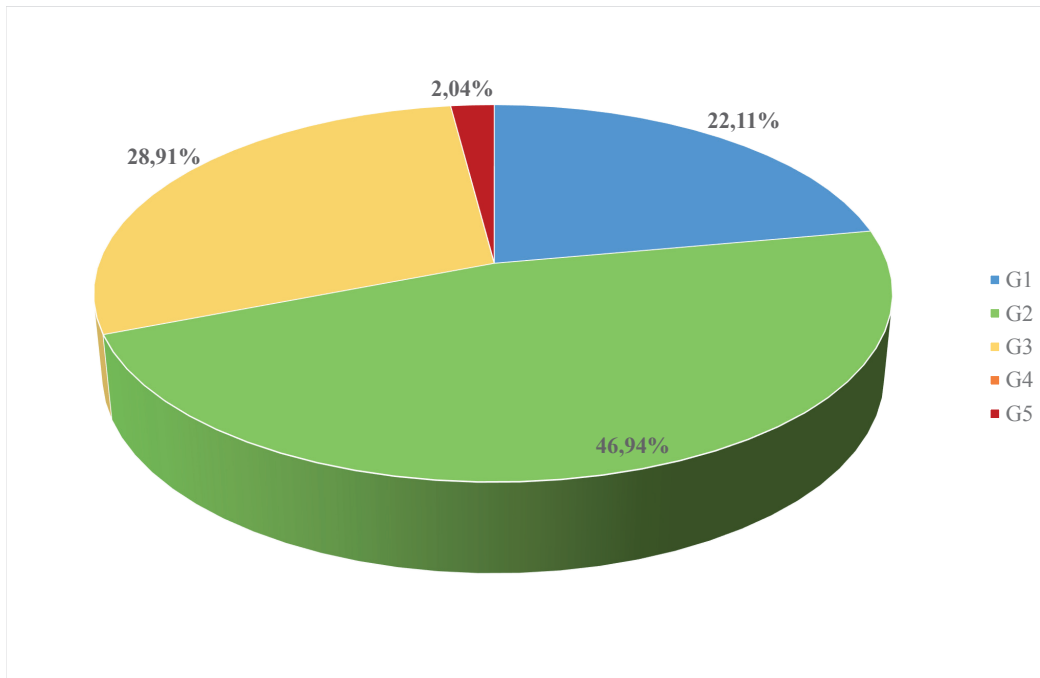
częstością genotypu ARR/ARR (42,6%) i nie występuje u niej allel VRQ (wykres 2). Brak allelu VRQ u owiec rasy wrzosówka został odnotowany także we wcześniejszych badaniach (Piestrzyńska-Kajtoch i in., 2009; Niżnikowski i in., 2014). Niekorzystny genotyp VRQ/VRQ zidentyfikowaliśmy tylko u jednej owcy rasy cakiel podhalański, a inne genotypy z allelem VRQ (XXX/VRQ) występowały u 5 osobników ras: cakiel podhalański i polska owca górska (wykresy 1 i 2). U cacka podhalańskiego zaobserwowaliśmy wszystkie stwierdzone w badaniach genotypy, a u polskiej owcy górskiej siedem, co wskazuje na wyższą zmienność tych ras w porównaniu do merynosa polskiego barwnego, u którego znaleźliśmy tylko trzy genotypy. Zaobserwowana różnorodność genotypów polskiej owcy górskiej jest sprzeczna z wynikami Wiśniewskiej i Mroczkowskiego (2010), którzy zaobserwowali u tej rasy tylko trzy genotypy: ARR/ARR, ARR/ARQ i ARQ/ARQ. Jednak, zwierzęta w badaniach własnych najprawdopodobniej pochodziły z innego regionu Polski, a w obu projektach liczba przebadanych osobników POG była niewielka (20 – Wiśniewska i Mroczkowski, 2010; 49 – badania własne). Wcześniejsze badania polskiej owcy górskiej przeprowadzone dla 464 owiec wskazywały, że w tej rasie występuje większa zmienność genu *PRNP* (Piestrzyńska-Kajtoch i in., 2009). Objęcie badaniami większej liczby owiec tej rasy pozwoli na precyzyjniejsze oszacowanie częstości genotypów w populacji POG.



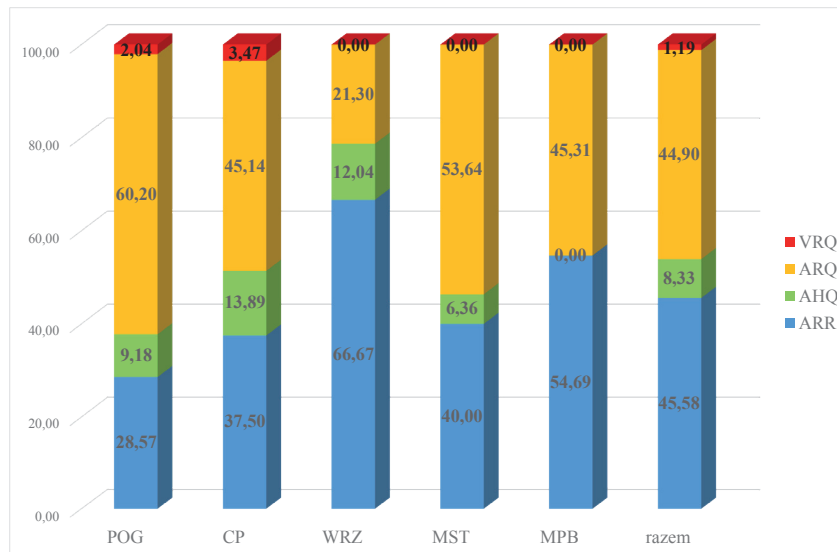
Wykres 1. Częstość genotypów *PRNP* w badanej grupie owiec  
 Fig. 1. *PRNP* genotype frequencies in studied group of sheep



Wykres 2. Częstość genotypów PRNP różnych ras owiec (%); POG – polska owca górska; CP – cakiel podhalański; WRZ – wrzosówka; MST – merynos polski w starym typie; MPB – merynos polski barwny  
 Fig. 2. PRNP genotype frequencies in different sheep breeds (%); POG – Polish Mountain sheep; CP – Podhale Zackel; WRZ – Wrzosówka; MST – Old type Polish Merino; MPB – Coloured Polish Merino



Wykres 3. Klasy ryzyka narażenia na klasyczną trzęsawkę w całej badanej grupie owiec (%); POG – polska owca górska; CP – cakiel podhalański; WRZ – wrzosówka; MST – merynos polski w starym typie; MPB – merynos polski barwny  
 Fig. 3. Classes of susceptibility to classical scrapie in all examined sheep (%); POG – Polish Mountain sheep; CP – Podhale Zackel; WRZ – Wrzosówka; MST – Old type Polish Merino; MPB – Coloured Polish Merino



Wykres 4. Częstość alleli genu PRNP w badanej grupie owiec (%); POG – polska owca góraska; CP – cakiel podhalański; WRZ – wrzosówka; MST – merynos polski w starym typie; MPB – merynos polski barwny  
 Fig. 4. PRNP gene allele frequencies in studied group (%); POG – Polish Mountain sheep; CP – Podhale Zackel; WRZ – Wrzosówka; MST – Old type Polish Merino; MPB – Coloured Polish Merino

W zależności od posiadanego genotypu, owce dzieli się na pięć grup ryzyka narażenia na klasyczną trzęsawkę (G1: ARR/ARR; G2: ARR/XXX; G3: XXX/XXX; G4: ARR/VRQ; G5: VRQ/VRQ i XXX/VRQ; gdzie XXX=ARQ, ARH lub AHQ), gdzie grupa G1 obejmuje osobniki o genotypie warunkującym najwyższą oporność, a grupa G5 – zwierzęta o genotypach warunkujących najwyższą podatność na zarażenie (DEFRA, 2003; Tongue i in., 2004). W badaniach własnych najczęściej owiec należało do grup G2 i G3, a najmniej do grupy G5 (wykres 3). W grupie G4 nie było żadnego osobnika. Podział na grupy narażenia dotyczy wyłącznie podatności na klasyczną trzęsawkę i nie ma znaczenia w przypadku trzęsawki atypowej (Fast i Groschup, 2013).

Frekwencje alleli różniły się w poszczególnych rasach. Stwierdziliśmy, że allel ARR był najczęściej występującym allelem w badanej populacji (ok. 45,6%; wykres 4). Jego frekwencja była szczególnie wysoka u owiec ras wrzosówka (66,7%) i merynos polski barwny (54,7%) i znacznie niższa u polskiej owcy górskiej (28,6%). Jednak, w całej badanej grupie jego częstość była tylko nieznacznie większa niż frekwencja znacznie mniej korzystnego allelu ARQ (44,9%). Nie wykryliśmy żadnego zwierzęcia z allelem ARH, chociaż obserwowano ten allel we wcześniejszych badaniach, m.in. u polskiej owcy górskiej

(Piestrzyńska-Kajtoch i in., 2009). Allel AHQ nie występował w ogóle u owiec rasy merynos polski barwny, a allel VRQ był nieobecny u wrzosówki i w obu badanych rasach merynosa polskiego (wykres 4). Niznikowski i in. (2016), badając 474 osobniki rasy MST zaobserwowali, że częstość allelu VRQ w tej rasie wynosi 0,6%. Różnica wynika prawdopodobnie z różnej liczby zwierząt objętych badaniami i zmiennością wewnątrz populacji. Allele o niskiej frekwencji mogą nie zostać znalezione przy zbyt małej liczbie zwierząt poddanych analizie. Niska częstość allelu VRQ (1,19%) w analizowanej grupie zwierząt świadczy o niskiej podatności na klasyczną trzęsawkę zwierząt objętych badaniami genetycznymi.

Niekorzystny allel F w kodonie 141, powiązany z występowaniem atypowej trzęsawki był obecny zaledwie u sześciu badanych owiec, po trzy w rasach polska owca góraska i merynos polski w starym typie. Allel ten występuje w konfiguracji z allelem ARQ (AFRQ) i dotychczas nie znaleziono go w powiązaniu z innymi wariantami polimorficznymi (Tranulis i in., 2011). Jego częstość wynosiła 2,04% w całej badanej grupie zwierząt oraz 5,77% i 6,12%, odpowiednio u ras MST i POG. Moum i in. (2005) przebadali około 5 tys. owiec z Norwegii i zaobserwowali, że częstość allelu AFRQ wynosiła 5,5% wśród owiec w stadach z odnotowanymi przypadkami atypo-

wej trzęsawki i 2,3% w grupie losowo badanych owiec po uboju. Niżnikowski i in. (2016) wykazali w badaniach ras merynos polski i merynos polski w starym typie, że częstość allelu AFRQ wynosiła 4,2% dla całej badanej grupy i 7,2% dla rasy MST.

Co roku Polska przesyła do Komisji Europejskiej raport dotyczący badań genotypowania trzęsawki owiec (określenia genotypu białka prionowego dla kodonów 136, 141, 154 i 171), zgodnie z pkt 8.2 rozdziału A załącznika III do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001 z dnia 22 maja 2001, ustanawiającym zasady dotyczące zapobiegania, kontroli i zwalczania niektórych przenośnych gąbczastych encefalopatii. Co więcej, w 2014 r. weszły w życie nowe zapisy załącznika VIII do Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001 z dnia 22 maja 2001, dotyczące handlu wewnątrzspółnotowego owiec i kóz (hodowla i tucz), ich nasienia i zarodków w aspekcie bezpieczeństwa związanego

z klasyczną trzęsawką. Mówią one m.in. o tym, że w przypadku, gdy kraj nie ma potwierdzonego statusu kraju wolnego od trzęsawki owiec lub zatwierdzonego krajowego programu zwalczania trzęsawki owiec, to owce przeznaczone na eksport do krajów wspólnoty muszą mieć genotyp ARR/ARR lub pochodzić z gospodarstw spełniających określone wymogi. Wiśniewska i Mroczkowski (2010) oszacowali, że osiągnięcie frekwencji genotypu ARR/ARR na poziomie 97% w populacji o początkowej frekwencji tego genotypu na poziomie 30–35%, wymaga sześciu pokoleń owiec poddawanych systematycznemu monitoringowi genotypu *PRNP* i selekcji z uwzględnieniem wyników tego monitoringu.

Z uwagi na rozporządzenia unijne i wyniki badań, monitoring genotypów *PRNP* powinien być kontynuowany z uwzględnieniem większej liczby osobników i różnych ras oraz z troską o zachowanie bioróżnorodności owiec poddawanych selekcji, szczególnie w rasach o niskiej liczebności.

#### Literatura

- Baylis M, Goldmann W. (2004). The genetics of scrapie in sheep and goats. *Curr. Mol. Med.*, 4 (4): 385–396.
- DEFRA (2003). NSP genotypes table. Accessed online October 10, 2005; <http://www.defra.gov.uk/animalh/bse/otherscrapies/scrapie/nsp/pdf/genotypes.pdf>
- Fast Ch., Groschup M.H. (2013). Classical and atypical scrapie in sheep and goats. In: W.-Q. Zou and P. Gambetti (eds), Prions and diseases, vol. 2, Animals, Humans and the Environment, Springer Science+Business Media, New York, 2: 15–44; DOI 10.1007/978-1-4614-5338-3\_2.
- Garcia-Crespo D., Oporto B., Gomez N., Nagore D., Benedicto L., Juste R.A., Hurtado A. (2004). PrP polymorphisms in Basque sheep breeds determined by PCR-restriction fragment polymorphism and real-time PCR. *Vet. Rec.*, 154: 717–722.
- Greenlee J.J., West Greenlee M.H. (2015). The transmissible spongiform encephalopathies of livestock. *ILAR J.*, 56 (1): 7–25; doi: 10.1093/ilar/ilv008.
- Karmysheva V.Y., Pogodina V.V., Roikhel V.M. (2004). Cytopathological changes in human and animals brains in prion diseases. *Neurosci. Behav. Physiol.*, 34 (5): 509–513.
- Moum T., Olsaker I., Hopp P., Moldal T., Valheim M., Moum T., Benestad S.L. (2005). Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *J. Gen. Virol.*, 86: 231–235.
- Niżnikowski R., Czub G., Świątek M., Głowacz K., Ślęzak M. (2014). Polimorfizm genu białka prionowego *PrP* u wrzosówki polskiej i owcy żelaznieńskiej utrzymywanych w stadzie Doświadczalnej Fermi Owiec i Kóz SGGW w Żelaznej. *Rocz. Nauk. PTZ*, 10 (2): 9–16.
- Niżnikowski R., Oprządek A., Świątek M., Czub G., Ślęzak M. (2016). Polymorphism of the *PRNP* gene in Polish Merino and old-type Polish Merino in flock with clinical status of atypical scrapie. *Ann. Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Anim. Sci.*, 55 (1): 99–107.
- Piesterzyńska-Kajtoch A., Rejduch B. (2006). Genetyczne aspekty scrapie u owiec. *Med. Weter.*, 62 (12): 1344–1347.
- Piesterzyńska-Kajtoch A., Oczkiewicz M., Natonek-Wiśniewska M., Piórkowska K., Kawecka M., Kozubska-Sobocińska A., Knapik J., Krupiński J., Rejduch B. (2009). *Mat. konf.: Pasażowalne gąbczaste*

- encefalopatie u zwierząt gospodarskich, Balice, 28–29.09.2009; ss. 57–58.
- Prusiner S.B. (1998). Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95 (23): 13363–13383.
- PZO (2017). Hodowla owiec i kóz w Polsce w 2016 roku. PZO, Warszawa.
- Tongue S.C., Wilesmith J.W., Cook C.J. (2004). Frequencies of prion protein (PrP) genotypes and distribution of ages in 15 scrapie-affected flocks in Great Britain. *Vet. Rec.*, 154 (1): 9–16. Erratum in: *Vet. Rec.*, 154 (4): 116.
- Tranulis M.A., Benestad S.L., Baron T., Kretzschmar H. (2011). Atypical prion diseases in humans and animals. *Top. Curr. Chem.*, 305: 23–50.
- Wiśniewska E., Mroczkowski S. (2010). Prion protein (PrP) gene polymorphism and simulation study of breeding oriented to scrapie resistance in Polish Merino and Polish Mountain Sheep. *Sci. Ann. Pol. Soc. Anim. Prod.*, 6: 115–123.

## THE POLYMORPHISM OF *PRNP* GENE OF NATIVE SHEEP BREEDS IN RELATION TO SUSCEPTIBILITY TO SCRAPIE

### Summary

Scrapie is a lethal, neurodegenerative sheep disease. Sheep susceptibility to the disease is associated with the polymorphism of the coding part of *PRNP* gene. In the paper, the initial results of the research on *PRNP* gene polymorphism in chosen sheep breeds included in genetic resources conservation programme were presented. With the aim of denoting the genotypes of *PRNP* gene, two combined and modified techniques were applied: restriction fragments length polymorphism (RFLP) and allelic discrimination (with TaqMan MGB probes). ARR/ARQ genotype was the most frequently occurring genotype in a studied population (40.5%), whereas VRQ/VRQ was the rarest (0.34%). ARR allele was most frequently observed in Wrzosówka sheep breed (66.7%) and least frequent in Polish Mountain sheep (28.%). On the other hand, VRQ allele was present only in Polish Mountain sheep and Podhale Zackel. F allele at codon 141 was detected only in 6 sheep.

**Key words:** scrapie, sheep, *PRNP*, polymorphism, native breeds



Fot. K. Patkowski