

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



A PROLAKTIN RECEPTOR GÉN HATÁSA A MANGALICÁK ALOMMÉRETÉRE

Gajdócsi Erzsébet, Pataki Renáta, Tempfli Károly, Bali Papp Ágnes

Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Állattudományi Intézet
9200 Mosonmagyaróvár, Vár 2.
necromka@gmail.com

Összefoglalás

Számos sertésfajtánál vizsgálták, hogy a *prolaktin receptor génje* összefüggésben van-e az *alomszámmal*, és polimorfizmusa esetén melyik allélnál figyelhető meg nagyobb alomméret. Azt állapították meg a különböző sertésfajtáknál, hogy a gén polimorfizmust mutat, és az A allél (kivéve duroc, mert ott a B allél) pozitív összefüggésben van az alomszámmal. Ezt a vizsgálatot *mangalicán még nem végezték* el, ezért célunk ezen gén polimorfizmusának vizsgálata, valamint összefüggést kerestünk a különböző allélok és az alomszám alakulása között. A DNS-t fülszövetből, vérből és szőrtüszőből nyertük. A minták felsokszorozására és enzimes emésztésére a *PCR-RFLP* (Polimerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polimorphism) módszert alkalmaztuk, és agaróz gélen etidium bromid segítségével tettük láthatóvá. Az adatok feldolgozása után azt tapasztaltuk, hogy az A alléllal rendelkező egyedek több malacot fialtak, mint amelyek csak B alléllal rendelkeztek. Az AA *genotípusú* egyedek esetében volt a legnagyobb az alomméret. A populációban az A allél és az AA genotípusú egyedek gyakorisága igen kicsi. Amennyiben szelekcióval növelnénk ezen allél gyakoriságát, várhatóan emelkedne a fialásonkénti malacok száma is.

Kulcsszavak: prolaktin receptor gén, alomszám, PRLR, polimorfizmus, mangalica

The effect of the gene of prolactin receptor on Mangalica pigs' litter size

Abstract

Several pig breeds were investigated whether there's a connection between *prolactin receptor gene* and *litter size*, and in case of its polimorphism which allele produces bigger litter size. Scientists stated that in different pig breeds the gene shows polimorphism, and the A allele (except in Duroc where the B allele is the one) has positive effect on litter size. This research wasn't carried out in *Mangalica pig-breed*, so our aim is studying the polimorphism of this gene and the effects of its different alleles. We gained the DNA from ear tissues, blood and bristle follicles. We used the *PCR-RFLP* (Polimerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polimorphism) method for the amplification and the digestion of the samples and we made them visible with ethidium bromide in agarose gel. After we analysed the data we discovered that those gilts with *A allele* had more piglets than those which had B alleles only. The gilts which have AA genotype had the biggest litter sizes. In the population the frequency of the A allele and the AA genotype was very low. In so far as we could increase the frequency of this allele the number of piglets per farrow would probably grow.

Keywords: prolactin receptor gene, litter-size, PRLR, polimorphism, Mangalica



Bevezetés, irodalmi áttekintés

A sertések alomszámát több gén is befolyásolja, közülük a prolaktin receptor gén hatását vizsgáltuk mangalicákban, és azok duroc F1 keresztezett egyedeiben. A prolaktin receptor (PRLR) génjét a 16. kromoszómán találták meg sertéseknél (*Vincent és mtsai, 1997*).

A gén a különböző sertésfajtákban polimorfizmust mutat, a B allél 2 kisebb (35bp, 92bp), az A allél 1 nagyobb (127bp) fragmentet képez az enzimes emésztés során. Célunk a polimorfizmus kimutatása és az egyes allélok hatásának vizsgálata a mangalicák alomméretére, mivel ezen a fajtacsoporton még nem végezték el ezeket a vizsgálatokat.

A prolaktin receptor génjét számos sertésfajban vizsgálták már. *Drogemüller és mtsai (2001)* német sertésfajtákon (német landrace, duroc és hibrid: duroc X nagy fehér) végezte kísérleteit. Megállapította, hogy landrace fajtában az A allélnak volt kedvező hatása az alomméretre, míg a durocban a B allélnak volt hasonló hatása. *Van Rens és Van Der Lende (2002)* nagy fehér X meishan keresztezett kocákat vizsgált, és az A allél hatását találta kedvezőnek az alommérettel összefüggésben. Általában az AA genotípus magasabb malacszámmal van összefüggésben (*Kmiec és mtsai, 2001, 2006; Rotschild és mtsai, 1998; Vincent és mtsai, 1998; Southwood és mtsai, 1999*). Duroc esetében viszont a BB genotípus a kedvezőbb (*Árnyasi és mtsai, 2001; Hamann és mtsai, 2000*).

A vizsgált populációkban az A allél frekvenciája kisebb volt, ez alól a duroc állományok kivételt képeznek, és az AA genotípusú egyedek is kisebb hányadban voltak jelen (*Kmiec és mtsai, 2001; Linville és mtsai, 2001*).

Anyag és módszer

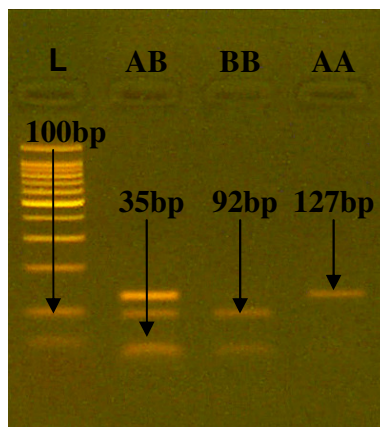
Szőke és vörös mangalicától, valamint ezek *duroc F1 keresztezett* egyedeitől vett fagyasztott fülmintákkal dolgoztunk, valamint szőrtüszőkből és vérből nyert DNS-sel. A DNS tisztítást Wizard Genomic DNA Purification Kit segítségével végeztük el. Az így kinyert mintákat polimeráz láncreakcióval (Polimerase Chain Reaction: PCR) sokszoroztuk fel Thermohybrid PX2 készülékben GoTaq polimeráz enzimmal, és a következő primerekkel:

PRLR4 5' CGG CCG CAG AAT CCT GCT GC 3'

PRLR5 5' ACC CCA CCT TGT AAC CCA TCA TCC 3'

A PCR reakció összeállítása a következő volt: GoTaq polimeráz enzim 0.25 μl (5u/ μl), 5x puffer 10 μl , dNTP 1 μl (200 μM /1 μl minden nukleotid esetében), primer (XX IDT) 1 μl (1 μM / μl mindkét primer esetében), MgCl_2 2 μl (25mM), steril deionizált víz 33.75 μl , DNS 1 μl (< 0.5 μg /50 μl). A reakció sikerességét gélelektroforézissel ellenőriztük 2 %-os agaróz gélen.

Ezután ALU I. enzimmel emésztési reakciónak vetettük alá a DNS szakaszt szintén Thermohybrid PX2 készülékben, ami így 3 különböző hosszúságú fragmentre vált szét: A allél 127 bp, B allél 92 és 35 bp. Az emésztési reakció összeállítása: 0.5 μl Alu I restrikciós enzim 10u/ μl , RE 10x puffer 2 μl , 0.2 μl Acetilált BSA 10 μg / μl , 10,3 μl steril, deionizált víz, 7 μl PCR termék. A reakciók eredményeit gélelektroforézissel tettük láthatóvá etidium bromid festék segítségével 3%-os agaróz gélen (1. ábra).



1. ábra: A prolaktin receptor gén alléljainak fragmenthosszai

Figure 1. The fragment-lengths of the different alleles of the prolactine receptor gene

Eredmények

Az 1. táblázat mutatja az egyedek adatait. A 2. táblázatban foglaltuk össze a vizsgált populációk különböző genotípusainak átlagos adatait. A 3. táblázat az allél- és genotípus-gyakoriságokról ad információt.



1. táblázat: A kocák alomadatai

Sorszám(1)	Kocák genetikája(2)	Allélok(3)	Alomszámok(4)				
			1.	2.	3.	4.	5.
1.	F1	AB	9	10	8	9	9
2.	F1	BB	7	9			
3.	F1	BB	8	8			
4.	F1	AA	9	8			
5.	szőke mangalica(5)	BB	7	7	7		
6.	szőke mangalica(5)	AA	8	8	8	9	6
7.	szőke mangalica(5)	BB	8	7	8	6	7
8.	szőke mangalica(5)	BB	7	8	7		
9.	vörös mangalica(6)	BB	7				
10.	szőke mangalica(5)	BB	6	7	6	8	8
11.	szőke mangalica(5)	AB	4				
12.	szőke mangalica(5)	AB	3				
13.	szőke mangalica(5)	AB	3				
14.	szőke mangalica(5)	AB	3				
15.	szőke mangalica(5)	AB	7				
16.	szőke mangalica(5)	AB	7				
17.	szőke mangalica(5)	BB	4				
18.	szőke mangalica(5)	BB	7				
19.	szőke mangalica(5)	AB	8				
20.	szőke mangalica(5)	BB	4				
21.	vörös mangalica(6)	BB	5	6	6		
22.	szőke mangalica(5)	AB	6	7	10		
23.	szőke mangalica(5)	BB	5				
24.	szőke mangalica(5)	BB	3				
25.	szőke mangalica(5)	BB	5	8	4		
26.	szőke mangalica(5)	BB	7	3			
27.	szőke mangalica(5)	AB	6	8	10		
28.	szőke mangalica(5)	AB	6	5			
29.	szőke mangalica(5)	AB	4	5			
30.	szőke mangalica(5)	BB	7	3	6		
31.	szőke mangalica(5)	AB	4	7	6	6	
32.	szőke mangalica(5)	BB	7	4	4		
33.	szőke mangalica(5)	AB	5	2			
34.	szőke mangalica(5)	BB	4	4	6	7	3
35.	szőke mangalica(5)	BB	3	5	5		

Table 1. Litter size of each gilts

Number of list(1), genotype of sows(2), allels(3), litter sizes(4), Blond Mangalica(5), Red Mangalica(6)

**2. táblázat: Átlagos alomméret adatok az egyes genotípusoknál**

AA átlagos alomszáma(1)	8	AA nagyobb populáció átlagnál(6)	1,69
BB átlagos alomszáma(2)	6	AA nagyobb AB-nél(7)	1,59
AB átlagos alomszáma(3)	6,41	AB nagyobb BB-nél(8)	0,41
Populáció átlagos alomszáma(4)	6,31	AB nagyobb populáció átlagnál(9)	0,10
AA nagyobb BB-nél(5)	2		

Table 2. Data of average litter size of each genotypes

Average of litter size in AA(1), average of litter size in BB(2), average of litter size in AB(3), average of litter size in the population(4), AA>BB(5), AA>average of population(6), AA>AB(7), AB>BB(8), AB>average of population(9)

3. táblázat: Allél- és genotípus gyakoriságok

	F1 keresztezett egyedek(3)	Mangalica(4)
Allél frekvencia(1)	A = 37,5% B = 62,5%	A = 24,19% B = 75,81%
Genotípus gyakoriság(2)	AA = 25% BB = 50% AB = 25%	AA = 3,23% BB = 54,84% AB=41,93%

Table 3. Frequency of the different alleles and genotypes

Allele frequency(1), genotype frequency(2), F1 crossed individuals(3), Mangalica breed(4)

Következtetések és javaslatok

Megállapíthattuk, hogy mangalicában az A allél van összefüggésben a nagyobb alomszámmal. Az AA genotípusú egyedek 2 malaccal többet fialtak a BB genotípusúaknál, és a populáció átlagos alomméretét 1,69, az AB genotípusú egyedekét pedig 1,59 malaccal haladták meg. Az A allél gyakorisága (mangalicánál 24,19%, F1 állományban 37,5%), valamint az AA genotípusú egyedek (mangalicánál 3,23%, F1 egyedeknél 25%) hányada a populációban kisebb, és ez összhangban van más kutatók eredményeivel. Javasoljuk, hogy szelekcióval növeljék az A allél gyakoriságát, így várhatóan növekedni fog az alomszám is.



Irodalomjegyzék

- Árnyasi M. (2001): Molekuláris genetikai vizsgálatok a gazdasági állatfajok termelési eredményének javítása érdekében. Debreceni Egyetem Agrártudományi Közlemények, 1. 92-96.
- Drogemüller, C., Hamann, H., Distl, O. (2001): Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. J. Anim. Sci., 79. 2565-2570.
- Hamann, H., Drogemüller, C., Krieter, J., Presuhn, U., Wallenburg, J., Distl, O. (2000): Genetic markers for litter size in German pig breeds; 51th Annual meeting of EAAP, Haga, Netherlands.
- Kmiec, M., Dybus, A., Terman, A. (2001): Prolactin receptor gene polymorphism and its association with litter size in Polish Landrace. Arch. Tierz., 44. 547–551.
- Kmiec, M., Terman, A. (2006): Associations between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars. J. Appl. Genet., 47. 139-141.
- Linville, R.C., Pomp, D., Johnson, R.K., Rothschild, M. F. (2001): Candidate gene analysis for loci affecting litter size and ovulation rate in swine. J. Anim. Sci., 79. 60-67.
- Rothschild, M. F., Vincent, A. L., Tuggle, C. K., Evans, G., Short, T.H., Southwood, O.I. (1998): A mutation in the prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. Anim. Genet. 29. 60–74.
- Southwood, O.I., Short, T. H., Plastow, G. S., Rothschild, M. F. (1999): A genetic marker for litter size in Landracebased pig lines. EAAP Zurich 22–26 August 5. 1.
- Van Rens, B.T.T.M., Van Der Lende, T. (2002): Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. Theriogenology, 57. 883-893.
- Vincent, A.L., Wang, L., Tuggle, C. K., Robic, A., Rothschild, M.F.(1997): Prolactin receptor maps to pig Chromosome 16. Mamm. Genome, 8. 793-794.
- Vincent, A.L., Evans, G., Short, T. H., Southwood, O. I., Plastow, G. S., Tuggle, C. K., Rothschild, M. F. (1998.): The prolactin receptor gene is associated with increased litter size in pigs. Proc. 6th World Cong. Genet. App. Livest. Prod., 27. 15–18.