

Czy gen receptora melanokortyny-4 (*MC4R*) ma duży efekt działania na zmienność cech produkcyjnych świń?

Monika Stachowiak, Jakub Cieślak, Marek Świtoński

AR w Poznaniu

Jednym z ważniejszych zadań genetyki zwierząt domowych w ostatnich latach stało się poszukiwanie tzw. genów z dużym efektem (ang. QTL – Quantitative Trait Loci), które mogą mieć zasadniczy wpływ na parametry cech użytkowych [17]. Wiedza o polimorfizmie może być wykorzystana w praktyce hodowlanej o ile efekt genu jest wystarczająco duży i powtarzalny. Do miana takiego genu kandyduje gen receptora melanokortyny-4 (*MC4R*) świń.

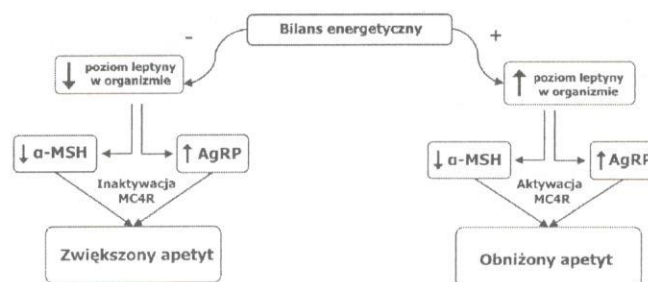
Rola melanokortyny i jej receptora w organizmie

Receptory związane z białkiem G (ang. GPCRs, G – Protein Coupled Receptors) stanowią najliczniejszą rodzinę białek w organizmie. Zidentyfikowano już ponad 1000 różnych typów tych receptorów, które charakteryzuje wspólny plan budowy oraz ogromna różnorodność chemiczna wiążących się z nimi ligandów. Część z nich ma zdolność aktywowania receptora (ligandy agonistyczne), inne natomiast powodują jego inaktywację (ligandy antagonistyczne). Transdukcja sygnału przez receptory tego typu opiera się na zdolności nietrwałego wiązania przez nie białka G, które po zaktywowaniu przez kompleks ligand-receptor ma zdolność stymulacji lub hamowania reakcji syntezy cyklicznego adenozymonofosforanu (cAMP) w komórce. Inicjuje on kaskadę kinaz białkowych, które uczestniczą w przekazaniu sygnału do miejsca docelowego w komórce.

Jedną z podrodzin receptorów związanych z białkiem G stanowią receptory melanokortyny. Obecnie znanych jest 5 typów tych receptorów, ulegających zróżnicowanej ekspresji w różnych tkankach. Najwcześniej odkrytym i najdokładniej poznanym jest receptor melanokortyny-1 (*MC1R*), którego ekspresja ograniczona jest do melanocytów. Różne allele genu receptora *MC1R* odpowiadają za syntezę melaniny w komórkach barwnikowych, warunkując umaszczenie lub barwę upierzenia zwierząt.

W badaniach nad poszukiwaniem genów głównych dla cech użytkowych zwierząt wiele uwagi poświęcono ostatnio receptorowi melanokortyny-4 (*MC4R*), ze względu na jego rolę w utrzymaniu homeostazy energetycznej organizmu, a także funkcję w kontrolowaniu ilości pobieranego pokarmu. Przyjmuje się, że szlak melanokortyny jest bezpośrednio związany z działaniem leptyny, wpływając istotnie na tempo przemian metabolicznych, odpowiedzialnych za zarządzanie zasobami energetycznymi organizmu. W sytuacji, gdy bilans

energetyczny organizmu jest dodatni, następuje wzrost poziomu leptyny w osoczu krwi wywołujący zwiększoną ekspresję hormonu stymulującego melanocyty α (α -MSH), który jest ligandem agonistycznym i równocześnie obniżenie poziomu ekspresji białka AgRP – antagonisty receptora melanokortyny. Efektem tych zmian jest aktywacja tego receptora, prowadząca do obniżenia apetytu i zmniejszenia ilości pobieranego pokarmu (rys. 1). Natomiast w przypadku ujemnego bilansu energetycznego dochodzi do obniżenia stężenia leptyny w osoczu krwi, co prowadzi do zahamowania ekspresji α -MSH, przy jednoczesnym wzroście ekspresji AgRP. Zmiany te wywołują inaktywację receptora melanokortyny, stymulując apetyt i procesy związane z pobieraniem pokarmu.



α -MSH (ang. α -melanocyte stimulating hormone) – antagonist MC4R
AgRP (ang. agouti-related protein) – antagonist MC4R

Rys. 1. Udział systemu melanokortyny w regulacji gospodarki energetycznej organizmu

Badania na myszach, u których gen *MC4R* poddano inaktywacji (technika knock-out) wykazały, że zwierzęta takie wykazywały wzmożony apetyt, który prowadził do otyłości [4]. Ponadto oszacowano, że mutacje obejmujące kodującą część genu *MC4R* są odpowiedzialne za 1-6% przypadków otyłości u człowieka. Opisano już ponad 50 rodzajów tego typu mutacji. Aktualnie prowadzona jest dyskusja na temat możliwości leczenia otyłości u ludzi poprzez zastosowanie ligandów agonistycznych lub ich analogów, posiadających zdolność aktywowania receptora *MC4R*. Wyniki przeprowadzonych badań nad genem *MCR4* u ludzi i myszy zwróciły uwagę genetyków zwierząt domowych. Zainteresowanie to wynika głównie z funkcji receptora *MC4R* w zarządzaniu gospodarką energetyczną i jego roli w regulacji pobierania pokarmu. Polimorficzne formy tego genu mogą bowiem wpływać na zmienność cech związanych z tempem wzrostu, pobieraniem pokarmu, zawartością tłuszczu śródmięśniowego, podskórnego i innych.

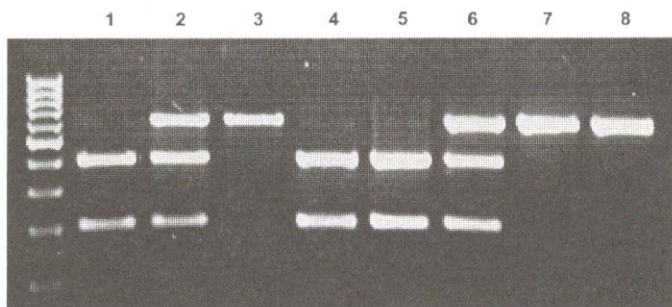
Budowa genu i jego lokalizacja chromosomowa

Gen *MC4R* zmapowano u świń w chromosomie 1q22-q27 [5]. U człowieka, myszy i szczura locus *MC4R* znajduje się w chromosomie 18, natomiast u bydła – w chromosomie 24. Gen ten składa się tylko z jednego eksonu, którego długość wynosi około 1 tys. par zasad (1kpz). Promotor genu *MC4R* zawiera miejsce inicjacji transkrypcji zlokalizowane 426 pz powyżej (upstream) miejsca inicjacji translacji. Ponadto sekwencja promotora posiada wiele konserwatywnych motywów regulatorowych, wiążących czynniki transkrypcyjne, takich jak: TATA-like box (-33 pz), CAAT-box (-94 pz), E-box, CREB, STAT oraz homeobox [9]. Produktem ekspresji genu *MC4R* u świń jest białko receptora, zbudowane z 332 aminokwasów, a głównym miejscem jego ekspresji jest podwzgórze [12].

Polimorfizm genu MC4R i jego związek ze zmiennością cech użytkowych świń

Dotychczas zidentyfikowano tylko jedną mutację w obrębie genu *MC4R* świni, polegającą na substytucji G→A, której skutkiem jest zamiana sekwencji aminokwasów. Zamiast kwasu asparaginowego w pozycji 298 łańcucha polipeptydowego występuje asparagina [6]. Aminokwas ten jest zlokalizowany w wysoce konserwatywnym obszarze sódmej domeny transmembranowej tego receptora. Wyniki eksperymentu, polegającego na ekspresji *in vitro* cząstek receptora *MC4R*, wykazały, iż mutacja ta nie zaburza wiązania ligandu do receptora, lecz powoduje zahamowanie syntezy cAMP po aktywacji receptora, w porównaniu z prawidłowym jego wariantem, w przypadku którego obserwowany jest gwałtowny wzrost stężenia cAMP [7].

Identyfikacja polimorfizmu o potencjalnym znaczeniu funkcjonalnym uzasadnia poszukiwania efektu, jaki mogłyby wywierać poszczególne allele tego genu na zmienność fenotypową osobników. Polimorfizm G/A jest łatwy do zidentyfikowania przy zastosowaniu techniki PCR-RFLP, z wykorzystaniem enzymu restrykcyjnego *TaqI* [5] – rys. 2. Takie badania przeprowadzono, jednak ich wyniki są rozbieżne. Część autorów [2, 3, 6] wskazała na istotny wpływ genotypu w locus *MC4R* na cechy otłuszczenia, tempo wzrostu oraz pobranie paszy. Według tych doniesień świnię posiadające genotyp AA charakteryzowały się większą grubością słoniny, wyższym dziennym przyrostem masy ciała oraz większym apetytem w porównaniu z osobnikami o genotypie GG. Jednak wyniki analizy przeprowadzonej przez Park i wsp. [13] nie potwierdziły tych danych.



Genotyp GG (p.b.z.) – tor 1, 4 i 5; genotyp AG – tor 2 (L-990), tor 6 (w.b.p.); genotyp AA – tor 3 (p.b.z.), tor 7 i 8 (w.b.p.)

Rys. 2. Wyniki genotypowania techniką PCR-RFLP (*TaqI*) świń rasy wielkiej białej polskiej (w.b.p.), polskiej białej zwisłouchej (p.b.z.) i linii 990 (L-990) [16]

Problem ten został podjęty także w naszych badaniach [16]. Ich wyniki również nie potwierdzają bezpośredniego związku między polimorfizmem G/A a zmiennością cech produkcyjnych. Zwraca jednak uwagę bardzo duże zróżnicowanie frekwencji alleli A i G. W badaniach dotyczących rasy wielka biała polska przeważająca była frekwencja allelu A (ok. 0,8), natomiast u rasy polskiej białej zwisłouchej i linii 990 sytuacja była odwrotna. Podobną zależność obserwowali inni autorzy.

Istotnym przyczynkiem w dyskusji na temat efektu polimorfizmu G/A genu *MC4R* mogą być wyniki skanowania chromosomu 1 świni, którego celem było poszukiwanie obszarów obejmujących loci cech ilościowych (QTL). Analizy wykonane

dla chromosomu 1, w którym zmapowano gen *MC4R*, wskazały na obecność w nim QTLs warunkujących takie cechy, jak: powierzchnia „oka” polędwicy, barwa i marmurkowatość mięsa, grubość słoniny oraz tempo wzrostu [1, 8, 10, 11, 14, 15]. Jednak dla każdej z cech, na którą potencjalnie może wpływać polimorfizm genu *MC4R*, nie znaleziono QTL, który byłby zlokalizowany w pobliżu locus tego genu.

Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że rola polimorfizmu G/A w genie receptora melanokortyny-4 nie jest jednoznaczna. Można jednak wnioskować, że gen *MC4R*, pomimo istotnych różnic między jego formą prawidłową a zmutowaną w funkcjonowaniu produktu jego ekspresji w komórce, nie należy do grupy genów z dużym efektem działania.

Literatura: 1. De Koning D.J., Janss L.L., Rattink A.P., van Oers P.A.M., de Vries B.L., Groenen M.A.M., van der Poel J.J., de Groot P.N., Brascamp E.W., Arendonk J.A.M., 1999 – *Genetics* 152, 1679-1690. 2. Hernandez-Sanchez J., Visscher P., Plastow G., Haley C., 2003 – *Genetics* 164, 637-644. 3. Houston R.D., Cameron N.D., Rance K.A., 2004 – *Animal Genetics* 35, 386-390. 4. Huszar D., Lynch C.A., Fairchild-Huntress V., Dunmore J.H., Fang Q., Berke-meier L.R., Gu W., Kesterson R.A., Boston B.A., Cone R.D., Smith F.J., Campfield L.A., Burn P., Lee F., 1997 – *Cell* 88, 131-141. 5. Kim K.S., Larsen N.J., Rothschild M.F., 2000 – *Journal of Animal Science* 78, 791-792. 6. Kim K.S., Larsen N., Short T., Plastow G., Rothschild M.F., 2000 – *Mammalian Genome* 11, 131-135. 7. Kim K.S., Reecy J.M., Hsu W.H., Anderson L.L., Rothschild M.F., 2004 – *Domestic Animal Endocrinology* 26, 75-86. 8. Knott S.A., Marklund L., Haley C.S., Andersson K., Davies W., Ellegren H., Fredholm M., Hansson I., Hoyheim B., Lundstrom K., Moller M., Andersson L., 1998 – *Genetics* 149, 1069-1080. 9. Lubrano-Berthelie C., Cavazos M., Le Stunff C., Hass K., Shapiro A., Zhang S., Bougneres P., Vaisse C., 2003 – *Diabetes* 52, 2996-3000. 10. Malek M., Dekkers J.C.M., Lee H.K., Bass T.J., Rothschild M.F., 2000 – *Mammalian Genome* 12, 630-636. 11. Malek M., Dekkers J.C.M., Lee H.K., Baas T.J., Prusa K., Huff-Lonergan E., Rothschild M.F., 2001 – *Mammalian Genome* 12, 637-645. 12. Mountjoy K.G., Mortrud M.T., Low M.J., Simerly R.B., Cone R.D., 1994 – *Molecular Endocrinology* 8, 1298-1308. 13. Park H.B., Carlborg O., Marklund S., Andersson L., 2002 – *Animal Genetics* 33, 155-157. 14. Paszek A.A., Wilkie P.J., Flickinger G.H., Rohrer G.A., Alexander L.J., Beattie C.W., Schook L.B., 1999 – *Mammalian Genome* 10, 117-122. 15. Rohrer G.A., Keele J.W., 1998 – *Journal of Animal Science* 76, 2247-2254. 16. Stachowiak M., Szydłowski M., Obarzanek-Fojt M., Światoński M., niepublikowane. 17. Światoński M., 2003 – *Przegląd Hodowlany* 12, 3-5.

Katedra Hodowli Bydła Akademii Rolniczej w Krakowie

ogłasza nabór na II turnus

dwusemestralnego Studium Podyplomowego w zakresie nowoczesnej technologii produkcji mleka.

Warunkiem przyjęcia na Studium jest ukończenie studiów wyższych. Orientacyjne koszty wynoszą: 500 zł wpisowego i 1200 zł za każdy semestr. Mieszkanie i wyżywienie uczestnicy pokrywają w ramach delegacji służbowych lub środków własnych. Program Studium obejmuje 120 godzin w semestrze.

Zgłoszenia prosimy kierować do 30 czerwca 2005 r.
na adres Sekretariatu Studium:

dr inż. Krzysztof Adamczyk
Akademia Rolnicza w Krakowie
Katedra Hodowli Bydła
al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków
tel. (0-12) 662-40-90, faks (0-12) 662-41-62.

Pierwszy zjazd planowany jest we wrześniu 2005 roku.

Szczegółowe informacje:
<http://www.ar.krakow.pl/edu/mleko.htm>