

**Anna Wojciechowska, Ewa Grochowska, Milena Górecka,
Oliwia Duszyńska-Stolarska, Sławomir Mroczkowski**

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. J.J. Śniadeckich w Bydgoszczy

WPŁYW POLIMORFIZMU GENU KALPASTATYNY NA WYBRANE PARAMETRY UŻYTKOWOŚCI MIĘSNEJ OWIEC

Streszczenie

Ze względu na fakt, iż dla gospodarki duże znaczenie zaczyna odgrywać mięsny kierunek użytkowania owiec, niezbędna jest wiedza dotycząca uwarunkowań genetycznych cech wpływających na jakość mięsa jagnięcego. Gen kodujący kalpastatynę został wytypowany jako gen kandydujący dla cech użytkowości mięsnej owiec. Badania nad polimorfizmem tego genu prowadzone były na wielu rasach owiec w Europie, Azji i Ameryce Północnej. Powiązано zaobserwowany polimorfizm z masą urodzeniową, dziennymi przyrostami masy ciała, masą jagniąt po odsadzeniu oraz masą mięśni zwierząt. Równocześnie zaobserwowano związek tego genu z takimi cechami mięsa jak: zawartość tłuszczu śródmięśniowego, kruchość oraz barwa. Świadomość i struktura związku między masą ciała oraz cechami mięsa owczego a polimorficznymi postaciami genu kalpastatyny może prowadzić do wyznaczenia markerów genetycznych, które będą mogły być wykorzystywane jako dodatkowe kryterium selekcji owiec ras mięsnych.

Słowa kluczowe: polimorfizm genetyczny, kalpastatyna, cechy użytkowości mięsnej owiec, PCR-RFLP, PCR-SSCP

Wstęp

Dynamiczny rozwój metod genetyki molekularnej w hodowli zwierząt pozwala na poznawanie struktury, lokalizacji i działania genów, które wpływają na kształtowanie się cech ważnych pod względem ekonomicznym. Wiedza ta jest niezbędna w prowadzeniu skutecznej hodowli opartej na ukierunkowanej selekcji. Owczy gen kodujący kalpastatynę (*CAST*) został opisany i wytypowany przez Palmera i in. w 1998 r. jako gen kandydujący dla cech wpływających na jakość mięsa owczego. Gen ten zlokalizowany jest u owiec na piątym chromosomie [Palmer i in. 1998]. Kalpastatyna jest białkiem pełniącym funkcję specyficznego, endogennego inhibitora kalpain, z którymi łącząc się w obecności jonów wapnia tworzy kompleks kalpaina – kalpastatyna (CCS) [Goll i in. 2003]. Kalpains to proteazy cysteinowe znajdujące się w tkance mięśniowej [Suzuki i in. 1995], pełniące ważną rolę podczas proliferacji, wzrostu i migracji komórek oraz fuzji mioblastów dzięki aktywności w procesach degradowania włókien mięśniowych, białek związanych z błoną komórkową, czynników wzrostu, enzymów czy receptorów hormonów sterydowych [Goll i in. 1998, Carragher i Frame 2002]. Literatura donosi, iż kompleks CCS bierze udział w tworzeniu mięśni podczas życia zwierzęcia i ich rozpadu po uboju [Greguła-Kania i Gruszecki 2007] oraz wpływa na

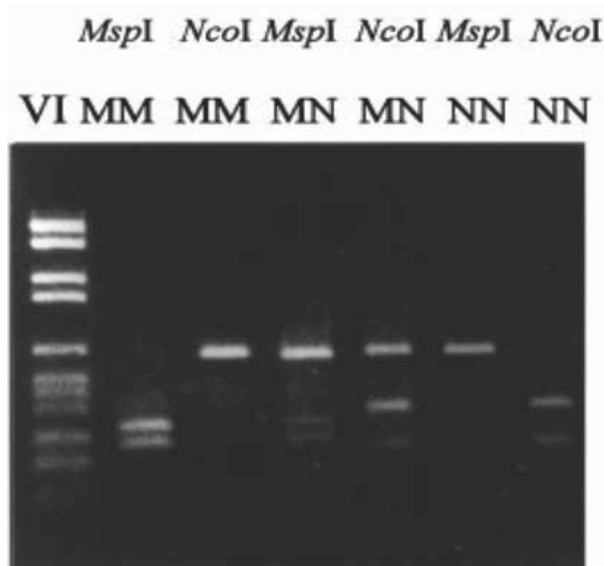
proces kruszenia mięsa podczas jego dojrzewania [Kończak 1998, Delgado i in. 2001]. Nie odnotowano wpływu kalpastatyny na inne oprócz kalpain proteazy cysteinowe. Celem pracy jest analiza związku polimorfizmu genu *CAST* z wybranymi parametrami użytkowości mięsnej owiec.

Materiał i metody badań

Polimorfizm genu kodującego kalpastatynę badano wśród zwierząt takich jak: owce, trzoda chlewna i bydło [Byun 2009, Casas 2006, Ciobanu 2004]. Badania w stadach owiec prowadzono wśród wielu ras pochodzących z Europy, Azji i Ameryki Północnej. Materiałem badawczym do analiz polimorficznych form genu kalpastatyny było genomowe DNA wyizolowane z krwi obwodowej, które początkowo analizowane było pod kątem jakościowym i ilościowym. Następnie amplifikowane i analizowane pod kątem polimorfizmu przy użyciu reakcji PCR–RFLP lub PCR–SSCP [Byun 2009, Palmer i in. 1998]. W celu rozdziału fragmentów DNA przeprowadzono elektroforezę poziomą (RFLP) lub pionową (SSCP). Palmer i in. w 1998 r. stosując technikę PCR–RFLP zamplifikowali fragment o długości 622 pz, a następnie wykorzystali dwa enzymy restrykcyjne *NcoI* i *MspI*. Greguła-Kania i in. (2007) zastosowali restryktazy: *Hin6I*, *NcoI* i *MspI* w badaniach plenno–mięsnej populacji owiec linii syntetycznych BCP i SCP.

Wyniki badań

Badania Palmer'a i in. (1998) wykazały obecność dwóch wariantów owczego genu *CAST*: M i N oraz trzech genotypów: MM, MN, i NN (rys.1).



Rysunek 1. Rozdział elektroforetyczny amplifikowanych fragmentów genu kalpastatyny o długości 622 pz poddanych działaniu restryktaz: *MspI* i *NcoI*. VI – marker długości fragmentów DNA [Palmer i in. 1998]

Na podstawie badań w grupie owiec linii syntetycznych BCP i SCP stwierdzono obecność czterech alleli *a*, *b*, *c*, *d* oraz ośmiu genotypów genu *CAST*, wśród których najczęściej pojawiały się genotypy *aa* i *ae*. Wykazano, że

jagnięta o genotypie *aa* wyróżniały się spośród wszystkich zwierząt najkorzystniejszym składem tkankowym udźca, w którym zawartość tłuszczu była najmniejsza, a tkanki mięśniowej największa [Greguła–Kania 2011]. Analizy prowadzone w Iranie w populacji owiec rasy kurdi ukazały współzależność genotypu i średnich przyrostów masy ciała do odsadzenia. Jagnięta z genotypem *ab* w porównaniu do zwierząt z genotypem *aa* i *ac* osiągały odpowiednio o 10,34 g/dzień i 42,60 g/dzień większe dzienne przyrosty masy ciała [Nassiry i in. 2006]. Zbliżone wyniki zanotowano już rok wcześniej, wskazując u owiec rasy kurdi i baluchi na związek genotypu *ab* ze zwiększonymi przyrostami dobowymi od urodzenia do odsadzenia [Tahmoospour i in. 2005]. Natomiast Palmer i in. [1999] w 1999 r. zaobserwowali związek genotypu *ac* ze zwiększonymi przyrostami masy ciała jagniąt. Polimorfizm genu *CAST* zidentyfikowany w grupie owiec pochodzących ze Stanów Zjednoczonych: polypay, targhee i ich mieszańców powiązано z masą urodzeniową, przyrostami dobowymi i masą jagniąt po odsadzeniu [Chung i Davis 2012]. Natomiast zróżnicowanie owczego genu kalpastatyny przeanalizowane techniką molekularną PCR–SSCP porównano z masą urodzeniową zwierząt i zauważono również istotne zależności [Byun i in. 2008].

Podsumowanie

Doskonalenie cech związanych z użytkowością mięsną to jedno z głównych zadań w dzisiejszej hodowli zwierząt gospodarskich. Wiedza na temat tzw. genów głównych, wpływających na konkretne cechy w stopniu większym niż inne geny, umożliwia selekcję zwierząt najlepszych pod względem pożądanых cech. Wykorzystywane są w tym celu testy genetyczne markerów konkretnych cech jakości surowca. Aby ją uzyskać niezbędna jest przede wszystkim analiza polimorfizmu genów wyznaczonych jako kandydujące, będąca skutecznym sposobem identyfikacji genów wpływających na cechy ilościowe. Uzyskane dotychczas wyniki dla bydła pozwoliły firmie Genetic Solution stworzyć dwa testy genetyczne markerów kruchości wołowiny: GeneSTAR Tenderness oraz Igenity TenderGENE, które umożliwiają wczesne selekcjonowanie bydła pod kątem pożądanej jakości mięsa wołowego. Prace badawcze w przypadku owiec nie są jeszcze na tak zaawansowanym poziomie, ale ze względu na duże zainteresowanie i wymagania konsumentów są konieczne.

Piśmiennictwo

1. Byun S.O., Zhou H., Forrest R.H., Frampton C.M., Hickford J.G., 2008: Association of the ovine calpastatin gene with birth weight and growth rate to weaning. *Anim Genet.*, 39(5): 572–573.
2. Byun S.O., Zhou H., Hickford J.G.H., 2009: Haplotypic diversity within the ovine calpastatin (*CAST*) gene. *Mol. Biotechnol.*, 41: 133–137.
3. Carragher N.O., Frame M.C., 2002: Calpain: a role in cell transformation and migration. *Int. J. Bioch. Cell Biol.*, 34(12): 1539–1543.
4. Casas E., White S.N., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Riley D.G., Chase Jr. C.C., Johnson D.D., Smith T.P L. 2006: Effects of *calpastatin* and *m-calpain* markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.*, 84: 520–525.

5. Chung H., Davis M., 2012: PCR-RFLP of the Ovine Calpastatin Gene and its Association with Growth. *Asian J. Anim. Vet. Advances*, 7: 641-652.
6. Ciobanu D.C., Bastiaansen J.W.M., Lonergan S.M., Thomsen H., Dekkers J.C.M., Plastow G.S., Rothschild M.F., 2004: New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *J. Anim. Sci.*, 82: 2829-2839.
7. Delgado E.F., Geesink G.H., Marchello J.A., Goll D.E., Koohmaraie M., 2001: The calpain system in three muscles of normal and callipyge sheep. *J. Anim. Sci.*, 79(2): 398-412.
8. Goll D.E., Thompson V.F., Li H., Wei W., Cong J., 2003: The Calpain System. *Physiol. Rev.*, 83: 731-801.
9. Goll D.E., Thompson V.F., Taylor R.G., Ouali A., 1998: The calpain system and skeletal muscle growth. *Can. J. Anim. Sci.*, 78(4): 503-512.
10. Greguła-Kania M., Gruszecki T.M., 2007: Analiza polimorfizmu w genie kalpastatyny u owiec linii syntetycznych BCP i SCP. *Mat. Konf.e LXXII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego im. Michała Oczapowskiego*. Warszawa.
11. Greguła-Kania M., 2011: Polimorfizm genu kalpastatyny (*CAST*) a wybrane parametry użytkowości mięsnej jagniąt. *Rozprawa doktorska* (<http://nauka-polska.pl>)
12. Kołczak T., 2008: Jakość wołowiny. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1(56): 5-22.
13. Nassiry M.R., Tahmoorespour M., Javadmanesh A., Soltani M., Far S.F. 2006: Calpastatin polymorphism and its association with daily gain in Kurdi sheep. *Iran. J. Biotechnol.*, 4(3): 188-192.
14. Palmer B.R., Morton J.D., Roberts N., Ilian M.A., Bickerstaffe R., 1999: Marker - assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, 59: 266-268.
15. Palmer B.R., Roberts N., Hickford J.G., Bickerstaffe R., 1998: Rapid communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. *J. Anim. Sci.*, 76: 1499-1500.
16. Suzuki K., Sorimachi H., Yoshizawa T., Kinbara K., Ishiura S., 1995: Calpain: novel family members activation, and physiological function. *Biol. Chem.*, 376(9): 523-529.
17. Tahmoorespour M., 2005: Study on the calpain calpastatin gene polymorphism by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism and its relation to average daily gain in Iranian baluchi sheep. *Ph.D Thesis*. Ferdowsi University, Mashhad, Iran.