

Wpływ polimorfizmu w regionie promotorowym 5' genu *TG* na cechy użytkowości mlecznej bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej

Ewa Czerniawska-Piątkowska¹, Inga Kowalewska-Łuczak^{2#}

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,

¹Katedra Nauk o Zwierzętach Przeżuwających,
ul. Klemensa Janickiego 29, 71-270 Szczecin;

²Katedra Genetyki,

Aleja Piastów 45, 70-311 Szczecin; #e-mail: inga.kowalewska-luczak@zut.edu.pl

Celem podjętych badań było określenie zależności między występowaniem trzech różnych mutacji punktowych (257C>T, 335A>G, 422 C>T) w regionie promotorowym genu kodującego tyreoglobulinę (powodujących jego polimorfizm) a cechami użytkowości mlecznej bydła. Badaniem objęto stado krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej. Ustalenie genotypów prowadzono z wykorzystaniem metody PCR i jej modyfikacji ACRS. Określono frekwencję częściej występujących alleli dla analizowanych mutacji punktowych: C – 0,830 (257C>T), A – 0,765 (335A>G) i C – 0,635 (422C>T). Analiza statystyczna pokazała, że wszystkie trzy analizowane mutacje punktowe w regionie promotorowym genu *TG* istotnie ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$) wpływają na analizowane cechy użytkowości mlecznej, tj. na dobową wydajność mleka, zawartość tłuszczu i białka w mleku oraz liczbę komórek somatycznych.

SŁOWA KLUCZOWE: tyreoglobulina, bydło, SNP, użytkowość mleczna

Tyreoglobulina (TG) to homodimer glikoproteinowy, który głównie wytwarzany jest przez komórki pęcherzykowe tarczycy. Przede wszystkim pełni rolę substratu w procesie syntezy tyroksyny (T4) i trijodotyroniny (T3). Tyreoglobulina wydzielana jest z retikulum endoplazmatycznego do miejsca, w którym ulega jodowaniu (włączaniu jodu do reszt tyrozynowych tyreoglobuliny); w znacznej części magazynowana jest we wnętrzu pęcherzyków tarczycowych, ale również znajduje się w obrębie tzw. koloidu, czyli płynu wypełniającego pęcherzyki tarczycowe (van der Spek i in., 2017). Kiedy zajdzie stymulacja komórek tarczycy przez TSH (hormon tyreotropowy), to uwalniane są z niej gotowe do działania hormony tarczycy. Hormony tarczycowe wpływają na wiele procesów w organizmie, w tym na kontrolę procesów metabolicznych, m.in. w wątrobie stymulują procesy glukoneogenezy i lipogenezy, pobudzają również zachodzenie glikogenolizy. Tyroksyna bierze udział w różnych przemianach metabolicznych, ale jej najważniejszą rolę jest udział

w przemianie trójiodotyroniny. Ta natomiast ma ogromny wpływ na pracę układu nerwowego oraz rozwój organizmu i procesy wzrostu (Mullur i in., 2014).

Gen kodujący tyreoglobulinę (*TG*) zlokalizowany jest w regionie centromerowym chromosomu 14 (BTA14), liczy 37 eksonów rozdzielonych intronami i obejmuje co najmniej 300 kpz genomowego DNA (Khatib i in., 2007). Gen *TG* zlokalizowany został w regionie bogatym w *QTL*, a ponieważ produkt tego genu jest prekursorem hormonu pośrednio wpływającego na metabolizm lipidów, to Thaller i in. (2003) uznali go za gen kandydujący, właśnie ze względu na funkcję jego produktu. W różnych badaniach wykazano, że mutacje punktowe zlokalizowane w regionie promotora 5' genu *TG* są powiązane z cechami użytkowości mięsnej bydła, takimi jak zawartość tłuszczu w mięśni najdłuższym grzbietowym (Anton i in., 2008, 2011) czy poziom marmurkowatości w mięsie (Shin i Chung, 2007; Gan i in., 2008). Ze względu na stwierdzenie zależności pomiędzy cechami jakości mięsa, a głównie powiązanie z zawartością tłuszczu oraz lokalizacją genu *TG* w regionie BTA14 bogatym w *QTL* związane z wydajnością i zawartością tłuszczu w mleku Khatkar i in. (2004) oraz Khatib i in. (2007) uznali, że warto również zbadać relacje między mutacjami punktowymi w regionie promotorowym 5' a cechami użytkowości mlecznej.

Celem podjętych badań było oszacowanie frekwencji genotypów i alleli trzech substytucji – tranzycji (257C>T, 335 A>G, 422 C>T) zlokalizowanych w regionie promotorowym 5' genu *TG* oraz ustalenie ewentualnego powiązania poszczególnych genotypów z wybranymi cechami użytkowości mlecznej bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzjskiej.

Material i metody

Badania prowadzono w stadzie liczącym 100 krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzjskiej, na fermie w województwie zachodniopomorskim. Krowy utrzymywane były w systemie wolnostanowiskowym i żywione TMR (Total Mixed Ration). Legowiska pokryte były słomą. Dawka pokarmowa była sporządzana przy pomocy samojezdnego wozu paszowego Santrak 4.0 Selfline. Krowy dojono dwa razy dziennie przy użyciu mechanicznej dojarki. Wydajność mleczną stada oceniano metodą A4 – zgodną z zaleceniami International Committee for Animal Recording (ICAR). W przeprowadzonym badaniu analizowano dobową wydajność mleka, zawartość tłuszczu i białka w mleku oraz liczbę komórek somatycznych. Ze względu na fakt, że liczba komórek somatycznych charakteryzuje się dużą zmiennością i **nie ma rozkładu normalnego, rzeczywistą liczbę komórek somatycznych** przetransformowano na logarytm naturalny, co pozwoliło na spełnienie warunków rozkładu normalnego.

Materiał biologiczny stanowiła pełna krew obwodowa (5 ml) pobierana do próbek próżniowych zawierających K₃EDTA jako czynnik anykoagulujący. Z pobranej krwi izolowano DNA z wykorzystaniem zestawu do izolacji DNA MasterPure™ (Epicentre®), zgodnie z protokołem izolacji dołączonym do zestawu. Genotypy poszczególnych krów określano przy zastosowaniu techniki PCR-RFLP. Analizowano trzy punktowe mutacje genowe (SNV, ang. *single nucleotide variant*) w regionie promotorowym 5' genu *TG* opisane w pracy Shin i Chung (2007). Wykorzystano trzy sekwencje starterowe (dwa startery prowadzące oraz jeden starter odwrotny) w odpowiednich kombinacjach, w celu

zamplifikowania wybranych fragmentów genu *TG*. Sekwencje starterowe zastosowane w celu określenia genotypów zaprojektowane zostały z wykorzystaniem programu Primer 3 (Untergasser i in., 2012) i w oparciu o sekwencje genu dostępne w bazie Ensembl (<https://www.ensembl.org>) oraz w dwóch przypadkach (obydwa startery prowadzące) wykorzystano metodę ACRS (sztuczne wprowadzenie miejsca restrykcyjnego), celem wykreowania miejsca cięcia dla enzymów. Szczegółowe informacje dotyczące analizowanych SNP, tj. lokalizację, sekwencje starterów, temperaturę wydłużania łańcucha, enzymy restrykcyjne oraz wielkość produktów otrzymanych po PCR i wielkość fragmentów po trawieniu enzymem podano w tabeli 1.

Tabela 1 – Table 1

Warunki PCR-RFLP dla analizowanych polimorfizmów w genie *TG*

PCR-RFLP conditions for the analysed polymorphisms in the *TG* gene

| SNP | Sekwencja starterów (5' – 3') Primer sequence (5' – 3') | AT | AS (bp) | RE | RFLP (bp) |
|-------------------------------|--|------|------------|---------------|--------------------------------|
| 257 C>T <i>rs207642293</i> | F: GAGGGAGCATTGTGTTT <u>GT</u> R: CTGTTTTCTCTGCTGGTCAC | 50°C | 440 | <i>Afw26I</i> | C: 256, 158, 26 T: 282, 158 |
| 335A>G <i>rs523209078</i> | F: TGAAGATGAATTATGAAGCC <u>GC</u> R: CTGTTTTCTCTGCTGGTCAC | 50°C | 363 | <i>HhaI</i> | A: 363 G: 339, 24 |
| 422C>T <i>rs135751032</i> | F: GAGGGAGCATTGTGTTT <u>GT</u> R: CTGTTTTCTCTGCTGGTCAC | 50°C | 440 | <i>PstI</i> | C: 256, 184 T: 440 |

AT – temperatura annealingu; AS – wielkość ampliconów; RE – enzym restrykcyjny, nukleotydy są podkreślone; RFLP – wielkość produktów po trawieniu

AT – annealing temperature; AS – amplicon size, RE – restriction enzyme, mismatched nucleotides are underlined; RFLP – digestion product size

Reakcje PCR prowadzone były w mieszaninach o końcowej objętości 25 µl zawierających: starter prowadzący (1,0 µl), starter odwrotny (1,0 µl), standardową i gotową do użycia mieszaninę 2xPCR Mix (12,5 µl), DNA (2 µl) oraz wodę wolną od nukleaz (8,5 µl). Poszczególne etapy PCR prowadzone były w następujących warunkach termicznych: początkowa denaturacja w 94°C przez 5 minut, następnie denaturacja właściwa w 94°C przez 45 sekund, hybrydyzacja w 50°C przez 45 sekund, wydłużanie łańcucha w 72°C przez 45 sekund (powtórzone w 30 cyklach) oraz wydłużanie końcowe w 72°C przez 5 minut.

Trawienie enzymem restrykcyjnym produktu otrzymanego po PCR prowadzone było w czasie i temperaturze zgodnej z zaleceniami producenta. Następnie otrzymane fragmenty rozdzielane były z wykorzystaniem elektroforezy poziomej na 2% żelach agarozowych barwionych bromkiem etydyny i wizualizowane pod UV transiluminatorem.

Obliczano frekwencję genotypów i alleli, a wskaźnik informacji o polimorfizmie (ang. *polymorphism information content*, PIC) został oszacowany zgodnie z metodą Nei i Roychoudhury (1974).

Następnie przeprowadzono analizę statystyczną zależności między poszczególnymi genotypami a wybranymi cechami użytkowości bydła mlecznego: dobową wydajnością mleka, zawartością tłuszczu i białka w mleku oraz liczbą komórek somatycznych. Anali-

za statystyczna między wariantami genetycznymi genu kodującego tyreoglobulinę a cechami użytkowości prowadzona była przy użyciu programu STATISTICA®12.0 (Statsoft Inc., 2014). Wykorzystano model jednoczynnikowej analizy wariancji:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

gdzie:

μ – wartość oczekiwana,

t_i – analizowana zmienna,

e_{ij} – efekt błędu losowego.

Wyniki i dyskusja

W tabeli 2. przedstawiono frekwencję genotypów oraz alleli dla poszczególnych tranzycji w regionie 5' genu *TG*. Dla wszystkich trzech analizowanych punktowych mutacji genowych zidentyfikowano obecność wszystkich trzech możliwych genotypów. Analiza otrzymanych wyników wskazuje, że dla tranzycji 257C>T wykazano najwyższą frekwencję dla genotypu *CC* oraz dla allelu *C*, dla tranzycji 335A>G najczęściej występującym genotypem był genotyp homozygotyczny *AA*, a allelem o najwyższej frekwencji allel *A*. W przypadku tranzycji 422C>T zaobserwowano najwyższą frekwencję dla genotypu heterozygotycznego, a najczęściej występującym allelem był allel *C*.

Tabela 2 – Table 2

Frekwencja genotypów i alleli (n – liczba krów)

Genotype and allele frequencies (n – number of cows)

| Polimorfizm Polymorphism | n | Frekwencje genotypów Genotype frequencies | | Frekwencje alleli Allele frequencies | | PIC |
|-----------------------------|----|--|------|---|-------|-------|
| 257C>T | 70 | <i>CC</i> | 0,70 | <i>C</i> | 0,830 | 0,242 |
| | 26 | <i>CT</i> | 0,26 | <i>T</i> | 0,170 | |
| | 4 | <i>TT</i> | 0,04 | | | |
| 335A>G | 59 | <i>AA</i> | 0,59 | <i>A</i> | 0,765 | 0,295 |
| | 35 | <i>AG</i> | 0,35 | <i>G</i> | 0,235 | |
| | 6 | <i>GG</i> | 0,06 | | | |
| 422C>T | 40 | <i>CC</i> | 0,40 | <i>C</i> | 0,635 | 0,356 |
| | 47 | <i>CT</i> | 0,47 | <i>T</i> | 0,365 | |
| | 13 | <i>TT</i> | 0,13 | | | |

Tranzycja 422C>T jest najczęściej badaną punktową mutacją genową w genie kodującym tyreoglobulinę u bydła. Frekwencja allelu *C* stwierdzona przez innych autorów jest bardzo różna: od 0,51 u bydła rasy angus do 0,98 u bydła rasy hereford (Pannier i in., 2010), a najczęściej waha się w granicach od 0,65 do 0,87 (Khatib i in., 2007; Anton i in., 2008, 2012). Natomiast tranzycje 257C>T oraz 335A>G zostały do tej pory opisane tylko w pracy Shin i Chung (2007), ale bez podania frekwencji alleli czy też genotypów dla tych punktowych mutacji genowych.

Ocena PIC zgodna z klasyfikacją Botstein i in. (1980) – według której o niskim polimorfizmie mówimy, gdy wartość PIC jest mniejsza od 0,25, o średnim jeśli wartość PIC zawiera się w przedziale 0,25-0,5, a o wysokim, gdy wartość PIC jest większa od 0,5 – wykazała średni polimorfizm dla wszystkich trzech miejsc polimorficznych.

W tabeli 3. przedstawiono wyniki analizy statystycznej poszczególnych genotypów w odniesieniu do wybranych cech użytkowości mlecznej, takich jak: dobowa wydajność mleka (kg), zawartość tłuszczu (%) i białka (%) w mleku oraz liczba komórek somatycznych.

Tabela 3 – Table 3

Wartości średnie i odchylenie standardowe dla cech użytkowości mlecznej w odniesieniu do genotypów TG
Mean values and standard deviations for milk production traits in relation to TG genotypes

| Genotyp Genotype | Wydajność mleka Milk yield (kg) | Zawartość tłuszczu Fat content (%) | Zawartość białka Protein content (%) | LnLKS* LnSCC* |
|---------------------|---------------------------------------|--|--|--------------------------|
| 257C>T | | | | |
| CC | 18,68 ±6,17 ^a | 3,95 ±0,59 ^A | 3,36 ±0,39 ^a | 4,12 ±0,79 ^{Ac} |
| CT | 16,56 ±6,08 ^b | 4,71 ±0,68 ^B | 3,75 ±0,46 ^b | 4,36 ±0,84 ^{Bd} |
| TT | 18,61 ±5,62 ^c | 5,25 ±0,82 ^C | 3,66 ±0,30 ^c | 3,67 ±0,74 ^{AB} |
| 335A>G | | | | |
| AA | 17,40 ±6,05 ^A | 4,46 ±0,70 ^A | 3,57 ±0,47 ^{Ac} | 4,13 ±0,85 ^a |
| AG | 19,41 ±6,17 ^{Bc} | 3,87 ±0,60 ^B | 3,35 ±0,35 ^{Bd} | 4,19 ±0,77 |
| GG | 17,94 ±6,45 ^d | 3,48 ±0,59 ^C | 3,23 ±0,39 ^B | 4,37 ±0,75 ^b |
| 422C>T | | | | |
| CC | 19,59 ±6,22 ^A | 3,78 ±0,57 ^A | 3,30 ±0,36 ^A | 4,21 ±0,78 |
| CT | 17,03 ±5,96 ^{Bc} | 4,33 ±0,60 ^B | 3,53 ±0,43 ^B | 4,13 ±0,82 |
| TT | 17,64 ±6,02 ^{Bd} | 4,98 ±0,82 ^C | 3,80 ±0,47 ^C | 4,14 ±0,91 |

*LnLKS – logarytm naturalny liczby komórek somatycznych

*LnSCC – natural logarithm of somatic cell count

a, b – wartości oznaczone różnymi małymi literami różnią się statystycznie istotnie ($P \leq 0,05$)

A, B – wartości oznaczone różnymi wielkimi literami różnią się statystycznie wysoce istotnie ($P \leq 0,01$)

a, b – values in columns with different lowercase letters differ significantly ($P \leq 0,05$)

A, B – values in columns with different capital letters differ highly significantly ($P \leq 0,01$)

Analiza wyników dla tranzycji 257C>T pozwala na stwierdzenie, że krowy o genotypie heterozygotycznym charakteryzowały się najniższą dobową wydajnością mleka oraz najwyższą zawartością białka w mleku i najwyższą liczbą komórek somatycznych. Zwierzęta o genotypie homozygotycznym CC cechowały się najniższą zawartością białka i tłuszczu w mleku, natomiast krowy o genotypie homozygotycznym TT charakteryzowały się najwyższą zawartością tłuszczu w mleku oraz najniższą liczbą komórek somatycznych. Wszystkie te zależności zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$).

W przypadku tranzycji 335A>G również stwierdzono statystycznie istotne zależności ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$) między poszczególnymi genotypami a cechami użytkowości mlecznej. Wykazano, że mleko otrzymane od osobników o genotypie homozygotycznym AA cechowało się najwyższą zawartością tłuszczu i białka oraz najniższą liczbą komórek

somatycznych. Krowy o genotypach heterozygotycznych produkowały najwięcej mleka, a o genotypach homozygotycznych *GG* charakteryzowały się najniższą zawartością tłuszczu w mleku oraz najwyższą liczbą komórek somatycznych.

Dla trzyci 422C>T zaobserwowano, że krowy o genotypie homozygotycznym *CC* cechowały się najwyższą dobową wydajnością mleka, najniższą zawartością tłuszczu i białka w mleku oraz najwyższą liczbą komórek somatycznych. Stwierdzono również, że krowy o genotypie heterozygotycznym produkowały najmniej mleka, a mleko otrzymane od krów o genotypach homozygotycznych *TT* cechowało się najwyższą zawartością tłuszczu i białka. Powyższe zależności zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$) z wyjątkiem cechy jaką jest liczba komórek somatycznych.

Badania dotyczących analizy zależności między polimorfizmem w regionie promotorowym 5' a cechami użytkowości mlecznej jest niewiele i dotyczą one tylko trzyci 422 C>T. Khatib i in. (2007) w badaniach prowadzonych na bydło rasy holsztyńskiej oraz Kowalewska-Luczak i in. (2010) w badaniach bydła rasy jersey nie stwierdzili zależności pomiędzy trzycią 422C>T a cechami użytkowości mlecznej. Natomiast Anton i in. (2012) w badaniach prowadzonych na trzech rasach bydła: holsztyńsko-fryzyjskiej, jersey i węgierskiej simentalskiej wykazali wpływ tej punktowej mutacji genowej na wydajność mleka za laktację 305-dniową, a w przypadku rasy jersey wykazano powiązanie z zawartością tłuszczu w mleku.

Znacznie więcej badań naukowych dotyczy punktowych mutacji genowych w genie *TG* i cech użytkowości mięsnej bydła. Prace te w znacznej większości skupiały się na regionie promotorowym 5', a w szczególności na trzyci 422C>T. Autorzy wykazali wpływ badanej punktowej mutacji genowej na poziom marmurkowatości mięsa (Casas i in., 2007; Shin i Chung, 2007) oraz na zawartość tłuszczu w mięśni najdłuższym grzbiecie (Thaller i in., 2003; Anton i in., 2008). W obrębie genu *TG* badano również region flankujący 3' (Gan i in., 2008; Hou i in., 2011) u różnych ras bydła i wykazano istotny wpływ badanych substytucji na poziom marmurkowatości mięsa.

Doskonalenie zwierząt gospodarskich skupia się przede wszystkim na selektywnej hodowli osobników o pożądanym fenotypach. Coraz więcej dostępnych informacji na temat organizacji i funkcjonowania genomu może być wykorzystanych w programach hodowlanych, które mają na celu poprawę szeregu cech. Określenie lokalizacji markerów genetycznych QTL, które są powiązane z genem odpowiedzialnym za daną cechę często znajduje zastosowanie w programach hodowlanych, jednak identyfikacja genów leżących u podstaw kontroli zmienności zapewnia silniejsze markery (Williams, 2005). Gen kodujący tyreoglobulinę wydaje się być genem, który może znaleźć zastosowanie w programach hodowlanych. Został on wytypowany przez Barendse (1999) jako pozycyjny gen kandydujący ze względu na zmapowanie jego *locus* w obszarze chromosomu powiązanego z cechami użytkowymi bydła oraz przez Thaller i in. (2003) jako funkcjonalny gen kandydujący z powodu wpływu produktu tego genu w metabolizmie lipidów. Liczne badania dotyczące głównie cech użytkowości mięsnej zdają się to potwierdzać.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania własne wskazują, że wszystkie trzy analizowane trzycie w regionie promotorowym genu *TG* wpływają na poszczególne analizowane cechy użyt-

kowości mlecznej, tj. dobową wydajność mleka, zawartość tłuszczu i białka w mleku oraz liczbę komórek somatycznych w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej i wyniki te zostały potwierdzone statystycznie ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$). Zaobserwowano, że w przypadku tranzykcji 237C>T można wskazać genotypy o niekorzystnym wpływie na cechy użytkowości mlecznej, tj. krowy o genotypie heterozygotycznym cechowały się najniższą dobową wydajnością mleka, a mleko pozyskane od krów o genotypie CC charakteryzowało się najniższą zawartością tłuszczu oraz białka. Dla dwóch pozostałych tranzykcji odnotowano pozytywny wpływ genotypów na takie cechy użytkowości mlecznej, jak dobowa wydajność mleka (genotyp AG 335A>G oraz genotyp CC 422C>T) oraz zawartość białka w mleku (genotyp AA 335A>G) i zawartość tłuszczu w mleku (genotyp TT 422C>T). Dlatego też prowadząc selekcję bydła mlecznego powinno się unikać zwierząt o genotypie CT (237 C>T) oraz preferować osobniki o genotypach CC (422C>T) i AG (335A>G).

Podsumowując można stwierdzić, że wyniki przeprowadzonych badań własnych mogą być wykorzystane w selekcji bydła mlecznego oraz przełożyć się na korzyści ekonomiczne dla producentów mleka i hodowców bydła mlecznego. Oczywiście wyniki te należy potraktować jako wstępne ze względu na niezbyt dużą liczbę zwierząt objętych doświadczeniem. Kolejnym krokiem powinno być poszerzenie badań o inne rasy bydła i bardziej liczne stada zwierząt.

PIŚMIENNICTWO

- Anton I., Kovács K., Fésüs L., Várhegyi J., Lehel L., Hajda Z., Polgár J.P., Szabó F., Zsolnai A. (2008). Effect of DGAT1 and TG gene polymorphisms on intramuscular fat and on milk production traits in different cattle breeds in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 56 (2): 181–186 (DOI: 10.1556/AVet.56.2008.2.5).
- Anton I., Kovács K., Holló G., Farkas V., Lehel L., Hajda Z., Zsolnai A. (2011). Effect of leptin, DGAT1 and TG gene polymorphisms on the intramuscular fat of Angus cattle in Hungary. *Livestock Science*, 135: 300–303 (DOI:10.1016/j.livsci.2010.07.012).
- Anton I., Kovács K., Holló G., Farkas V., Szabó F., Egerszegi I., Rátky J., Zsolnai A., Brüssow K.P. (2012). Effect of DGAT1, leptin and TG gene polymorphisms on some milk production traits in different dairy cattle breeds in Hungary. *Archiv Tierzucht*, 55 (4): 307–314.
- Barendse W.J. (1999). Assessing lipid metabolism. Patent, International Publication Number: WO 99/23248. World Intellectual Property Organization.
- Botstein D., White R.L., Skolnik M., Davis R.W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314–331.
- Casas E., White S.N., Shackelford S.D., Wheeler T.L., Koohmaraie M., Bennett G.L. (2007). Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 85: 2807–2814.
- Gan Q.F., Zhang L.P., Li J.Y., Hou G.Y., Li D.H., Gao X. (2008). Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Journal of Applied Genetics*, 49, 251–255.
- Hou G.Y., Yuan Z.R., Zhou H.L., Zhang L.P., Li J.Y., Gao X., Wang D.J., Gao H.J., Xu S.Z. (2011). Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Molecular Biology Reports*, 38: 4705–4708 (DOI:10.1007/s11033-010-0605-1).

- Khatib H., Zaitoun I., Chang Y.M., Maltecca C., Boettcher P. (2007). Evaluation of association between polymorphism within the thyroglobulin gene and milk production traits in dairy cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 124: 26–28.
- Khatkar M.S., Thomson P.C., Tammen I., Raadsma H.W. (2004). Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genetics Selection Evolution*, 36: 163–190.
- Kowalewska-Luczak I., Kulig H., Szewczyk K. (2010). Polimorfizm w genie tyreoglobuliny u bydła rasy jersey. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 9 (4): 129–134.
- Mullur R., Liu Y.Y., Brent G.A., (2014). Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiological Reviews*, 94: 355–382 (DOI:10.1152/physrev.00030.2013)
- Nei M., Roychoudhury A.K. (1974). Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 76: 379–390.
- Pannier L., Mullen A.M., Hamill R.M., Stapleton P.C., Sweeney T. (2010). Association analysis of single nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in crossbred *Bos taurus* cattle. *Meat Science*, 85: 515–518.
- Shin S.C., Chung E.R. (2007). Association of SNP Marker in the thyroglobulin gene with carcass and meat quality traits in Korean cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20: 172-177.
- Thaller G., Kuhn C., Winter A., Ewald G., Bellmann O., Wegner J. (2003). DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. *Animal Gene-tics*, 34: 354–357.
- Untergasser A., Cutcutache I., Koressaar T., Ye J., Faircloth B.C., Remm M., Rozen S.G. (2012). Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research* 40(15):e115.
- Van der Spek A.H., Fliers E., Boelen A. (2017). The classic pathways of thyroid hormone meta-bolism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 458: 29–38 (DOI.org/10.1016/j.mce.2017.01.025).
- Williams J.L. (2005). The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology. *Revue scientifique et technique – Office international des epizooties*, 24 (1): 379–391.

Ewa Czerniawska-Piątkowska, Inga Kowalewska-Luczak

Effect of polymorphism in the 5' promoter region of the *TG* gene on the milk production traits of Polish Holstein-Friesian cattle

S u m m a r y

The aim of the study was to determine the relationship between the occurrence of three different point mutations (257C>T, 335A>G and 422 C>T) in the promoter region of the gene encoding thyroglobulin (causing polymorphism) and the milk production traits of cattle. The research was conducted on a herd of Polish Holstein-Friesian cows. Genotypes were determined by PCR and its ACRS modification. The frequency of more common alleles for the point mutations was determined: C – 0.830 (257C>T), A – 0.765 (335A>G), and C – 0.635 (422C>T). The statistical analysis showed that all three point mutations in the promoter region of the *TG* gene significantly ($P \leq 0.05$; $P \leq 0.01$) affect the analysed milk production traits, i.e. daily milk yield, content of milk fat and protein, and somatic cell count.

KEY WORDS: thyroglobulin, cattle, SNP, milk production