

Asocjacja wybranych miejsc polimorficznych w genie *IGF1R* z masą ciała i konformacją bydła rasy hereford

Małgorzata Anna Szewczuk^{1#}, Hanna Kulig²

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,
Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt,

¹Katedra Nauk o Zwierzętach Przeżuwających,

ul. Klemensa Janickiego 29, 71-270 Szczecin; #e-mail: małgorzata.szewczuk@zut.edu.pl

²Katedra Genetyki,

ul. Piastów 45, 70-310 Szczecin

Celem badań było oszacowanie zależności pomiędzy wybranymi miejscami polimorficznymi zlokalizowanymi w różnych fragmentach genu *IGF1R* a parametrami wzrostu i rozwoju bydła rasy hereford. Zmienność genu identyfikowano metodami PCR-RFLP oraz ACRS-PCR. W badanym stadzie nie stwierdzono zmienności w układzie *IGF1R/i4/Mph1103I* (monomorfizm), natomiast w przypadku polimorfizmu *IGF1R/e7/TaII* zaobserwowano występowanie jednego osobnika o genotypie heterozygotycznym, pozostałe miały genotyp *CC*. W przypadku *IGF1R/e21/TaqI* oraz *IGF1R/i4/HinfI* istotne różnice odnotowano jedynie w odniesieniu do masy urodzeniowej ($P \leq 0,01$; $P \leq 0,05$). Ponadto zaobserwowano, że osobniki o rzadkim genotypie (*TT*) układu *IGF1R/i4/HinfI* były wyższe w krzyżu, miały większą masę ciała i wcześniej występowały u nich wycielenia.

SŁOWA KLUCZOWE: krowy, *IGF1R*, masa ciała, przyrosty dobowe

W hodowli zwierząt gospodarskich duże znaczenie ma poznanie podłoża molekularnego zmienności cech produkcyjnych. Biorąc pod uwagę, że procesy z tym związane kontrolowane są poligenowo (wiele genów o bardzo małych efektach), masowo pojawiają się informacje o nowych regionach QTL zlokalizowanych w/lub w sąsiedztwie genów o dużym znaczeniu dla danych cech.

Masa ciała, przyrosty dobowe, wysokość w kłębie i krzyżu są kluczowymi wskaźnikami świadczącym o prawidłowym wzroście i rozwoju młodych zwierząt. Mają na nie wpływ zarówno czynniki genetyczne, jak i środowiskowe. Dotychczas poznano wiele genów uczestniczących w procesie wzrostu i rozwoju młodych organizmów. Za jedne z ważniejszych w regulacji tych procesów uważa się geny kodujące elementy osi somatotropowej, a wśród nich geny kodujące system insulinopodobnych czynników wzrostu. Jednym z takich elementów jest insulinopodobny czynnik wzrostu I (IGF-I), który syntetyzowany

jest głównie w wątrobie w odpowiedzi na wydzielanie hormonu wzrostu (Kim, 2014). Jego działanie jest ściśle związane z obecnością specyficznego receptora dla insulinopodobnego czynnika wzrostu I – IGF-IR (Plath-Gabler i in., 2001; Macháčková, 2019).

IGF-IR to heterotetrameryczna glikoproteina zbudowana z 1367 aminokwasów, złożona z dwóch zewnątrzkomórkowych podjednostek alfa oraz dwóch transbłonowych podjednostek beta, które są połączone mostkami disiarczkowymi. Zbudowane z 706 aminokwasów zewnątrzkomórkowe podjednostki alfa stanowią miejsce wiązania czynnika wzrostowego, zaś podjednostki beta, które składają się z 627 aminokwasów każda, zapoczątkowują wewnątrzkomórkowy szlak przekazywania sygnału poprzez kinazę tyrozynową (Obrepalska-Stęplowska i in., 2005). Moody i in. (1996) zmapowali gen *IGF1R* w bydłym chromosomie 21, który składa się z 21 eksonów, przedzielonych czasem bardzo długimi intronami (nawet 50-150 kpz).

Z uwagi na fakt, że IGF-IR pośredniczy w przekazywaniu sygnału IGF-I, zasadne wydaje się być sprawdzenie, czy istnieje związek pomiędzy wybranymi miejscami polimorficznymi zlokalizowanymi w różnych fragmentach genu *IGF1R* a parametrami wzrostu i rozwoju bydła rasy hereford.

Material i metody

Badaniami objęto 118 krów rasy hereford pochodzących z jednego z gospodarstw na terenie województwa zachodniopomorskiego. Krowy z cielętami przez cały rok utrzymywane były na okólnikach. Jedynie krowy wysokocielne w okresie okołoporodowym i tydzień po wycieleniu utrzymywano w budynkach.

Żywnienie letnie, w okresie od maja do listopada, oparte było na zielonce pobranej na pastwisku. W okresie zimowym podstawę dawki żywieniowej stanowiły: kiszonka z kuku rydzy i traw, sianokiszonka oraz siano, uzupełniane preparatem mineralno-witaminowym. Krowom cielnym dodatkowo podawano mieszankę B-1 (produkowaną we własnym zakresie). Zarówno w okresie letnim, jak i zimowym zwierzęta miały stały dostęp do wody.

Od krów pobrano krew obwodową z żyły szyjnej zewnętrznej do probówek zawierających antykoagulant K3 EDTA. Do izolacji DNA zastosowano zestaw MasterPure™ Genomic DNA Purification Kit (Epicenter Technologies) według metody izolacji podanej przez producenta. Zmienność genu bydłowego receptora dla insulinopodobnego czynnika wzrostu typu I (*IGF1R*) identyfikowano metodą polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (PCR-RFLP, ang. *Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragments Length Polymorphism*), a przy braku istniejącego komercyjnie enzymu restrykcyjnego zastosowano metodykę sztucznego wprowadzenia miejsc restrykcyjnych (ACRS-PCR, ang. *Artificially Created Restriction Site – PCR*).

Amplifikację fragmentu eksonu 7 przeprowadzono z wykorzystaniem sekwencji startowych (IGF1Re7F 5' acagtgttgggtccttagtg 3' oraz IGF1Re7R 5' aggtgatgatgattcggttctt 3') i warunków reakcji opracowanych przez Szewczuk (2016a). W obrębie fragmentu o długości 236 pz istnieją trzy sekwencje DNA rozpoznawane przez enzym restrykcyjny *TaiI* (ACGT↓; MBI Fermentas/ABO, Gdańsk, Polska), przy czym w środkowej zlokalizowane jest ciche miejsce polimorficzne w trzeciej literze kodonu dla kwasu asparaginowego (D⁴⁹¹; GAC → GAT) (dalej w pracy układ prezentowany jest jako *IGF1R/e7/TaiI*).

Fragment eksonu 21 genu *IGF1R* amplifikowano z wykorzystaniem metodyki opisanej przez Szewczuk i in. (2013). Układ ten (*IGF1R/e21/TaqI*) dotyczy mutacji w regionie 3' UTR genu *IGF1R*. Sekwencje starterowe (*IGF1Re21F*: 5'-gccggtcaccataggtctc**C**g-3'; *IGF1Re21R*: 5'-agtgggggttttggcagaat-3') flankowały fragment o długości 163 pz, przy czym wprowadzały sztuczne miejsca restrykcyjne dla enzymu *TaqI* (T↓CG**A**; MBI Fermentas/ABO, Gdańsk, Polska).

Ostatnie dwa miejsca polimorficzne (*IGF1R/i4/HinfI* i *IGF1R/i4/Mph1103I*) zlokalizowane są poza sekwencją kodującą. Para starterów (*IGF1Ri4F*: 5'-CTGGATATGTCCGCCTTAGC-3' oraz *IGF1Ri4R*: 5'-ACAGCTCTTGTGTCCCTGGT-3') pozwoliła na amplifikację fragmentu genu o długości 231 pz (Szewczuk i in., 2013). Do identyfikacji dwóch miejsc polimorficznych w intronie 4 wykorzystano dwa enzymy restrykcyjne: *HinfI* (G↓ANTC) i *Mph1103I* (ATGCA↓T).

W pracy oceniano masę ciała cieląt przy urodzeniu, standaryzowaną masę ciała cieląt w wieku 210 dni, średnie przyrosty dobowe cieląt od urodzenia do 210. dnia życia, a następnie ich masę ciała jako pierwiastek, wysokość w krzyżu, obwód klatki piersiowej oraz wiek pierwszego wycielenia. Krowy w stadzie były inseminowane, a kryterium krycia przyjętym przez hodowcę był wiek krowy, jej masa ciała oraz kondycja.

Dane dotyczące użytkowości krów uzyskano z dokumentacji hodowlanej prowadzonej w gospodarstwie (karty jałówki-krowy) oraz przez Polski Związek Hodowców i Producentów Bydła Mięsnego (PZHiPBM).

Przeprowadzono analizę statystyczną związku pomiędzy genotypami wybranych układów *IGF1R/e21/TaqI* oraz *IGF1R/i4/HinfI* a wybranymi parametrami użytkowymi bydła. Obliczenia statystyczne przeprowadzono przy użyciu ogólnego modelu liniowego (GLM), zawartego w procedurze pakietu oprogramowania Statistica® 12.0 PL. Zastosowano następujący model statystyczny:

$$Y_{ijkl} = \mu + G_i + S_j + YS_k + e_{ijkl}$$

gdzie:

Y_{ijkl} – analizowana cecha,

μ – średnia ogólna,

G_i – efekt genotypu *IGF1R* ($i=1, 2$ lub $1, \dots, 3$),

S_j – losowy wpływ ojca ($j=1, \dots, 29$),

YS_k – stały efekt roku/sezonu ($k=1, \dots, 18$),

e_{ijkl} – błąd losowy.

Istotność różnic między średnimi obliczono testem wielokrotnego rozstępu Duncana.

Wyniki i dyskusja

W badanym stadzie 118 krów mięsnych rasy hereford nie stwierdzono zmienności w układzie *IGF1R/i4/Mph1103I* (monomorfizm, tylko allel C). Odnotowano występowanie jednego osobnika o genotypie heterozygotycznym CT dla układu *IGF1R/e7/TaiI*, natomiast pozostałe osobniki były monomorficzne (genotyp CC).

Kolejne dwa układy charakteryzowały się zmiennością w obrębie analizowanego miejsca polimorficznego. W przypadku SNP zlokalizowanego w części 3'UTR około 17%

krów miało genotyp heterozygotyczny, pozostałe zaś homozygotyczny *AA* (allel *A* dominował – frekwencja 0,915). Największą zmienność stwierdzono dla układu zlokalizowanego w intronie 4, identyfikowanego enzymem *HinfI*. W analizowanym stadzie przeszło połowa osobników była heterozygotyczna (52,1%); wysoką frekwencję (0,375) odnotowano dla genotypu *CC*, najrzadziej występowały krowy o genotypie *TT* (10% badanej populacji) – tabela 1.

Tabela 1 – Table 1

Frekwencje genotypów i alleli dla czterech układów polimorficznych w badanym stadzie krów
Genotype and allele frequencies for four polymorphisms in the herd

SNP	Genotypy Genotype	n	f	Allele
<i>IGF1R/e7/TaI</i>	CC	105	0,991	C = 0,995 T = 0,005
	CT	1	0,009	
	TT	0	0,000	
	Razem Total	106	1,000	
<i>IGF1R/e21/TaqI</i>	AA	98	0,831	A = 0,915 G = 0,085
	AG	20	0,169	
	GG	0	0,000	
	Razem Total	118	1,000	
<i>IGF1R/i4/HinfI</i>	CC	36	0,375	C = 0,635 T = 0,365
	CT	50	0,521	
	TT	10	0,104	
	Razem Total	96	1,000	
<i>IGF1R/i4/Mph1103I</i>	CC	96	1,000	C = 1,000 T = 0,000
	CT	0	0,000	
	TT	0	0,000	
	Razem Total	96	1,000	

n – liczebność, f – frekwencja
n – number, f – frequency

Ze względu na brak zmienności w dwóch układach, zostały one pominięte z dalszej analizy statystycznej. Wyniki dla pozostałych układów (*IGF1R/e21/TaqI* i *IGF1R/i4/HinfI*) zestawiono w tabeli 2.

Tabela 2 – Table 2

Parametry użytkowe krów rasy hereford (błędy standardowe podano w nawiasach)

Performance parameters of Hereford cows (standard errors in brackets)

SNP	Genotyp Genotype	n	BWT (kg)	ADG (g)	WWT ₂₁₀ (kg)	Wysokość w krzyżu Height of lumbar spine (cm)	Obwód klatki piersiowej Chest girth (cm)	BW-FC (kg)	Wiek 1. wycielenia Age at first calving (w dniach; days)
<i>IGF1R/e21/TaqI</i>	AA	98	33,5 ^A (0,4)	1045,3 (13,0)	260,0 (3,5)	135,7 (0,3)	194,6 (0,8)	570,9 (3,9)	1071,6 (33,6)
	AG	20	35,7 ^A (0,9)	1047,0 (35,6)	257,5 (6,4)	135,4 (0,9)	213,7 (18,3)	566,9 (10,7)	1167,6 (110,6)
<i>IGF1R/i4/HinfI</i>	CC	36	34,3 (0,7)	1008,0 (17,9)	250,4 (4,0)	135,5 ^{Ab} (0,7)	211,9 (14,3)	567,9 ^a (4,9)	1036,4 ^A (42,6)
	CT	50	35,2 ^a (0,6)	1037,8 (24,5)	254,2 (5,3)	137,2 ^{ab} (0,6)	194,2 (0,8)	573,2 (8,3)	955,7 ^b (30,4)
	TT	10	33,6 ^a (1,4)	1066,2 (32,2)	257,5 (7,2)	139,2 ^{Aa} (1,3)	192,2 (1,4)	586,4 ^a (13,9)	819,4 ^{Ab} (41,7)

n – liczebność; BWT – urodzeniowa masa ciała; ADG – średnie przyrosty dobowe; WWT₂₁₀ – standaryzowana masa ciała na 210. dzień odchowu; BW-FC – masa ciała krowy

a, b – wartości oznaczone w kolumnach małymi literami różnią się istotnie przy P≤0,05

A – wartości oznaczone w kolumnach dużą literą różnią się istotnie przy P≤0,01

n – number of animals in the group; BWT – birth weight; ADG – average daily gains between birth and weaning;

WWT₂₁₀ – weaning weight adjusted to 210 days of age; BW-FC – body weight of cows

a, b – values in columns with lowercase letters differ significantly at P≤0,05

A – values in columns with a capital letter differ significantly at P≤0,01

W przypadku SNP zlokalizowanego w części 3'UTR bydłowego genu *IGF1R* istotne różnice (P≤0,01) odnotowano jedynie dla masy urodzeniowej. Osobniki o genotypie heterozygotycznym rodziły się cięższe o 2,24 kg w porównaniu do cieląt o genotypie AA. Brak osobników o genotypie GG nie pozwala na wnikliwą ocenę efektu tego polimorfizmu w odniesieniu do tej cechy.

Dla układu zlokalizowanego w części niekodującej genu również stwierdzono różnice w masie urodzeniowej; heterozygotyczne cielęta rodziły się cięższe o 1,6 kg od cieląt o rzadkim genotypie TT (P≤0,05). Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy osobnikami o różnych genotypach a przyrostami dobowymi, masą ciała standaryzowaną na 210. dzień życia, jak i obwodem klatki piersiowej. Osobniki o rzadkim genotypie (TT) były istotnie wyższe w krzyżu zarówno w porównaniu do osobników o genotypie CC (+3,7 cm; P<0,01), jak i heterozygot (+2 cm; P≤0,05) oraz na późniejszym etapie życia miały większą masę ciała (P≤0,05) i niższy wiek pierwszego wycielenia (P≤0,01) w stosunku do krów z genotypem CC (różnice odpowiednio +18,5 kg i 217 dni). Odnotowano również różnicę w wieku pierwszego wycielenia pomiędzy osobnikami o genotypie TT i heterozygotycznymi (80,7 dni; P≤0,05). Pomimo że początkowo odnotowano większą masę urodzeniową heterozygot (efekt nieaddytywny), na dalszych etapach życia zwierząt zaobserwowano,

że osobniki o najmniejszej masie przy urodzeniu (*TT*) cechowały się szybszym tempem wzrostu (co pozwoliło na osiągnięcie największej masy docelowej) oraz wcześniejszym wiekiem pierwszego wycielenia w porównaniu do pozostałych zwierząt, zwłaszcza tych o genotypie *CC* (potencjalny efekt addytywny).

Dotychczas w piśmiennictwie krajowym i zagranicznym pojawiło się niewiele informacji w odniesieniu do polimorfizmu w bydlęcym genie *IGF1R* i analizowanych w pracy wskaźników użytkowości mięsnej bydła. Najczęściej identyfikowanym miejscem polimorficznym jest *IGF1R/TaqI*, opisane po raz pierwszy przez Moody i in. (1996), które nie występuje u *B. taurus*. Miejsce to nie pokrywa się z prezentowanym w pracy układem *IGF1R/e21/TaqI*. Zarówno Zhang i Li (2011), Akis i in. (2010), jak i Curi i in. (2005) nie wykazali istotnych różnic pomiędzy genotypami *IGF1R/TaqI* a cechami wzrostu bydła.

W pracy Szewczuk i in. (2013), w badaniach na 310 cielętach rasy angus nie stwierdzono istotnych różnic w masie urodzeniowej, przyrostach dobowych i masie ciała w 210. dniu odchowu dla analizowanego w pracy układu *IGF1R/e21/TaqI*. Jakkolwiek, istotne różnice dla masy ciała w 210. dniu odchowu odnotowano dla innego układu, zlokalizowanego w eksonie 12 (*IGF1R/e12/MspI*), gdzie cielęta o genotypie *GG* były cięższe o +5,06 kg od heterozygot. Obserwacje te potwierdziła również analiza genotypów kombinowanych. W innym układzie opisanym przez Arnim i in. (2018) jako *IGF1R/MspI*, dotyczącym SNP zlokalizowanym w intronie 12, nie stwierdzono istotnych zależności w odniesieniu do przyrostów dobowych i konformacji ciała.

W odniesieniu do układu *IGF1R/e7/TaiI*, który w prezentowanej pracy był niemal monomorficzny w populacji krów hereford, osobniki o genotypie *CC* (około 80% populacji) miały o 5,5 kg istotnie większą standaryzowaną masę ciała w 210. dniu odchowu ($P \leq 0,05$), jednak ich masa przy pierwszym wycieleniu była o 10,6 kg niższa niż średnia masa osobników o genotypie *CT* ($P < 0,05$) (Szewczuk, 2016a).

Układ *IGF1R/e12/MspI* był też przedmiotem badań Szewczuk i in. (2017) przeprowadzonych na 141 osobnikach rasy hereford i 161 osobnikach rasy limousine. Zmienność w eksonie 12 nie miała wpływu na urodzeniową masę ciała, ale wykazano związek pomiędzy przyrostami dobowymi i standaryzowaną masą ciała w 210. dniu odchowu, faworyzując również, tak jak u rasy angus, genotyp *GG*, przy czym obserwacja ta była niezależna od rasy.

Wszystkie trzy wyżej wymienione układy analizowane były również przez Szewczuk (2016b) w kontekście cech mleczności u bydła rasy montbeliarde. Zauważalna jest wyższa frekwencja heterozygot (około 10%) w układzie *IGF1R/e7/TaiI* (brak również osobników o genotypie *TT*) oraz dominacja allelu G w układzie *IGF1R/e21/TaqI* zamiast allelu A, jak to ma miejsce u bydła ras mięsnych.

Jedyne wzmianki na temat dwóch analizowanych SNP zlokalizowanych w intronie 4 dotyczą bydła mlecznego rasy holsztyńsko-fryzyjskiej. U bydła mlecznego występowanie allelu T w układzie *IGF1R/i4/HinfI* wydaje się być częstsze niż u ras mięsnych, u których dominuje allel C. Natomiast w przypadku polimorfizmu *IGF1R/i4/Mph1103I* allel T jest niezwykle rzadki, niezależnie od rasy i typu użytkowego bydła (Szewczuk i in., 2011).

W badaniach Yi-Lei i in. (2019) analizowano parametry charakteryzujące konformację i masę ciała bydła mięsnego w powiązaniu z polimorfizmem liczby kopii (CNV). Jest to stosunkowo niedawno opisana forma zmienności genetycznej, którą definiuje się jako in-

sercję lub delecję więcej niż 50 pz na poziomie genomu pomiędzy osobnikami tego samego gatunku. Autorzy sugerują, że CNV może wpływać na cechy fenotypu bydła, zwłaszcza związane ze wzrostem ($P \leq 0,01$) i masą ciała ($P \leq 0,05$).

Z punktu widzenia poligenicznej kontroli kształtowania cech mięsności u bydła, tzw. oś somatotropowa składa się z wielu obiecujących genów kandydujących, której główny trzon stanowią geny kodujące hormon wzrostu wraz ze swoistym receptorem (*GH/GHR*) oraz insulinopodobny czynnik wzrostu 1 również ze swoim receptorem (*IGF1/IGF1R*). Casas i in. (2003) oraz Morris i in. (2003) wskazują na występowanie istotnych regionów QTL (ang. *Quantitative Trait Loci*) dla masy urodzeniowej cieląt na chromosomie 21 (BTA21), a dokładnie w regionie centromerowym na odcinku 1-10 cM. Jest to obszar pokrywający się z lokalizacją m.in. genu *IGF1R*. W prezentowanej pracy to właśnie przede wszystkim masa urodzeniowa cieląt istotnie różniła się w zależności od analizowanego genotypu.

Mutacje typu cichego w eksonach, tak jak wybrany w pracy układ *IGF1R/e7/Tail*, nie mają bezpośredniego wpływu na kształtowanie dojrzałego łańcucha aminokwasów receptora. Kwas asparaginowy D⁴⁹¹⁺³⁰, w obrębie którego zlokalizowana jest ta mutacja w odpowiadającym temu aminokwasowi kodonie, zlokalizowany jest w jednej z trzech domen fibronektyn typu III (aminokwasy 461-897) (Ullrich i in., 1986), które nie są bezpośrednio związane z przyłączeniem ligandu – IGF-I do zewnątrzkomórkowej podjednostki IGF-IR. Jakkolwiek, nawet ciche mutacje mogą wpływać zarówno na szybkość, jak również na precyzję translacji (Drummond i Wilke, 2008) i decydować, w jaki sposób „surowe” mRNA jest na dalszych etapach składane i ostatecznie zorganizowane (Parmley i in., 2006). Natomiast mutacje punktowe w obrębie regionu 3'UTR, jak analizowany w pracy układ *IGF1R/e21/TaqI*, w powiązaniu z aktywnością tzw. microRNA mogą pośrednio brać udział w determinowaniu stabilności lub niestabilności cząsteczki mRNA np. genu *IGF1R*, „wyciszania” informacji na niej zgromadzonej, a niekiedy mogą prowadzić nawet do powstania nowych jednostek chorobowych (Huntzinger i Izaurralde, 2011).

Najmniej uwagi poświęca się miejscom polimorficznym zlokalizowanym w części niekodującej (intronach), uważanych do niedawna za nie mające znaczenia. Przykładem są w prezentowanej pracy dwa układy – *IGF1R/i4/HinfI* i *IGF1R/i4/Mph1103I*. Jednakże introny, w obrębie których wykrywa się nieporównywalnie więcej SNP niż w eksonach, mogą zawierać m.in. sekwencje dla wielu czynników wzmacniających (enhancery) czy wyciszających (silencery), które regulują transkrypcje informacji genetycznej lub kontrolują alternatywne składanie genów (Cooper, 2010). Jakkolwiek, oba miejsca polimorficzne nie występują w obrębie regionów znanych ludzkich i mysich enhancerów zdeponowanych w bazach VISTA, FANTOM5 oraz dbSUPER (Visel, 2007; Andersson i in., 2014; Khan i Zhang, 2016).

W wielu przypadkach SNP mogą być położone w sąsiedztwie funkcjonalnych, ale jeszcze nie w pełni zidentyfikowanych SNP, co jest często wykorzystywane jako markery w badaniach asocjacyjnych całego genomu (GWAS, ang. *genome-wide association studies*) (Hay i Roberts, 2018). Według Fortes i in. (2013) zmienność w obrębie genów kodujących szlak sygnałowy IGF-I (szczególnie w *IGF1R*) może mieć związek z wcześniejszym osiągnięciem dojrzałości płciowej krów, zwłaszcza w analizie z uwzględnieniem haplotypów *IGF1R*. Położenie intronu 4, bezpośrednio związanego z dwoma badanymi układami, może warunkować jego funkcjonalność, ponieważ główny łańcuch aminokwa-

sów IGF-IR kodowany jest dopiero od eksonu 3, zaś kolejne fragmenty genu i ich regulacja na płaszczyźnie ekson-intron mają wpływ na finalną podjednostkę α receptora, wchodzącą w bezpośrednią interakcję z IGF-I.

Podsumowanie

Wyżej przedstawione rezultaty badań wskazują na możliwość wykorzystania polimorfizmu w genie *IGF1R* do poprawy cech użytkowości mięsnej bydła. W badaniach własnych po raz pierwszy wykazano związek pomiędzy polimorfizmem *IGF1R/i4/HinfI* a analizowanymi parametrami wzrostu i rozwoju bydła rasy hereford, faworyzując allel *T*. Uzyskane wyniki i spostrzeżenia powinny być jednak poparte dalszymi badaniami prowadzonymi w innych stadach o większej liczebności oraz z bardziej wyrównaną frekwencją poszczególnych genotypów, jak również dla innych ras mięsnych bydła.

PIŚMIENNICTWO

- Akis I., Oztabak K., Gonulalp I., Mengi A., Un C. (2010). IGF-1 and IGF-1R gene polymorphisms in east anatolian red and South Anatolian red cattle breeds. *Russian Journal of Genetics*, 46 (4): 497–501 (DOI: 10.1134/S1022795410040083).
- Andersson R., Gebhard C., Miguel-Escalada I., Hoof I, Bornholdt J., Boyd M. (2014). An atlas of active enhancers across human cell types and tissues. *Nature*, 507: 455–461 (DOI:10.1038/nature12787).
- Arnim Y., Afriani T., Putra D.E. (2018). Association of GH, IGF1R, and PIT1 genes polymorphism with average daily gain and body measurement in Pesisir cattle. *Nusantara Bioscience*, 10: 221-225 (DOI: doi.org/10.13057/nusbiosci/n100404).
- Casas E., Shackelford S.D, Keele J.W., Koohmaraie M., Smith T.P., Stone R.T. (2003). Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle. *Journal of Animal Science*, 81: 2976-2983 (DOI: 10.2527/2003.81122976x).
- Cooper D.N. (2010). Functional intronic polymorphisms: Buried treasure awaiting discovery within our genes. *Human Genomics*, 4 (5): 284–288 (DOI:10.1186/1479-7364-4-5-284).
- Curi R.A., Oliveira H.N., Silveira A.C., Lopes C.R. (2005). Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle. *Livestock Production Science*, 94: 159–167.
- Drummond D.A., Wilke C.O. (2008). Mistranslation-induced protein misfolding as a dominant constraint on coding-sequence evolution. *Cell*, 134: 341-352 (DOI: 10.1016/j.cell.2008.05.042).
- Fortes M.R., Li Y., Collis E., Zhang Y., Hawken R.J. (2013). The IGF1 pathway genes and their association with age of puberty in cattle. *Animal Genetics*, 44: 91–95 (DOI: 10.1111/j.1365-2052.2012.02367.x).
- Hay E.H., Roberts A. (2018). Genome-wide association study for carcass traits in a composite beef cattle breed. *Livestock Science*, 213: 35–43 (DOI: 10.1016/j.livsci.2018.04.018).
- Huntzinger E., Izaurralde E. (2011). Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nature Reviews Genetics*, 12: 99–110 (DOI: 10.1038/nrg2936).

- Kim J.W. (2014). Modulation of the somatotropic axis in periparturient dairy cows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27 (1): 147-154 (DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2013.13139>).
- Khan A., Zhang X. (2016). dbSUPER: a database of super-enhancers in mouse and human genome. *Nucleic Acids Research*, 44: D164–71 (DOI: [10.1093/nar/gkv1002](https://doi.org/10.1093/nar/gkv1002)).
- Macháčková K., Mlčochová K., Potalitsyn P., Hanková K., Socha O., Buděšínský M., Muždalo A., Lepšík M., Černeková M., Radosavljević J., Fábry M., Mitrová K., Chrudinová M., Lin J., Yurenko Y., Hobza P., Selicharová I., Žáková L., Jiráček J. (2019). Mutations at hypothetical binding site 2 in insulin and insulin-like growth factors 1 and 2 result in receptor- and hormone-specific responses. *Journal of Biological Chemistry*, 294 (46): 17371–17382 (DOI: [10.1074/jbc.RA119.010072](https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010072)).
- Moody D.E., Pomp D., Barendse W. (1996). Linkage mapping of the bovine insulin-like growth factor-1 receptor gene. *Mammalian Genome*, 7: 168–169 (DOI: doi.org/10.1007/s003359900046).
- Morris C.A., Cullen N.G., Pitchford W.S., Hickey S.M., Hyndman D.L., Crawford A.M., Bottema C.D. (2003). QTL for birth weight in *Bos taurus* cattle. *Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics Proceedings*, 15: 400–403.
- Obreńska-Stępińska A., Durzyński Ł., Goździcka-Józefiak A. (2005). Insulinopodobny czynnik wzrostu i białka z nim współdziałające. Insulin-like growth factor and interacting proteins. *Postępy Biochemii*, 51 (1): 70–79 (in Polish).
- Parmley J.L., Chamary J.V., Hurst L.D. (2006). Evidence for purifying selection against synonymous mutations in mammalian exonic splicing enhancers. *Molecular Biology and Evolution*, 23: 301–309 (DOI: [10.1093/molbev/msj035](https://doi.org/10.1093/molbev/msj035)).
- Plath-Gabler A., Gabler C., Sinowatz F., Berisha B., Schams D. (2001). The expression of the IGF family and GH receptor in the bovine mammary gland. *Journal of Endocrinology*, 168: 39–48.
- STATSOFT INC. (2013). STATISTICA® (data analysis software system), version 12. (www.statsoft.com).
- Szewczuk M. (2016a). Effects of SNP within Exon 7 of the Insulin-like Growth Factor Receptor Type 1 (IGF1R) Gene on Growth Traits in Angus Cows. *Tarim Bilimler Dergisi – Journal of Agricultural Sciences*, 22: 492–499.
- Szewczuk M. (2016b). Association of single nucleotide polymorphisms in genes coding insulin-like growth factor 1 system and milk production traits in Montbeliarde cows. *South African Journal of Animal Science*, 46: 191–195 (DOI: [dx.doi.org/10.4314/sajas.v46i2.10](https://doi.org/10.4314/sajas.v46i2.10)).
- Szewczuk M., Sablik P., Kulig H. (2017). The effect of polymorphism within exon 12 of IGF1R gene on meat production traits in Limousin and Hereford cattle. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 16 (4): 53–56 (DOI: [10.21005/asp.2017.16.4.08](https://doi.org/10.21005/asp.2017.16.4.08)).
- Szewczuk M., Wilkowiecki P., Zych S., Czerniawska-Piątkowska E., Wójcik J. (2011). Association between two polymorphisms within intron 4 of insulin-like growth factor receptor type 1 gene (IGF1R/Hinfl and IGF1R/Mph1103I) and milk traits of Polish Holstein-Friesian cows. *Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica*, 10 (4): 133–140.
- Szewczuk M., Zych S., Wójcik J., Czerniawska-Piątkowska E. (2013). Association of two SNPs in the coding region of the insulin-like growth factor 1 receptor (IGF1R) gene with growth-related traits in Angus cattle. *Journal of Applied Genetics*, 54: 305–308 (DOI: [10.1007/s13353-013-0155-z](https://doi.org/10.1007/s13353-013-0155-z)).

- Ullrich A., Gray A., Tam W., Yang-Feng T., Tsubokawa M., Collins C., Henzel W., Le Bon T., Kathuria S., Chen E. (1986). Insulin-like growth factor I receptor primary structure: comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *The EMBO Journal*, 5: 2503–2512.
- Visel A., Minovitsky S., Dubchak I., Pennacchio L.A. (2007). VISTA Enhancer Browser—a database of tissue-specific human enhancers. *Nucleic Acids Research*, 35: D88–92.
- Yi-Lei M., Yi-Fan W., Xiu-Kai C., Jie Ch., Yong-Zhen H., Yun M., Lin-Yong H., Chu-Zhao L., Xing-Lei Q., Hui C., Hong Ch. (2019). Copy number variation (CNV) in the *IGF1R* gene across four cattle breeds and its association with economic traits. *Archives Animal Breeding*, 62 (1): 171–179 (DOI: 10.5194/aab-62-171-2019).
- Zhang R., Li X. (2011). Association between *IGF-IR*, *m-calpain* and *UCP-3* gene polymorphisms and growth traits in Nanyang cattle. *Molecular Biology Reports*, 38: 2179–2184 (DOI: 10.1007/s11033-010-0346-1).

Małgorzata Anna Szewczuk, Hanna Kulig

Association of selected polymorphic sites in the *IGF1R* gene with body weight and conformation of Hereford cattle

S u m m a r y

The aim of this study was to determine the relationship between selected polymorphic sites located in various fragments of the *IGF1R* gene and the growth and development of Hereford cattle. Variation in the gene was identified using the PCR-RFLP and ACRS-PCR methods. The herd showed no variation at the *IGF1R*/*i4/Mph1103I* site (monomorphism), but in the case of *IGF1R*/*e7/TaiI* polymorphism, one heterozygous individual was observed, while the others had the *CC* genotype. In the case of *IGF1R*/*e21/TaqI* and *IGF1R*/*i4/HinfI*, significant differences were only noted for birth weight ($P \leq 0.01$; $P \leq 0.05$). In addition, in individuals with the rare genotype (*TT*), the lumbar spine was higher, overall body weight was greater, and calving took place earlier.

KEY WORDS: cows, *IGF1R*, body weight, daily gains