

Received: 2013.09.12
Accepted: 2014.02.25
Published: 2014.05.20

Polimorfizm genu miostatyny (MSTN) u zwierząt domowych

MSTN gene polymorphism in livestock animals

Monika Stefaniuk¹, Urszula Kaczor², Maria Kulisa¹

¹Katedra Hodowli Koni, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

²Pracownia Biotechnologii i Genomiki, Katedra Hodowli Trzody Chlewnej i Małych Przeżuwaczy, Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Streszczenie

Miostatyna, znana również jako GDF8 (growth differentiation factor 8), należy do jednej z największej rodziny białek, tzw. transformujących czynników wzrostu - TGF- β . Białko to reguluje rozwój embrionalny i utrzymywanie homeostazy osobników dojrzałych. Po zakończeniu dojrzwania GDF8 jest negatywnym regulatorem wzrostu mięśni szkieletowych. Fizjologiczna rola białka polega na zapobieganiu przerostowi tkanki mięśniowej w różnych stadiach rozwoju organizmu. Hamuje ono również procesy regeneracji w mięśniach szkieletowych przez osłabienie aktywacji i proliferacji komórek satelitarnych (amficyty) oraz migracji makrofagów i mioblastów do miejsca urazu. Scharakteryzowano kilkanaście mutacji w obrębie sekwencji MSTN, które mogą wpływać na aktywność białka w tkankach, a co za tym idzie na poziom cech użytkowych zwierząt, które determinują wartość hodowlaną zwierząt. Poznanie wpływu poszczególnych mutacji genu kodującego białko jest szczególnie ważne w odniesieniu do cech produkcyjnych i użytkowych zwierząt gospodarskich.

Słowa kluczowe:

miostatyna • polimorfizm genu *MSTN* • hipertrofia • mięsność

Summary

Myostatin, also known as GDF8 (growth differentiation factor 8), belongs to one of the biggest groups of proteins, called transforming growth factors (TGF- β). The protein regulates embryonic development and maintains homeostasis of full-grown individuals. When the process of maturation is over, GDF8 becomes a negative regulator of skeletal muscle growth.

The physiological role of myostatin is to prevent overgrowth of muscle tissue in various stages of organism development. It also inhibits the regeneration of skeletal muscles by weakening activation and proliferation of satellite cells and the migration of macrophages and myoblasts to the site of injury. Several mutations within the sequence of MSTN have been described; they may affect the activity of the protein in the tissues, and hence the level of the functional characteristics of the animals, which determine the value of breeding animals. Understanding the impact of individual mutations in the gene encoding the protein is particularly important in relation to production traits of livestock.

Keywords:

myostatin • *MSTN* gene polymorphism • hypertrophy • leanness

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1103271>

Word count: 2821
Tables: –
Figures: –
References: 58

Adres autorki: dr hab. inż. Urszula Kaczor, Pracownia Biotechnologii i Genomiki, Katedra Hodowli Trzody Chlewnej i Małych Przeżuwaczy, Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul Rędzina 1B, 30-248 Kraków, e-mail: rzkaczor@cyf-kr.edu.pl

WPROWADZENIE

Miostatyna, znana również jako GDF8 (growth differentiation factor 8), należy do jednej z największej rodziny białek, tzw. transformujących czynników wzrostu – TGF- β [24,36]. Białka te są jednym z najbardziej wszechobecnych regulatorów wzrostu oraz różnicowania komórek zarówno w procesie embriogenezy, jak również utrzymania homeostazy dojrzałego organizmu ssaków, ptaków, płazów i owadów, włączając w to procesy proliferacji, różnicowania i apoptozy [42].

Rodzina tych niesteroidowych związków obejmuje ponad 30 strukturalnie podobnych peptydów, takich jak: izoformy TGF- β (1–3), aktywiny (A, B, AB), inhibiny (A, B), morfogenetyczne białka kości (BMP's 1–20, bone morphogenetic proteins), czynniki wzrostu i różnicowania (GDF's 1–9, growth differentiation factors) [13].

Zmiany zachodzące w szlakach metabolicznych omawianej rodziny białek już na poziomie komórek zarodkowych, wynikające m.in. z mutacji czy błędów aparatu replikacyjnego, wywołują różnego rodzaju schorzenia układu krążenia, kostnego czy zaburzenia funkcji rozrodczych i rozwojowych [3]. Cechą charakterystyczną białek TGF- β jest konserwatyzm w budowie protein prekursorowych. GDF8 np. jest syntetyzowana w postaci 376-aminokwasowej proteiny prekursorowej i podobnie jak u pozostałych TGF- β zawiera: sekwencję sygnałową, N-kończącą prodomenę LAP oraz C-kończącą sekwencję dojrzałą, w skład której wchodzi 7 reszt cysteinowych (z wyjątkiem BMP15, gdzie czwarta cysteina zostaje zastąpiona seryną, a dimery są tworzone przez niekowalencyjne połączenie między podjednostkami BMP15 oraz GDF-3 i GDF-9, u których czwarta cysteina w ogóle nie występuje) [34,36,41,43]. Po usunięciu sekwencji sygnałowej, prodomena ulega proteolizie w konserwatywnym miejscu RXXR, oddzielającym proregion od dojrzałego bioaktywnego regionu. Dojrzała sekwencja zawiera 7 reszt cysteinowych, tworzy 3 mostki dwusiarczkowe w monomerze, tworząc pętlę cysteinową, stabilizującą całą rodzinę TGF- β [34]. Ostatnia wolna reszta natomiast służy do wiązania z drugą cząsteczką i tworzenia homolub heterodimerów [39].

TGF- β przyłączają się do receptorów błon komórkowych zawierających intracytoplazmatyczne domeny,

tworząc kompleks, który fosforyluje proteiny z rodziny Smad. Aktywny Smad przechodzi do jądra, przyłączając się do DNA rekrutuje aktywatory transkryptu kontrolujące ekspresję genów [34]. Receptory TGF- β są obecne we wszystkich rodzajach komórek. Zidentyfikowano dwa rodzaje receptorów: T β R-I oraz T β R-II, są to glikoproteiny o masie 53 i 75 kDa [33]. Mechanizm ich działania polega na wiązaniu liganda z T β R-II, aby po dołączeniu T β R-I utworzyć jeden kompleks. Znany jest także trzeci typ receptorów TGF- β , który jest proteoglikanem o masie 280–330 kDa. Dokładna rola TGF- β R-III nie została dotąd do końca poznana, choć uważa się, że pełni on funkcje regulacyjne [45]. Nie wskazano receptora swoistego dla miostatyny, ale prawdopodobnie ActIIB (receptor typu II) bierze udział w wiązaniu liganda. Stwierdzono również, że Smad2 i Smad3 biorą udział w szlaku metabolicznym *MSTN*, a także Smad4, wzbudzającym sygnalizację. W hamowaniu sygnalizacji biorą udział Smad7 i Smurf, przy czym Smad7 jest aktywowany przez miostatynę i na zasadzie sprzężenia zwrotnego – hamuje sygnalizację *MSTN* [58].

MIOSTATYNA

Miostatyna jest białkiem odgrywającym olbrzymią rolę w regulacji rozwoju embrionalnego i utrzymywaniu homeostazy osobników dojrzałych. Opisana została po raz pierwszy w 1997 r. [36]. Podczas wczesnych etapów embriogenezy ekspresja *MSTN* jest ograniczona do fragmentów miotyny rozwijających się somitów. Po zakończeniu dojrzewania, GDF8 jest obecne w mięśniach szkieletowych. W celu zidentyfikowania biologicznych funkcji miostatyny posłużono się techniką knock out, w wyniku czego otrzymano myszy pozbawione funkcjonalnego białka, zdecydowanie większe od myszy kontrolnych. Potwierdziło to przypuszczenia, że GDF8 jest negatywnym regulatorem wzrostu mięśni szkieletowych [36]. Fizjologiczna rola tego białka polega na zapobieganiu przerostowi tkanki mięśniowej w różnych stadiach rozwoju organizmu. Hamuje również procesy regeneracji w mięśniach szkieletowych przez osłabienie aktywacji i proliferacji komórek satelitarnych (amficyty) oraz migracji makrofagów i mioblastów do miejsca urazu [35]. Miostatyna hamuje przechodzenie komórek podczas cyklu komórkowego z fazy G0 lub G1 do fazy S, zwiększając ekspresję inhibitorów kinaz cyklozależnych, a jako inhibitor procesu różnicowania hamuje czynniki trans-

krypcyjne: MyoD, miogeninę, Myf5 i Mrf4 [27]. Od 1997 r. opublikowano wiele doniesień opisujących wpływ miostatyny na mięśnie szkieletowe w ich wzroście i różnicowaniu u różnych gatunków zwierząt.

Bydło

Doniesienia o wpływie GDF8 na rozwój mięśni szkieletowych myszy wykorzystano do wyjaśnienia fenotypu podwójnego umięśnienia występującego u niektórych ras bydła mięsnego [7,14,28,37]. U bydła rasy belgian blue wykazano delecję 11 nukleotydów [nt821(del11)] w 3 eksonie genu umiejscowionego na chromosomie 2. Mutacja ta spowodowała utratę 3 aminokwasów (275-277) w łańcuchu polipeptydowym białka. Ponieważ w eksonie 3 znajduje się otwarta ramka odczytu ORF (open reading frame), delecja spowodowała jej przesunięcie i powstanie kodonu stop za 287 aminokwasem. Doprowadziło to do skrócenia łańcucha białkowego i tym samym utraty funkcji białka [28]. Osobniki z dwiema kopiami genu z mutacją charakteryzują się hipertrofią mięśni (powiększeniem włókien mięśniowych bez zmiany ich liczby) i są preferowane przez odbiorców żywca wołowego ze względu na większą zawartość chudego mięsa i jego lepsze właściwości dietetyczne. Mutacja wpływa jednak niekorzystnie na cechy rozrodcze, m.in. wydłużenie ciąży, obniżenie płodności krów czy też pojawianie się dystocji i martwo urodzonych cieląt. U buhajów obserwuje się opóźnienie dojrzałości płciowej, niedorozwój jąder [1]. Delecja ta występuje również u innych ras krów mięsnych: blonde d'aquitane, limousine, parthenaise, asturiana, rubia gallega [29]. Zidentyfikowano ją także u lokalnej rasy brytyjskiej south devon oraz scottish aberdeen angus [12]. U rasy angus allele z delecją pojawia się z niską częstością (0,04) i dotąd nie opisano istnienia osobników o genotypie homozygotycznym. U bydła o genotypie heterozygotycznym wykazano dodatni wpływ nt821(del11) na masę tuszy oraz masę polędwicy, ale nie powiązano jej występowania z cechami otluszczenia [12]. U rasy piedmontese natomiast scharakteryzowano dwie punktowe mutacje [27]. Pierwszą mutację zlokalizowano w eksonie trzecim i była to transycja 941G>A (C313Y), w wyniku której nastąpiła zamiana w pozycji 313 aminokwasu z cysteiny na tyrozynę. Zamieniona cysteina jest jedną z cystein tworzących pętlę cysteinową białka, jest to rejon wysoce konserwatywny w całej rodzinie TGF- β [28]. Wykazano wpływ obecności C313Y na cechy użytkowości mięsnej mieszańców ras piedmontese z hereford i aberdeen angus. Przeanalizowano masę cieląt po urodzeniu, odsadzeniu od matek i jednorocznych, a także odnotowano pojawianie się ciężkich porodów u krów matek. Wykazano, że heterozygoty mh/+ w porównaniu do zwierząt homozygotycznych +/+ (bez mutacji) miały wyższą masę ciała po urodzeniu oraz po oddzieleniu od matek. Zwrócono jednak uwagę, że masa ciała osobników jednorocznych była najwyższa u homozygot +/+ oraz heterozygot [6]. Drugą mutacją zlokalizowaną u bydła piedmontese w eksonie 1 była transwersja C>A (F94L), powodująca zamianę fenyloalaniny na leucynę w pozycji 282 ami-

nokwasu [37]. Mutacja ta, o charakterze substytucji, jest umiejscowiona w wysoce konserwatywnym rejonie genu kodującym N-terminalną domenę białka. Występowanie u ras jersey i limusine osobników z dwiema kopiami genu z mutacją, ale o prawidłowym fenotypie, potwierdziło, że nie ma ona wpływu na funkcję białka miostatyny, jak nt821(del11) [15,27]. Także u mieszańców ras jersey i limusine nie wykazano istotnego wpływu allelu F94L na masę urodzeniową cieląt ani ich tempo wzrostu. Wykazano natomiast wpływ na cechy rzeźne, takie jak: wzrost masy mięsa w tuszy o około 6,5%, masy tusz prawie o 16%, spadek zawartości tłuszczu międzymięśniowego około 7,5% i obniżenie całkowitej zawartości tłuszczu w tuszy o 8-16,5% [10]. Udowodniono również, że addytywne działanie tego allelu jest stosunkowo duże i ma wpływ na heterozygotyczny fenotyp oraz na 2,3% wzrost udziału mięsa w tuszy [40]. Opisano również mutację -371T>A w regionie promotora genu u krów holenderskich, koreańskich hanwoo i jeju black, u których występuje najczęściej. Heterozygoty -371/T>A wykazały się wyższą masą ciała, większą powierzchnią oka polędwicy i mniejszą marmurkowatością mięsa niż homozygoty AA [18].

U bydła francuskiej rasy maine anjou stwierdzono mutację typu insercja/delecja od pozycji 419 nukleotydu nt419(del7-ins10). Skutkiem tej mutacji jest przedwczesne pojawienie się kodonu stop w N-końcowej prodomenie LAP, w pozycji 140 aminokwasu. U ras charolais, limousine, a także maine anjou zidentyfikowano transycję C>T w pozycji 610 (Q204X), lub transwersję G>T w pozycji 676 nukleotydu (E226X) [15]. Mutacją charakterystyczną dla bydła rasy marchigiana jest transwersja G>T w pozycji 874 nt, która powoduje przedwczesne powstanie kodonu stop w rejonie C-końcowej sekwencji dojrzałego białka [15].

W ostatnich latach, prowadząc badania nad otrzymaniem transgenicznego bydła z wyciszonym genem *MSTN*, uzyskano pięć transgenicznych cieląt, z których trzy wykazały ekspresję transgenu (wyciszenie *MSTN*) [48].

Owce

Dotychczas opisano u owiec 78 polimorfizmów w leżącym na chromosomie 2 genie *MSTN*, co świadczy o wysokiej polimorficzności genu u tego gatunku. Jednak tylko trzy z nich: 101G>A, 120insA i 960delG zlokalizowano w rejonie kodującym [17]. U rasy texel wykazano, że wspaniałe umięśnienie owiec tej rasy jest związane z transycją c.*1232 G>A w rejonie 3'-UTR, która tworzy miejsce rozpoznawane przez miRNA: miR1 i miR206. Mutacja, wywołując inhibicję translacji białka zmniejsza jego stężenie we krwi, powodując przerost masy mięśni szkieletowych [8,11]. Obecność allelu A wpływa na zwiększenie się umięśnienia u innych ras owiec: charolais, nowozelandzki texel, australijski biały suffolk, poll dorset, lincoln czy fryzyjskie [8,16,47]. Badania podjęte w celu stwierdzenia czy istnieje zależność między genotypem heterozygotycznym c.*1232 A>G a wzrostem,

składem tuszy i charakterystyką włókien mięśniowych u jagniąt żywionych *ad libitum* (HI) oraz z ograniczonym dostępem do paszy (LO) przyniosły interesujące wyniki. Jagnięta AG HI w porównaniu do osobników o genotypie GG HI miały większy dzienny przyrost, powierzchnię oka polędwicy oraz mierzony za pomocą tomografii komputerowej dobowy przyrost masy najdłuższego mięśnia grzbietu. AG LO vs GG HI wykazały się spadkiem przyrostów masy ciała, mniejszą powierzchnią oka polędwicy, obniżeniem przyrostów masy polędwicy, jednak miały wyższy procent włókien mięśniowych typu IIb i IIx [20]. U rasy białej norweskiej natomiast wzrost mięsności powiązано z obecnością nie tylko c.*1232 G>A, ale także mutacji typu delecja – usunięcie guaniny w pozycji 960 nt (c.960delG), skutkującą przesunięciem ramki odczytu od nukleotydu 320, powstanie przedwczesnego kodonu STOP i syntezę nieaktywnego peptydu. Owce z dwiema kopiami genu z mutacją miały lepsze umięśnienie oraz mniejszą zawartość tłuszczu w tuszy. Stwierdzono, że efekt fenotypowy obecności c.960delG był silniejszy niż obserwowany u osobników z c.*1232 G>A [4]. U owiec norweskiej rasy spælsau wykazano insercję 120insA powodującą powstanie przedwczesnego kodonu STOP w pozycji 49 aminokwasu i peptydu nieaktywnego [5]. Analiza sekwencji pierwszego intronu u owiec nowozelandzkiej rasy romney wykazała natomiast obecność aż pięciu różnych wariantów A-E, z których A i B powiązано z parametrami użytkowości mięsnej. Obecność allelu B wpływała korzystnie na wzrost masy udźca i polędwicy oraz zwiększała zawartość mięsa w tuszy, nie powodując wzrostu masy jagniąt po urodzeniu, a także ich tempa wzrostu [21].

Zespół Haynesa prowadził badania mające na celu określenie, czy różnice w frekwencji alleli (c.*1232A>G) mają wpływ na stężenie miostatyny w mięśniach szkieletowych i krwi obwodowej [19]. Analizując wpływ genotypów: AA, AG, GG na stężenie miostatyny w mięśniach od urodzenia do 24 tygodnia życia jagniąt wykazano, że tygodniowe osobniki AA i AG w porównaniu do GG miały niższe stężenia tego białka, jednak w wieku 4 i 24 tygodni sytuacja uległa odwróceniu. Jagnięta o genotypie AA i wyższym stężeniu miostatyny charakteryzowały się mniejszym otluszczeniem wyrębów, zmniejszoną masę organów (serce, wątroba, nerki, śledziona) oraz wzrostem liczby włókien mięśniowych w *musculus longissimus* [19]. Najnowsze badania wykonane u transgenicznych owiec z wyciszonym genem *MSTN* potwierdzają ich szybsze tempo wzrostu w czasie pierwszych 90 dni życia oraz większą średnicę włókien mięśniowych [25].

Kozy

Identyfikacja polimorfizmu w 2 intronie 24 chińskich ras o zróżnicowanej użytkowości mięsnej wykazała siedem SNP (single nucleotide polymorphism): T2124C, A1980G, G1981C, A1982G, G1984T, A2121G, G2174A tworzących trzy podstawowe haplotypy: Hap I: AGAGATG, Hap II: GCGTGTA, Hap III: GCGTGCA, z frekwencją odpowiednio: 90,99, 8,11 0,90% [52]. Trzy kolejne genotypy związane

z delecją 5 pz TTTTA/: (AA, AB, BB) opisano w rejonie promotora genu *MSTN* u czterech ras kóz: burskiej, matou, haimen i nubi. W rejonie eksonu 1 zidentyfikowano substytucję T>A tylko u kóz burskich. Stwierdzono związek genotypu z cechami użytkowymi: genotyp AB w porównaniu do genotypu BB wywierał wpływ na masę urodzeniową, masę ciała w 90 i 300 dniu życia oraz długość ciała koźłat. Genotyp CD natomiast w porównaniu do genotypu CC wpływał dodatkowo na masę ciała w pierwszej i 90 dobie życia [41]. Najnowsze doniesienia opisują dwa polimorfizmy w rejonie 5'-UTR: 197G>A i 345A>T u chińskich ras anhui i burskiej (197G>A, obecność genotypów: AA, AB, BB i 345A>T, genotypy: CC, CD). Wykazano, że allel A jest dominującym w rasie anhui, a allel B w rasie burskiej. Stwierdzono związek między genotypem CC i CD a masą ciała, wysokością w kłębie, długością ciała i obwodem klatki piersiowej. Homozygoty CC charakteryzowały się wyższą masą ciała, miały większą wysokość w kłębie i długość ciała [11].

Psy

Pośród wielu istniejących ras psów badanie polimorfizmu w genie *MSTN* ograniczono dotychczas do psów whippet, słynących z użytkowania wyścigowego. Zidentyfikowano u nich obecność delecji w 3 eksonie (939-940delTG), zmieniającą cysteinę w pozycji 313 w kodon STOP. Psy mające dwie zmutowane kopie genu są usuwane z hodowli jako niespełniające standardów rasy, nosiciele natomiast uzyskują lepsze rezultaty w gonitwach [38].

TRZODA CHLEWNA

Wykrycie u bydła mutacji w genie *MSTN* odpowiedzialnej za podwójne umięśnienie stało się przyczynkiem do badania jego zmienności u ras świń o bardzo dobrych parametrach użytkowości mięsnej. Dotąd nie wykryto mutacji, która całkowicie wyłączyłaby funkcję białka [11]. U omawianego gatunku polimorfizm genu *MSTN* zlokalizowanego w chromosomie 15 (15q2.3) wykazuje związek z masą ciała prosiąt przy urodzeniu oraz przyrostami dobowymi masy ciała w okresie 60-100 dnia tuczu [26,44]. Wykazano 15 miejsc polimorficznych: trzy w regionie promotora (435G>A, 447A>G, 879 T>A), pięć w intronie 1 (1735G>A, 1738dupA, 1968C>T, 2412G>C, 3071G>A) i siedem w intronie 2 (4315C>T, 4408dupA, 5105A>G, 5123A>G, 5654C>T, 5736A>G). SNP w regionie promotora *MSTN* g.435G > A oraz g.447A>G wpływają na tempo wzrostu świń rasy duroc: osobniki o genotypie GG/AA wykazują istotnie wyższe dobowe przyrosty masy ciała, większą końcową masę ciała niż AA/GG [50]. U mięsnych świń rasy pietrain stwierdzono bardzo wiele osobników z substytucją 447A>G, (0,82), co może sugerować jej powiązanie z bardzo dobrym umięśnieniem tej rasy. Jednocześnie wykazano niższe stężenie miostatyny u homozygot GG, co może wynikać z dominacyjnego działania genu [32]. U świń rasy wielkiej białej wykazano trzy genotypy dla SNP 480G>T (CC, CT, TT) w eksonie drugim i dwa genotypy dla mutacji 1080A>G (AG, GG)

w eksonie trzecim. Analiza statystyczna nie wykazała istotnych powiązań między polimorfizmem w eksonie drugim a cechami produkcyjnymi, natomiast wykazano istotną zależność między polimorfizmem w eksonie trzecim a grubością słoniny [31].

DRÓB

U kurcząt z dwóch linii intensywnie selekcionowanych na mięsność i nieśność zidentyfikowano siedem SNP w eksonach pierwszym i drugim oraz jedną typową delecję w eksonie drugim. Pojawiający się SNP 1204 C>T w eksonie pierwszym stwierdzono w obu liniach. Natomiast mutacje w eksonie drugim skutkowały powstaniem różnych wariantów białka. Dla linii nieśnej wykazano mutacje: 3360T>C, 3412A>G, 3533A>G, 3624A>T, 3656A>G, a dla linii mięsnej 3556T>C i 3581T>A [2]. U chińskich ras kur białych, jinghai, youxi i arbor acre zidentyfikowano cztery nowe mutacje: 673G>A, 985G>C, 1085G>A, 1278A>T. U kurcząt białych stwierdzono obecność trzech genotypów dla polimorfizmu 1278A>T (QQ, QR i RR), przy czym ptaki o genotypie QR i RR w porównaniu do QQ uzyskały istotnie większą masę ciała w okresie 14-18 tygodnia życia [55]. Zlokalizowano również mutację w eksonie pierwszym wpływającą istotnie na masę ciała u kurcząt rasy białej (234G>A), ptaki o genotypach AA i AG w porównaniu do GG wykazały większą masę ciała [54]. Mutację 2283G>A powiązano z cechami nieśnymi, kury o genotypach AA i GA wykazywały się wyższą nieśnością [49]. U brojlerów mieszańców rasy silkie zidentyfikowano SNP (304G>A, 322A>G, 334C>T, 167C>A, 7263A>T) oraz wykazano ich korzystny wpływ na masę tuszy, mięśni piersiowych (genotyp CC), tłuszczu brzuszego (genotyp BB), a także masę ciała piskląt po wykluciu z jaja (genotyp BB) [53].

KONIE

Najbardziej spektakularnym odkryciem w genie *MSTN* było określenie mutacji mającej wpływ na sportowe predyspozycje koni wyścigowych. Koni pełnej krwi angielskiej są rasą, która od ponad 300 lat jest selekcionowana w kierunku szybkości i wytrzymałości w gonitwach. Gen miostatyny został zlokalizowany u tego gatunku na chromosomie 18 (rev.strand nt 66489609-66495780 EquCab2.0) [51]. Zidentyfikowano w nim siedem SNP: transwersje 66493525T>G, 66493582 T>G, 66494218 A>C

i tranzycję 66493737C>T, 66493745 A>G, 66493775 A>G. Polimorfizm 66493737 C>T jest ściśle związany z odpowiednim dystansem gonitwy dla elitarnych osobników pełnej krwi. Stwierdzono, że homozygoty CC są predysponowane do szybkiego pokonywania krótkich dystansów, heterozygoty CT najlepiej sprawdzają się na średnich dystansach, a homozygoty TT na dystansach długich [22]. Dodatkowo konie o genotypie CC w wieku 2 lat wykazują istotnie większą masę mięśni niż konie TT. W kolejnych badaniach potwierdzających wpływ polimorfizmu 66493737 C>T na predyspozycje koni pełnej krwi angielskiej do pokonywania określonych dystansów, zidentyfikowano cztery SNP w rejonie 3'-UTR oraz insercję SINE 227 pz w regionie promotora genu [23]. Stwierdzono także wpływ genotypu *MSTN* (658604G>T, 66493737C>T, 66539967A>G) na pomiar wysokości w kłębie u osobników płci męskiej w okresie treningu. Zwierzęta mające genotyp odpowiedni do pokonywania krótkich dystansów (CC) w porównaniu do koni pozostałych genotypów były najwyższe w kłębie w 7 miesiącu treningu [49]. Przeanalizowano także polimorfizm w regionie promotora 26T>C i 156T>C u koni zakwalifikowanych do różnych typów morfologicznych, wykazując wyższą frekwencję genotypu CC(26T>C i 156T>C) u koni typu ciężkiego [9]. Badania koni różnych ras nad zmiennością w eksonie drugim, który koduje prekursorową postać białka TGF-β, wykazały 11 haplotypów związanych z obecnością 10 mutacji, z czego 8 powodowało zmianę sekwencji aminokwasowej łańcucha polipeptydowego. Zauważono, że substytucja: 2227 A>C jest swoista dla koni czystej krwi arabskiej, a 2478 G>C dla koni sorraja [58].

PODSUMOWANIE

Miostatyna jest białkiem istotnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu zwierząt i człowieka. Powszechnie występująca w tkankach organizmu jest odpowiedzialna m.in. za regulację wzrostu i rozwoju mięśni szkieletowych. Identyfikacja zmienności w *locus MSTN* u różnych gatunków zwierząt trwająca już ponad 35 lat wyjaśniła rolę tego genu w kształtowaniu wielu ważnych cech użytkowych zwierząt. Jednak rezultaty badań podejmowanych w ostatnich latach, z wykorzystaniem coraz to nowych technik biologii molekularnej, wskazują, że kontynuowanie tych prac jest uzasadnione.

PIŚMIENICTWO

- [1] Arthur P.F.: Double muscling in cattle: a review. *Aus. J. Agr. Res.*, 1995; 46: 1493-1515
- [2] Baron E.E., Wenceslau A.A., Alvares L.E., Nones K., Ruy D.C., Schmidt G.S., Zanella E.L., Coutinho L.L., Ledur M.C.: High level of polymorphism in the myostatin chicken gene., 2002; 7th World Congress of Genetic and Applied on Livestock Production. Montpellier, France.
- [3] Blobel G.C., Schiemann W.P., Lodish H.F.: Role of transforming growth factor β in human disease. *N. Eng. J. Med.*, 2000; 342: 1350-1358

- [4] Boman I.A., Klemetsdal G., Blichfeldt T., Nafstad O., Våge D.I.: A frameshift mutation in the coding region of the myostatin gene (*MSTN*) affects carcass conformation and fatness in Norwegian White Sheep (*Ovis aries*). *Anim. Genet.*, 2009; 40: 418-422
- [5] Boman I.A., Våge D.I.: An insertion in the coding region of the myostatin (*MSTN*) gene affects carcass conformation and fatness in the Norwegian Spaelsau (*Ovis aries*). *BMC Res. Notes*, 2009; 2: 98
- [6] Casas E., Keele J.W., Fahrenkrug S.C., Smith T.P., Cundiff L.V., Stone R.T.: Quantitative analysis of birth, weaning, and yearling weights and calving difficulty in Piedmontese crossbreds

- segregating an inactive myostatin allele. *J. Anim. Sci.*, 1999; 77: 1686-1692
- [7] Charlier C., Coppieters W., Farnir F., Grobet L., Leroy P.L., Michaux C., Mni M., Schwens A., Vanmanshoven P., Hanset R.: The mh gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mamm. Genome*, 1995; 6: 788-792
- [8] Clop A., Marcq F., Takeda H., Pirottin D., Tordoir X., Bibé B., Bouix J., Caiment F., Elsen J.M., Eychenne F., Larzul C., Laville E., Meish F., Milenkovic D., Tobin J., Charlier C., Georges M.: A mutation creating a potential illegitimate microRNA target site in the myostatin gene affects muscularity in sheep. *Nat. Genet.*, 2006; 38: 813-818
- [9] Dall'Olio S., Fontanesi L., Nanni Costa L., Tassinari M., Minieri L., Falaschini A.: Analysis of horse myostatin gene and identification of single nucleotide polymorphisms in breeds of different morphological types. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2010; 2010: 542945
- [10] Esmailzadeh A.K., Bottema C.D., Sellick G.S., Verbyla A.P., Morris C.A., Cullen N.G., Pitchford W.S.: Effects of the myostatin F94L substitution on beef traits. *J. Anim. Sci.*, 2008; 86: 1038-1046
- [11] Georges M.: When less means more: impact of myostatin in animal breeding. *Immunol. Endocr. Metab. Agents Med. Chem.*, 2010; 10: 240-248
- [12] Gill J.L., Bishop S.C., McCorquodale C., Williams J.L., Wiener P.: Associations between the 11-bp deletion in the myostatin gene and carcass quality in Angus-sired cattle. *Anim. Genet.*, 2009; 40: 97-100
- [13] Gordon K.J., Blobel G.C.: Role of transforming growth factor- β superfamily signaling pathways in human disease. *Biochem. Biophys. Acta*, 2008; 1782: 197-228
- [14] Grobet L., Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Ménéssier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M.: A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat. Genet.*, 1997; 17: 71-74
- [15] Grobet L., Poncelet D., Royo L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Ménéssier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M.: Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mamm. Genome*, 1998; 9: 210-213
- [16] Hadjipavlou G., Matika O., Clop A., Bishop S.C.: Two single nucleotide polymorphisms in the myostatin (GDF8) gene have significant association with muscle depth of commercial Charollais sheep. *Anim. Genet.*, 2008; 39: 346-353
- [17] Han J., Forrest R.H., Hickford J.G.: Genetic variations in the myostatin gene (MSTN) in New Zealand sheep breeds. *Mol. Biol. Rep.*, 2013; 40: 6379-6384
- [18] Han S.H., Cho I.C., Ko M.S., Kim E.Y., Park S.P., Lee S.S., Oh H.S.: A promoter polymorphism of MSTN g-371T>A and its associations with carcass traits in Korean cattle. *Mol. Biol. Rep.*, 2012; 39: 3767-3772
- [19] Haynes F.E., Greenwood P.L., McDonagh M.B., McMahon C.D., Nicholas G.D., Berry C.J., Oddy V.H.: Lack of association between allelic status and myostatin content in lambs with the myostatin g+6723G>A allele. *J. Anim. Sci.*, 2013; 91: 78-89
- [20] Haynes F.E., Greenwood P.L., McDonagh M.B., Oddy V.H.: Myostatin allelic status interacts with level of nutrition to affect growth, composition, and myofiber characteristics of lambs. *J. Anim. Sci.*, 2012; 90: 456-465
- [21] Hickford J.G., Forrest R.H., Zhou H., Fang Q., Han J., Frampton C.M., Horrell A.L.: Polymorphisms in the ovine myostatin gene (MSTN) and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney sheep. *Anim. Genet.*, 2010; 41: 64-72
- [22] Hill E.W., Gu J., Eivers S.S., Fonseca R.G., McGivney B.A., Govindarajan P., Orr N., Katz L.M., MacHugh D.E.: A sequence polymorphism in MSTN predicts sprinting ability and racing stamina in thoroughbred horses. *PLoS One*, 2010; 5: e8645
- [23] Hill E.W., McGivney B.A., Gu J., Whiston R., MacHugh D.E.: A genome-wide SNP-association study confirms a sequence variant (g.66493737C>T) in the equine myostatin (MSTN) gene as the most powerful predictor of optimum racing distance for Thoroughbred racehorses. *BMC Genomics*, 2010; 11: 552
- [24] Hogan B.L., Blessing M., Winnier G.E., Suzuki N., Jones C.M.: Growth factors in development: the role of TGF- β related polypeptide signaling molecules in embryogenesis. *Dev. Suppl.*, 1994; 53-60
- [25] Hu S., Ni W., Sai W., Zi H., Qiao J., Wang P., Sheng J., Chen C.: Knockdown of myostatin expression by RNAi enhances muscle growth in transgenic sheep. *PLoS One*, 2013; 8: e58521
- [26] Jiang Y.L., Li N., Zhao X.B., Hu X.X., Liu Z.L., Deng X.M., Wu C.X., Du L.X., Cao J.S.: Identification and analysis of a novel microsatellite marker flanking porcine myostatin gene (MSTN). *Yi Chuan Xue Bao*, 2004; 31: 480-484
- [27] Joulia-Ekaza D., Cabello G.: Myostatin regulation of muscle development: molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects. *Exp. Cell Res.*, 2006; 312: 2401-2414
- [28] Kambadur R., Sharma M., Smith T.P., Bass J.J.: Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res.*, 1997; 7: 910-916
- [29] Karim L., Coppieters W., Grobet L., Valentini A., Georges M.: Convenient genotyping of six myostatin mutations causing double-muscling in cattle using a multiplex oligonucleotide ligation assay. *Anim. Genet.*, 2000; 31: 396-399
- [30] Kijas J.W., McCulloch R., Edwards J.E., Oddy V.H., Lee S.H., van der Werf J.: Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the ovine GDF8 locus. *BMC Genet.*, 2007; 8: 80
- [31] Li S.H., Xiong Y.Z., Zheng R., Li A.Y., Deng C.Y., Jiang S.W., Lei M.G., Wen Y.Q., Cao G.C.: Polymorphism of porcine myostatin gene. *Yi Chuan Xue Bao*, 2002; 29: 326-331
- [32] Li X.L., Wu Z.L., Liu Z.Z., Gong Y.F., Zhou R.Y., Zheng G.R.: SNP identification and analysis in part of intron 2 of goat MSTN gene and variation within and among species. *J. Hered.*, 2006; 97: 285-289
- [33] Liem L.M., Fibbe W.E., van Houwelingen H.C., Goulmy E.: Serum transforming growth factor-beta1 levels in bone marrow transplant recipients correlate with blood cell counts and chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*, 1999; 67: 59-65
- [34] Lin S.Y., Morrison J.R., Phillips D.J., De Kretser D.M.: Regulation of ovarian function by the TGF- β superfamily and follistatin. *Reproduction*, 2003; 126: 133-148
- [35] McCroskery S., Thomas M., Platt L., Hennebry A., Nishimura T., McLeay L., Sharma M., Kambadur R.: Improved muscle healing through enhanced regeneration and reduced fibrosis in myostatin-null mice. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 3531-3541
- [36] McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.J.: Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*, 1997; 387: 83-90
- [37] McPherron A.C., Lee S.J.: Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 12457-12461
- [38] Mosher D.S., Quignon P., Bustamante C.D., Sutter N.B., Mellersh C.S., Parker H.G., Ostrander E.A.: A mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhance racing performance in heterozygote dogs. *PLoS Genet.*, 2007; 3: e79
- [39] Rybak-Krzyszowska M., Grzyb A., Millewicz T., Krzaczkowska-Sendrakowska M., Krzysiek J.: Primary ovarian insufficiency in infertility clinic. *Pol. J. Endocrinol.*, 2004; 55: 766-768
- [40] Sellick G.S., Pitchford W.S., Morris C.A., Cullen N.G., Crawford A.M., Raadsma H.W., Bottema C.D.: Effect of myostatin F94L on carcass yield in cattle. *Anim. Genet.*, 2007; 38: 440-446

- [41] Shimasaki S., Moore R.K., Otsuka F., Erickson G.F.: The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr. Rev.*, 2004; 25: 72-101
- [42] Siegel P.M., Massagué J.: Cytostatic and apoptotic actions of TGF- β in homeostasis and cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 807-821
- [43] Smółucha G., Piestrzyńska-Kajtoch A., Rejduch B.: Genetyczny aspekt wysokiej plenności u owiec. *Cz. I, Wiad. Zoot.*, 2012; 50: 21-26
- [44] Sonstegard T.S., Rohrer G.A., Smith T.P.: Myostatin maps to porcine chromosome 15 by linkage and physical analyses. *Anim. Genet.*, 1998; 29: 19-22
- [45] Stępień-Wyrobiec O., Hrycek A., Wyrobiec G.: Transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β). *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 688-693
- [46] Stinckens A., Luyten T., Bijttebier J., Van den Maagdenberg K., Dieltiens D., Janssens S., De Smet S., Georges M., Buys N.: Characterization of the complete porcine MSTN gene and expression levels in pig breeds differing in muscularity. *Anim. Genet.*, 2008; 39: 586-596
- [47] Takeda H., Charlier C., Farnir F., Georges M.: Demonstrating polymorphic miRNA mediated gene regulation *in vivo*: application to the g+6223G>A mutation of Texel sheep. *RNA*, 2010; 16: 1854-1863
- [48] Tessanne K., Golding M.C., Long C.R., Peoples M.D., Hannon G., Westhusin M.E.: Production of transgenic calves expressing an shRNA targeting myostatin. *Mol. Reprod. Dev.*, 2012; 79: 176-185
- [49] Tozaki T., Sato F., Hill E.W., Miyake T., Endo Y., Kakoi H., Gawahara H., Hirota K., Nakano Y., Nambo Y., Kurosawa M.: Sequence variants at the myostatin gene locus influence the body composition of Thoroughbred horses. *J. Vet. Med. Sci.*, 2011; 73: 1617-1624
- [50] Tu P.A., Shiau J.W., Ding S.T., Lin E.C., Wu M.C., Wang P.H.: The association of genetic variations in the promoter region of myostatin gene with growth traits in Duroc pigs. *Anim. Biotechnol.*, 2012; 23: 291-298
- [51] Wade C.M., Giulotto E., Sigurdsson S., Zoli M., Generre S., Imsland F., Lear T.L., Adelson D.L., Bailey E., Bellone R.R., Blöcker H., Distl O., Edgar R.C., Garber M., Leeb T. i wsp.: Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science*, 2009; 326: 865-867
- [52] Zhang C., Liu Y., Xu D., Wen Q., Li X., Zhang W., Yang L.: Polymorphisms of myostatin gene (MSTN) in four goat breeds and their effects on Boer goat growth performance. *Mol. Biol. Rep.*, 2012; 39: 3081-3087
- [53] Zhang G., Ding F., Wang J., Dai G., Xie K., Zhang L., Wang W., Zhou S.: Polymorphism in exons of the myostatin gene and its relationship with body weight traits in the Bian chicken. *Biochem. Genet.*, 2011; 49: 9-19
- [54] Zhang G., Zhang L., Wei Y., Wang J., Ding F., Dai G., Xie K.: Polymorphisms of the myostatin gene and its relationship with reproduction traits in the Bian chicken. *Anim. Biotechnol.*, 2012; 23: 184-193
- [55] Zhang G.X., Zhao X.H., Wang J.Y., Ding F.X., Zhang L.: Effect of an exon 1 mutation in the myostatin gene on the growth traits of the Bian chicken. *Anim. Genet.*, 2012; 43: 458-459
- [56] Zhang Z.J., Ling Y.H., Wang L.J., Hang Y.F., Guo X.F., Zhang Y.H., Ding J.P., Zhang X.R.: Polymorphisms of the myostatin gene (MSTN) and its relationship with growth traits in goat breeds. *Genet. Mol. Res.*, 2013; 12: 965-971
- [57] Zhiliang G., Dahai Z., Ning L., Hui L., Xuemei D., Changxin W.: The single nucleotide polymorphisms of the chicken myostatin gene are associated with skeletal muscle and adipose growth. *Sci. China C Life Sci.*, 2004; 47: 25-30
- [58] Zhu X., Topouzis S., Liang L.F., Stotish R.L.: Myostatin signaling through Smad2, Smad3 and Smad4 is regulated by the inhibitory Smad7 by a negative feedback mechanism. *Cytokine*, 2004; 26: 262-272

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.