
(Hungarian Journal of) ANIMAL PRODUCTION

ÁLLATTENYÉSZTÉS

és

TAKARMÁNYOZÁS

Vol. 53.

5

2004.

GENOMIC RESEARCH IN ANIMAL BREEDING

Scientific Conference at the
Hungarian Academy of Science

on October 26. 2004

Organizers:

**Animal Production Committee of the
Agricultural Science Section of the HAS**

**Society of Animal Procedures of the
Hungarian Association of Agricultural Sciences**

Association of Hungarian Animal Breeders

GENOMIKA AZ ÁLLATTENYÉSZTÉSBEN

tudományos konferencia a
Magyar Tudományos Akadémia Székházában

2004. október 26.

Rendezők:

**az MTA Agrártudományok Osztályának
Állatnemesítési, Állattenyésztési és Takarmányozási
Bizottsága**

a MAE Állattenyésztők Társasága

Magyar Állattenyésztők Szövetsége

A RENDEZVÉNY FŐTÁMOGATÓJA

Applera Magyarország Kft.  **Applied Biosystems**
an Applera Corporation Business

A RENDEZVÉNY TÁMOGATÓI

Alltech Hungary Kft.

Bábolna Takarmányipari Kft.

DAKOVIT Kft.

Europharma Kereskedelmi, Fejlesztő és Forgalmazó Kft.

Lohmann Animal Health Hungaria Kereskedelmi Kft.

**Vitafort Első Takarmánygyártó és
Forgalmazó Rt.**

Zenon Bio Kft.

ELŐSZÓ

Az állattenyésztők hosszú ideje eredményesen avatkoznak be az állati genom szerkezetébe, anélkül, hogy ezt tudatosan cselekednék. A legjobb egyedek kiválasztásával és szaporításával folyamatosan növelték a kívánatos allélok és a kvantitatív tulajdonságokat meghatározó lókuszok (QTL) allél-kombinációinak frekvenciáját, anélkül, hogy tudomásuk lett volna, a gének és a molekuláris háttér létezéséről.

Az elmúlt évtizedek során számos olyan molekuláris biológiai módszer birtokába jutottunk, melyek segítségével a genom analízisben nagy előrehaladást érhattünk el. Sok komplex tulajdonság, beleértve a kvantitatív tulajdonságokat is, öröklődő változatosságának kialakításában szerepet játszó gének és polimorfizmusok kimutatása vált így lehetővé. Növények és haszonállatok esetén megteremtődött a markerek segítségével végzett szelekció (MAS) lehetősége. Azonosíthatóvá váltak a komplex tulajdonságokat meghatározó gének, valamint a hatásmechanizmusok élettani és biokémiai módozatai, ezáltal megteremtődtek a transzgenikus *genetic engineering* alapjai. Kialakult a haszonállat genomikának nevezett kutatás területe.

A XXI. század állattenyésztése a fokozott mennyiségi és minőségi elvárásoknak csak úgy tud megfelelni, ha a hagyományos tenyésztési módszereket egyre nagyobb mértékben egészíti ki, később pedig új eljárásokkal helyettesíti. Ez utóbbiak egyike, talán a legjelentősebb, a genomika, melynek első eredményei már napjainkban is alkalmazásra kerülnek a gyakorlati állattenyésztésben.

A haszonállat genomikai kutatások hazánkban is elkezdődtek, és az elmúlt egy-két évtizedben számottevő eredmények születtek. Előadásainkban ismeretjük a hazai kutatóhelyek kapacitását és tevékenységét, bemutatjuk legjelentősebb eredményeinket. Rámutatunk a nehézségekre és problémákra, valamint az előrelépés lehetőségeire is.

Fésüs László
MTA doktora
Állatnemesítési, Állattenyésztési és
Takarmányozási Bizottság alelnöke

TARTALOM — CONTENT

<i>Fésüs, L.</i> : A haszonállat genomikai kutatások helyzete Magyarországon. (Research in livestock genomics in Hungary)	451
<i>Varga, L.</i> : Összehasonlító genomika modellszervezeteken és háziállatokon. (Comparative genomics in model organisms and domestic animals)	456
<i>Bősze, Zs.Ms. – Bender, B. – Baranyi, M.Ms. – Harsányi, I.Ms. – Catunda, A.P.Ms. – Kacs Kovics, I. – Németh, V. – Bartyik, J.</i> : A tejösszetétel módosítása molekuláris genetikai módszerekkel. (The impact of genomics research on altering milk composition)..	465
<i>Fésüs, L. – Zsolnai, A. – Anton, I. – Horogh, G.P. – Ármási, M.Ms.</i> : A direkt géntesztek alkalmazásának eredményei hazánkban. (Results of the direct genetest applications in Hungary)	476
<i>Hidas, A.</i> : Alkalmazott genomika a baromfityenyésztésben. (Applied genomics in poultry breeding)	483
<i>Urbányi, B. – Horváth, Á. – Orbán, L. – Jeney, Zs. – Bercsényi, M. – Magyar, I. – Váradi, L. – Horváth, L.</i> : A genetikai és molekuláris biológiai kutatásokban rejlő lehetőségek és hasznosításuk a halgazdálkodásban. (Opportunities in genetic and molecular biology research and their exploitation in fish culture)	490

SZEMLE (Miscellaneous):

Az Európai Állattenyésztők Szövetségének (EAAP) 56. tudományos ülészsaka. (56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Uppsala, Sweden)	500
---	-----

Ebben a lapszámban „Genomika az állattenyésztésben” c. konferencia anyaga, szerkesztve, de lektorálás nélkül került közlésre.

In this issue, the papers of the conference on „Genomic research in animal breeding” are edited but not supervised.

A HASZONÁLLAT GENOMIKAI KUTATÁSOK HELYZETE MAGYARORSZÁGON

FÉSÜS LÁSZLÓ

ÖSSZEFOGLALÁS

Szerző röviden foglalkozik a genomika, mint tudományterület tartalmi meghatározásával, majd összefoglaló táblázatban mutatja be a haszonállat genomikai kutatásokban résztvevő hazai intézményeket. Ismerteti az egyes kutatóhelyeken dolgozó kutatók, PhD. hallgatók, TDK-ás és szakdolgozatos diákok, valamint a foglalkoztatott laboránsok számát. Ezt követően áttekintést nyújt a művelt kutatási területekről és felsorolja azokat az eredményeket, amelyek alkalmazásra kerültek a hazai állattenyésztési gyakorlatban. Elemzi a hazai haszonállat genomikai kutatások helyzetét, problémáit, finanszírozási viszonyait és rámutat arra, hogy a különböző kutatóhelyek tevékenységét a hatékonyság javítása érdekében, országos szinten kellene koordinálni.

SUMMARY

Fésüs, L.: RESEARCH IN LIVESTOCK GENOMICS IN HUNGARY

After giving definition of the research field of „genomics”, author introduces the various Hungarian universities and research institutes dealing with research in livestock genomics. Number of researchers, PhD students and undergraduates preparing their final exam works, as well as the number of technicians are given as well. The research areas covered by the above listed institutions are summarized together with those results, which are applied in the Hungarian animal breeding practice. The present state of the Hungarian livestock genomics is introduced, including the problems, difficulties, financing, etc. The need for the better coordination of the activities to improve efficiency is stressed.

A haszonállat genomika tudományterülete viszonylag rövid múlttal rendelkezik, hazánkban is csak alig több mint egy évtizede folynak ilyen jellegű kutatások. Bevezető előadásomban csupán arra szorítokozom, hogy felsorolom a hazai kutatóhelyeket, ismertetem kapacitásukat és tevékenységük típusát, összefoglaló áttekintést nyújtok a jelenleg művelt témákról és megkísérlem a hazai helyzetet értékelni, rámutatva a nehézségekre, problémákra, lehetőségekre.

A hallgatóságban bizonyára vannak néhányan, akik nem ismerik közéről ezt a tudományterületet, rövid bevezető előadásomnak nem célja az ő tájékoztatásuk, biztos vagyok abban, hogy a következőkben elhangzó előadások meghallgatása után, megfelelő ismeretek birtokába fognak jutni.

Ezen a helyen csupán egy rövid részletet idézek (nem szó szerinti fordításban) *M. Georges* egyik közleményéből (Theriogenology, 2001. 55. 15–21.), amelyből megérthető a genomika lényege:

A genomika a genetika, a molekuláris biológia, az informatika és a robottechnika együttes alkalmazása és célja a komplex genomok szisztematikus strukturális és funkcionális analízise.

A strukturális genomika a modern kartográfikusok munkájához hasonlítható tevékenység. Magába foglalja a genomtérképezést, beleértve a genetikai térképeket, a fizikai térképeket, az összehasonlító térképek készítését, tehát egy adott genom teljes DNS szekvenciájának meghatározását.

A funkcionális genomika az azonosított strukturális elemek funkcióját határozza meg.

Eddig az idézet, attól tartok, nem sok segítséget nyújtottam a genomika lényegének megértéséhez.

A genomika, ezen belül a haszonállat genomika, intenzíven fejlődő, „szükség-szülte” tudományterület.

A Földön várhatóan bekövetkező népesség növekedés egyre nagyobb mennyiségű és jobb minőségű állati eredetű élelmiszer termelését követeli meg. A hagyományos szelekciós eljárások lehetőségei kimerülőben vannak, egyre csökken az elérhető genetikai előrehaladás mértéke. Az ún. egygénese tulajdonságokra történő szelekció viszonylag könnyebb, de a legtöbb termelési tulajdonság nem ilyen jellegű. A markerszelekció és a QTL vizsgálatok alkalmazása elkerülhetetlen.

A nagy szelekciós nyomás alkalmazása következtében növekszik a beltenyésztés mértéke, halmozottan jelentkeznek a recesszív öröklésmentet követő genetikai hibák és anyagcsere rendellenességek. Ezek kiküszöbölése az ún. géntesztek alkalmazásával lehetséges.

A transzgenikus technikák alkalmazása számos területen előtérbe kerül, a genomika komplex alkalmazása, ebben az esetben is, nélkülözhetetlen.

Ha nem akarunk csupán a genomika módszereivel külföldön előállított tenyészállatok felvevő piaca lenni, hanem, saját fajtáinkat magunk kívánjuk javítani, ismét csak a genomikai kutatások eredményeire szorítkozhatunk.

Ha tenyészállatokat és/vagy jó minőségű állati terméket kívánunk exportálni, betegségektől, genetikai hibáktól és anyagcsere rendellenességektől mentes populációkra (fajtákra) van szükségünk.

A genomika, a felsoroltak elérése érdekében alkalmazott új tudományterület, része a jövőben kifejlesztendő tenyésztési módszereknek, melyek oly mértékben fognak különbözni a jelenleg alkalmazott módszerektől, mint a mai mód-

szerek a 18. században alkalmazott eljárásoktól (ezt a gondolatot egy közel-múltban lezajlott angliai kerekasztal-tanácskozáson hallottam).

Mielőtt áttekintem a hazai intézményekben folyó tevékenységet, felsorolom a haszonállat genomikai kutatásokban közreműködőket:

— Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet (ÁTK-1), Herceghalom;

— Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum (DE, ATC-2), Debrecen;

— Haltenyésztési és Öntözési Kutatóintézet (HAKI-3), Szarvas;

— Kaposvári Egyetem, Állattudományi Kar (KE, ÁTK-4), Kaposvár;

— Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet (KÁTKI-5), Gödöllő;

— Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont MBK-6), Gödöllő;

— Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet (OMMI-7), Budapest;

— Szent István Egyetem, Mezőgazdaságtudományi és Környezetgazdálkodási Kar (SZIE MKK-8), Gödöllő;

— Veszprémi Egyetem, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar (VE GMK-9), Keszthely.

Az egyes intézmények jellemző adatait, saját adatközlésük alapján, az 1. táblázatban mutatom be.

1. táblázat

Haszonállat genomikai tevékenységet folytató intézményeink

	Diplomás okt/kut(11)	PhD, hallgató(12)	TDK + szakdolgozat(13)	Labor-asszisztens(14)	Szolgáltatás (15)
ÁTK(1)	3	2	—	4	+
DE, ATC(2)	1	3	1	—	—
HAKI(3)	4	1	—	3	—
KE, ÁTK(4)	2	1	3	1	—
KÁTKI(5)	4	—	3	2	+
MBK(6)	6	4	4	4	—
OMMI(7)	3	1	—	3	+
SZIE, MKK(8)	4	3	2	—	+
VE, GMK(9)	2	2	—	—	—
Összesen(10)	29	17	13	17	4

Table 1.: Institutes in Hungary dealing with research in livestock genomics

Research Institute for Animal Breeding and Nutrition(1), Debrecen University, Centre for Agricultural Sciences(2), Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation (3), University of Kaposvár, Faculty of Animal Science(4), Institute for Small Animal Research(5), Agricultural Biotechnology Center(6), Institute of Agricultural Quality Control(7), Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences(8), Veszprém University, Georgikon Faculty of Agriculture(9), total(10), academics(11) PhD. students(12), other students/undergraduates(13), lab. techniques(14), services(15)

Az alábbiakban rövid áttekintést nyújtok, az intézmények megjelölése nélkül, állatfajok szerinti csoportosításba, a kutatási területekről, valamint a végzett szolgáltatásokról:

Szarvasmarha

— A hazai holstein-fríz populáció BLAD és DUMPS mentesítése;

— Tejfehérje polimorfizmus vizsgálatok;

— Származásellenőrzés mikroszatellit meghatározásokkal;

— Öshonos állományok és húsmarha fajták jellemzése mikroszatellit vizsgálatokkal.

Sertés

- Az ESR és a PRLR gén hatása a szaporasági mutatókra;
- A MYO géncsalád testösszetételre gyakorolt hatása;
- A fehér színért felelős I lókusztényészti hatásai;
- Hazai sertés fajták stresszmentesítése;
- A mangalica fajta genetikai szerkezetének vizsgálata mikroszatellit meghatározás segítségével;
- Származásellenőrzés mikroszatellittekkel.

Ló

- Az arab vérségű csikók súlyos fokú immunhiányos betegségéért felelős mutáció kiszűrése;
- Származásellenőrzés mikroszatellittekkel.

Juh és kecske

- Az ún. Booroola mutáció hatása a szaporodási teljesítményre;
- Tejfehérje polimorfizmus vizsgálatok (juh és kecske);
- A surlókór genotípus gyakoriságok felmérése hazánkban tenyésztett juh-fajtákban;
- QTL térképezés (súlygyarapodás);
- CAEV megbetegedések jelenléte és hatása a hazai kecskeállományban, rezisztencia előrejelzés molekuláris genetikai markerekkel;
- Öshonos fajták jellemzése mikroszatellit vizsgálatokkal;
- Származásellenőrzés mikroszatellittekkel.

Baromfi fajok

- Tyúk géntérképezés (ivarérésre ható QTL-ek keresése);
- Pulyka géntérképezés (pulyka-specifikus mikroszatellit azonosítása);
- Különböző baromfi fajok genetikai változatosságának vizsgálata mikroszatellittekkel.

Halak

- Ponty génbank genetikai variabilitásának felmérése;
- Fajhibridek és androgenikus populációk DNS vizsgálata;
- Genommanipulációval előállított pontyállományok származásellenőrzése mikroszatellittekkel kizárólagos apai, illetve anyai eredet igazolására.

Egyéb vizsgálatok

- Tejösszetétel megváltoztatása transzgenikus állatokban;
- Fenilalanin mentes tejtermék kifejlesztése;
- Gímszarvas borjak származásellenőrzése mikroszatellittekkel;
- Vidrapopulációk egyedszámának becslése ürülék minták mikroszatellit vizsgálatával.

A rövid áttekintésből látható, hogy hazánkban viszonylag sok helyen folynak haszonállat genomikai kutatások és bizonyos területeken már ma is sor kerül a

kapott eredmények gyakorlatban történő alkalmazására. Az egyes kutatóhelyek, néhány kivételtől eltekintve, egymástól elszigetelve dolgoznak. Ennek ellenére párhuzamos kutatások végzésével nem találkozunk. Az 1. táblázat adatai szerint a felsorolt intézményekben jelenleg összesen 29 diplomás (kutató), 17 PhD. hallgató és 13 TDK-ás, illetve szakdolgozatos hallgató dolgozik.

Véleményem szerint a hazai kapacitás koordináltabb kihasználása, a mai-nál lényegesen hatékonyabb munkát eredményezne.

A jövő szempontjából dicséretes a nagyszámú PhD., TDK-ás és szakdolgozatos hallgató foglalkoztatása, különösen a kutató utánpótlás nevelése szempontjából.

Egyetemeinken terjedőben van az állattenyésztési biotechnológia (genomika) oktatása (legtöbb esetben csak PhD. szinten), a gödöllői karon mezőgazdasági biotechnológus képzés is beindult, az első hallgatók (köztük az állattenyésztési biotechnológiára szakosodottak is) ebben az évben tettek sikeres záróvizsgát.

A genomika nagyon költséges kutatási terület. Nagy értékű műszerekkel dolgozunk, melyek amortizálódása viszonylag gyors, egyre fejlettebb technológiát kell alkalmazni. Nagyon magas a vegyszerek és a különféle egyéb anyagok ára és sokba kerül az információk elérése is (könyvtár, folyóiratok).

Jelenleg a költségvetési intézmények alaptámogatása nagyon szűkös, a genomikai kutatások fedezete csak pályázatokkal (hazai és nemzetközi) biztosítható (esetenként bevétel érhető el a gyakorlat részére végzett szolgáltatásokból is). Legfőbb források az NKFP/KPI, az FVM K+F, az OTKA és az EU pályázási lehetőségek, az utóbbi időben a genomika egyre gyakrabban szerepel a prioritások között.

Állattenyésztésünk versenyképesebbé tétele, valamint az állati eredetű élelmiszer termelés mennyiségi és minőségi javítása érdekében, a hazai haszonállat genomikai kutatások koordinálása és a jobb pályázási lehetőségek biztosítása elengedhetetlenül szükségesek.

Az anyag összeállításában segítségemre voltak: *Árnyasi Mariann, Bercsényi Miklós, Bősze Zsuzsanna, Hidas András, Jeney Zsigmond, Magyar István, Takács Erzsébet, Urbányi Béla és Varga László.*

Érkezett: 2004. június

Szerző címe: Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet

Author's address: Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

ÖSSZEHASONLÍTÓ GENOMIKA MODELLSZERVEZETEKEN ÉS HÁZIÁLLATOKON

VARGA LÁSZLÓ

ÖSSZEFOGLALÁS

Az összehasonlító géntérképezés hatékony módszer arra, hogy egy még fel nem térképezett gén pozícióját megjósolják egy másik faj homológ kromoszómarégiója alapján, amelyen e gént már feltérképezték. Az ember és az egér genom szekvenciájának elkészültével valóra válhatott, hogy nemcsak a gének, de a szekvencia is összehasonlíthatóvá válik egy adott érdeklődésre számot tartó régióban. E megközelítésnek összehasonlító genomika a neve. Ahogy egyre több gerinces genom szekvenálása fejeződik be, — köztük evolúciós tekintetben távoli és közeli rokon fajokkal — úgy válik e módszer egyre hatékonyabbá. Segítségével új gének és az egyes fajok közötti evolúciós távolságok is felderíthetők, illetve sokkal megbízhatóbban becsülhetők. Mivel a tyúk az első háziállatfaj, amelynek elkészült a közelmúltban a piszkozat szekvenciája, így e fajok között még nem lehetett genom összehasonlításokat végezni. A szekvenáló központok hatalmas kapacitásának köszönhetően hamarosan elkészül több háziállatfaj genom szekvenciája is, s akkor nemcsak egymással, de az ember, a csimpánz, az egér, a patkány és más modell-állatok szekvenciáival is összehasonlíthatók lesznek. Ez a megközelítés hozzájárul majd a különböző értékmerő tulajdonságok genetikai hátterének a felderítéséhez az egyes háziállatfajokban.

SUMMARY

Varga, L.: COMPARATIVE GENOMICS IN MODEL ORGANISMS AND DOMESTIC ANIMALS

Comparative gene mapping is an efficient method to predict the position of an unmapped gene in a species, on the basis of the homologue chromosomal region from the map of an other species. With the completion of human and mouse genome projects it became possible to compare not only the gene content, but even the sequences of particular region of interest. This approach is called: comparative genomics. The more vertebrate genomes are sequenced — from closely and distantly related species — the more powerful this approach becomes. New genes can be identified and evolutionary relationships between species can be estimated more reliably with this approach as before. Since the chicken genome was completed first from among the most important domestic animals, thus no comparisons could be made so far with other farmed species. Due to the increasing capacity of the sequencing centers, several genomes of different domestic species will be completed soon and can be compared not only with each other but also with the sequence of human, chimpanzee, mouse, rat and other model organisms. This approach will contribute to the genetic dissection of the different production traits important in the various domestic species.

BEVEZETÉS

Az állattenyésztés több ezer éves története során, az állattenyésztők, a klasszikus tenyésztési módszereket alkalmazták, illetve alkalmazzák ma is, az egyes tenyésztési célok eléréséhez. Napjainkig remény sem volt arra, hogy fel lehessen tárni az egyes termelési tulajdonságok molekuláris genetikai hátterét. A genetika fejlődése mostanra érte el azt a szintet, hogy számos, a nemesítés szempontjából jelentős fenotípus tulajdonság genetikai meghatározottsága ismertté váljon. Az állattenyésztők számára fontos értékmérő tulajdonságok többségét (tej-, hús-, tojás-, gyapjútermelés) több gén együttes hatása, valamint a környezet alakítja ki. E géneket QTL-eknek (Quantitative Trait Loci=mennyiségi tulajdonságot kódoló lókuszoknak) nevezzük. A QTL-ek genetikai hátterének feltárása rendkívül nehéz feladat, a legnagyobb kihívás az állattenyésztési genetika számára. A napjainkban lejátszódó biotechnológiai forradalom számos olyan módszert és technikát hozott létre, melyek utat nyitottak arra, hogy a jövőben megismerhessük az e tulajdonságok kialakításáért felelős géneket (Varga, 1996; Varga, 2000).

Az egyik legújabb megközelítés: az összehasonlító genomika átfogó bemutatását tűzte ki céljául egy az ember, a modell-állatok és a háziállatok vonatkozásában. A módszer gének, kromoszómarégiók, kromoszómák illetve teljes genomok szekvenciáinak összehasonlításán alapul. Az összehasonlítás eredményeképpen géneket és szabályozó szekvenciákat azonosíthatunk, illetve az összehasonlított fajok evolúciós hasonlóságába, illetve eltérésébe kaphatunk mélyebb betekintést. A genom szintű összehasonlítás előfeltétele az, hogy a vizsgált fajok genomjainak szekvenciája ismert legyen. Ez az áttekintés azért nem tud kizárólag a háziállatokra koncentrálni, mert a legfontosabb fajok közül még csak a tyúk piszkozat genom szekvenciája készült el pár hónappal ezelőtt, így a tyúk más fajok genomjával végzett összevetésének eredménye még rövid ideig várat magára. Ezért a háziállatok szempontjából modellnek vehető ember, egér, csimpánz és egy hal genom összehasonlításainak néhány eredményét tudjuk még csak bemutatni, felvillantva azokat a lehetőségeket, amelyeket ez a megközelítés rövidesen kínál majd a háziállatok számára is.

MŰLT ÉS JELEN: GÉNEK FELDERÍTÉSE GÉNTÉRKÉPEZÉSSSEL ÉS ÖSSZEHASONLÍTÓ GÉNTÉRKÉPEZÉSSSEL

Géntérképezés

A genetikai térképezés azt jelenti, hogy markergének segítségével egy géntérképezésre alkalmas populáción meghatározzuk, hogy a számunkra fontos tulajdonságokat kódoló gén melyik kromoszómán, és azon belül hol helyezkedik el. A markergének amolyan segédgénekek tekinthetők, amelyek egyszerű kimutathatóságuk és nagy számuk folytán alkalmasak a valódi gének térképezésére. Úgy képzelhetjük el ezeket, mint a földrajzi térképezésben használt viszonyítási pontokat, melyekhez képest meghatározhatjuk valamely számunkra fontos objektum pontos helyét. Így van ez a géntérképezésben is, ahol a markergéneknek csak a pozíciója lényeges, azért, hogy ezekhez képest megtaláljuk valamely, számunkra fontos gén helyét (Varga, 2000).

A markerekkel körülvárt kromoszómaszakaszon belül magának a génnek a fizikai térképezése, illetve az azon belül elhelyezkedő — a fenotípust előidéző — szekvencia szintű eltérésnek az azonosítása jelenti a következő nagy kihívást. Ennél a lépésnél hasznosítható az összehasonlító térképezés alapján nyert információ.

Összehasonlító géntérképezés

A legfontosabb emlősfajok géntérképeinek az utóbbi két évtizedben tapasztalt rohamos fejlődése lehetővé tette, hogy az egyes fajokon feltérképezett gének kromoszomális pozícióját egyre nagyobb felbontással össze is hasonlítsák. Az erre szakosodott megközelítést nevezzük összehasonlító géntérképezésnek. Az emlős-evolúció időtartama alatt számos különböző genetikai átrendeződés (deléció, transzlokáció, inverzió, transzpozíció, stb.) játszódott le az egyes fajok kialakulása közben, ennek ellenére hosszabb-rövidebb kromoszómarégiók akár változatlan, konzervált génsorrenddel maradtak fent a különböző fajok között. A képlet tulajdonképpen egyszerűen megfogalmazható: ha az A fajban találunk egy régiót, mely konzerváltnak bizonyul egy B fajban, akkor a konzerváltság mértékétől függően megjósolhatjuk a még feltérképezetlen gének pozícióját is a B fajban, ha A-ban pozíciójuk ismert a kérdéses régió belül. Mi a jelentősége ennek? Tegyük fel, hogy egy háziállatfajon sikerül egy kromoszómarégióra feltérképezni egy még ismeretlen gént, amely egy adott fenotípusos tulajdonságot határoz meg. E régióban sorra vesszük azokat a már korábban oda feltérképezett géneket annak megállapítására, hogy ezek közül melyik lehet esélyes gén a fenotípusos tulajdonság meghatározásában. Amennyiben nem találunk esélyes jelöltet az illető fajban, megnézhetjük további háziállatfajokban, de még inkább a gazdagabb géntérképpel rendelkező modellállatfajokban, illetve az emberben azt, hogy ezek közül mely fajok homológ kromoszómarégiói hordoznak esélyesnek tekinthető géneket, amelyek a vizsgált fajban még nincsenek feltérképezve. Ha találunk ilyen gént, azt térképezhetjük, s ha valóban a várt régióban helyezkedik el, akkor részletes vizsgálat alá vonhatjuk.

JELEN ÉS JÖVŐ: GÉNEK FELDERÍTÉSE GENOM SZEKVENÁLÁSSAL ÉS ÖSSZEHASONLÍTÓ GENOMIKÁVAL

Az előző fejezetben bemutatott stratégia a nagyléptékű géntérképezési eljárásoktól kiindulva halad az egyre finomabb felbontású megközelítésekig, ahol a sort a szekvenálás zárja. Ezt a megszokott logikus átfogó térképezési stratégiát „borította fel” az az először teljesen hihetetlennek tűnő ötlet, hogy nemcsak a viszonylag kicsi és egyszerűbb genommal rendelkező vírusok és baktériumok teljes szekvenciáját lehet meghatározni, de a hatalmas komplex genommal rendelkező fajokét is, mint például az ember, az egér vagy a különböző háziállatfajok. Így egyszer csak ugrásszerűen jutottunk el a végcélhoz: a genom teljes szekvenciájához, ami tulajdonképpen a folyamatában egyre tökéletesedő géntérkép legvégső változatának tekinthető. Viszont annak ellenére, hogy megvan a végcél, a szekvencia nem mondja meg nekünk, hogy ez a genetikai információ hogyan vezet el minket a különböző fenotípusokhoz, amelyeket meg szeretnénk érteni.

Genom szekvenálás: ember, modellállatok és háziállatok

Az 1990-ben elindított Humán Genom Projekt (HGP) megvalósításának gondolata 1980-ig nyúlik vissza. Az US National Research Council egy nagy-szabású kutatási programot javasolt, amelybe az emberi genetikai, fizikai és szekvencia térkép megvalósításán túl modell szervezeteket is be kívántak vonni: különböző baktériumokat, az élesztőt, a fonalférget, az ecetmuslicát és az egeret, valamint technológiafejlesztéseket terveztek e célok eléréséhez. A kutatás végül az US Department of Energy és a National Institute of Health közös programjaként indult el. Később-további országok is csatlakoztak a projekthez és további szekvenálendő genomokkal is kiegészítették az elérendő célt, így többek közt a patkány, a méh, a csimpánz, a rhesus majom, valamint több háziállatfaj is felkerült a listára (1. táblázat, Lander és mtsai, 2001).

1. táblázat

Az ember, valamint a legfontosabb gerinces modell- és háziállatok genom szekvenálásának helyzete (2004. július)

Faj(1)	Fontossági sorrend(2)	Piszkozat szekv.(3)	Időpont(4)
Ember(5)	fő cél(15)	elkészült(18)	2001. 02.
Fugu (hal)(6)	kiemelt(16)	elkészült(18)	2002. 07.
Egér(7)	kiemelt(16)	elkészült(18)	2002. 12.
Patkány(8)	kiemelt(16)	elkészült(18)	2003. 06.
Csimpánz(9)	kiemelt(16)	elkészült(18)	2003. 12.
Tyúk(10)	kiemelt(16)	elkészült(18)	2004. 03.
Kutya(11)	kiemelt(16)	elkészült(18)	2004. 07.
Szarvasmarha(12)	kiemelt(16)	folyamatban(19)	2004.
Macska(13)	közepes(17)	folyamatban(19)	
Sertés(14)	közepes(17)	folyamatban(19)	

Table 1.: Position of genom sequence in humans as well as in the main vertebrate model and domestic animals (July 2004)

species(1), importance order(2), rough copy sequence(3), time(4), man(5), fish(6), mouse(7), rat(8), chimpanzee(9), hen(10), dog(11), cattle(12), cat(13), swine(14), object(15), stressed(16), medium(17), finished(18), be in progress(19)

Az 1. táblázat adatait elemezve nem kerülheti el a figyelmünket az a nyilvánvaló tendencia, hogy az egyes háziállatfajok nem a gazdasági jelentőségüknek megfelelően kerültek be a fontossági sorrendbe, hanem sokkal inkább a biológiájuk, a genetikájuk vagy az evolúciós sorban elfoglalt helyük alapján, abból a megfontolásból, hogy az emberi genom szekvenciával összevetve, az összehasonlító genomika segítségével, az emberi genom szerkezetét, működését, és evolúcióját, mind jobban fel lehessen tární és meg lehessen érteni.

A ~3 milliárd bázispárt kitevő emberi genom meghatározását jelentő, hihetetlen volumenű feladatot két egymással versengő projekt is elvégezte, egymástól eltérő, teljes genomra kiterjedő szekvenálási stratégia alkalmazásával (Lander és mtsai, 2001; Venter és mtsai, 2001). Az egér genom szekvenálásánál már kiaknázták a két stratégia hatékony együttes alkalmazásából fakadó előnyt (Waterston és mtsai, 2002), és a további genomok szekvenálásánál már az itt szerzett tapasztalatokat is hasznosították.

Összehasonlító genomika

Az összehasonlító genomika a genomok egy részének, vagy a teljes genomok szekvenciáinak összehasonlítására épül. A kiindulási pontot a két DNS szekvencia egymáshoz illesztése jelenti. Az illesztés annyit tesz, hogy az egyik szekvencia nukleotidjait hozzárendeljük a másik szekvencia nukleotidjaihoz úgy, hogy vagy az egyik, vagy a másik szekvenciába hézagokat iktatunk be annak érdekében, hogy a maximalizáljuk az egymásnak megfelelő nukleotidok számát. Számos algoritmust fejlesztettek már ki két vagy akár több szekvencia illesztésére. Természetesen a teljes genomok illesztéséhez hatalmas számítógépes kapacitások és speciális szoftverek szükségesek.

Az összehasonlító genomika azon a feltételezésen alapul, hogy a két vizsgált genomnak volt közös őse, így mindkét szervezet mindegyik bázispárja visszavezethető az eredeti ősi genomra, illetve az azt ért evolúciós hatásokra. Az evolúció tágan értelmezve két folyamat kombinációjának vehető: az egyik a mutációs hatás, ami a szekvenciában mutációkat generál, a másik a szelekciós nyomás, amely vagy eltünteti a véletlenszerű mutációkat (negatív szelekció), vagy nincs hatása a mutációkra (neutrális szelekció), vagy emeli a mutáns alléli gyakoriságát a populációban, ha az a fitnessre pozitívan hat (pozitív szelekció) (*Ureta-Vidal és mtsai, 2003*).

A molekuláris evolúció elmélete szerint a funkcionálisan fontos nukleotidok erősebben konzerválódtak az evolúció során, mint azok, amelyek nem funkcionálisak. A funkcionálisan fontos régiókban — mint például a fehérje kódoló régiók és a szabályzó régiók — bekövetkező mutációk valószínűbb, hogy károsak, és ezért gyorsabban is eliminálódnak a negatív szelekció során, mint azok a mutációk, amelyek a nem funkcionális DNS-ben (az ún. „szemét DNS”-ben) jönnek létre, ezért ez utóbbiban felhalmozódnak a mutációk, és ezek a szekvenciák gyorsabban divergálódnak az evolúció során (*Cooper és mtsai, 2003*).

Ha ez a tétel visszafelé is igaz, akkor az az erősebben konzervált szekvenciáknak minden bizonnyal valamilyen funkcionális szerepe lehet. A konzervált-ság mértéket pedig a szekvenciák összehasonlítása — az összehasonlító genomika — alapján meglehetősen jól meg lehet állapítani. Nézzük meg tehát, hogy a különböző genomok összehasonlítása milyen eredményeket hozott.

Ember – egér: Miután az ember és az egér genom piszkozat-szekvenciája elkészült, megnyílt a lehetőség e két emlős genom összehasonlítására. Az egér genom (2,5 Gbp) 14%-kal kisebb mint az emberi genom (2,9 Gbp). Ez feltehetőleg az egér nagyobb mutációs rátájából fakad. Mind az ember, mind az egér ~30 000 fehérje-kódoló gént hordoz, ami a genomok 1,1–1,4%-át teszi ki (*Lander és mtsai, 2001; Waterston és mtsai, 2002*). A szekvencia konzerváció mértékét a neutrális helyek (ősi ismétlődő szekvenciák) és a funkcionális elemek (kódoló régiók) összehasonlítása alapján számították ki. Ennek alapján kiderült, hogy a genom ~5%-á van evolúciós szelekció alatt, amely sokkal magasabb, mint a fehérje-kódoló régiók aránya a genomban. A fennmaradó 3,5–3,9%-ba tartoznak többek között például a génexpressziót szabályozó szekvenciák, amelyekből egy tipikus gén tartalmaz néhányat, így számuk összesen több száz ezer is lehet (*Waterston és mtsai, 2002*). Ezek némelyike egyértelmű konzerváltságot mutat az emlősök között. Az ilyen elemek azonosításának

egyik fő gátja, hogy ezek az elemek más és más mutációs rátával rendelkező régiókba ágyazódnak be a genom különböző pontjain (Hughes, 2004).

Az ember és az egér genom több mint 90%-ban hordoz egymásnak megfelelő, konzervált szegmenseket. Ezek számát ~210-re becsülik, ami egy kromoszóma-átrendeződést jelent minden 1 millió év alatt. Az átlag konzervált szegmens hossz 15,4 Mbp, a leghosszabb 90,5 Mbp (HSA4–MMU5).

Megjegyzés: A kromoszómák nevének rövidítése az adott faj latin nevéből képzett három betűből (HSA: *Homo Sapiens*; PTR: *Pan Troglodytes*; MMU: *Mus Musculus*) és az adott kromoszómának megfelelő számból állnak.

Érdekesség, hogy a HSA17 majdnem mindegyik génje az MMU11-en van. A HSA20 szintén majdnem teljesen megegyezik az MMU2-vel (Lander és mtsai, 2001).

Összehasonlítások szélsőségesen távoli és közeli genomokkal: Az összehasonlító genomika alkalmazásával tehát felfedezhetünk funkcionális elemeket, mint például géneket, regulátor elemeket vagy más kevésbé jól definiált szekvenciákat a genomban, csak az a gond, hogy ezek ~3 milliárd bázisban vannak eltemetve. Amikor egyre több genom szekvenciája áll rendelkezésre, felmerül a kérdés: mely genomokat hasonlítsuk össze?

Ha túl közelielket, akkor a nagyfokú általános szekvencia azonosság fedheti el a valóban funkcionális elemeket. Ha túl távoliakat, akkor már a funkcionális elemek is oly mértékig divergálhatnak, hogy azonosíthatatlanná válnak. Ezért tűnt arany középútnak a ~75 millió éve szétvált ember és egér összehasonlítása. Két tényező azonban korlátozza ennek a stratégiának a hatékonyságát: egyrészt vannak humán-, illetve főemlős specifikus funkcionális elemek, amelyek az egerből hiányoznak. Másrészt van e két faj között is egy hatalmas méretű nem kódoló szekvencia azonosság, ami a humán genomon belüli nem egyforma gyorsasággal lejátszódó evolúcióból fakad. Ezeket a korlátokat juthatunk túl, ha nagyon közeli: például főemlős, vagy nagyon távoli: például nem emlős genomokkal vetjük össze az emberi genomot. Ez utóbbiakkal a legkonzerváltabb elemeket azonosíthatjuk.

Így annak eldöntése, hogy mely két genomot hasonlítsuk össze, az előnyök és hátrányok gondos mérlegelését igényli (Bofelli és mtsai, 2004).

Összehasonlítások távoli genomokkal: Az emberi genom összehasonlító géntérképezéséhez nagyszerű ötletnek bizonyult a távoli, nem emlős gerincesek közül a gömbhal-alkatúak közé tartozó *Fugu rubripes* genomjának szekvenálása, mivel nemcsak hogy ~450 millió éve volt közös őse a két fajnak, de a *Fugu* genom különlegesen kompakt is. Annak ellenére, hogy a *Fugu* genom 1/9-ed része az emberének (Venter és mtsai, 2001), a gének száma mégis közel azonos. A *Fugu* genom tömörségét az intronok és az intergenikus régiók hosszúságának jelentős csökkenése okozza, ami főképp az ismétlődő szekvenciák viszonylag ritkább előfordulásából fakad. A gének a *Fugu* genom 1/3-át teszik ki, az ismétlődő szekvenciák pedig az 1/6-át (Aparicio és mtsai, 2002). Ugyanakkor az emberben és az egerben a gének összessége által elfoglalt szekvencia az egész genom pár százalékát teszi csak ki, míg a repetitív szekvenciák a genom legalább 50%-át töltik ki (Lander és mtsai, 2001). A *Fugu* fehérjék 3/4-e erős hasonlóságot mutat a megfelelő humán fehérjékhez, míg a fennmaradó rész erősen eldivergált a két faj szétválása óta.

A két szekvencia összevetése ~1000 új humán gén felfedezésében segített (Aparicio és mtsai, 2002). Még megdöbbentőbb, hogy nem kódoló regulátor szekvenciákat is azonosítottak ezzel a megközelítéssel, például egy 120 bp-os erősítő (enhancer) szakaszt, amely majdnem tökéletesen identikus nemcsak az emberben és a *Fugu*-ban, de még az egérben, a patkányban és a tyúkban is. Az így azonosítható regulátorok minden valószínűség szerint kulcsszerepet tölthetnek be valamilyen korai fejlődési lépésnél, s ezért nem következhetett be bennük még a legkisebb változás sem az evolúció során (Bofelli és mtsai, 2004).

A nagyon távoli fajok összehasonlításával tehát felfedhetők a legkonzervatívabb szekvenciák. Azt feltételezik, hogy az aminosav cserével járó humán genetikai betegségek az adott fehérjéknek épp az ilyen legkonzerváltabb helyein következhetnek be, amelyek kulcsfontosságúak a szervezet túléléséhez. Ha ez valóban így van, akkor ez a megközelítés elősegíti majd az azonosításukat (Hedges és Kumar, 2002).

A távoli összehasonlításoknak persze vannak korlátai is, mivel így csak bizonyos számú regulátor fedezhető fel, ezért érdemes olyan stratégiát követni, amellyel lépésről-lépésre egyre közelebbi genomokat (béka, tyúk, stb.) hasonlíthatunk össze az emberi genommal (Bofelli és mtsai, 2004).

Összehasonlítások a legközelebbi genomokkal: Az emberhez legközelebb álló faj a csimpánz. A két faj 5–6 millió évvel ezelőtt vált szét. A csimpánz genom piszkozat-szekvenciájának elkészültével a lehető legközelebb kerültünk annak, az emberiséget régen foglalkoztató kérdésnek a megválaszolásához, hogy az emberré válásnak mi is a genetikai háttere, melyek azok a funkcionálisan fontos mutációk, amelyek az emberi származéksorra jellemzők.

Nemcsak emberközpontúságunk vezetett arra a megfigyelésre, hogy az ember egy szokatlan oldalága az amúgy genetikailag meglehetősen konzervált emberszabású majmoknak. Az ember nyilvánvalóan „kilóg” a primáták közül, és azt feltételezik, hogy fenotípusos eltávolodása viszonylag gyorsan játszódhatott le. Ezeknek az evolúciós eseményeknek a jobb megértéséhez jelentene segítséget, ha lennének a csimpánznál is közelebbi rokonaink. A régészeti leletek azt mutatják, hogy az emberi származéksornak több ága is volt, de ezek közül csak a mai ember az egyetlen túlélő. A neandervölgyi ősember csontmaradványából izolált a mitokondriális DNS-nek részleges szekvenálása egyértelműen elkülöníti a modern embert ettől az ágtól, szétválásukat párszázezer évre becsülik (Olson és Varki, 2003).

Harminc évvel ezelőtt született meg az a hipotézis, hogy az ember és a csimpánz közötti különbségek leginkább a gén reguláció szintjén lehetnek, mert a fehérjék divergenciája meglepően alacsonynak tűnt (King és Wilson, 1975). A két genom 95%-ban közvetlenül is összeilleszthető, a maradék 5% viszont a szétválás óta bekövetkezett inszerciók és delécioók miatt már nem. A két genom nagyléptékű szerveződése is erősen konzervált annak ellenére, hogy a csimpánznak eggyel több kromoszómája van: a PTR12 és PTR13 együtt képez homológot HSA2-vel (Olson és Varki, 2003). Mindezek ellenére a PTR22 most elkészült szekvenciája alapján kapott eredmények azt mutatják, hogy a regulációs különbségen alapuló hipotézishez képest az ember és a csimpánz genomok eltérése sokkal komplexebb mint gondolták. A PTR22 és HSA21 üsz-

szezhasonlítása azt bizonyította, hogy a ~230 kódoló szekvencia döntő többsége mutat aminosav eltérést a két faj között, és funkcionálisan fontos gének is vannak ezek között (*Watanabe és mtsai*, 2004). A teljes genom összevetések során találtak már jelentősebb eltéréseket is olyan génekben (pl.: *FOXP2*), amelyek esetleg hozzájárulhattak az ember néhány kulcsfontosságú egyedi tulajdonságának — például az emberi beszéd és nyelv — kialakulásához (*Enard és mtsai*, 2002).

Jelentős segítséget nyújt majd az ember összezhasonlító géntérképezéséhez, ha a csimpánzon kívül a gorilla, majd a *rhesus* majom szekvenciája is elkészül. E többszörös összezhasonlításokkal már megállapítható lesz, hogy az ember és a majom közti szekvencia különbségekből mi a majom-specifikus és miben tér el ettől az ember. Több olyan betegség (pl.: autoimmun betegségek), illetve betegség iránti fogékonyság (pl.: malária) is van, amely csak az emberre jellemző, az emberszabású majmokra viszont nem (*Olson és Varki*, 2003).

Összehasonlítások a háziállatokkal: A háziállatok azért kerültek együtt ebbe külön fejezetbe, mert ennek az áttekintésnek a középpontjában e fajok állnak. Biológiai értelemben nyilván nem képeznek homogén halmazt, mivel vannak közöttük olyan osztályok is, mint például a madarak, vagy a halak, amelyek feltétlenül a távoli genom-összehasonlítások fejezetéhez tartoznának.

Ha rátekintünk az 1. táblázatra láthatjuk, mindezek ellenére hatalmas előrehaladás várható a háziállatok esetében is a genom szekvenálás területén, és nyilvánvalóan ennek következtében, az összezhasonlító genomika területén. E genom szekvenálások java egy éven belül el fog készülni. A tyúk piszkozatszekvencia ez év tavaszán már el is készült, és a megfelelő nagy internetes adatbázisokban hozzá is férhető. A tyúk genom szekvenálásnak eredményeiről szóló átfogó cikk már elkészült, de még nem jelent meg, így az összezhasonlító genomikai vonatkozásokról itt még nem számolhatok be.

A háziállatok azonban nemcsak az emberi genom szekvenciáját segítenek jobban megérteni, hanem minden megszekvenált genommal rendelkező faj kölcsönösen is segíti az összes többit. Egyrészt a háziállatok is jelentősen profitálnak a kiemelt fajok genomjainak jobb megértéséből, másrészt e fajok genomja is fókuszba állítható, és úgy hasonlítható össze a többi faj genomjával.

Míg az emberben a genetikai betegségek, illetve a különböző betegségekre való hajlam genetikai hátterének a felderítése áll a genomot analizáló kutatások középpontjában, addig a háziállatok esetében a termelési tulajdonságok genetikai hátterének a feltárása a cél.

Azzal persze tisztában kell lenni, hogy egy faj genom szekvenciája önmagában nem ad semmilyen választ a kérdésekre. Pusztán a fenotípusból kiindulva, továbbra is szükség lesz valamilyen térképezési eljárás alkalmazására is. A változás annyi, hogy, ha e lókuszekat térképeztük adott régióra, ott sokkal könnyebben megtalálhatjuk majd magát a ható mutációt. Másfelől, ha sikerül a fehérje kódoló gének legtöbbjét szekvencia szinten is azonosítani, akkor a fiziológia szerepből kiindulva, az esélyesnek tekinthető gének szekvenciáját közvetlenül össze lehet hasonlítani akár fajtánként, s ily módon azonosítani a termeléssel összefüggő szekvencia különbségeket. Ha a szekvenálási hullám ugyanilyen ütemben folytatódik tovább, akkor arra is lehetőség lesz, hogy adott fajon belül több fajta teljes genomszekvenciáját is meghatározzák, és ezeket az ösz-

szezhasonlító genomika segítségével egybevevessék. Ez fantasztikus távlatokat nyit a QTL térképezésben, megtudhatnánk azt, hogy genom szinten miben különbözik egymástól a holstein-fríz és a magyar szürke, vagy a dán-lapály és a mangalica. Természetesen a számtalan neutrális különbség közül akkor sem lesz könnyű kibányászni a termelésre valóban hatással lévő genetikai eltéréseket, de mindenesetre hihetetlen, hogy rövidesen valóban elérhetünk erre a pontra.

Ha ez megvalósul, akkor a háziállatok lesznek számos olyan komplex tulajdonság genetikai feltárásának úttörői, mint például, izom/hústermelés, zsirtermelés/elhízás, stb. és e tekintetben, a releváns fajokon nyert információt fogja felhasználni a humán genetikai kutatás is.

IRODALOM

- Aparicio, S. – Chapman, J. – Stupka, E. – Putnam, N. és mások(2002): Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Sci.*, 297. 1301–1310.
- Boffelli, D. – Nobrega, M.A. – Rubin, E.M.(2004): Comparative genomics at the vertebrate extremes. *Nature Rev. Genet.*, 5. 456–465.
- Cooper, G.M. – Brudno, M. – Green, E.D. – Batzoglou, S. és mások(2003): Quantitative estimates of sequence divergence for comparative analyses of mammalian genomes. *Genome Res*, 13. 813–820.
- Enard, W. – Przeworski, M. – Fisher, S.E. – Lai, C.S. és mások(2002): Molecular evolution of FOXP2, a gene involved in speech and language. *Nature*, 418. 869–872.
- Hedges, S.B. – Kumar, S.(2002): Vertebrate genomes compared. *Sci.*, 297. 1283–1285.
- Hughes, A.L.(2004): Comparative genomics: Mining the crucial 1%. *Heredity*, 93. 5.
- King, M.C. – Wilson, A.C.(1975): Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Sci.*, 188. 107–116.
- Lander, E.S. – Linton, L.M. – Birren, B. – Nusbaum, C. és mások(2001): Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409. 860–921.
- Olson, M.V. – Varki, A.(2003): Sequencing the chimpanzee genome: insights into human evolution and disease. *Genetics*, 4. 20–28.
- Ureta-Vidal, A. – Ettwiller, L. – Birney, E.(2003): Comparative genomics: genome-wide analysis in metazoan eukaryotes. *Nature Rev. Genet.*, 4. 251–262.
- Varga, L.(1996) A genetikai kutatások eredményeinek gyakorlati hasznosítása a hústermelésben. XII. Állat-biotechnológiai Kerekasztal, Sárospatak-Bécs
- Varga, L.(2000): Genom-térképezés. In: Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. Szerk.: Fésüs L. - Komlósi I. - Varga L. - Zsolnai A., AGRINFORM Kiadó és Nyomda Kft., Budapest
- Venter, J.C. – Adams, M.D. – Myers, E.W. – Li, P.W. és mások(2001): The sequence of the human genome. *Sci.*, 291. 1304–1351.
- Watanabe, H. – Fujiyama, A. – Hattori, M. – Taylor, T.D. és mások(2004): DNA sequence and comparative analysis of chimpanzee chromosome 22. *Nature*, 429. 382–388.
- Waterston, R.H. – Lindblad-Toh, K. – Birney, E. – Rogers, J. és mások(2002): Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420. 520–562.

Érkezett: 2004. augusztus
 Szerző címe: Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont
 Author's address: Agricultural Biotechnology Center
 H-2100 Gödöllő, Pf. 170.

A TEJÖSSZETÉTEL MÓDOSÍTÁSA MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREKKEL*

BÓSZE ZSUZSANNA — BENDER BALÁZS — BARANYI MÁRIA — HARSÁNYI IBOLYA —
CATUNDA ANA PAULA — KACSKOVICS IMRE — NÉMETH VILMOS — BARTYIK JÁNOS

ÖSSZEFOGLALÁS

A háziállatok, különösen a szarvasmarha, genom szekvenciáiról rendelkezésünkre álló információ mennyisége az elmúlt években drámai módon megnövekedett. A tejelő szarvasmarhákval kapcsolatos kísérletek a tejösszetételt, illetve tejhozamot befolyásoló, továbbá az egészség megőrzéséhez kapcsolódó tulajdonságokhoz kapcsolt QTL-ek azonosításához vezettek. A tejelválasztást befolyásoló szabályozó mechanizmusok megértése lehetővé teszi a tejösszetétel optimalizálását illetve gyógyhatású fehérjék termeltetését transzgenikus haszonállatok tejében.

SUMMARY

Bósze, Zs.Ms. – Bender, B. – Baranyi, M.Ms. – Harsányi, I.Ms. – Catunda, A.P.Ms. – Kacskovics, I. – Németh, V. – Bartyik, J.: THE IMPACT OF GENOMICS RESEARCH ON ALTERING MILK COMPOSITION

The amount of information currently available about the genomes of many livestock species, especially cattle has increased dramatically in the past few years. Studies using dairy type cattle have successfully identified QTL-s affecting milk composition, milk yield and health-related traits. Understanding the mechanism of milk production contributes to develop strategies to change and improve milk composition and produce pharmaceutical proteins in the milk of transgenic animals.

* A kísérleteket az OMFB—1605/1606 és OMFB-2327/2000 támogatta

BEVEZETÉS

Az 1990-es évek elejétől indult szarvasmarha genomika kutatások tradicionálisan két irányban folynak, nevezetesen a hús típusú, illetve tejelő szarvasmarhák produktivitásának növelését célozzák. Húsmarhák esetében számos, a növekedést, testösszetételt illetve húsmínőséget befolyásoló QTL-t azonosítottak (Grosz és MacNeil, 2001; Casas, 2002; MacNeil és Grosz, 2002; Kim és mtsai, 2003). A tejelő szarvasmarhákkal kapcsolatos kísérletek, a tejösszetételt, illetve a tejhozamot befolyásoló, továbbá az egészség megőrzéséhez kapcsolódó tulajdonságokhoz kapcsolt QTL-ek azonosításához vezettek (Georges és mtsai, 1995; Zhang és mtsai, 1998; Heyen és mtsai, 1999; Ashwell és mtsai, 2001). A kutatók célja jelenleg az egyes QTL-ek mögött rejlő okozati mutációkat hordozó gének azonosítása, ami sokkal hatékonyabbá fogja tenni a marker támasztott szelekciót (MAS).

Ezzel egyidejűleg, az összehasonlító géntérképek és szekvencia adatok elemzése lehetővé tette más szövetekben már ismert funkcióval bíró fehérjék emlőszövetbeli szerepének új megvilágításba helyezését. Így például az ismert funkciójú xanthine dehidrogenáz/oxidáz (XOR) fehérjéről megállapították, hogy már részleges hiányában sem működik a tejelválasztás (Vorbach és mtsai, 2002). Mivel a XOR korábban ismert funkciója nincs összefüggésben a tejelválasztással, ezért a génkiütött egérmódellem kapott eredmények alátámasztják, hogy a tejszir-gömböcskék alkotórészeként, azok szekréciójában játszik fontos szerepet (Mather és Keenan, 1998). Végül soron az ilyen irányú kutatások hozzájárulnak a tej számtalan eddig nem vizsgált komponense szerkezeti és funkcionális szerepének megértéséhez, távlatilag pedig új táplálék komponensek és élelmiszerek kifejlesztését eredményezik.

A tejösszetétel irányított megváltoztatásában, jelenleg is, több direkt génteszt segíti a tenyésztők munkáját: így például a prolaktin (Cowen és mtsai, 1990) a β -laktoglobulin (Bovenhuis és mtsai, 1992), a κ -kazein (Bovenhuis és mtsai, 1992) és a diacylglycerol O-acyltransferase I (DGAT-1, Grisart és mtsai, 2001) gének polimorfizmusának kimutatásra kifejlesztett módszerek.

Az MBK Állatbiológiai Intézete más hazai illetve külföldi kutatócsoportokkal együttműködve a marhahús és a tejtermelés minőségi javítása illetve a tejösszetétel módosítása érdekében végez alap és alkalmazott kutatást (Baranyi és mtsai, 1992, 1997a; Bősze és mtsai, 1993, 2001; Vági és mtsai, 1998; Banykó és mtsai, 1999; Bodó és mtsai, 2000ab, 2001; Kobolák és mtsai, 2000; Somfai és mtsai, 2002). A hazai szarvasmarha fajták tejfehérje polimorfizmusának első felmérése, valamint egy új β -laktoglobulin alléli leírása a magyar szürke fajtában, nemzetközileg is figyelmet keltő eredményünk (Godovac-Zimmermann és mtsai 1996; Baranyi és mtsai, 1997b).

A tejösszetétel megváltoztatására irányuló erőfeszítéseink jelenleg két irányban folynak:

— A Naszálytej Tejfeldolgozó és Kereskedelmi Rt. munkatársaival együttműködve, egy speciális betegpopuláció táplálkozási igényeit kielégítő tejtermék kifejlesztésén dolgozunk. A *fenilketonurea* nevű örökletes rendellenességtől szenvedő betegek szervezetéből hiányzik a fenilalanin hidroláz aktivitás, az ennek következtében fellépő fenilalanin felhalmozódás pedig a szellemi képes-

ség csökkenését okozza. A betegség előfordulási gyakorisága 1:7000, ami azt jelenti, hogy Európában csaknem 100 000 embert érint. A jelenleg rendelkezésre álló egyetlen hatékony terápia, egy alacsony fehérje tartalmú diéta, mely elsősorban gyümölcsök, és zöldségfélék fogyasztását teszi lehetővé. Ezek fenilalanin tartalma 3–4%, szemben az állati fehérjék 7%-os fenilalanin tartalmával, melyek fogyasztása egyáltalán nem megengedett. Ha sikerülne megteremteni a fenilalanin mentes tejtermékek létrehozásának technológiai feltételeit, az a jövőben, a fenilketonureás betegek életminőségének javulását eredményezhetné. Hasonló termék, sem Magyarországon, sem a többi EU tagországban egyáltalán nem került még piacra és csak molekuláris biológiai módszerek alkalmazásával hozható létre. Mindezen okokból létrehoztunk egy kísérleti állatmodellt, amelynek tejében fenilalanin mentes tejfehérjét termeltettünk és most folyó kísérleteinkben megpróbáljuk elválasztani a tej egyéb alkotórészeitől.

A SZIE, Állatorvosi Kar, Élettani és Biokémiai Intézetében, *Kacs Kovics Imre* munkacsoportjával együttműködve, a szarvasmarha újszülöttkori IgG kötő FcRn receptor *in vivo* szabályozásának vizsgálatára hoztunk létre kísérleti modellt. A szarvasmarha esetén, a maternális immunitás keretében történő IgG transzport kizárólag a kolosztrum felvételével valósul meg. Már korábban felismerték, hogy a passzív immunitás átadásnak elmaradása esetén növekszik a fertőző betegségek következtében fellépő újszülött kori halálozás. Az anyai immunitás átadásának első lépését, a tőgy kolosztrumba irányuló IgG szekrécióját, már régóta receptor közvetített transzporttal magyarázzák. E transzport folyamatra jellemző, hogy egyfelől a kolosztrumba juttatott immunglobulinok közül is elsősorban az IgG1 fordul elő jelentős mennyiségben illetve, hogy az ellést követő napokban a tej immunglobulin koncentrációja mintegy két nagyságrenddel csökken (1. táblázat). A transzport ellés körüli időzítése és nagyfokú szelektivitása (a vér IgG1 és IgG2 koncentrációja közel azonos) egy specifikus receptor mediált folyamatot feltételez, ami az ellés előtti, illetve az azt közvetlenül követő időszakban jelentős mennyiségű IgG1-et juttat a tőgy *acinus* sejtjein keresztül a kolosztrumba.

A kérődzők tőgy *acinus* sejtjei a különböző élettani fázisokban (főcstej kiválasztás az ellés előtt, illetve azt közvetlenül követően, tej szekréció, szárazon állás) eltérő intenzitással juttatják az IgG molekulákat a vérből a kolosztrumba illetve a laktáció későbbi fázisában, a tejbe.

1. táblázat

A szarvasmarha IgG alosztályok koncentrációja (mg/ml)

	Kolosztrum	Tej(1)	Vér(2)
IgG1	46,40	0,58	11,2
IgG2	2,87	0,05	9,2

Table 1.: Subclass specific distribution of bovine IgG (mg/ml) milk(1), blood(2)

Az epithel sejtekben kifejeződő IgG kötő illetve transzportáló Fc receptornak csak egyetlen típusát ismerjük — az MHC I-típusú Fc receptort (FcRn) — ami több fajban szolgálja az anyai immunanyagok (IgG) átvitelét. *Kacs Kovics Imre* és munkacsoportja (SZIE, AOTK) az elmúlt években klónozták és jellemezték a szarvasmarha és a juh FcRn receptort (*Kacs Kovics és mtsai, 2000*). Vágóhidról származó, szarvasmarha tögymintákon, illetve vemhes anyajuhokból származó, ellést megelőző és azt követő tögy-bioptátumokon *in vivo* kísérletekkel megerősítették, hogy az FcRn részt vesz a koloszttrum IgG tartalmának szabályozásában (*Mayer és mtsai, 2002*). Ezt amerikai kutatók egészen friss adatai is alátámasztják, melyek szerint a tehenek FcRn receptorának alfa lánc haplotípusa kapcsoltságot mutat az újszülött borjaikban mért IgG koncentrációval (*Laegreid és mtsai, 2002*).

Célunk az FcRn receptor alfa lánc génjének mikroinjektálásával transzgenikus egér modell létrehozása volt, amelyben, a haszonállatokhoz képest, elenyésző költséggel és lényegesen rövidebb idő alatt határozható meg a vizsgált fehérje, jelen esetben a szarvasmarha FcRn receptor működését szabályozó faktorok. Távlati célunk az FcRn receptor kifejeződésének szövet-specifikus szabályozása. Ahhoz, hogy az FcRn receptor termelődését szövet és fejlődés specifikus módon befolyásolni tudjuk, a jelenleginél sokkal pontosabban kell jellemeznünk a szabályozásban szerepet játszó specifikus mechanizmusokat. Például már régóta ismert, hogy glükokortikoidok adása jelentősen csökkenti a tögy IgG1 szekrécióját nem vemhes tehenekben, de a szabályozás mechanizmusáról szinte semmit sem tudunk.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Az MBK, Állatbiológiai Intézetében, modern állat-biotechnológiai módszerekkel, nevezetesen transzgenikus technológia és embriótranszfer alkalmazásával olyan egér és nyúl vonalakat hoztunk létre, melyek hagyományos állattenyésztési módszerekkel nem állíthatók elő. A transzgenikus állatok létrehozása során a genetikai manipuláció korai embrionális korban történik meg. Az egysejtes zigótákat kimossuk a donor állatok petevezetőjéből, majd mikroinjekciós eljárással juttatjuk be a transzgént. Ezt követően az embriókat rövid *in vitro* tenyésztés után álvemhes anyákba ültetjük vissza (*Baranyi és mtsai, 1996b; Hiripi és mtsai, 2003*).

Ahhoz, hogy a nyúl κ -kazein rekombináns fehérjét ki tudjuk mutatni transzgenikus állatok tejéből, specifikus ellenanyagot kellett előállítanunk. E célból olyan peptidet terveztünk, amely tartalmazta a κ -kazein egyik mutáns régióját. A peptid egyik végére egy ciszteint terveztünk, amely a későbbiekben szükséges volt az immunogénhez való kapcsoláshoz. A megtervezett peptidet *Patthy András* készítette el (MBK, Analysis-synthesis Centrum). Mivel a peptidek (és a kis méretű molekulák általában) önmagukban nem immunogének, peptidünket, az immunreakció kiváltásához, a láncvégi ciszteinen keresztül, hozzákötöttük egy immunogén hordozó molekulához (Keyhole Limpet Hematocyanin), majd e konjugátummal, patkányokat immunizáltunk.

EREDMÉNYEK

Fenilalanin mentes tejtermék kísérleti fejlesztése

A fenilalanin mentes tejtermék előállítását célzó kísérleteink első szakaszában módosított κ -kazeint termelő transzgenikus nyúl vonalakat állítottunk elő. Az 1080 beültetett embrióból, 83 nyúl született, amelyből PCR analízissel nyolc transzgenikus alapítót azonosítottunk. A transzgenikus utódok közül kettőből (#63 és #82 vonal), tenyésztéssel, nyúltörzset hoztunk létre, és jelenleg a második (G2) nemzedék laktáló nőtényeinek tejét analizáljuk. A peptid immunizálással előállított, magas titerű poliklonális ellenanyag nyúl- κ -kazein specifikus (ti. a nyúl tejfehérje komponensek közül csak a κ -kazeint ismeri fel, de nem alkalmas a mutáns κ -kazein differenciált kimutatására). RT-PCR vizsgálatokkal a transzgenre specifikus mRNS jelenlétét a #63 vonalban nem, csak a #82 vonalhoz tartozó heterozigóta nőtények emlőszövetében tudtuk kimutatni a laktáció eddigi vizsgált szakaszaiban (1. ábra).

1. ábra: Fenilalanin mentes κ -casein mRNS kimutatása transzgenikus nyulak emlőszövetében

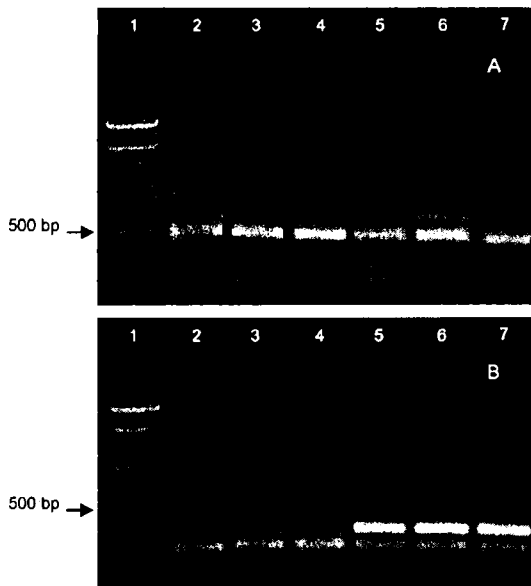


Fig. 1.: RT-PCR analysis of RNA from mammary gland tissue biopsies of WAP- κ -casein transgenic rabbits

A. RT-PCR analysis of endogenous WAP (primers used: rWAPmRNAf and rWAPmRNAr, respectively 5'- ATC CGA CAC CTG CCT GCT GCC -3' and 5'- CAC TGG GGA GTG CTC TC -3')

Lane 1: 1 kb DNA ladder (Gibco), lane 2: nontransgenic rabbit, lane 3: animal #63 with 15 days of lactation, lane 4: animal #63 with 23 days of lactation, lane 5: animal #82 with 13 days of lactation, lane 6: animal #82 with 9 days of lactation, lane 7: animal #82 with 22 days of lactation

B. RT-PCR analysis of WAP-casein mRNA expression (primers used: rWAPmRNAf and Kap-pacasRT, respectively 5'- ATC CGA CAC CTG CCT GCT GCC -3' and 5'- CGC AGG TAG TAG CTG GGT TC -3')

A #63 ill. #82 vonal (a transzgenre heterozigóta) G2 nőtényeinek tejében, a fenti κ -kazein ellenanyaggal végzett fehérje szlot-blot vizsgálattal, a kontrol nőtény tejéhez viszonyítva megnövelt κ -kazein mennyiséget tudunk kimutatni, amely a #82 vonalban az endogénnel megegyező mennyiségűnek bizonyult (2. ábra). Az immunfestés patkányban termeltetett poliklonális, anti-nyúl κ -CN specifikus peptid ellenanyaggal történt. Felülről lefelé: felezős hígítási sor, kezdő hígítás 1:300. A: 63-as vonal. B: 82-es vonal. C: kontroll.

2. ábra: Nyúltej κ -CN tartalmának összehasonlítása transzgenikus (#63, ill. #82 vonal) és kontroll állatok esetében

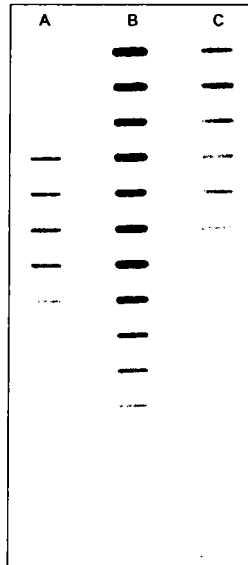


Fig. 2.: Comparison between κ -CN content of the milk of control and transgenic rabbits. Immunostaining with polyclonal anti-rabbit κ -CN peptide antiserum raised in rats from top to bottom: two-fold serial dilutions starting at 1:300. A: line #63. B: line #82. C: control.

A megnövelt κ -kazein mennyiség várakozásainknak megfelelően csökkentette a kazein micellák méretét.

Jelenleg azon dolgozunk, hogy a fenilalanin mentes κ -kazeint elválasszuk a többi tejalkotórésztől. Amennyiben ennek a fejlesztés alatt álló eljárásnak elég jó lesz a hatékonysága, akkor a jövőben azonos elvek alapján transzgenikus szarvasmarhákat is érdemes lesz előállítani, ezen speciális fogyasztói igényeket kielégítő állati fehérje termeltetésére.

A tőgy IgG szekréciójának befolyásolása

A szarvasmarha FcRn receptor esetében, a legfontosabb szabályozó elemekről egyelőre csak korlátozott ismereteink vannak. Az egyik lehetséges megoldás egy transzgenikus modellállat létrehozása, amelyben vélhetően egy teljes, úgynevezett expressziós domén biztosítja a gén integrációs helyét: füg-

getlen, kópiaszám függő kifejeződését. A mesterséges kromoszómák, illetve mesterséges kromoszóma típusú vektorok (YAC, BAC, PAC) alkalmasak nagy méretű genomi fragmentek befogadására, ezért megfelelnek az általunk tervezett transzgenikus kísérlet vektoraként. Mindezek alapján a szarvasmarha FcRn receptor α -lánc teljes kódoló szakaszát tartalmazó 111 kb méretű BAC klón injektálásával, transzgenikus egérvonalakat állítottunk elő.

A BAC DNS-t Nucleobond AX alkáli lízis módszerrel tisztítottuk, és koncentrációját 0,5-1 ng/ μ l-re állítottuk be. A koncentráció ellenőrzéséhez, a szarvasmarha FcRn gént, annak határoló régióival, Not I enzim emésztéssel kivágtuk, majd „pulsed field” gélelektroforézissel (PFGE) izoláltuk az injektálandó fragmentet. A koncentráció megállapítása, a PFGE gél etidium-bromiddal festett szegmensének ismert koncentrációjú markerrel történő összehasonlításán alapult. A 97 kb méretű szarvasmarha genomi kiónt, FVB/N egértörzs megtermékenyített petesejtjeibe injektáltuk.

Az injektált embriókat CD1 recipiens anyákba ültettük vissza. A 840 injektált embrióból 660 került visszaültetésre. A 69 utódból 8-at találtunk transzgenikusnak szarvasmarha FcRn specifikus primer párokkal történő PCR-rel (3. ábra). A transzgenikus alapító egyedekből három transzgenikus törzset hoztunk létre. A #9 transzgenikus törzsbe tartozó, a transzgénre heterozigóta újszülött egyed szerveiből tisztított RNS mintákban, RT-PCR reakcióval, szarvasmarha FcRn alfa lánc specifikus mRNS-t mutattunk ki a vékonybélben és a májban (4. ábra). A továbbiakban, a transzgén kifejeződés részletes szövet- és fejlődés specifikus elemzését követően, a génkifejeződés *in vivo* szabályozásának megismerésével, reményeink szerint, megteremtjük a tögy IgG szekréciójának irányított befolyásolásának a lehetőségét.

3. ábra: Szarvasmarha FcRn receptor α -láncra transzgenikus egerek azonosítása PCR-rel

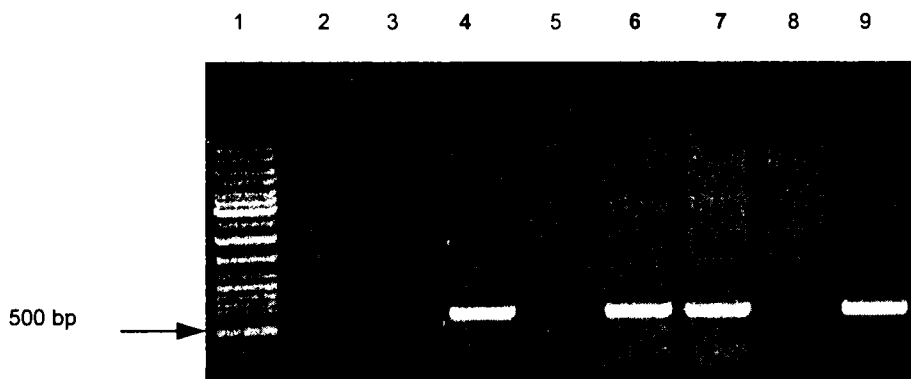


Fig. 3.: PCR identification of bovine FcRn receptor α -chain transgenic mice
 Primers: bFcSuf: 5'-CTC CTT TGT CTT GGG CAC TT-3'; bFcL: 5'-GCC GCG GAT CCC TTC CCT CTG-3'; Expected product size: ~600 bp
 Lane 1: molecular weight marker; lane 2: #4; lane 3: #8; lane 4: #9; lane 5: # 2; lane 6: # 4; lane 7: #19; lane 8: negative control (FVB/N mouse genomic DNA); lane 9: bovine genomic DNA

4. ábra: Szövetspecifikus RT-PCR analízis a szarvasmarha FcRn α -lánc termelődésének vizsgálatára

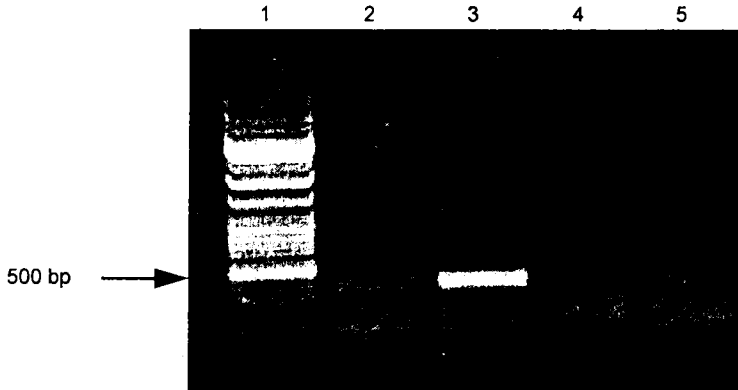


Fig. 4.: Tissue specific RT-PCR analysis of bovine FcRn α -chain expression in transgenic mice
 Primers: B7: 5'-GGC GAC GAG CAC CAC TAC-3'; B8: 5'-GAT TCC CGG AGG TC(AT) CAC A-3';
 Expected cDNA size: ~362 bp
 Lane 1: molecular weight marker; lane 2: #9 small intestine; lane 3: #9 liver; lane 4: control small intestine; lane 5: control liver

KÖVETKEZTETÉSEK

A szarvasmarha-tenyésztés és az összehasonlító genomika eredményei az egyes tejalkotók vizsgálatának új megközelítését tették és teszik egyre inkább lehetővé. Ezzel párhuzamosan technikailag megvalósíthatóvá vált a tejösszetétel célzott megváltoztatása, genetikailag módosított tejtermelő haszonállatok előállítása. A fogyasztókkal történő megismertetés és a gazdaságossági szempontok együttes figyelembe vételével, a hazai alkalmazás fokozatos bevezetését tűztük ki célul. Gyógyhatású, illetve hozzáadott értékű bioaktív fehérjék előállítása transzgenikus háziállatok tejében világszerte is csak 15 éves múltira tekint vissza. Ezen időszakban, mind az EU tagországokban (Nagy-Britannia, Hollandia, Franciaország), mind az USA-ban tökeerős biotechnológiai cégeket alapítottak. Az általuk létrehozott transzgenikus juhok, kecskék és szarvasmarhák tejében termeltetett gyógyhatású fehérjék, pl. a humán alfa1-antitripszin vagy a laktoferrin, már a klinikai kipróbálás III. szakaszában vannak. Transzgenikus szarvasmarhák vészérumából tisztított rekombináns ellenanyagok, *in vitro* kísérletekben, hatásosnak bizonyultak daganatos sejtek elpusztításában (Grosse-Hovels és mtsai, 2004).

Számos ország kutatási-fejlesztési projektjeiben szerepel transzgenikus haszonállatok előállítására speciális élelmiszerek termeltetése céljából. Így például az AgResearch Kutatóközpontban (Hamilton, New-Zealand) olyan transzgenikus szarvasmarhákat állítottak elő, melyek tejében megnövelték a kazein fehérjék mennyiségét (Brophy és mtsai, 2003), továbbá az Illinois egyetemen (USA) egy kutatócsoport, megváltoztatott összetételű tejet termelő transzgenikus sertéseket állított elő az ivadéknevelő képesség fokozása céljára.

ból (*Noble és mtsai*, 2002). Mindezen kutatási projektek is megerősítik, hogy a nemzetközi piac várakozása szerint, hosszabb távon, a fogyasztók nyitottabbakká válhatnak a transzgenikus állatok által termelt élelmiszerek fogyasztására. Amennyiben ezzel ellentétes tendenciák érvényesülnének, akkor a tejszeletétel módosítására alternatív lehetőséget adnak a szabályozó faktorok és mechanizmusok részletes ismeretében kifejlesztett eljárások. Ez irányban tett első lépés, a szarvasmarha IgG kötő FcRn receptor *in vivo* szabályozásának vizsgálatára létrehozott transzgenikus egérmodell, amely alkalmas lehet az *in vitro* kísérletekben hatásosnak bizonyuló faktorok *in vivo* tesztelésére. Ezen kísérletek — eredményüktől függően — egy, a gyakorlatban is alkalmazható eljárás kifejlesztését eredményezhetik, melynek célja az újszülött borjak védettségének fokozása, illetve a tüdőgyulladás megelőzése.

IRODALOM

- Ashwell, M.S. – Heyen, D.W. – Sonstegard, T.S. – Van Tassell, C.P. – Da, Y. – VanRaden, P.M. – Ron, M. – Weller, J.I. – Lewin, H.A.(2004): Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 87. 468–475.
- Baranyi, M. – Aszodi, A. – Devinoy, E. – Fontaine, M-L. – Houdebine, M-L. – Bősze, Zs.(1996b): Cloning of rabbit kappa casein gene and *in vivo* expression in transgenic mice. *Gene*, 174. 27–34.
- Baranyi, M. – Bősze, Zs. – Buchberger, J. – Krause, I.(1992): Tejfehérje genetikai polimorfizmus vizsgálata magyar tarka és magyar szürke szarvasmarhafajtákban. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 41. 427–440.
- Baranyi, M. – Bősze, Zs. – Buchberger, J. – Krause, I.(1996a): Examination of milk protein polymorphisms in different Hungarian cattle breeds. *Arch. Tierz., Dummerdorf*, 39. 489–496.
- Baranyi, M. – Bősze, Zs. – Buchberger, J. – Krause, I.(1997a): Ungarisches Grauvieh. *Unser Land-Arche Nova*, 10. 28–29
- Baranyi, M. – Bősze, Zs. – Buchberger, J. – Krause, I.(1997b): Genetic polymorphism of milk proteins in Hungarian cattle breeds and PCR amplification of beta-lactoglobulin exon 5 to identify genetic variant J by RFLP In: *Milk protein polymorphism (International Dairy Federation, Brussels)* 87–92. ISBN 92090269
- Banykó, G. – Baricza, A. – Javad, ST. – Bősze, Zs.(1999): Identification of kappa-casein allele polymorphism by PCR and RFLP methods in the semen of bulls. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 50. 553–556.
- Bodó, Sz. – Baranyai, B. – Gócza, E. – Dohy, J. – Markkula, M.(2001): Preimplantation genetic diagnosis in cattle: a review. *Acta Vet. Hung.*, 49. 99–109.
- Bodó, Sz. – Gócza, E. – Baranyai, B. – Kobolák, J. – Horváth, G. – Dohy, J.(2000b): A preimplantációs genetikai diagnózis felhasználásának lehetőségei a húsmarhatenyésztésben. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 49. 584–587.
- Bodó, Sz. – Nagy, Sz. – Baranyai, B. – Somfai, T. – Gócza, E. – Kovács, A.(2000a): Spermaminőség jellemzése swim up előtt és után. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 49. 581–583.
- Bovenhuis, H. – Van Arendonk, J.A. – Korver, S.(1992): Associations between milk protein polymorphisms and milk production traits. *J. Dairy Sci.*, 75. 9. 2549–2559.
- Bősze, Zs. – Baranyi, M. – Buchberger, J. – Krause, I.(1993): Milk protein polymorphism in Hungarian cattle. In: *Biology of lactation in farm animals. Livest. Prod. Sci.*, 35. 190.
- Bősze, Zs. – Hiripi, L. – Baranyi, M. – Szabó, L. – Tóth, Sz. – Devinoy, E.(2001): Altering milk quality by transgenesis. In: *Molecular Farming. Eds.: Toutant, J.P. – Balázs, E., INRA, Paris, ISBN. 2-7380-0953-0*

- Brophy, B. – Smolenski, G. – Wheeler, T. – Wells D. – L'Huillier, P. – Laible, G.(2003): Cloned transgenic cattle produce milk with higher levels of beta-casein and kappa-casein. *Nat. Biotechnol.*, 21. 157–62.
- Casas, E.(2002): Identification of quantitative trait loci in beef cattle. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 10. 54–61.
- Cowan, C.M. – Dentine, M.R. – Ax, R.L. – Schuler, L.A.(1989): Restriction fragment length polymorphisms associated with growth hormone and prolactin genes in Holstein bulls: evidence for a novel growth hormone allele. *Anim. Genet.*, 20. 157–65.
- Georges, M. – Nielsen, D. – Mackinnon, M. – Mishra, A. – Okimoto, R. – Pasquino, A.T. – Sargeant, L.S. – Sorensen, A – Steele, M.R. – Zhao, X.(1995): Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139. 907–20.
- Godovac-Zimmermann, J. – Krause, I. – Baranyi, M. – Fischer-Fruhholz, S. – Juszczak, J. – Erhardt, G. – Buchberger, J. – Klostermeyer, H.(1996): Isolation and rapid sequence characterization of two novel bovine beta-lactoglobulins. *J. Protein Chem.*, 15. 743–50.
- Grisart, B. – Coppieters, W. – Farnir, F. – Karim, L. – Ford, C. – Berzi, P. – Cambisano, N. – Mni, M. – Reid, S. – Simon, P. – Spelman, R. – Georges, M. – Snell, R.(2002): Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Res.*, 12. 222–31.
- Grosse-Hovels, L. – Muller, S. – Minoia, R. – Wolf, E. – Zakhartchenko, V. – Wenigerkind, H. – Lassnig, C. – Besenfelder, U. – Muller, M. – Lytton, S.D. – Jung, G. – Brem, G.(2004): Cloned transgenic farm animals produce a bispecific antibody for T cell mediated tumor cell killing. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*. 101. 6858–6863.
- Grosz, M.D. – MacNeil, M.D.(2001): Putative quantitative trait locus affecting birth weight on bovine chromosome 2. *J. Anim. Sci.*, 79. 68–72.
- Heyen, D.W. – Weller, J.I. – Ron, M. – Band, M. – Beever, J.E. – Feldmesser, E. – Da, Y. – Wiggans, G.R. – VanRaden, P.M. – Lewin, H.A.(1999): A genome scan for QTL influencing milk production and health traits in dairy cattle. *Physiol Genom.*, 1. 165–175.
- Hiripi, L. – Makovics, F. – Halter, R. – Baranyi, M. – Paul, D. – Carnwath, J.W. – Bősze, Zs. – Niemann, H.(2003): Expression of human blood clotting factor VIII in the mammary gland of transgenic rabbits. *DNA and Cell Biology*. 22. 41–45.
- Kacskovics, I. – Wu, Z. – Simister, N.E. – Frenyó, L.V. – Hammarström, L.(2000): Cloning and characterization of the bovine MHC class I-like Fc receptor. *J. Immunol.*, 164. 1889–1897.
- Kim, J.J. – Farnir, F. – Savell, J. – Taylor, J.F.(2003): Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. *J. Anim. Sci.*, 81. 1933–1942.
- Kobolák, J. – Baranyai, B. – Dohy, J.(2000): Szintetikus húsmarhafajták alkalmazása a hústermelés növelés érdekében. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 49. 588–592.
- Laegreid, W.W. – Heaton, M.P. – Keen, J.E. – Grosse, W.M. – Chitko-McKown, C.G. – Smith, T.P. – Keele, J.W. – Bennett, G.L. – Besser, T.E.(2002): Association of bovine neonatal Fc receptor alpha-chain gene (FCGRT) haplotypes with serum IgG concentration in newborn calves. *Mamm. Genome.*, 13. 704–710.
- MacNeil, M.D. – Grosz, M.D.(2002): Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford x composite double backcross populations. *J. Anim. Sci.*, 80. 2316–2324.
- Mather, I.H. – Keenan, T.W.(1998): Origin and secretion of milk lipids. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 3. 259–273.
- Mayer, B. – Zolnai, A. – Frenyó, L.V. – Jancsik, V. – Szentirmay, Z. – Hammarström, L. – Kacskovics, I.(2002): Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes and its localization in the small intestine of neonatal lambs. *Immunology.*, 107. 288–296.
- Noble, M.S. – Rodriguez-Zas, S. – Cook, J.B. – Bleck, G.T. – Hurley, W.L. – Wheeler, M.B.(2002): Lactational performance of first-parity transgenic gilts expressing bovine alpha-lactalbumin in their milk. *J. Anim. Sci.*, 80. 1090–1096.
- Somfai, T. – Bodó, S. – Nagy, S. – Papp, A.B. – Ivancsics, J. – Baranyai, B. – Góczy, E. – Kovács, A.(2002): Effect of swim up and percoll treatment on viability and acrosome integrity of frozen-thawed bull spermatozoa. *Repr. Domestic Anim.*, 37. 285–290.
- Vági, J. – Baranyi, M. – Bősze, Zs.(1998): Milk protein haplotypes and their association with milk production traits and fertility in Holstein, Hungarian Red Spotted and crossbred herds. *Proc. 6th Wrl. Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*, V. 23. 463–466.

- Vorbach, C. – Harrison, R. – Capecchi, M.R.*(2003): Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. *Trends Immunol.*, 24. 512–517.
- Zhang, Q. – Boichard, D. – Hoeschele, I. – Ernst, C. – Eggen, A. – Murkve, B. – Pfister-Genskow, M. – Witte, L.A. – Grignola, F.E. – Uimari, P. – Thaller, G. – Bishop, M.D.*(1998): Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics.*, 149. 1959–1973.

Érkezett:

- Szerzők címe:** *Bősze, Zs. – Bender, B. – Baranyi, M. – Harsányi, I. – Catunda, A.P.:*
- Authors' address:** Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Állatbiológiai Intézet
Agricultural Biotechnology Center, Department of Animal Biology
H-2100 Gödöllő, Pf. 170.
- Kacskovics, I.:* Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar
Szent István University, Faculty of Veterinary Science
H-1400 Budapest, Pf. 2.
- Németh, V.:* Naszálytej Tejfeldolgozó és Kereskedelmi Rt.
Naszálytej Co.
H-2600 Vác
- Bartyik, J.:* Enyingi Agrár Rt.
Enyingi Agrár Co.
H-8155 Kiscsérpuszta

A DIREKT GÉNTESZTEK ALKALMAZÁSÁNAK EREDMÉNYEI HAZÁNKBAN

FÉSÜS LÁSZLÓ — ZSOLNAI ATTILA — ANTON ISTVÁN —
HOROGH GERGELY PÉTER — ÁRNYASI MARIANN

ÖSSZEFOGLALÁS

Szerzők szarvasmarha (BLAD, DUMPS, Kappa kazein, BLG), sertés (stresszérzékenység, ESR) és juh fajban (FecB, surlókór) ismertetik az egyes géntesztek alkalmazásával kapott szelekciós eredményeket, illetve a szelekciós alkalmazást megelőző felmérések eredményeit. Adatokkal mutatják be a vizsgálatok eredményességét és tárgyalják a géntesztek alkalmazásának állattenyésztési jelentőségét hazánkban.

*Fésüs, L. – Zsolnai, A. – Anton, I. – Horogh, G.P. – Árnyasi, M.Ms.: RESULTS OF THE DIRECTE
GENETEST APPLICATIONS IN HUNGARY*

The possibilities and ways of the application of several direct gene tests in cattle (BLAD, DUMPS, KCN, BLG), swine (RYR-1, ESR) and sheep (FecB, scrapie) breeding are demonstrated in Hungary. Own data are presented to show the usefulness and importance of these gene test applications from the point of view of the further development of the Hungarian animal breeding industry.

Az elmúlt mintegy húsz év során a haszonállat genomikai kutatások nagyon sok olyan eredményhez vezettek, melyek felhasználásával növelhető az állattenyésztési munka hatékonysága. Az első fázisban a fejlődés túlnyomórészt a strukturális genomika területén volt számottevő, növekedett a géntérképek sűrűsége, egyre több tulajdonság-gén és marker került azonosításra, illetve genomon belüli lokalizálásra. A második fázisban elkezdődött a már azonosított strukturális elemek funkciójának meghatározása és marker szelekciós programokban beindult az ismeretek tenyésztési gyakorlatban történő hasznosítása (marker assisted selection, MAS).

Egyes tulajdonságok esetében sikerült pontosan azonosítani a felelős gént, illetve annak mutációját, ezt követően kidolgozásra kerültek génpróbák, melyek segítségével a genotípusok bármely testszövetből izolált DNS vizsgálatával *in vitro* meghatározhatók. Más tulajdonságok esetében a feltételezett gén és annak genomon belüli pontos helye ma még nem ismeretes, de tudjuk, hogy a gén mely kromoszómán és annak mely szelvényében helyezkedik el. A géntérképek nyújtotta információk alapján a gén, illetve alléljainak öröklődése a közeliükben lévő markerek kimutatásával követhető.

Ilyen markerek az ún. mikroszatellitek (II. típusú markerek). A módszer pontosságát (hatékonyságát), a kérdéses gén és az azt körülvevő markerek közötti távolság függvénye. Bizonyos számú *crossing over* előfordulásával, nagyon kis távolságok esetében, számolhatunk.

A mikroszatellitek, szélesebb körben, az ún. QTL (quantitative trait locus) vizsgálatokban használhatók. Az említett lókuszokon egymáshoz közel helyeződő gének együttesen határozzák meg az egyes kvantitatív (termelési) tulajdonságok alakulását. A QTL-ek genomon belüli pozíciói mikroszatellit markerek segítségével határozhatók meg. A QTL vizsgálatokban nem várható nagyhatású lókuszok azonosítása, a korábbi évek szelekciója során ezeket már megtaláltuk és fixáltuk. Csoportosan jelenlévő mérsékelt hatású gének előfordulása, illetve azonosítása várható, ezzel tovább növelhető a szelekció hatékonysága.

Az eddigi kutatásokban számos QTL-t azonosítottak, elsősorban tejelő szarvasmarha fajtákban és sertésben. Azok a QTL vizsgálati eredmények lesznek gyakorlati értékűek, melyeket több vizsgálatban is kimutattak. Ma még kevés ilyen van.

Az egyes QTL-ek esetében ismerjük azok hatását, de nem tudunk semmit a QTL-nek megfelelő kromoszóma szakaszban található azon génekről, melyek hatására kialakul a kérdéses kvantitatív tulajdonság. A végső cél ezeknek a géneknél (illetve mutációiknál) az azonosítása, majd a génpróbák kifejlesztése.

Hazánkban az elmúlt mintegy 15 év során, a fentebb említett területek mindegyikén indultak kutatások. Előadásunk célja az, hogy áttekintsük azokat az eredményeket, melyek a géntesztek hazai állattenyésztési alkalmazása során születtek, néhány esetben azonban, konkrét alkalmazás hiányában, csak a hazai felmérések eredményeit tudjuk bemutatni.

1992-ben OMFB támogatással molekuláris genetikai laboratóriumot létesítettünk az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézetben (Herceghalom). A laboratórium elsődleges feladata (kutatómunka mellett) marker vizsgálatok végzése a hazai állattenyésztési gyakorlat részére.

Előadásunkban az alább felsorolásra kerülő tulajdonságok vonatkozásában kapott eddigi eredményekről (ÁTK) számolunk be:

Szarvasmarha

- BLAD
- DUMPS
- Kappa kazein
- BLG

Sertés

- Stresszérzékenység
- Ösztrogén receptor gén (ESR)

Juh

- Booroola gén
- Surlókór (scrapie)

Leukocyte adhesion deficiency (BLAD)

A kizárólagosan holstein-fríz fajtában előforduló genetikai ártalom okozója egy autoszomális gén rezesszív mutációja. A homozigóta rezesszív egyedekben immunhiányos állapot alakul ki, ami letális. Az érintett borjak, az egyéves kor elérése előtt, elhullanak, miután folyamatosan betegek és a senyveség tüneteit mutatják. A káros mutáció, az Osborndale Ivanhoe Bell nevű, USA-holstein bikára vezethető vissza.

A mutáció jelenléte, illetve a lehetséges három genotípus génpróbával mutatható ki *in vitro* vizsgálattal. A mutációt hordozó (heterozigóta) egyedek jelölése BL, az egészségeseké TL.

Hazai holstein-fríz állományunk kialakításában néhány Osborndale Ivanhoe Bell leszármazott bika lényeges szerepet játszott (pl. a Carlin-M Ivanhoe Bell és a Penstate Ivanhoe Star), ezért a genetikai ártalom hazai előfordulása feltételezhető volt. A BLAD mutáció a világon szinte mindenhol jelen van, gyors elterjedését számos kiváló örökítő képességű heterozigóta bika széleskörű használata idézte elő.

Vizsgálatainkat 1993-ban indítottuk, és az első felmérésben, a heterozigóta hordozók aránya az alábbiak szerint alakult:

	n	%
Tenyészbikák	145	14,40
Bikanevelő tehenek	594	9,76
Növendék bikák	32	3,20

A kapott eredmények alapján, az illetékes tenyésztő hatóság megrendelésére, a mai napig, 3360 egyed vizsgálatát végeztük el, és ennek eredményeként a hazai holstein-fríz állomány BLAD-mentesnek tekinthető (Fésűs és mtsai, 1997).

Deficiency of Uridine-5-Monophosphate Synthase (DUMPS)

Az enzim termelődését szabályozó gén receszív mutációjára nézve homozigóta egyedekben enzim-hiányos állapot fejlődik ki, ez súlyos fokú anyagcsere károsodást eredményez. A receszív homozigóta állapot letális, az ilyen embriók a vemheség 40. napja körül elhalnak és fölszívódnak. A mutáció nagyarányú előfordulása, egyes állományokba, tömegesen jelentkező visszaivarzásokat eredményezhet.

A mutáció, illetve az azt hordozó egyedek, génpróbával, *in vitro* DNS vizsgálattal azonosíthatók.

A mutáció előfordulása néhány USA-beli holstein-fríz bikára, elsősorban a Happy-Herd Beautician-re vezethető vissza. Az ismert hordozó bikák egyike sem játszott lényeges szerepet hazai állományunkban, ennek ellenére, 1994-ben végeztünk hazai felmérést. 314 tenyészbika, 682 bikanevelő tehén és 155 növendék tenyészbika-jelölt vizsgálata során mindössze két heterozigóta (mutációt hordozó) egyedet találtunk. Az egyik egy importált tenyészbika volt (11083 Sigma Red Willow-Marsh), amely gyenge utódvizsgálati eredménye miatt nem került köztenyésztésbe, a másik egy bikanevelő tehén, amely rövidesen selejtezésre került (*Fésüs és mtsai*, 1999).

Kappa kazein (K-CN) típus meghatározások

A K-CN gén két alléja (A és B) három genotípust (AA, AB és BB) határoz meg. Az egyes genotípusok génpróbával, *in vitro* meghatározhatók.

Számos vizsgálatban kapott eredmény szerint az AA típus nagyobb tejhozammal és tejsír mennyiséggel párosul, a BB típus hatására csökken a tej alvadási ideje és növekszik fehérje-, illetve szárazanyag tartalma.

A két allél az egyes fajtákban nagyon eltérő gyakorisággal fordul elő (*Fésüs és mtsai*, 2000). A holstein-fríz fajtára a B allél alacsony frekvenciája jellemző.

A tenyésztők, a vázolt kutatási eredményeket, esetenként, közvetlenül alkalmazzák a szelekciós programokban. Az ilyen vizsgálatok iránt is mutatkozik hazai igény. Laboratóriumunkban eddig 2414 holstein-fríz egyed vizsgálatát végeztük el, és az egyes genotípusok előfordulása AA 1557, AB 747 és BB 110 volt. Ennek megfelelően, hazai állományunkban, a B alléi gyakorisága 20,03%, ami egyezik más külföldi vizsgálatok eredményeivel.

Béta laktoglobulin (BLG) típus meghatározások

A két BLG allél (A és B) három genotípus (AA, AB és BB) kialakulásáért felelős, melyek *in vitro* génpróbával határozhatók meg.

A BLG AA típus a legtöbb eddig vizsgált fajtában pozitív hatást gyakorol a tejhozamra és a tejfehérje mennyiségre, de kevesebb tejsírtermeléssel párosul. A BB típus egyértelműen nagyobb kazein és tejsír tartalommal jár együtt.

A tenyésztők BLG vizsgálatokkal szemben mutatkozó igénye hazánkban nem számottevő, eddig összesen 94 holstein-fríz fajtájú egyed vizsgálatát kérték. 24 AA, 57 AB és 13 BB típusú állatot találtunk, a B alléi gyakorisága ennek megfelelően 0,4416.

A sertés stresszérzékenysége

A fokozott stresszérzékenység számos modern sertésfajtában jelent problémát, különösen azokban, melyeket vékony hátszalonna és nagyobb színhús mennyiség elérése érdekében hosszú időn át szelektáltak. Ezek a sertések, nélkülözve a zsírtakaró védő hatását, fokozottan érzékenyek a környezeti stresszhatások iránt. Az érzékeny sertések stresszhatásra (mozgatás, szállítás, környezeti hőmérsékletváltozás) fokozottan reagálnak, ami esetenként elhulláshoz is vezethet. A stresszérzékenység fajtánként eltérő gyakorisággal fordul elő és számos pozitív, illetve negatív hatása ismeretes (*Fésüs és mtsai*, 1998).

A sertés stresszérzékenysége öröklődő tulajdonság, kialakulásáért egy rezesszív mutáció (n) felelős. A rezisztens (NN), a hordozó (Nn) és az érzékeny (nn) sertések génpróbával *in vitro* vizsgálattal azonosíthatók.

Mérlegelve a stresszérzékenység pozitív és negatív hatásait és figyelembe véve az adott szelekciós programok céljait, a tenyésztők esetenként maguk döntenek el, hogyan alkalmazzák a stresszgenotípus meghatározások eredményeit. Általánosságban elmondható, hogy anyai oldalon növelik a rezisztenciát, míg apai oldalon nem szelektálnak. A végtermék vágósertések Nn típusúak, azaz stresszrezisztensek lesznek, ugyanakkor esetükben érvényesül az n allél húsmennyiségre gyakorolt pozitív hatása.

Hazánkban, az illetékes tenyésztő szervezetek, 1993-ban, országos méretű felmérést, és szelekciós programot kezdeményeztek, illetve indítottak.

A szelekció elindítása előtt végzett felmérésben, fajtánként, a következő n alléli gyakorisági értékeket kaptuk:

	%
Magyar nagyfehér	8
Magyar lapály	20
Belga lapály	92
Duroc	8
Pietrain	96
Hampshire	0
Mangalica	1
Hibridek	23

A kapott gyakorisági értékek egyeznek a szakirodalomban találhatóakkal, jó alapot biztosítottak a szelekciós programok beindításához.

Az ösztrogén receptor gén (ESR)

Egy, a szopora meishan kínai fajtával keresztezett állományban, brit kutatók kimutatták egy gén (vagy egy QTL) alomnagyságra gyakorolt pozitív hatását az összes született, az élve született és a választott malacok száma tekintetében. Néhány modern sertésfajtában végzett felmérés eredményei szerint hasonló hatás csak nagyfehér állományokban mutatható ki (feltételezik, hogy ez a kínai sertésfajták 16. századi angliai importjának a hatása).

A felelős gén (vagy QTL) markerjeként, az *in vitro* génpróbával vizsgálható ösztrogén receptor (ESR) gént azonosították, amelynek két allél-változata (A és B) három genotípust határoz meg (AA, AB és AB).

Az esetek túlnyomó többségében az alomnagyságra gyakorolt pozitív hatás a BB genotípussal párosul. Esetenként az AA típus pozitív hatása mutatható ki, ez annak bizonyítéka, hogy az ESR genotípusok csak markerként jöhetnek szóba. Irodalmi adatok szerint a pozitív hatás az első elléskor nagyobb, mint a későbbi ellések alkalmával.

Hazai vizsgálatainkat négy magyar nagyfehér és egy magyar nagyfehér x magyar lapály állományban végeztük. A két ESR alléli gyakorisága 226 vizsgált egyedben, A: 55% és B: 45%, volt.

226 első és 622 későbbi ellés adatait dolgoztuk föl. Az első elléskor 4 esetben a BB, egy esetben pedig az AA genotípus pozitív hatását mutattuk ki. Az első elléskor (n=226) a BB típusú kocák esetében, az összes születet malac szám átlagosan 1,28-cal volt nagyobb, mint AA típusú kocák esetén. Élve született malacok esetében a különbség 1,24 malac volt. A későbbi ellések során (n=622) a két mutató értéke 1,15 és 0,97 volt. Egy állományban az AA típusú kocák összes született malac száma 1,53-mal volt nagyobb, mint BB típusú társaiké. Élve született malacok esetén a különbség 1,42 malac volt.

Eredményeink teljes mértékben megfelelnek a korábban közölt külföldi eredményeknek. Az ESR genotípusok, hazai nagyfehér állományainkban, markerként használhatók az alomnagyság növelésére irányuló szelekcióban, de minden tenyészetben előzetes vizsgálatokkal kell tisztázni, hogy a pozitív hatás mely genotípussal párosul.

A booroola gén hatása

Korábban egy ausztráliai merinó állományban azonosítottak egy nagyhatású gént (FecB), amely pozitív hatást gyakorol az alomnagyságra (Fésűs, 1999). Legújabban kifejlesztették a gén pozitív hatású mutáns alléljának kimutatására alkalmas génpróbát, így a marker szelekció lehetőségei nagyban javultak. A módszer adaptálása után felmérést végeztünk a Debreceni Egyetem szapora merinó állományában. 388 minta vizsgálata alapján 182 egyed heterozigóta, 59 pedig homozigóta volt a mutáns alléira nézve.

A módszer birtokában, hazai juhállományainkban is eredményes szelekció végezhető a szaporasági mutatók javítása érdekében.

Surlókór (scrapie)

A surlókór a juhok prion betegsége, Új Zéland és Ausztrália kivételével a világ szinte valamennyi juhtenyésztő országában jelen van, vagy korábban előfordult. Hazánkban, 1964-ben egy alkalommal jelentkezett. A BSE-vel kapcsolatban újabban a surlókór is a figyelem középpontjába került az EU-ban, szelekciós programok indulnak a betegség kiküszöbölésére. A fertőzés, élő állaton jelenleg nem diagnosztizálható, de rendelkezünk egy ún. prion genotípus meghatározó módszerrel, melynek segítségével azonosíthatók a kóros prionfehérje fertőzéssel szemben rezisztens juhok.

A módszert hazánkban is bevezettük, illetve módosítottuk és alkalmazásával hazai juhajtáinkban felmértük az egyes genotípusok előfordulási gyakoriságát, illetve javaslatot dolgoztunk ki a rezisztencia növelését célzó szelekcióra.

KÖVETKEZTETÉSEK

Az elmondottak egyértelműen szemléltetik, hogy a haszonállat genomikai kutatások első eredményei már közvetlenül alkalmazhatók az állattenyésztési gyakorlatban. Elmondhatjuk, hogy nincs messze az az idő, amikor a QTL vizsgálati eredmények alkalmazására is sor kerülhet. A haszonállat genomikai kutatásokkal egyre növekvő mértékben lehetőségünk van bekapcsolódni EU együttműködési projektekbe. Az állattenyésztési szelekciós módszerek a jövőben nagy változásokon fognak átmenni, ebből hazánkknak sem szabad kimagadnia. Jelenleg ilyen jellegű kutatások csak korlátozott lehetőségek mellett folynak, kiemelt támogatás mellett szükség lenne nemzeti szinten koordinált haszonállat genomikai kutatási programra. Ennek hiányában nehezen tudunk csatlakozni EU projektekhez és állattenyésztésünk is hátrányba kerülhet a nemzetközi versenyben.

IRODALOM

- Fésüs, L.*(1999): Molekuláris genetikai markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban. 5. Közlemény: A Booroola gén (FecB). Állattenyésztés és Takarmányozás, 48. 4. 291–300.
- Fésüs, L. – Anton, I. – Zsolnai, A.*(1999): Molekuláris genetikai markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban. 4. Közlemény: DUMPS, Weaver-betegség és citrullinémia előfordulása szarvasmarha állományokban. Állattenyésztés és Takarmányozás, 48. 3. 193–203.
- Fésüs, L. – Komlósi, I. – Varga, L. – Zsolnai, A.*(2000): Molekuláris genetikai módszerek alkalmazása az állattenyésztésben. AGROINFORM Kiadó és Nyomda Kft., Budapest
- Fésüs, L. – Zsolnai, A. – Anton, I.*(1997): Molekuláris genetikai markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban. 2. Közlemény: Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD). Állattenyésztés és Takarmányozás, 46. 6. 481–492.
- Fésüs, L. – Zsolnai, A. – Anton, I.*(1998): Molekuláris genetikai markerek segítségével végzett szelekció háziállatokban. 3. Közlemény: A sertés stresszérzékenysége. Állattenyésztés és Takarmányozás, 47. 2. 113–137.

Érkezett: 2004. június

Szerzők címe: *Fésüs, L. – Zsolnai, A. – Anton, I. – Horogh, G.P.*: Állattenyésztési és

Authors' address: Takarmányozási Kutatóintézet

Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

Árnyasi, M.: Debreceni Egyetem, Agrártudományi Centrum
Debrecen University, Centre for Agricultural Sciences
H-4000 Debrecen, Böszörményi út 138.

ALKALMAZOTT GENOMIKA A BAROMFITENYÉSZTÉSBN

HIDAS ANDRÁS

A madár genom jelentős különbségeket mutat az emlős és humán örökítőanyaghoz képest, mégis az ott használt vizsgáló módszerek eredményesen használhatók. További előnyt jelent a nagy mértékű homológia a humán géntérképpel összehasonlítva, ami a baromfi térképezést is gyorsítja. A QTL vizsgálatok számos nagy hatású lokuszt mutattak ki a hús- és tojástermeléssel összefüggő értékmerők körében, továbbá az ellenálló képességgel és viselkedéssel kapcsolatos paraméterekben. A géntérkép további finomításához és a fontos lokuszok, gének feltáráshoz a mikroszatellit markerek mellett a nukleotid szintű polimorfizmusok feltárása folyik. Másik megközelítésben, a funkcionális genomika eszközeivel, a különböző tulajdonságú genotípusokban mutatott génexpresszió eltérések szűrhetik ki a fontosabb genetikai komponenseket. A genomika korszerű eszközei használatosak a madár ivari fejlődés és meghatározás vizsgálatában csak úgy, mint a génmegőrzés és származásellenőrzés területén.

SUMMARY

Hidas, A.: APPLIED GENOMICS IN POULTRY BREEDING

Avian genome displays considerable differences when compared to mammalian, human genomes. Nevertheless, suitable investigation methodology obtained from the human genome mapping projects. Further advantage is the relatively high homology showed to the human genome map, which helps the mapping efforts. Quantitative trait locus (QTL) studies revealed the role of several important loci in the formation of traits connected to the meat, egg production, resistance and behavior. Higher resolution of genome mapping is under construction utilizing single nucleotide polymorphisms (SNP-s) beside the microsatellite markers. Another approach applies the tools of functional genomics to reveal different gene expression pattern among lines divergent in certain traits. Latest techniques of the genomics contribute also to the investigation of sex determination and development as well as gene conservation and identification of breeds, populations.

A házityúk genom jellegzetességei

A házityúk genom vizsgálatát alapvetően meghatározzák annak jellegzetességei, kariótípusa és DNS szerveződése. A gerincesek között a madarak mutatják a legnagyobb konzervatívizmust a genom méretét tekintve. A sejtmag átlagos DNS tartalma 2,5–3,0 pg. Az átlagos madár haploid genom 2,75x kisebb, mint az emlősöké. A madár kariótípus általános jellemzője a kromoszómák nagy száma és heterogenitása. Egy genom makrokromoszómákra (3–8 mikron) és mikrokromoszómákra (0,3–3 mikron) tagozódik (*Schmid és mtsai, 2000*). A mikrokromoszómák tartalmazzák a genetikai állomány 23%-át, de legalább a gének felét (*Smith és mtsai, 2000*). A rekombináció gyakorisága a makro- és mikrokromoszómákon egy crossovert jelent minden 30 és 12 Mb szakaszon, ami 2–5x kevesebb, mint az emlősöknél (*Rodionov, 1996*).

Összehasonlító genomikai szempontból kb. 80 vagy még több konzerválódott kromoszómaszakasz figyelhető meg a csirke és a humán genom között. Nagyobb a hasonlóság ilyen értelemben, mint az egér és humán genom között (*Burt és mtsai, 1999*). A közvetlen fizikai térképezés a csirkében főleg fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH) történt, amely egyben a mikrokromoszómák azonosítását is lehetővé tette (*Guillier-Gensik és mtsai, 1999*).

Géntérképezés a házityúkban

Eddig 1000 gént azonosítottak 2000 mikroszatellit markerrel együtt a csirke genomban. Az 50 kapcsoltsági csoport 4000 cM-t fed le (*Emara és Kim, 2003*). Ez a felbontású térkép elegendő a QTL vizsgálatok széles körében (*Groenen és mtsai, 1998*).

A csirke genetikai térképe azonban még tartalmaz hézagokat ill. egyes kísérleti populációkban további markerek szükségesek. Ezért SNP markerek (nukleotid szintű polimorfizmusok) azonosítása folyik kiterjedten. Ezek hatékony alkalmazására jó esély van, mivel átlagosan minden 1000 nukleotidra várható 1-1 SNP előfordulás. Génekből fellelhető SNP-k olykor közvetlenül együtt járhatnak fenotípusos hatással. Az *IGF1* egyik SNP allélje erős kapcsolatot mutat a növekedéssel, testösszetétellel és a csontozattal (*Lamont és mtsai, 2004*). A *spot 14* génnek egy 9 bp inszerció-deléciós polimorfizmusa a hasüri zsírral mutat kapcsolatot, míg a növekedési hormon SNP változatai a hasüri és a vágott test zsírtartalmával mutatnak összefüggést (*Aggrey és mtsai, 2004*).

Jelentős eredmények várhatók a humán és csirke genom között megfigyelhető konzerválódott szinténikus csoportokra vonatkozó információktól. Korábban ez esélytelennek látszott, mivel ez elég alacsony szintűnek (6 cM) mutatkozott a humán és az egér genom között is, melyek evolúciós szétválása 60 millió évesre tehető. A használhatósághoz kb. 10–40 cM méretűnek kellene lennie a szinténikus szakaszoknak. Érdekes módon, a humán és csirke genom evolúciós távolsága 300 millió éves, mégis 80 ilyen méretű szinténikus területet mutat ki eddig a két faj örökítőanyagában (*Smith és mtsai, 2002*). Ez nagyban megkönnyítheti a felelős gének azonosítását, amennyiben egy ilyen szinténikus csoporthoz rendelhető a vizsgált QTL.

A teljes csirke genom szekvencia-információja hatékonyan járulhat hozzá a felelős gének, génváltozatok azonosításához a QTL régiókban (*Bulfield, 2004*).

QTL vizsgálatok

A rendelkezésre álló DNS és gén markereket számos értékmérő szegregálódásánál vizsgálták kísérleti keresztezésekből származó hasadó populációknál.

Tulajdonságok, amelyek nehezen javíthatók hagyományos szelekciós módszerekkel, ezért különös jelentősége lehet a QTL-eknek:

- túl komplexek, mint a vágott test összetétele, minősége, a viselkedés és a welfare;

- olyan tulajdonságok, amelyeknek alacsony az örökölhetősége, mint a szaporaság és életképesség

- nehezen mérhető értékmérők, mint a betegségekkel szembeni ellenálló-képesség, vakcinákra adott immunválasz.

Kedvező eredményeket értek el a növekedéssel (*Tatsuda és Fujinaka, 2001a*), a zsirdepóval (*Tatsuda és Fujinaka, 2001b; Ikeobi és mtsai, 2002; Jennen és mtsai, 2004*), a takarmányértékesítéssel (*van Kaam és mtsai, 1999a*), és a vágóérték (*van Kaam és mtsai, 1999b*) alakulásával kapcsolatban. Ezek mellett számos betegséggel szembeni ellenálló-képességre vagy immunológiai paraméterre (*Yonas és mtsai, 2001; Siwek és mtsai, 2003*) is folytak, folynak vizsgálatok. A kokciidiózis rezisztencia genetikai komponenseinek jelentősége a szabadtartás terjedésével növekszik különösen (*Zhu és mtsai, 2003*). A well-fare tulajdonságok közül a tollcsipkedéssel és a stressz tűrőképességei kapcsolatban lehetett befolyásoló lókusztokat kimutatni (*Buitenhuis és mtsai, 2003*).

A folyamatosan aggodalmakat keltő Marek féle betegségnek a leküzdése napjainkban a baromfiipar egyik legnagyobb kihívása. Sokat várnak az ellenálló elit vonalak kitenyésztésétől, elsősorban az ellenálló képesség markerekkel történő kimutatásával ill. az azt meghatározó gének azonosításával. Egyedül a QTL-ek azonosítása azonban nem nyújt elég nagy felbontású megközelítést, ezért kombinálni kell a vizsgálatokat génexpressziós és fehérje interakciós kutatásokkal (*Yonash és mtsai, 1999; Cheng, 2004*).

A QTL vizsgálatokból általánosságban az a kép körvonalazódik, hogy néhány (3–4) közepes hatású QTL adja a megfigyelhető variabilitás 50%-át. Az azonosított QTL-ek alapját jelentik az általuk jelölt meghatározó gének felderítésének. Érdekes módon néhány QTL hatása dominánsnak mutatkozik, és az is, hogy még alacsony örökölhetőségű tulajdonságok esetében is, mint a szaporaság, sikerült QTL-eket azonosítani.

Számos értékmérővel kapcsolatban írtak le ugyan QTL-eket, mégis, a tenyésztésben a markeren alapuló szelekció alkalmazására még igen kevés példa van. Ennek oka az, hogy a baromfitenyésztésben igen rövid a generációs intervallum, ezért, mire egy-egy QTL azonosítása megtörténik, a szelektált állományok sok generációja miatt, markerkészletük jelentősen kicserélődhet, a QTL hatása megváltozhat, eltűnhet. Kereskedelmi célú tenyésztésben eddig csak színre történő szelekcióban tudtak felhasználni molekuláris genetikai eszközöket. Ezek ellenére, a vizsgálatok nem hiábavalóak, hiszen a genomnak ily módon kitüntetett területei bizonyára hordozzák azokat a génváltozatokat, amelyek a megfigyelt hatást gyakorolják a fenotípusos paraméterekre.

Génexpresszió – funkcionális genomika

A kibontakozóban lévő génexpressziós vizsgálatokban különböző szövetek és divergens vonalak összehasonlítása történik több tízezer expresszázó szekvencia (EST) ill. cDNS-eik vizsgálatával. A DNS chipekkel megállapíthatók az eltérő fenotípusokkal, értékmérőkkel kapcsolatos expressziós profilok. Az egyes vonalak között rengeteg különbség van, ezek közül nehéz megtalálni azokat, amelyek az éppen érdekes tulajdonságokkal kapcsolatosak. Ezek körét nagyban leszűkítik a már egy-egy adott kromoszómális régióra lokalizált QTL-ek. Ilyen megközelítéssel tanulmányoznak számos divergens vonalat, mint lassú-gyors növekedés, zsírosság, Marek-ellenállóképesség stb. (Liu és mtsai, 2001; Cogburn és mtsai, 2003). A kutatások remélhetőleg feltárják egyben azokat az anyagcsere útvonalakat is, amelyek az eltérő fenotípusokat előidézik.

Ivar-meghatározás molekuláris genetikai módszerekkel

Az ivar diagnosztizálása szövetekből, korai embriókból, csirakorongból molekuláris biológiai módszerekkel nem csak a szexálás kiterjesztésében hasznos, hanem az ivarok kifejlődésének genetikai alapjainak tanulmányozásához is, ami a madarakban koránt sem teljesen ismert.

Madarakban a nőivar heterogamétás, és hordozza, a csak a nőivarra jellemző, W kromoszómát. A W kromoszómán kiterjedt repetitív szatellit DNS található, ami citológiaiilag is detektálható tömegben. Valójában a W kromoszóma túlnyomó része ilyen szekvenciákból áll ezért a C-sáv festődése a madárfajokban általánosan heterokromatikus jellegű. Ezek a repetitív szekvenciák azonban nem túl konzervatívak. A különböző fajokban egyaránt előforduló szekvenciákat a feltehetően kevés W kromoszóma specifikus gének jelentik. Az egyik ilyen gén, a CHD (chromobox helicase DNA binding protein), előfordul mind a Z, mind a W kromoszómán, de nem egyformák, mivel egy intron mérete jelentősen eltér a gén két típusában (Griffiths és mtsai, 1998). Ugyancsak W kromoszóma specifikus gén a wpkci/ASW (Hori és mtsai, 2000), ill. szekvencia az Xhol repetitív szekvencia, amelyből 14000 kópia van a csirke W kromoszómáján (Kodama és mtsai, 1991).

Random amlifikált DNS polimorfizmusok segítségével (RAPD) viszonylag könnyen lehet W kromoszómán helyeződő szekvenciákat izolálni a genomból (Hidas és mtsai, 2003).

Megfelelő PCR kondíciók kialakíthatók mindegyik szekvencia ill. szekvencia különbség kimutatására. Az Xhol szekvenciák esetén pozitív kontroll is használatos (Clinton és mtsai, 2001).

Az Xhol szekvenciák a tyúkra korlátozódnak, ezért a többi fajban, a génváltozatok azonosítása segít az ivar-meghatározásban.

Az ivar kialakulását tanulmányozásának egyik másik vizsgálati stratégiája, a DDRT-PCR (differential display reverse transcriptase PCR), ami RNS fingerprinteket ad és segít feltárni az ivarokra jellemző gén expressziós mintázatokat (Liang és Pardee, 1992).

Génmegőrzés – származásellenőrzés

A veszélyeztetett, kiszorulóban lévő, lokális őshonos fajták védelme, napjainkban, az intenzív tenyésztés koncentrálódásával egyre nagyobb jelentőségű. Az intenzív fajták kiszorítják a helyi viszonyokhoz adaptálódott, nagy variabilitást és egyedülálló tulajdonságokkal bíró genotípusokat. Ezeknek a fajtáknak a hosszú távon történő fenntartása azonban rendkívül költséges, ezért fontos a valóban megőrzésre érdemes fajták körének megállapítása. A fenotípusos jegyeken kívül meglehetősen nehéz meghatározni egy-egy populációnak a genetikai értékét, azaz milyen mértékben különböznek más genotípusoktól és mennyire tekinthetők egyedinek. A molekuláris genetikai markerek (mikroszatellit, RAPD, SNP) jó lehetőséget nyújtanak az ilyen genetikai összehasonlításokhoz tyúkokban és pulykában egyaránt (Weigend és Romanov, 2001; Korom és mtsai, 2003; Hidas és mtsai, 2004).

Az egyedi markervizsgálatok további értékes információkat nyújthatnak az állományok genetikai variabilitásának, s ezzel beltenyésztettségi szintjének a becslésére, ami a génmegőrzés szempontjából fontos.

Az allélfrekvencia meghatározása történhet becsléssel is. A poolozott DNS mintákon végzett mikroszatellit alapú genotipizálás során, a megjelenő egyes allélek elektroforetikus képe arányosnak tekinthető a populációban mutatott gyakoriságukkal. Így az elektroforetikus görbék alatti terület arányos az allélgyakorisággal, azaz jellemző lehet az állományra (Crooijmans és mtsai, 1996; Hillel és mtsai, 2003), és lehetőséget ad a genetikai távolságok felméréséhez.

Az alkalmazott technika származásellenőrzésre is lehetőséget nyújt, amely két állomány genetikai analizisével kapott eredmények összehasonlításán alapulhat.

IRODALOM

- Aggrey, S. – Carre, W. – Wang, X. – Cogburn, L.(2004): Candidate genes for fatness: spot 14 and growth hormone receptor genes. Proc. XXIIInd Wrld Poult. Congr., Istanbul, Turkey, G5.
- Buitenhuis, A.J. – Rodenburg, T.B. – Van Hierden, Y. – Siwek, M. – Cornelissen, S.J.B. – Nieuwland, M.G.B. – Crooijmans, R.P.M.A. – Groenen, M.A.M. – Koene, P. – Korte, S.M. – Bovenhuis, H. H. - Van Der Pole, J.J.(2003): Mapping quantitative trait loci affecting feather pecking behavior and stress response in laying hens. Poult. Sci., 82. 1215–1222.
- Bulfield, G.(2004): Poultry breeding in the postgenomics era. B. Poult. Sci., 45. 1. 5–8.
- Burt, D.W. – Bruley, C. – Dunn, I.C. – Jones, C.T. – Ramage, A. – Law, A.S. – Morrice, D.R. – Paton, I.R. – Smith, J. – Windsor, D. – Sazanov, A. – Fries, R. – Waddington, D.(1999): The dynamics of chromosome evolution in birds and mammals. Nature, 402. 411–413.
- Cheng, H.(2004): Identifying Marek's disease resistance gene and pathways through integrative genomic approaches. Proc. XXIIInd Wrld Poult. Congr., Istanbul, Turkey, G5.
- Clinton, M. – Haines, L. – Belloir, B. – McBride, D.(2001): Sexing chick embryos: a rapid and simple protocol. Br. Poult. Sci., 42. 134–138.
- Cogburn, L.A. – Wang, X. – Carre, W. – Rejto, L. – Porter, T.E. – Aggrey, S.E. – Simon, J.(2003): Systems-wide chicken DNA microarrays, gene expression profiling, and discovery of functional genes. Poult. Sci., 82. 939–951.
- Crooijmans, R.P.M.A. – Groen, A.F. – van Kampen, A.J.A. – van der Beek, S. – van der Poel, J.J. – Groenen, M.A.M.(1996): Microsatellite polymorphism in commercial broiler and layer lines estimated using pooled blood samples. Poult. Sci., 75. 904–909.

- Emara, M.G. – Kim, H.(2003): Genetic markers and their application in poultry breeding. *Poult. Sci.*, 82. 952–957.
- Griffiths, R. – Double, M.C. – Orr, K. – Dawson, R.J.G.(1998): A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7. 1071–1075.
- Groenen, M.A.M. – Crooijmans, R.P.M.A. – Veenendaal, A. – Cheng, H.H. – Siwek, M. – van der Poel, J.J.(1998): A comprehensive microsatellite linkage map of the chicken genome. *Genomics*, 49. 265–274.
- Guillier-Gensik, Z. – Bernheim, A. – Coullin, P.(1999): Generation of whole-chromosome painting probes specific to each chicken macrochromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.*, 87. 282–285.
- Hidas, A. – Edviné Meleg, E. – Révay, T. – Ósz, K. – Szentés, K.(2003): Tyúk W kromoszóma specifikus DNS fragment izolálása. V. Magyar Genetikai Kongresszus, 51.
- Hidas, A. – Szentés, K. – Edvi, M.E.(2004): Identification of poultry populations detecting DNA polymorphisms (RAPD). *Proc. XXIIInd Wrlld Poult. Congr., Istanbul, Turkey*, G7.
- Hillel, J. – Groenen, M.A.M. – Tixier-Boichard, M. – Korol, A. *Bet al.*(2003): Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genet. Sel. Evol.*, 35. 533–557.
- Hori, T. – Asakawa, S. – Itoh, Y. – Shimizu, N. – Mizuno, S.(2000): Wpkci, encoding an altered form of pkci, is conserved widely on the avian W chromosome and expressed in early female embryos: implication of its role in female sex determination. *Molec. Biol. Cell*, 11. 3645–3660.
- Ikeobi, C.O.N. – Wooliams, J. A. – Morrice, D. R. – Law, A. – Windsor, D. – Burt, D.W. – Hocking, P.M.(2002): Quantitative trait loci affecting fatness in chicken. *Anim. Genet.*, 33. 428–435.
- Jennen, D.G.J. – Vereijken, A.L.J. – Bovenhuis, H. – Crooijmans, R.P.M.A. – Veenendaal, A. – Van Der Poel, J.J. – Groenen, M.A.M.(2004): Detection and localization of quantitative trait loci affecting fatness in broilers. *Poult. Sci.*, 83. 295–301.
- Kodama, H. – Saitoh, H. – Tone, M. – Kuhara, S. – Sakaki, Y. – Mizuno, S.(1991): Nucleotide sequences and unusual electrophoretic behaviour of the W chromosome-specific repeating DNA units of the domestic fowl, *Gallus domesticus*. *Chromosoma*, 96. 18–25.
- Korom, E. – Nagy, T. – Kovács, B. – Komlósi, I. – Mihók, S. – Szabó, Gy. – Varga, L.(2003): Tyúk mikroszatellitiek felhasználása pulyka populáció genetikai jellemzésére. V. Magyar Genetikai Kongresszus, 117.
- Lamont, S. – Zhou, H. – Deeb, N. – Mitchell, A. – Ashwell, C.(2004): Associations of single nucleotide polymorphism in insulin-like growth factor 1 gene with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. *Proc. XXIIInd Wrlld Poult. Congr., Istanbul, Turkey*, G5.
- Liang, P. – Pardee, A.B.(1992): Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Sci.* 257. 967–971.
- Liu, H.C. – Cheng, H.H. – Tirunagaru, V. – Sofer, L. – Burnside, J.(2001): A strategy to identify positional candidate genes conferring Marek's disease resistance by integrating DNA microarrays and genetic mapping. *Anim. Genet.*, 32. 351–359.
- Rodionov, A.V.(1996): Micro versus macro: a review of structure and function of avian micro- and macrochromosomes. *Genetika*, 32. 597–608.
- Schmid, M. – Nanda, I. – Guttenbach, M. – Steinlein, C. *et al.*(2000): First report on chicken genes and chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.*, 90: 169–218.
- Siwek, M. – Buitenhuis, A.J. – Cornelissen, S.J.B. – Nieuwland, M.G.B. *et al.*(2003): Detection of different quantitative trait loci for antibody responses to keyhole limpet hemocyanin and *Micobacterium butyricum* in two unrelated populations of laying hens. *Poult. Sci.*, 82. 1845–1852.
- Smith, J. – Bruley, C.K. – Paton, I.R. – Dunn, I. *et al.*(2000): Differences in gene density on chicken macrochromosomes and microchromosomes. *Anim. Genet.*, 31. 96–103.
- Smith, J. – Paton, I.R. – Murray, F. – Crooijmans, R.P.M.A. – Groenen, M.A.M. – Burt, D.W.(2002): Comparative mapping of human chromosome 19 with the chicken shows conserved synteny and gives insight into chromosomal evolution. *Mammalian Genome*, 13. 310–315.
- Tatsuda, K. – Fujinaka, K.(2001a): Genetic mapping of the QTL affecting body weight in chickens using a F2 family. *Br. Poult. Sci.*, 42. 333–337.
- Tatsuda, K. – Fujinaka, K.(2001b): Genetic mapping of the QTL affecting abdominal fat deposition in chickens. *Jap. Poult. Sci.*, 38. 266–274.
- Tuiskula-Haavisto, M. – Honkatukia, M. – Vilkki, J. – de Konig, D.J. – Schulman, N.F. – Mäki-Tanila, A.(2002): Mapping of quantitative trait loci affecting quality and production traits in egg layers. *Poult. Sci.*, 81. 919–927.
- van Kaam, J.B.C.H.M. – Groenen, M.A.M. – Bovenhuis, H. – Veenendaal, A. – Vereijken, A.L.J. – van Arendonk, J.A.M.(1999a): Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting growth and feed efficiency. *Poult. Sci.*, 78. 1091–1099.

- van Kaam, J.B.C.H.M. – Groenen, M.A.M. – Bovenhuis, H. – Veenendaal, A. – Vereijken, A.L.J. – van Arendonk, J.A.M.*(1999b): Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. *Poult. Sci.*, 78. 1091–1099.
- Vignal, A. – Milan, D. – SanCristobal, M. – Eggen, A.*(2002): A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Gen. Sel. Evol.*, 34. 3. 275–306.
- Weigend, S. – Romanov, M.N.*(2001): Current strategies for the assesment and evaluation of genetic diversity in chicken resources. *Wrld's Poult. Sci. J.*, 57. 3. 275–288.
- Zhou, H. – Mitchell, A.D. – McMurtry, J.P. – Ashwell, C.M. – Lamont, S.J.*(2004): Associations of single nucleotide polymorphism in insuline-like growth factor 1 gene with growth, body composition, skeleton integrity, and metabolic traits in chickens. *Istanbul*
- Zhu, J.J. – Lillehoj, H.S. – Allen P.C. – Van Tassel, C.P. – Sonstegrad, T.S. – Cheng, H.H. – Pollock, D. – Sadjadi, M. – Min, W. – Emara, M.G.*(2003): Mapping quantitative trait loci associated with resistance to coccidiosis and growth. *Poult. Sci.*, 82. 9–16.
- Yonash, N. – Bacon, L.D. – Witter, R.L. – Cheng, H.H.*(1999): High resolution mapping and identification of new quantitative trait loci (QTL) affecting susceptibility to Marek's disease. *Anim. Genet.*, 30. 126–135.
- Yonash, N. – Cheng, H.H. – Hillel, J. – Heller, D.E. – Cahaner A.*(2001): DNA microsatellites linked to quantitative trait loci affecting antibody response and survival rate in meat – type chickens. *Poult. Sci.*, 80. 22–28.

Érkezett: 2004. július
Szerző címe: Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
Author's address: Institut for Small Animal Research
H-2101 Gödöllő, Pf. 417.

A GENETIKAI ÉS MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI KUTATÁSOKBAN REJLŐ LEHETŐSÉGEK ÉS HASZNOSÍTÁSUK A HALGAZDÁLKODÁSBAN

URBÁNYI BÉLA — HORVÁTH ÁKOS — ORBÁN LÁSZLÓ — JENEY ZSIGMOND —
BERCSÉNYI MIKLÓS — MAGYARY ISTVÁN — VÁRADI LÁSZLÓ — HORVÁTH LÁSZLÓ

ÖSSZEFOGLALÁS

A magyar halgenetikai kutatások közel 40, míg a molekuláris genetikai kutatások mintegy 10 éves múlttra tekintenek vissza.

Kijelenthető, hogy ez alatt a fél emberöltönyi idő alatt is számos olyan új eredmény, kísérleti fejlesztés és eljárás került ki a hazai kutatók kezei közül, ami a magyar szakemberek felkészültségét, tudását és leleményességét bizonyítja.

A gynogenezis halakon való alkalmazása, az androgenezis módszerének kidolgozása és kombinálása az ivarsejtmélyhűtéssel, a kimérák előállítás, ivarátfordítás és ivar-meghatározás témakörében sikerült olyan maradandó eredményeket felmutatni, melyek új utat nyitottak a tudományterület fejlődéséhez. Ezen témakörben közölt és publikált eredményeket, kidolgozott módszereket részben vagy egészben a gyakorlati termelés fokozására használták fel és használják a világ számos országában napjainkban is.

SUMMARY

Urbányi, B. – Horváth, Á. – Orbán, L. – Jenei, Zs. – Bercsényi, M. – Magyary, I. – Váradi, L. – Horváth, L.: OPPORTUNITIES IN GENETIC AND MOLECULAR BIOLOGY RESEARCH AND THEIR EXPLOITATION IN FISH CULTURE

Research in fish genetics in Hungary can be dated back for 40 years while research on molecular genetics began only 10 years ago.

During this long period of time several new scientific results, developments and methods were carried out by Hungarian researchers, which demonstrate the preparedness, knowledge and ingenuity of our scientists.

Significant results were achieved in the fields of gynogenesis on fish, such as development of methods for androgenesis and its combination with gamete cryopreservation, production of chimaeras, sex reversal and sex determination. These results highlighted the way for further development of this field of science. Published results were and are used in several countries of the world for the improvement of fish production.

BEVEZETÉS

A gerinceseken belül a halak alkotják a legnépesebb osztályt, huszonnégyezer fajukat ismerjük. Amellett, hogy nélkülözhetetlen tápanyagforrást biztosítanak az emberiségnek, díszhalként, sőt horgászszákmányként is hasznosak, továbbá igen fontosak a biológiai kutatás számára is. Könnyen tanulmányozható embrionális fejlődésük és a gerincesek evolúciós folyamatában elfoglalt fontos pozíciójuk miatt, szívesen tanulmányozott objektumai, sőt kedvelt modellállatai számos tudományterületnek, közöttük a genetikának és a molekuláris biológiának is.

A halakon végzett genetikai tanulmányok napjainkban elsősorban még alapkutatói szintűek, a kapott eredmények alkalmazása a haltenyésztésben (néhány faj kivételével) világszerte gyermekcipőben jár. Míg egyes házasított állatok (pl. szarvasmarha) tenyésztésére jelentős anyagi és szellemi forrásokat fordítottak és tenyésztési rendszerükben a legújabb kutatási eredményeket használják fel — ötvözve — mindezt az új tudományágak (pl. biotechnológia) módszereinek alkalmazásával, addig a halaknál sokszor csak a klasszikus, közel évszázados tapasztalatok alapján folyik a tenyésztői munka.

Ez érthető is, mert a tenyésztett állatok közül a halak tartása áll legközelebb a természetes körülményekhez, és rajtuk érvényesül leginkább a környezet hatása. Miután a halak (a ponty és az aranyhal kivételével) csak néhány évtizede kerültek az intenzív állattenyésztés homlokterébe, a domesztikációs és beltenyésztési hatások még nem jelentkeznek károsító mértékben. A haltenyésztők feladata egyelőre a nevelési/termelési környezet, az olcsó és hatékony takarmányozás kidolgozása, javítása. Ezek alapján ebben a fejezetben csak a halak körében jelentkező genetikai törvényszerűségekre, alkalmazásukra és hasznosításukra, illetve a halgenetikát övező sokféle, egymásnak olykor ellentmondó tapasztalatokra hívjuk fel a figyelmet.

A kutatások szempontjából a halak osztálya kiemelkedő szerepet játszik a gerincesek törzsében. Mint genetikailag egyik legkiforrotlanabb gerinces osztály, sok olyan törvényszerűség vizsgálható rajtuk, amelyek a többi gerincesen azok komplexitása miatt nehezen tanulmányozhatóak. Sokszor olyan módszerek is alkalmazhatók, amelyek a többi gerincesen nehezen, vagy egyáltalán nem hajthatók végre. Ilyenek például a genommanipulációs vizsgálatok és ezen belül a poliploiditás és az abszolút homozigotitás kérdései. A halakon szerzett információk kisebb-nagyobb módosításokkal, akár az emlősökre is érvényesek lehetnek. A halak genetikai célú kutatásokra való alkalmasságát kedvező reprodukív adottságaik csak fokozzák.

Ezt a tendenciát jelzi a zebradánió modellállatként való rohamos elterjedése. A zebradánió a világ sok laboratóriumában elterjedt, szaporítására, felnevelésére, illetve genetikai manipulálására kidolgozott rendszerek léteznek. Röviden jellemezzük a zebradánió néhány, a genetika számára kedvező tulajdonságát:

- ivarérettségét már a harmadik hónapban eléri,
- hasznos élettartama 1,5–2 év,
- a nőstényektől hetente akár 200–300 ikra is nyerhető,
- kifejezett ivari dimorfizmusuk van,

- az embriók fejlődése az anya testén kívül zajlik le, és — az átlátszó ikra-héj miatt — mikroszkópon keresztül minden stádiumában megfigyelhető,
- könnyen tarthatók kis akváriumokban,
- szaporításuk, felnevelésük a kidolgozott technológiák alapján könnyen megoldható,
- rajtuk is alkalmazhatók a halakra kidolgozott, más gerincesre alig hatékony biotechnikai/biotechnológiai technikák (ginogenezis, androgenezis, poliploidia),
- beltenyésztésre alig érzékenyek.

A halak osztályának evolúciós fejlődése még mindig tart; tehát sokszor a megfigyelésekből nem lehet általánosítani, mert előfordulhat ugyan, hogy ezek egyes állományokra és fajokra igaznak bizonyulnak, de más csoportok ettől gyökeresen különbözhetnek. Ilyen kérdések az ivar kialakulása- és öröklődése, a poliploidizációs jelenség; a beltenyésztettségi leromlás okai és károsító hatásai.

A halak örökítőanyagának jellemzése és fejlődése

Az első csontos halak közel 300 millió évvel ezelőtt fejlődtek ki. A feltételezések szerint — és a napjaink „maradvány” halain végzett vizsgálatok is ezt támasztják alá —, az őshalak közel 48 kromoszómával rendelkeztek. A referenciaként minősített lepényhalak (*Pleuronectes sp.*) tökéletesen demonstrálják az ősi állapotot. Az, hogy a magasabb rendű csontoshalaknak általában 50 kromoszómájuk van, manapság teljesen elfogadott állásponttá vált.

Bizonyított, hogy a poliploidizáció fontos szerepet töltött be a növények evolúciójában. Napjainkban egyre inkább terjed az a nézet, hogy a gerinces állatok körében is jelentős szerepet játszott ez a folyamat. Az emlősöknek és a madaraknak, pl. kétszer annyi DNS-ük van, mint a többi gerincesnek. Ez a megfigyelés vezette *Ohno és munkatársait*, amikor feltételezték, hogy a hüllőknél (a madarak és az emlősök őseinél) történt egy ősi és maradandó poliploidizációs jelenség. Tetten érhetők a természet ilyen „törekvései” a halak, a kétéltűek és az alacsonyabb rendű hüllők körében is. Érdekes, és valószínűleg emiatt nem maradt meg a poliploid állapot tartósan, hogy míg egyes poliploid békák és varangyok váltivarúak, addig a szalamandrák és gyíkok néhány faja ginogenezissel szaporodik.

Úgy tűnik, hogy a poliploidia az evolúció során hozzájárult a genetikai változékonyság kialakulásához, hosszútávon — a genetikai terheltség miatt — azonban a természet törekedett az eredeti állapot visszaállítására, a változékonyság megőrzése mellett. Ezt jól érzékeltetik a lazac alkatúaknál (*Salmoniformes*) beállott változások. Az „őslazac” tetraploiddá válása kb. 100 millió évvel ezelőttre tehető, amely érintette a belőle kialakult családokat is. Napjaink marénéi (*Coregonusok*), lazacai (*Salmonidák*), és pérei (*Thymallidák*) a DNS-tartalom és a fehérjéexpresszivitás alapján egyértelműen tetraploidnak minősíthetők. Az emberi mértékkel eltelt hosszú idő alatt (100 millió év) a családok egyes tagjai különböző mértékben, de elvesztették felesleges génjeiket (visszadiploidizálódtak), így e renden belüli fajok kromoszómaszáma az 52-től a 102-ig módosult.

Míg a lazacfélék tetraploidizációja fajon belüli genomduplikációnak (autopoliploidia) tekinthető, addig az Észak-Amerikában rendkívül sikeres halcsalád, a Catostomidák az interspecifikus hibridizáció következtében (allopoliploidok) lettek poliploidok kb. 50 millió évvel ezelőtt.

Míg a fejletlenebb halfajoknál a poliploidizáció, gyakran az egész családra kiterjed, addig a fejlettebb halaknál nemzetségen, sőt akár egy fajon belül is léteznek diploid és poliploid állományok. Ilyenek például a páncélos harcsa (*Corydoras*), a csik (*Misgurnus*), a márna (*Barbus*), a ponty (*Cyprinus*) és a kárász (*Carassius*) nemzetségek egyes tagjai. Míg a hazai *Cyprinus* (*Cyprinus carpio*) és a *Barbus* (*B. barbus* és *B. meridionalis* fajok) nemzetség tagjait csak a tetraploid genetikai szerkezet, addig egyik kárász fajunkat (*C. auratus gibelio*) a diploid és poliploid vegyes állományok jellemzik. Ezek az állományok földrajzilag elkülönülve élnek, vegyes populációk csak az élőhelyek találkozási pontjainál találhatók (pl. Magyarországon).

Összefoglalva, a poliploidizáció kedvező hatással volt egyes halak kialakulására, evolúciós fejlődésére. Ezen állatok, bár szélesebb genetikai alkalmazkodóképességgel rendelkeznek (pl. magasabb anoxia-tolerancia), mégis hasonló ökológia niche-t töltenek be, mint a diploid állományok. Fennmaradási előnyük abban jelentkezik, hogy a genetikai fejlődés során a megnövekedett genetikai állományból az adott élőhelyen a legkedvezőbb gének, allélok maradtak meg, míg a feleslegesek szelektálódtak. A poliploid genetikai túlterhelés azzal küszöbölődött ki, hogy az eredetileg duplikálódott szabályozó gének, az evolúció során alkalmazkodtak a diploid státuszhoz és úgy irányítanak, mintha egy diploid génkészletet kellene, de adott esetben minden egyes génen 2 allél helyett 4 közül választhatnak. Kettő dolgozik, kettő pedig szabadon mutálhat, akár a letális irányban is.

A hazai halgenetikai és molekuláris biológiai kutatások eddigi eredményei

A szarvasi Halászati és Öntözési Kutató Intézetben (HAKI) 1963-ban a hazai tájfajták összegyűjtésével kezdődött meg a ponty nemesítését és fajtajavítását célzó genetikai munka. A génbank azóta több hazai és külföldi fajtaival egészült ki és fenntartásával biztosított a fajta genetikai változatosságát megőrző tenyésztési háttér. Az egyes pontyfajták minőségi és mennyiségi tulajdonságainak és ezek átörökölhetőségének felmérésére, keresztezési kombinációk eredményeinek értékelésére saját és ivadék teljesítményvizsgálati rendszert dolgoztak ki. A hibridizációs munka több magas termelőképességű és speciális célú pontyhibrid előállításához vezetett, melyek közül három állami elismerésben részesült. A HAKI a génbank-fenntartáson túl 1972 és 1994 között több mint 12 000 tenyészegyetet értékesített és adott át a termelő gazdaságoknak, melyek a HAKI keltetőházából kerültek ki a génbanki fajta felújításával.

A külföldi fajta génbankja két nagy származási területre osztható, úgy, mint európai pontyok (cseh, lengyel, orosz, ukrán, stb.), valamint ázsiai pontyok (vietnami, thaiföldi, amuri, stb.). A génbankban megtalálható további 3 vadponty alfaj (vietnami, amuri és a magyarországi vad formák: dunai és tiszai) is.

Az eredeti fajta megőrzése mellett, az elmúlt 40 évben intenzív keresztezési és hibridizációs programot valósított meg az intézet. Nagy teljesítményű hibrideket alakított ki és adott át a termelésnek. A 80-as években a magyaror-

szági pontytermelés 80%-át az ún. szarvasi hibridek adták. Az utóbbi években, a génbank fenntartásában előtérbe került a biológiai és genetikai sokszínűség fenntartása és a génmegőrzési funkció. Ehhez elengedhetetlenül fontos a sokszínű fajták teljes jellemzése. A rendszeres teljesítmény vizsgálatokban sokéves adatsorok állnak rendelkezésre (külső és belső morfológiai paraméterek, úgy, mint testméretek, gerinc csigolyaszám, úszóhólyagok mérete, aránya, garatfogak száma és varsafogak száma). Szintén ismertek az egyes fajták és tájfajták termelési paraméterei, melyeket utóellenőrzésekkel határoztunk meg: növekedőképesség, életképesség, takarmányértékesítő képesség, vágóérték és a hús zsírtartalma. A 80-as évek közepén polimorf fehérjékkel is jellemezték a génbank fajtagazdagságát és 2002-ben befejeződött a génbank minden egyes tenyészállatának egyedi jelölése.

Az elmúlt években, megkezdődött ezen páratlan értékkel bíró élő génbank DNS szintű elemzése és vizsgálata. A ponty génbank több mint 30 tájfajtájától és 3 hibridjétől begyűjtött több mint 3600 úszómintából folytatódott a DNS-szintű polimorfizmus vizsgálata. 2003-ig 3 mikroszatellit lókuszon (MFW4, MFW7, MFW9 és MFW31) és 15 RAPD lókusszal dolgozott a kutatócsoport. 2004-ben további 4 mikroszatellittel (MFW 1, MFW 6, MFW 16 és MFW 28) egészítette ki a vizsgálatokat.

— RAPD: véletlenszerűen sokszorozott DNS polimorfizmus vizsgálata: Vizsgált genotípusok: dunai vadponty, felsősomogyi tükrös ponty, tiszai vadponty, hajdúszoboszlói ponty, palkonyai tükrös ponty, poljánai pikkelyes ponty, szarvasi p3 pikkelyes ponty, amuri pikkelyes ponty, szarvasi 2 tükrös ponty, szarvasi 15 tükrös ponty, vietnámi pikkelyes ponty, fresinet pikkelyes ponty, hortobágyi tükrös ponty, szarvasi piros ponty, szegedi tükrös ponty, thai pikkelyes ponty, hajdúböszörményi ponty, koi, cseh pikkelyes ponty. A genetikai hasonlóságot mutató adatok mutatják, hogy az alkalmazott 15 marker olyan felbontású genotipizálásra adott lehetőséget, hogy állományazonosításra is alkalmas lehet. Kifejezetten vonalspecifikus markerek, fragmentek (melyek kizárólagosan vannak jelen, vagy éppen hiányoznak egy-egy genotípusban) ritkán fordultak elő, csak a koi fajtánál volt megfigyelhető ilyen. A többi genotípus marker kombinációkkal azonosítható. Csak 3 genotípus pár esetében nem lehetett ezzel a módszerrel különbséget kimutatni, de valószínűleg néhány további marker (primer) bevonásával ezek is megkülönböztethetők lehetnek.

— Mikroszatellit DNS markerek: A következő fajtákat vizsgálták: mórchelyi, nagyatádi, szegedi tükrös, fresinet, dunai vadponty, tiszai vadponty, sumonyi, ukrán, vietnámi, szarvasi 15-ös tükrös. Vizsgálatok eredményeként az MFW4-es lókuszon 15, az MFW-7-esen 24, az MFW31-es lókuszon pedig 23 alel detektáltak. A különböző fajták genetikai változatosságát jól jellemzi az allélok átlagos száma. Vizsgálatok alapján jól látható, hogy a vadpontyok átlagos allélszáma jelentősen felülmúlja a tenyésztett tájfajták átlagos allélszámát. Mivel a várt heterozigotitás (He) minden fajta esetében meghaladta a megfigyelt heterozigotitás értékeit, arra a következtetésre jutottak, hogy tenyésztett fajtáink a beltenyésztettség enyhe jeleit mutatják.

A 70-es évek végén egy négyéves pontynemesítési programot indítottak az ELTE (Göd), a HAKI (Szarvas) és a TEHAG (Százhalombatta) kutatói a ginogenezis és az ivarátfordítás módszereinek kombinálásával. Céljuk az erősen beltenyésztett pontyvonalak létrehozása, a heterozisizhatást biztosan és

ismételhetően kiváltó keresztezések kialakítása volt. Munkájukat megnehezítette, hogy a genommanipulációs technikákat csak néhány éve írták le először halakon. Kutatásaik során — ebben a korai időszakban — a lejátszódó folyamatok biológiai és genetikai hátterét kellett először feltárni, majd ezek ismeretében nyílhatott lehetőség gyakorlati alkalmazásukra. Miközben ezeket az alapokat kutatták újabb és újabb kérdések, lehetőségek merültek fel. Vizsgálataik még napjainkban is példaértékűek, főként a heterozigóitás szintjének és a rekombinációs gyakoriság megállapítására vonatkozó számításai. Munkájuk során több generáción keresztül alkalmazták a ginogenezis és az ivarátfordítás rendszerét, folyamatosan mérve közben az utódokban bekövetkezett fiziológia és genetikai változásokat. Vizsgálataik egyik fő eredményeként kialakították az ún. G-S (ginogenezis-ivarátfordítás) rendszert, amely segítségével a homozigóitás szintjének fokozását a maximumig lehetett növelni, a beltenyésztési leromlás hatásainak károsító megjelenése nélkül. Megállapították továbbá, hogy egy ginogenetikus generáció beltenyésztettsége 12 testvér-testvér párosításnak felel meg. A rekombinációs gyakorisági mérésekre más kutatócsoportokkal megegyezően feltűnően magas értéket, átlagosan 35,4%-ot kaptak. Eredményeik alapján tehát megállapítható, hogy a halakban (kifejezetten a ponty esetében) minden harmadik génben megtörténik a crossing over az ivari osztódások során. Ez azt jelenti, hogy az állomány szintű teljes homozigóitást még a G-S rendszerrel is csak generációk hosszú sora után lehet megközelíteni. Vizsgálataik jelentősen hozzájárultak a beltenyésztés genetikai alapjainak megértéséhez, a pontynemesítési irányvonalak kitűzéséhez és a keresztezésekkel kiváltható heterozis hatás optimális alkalmazásához.

A Szent István Egyetem Halgazdálkodási Tanszékén folyó kutatások többek között a halgaméták és embriók mélyhűthetőségének vizsgálatára irányulnak. Az interspecifikus androgenézis eddig egyetlen sikeres példája a Tanszék-TEHAG-Kaposvári Egyetem és MBK együttműködési munkájához fűződik, amikor besugárzott pontyikrát termékenyítettek aranyhal spermájával. Tógazdasági nemesponty ikráját sugározták be gamma-sugárzással (25 kRad), amely az ikra genomjának inaktivációjához vezetett. A termékenyítést friss, vagy mélyhűtött aranyhal spermával végezték. A termékenyített ikrát 21 °C-on inkubálták az első mitotikus osztódás időpontjáig, amely 40 perccel a termékenyítés után következett be. Ekkor 40 °C-os hősokkal blokkolva az osztódást, helyreállították a zigóta diploid állapotát. A folyamat technológiai részletei megfeleltek a keltetőházban egyébként alkalmazott módszereknek. A lárvák fejlődését az egy hetes kortól hat hónapos korig figyelték. Az androgenetikus kezelési csoportokban 17 és 28% között volt a kelő lárvák aránya. Ezek egyértelműen az aranyhal apa fenotípusos jegyeit mutatták, míg a besugározatlan pontyikra aranyhal spermával történő termékenyítéséből kikelő kontroll egyedek vadas színű hibridek voltak. Az utódok kizárólagos apai eredetét DNS (RAPD) vizsgálattal is bizonyították a kutatók. Az androgenézis hasznosítási lehetőségei elméletileg nagyon széles körűek. Az androgenetikus egyedek minden génjükre nézve homozigóták lesznek, ami az F2 generációban 100%-os beltenyésztettséget eredményezhet a populáción belül. Ezzel több tíz generációnyi beltenyésztés és szelekció rövidíthető meg. Az androgenézis a spermamélyhűtés kombinálásával alkalmas lehet védett fajok, fajták helyreállítására, értékes változatok megőrzésére.

További kutatásaik halkimérák létrehozását célozzák pluripotens embrionális sejtek injektálásával. Interspecifikus hibridek előállítására és citogenetikai feltérképezésére irányuló vizsgálataikat a gödöllői Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutató Intézettel közösen végzik.

A mitotikus ginogenezis, vagyis az első mitotikus osztódás genomduplikációs gátlása, illetve ennek gyakorlati hasznosítása is a SZIE Halgazdálkodási Tanszék kutatásaihoz fűződik. Sikeresen állítottak elő tetraploid afrikai harcsákat, és interspecifikus sperma (rózsás díszmárna — *Barbus conchoni*) használatával mitotikusan ginogenetikusan egyedeket. Ezen utóbbi állatok minden génjükre homozigóták voltak. A tetraploidok alkalmasak lehetnek „üzemi méretű” steril triploidok előállítására, illetve diploid spermájuk hordozza egy embrió kifejlődéséhez szükséges genetikai információtartalmat. Így, ezen spermák mélyhűtéses tartósítása szinte egy embrió mélyhűtésének felel meg. Az abszolút homozigóta egyedek segítségével már a második generációban kialakíthatók 100%-os homozigótizálás állományok.

A genetikai és molekuláris biológiai eljárások lehetséges további hasznosítási módjai

Halfajok és hibridjeik azonosítása: A halfajok azonosításának problémája elsősorban a természetes vizek halászatában jelentkezik. Számos olyan családot (rendet) ismerünk a halak között, melynek fajai morfológiai bélyégek alapján igen nehezen különíthetők el egymástól az egyedfejlődés első néhány hónapja során (néha kifejlett egyedek esetében is). Amennyiben ezek a fajok életképes és szaporodásra képes hibrideket is képeznek, a külső tulajdonságok analizálásával az egyedek eredete legfeljebb becsülhető, pontosan azonban nem határozható meg. Jellemző példa egy ilyen szituációra a pettyes busa (*Aristichthys nobilis*) és a fehér busa (*Hypophthalmichthys molitrix*), melyek életképes, sőt szaporodásra is képes hibridet hoznak létre.

Halpopulációk genetikai gazdagságának analízise: A tenyésztésben kulcsfontosságú a populáció genetikai gazdagságának fenntartása, mert annak csökkenése kedvezőtlenül befolyásolhatja a mindenkori utódok átlagos rátermettségét (fitnessét). A genetikai gazdagság alatt nemcsak a populációban előforduló genotípusok megfelelően magas számát, hanem azok megfelelő arányát és a szaporodásban való arányos részvételét is értjük. A genetikai gazdagság drasztikus csökkenéséhez vezethet, 1.) a tenyészállomány kis létszáma; 2.) ha a szaporítást nem páronkénti keresztezéssel, hanem csoportos ivattással végzik; 3.) ha a tenyészállomány ivararánya nem megfelelő. A fenti okok vagy azok kombinációja azt eredményezheti, hogy az utódok állományát alkotó családok száma jelentősen lecsökken, azaz kisebb lesz az állomány genetikai gazdagsága. A tenyésztőkre két oldalról nehezedik nyomás: az egyedszám csökkentése, illetve a technológia leegyszerűsítése költségkímélő lehet, ugyanakkor a genetikai gazdagság megfelelő mértékétől erősen függ a jövő állományainak termelési értéke.

A hetvenes évek végéig az izoenzimek voltak a genetikai változékonyság becsülésére használható egyedüli eszközök, a DNS markerek megjelenése óta azonban erre a célra számos eljárás áll rendelkezésre.

Telepítést előkészítő analízis: betelepítés idegen faj bevezetését jelenti egy adott ökoszisztémába, míg visszatelepítésnek egy adott vízterületről korábban kipusztult halfaj állományainak visszajuttatását nevezzük. A kitelepítés (halasítás) mesterséges körülmények között, gazdaságokban előnevelt egyedek — többnyire ivadékok — kijuttatását jelenti más vizekbe. A telepítéseket megelőző vizsgálatok molekuláris eszközei megegyeznek a populációk genetikai gazdagságának becslésére használt módszerekkel. A legalkalmasabbak erre a célra is a nagyfokú variabilitást mutató mikroszatellit markerek.

Származásellenőrzés és szelekció: A haltenyésztés egyik legfontosabb problémája az, hogyan derítsék fel, illetve tartsák nyilván a szülő-utód kapcsolatokat tömeges és csoportos ivatás esetén. Azoknál a fajoknál, ahol mindkét ivartermék fejéssel kinyerhető (pl. ponty, növényevő fajok) célzott keresztezések végezhetőek el. Az egyes szülőpároktól származó utódokat a kezdeti időszakban családonként külön nevelve, majd később az egyedeket jelölve a családi kapcsolatok azonosíthatók maradnak.

A csoportos ivatással szaporított fajoknál igen jó szolgálatot tehetnek a mikroszatellitokkal elvégzett felmérések, melyek kiválóan alkalmasak a szülő-utód kapcsolatok igazolására.

Genommanipulációs és hormonkezeléses kísérletek sikerességének ellenőrzése: Több évtizede ismert tény, hogy halaknál az egyik szülői genom kizárásával, és a másik szülőből származó kromoszómakészlet megduplázásával életképes, sőt szaporodásra képes egyedek hozhatók létre. Az eljárás meglehetősen empirikus, előkísérletek hosszú sorára van szükség azon körülmények beállításához, melyeknél a csak az egyik szülő kromoszómáit tartalmazó egyedek aránya a legmagasabb. A nem kívánt szülői kromoszómakészletet is tartalmazó egyedek kiszűrésére a közelmúltig olyan fenotípusos, esetleg fehérjemarkereket alkalmaztak, melyek segítségével a kezelésen átcsúszó életképes ivarsejtekből született egyedek könnyen kiválaszthatóak voltak. (Gynogenezis esetén az apát, míg androgenezisnél az anyát úgy választották meg, hogy a testszínét, pikkelyezettségét meghatározó allélek dominánsak legyenek a másik szülő megfelelő alléljeivel szemben.) A problémát sok esetben az jelentette, hogy ezek a fenotípusos markerek csak az egyedfejlődés későbbi fázisaiban voltak kimutathatóak.

A DNS markerek megjelenése kiterjesztette az erre a célra felhasználható eszközök arzenálját, és drasztikusan lecsökkentette az ellenőrzés megkezdéséig eltelt időtartamot is. Segítségükkel akár néhány napos egyedek is analizálhatók, a gyno- vagy androgenetikus egyedek aránya könnyen megállapítható. Mindössze néhány olyan markerre van szükség, melyek segítségével az apából és anyából származó kromoszómákat tartalmazó genomok elkülöníthetők. Erre a célra a genomot egyszerre több ponton vizsgáló eljárások, mint pl. az AFLP, a RAPD vagy éppen a DNS ujjlenyomat, alkalmasabbak, mint a specifikus mikroszatellitok. Ezekkel a módszerekkel, a sugárzással feldarabolt kromoszómadarabok nem kívánt átjutásának kimutatására is sokkal nagyobb az esély, mint a fenotípusos markerekkel. A mitokondriális markerek anyai öröklődésük miatt nem igazán jól használhatóak erre a célra.

Ivarhoz kötött DNS markerek, molekuláris szexálás: Az ivar különös fontossággal bír a tenyésztésben, hiszen alapját képezi a szaporodásnak, ezáltal meghatározza a következő generáció(k) létét. Emellett a halaknak több olyan tulajdonsága is van, amelyek miatt tenyésztésükben a két nem eltérései igen lényegesek. Több faj esetében megfigyelhető például, hogy az egyik nem egyedei egyedfejlődésük egyes szakaszai során erőteljesebben növekednek a másik nem képviselőinél (ennek oka az ivari érés folyamatának különböző időben történő aktiválódása és eltérő menete). Csak az egyik ivarhoz tartozó egyedeket tartalmazó (ún. monosex) ill. steril állományok kialakításával ezen tulajdonságok kiaknázhatók.

Az ivari dimorfizmust mutató bélyegekkel történő ivar-meghatározás nagy hátránya, hogy általában csak az egyedfejlődés későbbi szakaszaiban alkalmazható. A halak esetében a fajok 90%-ánál még a más gerinces fajknál oly sikeres kariotipizálás sem alkalmazható, mert nem rendelkeznek morfológiai alapon vagy akár sávózással jól elkülöníthető ivari kromoszómákkal.

Ivarhoz kötött DNS markerek izolálását minél közelebbi rokonságban lévő, ivarérett egyedekből izolált DNS minták nemek szerint csoportosított keverékével (DNS poolok) végzik. A közeli rokonság és a keverék alkalmazása egyaránt azt a célt szolgálja, hogy az egyedi különbségek hatását minél jobban csökkentésük.

A géntérképezés, mint a gyakorlathoz közvetve kapcsolódó fontos alkalmazás: A géntérképezés a genom lehetőség szerint minél sűrűbb és egyenletesebb telítését jelenti molekuláris jelzőoszlopokkal, azaz polimorf DNS és fehérjemarkerekkel. Egy megfelelő részletességű géntérkép segítségével a gazdasági szempontból fontos tulajdonságokat kódoló gének azonosíthatók, az így szerzett információk szerepe döntő fontosságú lesz a jövő állattenyésztésében, így akvakultúrájában is.

A géntérképezés optimális markerei a mikroszatellitiek lennének, de egy ilyen munkához több ezer markerre van szükség. A markerek izolálásának a költségei azonban meglehetősen nagyok, ezért a halak (és más haszonállatok, sőt növények) géntérképei, az egyre jobban elterjedő mikroszatellitiek mellett, más típusú, olcsóbb markereket is tartalmaznak.

KÖVETKEZTETÉS

A magyar halgenetikai és molekuláris biológiai kutatások dicső múltra tekintenek vissza. Számos eljárás kidolgozása és alkalmazása magyar kutatók tudását és leleményességét bizonyítja. Néhány évtizeddel ezelőtt még utópisztikus gondolatnak számított a gerinces állatokon végzett genetikai és molekuláris biológiai kutatás révén nyert gazdasági előnyök fontolgatása. Mára mindez olyannyira valósággá vált, hogy jó néhány országban nem csak elméleti kutatást végző laboratóriumokban, hanem gyakorlati alkalmazás lehetőségét vizsgáló cégeknél is igen komoly munka folyik ezen a területen. A világ számos országában használják és adaptálják azon módszereket, melyek a hazai kutató műhelyekben láttak először napvilágot.

A korábban virágzó és több kutatóintézetben, egyetemen és kutató gazdaságban folytatott kísérleti munka, napjainkra néhány egyetem és az ágazati kutatóintézet munkatársainak tevékenységére szűkült, melynek elsősorban pénzügyi okai vannak és voltak. Ez az adott tudományterületen dolgozók számára kicsit érthetetlen, mivel a nemzetközi trend mutatja, hogy a genetikai és molekuláris biológia hasznosításának gyakorlati igénye, egyre nagyobb mértékben jelentkezik, és óriási pénzeszközöket mozgat meg.

Érdemes lenne tehát megfontolni egy olyan nemzeti állattenyésztési-haltenyésztési program életre hívását, mely ezeket a feladatokat koordinálná, és összehangolná a kutatók és a gazdaságok együttműködését. Ezzel biztosítaná a kutatás folyamatosságát és átsegítené a termelőket az új eljárásokra való átállással óhatatlanul együtt járó kezdeti nehézségeken. A növénytermesztők által elért eredmények arra utalnak, hogy érdemes erre a célra áldozni, igen jók az esélyek arra, hogy a befektetések már középtávon megtérüljenek.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetet mondanak *Lehoczky István*, *Kovács Balázs*, *Miskolczi Edit* és *Hegyí Árpád* doktoranduszoknak, akik anyagaikkal segítették a kézirat elkészítését.

- Érkezett:** 2004. augusztus
- Szerzők címe:** *Urbányi, B. – Horváth, Á. – Váradi, L. – Horváth, L.: Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar*
- Authors' address:** SZIE, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences
H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.
- Orbán, L.: Temasek Lifesciences Laboratory, Reproductive Genomics, Research Link, The NUS, Singapore 117 604*
- Jeney, Zs.: Halászati és Öntözési Kutatóintézet*
Research Institute for Fisheries, Aquaculture and Irrigation
H-5541 Szarvas, Pf. 47.
- Bercsényi, M.: Veszprémi Egyetem, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, Veszprém University, Georgikon Faculty of Agriculture*
H-8360 Keszthely, Pf. 71.
- Magyary, I.: Kaposvári Egyetem, Állattenyésztési Kar, University of Kaposvár, Faculty of Animal Breeding*
H-7401 Kaposvár, Pf. 16.

EAAP 56. TUDOMÁNYOS ÜLÉSSZAKÁNAK PROGRAMJA UPPSALA (SWEDEN), 2005.

Session 1	Session 2	Session 3
<p>Implications of EU Restructuring and Free Trade on Feed Quality and Safety, Disease and Food Quality and Safety</p> <p>Quality Assurance System to Ensure Compliance.</p> <p>(M+N+L+P+S+C-OIE)</p>	<p>Adaptation of Livestock Farming Systems to EU Reform and Restructuring</p> <p>(L)</p>	<p>Specialised Ruminant Products to Sustain Systems and Genetic Resources</p> <p>(S*, C, N, L)</p>
<p>Functional Genomics of Reproduction and Disease Resistance</p> <p>(G* + Ph)</p>	<p>Functional Traits in Cattle</p> <p>(C* + G - Interbull)</p>	<p>Genetics of Variability (G)</p> <p>Free Communications (G)</p>
<p>Systems of Identification in Horses</p> <p>(H)</p>	<p>Feed Evaluation Systems for Ruminants and Horses</p> <p>(N* + C + S + H)</p>	<p>Physiology of Stress and Reproduction</p> <p>(Ph)</p>
	<p>Animal Health and Welfare: Costs and Benefits</p> <p>(M)</p> <p>Free communications</p> <p>(M)</p>	<p>High Health Pig Systems</p> <p>(P*, M)</p>
	<p>Robust Pigs</p> <p>(P)</p>	<p>Swedish Horse Production</p> <p>(H)</p>
	<p>Developments in Quantitative Genetics</p> <p>(G)</p>	
	<p>Physiology of Pregnancy</p> <p>(Ph)</p>	

**EAAP 56. TUDOMÁNYOS ÜLÉSSZAKÁNAK PROGRAMJA
UPPSALA (SWEDEN), 2005.**

Session 4	Session 5	Session 6
Business Meetings/ Free Communications All Commissions	Alternative Low Input/ Organic Production Methods (C*, S, L, M, P)	Nutrition and Management Strategies to Improve Resource Use in Livestock Systems (N*, P, L)
Equine Science Education (H)	Breeding Programmes for a Wide Range of Systems (G)	Reproduction in Horses (H*, Ph)
Free Communications (H)		
	Coping with New Regulation: Alternatives to Antibiotic Growth Promoters and Castration (P*, N, Ph)	Increased Understanding of Regulations: Impact for Genetic Theory and Application (G)
	Performance and Health in Young Horses (H*, M)	Progress Towards Reduction of Disease in Sheep and Goats (S)
		Use of Recorded Information to Manage Health (M* + 2ECPLF)

(*) Denotes Organising Commission

G: Commission of Animal Genetics

N: Commission of Animal Nutrition

Ph: Commission of Animal Physiology

M: Commission of Management and Health

C: Commission of Cattle Production

H: Commission of Horse Production

P: Commission of Pig Production

S: Commission of Sheep and Goat Production

L: Commission of Livestock Farming Systems

OIE: World Organisation for Animal Health

2ECPLF: 2nd European Conference on Precision Livestock Farming

Bold: Session contributing to the theme of the 56th Annual Meeting: "Impact and Challenges for Animal Production and Research of Widening Europe".

AZ EURÓPAI ÁLLATTENYÉSZTŐK SZÖVETSÉGÉNEK (EAAP) 56. TUDOMÁNYOS ÜLÉSSZAKA

2005. június 5–8. Uppsala (Svédország)

Az EAAP következő tudományos ülészakát és közgyűlését Uppsalában (Svédországban) **2005. június 5–8.(!)** között tartja. A programról és a jelentkezési feltételekről bővebb tájékoztatást az AgroEurope Kft-től (Bányai Júlianna, Tel.: +36 28 432 987) vagy közvetlenül a rendezőktől (Scientific Secretariat Kerstin Johansson, Swedish Dairy Association, P.O. Box 1146 SE-631 80 Eskilstuna, Sweden, Tel.: +46 16 16 34 59, Fax: +46 16 212 16,

E-mail: kerstin.johansson@svenskmjolk.se, vagy Congress Secretariat: Academic Conferences, P.O. Box 7059 SE-750 07 Uppsala, Sweden, Tel.: +46 18 67 20 84, Fax: +46 18 67 35 30, E-mail: EAAP2005@slu.se, Web: www-conference.slu.se/EAAP2005 lehet kérni.

A költségekre vonatkozó tájékoztatást közvetlenül a szervezőktől lehet kérni.

Az előadások címét és rövid összefoglalóját angol nyelven **2005. január 31-ig**, digitális formában (E-mail: eaap2004@WageningenAcademic.com/eaap) kell megküldeni.

A tárgyalásra kerülő témák összefoglaló táblázata lapunk 500–501. oldalán található.

Szatelit szimpóziumok:

Május 30. – június 1.	Theory and Practice of International Genetic Evaluation
Június 2–4.	Methods for Studying Udder Function and Milk Composition
Június 2.	European Forum of Farm Animal Breeders
Június 2.	Breeding Programmes for Conservation of Animal Genetic Resources in different Environments
Június 4.	Writing and Presenting Scientific Papers
Június 4.	Animal Health and Management before Loading and after Transport
Június 4.	Status and Perspectives of Beef Production in Europe
Június 4.	Bioethics in Animal Teaching
Június 9.	On Farm Analysis – Technology and Applications in Precision Livestock Farming
Június 9-16.	Genes and Environment

Fiatalkutatók (38 éves korig) részére, a szokásos ösztöndíj **2004. december 15-ig** pályázható meg.

ÚTMUTATÓ A KÉZIRATOK ELKÉSZÍTÉSÉHEZ

Az Állattenyésztés és Takarmányozás kéthavonta megjelenő tudományos folyóirat, foglalkozik az állattermék-előállítás valamennyi ágával, beleértve az összes állatfajt, azok tenyésztését, tartását, takarmányozását és az életfolyamatokkal kapcsolatos minden kérdéskört. Közül elsősorban eredeti tudományos közleményeket, de egyes esetekben a tárgykörhöz tartozó szakirodalmi áttekintéseket és szükség szerint időszerű termeléspolitikai koncepciókat, szemle cikkeket. Tájékoztató céllal ismertet disszertációkat, beszámolókat tudományos rendezvényekről, összefoglalókat az egyetemek és a kutatóintézetek kiadványaiból. A cikkeket magyar vagy angol nyelven, az összefoglalókat, a táblázatokat és az ábraszövegeket mindkét nyelven közli.

A kéziratokat három példányban, nem szerkesztett változatban, írógéppel, vagy nyomtatóval jól olvashatóan leírva kell a szerkesztőség címére megküldeni. A beérkezett kéziratokat a szerkesztőség (anonim) lektoráltatja, és amennyiben szükséges (ugyan csak anonim) visszaküldi a szerző(k)nek a végleges változat elkészítése érdekében.

Az elfogadott közlemények végső változatát elektronikus verzióban (3,5 HD/DD floppy vagy e-mail) és két kinyomtatott példányban kell a szerkesztőség címére beküldeni. A közlés költségmentes, az első szerző 50 különlenyomatot kap.

Felvilágosítás a közléssel kapcsolatban, a szerkesztőségben:

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, 2053 Herceghalom, Gesztenyés út. 1., Tel.: 23-319-133/225; FAX: 23-319-133/120; E-mail: jgundel@atk.hu vagy szerk@atk.hu

Az útmutató teljes szövege az Állattenyésztés és Takarmányozás, 2000. 49. 2. 189–192. számában olvasható, illetve az Internetről letölthető:

<http://www.atk.hu/magyar/MagyHaszUt.htm>

GUIDE FOR AUTHORS

The Hungarian Journal of Animal Production is a bimonthly scientific journal dealing with all of the branches of animal production, including all of the species, their breeding, keeping and feeding, and the whole sphere of questions connected to their vital processes. Mainly original scientific papers, but in some cases also review articles and up-to-date production political conceptions are published. Information is given on dissertations, scientific meetings and on reports of universities and research institutes. Articles are published in Hungarian or English, summaries, texts of tables and figures in both languages.

Manuscripts should be sent in three copies, written in well readable in non-reduced form by typewriter or printer to the address of the editorial office. Manuscripts are anonymously reviewed, and if necessary (also anonymously) returned to the author(s) for the formation of the final version.

The final versions of the accepted publications should be submitted in electronic version (3.5 HD/DD floppy or E-mail) plus in two printed copies to the address of the editorial office. Publishing is free of charge, 50 reprints are sent to the first author.

Publication related information may be obtained from the editorial office: Research Institute for Animal Breeding and Nutrition, H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út. 1., Phone: +36-23-319-133/225; FAX: +36-23-319-133/120; E-mail: jgundel@atk.hu or szerk@atk.hu

Full text (in English) of guide for authors see on the Internet:

<http://www.atk.hu/english/AngHaszUt.htm>

ÁLLATTENYÉSZTÉS és TAKARMÁNYOZÁS

Főszerkesztő (Editor-in-chief): GUNDEL János (Herceghalom)

Szerkesztő (Editor): REGIUSNÉ MÖCSÉNYI Ágnes (Herceghalom)

A szerkesztőség tanácsadó testülete (Editorial advisory board):

Elnök (President): BODÓ Imre

BREM, G. (Ausztria)
HABE, F. (Szlovénia)
HAN, In K. (Korea)
HODGES, J. (Ausztria)
JUST, A. (Dánia)
KRÁUSSLICH, H. (Németország)
MARTIN, T.G. (USA)
VERSTEGEN, M.W.A. (Hollandia)

BALTAY Mihály (Budapest)
DEMETER János (Budapest)
DÓHY János (Budapest)
FÉSÜS László (Herceghalom)
HORN Artúr (Budapest)
HORN Péter (Kaposvár)
INCZE Kálmán (Budapest)
KÁRPÁTI József (Kaposvár)
KESERŰ János (Budapest)

KOVÁCS József (Keszthely)
MARTON István (Budapest)
MÉZES Miklós (Gödöllő)
MIHÓK Sándor (Debrecen)
RAFAI Pál (Budapest)
SCHMIDT János (Mosonmagyaróvár)
SZABÓ Ferenc (Keszthely)
SZAKÁLY Sándor (Pécs)
SZALAY István (Gödöllő)
VERESS László (Debrecen)

**Szerkesztőség,
kiadóhivatal
(Editorial and
publisher office):**

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.
T/F: (36) 23-319-133 E-mail: szerk@atk.hu <http://www.atk.hu>

Felelős kiadó (Publisher): FÉSÜS László, főigazgató

HU ISSN: 0230 1814

A lap a Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium tudományos folyóirata

This is a scientific bimonthly journal of the Ministry of Agriculture and Regional Development

A kiadást támogatja: Földművelésügyi és Vidékfejlesztési Minisztérium
(Sponsored by)

Megjelenik évente hatszor

Előfizetési díj: 1 évre 4000,- Ft (ÁFA-val)

Kiadja és terjeszti Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet

Előfizethető a kiadónál, vagy átutalással az MNB 232-90174-0808 pénzforgalmi jelzőszámra

Külföldön terjeszti a Batthyány Kultur-Press Kft., 1011 Budapest, Szilágyi Dezső tér 6.

T/F: 1-201-8891; 1-212-5303 E-mail: batthyany@kultur-press.hu.

Orders may be placed with Batthyány Kultur-Press Ltd., Szilágyi Dezső Square 6. H-1011 Budapest, or with any of its representatives abroad

Készült az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézetben, Herceghalom (16/24.)

A nyomda felelős vezetője: Kurucz István
