

Összefoglaló tanulmány a β -kazein gén polimorfizmus vizsgálatának eredményeiről juh fajban

Nagy Krisztina – Jávor András – Kusza Szilvia

Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar
Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet, Debrecen
nagyk.mgszh@freemail.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A juhtej legnagyobb fehérjefrakciója a β -kazein, melynek legkevesebb hat variánsa ismert (A, B, C, G, X, Y). A β -kazein gén allélváltozatai eltérő minőségű és mennyiségű tejet eredményezhetnek, ezért a polimorfizmusok ismerete és vizsgálati lehetősége kiemelten fontos a tejtermelés szempontjából. A tejminőségi és tejtermelési mutatók pozitívan befolyásolhatók a molekuláris genetika módszereivel. Ez az összefoglaló tanulmány a juh β -kazein fehérjekódoló gén polimorfizmusának vizsgálati lehetőségeit és eredményeit összegzi.

Kulcsszavak: CSN2, juh, polimorfizmus

SUMMARY

β -casein is the most abundant protein fraction in sheep milk, and has at least six different alleles (A, B, C, G, X, Y). The alleles of the β -casein gene may influence on the quality and quantity of milk. Knowing the gene polymorphism has an important role in the process of milk production. The properties of milk could be positively influenced by the molecular genetic methods.

Keywords: CSN2, sheep, polymorphism

BEVEZETÉS

A tehéntej olyan sokoldalúan felhasználható élelmiszer, mely számtalan szükséges tápanyagot és energiát tartalmaz megfelelően kiegészítve a vegyes humán étrendet. Az emberiség többféle állat tejét fogyasztja, népszokásoktól, régióktól függően: tehén, juh, kecske, teve, bivaly és a ló (Bartova et al. 2009). Európában, Ázsiában, vagy éppen Afrikában már az időszámításunk előtti időkből származó régészeti bizonyítékok mutatják, hogy a tejtermelő állattartás és tejfogyasztás igen régóta kapcsolódik össze az emberekkel. A tejelő állatok tartása évezredekre nyúlik vissza, i. e. 5000 évvel már a líbiai Szaharában barlangrajzokon ábrázolták. Az ábrázolás a tejfogyasztás mellett a sajt készítésre is utalt. A tehéntejből készült sajtok mellett egyre nagyobb teret hódít a juh- és kecsketej alapú sajt készítmények fogyasztása (Fenyvessy 2009).

Magyarországon a juhtartás, és a tejgazdaság a gazdasági termelés fontos részét képezi (Császár és Unger 2005). Tejgazdaságon a tej megtermelését, feldolgozását, és a számtalan egyéb tejtermék értékesítését kell érteni. A tej- és tejtermékfogyasztás Magyarországon 1987-ben érte el csúcspontját (202 liter/fő/év tejegyenértékben számolva), mely a rendszerváltással fokozatosan csökkent. Az elmúlt pár évben átlagosan 150–180 liter/fő/tejegyenértéket mutatott a tejfogyasztási mennyiség. A juhtejtermelés ezzel szemben a '80-as évektől kezdve jelentősen visszaesett. Mára 0,06–0,09 kg éves szinten, az átlagos juhtejtermék fogyasztás az országban (Kukovics et al. 2009a). A juhok tejtermelése fajtától és hasznosítástól függően 20–1000 liter között mozoghat. A juhok tejhozama nagyban függ az állatok genetikai állományától, a fajtától, tartástechnológiától és takarmányozástól. Ezen tényezők egymásra kölcsönösen hatnak, és együttesen befolyásolják a tejhozamot (Kukovics et al. 2009b).

A sajt a juhtej-termelés legfőbb terméke. A juh- és kecsketej-termelésért felelős országok az Európai Unióban (EU) elsősorban a mediterrán országok: Olaszország, Spanyolország, Franciaország, Görögország, valamint Portugália (Amigo et al. 2000). Az EU-ban mintegy 102 millió juh található, ennek 20%-a elsődlegesen annak tejtermeléséért tartott. A tejtermelést figyelembe véve 1,7 millió tonna juhtejet jelent évente, ami a világtermelés 22%-a (Anonymus 1996).

Az európai mintának megfelelően Magyarországon a juhok kettős hasznosítása jellemző. A juhgazdaság bevételeinek mintegy kétharmada a juhtej, illetve juhtejből készített termékek értékesítéséből származik. A maradék egyharmadot pedig, a vágóbárányok kereskedelme teszi ki. A modern kor elvárásainak és az egészséges életmódnak köszönhetően egyre nagyobb az érdeklődés a juh- és kecsketej iránt (Kukovics et al. 2009b).

A juhtej tejfehérjében gazdag tej. A tejben levő többszáz fehérje közül csak néhány, amit tejspecifikusnak tekinthetünk (Park et al. 2007). A tejspecifikus fehérjék alkotják a tejben levő fehérjemennyiség 90%-át. A nem specifikus tejfehérjék pedig az érfalon átjutva a vérrendszerből kerülnek a tejbe. Tejfehérjét tekintve, a leggyakrabban fogyasztott tej a tehéntej, mely átlagosan 3–3,5% fehérjét, 3,7% tejsírt, valamint 4,8% tejcukrot jelent. A juhtej ennél magasabb tejfehérje tartalmú, 5,5% (Kukovics et al. 2009a).

A tejfehérjék mintegy 90%-át, a tejmirigy alveoláris sejtjeiben termelődő hat fehérje alkotja. Ezek a fehérjék két nagy csoportba sorolhatóak a kazeinek, és a savófehérjék. Az α S1-, α S2-, β - és a κ -kazein a kazeinek csoportjába, az α -laktalbumin és a β -laktoglobulin a savófehérjék csoportjába tartozik. A kazeinek és savófehérjék aránya a különböző fajtákban eltérő, de a kazeinek alkotják az összes fehérje tartalom nagy részét. A tejben a kazein savófehérje arány: 82:18% a tehéntejben, 78:22% a juhtejben. A tejfehérjék elsősor-

ban a szervezet védekező mechanizmusait erősítik, mint a teljes savófehérje, az immunoglobulinok, immunopeptidek, vagy a laktoferrin (Park et al. 2007).

Az amfoter jellegű β -kazein fehérje szerkezete sok emlőállatban ismert (Bonsing et al. 1988, Provot et al. 1989, Alexander és Beatie 1992). Minden β -kazein fehérjemolekulára igaz, hogy két doménra különül, a C-terminális rész első két harmada apoláros, míg az N-terminális poláros (Bonsing és Mackinlay 1987). A szignálpeptid nagyon konzervált, és 15 aminosavból áll. A foszforiláltság foka sokkal kisebb, mint a többi kalcium-szenzitív kazein esetében. Egy régióban található ún. foszfátközpont, mely foszforilált szerin-oldalláncok közeli elhelyezkedését jelenti. A molekulában nagy mennyiségű prolin-oldallánc töri meg a molekula szerkezetét, így a másodlagos szerkezet kialakításában fontos szerepet tölt be (Provot et al. 1989).

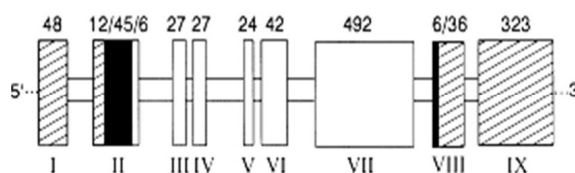
A kazeinek mennyisége nagyban befolyásolja a sajt készítés folyamatát (Wedholm et al. 2006). A sajt tejfehérjékből, és tejszírokból áll, a kazein megalvasztásával készül. A megsavanyított tejhez proteolitikus enzimet adnak, az elkészült szilárd anyagot kiszűrik és formába préselik. Számos fehérjével ellentétben, a kazein hő hatására nem alvasztható meg. Az alvasztás során tejalvasztó proteázok hatnak a kazeinek oldható részére. Az így keletkező instabil micelláris állapot adja az alvadékat. A kazeinek mennyisége tehát nagyban befolyásolja a sajt készítés folyamatát. A tej kazeinösszetételét a kazeinokat kódoló gének polimorfizmusa határozza meg. A kazeinek a legnagyobb tejfehérjecsalád, olyan prolinban gazdag fosztoproteinek alkotják, amelyek a tej kolloid-szuszpenziójában nagy, gömbölyű, micelláris szerkezetet alkot a kalcium-foszfáttal együtt (Richardson és Creamer 1976).

A tej kazeinösszetételét a kazeinokat kódoló gének polimorfizmusa határozza meg. A kazeinek elsődleges szerkezete variálódik a különböző mutációknak köszönhetően. A mutációk nagy része, pontmutáció (SNP, single nucleotide polymorphism), deléció, vagy hosszabb-rövidebb nukleotid szakaszt érintő inzerció, továbbá az intronok eltérő kivágódása. Az elsődleges struktúra különbözőségei erősen befolyásolják a molekulák elektromos töltését, a hidrofób tulajdonságokat, a molekula alakját, méretét. Továbbá egy nagyobb szakaszt érintő inzerció vagy deléció a transzkripció egységben – külön kiemelve a promotor régiót – befolyásolja a transzkripció arányt. Egy előrehozott stop kodon drasztikusan lecsökkenti a transzkriptomok mennyiségét, ezáltal a fehérjék mennyiségét a tejben (Amigo et al. 2000).

Kérdődzőkben a kazein gének szorosan kapcsolt klasztercsaládot alkotnak, méretük 250–350 kb. Az $\alpha S1$ -, β -, és az $\alpha S2$ -kazein gének szorosan kapcsolódnak egymáshoz evolúciós szinten, a κ -kazein pedig fizikailag és funkcionálisan kapcsolódik a másik három géhez. A tej kazeinösszetételét a kazeinokat kódoló gének polimorfizmusa határozza meg (Amigo et al. 2000).

A β -kazein juh gén kilenc exon–intronból épül fel a többi kérdészökhöz hasonlóan, az exonok mérete 24–492 bp között található. Legnagyobb a 7-es exon, 492 bázis, legkisebb a 3-as exon, 24 bázis alkotja. A kutatások középpontjában általában a 7-es exon áll, egyrészt mert ez a legnagyobb és legpolimorfabb szakasz, mely kódolja a CSN2 fehérje nagy részét (Amigo et al. 2000) (1. ábra).

1. ábra: A CSN2 gén sematikus rajza juhban



Megjegyzés: a fekete régiók a szignál peptidet tartalmazó exonok, fehérék a mature proteint kódolják, a sávos régiók pedig az át nem íródó régiója az exonoknak. Forrás: Amigo et al. (2000))

Figure 1: Diagram of the CSN2 gene in sheep

Note: black boxes stand for part of exons encoding the signalpeptide hatched boxes for exons and part of exons of the untranslated region and white boxes for exons, parts of exons encoding mature proteins. Source: Amigo et al. (2000)

Az első publikáció a kazeinek polimorfizmusáról 1966-ban jelent meg (King 1966). Ez teret adott a polimorfizmus vizsgálatoknak először fehérje szinten, elektroforetikus, immunokémiai, valamint kromatográf technikák alkalmazásával.

Sokáig nem volt ismert a β -kazein gén polimorfizmusa. Az első eltérést a CSN2 génben PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphisms) technikával és Southern blot analízissel detektálták (Leveziel et al. 1991). Később a PCR-SSCP (Single strand conformation polymorphism) módszerrel választották el az egyes genotípusokat (Ceriotti et al. 2004). Leggyorsabb, új eljárás a Light Cycler analízis, mely nagy mennyiségű minta gyors genotipizálását tette lehetővé (Sztankóová et al. 2011).

A tejfehérje gének polimorfizmusa jelentősen befolyásolhatja a tej minőségi és mennyiségi tulajdonságait. Hat allélváltozata ismert a CSN2 génnek a juh fajban, A, B, C, X, Y és a G (Chianese 1997, Ceriotti et al. 2004, Chessa et al. 2010). Legjobb minőségű és legnagyobb β -kazein fehérjetartalmú teje az AA, vad típusú egyedeknek van. A GG genotípusú egyedek tejhozama szignifikánsan nagyobb, mint az AA egyedek tejhozama (Corral et al. 2010).

Ha csökken a β -kazein fehérje mennyisége a tejben, a tej koagulációja lassabb lesz a normál tejhez képest, és a kinyert sajt mennyiség is csökkenhet, akár 20%-kal is kevesebb lehet a mutáns allélú egyedek tejéből készített sajt mennyiség (Chianese et al. 1993).

β -KAZEIN FEHÉRJE POLIMORFIZMUS VIZSGÁLATI LEHETŐSÉGEI

A tejfehérjék és a tejfehérjéket kódoló génrégiók vizsgálata folyamatosan fejlődött az elmúlt 50 évben. A tej különbségeinek genetikai alapú meghatározása a tejfehérjék elektroforetikus szeparációjával kezdődött poliakrilamid géleken (King 1966, Arave et al. 1973). Ez az eljárás a fehérjelánc aminosav-sorrendjében bekövetkezett változás detektálására alkalmas. A sokkal érzékenyebb elektroforetikus módszerek elterjedésével – mint az izoelektromos fókuszálás – lehetőség nyílt a tejfehérje-polimorfizmus gyorsabb vizsgálata, valamint elvezetett a DNS szintű különbségek azonosításához is. A tehén, kecske, juh teljes β -kazein fehérjeszekvenciák megismerését, valamint a fehérjelánc különbségeinek pontos meghatározását a biokémiai mód-

szerek elterjedése tette lehetővé. A fehérjelánc különbsége általában aminosav szubsztitúcióból, delécióból adódik, de a fehérjék eltérő foszforilációja is változást hozhat a fehérje funkciójában. Leggyakrabban vizsgált a tehén tejfehérje gének polimorfizmusa, a hat legfőbb tejfehérje gének legkevesebb 40 polimorfizmusa ismert (Dove 2000).

Molekuláris szinten azonban a juh tejfehérje gén polimorfizmus viszonylag kevésbé vizsgált terület.

A β -kazein teljes fehérjeszekvencia részletesen ismert juh esetében (Provot et al. 1995).

A tejfehérjék polimorfizmus-vizsgálata sok módszerrel történhet, melyre van példa a juh tejfehérje polimorfizmus vizsgálatok történetében. Ilyen például: az elektroforézis savas és lúgos közegben (Addeo et al. 1992), az izoelektromos fókuszálás (Chianese et al. 1995), valamint kétdimenziós elektroforézis és immunoblotting (López-Gálvez et al. 1995). A fehérjeláncok közti különbséget általában egy aminosav szubsztitúció jelenti. A HPLC-t (High Performance Liquid Chromatography) már sikeresen alkalmazták a tehén (Visser et al. 1995), vagy a kecske (Janubert és Martin 1992) tejfehérjevizsgálatoknál, juh esetében mindaddig nem alkalmazott módszer.

Az első CSN2 fehérje polimorfizmus vizsgálatok, PAGE módszerrel lúgos közegben végezve történtek, olasz manchega juhok esetében. A várt β 1- és β 2- kazein fehérjevariáns – melyek foszforiláltságban különböznek egymástól – mellett egy harmadik β -kazein variáns is megjelent a gélen, mely lassabban mozgott az akrilamid közegben, mint a másik két fehérjelánc. Ekkor feltételezték, hogy az eltérő foszforiláltság mellett másfajta különbség is adódhat a fehérjeláncban, mint például aminosav szubsztitúció (King 1966, Arave et al. 1973).

Az újonnan megismert variáns egyedi, juhtej fehérjekomponensnek bizonyult. Azóta számtalan β -kazein variánst fedeztek fel PAGE által, melyek DNS szinten nem lettek meghatározva (Chianese et al. 1992). A β -kazein fehérje polimorfizmusa, és az elektroforetikus mintázata gyakran igen hasonló a humán β -kazein fehérje elektroforetikus mintájához, és feltételezték, hogy fehérjemolekulánként 0–5 foszfátcsoport kapcsolódhat hozzá (Greenberg és Groves 1979). Chianese et al. (1993) azonban olyan multifoszforilált fehérjepolimorfizmust detektáltak, amely 3–6 foszfátcsoportot mutatott fehérjeláncenként (Chianese et al. 1993).

A sardíniai *Sarda* fajtában izoelektromos fókuszálással elválasztott három fehérjevariánst (Chianese 1997) – A, B és C. Az A és C variáns között különbség egy aminosav szubsztitúció a 2-es pozícióban Glu>Gln. A B variánsról szekvencia nem ismert. Az AA genotípus magasabb fehérje- és szárazanyag-tartalommal rendelkezik, mint az AB (Mrozkowski 2004). A β 1-, és a β 2-kazein fehérje variánsa az eltérő foszforilációs mintázat miatt jön létre, mely hat és öt foszfátcsoportot tartalmaz (Richardson és Creamer 1976). A variánsokat elektropray tömegspektrometriával választották el egymástól (Chianese et al. 1995, Ferranti et al. 1997). Az eltérő foszforilációs mintájú β -kazein fehérjevariánsok befolyásolják a micellák stabilitását és a tejben levő kalcium eloszlását.

β -KAZEIN GÉN POLIMORFIZMUS VIZSGÁLATI LEHETŐSÉGEI

A fehérjevizsgálatok mellett a DNS szintű polimorfizmusok kezdeti megismerése PCR-RFLP módszerrel történt (Di Gregorio et al. 1991, Levéziel et al. 1991, Ordás et al. 1997).

A CSN2 gént PCR-RFLP technikával is vizsgálták úgy, hogy próbaképpen nagyszámú restriktív endonukleázzal emésztették. A polimorfizmusok jelenlétének detektálására 10 féle változatos endonukleázt használtak: ezek közül a BglI, RsaI, valamint TaqI és HindIII enzim mutatott polimorf régiókat (Levéziel et al. 1991). EcoRV, TaqI, valamint HindIII enzimmel történő emésztés szintén polimorf régiókat jelzett (Di Gregorio et al. 1991). Ordás et al. (1997) HindIII enzimet használva polimorf géneket azonosított, azonban homozigóta genotípusú egyedeket nem, csak heterozigóta genotípusú egyedeket talált.

Churra és Machenga spanyol – tejtermelésért tartott – juhajtást vizsgálták HindIII enzimmel, PCR-RFLP módszerrel. A CSN2 lókuszt két fragmentet eredményezett, 1,2 kb, valamint 1,6 kb méretűek voltak (Ordás 2007).

Áttörést hozott a CSN2 gének vizsgálatában a PCR-SSCP technika alkalmazása. Bastos et al. (2001) elsőként alkalmazott PCR-SSCP technikát a juh kazein gének változatosságának megismeréséhez, köztük a CSN2 gén polimorfizmus vizsgálatához.

PCR-SSCP és szekvenálás technikát alkalmazva az első DNS szinten leírt polimorfizmus juhban, egy A>G tranzíció volt, amely aminosav cserét okoz a fehérje láncban: a 183-as pozícióban Met>Val kicserélődés történik. Ez a mutáció fehérjeszinten nem detektálható, mert a Met és a Val, mindketten neutrális aminosavak a fehérjelánc szempontjából. A három vizsgált fajta közül a Sarda és Comissana tejtermelő fajták, míg a Sopravissana egy itáliai merinó fajta, amit húzáért, tejéért, és a gyapjúért is tartják (Ceriotti et al. 2004).

A 7-es exonban 12029-es pontban (Acc. Nr. AY444504) levő pontmutációt a kecske β -kazein A alléljának primereivel dúsították fel (Ramunno et al. 1995). A G allél gyakorisága a Sopravissana fajtában volt a legkisebb: 17,6%, 23,7% volt a Comissana fajtában, legnagyobb gyakorisággal a Sarda fajtában fordult elő, a G allél, 24,4% volt a gyakorisága (Ceriotti et al. 2004).

Szintén PCR-SSCP módszert alkalmazva két új CSN2 SNP-t fedeztek fel a CSN2 gén esetében. Az X és az Y allélváltozatot, mely DNS és az X változat fehérjeláncban is megmutatkozik (Chessa et al. 2010).

Az X variánst egy C>A szubsztitúció hozza létre, ami aminosav változást jelent a fehérjében: a 196-os pozícióban Iso>Leu aminosav kicserélődés történik, mely neutrális, tulajdonsági változást nem okoz a fehérjeláncban. Az Y allélváltozat pedig egy G>A kicserélődés okozza, mely nem okoz változást a fehérjelánc aminosav sorrendjében, a 192-es pozícióban Gln marad, az eredeti fehérjéhez hasonlóan (Chessa et al. 2010).

Egyiptomi juhajtástban még két SNP-t (Single Nucleotide Polymorphism) mutációt fedeztek fel a 7-es exonban, PCR-SSCP módszer alkalmazásával, szekvenálással kombinálva. A 12069-es pontban egy A>C

kicszerélődés történik, ami aminosav változást jelent a fehérjében: a 196-os pozícióban Iso>Leu lesz. Ez a mutáció azonban neutrális, nem hoz tulajdonsági változást a fehérjeláncban. Továbbá még egy mutációt megismertek, a 12155-ös bázisban C>T kicszerélődés történik, amely nem okoz aminosav változást a fehérjeláncban (Othman et al. 2013).

Bastos et al. (2001) módszerét vette alapul egy spanyol kutatócsoport, ahol spanyol merinó juhok CSN2 gén polimorfizmusát vizsgálták tejtermelési és minőségi adatokkal összevetve. A vizsgálatba 1272 spanyol merinó juhmintát és adatait vontak be, és a CSN2 gén polimorfizmusát PCR-SSCP módszerrel vizsgálták. Az A allél domináns volt a mintavételi állományban, 76,4%-ban fordult elő, míg a G allél 23,6%-ban volt jelen. A tejtermelési és tejminőségi mutatókkal összevetve megállapították, hogy a GG genotípusú állatok nagyobb tejhozammal, az AA genotípusú egyedek pedig nagyobb zsír-, és fehérjetartalmú tejjel rendelkeztek (Corral et al. 2010).

A Ceriotti et al. (2004) által megismert A>G tranzíció – a 7-es exon 12029-es pozíciójában – gyors és nagy létszámú genotipizálására adott lehetőséget a LightCycler analízis (Sztankóová et al. 2011). A LightCycler analízis fluoreszcens rezonancia energiaátvitelen alapuló módszer, ahol két eltérő, speciális, oligonukleotid próba segíti az allélok meghatározását. A két cseh juhajtásban – Sumava és Walachian – a vad típusú A allél nagyobb gyakorisággal fordult elő, mint a mutáns típusú G. A G allél előfordulása a Sumava juhajt-

tásban 22,2%, míg a Walachian fajtaban 16,5% volt a teljes állományhoz képest.

Szekvencia analízissel vizsgálták svájci és francia juh fajtaban a CSN2 gén polimorfizmusát. Az összes exon régiót, az ORF-t is beleértve (Open Reading Frame) – lefedve alkalmazták PCR technikát, szekvenálással kombinálva. Nyolc fajta 151 egyede lett genotipizálva a módszer alapján. A szekvencia analízis során két SNP-t azonosítottak minden fajtaban. Az egyik a p. 12029 A>G tranzíció. A másik egy C>A szubsztitúció a p.613-ban. A három változat majdnem mindegyik fajtaban előfordult, kivéve a Valais red fajtát, ahol a G allél nem volt detektálható. A nyolc fajtaból hatban az A allél volt a domináns, míg két fajtaban – Bündler oberlander, és a Swiss mirror – a G allél dominanciája jelent meg. A Bündler oberlander és a Swiss mirror fajtaban a G allél előfordulása 55,3%, és 50% volt, mely újdonságként mutatkozott meg az eddig ismert eredményekhez képest. Az újonnan megismert mindegyik fajtaban megtalálható volt, leggyakoribb volt Swiss white alpine fajtaban, az egyedek 33,3%-ban előfordult, legkisebb arányban a Valais blacknose fajtaban fordult elő, itt mindössze az egyedek 2,8%-a hordozta ezt az SNP-t. A teljes mintaállományt tekintve, az A allél domináns volt, a G és az új SNP-vel szemben. Az A allél az állomány 60,9%-ban, a G allél 25,8%-ban, az új SNP 13,2%-ban fordult elő (Tetens et al. 2014).

A különböző polimorfizmusok vizsgálati lehetőségeit az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat

A CSN2 polimorfizmus vizsgálati lehetőségei juh fajtaban

CSN2	Fehérje-módszer(1)	DNS módszer(2)	Publikálta(3)
A/B/C fehérje variáns(4)	PAGE		King (1966), Arave et al. (1973)
	IEF		Chianese et al. (1995)
	2D PAGE		Lópes-Gálves et al. (1995)
	IEF		Chianese (1997), Mrozkowski et al. (2004)
Első DNS szekvencia(5)			Richardson és Mercier (1979)
Teljes DNS szekvencia(6)			Provot et al. (1995)
Első DNS polimorfizmus(7)		PCR-RFLP	Levéziel et al. (1991), DiGregorio et al. (1991), Ordás et al. (1997)
A/G allélváltozat(8)		PCR-SSCP	Ceriotti et al. (2004)
X allélváltozat(9)		PCR-SSCP	Chessa et al. (2010)
Y allélváltozat(10)		PCR-SSCP	Chessa et al. (2010)
SNP C>T p.12155		PCR-SSCP	Othman et al. (2013)
A/G allélváltozat(8)		LighCycler Analízis(9)	Sztankóová et al. (2011)
A/G allélváltozat(8)		szekvenálás(10)	Tetens et al. (2014)
SNP C>A p.613		szekvenálás(10)	Tetens et al. (2014)

Table 1: The polymorphism of the CSN2 gene in sheep

Protein methods(1), DNA methods(2), Published(3), A/B/C protein variants(4), First DNA sequence(5), Total DNA sequence(6), First DNA polymorphism(7), A/G allelic variants(8), X allelic variant(9), LightCycler Analysis(9), Y allelic variant(10), Sequencing(10)

EREDMÉNYEK

A polimorfizmusok ismerete elkerülhetetlen, ha szeretnénk a termelési mutatókat mind minőségileg, mind mennyiségileg pozitívan befolyásolni. A tejfehérje polimorfizmusok vizsgálata több mint ötven 50 ezelőtt kezdődött (King 1966).

A tehén és a kecske tejfehérje, és azon belül is a β -kazein polimorfizmus vizsgálata széles körben vizs-

gált, ám a juh β -kazein polimorfizmusa az eddigiekben háttérbe szorult. A tejfehérjék közül a β -kazein frakció a legnagyobb mennyiségű a juhtejben (Császár és Unger 2005). A juhtejtermelés elsősorban a belőle készült sajt miatt fontos. A β -kazein fehérje a tejben levő micellák fő alkotórésze, és fontos szerepe van a sajt készítési folyamatokban. A csökkent β -kazein frakció a tejben, lassítja a tej kicsapását, és jelentősen csökkenti a tejből nyerhető sajtmennyiséget. Kecskében

már ismert olyan pontmutáció, SNP, melynek hatására a tejben minimálisra csökken a β -kazein mennyiség (Ramunno et al. 1995).

A juh CSN2 polimorfizmus vizsgálata mind fehérje, mind DNS szinten nem teljesen ismert még. Sokáig azt feltételezték, hogy erősen konzervatív ahhoz, hogy polimorf DNS régiót találjanak benne. Az első fehérjevariánsok (A, B, C) elválasztása izoelektromos fókuszálással történt (Chianese 1997). A DNS szintű polimorfizmus detektálására jóval később került sor. PCR-SSCP technikát kombinálva szekvenálással ismertek meg egy SNP-t, mely a fehérjeláncban is aminosav cserét eredményezett (Ceriotti et al. 2004). A vad típusú

A fehérje variáns jobb minőségű, összetételű tejet eredményez, mint a B, egy lengyel, merinó juhajtában (Mrozkowski et al. 2004).

Az eddig megismert viszonylag kevés, DNS szintű polimorfizmushoz tejtermelési, és minőségi adatok nem ismertek. Az ismert SNP-k gyors azonosítását nagy létszám esetén többek között a Light Cycler analízis teszi lehetővé (Sztankóová et al. 2011).

Mint ahogy összefoglaló tanulmányunkból is látszik, a téma még mindig aktuális, további SNP-k azonosítása szükségszerű, illetve hatásának vizsgálata a juhtej β -kazein fehérje mennyiségére és minőségére.

IRODALOM

- Addeo, F.–Mauriello, R.–Moio, L.–Laezza, P.–Chianese, L.–Di Luccia, A. (1992): Ovine casein variant identification using electrophoretic, immunochemical and chromatographic techniques. *Milchwissenschaft*. 47. 5: 283–287.
- Alexander, L. J.–Beattie, C. W. (1992): The sequence of porcine beta-casein cDNA. *Animal Genetics*. 23. 4: 369–71.
- Amigo, L.–Recio, I.–Ramos, M. (2000): Genetic polymorphism of ovine milk proteins: Its influence on technological properties of milk-Review. *International Dairy Journal*. 10. 3: 35–49.
- Anonymus (1996): Situación y problemática de la leche de ovino-caprino en Espana. *Industrias Lacteas Espanolas*. 250. 5: 15–16.
- Arave, C. W.–Gillett, T. A.–Price, D. A.–Matthews, D. H. (1973): Polymorphisms in caseins of sheep milk. *Journal of Animal Science*. 36. 2: 241–244.
- Bartova, L.–Fellmann, T.–M'barek, R. (2009): Modelling and Analysis of the European Milk and Dairy Market. AGMEMOD Consortium. 1–21.
- Bastos, E.–Cravador, A.–Azevedo, J.–Guedes-Pinto, H. (2001): Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed "Churra da Terra Quente." *Biotechnologie Agronomie Societé et Environment*. 5. 1: 7–15.
- Bonsing, J.–Mackinlay, A. G. (1987): Recent studies on nucleotide sequences encoding the caseins. *Journal Dairy Research*. 54. 1: 447–461.
- Bonsing, J.–Ring, J. M.–Stewart, A. F.–Mackinlay, A. G. (1988): Complete nucleotide sequence of the bovine beta-casein gene. *Australian Journal of Biological Sciences*. 41. 4: 527–37.
- Ceriotti, G.–Chessa, S.–Bolla, P.–Budelli, E.–Bianchi, L.–Duranti, E.–Caroli, A. (2004): Single nucleotide polymorphisms in the ovine casein genes detected by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism. *Journal of Dairy Sciences*. 87. 8: 2606–2613.
- Chessa, S.–Rignancse, D.–Berbenni, M.–Geriotti, G.–Martin, M.–Pagnacco, G. (2010): New genetic polymorphisms within ovine β - and α S2-caseins. *Small Ruminant Research*. 88. 2: 84–87.
- Chianese, L.–Mauriello, R.–Moio, L.–Intorcía, N.–Addeo, F. (1992): Determination of ovine casein heterogeneity using gel electrophoresis and immunochemical techniques. *Journal of Dairy Research* 59. 1: 39–44.
- Chianese, L.–Garro, G.–Nicolai, M. A. (1993): The nature of β -casein heterogeneity in caprine milk. *Le Lait*. 73. 5: 533–47.
- Chianese, L.–Garro, G.–Ferranti, P.–Malorni, A.–Addeo, F.–Rabasco, A.–Molina Pons, P. (1995): Discrete phosphorylation generates the electrophoretic heterogeneity of ovine β -casein. *Journal of Dairy Research*. 62. 1: 89–100.
- Chianese, L. (1997): The casein variants of ovine milk and the relationships between the α S1-casein variants and milk composition, micellar size and cheese yield. In *Caseins and caseinates: Structures, interactions, networks*. Hannah symposium. Scotland. United Kingdom.
- Corral, J. M.–Padilla, J. A.–Izquierdo, M. (2010): Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed. *Livestock Science*. 129. 1–3: 73–79.
- Császár G.–Unger A. (2005): A minőségi tejtermelés alapjai. Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet. Mosonmagyaróvár. 1–46.
- Di Gregorio, P.–Rando, A.–Pieragostini, E.–Masina, P. (1991): DNA polymorphism at the casein loci in sheep. *Animal Genetics*. 22. 1: 21–30.
- Dove, P. (2000): Genetic polymorphisms in milk protein genes and their impact on milk composition. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 480: 225–230.
- Fenyvessy J. (2009): A kiskérődzők tejének értékes tulajdonságai a fogyasztás és a feldolgozás szempontjából. A tej szerepe a humán táplálkozásban. 417–424.
- Ferranti, P.–Garro, G.–Laezza, P.–Chianese, L.–Addeo, F. (1997): Identification of ovine casein heterogeneity by HPLC and electrospray mass spectrometry. In *Milk protein polymorphism*. 296–302.
- Greenberg, R.–Groves, M. L. (1979): Human b-casein. *Journal of Dairy Research*. 46. 1: 235–239.
- Jaubert, A.–Martin, P. (1992): Reverse-phase HPLC analysis of goat caseins Identification of α S1- and α S2- genetic variants. *Lait*. 72. 3: 235–247.
- Kukovics S.–Unger A.–Bakos E.–Szakály S. (2009a): A tej és tejtermékek jelentősége. A tej szerepe a humán táplálkozásban. 19–34.
- Kukovics S.–Németh T.–Molnár A.–Madai H.–Jávora A. (2009b): A kiskérődzők tejtermelése hazánkban, az EU-ban és a világon. A tej szerepe a humán táplálkozásban. 67–88.
- King, J. W. B. (1966): The caseins of sheep's milk. In *Polymorphismes Biochimiques des Animaux*. Paris: INRA. Proceedings of 10th European Conference on Animal Blood Groups and Biochemical Polymorphism. 427–431.
- Levéziel, H.–Méténier, L.–Guérin, G.–Cullen, P.–Provot, C.–Bertaud, M.–Mercier, J. C. (1991): Restriction fragment length polymorphism of ovine casein genes: Close linkage between the α S1-, α S2-, b- and kappa-casein loci. *Animal Genetics*. 22. 1: 1–10.
- López-Gálvez, G.–Juárez, M.–Ramos, M. (1995): Two dimension-alelectrophoresis and immunoblotting for the study of ovine whey polymorphism. *Journal of Dairy Research*. 62. 2: 311–320.

- Mroczkowski, S.–Korman, K.–Erhardt, G.–Piwczynski, D.–Borys, B. (2004): Sheep milk protein polymorphism and its effect on milk performance of Polish Merino. *Archive für Tierzucht. Dummerstorf*. 47: 114–121.
- Ordás, J. G.–Rando, A.–Senese, C.–Masina, P. (1997): DNA polymorphisms of casein genes in Spanish dairy sheep. *Small Ruminant Research*. 26. 1–2: 9–13.
- Ordás J. G. (2007): A short note on linkage between the beta- and kappa-caseins in the Churra and Manchega ovine breeds. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section A. Animal Science*. 57. 2: 46–47.
- Othman, O. E.–El-Fiky, S. A.–Hassan, N. A.–Mahfouz, E. R.–Balabel, E. A. (2013): Genetic variations of B- and K-casein genes in Egyptian sheep breeds. *Journal of Applied Biosciences*. 64. 2: 4858–4866.
- Park, Y. W.–Juarés, M.–Ramos, M.–Haenlein, G. F. W. (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 68. 1–2: 88–113.
- Provot, C.–Persuy, M. A.–Mercier, J. C. (1989): Complete nucleotide sequence of ovine beta-casein cDNA: inter-species comparison. *Biochimie*. 71. 7: 827–832.
- Provot, C.–Persuy, M. A.–Mercier, J. C. (1995): Complete sequence of ovine beta-casein-encoding gene and interspecies comparison. *Gene*. 154. 2: 259–263.
- Ramunno, L.–Mariani, P.–Pappalardo, M.–Rando, A.–Capuano, M.–Di Gregorio, P.–Cosenza, G. (1995): Un gene ad effetto maggiore sul contenuto di caseina beta nel latte di capra. *Proc. XI Congress Nazionale. A.S.P.A.* 185–186.
- Richardson, B. C.–Creamer, L. K. (1976): Comparative micelle structure v. the isolation and characterization of the major ovine caseins. *NZ Journal of Dairy Science and Technology*. 11. 1: 46–53.
- Richardson, B. C.–Mercier, J. C. (1979): The primary structure of ovine beta-caseins. *European Journal of Biochemistry*. 99. 1: 285–297.
- Sztankóová, Z.–Kyselová, J.–Rychtářová, J.–Czerneková, V. (2011): Technical note: A novel method for routine genotyping of the G allele of 9-casein (CSN2) and T allele of R-casein (CSN3) in a sheep population using Light Cycler. *Journal of Animal Sciences*. 89. 12: 3843–3845.
- Tetens, J. L.–Drögemüller, C.–Thaller, G.–Tetens, J. (2014): DNA-based identification of novel ovine milk protein gene variants. *Small Ruminant Research*. 121. 2–3: 225–231.
- Visser, S.–Slangen, C. J.–Lagerwerf, F. M.–Van Dongen, W. D.–Haverkamp, J. (1995): Identification of a new genetic variant of bovine b-casein using reversed-phase high-performance liquid chromatography and mass spectrometric analysis. *Journal of Chromatography. A711*. 1: 141–150.
- Wedholm, A.–Larsen, L. B.–Lindmark-Månsson, H. –Karlsson, A. H.–Andrén, A. (2006): Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 89. 9: 3296–3305.