

A termelési tulajdonságok és a leptin T3469C polimorfizmusának összefüggés-vizsgálata sertésben

Nyisalovits Andrea – Posta János – Czeglédi Levente – Győri Zsolt – Babinszky László

Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézet, Debrecen
nyisalovits@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Jelen kutatás célja a zsíredepozícióban szerepet játszó leptin gén (LEP) T3468C mutációjának és a termelési tulajdonságok kapcsolatának feltárása nagy genetikai kapacitású sertéshibridben. A vizsgálat 397 vegyes ivarú, 2 mintavételből származó állat adatainak felhasználásával történt. A leptin gén T3469C polimorfizmusát *HinfI* restriktions enzim segítségével határoztuk meg, PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) módszerrel. A T és a C allélok aránya 93% és 7% volt. A termelési paraméterek vizsgálata során a leptin gén genotípusaihoz tartozó átlagértékek között nem találtunk szignifikáns ($P \leq 0,05$) eltérést. A két minta vizsgálata során a karajkeresztmetszet, a vágáskori élősúly és hizlalás alatti napi gyarapodás a C allélt hordozó egyedeknél nagyobb volt. A jelen adatok alapján a C alléllal az adott populációban kedvezően hatott, hiszen az ezzel rendelkező egyedek nagyobb testméretet értek el a színhússzázalék jelentős változása nélkül.

Kulcsszavak: leptin, LEP, *HinfI*, SNP, polimorfizmus, sertés, termelési paraméter

SUMMARY

The aim of this study was to define the connection between the leptin (LEP) gene T3469C polymorphism and its potential association with production traits in improved hybrid pigs. The study included data from 397 gilts and barrows from 2 different sample. The polymorphism was identified by using the polymerase chain reaction-restriction fragment-length polymorphism (PCR-RFLP) method with *HinfI* restriction enzyme. Two alleles of LEP gene were identified: T (0.93) and C (0.07). The analysis of values of production traits, depending on LEP genotype did not reveal significant ($P \leq 0.05$) differences. In the examination the loin diameter (between the 2nd and 3rd ribs), the live weight at slaughter and the average daily gain during fattening were higher at pigs with C allele than pigs with TT genotype. According to our data the effect of C allele was favourable in this population, because these animals had bigger bodyweight without valuable change of lean meat percent.

Keywords: leptin, LEP, *HinfI*, SNP, polymorphism, pig, production traits

BEVEZETÉS

Az utóbbi években a genetikai markerek segítségével végzett szelekciónak egyre jelentősebb a szerepe az állattenyésztésben, mivel használatával nagyobb szelekciós előrehaladás érhető el (Tenke és Babinszky, 2012). A gazdaságilag fontos tulajdonságok genetikai hátterének ismerete ugyanis lehetőséget adhat olyan tulajdonságok korai szelekciójára is, melyek csak az állat későbbi életszakaszában nyilvánulnak meg vagy csak az egyik ivarban lennének vizsgálhatók.

A zsír- és fehérjedepozícióért felelős gének azonosítása kiemelt fontosságú lehet a tenyésztők számára, hiszen ezen gének, illetve génváltozatok hatásának ismeretében hatékonyabb szelekció végezhető az ideális fehérje- és testzsírarányok kialakítására.

A leptin hormon génjét 1994-ben Zhang és munkatársai írták le ún. ob/ob genotípusú egereken végzett vizsgálat során (Zhang et al., 1994). Ez a hormon tulajdonképpen egy kis molekulatömegű (16 kDa) fehérje, melyet elsősorban a zsírszövet termel, de a csontvelő zsírszövetjeiben (Laharrague et al., 1998) vagy a placentában (Hoggard et al., 1997) is kimutatták az expresszióját. A vérplazma magas leptin szintje jóllakottság érzést vált ki a hipotalamuszon keresztül, ezáltal csökken a táplálékfelvétel, de – a tiroid hormonokon keresztül – fokozódik az energiafelhasználás és az anyagcsere (Campfield et al., 1995). A leptin – a biológiai funkciói alapján – az étvágy, az energia forga-

lom, a testösszetétel és a szaporodás potenciális szabályzó hormona lehet (Barb et al., 2001).

Sertésben a LEP gén a 18. kromoszóma 18q13-q21 régiójában helyezkedik el (Neuenschwander et al., 1996), 3 exonból és 2 intronból áll (Bidwell et al., 1997). A kódoló szakasz kialakításában a 2. és 3. exon vesz részt.

1997-ben Stratil és munkatársai írták le a leptin gén 3. exonjában található – *HinfI* enzimmel detektálható – polimorfizmust (GenBank: AY079082 T3469C) (Stratil et al., 1997). A korábbi vizsgálatok arra engednek következtetni, hogy a polimorfizmus hatással van a vágáskori súlyra, a napi gyarapodásra és a takarmánykonverzióra (Jiang és Gibson, 1999; Kennes et al., 2001; Bauer et al., 2006; Oliveira Peixoto et al., 2006; Villalba et al., 2009).

ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleti állatok

A kísérletbe 500 nagy genetikai kapacitású (Close, 1994) F1 hibrid sertés került beállításra 2 istállóban, 273 ártány és 227 koca (emse) ivararányban. A kísérletbe vont állatok 3 vonalas (nagy fehér, lapály és duroc) anyák és szintetikus stresszmentes pietrain apaállatok keresztezéséből származtak. A kísérleti állatokat átlagosan a 73. életnapjukon telepítették be kettő, 650 férőhelyes hízó istállóba. Minden istállóban kutri-

cánként 25–30 vegyes ivarú egyed került elhelyezésre. Az istállóban mélyalmos technológiát alkalmaztak, az etetés nedves abrakkeverék etetésére alkalmas önetetőkből történt, az ivóvíz szopókás önitatókból ad libitum állt az állatok rendelkezésére. Az etetett takarmány táplálóanyag tartalma megfelelt az idevonatkozó ajánlásoknak (Magyar Takarmány Kódex, 2004).

A telepen alkalmazott technológiának megfelelően az állatok átlagos betelepítési súlya a két istállóba 29,3, illetve 30,7 kg volt. A kísérlet zárásakor (111 és 118 napi hizlalás után) az állatok átlagos élősúlya 112±9,4 kg (1. istálló), illetve 120,6±9,2 kg (2. istálló) volt. A hizlalás alatti napi gyarapodás 745,9±84,7 g (1. istálló), illetve 761,8±77,6 g (2. istálló) volt.

Vágóhídi minősítés

A vizsgálat végén a vágott testek az SEUROP szerint kerültek minősítésre.

A vágott testek minősítése szűrőszondás műszerrel történt. A szonda a vágott testen a szalonnavastagságot és a karajátmérőt a 2–3. borda között, a hasítás síkjától 6 cm távolságra méri, mely alapján megállapításra kerül a színhússzázalék.

A minősítés során mindkét istálló állatainál meghatároztuk a hátszalonna-vastagságot, a karaj-keresztmetszetet, a hideg súlyt, és a színhús-százalékot.

Mintavétel a genetikai vizsgálatokhoz

A genetikai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Karának Állattudományi, Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézetének Állatgenetikai Laboratóriumában végeztük. A vérminta istállónként 250 vegyes ivarú egyedről steril tűvel (0,9×38 mm) a vena cava cranialisból S-monovett (4,9 ml) vérvételi csövekbe (Sarstedt AG&Co) került levételre. A vérminták tárolása a vizsgálatokig -20 °C-on történt.

A vérminták előkészítése

A vérminták feldolgozása során a genomi DNS-t Zsolnai és Orbán (1999) leírása alapján izoláltuk. Az előkészített DNS mintákat -20 °C-on tároltuk a további vizsgálatig.

Genotipizálás

A T3469C mutációt tartalmazó génszekvencia (GenBank: U66254.1) az NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) adatbázisban található. Ez alapján terveztük meg a PCR konstrukciót. A primereket a Batch-Primer3 v.1.0 nevű interneten elérhető szoftver segítségével terveztük (<http://probes.pw.usda.gov/batchprimer3/overview.html>). A primerek (forward primer: 5'GGA GTT CGG GCC TAG ATA GGA TGG TGT3' reverse primer: 5'GAT ATT TGG ATC ACA TTT CTG GAA GGC AGA3') PCR kondícióinak optimalizálását gradiens PCR-el végeztük. A PCR elegy 10 µl végtérfigatban tartalmazott kb. 100 ng genomális DNS-t, 0,2 mM dNTP-t (Fermentas), 1 µl 10× DreamTaq™ Green Buffer-t, 1 pmol mindkét primerből (Sigma-Aldrich Kft.) továbbá 2U DreamTaq™

Green polimeráz enzimet (Fermentas). A puffer magnézium tartalmának (20 mM) kiegészítésére további magnézium-klorid oldatot (25 mM) használtunk, így a végkoncentráció a reakcióelegyben 3,75 mM volt.

A PCR reakció hőmérséklet-konfíciói a következők szerint váltakoztak: denaturáció 10 percig 95 °C-on, majd 35× ismétlődtek a denaturáció (30 sec 95 °C) – feltapadás (30 sec 70 °C) – lánchosszabítás (30 sec 72 °C) lépések, ezt követte még 5 perc 72 °C-on zárta le a folyamatot. A vizsgálatokat MJ PTC-200 PCR (ESCO) készülékkel végeztük.

A restriktós analízist HinfI (Fermentas) enzimmel végeztük. A T3469C mutáció az enzim felismerő helyét hozta létre, így a T allél tartalmazó szakaszok 302 bázispár hosszúak maradtak, míg a C allél hordozó szakaszok 225 és 77 bázis hosszúságúra hidrolizálódtak szét.

A restriktós analízishez 8 µl végtérfigatban 5 µl PCR terméket, 2U enzimet és 10× BufferR-t használtunk. Az enzimátikus hidrolízist 3 órán keresztül 37 °C-os hőmérsékleten vízfürdőben végeztük.

Az allélok elkülönítését 2%-os agaróz (Lonza) gélen végeztük, a gélhez GelRed (Biotium Inc.) gél-festéket adtunk, a futtatás 1×-os TAE pufferben (Lonza) 100 V feszültségen 30 percen keresztül történt.

Statisztikai analízis

Annak megállapítására, hogy az egyes genotípusok eloszlása azonosnak tekinthető-e a két istállóban Chi² próbát alkalmaztunk

Annak meghatározására, hogy vizsgált allélok hatással vannak-e valamelyik termelési tulajdonságra SAS 9.1 szoftverrel variancia analízist végeztünk, azon belül a GLM eljárást – Tukey-Kremer korrekcióval – használtuk (SAS, 2007.). A modell a következő volt:

$$y_{ij} = \mu + LEP_i + I_j + e_{ij},$$

ahol: y_{ij} –megfigyelt érték, μ –főátlag, LEP_i –genotípus okozta eltérés ($i=TT, TC+CC$), I_j –ivar okozta eltérés (j =ártány, koca), e_{ij} –nem definiált tényező.

Fix hatásként figyelembe vettük az istállót és az ivart. A vizsgált genotípus csoportokban az eltérő n szám miatt, a megadott adatok, LS mean (a legkisebb négyzetek átlaga) értékkel kerültek megadásra.

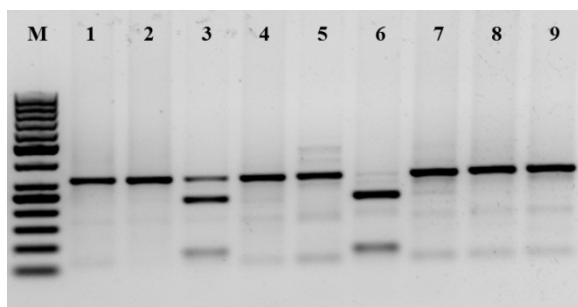
EREDMÉNYEK

Genotipizálás

A kísérlet során 500 vérmintából 489 egyed genotípusát (*1. ábra*) sikerült meghatározni, ami alapján megállapítottuk az allélgyakoriságokat (*1. táblázat*). A táblázat adatai azt mutatják, hogy a gyakoriságok meg egyeznek a két mintában (istállóban), illetve megfelelnek az irodalomban közölt adatoknak (Jiang és Gibson, 1999; Oliveira Peixoto et al., 2006; Silveira et al., 2008; Stepien-Poleszak et al., 2009; Villalba et al., 2009). Bauer et al. (2006) nagy genetikai kapacitású fehér tenyészetben 71%-os T allél arányt mutatott ki. Jiang és Gibson (1999) nagy fehér állományban a T allél 80%-ban, míg szelektálatlan kínai fajtaban (Erhualian) vizsgálva egyáltalán nem tudta kimutatni.

Az állomány Hardy-Weinberg egyensúlyban volt ($P \leq 0,05$), illetve a két minta sem tért el egymástól ($P \leq 0,05$).

1. ábra: A *HinfI* enzimmel emésztett PCR termék elektroforetikus képe



M: 50 bp-os molekula marker (Invitrogen); 3. minta: TC genotípus, 6. minta: CC genotípus, a maradék mintahelyek: TT genotípus.

Figure 1: Electroforetic picture of PCR product restructed by *HinfI* enzyme

M: 50-bp ladder of molecular weight markers (Invitrogen); lane 3: TC genotype pattern sample; lane 6: CC genotype pattern sample; the rest of lanes: TT genotype pattern sample.

1. táblázat

A genotipizált egyedek genotípus és allélmegoszlása

| Gyakoriságok(1) | Genotípus (n)(5) | | | Allél(6) | |
|-----------------|------------------|------------|-----------|----------|-------|
| | TT | TC | CC | T | C |
| 1. minta(2) | 0,861 (211) | 0,139 (34) | 0 | 0,931 | 0,069 |
| 2. minta(3) | 0,877 (214) | 0,107 (26) | 0,016 (4) | 0,930 | 0,070 |
| 1.+2. minta(4) | 0,869 (425) | 0,123 (60) | 0,008 (4) | 0,930 | 0,070 |

Table 1: Genotype and allele frequencies of genotyped pigs
Frequencies(1), Sample 1(2), Sample 2(3), Sample 1+2(4), Genotype(5), Allel(6)

A vizsgált termelési paraméterek és a genotípusok közötti kapcsolat

A vágóhídon 494 állat adatait rögzítettük. 397 állat esetében tudtuk egyértelműen beazonosítani a genotípust és az állatokhoz tartozó vágóhídi minősítési adatokat. A CC genotípus csekély létszáma miatt ezeket a TC genotípusú egyedekkel összevonva elemeztük. A két minta fenotípusos adatait a 2. táblázat tartalmazza.

A 2. táblázat adatai alapján megállapítható, hogy az állomány nagyfokú heterogenitással bírt. A 2. istálló egyedénél nagyobb élősúly és tömeggyarapodás volt megfigyelhető, aminek egyik oka a hízlalási időbeni különbség illetve a két állomány betelepítési súlya közötti eltérés. A varianciaanalízist az egyértelműen azonosított 397 adat alapján, a két mintában külön végeztük el.

A varianciaanalízis eredményei azt mutatták, hogy az ivar szignifikáns hatást gyakorolt az 1. mintában a hátszalonna vastagság és a színhús kihozatal esetében. A 2. mintában az ivarhatás tendenciájában megegyezett az 1. mintában tapasztaltakkal, de ebben az esetben nem tudtunk kimutatni szignifikáns különbséget. Az átlagok közötti különbségek alapján kijelenthetjük,

hogy nincs lényeges különbség a két ivar között az általunk vizsgált termelési paraméterekben.

2. táblázat

A vizsgálatban felhasznált egyedek fenotípusos adatai (n=397)

| | Minimum | Maximum | Átlag±s.e.(7) |
|-----------------------------------|---------|---------|---------------|
| 1. minta (istálló)(1) | | | |
| Hátszalonna vastagság (mm)(2) | 10,00 | 30,00 | 16,95±0,28 |
| Karaj k. metszet (mm)(3) | 39,00 | 79,00 | 61,22±0,44 |
| Színhús (%)(4) | 46,00 | 63,00 | 57,13±0,23 |
| Élősúly (kg)(5) | 81,95 | 135,56 | 112,06±0,66 |
| Hízlalás alatti átl. ttgy. (g)(6) | 475,00 | 958,00 | 745,9±5,9 |
| 2. minta (istálló)(7) | | | |
| Hátszalonna vastagság (mm)(2) | 10,00 | 27,00 | 17±0,26 |
| Karaj k. metszet (mm)(3) | 50,00 | 78,00 | 63,86±0,37 |
| Színhús (%)(4) | 48,60 | 63,30 | 57,4±0,21 |
| Élősúly (kg)(5) | 98,17 | 144,47 | 120,63±0,66 |
| Hízlalás alatti átl. ttgy. (g)(6) | 571,00 | 964,00 | 761,8±5,61 |

Table 2: Fenotypical data of pigs which were used in analysis (n=397)

Sample 1 (Stable 1)(1), Backfat thickness measured between the 2nd and 3rd ribs(2), Diameter of loin measured between the 2nd and 3rd ribs(3), Lean meat%(4), Live weight at slaughter(5), Average daily gain during weaning(6), Sample 2 (Stable 2)(7), Mean±SE(8)

A leptin gén polimorfizmusa és a vizsgált termelési paraméterek közötti szignifikáns ($P \leq 0,05$) összefüggést (3. táblázat) nem tudtuk igazolni. A genotípusok átlaga közötti eltérés csekély volt, de mindkét mintában hasonlóan alakult.

A hátszalonna vastagság esetében nem találtunk egyértelmű eltérést a genotípusok között. Bár a TC egyedek szignifikánsan nagyobb hátszalonna vastagságát több szerző is leírta (Oliveira Peixoto et al., 2006; Stepien-Poleszak et al., 2009), de Bauer et al. (2006) eredményei a mi adatainkkal mutatnak egyezőséget.

A karajkeresztmetszet mindkét istálló állományában a C allélt hordozó egyedek esetében volt nagyobb, ami – az azonos színhús kihozatali százalékokat figyelembe véve – összhangban van a genotípusok között meglévő élősúlybeli különbségekkel. Stepien-Poleszak et al. (2009) eredményei mind a színhússzázalék (~1% különbség, $P \leq 0,05$), mind a karajkeresztmetszet tekintetében megegyeznek a vizsgálatunkban kapott adatokkal.

A vizsgált egyedek élősúlya és átlagos napi gyarapodása mindkét mintában a C allélt hordozó (TC+CC) állatoknál bizonyult nagyobbak. A legtöbb irodalmi adat ezzel megegyezik (Bauer et al., 2006– Stepien-Poleszak et al., 2009– Szydlowski et al., 2004; Villalba et al., 2009), de vannak ellentmondások is (Kolodziej et al., 2009; Krenková et al., 1999). Oliveira Peixoto et al. (2006) vizsgálatában a TT egyedek szignifikánsan nagyobb testtömeggel bírtak 21. és 77. életnapjuk között végzett 4 mérésben, míg 77. és 105. nap között vizsgált testtömeggyarapodásban a TC egyedek bizonyultak jobbnak, illetve magasabb vágási súlyt produkáltak.

Szydlowski et al. (2004) nem tudták a genotípus szignifikáns hatását az általuk vizsgált termelési paraméterek (napi gyarapodás, takarmány konverzió, hús zsírtartalom, intramuszkuláris zsírtartalom, színhús-

százalék, karaj és sonka méret) egyikénél sem igazolni 3 fajtán (lengyel nagy fehér és lapály, és egy szintetikus fajta: Line 990). Véleményük szerint a polimorfizmus populációspecifikusan hat a termelési paraméterekre. Fiatal, szintetikus vonalba tartozó (Line 990) kanokkal végzett kutatás alapján Kolodziej et al. (2009) nem találtak összefüggést a genotípusok és a termelési paraméterek között, minimális eltérés mutatkozott a TT egyedek javára az élősúly, a hátszalonna vastagság és a karaj keresztmetszet tekintetében.

A leptin gén T3469C polimorfizmusa nem okoz aminosav cserét, illetve nem befolyásolja a vérplazma leptin szintjét (Bauer et al., 2006), így közvetlen hatása a vizsgált tulajdonságokra kevésbé valószínű. A polimorfizmus egy másik, fenotípusosan is megnyilvánuló polimorfizmussal öröklődhet kapcsolatosan, amit a különböző fajták vizsgálata során talált eltérő allélfrekvenciák is alátámasztanak (Jiang és Gibson, 1999).

3. táblázat

Az ivar és a LEP gén T3469C polimorfizmusának hatása a vizsgált paraméterek átlagára

| | Ivar(8) | | Leptin | | | | |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|--------|--------|--------|-------|------|
| | Ártány*(9) | Koca(10) | P | TT | TC+CC | P | RMSE |
| 1. minta (istálló)(1) | | | | | | | |
| n | 118 | 88 | | 177 | 29 | | |
| Hátszalonna vastagság (mm)(2) | 16,9 ^a | 18,2 ^b | 0,022 | 16,9 | 18,2 | 0,105 | 3,9 |
| Karaj k. metszet (mm)(3) | 61,0 | 62,0 | 0,272 | 61,2 | 61,8 | 0,636 | 6,3 |
| Színhús (%) (4) | 57,2 ^a | 56,3 ^b | 0,048 | 57,2 | 56,3 | 0,152 | 3,2 |
| Élősúly (kg)(5) | 111,28 | 113,74 | 0,066 | 112,13 | 112,89 | 0,688 | 9,4 |
| Hízalás alatti átlagos ttgy. (g)(6) | 738,90 | 761,00 | 0,067 | 746,50 | 753,40 | 0,690 | 84,4 |
| 2. minta (istálló)(7) | | | | | | | |
| n | 99 | 92 | | 166 | 25 | | |
| Hátszalonna vastagság (mm)(2) | 16,6 | 16,8 | 0,709 | 17,1 | 16,2 | 0,236 | 3,6 |
| Karaj k. metszet (mm)(3) | 63,7 | 64,8 | 0,151 | 63,8 | 64,8 | 0,370 | 5,2 |
| Színhús (%) (4) | 57,7 | 57,7 | 0,931 | 57,3 | 58,1 | 0,186 | 1,0 |
| Élősúly (kg)(5) | 120,68 | 122,12 | 0,280 | 120,40 | 122,41 | 0,310 | 9,2 |
| Hízalás alatti átlagos ttgy. (g)(6) | 762,20 | 774,50 | 0,279 | 759,80 | 776,80 | 0,311 | 77,6 |

*Legkisebb négyzetek átlaga

^{a,b}Statistikailag igazolt eltérés a két csoport között (P<0,05)

Table 3: The effect of gender and T3469C polymorphism of LEP gene on average of examined traits

Sample 1 (Stable 1)(1), Backfat thickness measured between the 2nd and 3rd ribs(2), Diameter of loin measured between the 2nd and 3rd ribs(3), Lean meat%(4), Live weight at slaughter(5), Average daily gain during weaning(6), Sample 2 (Stable 1)(7), Gender(8), Gilt(9), Barrow(10), *Least square means, ^{a,b}Difference between groups at P<0.05 significance level

KÖVETKEZTETÉSEK

Az általunk vizsgált állomány nagyfokú heterogenitással bír, ami hátráltatja a vizsgált termelési paraméterek genetikai hátterének feltárását. Ezt kiküszöbölendő a polimorfizmust egy nagyobb elemszámú vagy homogénebb állományon érdemes lenne vizsgálni. Az irodalmi adatok alapján nem tudunk egyértelmű következtetést levonni a leptin gén vizsgált polimorfizmusának a termelési paraméterekre gyakorolt hatásáról. A polimorfizmus nem okoz változást az aminosav sorrendben, egy másik – a fenotípusos változást okozó – polimorfizmussal kapcsolatosan öröklődhet. A vizsgált fajták között a két polimorfizmus kapcsoltsági viszo-

nyában eltérés lehet. Ezt a feltételezést a vizsgált allélok frekvenciájának fajtankénti eltérése igazolja. A vizsgált polimorfizmus markerként való alkalmazása populációnként eltérő hatékonyságú lehet. Az általunk vizsgált állományban a C allél megjelenése kedvezően hatott, hiszen a TC+CC genotípusú állatok nagyobb élősúlyt értek el a színhúskihozatal csökkenése nélkül.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A publikáció elkészítését a TÁMOP 4.2.2./B-10/1-2010-0024 számú projekt támogatta.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

IRODALOM

- Barb, C. R.–Hausman, G. J.–Houseknecht, K. L. (2001): Biology of leptin in the pig. *Domestic Animal Endocrinology*. 21: 297–317.
- Bauer, M.–Bábelová, A.–Omelka, R.–Bauerová, M. (2006): Association of *hinfI* polymorphism in the leptin gene with production traits in white improved pig breed. *Slovak J. Anim. Sci.* 39: 119–122.
- Bidwell, C. A.–Ji, S.–Frank, G. R.–Cornelius, S. G.–Willis, G. M.–Spurlock, M. E. (1997): Cloning and expression of the porcine obese gene. *Anim. Biotechnol.* 8: 191–206.
- Campfield, L. A.–Smith, F. J.–Guisez, Y.–Devos, R.–Bur, N. P. (1995): Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 269: 546–549.
- Close, W. H. (1994): Feeding new genotypes: establishing amino acid/energy requirements. *Principles Pig Sci.* 9: 123–140.

- Hoggard, N.–Hunter, L.–Duncan, J. S.–Williams, L. M.–Trayhurn, P.–Mercer, J. G. (1997): Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. USA. Proc. Natl. Acad. Sci. 94: 11073–11078.
- Jiang, Z. H.–Gibson, J. P. (1999): Genetic polymorphisms in the leptin gene and their association with fatness in four pig breeds. Mamm. Genome. 10: 191–193.
- Kennes, Y. M.–Murphy, B. D.–Pothier, F.–Palin, M. F. (2001): Characterization of swine leptin polymorphisms and their association with production traits. Anim. Genet. 32: 215–218.
- Kolodziej, A.–Pietruszka, A.–Jacyno, E.–Kawecka, M.–Stepien-Poleszak, D.–Sobocinska, A. (2009): The leptin gene polymorphism and the production traits in the young boars. Acta Sci. Pol. Zootechnica. 8: 11–18.
- Krenková, L.–Kuciel, J.–Urban, T. (1999): Association of the RYR1, GH, LEP and TF genes with carcass and meat quality traits in pigs. Czech J. Anim. Sci. 44: 481–486.
- Laharrague, P.–Larrouy, D.–Fontanilles, A. M.–Truel, N.–Campfield, A.–Tenenbaum, R.–Galitzky, J.–Corberand, J. X.–Penicaud, L.–Casteilla, L. (1998): High expression of leptin by human bone marrow adipocytes in primary culture. FASEB J. 12: 747–752.
- Magyar Takarmány Kódex (2004): Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet. Budapest.
- Neuenschwander, S.–Rettenberg, S.–Meijerink, E.–Jorg, H.–Stranzinger, G. (1996): Partial characterization of porcine obesity gene (OBS) and its localization to chromosome 18 by somatic cell hybrids. Anim. Genet. 27: 275–278.
- Oliveira Peixoto, J.–Facioni Guimara, S. E.–Savio Lopes, P.–Menck Soares, M. A.–Vieira Pires, A.–Gualberto Barbosa, M. V.–de Almeida Torres, R.–de Almeida e Silva, M. (2006): Associations of leptin gene polymorphisms with production traits in pigs. J. Anim. Breed. Genet. 123: 378–383.
- SAS Institute (2007): Cary. NC.
- Silveira, A. C. P.–Antunes, R. C.–Almeida, J. F.–Braga, T. F.–Freitas, P. F. A.–César, A. S. M.–Guimaraes, E. C. (2008): Obese gene polymorphism in Pietrain and Large White pigs after a divergent selection. Genet. Mol. Res. 7: 1217–1222.
- Stepien-Poleszak, D.–Pietruszka, A.–Kawecka, M. (2009): Effect of leptin gene polymorphism on Fattening and Slaughter Value of Line 990 gilts. Brno. Acta Vet. 78: 267–272.
- Stratil, A.–Peelman, L.–van Poucke, M.–Cepica, S. (1997): A Hinfl PCR-RFLP at the porcine leptin (LEP) gene. Anim. Genet. 28: 371–372.
- Szydłowski, M.–Stachowiak, M.–Mackowski, M.–Kamyczek, M.–Eckert, R.–Rozycki, M.–Switonski, M. (2004): No major effect of the leptin gene polymorphism on porcine production traits. J. Anim. Breed. Genet. 121: 149–155.
- Tenke J.–Babinszky L. (2012): A molekuláris genetika alkalmazásának lehetőségei a hizósértések takarmányozásában. Magyar Állatorvosok Lapja. 134: 179–188.
- Villalba, D.–Tora, M.–Vidal, O.–Bosch, L.–Reixach, J.–Amills, M.–Sanchez, A.–Estany, J. (2009): An age-dependent association between a leptin C3469T single nucleotide polymorphism and intramuscular fat content in pigs. Livestock Science. 121: 335–338.
- Zhang, Y.–Proenca, R.–Maffei, M.–Barone, M.–Leopold, L.–Friedman, J. (1994): Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 372: 425–432.
- Zsolnai, A.–Orbán, L. (1999): Accelerated separation of random complex DNA patterns in gels: comparing the performance of discontinuous and continuous buffers. Electrophoresis. 7: 1462–1468.

