

THE EFFECT OF FATTY ACID -BINDING PROTEIN (FABP3) ON SELECTED CARCASS TRAITS IN PIGS

Kluzáková E., Dvořáková V., Stupka R., Šprysl M., Čítek J., Okrouhlá M., Brzobohatý L.

Czech University of Life Sciences Prague, Czech Republic

Abstract

H-FABP (heart fatty acid-binding protein) is a member of FABP family which play an essential role in long-chain fatty acid uptake. The study tested the influence of gene polymorphism FAPB3/HaeIII on chosen indicators of the carcass value in hybrid pigs. There were found a significant effects of FAPB3/HaeIII gene on lean meat content for *dd* genotype. This corresponds with a higher fat deposition in *DD* genotype pigs. The statistically significant influence were found on backfat thickness. A similar trend was found for the muscle depth and overall weight of the ham.

Key Words: pig, *FABP3* gene, polymorphism, carcasse value.

Chovatelé a konzumenty vepřového masa stále více zajímá složení jatečných těl prasat a jeho kvalita. U prasat byla popsána řada oblastí QTL, které mají vztah k těmto znakům. Vlivem genu *FABP3* na tyto užitkové vlastnosti prasat se zabývala řada studií QTL (Óvilo et al., 2002, Li et al. 2010). Tento gen se nachází na prasečím (u každého druhu se nachází jinde) chromozomu 6 a má jeden exon (databáze Ensembl). Gen *FABP3* neboli *H – FABP* (heart fatty acid - binding protein) je členem takzvané *FABPs* (fatty acid – binding proteins) rodiny a ta tvoří skupinu vnitrobuněčných proteinů, které mají důležitou úlohu v příjmu a transportu mastných kyselin a dalších hydrofobních ligandů. *FABPs* jsou malé intracelulární proteiny, které jsou zapojené do transportu mastných kyselin z plazmatické membrány do míst β – oxidace a / nebo triacylglycerolů nebo syntézy fosfolipidů. Proteiny *FABPs* mohou ovlivňovat koncentraci mastných kyselin, a tím i regulovat různé buněčné procesy, zejména lipidový metabolismus (Veerkamp et Maatman, 1995). Toto potvrzuje studie Gerbens et al., (1997, 1999), v níž byly nalezeny tři SNPs genu *FABP3*, jeden v 5' regulační oblasti (*HinfI*) a dva v intronu 2 (*MspI* a *HaeIII*). Ve studii Gerbens et al. (1999) autoři našli významnou asociaci genu *FABP3* na výšku hřbetního tuku v linii pŕlicího řezu a obsah intramuskulárního tuku (IMT) u prasat plemene duroc. K podobným závěrům dospěly studie Li et al. (2006), Pang et al., (2006), Árnyasi et al., (2006) a Gerbens et al. (2000), kteří uvádějí, že byl nalezen vliv genu *FABP3* na IMT. Naproti tomu Nechtelberger et al. (2001), kteří testovali polymorfizmus na intronu 2 (*MspI*) v rakouské populaci prasat, žádný významný vliv polymorfismu genů *FABP3* ani *FABP4* na intramuskulární tuk nenalezli. Urban et al. (2002) provedli asociční studii genu *FAPB3/HinfI* a nenalezli vliv tohoto genu na obsah IMT u plemene Large White a Landrace.

Cílem této studie bylo otestovat vliv polymorfizmu genu *FAPB3/HaeIII* na vybrané ukazatele jatečné hodnoty u hybridních prasat.

Materiál a metodika

Byly provedeny testace jatečných prasat u následujících kombinací kříženců: (ČBUxČL)x(PNxBO) – 36 prasat, (ČBUxČL)x(BOxPN) – 64 prasat, (ČBUxČL)x(BOxD) – 72 prasat, (ČBUxČL)x(HxPN) – 72 prasat, (ČBUxČL)xPIC – 36 prasat, (ČBUxČL)xPN – 159 prasat, (ČBUxČL)xČBO – 72 prasat, PICxFH – 63 prasat, ČBUxČL – 23 prasat, DanBred – 71 prasat a plemene ČBU – 24 prasat (celkem 692 prasat). Zvířata byla testována na Pokusné testovní stanici Ploskov Katedry speciální zootechniky ČZU v Praze. Zvířata byla naskladněna v živé hmotnosti 25-30 kg a poražena při dosažení průměrné porážkové hmotnosti 108 kg. Výživa v testu probíhala podle norem potřeby živin (Šimeček et al., 2000) *ad-libitně* (575 ks) a restringovaně (117 ks). Při porážce byl proveden běžný jatečný rozbor a odebrána krev.

Disekce jatečně upraveného těla (JUT) probíhala podle Walstra a Merkuse (1995) a disekce boku byla prováděna podle metodiky Stupka et al. (2004). Byly zjištěny následující ukazatelé:

- procento svaloviny stanovené v místě nejkratší spojnice od předního okraje středního hýžd'ovce k dorzální hraně páteřního kanálu v bederní krajině metodou ZP (%),
- procento svaloviny stanovené v místě 70 mm od středu páteřního kanálu na úrovni mezi 2. a 3. předposledním žebrem metodou FOM (%),
- hmotnost kýty celkem (kg) přepočtená na procenta z hmotnosti JUT; disekce dle Walstra a Merkus 1995 (%),

- výška svalu v místě nejkratší spojnice od předního okraje středního hýžd'ovce k dorzální hraně páteřního kanálu v bederní krajině metodou ZP (mm).
- hmotnost kotlety bez tukového krytí (kg) přepočtená na procenta z hmotnosti JUT; disekce dle Walstra a Merkus 1995 (%),
- obsah tuku v boku 1; disekce dle Stupka et al. 2004 (%),
- obsah tuku v boku 2; disekce dle Stupka et al. 2004 (%),
- obsah tuku v boku 3; disekce dle Stupka et al. 2004 (%),
- průměr obsahu tuku v boku disekce dle Stupka et al. 2004 (%),
- obsah intramuskulárního tuku v pleci (%),
- výška tuku stanovená měřením 70 mm od středu páteřního kanálu na úrovni mezi 2. a 3. předposledním žebrem metodou FOM (mm),
- výška tuku nad středem středního hýžd'ovce (*musculus gluteus medius*) v bederní krajině metodou ZP (mm),
- hmotnost tukového krytí kotlety (kg) přepočtená na procenta z hmotnosti JUT; disekce dle Walstra a Merkus 1995 (%).

Po odebrání byla krev ošetřena chemickou látkou EDTA a následně byla izolována vysokomolekulární DNA. Pro genotypování byly navrženy vlastní primery (F: 5' CCT TCG GTG TGT TTG AGTGC 3', R: 5' CCT ACT CCA CTT GGT CCA TAT CA 3'). Byla vytvořena reakční směs (25µl) o obsahu: 100 ng genomické DNA, standard PCR buffer, 1,5 mM MgCl₂, 200 µM od každého dNTP, 10 pmol primery, 2% DMSO and 1,0 U LA DNA polymerase (Top Bio, Praha, ČR). Podmínky cyklování: 2 min při 95 °C, následovalo 30 cyklů: 94 °C (1 min), 58 °C (1 min), 68 °C (1 min) a závěrečná elongace 68 °C (7 min). PCR produkt byl štěpen restrikčním enzymem *HaeIII* a získány fragmenty o délce: alela *D*: 114+15+639 bp a alela *d*: 114+15+278+361 bp.

Efekt mutace genu *FABP3/ HaeIII* byl stanoven matematicko-statistickým programem SAS (9.1 institute) procedurou GLM. Byl použit model, který zahrnoval fixní efekty: kombinace křížení, pohlaví a výživa. Hmotnost jatečně upraveného těla byla použita jako regresní koeficient.

$$Y_{ijkl} = \mu + a_i + b_j + c_k + d_l + \beta x_m + e_{ijklm}$$

Y_{ijklm} = znak jatečné hodnoty; μ = celkový průměr; a_i = vliv genotypu genu *FABP3* ($i = 1, 2, 3$); b_j = vliv výživy ($j = 1, 2$); c_k = vliv pohlaví ($k = 1, 2$); d_l = vliv hybridní kombinace křížení ($l = 1-12$), β = regresní koeficient na hmotnost JUT, x_m = hmotnost JUT zvířete m ; e_{ijklm} = náhodná chyba.

Výsledky a diskuze

V předkládané studii byla nalezena četnost genotypů *DD*=183, *Dd*=360 a *dd*=149. Byl získán fragment očekávané délky 768 bp. Alela *D* byla štěpena na fragmenty o délce 114+15+639 bp, zatím co alela *d* obsahovala štěpené místo pro restrikční endonukleasu *HaeIII* a byla naštěpena do fragmentů o délkách 114+15+278+361 bp.

V rámci studie byl nalezen statisticky průkazný vliv na procento svaloviny metodou ZP a FOM ve prospěch genotypu *dd* (Tab. 1). Naopak vyšší ukládání tuku u prasat bylo potvrzeno u genotypu *DD* (statisticky průkazné, Tab.2). Toto tvrzení podporují práce Gerbense et al. (1997,1999, 2000). Naopak Nechtelberger et al. (2001) nenalezli vliv zmíněného polymorfismu na procento svaloviny u australské populace prasat.

Podobný trend vykazují hodnoty celkové hmotnosti kýty a to ve prospěch genotypu *dd* oproti genotypu *DD* (statisticky průkazné, Tab. 1).

Tabulka 1. Asociační analýza mezi genem *FABP3* a vybranými znaky jatečné hodnoty s ohledem na maso

Ukazatel	<i>DD</i> =183±SE	<i>Dd</i> =360±SE	<i>dd</i> =149±SE	P hodnota
Procento svaloviny ZP (%)	57,19±0,34	57,72±0,28	57,78±0,35	0,07
Procento svaloviny metodou FOM (%)	54,37±0,30 ^{Ab}	55,09±0,24 ^A	55,05±0,31 ^b	0,01
Hmotnost kýty (%)	13,39±0,09 ^A	13,61±0,07 ^A	13,54±0,10	0,004
Výška svalu ZP (mm)	76,88±0,66A	76,87±0,53B	77,43±0,68	0,36
Hmotnost kotlety (%)	6,30±0,06	6,38±0,05	6,34±0,07	0,17

Rozdíly mezi skupinami označenými stejnými písmeny jsou statisticky významné. ^{A,B} skupiny statisticky významné pro $P < 0,01$, ^{a,b} skupiny statisticky významné pro $P < 0,05$

Tato teorie koresponduje také se zjištěním, že u genotypu *dd* byla nalezena vyšší výška svalů a hmotnost kotlety bez tukového krytí oproti genotypu *DD* (statisticky neprůkazné) a statisticky průkazný vliv genu *FAPB3/HaeIII* genotypu *DD* na výšku hřbetního tuku v linii pŕlicího řezu v místě 2 ($p < 0,03$). Pŕčemž podobný trend byl nalezen v bodě 3 ($p < 0,07$) a průměrnou výškou hřbetního tuku v linii pŕlicího řezu měřenou v bodech 1, 2 a 3 ($p < 0,06$, Tab. 2). Na rozdíl od našeho zjištění, autoři Gerbens et al. (1999) zjistili statisticky průkazný vliv na výšku hřbetního tuku u genotypu *dd* ($p < 0,01$) a to o 0,6 mm. Tito autoři na populaci prasat plemene duroc celkově prokázali, že alela *d* je spojena s vyšší výškou tuku v linii pŕlicího řezu u prasat. Také Chmurzynska et al. (2006)

nenalezli vliv na ukládání tuku, ale vyslovuje teorii, že gen *FAPB3* je spojen s jiným zatím neznámým genem (či mutací), který má vliv na ukládání tuku. Li et al. (2010) našli vliv genu *FAPB3* na intramuskulární tuk. V naší studii byl nalezen větší obsah IMT u genotypu *DD* oproti genotypu *dd* (statisticky neprůkazné).

Navíc byl potvrzen statisticky průkazný vliv genu *FAPB3/HaeIII* na ukládání tuku u výšky tuku měřené mezodou ZP a FOM. Pŕčemž bylo zjištěno že u genotypu *DD* byla naměřena vyšší výška tuku nad středem středního hýžd'ovce (*musculus gluteus medius*), ($p < 0,03$) a výška tuku měřena metodou FOM ($p < 0,007$), (Tab. 2).

Tabulka 2. Asociační analýza mezi genem *FAPB3* a vybranými znaky jatečné hodnoty s ohledem na tuk

Ukazatel	<i>DD</i> =183±SE	<i>Dd</i> =360±SE	<i>dd</i> =149±SE	P hodnota
Obsah tuku v boku 1 (%)	29,51±1,25	29,04±1,10	28,07±1,33	0,29
Obsah tuku v boku 2 (%)	33,33±1,26	31,65±1,10 ^a	34,21±1,34 ^a	0,03
Obsah tuku v boku 3 (%)	37,24±1,31	35,21±1,14	36,28±1,37	0,07
Průměr obsahu tuku v boku (%)	34,34±5,40	25,81±4,45	27,75±5,61	0,06
Obsah IMT v pleci (%)	2,36±0,13	2,42±0,12	2,34±0,14	0,60
Výška tuku FOM (mm)	18,50±0,37 ^{AB}	17,55±0,30 ^A	17,37±0,38 ^B	0,007
Výška tuku ZP (mm)	16,58±0,47 ^a	15,74±0,38 ^a	15,90±0,48	0,03
Tukové krytí kotlety (kg)	2,51±0,05 ^a	2,44±0,04	2,38±0,06 ^a	0,03

Rozdíly mezi skupinami označenými stejnými písmeny jsou statisticky významné. ^{A,B} skupiny statisticky významné pro $P < 0,01$, ^{a,b} skupiny statisticky významné pro $P < 0,05$

Závěr

Byl získán fragment očekávané délky 768 bp. V rámci studie byl nalezen statisticky průkazný vliv genu *FAPB3/HaeIII* na procento svaloviny ve prospěch genotypu *dd*. To koresponduje s větším ukládáním tuku u prasat u genotypu *DD*. Podobné výsledky vykazují hodnoty celkové hmotnosti kýty. Statisticky byl potvrzen vliv genu *FAPB3/HaeIII* na výšku hřbetního tuku v linii pŕlicího řezu v místě 2 ($p < 0,03$) a podobný trend byl zaznamenán u výšky hřbetního tuku v místě 3 ($p < 0,07$) a u průměrného obsahu tuku v boku ($p < 0,06$). Byl nalezena statistický vliv na hmotnost tukového krytí u kotlety ($p < 0,03$).

Seznam literatury

- Árnyasi M., Grindflek E., Jávora A., Lien S., (2006): Investigation of two candidate genes for meat quality traits in a quantitative trait locus region on SSC6: the porcine short heterodimer partner and heart fatty acid binding protein genes. *J Anim Breed Genet* 123, 198–203.
- Gerbens F, Rettenberger G, Lenstra JA, Veerkamp JH, te Pas MFW, (1997): Characterization, chromosomal localization, and genetic variation of the porcine heart fatty acid-binding protein. *Mamm Genome* 8, 328–331.
- Gerbens F, van Erp AJM, Harders FL, Verburg FJ, Meuwissen THE, Veerkamp JH, te Pas MFW, (1999): Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs. *J Anim Sci* 77, 846–852.

- Gerbens F., de Koning D.J., Harders F.L., Meuwissen T.H.E., Janss L.L.G., Groenen M.A.M., Veerkamp J.H., Van Arendonk J.A.M., te Pas M.F.W., (2000): The effect of adipocyte and heart fatty acid binding protein genes on intramuscular fat and backfat content in Meishan crossbred pigs, *J. Anim. Sci.* 78,552-559.
- Gerbens, F., Verbung, F. J., Van Moerkerk, H. T., Engel, B., Buist, W., Veerkamp, J. H., Te Pas, M. F. 2001. Associations of heart and adipocyte fatty acid-binding protein gene expression with intramuscular fat content in pigs, *Journal of Animal Science*, 79, 347 – 354.
- Chmurzynska, A., (2006): The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): function, structure and polymorphism. *J. Appl. Genet.* 47, 39-48.
- Li C.L., Pan Y.C., Meng H., Wang Z.L., Huang X.G., (2006): Distributions of polymorphism of ADD1, MC4R, H-FABP gene, associated with IMF and BF in 3 populations in pig. *Yi Chuan* 28, 159–164.
- Li X., Kim W-S., Ch. S-J., Lee K-Ch., Choi H-B, Kim H-T, Choi I-Y, Kim J-J., Kim K-K, (2010): Investigation of porcine FABP3 and LEPR gene polymorphisms and mRNA expression for variation in intramuscular fat content. *Molecular Biology Reports*. DOI, 10.1007/s11033-010-0050-1 on line
- Nechtelberger D, Pires V, Solkner J, Stur I, Brem G, Mueller M, Mueller S, 2001. Intramuscular fat content and genetic variants at fatty acid-binding protein loci in Austrian pigs. *J Anim Sci* 79: 2798–2804.
- Óvilo C, Oliver A, Noguera JL, Clop A, Barragan C, Varona L, et al. (2002): Test for positional candidate genes for body composition on pig chromosome 6. *Genet Sel Evol* 34, 465–479.
- Pang W.J., Bai L., Yang G.S., (2006): Relationship among H-FABP gene polymorphism, intramuscular fat content, and adipocyte lipid droplet content in main pig breeds with different genotypes in western China. *Yi Chuan Xue Bao* 33, 515–524.
- SAS[®] Propriety Software Release 9.01 of the SAS[®] system for Microsoft[®] Windows[®]. SAS Institute Inc., Cary, NC., 2001.
- Stupka, R., Šprysl, M., Pour, M. (2004): Analysis of the formativ of the belly in relation to sex. *Czech Journal of Animal Science*, 49,64 – 70.
- Šimeček K., Zeman L., Heger J. (2000): Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro prasata. *MZLU v Brně*, 124.
- Urban T, Mikolasova R, Kuciel J, Ernst M, Ingr I, (2002): A study of associations of the H-FABP genotypes Multigene family of FABPs 9 with fat and meat production of pigs. *J Appl Genet* 43, 505–509.
- Veerkamp, J. H., Maatman, R. G. H. J. (1995): Cytoplasmic fatty acid binding proteins: their structure and genes, *Progress in lipid research*, 34,17 – 52.
- Walstra P, Merkus GSM (1995): Procedure for assessment of the lean meat percentage as a consequence of the new EU reference dissection method in pig carcass classification. *DLO- Research Institute for Animal Science and Health Research Branch, Zeist, The Netherlands*, 1 – 22.

Článek vznikl v rámci řešení výzkumného záměru MSM 6046070901.