

Rozwój immunogenetyki zwierząt domowych w Polsce oraz wkład badań z tej dziedziny do postępu w naukach rolniczych¹

Grzegorz Grzybowski, Tadeusz Blicharski, Barbara Gralak, Agnieszka Korwin-Kossakowska, Jolanta Kurył, Mariusz Pierzchała, Beata Prusak, Paweł Urbański, Joanna Wyszynska-Koko, Maciej Żurkowski

Polska Akademia Nauk, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt,
ul. Postępu 1, Jastrzębiec, 05-552 Wólka Kosowska
e-mail: G.Grzybowski@ighz.pl

Słowa kluczowe: grupy krwi zwierząt, biochemiczny polimorfizm, choroby genetyczne, loci cech ilościowych, mikrosatelity DNA, kontrola pochodzenia, różnorodność biologiczna, mtDNA, filogenetyka molekularna

C-2657

„Narodziny” immunogenetyki zwierząt w Polsce

Z inicjatywy prof. dr Mieczysława Czaji – pierwszego kierownika Zakładu Hodowli Doświadczalnej Zwierząt PAN (ZHDZ PAN) – powołana została w 1955 roku Pracownia Grup Krwi Zwierząt. Badania z tego zakresu nie były jeszcze w Europie rozpoczęte bądź ich zaawansowanie było niewielkie. Pierwsze prace o charakterze eksperymentalnym z zakresu badań grup krwi zwierząt, autorstwa prof. Spryszaka ukazały się w latach 1955–1956 [62, 63], a w latach 1959–1964 rezultatem badań grup krwi prowadzonych w ZHDZ były cztery rozprawy doktorskie, Alfreda Wróblewskiego, Jolanty Gasparskiej, Macieja Żurkowskiego i Janusza Gasparskiego, które można określić mianem pionierskich w skali kraju. Doświadczenia [8] obejmowały podstawowe zagadnienia dotyczące występowania lub wytwarzania przeciwciał i wzajemny związek pomiędzy przeciwciałem a antygenem (specyficzność immunologiczna), jak również genetykę grup krwi, tzn. sposób dziedziczenia antygenów

¹ Na podstawie 50-letniej działalności (1955–2005) Zakładu Immunogenetyki Zwierząt Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu.

CCP
631(05)
Post
2005/12/160

14, 88443

CCP042037

krwinkowych i wzajemny stosunek między genem a antygenem (specyficzność genetyczna). Niektóre prace [7, 9, 11] dotyczące właściwości serologicznych antygenów krwinkowych u różnych gatunków uznawane były wówczas na świecie za ewenement, zarówno z serologicznego, jak i genetycznego punktu widzenia. Badawczy entuzjazm, aktywność popularyzatorska, a wkrótce wymierny dorobek publikacyjny stymulowały rozwój tej problematyki w Polsce [64]. W różnych krajowych ośrodkach zaczęły powstawać pracownie grup krwi, a przyjazne współzawodnictwo między immunogenetykami zaowocowało znaczącym rozwojem badań. W roku 1969 ZHDZ PAN przekształcono w Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN (IGiHZ PAN), a szybko rozwijająca się Pracownia Grup Krwi Zwierząt uzyskała status Zakładu Immunogenetyki Zwierząt. Od początku badania miały ukierunkowany, aplikacyjny charakter. Stosowane wówczas procedury dobierania par dawca-biorca do celowych alloimmunizacji oraz techniki uzyskiwania i obróbki immunosurowic biorców zachowują aktualność do dnia dzisiejszego. Opanowanie tych procedur umożliwiło uzyskanie dużego zestawu monospecyficznych reagentów identyfikujących odpowiednie czynniki antygenowe erytrocytów, co było decydujące dla ukierunkowania dalszych prac. Istotnym elementem determinującym późniejszy rozwój i kształt krajowych badań z dziedziny immunogenetyki zwierząt było to, że ZHDZ PAN (późniejszy IGIHZ PAN) był jednym z pierwszych członków instytucjonalnych Międzynarodowego Towarzystwa Badań Grup Krwi Zwierząt (*International Society for Animal Blood Group Research* – ISABR). Fakt przynależności do ISABR (od 1988 przekształconego w Międzynarodowe Stowarzyszenie Genetyków Zwierząt – *International Society for Animal Genetics* – ISAG) ułatwiał nawiązywanie kontaktów naukowych. Wielu polskich immunogenetyków zostało później członkami ISABR/ISAG, co sprzyjało rozszerzaniu obszaru ich zainteresowań badawczych, które również w Polsce stawały się coraz bardziej interdyscyplinarne.

Grupy krwi oraz biochemiczny polimorfizm białek jako narzędzie identyfikacji osobniczej oraz markery zmian zachodzących w populacjach hodowlanych

Na przełomie 1960/61 r. wykonano pierwsze w Polsce ekspertyzy dotyczące wiarygodności danych rodowodowych bydlą na podstawie wyników badań grup krwi [10, 65, 73]. Narastająca potrzeba rozwijania badań identyfikacyjnych miała związek z szerokim wprowadzaniem do hodowli metody sztucznego unasieniania. Ta nowa wówczas biotechnika rozrodu umożliwiała osiąganie szybszego postępu hodowlanego, lecz równocześnie sprzyjała powstawaniu pomyłek w zapisach dokumentacji hodowlanej. Jednym z obiektywnych czynników sprzyjających powstawaniu pomyłek może być występowanie rui u krów cielnych. Nie dysponowano wówczas metodą umożliwiającą ujawnianie takich przypadków. Brak dostatecznej wiedzy sprawiał, że

wystąpienie rui u unasienionej krowy tłumaczono złą jakością zastosowanego nasienia i do ponownego zabiegu wykorzystywano nasienie innego reproduktora, któremu ostatecznie przypisywano ojcostwo urodzonego cielęcia. Pionierskie w kraju obserwacje na temat częstości występowania rui u krów cielnych oraz możliwości ujawnienia takich przypadków poprzez badania grup krwi, były przedmiotem rozprawy habilitacyjnej Macieja Żurkowskiego. Wykonywane w Zakładzie prace genetyczno-identyfikacyjne bydła oparte na serologii grupowej krwi znacznie wyprzedziły i w dużym stopniu stymulowały wejście w życie aktów normatywnych dotyczących kontroli pochodzenia męskiego materiału reprodukcyjnego, a także powołanie w 1969 roku zarządzeniem Nr 54 Ministerstwa Rolnictwa krajowego systemu badania grup krwi. Za całokształt badań określonych jako „Immunogenetyczna i biochemiczna identyfikacja antygenów krwinkowych i grup krwi u bydła”, ich realizatorzy otrzymali w 1971 r. nagrodę sekretarza naukowego PAN. Uzyskanie dużego zestawu immunoreagentów grupowych krwi, których monospecyficzność została zweryfikowana w testach międzynarodowych, umożliwiło podjęcie prac dotyczących charakterystyki struktury genetycznej populacji i rejestrowanie zmian związanych z procesem doskonalenia bydła [16, 32]. Był to nowy nurt badań, w których wykorzystano obiektywnie wykrywalne markery o dobrze zweryfikowanym modelu dziedziczenia. Na metodologii wykorzystującej międzyosobnicze i międzyrasowe zróżnicowanie grup krwi, oparto później w kraju szereg rozpraw doktorskich i habilitacyjnych, w których potwierdzono przydatność analizy tych cech w szacowaniu skali zmian genetycznych w populacji spowodowanych selekcją.

Wiedzę na temat genetycznych podstaw determinacji grup krwi oraz doświadczenia w zakresie immunoserologicznych technik identyfikacji erytrocytarnych czynników antygenowych wykorzystano w badaniach nad głównym kompleksem zgodności tkankowej MHC (ang. *major histocompatibility complex*) u świń i bydła (kompleksy SLA i BoLA). Uwzględnianie w pracach nad MHC elementów wiedzy z dziedziny immunoserologii grup krwi było konieczne ze względu na sprzężenie *loci* układów grupowych krwi świń J i C z SLA (wykazano później iż są one umiejscowione w autosomie nr 7); normalne przeciwciała, występujące w surowicy krwi niektórych osobników identyfikujące antygen grupowy A, są cytotoksyczne dla limfocytów [60], a układy grupowe krwi N i E stanowią u świń tzw. *minor histocompatibility systems*. Wkrótce okazało się, że także bydłęcy BoLA i *locus* układu grupowego krwi M są ze sobą sprzężone, a między niektórymi antygenami transplantacyjnymi BoLA i czynnikami grupowymi krwi (np. między antygenem BoLA-w16 i grupą krwi M') zachodzi ścisła serologiczna współzależność. Poprzez alloimmunostymulacje bydła z wykorzystaniem przeszczepów skórnych, uzyskano wiele reagentów o aktywności anti-BoLA-w16, które obok silnego działania limfocytotoksycznego, charakteryzowały się wysokim mianem hemolitycznej aktywności anti-M' [20]. Reagenty te wykorzystywano w testowaniach grup krwi bydła w Polsce oraz w laboratoriach we Francji, Niemczech, Czechach i na Słowacji. Niezależnie od badań MHC, wiedzę dotyczącą grup krwi i sposobów ich

identyfikacji wykorzystano w krajowych badaniach nad grupą sprzężonych *loci* powiązanych z podatnością stresową i jakością mięsa u świń.

W drugiej połowie lat 60. podjęto badania biochemicznego polimorfizmu białek krwi u różnych gatunków zwierząt gospodarskich i dziko żyjących. Pierwszy artykuł opublikowano w 1966 r. [66], a rok później dane na temat występowania podfrakcji beta-globulin w surowicy krwi u różnych ras bydła przedstawiono w formie rozprawy doktorskiej Krystyny Tomaszewskiej-Guszkiewicz. Problematyka biochemicznego polimorfizmu dotyczyła początkowo doskonalenia metod rozdzielczych, wprowadzania i adaptowania różnych układów buforowych, celem stworzenia podstaw badania jak największej liczby układów genetycznych. W krótkim czasie opanowano tę nową metodologię, adaptując techniki separacji białek krwi także na potrzeby analizy wariantów elektroforetycznych (genetycznych) występujących u bydła, świń i kur. Scharakteryzowano rasy hodowane w Polsce pod kątem częstości występowania wariantów w poszczególnych układach polimorficznych, identyfikując przy tym allele nie opisane wcześniej w literaturze światowej. Przeprowadzono m.in. szerokie badania polimorfizmu białek krwi dzików z populacji poznańskiej i mazurskiej identyfikując w układzie transferyn surowicy krwi allel Tf^P [61], który wcześniej został wykryty jedynie u mieszańców świni domowej z dzikiem na terenie Austrii. Należy też wspomnieć o pionierskich pracach dotyczących biochemicznego polimorfizmu białek krwi u koników polskich. Unaocznienie potrzeby zachowania genetycznej unikalności tej populacji stało się szczególnie wyraźnie w świetle współczesnych działań na rzecz ochrony światowego dziedzictwa przyrodniczego. W kontekście zobowiązań państw-sygnatariuszy, określonych w międzynarodowej Konwencji o Różnorodności Biologicznej (Polska podpisała Konwencję podczas Szczytu Ziemi w Rio de Janeiro 5 czerwca 1992 r., a w 2002 r. stała się ona elementem krajowego porządku prawnego – Dz. U. z 2002 r. Nr 184, poz. 1532), podjęcie w Polsce badań z tego zakresu już w latach 70. było decyzją bardzo trafną. Wykazano, że w populacji koników utrzymywanych w warunkach rezerwatowych i stajennych na terenie Stacji Rolnictwa Ekologicznego i Hodowli Zachowawczej Zwierząt PAN w Popielnie oraz w Stadninie Koni „Racot”, występują geny determinujące unikalne typy białek, które w wyniku selekcji zostały już wyeliminowane z populacji innych ras koni. Na podstawie biochemicznego polimorfizmu białek można stwierdzić, że koniki polskie wykazują pewne podobieństwo do fiordingów oraz koni rasy Döle, co – jak się wydaje – może sugerować hipotezę o związkach genealogicznych tych trzech typów koni z kucem nadbałtyckim. Uzyskano także nowe dane z zakresu kształtowania różnych ras koni, czego przykładem mogą być prace nad genezą polskiej hodowli koni arabskich czystej krwi oraz jej wpływem na hodowlę tych koni w innych krajach świata. Udowodniono na przykład, że rzadko spotykany allel esterazy Es^G został przeniesiony na teren Polski poprzez pierwsze importy arabskich koni pustynnych z krajów Bliskiego Wschodu. Polska populacja koni arabskich czystej krwi charakteryzuje się relatywnie wysoką częstością tego allelu, który w hodowli arabskich koni w innych krajach nie jest praktycznie notowany. Gen ten rozpowszechniany jest w światowej hodowli koni arabskich poprzez

eksport z Polski materiału hodowlanego. Przykładem tego może być linia Baska, znanego championa Stanów Zjednoczonych, sprzedanego do USA.

IGiHZ PAN w Jastrzębcu rozpoczął także badania nad występowaniem i fizjologiczną rolą wariantów genetycznych białek krwi i treści jaja kur. Wykazano, że elektroforetyczny profil białek oraz aktywność niektórych enzymów obecnych w surowicy krwi zmieniają się nie tylko w związku z osiągnięciem dojrzałości płciowej i rozpoczęciem znoszenia jaj. Także sam proces formowania jaja, zwłaszcza skorupy, wpływa zarówno na obraz białek jak i na aktywność enzymów. Nadto stwierdzono, że aktywność niektórych enzymów w przewodzie jajowym, w wątrobie, nerce i szpiku kostnym zmienia się w zależności od stanu fizjologicznego kury oraz w zależności od stadium formującego się jaja. Uwagę zwracają zwłaszcza wyniki dotyczące polimorfizmu prealbumin i postalbumin. Natężenie typu prealbumin migrującego z pośrednią szybkością (Pre-3) zmienia się w zależności od stopnia uformowania jaja, a najszybciej migrująca forma (Pre-2) występuje tylko w okresie nieśności. Także wolno migrujący typ postalbumin (Pa B) traktować można jako marker nieśności. Nadto wykazano, że *locus* (z allelem dominującym i recesywnym) kontrolujący szybko migrującą formę postalbuminy kur, znajduje się przypuszczalnie na chromosomie X i jest sprzężony z genem letalnym. Wskazuje na to fakt, że mimo prowadzenia celowych kojarzeń nie udało się uzyskać osobnika męskiego homozygotycznego względem recesywnego allelu Pa^a, a efektem tych kojarzeń był jednocześnie obniżony procent wylęgu [40]. Zidentyfikowano nowe warianty białek krwi i treści jaja kur [41, 42], a informacje na ten temat znalazły się w międzynarodowej bazie danych opracowanej przez badaczy kanadyjskich. Za „Badania polimorfizmu białek osocza kur”, ich realizatorzy uzyskali w 1972 r. nagrodę sekretarza naukowego PAN.

Na początku dekady lat 80. istotnie zmodyfikowano techniki elektroforetycznej analizy polimorfizmu białek. Zamiast hydrolizatu skrobi, jako podstawowe media rozdzielcze wprowadzono poliakryloamid i agarozę. Stworzyło to możliwość identyfikacji nie tylko nowych wariantów białek krwi, ale również opisanie nowych systemów polimorficznych [74]. Wprowadzenie efektywniejszych procedur analitycznych było istotne także dlatego, że zaczęto w tym czasie przeprowadzać osobnicze badania identyfikacyjne będące podstawą do weryfikacji rodowodów koni arabskich czystej krwi, a więc materiału szczególnie istotnego dla polskiego eksportu. Obecnie badania te rozszerzono, obejmując nimi krajowe pogłowie koni pełnej krwi angielskiej, a obok *loci* determinujących polimorfizm białek, do testowań włączono także 12 *loci* mikrosatelitów DNA. Wystawiane na tej podstawie certyfikaty potwierdzające prawidłowość informacji zawartych w rodowodzie, są podstawą do wpisu koni do ksiąg stadnych. Za „Opracowanie zasad prowadzenia kontroli pochodzenia koni w oparciu o badania grup krwi i genetycznego polimorfizmu białek” realizatorzy tej problematyki uzyskali w 1989 r. Nagrodę II stopnia Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej.

Główny kompleks zgodności tkankowej (MHC) u świń, bydła i owiec oraz „wrażliwość halotanowa” i zespół obniżonej jakości mięsa (PSE) u świń

Wysoce interdyscyplinarnymi kierunkami badań, które wkrótce podjęto w innych polskich placówkach (często przez naukowców przeszkolonych w IGiHZ PAN) były:

- badania genetycznej i serologicznej organizacji głównego kompleksu zgodności tkankowej MHC (ang. *major histocompatibility complex*) u świń, bydła i owiec (kompleksy SLA, BoLA i OLA), a także związek antygenów transplantacyjnych MHC z reprodukcją;
- badania grupy sprzężonych *loci* chromosomu 6 u świń obejmujących podatność stresową oraz związanych z wydajnością rzeźną i syndromem obniżonej jakości mięsa wieprzowego (PSE).

W badaniach MHC, które zainicjowano we współpracy z placówkami naukowymi we Francji, zastosowano nowe metodyki izolacji i standaryzacji różnych elementów morfotycznych krwi, immunostymulacji poprzez przeszczepy skórne, procedury nowych testów limfocytotoksycznych, metody wykrywania naturalnych immunizacji ciążyowych u samic zwierząt gospodarskich itd. Wyniki badań nad MHC świń były w 1984 r. przedmiotem rozprawy habilitacyjnej Grzegorza Grzybowskiego. Było to pierwsze w Polsce opracowanie z zakresu problematyki głównego kompleksu zgodności tkankowej u zwierząt domowych. Zidentyfikowano nowy czynnik zgodności tkankowej klasy I, który oznaczono jako SLA 26. Stwierdzono, że jest on pierwszym markerem nieznanego haplotypu grupującego *loci* świńskiego MHC i wykazuje ścisłą serologiczną współzależność z antygenami transplantacyjnymi SLA12 i SLA6. Wykazano, że cytotoksyczne przeciwciała identyfikujące produkty MHC klasy I u świń mogą utrzymywać się w surowicy krwi biorców przez co najmniej 4 miesiące przy zachowaniu miana umożliwiającego opracowanie silnie działających reagentów. Uzyskano także przeciwciała identyfikujące produkty nieznanego układu alloantygenowego świń.

Techniki z zakresu wykrywania antygenów transplantacyjnych SLA zaadaptowano do badań bydłeczego kompleksu zgodności tkankowej BoLA. Zidentyfikowano i zmapowano na chromosomie 23 nowy *locus* genomu bydła domowego [30] oznaczony jako JACSAL (JA = Jastrzębiec, C = cattle, S = serum, A = allotype, L = locus) i wykazano, że kontroluje on allotypy BA6⁺ i BA6⁻ występujące we frakcji β-globulin surowicy krwi. Ponadto stwierdzono, że allele BA6⁺ i BA6⁻ oraz allele BoLA pozostają w stanie silnego sprzężenia niezrównoważonego (ang. *linkage disequilibrium*), co może być wynikiem presji selekcji naturalnej [23]. Po alloprzeszczepach skórnych u bydła uzyskano monospecyficzne reagenty grupowe krwi: anty-S1 i anty-A2, czego nie notowano w historii badań grup krwi u zwierząt domowych. Wymienione reagenty charakteryzowały się właściwościami unikalnymi dla immunosurowic otrzymywanych poprzez

poliklonalną stymulację antygenową, gdyż nie istniała konieczność doprowadzania ich do monospecyficzności poprzez absorpcję. Omawiane wyniki stanowiły bezpośredni dowód, że *loci* grup krwi A i S są u gatunku *Bos taurus* układami zgodności tkankowej (ang. *minor histocompatibility systems*), gdyż kontrolowane przez nie czynniki zaangażowane są w reakcje immunologiczne występujące przy przeszczepach [19]. Wykazano, że u cielnych krów występują immunizacje płodowymi antygenami transplantacyjnymi, co może być istotne w rozrodzie prowadzonym metodą MOET (ang. *multiple ovulation and embryo transfer* – prowokowanie mnogiej owulacji i zapłodnienie oocytów, a następnie pozyskanie zarodków z dróg rodnych krowy-dawczyni i przeniesienie ich do macicy krów-biorczyń). W rozrodzie prowadzonym w ten sposób istnieje somatyczne niedopasowanie między cielną krową i genetycznie obcym cielęciem nie pod względem jednego, lecz obydwóch haplotypów BoLA. Duża różnica w formule antygenowej krowa \leftrightarrow płód ułatwia immunostymulację. Przeciwciała przeciwko płodowym antygenom transplantacyjnym BoLA mogą więc osiągać wysokie miano i utrzymywać się w surowicy krwi biorczyń zarodków nawet przez kilka lat. Opisano zjawiska nie znane w reprodukcji bydła, mające charakter konfliktu serologicznego. Konflikt może występować w sytuacjach kiedy w immunostymulacji ciężarnej krowy zaangażowany jest antygen transplantacyjny obecny u płodu, wykazujący pokrewieństwo z substancją grupową występującą na erytrocytach. Takimi cechami charakteryzuje się antygen transplantacyjny BoLA-w16 i grupa krwi M'. W badaniach związanych z immunologią reprodukcji wykazano, że po powtarzanych stymulacjach hormonalnych z użyciem pFSH w celu wywołania superowulacji u krów i owiec, wzbudzana jest odpowiedź immunologiczna anty-pFSH [51], co może wpływać na skuteczność superowulacji w następnych cyklach. Za wyniki badań w problemie „Genetyczna i serologiczna organizacja głównego kompleksu zgodności tkankowej (BoLA) u bydła oraz odpowiedź immunologiczna na skutek niedopasowania w antygenach transplantacyjnych”, uzyskano w 1984 r. nagrodę sekretarza naukowego PAN.

Programując rozwój krajowych badań nad genomem świń [31] uznano, że najbardziej perspektywiczne będą obserwacje nad formą przejawiania się stanów fizjologicznych lub chorobowych, w stosunku do których można by udowodnić bezpośredni lub pośredni związek genów lub genotypów determinujących polimorfizm białek. Problematykę tę wprowadzono w 1986 r. do badań statutowych IGiHZ PAN jako temat „Zależność między *locus* wrażliwości halotanowej u świń a cechami użytkowymi”. Za wyniki tych badań uzyskano w 1990 r. nagrodę zespołową Polskiej Akademii Nauk. Zebrane informacje na temat grupy sprzężeniowej wrażliwości na halotan u świń (w późniejszych badaniach prowadzonych przez różne laboratoria na świecie umiejscowiono ją w chromosomie nr 6), stanowiły podstawę do zainicjowania licznych prac mających na celu poszukiwanie w genomie innych *loci* QTLs (ang. – *quantitative trait loci*) o znaczącym udziale w kształtowaniu cech istotnych gospodarczo, genów głównych itp.[38, 39, 46]. Dwoistość efektów związanych z *locus* HAL

spowodowała, że zagadnienia te zaczęto analizować w szerszym kontekście wpływu selekcji na cechy funkcjonalne organizmu. Zwrócono uwagę na fakt, że presja selekcji naturalnej na podnoszenie poziomu cech przystosowawczych do środowiska (ang. *fitness traits*) i priorytety selekcji hodowlanej (jednostronne ukierunkowanie na doskonalenie cech uznanych arbitralnie przez człowieka za ważne gospodarczo), są częstokroć rozbieżne. Zatem, jeżeli w genomie pojawi się mutacja niekorzystnie oddziałująca na którąś z cech przystosowawczych, ale jednocześnie wiążąca się korzystnie z doskonalonymi cechami produkcyjnymi (tak jak w przypadku recesywnego allelu HALⁿ u świń, którego obecność w genomie wiąże się korzystnie z wydajnością rzeźną – stąd jego nazwa „główny gen mięsności”), wtedy wystąpienie po pewnym czasie jej skutku biologicznego jest nieuchronne. Następuje bowiem gromadzenie defektu w puli genów, co po pewnym czasie prowadzi do nieuniknionych kojarzeń nosicieli i masowego pojawiania się homozygotycznych genotypów recesywnych. Podjęcie zagadnień dotyczących *locus* wrażliwości halotanowej i jego związków z cechami użytkowymi było reakcją na problemy, które ujawniły się w hodowli świń, zwłaszcza w krajach Europy Zachodniej. W wyniku ostrej selekcji na zwiększanie mięsności tuszy pojawiła się, najpierw w ograniczonym stopniu, a później w znaczącym ekonomicznie zakresie, wada genetyczna znana pod nazwą PSS (ang. *porcine stress syndrome* – świński syndrom stresowy) lub MHS (ang. *malignant hyperthermia syndrome* – syndrom gorączki złośliwej). Ponieważ u niektórych osobników można było wywołać gorączkę złośliwą poddając zwierzęta narkozie wziewnej z użyciem halotanu, stanowiło to podstawę przyjęcia roboczej nazwy syndromu jako „wrażliwość halotanowa”. *Locus* z allelem dominującym i recesywnym, odpowiedzialny za ten stan, nazwano HAL. W populacji występują więc zwierzęta o trzech genotypach: HAL^N/HAL^N (genotypy normalne) HAL^N/HALⁿ (nosiciele mutacji) i HALⁿ/HALⁿ (homozygoty recesywne, wrażliwe na halotan). W późniejszych badaniach dotyczących metabolizmu mięśni szkieletowych u świń (wyniki na temat występowania MHS u świń stymulowały także podejmowanie licznych prac z dziedziny ludzkiej farmakogenetyki) wykazano, że u podłoża tej anomalii leży wadliwe funkcjonowanie kanałów wapniowych. Polega to na zbyt intensywnym w stosunku do siły bodźca transporcie jonów Ca⁺⁺ z retikulum endoplazmatycznego do cytoplazmy komórek. Z tego względu defekt odpowiedzialny za nieprawidłowy metabolizm jonów Ca⁺⁺ określa się także jako mutację genu kanału uwalniania jonów wapnia (ang. *calcium release channel*). Według aktualnie przyjętego nazewnictwa, gorączkę złośliwą u świń kontroluje *locus* RYR1 – receptor ryanodiny (RYR1 jest genem receptora ryanodiny – jednej z podjednostek kanału wapniowego w mięśniach szkieletowych). Świnie obciążone wadą wrażliwości na halotan (homozygoty recesywne w *locus* HAL) charakteryzowały się wprawdzie wysoką wydajnością rzeźną, lecz ich mięso po uboju było blade, miękkie i wodniste, określane mianem PSE (ang. *pale, soft, exudative pork*). Wraz z wprowadzeniem do programów hodowlanych świń rasy landrace, najpierw linii belgijskiej, a następnie niemieckiej, udział mięsa o cechach PSE w krajowym materiale zaczął

systematycznie wzrastać. Dwa pierwsze w Polsce opracowania genetyczne dotyczące *loci* grupy sprzężeniowej wrażliwości na halotan u świń [24, 25] zaprezentowano na IX Walnym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Genetycznego w Gdańsku (praca: „Dowody genetyczne uszeregowania markerów grupy sprzężeniowej wrażliwości na halotan u świń” została na Zjeździe wyróżniona). *Loci* grupy sprzężeniowej uszeregowano w porządku (licząc od centromeru w prawo): S-Phi-HAL-H-Po2-Pgd, co zachowuje aktualność do chwili obecnej. Dane te potwierdzono później w testowaniach krajowego materiału [2, 75]. Uszeregowanie *loci* dało początek tzw. haplotypowaniu, co umożliwiało odróżnianie osobników genetycznie wrażliwych na czynniki stresowe już we wczesnym okresie chowu. Wykonywanie kojarzeń testowych w zakresie ujawniania się wrażliwości halotanowej stawało się zbędne, a pojawiła się możliwość prowadzenia selekcji pośredniej w odniesieniu do wrażliwości stresowej i związanego z tym syndromu obniżonej jakości mięsa PSE. Krajowa hodowla dysponuje obecnie skutecznym testem molekularnym umożliwiającym zidentyfikowanie nosicieli zmutowanego genu [45]. Jest on wykorzystywany w programie testowania męskiego materiału hodowlanego, co pozwala na wczesną selekcję osobników odchowywanych z przeznaczeniem do rozrodu.

Zmiany w sekwencji DNA oraz ich znaczenie gospodarcze

Na początku lat 90. techniki molekularne stały się podstawowymi narzędziami analiz genetycznych [17], co umożliwiło zainicjowanie w Polsce szerokich badań polimorfizmu DNA u bydła, świń i koni. W światowej hodowli bydła, zwłaszcza rasy holsztyńsko-fryzyjskiej (hf), poddawanej szczególnie ostrej selekcji na cechy mleczności, doskonaleniu cech użytkowych towarzyszyć może niezamierzone rozpowszechnianie mutacji, które wpływają ujemnie na zdrowie i zdolność zwierząt do rozrodu. Kategoria zmian czynnościowych wywołanych zmianami w sekwencji DNA określana jest mianem „defektów” (chorób) genetycznych. Niezależnie od możliwości wystąpienia silnego związku danego defektu z priorytetem selekcji hodowlanej, gromadzeniu zmian DNA w puli genów populacji sprzyja ich z zasady recesywny charakter, a więc nie ujawnianie się biologicznych skutków defektu w genotypach heterozygotycznych. Takie mutacje trwają w populacji w formie nosicielstwa, a fakt, że zwierzę ma w genomie jakiś defekt, jest w praktyce trudny lub wręcz niemożliwy do wykrycia. U bydła hf szczególnie istotna gospodarczo stała się mutacja punktowa A→G w genie CD18 (oznaczana jako D128G). Normalny allel tego genu oznaczany jest jako TL, a zmutowana forma jako allel BL. Mutacja D128G odpowiedzialna jest za występowanie wrodzonego niedoboru leukocytarnych cząsteczek adhezyjnych BLAD (ang. *bovine leukocyte adhesion deficiency*). U homozygot recesywnych (genotyp BL/BL), leukocytarne receptory Leu-Cam niezbędne w procesie zwalczania infekcji tracą swoją biologiczną funkcję, a normalnie działający nadzór immunologiczny

w organizmie zostaje pozbawiony istotnego mechanizmu efektorowego. Takie zwierzęta padają lub są eliminowane z hodowli we wczesnym okresie odchowu. Natomiast nosiciele zmutowanego genu (genotyp TL/BL) nie odbiegają w sprawności immunologicznej od zwierząt normalnych, a w zakresie użytkowości mlecznej nawet je przewyższają. Stwierdzono, że krowy-nosicielki wyprodukowały o 218 kg mleka oraz 7,3 kg białka więcej niż ich półsiostry o genotypie normalnym (dla obydwóch cech $P \leq 0,02$) [50]. Wyniki te wskazują, że allel BL wiąże się w jakiś sposób ze zwiększoną produktywnością krów. Wyeliminowanie allelu BL z puli genowej populacji poprzez wykorzystanie konwencjonalnych metod selekcji, nie jest więc możliwe. W polskiej populacji bydła cb występują 3 główne linie obciążone mutacją D128G, wywodzące się od holsztyńsko-fryzyjskich buhajów Penstate Ivanhoe Star, Provin Jewel i Paclamar Ivanhoe – synów buhaja Osborndale Ivanhoe. Wykazano, że około 50% buhajów rasy hf importowanych do Polski do 1992 r. znajduje się w tzw. grupie ryzyka BLAD [15]. Dla potrzeb monitorowania allelu BL w puli genowej polskiej populacji bydła opracowano procedury dwóch testów PCR-RFLP [26, 49] oraz procedurę automatycznej analizy sekwencji genu CD18 w regionie występowania mutacji D128G. Zidentyfikowano pełną sekwencję DNA w eksonie 5 genu CD18 u bydła, tzn. w regionie asocjacji podjednostek w receptorach Leu-Cam, gdzie występuje mutacja D128G [21]. Informacje na ten temat weszły do światowej bazy danych GenBank (nr dostępu AF239220). Od 1995 r. badania z zakresu monitorowania w puli genowej bydła mutacji BLAD są uwzględniane w krajowym programie hodowlanym, a od 1999 r. diagnostyka tej mutacji jest także obowiązkowym elementem polskiego nadzoru weterynaryjnego.

W bezpośrednim związku z występowaniem syndromu BLAD pozostaje wada genetyczna bydła określane mianem CVM (ang. *complex vertebral malformation*), zidentyfikowana w 1999 r. u bydła hf w Danii. Anomalia ta weszła do polskiego fachowego nazewnictwa weterynaryjno-zootechnicznego pod pojęciem „zespół zniekształceń kręgosłupa” [18]. Bydlęcy zespół zniekształceń kręgosłupa zdefiniowano genetycznie jako jednogenną, autosomalną wadę recesywną przenoszoną przez nosicieli. Symptomatologia CVM jest bardzo złożona. Ze względu na różnorodną formę i czas wystąpienia patologicznych objawów, anomalia jest szczególnie trudna do monitorowania przy użyciu konwencjonalnych metod diagnostyki weterynaryjnej. Destrukcyjne skutki mogą wystąpić w każdym okresie prenatalnego rozwoju i manifestować się m.in. jako zamieranie zarodków, obumieranie i resorpcja płodu na wczesnym etapie rozwoju, poronienia w różnym okresie ciąży. Przypuszcza się, że większość homozygotycznych genotypów CV/CV podlega eliminacji już we wczesnym stadium prenatalnego rozwoju. Oznacza to, że występujące w okresie okołoporodowym przypadki martwych cieląt z charakterystycznymi deformacjami kręgow w regionie szyjnego i piersiowego odcinka kręgosłupa, oraz przykurcz nadgarstków i sztywność w stawach palcowych z jednoczesną silną, symetryczną rotacją palców (ang. *fetlock*), to tylko jedna z form ujawniania się wady (fenotyp przypominający

wadę CVM występuje u myszy ze zmutowanym genem Fringe). Wyodrębniono grupę potencjalnych nosicieli CVM oraz określono stopień zagrożenia tym defektem polskiej hodowli bydła czarno-białego. Stwierdzono [18], że w polskim rejestrze buhajów reprodukcyjnych występuje ok. 300 wnuków światowego protoplasty CVM. Wykazano przy tym, że genom głównego światowego protoplasty CVM jest także obciążony mutacją D128G (allelelem BL), co wskazuje na istnienie ścisłego związku między występowaniem wrodzonego niedoboru leukocytarnych cząsteczek adhezyjnych oraz zespołu zniekształceń kręgosłupa. Ponieważ jednak allel CV oraz allel BL segregują niezależnie (*locus* genu CD18 znajduje się w autosomie nr 1, natomiast *locus* genu SLC35A3 umiejscowiono w autosomie nr 3), prowadzenie selekcji negatywnej na allel BL, co ma miejsce także w Polsce, nie eliminuje z puli genowej populacji allelu CV. Rezultatem prac nad mutacjami genomu bydła istotnymi gospodarczo jest także molekularna procedura PCR-RFLP przystosowana do badań rutynowych, umożliwiającą monitorowanie w genomie bydła mutacji DUMPS (niedobór syntazy urydynomonofosforanowej – ang. *deficiency of uridine monophosphate syntase*) wpływającej na obumieranie zarodków w okresie ich implantacji w macicy. W ramach tych badań opracowano także procedurę automatycznego sekwencjonowania genu UMPS, która może być wykorzystana w różnicowej analizie etiologii zaburzeń niepłodności u krów [22].

Mapowanie w genomie świń *loci* dla cech ilościowych (QTLs)

Od 10 lat realizowane są w Polsce badania mające na celu identyfikację genów i mutacji, których udział w kształtowaniu tuszy świń jest znaczący [1, 4, 33, 38, 43, 44, 67, 70]. Celem prac jest mapowanie genów zaangażowanych w procesy kształtowania jakości tuszy. Dla potrzeb prowadzenia badań utworzono rodzinę referencyjną z wykorzystaniem loch rasy wielka biała polska (wbp) i knurów rodzimej rasy – złotnickiej pstrej. Obok tzw. klasycznych markerów genetycznych, takich jak: grupy krwi i polimorficzne białka krwi (określanych mianem markerów klasy I), wprowadzono do analiz nowe elementy – mikrosatelitarne sekwencje DNA (określane w międzynarodowym nazewnictwie mianem markerów klasy II). W analizach molekularno-statystycznych, obejmujących także kontrolę użytkowości rzeźnej materiału ze wspomnianej rodziny referencyjnej, zidentyfikowano u świń rejon chromosomu 12, który przypuszczalnie zawiera gen (geny) istotnie wpływające na zawartość sadła w tuszy. Ponadto wytypowano w genomie świń kilka innych regionów, które jak się wydaje, mogą zawierać gen(y) wpływające na grubość słoniny i zawartość mięsa w poszczególnych wyrębach [3, 5, 6, 56]. Wynikiem zwracającym uwagę jest m.in. wykazanie, że niektóre z wariantów (alleli) analizowanych genów występujących u świni rasy złotnickiej pstrej są korzystniejsze dla zawartości mięsa w szynce, od wariantów występujących u rasy wbp. Wynik ten należy uznać za wysoce zaskakujący, gdyż złotnicka

pstra jest powszechnie uważana za rasę o gorszych parametrach pod względem mięsności niż rasa wbp. Za badania „Mapowanie genów wpływających na jakość tuszy świń” ich realizatorzy uzyskali w 1999 r. Nagrodę Zespołową Wydziału Nauk Rolniczych, Leśnych i Weterynaryjnych PAN.

Prace mające na celu identyfikację i mapowanie QTLs w genomie świń kontynuowano uczestnicząc w międzynarodowym projekcie UE: *Identification and mapping of candidate genes for carcass and meat quality traits in pigs*. Polscy naukowcy zlokalizowali w chromosomach 15, 16 i 17 *loci* dla cech ilościowych, istotnie wpływające na wartość niektórych parametrów jakości tuszy i mięsa wieprzowego [37, 53, 54]. Rezultaty podsumowujące wspomniany projekt UE, opublikowano w 2003 r. w numerze specjalnym *Journal of Animal Breeding and Genetics* [12]. W drugiej połowie lat 90. omawiane badania przybrały formę analiz polimorfizmu wybranych genów (tzw. genów kandydujących) istotnych dla jakości tuszy oraz reprodukcji. Część rezultatów opublikowano już w formie odrębnych artykułów [34, 35, 36, 55], a całościowe opracowanie jest obecnie przedmiotem dwóch przygotowywanych rozpraw habilitacyjnych. W wynikach najnowszych badań nad genomem świń, uwagę zwraca zidentyfikowanie nowych mutacji SNPs (ang. *single nucleotide polymorphism*) w genach z rodziny miogeniny – MyoD [68, 69]. Ponadto zsekwencjonowano gen *MYF6* należący do tej rodziny, którego struktura nie była dotychczas poznana [71, 72]. Nowe SNPs, jak i opracowaną sekwencję genu *MYF6*, przyjęto do międzynarodowej bazy danych GenBank (numery dostępu odpowiednio: AY646094, AY692225, AY730780 oraz AY642156, AY238474). Wykazano istotne zależności między występowaniem niektórych z mutacji a cechami użytkowymi świń, zwłaszcza w zakresie tempa przyrostu masy ciała i zawartości mięsa w tuszy świń. Stwierdzono, że tranzycje: *C489T* w 1 eksonie genu *MYOD1* i *C2931T* w 3 eksonie genu *MYF5*, zmieniając sekwencję aminokwasową białek kodowanych przez te geny (odpowiednio *Arg*→*Pro* i *Leu*→*Pro*), mogą wpływać na ich funkcję jako czynników transkrypcyjnych, ze względu na znany, modyfikujący wpływ proliny na strukturę przestrzenną α -helisy. Wykazano także, że w porównaniu z tzw. „dzikimi” sekwencjami genów *MYOD1* i *MYF5*, obecność w genomie świń ich zmutowanych form wiąże się z obniżeniem wartości większości cech jakości tuszy. U loszek rasy pbz i wbp charakteryzujących się zawartością mięsa w tuszy wyższej niż 62–63% i wielkością powierzchni oka połędwicy przekraczającą 60–62 cm² istotnie częściej występowały homozygoty allelu dzikiego względem mutacji genu *MYOD1* niż wśród loszek o niskiej (poniżej 55–56% i 49–50cm²) wartości tych cech. Wyniki te wskazują, że selekcja na „dziki” allel genu *MYOD1* może prowadzić do polepszenia mięsności tuszy. Nowo odkryte mutacje w genie *MYF6* także wykazują związek z niektórymi cechami mięsności i tempa wzrostu świń, lecz efekty te są zależne od rasy. Sugeruje to, że nie są one tzw. mutacjami przyczynowymi, a jedynie markerami innych, nieznanymi mutacji obecnych w genomie, wpływających na cechy tuczne i rzeźne.

Różnorodność biologiczna, filogenetyka molekularna oraz rozpoznawanie śladów biologicznych zwierząt

Udomowienie i hodowla w różnych środowiskach doprowadziły do powstania ok. 4500 ras wytworzonych z ok. 40 dziko żyjących gatunków zwierząt. Jednak w ostatnich dziesięcioleciach nastąpiło znaczne ograniczenie zmienności genetycznej, a selekcja na wysoką produkcję doprowadziła do poważnego naruszenia i osłabienia właściwości adaptacyjnych zwierząt, takich jak odporność na choroby, plenność, itp. Pod auspicjami FAO zapoczątkowano w 1995 r. program ochrony gatunków światowej flory i fauny, którego elementem jest rozpoznawanie i ochrona zasobów genetycznych u gatunków zwierząt gospodarskich. Zasadniczy postęp w badaniach genetycznych stał się możliwy dzięki opanowaniu metod sekwencjonowania DNA. Natomiast technologicznym przełomem było wprowadzenie do laboratoriów aparatów nowej generacji zwanych sekwenatorami DNA, co umożliwiło zautomatyzowanie technik analitycznych i prowadzenie badań na szeroką skalę. Szczególnie skutecznym narzędziem w analizach genomu są wysoce polimorficzne sekwencje DNA, tworzące tandemowe bloki o różnej długości, określane mianem mikrosatelitów DNA. Najobszerniejsze analizy dotyczące bydła hodowanego w Polsce przeprowadzono w ramach europejskiego programu definiowania różnorodności biologicznej ras – *European Concerted Action AIRE2066 for the Analysis of Genetic Diversity to Preserve Future Breeding Options* [47]. W badaniach tych wykorzystano zestaw 30 *loci* i technologię analizy wielkości fragmentów DNA (ang. *DNA size technology*), jednolite dla wszystkich laboratoriów uczestniczących w programie. Na potrzeby testów opracowano własne multipleksy reakcji PCR, które stanowią kolejny postęp w automatyzacji molekularnych analiz DNA. Dysponując nawet niewielką ilością materiału genetycznego wyekstrahowanego ze śladu biologicznego (np. z włosów, śliny, szczątków kostnych lub tkanek miękkich itp.) można przeprowadzić skuteczną analizę w zakresie stwierdzenia obecności danej mutacji w genomie osobnika [28], a nawet zamplifikować (a zatem wykryć) w jednej próbce jednocześnie kilka lub kilkanaście alleli różnych *loci*. Największy z własnych multipleksów umożliwia jednoczesne zidentyfikowanie w jednej reakcji PCR dwunastu alleli mikrosatelitów, a w sytuacji gdy ślad jest anonimowy, umożliwia zidentyfikowanie płci zwierzęcia, od którego pochodzi analizowana próbka DNA. W wynikach prac nad bydłem, uwagę zwraca uzyskanie nowych informacji na temat polimorfizmu mikrosatelitów DNA występujących w genomie rodzimego bydła rasy polskiej czerwonej (pc) z hodowli zachowawczej [29, 48]. Na tle porównań z innymi rasami europejskimi, bydło pc charakteryzuje się wysoką zmiennością genetyczną ($H_e = 0,703$, $H_o = 0,695$, średnia liczba alleli w *locus* = 7,4). Przy ocenie genetycznej unikalności bydła pc, najbardziej istotne wydają się wyniki analizy filogenetycznej oparte na wartości genetycznego dystansu D_{ps} . Procedurę tej kalkulacji oparto na występowaniu w puli genowej populacji alleli mikrosatelitów DNA „specyficznych” dla poszczególnych ras, a więc na kryteriach w pełni obiektywnych.

Wyniki dowodzą, że 80% osobników rasy pc tworzy odrębną, unikalną grupę rasową, a tylko niewielka część populacji (20% osobników) jest rozproszona grupując się wspólnie z osobnikami rasy czb, cb oraz niemieckim simentalem. W świetle omawianych wyników można stwierdzić, że bydło rasy polskiej czerwonej, mimo licznych prób doskonalenia poprzez krzyżowania z innymi rasami, nie utraciło swej genetycznej odrębności, możliwe jest więc odtworzenie czystorasowej populacji. Wykorzystując technologię automatycznego sekwencjonowania DNA oraz startery reakcji PCR stosowane do amplifikacji alleli mikrosatelitów bydła domowego wykonano także analizy dotyczące polimorfizmu mikrosatelitów DNA u żubrów [14].

W badaniach mikrosatelitów DNA u koni zidentyfikowano dwa nowe *loci*: EA2C4 i EB2E8 [13]. Informacje na ten temat weszły do światowego piśmiennictwa i bazy danych EMBL (*European Molecular Biology Laboratory*) pod numerami dostępu odpowiednio – Z29341 i Z29340. Analizy polimorfizmu wielkości alleli w *loci* EA2C4 i EB2E8 oraz dane dotyczące polimorfizmu 15 innych *loci* mikrosatelitów wykorzystano do charakterystyki zróżnicowania genetycznego polskiej populacji koni arabskich czystej krwi oraz koni pełnej krwi angielskiej. Naukowcy z IGiHZ PAN oraz z Zakładu Hodowli Koni i Agroturystyki AR w Poznaniu, uczestniczyli w międzynarodowym programie mapowania genomu konia IEGMW – *International Equine Gene Mapping Workshop*, prowadząc analizy 28 markerów mikrosatelitarnych na międzynarodowym materiale referencyjnym. Uzyskano znaczny postęp w rozbudowie mapy genetycznej konia lokalizując 18 markerów w określonych grupach sprzężeniowych i chromosomach [52].

Najnowszym nurtem krajowych badań immunogenetycznych jest filogenetyka molekularna. Jej wielowątkowość wynika z odmienności struktury i funkcji mitochondrialnego DNA (mtDNA), odmiennych procesów jego replikacji i transkrypcji oraz faktu iż genetyczny kod mtDNA nie jest identyczny z kodem jądrowym. Specyficzne właściwości mtDNA unaocznily jego przydatność w badaniach, w których istnieje potrzeba dokonywania retrospektywnych analiz archiwalnych śladów biologicznych, szczątków kopalnych itp. Mutacje występujące w obrębie pętli D mtDNA mają charakter neutralny, a wobec braku niektórych mechanizmów naprawczych, częstość ich występowania jest dużo wyższa niż w DNA jądrowym. Stopień skumulowania tych zmian jest więc funkcją czasu. Wykorzystując ten fakt pod kątem datowania procesu ewolucyjnego, odtworzyć można proces dywergencji gatunków lub populacji oraz określić relacje genetyczne między taksonami. Natomiast obszar kodujący w genomie mtDNA zawiera geny kodujące będące podjednostkami syntazy ATP lub kompleksów łańcucha oddechowego, a także 24 cząsteczki RNA. Mutacje zachodzące w obrębie sekwencji tych genów mogą mieć charakter przystosowawczy, a ich występowanie wiąże się niekiedy z dysfunkcjami lub chorobami. Ponieważ geny kodowane przez mtDNA są wyłącznie po matce, analiza sekwencji mtDNA może być skuteczna nawet w sytuacji, gdy anonimowe próbki oraz porównywane z nimi próbki pochodzące od przypuszczalnych spokrewnionych osobników dzielą liczne pokolenia.

Brak rekombinacji w obrębie mtDNA sprawia, że niezależnie od tego jak liczne pokolenia dzielą osobniki linii żeńskiej, ich genom mitochondrialny pozostaje niezmienny.

Obecnie głównym elementem prowadzonych badań jest rozpoznawanie pochodzenia anonimowych śladów biologicznych (identyfikacja gatunków) oraz określanie genetycznych współzależności między taksonami, na podstawie analizy polimorfizmu sekwencji mtDNA [57]. Zidentyfikowano już sekwencje obejmujące region genomu mtDNA 14897-15170, które są charakterystyczne dla człowieka, 14 gatunków zwierząt gospodarskich oraz wybranych gatunków dziko żyjących [58]. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w światowej bazie danych GenBank (numery dostępu od AY840094 do AY840108). Stwierdzono m.in., że sekwencja człowieka różni się od sekwencji pozostałych gatunków co najmniej 70 podstawieniami nukleotydowymi co dowodzi, że prawdopodobieństwo odróżnienia na tej podstawie śladów ludzkich od zwierzęcych jest tożsame z pewnością, a dyskryminacja tego układu przy rozpoznawaniu próbek pochodzących od zwierząt, nawet z pokrewnych grup taksonomicznych, jest bardzo wysoka [59]. Nadto wykazano, że polimorfizm sekwencji genu *cytb* mtDNA jest modelem biologicznym dobrze odwzorowującym historię specjacji różnych taksonów, zwłaszcza gatunków z rodziny *Bovidae*.

Podsumowanie

W minionym 50-leciu 26 pracowników IGiHZ PAN zajmujących się immunogenetyką uzyskało stopień doktora nauk rolniczych – wielu z wyróżnieniem. Pięć osób uzyskało stopień doktora habilitowanego (dwie kolejne rozprawy są poważnie zaawansowane), a czworgu nadano tytuł naukowy profesora. Dane te nie obejmują osób spoza Instytutu, które odegrały lub odgrywają wybitną rolę w nauce, a uzyskały stopnie i tytuł naukowy współpracując z Zakładem lub będąc pod jego merytoryczną opieką. Niemal wszystkie nowe kierunki badań immunogenetycznych rozwijanych w IGiHZ PAN stały się inspiracją podjęcia podobnej problematyki w innych polskich placówkach, często przez naukowców, którzy odbywali w Jastrzębcu staże i szkolenia. Szczególnie owocny w tym względzie był okres 1986–1990 r., kiedy w ramach problemu centralnego „Genetyczne i fizjologiczne podstawy wzrostu produkcji zwierząt gospodarskich z wykorzystaniem biotechnik” Zakład Immunogenetyki Zwierząt sprawował merytoryczny nadzór i kierował grupą tematyczną „Immunogenetyczne i immunologiczne markery sprawności biologicznej organizmu”. Od początku zainicjowania w Polsce badań z dziedziny immunogenetyki zwierząt, ich główny nurt dotyczy układów wpływających na zdolności adaptacyjne i zdrowie zwierząt oraz identyfikacji markerów przydatnych w selekcji i chowie zwierząt gospodarskich. Techniki badawczo-identyfikacyjne przeszły znaczącą ewolucję – od definiujących genetyczne podstawy występowania grup krwi u zwierząt, poprzez interdyscyplinarne badania nad markerami cech fizjologicznych, do badań molekularnych mających na

celu identyfikację genów i ich wariantów warunkujących produktywność zwierząt, zdrowotność oraz bioróżnorodność gatunków i ras. Prace z dziedziny immunogenetyki zwierząt coraz bardziej nabierają charakteru właściwego genomice funkcjonalnej, gdyż efekty hodowlano-produkcyjne istotne dla selekcji lub nadzoru weterynaryjnego są bezpośrednio konfrontowane ze zmianami (polimorfizmem) sekwencji DNA poszczególnych genów lub ich ekspresją. W charakterystyce dotychczasowych dokonania badań z dziedziny immunogenetyki, obok znaczących poznawczych walorów prac, uwagę zwraca ich praktyczne wykorzystanie w hodowli [27]. Wiele z pionierskich zagadnień podjętych w Zakładzie w mijającym półwieczu stanowi modelowe przykłady, jak zainicjowane *ab ovo* badania podstawowe mogą podlegać korzystnym zmianom i stopniowo przeobrażać się w badania podstawowo-stosowane, by wreszcie stać się trwałym elementem praktyki hodowlanej.

Badania prowadzone w Zakładzie zostały nagrodzone licznymi nagrodami naukowymi.

Literatura

-
- [1] Blicharski T., Kurył J., Pierzchała M. 2004. Zależności między polimorfizmem w *loci* kopipazy a najważniejszymi cechami użytkowości tucznej i rzeźnej świń ze szczególnym uwzględnieniem poziomu tłuszczu śródmięśniowego. *Pr. Mat. Zoot.* 15: 41–46.
 - [2] Čepica S., Hradecký J., Hojný J., Kurył J., Grzybowski G. 1986. Localization of the Po2 locus in the S, PHI, HAL, H, Po2, PGD linkage group in pig. *Anim. Genet.* 17: 283–286.
 - [3] Cieślak D., Blicharski T., Kapelański W., Pierzchała M. 2003. Investigation of polymorphism in the porcine myostatin (GDF8; MSTN) gene. *Czech J. Anim. Sci.* 48: 69–75.
 - [4] Cieślak D., Kapelański W., Blicharski T., Pierzchała M. 2000. Restriction fragment length polymorphisms in *myogenin* and *myf3* genes and their influence on lean meat content in pigs. *J. Anim. Breed. Genet.* 117: 43–55.
 - [5] Cymerowska-Prokopczyk I., Pierzchała M., Korwin-Kossakowska A. 1999. The Polish „Pig genome mapping” project. VIII. Polymorphism of microsatellite sequences in the introns of apolipoprotein APOA1 and APOB genes. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17: 35–44.
 - [6] Cymerowska-Prokopczyk I., Pierzchała M., Szydłowski M., Łukaszewicz M., Korwin-Kossakowska A., Kurył J. 1999. The Polish „Pig genome mapping” project. IX. Polymorphism of apolipoprotein genes APOA1 and APOB and its value in mapping genes affecting fattening and slaughter traits in F2. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17(1): 45–57.
 - [7] Czaja M., Gasparski J. 1960. Some red cell antigens of *Bison bonasus* as compared to red cell antigens of domestic cattle. *Nature* 185, 4707: 185–186.
 - [8] Gasparska J. 1969. Prace naukowo-badawcze nad polimorfizmem antygenów krwinkowych, hemoglobiny i białek surowicy krwi zwierząt domowych, w okresie ostatnich 10 lat (1955–1966) w Polsce. *Biul. ZHDZ PAN* 16: 41–55.
 - [9] Gasparski J., Dubiski S. 1962. Studies of the antigenic factors of the blood of Aurochs (*Bison bonasus*). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 97: 285–295.

- [10] Gasparski J., Gasparska J. 1960. Ugrupowania grup krwi u bydła i analiza ich dziedziczenia. Próby ustalenia pochodzenia na podstawie fenotypów i genotypów grup krwi. *Rocz. Nauk Rol.* 76-B-3: 547–563.
- [11] Gasparski J., Gerner-Nowak A. 1963. Investigations of antigenic factors of the FV blood system in Aurochs (*Bison bonasus*). *Immunogenetics Letter* 3: 65–67.
- [12] Geldermann H., Müller E., Moser G., Reiner G., Bartenschlager H., Čepica S., Stratil A., Kurył J., Moran C., Davoli R., Brunsch C. 2003. Genome-wide linkage and QTL mapping in porcine F2 families generated from Pietrain, Meishan and Wild Boar crosses. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 363–393.
- [13] Gralak B., Coppieters W., van de Weghe A. 1994. Two new equine dinucleotide repeat microsatellites at the EA2C4 and EB2E8 loci. *Anim. Genet.* 25: 285.
- [14] Gralak B., Krasińska M., Niemczewski C., Krasiński Z., Żurkowski M. 2004. Polymorphism of bovine microsatellite sequences in the lowland European bison. *Acta Theriol.* 49 (4): 499–456.
- [15] Grzybowski G., Lubieniecki K., Grodzicka M. 1995. Potencjalne nosicielstwo mutacji BLAD u buhajów rasy hf importowanych do Polski. *Pr. Mat. Zoot.* 47: 71–76.
- [16] Grzybowski G. 1974. The relationship between the frequency of occurrence of B-alleles of blood groups and the frequency of occurrence of the same B-alleles in homozygous form in cattle. *Pr. Mat. Zoot.* 5: 125–132.
- [17] Grzybowski G. 1997. Wybrane praktyczne aspekty technik molekularnych-PCR-RFLP i automatycznego sekwencjonowania DNA – w badaniach genomu zwierząt gospodarskich. *Pr. Mat. Zoot.* 50: 41–67.
- [18] Grzybowski G. 2003. Zespół zniekształceń kręgosłupa – jego konsekwencje w hodowli bydła. *Med. Wet.* 59(2): 107–111.
- [19] Grzybowski G., Duniec M., Kościelny M. 1992. Involvement of S and A blood group loci in transplantation reactions in cattle. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 10: 5–10.
- [20] Grzybowski G., Duniec M., Leveziel H. 1993. Determination of genotypes in the BoLA and M blood group loci in cattle using the genetic and serologic relationship between erythrocyte and lymphocyte antigens. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 11: 263–269.
- [21] Grzybowski G., Grzybowski T., Prusak B., Miścicka-Śliwka D. 1999. Sequence of the bovine CD18 gene fragment coding putative site of subunit association in Leu-CAM receptors. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17(4): 195–207.
- [22] Grzybowski G., Grzybowski T., Woźniak M., Chacińska-Buczek I., Smuda E., Lubieniecki K. 1998. Badania przesiewowe na obecność genu wczesnej obumieralności zarodków DUMPS u bydła hodowanego w Polsce. *Med. Wet.* 54(3): 189–193.
- [23] Grzybowski G., Koch J., Margan U. 1995. High level of linkage disequilibrium between JACSAL and BoLA alleles in cattle. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 13: 89–95.
- [24] Grzybowski G., Kurył J., Hradecký J., Hojny J. 1986a. Dowody genetyczne uszeregowania markerów grupy sprzężeniowej wrażliwości na halotan u świń. IX Walny Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetycznego, Gdańsk: 173.
- [25] Grzybowski G., Kurył J., Hradecký J., Hojny J. 1986b. Niezupelna penetracja genu wrażliwości halotanowej (HALⁿ) u świń. IX Walny Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetycznego, Gdańsk: 172.
- [26] Grzybowski G., Lubieniecki K., Lubieniecka J. 1999. Nowy test diagnostyczny PCR-RFLP stosowany do wykrywania mutacji D128G w genomie bydła. *Med. Wet.* 55(7): 468–470.

- [27] Grzybowski G., Lubieniecki K., Lubieniecka J., Prusak B., Reklewski T., Gebler M. 2000. Poznawcze i praktyczne aspekty badań prowadzonych w IGHZ nad polimorfizmem wybranych genów oraz mikrosatelitów DNA bydła. *Pr. Mat. Zoot.* 57: 7–24.
- [28] Grzybowski G., Marzec L., Łazowy D., Lubieniecki K. 1994. Molecular typing of cattle on the basis of DNA extracted from a single hair root. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 12: 147–150.
- [29] Grzybowski G., Prusak B. 2004. Genetic variation in nine European cattle breeds as determined on the basis of microsatellite markers. III. Genetic integrity of the Polish Red cattle included in the breeds preservation programme. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 22(1): 45–56.
- [30] Grzybowski G., Simon M., Węgrzyn J., Schröffel J., Duniec M. 1995. Mapping of the JACSAL locus in cattle on the basis of its association with the bovine major histocompatibility complex (BoLA) and M blood group locus. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 13: 97–103.
- [31] Grzybowski G., Składanowska-Krzyżanowska E. 1980. Rozwój badań nad genetycznym polimorfizmem grup krwi i białek krwi u zwierząt w okresie 25-letniej działalności Zakładu Immunogenetyki Zwierząt Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN. *Post. Nauk Rol.* 1: 79–98.
- [32] Grzybowski G., Żurkowski M. 1979. The influence of B-allele variation in the sires and dams on variability of blood groups in black-and-white cattle. *Pr. Mat. Zoot.* 18: 9–16.
- [33] Kłosowska D., Kurył J., Elminowska-Wenda G., Kapelański W., Walasik K., Pierzchała M., Cieślak D., Bogucka J. 2004. A relationship between the PCR-RFLP polymorphism in porcine *MYOG*, *MYOD1* and *MYF5* genes and microstructural characteristics of *m. longissimus lumborum* in Pietrain × (Polish Large White × Polish Landrace) crosses. *Czech J. Anim. Sci.* 49: 99–107.
- [34] Korwin-Kossakowska A., Kamyczek M., Cieślak D., Pierzchała M., Kurył J. 2003. Candidate gene markers for reproductive traits in Polish 990 pig line. *J. Anim. Breed. Genet.* 120: 181–191.
- [35] Korwin-Kossakowska A., Pierzchała M., Cymerowska-Prokopczyk I., Szydłowski M., Kurył J., Żurkowski M., Kamyczek M., Janik A. 2001. The Polish „Pig Genome Mapping” project. XIII. Identification of quantitative trait loci affecting carcass fat deposition. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 19(1): 27–42.
- [36] Korwin-Kossakowska A., Sender G., Kurył J. 2004. Associations between the microsatellite DNA sequence in the IGF1 gene, polymorphism in the ESR gene and selected reproduction traits in F1 (Złotnicka Spotted × Polish Large White) sows. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 22 (2): 215–226.
- [37] Kurył J., Pierzchała M., Hojny J., Reiner G., Bartenschlager H., Moser G., Geldermann H. 2003. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 15. *J. Anim. Breed. Genet.* 120, s1: 119–125.
- [38] Kurył J. 1998. Geny oddziałujące na jakość tuszy i mięsa świń. *Pr. Mat. Zoot. (Zeszyt Specjalny)* 8: 9–17.
- [39] Kurył J. 2000. Geny cech ilościowych zwierząt gospodarskich – aktualny stan badań. *Pr. Mat. Zoot.* 56: 7–50.
- [40] Kurył J., Gasparska J. 1976. Observation on blood plasma postalbumins and hatchability of chicken. *Anim. Blood Grps. Biochem Genet.* 7: 241–246.
- [41] Kurył J., Gasparska J. 1985. The difference in plasma proteins pattern between laying and non-laying chickens, quails and geese. *Comp. Bioch. Physiol.* 80B: 309–313.
- [42] Kurył J., Juneja R.K., Gahne B. 1986. A fourth allele in the plasma esterase-1 (ES-1) system of the domestic fowl. *Anim. Genet.* 17: 89–94.

- [43] Kurył J., Kapelański W., Kłosowska D. 2004. Możliwości wykorzystania wybranych genów kształtujących rozwój tkanki mięśniowej w doskonaleniu jakości tuszy i mięsa świń. *Pr. Mat. Zoot.* 15: 19–26.
- [44] Kurył J., Kapelański W., Pierzchała M., Bocian M., Grajewska S. 2003. A relationship between genotypes at the GH and LEP *loci* and carcass meat and fat deposition in pigs. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 21: 15–26.
- [45] Kurył J., Korwin-Kossakowska A. 1993. Genotyping of HAL *locus* by PCR method explains some cases of incomplete penetrance of HALn gene. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 11(4):271–277.
- [46] Kurył J., Żurkowski M., Różycki M., Duniec M., Pierzchała M., Korwin-Kossakowska A., Janik A., Kamyczek M., Szydłowski M., Cymerowska-Prokopczyk I., Czerwiński S., Świtoński M. 1998. Genes affecting meat and fat content in carcass pig – recapitulation of Polish project „Pig genome mapping”. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 7/48: 70–76.
- [47] Lubieniecka J., Grzybowski G., Lubieniecki K. 2001. Genetic variation in nine European cattle breeds as determined on the basis of microsatellite markers I. Within-breed variation. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 19(4): 249–264.
- [48] Lubieniecka J., Grzybowski G., Lubieniecki K., Żurkowski M. 2000. Microsatellite-based genetic diversity in the Polish Red cattle population kept under the national preservation programme. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 18(4): 227–236.
- [49] Lubieniecki K., Grzybowski G. 1997. Diagnostyka molekularna wrodzonego niedoboru leukocytarnych cząsteczek adhezyjnych (BLAD) u bydła. *Med. Wet.* 53(4): 214–217.
- [50] Lubieniecki K., Grzybowski G., Łukaszewicz M., Lubieniecka J. 1999. Association between presence of the BL allele in dairy cows’ genome and their productivity. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17(4): 189–194.
- [51] Matoušek J., Grzybowski G., Řícha J., Picha J., Pichova D. 1993. Production of antibodies against pig follicotropin (pFSH) and their influence on homologous FSH, ovulation and number of offspring in mouse, sheep and cow. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 11: 33–39.
- [52] Penedo M.C.T., Millon L.V., Bernoco D., Bailey E., Binns M., Cholewiński G., Ellis N., Flynn J., Gralak B., Guthrie A., Hasegawa T., Lindgren G., Lyons L.A., Roed K.H., Swinburne J.E., Tozaki T. 2005. International Equine Gene Mapping Workshop: A comprehensive linkage map constructed with data from new markers and merging four mapping resources. *Cytogenet. Genome Res.* 111(1): 5–15.
- [53] Pierzchała M., Cieslak D., Reiner G., Bartenschlager H., Moser G., Geldermann H. 2003a. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 17. *J. Anim. Breed. Genet.* 120, s1: 132–137.
- [54] Pierzchała M., Kurył J., Reiner G., Bartenschlager H., Moser G., Geldermann H. 2003b. Linkage and QTL mapping for *Sus scrofa* chromosome 16. *J. Anim. Breed. Genet.* 120, s1: 126–131.
- [55] Pierzchała M., Blicharski T., Kurył J. 2004. Growth rate and carcass quality in relation to GH/MspI and GH/HaeII PCR-RFLP polymorphism in pigs. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 22: 57–64.
- [56] Pierzchała M., Korwin-Kossakowska A., Cymerowska-Prokopczyk I., Szydłowski M., Kurył J., Żurkowski M., Kamyczek M., Janik A. 2001. The Polish „Pig Genome Mapping” project. XII. Identification of quantitative trait *loci* affecting carcass proportions and meat deposition. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 19(1): 5–26.

- [57] Prusak B., Grzybowski G., Zięba G. 2004. Taxonomic position of *Bison bison* (LINNAEUS, 1758) and *Bison bonasus* (LINNAEUS, 1758) as determined by means of *cytb* gene sequence. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 22 (1): 27–35.
- [58] Prusak B., Grzybowski T. 2004. Non-random base composition in codons of mitochondrial cytochrome b gene in vertebrates. *Acta Biochim. Pol.* 51(4): 897–905.
- [59] Prusak B., Grzybowski T., Gralak M., Grzybowski G. 2005. Przydatność analizy sekwencji genu cytochromu b mitochondrialnego DNA do określania pochodzenia śladów biologicznych zwierząt i ludzi. *Med. Wet.* 62(2): 162–165.
- [60] Simon M., Hruban V., Grzybowski G. 1988. Interspecies cross-reactivity of bovine lymphocytotoxic sera with pig lymphocytes. *Anim. Genet.* 17: 283–286.
- [61] Składanowska E., Żurkowski M., Wiatroszak I., Filipiak W. 1979. Polymorphism of the blood serum proteins of wild pigs. *Anim. Blood Grps. Biochem. Genet.* 10: 361–364.
- [62] Spryszak A. 1955. Cechy krwi bydła w Polsce wg izoaglutynin w surowicach normalnych. *Post. Nauk Rol.* 5: 54–70.
- [63] Spryszak A. 1956. Doświadczalne przetaczanie krwi u bydła jako przyczynek do wytwarzania surowic izoodpornościowych. *Post. Nauk Rol.* 3: 35–47.
- [64] Spryszak A., Alexandrowicz S., Żurkowski M., Kaczmarek A., Wiatroszak I. 1964. Studies on blood groups of domestic animals in Poland. *Genet. Pol.* 5: 147–148.
- [65] Spryszak A., Romaniuk J. 1960. Grupy krwi u bydła w ustalaniu pochodzenia cieląt po sztucznym unasienianiu krów. *Med. Wet.* 6: 358–364.
- [66] Spryszak A., Tomaszewska K. 1966. Próba wykazania typów beta-globulin w surowicy krwi bydła rozdzielonych na żelu skrobiowym uzyskanym z handlowej mąki ziemniaczanej. *Biul. ZHDZ PAN* 9: 15–22.
- [67] Urbański P. 2003. Geny warunkujące tempo wzrostu i otluszczenie tuszy świń. *Pr. Mat. Zoot. Monografie i Rozprawy* 6: 49–65.
- [68] Urbański P., Kurył J. 2004a. New SNPs in the coding and 5', flanking regions of porcine MYOD1 (MYF3) and MYF5 genes. *J. Appl. Genet.* 45(3): 325–329.
- [69] Urbański P., Kurył J. 2004b. Two new SNPs within exon 1 of the porcine MYOD1 (MYF3) gene and their frequencies in chosen pig breeds and lines. *J. Anim. Breed. Genet.* 121: 204–208.
- [70] Wszyńska-Koko J. 2003. Geny warunkujące mięsność tuszy i jakość mięsa świń. *Pr. Mat. Zoot. Monografie i Rozprawy* 6: 21–48.
- [71] Wszyńska-Koko J., Kurył J. 2004. Porcine MYF6 gene – sequence, homology analysis and variation in the promoter region. *Anim. Biotechnol.* 15(2): 1–15.
- [72] Wszyńska-Koko J., Kurył J., Flisikowski K. 2004. Partial sequence of porcine MYF6 gene, its comparative analysis and novel polymorphism of the region coding for basic domain. *Biochem. Genet.* 42(11–12), 411–418
- [73] Żurkowski M. 1959. Dochodzenie ojcostwa u bydła na podstawie znajomości grup krwi. *Post. Nauk Rol.* 6: 59–69.
- [74] Żurkowski M., Kurył J. 1992. A new genetic variant Z2 in the Pi system of horses. *Anim. Genet.* 23: 279–282
- [75] Żurkowski M., Kurył J., Grzybowski G. 1989. A group of linked loci including HALⁿ gene conditioning halothane sensitivity of pigs. I. Preliminary studies of the linkage groups models in Norwegian landrace pigs. *Genet. Pol.* 30: 89–96.

Development of animal immunogenetics in Poland and the contribution of research conducted within this field to the progress of agricultural sciences

Key words: blood groups, biochemical polymorphism, parentage control, genetic defects, quantitative trait loci – QTL, microsatellites, biodiversity, mtDNA, molecular phylogenetics

Summary

Paper presents the history and results of national research on animal immunogenetics, initiated in 1955 by the Department of Experimental Animal Breeding, PAS (presently Institute of Genetics and Animal Breeding, PAS) as the analyses of serological properties of erythrocyte antigens of different animal species. Tying to outcomes past fifty years the research ideas on future in cognitive and practical aspects have been introduced. In the last twenty years the main aims of research were the genetic arrangements associated with adaptive abilities and health as well as the genetic markers useful in selection of farm animals. The main research topics comprise:

- studies of genetic and serological arrangement of *major histocompatibility complex* (MHC) in swine (SLA), cattle (BoLA) and sheep (OLA) and the connection of MHC with reproduction,
- studies of linkage group of *loci* on swine chromosome 6 (stress susceptibility, fattened output, dressing yield, PSE syndrom),
- molecular analyses of gene mutations in cattle and swine genomes, connection of the mutations with the resistance to disorders, reproduction and economic results of the production,
- mapping of QTLs in swine genome,
- biological diversity of cattle and horse estimated on the basis of polymorphism in loci for DNA microsatellites,
- molecular phylogenetics – polymorphism of mitochondrial and nuclear DNA utilised in protection of genetic resources and identification of anonymous biological specimen.

Authors concentrated especially on presenting those results of the research performed in Department of Animal Immunogenetics which have been already introduced into practice or it is predicted that could be applied in animal husbandry and veterinary control in near future.