

MATEUSZ SZWEDA, MARCIN ŚWIĄTEK, ROMAN NIŻNIKOWSKI, GRZEGORZ CZUB

Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

## **PORÓWNANIE WRZOSÓWKI POLSKIEJ Z POLSKĄ OWCĄ DŁUGOWEŁNIŚCĄ ODMIANY POMORSKIEJ W ZAKRESIE POLIMORFIZMU GENU BIAŁKA PRIONOWEGO *PrP***

COMPARISON OF POLYMORPHISM OF THE *PrP* PRION PROTEIN GENE  
IN POLISH HEATH SHEEP AND POLISH POMERANIAN LONGWOOL SHEEP

**Streszczenie.** Badania wykonano w gospodarstwie indywidualnym położonym w woj. warmińsko-mazurskim na owcach rasy wrzosówka polska (26 macierek i 2 tryki) i polska owca długowełnista odmiany pomorskiej (37 macierek i 3 tryki). Wszystkie zwierzęta poddano identyfikacji genu białka prionowego *PrP*. Stwierdzono występowanie dwóch alleli (ALRR i ALRQ) i dwóch genotypów (ALRR/ALRR i ALRR/ALRQ) u wrzosówki polskiej oraz czterech alleli (ALRR, ALRQ, ALHQ i VLRQ) i czterech genotypów (ALRR/ALRR, ALRR/ALRQ, ALRR/ALHQ i ALRR/VLRQ) u polskiej owcy długowełnistej odmiany pomorskiej, istotnie różniących się pod względem frekwencji. Wszystkie badane owce w obu stadach były nosicielami allelu ALRR, opornego genetycznie na trzęsawkę klasyczną i atypową. Jedynie 5 macierek polskiej owcy długowełnistej odmiany pomorskiej miało allel VLRQ i powinny one zostać wyeliminowane ze stada. Badania wskazały na konieczność opracowania programu hodowlanego, w szczególności dla polskiej owcy długowełnistej odmiany pomorskiej, którego celem byłoby całkowite wyeliminowanie z populacji nosicieli allelu VLRQ, nieopornego na kliniczne formy trzęsawki klasycznej.

**Słowa kluczowe:** owce, *PrP*, rozkład alleli i genotypów

### **Wstęp**

Polimorfizm genu białka prionowego *PrP*, odpowiedzialnego za występowanie trzęsawki u owiec, był tematem wielu opracowań naukowych, tak zagranicznych (Gombajav i in., 2003; Lühken i in., 2004; O'Doherty i in., 2001), jak i krajowych (Niżnikowski i in., 2006, 2013, 2014; Rejduch i in., 2009). W opracowaniach tych wykazano, że istnieje dość duże zróżnicowanie pomiędzy rasami w zakresie częstotliwości występowania

nia alleli i genotypów trzęsawki. Wydaje się, iż szczególnie cenne są wyniki uzyskane w odniesieniu do wrzosówki, u której dotychczas nie wykryto białka prionowego zawierającego walinę w kodonie 136 (Niżnikowski i in., 2006, 2013, 2014; Rejduch i in., 2009). Allele zawierające ten aminokwas są odpowiedzialne za genetyczną podatność na trzęsawkę. Biorąc pod uwagę fakt, że u wrzosówki dotychczas tego uwarunkowania nie stwierdzono, można tę rasę wykorzystywać w badaniach porównawczych z innymi rasami w zakresie oceny frekwencji alleli i genotypów białka prionowego. Z tego też względu celem niniejszych badań było porównanie w tym zakresie wrzosówki z polską owcą długowielnią odmiany pomorskiej.

## Material i metody

Badania wykonano na owcach rasy wrzosówka polska (26 macierek i 2 tryki) i polska owca długowielnią odmiany pomorskiej (37 macierek i 3 tryki), pochodzących z gospodarstwa indywidualnego zlokalizowanego w środkowopółnocnej części województwa warmińsko-mazurskiego. Stada zakładano poprzez losowy skup dostępnych na rynku zwierząt, które w dniu badań były w wieku od 2 do 4 lat. DNA izolowano z leukocytów. W celu otrzymania wysokiej jakości DNA, nadającego się po zamrożeniu i rozmrożeniu do wielokrotnego użycia, krew została wstępnie oczyszczona z powodujących modyfikacje DNA związków hemu przez usunięcie produktów lizy erytrocytów. Określanie alleli białka prionowego prowadzono systemem KASPar®, metodą polimorfizmu punktowego SNP (tab. 1). Na podstawie odczytu genotypowanych prób DNA w obrębie ras u matek stada podstawowego i tryków rozplodowych przedstawiono frekwencje alleli i genotypów białka prionowego. Do obliczeń statystycznych wykorzystano pakiet statystyczny SPSS w wersji 21.0 (Statistical Product..., 2012). Za pomocą

Tabela 1. Startery oraz miejsca genotypowania SNP dla locus białka prionowego  
Table 1. Primers and SNP genotyping places of the locus of the prion protein

Kodon Codon	Startery 3'-5' Primers 3'-5'	SNP	Zmiany genotypowania Changes of genotyping	Lokalizacja Localization
171	CACAGTCAGTGAACAAGCC/ CTTTGCCAGGTTGGGG	AY909542:g.385 A > G	A/G	Ekson 3 Exon 3
171		AY909542:g.386 G > T	G/T	Ekson 3 Exon 3
136		AY909542:g.479 C > T	C/T	Ekson 3 Exon 3
141		AY909542:g.493 C > T	C/T	Ekson 3 Exon 3
154		AY909542:g.534 G > A	G/A	Ekson 3 Exon 3

testu  $\chi^2$  oceniono wyliczone frekwencje alleli i genotypów białka prionowego w zależności od rasy oraz rasy i płci.

## Wyniki

Wyniki dotyczące frekwencji alleli przedstawiono w tabelach 2 i 3. U wrzosówki polskiej stwierdzono występowanie dwóch alleli (ALRR i ALRQ), a u owcy pomorskiej – czterech (ALPR, ALRQ oraz ALHQ i VLRQ) (tab. 2). U owcy pomorskiej frekwencja allelu ALRR była znacznie większa niż u wrzosówki, a frekwencja allelu ALRQ – mniejsza. Rozkład frekwencji występowania alleli u obu ras był istotnie statystycznie różny. Nie stwierdzono różnic we frekwencji alleli pomiędzy płciami (tab. 3), co prawdopodobnie miało związek z małą liczbą tryków objętych obserwacjami. Za bardzo cenny wynik należy uznać brak allelu VLRQ u tryków owcy pomorskiej. Na częste występowanie tego allelu u tej rasy owiec wskazywano wcześniej w innych pracach (Niżnikowski i in., 2006; Rejduch i in., 2009), jednak w świetle przeprowadzonych badań stwierdzono większy polimorfizm alleli białka *PrP* u owcy pomorskiej niż u wrzosówki.

Tabela 2. Frekwencja alleli genu *PRNP* w zależności od rasy  
Table 2. Frequency of alleles of the gene *PRNP* depending on the breed

Rasa Breed	n, %	Allele – Alleles					Istotność statystyczna Statistical significance
		ALRR	ALRQ	ALHQ	VLRQ	ogółem total	
Pomorska Pomeranian sheep	n	55	19	1	5	80	$P \leq 0,05$
	%	68,8	23,7	1,3	6,2	100,0	$P \leq 0,05$
Wrzosówka Polish heath sheep	n	32	24	0	0	56	$P \leq 0,05$
	%	57,1	42,9	0,0	0,0	100,0	$P \leq 0,05$
Ogółem Total	n	87	43	1	5	136	$P \leq 0,05$
	%	64,0	31,6	0,7	3,7	100,0	$P \leq 0,05$

Wyniki oceny frekwencji genotypów białka *PrP* przedstawiono w tabelach 4 i 5. Stwierdzono występowanie dwóch genotypów u wrzosówki (ALRR/ALRR i ALRR/ALRQ) oraz ponadto jeszcze dwóch innych u owcy pomorskiej (ALRR/ALHQ i ALRR/VLRQ). Wykazano istotne różnice we frekwencji genotypów trzęsawki pomiędzy badanymi rasami (tab. 4) oraz brak istotności pomiędzy płciami (tab. 5). Za bardzo korzystny należy uznać fakt, że w obu stadach nie było ani jednej owcy, która nie posiadała allelu ALRR. Z punktu widzenia pracy hodowlanej jest to wynik o dużej wartości, gdyż po wyeliminowaniu ze stada owcy pomorskiej 5 maciorek – nosicieli allelu VLRQ oba stada mogą doskonale służyć do produkcji tryków rozplodowych wolnych od allelu VLRQ, z dużym prawdopodobieństwem przekazywania potomstwu pożądanego allelu

Tabela 3. Frekwencja alleli genu *PRNP* w zależności od rasy i płci  
Table 3. Frequency of alleles of the gene *PRNP* depending on the breed and sex

Rasa Breed	Płeć Sex	n, %	Allele – Alleles				ogółem total	Istotność statystyczna Statistical significance
			ALRR	ALRQ	ALHQ	VLRQ		
Pomorska Pomeranian sheep	♀	n	51	17	1	5	74	NS
		%	63,8	21,2	1,3	6,2	92,5	NS
	♂	n	4	2	0	0	6	NS
		%	5,0	2,5	0,0	0,0	7,5	NS
	♀♂	n	55	19	1	5	80	NS
		%	68,8	23,7	1,3	6,2	100,0	NS
Wrzosówka Polish heath sheep	♀	n	30	22	0	0	52	NS
		%	53,5	39,3	0,0	0,0	92,8	NS
	♂	n	2	2	0	0	4	NS
		%	3,6	3,6	0,0	0,0	7,2	NS
	♀♂	n	32	24	0	0	56	NS
		%	57,1	42,9	0,0	0,0	100,0	NS
Ogółem Total	♀	n	81	39	1	5	126	NS
		%	59,6	28,7	0,7	3,7	92,6	NS
	♂	n	6	4	0	0	10	NS
		%	4,4	2,9	0,0	0,0	7,4	NS
	♀♂	n	87	43	1	5	136	NS
		%	64,0	31,6	0,7	3,7	100,0	NS

NS – brak istotności wpływu.

NS – statistically not significant.

ALRR. W odniesieniu do owcy pomorskiej uzyskana frekwencja genotypów trzęsawki znacznie odbiegała od wyników we wcześniejszych pracach (Niżnikowski i in., 2006; Rejduch i in., 2009), w których stwierdzano znacznie większe zróżnicowanie pod względem polimorfizmu genu białka prionowego, ze szczególnym wskazaniem na większą frekwencję genotypów zawierających allel VLRQ, z homozygotyczną formą włącznie. W ocenianym stadzie nie stwierdzono homozygotycznych genotypów allelu VLRQ, występującego jedynie w układach heterozygotycznych i o znacznie mniejszej frekwencji aniżeli w cytowanych wyżej opracowaniach. Potwierdza to konieczność opracowania programu hodowlanego dla owcy pomorskiej zmierzającego do stanu, jaki występuje u wrzosówki polskiej, tzn. z całkowitym wyeliminowaniem allelu VLRQ. Byłoby to zgodne z Regulacją Komisji Europejskiej nr 2003/100/EC (Regulacja..., 2003) dotyczącą tzw. trzęsawki klasycznej.

Szweda, M., Świątek, M., Niżnikowski, R., Czub, G. (2015). Porównanie wrzosówki polskiej z polską owcą długowielnią odmiany pomorskiej w zakresie polimorfizmu genu białka prionowego *PrP*. Nauka Przyr. Technol., 9, 2, #22. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.2.22

Tabela 4. Frekwencja genotypów genu *PRNP* w zależności od rasy

Table 4. Frequency of genotypes of the gene *PRNP* depending on the breed

Rasa Breed	n, %	Genotypy – Genotypes					Istotność statystyczna Statistical significance
		ALRR/ /ALRR	ALRR/ /ALRQ	ALRR/ /ALHQ	ALRR/ /VLRQ	ogółem total	
Pomorska Pomeranian sheep	n	15	19	1	5	40	$P \leq 0,05$
	%	37,5	47,5	2,5	12,5	100,0	$P \leq 0,05$
Wrzosówka Polish heath sheep	n	4	24	0	0	28	$P \leq 0,05$
	%	14,3	85,7	0,0	0,0	100,0	$P \leq 0,05$
Ogółem Total	n	19	43	1	5	68	$P \leq 0,05$
	%	27,9	63,2	1,5	7,4	100,0	$P \leq 0,05$

Tabela 5. Frekwencja genotypów genu *PRNP* w zależności od rasy i płci

Table 5. Frequency of genotypes of the gene *PRNP* depending on the breed and sex

Rasa Breed	Płeć Sex	n, %	Genotypy – Genotypes				ogółem total	Istotność statystyczna Statistical significance
			ALRR/ /ALRR	ALRR/ /ALRQ	ALRR/ /ALHQ	ALRR/ /VLRQ		
Pomorska Pomeranian sheep	♀	n	14	17	1	5	37	NS
		%	35,0	42,5	2,5	12,5	92,5	NS
	♂	n	1	2	0	0	3	NS
		%	2,5	5,0	0,0	0,0	7,5	NS
♀♂	n	15	19	1	5	40	NS	
	%	37,5	47,5	2,5	12,5	100,0	NS	
Wrzosówka Polish heath sheep	♀	n	4	22	0	0	26	NS
		%	14,3	78,6	0,0	0,0	92,9	NS
	♂	n	0	2	0	0	2	NS
		%	0,0	7,1	0,0	0,0	7,1	NS
♀♂	n	4	24	0	0	28	NS	
	%	14,3	85,7	0,0	0,0	100,0	NS	
Ogółem Total	♀	n	18	39	1	5	63	NS
		%	26,5	57,4	1,5	7,4	92,6	NS
	♂	n	1	4	0	0	5	NS
		%	1,5	5,9	0,0	0,0	7,4	NS
♀♂	n	19	43	1	5	68	NS	
	%	27,9	63,2	1,5	7,4	100,0	NS	

NS – brak istotności wpływu.

NS – statistically not significant.

Dodatkową korzyścią wykonanych badań jest informacja, że w obu stadach w kodonie 141 stwierdzono występowanie tylko aminokwasu I (lizyna), co daje duże prawdopodobieństwo uniknięcia infekcji trzęsawki atypowej, a jest to także nie bez znaczenia dla wartości hodowlanej ocenianych stad.

## Podsumowanie

1. Stwierdzono występowanie dwóch alleli (ALRR i ALRQ) i dwóch genotypów (ALRR/ALRR i ALRR/ALRQ) u wrzosówki polskiej oraz czterech alleli (ALRR, ALRQ, ALHQ i VLRQ) i czterech genotypów (ALRR/ALRR, ALRR/ALRQ, ALRR/ALHQ i ALRR/VLRQ) u polskiej owcy długowielniającej odmiany pomorskiej, istotnie różniących się pod względem frekwencji.

2. Wszystkie badane owce w obu stadach były nosicielami allelu ALRR, opornego genetycznie na trzęsawkę klasyczną i atypową. Jedynie 5 maciorek polskiej owcy długowielniającej odmiany pomorskiej miało allel VLRQ i powinny one zostać wyeliminowane ze stada.

3. Badania wskazały na konieczność opracowania programu hodowlanego, w szczególności dla polskiej owcy długowielniającej odmiany pomorskiej, którego celem byłoby całkowite wyeliminowanie z populacji nosicieli allelu VLRQ, nieopornego na kliniczne formy trzęsawki klasycznej.

## Literatura

- Gombojav, A., Ishiguro, N., Horiuchi, M., Sermyadag, D., Byambaa, B., Shinagawa, M. (2003). Amino acid polymorphisms of *PrP* gene in Mongolian sheep. *J. Vet. Med. Sci.*, 65, 1, 75–81.
- Lühken, G., Buschmann, A., Groschup, M. H., Erhardt, G. (2004). Prion protein allele A<sub>136</sub>H<sub>154</sub>Q<sub>171</sub> is associated with high susceptibility to scrapie in purebred and crossbred German Merinoland sheep. *Arch. Virol.*, 149, 8, 1571–1580.
- Niżnikowski, R., Czub, G., Świątek, M., Ślęzak, M., Głowacz, K. (2014). Polimorfizm genu białka prionowego *PrP* u maciorek i tryczków wrzosówki polskiej utrzymywanych w stadzie Doświadczalnej Fermi Owiec i Kóz Rolniczego Zakładu Doświadczalnego SGGW w Żelaznej. *Nauka Przyr. Technol.*, 8, 2, #25.
- Niżnikowski, R., Głowacz, K., Czub, G., Ślęzak, M., Świątek, M. (2013). Polimorfizm genu białka prionowego *PrP* u krajowych owiec o wełnie mieszanej, merynosa polskiego i muflona europejskiego (*Ovis aries musimon*). *Nauka Przyr. Technol.*, 7, 4, #59.
- Niżnikowski, R., Lühken, G., Strzelec, E., Lipsky, S., Popielarczyk, D., Erhardt, G., Konsorcjum Econogene (2006). Polimorfizm genu *PRNP* w kodonach 136, 154 i 171 u polskich ras owiec. *Med. Wet.*, 62, 8, 938–941.
- O'Doherty, E., Aherne, M., Ennis, S., Weawers, E., Roche, J. F., Sweeney, T. (2001). Prion protein gene polymorphisms in pedigree sheep in Ireland. *Res. Vet. Sci.*, 70, 51–56.
- Regulacja nr 2003/100/EC. Decyzja Komisji Europejskiej w sprawie ustanowienia obowiązku tworzenia schematów hodowlanych prowadzących do zwiększenia genetycznej oporności na trzęsawkę u każdej z ras owiec w Europie. (2003). *Dz. U. UE, L*, 285.

Szweda, M., Świątek, M., Niżnikowski, R., Czub, G. (2015). Porównanie wrzosówki polskiej z polską owcą długowelną odmiany pomorskiej w zakresie polimorfizmu genu białka prionowego *PrP*. *Nauka Przyr. Technol.*, 9, 2, #22. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.2.22

---

Rejduch, B., Knapik, J., Piestrzyńska-Kajtoch, A., Kozubska-Sobocińska, A., Krupiński, J. (2009). Frequency of genotypes in the *PrP* prion protein gene locus in the Polish sheep population. *Acta Vet. Hung.*, 57, 1, 30–49.

Statistical Product and Service Solution base version 21.0 for Windows. (2012). New York: IBM.

## COMPARISON OF POLYMORPHISM OF THE *PrP* PRION PROTEIN GENE IN POLISH HEATH SHEEP AND POLISH POMERANIAN LONGWOOL SHEEP

**Summary.** The study was conducted in individual farm located in Warmia and Mazury voivodeship on Polish heath sheep (26 ewes and 2 rams) and Polish Pomeranian longwool sheep (37 ewes and 3 rams). All animals were subjected to the identification of the *PrP* prion protein gene. In Polish heath sheep two alleles (ALRR and ALRQ) and two genotypes (ALRR/ALRR and ALRR/ALRQ) were found. In the case of Polish Pomeranian longwool sheep four alleles (ALRR, ALRQ, ALHQ and VLRQ) and four genotypes (ALRR/ALRR, ALRR/ALRQ, ALRR/ALHQ and ALRR/VLRQ) were found. Alleles and genotypes differed in terms of frequency. All tested sheep in both flocks were carriers of allele ALRR, genetically resistant to classical scrapie and atypical scrapie. Only 5 Polish Pomeranian longwool sheep ewes had allele VLRQ and should be eliminated from the flock. The obtained results identified the need to develop a breeding program, especially for the Polish Pomeranian longwool sheep, which aim should be to completely eliminate carriers of allele VLRQ, which is not resistant to the clinical form of the classical scrapie.

**Key words:** sheep, *PrP*, frequency of alleles and genotypes

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

Roman Niżnikowski, Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, Poland, e-mail: roman\_niznikowski@sggw.pl

*Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:*

13.01.2015

*Do cytowania – For citation:*

Szweda, M., Świątek, M., Niżnikowski, R., Czub, G. (2015). Porównanie wrzosówki polskiej z polską owcą długowelną odmiany pomorskiej w zakresie polimorfizmu genu białka prionowego PrP. *Nauka Przyr. Technol.*, 9, 2, #22. DOI: 10.17306/J.NPT.2015.2.22