

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 9

Issue 3

Különszám/Special Issue

Gödöllő
2013



MC4R ÉS RYR1 GÉNEK POLIORFIZMUSÁNAK ÉS NAGY GENETIKAI KAPACITÁSÚ SERTÉSHIBRID TERMELÉSI PARAMÉTEREINEK ÖSSZEFÜGGÉSVIZSGÁLATA

Nyisalovits Andrea¹, Posta János², Czeglédi Levente², Juhász Diána¹, Babinszky László¹

¹Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Állattudományi, Takarmány- és Élelmiszer Biotechnológiai Tanszék

²Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar Állattudományi, Állattenyésztési Tanszék

4032 Debrecen, Böszörményi út 138.
nyisalovits@agr.unideb.hu

Összefoglalás

Napjaink mezőgazdaságának egyik legnagyobb kihívása a fenntarthatóság. Ennek megfelelően a piaci igényeket kielégítő jó minőségű állati termékeket rövid idő alatt és gazdaságosan kell előállítani. Annak érdekében, hogy jó minőségű állati eredetű terméket tudjunk előállítani az állatok takarmányozását és táplálóanyag ellátását az állomány genetikai profiljára kell alapozni. Az MC4R (melanocortin 4 receptor) fontos szerepet játszik az emlősök energiaforgalmának szabályozásában. A receptor hetedik transzmembrán doménjában aminosavcserét (Asp298Asn) okozó pontmutáció az eddigi vizsgálatok alapján befolyásolja a tömeggyarapodást, a zsírdepozíciót és a takarmányfelvételt. A RYR1 (ryanodin receptor) T1843C mutációja a malignus hipertermia vagy PSS (porcine stress syndrome) okozója. Jelenléte homozigóta formában kedvezőtlenül hat az állatok stressztűrő képességére, ami jelentős elhullást okoz az állományokban. Jelen vizsgálat célja az MC4R és RYR1 génekben már korábban közölt polimorfizmusoknak és egy nagy genetikai kapacitású sertéshibrid termelési paramétereinek összefüggésvizsgálata restrikciós fragment hossz polimorfizmus (PCR-RFLP) segítségével.

Kulcsszavak: MC4R, RYR1, SNP, sertés, termelési paraméterek

Association analysis of polymorphism in MC4R and RYR genes with carcass traits of geneticaly improved hybrid pigs

Abstract

Nowadays, one of the biggest challenge in agriculture is the sustainability. Animal food products in high quality to meet market needs must be produced rapidly and economically accordingly. In order to be able to produce such high quality products the feeding and nutrient supply of the animals need to be based on the genetic profile of the herd. The MC4R (melanocortin 4 receptor) play an important role in regulation of energy balance in mammals. The previously described non-synonymous polymorphism (Asp298Asn) within the seventh transmembrane domain of the receptor seems to have some effect on weight gain, fat deposition and feed intake. The T1843C



substitution in RYR1 (ryanodine receptor) cause the porcine stress syndrome (PSS; malignant hyperthermia). The homozygous form of the mutation has negative impact on stress tolerance in animals causing significant mortality in herds. The aim of this study is to define the connection between the previously described polymorphisms in MC4R and RYR genes and their potential association with production traits in an improved pigs using restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Keywords: MC4R, RYR1, SNP, pig, production traits

Irodalmi áttekintés

A genetikai markerek alkalmazása az állattenyésztésben lehetőséget adhat olyan tulajdonságok szelekciójára, melyek fenotípusosan nehezen mérhetőek. Alkalmazásukkal gyorsabb szelekciós előrehaladás érhető el (*Tenke és Babinszky, 2012*). A mennyiségi tulajdonságok genetikai háttere összetett, a genetikai és a fenotípusos tulajdonságok összefüggésének megértése még sok lehetőségeket tartogathat az ideális fehérje- és testzsírarányokkal rendelkező vonalak kialakítására.

A sertésenyésztésben jelenleg alkalmazott markerek (*Dekkers, 2004*) közül az MC4R és a RYR1 gének pontmutációját választottuk vizsgálatunkhoz. A melanocortin rendszer elemei a proopiomelanocortin (POMC) neuronok által termelt peptidek, a peptidek G-protein kapcsolt receptorai és az endogén melanocortin antagonisták. A POMC gének hipotalamikus régióban történő expresszióját a tápláltsági szint szabályozza, melyről az elsődleges információt a leptin hormon mennyisége jelzi (*Millington, 2007*). A MC4R a központi idegrendszerben mindenhol megtalálható. A *Kim és mtsai (2000)* által leírt, a receptor hetedik transzmembrán doménjában található G1426A mutáció a gén kódoló szekvenciájában Asp298Asn aminosavcsere okoz. *Kim és mtsai (2004)* szerint a G allél (Asp) szükséges a jelátvitel receptor-G-protein-adenilát-cikláz útvonalon történő normál működéséhez. Az aminosav csere számos eddigi kutatási eredmény alapján összefüggésbe hozható a hátszalonna vastagsággal, a takamányfelvétellel, a testösszetétellel és a növekedéssel (*Chen és mtsai, 2004; Dvořáková és mtsai, 2011; Hernández-Sánchez és mtsai, 2003; Jokubka és mtsai, 2006; Kim és mtsai, 2000; Munoz és mtsai, 2011; Ovilo és mtsai, 2006; Piorkowska és mtsai, 2010; Stachowiak és mtsai, 2005; Tempfli és mtsai, 2013; Van den Maagdenberg és mtsai, 2007*).

Ismert és legpontosabban leírt, a húsminőséget befolyásoló gén sertésnél a HAL/RYR1 gén. A RYR1 gén az izom szövet Ca²⁺ szintjének szabályzásáért felelős gének egyike. Ez a gén a vázizom szarkoplazmatikus retikulumában lévő Ca²⁺ release csatorna egyik alegységét kódolja. A gén a 6. kromoszómán található, T1843C csere hozza létre a mutáns fenotípust (*Fujii és mtsai, 1991*). Az mutáns allélt homozigóta formában hordozó állatokra jellemző a PSS (Porcine Stress Syndrome), stressz hatására elhullanak. Az ilyen genotípusú állatok húsa a PSE (Pale, Soft, Exudative – szürke, puha, száraz) minőségi kategóriába tartozik.

Jelen vizsgálat célja az MC4R és RYR1 génekben már korábban közölt polimorfizmusoknak és egy nagy genetikai kapacitású sertés hibrid termelési paramétereinek összefüggésvizsgálata restriktív fragment hossz polimorfizmus (PCR-RFLP) segítségével.



Anyag és módszer

Kísérleti állatok

A kísérletbe 500 db, 273 ártány és 227 fiatal nőivarú (emse) nagy genetikai kapacitású (Close, 1994) hibrid sertés került beállításra 2 istállóban. A kísérletbe vont állatok 3 vonalas (nagy fehér, lapály és duroc) anyák és szintetikus stresszmentes pietrain apaállatok keresztezéséből származtak. A kísérleti állatokat átlagosan a 73. életnapjukon telepítették be kettő, 650 férőhelyes hízó istállóba. Minden istállóban kutricánként 25-30 vegyes ivarú egyed került elhelyezésre. A mélyalmos istállóban a nedves takarmány etetése önetetőkből történt, az ivóvíz szópókás önitatókból ad libitum állt az állatok rendelkezésére. Az etetett takarmány táplálóanyag tartalma megfelelt az idevonatkozó ajánlásoknak (Magyar Takarmány Kódex, 2004).

Az állatok átlagos betelepítési súlya a két istállóba 29,3 illetve 30,7 kg volt. A kísérlet zárásakor (111 ill. 118 napi hízalás után) az állatok átlagos élősúlya 112±9,4 kg (1. istálló) illetve 120,6±9,2 kg (2. istálló) volt. A kísérlet ideje alatt a napi gyarapodás 745,9±84,7 g (1.istálló) illetve 761,8±77,6 g (2. istálló) volt.

A vágott testek minősítése méréssel és szűrőszondás műszerrel történt. A minősítés során a mindkét istálló állatainál meghatároztuk a hátszalonna-vastagságot, a karaj keresztmetszetet, a hideg súlyt és a színhús százalékot.

Genotipizálás

A genetikai vizsgálatokat a Debreceni Egyetem Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Karának Állattudományi Biotechnológiai és Természetvédelmi Intézetének Állatgenetikai Laboratóriumában végeztük. A vérminta istállónként összesen 250 ártányból és emséből steril tüvel (0,9x38 mm) a vena cava cranialisból S-monovett (4,9 ml) vérvételi csövekbe (Sarstedt AG&Co) került levételre. A vérminták tárolása a vizsgálatokig -20 °C-on mélyhűtőben történt.

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

A G1426A (GenBank: AB021664.1) és a T1843C (GenBank: M91452.1) mutációt tartalmazó génszekvencia az NCBI (Internet 1) adatbázisban található. Ez alapján terveztük meg a PCR konstrukciót. A primereket a BatchPrimer3 v.1.0 nevű interneten elérhető szoftver segítségével terveztük (Internet 2).

MC4R forward primer: 5'ATTGGGGTCTTTGTGGTCTG3',

MC4R reverse primer: 5'CCAGGGGATAGCAACAGATG3', (feltapadási hőfok: 64 °C)

RYR1 forward primer: 5'AGACCTTTCTTTGACCTTGAT3',

RYR1 reverse primer: 5'CCAGACCTGGTGACATAGTTGA3' (feltapadási hőfok: 58 °C)

A PCR elegy 10 µl végtérfogatban tartalmazott kb. 100 ng genomiális DNS-t, 0,2 mM dNTP-t (Fermentas), 1µl 10x DreamTaq™ Green Buffer-t, 1 pmolt mindkét primerből (Sigma-Aldrich Kft) továbbá 2U DreamTaq™ Green polimeráz enzimet (Fermentas). A puffer magnézium tartalmának (20 mM) kiegészítésére további magnézium-klorid oldatot (25 mM) használtunk, így a végkoncentráció a reakcióelegyben 3,75 mM volt.

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



A restrikciós analízist TaqI (MC4R) és HhaI (RYR1) (Fermentas) enzimmekkel végeztük. A G1426A mutáció G allélja a TaqI enzim felismerő helyét (5' T'CGA 3') hozta létre, így az A allélt tartalmazó szakaszok 217 bázispár hosszúak maradtak, míg a G allélt hordozó szakaszok 142 és 75 bázis hosszúságúra hidrolizálódtak szét, a restrikciós analízishez 13 µl végtérfogatban 10 µl PCR terméket, 3 U enzimet és 10x BufferR-t használtunk. Az enzimátikus hidrolízist 3 órán keresztül 65 °C-os hőmérsékleten vízfürdőben végeztük.

A T1843C mutáció C allélja a HhaI enzim felismerő helyét (5' GCG'C 3') hozta létre, így az T allélt tartalmazó szakaszok 329 bázispár hosszúak maradtak, míg a C allélt hordozó szakaszok 239 és 90 bázis hosszúságúra hidrolizálódtak szét, a restrikciós analízishez 13 µl végtérfogatban 10 µl PCR terméket, 2 U enzimet és 10x BufferR-t használtunk. Az enzimátikus hidrolízist 3 órán keresztül 37 °C-os hőmérsékleten vízfürdőben végeztük.

Az allélok elkülönítését 1,5%-os agaróz (Lonza) gélen végeztük, a gélhez GelRed (Biotium Inc.) gél-festéket adtunk, a futtatás 1x-os TAE pufferben (Lonza) 100 V feszültségen 30 percen keresztül történt.

Statisztikai vizsgálat

Annak megállapítására, hogy az egyes genotípusok eloszlása azonosnak tekinthető-e a két istállóban χ^2 próbát alkalmaztunk

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

$$y_{ijk} = \mu + MC4R_i + I_j + e_{ijk}$$

y_{ijk} = függőváltozó

μ = főátlag

$MC4R_i$ = genotípus okozta eltérés (i = AA, AG, GG)

I_j = ivar okozta eltérés (j = ártány, fiatal nőivarú)

e_{ijk} = maradék hiba

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

Eredmények és értékelés

Az egyedek genotípusvizsgálatát mind az 500 egyedben sikerült elvégezni. A RYR1 mutációra nézve (1. ábra) az állomány egységesen homozigóta TT (vad) genotípust mutatott, vagyis stresszmentesnek bizonyult. Az MC4R gén (2. ábra) esetében elvégeztük az allélgyakoriság vizsgálatot 500 egyedben. Az allélok előfordulása az 1. istállóban A=0,43; G=0,57 illetve a 2. istállóban A=0,47; G=0,53 volt. Az állomány Hardy-Weinberg egyensúlyban volt, illetve a két minta sem tért el egymástól. Az allél és genotípus gyakoriságokra vonatkozó szakirodalom állományonként nagy változatosságot mutat (Kim és mtsai, 2000). Jokubka és mtsai (2006) által litván nagyfehér állományban illetve Dvořáková és mtsai (2011) által cseh hibrid állományokban leírt allélgyakoriságok (A=0,41, G=0,59) megegyeznek az általunk vizsgált állományban számított adatokkal. A vágóhídon 494 állat adatait rögzítettük. 405 állat esetében tudtuk egyértelműen beazonosítani a genotípust és az állatokhoz tartozó vágóhídi minősítési

adatokat. Az állatokat a vágás időpontja alapján két csoportba soroltuk. A variancia analízist 210 illetve 195 egyed adatai alapján végeztük el (1.táblázat).

1. ábra: A HhaI enzimmel emésztett PCR termék elektroforetikus képe.

(M: 50 bp-os molekula marker (Invitrogen); 1: emésztetlen PCR termék, 2-8: TT genotípus)

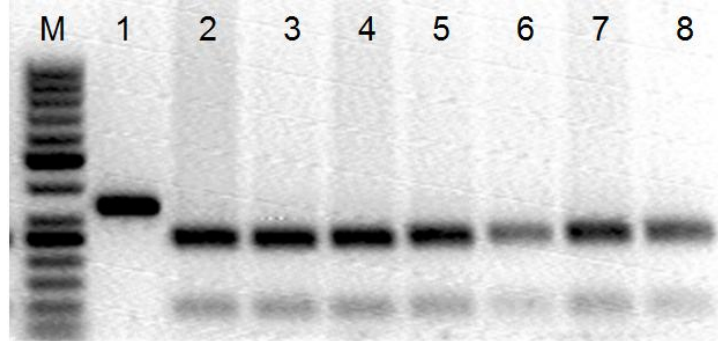


Figure 1: Electroforetic picture of PCR product resctricted by HhaI enzyme

(M: 50-bp ladder of molecular weight markers (Invitrogen); lane 1: undigested PCR product, lane 2-8: TT genotype pattern)

2. ábra: A TaqI enzimmel emésztett PCR termék elektroforetikus képe.

M: 50 bp-os molekula marker (Invitrogen); 1-3: AA genotípus, 4: AG genotípus, 5: GG genotípus

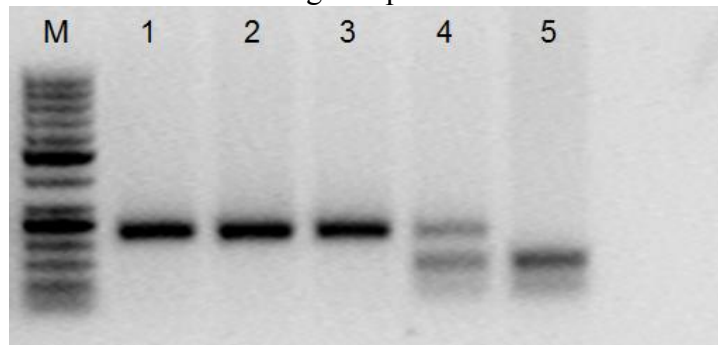


Figure 2: Electroforetic picture of PCR product resctricted by TaqI enzyme

M: 50-bp ladder of molecular weight markers (Invitrogen); lane 1-3: AA genotype pattern, lane 4: AG genotype pattern, lane 5: GG genotype pattern

Az 1.táblázat adatai alapján megállapíthatjuk, hogy sem az ivar, sem a genotípus szignifikáns hatását nem tudtuk igazolni a termelési paraméterekre, annak ellenére, hogy az aminosav csere intramuszkuláris zsírtartalomra, színhúskihozatalra, hátszalonnnavastagságra és növekedésre gyakorolt hatásáról számos szerző számolt már be.

Az intramuszkuláris zsírtartalom *Stachowiak és mtsai (2005)* illetve *Piorkowska és mtsai (2010)* szerint a G allél hordozóinál magasabb, *Van den Maagdenberg és mtsai (2007)* ezzel ellentmondásban lévő eredményre jutottak, míg *Ovilo és mtsai (2006)* nem tudtak szignifikáns összefüggést igazolni. A színhúskihozatalra és az egyes húsrészek méretére vonatkozóan is ellentmondásosak az adatok. Egyes szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy az A allél



jelenléte rontja a színhús arányát illetve az egyes húsrészek méretét a vágott féltestben (Dvořáková és mtsai, 2010, Ovilio és mtsai 2006, Piorkowska és mtsai, 2010; Van den Maagdenberg és mtsai, 2007), de Jokubka és mtsai 2006, Chen és mtsai 2004 illetve Stachowiak és mtsai (2005) ennek az ellenkezőjét írták le. A G allélt a legtöbb szerző (Kim és mtsai, 2000; Hernández-Sánchez és mtsai, 2003, Ovilio és mtsai 2006; Tempfli és mtsai, 2013; Van den Maagdenberg és mtsai, 2007) kisebb hátszalonnavastagsággal és kisebb napi gyarapodással hozta összefüggésbe. Ezzel ellentétes eredményre csak két szerző jutott (Jokubka és mtsai, 2006 és Chen és mtsai, 2005).

1. táblázat: Az ivar és az MC4R gén Asp298Asn polimorfizmusának hatása a vizsgált paraméterek átlagára

| | Ivar (8) | | | Leptin | | | | RMSE |
|--|----------------|-----------------|-------|--------|--------|--------|-------|------|
| | Ártány* (9) | Nőivarú (10) | P | AA | AG | GG | P | |
| 1. istálló (1) | | | | | | | | |
| n | 119 | 91 | | 41 | 104 | 65 | | |
| Hátszalonna vastagság (mm) (2) | 16,4 | 17,4 | 0,055 | 16,8 | 17,1 | 16,9 | 0,906 | 4,0 |
| Karaj k.metszet (mm) (3) | 60,8 | 61,5 | 0,475 | 60,9 | 61,0 | 61,6 | 0,790 | 6,3 |
| Színhús (%) (4) | 57,5 | 56,8 | 0,090 | 57,2 | 57,0 | 57,2 | 0,906 | 3,2 |
| Élősúly (kg) (5) | 111,20 | 113,42 | 0,093 | 113,01 | 111,39 | 112,54 | 0,579 | 9,4 |
| Hízalás alatti átlagos ttgy. (g/nap) (6) | 738,2 | 758,2 | 0,093 | 754,5 | 739,9 | 750,3 | 0,579 | 84,6 |
| 2. istálló (7) | | | | | | | | |
| n | 102 | 93 | | 34 | 113 | 48 | | |
| Hátszalonna vastagság (mm) (2) | 16,8 | 17,1 | 0,556 | 16,8 | 16,9 | 17,1 | 0,946 | 3,6 |
| Karaj k.metszet (mm) (3) | 63,3 | 64,4 | 0,157 | 64,6 | 64,4 | 62,5 | 0,081 | 5,2 |
| Színhús (%) (4) | 57,5 | 57,4 | 0,763 | 57,6 | 57,5 | 57,2 | 0,769 | 2,9 |
| Élősúly (kg) (5) | 119,18 | 120,74 | 0,229 | 118,81 | 121,99 | 119,08 | 0,073 | 9,0 |
| Hízalás alatti átlagos ttgy. (g/nap) (6) | 749,5 | 762,7 | 0,229 | 746,3 | 773,3 | 748,7 | 0,073 | 76,4 |

*Legkisebb négyzetek átlaga (11)

The effect of gender and Asp298Asn polymorphism of MC4R gene on average of examined traits
 Stable1(1), Backfat thickness measured between the 2nd and 3rd ribs(2), Diameter of loin measured between the 2nd and 3rd ribs(3), Lean meat%(4), Live weight at slaughter(5), Average daily gain during weaning(6), Stable 2(7), Gender(8), Barrow(9), Gilt(10), Least square means(11)



A mennyiségi tulajdonságok vizsgálata nehézkes az összetett genetikai háttér miatt. Az egyes fajtáknál meglévő genetikai különbség módosíthatja a gének kifejeződésének mértékét, így egy-egy pontmutáció hatása adott állatban nem feltétlen jelenik meg markánsan. Ez lehet az egyik oka annak, hogy az irodalmi adatok nem egységesek, illetve nem tudtuk a pontmutáció szignifikáns hatását kimutatni a vizsgált termelési paraméterekre. A biológiai funkciója alapján a gén potenciális marker szerepet tölthet be, mivel leptin hormonon keresztül érkező „jóllakottság” jelet juttatja el a központi idegrendszerbe. A receptor normális működéséhez szükséges a G allél megléte. Az MC4R gén biológiai funkciója és az irodalmi adatok alapján valószínűsíthető, hogy a G allél jelenléte csökkenti a zsírdepozíciót, hiszen az A alléllal rendelkező egyedek nagyobb tömeggyarapodását elsősorban a vastagabb hátszalonna okozhatta, mintsem a húsrészek növekedése.

Következtetések és javaslatok

A fenti adatok fényében megállapíthatjuk, hogy az állomány nem hordozza a stresszérzékenységre hajlamosító RYR1 mutációt. Az MC4R mutáció termelési paraméterekre gyakorolt hatása ellentmondásos, akár egy szakrodalmon belül is (*Kim és mtsai, 2000*), aminek oka lehet az egyes fajták között meglévő genetikai különbség, hiszen minden gén működését, kifejeződésének mértékét befolyásolja a “genetikai környezet”, azaz a többi gén hatása. A termelési paraméterek mind sok génes tulajdonságok, ezért pontosabb eredmény érhető el, ha több gén hatását egyszerre vizsgáljuk az adott populációban.

A kutatás a TÁMOP 4.2.4.A/2-11-1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program – Hazai hallgatói, illetve kutatói személyi támogatást biztosító rendszer kidolgozása és működtetése konvergencia program című kiemelt projekt keretében zajlott. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Irodalomjegyzék

- Chen M., Wang A., Fu J., Li N.* (2004): Different allele frequencies of MC4R gene variants in Chinese pig Breeds. *Arch. Tierz.*, 47. 5. 463-468
- Close, W. H.* (1994): Feeding new genotypes: establishing amino acid/energy requirements. *Principles Pig Sci.*, 9. 123-140.
- Dekkers, J. C. M.* (2004): Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *J Anim Sci*, 82. E313-E328.
- Dvořáková V., Stupka R., Šprysl M., Čítek J., Okrouhlá M., Kluzáková E., Kratochvílová H.* (2011): Effect of the missense mutation Asp298Asn in MC4R on growth and fatness traits in commercial pig crosses in the Czech Republic. *Czech J. Anim. Sci.*, 56. 4. 176–180
- Hernández-Sánchez J., Visscher P., Plastow G., Haley C.* (2003): Candidate gene analysis for quantitative traits using the transmission disequilibrium test: the example of the melanocortin-4 receptor in pigs. *Genetics*, 164. 637–644.
- Jokubka R., Maak S., Kerziene S., Swalve H. H.* (2006): Association of a melanocortin 4 receptor (MC4R) polymorphism with performance traits in Lithuanian White pigs *Anim. Breed. Genet.* 123. 17–22



- Kim K. S., Larsen N., Short T., Plastow G., Rothschild M. F. (2000): A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mamm Genome*, 11. 2. 131–135.
- Kim K. S., Reecy J. M., Hsu W. H., Anderson L. L., Rothschild M.F. (2004): Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin four receptor in domestic pigs. *Domestic Animal Endocrinology*, 26. 75–86.
- Magyar Takarmány Kódex. 2004. Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet, Budapest
- Millington, G. W. M. (2007): The role of proopiomelanocortin (POMC) neurones in feeding behaviour. *Nutrition & Metabolism*, 4. 18.
- Muñoz G., Alcázar E., Fernández A., Barragán C., Carrasco A., de Pedro E., Silió L., Sánchez J. L., Rodríguez M.C. (2011): Effects of porcine MC4R and LEPR polymorphisms, gender and Duroc sire line on economic traits in Duroc×Iberian crossbred pigs. *Meat Science*, 88. 169–173.
- Óvilo C., Fernández A., Rodríguez M. C., Nieto M., Silió L. (2006): Association of MC4R gene variants with growth, fatness, carcass composition and meat and fat quality traits in heavy pigs. *Meat Science*, 73. 42–47.
- Piórkowska K., Tyra M., Rogoz M., Ropka-Molik K., Oczkiewicz M., Rózycki M. (2010): Association of the melanocortin-4 receptor (MC4R) with feed intake, growth, fatness and carcass composition in pigs raised in Poland. *Meat Science*, 85. 297–301.
- SAS Institute Inc (2007) SAS OnlineDoc® 9. 2. Cary NC: SAS Institute Inc
- Stachowiak M., Szydlowski M., Obarzanek-Fojt M., Switonski M. (2005): An effect of a missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene on production traits in Polish pig breeds is doubtful. *Animal Genetics*, 37. 55–57.
- Tempfli K., Simon Zs., Simon Z., Bali Papp Á. (2013): A melanokortin-4 receptor és a leptin polimorfizmusának vizsgálata mangalicaxduroc és mangalica sertésekben. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 135. 339-344.
- Tenke J., Babinszky L. (2012): A molekuláris genetika alkalmazásának lehetőségei a hizósertések takarmányozásában. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 134.: 179-188.
- Van den Maagdenberg K., Stinckens A., Claeys E., Seynaeve M., Clinquart A., Georges M., Buys N., De Smet S. (2007): The Asp298Asn missense mutation in the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene can be used to affect growth and carcass traits without an effect on meat quality. *Animal*, 1. 8. 1089–1098.
- Zsolnai A., Orbán L. (1999): Accelerated separation of random complex DNA patterns in gels: comparing the performance of discontinuous and continuous buffers. *Electrophoresis*, 7. 1462-1468.

Internetes hivatkozások:

Internet 1 : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

Internet 2: <http://probes.pw.usda.gov/batchprimer3/overview.html>