

Περίληψη

Οι Orford et al., (2012), μελέτησαν για πρώτη φορά την ανίχνευση πολυμορφισμών ενός νουκλεοτιδίου (SNPs) στο γονίδιο ακέτυλ-συνένζυμο Α ακυλοτρανσφεράση 2 (Acetyl-CoA acyltransferase 2, ACAA2) και ερεύνησαν για πιθανόν συσχετισμό τους με τα παραγωγικά χαρακτηριστικά του πρόβειου γάλακτος σε πρόβατα της φυλής Χίου. Το ένζυμο ACAA2 που κωδικοποιείται από το αντίστοιχο γονίδιο καταλύει το τελευταίο στάδιο της μιτοχονδριακής β-οξειδωσης των λιπαρών οξέων. Κατά το πρώιμο στάδιο της γαλουχίας, η γλυκονεογένεση στο ήπαρ αυξάνεται 2-3 φορές, με σκοπό να ικανοποιήσει τις αυξημένες απαιτήσεις του μαστικού αδένος για την σύνθεση λακτόζης. Οι αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις του ήπατος για γλυκονεογένεση ικανοποιούνται κυρίως από τη αυξημένη β-οξειδωση των λιπαρών οξέων, που οδηγεί στην αύξηση του ακέτυλο CoA (Orford et al., 2012). Μετά από αλληλούχιση και γονοτύπηση του γονιδίου ACAA2 σε πρόβατα Χίου, βρέθηκε ένα SNP (C/T) στο εξώνιο 10 στην 3' αμετάφραστη περιοχή (Untranslated region, UTR) του γονιδίου ACAA2, που σχετίζεται σημαντικά με την συνολική παραγωγή γάλακτος. Συγκεκριμένα, οι προβατίνες Χίου με ομόζυγο γονότυπο CC βρέθηκε να παράγουν σημαντικά λιγότερο γάλα, σε αντίθεση με τις προβατίνες Χίου με ετερόζυγο γονότυπο CT και ομόζυγο γονότυπο TT οι οποίες συνδέονται με υψηλή γαλακτοπαραγωγή. Η πιθανότητα ότι το γονίδιο ACAA2 είναι ένας γενετικός τύπος που επηρεάζει την γαλακτοπαραγωγή, έδωσε τη βάση για περαιτέρω έρευνα του γονιδίου ACAA2 των προβάτων της φυλής Χίου. Ο πολυμορφισμός αυτός πιθανόν να επηρεάζει το επίπεδο έκφρασης του γονιδίου τόσο στο ήπαρ όσο και στο μαστό των προβάτων.

Η παρούσα εργασία έχει ως στόχο την ημιποσοτική μελέτη της έκφρασης των τριών διαφορετικών γονοτύπων CC, CT και TT στο ήπαρ και στο μαστό των προβάτων της φυλής Χίου, καθώς και τη φυλογενετική ανάλυση του γονιδίου ACAA2 σε οργανισμούς εξελικτικά κοντινούς με το πρόβατο. Πραγματοποιήθηκαν κυρίως, αντιδράσεις γονοτύπησης και αλληλούχισης του γονιδίου ACAA2 σε δείγματα μαστού και ήπατος από προβατίνες της φυλής Χίου. Τα αποτελέσματα μας δείχνουν ότι υπάρχει διαφορά έκφρασης των δύο αλληλομόρφων στο cDNA των ετεροζυγωτών προβάτων, ενώ στο DNA δεν φαίνεται να υπάρχει προτίμηση στην έκφραση των δύο αλληλομόρφων. Από

τη φυλογενετική ανάλυση προκύπτει ότι υπάρχει υψηλός βαθμός ομολογίας κυρίως εντός των μυρηκαστικών. Ο βαθμός ομολογίας είναι χαμηλότερος όταν εξετάζονται πιο απομακρυσμένα εξελικτικά είδη από το πρόβατο. Όσον αφορά το SNP, στους περισσότερους οργανισμούς εμφανίζεται το T αλληλόμορφο, με εξαίρεση τα πρόβατα στα οποία υπάρχει και C αλληλόμορφο και τις εξελικτικά απομακρυσμένες καμήλες και νυχτερίδες που απέκτησαν το G αλληλόμορφο. Ωστόσο, είναι απαραίτητο να γίνουν περαιτέρω μελέτες για τον προσδιορισμό του μοριακού μηχανισμού στον οποίο οφείλεται η διαφορετική έκφραση των γονοτύπων, καθώς και για τον προσδιορισμό του κατά πόσο αυτός ο πολυμορφισμός επηρεάζει την έκφραση του ενζύμου.

Abstract

Orford et al., (2012), were the first that studied the detection of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in Acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 gene (Acetyl-coA acyltransferase 2, ACAA2) and investigated for possible correlation with the production characteristics of sheep milk in Chios sheep breed. The ACAA2 enzyme encoded by the corresponding gene catalyzes the final step in the mitochondrial beta-oxidation of fatty acids. During the early stages of lactation, the gluconeogenesis in the liver is increased 2-3 times in order to meet the increased demands of the mammary gland for lactose synthesis. The increased energy demands of liver gluconeogenesis primarily met by the increased beta-oxidation of fatty acids, leading to an increase of acetyl CoA (Orford et al., 2012). After sequencing and genotyping of the ACAA2 gene in Chios sheep, they have been found a SNP (C / T) in exon 10 in the 3' untranslated region (Untranslated region, UTR) of the gene ACAA2, associated significantly with the total milk production. Specifically, Chios ewes with homozygous CC genotype were found to produce significantly less milk, in contrast to Chios ewes with heterozygous genotype CT and TT homozygous genotype associated with high milk production. The possibility the ACAA2 gene to be a locus that affects milk production provided the basis for further research of ACAA2 gene in Chios sheep breed. The polymorphism might influence the level of gene expression both in liver and in sheep breast. The present study aims to semi quantitative study of expression of three different genotypes CC, CT and TT in liver and breast of the Chios sheep breed and phylogenetic analysis of the gene ACAA2 in evolutionarily close organisms to the sheep. There were mainly performed genotyping reactions and sequencing of the ACAA2 gene in breast and liver samples from ewes of the Chios breed. The results indicate that there is a difference in expression of the two alleles in the heterozygous cDNA sheep, while the DNA shows no preference in expression of the two alleles. The phylogenetic analysis indicates that there is a high degree of homology mainly within ruminants. The degree of homology is lower when examined more evolutionarily distant species of sheep. Regarding the SNP, at most organisms appear the T allele, with the exception of sheep that exists also the C allele as well as

evolutionarily distant camels and bats that acquired the G allele. However, it is necessary to make further studies to identify the molecular mechanism which explains the different expression of genotypes, and to determine whether this polymorphism influences the expression of the enzyme.