

DIPLOMADOLGOZAT

Nagy Barbara Katinka
Mezőgazdasági Biotechnológus

2024
Gödöllő



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Genetika és Biotechnológia Intézet

Mezőgazdasági biotechnológus mesterképzési szak

**Szarvasmarha Béta-kazein mutációinak felmérése homozigóta
A2A2 állományok létrehozásának céljából**

| | |
|---|--|
| Belső konzulens: | Dr. Stéger Viktor tudományos főmunkatárs |
| Belső konzulens intézete/tanszéke: | Genetika és Biotechnológia Intézet, Genetika és Genomika Tanszék |
| Készítette: | Nagy Barbara Katinka |
| Neptunkód: | I660JA |

Gödöllő

2024

Tartalomjegyzék

| | |
|---|----|
| Rövidítések jegyzéke..... | 4 |
| 1. Bevezetés és célkitűzések..... | 5 |
| 2. Szakirodalmi áttekintés | 7 |
| 2.1. Tejteremlés Magyarországon..... | 7 |
| 2.2 A tej | 9 |
| 2.3. β -kazein-2 (CSN2)..... | 11 |
| 2.4 β -kazein-2 (CSN2) A1 egészségügyi hatásai..... | 13 |
| 2.5. Genetikai diagnosztikai módszerek β -kazein 2 (CSN2) esetében..... | 15 |
| 2.5.1 Sanger-szekvenálás..... | 15 |
| 2.5.2 T-ARMS PCR..... | 15 |
| 2.5.3. β -kazein2 A1, A2 fehérje alapú vizsgálata | 16 |
| 3. Anyag és módszer..... | 17 |
| 3.1. Mintagyűjtés helye és tárolása | 17 |
| 3.2. DNS izolálás..... | 17 |
| 3.3. PCR körülmények | 18 |
| 3.4. Agaróz gélelektroforézis..... | 19 |
| 3.5. Sanger-szekvenálás és szekvencia analízis..... | 20 |
| 4. Eredmények és értékelésük | 21 |
| 4.1. DNS izolálás..... | 21 |
| 4.2. PCR vizsgálatok | 21 |
| 4.3. Agaróz gélelektroforézis..... | 21 |
| 4.4 Bioinformatikai elemzés..... | 22 |
| 5. Következtetések és javaslatok | 28 |
| 6. Összefoglalás..... | 31 |
| 7. Köszönetnyilvánítás | 33 |
| 8. Irodalomjegyzék..... | 34 |
| 9. Ábrák és táblázatok jegyzéke | 39 |
| 10. Nyilatkozatok | 40 |
| 11. Mellékletek..... | 42 |

Rövidítések jegyzéke

| | | |
|---------------|------------------------------------|------------------------------------|
| μ l | microliter | mikroliter |
| A | Adenine | adenin |
| A1 | A1 β -casein type | A1 β -kazein típus |
| A2 | A2 β -casein type | A2 β -kazein típus |
| A3 | A3 β -casein type | A3 β -kazein típus |
| B | B β -casein type | B β -kazein típus |
| β -CN | β -casein | β -kazein |
| BCM7 | 7 β -casomorphin | 7 β -kazomorfin |
| bp | base pair | bázispár |
| C | Citosyne | citozin |
| <i>CSN1S1</i> | Casein Alpha S1 gene | α S1 kazein gén |
| <i>CSN1S2</i> | Alpha S2 casein gene | α S2 kazein gén |
| <i>CSN2</i> | β -casein 2 gene | β -kazein 2 gén |
| <i>CSN3</i> | Casein Kappa gene | κ -kazein |
| dNTP | deoxyribonucleotide triphosphate | deoxiribonukleotid-trifoszfát |
| ddNTP | dideoxyribonucleotide triphosphate | didezoxinukleotid-trifoszfát |
| DNS | deoxyribonucleic acid | dezoxi-ribonukleinsav |
| DPP4 | Dipeptidyl peptidase-4 enzyme | dipetidil-peptidáz-4 enzim |
| G | Guanine | guanin |
| His67 | Histidin in 67 amino position | 67-es pozícióban lévő hisztidin |
| NTC | no template control | negatív kontroll |
| PCR | Polimerase Chain Reaction | polimeráz-lánreakció |
| Pro67 | Prolyn in 67 amino position | 67-es pozicóban lévő prolin |
| SNP | Single Nukleotide Polymorphism | egy pontos nukleotid-polimorfizmus |
| T | Timin | timin |

1. Bevezetés és célkitűzések

A tejben jelenlévő β -kazein 2 egyik formájának (A1) negatív élettani hatásáról számolt be több publikáció.

A szarvasmarha tej β -kazein 2 gén (*CSN2*), A1-es formája eltér az eredeti A2 formától. β -kazomorfín-7 (BCM-7) peptid-lánc szabadul fel a proteáz emésztés miatt (*Nguyen et al., 2015*), amelynek több negatív élettani hatást is tulajdonítanak (*Daniloski et al., 2021*). A kutatási téma legfontosabb célja az A2A2 homozigóta β -kazein 2 tejelő állományok létrehozása, állományainak növelése. Az A1 és A2 allélok előfordulása a holstein-fríz teheneiben régióként eltérő. Több kutató szerint, az A1-es forma szerepet játszhat egyes humán betegségek kialakulásában, ebből kifolyólag szükségesek további vizsgálatok elvégzése.

A különbség az A1 és A2 variánsok között az aminosav lánc összetételében rejlik, melyet egy aminosav csere (pontmutáció) eredményez. A két β -kazein fehérje típus a 67-es aminosav pozícióban tér el, az A1-ben hisztidin (His67), az A2-ben prolin (Pro67) található (*Jianqin et al., 2015*). Ennek alapján elmondható, hogy a proteázok más helyen fogják hasítani a peptid láncokat, amely az A1-es tejben az 59. aminosav után és a 67. aminosav előtt következik be. Így jön létre egy 7 aminosavból álló lánc, melynek neve BCM-7, azaz β -kazomorphin-7, amely egy bioaktív fehérje. A BCM-7 peptid egy erős ópioid, amely a μ -ópioid receptorokon keresztül fejti ki hatását a különböző szövetekben (2. ábra, *Cieślińska et al. 2022*).

BCM-7 peptid emésztéséhez egy speciális enzimre (dipeptidil-peptidáz-4, azaz DPP4) van szükség (*Sodhi et al., 2012*). Az A1 forma gyakrabban fordul elő az olyan fajtájú egyedek esetében, amelyek európai felmenőktől származtathatóak (*Pal, 2015*).

Sok kutatás zajlik, hogy az A1-es β -kazein változatot tartalmazó tej fogyasztása összefüggésbe hozható-e különböző betegségek megjelenésének gyakoriságával. Eddigi eredmények szerint szívbetegséget, hirtelen csecsemőhalált, skizofréniát, autizmust, valamint az 1-es típusú cukorbetegséget okozhat (*Laugesen et al., 2003*). Az A1 tej mellékhatásai közé tartozik az emésztőrendszeri problémák (puffadás, hasfájás, szélgörcs, hasmenés, hányinger, hányás) (*Ho et al., 2014*), az autoimmun betegségek (1-es típusú cukorbetegség, szklerózis multiplex, Crohn-betegség), a szív- és érrendszeri betegségek (szívinfarktus, stroke) és az agyműködési problémák (autizmus, skizofrénia) (*Daniolski et al., 2021, Chang et al., 2020*).

Kutatások még folynak az A1 tej további mellékhatásaival kapcsolatban (*Deth et al.*, 2015). A jelenleg rendelkezésre álló bizonyítékok arra utalnak, hogy az A1 tej fogyasztása káros hatással lehet az egészségre.

A betegségek megelőzésének érdekében az A2 alléllal rendelkező szarvasmarha állomány növelését kell elérni.

Ausztráliában, Egyesült Királyságban, Amerikában, Új- Zélandon és Hollandiában az A2-es tehéntejet már kereskedelmi céllal értékesítik, javasolt tejérzékenyek számára is (*Sebastiani, 2020*). Magyarországon az A1-es tejet termelő holstein-fríz termelése a 80 százalékos arányt is meghaladja. Ha az állományban szeretnénk minél nagyobb mennyiségben A2-es tejet előállítani a magyar fogyasztók számára, úgy ezt a fajtát szelektálni kellene. Az egészségügyi hatások miatt fontos az A2 állomány felszaporítása. Ez a terület azért is kiemelten fontos, mert e variánsok élettani folyamatokra gyakorolt hatásainak vizsgálata egyre inkább az élelmiszer- és orvostudományi kutatások fókuszába került (*Buzás et al.*, 2022).

Dolgozatom célkitűzései ennek okán a következők voltak:

- 3 telephelyről, a jákói, fészlerlaki és csípőteleki tehenészetből kapott magyar tarka és holstein-fríz fülporcmintából DNS-t izolálni,
- β -kazein 2 gén (*CSN2*) A1, A2 eldöntő 67-es aminosav polimorfizmusának vizsgálata,
- Sebastiani 2020 cikke alapján vizsgálni a β -kazein 2 gén (*CSN2*) további variációit allél- és genotípus gyakoriság alapján.

2. Szakirodalmi áttekintés

Az emberiség tejfogyasztásának története alig több mint 10 ezer éves (*Evershed et al., 2008*). A nomád népek domesztikálták az állatokat, és az addigi melléktermékként tartott tejet is elkezdték fogyasztani. A tejfogyasztás története a különböző kultúrákban eltérő volt. Azokon a helyeken, ahol a tejelő állatok háziásítása korábban történt meg, a tejfogyasztás már az ókorban is fontos szerepet játszott (ókori egyiptomiak, görögök és rómaiak). Azonban, ahol a tejelő állatok domesztikációja később történt, a tejfogyasztás nem volt olyan elterjedt. A kínaiak, japánok és indiaiak például csak az utóbbi évszázadokban kezdtek el nagyobb mennyiségben tejet fogyasztani (*http¹*).

Kezdetben a juhtej értékesebb volt a tehéntejénél, ami 14. században azonban megváltozott és a szarvasmarhákat helyezték előtérbe. Louis Pasteur, francia mikrobiológus hőkezelési eljárása forradalmasította és biztonságossá tette a tejet, így könnyebben lehetett tárolni. 1895-ben megalkották az első pasztörözési gépet, és így a tejet már kereskedelmi célokra gyártották. Ezzel megugrott a tej, illetve tejtermékek iránti kereslet (*http¹*).

2.1. Tejteremlés Magyarországon

Magyarok már a vándorlás során lovat, szarvasmarhát, sertést és juhot is tartottak. Letelepéskor a Kárpát-medence adottságai kedvezőek voltak a nomád állattartáshoz. Régen a leggyakrabban exportált szarvasmarha a magyar szürkemarkarha volt, amelyet kiváló húsminősége miatt drágábban vásároltak fel, mint a helyi fajtákat. Mikor a tejtermelés iránt nőtt a kereset, a magyar szürke iránti kereslet csökkent, elkezdődött a magyar tarka és tájfajtáinak kialakítása (*Kőrösi, 2014*).

Magyarországon a tejtermelés szempontjából a szarvasmarha a legjelentősebb haszonállat, azonban a kisebb kérődzők, a juh és kecske tejeltetése is folyik. Juh- és kecsketej kereslete nőtt, de tejtermelése még mindig nem haladta meg a szarvasmarhatej mennyiségét. Magyarországon a tejgazdaság fejlődése a múlt században indult meg, a magyar szürkét a több hús-, tejhozamú magyar tarka váltotta fel (*Kőrösi, 2014*).

A magyar tarka kettőshasznú állat, aminek létrehozásában több fajta is részt vett, ez a szimentáli, a magyar szürke és az apinzgai szarvasmarha. A tehénállomány tejtermelése 6329 kg, aminek 3,98%-a zsír és 3,48%-a fehérje (*Egyesülete M.T., 1999*). Alapszíne a

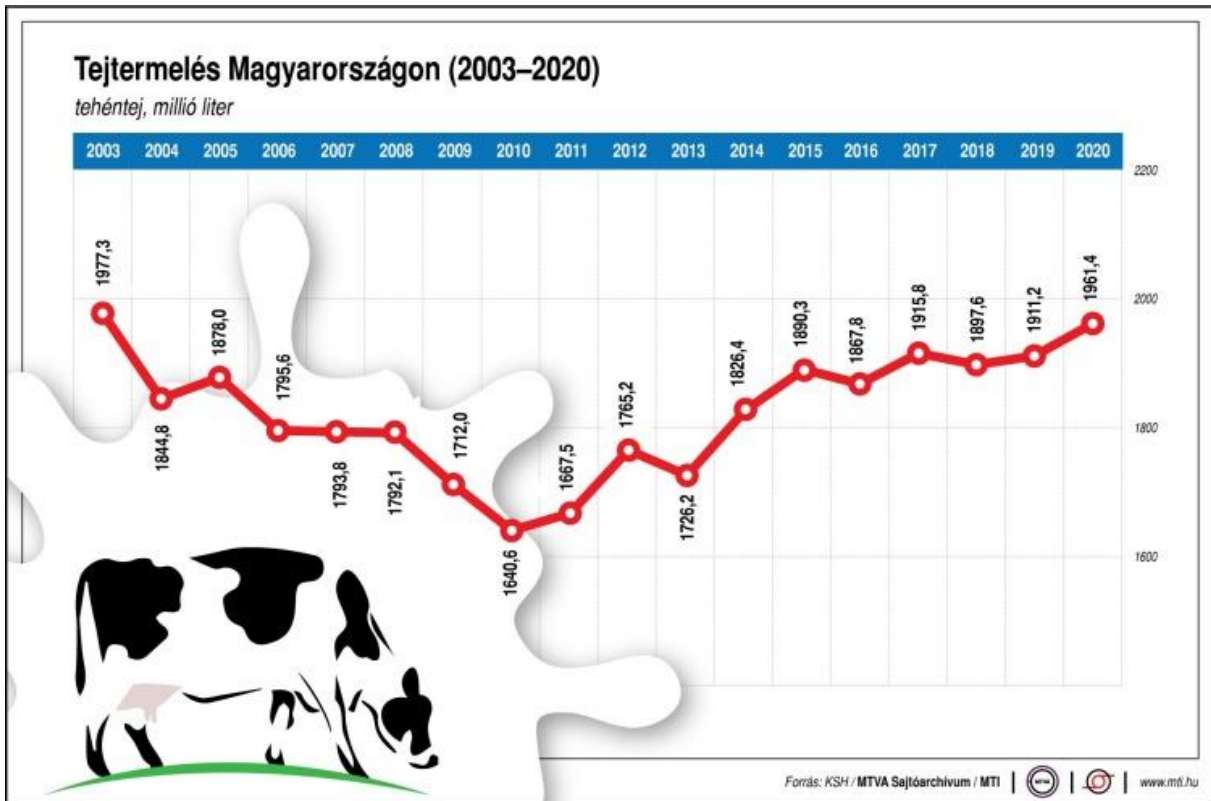
világossárgától a sötétvörösig terjed, foltosan helyezkednek el az állaton, de többnyire a lábak vége és hasa fehér. Tenyésztésbe vételük 16-18 hónaposan történik, amikor az üszők testtömege eléri 380-420 kg-ot. A fajta erőssége nemcsak a tejtermelésben és a jó szervezeti szilárdságban, hanem a kiváló vágóértékben és a korszerű húsminőségben is megmutatkozik. A magyartarka kiválóan alkalmazkodik a magyarországi szélsőséges gyep adottságokhoz, ilyen körülmények között is biztosítja a borjú fejlődéséhez szükséges tejmenyiséget ([http²](#)).

1972-től fajtaváltási program keretében a holstein-fríz szarvasmarha tenyésztése vált jellemzővé (Bozó, 1982). A fajta jellemvonása közé tartozik a színe, ami szabálytalan fekete-, vagy vöröstarka, és a fekete szín domináns a vörössel szemben. Középnagy testű, középkorán érő fajta. A kifejlett tehének súlya 650-750 kg, a bikáké 1000-1100 kg. Tenyésztésbe vételük 12-13 hónapos korban történik, ekkor az állatok súlya 360-380 kg körüli. A fajtára használják az önfeláldozó jelzöt, mivel a tejtermelés szintjének fenntartása érdekében saját tartalékait is tudja mozgósítani. Nemesítésében a tejmenyiségre, és a jó gépi fejhetőségre törekedtek, e tulajdonságok tekintetében ez a fajta kitűnő. A holstein-fríz Hollandiából származik, tejelő lapálymarha szelekciójával és tenyésztésével alakult ki, a kettős hasznosítási céljából (hústermelés és tejtermelés). Fajta rendkívül jó takarmányhasznosítási képességgel bír, különböző éghajlati körülményekhez jól alkalmazkodik. Érzékenysége miatt magas igényei vannak a takarmányozás és a tartási technológiát illetően. Átlagos napi testtömeg gyarapodása akár 1200-1300 gramm, átlag tejhozama eléri a 11000-12000 kg-ot ([http³](#)). Tej minőségileg nem tartozik a legjobbak közé, a tejszírsja 3,7 %-os, tejfehérjéje 3,2%-os (Buzás és Szabó, 2011). A holstein-fríz szarvasmarha Magyarországon 1972 óta van jelen, magas tenyésztési értékkel rendelkezik, ezért az egyik legkedveltebb fajta.

Az 1995-ben a szarvasmarha állományunk 928 ezer egyed körül mozgott. Ez az adat 2005-ig folyamatosan csökkenő tendenciát mutatott, ám 2005-től 2011-ig szinte csak stagnált, ekkor az egyed szám 700 ezer volt. Ezután 2012-től folyamatosan emelkedett az állomány és 2020-ra már meghaladta az 1995-ös év állományát és most már 933 ezer egyedre tehető a szarvasmarha állomány ([http⁴](#)).

Magyarország tejből gyakorlatilag önellátó, 1990-ben állítottuk elő a legnagyobb mennyiségű tejet, a termelés mélypontja 2010-ben volt, azóta stagnál, ami éves szinten megközelíti a 2 milliárd litert ([http⁴](#)). A 2019-es évben az éves megtermelt tej 1911 millió liter volt.

1. ábra: Tejtermelés Magyarországon Forrás: KSH



Magyarországon a megtermelt tej legnagyobb mennyiségét szarvasmarha adja, emellett a kiskérődzők, így a juh és a kecske tejeltetése is folyik elenyésző mennyiségben. A juhtej és tejtermékei keresettek belföldön és külföldön egyaránt (Csanádi et al., 2011).

Az utóbbi időben megnőtt a globális érdeklődés a kecsketej és a kecsketejtermékek iránt, köszönhetően a magas tápértéknek, valamint a tehéntejhez képest jobb aminosav- illetve zsírsav összetétellel rendelkezik (Pajor et al., 2023). Kecsketejtermékek közül a sajt népszerűsége nőtt a fogyasztók körében a legjobban (Apostu et al., 2014).

2.2 A tej

Gazdasági használatok közül elsődlegesen a szarvasmarhát hasznosítják tejelőként, azonban a termelői piacon találkozhatunk kecskétől, juhtól, lovaktól, akár bivalytól származó tejjel is.

A juhtej gazdag proteinben, kalciumban és D-vitaminban. Főként sajtokban, túróban, arckrémekben és szappanokban használják fel (Csanádi et al., 2001.) A juhtej kevesebb A1 β -kazeint tartalmaz (Woodford 2009).

A legegészségesebbnek a kecsketejet ismerjük. A kecsketej fő tápanyagösszetételében, ízében és megjelenésében egyaránt hasonlít a tehéntejhez, de mivel a kecske sok gyógynövényt is fogyaszt, kémiailag, fizikailag mégis kicsit eltér. A kecsketej valamivel kevesebb kazeint tartalmaz, mint a szarvasmarha. A kecsketejből készült élelmiszerek könnyen emészthetőek, valamint kevés allergén anyagot tartalmaznak, ezért is ajánlják rákos betegek számára (*Young et al., 2017*).

A kancatejet főleg Közép-Ázsiában fogyasztanak. Kancatej zsírtartalma kevesebb, laktóz tartalma több, mint a szarvasmarhának (*Fotschki et al., 2016*).

Indiában bivalytejet is fogyasztanak, ami magas zsír- és fehérjetartalommal rendelkezik. A szarvasmarhához hasonlóan a bivalynál is megjelent az A1 allél (*Vinesh, 2013*).

A tevetej gyógyászati tulajdonságairól ismert, amelyeket széles körben hasznosítanak az emberek egészségének érdekében. A β -kazein alacsony mennyisége és a β -laktoglobulin hiánya miatt a tevetej hipoallergén (*Konuspayeva et al., 2009*). Tevetejből kozmetikumik cikketek és élelmiszert egyaránt előállítanak.

1. táblázat: Néhány tejelő állatfaj és az ember tejének összetétele (%) Forrás (*Fenyvessy et al., 2014*)

| <i>Alkotórész</i> | <i>Tehéntej</i> | <i>Juhtej</i> | <i>Kecsketej</i> | <i>Bivalytej</i> | <i>Szamártej</i> | <i>Kancatej</i> | <i>Anyatej</i> |
|---------------------------------------|-----------------|---------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|----------------|
| Fehérje | 3,3 | 5,5 | 3,9 | 5,9 | 1,5 | 2,15 | 1,0–1,5 |
| Zsír | 3,8 | 8,2 | 4,0 | 7,9 | 1,15 | 0,6 | 2,0–6,0 |
| Tejcukor | 4,6 | 5,0 | 4,5 | 4,5 | 6,0 | 6,75 | 7,1–7,3 |
| Ásványi anyagok | 0,8 | 0,9 | 0,8 | 0,75 | 0,4 | 0,35 | 0,20–0,25 |
| Száranyag (Sza.) | 12,5 | 19,6 | 13,2 | 19,05 | 9,05 | 9,85 | 11,0–14,0 |
| Zsírmentes száraz- anyag (Zsmsza.) | 8,8 | 11,4 | 9,2 | 11,15 | 7,9 | 9,25 | 7,5–8,5 |

A tejben legnagyobb arányban a víz van jelen, mintegy 87,3%-a (*Fenyvessy et al., 2014*). A tej oldható komponenseket is tartalmaz, ide tartozik a tejcukor, az ásványi anyagok (pl. kalcium) és egyes vitaminok. Összetétele fajtánként változhat, ezenkívül a genetikai adottságok, a takarmányozás, az éghajlati hatások, az évszak, az egészségi állapot is befolyásolhatja.

A tejszír rövid szénláncú zsírsavak miatt ideális az emberi szervezet számára, mert ezek tartalmazzak triglicerideket, amiket az emésztőenzimek könnyebben tudnak lebontani. A tejszír telítetlen zsírsav-tartalma viszonylag csekély, ennek ellenére a szükséges esszenciális zsírsavakból jelentős mennyiséget tartalmazhat (*Holló et al., 2016*).

A szarvasmarha tej szénhidrát tartalma glükózból és galaktózból épül fel. Mennyisége kb. 4,6–5,1% (Fenyvessy *et al.*, 2014), és ez adja a tej édes ízét. A laktóz (ami glükózból és galaktózból áll) elősegíti az ásványi anyagok (kalcium, magnézium, foszfor) felszívódását, gátolja a káros bélbaktériumok elszaporodását a bélben. Tejben található szénhidrátok az érlemeszedés kockázatát csökkentik, így a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának esélye sekély (Szakály *et al.*, 2001). Laktózérzékenység (laktózintolerancia) jelentkezik abban az esetben, ha hiányzik a tejcukor lebontását végző enzim, a laktáz, így a tejcukor hasmenést, rosszulétet okoz. Sok ember laktáz enzim mennyisége az életkor előrehaladtával csökken, sőt vannak, akiknél egyáltalán nem is képződik (*http*⁵).

A tejben jelentős kalcium, foszfor és szelén forrás van, akár egy pohár tej napi szükségletünk 20–60%-át fedezni tudjuk (Fenyvessy, 2014).

A tehéntejben átlagosan 3,3% valódi fehérje található, amely a tejalkotók közül az egyik legértékesebb. A tejfehérje fontos szerepet tölt be az állati-fehérje szükségletünk biztosításában, ami a tej 2,8 – 4,5 %-át teszi ki. Változékonysága kisebb, mint a zsírtartalomé és a környezeti tényezők kevésbé befolyásolják. A tejfehérje % és a tejsír % között pozitív korreláció van. A tejfehérjét kétféle fehérje típus alkotja: általában 80 %-a kazein, 20 %-ban pedig savófehérje. Az α S1-kazein (39–46%), α S2-kazein (8–11%), β -kazein (25–35%), κ -kazein (8–15%), α -laktalbumin, β -laktoglobulin alkotja (Bijl *et al.*, 2020). „Számos tanulmány igazolta, hogy az egyes frakciók mennyisége és relatív aránya, bizonyos allélok előfordulása és a különböző a poszttranszlációs módosulások hatással lehetnek a tej fizikai-kémiai, táplálkozásélettani, valamint technológiai tulajdonságaira.” (Buzás *et al.*, 2021). Buzás és munkatársai 2022-ben kidolgozták a kazein fehérje alapú gyors diagnosztikáját. A kérődzők tejében fellelhető fehérjék 95 %-át 6 struktúrgén kódolja. A 4 kazein gén egy 250 kilobázis hosszú szakaszon található, a 6-os kromoszómán. A gének sorrendben a következők *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN1S2*, és *CSN3*, melyek az α S1-CN, β -CN, α S2-CN, és κ -CN fehérjéket kódolják (Sebastiani, 2020).

2.3. β -kazein-2 (*CSN2*)

β -kazeinnek 12 variációja létezik az A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I (Nguyen, *et al.*, 2015).

Kutatások szerint a szarvasmarha fajban alapvetően az A2 forma volt jellemző, de egy több ezer évvel ezelőtti mutációnak köszönhetően az európai fajták esetében megjelent az A1 forma (Pal, 2015).

Az A2 a legrégebbi változat, amelyből a többi mutálódott, az A1 β -CN genetikai variáns egyetlen aminosavban mutálódott az európai tejelő állományokban néhány ezer évvel ezelőtt (*Sebastiani et al., 2020*). A két β -CN típus a 67-es aminosav pozícióban térnek el. Az A1 β -kazein és a rokon alvariánsai, a B és C hisztidint tartalmaz ebben a pozícióban, az A2 β -kazein és a rokon alvariánsai, az A3, a D, E, és az I prolint tartalmazznak. (*Jianqin et al., 2015*).

2. táblázat: β -kazein 2 (CSN2) fehérjelánc aminosav változásával járó mutációi *Forrás: Sebastiani et al 2020.*

Arg: arginin; Gln: glutamin; Glu: glutamit; His: hisztidin; Ile: isoleucin; Leu: leucin; Lys: lysin; Met: methionin; Pro: prolin; Ser: szerin

| β -kazein 2 (CSN2) variánsok | Aminosav pozíció | | | | | | | | |
|--|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 36 | 37 | 67 | 72 | 88 | 93 | 106 | 122 | 138 |
| A2 * | Glu (E) | Glu (E) | Pro (P) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| A1 * | Glu (E) | Glu (E) | His (H) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| A3 * | Glu (E) | Glu (E) | Pro (P) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | Gln (Q) | Ser (S) | Pro (P) |
| B * | Glu (E) | Glu (E) | His (H) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Arg (R) | Pro (P) |
| C * | Glu (E) | Lys (K) | His (H) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| E * | Lys (K) | Glu (E) | Pro (P) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| I * | Glu (E) | Glu (E) | Pro (P) | Gln (Q) | Leu (L) | Leu (L) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| D | Glu (E) | Glu (E) | Pro (P) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| F | Glu (E) | Glu (E) | His (H) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Leu (L) |
| G | Glu (E) | Glu (E) | His (H) | Gln (Q) | Leu (L) | Met (M) | His (H) | Leu (L) | Pro (P) |
| H1 | Glu (E) | Glu (E) | Pro (P) | Gln (Q) | Ile (I) | Met (M) | His (H) | Ser (S) | Pro (P) |
| H2 | Glu (E) | Glu (E) | Pro (P) | Glu (E) | Leu (L) | Leu (L) | His (H) | Ser (S) | Glu (E) |

A tehenek lehetnek homozigóták az egyik típusra nézve, vagy heterozigóták lehetnek allél-kodominciával, ami azt eredményezi, hogy mindkét típus kifejeződik a tejben. Humán betegségek kockázati tényezőinek tekinthetők azok az allélváltozatok, amelyek hisztidint tartalmaznak a 67-es pozícióban (A1, B és C variánsok), míg a prolint tartalmazó allélvariánsok, azaz az A3 és I variánsok az A2 változathoz hasonlóan viselkednek, még akkor is, ha más egynukleotidos polimorfizmusokat (SNP-eket) tartalmaznak a 106. pozícióban (hisztidintől glutaminig) és 93. pozícióban (metionintól leucinig) (*Sebastiani et al., 2020*).

2.4 β -kazein-2 (CSN2) A1 egészségügyi hatásai

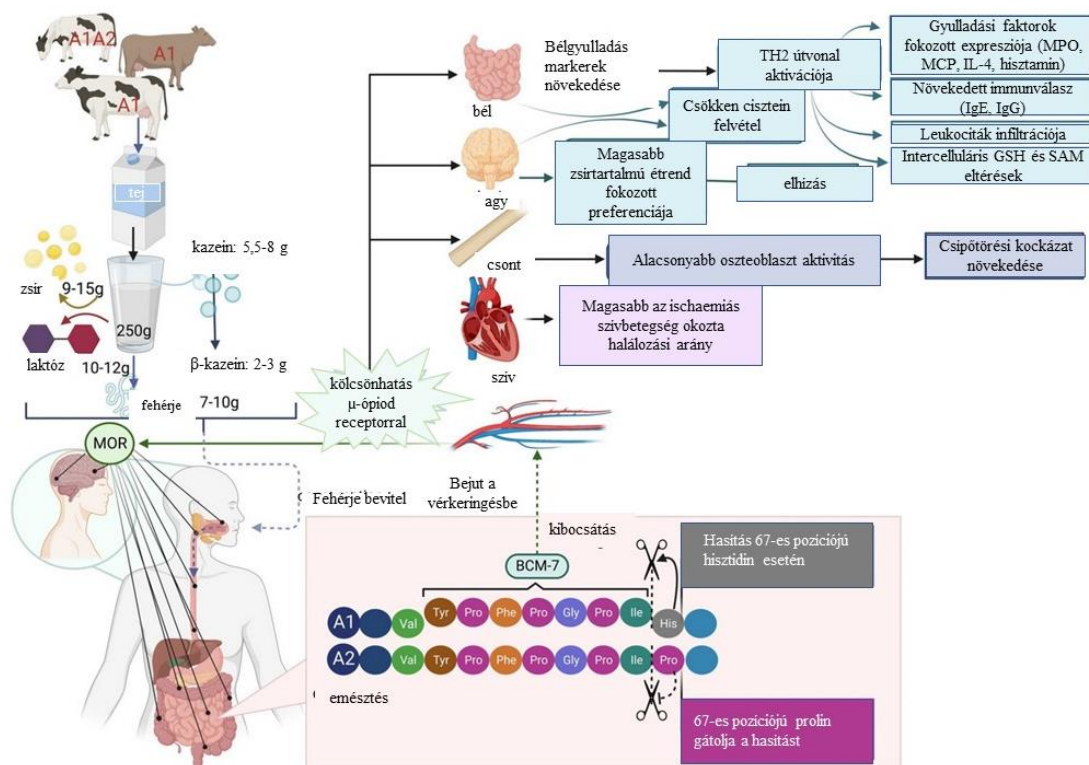
A tejben jelenlévő β -CN mutációk bizonyos formáiról feltételezhető, hogy kapcsolatban állnak számos emberi betegség, különösen a szív- és érrendszer betegségek megjelenésével (*Brooke-Taylor, Dwyer, Woodford és Kost, 2017*).

Az A1-es tejben az A2-es tejhez képest megváltozik az aminosav lánc összetétel, mivel az A1-es tejbe hisztidin kerül, az A2-es tejben található prolin helyére és a proteázok emésztése során egy hét aminosavat tartalmazó 7- β -kazomorfint termel, aminek az emésztéséhez egy speciális enzimre (DPP4) van szükség. A proteázok, vagyis az emésztésben szerepet játszó fehérjebontó enzimek, más helyen fogják hasítani (emésztetni) a peptid láncokat az A1-es tejben az 59. aminosav után és a 67. aminosav előtt. Egyes emberek ezt az enzimet nem állítják elő (*Yang et al., 2022*), emiatt náluk a β -kazomorfint 7 gyulladást okozhat. Így az A1 β -kazeinű tej fogyasztása a bélszövetben BCM-7 termeléséhez és expozíciójához vezethet, amely számos gyulladást elősegítő hatást fejt ki, beleértve a jelátviteli aktivitás megváltozását, a redox rendellenességeket és a génexpresszió megváltozott epigenetikai szabályozását (*Trivedi et al., 2014*).

Epidemiológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a béta-kazein A1 tej fogyasztása következő kórképekkel hozható összefüggésbe: az 1-es típusú cukorbetegség, a szívkoszorúér-betegség, az érelmeszesedés, az autizmus, a skizofrénia (*Daniloski et al., 2021, Cieślińska et al. 2022, Thiruvengadam et al., 2020*).

A BCM-7 μ -opioid receptorokon keresztül a bélrendszerben gyulladással összefüggő molekulák expresszióját indukálja (2.ábra *Cieślińska et al. 2022* alapján módosítva). Továbbá fokozott humorális immunválaszt okoz B immunsejtek IgE, IgG immunanyagot termelnek. Bélfal áteresztő képessége növekszik, amelynek hatására a véráramba kerül a BCM-7 molekula, amely képes az agyérigáton (BBB) átjutni és az agysejtekben a MOR receptorokhoz kötődhetnek, amelynek autizmusban is szerepe lehet, valamint növelheti a magas zsírtartalmú ételek utáni vágyat, amely elhízáshoz vezet (*Thiruvengadam et al., 2020, Daniloski et al., 2021, Kaskous et al., 2020*). A csontszövetben gátolja az oszteoblaszt aktivitást, ami csípőtörés kockázatát növeli. Korábban leírt gyulladáshoz vezető folyamatok az érfalban ischémias elváltozást okoznak (*Chang et al., 2020*), amelyek növelik a szív-érrendszeri halálozási arányt (*Cieślińska et al. 2022*).

2.ábra: BCM7 hatása az emberi szervezetre *Forrás: Cieślińska et al., 2022 alapján módosítva*



Klinikai tanulmányok alapján régóta ismert, hogy Svédországban, Dániában, Finnországban a több A1 β -kazein tartalmazó tejet fogyasztóknál nagyobb az előfordulási esélye az 1-es típusú diabétesznek (Cieślińska et al., 2022).

Ezzel ellentétben Izlandon, ahol köztudott, hogy a szarvasmarha populáció nagyobb része A2-es tejet ad, ott azt tapasztalják, hogy kisebb az előfordulási gyakorisága 1-es típusú cukorbetegségnek (Thiruvengadam et al., 2021). 1-es típusú cukorbetegség 14 év alatti gyermekeknél fordul elő leginkább.

2.5. Genetikai diagnosztikai módszerek β -kazein 2 (CSN2) esetében

2.5.1 Sanger-szekvenálás

Nobel-díjas Frederick Sanger 1970-ben fejlesztette ki az első DNS-szekvenálási technikát, a későbbiekben tökéletesített láncterminációs módszert.

A szekvenálási módszer lényege, hogy a denaturált DNS molekula komplementer szálát szintetizálják meg polimeráz segítségével. DNS-t alkotó dNTP-n (dezoxi-nukleotid) kívül ddNTP-t (dideoxi-nukleotid) is kell, ugyanis ez is beépül a DNS szálba (kb 1%-os eséllyel), ami a DNS-szál növekedését megállítja, mivel a DNS-polimeráz nem tud hozzá kapcsolni új nukleotidot, így különböző hosszúságú fragmentek keletkeznek. Gélelektroforézis során Slab gélben ezeket a fragmenteket szétfutattják, felül a hosszabb láncú fragmentek fognak elhelyezkedni alul, pedig a rövidebbek. A gélben egymás mellett futattják a 4 nukleotidnak a ddNTP által letört fragmentjeit, és ezek elhelyezkedéséből tudják leolvasni a nukleotid sorrendet (*Gassen és Minol, 1996*).

Az automata DNS szekvenálásnál kapilláris csövekben futtatják meg a mintákat. Itt már mind a 4 nukleotidnak van fluoreszcens jelzése, így már 1 egy kapilláriscsőben megállapítható a nukleotid sorrend. A futtatás során a kapillárisban elválnak a fragmentek, amit az ABI (Applied Biosystem Incorporation) szoftverrel ellátott szekvenológép egy kis ablakon át egy lézersugárral megvilágít és a beépült ddNTP-t detektálja. A szekvenológép spektrum és lista formában is megadja a szekvenciát (Adenin – zöld, Citozin – kék, Guanin – fekete, Timin – piros). A szoftver N-nel jelöli az adott bázist, ha nem biztos a dolgában (*Kiss, 1999*).

2.5.2 T-ARMS PCR

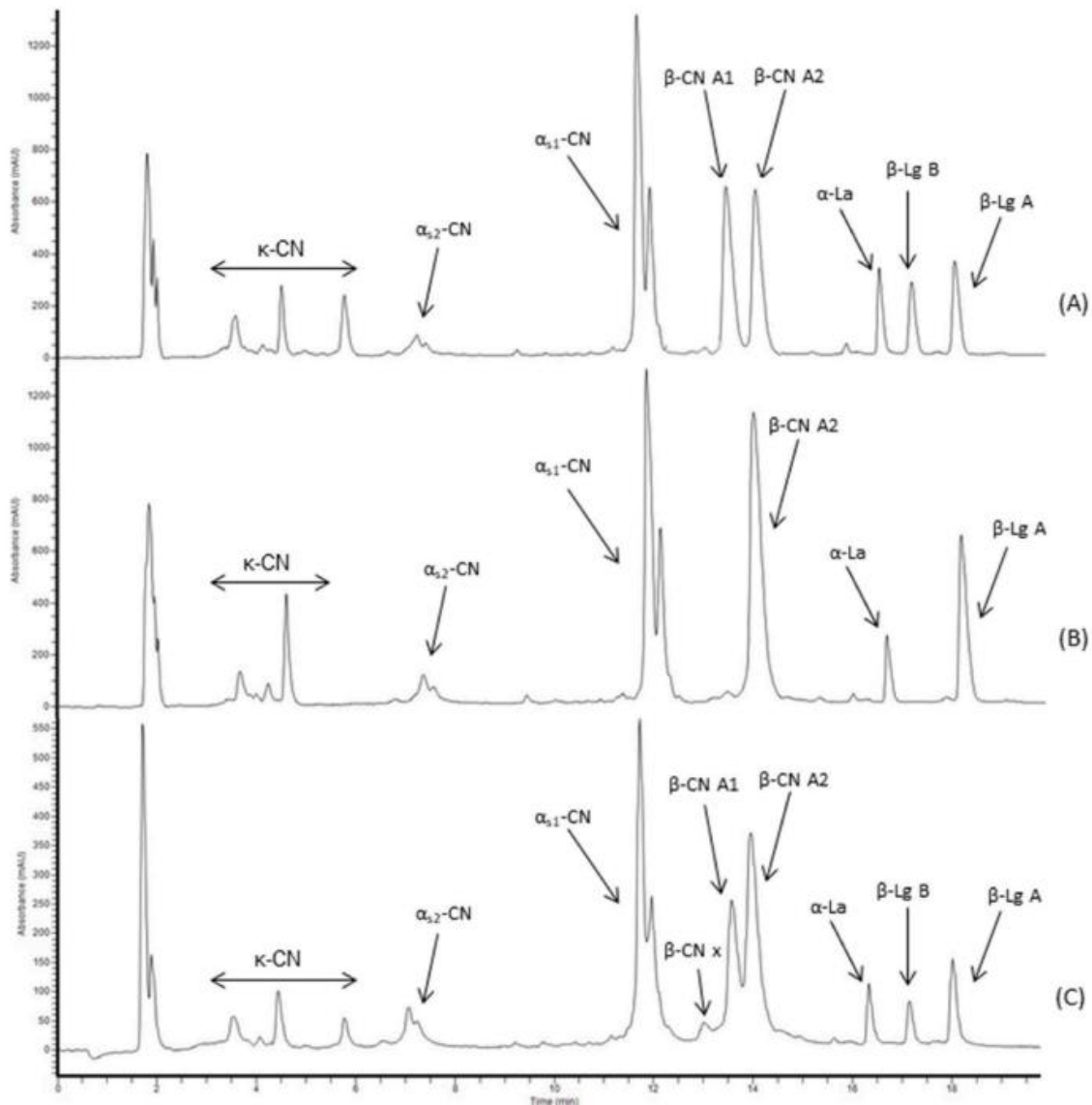
A tetra-primer amplifikációs refrakter mutációs rendszer-polimeráz láncreakció (ARMS-PCR) egyszerű és gazdaságos módszer az egy nukleotidos polimorfizmusok (SNP-k) genotipizálására (*Vigolo et al., 2022*)

2.5.3. β -kazein2 A1, A2 fehérje alapú vizsgálata

Buzás Henrietta és munkatársai 2022-ben dolgozta ki a tej, fehérje alapú vizsgálatát RP-HPLC módszerrel. A korábbi vizsgálatokhoz képest, ezzel a technikával 20 percen belül képesek vagyunk elválasztani a fő fehérjefrakciókat, akár nyers, ömlesztett és kereskedelmi forgalomban kapható hőkezelt tehéntejből is.

3. Ábra: RP-HPLC-vel készített, különböző κ -, β -CN, β -Lg genotípusú tejminták kromatográfiás profiljai (Buzás *et al.*, 2022, Vigolo *et al.*, 2022)

A: egyedi tej minta A1/A2, B: egyedi tej minta A2/A2, C: kereskedelmi ESL-tejminta



3. Anyag és módszer

3.1. Mintagyűjtés helye és tárolása

A mintákat a Bóly ZRT. csípőteleki tehenészetéből, illetve MATE fészlerlaci és jákói telephelyéről kaptuk, összesen 393 db fülporcot. A mintavételt a cég munkatársai végezték el, a szarvasmarha füléből csipentettek le egy kis darabot, ami kötőszövetet tartalmazott kívül és belül, közte kis porc szelettel. A minták Biobankba kerültek, ami tartalmazta az állat ENAR azonosító kódját, az Allflex tissue sampling unit (TSU) kódját, illetve rögzítésre került a gyűjtés pontos helye, időpontja és beérkezésének időpontja is. A mintákat a laboratóriumba érkezéstől a DNS-izolálás megkezdéséig -20°C -on tároltuk.

3.2. DNS izolálás

A fülcsipke korongokat egy egyenes végű csipesz segítségével kivettük és egy steril petricsészére helyeztük. A fülcsipke egyik végétől szike segítségével levágtuk a szőrös bőr korongot a hozzá kapcsolódó fehér színű nyálkás kötőszövetes résszel együtt egészen a fülcsipke középső részén lévő porcig. Figyelni kellett, hogy a porcot ne vágjuk bele az izolálni kívánt mintába. A levágott mintát egy 1,5 ml-es eppendorf csőbe helyeztük, míg a középső porcot és a másik szőrös bőrkorongot a fehér nyálkás kötőszövetes képlettel együtt visszaraktuk a mintavételi csőbe. A levett mintához 400 μl GT puffert (MagCore®) adtunk és 20 μl Proteináz K enzimet a fehérjék emésztéséhez, majd vortex segítségével homogenizáltuk a mintákat. Utána minimum 90 percig az 55°C -os thermomixerben inkubáltuk. Az inkubált minták DNS izolálásához MagCore® HF16 DNS izoláló robotot (RBC Bioscience, Taiwan) használtuk, a szövetből történő DNS-izolálásra alkalmas 401-es kit használatával, a gyártó utasításainak megfelelően. Az izolálást követően a DNS minták tisztaságát és koncentrációját spektrofotométerrel (NanoDrop ND1000 Spectrophotometer) ellenőriztük és a további vizsgálatok elvégzéséig -20°C -on tároltuk.

4. ábra: A laboratóriumban található MagCore® HF16 DNS izoláló robot, amellyel a DNS tisztítása történt. (Forrás: saját kép)



3.3. PCR körülmények

A minták vizsgálatához (fragment analízis) az izolált termékeket amplifikáltuk PCR segítségével. Az egyes PCR reakciók összemérése 20 μ l térfogatban történt, 1 μ l mintával (3.táblázat). A PCR-hez a *Sebastiani* és munkatársai (2020) által korábban publikált szarvasmarha A1, A2-t meghatározó β -kazein 2 (*CSN2*) 7-s exon-ra tervezett primer párt alkalmaztuk. A PCR reakciókat a Phire Animal Tissue Direct PCR Kit segítségével végeztük. A PCR reakciókat 20 μ l végtérfogatban mértük össze, ahol 1 mintára számolva a Phire Tissue Direct Buffer-ből 10 μ l-t, a Phire HS II DNA polimerázból 0,20 μ l-t, a forward és a reverz primerből 0,40 μ l-t, a desztillált vízből 8 μ l-t.

Forward primer, 455F_CSN2_E7_F : 5'TTTCCAGGATGAACTCCAGGAT 3'

Reverz primer, 455R_CSN2_E7_R: 5'CATCAGAAGTTAAACAGGCACAGTTAG3'

3. táblázat: β -kazein 2 (*CSN2*) vizsgálata során az egy mintához használt koncentrációk és mennyiségek.

| Reagens | Koncentráció | Mennyiség (μ l) |
|---------------------------------------|--------------|----------------------|
| Templát | n.a. | 1,00 |
| Phire Animal Tissue direct PCR Buffer | 2x | 10,00 |
| Phire HS II DNA polymerase | | 0,20 |
| 455F_CSN2_E7_F | 10 μ M | 0,40 |
| 455R_CSN2_E7_R | 10 μ M | 0,40 |
| Desztillált víz | | 8,00 |
| Végtérfogat | | 20,00 |

4. táblázat: β -kazein 2 (*CSN2*) vizsgálatához használt PCR protokoll

| | | |
|-------|------|-----|
| 98°C | 5:00 | 1 x |
| 98°C | 0:10 | 35x |
| 61,1 | 0:25 | |
| 72°C | 0:25 | |
| 72 °C | 5:00 | 1x |
| 4 °C | | |

A PCR program során 98°C-on 5 percig zajlott a kezdeti denaturáció, amit 35 cikluson keresztül 98°C-on 10 másodperc denaturáció, 61,1°C-on 25 másodperc annealáció és 72°C-on 25 másodperc elongáció követett. 72°C-on, 5 percig történt a végső elongáció.

3.4. Agaróz gélelektroforézis

A PCR termékeket 1,5 %-os agaróz gélen való elválasztással ellenőriztük, amihez GeneRuler 100 bp Plus molekulaszúly markert használtunk. A gél elkészítéséhez 100ml 1x TBE puffert és 1,5 g agaróz port kevertünk el, amit mikrohullámú sütőben oldottunk fel, míg homogén, átlátszó nem lett. Ezt követően kézmelegre hűtöttük a gél, majd 100 ml 1 mg/ μ l koncentrációjú Ethidium bromidot adtunk hozzá a fragmentumok láthatóvá tételének céljából. Reakciónként 3 μ l PCR terméket vittünk fel a gélre 9 μ l 6xLD (Thermo Fisher, USA) festékkel.

3.5. Sanger-szekvenálás és szekvencia analízis

A kapott β -kazein 2 (*CSN2*) PCR termékeket továbbítottuk a Microsynth AG céghez, ahol PCR termékek tisztítása után Sanger-szekvenálták a fragmenteket. A szekvenciákat a cég weboldaláról tudtuk letölteni.

A visszaérkezett Microsynth economy run plus plate label Sanger-szekvenciákat a DNASTar programcsomagban található SeqMan program (*Burland, 1999*) segítségével illeszttem. A tejtermelés szempontjából a legfontosabb mutáció a β -kazein 2 (*CSN2*) 7-es exonjában a 8101-es nukleotidnál található, amely felelős a nem kívánatos a BCM-7 keletkezéséért. Majd az egyedek kromatogramjaiban a többi ismert mutációt/variációt is kiértékelem, az *1. melléklet* (*Caroli et al., 2009 és Sebastiani et al., 2020*) alapján.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. DNS izolálás

Szöveti mintavételek során a 393 mintából a DNS izolálást MagCore® Genomic DNA Tissue Kittel végeztük el, MagCore® Automated Nucleic Acid Extractor robotban a gyártó utasítása szerint.

A DNS mennyiségét NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel ellenőriztük. A DNS koncentrációja és a tisztasága mindig elérte az 1,7-1,8 közötti értéket, így a DNS minták minőségi és mennyiségi ellenőrzésnek megfelelték.

4.2. PCR vizsgálatok

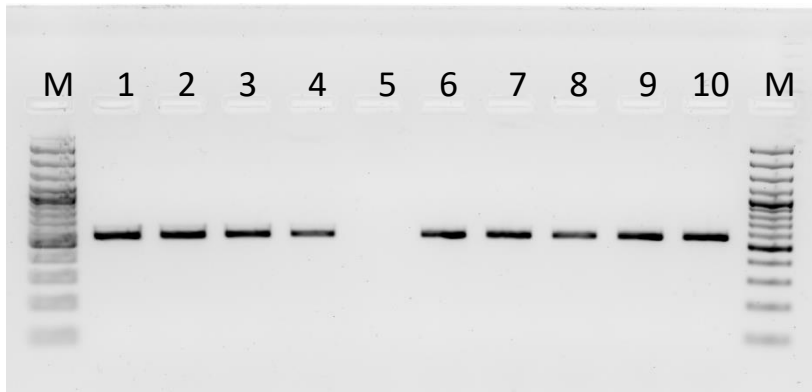
Az egyes PCR reakciók összemérése 20 μ l végtérfogatban történt, 1 μ l templát DNS-sel. Tissue direct PCR Puffer-ből (2x puffer) minden mintához 10 μ l-t, Phire HS II DNA polimerázból 0,20 μ l-t, a 455F_CSN2_E7_F forward primerből és a 455R_CSN2_E7_R reverz primerből 0,40 μ l-t, desztillált vízből 8 μ l-t mértünk össze.

4.3. Agaróz gélelektroforézis

A PCR termékeket 1,5 %-os agaróz gélen való elválasztással ellenőriztük, GeneRuler 100 bp Plus molekulasúly markert használtunk (5.ábra). Gélelektroforézis kimutatta, hogy a mintáim azonos molekulasúllyal rendelkeznek, és a negatív kontroll sem jött fel, így szekvenálásra beküldhetőek.

5. ábra: 1,5% agaróz gél elektroforézis *Saját kép*

Molekulasúly (M): GeneRuler 100 bp Plus, minták: 1-es minta TSU 716704, 2-es minta TSU 716714, 3-as minta TSU 716715, 4-es minta TSU 716828, 5-os NTC (negatív kontroll), 6-os minta TSU 716829, 7-es minta TSU 716834, 8-as minta TSU 716837, 9-es minta TSU 716838, 10-es minta TSU 716845

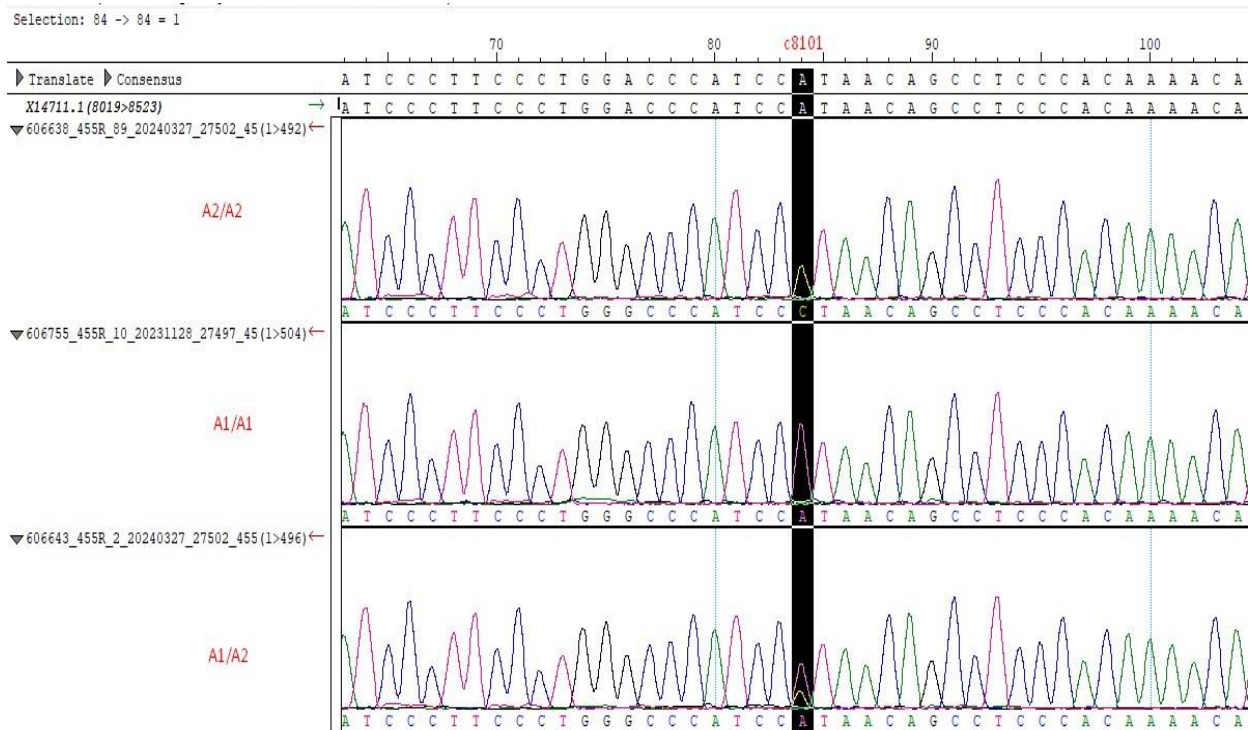


4.4 Bioinformatikai elemzés

A Sanger szekvenálást Microsynth labor végezte, Microsynth economy run plus plate label Kit segítségével, a hígított PCR termékeket a 455 F primerrel szekvenáltuk. A szekvenálás után a Sanger-szekvenciák kromatogramjait a DNASTar programcsomagban található SeqMan program segítségével elemeztük.

A β -kazeinnek 12 variációja létezik az A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I (*Kaminski et al., 2007*). A β -kazein 2 (*CSN2*) szekvenciáiban az ismert SNP-ket hasonlítottam össze Sebastiani és munkatársai, (2020) alapján. A termelés szempontjából a legfontosabb mutáció a *CSN2* 7-es exonjában a 8101-es nukleotidnál található. Ez dönti el, hogy β -kazein 2 *CSN2* fehérjeláncában a 67-es pozícióban hisztidin vagy prolin található. A hisztidin esetében BCM-7 keletkezik, amelynek negatív élettani hatásai vannak, míg a prolin esetében ez a peptid nem keletkezik és A2-s tejnek lehet nevezni a tejtermékeket. Az A1/A1 esetében a 8101-es nukleotidnál A/A bázis található, a A2/A2 tejben C/C bázis szerepel, az A1/A2 állat esetében pedig C/A volt (6.ábra). Ezen logika szerint értékeltem a vizsgált egyedek kromatogramjaiban a többi ismert mutációt/variációt. Amelynek a rövid leírása, illetve segédlete az 1. mellékletben (*Caroli et al., 2009 és Sebastiani et al., 2020 alapján*) található.

6. ábra: Sanger-szekvencia elemzés az A1, A2-t meghatározó 8101-es nukleotid mutáció



A 6. ábrán látható az A1, A2 eldöntő mutációk kromatogramja, amelyet a DNASTar programcsomagban található SeqMan program segítségével elemeztem. A képen jól látható a kiemelt részen a kérdéses mutáció pozíciója az A2 homozigóta, az A1 homozigóta, illetve az A1/A2 heterozigóta egyedek genotípusa.

A 8101-es nukleotid pozícióban citozin (C) található az A2 homozigóta egyedekben, míg adenin (A) az A1 homozigótában. A heterozigóta egyedek kromatogramján a kérdéses pozícióban 2 nukleotid csúcs látható.

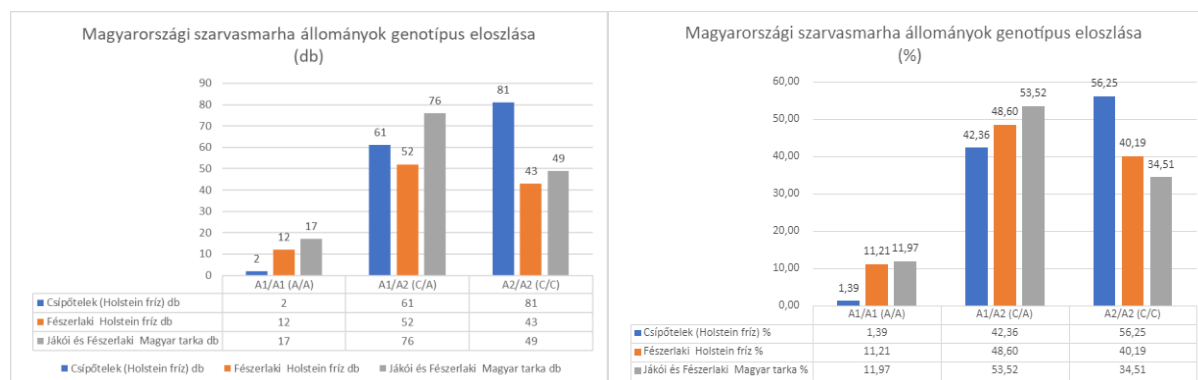
5. táblázat: Az A1, A2 genotipizált holstein-fríz és magyar tarka szarvasmarha állományok három telephelyről (Csípőtelek, Jákó, Fészerlak)

| β -kazein 2 (CSN2) c8101 pozíciója szerint | Csípőtelek (holstein-fríz) | | Jákó és Fészerlak (magyar tarka) | | Fészerlak (holstein-fríz) | |
|--|----------------------------|--------|----------------------------------|--------|---------------------------|--------|
| | egyed (db) | (%) | egyed (db) | (%) | egyed (db) | (%) |
| A2 homozigóta | 81 | 56,25% | 49 | 34,51% | 43 | 40,19% |
| A1A2 heterozigóta | 61 | 42,36% | 76 | 53,52% | 52 | 48,60% |
| A1 homozigóta | 2 | 1,39% | 17 | 11,97% | 12 | 11,21% |
| Σ : n=393 | n=144 | 100% | n=142 | 100 | n=107 | 100 |

7. ábra: A három telephelyről (Csípőtelek, Jákó, Fészerlak) származó holstein-fríz és magyar tarka szarvasmarha állományoknak az A1, A2 genotípusos eloszlása egyedszám (db) szerint 7a ábrán és százalékos eloszlása (%) szerint 7b ábrán látható

a)

b)



A csípőteleki holstein-fríz minták 56,25%-a A2 homozigóta, 42,36%-a A1A2 heterozigóta és 1,39%-a az A1 homozigóta genotípusba tartozott (5. táblázat, 7b. ábra alapján). A szakirodalmi adatok hasonló értékeket mutattak a lengyel, olasz, török holstein-fríz állományokban *Kaminski és munkatársai (2006)*, *Sebastiani (2020)* és *Ardicli és munkatársai, (2023) publikációjuk alapján*.

A MATE fészerlaci telephelyéről jött holstein-fríz minták 40,19%-a A2 homozigóta, 48,60%-a A1A2 heterozigóta és 11,21%-a A1 homozigóta genotípusba tartozik. *Kaminski és munkatársai. (2006)*, *Sebastiani (2020)* és *Ardicli és munkatársai, (2023)* kutatása is hasonló értékeket mutatott.

A MATE jákói és fészerlaci telephelyről származó magyar tarka minták 34,51%-a A2 homozigóta, 53,52%-a A1A2 heterozigóta és 11,97%-a A1 homozigóta genotípusba tartozott. Korábbi magyarországi kutatások (*Baranyi et al., 2000*) szinte azonos allélgyakoróságokat

mutattak, az általuk vizsgált mintákban (34,72%-a A2 homozigóta, 51,39%-a A1A2 heterozigóta és 13,89%-a A1 homozigóta).

6. táblázat: Az allél- és genotípus gyakoriságok (%) a vizsgált holstein-fríz és magyar tarka szarvasmarha állományokban (Csípótelek, Jákó, Fészerlak), az adatok csökkenő allél és genotípus frekvencia alapján vannak rendezve

| | Allél | Allél frekvencia (%) | Genotípus | Genotípus frekvencia (%) |
|--|-------|----------------------|-----------|--------------------------|
| Csípótelek (holstein-fríz) | A2 | 57,35 | A2/A2 | 29,37 |
| | A1 | 20,28 | A1/A2 | 28,67 |
| | I | 19,94 | A2/I | 22,38 |
| | B | 2,45 | A1/I | 9,09 |
| | | | A2/B | 4,90 |
| | | | I/I | 4,20 |
| | | | A1/A1 | 1,40 |
| | | | B/I | 0 |
| | | | B/B | 0 |
| | | A1/B | 0 | |
| | Allél | Allél frekvencia (%) | Genotípus | Genotípus frekvencia (%) |
| MATE Fészerlak (holstein-fríz) | A2 | 62,15 | A2/A2 | 37,38 |
| | A1 | 30,37 | A1/A2 | 37,38 |
| | B | 5,61 | A2/B | 10,28 |
| | I | 1,87 | A1/A1 | 10,28 |
| | | | A2/I | 1,87 |
| | | | A1/I | 1,87 |
| | | | A1/B | 0,93 |
| | | | I/I | 0 |
| | | | B/I | 0 |
| | | B/B | 0 | |
| | Allél | Allél frekvencia (%) | Genotípus | Genotípus frekvencia (%) |
| MATE Jákó és Fészerlak (magyar tarka) | A2 | 53,87 | A1/A2 | 39,44 |
| | A1 | 32,4 | A2/A2 | 25,35 |
| | I | 7,39 | A2/I | 9,15 |
| | B | 6,34 | A2/B | 8,45 |
| | | | A1/A1 | 8,45 |
| | | | A1/I | 4,93 |
| | | | A1/B | 3,52 |
| | | | B/I | 0,70 |
| | | | I/I | 0 |
| | | B/B | 0 | |

A dolgozatban vizsgált szarvasmarha állományokat allél- és genotípus gyakoriság szerint csoportosítottam a *Sebastiani et al. (2020)* tanulmánya szerint (6.táblázat) az adatok csökkenő allél és genotípus frekvenciája alapján.

Allélgyakoriságok Csípőtelek holstein-fríz állományban

A csípőteleki holstein-fríz tehenészetben az A2 allél a leggyakoribb 57,35%-kal, az A1 allél 20,28%, az I allél 19,94% és a B allél 2,45% gyakorisággal jelent meg. A nemzetközi irodalomhoz nagyon hasonló eredményeket kaptunk.

Genotípus gyakoriság Csípőtelek holstein-fríz állományban

A csípőteleki holstein-fríz állományban a legnagyobb genotípus frekvenciát a homozigóta A2/A2 genotípus mutatott 29,37%-ot, ezt követi az A1/A2 heterozigóta genotípus 28,67%-kal. A többi genotípus kevesebb százalékkal jelent meg, az A2/I 22,38%, az A1/I 9,09%, az A2/B 4,90%, az I/I 4,20%, az A1/A1 1,40%, az B/I heterozigóta, az A1/B heterozigóta és a B/B homozigóta genotípust nem azonosítottunk az állományban.

Allélgyakoriságok Fészerlaki holstein-fríz állományban

Az A2 allél a leggyakoribb 62,15%-kal, utána az A1 allél 30,37%-kal, a B allél 5,61%-kal és az I allél 1,87%-kal.

Genotípus gyakoriság Fészerlaki holstein-fríz állományban

Sebastiani (2020) alapján a fészerlaki holstein-fríz állományban a legnagyobb genotípus frekvenciát a heterozigóta A1/A2 genotípus mutatott 37,38%-ot, és az A2/A2 homozigóta genotípus 37,38% mutatott. A többi genotípus kevesebb százalékkal jelent meg, az A1/A1 homozigóta 10,28%, az A2/B 10,28%, az A1/I 1,87%, az A2/I 1,87%, az A1/B 0,93%, az I/I, az B/I és a B/B nem jelent meg az állományban.

Allélgyakoriságok fészerlaki és jákói magyar tarka állományban

Az A2 allél a leggyakoribb 53,87%-kal, utána az A1 allél 32,4%-kal, az I allél 7,39%-kal és a B allél 6,34%-kal.

Genotípus gyakoriságok fészerlaki és jákói magyar tarka állományban

A legnagyobb genotípus frekvenciát az A1/A2 heterozigóta genotípus mutatott, 39,44%-ot, utána az A2/A2 homozigóta genotípus 25,35%-ot. A többi genotípus kevesebb arányban

jelent meg, az A2/I 9,15%, az A1/A1 8,45%, az A2/B 8,45%, az A1/I 4,93%, az A1/B 3,52%, az I/I, az B/I és a B/B nem jelent meg az állományban.

5. Következtetések és javaslatok

Sikeresen izoláltam 393 fülporc mintából DNS-t további genotipizálási feladathoz.

β -kazein 2 gén (CSN2) A1, A2 eldöntő 67-es aminosav polimorfizmusának összehasonlítása irodalmi adatokkal

A csípőteleki holstein-fríz állomány β -kazein 2 gén (CSN2) A1, A2 genotípust meghatározó c8101 mutáció gyakorisága a török holstein-fríz állományhoz hasonlított a leginkább, ahol A2 homozigóta aránya volt a legmagasabb (Ardicli et al., 2023). Amelyben a genotípus gyakoriságban az A2 homozigóta aránya 47%, az A1/A2 heterozigóta 41% és az A1 homozigóta csak 12% gyakorisággal jelent meg (7. táblázat).

A fészlerlaki holstein-fríz állomány β -kazein 2 gén (CSN2) A1, A2 genotípust meghatározó c8101 mutáció gyakorisága a lengyel holstein-fríz állományhoz hasonlított a leginkább, ahol az A1A2 heterozigóta genotípus volt a leggyakoribb (Kaminski et al., 2006). Amelyben az A1A2 heterozigóta genotípus 58,04%-ban, az A2 homozigóta 30,77%-ban és az A1 homozigóta 11,19%-ban jelent meg.

A jákói és a fészlerlaki magyar tarka állomány β -kazein 2 gén (CSN2) A1, A2 genotípust meghatározó c8101 mutáció gyakorisága szinte megegyezik a korábban vizsgált allél és genotípus értékekkel (Baranyai et al., 2000).

7. táblázat: β -kazein 2 gén (CSN2) A1, A2 eldöntő c8101 polimorfizmusának összehasonlítása irodalmi adatokkal

| β -kazein 2 (CSN2) c8101 pozíciója szerint | A2 homozigóta | | A1A2 heterozigóta | | A1 homozigóta | |
|--|---------------|--------|-------------------|--------|---------------|--------|
| | db | % | db | % | db | % |
| Csípőtelek (holstein-fríz) | 81 | 56,25% | 61 | 42,36% | 2 | 1,39% |
| Fészlerlak (holstein-fríz) | 43 | 40,19 | 52 | 48,60 | 12 | 11,21 |
| Jákó és Fészlerlak (magyar tarka) | 49 | 34,51% | 76 | 53,52% | 17 | 11,97% |
| Török holstein-fríz, Ardicli (2023) | 147 | 46% | 127 | 41% | 36 | 12% |
| Lengyel holstein-fríz, Kaminski (2006) | 44 | 30,77% | 83 | 58,04% | 16 | 11,19% |
| Magyar tarka, Baranyai (2000) | 50 | 34,72% | 74 | 51,39% | 20 | 13,89% |

A β -kazein 2 gén (CSN2) további variációinak allél- és genotípus gyakoriságának összehasonlítása

A csípőteleki holstein-fríz és a fészlerlaki holstein-fríz állományok A2/A2 homozigóta és A1/A2 heterozigóta genotípus gyakorisága volt a legmagasabb, amely hasonló genotípusfrekvenciát mutattak a *Sebastiani és munkatársai (2020)* kutatásában mért adataival. Az olasz holstein-fríz állományánál az A2/A2 homozigóta aránya 36,96%, az A1A2 heterozigóta arány 35,79%, az A1/A2 homozigóta aránya 9,88%, az A2/B heterozigóta aránya 7,55%, az A2/I heterozigóta 3,93%, az A1/B heterozigóta aránya 3,07%, az A1/I heterozigóta aránya 2,03%, az B/I heterozigóta aránya 0,25% (8. táblázat).

A vizsgált 3 telephely állományában nem fordult elő a B/B homozigóta, A2/A3 heterozigóta, A3/B heterozigóta, az A1/A3 heterozigóta, A1/C heterozigóta genotípus. Illetve a csípőteleki holstein-fríz állományban találtam I homozigóta egyed, ami a MATE és az olasz állományban nem fordult elő, ezen kívül ebben az állományban az A2/I genotípus és az A1/I genotípus aránya jóval nagyobb százalékot mutatott. Az A1/A1 homozigóta kisebb százalékkal jelent meg, ami annak tudható be, hogy az utóbbi időben A2-s spermával termékenyítettek meg.

8.táblázat: *A β -kazein 2 gén (CSN2) további variációinak genotípus gyakoriságának összehasonlítása*

| | Csípőtelek (holstein-fríz) | MATE Fészlerlak (holstein-fríz) | MATE Jákó és Fészlerlak (magyar tarka) | Sebastiani (2020) (holstein-fríz) |
|-----------|-------------------------------|------------------------------------|---|--------------------------------------|
| Genotípus | Genotípus frekvencia (%) | Genotípus frekvencia (%) | Genotípus frekvencia (%) | Genotípus frekvencia (%) |
| A2/A2 | 29,37 | 37,38 | 25,35 | 36,96 |
| A1/A2 | 28,67 | 37,38 | 39,44 | 35,79 |
| A2/I | 22,38 | 1,87 | 9,15 | 3,93 |
| A1/I | 9,09 | 1,87 | 4,93 | 2,03 |
| A2/B | 4,90 | 10,28 | 8,45 | 7,55 |
| I/I | 4,20 | 0 | 0 | 0 |
| A1/A1 | 1,40 | 10,28 | 8,45 | 9,88 |
| B/I | 0 | 0 | 0,70 | 0,25 |
| B/B | 0 | 0 | 0 | 0,18 |
| A1/B | 0 | 0,93 | 3,52 | 3,07 |

Javaslatok

Célszerű lenne folytatni a genotipizálási kísérleteket a teljes tejelő állományra. Az eddig azonosított A2 homozigóta teheneknek A2 homozigóta bikáktól, csak A2 homozigóta utódaik szülehetnek.

Azonosított A1A2, illetve A1A1 genotípusú tehenek A2 bikáktól származó utódait szűrni kell, hogy a A2-es homozigóta egyedek is A2 tejtermelésbe kerülhessenek.

További javaslat, hogy az A2-re szűrt tejelő szarvasmarha állományok elegytejének ellenőrzésére a fehérje alapú vizsgálati RP-HPLC (*Buzás et al. 2022*) módszert kellene alkalmazni, amely a tej többi fehérjére is minőségi, mennyiségi adatot szolgálhat (3.ábra).

Minden tejelő szarvasmarha állományt homozigóta β -kazein 2 (CSN2) A2 genotípusra kellene tenyészteni. Így remélhetőleg a gyermektápszerekben az 1-es típusú cukorbetegségek kialakulásának gyakorisága csökkenne (*Thiruvengadam et al., 2021, Cieślińska et al. 2022, Daniloski et al., 2021*)

6. Összefoglalás

A tejben jelenlevő β -kazein 2 egyik formája (A1) negatív élettani hatásáról számolt be több publikáció. A szarvasmarha tej β -kazein 2 gén (*CSN2*), az A1-es formája eltér az eredeti A2 formától. A két β -kazein fehérje 67-es aminosav pozíciójában térnek el, A1-ben hisztidin (His67), A2-ben prolin (Pro67). Az A1-ben β -kazomorfin-7 (BCM-7) peptid-lánc szabadul fel a proteáz emésztés miatt (*Nguyen et al., 2015*), amelynek több negatív élettani hatást is tulajdonítanak (*Daniloski et al., 2021*). A BCM-7 peptid egy erős ópioid, amely a μ -ópioid receptorokon keresztül fejti ki hatását a különböző szövetekben (*Cieślińska et al., 2022*). Az A1-es β -kazein változatot tartalmazó tej fogyasztása összefüggésbe hozható szívbetegség, hirtelen csecsemőhalál, skizofrénia, autizmus, valamint az 1-es típusú cukorbetegség fokozott előfordulása között is (*Thiruvengadam et al., 2021, Cieślińska et al., 2022, Daniloski et al., 2021*).

Célkitűzéseim közé tartozott, hogy 3 telephelyről származó (Csípőtelek, Fészerlak és Jákó) holstein-fríz és magyar tarka fülporc mintából DNS-t izoláljak, majd a β -kazein 2 gén (*CSN2*) A1, A2 eldöntő 67-es c8101 mutációjának polimorfizmusát genotipizáljam, illetve a β -kazein 2 gén (*CSN2*) további allél- és genotípus gyakoriságát vizsgáljam.

Összesen 393 fülporc mintát dolgoztam fel, ami a Bóly ZRT. csípőteleki holstein-fríz szarvasmarha (n=144), illetve MATE Fészerlaci holstein-fríz (n=107) és fészerlaci, jákói magyar tarka telephelyeiről (n=142) kaptuk. A Sanger-szekvenálást követően a szekvenciák kromatogramját a DNASTar programcsomagban található SeqMan program segítségével elemeztem. A β -kazeinnek 12 variációja létezik az A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I (*Kaminski et al., 2007*). A vizsgált magyar állományokban eddig az A1, A2, B és I β -kazein 2 variáció jelent meg.

A legnagyobb arányban a csípőteleki szarvasmarha telep holstein-fríz állományában találtunk A2-nek nevezhető tejelő egyedeket, míg az A1/A2 heterozigóta genotípus előfordulása a magyar tarkánál volt a legmagasabb. Szerencsére elmondható, hogy az A1 homozigóta genotípus jelent meg a legkisebb arányban a vizsgált magyar állományokban és fajtákban.

Sikerült a β -kazein 2 gén (*CSN2*) további variációinak allél- és genotípus gyakoriságát felmérni és a nemzetközi adatokhoz hasonlítani. Ahol azt tapasztaltuk, hogy az egyes variációkban és azok százalékos értékeiben nem találtunk jelentős különbségeket.

A csípőteleki állomány további szűrését végzem a TDK munkám során, amelynél nagyobb egyedszámon, remélhetőleg pontosabb β -kazein 2 allél és genotípus gyakoriságokat tudunk meghatározni.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Stéger Viktornak, a Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet, Genetika és Genomika Tanszék tanszékvezetőjének a laboratóriumi munkában nyújtott segítségért és türelméért, valamint a dolgozat javításában való segítségért, irányításért.

Hálás köszönet Ninausz Nórának, Sándorová Lillának és Dr. Fehér Péter Árpádnak szakmai, elméleti és gyakorlati tanácsaiért, útmutatásaiért és támogatásáért.

Köszönettel tartozom Dr. Varga László Tanár Úrnak az útmutatásért.

Nem utolsó sorban, köszönettel tartozom Dr. Holló Gabriellának és Dr. Szabari Miklósnak a minták beszerzéséért.

8. Irodalomjegyzék

- Apostu, S., Pop, C., Rotar, A. M., Salanță, L., POP, A., & GĂVRU, I. (2014). Improving the chemical and sensory characteristics of goat cheese by the addition of cranberry. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 71(2), 211-212.
- Ardicli, S., Samli, H., & Balci, F. (2023). Analysis of bovine beta-casein A1 and A2 allele frequency in Holstein-Friesian cows by Real-time PCR with fluorescent hybridization probes. *Veterinarski arhiv*, 93(3), 279-286.
- Baranyi M., V. J. B. (2000). A tejfehérje genotípusok kapcsolata a tehenek tejtermelésével és fertilitásával holstein-fríz, magyar tarka és hungarofríz állományokban. *Állattenyésztés*, 49(2), 107-119.
- Bijl, E., Holland, J. W., & Boland, M. (2020). Posttranslational modifications of caseins. In *Milk proteins* (pp. 173-211). Academic Press.
- Bozó, S. (1982). A szarvasmarha-keresztelési program megvalósulása Magyarországon. *Agrártudományi Közlemények: A Magyar Tudományos Akadémia Agrártudományok Osztályának Közleményei*, 41(1), 14-23.
- Brooke-Taylor, S., Dwyer, K., Woodford, K., & Kost, N. (2017). Systematic review of the gastrointestinal effects of A1 compared with A2 β -casein. *Advances in nutrition*, 8(5), 739-748.
- Buzás, H., Székelyhidi, R., Szafner, G., Szabó, K., Süle, J., Bukovics, S., & Kovács, A. J. (2022). Developed rapid and simple RP-HPLC method for simultaneous separation and quantification of bovine milk protein fractions and their genetic variants. *Analytical Biochemistry*, 658
- Buzás H., Szafner G, Kovács A. J (2021): A tehéntej fő kazein és savófehérje frakcióinak kvalitatív és kvantitatív meghatározásának lehetőségei elektroforetikus módszerekkel és nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, *Acta Agronomica Óváriensis* 62: (1) 98-125.
- Buzas, G., & SzabóCs, F. (2011). Szarvasmarhafajták tejtermelésének gazdasági értékelése. *gazdálkodás: Scientific Journal on Agricultural Economics*, 55(2), 166-173.
- Caroli, A. M., Chessa, S., & Erhardt, G. J. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of dairy science*, 92(11), 5335-5352.

- Csanádi, J., Ménesi, T., & Marton, E. (2001). A juhtej összetételének és minőségének vizsgálata a magyar Dél-alföldi régióban. *Tejgazdaság: Tudomány És Gyakorlat*, 61(1), 21-27.
- Chang, C. Y., Chien, Y. J., Lin, P. C., Chen, C. S., & Wu, M. Y. (2020). Nonthyroidal illness syndrome and hypothyroidism in ischemic heart disease population: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 105(8), 2830-2845.
- Cieślińska, A., Fiedorowicz, E., Rozmus, D., Sienkiewicz-Szłapka, E., Jarmołowska, B., & Kamiński, S. (2022). Does a little difference make a big difference? Bovine β -Casein A1 and A2 variants and human health—An update. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24),
- Daniloski, D., Cunha, N. M., McCarthy, N. A., O'Callaghan, T. F., McParland, S., & Vasiljevic, T. (2021). Health-related outcomes of genetic polymorphism of bovine β -casein variants: A systematic review of randomised controlled trials. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 233-248.
- Deth, R., Clarke, A., Ni, J., & Trivedi, M. (2015). Clinical evaluation of glutathione concentrations after consumption of milk containing different subtypes of β -casein: results from a randomized, cross-over clinical trial. *Nutrition journal*, 15, 1-6.
- Dr. Szakály Sándor (szerk.): *Tejgazdaságtan*, Dinasztia Kiadó, 2001
- Egyesülete, M. T. (1999). *A magyartarka fajta tenyésztési programja*.
- Evershed, R. P., Payne, S., Sherratt, A. G., Copley, M. S., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., ... & Burton, M. M. (2008). Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature*, 455(7212), 528-531.
- Fenyvessy, J., Csanádi, J., Csapó, J., & Csapó-Kiss, Z. (2014). *Tejipari technológia: tej és tejtermékek a táplálkozásban*. Scientia Kiadó.
- Fotschki, J., Szyc, A. M., Laparra, J. M., Markiewicz, L. H., & Wróblewska, B. (2016). Immunomodulating properties of horse milk administered to mice sensitized to cow milk. *Journal of dairy science*, 99(12), 9395-9404.
- Gassen, H. G., Minol, K. (1996): *Gentechnik*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Holló I., Szabó F. (2016): *Szarvasmarhatenyésztés*, 73 – 79.

- Ho, S., Woodford, K., Kukuljan, S., & Pal, S. (2014). Comparative effects of A1 versus A2 beta-casein on gastrointestinal measures: a blinded randomised cross-over pilot study. *European journal of clinical nutrition*, 68(9), 994-1000.
- Jianqin, S., Leiming, X., Lu, X., Yelland, G. W., Ni, J., & Clarke, A. J. (2015). Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk. *Nutrition journal*, 15, 1-16.
- Kamiński, S., Ruśc, A., & Cieślińska, A. (2006). A note on frequency of A1 and A2 variants of bovine beta-casein locus in Polish Holstein bulls. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 15(2), 195-198.
- Kamiński, S., Cieślińska, A., & Kostyra, E. (2007). Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *Journal of applied genetics*, 48, 189-198.
- Kaskous, S. (2020). A1-and A2-milk and their effect on human health. *Journal of Food Engineering and Technology*, 9(1), 15-21.
- Kiss, E. (1999): Növényi Molekuláris Genetika I. 83-84.
- Konuspayeva, G., Faye, B., & Loiseau, G. (2009). The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of food composition and analysis*, 22(2), 95-101.
- Kőrösi, A. M. (2014). A magyar szürke szarvasmarha Kárpát-medencei megjelenésének és fejlődésének kérdése archaeozoológiai leletek alapján (Doctoral dissertation, szte).
- Laugesen, M., & Elliott, R. (2003). The influence of consumption of A1 beta-casein on heart disease and Type I diabetes-the authors reply. *The New Zealand Medical Journal (Online)*, 116(1170).
- Malacarne, M., Martuzzi, F., Summer, A., & Mariani, P. (2002). Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *International Dairy Journal*, 12(11), 869-877.
- Nguyen, D. D., Johnson, S. K., Buseti, F., & Solah, V. A. (2015). Formation and degradation of beta-casomorphins in dairy processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 55(14), 1955-1967.
- Pajor F, Várkonyi D, Dalmadi I, Pásztorné-Huszár K, Egerszegi I, Penksza K, Póti P, Bodnár Á. *Animals (Basel)*. 2023 Jun 29;13(13):2152. doi: 10.3390/ani13132152.

- Pal, S., Woodford, K., Kukuljan, S., & Ho, S. (2015). Milk intolerance, beta-casein and lactose. *Nutrients*, 7(9), 7285-7297.
- S. Kalra, M. Dhingra Childhood diabetes in India *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 23 (3) (2018), pp. 126-130
- Sebastiani, C., Arcangeli, C., Ciullo, M., Torricelli, M., Cinti, G., Fisichella, S., & Biagetti, M. (2020). Frequencies evaluation of β -casein gene polymorphisms in dairy cows reared in Central Italy. *Animals*, 10(2), 252.
- Sodhi, M., Mukesh, M., Kataria, R. S., Mishra, B. P., & Joshii, B. K. (2012). Milk proteins and human health: A1/A2 milk hypothesis. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(5), 856.
- Szakály, S., Schäffer, B., Horn, P., Sarudi, C., Szakály, Z., & Dohy, J. (2001). Dietetic biological value of milk referring to current research results.
- Thiruvengadam M., Venkidasamy B., Thirupathi P., Chung I., Subramanian U. β -Casomorphin : a complete health perspective. *Food Chem.* 2021;337 doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127765.
- Trivedi, M. S., & Clarke, A. J. (2015). Implications of Bovine beta casein subtypes in health and homeostasis. *Proceedings of the Nutrition Society*, 74
- Vigolo, V., Franzoi, M., Cendron, F., Salvatore, G., Penasa, M., Cassandro, M., & De Marchi, M. (2022). Characterization of the genetic polymorphism linked to the β -casein A1/A2 alleles using different molecular and biochemical methods. *Journal of Dairy Science*, 105(11), 8946-8955.
- Vinesh, P. V., Brahma, B., Kaur, R., Datta, T. K., Goswami, S. L., & De, S. (2013). Characterization of β -casein gene in Indian riverine buffalo. *Gene*, 527(2), 683-688.
- Woodford, K. B. (2009). *Devil in the Milk: Illness, health and politics of A1 and A2 milk*. Chelsea Green Publishing.
- Yang, Q., Fu, B., Luo, D., Wang, H., Cao, H., Chen, X., & Yu, X. (2022). The multiple biological functions of dipeptidyl peptidase-4 in bone metabolism. *Frontiers in Endocrinology*, 13,
- Young, K. B., Lewis, T. M., White, K. S., & Shafer, A. B. (2022). Quantifying the effects of recent glacial history and future climate change on a unique population of mountain goats. *Biological Conservation*, 272,

Internetes források:

http1: <http://www.orsegitej.hu/index.php/tej/tejtoertenet> 2024.04.17.

http2: <https://www.agrarszektor.hu/fogalomtar/magyar-tarka-szarvasmarha> 2024.04.17.

http3: <https://www.agrarszektor.hu/fogalomtar/holstein-friz> 2024.04.17.

http4: https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0101.html 2024.04.23.

http5: <https://www.webbeteg.hu/cikkek/emesztorendszer/870/laktoz-intolerancia> 2024.04.17.

9. Ábrák és táblázatok jegyzéke

| Ábra/táblázat sorszáma | Cím | Oldalszám |
|------------------------|---|-----------|
| 1. ábra | Tejtermelés Magyarországon Forrás: KSH | 9. |
| 1. táblázat | Néhány tejelő állatfaj és az ember tejének összetétele (%) Forrás (<i>Fenyvessy et al., 2014</i>) | 10. |
| 2. táblázat | β -kazein 2 (CSN2) fehérjelánc aminosav változásával járó mutációi Forrás: <i>Sebastiani et al 2020</i> | 12. |
| 2. ábra | BCM7 hatása az emberi szervezetre Forrás: <i>Cieślińska et al. 2022 alapján módosítva</i> | 14. |
| 3. ábra | RP-HPLC-vel készített, különböző κ -, β -CN, β -Lg genotípusú tejminták kromatográfiás profiljai (<i>Buzás et al., 2022</i>) | 16. |
| 4. ábra | A laboratóriumban található MagCore® HF16 DNS izoláló robot, amellyel a DNS tisztítása történt. (Forrás: saját kép) | 18. |
| 3. táblázat | β -kazein 2 (CSN2) vizsgálata során az egy mintához használt koncentrációk és mennyiségek. | 19. |
| 4. táblázat | β -kazein 2 (CSN2) vizsgálatához használt PCR protokoll | 19. |
| 5. ábra | 1,5% agaróz gél elektroforézis Saját kép | 22. |
| 6. ábra | Sanger-szekvencia elemzés az A1, A2-t meghatározó 8101-es nukleotid mutáción Saját ábra | 23. |
| 5. táblázat | Az A1, A2 genotipizált holstein-fríz és magyar tarka szarvasmarha állományok három telephelyről (Csípőtelek, Jákó, Fészerlak) | 24. |
| 7. ábra | A három telephelyről (Csípőtelek, Jákó, Fészerlak) származó holstein-fríz és magyar tarka szarvasmarha állományoknak az A1, A2 genotípusos eloszlása egyedszám (db) szerint 7a ábrán és százalékos eloszlása (%) szerint 7b ábrán látható | 24. |
| 6. táblázat | Az allél- és genotípus gyakoriságok (%) a vizsgált holstein-fríz és magyar tarka szarvasmarha állományokban (Csípőtelek, Jákó, Fészerlak), az adatok csökkenő allél és genotípus frekvencia alapján vannak rendezve | 26. |
| 7. táblázat | β -kazein 2 gén (CSN2) A1, A2 eldöntő 67-es aminosav polimorfizmusának összehasonlítása irodalmi adatokkal | 28. |
| 8. táblázat | A β -kazein 2 gén (CSN2) további variációinak genotípus gyakoriságának összehasonlítása | 29. |

10. Nyilatkozatok

NYILATKOZAT

a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió¹ nyilvános hozzáféréseiről és eredetiségéről

A hallgató neve: Nagy Barbara Katinka
A Hallgató Neptun kódja: I660JA
A dolgozat címe: Szarvasmarha Béta-kazein mutációinak felmérése homozigóta A2A2 állományok létrehozásának céljából
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Genetika és Biotechnológia Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Genetika és Genomika Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió² egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

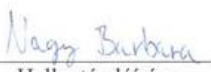
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Gödöllő, 2024 év 04 hó 23 nap


Hallgató aláírása

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törölendő.

² A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törölendő.

NYILATKOZAT

Nagy Barbara Katinka (név) (hallgató Neptun azonosítója: I660JA) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót³ áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre **javaslom** / **nem javaslom**⁴.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem⁵

Kelt: Gödöllő, 2024 év 04 hó 23. nap


belső konzulens

11. Mellékletek

1. melléklet: A β -kazein 2 (CSN2) gén variációnak kiértékelési segédlete (Caroli et al., 2009 és Sebastiani et al. 2020, alapján)

| Aminosav pozíció | 36 | 37 | 67 | 72 | 88 | 93 | 106 | 122 | 138 | Genotípus |
|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----------|
| Nukleotid pozíciók | 6687 | 6690 | 8101 | 8115 | 8163 | 8178 | 8219 | 8267 | 8356 | |
| Ref. aminosav (A1A1) | Glu | Glu | His | Gln | Leu | Met | His | Ser | Pro | |
| Ref. Triplet (A1A1) | GAG | GAA | CAT | CAA | CTT | ATG | CAC | AGC | CCT | |
| Referencia (A1A1) | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | |
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A1/A1 |
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | G/G | C/C | B/B |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A2/A2 |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | C/C | C/C | C/C | C/C | I/I |
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | T/T | F/F |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | A/A | A/A | C/C | C/C | C/C | H1/H1 |
| | G/G | G/G | C/C | G/G | C/C | C/C | C/C | C/C | C/C | H2/H2 |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | A/A | C/C | C/C | A3/A3 |
| | G/G | A/A | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | C/C |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | D/D |
| | A/A | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | E/E |
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/G | C/C | A1/B |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A1/A2 |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | A1/I |
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/T | A1/F |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/A | A/A | C/C | C/C | C/C | A1/H1 |
| | G/G | G/G | C/A | C/G | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | A1/H2 |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/A | C/C | C/C | A1/A3 |
| | G/G | G/A | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A1/C |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A1/D |
| | G/A | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A1/E |

| | | | | | | | | | | |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-------|
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C? | C/C | A1/G |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/G | C/C | A2/B |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | A2/I |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/T | A2/F |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/A | A/A | C/C | C/C | C/C | A2/H1 |
| | G/G | G/G | C/C | C/G | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | A2/H2 |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/A | C/C | C/C | A2/A3 |
| | G/G | G/A | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A2/C |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A2/D |
| | G/A | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | A2/E |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C? | C/C | A2/G |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/C | C/C | C/G | C/C | I/B |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/C | C/C | C/C | C/T | I/F |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/A | A/C | C/C | C/C | C/C | I/H1 |
| | G/G | G/G | C/C | C/G | C/C | C/C | C/C | C/C | C/C | I/H2 |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/C | C/A | C/C | C/C | I/A3 |
| | G/G | G/A | C/A | C/C | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | I/C |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | I/D |
| | G/A | G/G | C/C | C/C | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | I/E |
| | G/G | G/G | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/G | C/T | F/B |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/A | A/A | C/C | C/C | C/T | F/H1 |
| | G/G | G/G | C/A | C/G | C/C | A/C | C/C | C/C | C/T | F/H2 |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/A | C/C | C/T | F/A3 |
| | G/G | G/A | A/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/T | F/C |
| | G/G | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/T | F/D |
| | G/A | G/G | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/T | F/E |
| | G/G | G/G | C/C | C/G | C/A | A/C | C/C | C/C | C/C | H1/H2 |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/A | A/A | C/A | C/C | C/C | H1/A3 |
| | G/G | G/A | C/A | C/C | C/A | A/A | C/C | C/C | C/C | H1/C |
| | G/G | G/G | C/C | C/C | C/A | A/A | C/C | C/C | C/C | H1/D |
| | G/A | G/G | C/C | C/C | C/A | A/A | C/C | C/C | C/C | H1/E |
| | G/G | G/G | C/C | C/G | C/C | A/C | C/A | C/C | C/C | H2/A3 |
| | G/G | G/A | C/A | C/G | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | H2/C |

| | | | | | | | | | | |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| | G/G | G/G | C/C | C/G | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | H2/D |
| | G/A | G/G | C/C | C/G | C/C | A/C | C/C | C/C | C/C | H2/E |
| | G/G | G/A | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | C/D |
| | G/A | G/A | C/A | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | C/E |
| | G/A | G/G | C/C | C/C | C/C | A/A | C/C | C/C | C/C | D/E |