

Házi macska genombankjának kialakítása és gyakorlati jelentősége a Maine Coon fajta modelljén keresztül



Rzepiel – Zs. Bíró –
P. Lehotzky – L. Ózsvári –
M. Horvai-Szabó –

Zs. B. Nagy: The establishment and usefulness of domestic cat genom bank through the model of Maine Coon breed

Rzepiel Andrea^{1,2}, Bíró Zsolt³, Lehotzky Pál¹, Ózsvári László⁴, Horvai-Szabó Mária², Nagy Zsolt Béla^{1,5*}

1] Genetikával az Egészségért Egyesület, H-1165 Budapest, Vak Bottyán u. 37. *E-mail: dr.nagy.zsolt@gmail.com

2] SZIE-MKK, Állattenyésztés-tudományi Intézet

3] SZIE-MKK, Vadvilág Megőrzési Intézet

4] SZIE-ÁOTK, Állat-egészségügyi Igazgatástani és Agrárgazdaságtani Tanszék

5] NAGY GÉN Kft.

Összefoglalás. A DNS-bankok szerepe már évtizedek óta jól körvonalazódott a hásonállatok tenyésztésében, szemben a hobbiállatokéval és vadon élő állatokéval. A macskafélék közül eddig egyedül az ibériai hiúz genom bank felállítását közltek, házi macska genombankról ez az első tudományos közlemény. A szerzők a házi macskák közül a Maine Coon fajtát választották modellnek, mert, bár amerikai fajta, Magyarországon közel a legnagyobb egyedszámban megtalálható macskafajta, jól szervezett tenyésztői körrel, valamint a vadmacskához filogenetikailag közelebb álló házi macska fajtákhoz tartozik. A bizonytalan eredetű és genetikai hátterű kóbor macskákkal ellentétben az ellenőrzött tenyésztési programú Maine Coon fajta 199 magyarországi egyedéből származó szőr- vagy nyálmintákból 2011 és 2013 között egy olyan házi macska modell genombank került kialakításra, amely segítségével a házi macska megkülönböztethető a vadmacskától, valamint a házi macska x vadmacska hibridektől. Így kellő számú genetikai információ birtokában a jogalkotó természetvédelmi szempontból is felülvizsgálhatja jelenlegi álláspontját a nyilvánvalóan házi macska jelleget mutató egyedek vadászterületen történő lelövését illetően. Ezen túlmenően a házi macska genom bank szerepet játszhat a prémet érintő állatvédelmi esetekben és a humángyógyászatban is.

Summary. The role of DNA banks has been outlined for decades in breeding of farm animals, compared with that of pets and wild animals. From Felidae the Iberian lynx genom bank has been published only, and this is the first scientific publication about domestic cat genom bank. One of the domestic cat breeds, Maine Coon was chosen as a model, although it is an American breed, because in Hungary it is one of the cat breeds with the largest population and well-organized breeders, furthermore, is being quite close to the wild cat phylogenetically. Between 2011 and 2013, a model domestic cat genom bank was developed by using hair and saliva samples of 199 Maine Coon individuals from Hungary with supervised breeding programs, contrary to stray cats of uncertain origin and genetic background, which can be used to distinguish domestic cats from wild cats, as well as domestic cat x wild cat hybrids. Thus, based on sufficient number of genetic information, the codifier, from the point of view of nature conservation, may also review its current position as regards shooting individuals showing obviously domestic cat traits in the hunting area. In addition, the domestic cat genom bank could play an important role in fur animal protection cases and in human medicine, as well.

Megközelítőleg 220 millió házi macska van a világon az IFAH (International Federation for Animal Health Europe) adatai szerint. Európában 64 millióra tehető a macskák, 60 millióra a kutyák száma és 70 millió otthonban található valamilyen hobbiállat. A házimacska a 10. század körül vált általánossá Európában és Ázsiában, ezután pedig az egész világon elterjedt. A macskafajták nagy része csak viszonylag rövid múltra tekint vissza, a legrégebbi fajták csak néhány száz évesek (33).

A házi macskák közül a Maine Coon fajta nemcsak arról nevezetes, hogy Amerika legrégebbi és legnagyobb létszámú fajtája, hanem a legnagyobb

termettel rendelkező is. Már Maine állam megalakulásakor is megtalálható volt ezen a területen, és nemegyszer össze is tévesztették az őshonos mosómedvével, mert külsejük, cirmos mintázatuk, lompos farkuk és vadászmodszereik is hasonlítanak (10, 13). A New York-i macskakiállításán már 1860-ban bemutatták a fajtát, 1861-ben törzkönyvezték. Népszerűsége azonban a perzsa macskák behozatala után csökkent az Egyesült Államokban, és csak 1950 tájékán kezdett ismét növekedni. 1976-ban a fajta hivatalos elismerést nyert az USA-ban, majd a világ minden táján is (27, 28).

A fajtára jellemző a fényes, selymes és vízálló bunda, ami hosszabb a hason, és a hátulsó végtagokon, hogy védje a nedvességtől és a hótól. A *fülek* nagyok, egymástól távol esnek, meglehetősen magasan tűzöttek, szőrrel gazdagon borítottak. A *mancs* nagy, kerek, pamacsos, a *talppárna* színe a szőr színétől függően alakul. Az *orr* rövid, ék alakú, az orrtükör rózsaszín. A *szem* nagy, kissé ferdén metszett, távol ülő. A kandúrok testtömege általában 8–9 kg, de elérhetik akár a 10–12 kg-ot is, a nőstényeké átlagosan 6–8 kg. Későn érő fajta, teljes méretét 3–5 éves korára éri el, játékos természete viszont egész életében jellemzi. Szelíd, kedves „óriás” angyali természettel megáldva. Minden színben és színekombinációban tenyésztik, kivéve a csokoládébarnát, lilát és a sziámi jellegű mintázatot (4, 10, 12, 13, 16). A CFA (Cat Fanciers’ Association) rendszerében regisztrált kölykök száma alapján a perzsa után a népszerűséget tekintve a Maine Coon a második macskafajta a világon (9).

A biobankot a Time magazin azon tíz legfontosabb ötletek egyikeként határozta meg, ami megváltoztatta a világot (31). A genombank egy olyan DNS-mintákon alapuló biobank, amelyben a mintát adó egyedről a DNS-mintán kívül egyéb adatok is tárolásra kerülnek. Emiatt a genombank nemcsak egy DNS-mintagyűjtemény, hanem egy adatbázis is egyben (3, 8, 11, 15, 26, 30, 32). A genombank szerepe már évtizedek óta jól körvonalazódott a haszonállatok tenyésztésében (pl. szarvasmarha, ló, sertés és juh fajoknál). Ezzel szemben a hobbiállatok tenyésztésében a genombankok még nem terjedtek el széles körben, így a macskafajták (*Felidae*) esetében is csak nagyon kevés információ áll a rendelkezésünkre. Az ibériai hiúz (spanyol hiúz, párduchiúz, *Lynx pardinus*, Temminck, 1827) fajvédelme célzattal alakítottak ki génbankot (17, 20). Egyelőre más macskafélék családjába tartozó faj genom-bankjáról, beleértve a vadmacskát is, nincs tudományos közlemény. Vannak ugyan macska génbank kezdeményezések külföldön, például Angliában (1), de erről tudományos folyóiratban nem jelent még meg közlés.

Anyag és módszer

A házi macska fajták közül a Maine Coon fajtát választottuk modellként, és a begyűjtött mintákból a magyarországi állományra épülő genombankot alakítottunk ki 2011 és 2013 között. A bizonytalan eredetű és genetikai hátterű kóbor macskákkal ellentétben azért választottuk ezt az észak-amerikai fajtát, mert az egyik legnagyobb hazai egyedszámmal rendelkező macskafajta, jól szervezett tenyésztői bázissal rendelkezik, valamint a vadmacskához filogenetikailag közelebb álló házi macska fajták közé tartozik. A Macskamánia Magyar Macska Egyesülettel történt együttműködésnek köszönhetően 2011-től kezdve 199 Maine Coon macskától történt minta- és adatfelvétel. A jövőben további házi macskafajták bevonását tervezzük az adatbázisba.

Minden macskánál szájnyalakahártya-mintavétellel (Copan cég steril mintavevő eszközét használtuk az előírásnak megfelelően) jutottunk DNS-mintához. A kóddal ellátott minták –200C-on kerültek tárolásra a szakmai előírásoknak megfelelően. Minden egyes biológiai mintából NucleoSpin® Tissue DNS izoláló rendszerrel végeztük el a genomi DNS kinyerését (Macherey–Nagel). A DNS minőségi és mennyiségi ellenőrzését NanoDrop ND-1000 spektrofotométerrel végeztük el.

A mintákhoz tartozó elektronikus adatbázisban a kutatási adatok statisztikai feldolgozásra alkalmas formában kerültek archiválásra. A kialakított genombankban

dupla kódolással kerültek a minták megőrzésre és tárolásra. A génbank elektronikus adata bármikor hozzáférhető adott DNS-mintához és fordítva. A statisztikai előkészítés azt teszi lehetővé, hogy az új genetikai eredmények egyszerűen, akár néhány óra alatt populációs szintű kiértékelést tegyenek lehetővé. A kutatásba ivartalanított macskák is bevonásra kerültek a random kiválasztás érvényesítése érdekében. A genombankon alapuló kutatás teljesen anonim, egyetlen egyedet és tulajdonosát sem lehet beazonosítani a tudományos közlemény alapján. A kutatásban való részvételhez az állat tulajdonosa a megfelelő beleegyező nyilatkozatot kitöltötte. Az állat adatai között szerepelnek a származási lap adatai is.

A genombankban szereplő egyedekről a következő adatok állnak rendelkezésre: (i) *általános adatok*: a macska neve, a származási lapján lévő regisztrációs száma, a chip száma (ha el van látva chippel az egyed), születési helye és ideje, ivara, testhossza, testtömege, szőr és szemszíne; (ii) *szaporodásbiológiai adatok*: vemhességek száma, az első vemhesség ideje, az élve, ill. halva született utódok száma, az első vemhesség hányadik pároztatás után lett sikeres.

Eredmények

Az adatbázisban található 199 egyed összesen 42 tulajdonoshoz tartozik. Az egyedazonosításról kevés adat áll rendelkezésünkre: a 199 egyedből összesen 57 (29%) rendelkezik chippel, 22 pedig biztosan nincs ellátva chippel (törzskönyvi szám alapján azonosítva) (11%). 120 (60%) egyed esetében nem rendelkezünk információval az egyedazonosítással kapcsolatban.

A genombankban nemcsak magyarországi tenyészetből származó egyedek mintái vannak, de mindegyik egyed Magyarországon él. 110 macska születési helye Magyarország (55,2%), emellett a genombank tartalmaz németországi, csehországi, lengyelországi és szlovákiai tenyészetből származó egyedeket is. A genombank kialakítása a tenyésztők bevonásával és együttműködésével zajlott, ebből következően az önkéntesség elve érvényesült. Az egyedek életkorának eloszlását vizsgálva azt az eredményt kaptuk, hogy a legtöbb egyed 2009-es születésű (n=74,40%) (**táblázat**).

Az ivari megoszlás 154 egyed alapján került meghatározásra a rendelkezésre álló adatok miatt. A génbankban szereplő 154 egyedből 91 (nem ivartalanított) nőstény (59%), 53 (nem ivartalanított) kandúr (34%), 3 ivartalanított nőstény (2%) és 7 (5%) ivartalanított kandúr (n=7).

A Maine Coon az egyik legnagyobb testű házimacskafajta. A vizsgált állományban a legnagyobb testtömegű egyed 11 kg-os, a legnagyobb testhosszúságú pedig 130 cm-es. Az átlagos testtömeg 5,68 kg volt (n=134), míg az átlagos testhossz 82,25 cm (n=143). A fajta átlagos értékeinél kisebb átlagos testtömeg és testhossz valószínűleg a nőstények nagyobb arányával magyarázható.

Táblázat. Születési év eloszlása (n=185)*
Table 1. Distribution of year of birth

Születési év	Genom bankban szereplő egyedek száma	Százalékos megoszlás
2011	12	~6%
2010	49	~26%
2009	74	~40%
2008	21	~11%
2007	14	~7%
2006	9	~5%
2005	2	~2%
2004	3	~2%
2001	1	~1%

*14 egyed esetében nem ismert a születési év.

Megvitatás és következtetések

Genom bank szerepe a házi macska x vadmacska hibridek megkülönböztetésében

A vadmacska Európa egyik legkevésbé ismert és legveszélyeztetettebb ragadozója, amely Európa országainak többségében törvényi védelmet élvez, továbbá a nemzetközi egyezmények közül a Berni Egyezmény, a Washingtoni Egyezmény (CITES), valamint az 92/43/EGK irányelv (Flóra, Fauna, Habitat irányelv) alapján is védett faj. A taxont fenyegető fő veszélyek közül két esetben is genetikai kockázattal lehet számolni. Az élőhelyvesztés és -aprózódás miatt a vadmacskaállományok feldarabolódnak,

ami beltenyésztést, míg a házimacskával történő párosodás introgresszív hibridizációt okoz (7). Az előbbivel összhangban több hazai és nemzetközi vizsgálat alapján sürgették, hogy a hibridizáció, mint veszélyeztető tényező kezelése kapjon elsőbbséget a vadmacska védelmében (21).

A természetben kóborló/elvadult házi macskák, így elvileg a Maine Coon fajta egyedei is párosodhatnak a vadmacskával (a vadmacskaállomány csökkenése miatt), ami hibrid egyedeket eredményezhet. Bár CORBETT (7), valamint RAGNI és POSSETI (23) leírták azokat a morfológiai jegyeket, amelyek alapján elméletileg megállapítható a házi macska és a vadmacska közti különbség, azonban a gyakorlatban a hibrideket külső megjelenésük (küllemük) alapján nagyon nehéz megkülönböztetni a tiszta vérű házi, ill. vadmacskáktól.

A házi macskán végzett filogenetikai kutatások rámutattak arra, hogy a mitokondriális DNS (mtDNS) tartalmaz olyan elemeket, amelyek alapján a házi macska megkülönböztethető a vadmacskától (2). A numt szekvencia, a Felidae családra jellemző mtDNS-szakasz, amely transzklokációval átkerült a genomiális DNS-be (18). A numt szekvencia térképezése alapján a vadmacska és házi macska között különbség mutatható ki (2). Más kutatások során allozim elektroforézist, DNS-analízist, mitokondriális szekvenciák és mikroszatellita vizsgálatokat is alkalmaztak vadmacska–házi macska elkülönítésére (5, 14, 24, 25). Ezen túlmenően a macskafajták közti kapcsolat vizsgálatára alkalmazható módszer az STR- (rövid ismétlődő elem, short tandem repeat) markerek elemzése, amelyet a kutya fajban is használnak (34, 35).

A házi macska és vadmacska genetikai ismereteinek bővülésével és a genetikai vizsgáló módszerek fejlődésével lehetőség nyílik arra, hogy hazánkban is széleskörű géntérképezés történjen a vadmacska, a házi macska x vadmacska hibridek és a házi macska elkülönítésére.

Összességben tehát a hibridizáció mértékét és jelentőségét párhuzamosan végzett morfometriai és genetikai vizsgálatokkal lehet értékelni. Ezek a vizsgálatok részben indokoltak a vadmacskaállományok genetikai jellemzőinek vizsgálatára, egyes esetekben a hibridjegyeket mutató befogott macskák származásának felderítésére. Amennyiben populációgenetikai módszerekkel az esetleges házi macska x vadmacska hibridek előfordulási gyakorisága és a hibridizáció átlagos mértéke megbecsülhető, ennek természetvédelmi és állományszabályozási hatásai igen jelentősek lehetnek (22), és a vadmacska védelme/megőrzése érdekében a jogalkotó természetvédelmi szempontból is felülvizsgálhatja jelenlegi álláspontját a vadászterületen a nyilvánvalóan házi macska jelleget mutató egyedek lelövését illetően.

Genombank szerepe a prémet érintő állatvédelmi esetekben

A házi macska, ezen belül első fajtaként – modellként tekintve - a Maine Coonra létrehozott genombank segítséget nyújthat az állatvédelmi hatóságnak is abban, hogy az állatvédelmi törvény által tiltott, de forgalomba hozott házi macska prémet elkülönítsék a nemzetközi egyezmények (CITES) hatálya alatt álló, vadászható vagy veszélyeztetett és nem vadászható, de behozatali engedélyköteles macskafélék prémjétől, hiszen ezeket egyes esetekben szabad szemmel, sőt szőrvizsgálatokkal (29) is nagyon nehéz, vagy akár lehetetlen is egymástól megkülönböztetni morfológiailag. Az adatbázis fejlesztése más házi macska fajták, valamint kóbor – bizonytalan eredetű – macskák mintáival alapvető fontosságú lesz a jövőben, hiszen a nagyobb genetikai adatbázis pontosabb géntérképezésekre és megállapításokra ad lehetőséget.

A házi macska genom szerepe a humángyógyászatban

Az ember teljes genomjának megszekvenálása mellett mára már számos állat genomját is feltérképezték (kutya, szarvasmarha, juh, ló, sertés, csimpánz, gorilla, tengerimalac, egér, panda, patkány, nyúl, tilápia, zebradánió). Az első macskagenom feltérképezését 2007-ben közzölték (22). Egy 4 éves abesszín nőtény macska genomját szekvenálták. A házi macska genomjának ismere-

te azért is fontos, mert a macska számos emberi betegség modellállatának tekinthető. Ezeknek a betegségeknek a kutatásánál segítséget jelentenek a genommal kapcsolatos új adatok. A házi macskának közel 200 örökletes betegsége van, amelyek analógok humán betegségekkel (19, 20). Pl. az abesszín macskafajtánál gyakori örökletes betegség a retinitis pigmentosa. Amerikában 3500 emberből egy szenved ebben a betegségben. Fertőző betegségek esetén is nagyszerű modell a macska például a HIV/AIDS betegségekre. Feline immunodeficiency vírus (FIV) genetikailag rokona a humán immunodeficiency vírusnak (HIV), amely AIDS-t okoz.

IRODALOM

1. ANIMAL CARE TRUST, ROYAL VETERINARY COLLAGE: <http://www.rvc.ac.uk/act/RVCResearch.cfm> (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
2. ANTUNES, A.: Mitochondrial Introgressions into the nuclear genome of the domestic. *Cat. J. Hered.*, 2007. 98. 414–420.
3. BARANYAI Zs. – MERSICH T. – DEDE K. – BESZNYÁK I. – ZARÁND A. – TEKNŐS D. – NAGY P. – SALAMON F. – NAGY P. – NAGY Zs. – KÓTAI Zs. – SZÁSZ M. – LUKÁCS L. – SZÁLLÁSI Z. – JÓSA V. – JAKAB F.: Projektalapú mintagyűjtéstől a biobankig. *Orvosi Hetilap*, 2011. 152. 606–609.
4. BEANE, CH.: The Marvelous, Mellow Maine Coon. *Cat Fancy.*, 1979. 20–23.
5. BEAUMONT, M. A. – BARRATT, E. M. et al.: Genetic diversity and introgression in the Scottish wildcat. *Mol. Ecol.*, 2001. 10. 319–336.
6. BÍRÓ Zs.: A házimacskák (*Felis silvestris* f. *catus*) és a vadmacskák (*Felis silvestris*) térbeli, táplálkozási és szaporodási kölcsönhatása. Doktori értekezés. Vadbiológiai és Vadgazdálkodási Tanszék, SZIE. Gödöllő, 2004. 72
7. CORBETT, L. K.: Feeding ecology and social organization of wildcats (*Felis silvestris*) and domestic cats (*Felis catus*) in Scotland. Ph. D. Dissertation. Aberdeen University. England, 1979.
8. DECODE GENETICS. <http://www.decode.com> (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
9. FREW, G.: Breed Article: America's First Show Cat – The Maine Coon Cat. *Cat Fanciers' Association*, 2012.
10. GEBHARDT, R.: The Complete Cat Book. Mirabel. California, 1991.
11. GENAU GENETICS. <http://www.genau.at/> (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
12. HOLBY, D.: The Legendary Maine Coon. *Cat Fancy*, 1988. 36–41.
13. HORNIDGE, M.: That Yankee Cat: The Maine Coon. Tilbury House. Boston, 1991.
14. HUBBARD, A. L. – MCRIST, S. et al: Is the survival of European wildcats *Felis silvestris* in Britain threatened by interbreeding with domestic cats? *Biol. Conserv.*, 1992. 61. 203–208.
15. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH IN CANCER, WORLD HEALTH ORGANIZATION: <http://epic.iarc.fr>. (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
16. JACOBBERGER, P.: The Maine Coon cat. *Cat Fancy.*, 1995. 32–33.
17. LEON-QUINTO, T. – SIMON, M. A. et al.: Developing biological resource banks as a supporting tool for wildlife reproduction and conservation The Iberian lynx bank as a model for other endangered species. *Anim. Reprod. Sci.*, 2009. 112. 347–361.
18. LOPEZ, J.V.: Numt, a recent transfer and tandem amplification of mitochondrial DNA to the nuclear genome of the domestic cat. *J. Mol. Evol.*, 1994. 39. 174–190.
19. O'BRIEN, S. J. – JOHNSON, W. et al.: State of cat genomics. *Trends Genet.*, 2008. 24. 268–279.
20. O'BRIEN, S.J. – MENOTTI-RAYMOND, M. et al.: The feline genome project. *Annu. Rev. Genet.*, 2002. 36. 657–686.
21. PIERPAOLI, M. – BIRO Z. S. et al.: Genetic distinction of wildcat (*Felis silvestris*) populations in Europe, and hybridization with domestic cats in Hungary. *Molec. Ecol.*, 2003. 12. 2585–2598.
22. PONTIUS, J. U. – MULLIKIN, J. C. et al. : Initial sequence and comparative analysis of the cat genome. *Genome Res.*, 2007. 17. 1675–1689.
23. RAGNI, B. – POSSENTI, M.: Variability of coat-colour and markings system in *Felis silvestris*. *Ital. J. Zool.*, 1996. 63. 285–292.
24. RANDI, E. – PIERPAOLI, M. et al.: Genetic diversity within and among domestic cat populations in western Europe. *International Symposium on Wildcats*, Hannover, Germany., 2000. 6–9.
25. RANDI, E. – RAGNI, B.: Genetic variability and biochemical systematics of domestic and wildcat populations (*Felis silvestris*: Felidae). *J. Mamm.*, 1991. 72. 79–88.
26. RZEPIEL A. – HORVAI-SZABÓ M. – MONOKI SZ. – ÓZSVÁRI L. – LEHOTZKY P. – NAGY Zs. B.: A hazai komondorállomány DNS biobankjának létrehozása és felhasználási területei. *Magy. Állatorv. Lapja*, 2012. 134. 620–627.
27. SZINÁK J. – VERESS I.: Macskakalauz. Budapest, 1989. 124–125.
28. TAYLOR, D.: Arany macskakönyv. Corvina, 1992. 74–75.

29. TEERINK, B. J.: Hair of West-European Mammals. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2003. 233.
30. THE SWEDISH NATIONAL BIOBANK PROGRAM, SWEGEN AND WALLENBERG CONSORCIUM NORTH. <http://www.biobanks.se> (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
31. TIME. http://www.time.com/time/specials/packages/article/0,28804,1884779_1884782_1884_766,00.html (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
32. UK BIOBANK, WELLCOME TRUST CHARITY. <http://www.ukbiobank.ac.uk/> (utoljára elérve: 2013. 03.20.)
33. VELLA, C. M. – SHELTON, L. M. et al.: Genetics for Cat Breeders and Veterinarians. London, Heinemann Ltd. 1999.
34. ZENKE P. – EGYED B. – ZÖLDÁG L. – PÁDÁR Z.: Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci. Forensic Sci. Int. Genet., 2011. 5. 31–36.
35. ZÖLDÁG L. (szerk.): Állatorvosi genetika és állattenyésztéstan. A/3 Nyomdaipari és Szolgáltató Kft. Budapest, 2012.