

СРАВНЕНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ГЕНЕ FSHR У КУР КРОССА СП 789 И ДЕКАЛЬ БЕЛЫЙ

Мартынова Вера Николаевна, специалист отдела СПЦ по птицеводству, E-mail: mala.vap@mail.ru

Кравченко Арина Константиновна, специалист отдела СПЦ по птицеводству, E-mail: arishka7557@gmail.com

Куликов Егор Игоревич, специалист отдела СПЦ по птицеводству, E-mail: kulikovegor33@yandex.ru

ФГБНУ ФНЦ "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства"

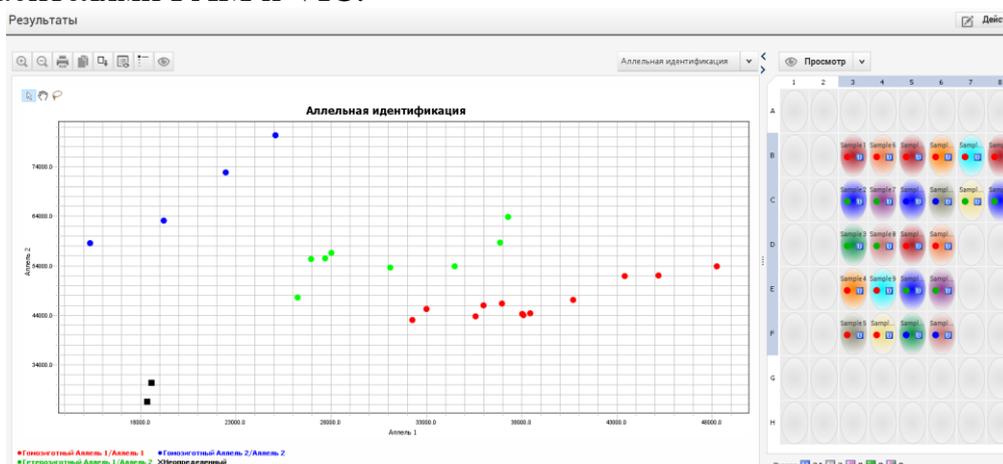
Аннотация: Генетические маркеры становятся распространенным и эффективным инструментом оценки, среди которых выделяют SNP. В целом по кроссу «СП 789» наблюдается равное аллельное распределение полиморфизма rs315726646 между генотипами GG (36%) и AA (36%), в то время как у «Декаль Белого» проявление аллеля GG составляет 33%, а AA 17%.

Ключевые слова: яичные куры, однонуклеотидный полиморфизм, аллели, FSH, FSHR

Введение. Фолликулостимулирующий гормон (FSH) играет важную роль в репродуктивной системе млекопитающих и птиц. Он действует через специфический рецептор FSHR. FSH является гликопротеином, который синтезируется и секретируется гонадотропными клетками передней доли гипофиза для регулирования развития и функционирования половых желез после доставки через кровоток. Он способствует росту фолликулов и стимулирует деление и функции клеток гранулезы, основная функция которых питать развивающийся ооцит в фолликуле. У петухов FSH важен в процессе сперматогенеза, он способствует делению клеток Сертоли на ранних этапах онтогенеза птицы. Таким образом, FSH является составной частью эндокринной оси, которая влияет на регуляцию функций гонад и фертильность [2]. После того, как FSH специфически связывается с последовательностями мультисаитовых повторов во внеклеточном домене FSHR, его сигнал передается G-белками, которые активируют аденилилциклазу с внутриклеточной продукцией цАМФ и протеинкиназу А. В результате фосфорилирования белка достигается ряд физиологических эффектов, в том числе активация ароматазы и индукция рецептора лютеинизирующего гормона, совместно действующих для выработки эстрогена, который взаимодействует с FSH в развитии фолликулов [1,3]. FSHR избирательно экспрессируется в местах функционирования FSH, то есть в клетках Сертоли и гранулезах яичников. При этом уровень экспрессии непосредственно связан с дифференцировкой и созреванием половых клеток.

Существует отрицательная корреляция между экспрессией мРНК FSHR и размером фолликулов. Ген FSHR у кур находится в 3 хромосоме и состоит из 15 экзонов с пятью известными изоформами. Генетические маркеры, связанные с экономическими признаками, были широко изучены. Среди этих маркеров однонуклеотидный полиморфизм (SNP) постепенно становится распространенным и эффективным инструментом оценки. SNP – замена одного нуклеотида в геноме одного вида. По сравнению с классической селекцией, методы генотипирования SNP включают информативный генетический фон, повышают точность прогнозирования отбора и обеспечивают его качество [4].

Материалы и методы. Эксперимент проводился на базе СГЦ «Загорское ЭПХ». Методом случайной выборки было отобрано 36 голов исходных линий кросса «СП 789» и 10 голов финального гибрида кросса «Декалб Белый». Птица содержалась в индивидуальных клетках. Основные технологические параметры соответствовали нормам СГЦ «Загорское ЭПХ». Забор крови производился из подкрыльцовой вены в пробирки типа Эппендорф 1,5 мл с добавлением цитрата натрия, в качестве антикоагулянта. Из 46 образцов крови была выделена ДНК при помощи коммерческих наборов для выделения нуклеиновых кислот ExtractDNA Blood & Cells (Евроген, Россия). Методика выделения ДНК на спин-колонках была адаптирована под образцы крови кур. Контроль содержания ДНК и чистоты образцов проводили при помощи спектрофотометра NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Подбор праймеров и зондов производился при помощи базы данных Ensembl, а также программ GeneRunner и Oligo Analyzer. Для идентификации однонуклеотидного полиморфизма в гене FSHR в геноме кур использовался набор подобранных праймеров и зондов. Прямой праймер – GTCATTTGAAATCACAGGC; обратный праймер – GCATAAATACTACCTCTCCTTC; зонд для аллеля G – GCACATTTTGTTTGAT; зонд для аллеля A – GCATATTTTGTTTGAT. Использовался метод ПЦР в реальном времени при помощи Амплификатор QuantStudio 5 Real-Time ПЦР (Thermo Fisher Scientific). Режим амплификации для гена FSHR: Стадия удержания 05 мин. 00 сек., 95°C (1 цикл); Стадия ПЦР 00 мин. 30 сек., 95°C; 00 мин. 30 сек., 56 °C; 00 мин. 30 сек., 72°C (40 циклов). Определение аллелей производилось при помощи зондов типа TaqMan с красителями FAM и VIC.



Алельная идентификация

Результаты

В статье Li X 2019 года было показано, что аллель А является улучшателем по показателям яичной продуктивности.

В линии СП7 аллель G преобладает над аллелем А, так как является отцовской формой. В линии СП8 наблюдается некоторое преобладание аллеля А, т.к. это отцовская линия материнской формы. А у материнской линии материнской формы (СП9) существенно преобладает частота аллеля А.

Наблюдаются кардинальные различия между материнской формой (СП8, СП9) и отцовской формой (СП7) – у второй аллель А составляет всего 21% (Табл. 1).

Таблица 1-Частота генотипов и аллелей «СП 789»

SNP	Линии	Частота генотипов			Частота аллелей	
		GG	GA	AA	G	A
rs315726646	СП 7 (12 головы)	0,75	0,08	0,17	0,79	0,21
	СП 8 (12 головы)	0,25	0,33	0,42	0,415	0,585
	СП 9 (12 головы)	0,08	0,42	0,50	0,29	0,71
	СП 7,8,9 (36 голов)	0,36	0,28	0,36	0,50	0,50

Как видно из таблицы 2 у кур кросса «Декалб Белый» самая низкая частота наблюдается у генотипа АА. Аллель G встречается на 16% чаще, чем аллель А, который предположительно является улучшателем яичной продуктивности [2]. Это свидетельствует о том, что селекция по данному SNP не проводилась.

Таблица 2 -Частота генотипов и аллелей кросса «Декалб Белый»

SNP	Линии	Частота генотипов			Частота аллелей	
		GG	GA	AA	G	A
rs315726646	Декалб (10 голов)	0,33	0,5	0,17	0,58	0,42

Заключение. Работы по данному SNP на кроссе СП789 не проводилось, но при помощи классической селекции видно, что материнская форма материнской линии (СП9) имеет проявление аллеля А 50% в отличии от отцовской формы материнской линии 40%. Видно явное различие между материнскими и отцовскими формами по проявлению аллеля улучшателя, что может свидетельствовать о возможности дальнейшего приведении его к гомозиготности по аллелю А и дальнейшему введению нового селекционного признака в кросс у материнской формы.

Рекомендуется провести дальнейшие исследования по взаимосвязи аллеля А с яичной продуктивностью т.к. в предыдущий статьях иностранных авторов [2] было показано, что данный аллель является улучшателем.

В целом по всему кроссу СП789 наблюдается равное аллельное распределение между генотипами GG (36%) и АА (36%), в то время как у «Декалба Белого» проявление аллеля GG составляет 33%, а АА 17%.

Геномная селекция позволяет проводить анализ и точный отбор петухов, несущих желаемые генотипы; работу со сложно селекционируемыми признаками; прогнозирование хозяйственно-полезных признаков кур и

проведение отбора птицы намного раньше для получения экономической выгоды.

Библиографический список

1. Cui H, Zhao G, Liu R, Zheng M, Chen J, Wen J. FSH stimulates lipid biosynthesis in chicken adipose tissue by upregulating the expression of its receptor FSHR. *J Lipid Res.* 2012 May;53(5):909-917. doi: 10.1194/jlr.M025403. Epub 2012 Feb 16. PMID: 22345708; PMCID: PMC3329390.
2. Li X, Lu Y, Liu X, Xie X, Wang K, Yu D. Identification of chicken FSHR gene promoter and the correlations between polymorphisms and egg production in Chinese native hens. *Reprod Domest Anim.* 2019 Apr;54(4):702-711. doi: 10.1111/rda.13412. Epub 2019 Mar 23.
3. Xu J, Gao X, Li X, Ye Q, Jebessa E, Abdalla BA, Nie Q. Molecular characterization, expression profile of the FSHR gene and its association with egg production traits in muscovy duck. *J Genet.* 2017 Jun;96(2):341-351. doi: 10.1007/s12041-017-0783-x. PMID: 28674235.
4. Huang CW, Lin YT, Ding ST, Lo LL, Wang PH, Lin EC, Liu FW, Lu YW. Efficient SNP Discovery by Combining Microarray and Lab-on-a-Chip Data for Animal Breeding and Selection. *Microarrays (Basel).* 2015 Nov 16;4(4):570-95. doi: 10.3390/microarrays4040570. PMID: 27600241; PMCID: PMC4996412.