

УДК 636.5:591.151.2

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ГОРМОНА РОСТА И ГИПОФИЗАРНОГО ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Д. И. Матюкевич

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: darya.matyukevich@mail.ru)

Ключевые слова: генетический полиморфизм, ПЦР-ПДРФ, генотипирование, цыплята-бройлеры, аллеи, частота встречаемости, ген гормона роста, гипофизарный фактор транскрипции.

Аннотация. Исследование проводили с целью изучения полиморфизма генотипов и аллелей генов гормона роста *GH* и гипофизарного фактора транскрипции *PIT-1* у цыплят-бройлеров кросса *Ross 308*. Генотипирование осуществляли методом ПЦР-ПДРФ анализа, были идентифицированы все полиморфные варианты аллелей и генотипов генов гормона роста и гипофизарного фактора транскрипции. В исследовании были выявлены и проанализированы перспективные гены-кандидаты, которые непосредственно участвуют в формировании тех или иных продуктивных признаков и имеют варианты генетического полиморфизма.

POLYMORPHISM OF GROWTH HORMONE AND PITUITARY TRANSCRIPTION FACTOR GENES IN BROILER CHICKENS

D. I. Matyukevich

EI «Grodno state agrarian university»
Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno,
28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: genetic polymorphism, PCR-RFLP, genotyping, broiler chickens, alleles, frequency of occurrence, growth hormone gene, pituitary transcription factor.

Summary. The study was conducted to study the polymorphism of genotypes and alleles of the genes of growth hormone *GH* and pituitary transcription factor *PIT-1* in broiler chickens of the *Ross 308* cross. Genotyping was carried out by PCR-RFLP analysis, all polymorphic variants of alleles and genotypes of growth hormone and pituitary transcription factor genes were identified. The study identified and analyzed promising candidate genes that are directly involved in the formation of certain productive traits and have variants of genetic polymorphism.

(Поступила в редакцию 13.06.2025 г.)

Введение. На сегодняшний день в агропромышленном комплексе нашей страны ведущее положение занимает птицеводство, являясь одной из самых активно развивающихся, технологичных и наукоемких отраслей аграрного сектора экономики. Лидирующее положение

обеспечивается снабжением полноценными по своему составу, богатыми легкопереваримыми белками, липидами и полиненасыщенными жирными кислотами продуктами питания, в которых нуждается население страны.

Особый спрос в мире на продукцию птицеводства объясним короткими сроками получения готовой продукции, полноценной по своему составу, богатой легкопереваримыми белками, липидами и полиненасыщенными жирными кислотами. К тому же по данным В. В. Наумовой, протеина в мясе птицы примерно такое же количество, как в свинине и баранине, однако содержание незаменимых аминокислот больше, чем в мясе других животных.

В условиях современной интенсификации ведения сельского хозяйства остро назрела необходимость использовать методы максимально раннего прогнозирования продуктивности животных, а также их устойчивости к различным заболеваниям. Поэтому в последнее десятилетие в области фундаментальной и прикладной генетики животных используют направление, которое основывается на достижениях молекулярно-генетической науки. Особое внимание уделяется изучению молекулярно-генетических маркеров, связанных с продуктивностью сельскохозяйственных животных [1].

Использование генетического полиморфизма генов, определяющих формирование продуктивности, может повысить интенсивность селекции и раскрыть генетический потенциал птицы. Разработка и внедрение ДНК-технологии в селекционную практику обусловили переход в животноводстве от традиционной селекции к геномной (GS), которая имеет ряд преимуществ. Ее применение позволяет проводить генетическую оценку и генотипирование животных, значительно повысить точность оценки племенной ценности, ускорить генетический процесс за счет сокращения интервала между поколениями, повысить эффективность всей селекционной работы [2].

Секвенирование генома птицы значительно ускорило идентификацию многих генов и определение первичной структуры их ДНК, что позволило сконструировать специфические праймеры для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) на предмет выявления однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в гене. SNP-маркеры (от англ. Single Nucleotide Polymorphism) представляют собой точечные мутации в ДНК. Данные маркеры перспективны, и работа с ними может быть автоматизирована и стандартизована [3].

Использование молекулярных маркеров для оценки роста птицы могут способствовать более эффективному отбору селекционных признаков. Выбор маркера может повысить отбор и улучшить производство. Именно поэтому в последнее время использование генов-

кандидатов стало мощным методом для генетического улучшения как в животноводстве, так и в птицеводстве. Многие эксперименты подтвердили, что продуктивность птицы зависит от генетических факторов. Описано ряд исследований о влиянии генов-кандидатов на продуктивные характеристики птицы, в частности гормона роста GH и гипофизарного фактора транскрипции PIT-1.

Гормон роста (GH) является крайне важным гормоном в процессе роста и развития животных. Он участвует в целом ряде сложных метаболических процессов. Изменения в его активности, которые связаны с точечными мутациями в структурной или регуляторной части гена, влияют как на общебиологические характеристики, так и на формирование продуктивных качеств у кур [3], поэтому ген гормона роста и receptor этого гена привлекают пристальное внимание исследователей. В гене имеется инtronная часть, которая предположительно участвует в регуляции экспрессии [4]. Действие гормона роста является результатом связывания его receptorов с receptorами целевых клеток. Гормон роста достигает печени и стимулирует выработку инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1), который, в свою очередь, стимулирует производство хондроцитов (хрящевых клеток), что приводит к росту костей. ИФР-1 также влияет на производство и дифференциацию миобластов, являющихся исходными клетками для образования волокон скелетных мышц. Кроме того, ИФР-1 способствует накоплению аминокислот и синтезу белка в мышцах и других тканях.

Receptor гормона роста является трансмембранным белком, относящимся к суперсемейству receptorов с тирозинкиназной активностью. При взаимодействии с одной молекулой гормона происходит объединение двух молекул receptorа (димеризация), после чего receptor активируется и его внутриклеточный домен фосфорилируется как сам receptor, так и основной белок-мишень. В дальнейшем передача сигнала активирует транскрипцию ряда генов и другие receptorы, например, эпидерmalного фактора роста. Все эти эффекты приводят к изменению массы тела.

Среди генов, регулирующих важные метаболические процессы в организме цыплят-бройлеров, ген гипофизарного фактора транскрипции (PIT-1) занимает особое место. Этот ген связан с формированием свойств организма. Например, показано, что этот ген регулирует пролиферацию и дифференциацию клеток гипофиза, оказывает прямое влияние на экспрессию генов гормона роста, тиреотропного гормона и пролактина [5]. Очевидно, что аллели гена могут по-разному влиять на экспрессию вышеуказанных генов и, соответственно, на количество синтезируемых гормонов. В свою очередь, уровень гормонов связан с продуктивными качествами птицы. Такой эффект наблюдали зарубежные

исследователи при изучении связи аллелей гена и продуктивных качеств у кур [4, 6, 8].

Цель работы – изучить полиморфизм генов гормона роста и гипофизарного фактора транскрипции, а также определить частоты встречаемости различных генотипов и аллелей у цыплят-бройлеров кросса Ross 308.

Материалы и методы исследования. Для проведения исследований была использована птица мясного направления продуктивности – цыплята-бройлеры кросса Ross 308 (180 голов). Цыплята содержались в производственных условиях ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» Гродненского района. Исследования полиморфизма генов гормона роста и гипофизарного фактора транскрипции проводили в отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет». Материалом исследования служила ДНК, выделенная из образцов крови цыплят-бройлеров указанного выше кросса. Каждый образец подсушивали, марковали и индивидуально упаковывали для предотвращения контаминации.

В качестве предметов исследований были выбраны локусы, аллельные варианты которых связаны, согласно литературным источникам, с показателями роста и мясной продуктивности птицы – гены гормона роста и гипофизарного фактора транскрипции. Для оценки полиморфизма изучаемых генов генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа.

Для оценки полиморфизма изучаемых генов генотипирование проводили методом ПЦР-ПДРФ-анализа.

Праймеры для амплификации фрагмента гена GH:

GH 1: 5' – ATC CCC AGG CAA ACA TCC TC – 3'

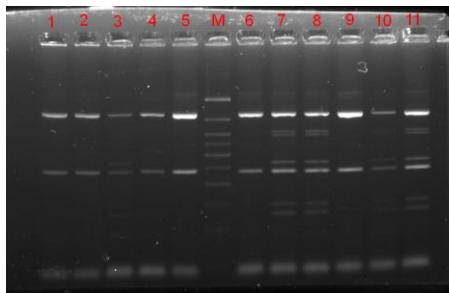
GH 2: 5' – CCT CGA CAT CCA GCT CAC AT – 3'.

ПЦР-программа: «горячий старт» – 3 минуты при 95°C; 30 циклов: денатурация – 30 секунд при 95°C, отжиг – 30 секунд при 65°C, синтез – 30 секунд при 72°C; достройка – 5 минут при 72°C.

Генотипы идентифицировались с проведением рестрикции. Для рестрикции амплифицированного участка используют эндонуклеазу рестрикции MspI.

- GH^{AA} – 539/237 п. н.;
- GH^{AB} – 539/392/237/147 п. н.;
- GH^{BB} – 392/237/147 п. н.

На рисунке 1 представлена картина распределения фрагментов ДНК после проведения рестрикции и электрофореза.



M – маркер молекулярного веса, 1-12 – амплифицированные фрагменты

Рисунок 1 – Электрофорограмма результатов генотипирования цыплят-бройлеров кросса Ross 308 по гену гормона роста (GH) на основе ПЦР-ПДРФ-анализа

Для амплификации участка гена PIT-1 использовались следующие праймеры и программы:

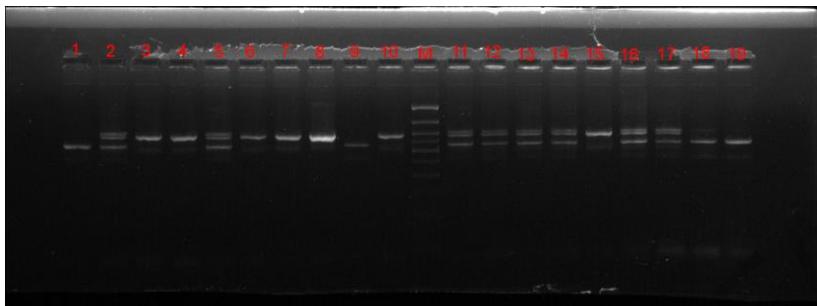
PIT-1: 5' – GTC AAG GCA AAT ATT CTG TAC C – 3'
PIT-2: 5' – TGC ATG TTA ATT TGG CTC TG – 3'.

ПЦР-программа: «горячий старт» – 3 минуты при 95°C; 35 циклов: денатурация – 30 секунд при 95°C, отжиг – 30 секунд при 60°C, синтез – 30 секунд при 72°C; достройка – 5 минут при 72°C.

Генотипы идентифицировались без проведения рестрикции по результатам амплификации. Длина амплифицированного фрагмента – 387 п. н. При расщеплении продуктов амплификации были идентифицированы следующие генотипы:

- PIT-1^{II} – 387 п. н.;
- PIT-1^{ID} – 330/387 п. н.;
- PIT-1^{DD} – 330 п. н.

Генотипирование исследуемой птицы показало генотипы, представленные на электрофорограмме (рисунок 2).



M – маркер молекулярного веса, 1-19 – амплифицированные фрагменты

Рисунок 2 – Электрофорограмма результатов генотипирования цыплят-бройлеров кросса Ross 308 по гену гипофизарного фактора транскрипции (PIT-1) на основе ПЦР-ПДРФ-анализа

Частоту встречаемости генотипов рассчитывали по формуле 1.

$$P = n / N, \quad (1)$$

где P – частота определенного генотипа;

n – количество животных, имеющих определенный генотип;

N – общее число животных.

Частота встречаемости аллелей по гену гормона роста рассчитана по формуле 1, а по гену гипофизарного фактора транскрипции – по формуле 2 по Е. К. Меркульевой.

$$\begin{aligned} pA &= 2n AA + n AB / 2N, \\ qB &= 2n BB + n AB / 2N, \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} pI &= 2n II + n ID / 2N, \\ qD &= 2n DD + n ID / 2N, \end{aligned} \quad (3)$$

где pA – частота аллеля A;

qB – аллель B;

pI – частота аллеля I;

qD – аллель D;

n – количество гомозиготных или гетерозиготных особей;

N – общая численность обследованных животных;

$2N$ – число аллелей данного двухаллельного локуса в обследованной популяции.

Результаты исследований и их обсуждение. Анализом результатов ДНК-генотипирования исследуемого поголовья цыплят-бройлеров кросса Ross 308 установлено, что полиморфизм изучаемых генов GH и PIT-1, который представлен двумя аллелями и тремя генотипами GH^A , GH^B и GH^{AA} , GH^{AB} , GH^{BB} , $PIT-1^I$, $PIT-1^D$ и $PIT-1^{II}$, $PIT-1^{ID}$, $PIT-1^{DD}$.

Частота встречаемости генотипов и аллелей генов гормона роста и гипофизарного фактора транскрипции у цыплят-бройлеров кросса Ross 308 ОАО «Агрокомбинат «Скидельский» представлена в таблице 1 и на рисунках 3-6.

Таблица 1 – Частота встречаемости генотипов и аллелей генов гормона роста и гипофизарного фактора транскрипции у цыплят-бройлеров кросса Ross 308 ОАО «Агрокомбинат «Скидельский»

Ген	Частота встречаемости				
	аллелей		генотипов, %		
GH	A	B	AA	AB	BB
	0,45	0,55	16,1	57,8	26,1
PIT-1	I	D	II	ID	DD
	0,703	0,297	48,3	43,9	7,8

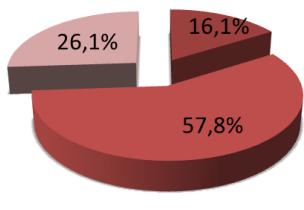


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов по гену гормона роста у цыплят-бройлеров кросса Ross 308, %

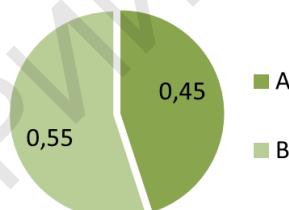


Рисунок 4 – Частота встречаемости аллелей гена гормона роста у цыплят-бройлеров кросса Ross 308

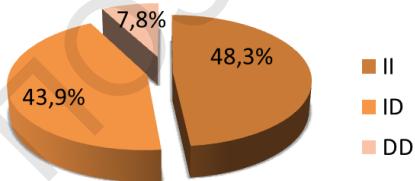


Рисунок 5 – Частота встречаемости генотипов по гену гипофизарного фактора транскрипции у цыплят-бройлеров кросса Ross 308, %

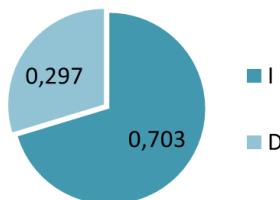


Рисунок 6 – Частота встречаемости аллелей гена гипофизарного фактора транскрипции у цыплят-бройлеров кросса Ross 308

Из данных таблицы 1 и рисунков 3-6 видно, что в группе цыплят-бройлеров кросса Ross 308 чаще встречались особи с генотипом GH^{AB} и с генотипом PIT-1^{II}.

В результате проведенных исследований установлено, что соотношение частот аллелей GH^A и GH^B у цыплят-бройлеров кросса Ross 308 составила 0,45 и 0,55, а аллелей PIT-1^I и PIT-1^D – 0,297 и 0,703 соответственно.

Среди опытного поголовья количество цыплят-бройлеров с генотипом GH^{AA} составило 16,1 %, или 29 голов, с генотипом GH^{AB} – 57,8 %, или 104 головы, и с генотипом GH^{BB} – 26,1 %, или 47 голов. По гену PIT-1 генотипы имели следующее распределение: PIT-1^{II} – 48,3 % (87 гол.), PIT-1^{ID} – 43,9 % (79 гол.) и PIT-1^{DD} – 7,8 % (14 гол.).

Заключение. В ходе исследования аллельного полиморфизма генов гормона роста (GH) и гипофизарного фактора транскрипции (PIT-1) цыплят-бройлеров кросса Ross 308 установлено, что в изучаемой популяции представлены все аллели и генотипы этих генов. Выявлено преобладание аллелей GH^B и PIT-1^I, что указывает на возможность влияния этих аллелей на хозяйственно полезные признаки животных. При определении частоты встречаемости генотипов у испытуемой птицы установили, что самыми распространенными оказались генотипы GH^{AB} и PIT-1^{II} с частотой встречаемости 57,8 и 48,3 %. Полученные данные особенно актуальны в птицеводстве, где идет быстрая смена поколений и результаты направленного отбора можно наблюдать достаточно быстро.

ЛИТЕРАТУРА

1. Использование ДНК-технологий в животноводстве / Ф. С. Сибагатуллин [и др.] // Вестник Казанского государственного аграрного университета. – 2010. – Т. 5, № 1(15). – С. 130-132.
2. Пояркова, Т. А. Использование ДНК-технологий для оценки происхождения, показателей здоровья и отбора животных / Т. А. Пояркова, А. Е. Болгов; Петрозаводский государственный университет. – Петрозаводск: Петрозаводский государственный университет, 2021. – 78 с.
3. Связь генотипов по одноклеточным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у кур Юрловской породы / О. В. Митрофанова [и др.] // Генетика и разведение животных. – 2015. – № 1. – С. 39-42.
4. Новгородова, И. П. Генетические маркеры мясной продуктивности птицы / И. П. Новгородова // Птицеводство. – 2018. – № 7. – С. 6-8.
5. Van As P, Careghi C, Bruggeman V, Onagbesan OM, Van der Geyten S, Darras VM, Decuypere E. Regulation of growth hormone expression by thyrotropin-releasing hormone through the pituitary-specific transcription factor Pit-1 in chicken pituitary. Acta Vet Hung. 2004; – 52(4): – P.389-402 – DOI 10.1556/AVet.52.2004.4.2. PMID: 15595273.
6. Тыщенко, В. И. Аллельное разнообразие гена гипофизарного фактора транскрипции в популяции кур породы корниш / В. И. Тыщенко, В. П. Терлецкий // Аграрная Россия. – 2019. – № 10. – С. 27-30.
7. Jiang RS, Yang N. [Progress on pituitary-specific transcription factor (POU1F1) in poultry] / Yi Chuan. 2004 – Nov; 26(6): 957-61. Chinese. PMID: 15640133.
8. Контроль генетического разнообразия при использовании ДНК-технологии / А. Яковлев [и др.] // Птицеводство. – 2008. – №12. – С. 3-5.