

УДК 636.4.082.12

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ГЕНА ЛЕЙКЕМИЯ ИНГИБИРУЮЩЕГО ФАКТОРА У СВИНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ПОРОД

Леонова М.А., Гетманцева Л.В., Колосов А.Ю.

*ФГБОУ ВПО «Донской государственный аграрный университет», п. Персиановский, e-mail: m.leonovaa@mail.ru*

Повышение продуктивности является основной задачей племенной работы в свиноводстве. Одним из подходов для решения этой задачи является применение ДНК-маркеров для отбора особей, несущих желательные аллели генов хозяйственно-ценных признаков. Цель данной работы – изучение генетической структуры свиней различных пород по гену LIF. Анализ проводился методом ПЦР-ПДРФ. В результате исследований у свиноматок породы ландрас, крупная белая и дюрок было установлено наличие всех трех генотипов гена LIF AA, AB и BB. Наибольшая частота аллеля A и генотипа AA наблюдалась у свиней крупной белой породы (0,65 и 36,3%, соответственно). Самой низкой частотой аллеля A характеризовались свиньи породы дюрок (0,24 и 8,8%, соответственно). Полученные результаты показали породный аспект в распределении частоты аллелей и генотипов гена LIF в исследуемых популяциях.

Ключевые слова: свиньи, ген LIF, частота аллеля, частота генотипа

## FREQUENCY DISTRIBUTION OF ALLELES AND GENOTYPES LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR IN PIGS OF VARIOUS BREEDS

Leonova M.A., Getmantseva L.V., Kolosov A.Y.

*Don State Agrarian University, Persianovsky, e-mail: m.leonovaa@mail.ru*

Increasing of productivity is a major challenge in pig breeding. One approach in this task is the using of DNA markers for selection of individuals carrying the desired alleles of genes of agronomic characters. The purpose of this work is to study the genetic structure of different breeds of pigs gene LIF. The analysis was performed by PCR-RFLP. As a result of studies in sows Landrace, Large White and Duroc established the presence of all three genotypes LIF AA, AB and BB. The highest frequency of allele A and AA genotype was observed in Large White pigs (0.65 and 36.3%, respectively). The lowest frequency of allele A Duroc pigs were characterized by (0.24 and 8.8%, respectively). The results showed breed aspect in the distribution of frequencies of alleles and genotypes LIF in the study population.

Keywords: pig, gen LIF, allele frequency, genotype frequency

В настоящее время интенсификация селекционного процесса в свиноводстве требует научно-обоснованных подходов в селекции. Необходимым условием повышения эффективности племенного отбора является получение точной информации о продуктивности животных еще в раннем возрасте, а также возможности использования полного его генетического потенциала [2, 5]. Общепринятые методы селекции свиней не всегда позволяют полностью использовать генетический потенциал существующих пород [7]. Поэтому в последние годы усилия отечественных и зарубежных специалистов направлены на поиск и внедрение инновационных методов, имеющих значительный потенциал наряду с традиционной селекцией. В качестве таких методов могут выступать технологии, основанные на исследованиях в области молекулярной генетики. Внедрение этих технологий в селекционно-племенную работу требует проведения исследований, прежде чем они могут быть эффективно использованы в свиноводстве [3].

Использование маркерной селекции приобретает большое значение в повышении воспроизводительных качеств свиней, так как их улучшение традиционными методами затруднено в силу низких значений коэффициентов наследуемости [4]. Перспективным приемом повышения воспроизводительных качеств свиней является использование ДНК-маркеров плодовитости [6].

На сегодняшний день большой интерес представляет ген лейкемия ингибирующего фактора (LIF) как генетический маркер воспроизводительных качеств свиней.

LIF был впервые идентифицирован в 1986 г. Metkalf et al. в исследованиях на мышах. На мышинных моделях впервые было показано участие цитокинов семейства IL-6 в имплантации, в частности в экспериментах с инактивацией гена LIF. Самки мышей с инактивированным геном LIF оказались бесплодными из-за нарушения имплантации бластоцисты [1].

Цитокины и факторы роста обладают способностью связываться со специфическими рецепторами клеточных поверхностей и выступают в качестве потенциальных внутриклеточных сигналов, регулирующих функции клеток эндометрия. В настоящее время у большинства видов эндометрий признан важнейшим местом образования цитокинов и рецепторов к ним [10].

Влияние LIF и его рецепторов было продемонстрировано на большом числе видов млекопитающих [8]. По данным A. Spotter et al. (2003), K. Ropka-Molik et al. (2012), Napierała D. et al (2014), ген LIF/DraIII может выступать как достаточно информативный генетический маркер воспроизводительных качеств свиней [8, 9, 10]. В ранее проведенных нами исследованиях на свиньях породы ландрас в ЗАО «Племзавод Юбилейный» Тюменской области было установлено влияние гена LIF/DraIII на воспроизводительные качества свиней. Свиноматки генотипа AA/LIF по сравнению с аналогами генотипа BB/LIF достоверно отличались лучшими показателями по количеству поросят при рождении и многоплодию на 1,6 и 1,7 поросенка ( $p \leq 0,05$ ), соответственно. Свиноматки генотипа AB/LIF имели промежуточные значения. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что концентрация «желательного» аллеля A/LIF в генотипе животных способствует повышению многоплодия [1].

Наличие связи аллельных вариантов гена LIF/DraIII с плодовитостью свиней представляет интерес в изучение полиморфизма гена (SNP 6988 C→T) у свиней различных пород.

В связи с этим, целью данных исследований стало определение генетической структуры свиней различных пород по гену LIF.

**Материалы и методика исследований**

Исследования проводили на базе лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. животных Донского государственного аграрного университета. Для определения генетической структуры свиней (n=507) по данным полиморфизма гена LIF в анализ были включены свиньи породы ландрас (n=326), свиньи крупной белой породы n=(135) и свиньи породы дюрок (n=46).

Для проведения молекулярно-генетических исследований у свиней были отобраны образцы ткани с ушной раковины (ушные выщипы) площадью 1 см<sup>2</sup>.

Анализ проводили с помощью метода ПЦР-ПДРФ. Для проведения ПЦР использовали олигонуклеотидные праймеры (ЗАО «Евроген»): 5'-ATGTGGATGTGGCCTACGG-3' (GenBank AJ296176, nucleotide 6842-6861); 3'-GGGAACAAGGTGGTGATGG-5' (GenBank AJ296176, nucleotide 7231-7249).

Условия ПЦР: первоначальная денатурация - 4 мин при 94<sup>0</sup>С; денатурация 94<sup>0</sup>С - 30с, отжиг 58<sup>0</sup>С - 60с, элонгация 72<sup>0</sup>С – 30 с (30 циклов), завершающая элонгация при 72<sup>0</sup>С 4 мин.

ПЦР-ПДРФ анализ фрагмента гена LIF длиной 407 н.п. проводили с использованием рестриктазы DraIII (ООО «СибЭнзим-М»). Рестрикторные фрагменты разделяли в 2%-ном агарозном геле с добавлением бромистого этидия. При визуализации электрофореграмм в УФ свете один фрагмент длиной 407 п.н. определяли как генотип AA, два фрагмента длиной 266 и 144 п.н. как генотип BB, три фрагмента длиной 407, 266 и 144 п.н. соответствовали генотипу AB [1].

По результатам молекулярно-генетического исследования определяли наличие и частоту аллелей и генотипов по гену LIF.

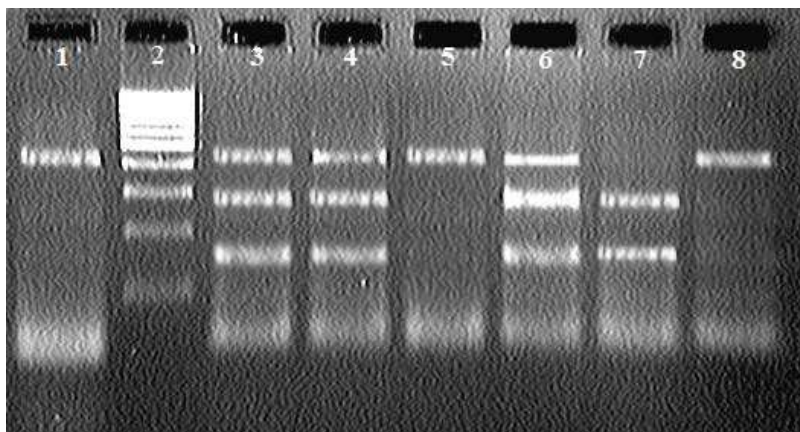


Рис. 1. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена LIF/DRAIII в 2,5 % агарозном геле

(Обозначения: 1 – ПЦР продукт (407 п.н.) ; 2 – ДНК-маркер 100 bp (СибЭнзим); 5,8 – генотип AA (407 н.п.); 7 – генотип BB (266- и 144 н.п.); 3,4,6 – генотип AB (407-, 266- и 144 н.п.)).

### Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведения ДНК-генотипирования свиней по гену LIF была изучена генетическая структура свиней породы ландрас, крупная белая и дюрок. Данные результатов анализа представлены в таблице.

Частота аллелей и генотипов гена LIF свиней породы ландрас, крупной белой породы и породы дюрок

Порода	Выборка, n	Частота аллелей		Частота генотипов, %					
		А	В	АА		АВ		ВВ	
				n	%	n	%	n	%
Ландрас	326	0,48	0,52	68	20,9	178	54,6	80	24,5
Крупная белая	135	0,65	0,35	49	36,3	78	57,8	8	5,9
Дюрок	46	0,24	0,76	4	8,8	14	30,5	28	60,7

Результаты анализа свиней породы ландрас по гену LIF/DraIII показали наличие двух аллелей А и В. В исследуемой популяции у свиней частоты аллелей А и В были распределены практически одинаково (0,48 и 0,52, соответственно). Низкой частотой обладал гомозиготный генотип АА (20,9%), а частота другого гомозиготного генотипа ВВ имела промежуточное значение (24,5%), частота гетерозиготного генотипа АВ составила 54,6%.

Генетическая структура свиней крупной белой породы по гену LIF/DraIII так же определяется наличием всех трех генотипов АА, АВ и ВВ (таблица). В данной популяции наименьшей частотой обладал гомозиготный генотип ВВ (5,9%), частота генотипа АА имела промежуточное значение (36,3%). В исследуемой популяции, при оценке распределения частот, приоритетом располагал аллель А (0,65). Наибольшую частоту имел генотип АВ (57,8%).

Анализ частот аллелей и генотипов свиней породы дюрок (таблица) показал наличие трех генотипов гена LIF. В исследуемой популяции наибольшую частоту имел аллель В (76,1%) и генотип ВВ (60,9%). Наименьшая частота определена для генотипа АА (8,8). Анализ распределения частот аллелей свиней различных пород показывает, повышенную частоту аллеля В у свиней породы дюрок по сравнению со свиньями породы ландрас и крупной белой породы. Вероятно, такое распределение связано с направлением продуктивности данных свиней.

Следует отметить, что данные по изучению распределения частот аллелей и генотипов гена LIF/DraIII, а также его влияния на продуктивные качества свиней, в отечественной литературе отсутствуют (согласно литературным источникам в открытом доступе), но имеются данные зарубежных ученых, проводивших аналогичные исследования.

По данным результатов исследований А. Spötter et al. (2003) на свиньях породы немецкий ландрас частоты аллелей А и В составили 0,56 и 0,44, соответственно. В популяции преобладал гомозиготный генотип АВ (0,54), частоты гомозиготных генотипов АА и ВВ составили 0,34 и 0,12 [10] соответственно, что согласуется с полученным нами результатам.

Результаты, полученные А. Spötter (2003) при изучении генетической структуры свиней немецкой крупной белой породы (n=18) по гену LIF, показали низкую частоту аллеля А (0,25), что сказалось на распределении генотипов, где наиболее распространенным был генотип ВВ (0,51) и практически не встречался генотип АА (0,06) [10]. Данные результаты отличаются от полученного нами распределения у крупной белой породы.

Аналогичные результаты были получены в исследованиях А. Spötter et al. (2003) на свиньях породы дюрок, результаты которых показали наименьшую частоту аллеля А (0,33) [10], что согласуется с полученными нами результатами.

### **Выводы**

Таким образом, на основании собственных исследований и литературных данных можно заключить, что для изучаемых пород характерны все три генотипа (АА, АВ и ВВ) гена LIF, но наибольшая частота, как правило, принадлежит гетерозиготному генотипу.

Сопоставляя частоты аллелей гена LIF у исследованного нами поголовья свиней с литературными данными, следует отметить породный и, возможно, географический аспект распределения частот аллелей и генотипов данного гена. Полученные результаты расширяют современные представления о молекулярных маркерах, характеризующих воспроизводительные качества свиней.

### **Список литературы**

1. Гетманцева Л.В., Леонова М.А., Третьякова О.Л., Усатов А.В. Взаимосвязь полиморфизма гена LIF/DraIII с продуктивными качествами свиней. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. - № 3. – С. 36-39.
2. Гетманцева Л.В., Леонова М.А., Колосов А.Ю., Усатов А.В. Полиморфизм гена POU1F1 у коров красной степной породы Аграрный вестник Урала. – 2014. - № 12 (130). – С. 23-25.
3. Зиновьева Н.А., Кленовицкий П.М., Гладырь Е.А., Никишов А.А. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве: Учеб. пособие. – М.: РУДН, 2008. – 329 с.

4. Леонова М.А., Колосов Ю.А., Колосов А.Ю. Изучение полиморфизма гена PRLR у свиней породы ландрас. // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2014. – Т. 3. - № 7. – С. 503-506.
5. Леонова М.А., Колосов А.Ю., Святогорова А.Е., Радюк А.В., Бакоев Н.Ф. Интенсификация селекционного процесса в животноводстве с использованием метода ПЦР // Молодой ученый. – 2014. - № 11. – С. 172-175.
6. Леонова М.А., Колосов А.Ю., Радюк А.В., Бублик Е.М., Стетюха А.А., Святогорова А.Е. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных. Молодой ученый. 2013. № 12 (59). С. 612-614.
7. Karagodina N., Kolosov Y., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L., Usatov A. Influence of various bio-stimulants on the biochemical and hematological parameters in porcine blood plasma. // World Applied Sciences Journal. – 2014. – Т. 30. - № 6. – С. 723-726.
8. Napierała D., Kawęcka M., Jacyno E., Matysiak B. & Wierzchowska A. Effect of polymorphism in the LIF gene on reproductive performance of hybrid Polish Large White and Polish Landrace. South African Journal of Animal Science 2014, 44 (No. 1).
9. Ropka-Molik K., Variability of mRNA abundance of leukemia inhibitory factor gene (LIF) in porcine ovary, oviduct and uterus tissues/ K. Ropka-Molik, M. Oczkowicz, A. Mucha, K. Piórkowska, A. Piestrzyńska-Kajtoch // Molecular Biology Reports 39(8): 7965-7972, 2012.
10. Spötter A. Analysis of Candidate Genes for the Improvement of Litter Size in Pigs. Doctoral dissertation, University of Hannover, 2003.

#### **Рецензенты:**

Приступа В.Н., д.с.-х.н., профессор кафедры частной зоотехнии и кормления сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВПО ДГАУ, п. Персиановский;

Третьякова О.Л., д.с.-х.н., зав. лабораторией теоретических основ селекции с.-х. животных, профессор кафедры частной зоотехнии и кормления сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВПО ДГАУ, п. Персиановский.