

2. *Briles C.* Relationship of egg weight on early growth in two breeds of chickens. Hens strategies for improving animal production for human welfare // Proceeding. – 1983. – vol. 2. – P. 113–114.

3. *Shyan G.* Egg weight relationship to day old and subsequent end body weights in broilers // Poultry Guide. – 1990. – vol. 17, № 2, – P. 49–50.

4. *Позднякова Н.* Масса инкубационных яиц и продуктивность бройлеров / Н. Позднякова, Л. Дядичкина. – 2008. – Режим доступа: <http://webpticeprom.ru/ru/articles-incubation.html?pageID=1209472783>

5. *Бурьян М.* Прогресс в генетике стимулирует перемены в технологии инкубации / М. Бурьян // Zootechnica. – 2006. – № 1. – С. 26–29.

6. *Вечера Ю. О.* Морфологічні та інкубаційні якості яєць м'ясного кросу курей / Ю. О. Вечера // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва». – К., 2016. – Вип. 236 – С. 309–315.

**Рецензент** – Н. П. Пономаренко д. с.-г. н., професор, НУБіП України.

УДК 619:616.9:57.06:577

## **ВИЗНАЧЕННЯ ПОЛІМОРФНИХ ВАРІАНТІВ ФРАГМЕНТІВ ДНК ЗБУДНИКІВ ХЛАМІДІЙНИХ ІНФЕКЦІЙ ПТАХІВ**

*М. В. Корнієнко<sup>1</sup>, аспірантка<sup>1,2</sup>  
І. М. Ксьонз<sup>2</sup>, д-р вет. наук, с. н. с.*

<sup>1</sup>ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,  
вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна

<sup>2</sup>Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН,  
вул. Шведська могила, 1, м. Полтава, 36013, Україна

*Проведено біоінформаційні дослідження 365 нуклеотидних послідовностей ДНК трьох збудників хламідійних інфекцій птахів (*Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* та *Chlamydia psittaci*), отриманих із міжнародних електронних баз даних «GenBank» та «PubMed». При цьому визначено, що найвищий рівень варіабельності (який досягає – 76,2 %) має ген, що кодує основний мембранний білок хламідій (МОМР). Методом вирівнювання первинних послідовностей означеного гену, за допомогою комп'ютерних програм «MEGA4» та «MEGA7», визначено поліморфні фрагменти нуклеотидних послідовностей ДНК *Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* та *Chlamydia psittaci*, які можуть бути використані у розробленні дизайну олігонуклеотидних праймерів тест-систем для індикації і видового диференціювання означених збудників хламідійних інфекцій птахів у полімеразній ланцюговій реакції.*

**Ключові слова:** ПТАХИ, ХЛАМІДІЙНА ІНФЕКЦІЯ, НУКЛЕОТИДНІ ПОСЛІДОВНОСТІ, ПОЛІМОРФНІ ФРАГМЕНТИ, МОМР.

Хламідіоз (орнітоз) птахів є широко розповсюдженою інфекцією в усьому світі, до якої

---

<sup>12</sup>Науковий керівник - д-р вет. наук, с. н. с. І. М. Ксьонз

сприйнятливі більше, ніж 170 видів із 28 родин птахів [1]. Хламідії уражують різні органи і системи організму птахів. Типовими клінічними ознаками орнітозу є «пневмоентерит» з респіраторними симптомами, слизово-гнійними виділеннями із носових ходів, діареєю, поліурією й млявістю [2].

Джерелом інфекції є хворі птахи та хламідієносії. У більшості випадків збудником орнітозу є *Chlamydia psittaci*, яка до останнього часу вважалась єдиним видом бактерій роду *Chlamydia*, що викликає захворювання у птахів [3]. Однак, за новітньою класифікацією бактерій порядку *Chlamydiales*, прийнятою на II Європейському симпозиумі «Animal Chlamydioses and Zoonotic Smplications (ЕМАС-2)», захворювання птахів, окрім *Chlamydia psittaci*, викликають *Chlamydia avium* та *Chlamydia gallinacea*. *Chlamydia avium* виділяється від голубів та птахів папугових порід, а *Chlamydia gallinacea* є збудником захворювань птахів порядку куроподібних [4].

Розроблення високочутливих та специфічних молекулярно-генетичних тест-систем для індикації і видової диференціації збудників хламідійних інфекцій птахів надасть можливість достовірно вивчати ті чи інші аспекти хламідійної інфекції птахів різних видів [5–8].

Отже, метою наших досліджень було провести біоінформаційні дослідження шляхом вирівнювання нуклеотидних послідовностей різних генів для визначення поліморфних ділянок ДНК бактерій роду *Chlamydia*, які викликають захворювання у птахів, що слугуватимуть для створення молекулярно-генетичних тест-систем, здатних диференціювати означені збудники за видами.

**Матеріали і методи** роботи ґрунтуються на біоінформаційних дослідженнях 365 первинних нуклеотидних послідовностей бактерій роду *Chlamydia*, що викликають захворювання у птахів, а саме: *Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* та *Chlamydia psittaci*.

Нуклеотидні послідовності означених трьох видів бактерій були отримані із міжнародних баз даних: «GenBank» та «PubMed».

Вирівнювання нуклеотидних послідовностей на наявність поліморфних ділянок для гібридизації, характерних для того чи іншого виду бактерій роду *Chlamydia* проводили з використанням комп'ютерних програм «MEGA4» та «MEGA7».

Перевірку специфічності поліморфних фрагментів визначених для кожного із трьох видів хламідій з нуклеотидними послідовностями мікроорганізмів як умовно патогенних, так і збудників інших інфекцій, проводили за допомогою онлайн-програми «Blast».

**Результати й обговорення.** Проаналізовано 365 нуклеотидних послідовностей ДНК бактерій роду *Chlamydia*, що викликають хламідіоз серед птахів, зокрема: *Chlamydia avium* – 16 (MOMP – 5, 16S rRNA – 11), що складає 4,4 % від загальної кількості проаналізованих нуклеотидних послідовностей; *Chlamydia gallinacea* – 47 (MOMP – 46, 23S rRNA – 1), що складає 12,9 % та *Chlamydia psittaci* – 302 (MOMP – 133, 16S rRNA – 167, RNase P RNA – 2), що складає 82,7 %.

Аналізу секвенованих нуклеотидних послідовностей гену, що кодує 16S рибосомальної РНК *Chlamydia avium* підлягали 11 первинних послідовностей отриманих із баз «GenBank» та «PubMed», за такими кодами доступу: KF366255–KF366261, KP739377, NR\_118595, NR\_121781, NR\_121988. При цьому визначено, що рівень гомології означеного гену складає близько 99,9 %, тобто варіабельність його послідовностей не перевищує 0,1 %.

Вирівнюванню нуклеотидних послідовностей гену, що кодує основний білок зовнішньої мембрани (MOMP) *Chlamydia avium* підлягали 5 первинних послідовностей отриманих із баз «GenBank», за такими кодами доступу: KF366262–KF366266. При цьому встановлено рівень гомології 76,2 %, відповідно варіабельність становить 23,8 %.

Визначено локуси, що мають місце в геномі *C. avium* і не є гомологічними для геномних структур інших мікроорганізмів, зокрема й бактерій порядку *Chlamydiales*, зокрема: 5'- TGCAACTTGGTGCATGCTGTTAGCGTTCGCGCAGGATTCTACGGAGATT-ATGTTTTTCGATCGCATATTA AAAACAGATACAACAAA AACTGTAGAA -3'.

Біоінформаційні дослідження були проведені й у відношенні бактерії *Chlamydia gallinacea*, з тією різницею, що аналізу підлягали нуклеотидні послідовності гену MOMP та 23S рибосомальної РНК. Оскільки на даний час бази даних містять 46 первинних послідовностей гену MOMP (KT203195–KT203217; KT203219–KT203232; LN626319–LN626326) та лише одну 23S rRNA (KP739370), то вирівнюванню підлягали нуклеотидні послідовності гену, що кодує основний білок зовнішньої мембрани *Chlamydia gallinacea*. При цьому визначено, що рівень гомології послідовностей означеного гену для *C. gallinacea* складає 72,5 %.

Високий рівень загальної варіабельності гена MOMP у збудників хламідійних інфекцій птахів – 76,2 %, дає можливість для виявлення ділянок ДНК гомологічних винятково для бактерії *Chlamydia gallinacea*, зокрема: 5'- AGGATATFFGGGAATCAGG-STTCCSTCTACCAAGGAAGCTGGGACAGATGCAGCTACAGATACAAAATCTGCAACC-ATTCAGTACCATGAATGGCAAGCTGGTTTGGCTTT -3'.

Найбільше первинних послідовностей різних штамів містять міжнародні бази даних «GenBank» та «PubMed» стосовно бактерій *Chlamydia psittaci*. Нами вилучено та проаналізовано дві секвеновані послідовності гену, що кодує RNase P RNA (AF056378, AJ012169), 167 послідовностей гену, що кодує 16S rRNA (AB001779; AB001781; AB001782; AB001784; AB001786; AB001788–AB001791; AB001793; AB001797; AB001798; AB001800–AB001815; AB285329; LN810440; AF481050; AF481052; AJ310736; AY334528–AY334530; CPU61767; CPU68453; CPU68454; CPU68456; CPU68419; CPU68447; CPU68449; CPU68450; CPU68452; D85712; D85713; E17339–E17342; EF165622; EF612704; FJ666121; HQ662953; HQ542857; HQ616172; JN104390; JN606072; JN426966; JN426967; LN810441; LN810444–LN810446; NR\_036864; NR\_102492; NR\_111992) та 133 гену, що кодує MOMP (AB239849; AB284055–AB284057; AB284059–AB284066; AB468956; AB512087; AF269259–AF269261; AF269263; AF269264; AF269267–AF269269; AF269265; AF269266; AF269281; AJ243525; AM050561; AY762608; AY762609; AY762611–AY762613; EF202608; EU009488–EU009498; EU019091; EU048338; EU159263; EU682086–EU682090; HE687292; LN624458; LN810481–LN810483; LN810469; LN810470; LN810472; LN810474; LN810477; KF770962; KP942829; KJ205581; KJ205582; KJ205584–KJ205586; KJ205588; KJ205590; KJ205591; KJ205594; KJ205596; KJ205597; HQ616169; HQ845540; HQ845543–HQ845547; HM214490; JN411078; JQ679391–JQ679394; JQ926183; JQ312425; X12647; Y16561; Y16562).

Аналізом 167 первинних нуклеотидних послідовностей гену, що кодує 16S rRNA *C. psittaci* визначено рівень 96,9 % гомології й, відповідно, варіабельності – 3,1 %.

Вирівнюванням двох первинних послідовностей гену, що кодує ендорибонуклеазу Р (RNase P RNA) *Chlamydia psittaci* встановлено 99,9 % рівень їх гомології.

Рівень гомології нуклеотидних послідовностей гену, що кодує MOMP *C. psittaci* складає 65,7 %. Таким чином, послідовності означеного гену проявляють найвищу поліморфність – 34,3 %.

Вирівнюванням 133 первинних послідовностей гену, що кодує MOMP, отриманих із світових генетичних баз, визначено ділянки ДНК гомологічні винятково для *Chlamydia psittaci*, зокрема: 5'- TTCCTAACGTAGGCATTACCCAAGGTGTTGTGGAATTTTATAC-AGACCATACCACATTTTCTTGGAGCGTAGGTGCACGTGGAGCTTTATGGGAATGTGGTTGTGCAA -3'.

Аналізуючи секвеновані нуклеотидні послідовності гену, що кодує основний білок зовнішньої мембрани (MOMP) для бактерій роду *Chlamydia*, що викликають хламідіози серед птахів (*Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea*, *Chlamydia psittaci*), рівень загальної гомології гену, що кодує MOMP склав 23,8 %, тобто його варіабельність складає 76,2 % (рис. 1).



# IDENTIFICATING POLYMORPHIC VARIANTS OF DNA FRAGMENTS BELONGING TO AVIAN CHLAMYDIAL INFECTION AGENTS

M. V. Korniienko<sup>1</sup>, I. M. Ksyonz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>NSC “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”  
83, Pushkinska Str., Kharkiv, 61023, Ukraine.

<sup>2</sup>Institute of Pig Breeding and Agro-Industrial Production of NAAS  
1, Shvedska Mohyla Str., Poltava, 36013, Ukraine.

## S U M M A R Y

Bio-informational studies of 365 DNA nucleotide sequences have been performed for three avian Chlamydial infection agents (*Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* та *Chlamydia psittaci*) received from the international electronic databases «GenBank» and «PubMed». Thereat, it was determined that the highest variability level (reaching 76,2 %) was demonstrated by the gene coding the main outer membrane protein (MOMP) of *Chlamydiae*. Using the method of primary sequences alignment for the above gene and computer programs «MEGA4» та «MEGA7», DNA nucleotide sequences' polymorphic fragments of *Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* та *Chlamydia psittaci* have been identified and can be applied at designing oligonucleotide primers in test-systems for indication and species differentiation of the above avian Chlamydial infection agents in the Polymerase Chain Reaction.

**Keywords:** BIRDS, CHLAMYDIAL INFECTION, NUCLEOTIDE SEQUENCES, POLYMORPHIC FRAGMENTS, MOMP.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ФРАГМЕНТА ДНК ВОЗБУДИТЕЛЯ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ ПТИЦ

M. V. Корниенко<sup>1</sup>, И. М. Ксенз<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»  
ул. Пушкинская, 83, г. Харьков, 61023, Украина

<sup>2</sup>Институт свиноводства и агропромышленного производства НААН  
ул. Шведская Могила, 1, г. Полтава, 36013, Украина

## А Н Н О Т А Ц И Я

Проведены биоинформационные исследования 365 нуклеотидных последовательностей ДНК трех возбудителей хламидийных инфекций птиц (*Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* и *Chlamydia psittaci*) полученных из международных электронных баз данных «GenBank» и «PubMed». При этом выяснено, что наивысший уровень variability (достигающий 76,2 %) имеет ген, кодирующий основной мембранный белок хламидий (MOMP). Методом выравнивания первичных последовательностей указанного гена, с помощью компьютерных программ «MEGA4» и «MEGA7», определены полиморфные фрагменты нуклеотидных последовательностей ДНК *Chlamydia avium*, *Chlamydia gallinacea* и *Chlamydia psittaci*, которые могут быть использованы при разработке дизайна олигонуклеотидных праймеров тест-систем для индикации и видовой дифференциации указанных возбудителей хламидийных инфекций птиц в полимеразной цепной реакции.

**Ключевые слова:** ПТИЦЫ, ХЛАМИДИЙНАЯ ИНФЕКЦИЯ, НУКЛЕОТИДНЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, ПОЛИМОРФНЫЕ ФРАГМЕНТЫ, MOMP.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ксьонз І. М. Хламідіози тварин : [монографія] / Ксьонз Ігор Миколайович. – Полтава : Оріяна, 2012. – 318 с.
2. Орнітоз: [учебн. пособие] / И. Л. Обухов, А. Н. Панин, К. Н. Груздев, Д. А. Васильев – Ульяновск., 1998. – 55 с.
3. Лобзин Ю. В. Хламидийные инфекции / Ю. В. Лобзин, Ю. И. Ляшенко, А. Л. Позняк – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2003. – 400 с.
4. Sachse K. Neues aus dem NRL Chlamydiose / K. Sachse // Sekond European Meeting on [«Animal Chlamydioses and Zoonotic Smplications (EMAC-2)»], (Germany, Jena, 13–14 june 2013), Friedrich Loffler Institut. – 2013. – P. 95–96.
5. Видова ідентифікація збудників хламідіозу синантропної та домашньої птиці за допомогою гніздової ПЛР та ПЛР в реальному часі / А. В. Скрипник, І. М. Ксьонз, В. Г. Скрипник [та ін.] // Ветеринарна медицина: Міжвідомчий тематичний науковий збірник НААНУ. – 2011. – Вип. 95. – С. 132–134.
6. Шумик Ю. М. ПЛР-діагностика орнітозу (псітакозу) із використанням різних тест-систем / Ю. М. Шумик, І. М. Ксьонз // Науковий Вісник Львівської нац. академії вет. медицини ім. С. Г. Гжицького. – 2006. – Том. 8, № 2 (29), Част. 1. – С. 219–223.
7. Chlamydial infections in feral pigeons in Europe: Review of data and focus on public health implications // S. Magnino, D. Haag-Wackernagel, I. Geigenfeind et al. // Vet Microbiol Epub, 2009 Mar 16, № 135(1–2). P. 54–67.
8. Host preference and zoonotic potential of Chlamydia psittaci and Chlamydia gallinacea in poultry // V. Hulin, S. Oger, F. Vorimore Pathog et al. // Environ Microbiol Epub 2015 Feb 6, № 73 (1). P. 1–11.

**Рецензент** – С. М. Корінний, к. с.-г. н., с. н. с., Інститут свинарства і АПВ НААН.