

УДК 577.21; 636.082

Лядський І.К., аспірант
Інститут свинарства імені О.В.Квасницького НААН

СТАН ВИВЧЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ГЕНІВ *MC4R* ТА *HMG1*, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА ФОРМУВАННЯ М'ЯСНИХ ТА ВІДГОДІВЕЛЬНИХ ОЗНАК СВИНЕЙ

*У публікації зроблено огляд сучасних досягнень у дослідженні генів *hmg1* та *mc4r*, що впливають на формування жирової тканини та регуляцію харчової поведінки свиней. Проаналізована перспектива залучення цих генів до маркерної селекції.*

Постановка проблеми. Маркерна селекція використовує інформацію про різні варіанти генів, що відповідають за формування господарсько-корисних ознак. Найбільшим джерелом варіабельності генів є одонуклеотидні поліморфізми (ОНП), в англійській літературі – *single nucleotide polymorphisms SNPs*. У сучасних селекційних програмах для визначення тварин з бажаними комбінаціями генних варіантів найбільш широкого застосування знайшли саме *SNPs*. У кожному гені може бути значна кількість різних *SNPs*, але тільки одиниці дійсно впливають на прояв кількісної ознаки. Більше того, цей прояв часто буває породоспецифічним. Сучасна схема використання *SNPs* для маркерної селекції наступна. По-перше, необхідно встановити серед тварин популяції наявність *SNPs* за генами, що досліджують. Як правило, відсутність *SNPs* може бути тільки у чистопородних, лінійних, інбредних тварин, які серед племінних свиней України майже відсутні. На другому етапі визначають вплив певних алелів на формування ознак. Нарешті на третьому етапі встановлюють зв'язки певних гаплотипів (комбінацій алелів різних генів) з формуванням бажаної ознаки. Якщо зафіксовано достовірний зв'язок між певними гаплотипами та ознакою переходять саме до маркерної селекції. Для цього кнурів та свиноматок підбирають таким чином, щоб у стаді переважно зустрічався цільовий гаплотип.

Особливу увагу дослідників привертають гени, що впливають на відгодівельні та м'ясні якості. Серед генів-кандидатів на формування цих ознак практичне використання набули тільки декілька, серед них ген високомобільної групи білків *A1 (hmg1)* та ген рецептору меланокортину-4 (*mc4r*). Певні *SNPs* цих генів використовуються в методиці отримання термінальних кнурів. Зокрема, важливе значення аналізу *SNPs* зазначених генів під час селекційної роботи підкреслюється наявністю американських патентів № 6, 803, 190 та № 7, 244, 564, що наголошують на необхідності залучення генів *mc4r* [1] та *hmg1* [2] до маркерної селекції в свинарстві.

Одним з факторів, що перешкоджає використанню названих генів у маркерній селекції є певна породоспецифічність впливу на формування підшкірного жиру. Таким чином, для вибору панелі генів, що необхідно залучити для

покращення певної ознаки, необхідна інформація про фізіологічні, анатомо-морфологічні та генетичні характеристики ознак за формування яких у популяціях свиней різних порід відповідають названі гени.

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Жирова тканина (адіпозний орган) – сукупність клітин (адіпоцитів) організму, що виконують функцію накопичення енергії у вигляді жиру, ендокринну регуляцію метаболізму та механічний захист деяких внутрішніх органів. На її ріст та розвиток впливають різноманітні речовини, деякі з яких активуються за принципом зворотного зв'язку. Зокрема, рецептор меланокортину-4 (MC4R) реалізує біологічну дію гормону жирової тканини лептину, що регулює харчову поведінку тварини та, відповідно, ступінь накопичення підшкірного жиру. Інші сполуки, а саме високомолекулярна група білків A1 (HMG A1), пов'язані з метаболізмом жиру іншим чином. Вони корегують кількість жирових клітин, тим самим встановлюючи певну фенотипову норму реакції із високим рівнем варіабельності.

Біохімічний шлях реалізації функцій рецептору меланокортину-4 тісно пов'язаний з гормоном жирової тканини лептином, тому такий шлях можна називати лептин-меланокортиновим.

Лептин-меланокортиновий шлях. Лептин – протеїн, що складається з 167 амінокислотних залишків та кодується геном *lep (ob)*. Він є важливим регулятором маси жирової тканини та ваги тіла, оскільки зменшує вживання їжі і стимулює енергетичні витрати. Лептин виробляється білою жировою тканиною – найбільш розповсюдженою формою жирової тканини в ссавців.

Після синтезу лептин секретується в кровообіг, де він циркулює приєднуючись до протеїнів та транспортується в напрямку мозку до гематоенцефалічного бар'єру. Там він контактує зі своїм рецептором OB-R, який входить до суперродини рецепторів цитокінів I типу [3].

Рецептор лептину є головним посередником між цим гормоном та його тканинами-мішенями. В головному мозку ці рецептори розташовані переважно в аркуатному ядрі та вентромедіальному гіпоталамусі, де знаходяться центри голоду, насичення та терморегуляції [4]. Існує п'ять ізоформ OB рецептору: OB-Ra, OB-Rb, OB-Rc, OB-Rd, OB-Re. Лише ізоформа рецептору лептину OB-Rb приймає участь у регуляції ваги тіла та харчової поведінки [5].

Проходячи гематоенцефалічний бар'єр, лептин впливає на катаболізм проопіомеланокортину (POMC) та анаболізм нейропептиду Y (речовина, що стимулює апетит) [6]. Зв'язуючись з POMC у нейронах головного мозку він пригнічує функціонування збуджуючих апетит (орексигенних) нейропептидів та сприяє виробленню анорексигенних нейропептидів, меланокортинів, найпершим серед яких слід зазначити α -меланоцитстимулюючий гормон (α -MSH) [7]. Останній у процесі з'єднання з рецептором меланокортину-4 (MC4R) сприяє зниженню апетиту [8].

Рецептор меланокортину 4-типу – порівняно недавно виявлений клас поєднаних з протеїном G рецепторів, що розміщується в головному мозку та регулює харчову поведінку ссавців [9]. Стимуляція рецептору MC4R призводить до зменшення вживання їжі, тоді як його пригнічення, навпаки, збільшує споживання корму. Таким чином, рецептор меланокортину-4 є останнім ланцюгом у біохімічній регуляції харчової поведінки.

Ген *mc4r* розташований на хромосомі 1 свині (SSC1) в ділянці q22–q27 [10]. У маркерній селекції зроблена спроба використання поліморфізму, що веде до амінокислотної заміни Asp298Asp. Так, можна вирішити, який тип тварин потрібен у залежності від кінцевої мети виробництва в господарстві. Якщо потрібний швидкий ріст, то 298Asp (алель А), якщо менший розвиток жирової тканини – 298Asr (алель G). Досліди проводились на лініях, отриманих від схрещування між ландрасом та великою білою породою, великою білою й дюрком та великою білою з мейшан. Свині, гомозиготні за алелем 298Asr, за даними GeneSeek, мають на 8% менший рівень підшкірного жиру та високу норму конверсії корму. Мутації гену характеризуються кодомінантним успадкуванням та відсутністю іншої фенотипової патології, крім надмірної осаленості. Більшість досліджень виявили чітку кореляцію між експресією гену *mc4r* та харчовою поведінкою різних порід свиней. Деякі протиріччя виникали здебільшого при гетерозиготному генотипі експериментальних тварин [9], коли вирішальна роль цього гену в регуляції вживання їжі була сумнівною. Іншим моментом є ще недостатня вивченість впливу певних SNPs цього гену на відгодівельні якості різних порід свиней [11].

Однією з найбільш фундаментальних робіт, присвячених дослідженню впливу гену *mc4r* на харчову поведінку різних порід свиней, є робота Bruun C.S. із співавторами [12]. Дослідниками було проаналізовано кореляцію між наявністю місенс мутації гену та осаленістю, розмірами тіла і харчовою поведінкою. Їх результати вказують на чітку відмінність між впливом на фенотип різних алельних станів гену *mc4r* у досліджених порід свиней в межах 1.0 мм. Проте, дослідження вказує на вірогідність існування певної породоспецифічності експресії цього гену. Зокрема, не виявлено чіткої кореляції між поліморфізмами гену *mc4r* та відкладенням підшкірного жиру у свиней великої білої (ВБ) породи [1] та нащадків від схрещування ВБ з дикою свинею [13]. Також було виявлено деякі відмінності в експресії гену *mc4r* і в свиней породи йоркшир. Дане спостереження може бути пояснене тим, що поліморфізм цього гену не впливає на осаленість, а лише близько пов'язаний з дійсною причиною цього явища, або наявністю епістатичної взаємодії між різними QTL (локуси кількісних ознак) [12]. Вітчизняні дослідники визначили наявність поліморфізму серед популяції свиней великої білої породи за геном *mc4r* і також вказують на певний зв'язок різних алельних станів цього гену з відгодівельними якостями [14-19].

Крім названого лептин-меланокортинового шляху регуляції харчової поведінки можна виділити й ще більш глибинний НМGA1-шлях регуляції фенотипової норми реакції жирової тканини, тобто встановлення кількості жирових клітин, що обумовлює можливий рівень накопичення ліпідів підшкірним адіпозним органом.

НМGA1-шлях. Високомобільна група протеїнів А1 – фактори, що регулюють транскрипцію деяких генів, змінюють структуру хроматину [20]. Ці білки відіграють головну роль у ході клітинного поділу та диференціювання [21] і мають важливе фізіологічне значення під час ембріонального розвитку [22]. Ген *hmg1* розташований на хромосомі 7 (SSC7) свині [2].

Білки НМGA1 транслюються в клітинах у відповідь на стимуляцію фактора росту та залучаються до контролю швидкої проліферації [23].

Різними дослідниками було перевірено зв'язок алельних станів гену *hmg1* з ростом спинного підшкірного жиру. Доведено, що алель Т (варіант в позиції 576) впливає на менший розвиток жирової тканини у свиней [2].

Інформативними є дослідження взаємодії різних *QTL* генів *hmg1* та *mc4r*. Комбінований аналіз поєднаного впливу різних алельних станів цих генів на жирову тканину при вивченні 470 тварин породи Дюрок із *Korea Swine Association*, показав, що їх *SNPs* корелюються з товщиною спинного сала, оскільки мали місце значні відмінності при поєднаннях порід свиней різних генотипів за цим показником [24]. Автори дослідження зробили висновок про доцільність використання обох поліморфізмів для маркерної селекції потрібних ознак у свинарстві.

Окрім колосальних перспектив використання, технологія маркерної селекції має ряд обмежень. Зокрема її застосування можливе за умови, що в досліджених *SNPs* мають місце значущі заміни, пов'язані зі зміною структури білкового продукту. На жаль певні ознаки (наприклад, репродуктивні) погано визначені, що ускладнює пошук відповідних генетичних маркерів для їх селекції. [25].

Крім цього, за умов взаємодії генотипу із навколишнім середовищем, прояви точкових мутацій гену не постійні і можуть залежати від паратипових факторів, що також ускладнює маркерну селекцію за такими ознаками.

Отже, навіть якщо ознака залежить від певного гену, який може принести велику господарську користь, слід знайти й побічні ефекти такого гену, що можуть негативно впливати на характеристики тварини. Так, довготривала селекція за м'ясними і відгодівельними якостями призвела до зменшення плідності та підвищення смертності у багатьох породах тварин [26].

Висновки. Таким чином, встановлено роль генів *hmg1* та *mc4r* у формуванні жирової тканини окремих порід свиней. Певна породоспецифічність потребує подальших досліджень генів *hmg1* та *mc4r* у популяціях свиней різних порід з метою вирішення питання про доцільність їх використання в маркерній селекції.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Kim K.S., Larsen N., Short T., Plastow G. and Rothschild M.F. A missense variant of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits // *Mammalian Genome*. – 2000. – Vol. 11. – P. 131-135.
2. Kim K.S., Thomsen H., Bastiaansen J., et al. Investigation of obesity candidate genes on porcine fat deposition quantitative trait loci regions. // *Obesity Research*. – 2004. – Vol. 12. – P. 1981. – 1994.
3. Tartaglia L.A., Dembski M., Weng X. et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R // *Cell*. – 1995. – Vol. 83. – P. 1263-1271.
4. Schwartz M.W., Seeley R.J., Campfield L.A. et al. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus // *J. Clin. Invest.* – 1996. – Vol. 98. – P. 1101-1106.
5. Lee G.H., Proenca R., Montez J.M. et al. Abdominal splicing of the leptin receptor in diabetic mice // *Nature*. – 1996. – Vol. 379. – P. 632-635.
6. O'Rahilly S., Farooqi I.S., Yeo G.S.H. and Benjamin G. Minireview: Human Obesity—Lessons from Monogenic Disorders Challis // *Endocrinology*. – 2003. – Vol. 144. – N. 9. – P. 3757-3764.
7. Jequier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance // *Ann N Y Acad Sci*. – 2002. – Vol. 967. – P. 379-388.

8. Marsh D.J., Hoolopeter G., Huszar D., et al. Response of melanocortin-4 receptor-deficient mice to anorectic and orexigenic peptides // *Nature Genetics*. – 1999. – Vol. 21. – P. 119-122.
9. Barb C.R., Robertson A.S., Barrett J.B., et al. The role of melanocortin-3 and -4 receptor in regulating appetite, energy homeostasis and neuroendocrine function in the pig // *Journal of Endocrinology*. – 2004. – Vol. 181. – P. 39-52.
10. Kim K.S., Larsen N.J. and Rothschild M.F. Rapid communication: Linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene // *J. Anim. Sci.* – 2000. – Vol. 78. – P. 791-792.
11. Fan B., Onteru S.K., Plastow G.S. and Rothschild M.F. Detailed characterization of the porcine MC4R gene in relation to fatness and growth // *Animal Genetics*. – Vol.40. – 2009. – P. 401-409.
12. Bruun C.S., Jorgensen C.B., Nielsen V.H., et al. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire // *Animal Genetics*. – 2006. – Vol. 37. – P. 359-362.
13. Park H.B., Carlborg O., Marklund S. and Andersson L. Melanocortin 4 receptor (MC4R) genotypes have no major effect on fatness in a Large White x Wild Boar intercross // *Animal Genetics*. – 2002. – Vol. 33. – P. 155-157.
14. Коновал О.М. Ген MC4R як генетичний маркер приросту жирової маси у свиней / Коновал О.М., Костенко С.О., Спиридонов В.Г., та ін // *Наук. Вісник Ужгород. ун-ту (Сер. Біол.)*. – 2008. – Вип. 22. – С. 110-113.
15. Гетья А.А. Оценка Asp298Asn полиморфизма гена MC4R у свиней крупной белой породы / Гетья А.А., Березовский Н.Д., Почерняев К.Ф., Лядский И.К. // *Таврійський науковий вісник. Збірник наукових праць ХДАУ. Вип.58/2*. – Херсон: Айлант. – 2008. – С.45-49.
16. Лядський І.К. Поліморфізм гена HMGA1 в різних популяціях свиней великої білої породи України / Лядський І.К., Почерняев К.Ф. // *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. – К., 2009. – Вип. 138. – С. 269-272.
17. Лядський І.К. Гаплотипи генів свиней великої білої породи, що використовуються для генетичного покращення відгодівельних і м'ясних ознак // *Мат. VIII наук. конфер. мол. вч. та аспір.* – К.: Аграрна наука, 2010. – С. 41-42.
18. Лядський І.К. Оцінка поліморфізму генів MC4R та HMGA1, що відповідають за формування м'ясних і відгодівельних ознак у свиней великої білої породи // *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. – Вересень, 2010. – (Подано до друку).
19. Лядський І.К. Связь Asp298Asn полиморфизма гена MC4R с толщиной спинного сала у свиней крупной белой породы / Лядський І.К., Гетья А.А., Почерняев К.Ф. // *Цитология и генетика*. – № 2, 2011. – (Подано до друку).
20. Reeves R. and Nissen M.S. The AT DNA binding domain of mammalian high mobility group I chromosomal protein. A novel peptide motif for recognizing DNA structure. // *J. Biol. Chem.* – 1990. – Vol. 265. – P. – 8576-8582.
21. Battista S., Fedele M., Hoyos J.M., et al. High-mobility-group A1 (HMGA1) proteins down-regulate the expression of the recombination activating gene 2 (RAG2) // *Biochem. J.* – 2005. – Vol. 389. – P. 91-97.

22. Chiappetta G., Avvantaggiato V., Visconti R., et al. High level expression of HMGI(Y) gene during embryonic development // *Oncogene*. – 1996. – Vol. 13. – P. 2439-2446.

23. Ayoubi T.A., Jansen E., Meulemans S.M., Van de Ven W.J. Regulation of HMGIC expression: an architectural transcription factor involved in growth control and development // *Oncogene*. – 1999. – Vol. 18. – P. 5076-5087.

24. Kim K.S., Lee J.J., Shin H.Y., et al. Association of melanocortin 4 receptor (MC4R) and high mobility group AT-hook 1 (HMGA1) polymorphisms with pig growth and fat deposition traits // *Animal Genetics*. – Vol. 37. – 2006. – P. 419-421.

25. Tsuruta S., Misztal I., Lawlor T.J., Klei L. Estimation of genetic parameters over time for final score in holsteins using a random regression model // *Proc. 7th World Congress Gen. Appl. Livest. Prod., Montpellier, France*. – 2002. – CD-ROM communication 17, 20.

26. Van der Waaij E.H. A resource allocation model describing consequences of artificial selection under metabolic stress // *Journal of Animal Science*. – 2004. – Vol. 82. – P. 973-981.

Лядский И.К. Состояние изучения и перспективы использования генов MC4R и HMGA1, которые влияют на формирование мясных и откормочных признаков свиней.

*В публикации сделан обзор современных достижений в исследовании генов *hmg1* и *mc4r*, которые влияют на формирование жировой ткани и регуляцию пищевого поведения свиней. Проанализирована перспектива применения этих генов в маркерной селекции.*

I.K.Lyadskiy. Current knowledge and prospect use MC4R and HMGA1 genes for formation meat and feeding pig's quality.

*The review of modern achievements in research of *hmg1* and *mc4r* genes which influence formation of a fatty tissue and regulation of a feeding behavior of pigs is made in the publication. The prospect of application of these genes in marker selections is analyzed.*