

ГЕНЕТИКА ТА ВІДТВОРЕННЯ

УДК 636.32/.38.082.2

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ПОЛІМЕРАЗНО-ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ ДЛЯ ТИПУВАННЯ ОВЕЦЬ З ВИКОРИСТАННЯМ ГЕНЕТИЧНИХ МАРКЕРІВ

І. І. Антонік

primavera1a@mail.ru

Д. Т. Вінничук

vinnichukju@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

В. М. Іовенко

askitsr_zavviddilgenetic@ukr.net

Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова
«Асканія-Нова» - Національний науковий селекційно-генетичний
центр з вівчарства
вул. Соборна, 1, смт Асканія-Нова, Чаплинський р-н,
Херсонська обл., 75230, Україна

Л. В. Кременчук

kremenchuk-lilija@rambler.ru

Інститут сільського господарства Причорномор'я НААН
вул. Маяцька дорога, 24, смт Хлібодарське, Біляївський р-н,
Одеська обл., 67667, Україна

Наведено результати аналізу сучасних інформаційних даних стосовно розвитку молекулярно-генетичних методів та їх використання в селекції овець. Велика увага приділена саме застосуванню у вівчарстві найбільш перспективного методу виявлення генетичних маркерів різних генів з застосуванням полімеразно-ланцюгової реакції. У зв'язку з цим впровадження у тваринництво, в тому числі і в галузь вівчарства ДНК-технологій дозволяє вивчати маркерні гени, які контролюють важливі функції у тварин, зокрема господарсько-корисні ознаки продуктивності: ріст, розвиток, відгодівельні особливості, відтворювальна здатність, якість

м'яса, якість молока тощо.

Метою роботи було проведення аналізу сучасних інформаційних даних, літературних джерел, оглядів щодо застосування методу ПЛР для типування овець за молекулярно-генетичними маркерами.

В огляді описано перспективні гени, які є потенційними маркерами продуктивності овець.

Детально розглянуто використання генів відтворювальної здатності тварин, їх багатоплідності, молочної та м'ясної продуктивності, росту тварин, зокрема каллпігія (*callipyge-SNPCLPG* (*callipygemusclehypertrophygen* – *CLPG*), кальпаїна (*calpain*) та кальпастатина (*Calpastatin* (*CAST*)) в якості перспективних генетичних маркерів для селекції овець.

Виявлення генетичних маркерів за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції є доступним інструментом для проведення цілеспрямованої та високоефективної селекції сільськогосподарських тварин. ДНК-маркери дозволяють формувати перспективне селекційне ядро племінних овець.

Проведений короткий огляд перспективних QTL-генів продуктивності овець свідчить про доцільність більш широкого застосування ПЛР для виявлення генетичних маркерів у практичному вівчарстві.

Переважає ДНК-маркерів полягає в тому, що можна визначити генотип тварини незалежно від статі, віку, фізіологічного стану особин, що дозволяє значно підвищити ефективність селекційно-племінної роботи, відповідно вихід товарної продукції.

Ключові слова: полімеразно-ланцюгова реакція, генетичні маркери, генотипування, вівці.

THE APPLICATION of the POLYMERASE CHAIN REACTION METHOD for SHEEP GENOTYPING with the USE of GENETIC MARKERS

I. I. Antonik

primavera1a@mail.ru

D. T. Vinnichuk

vinnichukju@gmail.com

Institute of Veterinary Medicine the National Academy
of Agrarian Science of Ukraine
30, Donetska Street, Kyiv, 03151, Ukraine

V. M. Iovenko

ask.itsr_zavviddilgenetic@ukr.net

Ascania Nova Institute of Animal Breeding in the Steppe Regions
named after M.F.Ivanov – National Scientific –Genetics Center for
sheep Breeding

1, Soborna Street, Askania Nova, Chaplynka district,
Kherson region, 75230, Ukraine

L. V. Kremenchuk

Institute of Agriculture of the Black Sea Region of the National Academy
of Agrarian Science of Ukraine

24, Mayatska Doroha Street, Hlibodarske, Biliaivskiyi district,
Odesa region, 67667, Ukraine

The article provides an analysis of modern information on scientific literature, on the development of molecular genetic methods and their use in sheep breeding. Much attention is paid to the application in sheep breeding most promising method for identifying genetic markers of various genes using the polymerase chain reaction. In this connection, the mass introduction of livestock, particularly sheep breeding industry, DNA technology allows us to study marker genes of animals, controlling and predicting important functions in animals (economically useful signs of performance such as growth, development, fattening characteristics, reproductive ability, meat quality, milk quality, and the like. It has been established that the introduction of DNA technology into the sheep breeding industry makes it possible to study animal marker genes that control and predict important economic-useful functions in sheep.

The aim of the work was to perform a meta-analysis of modern information data, literature sources, reviews on the application of the PCR method for genotyping sheep using molecular genetic markers in sheep breeding.

The review describes promising genes - potential markers of productivity in sheep breeding.

Details considered of the use of genes - the reproductive ability of sheep, their multiplicity, milk and meat productivity, the use of growth, callipyge (SNPCLPG), calpain and calpastatin (CAST) as promising genetic markers for sheep breeding.

Identification of genetic markers by means of polymerase chain reaction is an accessible tool for conducting purposeful and highly effective breeding of farm animals, in particular sheep. DNA markers will make it possible to form a promising breeding core for sheep.

This brief review of prospective genes-markers of sheep productivity

shows the advisability of a wider introduction of PCR for the detection of genetic markers in the practice of sheep breeding. DNA markers advantage is that it is possible to determine the genotype of an animal regardless of sex, age and physiological state of individuals, which makes it possible to significantly improve the efficiency of selection and breeding work in the sheep industry, respectively, the yield of sheep products.

Keywords: polymerase chain reaction, genetic markers, genotyping, sheep

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ТИПИРОВАНИЯ ОВЕЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

И. И. Антоник
primavera1a@mail.ru

Д. Т. Винничук
vinnichukju@gmail.com

Институт ветеринарной медицины НААН
ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина

В. М. Иовенко
askitsr_zavviddilgenetic@ukr.net

Институт животноводства степных районов имени М. Ф. Иванова
«Аскания-Нова» - Национальный научный селекционно-генетический центр по овцеводству
ул. Соборная, 1, пгт. Аскания-Нова, Чаплинский р-н,
Херсонская обл., 75230, Украина

Л. В. Кременчук
kremenchuk-lilija@rambler.ru

Институт сельского хозяйства Причерноморья НААН
ул. Маяцкий путь, 24, пгт. Хлебодарское, Беяевский р-н,
Одесская обл., 67667, Украина

Представлены результаты анализа современных информационных данных относительно развития молекулярно-генетических методов и их использование в селекции овец. Большое внимание уделено именно применению в овцеводстве наиболее перспективного метода выявления генетических маркеров различных генов с применением полимеразной цепной реакции. В связи с этим внедрение в животноводство, в частности в отрасль овцеводства ДНК-технологий позволяет изучать маркерные гены, контролирующие важные функции у животных, в том числе и хозяйственно-полезные признаки продуктивности: рост, развитие, откормочные особенности, воспроизводительные способности, качество мяса, качество молока овец и т. д.

Целью работы было проведение мета-анализа современных информационных данных, литературных источников, обзоров по применению метода ПЦР для генотипирования овец по молекулярно-генетическим маркерам.

В обзоре описаны перспективные гены, потенциальные маркеры продуктивности овец. Подробно рассмотрено использование генов воспроизводительной способности овец, их многоплодия, молочной и мясной продуктивности роста животных, в частности каллипиягия (callipyge-SNPCLPG (callipygemusclehypertrophygen – CLPG), кальпаина (calpain) и кальпастатина (Calpastatin (CAST) в качестве перспективных генетических маркеров для селекции овец.

Выявление генетических маркеров с помощью полимеразной цепной реакции является доступным инструментом для проведения целенаправленной и высокоэффективной селекции сельскохозяйственных животных, в частности овец. ДНК-маркеры позволяют формировать перспективное селекционное ядро племенных овец.

Проведенный краткий обзор перспективных генов-маркеров продуктивности овец свидетельствует о целесообразности более широкого применения ПЦР для выявления QTL-генов в практическом овцеводстве.

Преимущество ДНК-маркеров заключается в том, что можно определить генотип животного независимо от пола, возраста, физиологического состояния особей, что позволяет значительно повысить эффективность селекционно-племенной работы, соответственно выход товарной продукции.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция, генетические маркеры, генотипирование, овцы

Події останнього десятиліття ознаменувалися зміною в підходах до вдосконалення сільськогосподарських тварин. Традиційно в селекції тварин використовували багаторічні спостереження за продуктивними якими окремих особин, з виявлення покращувачів і використання їх в селекції.

З розвитком ДНК- технологій і накопичення фактичного матеріалу стало можливим через оцінку генотипу в рамках концепції ген-маркер ознаки вивчати всю різноманітність фенотипових форм і виявляти бажані [3]. Генетичні маркери можна визначити як ділянки ДНК, що характеризуються певним рівнем поліморфізму, для яких точно встановлена їх локалізація на хромосомі, але невідома біологічна функція [5].

Найбільш перспективним методом виявлення генетичних маркерів різних генів є метод полімеразної ланцюгової реакції. ПЛР - це метод, який дозволяє перевірити генетичний матеріал, екстрагований з досліджуваного зразка, на наявність в його складі ділянки зміненої генетичної інформації, що використовується для отримання копій ділянок ДНК генетично зумовленої ознаки і, крім того, для візуалізації (в разі присутності) таких специфічних ділянок [3].

У зв'язку з цим масове впровадження у тваринництво, зокрема в галузь вівчарства ДНК-технологій дозволяє вивчати генетичні маркери, які контролюють важливі функції у тварин (господарсько-корисні ознаки продуктивності), такі як ріст, розвиток, відгодівельні особливості, якість м'яса, якість молока тощо.

Результати досліджень. Велику роль в становленні і розвитку нового типу ДНК-маркерів зіграв винахід Кері Мюллеса у 1983 р. методу ампліфікації *in vitro* певних ділянок ДНК в процесі повторюваних температурних циклів полімеразної реакції (ПЛР - полімеразна ланцюгова реакція), (PCR - PolymeraseChainReaction).

Широке впровадження методу ПЛР почалося з моменту публікації в 1988 році основної роботи Saiki et al. [34], в якій були використані термофільні ДНК-полімерази і розглянуто теоретичні основи методу. Завдяки цьому методу можливо швидко і з невеликими витратами матеріальних ресурсів і часу отримати більше 10 мільйонів копій певної послідовності ДНК, яка спочатку представлена однією або кількома молекулами. Різні модифікації методу ПЛР лягли в основу створення різноманітних типів ДНК-маркерів, які широко використовуються в даний час у тваринництві, зокрема у вівчарстві.

Метод ПЛР-аналізу дозволяє за короткий час на матриці хромосомальної ДНК тварин знайти і ампліфікувати маркери необхідних для дослідника генів. Крім того, даний метод дозволяє вивчити і виявляти маркери генів у племінних тварині в найбільш ранні терміни їхнього життя. Він оснований на аналізі поліморфізму довжини ре-

стріційних фрагментів - ПДРФ. Суть його полягає в ампліфікації певного фрагменту ДНК, що містить, або не містить точкову заміну нуклеотидів (точкову мутацію), з подальшим виявленням цих замін за допомогою сайт-специфічних рестриктаз. За результатами ПДРФ-аналізу можна зробити висновок про відсутність або наявності певного алеля у досліджуваної тварини.

Діагностика методом ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція-поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів) є стандартний аналіз точкових мутацій для встановлення поліморфізму генів-кандидатів, пов'язаних з продуктивними якостями сільськогосподарських тварин, в тому числі і овець. За довжиною фрагментів (ПДРФ) роблять висновок про відсутність або наявність точкової мутації, а також про гомозиготність або гетерозиготність особини [27, 35].

За допомогою ПЛР-ПДРФ, найбільш поширеного завдяки своїй простоті і надійності методу типування SNPs, аналізується поліморфізм генів каппа-казеїну (CSN3), пролактину (PRL), бета-лактоглобуліну (BLG). За допомогою іншого методу детекції SNP - SSCP, ефективного, зокрема, для пошуку нових однунуклеотидних замін в ДНК, вивчається ген лептину у овець і азійського буйвола [13, 24], ген α -лактоглобуліну у китайських молочних кіз [26], а також ген пролактину у овець [16].

В даний час зростає інтерес до технологій, заснованих на використанні ДНК-маркерів, які знаходять широке застосування в національних селекційних програмах ряду країн з розвиненим тваринництвом і роблять значний вплив на поліпшення складу туші, якості молока, м'яса та ефективності виробництва м'яса і молока [1, 2, 3].

Пошук і подальше використання генетичних маркерів, безпосередньо або побічно пов'язаних з багатоплідністю овець, в останні роки набуває великого значення в селекції, так як селекція на плодючість за фенотипом у овець характеризується низькою ефективністю, з одного боку через низьку успадкованість ознаки, з іншого - через обмеженість статтю його прояву. Феномен підвищеної багатоплідності деяких порід активно досліджується багатьма лабораторіями світу.

Головним вважається ген, який зумовлює відмінності між гомозиготними генотипами не менше 0,5 σ . По відношенню до ступеня овуляції це означає, що одинична копія бажаного алеля такого головного гена збільшує ступінь овуляції більш ніж на 0,2.

Існування головних генів плодючості у овець вперше було доведено у мериносів Бурула і овець породи Інвердейл. Пізніше аналогічна генетична структура була виявлена і в овець інших порід в Новій Зеландії, Ісландії, Франції, Бангладеш, Індонезії та Польщі.

У 1980 році на виставці мериносів в Австралії були представлені дані про виняткову плодючість овець Бурула, що, на думку авторів, є

результатом дії одного головного гена або тісно зчепленої групи генів, які впливають на ступінь овуляції [31]. Підтвердження цієї гіпотези було отримано двома десятиліттями пізніше, коли три групи дослідників одночасно показали, що успадкування плодючості, яке спостерігається у мериносів Бурули, є результатом точкової мутації [28, 39]. Практично одночасно було доведено існування іншого головного гена, мутація якого відповідає за високу плодючість овець породи Інвердейл [22].

Встановлено також, що сегрегуючий головний ген плодючості є і в цілому ряді інших багатоплідних порід овець, таких як кембріджська (FecC), струму (FecI), яванезьська (FecJ), олкуска, белклейр, лакауна, вудландская (FecX2) [19].

Австралійські мериноси Бурула - одна з чотирьох порід (романовська, фінські вівці і д'ман), що характеризується винятковою плодючістю. Як вже зазначалося вище, сегрегаційний аналіз успадкування підвищеної плодючості показав наявність у них головного гена (FecB), що впливає на розмір гнізда [19, 31].

FecB – аутосомний ген, локалізований на 6 хромосомі (Montgomery et al., 1994). Мутація плодючості Бурула FecB^B/FecB^B здійснює кодомінантну дію на ступінь овуляції і неповну домінуючу дію на розмір гнізда. Рірег зі співавторами (1985) встановили, що вплив FecB на ступінь овуляції і плодючість адитивна і що кожна FecB^B/FecB^B збільшує ступінь овуляції на 1,5, а плодючість - на 1,5 ягнати за ягніння. Згідно з мультиплікативною моделлю Davis [19] кожна копія FecB збільшує ступінь овуляції на 90%.

Після опису в 1980 р. гена Бурула було відкрито цілу родину генів, що регулюють ознаки продуктивності, які отримали загальну назву Fec-генів [4,5]. Дія цих генів для гетерозиготних вівцематок полягає у збільшенні швидкості овуляції, наслідком якого є збільшення приплоду, а гомозиготні носії більшості мутацій характеризуються проявом безпліддя в тій чи іншій мірі [10].

Із зазначеного експресія гена Бурула обмежена статтю, так як зростання сім'яників, їх розмір і денна продукція сперматозоїдів баранів не відрізняється від цих показників у звичайних мериносів.

Групи дослідників з Нової Зеландії, Франції і Единбурзького університету Шотландії незалежно один від одного встановили, що висока плодючість овець Бурула є результатом неконсервативної мутації (Q249R) у внутрішньоклітинному сигнальному домені гена рецептора морфогенетичного кісткового білка IB (BMPR-IB) - члена родини рецепторів трансформуючого фактора росту [28, 39].

У нормі секреція гранульозними клітинами прогестерону, необхідного для їх диференціювання і дозрівання овуляторних фолікулів, інгібується двома природними лігандами BMPR-IB і диференцію-

ються фактором зростання 5 (GDF5) та BMP4. Було показано, що культивовані *in vitro* гранульозні клітини, отримані від вівцематок з генотипом FecB^B/FecB^B, секретували значо більше прогестерону, ніж клітини від овець з генотип FecB^{B+}/FecB^{B+} [28].

Отже, клітини FecB^B/FecB^B є менш чутливими до інгібуючої дії GDF5 і BMP4 внаслідок зменшеної функціональності рецептора BMPR-1B, що призводить до диференціювання гранульозних клітин та посиленого розвитку фолікулів у тварин, які несуть мутацію.

Ген BMP15 розташований на 10 хромосомі і є членом родини трансформуючих факторів зростання β (TGF β). BMP15 – морфогенетичний сигнальний білок організовує побудову тканин в тілі і специфічно експресується в ооцитах.

BMPR-1B – інший член родини рецепторів трансформуючого фактора росту β (TGF β), ген якого розташований на 6 хромосомі [28, 36,39]). Знижена функціональність рецептора BMPR-1B призводить до диференціювання гранульозних клітин і посиленого розвитку фолікулів у вівцематок, які несуть мутацію [12, 23]. Важливу роль у підтримці нормального яєчникового фолікулогенеза у самок грає диференційний фактор росту (GDF9), ген якого розташований на 5 хромосомі [10, 23].

Одним з генів-кандидатів, які впливають на багатоплідність овець, є ген рецептора фолікулостимулюючого гормону (FSHR), ген ядерного коактиватора A1 (NCOA1), ген пролактину і його рецептора, ген ретинол-зв'язуючого білка 4 (RBP4), ген рецептора еритропоєтину (EPOR) та ген рецептора естрогену (ESR) [12,16, 17, 21, 38].

Ген FSHR у овець пов'язаний з кількістю ягнят при народженні [17], у BPX асоційований з виходом життєздатних ембріонів і незапліднених ооцитів після суперовуляції [18].

У геномі овець ESR1 і ESR2 кодуються окремими генами, розташованими на 8 і 7 хромосомах відповідно. За допомогою методу PCR-SSCP виявлено SNP в екзоні 1 гена ESR1 як в породах овець з високою (куцохвоста порода Хан, Ху і німецький м'ясний меринос), так і з низькою плодючістю (дорсет, Суффолк) [37]. У досліджених тварин було виявлено три генотипи (AA, AB, BB) у всіх трьох багатоплідних породах, при цьому у овець з низькою плодючістю присутні тільки два генотипи (AA, AB). Секвенування показало наявність мутації C> G в позиції 363 екзона 1 гена ESR1 в генотипі BB у порівнянні з генотипом AA. Автори показали, що вівцематки куцохвостої породи Хан з генотипами AB і BB мали на 0,51 (P <0.05) та 0,7 (P <0.05) більше ягнят відповідно, ніж вівцематки з генотипом AA [37].

На вівцях куцохвостої породи Хан розпочато дослідження екзона 4 гена ESR1 [36,37]. Автори клонували, секвенували фрагмент екзона і оцінювали гомологію нуклеотидної та амінокислотної послідо-

вностей з відомими послідовностями людини, великої рогатої худоби, свині, курей. Виявлено високу гомологію, яка підтвердила високу консервативність гена ESR1.

Озмен та інші [30] на основі нуклеотидних послідовностей ESR1 генів людини, великої рогатої худоби, овець та кіз з бази даних GenBank сконструювали праймери для ПЛР, які використовували для ампліфікації області четвертого екзона гена ESR1. В секвенованих ПЛР-продуктах четвертого екзона було виявлено три нуклеотидні заміни (g.43A> G, p.T43A; g.49C> T, p.L49F; g.178A> T, p.T178S), що призводять до змін амінокислотних залишків, і три заміни (g.18G> C, g.27C> T, g.96G> A), що не викликають змін амінокислотної послідовності білка. Дані секвенованої послідовності депоновано в базу даних GenBank під номерами JF262030-JF262035. Автори виявили, що вивчені нуклеотидні послідовності породи овець Білий Караман і Авассі подібні між собою, а високоплодюча порода хіос (середній розмір посліду дорівнює 2.3) відрізняється від них [30].

За допомогою ПЛР-ПДРФ аналізується також поліморфізм генів молочної продуктивності [29, 32, 34]. Встановлено, що технологічні властивості молока овець і кіз в певній мірі залежать від генотипу за локусом *cs1-Cn* [6, 11]. На жаль до цього часу до якості молока цих тварин в Україні не пред'являється особливих вимог, хоча в деяких країнах світу його широко використовують при виробництві сирів і йогуртів. За даними Міжнародної молочної федерації 75% цих продуктів виробляються з використанням молока дрібної рогатої худоби [15, 17, 19].

З давніх часів люди використовують в їжу молоко певних сільськогосподарських тварин. Його споживають як в натуральному вигляді, так і переробленого в різні продукти. Структура споживання молока і молочних продуктів визначається соціальними, економічними, географічними та іншими факторами. Постійно збільшується кількість молока, що переробляється на молочні продукти, в тому числі на білковомолочні (сири).

Щодо типування овець та виявлення генетичних маркерів їх молочної продуктивності, то варто відмітити, що у овець каракульської породи знайдено поліморфізм α , β , κ -казеїнів та β -лактоглобулінів. Встановлено вплив локуса β Lg на продуктивні якості овець. Наприклад, генотип AA впливає на молочну продуктивність. Особини з таким генотипом виробляють більше молока порівняно з іншими. Самий високий відсоток жиру характерний для генотипу β LgBB, а стосовно вмісту протеїну та казеїну пріоритетними є гетерозиготні особини AB. Таким чином, структура популяції, що склалася за визначеними білками, являє собою цілісну динамічну систему і представлена переважно гомозиготними генотипами AA та знаходиться в стані рівноваги.

Отримані дані за локусом β Lg (в комплексі з іншими методами оцінювання та відбору овець) можуть бути використані в якості біохімічного тесту стану генофонду породи, а також для прогнозування на їх основі рівня продуктивних якостей овець.

У молоці овець поліморфними є лише 2 види білка, β -казеїн з молекулярними типами B1B2, AB1B2, та β -лактоглобулін - AA, BB, AB. Особливості генотипової залежності вмісту білків в молоці дослідники вивчали саме за цими двома локусами. У овець виявлено вплив генотипів β -казеїну на вміст білків в молоці. Цей вплив виявився аналогічним тому, що спостерігається у великої рогатої худоби, тобто переважають гетерозиготні особини, зокрема, з генотипом AB1B2. Вівці з таким генотипом мають в молоці підвищений вміст загального білка - 6,18; казеїну - 4,94; β -казеїну - 1,93; κ -казеїну - 0,30 г/100 мл. Однак впливу генотипу овець за β -казеїном на отримання сироваткових білків не встановлено. Їх вміст у особин різних генотипів був майже однаковим - 1,244 ... 1,245 г/100 мл, а виявлені за окремими білковими фракціями відмінності виявилися несуттєвими і різноспрямованими.

β -Лактоглобулін - головний білок молочний сироватки, тому вплив його генотипів є значним на отримання сироваткових білків [1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, 12]. Отже, локуси β -казеїну та β -лактоглобуліну мабуть знаходяться у тісній взаємодії, що відбивається на кількісному вмісті відповідних їм білків. Автори відмічають [10, 34], що у овець виявлена дещо інша залежність вмісту молочних білків від генотипу за β -лактоглобуліном. У них, на відміну від корів, підвищений вміст загального білка. Крім того, цей білок сироватки має гетерозиготний генотип AB. Наприклад, вівці породи прекос з таким генотипом перевищували інші генотипи за вмістом цих білків на 0,103 ... 0,173 г/100 мл. Підвищення відбулося в основному за рахунок β -лактоглобуліну, кількість якого в молоці гетерозигот було найвищим - 0,831 г/100 мл [1, 3, 5, 10, 12].

Значущою ознакою є репродуктивна якість овець, яка оцінюється типуванням за генами ESR, FSHR, FSHB та ін. [10, 12, 16, 17, 37].

За допомогою іншого методу детекції - SNP-SSCP, ефективного зокрема для пошуку нових одонуклеотидних замінів в ДНК, вивчався ген лептину у овець і азійського буйвола [13, 24], ген α -лактоглобуліну у китайських молочних кіз [26], а також ген пролактину у овець [16].

Для генотипування також застосовуються ДНК-мікрочіпи, які продовжують удосконалюватися в різних напрямках [14, 25]. Так, з використанням ДНК-мікрочіпа Illumina ovine SNP chip на 54 977 SNPs були типовані австралійські мериносові вівці. Цей мікрочіп розроблено в рамках Міжнародного Консорціуму геноміки овець [4, 7, 8, 9,

13], у яких виявлено однонуклеотидний поліморфізм на 10 хромосомі, що корелює з комолим фенотипом [20]. В даний час створюються вигідніші, з точки зору економіки, інтерпретації даних ДНК-мікрочіпів з низькою щільністю SNP [15].

Сьогодні зростає інтерес до технологій, заснованих на використанні ДНК-маркерів, які знаходять широке застосування в національних селекційних програмах ряду країн з розвиненим тваринництвом і справляють суттєвий вплив на поліпшення складу туші, якості м'яса та ефективності його виробництва [1, 2, 3, 12, 14, 15].

Окрім цього, в якості перспективних генів-маркерів розглядають ген кальпастатіна (CAST), що відповідає за м'ясну продуктивність овець, ген гормону росту (GH), ген диференціального фактора росту (GDF9) [3, 7, 8, 9, 12].

Аналіз інформації з генетичної селекції у вівчарстві показує, що в різному ступені вивчено вплив близько 50 цільових генів на продуктивні показники овець. Що стосується м'ясної продуктивності овець, то в експериментах на великих групах тварин, які представляють найбільш яскравий фенотип, отримано дані стосовно поліморфізму і впливу на м'ясну продуктивність декількох важливих одиничних генів.

Гормон росту (GH). В експериментах показано, що суперекспрес гена GH призводить до прискореного росту і розвитку організму тварини [3]. Отже, можна очікувати, що зміни рівня експресії або структури гена / білка можуть сприяти позитивному впливу на господарсько-значимі ознаки, в т.ч. приріст живої маси [3].

Калліпіга. Фенотипово у овець мутація callipyge-SNPCLPG (callipygemuscle hypertrophy gen - CLPG) проявляється м'язевою гіпертрофією, в першу чергу в області тазу і задніх кінцівок [3,14,19]. М'язи у таких ягнят збільшені, при цьому гіпертрофуються не всі м'язи. У ягнят з Калліпіга проявляються деякі бажані характеристики і властивості м'яса: вищий відсоток виходу м'яса, велика частина філе, м'ясо більш пісне у таких ягнят. Кращі якості туші виражаються в кращому виході (у порівнянні з ягнятами звичайної мускулистості) цілісних кінцівок, філе, корейки на кістки і лопаток на 11,8%, 4,7; 2,5 і 2,3% відповідно. Крім цього тварини з Калліпіга є більш продуктивними за м'ясними якостями при меншому щоденному поїданні кормів, що проявляється в менших виробничих витратах. Отже, широке використання таких ягнят потенційно здатне знизити вартість ягнятини для споживачів та підвищити рентабельність вівчарства. У той же час негативною ознакою, навіть недоліком ягнят з Калліпіга, є висока жорсткість м'яса [3,7.9, 11, 25, 27]

Калпайн. У 1976 р було вивчено перший білок родини калпайнів (calpain), який грає ключову роль у декомпозиції м'яса, котра відбу-

вається після забою тварини. Система кальпаїна є комплексом протеолітичних і цитолітичних білків. Ця система включає в себе кальційзалежну протеазу, що відіграє значну роль в зростанні м'язів і отриманні м'ясом ніжної текстури після забою. Ферменти кальпаїна у живих овець контролюють ріст м'язів за рахунок контролю декомпозиції м'язевих волокон. Після забою ферменти кальпаїна роблять м'ясо ніжнішим за рахунок декомпозиції Z-дисків скелетної мускулатури і ослаблення зв'язків між м'язевими волокнами [3, 26].

Кальпастатин. Фермент кальпастатина входить до складу кальпаїнової родини ферментів, а також виступає в якості специфічного інгібітора кальцій-залежних протеаз. Останнім часом встановлено, що до його функції входить зростання, виснаження і зниження маси тіла, що відбувається після забою тварини. Таким чином, вираженість структури і ніжності м'яса знаходиться під впливом функцій ферменту кальпастатина за геном, в якому виявлено поліморфізм, а різні аллелі впливають на функціонування цієї ферментативної системи. В останні роки у зв'язку з питанням поліпшення якості м'яса було багато повідомлень стосовно зв'язу рівня кальпастатина в м'язах і ніжності текстури м'яса [3]. Виявлено генотип AC овець, які найкраще набирали живу масу. Автори також повідомляли про те, що вівці з цим генотипом набирали 123 г/день, що на 18% більше, ніж у овець з генотипом AA у гібридних Dorset і Cooperworth овець [30, 34, 36]. Отже, поліморфізм овець за геном кальпастатина може застосовуватися в якості маркера продуктивності для збільшення маси тіла тварин.

Результати відповідних досліджень показали, що тварини зі зниженою активністю кальпастатина дають м'ясо підвищеної м'якості [3, 27, 29]. Ген кальпастатина локалізований на п'ятій хромосомі овець, і його розмір становить близько 100 тис. п. о. Він включає в себе чотири екзона, в екзоні I виявлено два алельних варіанта [3]. Окрім цього, будь-які зміни в цій системі призводять до різних захворювань [26].

В іншому дослідженні [39] вивчено розповсюдження різних алельних варіантів цього гена в середовищі різних порід. Показано, що аллель C значно прискорює ріст ягнят та збільшує м'язеву масу. Вивчення поліморфізму екзона I гена кальпастатина овець породи Kurdish із застосуванням PCR-SSCP дозволило виявити генотипи AA, AB та AC, що зустрічаються з частотою 0,55, 0,32 і 0,13 відповідно.

Поліморфізм ДНК-маркерів та їх вплив на показники м'ясної продуктивності досліджувалися у різних порід овець. Вивчено гіпофізарний транскрипційний фактор (POU1F1) у іранських овець двох порід. Встановлено взаємозв'язок поліморфізму гена POU1F1 з масою тіла тварин при відлученні [3, 37, 39].

В якості перспективних генів-маркерів продуктивності овець виділяють гени GDF9 (диференційний фактор росту), BMPR-IB (рецептор морфогенетичного білка кісток), BMP-15 (кістковий морфогенетичний білок 15) та ін. [13, 14, 15]. Ген диференційованого фактора росту (GDF9) розташований на 5 хромосомі і відіграє важливу роль для підтримки нормального яєчникового фолікулогенеза та пов'язаний з плодючістю овець. Ген рецептора морфогенетичного білка кістки (BMPR-IB) розташований на 6 хромосомі і кодує рецептори протеїнази, яка бере участь у фосфорилуванні ендоплазматичних речовин і взаємодії з генами морфогенетичних білків кістки. BMPR-IB є одним з основних генів, який може бути використаний в якості ДНК-маркера для раннього відбору високопродуктивних маток. Ген кісткового морфогенетичного білка 15 (BMP-15) розташований на 11 хромосомі і відіграє значну роль у розвитку ооцитів і фолікулів, які впливають на рівень плодючості вівцематок.

Висновки. Виявлення генетичних маркерів за допомогою полімеразно-ланцюгової реакції є доступним інструментом для проведення цілеспрямованої та високоефективної селекції сільськогосподарських тварин, зокрема овець. ДНК-маркери дозволяють формувати перспективне селекційне ядро племінних овець.

Проведений короткий огляд перспективних генів-маркерів продуктивності овець показує доцільність більш широкого впровадження ПЛР для виявлення генетичних маркерів та впровадження їх у практичному вівчарстві. Перевага ДНК-маркерів полягає в тому, що можна визначити генотип тварини незалежно від статі, віку і фізіологічного стану особин, що дозволяє значно підвищити ефективність селекційно-племінної роботи в галузі вівчарства, відповідно збільшити вихід товарної продукції.

Список використаної літератури

1. Алтухов Ю. П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю.П. Алтухов, Е.А. Салменкова // Генетика. – 2002. – Т. 38. – С. 1173-1195.
2. Афанасьев М. П. Экспрессия генов белков молока у разных видов сельскохозяйственных животных / М. П. Афанасьев, Р. А. Хаертдинов // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – № 3. – С.19-21;
3. Глазко И. В. Введение в ДНК_технологии / И. В. Глазко, И. М. Дунин. – М: ФГНУ «Росинформагротех», 2001. – 436 с.
4. Дейкин А. В., Генетические маркери в мясном овцеводстве / А. В. Дейкин М. И. Селионова, А. Ю. Криворучко, Д.В. Коваленко и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016; 20 – С. 576-583.
5. Зиновьева Н. А. Современные генетические методы в селекции свиней / Н. А. Зиновьева, А. В. Доцев, А. В. Шахин, К. М. Шавырина, В. Н. Маурчева, Ю. И. Чинаров // Под редакцией Н. А. Зиновьевой. Дубровицы, 2011.

6. Иолчиев В. С. Взаимосвязь системы каппа-казеина с молочной продуктивностью коров / В. С. Иолчиев, В. И. Сельцов // Зоотехния. – 1999. – № 6. – С. 4–5.

7. Колосов Ю. А., Мясные качества чистопородных и помесных баранчиков разного происхождения / Ю. А. Колосов, Н. В. Широкова и др. // Овцы, козы, шерстное дело. – 2012. – №3. – С 44-46.

8. Колосов Ю. А., Некоторые продуктивные качества молодняка помесных овец/ Ю. А. Колосов, Н. В. Широкова // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2012. – Т. 2. – №1. – С. 53-56.

9. Леонова М. А. Распределение частот аллелей генотипов гена лейкемия ингибирующего фактора у свиней различных пород / М. А. Леонова, Л. В. Гетманцева, А. Ю. Колосов и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 2. – С. 534.

10. Нестерук Л. В. Сравнительная оценка генофондов пород овец на основании ISSR- анализа / Л. В. Нестерук, Н. Н. Макарова, А. Н. Евсюков, Г. Р. Свищева и др. // Генетика. – 2016. – № 3. – С. 1-11.

11. Стрекозов Н. И. Белковый состав молока и биохимический полиморфизм его фракций / Н. И. Стрекозов, Н. В. Сивкин, Б. С. Иолчиев // Вестник Россельхозакадемии. – 1996. – № 1. – С. 52–53.

12. Эрнст Л. К., Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Аль-Кейси Т.В., Луцихина Е.М., Даваахуу Л., Горелов П.В., Жунушов А.Т. Сравнительный анализ пород крупного рогатого скота *Bos Taurus* и домашнего яка *Bos (Poephagus) grunniens* по микросателлитам/ Л.К. Эрнст и др. // Зоотехния. – 2009. – № 8. – С. 5-6.

13. Barzehkar R., Salehi A., Mahjoubi F. Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds/ Barzehkar R., Salehi A., Mahjoubi F. // IRANIAN Journal of Biotechnology. 2009. V. 7. № 4.

14. Bauer M., Vasicek D., Vasickova K., Huba J., Leskova L., Bolecek P. Detection of DGAT-1 gene polymorphism in Holstein and Slovak spotted cattle breeds using a microchip electrophoresis/ M Bauer et al // Slovak J. Anim. Sci. 2011. V. 44. № 3. P. 85-89.

15. Bolormaa S., K. Gore, J.H.J. Werf, B.J. Hayes, Daetwyler H.D. Design of a low-density SNP chip for the main Australian sheep breeds and its effect on imputation and genomic prediction accuracy/ S .K.Bolormaa et al // Animal Genetics. 2015. V. 46. № 5. P. 544-556.

16. Chu M.X., Wang X.C., Jin M., Di R., Chen H.Q., Zhu G.Q., Fang L., Ma Y.H., Li K. DNA polymorphism of 5' flanking region of prolactin gene and its association with litter size in sheep/ M.X. Chu. et al // J. Anim. Breed. Genet. 2009. № 129. P. 63-68.

17. Chu M.X., Guo X.H., Feng C.J., Li Y., Huang D.W., Feng T., Cao G.L., Fang L., Di R., Tang Q.Q., Ma Y.H., Li K. Polymorphism of 5' regulatory region of ovine FSHR gene and its association with litter size in Small Tail Han sheep/ M.X. Chu. et al // Mol. Biol. Rep. 2012. № 39. P. 3721-3725.

18. Cory A.T., Price C.A., Lefebvre R., Palin M.F. Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine follicle-stimulating hormone receptor and effects of genotypes on superovulatory response traits/ A.T. Cory et al // Anim. Genet. 2013. V. 44. № 2. P. 197-201.

19. Davis G.H., Balakrishnan L., Ross I.K., Wilson T., Galloway S.M., Lumsden B.M., Hanrahan J.P., Mullen M., Maoe X.Z., Wang G.L., Zhaoe Z.S., Zenge Y.Q., Robinson J.J., Mavrogenis A.P., Papachristoforou C., Peter C., Baumung R., Cardyn P., Boujenane I., Cockett N.E., Eythorsdottir E., Arranz J.J., Notter D.R. Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries/ G.H. Davis et al // *Animal Reproduction Science*. 2006. № 92. P. 87-96.

20. Dominik S., Henshall J.M., Hayes B.J. A single nucleotide polymorphism on chromosome 10 is highly predictive for the polled phenotype in Australian Merino sheep/ S.Dominik et al // *Animal Genetics*. 2012. V. 43. № 4. P. 468-470

21. Drogemuller C, Hamann H, Distl O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines/ C. Drogemuller et al // *Journal of Animal Science*. 2001. 79 (10). P. 2565-2570.

22. Galloway S.M., McNatty K.P., Cambridge L.M., Laitinen M.P.E., Juengel J.L., Jokiranta T.S., McLaren R.J., Luiro K., Dodds K.G., Montgomery G.W., Beattie A.E., Davis G.H., Ritvos O. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner/ S.M. Galloway et al // *Nat. Genet*. 2000. № 25. P. 279-283.

23. Hanrahan J.P., Gregan S.M., Mulsant P., Mullen M., Davis G.H., Powell R., Galloway S. Mutations in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*)/ J.P. Hanrahan et al // *Biol. Reprod*. 2004. № 70. P. 900-909.

24. Kale D.S., Yadav B.R., Anupama Mukherjee, Jagdish Prasad Exploring DNA Polymorphisms of Leptin Gene within Indian Water Buffaloes/ D.S. Kale et al // *Journal of Advanced Veterinary Research*. 2013. V. 3. P. 20-26.

25. Liu J., Li Zhang, Lingyang Xu, Hangxing Ren, Jian Lu, Xiaoning Zhang, Shifang Zhang, Xinlei Zhou, Caihong Wei, Fuping Zhao, Lixin Du Analysis of copy number variations in the sheep genome using 50K SNP BeadChip array/ J. Liu et al // *BMC Genomics*. 2013. № 14. P. 229 // <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/229>

26. Ma R. N., C. J. Deng, X. M. Zhang, X. P. Yue, X. Y. Lan, H. Chen, C. Z. Lei. A novel SNP OF α -lactalbumin gene in chinese dairy goats / Ma R. N. et al, // *Молекулярная биология*. 2010. V. 44. № 4. С. 608-612.

27. Mihailov N.V., Getmantseva L.V., Bakoev S.U., Usatov A.V. Associations between PRLR/Alu gene polymorphism with reproductive, growth and meat traits in pigs/ Mihailov N.V., Getmantseva L.V., Bakoev S.U., Usatov A.V. *Cytology and Genetics*. 2014. T. 48. № 5. С. 323-326.

28. Mulsant P., Lecerf F., Fabre S., Schibler L., Monget P., Laneluc I., Pisselet C., Riquet J., Monniaux D., Callebaut I., Cribiu E., Thimonier J., Teyssier J., Bodin L., Cognie Y., Elsen J.M. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes/ P. Mulsant et al // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2001. № 98. P. 5104-5109.

29. Orford M., Hadjipavlou G., Tzamaloukas O., Chatziplis D., Koumas A., Mavrogenis A., Papachristoforou C., Miltiadou D. A single nucleotide polymorphism in the acetyl-coenzyme A acyltransferase 2 (ACAA2) gene is associated with milk yield in Chios sheep/ M. Orford et al // *J. Dairy. Sci*. 2012. V. 95. P. 3419-3427.

30. Ozmen O., Seker I., Kul B.C., Ertugrul O. Haplotype variation of estrogen receptor- α (ER- α) gene exon 4 in Turkish sheep breeds/ O Ozmen.et all // Генетика. 2012. Т. 48. №10. С. 1185-1189.

31. Piper L.R., Bindon B.M. The Booroola Merino and the performance of medium non-peppin crosses at Armidale /L.R. Piper et all // The Booroola Merino, Proceedings of a workshop, Armidale, CSIRO. 1982. P. 161-173.

32. Ramos A.M., Matos C.A.P., Russo-Almeida P.A., Bettencourt C.M.V., Matos J., Martins A., Pinheiro C., Rangel-Figueiredo T. Candidate genes for milk production traits in Portuguese dairy sheep/ A.M. Ramos et all // , Small Ruminant Res. 2009. V. 82. P. 117-121.

33. Saiki R.K., Gelfand D.H., Stoffel S. et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA Polymerase/. R.K. Saikiet all. // Science. 1988. V. 239. № 4839. P. 487-491.

34. Staiger E.A., Thonney M.L., Buchanan J.W., Rogers E.R., Oltenacu P.A., Mateescu R.G. Effect of prolactin, β -lactoglobulin, and κ -casein genotype on milk yield in East Friesian shee/ E.A Staiger et all// J. Dairy. Sci. 2010. V. 93. P. 1736-1742.

35. Sutiknoa, M. Yaminc , & C. Sumantric Association of Polymorphisms CalpastatinGene with Body Weight of Local Sheep in Jonggol, Indonesia Media Peternakan, April 2011,p.. 1-6

36. Szkudlarek-KowalczykM., WiśniewskaE., MroczkowskiS. Polymorphisms of calpastatin gene in sheep./ Szkudlarek-KowalczykM., WiśniewskaE., MroczkowskiS. //Journal of Central European Agriculture, 2011, 12(3), p.425-432

37. Xiao-Dan B., Ming-Xing C., Hai-Guo J., Li F., Su-Cheng Y. Estrogen receptor as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep/ B. Xiao-Dan et all // Acta Genetica Sinica. 2005. V. 32. P. 1060-1065.

38. Wang X., Wang A., Fu J., Lin H. Effects of ESR1, FSHB and RBP4 genes on litter size in a Large White and a Landrace herd / X. Wang et all // Archiv fur Tierzucht. 2006. V. 49. № 1. P. 64-70.

39. Wilson T., Wu, Xi-Yang, Juengel J.L., Ross I.K., Lumsden J.M., Lord E.A., Dodds K.G., Walling G.A., McEwan J.C., O'Connell A.R., McNatty K.P., Montgomery, G.W. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells/ Wilson T. et all // Biol. Reprod. 2001. № 64. P. 1225-1235.