

Г. Н. Сердюк

## Полиморфизм гена-рецептора меланокортина *MC4R* у свиней различных пород

**Аннотация.** Одним из перспективных генов — кандидатов, определяющих уровень развития продуктивных признаков свиней, является ген рецептора меланокортина — 4 (*MC4R*). *MC4R* является классическим рецептором  $\alpha$ -меланоцитстимулирующего гормона ( $\alpha$ -MCH) и принимает непосредственное участие в метаболизме жировой ткани. В некоторых популяциях свиней однонуклеотидный полиморфизм этого гена достоверно связан с откормочными и мясными качествами, в частности с толщиной спинного сала. В работе представлены результаты исследования полиморфизма гена-рецептора меланокортина — *MC4R* у чистопородных свиней двух пород — ландрас и йоркшир датской селекции. Выявлен значительно различающийся полиморфизм по данному гену между двумя породами. У свиней породы ландрас преобладает аллель А в форме гомозиготы АА, у свиней породы йоркшир также преобладает аллель А, но в гетерозиготном состоянии (AG). Что касается другого аллеля G, то частота его у ландрасов незначительная (0,185) и встречается данный аллель в основном в форме гетерозигот AG (37,23%). У свиней породы йоркшир аллель G, который связывают с меньшей толщиной подкожного сала, встречается значительно чаще, чем у ландрасов (0,395 против 0,185). Число гомозигот GG у йоркширов на порядок выше, чем у ландрасов (16,6% против 2,12%). Сделан вывод, что более высокая частота аллеля G гена *MC4R* в популяции свиней йоркширской породы, по сравнению с животными породы ландрас, связана, видимо, с гетерогенным происхождением йоркширских свиней или указывает на слабое вовлечение полиморфизма гена *MC4R* в искусственный отбор.

**Ключевые слова:** свиньи, полиморфизм, ген, рецептор, меланокортин, *MC4R*, аллель, генотип.

**Автор:**

**Сердюк Григорий Николаевич** — главный научный сотрудник лаборатории, доктор биологических наук, профессор; Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», 196601, Россия, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, 55а; e-mail: labimngen@mail.ru.

**Введение.** Изучение структурной и функциональной изменчивости животных на основе использования ДНК-маркеров локусов количественных признаков имеет большое значение для оценки аллельного биоразнообразия и идентификации ценных генотипов для внедрения в селекционный процесс. Для маркерной селекции необходимым условием является выяснение связи определенных полиморфизмов гена с проявлением признаков в конкретной популяции. Существует ряд генов, которые принимают непосредственное участие в формировании откормочных и мясных качеств свиней. Один из них — это ген рецептора меланокортина — 4 (*MC4R*) [1]. *MC4R* является классическим рецептором  $\alpha$ -меланоцитстимулирующего гормона ( $\alpha$ -MCH), который принадлежит к АКГГ/МСГ — подобным пептидам, которые имеют общее название меланокортины. *MC4R* относится к группе меланокортиновых рецепторов, которая включает ещё четыре рецептора: *MC1R*, *MC2R*, *MC3R* и *MC5R*. Все они кодируются разными генами и выполняют различные функции.

Меланокортиновые рецепторы принадлежат к семье рецепторов, связанных с G-белками, и представляют собой семидоменные трансмембранные белки. Ген *MC4R* экспрессируется в разных участках ЦНС, в частности, в таламусе, гипоталамусе, стволе и коре головного мозга, а также участках спинного мозга. Экспрессия *MC4R* в этих структурах нервной системы свидетельствует об их возможном участии в регуляции вегетативных и нейроэндокринных функций [2].

Рецептор меланокортина *MC4R* является одним из звеньев сложной системы пищевого поведения. Меланокортин действует на центры голода и насыщения через рецептор *MC4R*. Мутации в гене рецептора *MC4R* нарушают их экспрессию, создают дефицит кодируемых белков, увеличивают потребление пищи и вызывают тяжёлое ожирение. Более легкие нарушения развиваются у носителей мутации в гене *MC4R* в гетерозиготном состоянии. Ожирения, вызванные мутациями в *MC4R*, обычно не сопровождаются изменениями других физиологических функций [3, 4].

Ген *MC4R* расположен на хромосоме 1 свиньи в участке (SSC1) q22-q27 [5]. Выявлено 2 аллеля: G (298Asp) и A (298Asn) гена рецептора меланокортина *MC4R*. Миссенс-мутация аллеля A (Asn298) в *MC4R* ассоциируется с упитанностью, ростом мышц и повышенным употреблением корма [5, 6, 7, 8]. Исследования других авторов [9, 10, 11] показали позитивную корреляцию между аллельными состояниями гена *MC4R* и толщиной спинного сала у различных пород свиней. Аллель G чаще встречался у животных с постным мясом, тогда как аллель A — у более осаленных. Однако, в некоторых исследованиях [10, 11, 12, 13] не обнаружено чёткой корреляции между G и A аллелей гена *MC4R* и отложением сала у свиней.

**Материал и методы исследований.** Объектом исследования были выбраны свиньи двух пород: ландрас (94 гол.) и йоркшир (114 гол.) из генофонда ОАО «РусБелго» Ленинградской области. Была подобрана пара праймеров для синтеза нужного участка (табл. 1).

Искомая однонуклеотидная замена определялась с помощью фермента TaqI (температура инкубации 65°C). Для определения результатов электрофореза был использован маркер GeneRuler Ultra Low (300, 200, 150, 100, 75, 50 bp).

Число и длину полученных фрагментов рестрикции определяли электрофорезом в 2,5% агарозном геле в буфере TBE при УФ-свете после окрашивания бромистым этидием.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам, изложенным Е. К. Меркурьевой и др. Достоверность различий определяли по критерию Стьюдента.

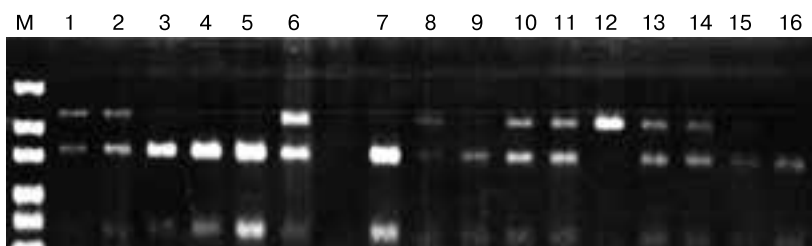
**Результаты исследований и их обсуждение.**

При изучении полиморфизма гена меланокортина *MC4R* у свиней двух пород было выявлено три генотипа: аллель A с фрагментами 156 и 70bp (T↓CGA), аллель G без сайта рестрикции (220 bp) и гетерозигота AG, включающая все три фрагмента (фото 1).

В таблице 2 представлены результаты изучения полиморфизма гена меланокортина *MC4R* у свиней исследованных пород.

Данные частот встречаемости аллелей гена *MC4R* у исследованного поголовья свиней показатели значительно различающийся полиморфизм между двумя породами: у породы ландрас преобладает аллель A в форме гомозиготы AA (61,7%), частота другого аллеля G незначительная (0,185) и представлена в основном в форме гетерозиготы AG (37,23%). И только 2 животных имеют гомозиготный генотип GG (2,12%).

У свиней породы йоркшир также преобладает аллель A (0,605), но в основном в виде гетерозигот AG (45,61%). Что касается аллеля G, то у йоркширов данный аллель встречается значительно чаще, чем у ландрасов (0,395 против 0,185). Число гомозигот GG у них на порядок выше, чем у ландрасов (16,6% против 2,12%).



**Фото. 1.** Электрофореграмма фрагментов рестрикции гена *MC4R*.

Позиции 3–5,7 — аллель A (156+70bp), позиция 12 — аллель G (226bp), позиции 1, 2, 6, 8, 10, 11, 13–16 — гетерозигота — AG

**Таблица 1.** Последовательность праймеров для амплификации гена *MC4R*

Праймер	5'-3'	ПЦР-продукт
Прямой	-TAC-CCT-GAC-CAT-CTT-GAT-TG-	226bp
Обратный	-ATA-GCA-ACA-GAT-GAT-CTC-TTT-G-	

**Таблица 2.** Полиморфизм гена меланокортина *MC4R* у свиней пород ландрас и йоркшир

Порода	Генотипы						Аллели	
	AA		AG		GG		A	G
	n	%	n	%	n	%		
Ландрас	58	61,7*	29	37,23	2	2,12	0,814	0,185
Йоркшир	43	37,7*	52	45,61	19	16,6	0,605	0,395

\*p<0,05

**Заключение.** У двух исследуемых пород свиней выявлено 2 аллеля гена-рецептора меланокортина (*MC4R*) — А и G, и 3 генотипа (AA, AG и GG). Установлен значительно различающийся полиморфизм между двумя породами: у породы ландрас преобладает аллель А в форме гомозиготы AA, частота другого аллеля G незначительна (0,185) и представлена в основном в форме гетерозиготы AG. У свиней породы йоркшир аллель G встречается значительно чаще, наблюдается высокий уровень гетерозиготности. Число гомозигот GG на порядок выше, чем у ландрасов (16,6% против 2,12%), соответственно и частота аллеля G у них более чем в 2 раза выше (0,395 против 0,185).

- Наблюдаемая в популяции свиней йоркширской породы довольно высокая частота аллеля G гена *MC4R*, ассоциированного с более постным мясом, связана, возможно, с гетерогенным происхождением йоркширских свиней или указывает на слабое вовлечение полиморфизма гена *MC4R* в искусственный отбор.
- Поскольку ген-рецептор меланокортина *MC4R* обладает большой межпородной вариативностью и значительным влиянием на продуктивные качества, его можно использовать как эффективный маркер для контроля весовых и ростовых признаков свиней.

*Исследования проведены в рамках выполнения задания Федерального агентства научных организаций (ФАНО) № АААА-А18-118021590138-1 в 2018 году*

### Литература

1. Kim K. S. Association of melanocortin 4 receptor (*MC4R*) and high mobility group AT-hook 1 (HMGA1) polymorphisms with pig growth and fat deposition traits / K. S. Kim, J. J. Lee, H. Y. Shin, B. H. Choi, C. K. Lee, J. J. Kim, B. W. Cho and T. H. Kim // *Animal Genetics*. — 2006. — № 37. — P. 419–421.
2. Gantz I. Molecular cloning, expression and gene localization of a fourth melanocortin receptor / I. Gantz, H. Miwa, Y. Konda, Y. Shimoto, T. Tashiro, S.J. Watson, J. DelValle, T. Yamada // *J. Biol. Chem.* — 1993. — № 20. — P. 15174–15179.
3. Lubrano-Berthelie C. Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated *MC4R* mutations / C. Lubrano-Berthelie, E. Durand, B. Dubern et al. // *Hum. Mol. Genet.* — 2003. — № 12. — P. 145–153.
4. Farooqi I. S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene / I. S. Farooqi, J. M. Keogh, G. S. Veo et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2003. — № 348. — P. 1085–1095.
5. Kim K. S. A missense variant of porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits / K. S. Kim, N. Larsen, T. Short, G. Plastow, M. F. Rothschild // *Mammalian Genome*. — 2000. — № 11. — P. 131–135.
6. Andersson L. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs / L. Andersson, C. S. Haley, H. Ellegren et al. // *Science*. — 1994. — № 263. — P. 1771–1774.
7. Jeon J. T. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus / J. T. Jeon, O. Carlborg, A. Tornsten et al. // *Nature Genetics*. — 1999. — № 21. — P. 157–158.
8. Костюнина О. В. Полиморфизм гена-рецептора меланокортина *MC4R* и его влияние на мясные и откормочные качества свиней / О. В. Костюнина, Н. А. Зиновьева, Е. И. Сизарева и др. // *Достижения науки и техники АПК*. — 2012. — № 8. — С. 49–51.
9. Houston R. D. A melanocortin-4 receptor (*MC4R*) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations / R. D. Houston, N. D. Cameron, K. A. Rance // *Anim. Genet.* — 2004. — № 35. — P. 386–390.
10. Kim K. S. A missense variant of the porcine melanocortin 4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits / K.S. Kim., N. Larsen, T. Short, G. Plastow, M. F. Rothschild // *Mammalian Genome*. — 2000. — № 11. — P. 131–135.
11. Bard C. R. The role of melanocortin — 3 and -4 receptor in regulating appetite, energy homeostasis and neuroendocrine function in the pig / C. R. Bard, A. S. Robertson, J. B. Barrett, R. R. Kraeling, K. L. Houseknecht // *J. Endocrinol.* — 2004. — № 181. — P. 39–52.
12. Bruun C. S. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (*MC4R*) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire / C. S. Bruun, C. B. Jorgensen, V. H. Nielsen, L. Andersson, M. Fredholm // *Anim. Genet.* — 2006. — № 37. — P. 359–362.

13. Park, H.B. Melanocortin-4 receptor (*MC4R*) genotypes have no major effect on fatness in a large white × wild boar intercross / H. B. Park, O. Carborg, S. Marklund, L. Andersson // *Animal genetics*. — 2002. — № 33. — P. 155–157.
14. Huszar D. Targeted disruption of the melanocortin 4 receptor results in obesity in mice / D. Huszar, C. A. Lynch, V. Fairchild-Huntress et al. // *Cell*. — 1997. — № 88. — P. 131–141.
15. Farooqi I. S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene / I. S. Farooqi, J. M. Keogh, G. S. Yeo, E. J. Lank, T. Cheetham, O'Rahilly S. // *New Engl. J. Med.* — 2003. — № 348. — P. 1085–1095.

---

Serdyuk G.

## Polymorphism of the *MC4R* melanocortin receptor gene in pigs of various breeds

**Abstract.** *One of the promising candidate genes determining the level of development of productive traits of pigs is the melanocortin — 4 receptor gene (MC4R). MC4R is a classic  $\alpha$ -melanocytic hormone receptor ( $\alpha$ -MCH) and takes a direct part in the metabolism of adipose tissue. In some swine populations, the single-nucleotide polymorphism of this gene is significantly associated with feed and meat qualities, in particular, with the thickness of spinal fat. The paper presents the results of a study of the gene polymorphism of melanocortin-MC4R receptor in purebred pigs of two breeds-Landras and Yorkshire of Danish selection. A significantly different polymorphism in this gene between the two rocks was revealed. In pigs of the Landras breed allele *a* prevails in the form of homozygous AA, in pigs of the Yorkshire breed allele *a* also prevails, but in the heterozygous state (AG). As for the other G allele, the frequency of Landrace minor (0,185) and this allele is found mostly in the form of heterozygotes AG (37,23%). Pigs of the Yorkshire breed, the G allele, which is associated with lower thickness of subcutaneous fat, occurs much more frequently than in Landrace (0,395 against 0,185). The number of homozygous GG at Yorkshire much higher than that of Landrace (16,6% vs 2,12%). It is concluded that the higher frequency of allele of the MC4R gene in the Yorkshire hog population, compared to landrace animals, is connected, apparently, with heterogeneous origin of Yorkshire hogs or indicates a weak involvement of polymorphism of the MC4R gene in artificial selection.*

**Key words:** pigs, polymorphism, melanocortin receptor gene MC4R, allele, genotype.

*Author:*

**Serdyuk G.** — Chief Scientific Officer, Dr. Habil. (Biol. Sci.), Professor; Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L. K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, 196601, St. Petersburg, p.Tjarlevo, Moskovskoe shosse, 55a; e-mail: labimmgen@mail.ru.

### References

1. Kim K. S. Association of melanocortin 4 receptor (*MC4R*) and high mobility group AT-hook 1 (HMGA1) polymorphisms with pig growth and fat deposition traits / K. S. Kim, J. J. Lee, H. Y. Shin, B. H. Choi, C. K. Lee, J. J. Kim, B. W. Cho and T. H. Kim // *Animal Genetics*. — 2006. — № 37. — P. 419–421.
2. Gantz I. Molecular cloning, expression and gene localization of a fourth melanocortin receptor / I. Gantz, H. Miwa, Y. Konda, Y. Shimoto, T. Tashiro, S.J. Watson, J. DelValle, T. Yamada // *J. Biol. Chem.* — 1993. — № 20. — P. 15174–15179.
3. Lubrano-Berthelie C. Intracellular retention is a common characteristic of childhood obesity-associated *MC4R* mutations / C. Lubrano-Berthelie, E. Durand, B. Dubern et al. // *Hum. Mol. Genet.* — 2003. — № 12. — P. 145–153.

4. Farooqi I. S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene / I. S. Farooqi, J. M. Keogh, G. S. Veo et al. // N. Engl. J. Med. — 2003. — № 348. — P. 1085–1095.
5. Kim K. S. A missense variant of porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits / K. S. Kim, N. Larsen, T. Short, G. Plastow, M. F. Rothschild // Mammalian Genome. — 2000. — № 11. — P. 131–135.
6. Andersson L. Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs / L. Andersson, C. S. Haley, H. Ellegren et al. // Science. — 1994. — № 263. — P. 1771–1774.
7. Jeon J. T. A paternally expressed QTL affecting skeletal and cardiac muscle mass in pigs maps to the IGF2 locus / J. T. Jeon, O. Carlborg, A. Tornsten et al. // Nature Genetics. — 1999. — № 21. — P. 157–158.
8. Kostyunina O. V. Polymorphism of the melanocortin *MC4R* gene-receptor and its effect on the meat and fattening qualities of pigs / O. V. Kostyunina, N. A. Zinovyeva, E. I. Sizareva, etc. // Achievements of science and technology of the AIC. — 2012. — № 8. — P. 49–51.
9. Houston R. D. A melanocortin-4 receptor (*MC4R*) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations / R. D. Houston, N. D. Cameron, K. A. Rance // Anim. Genet. — 2004. — № 35. — P. 386–390.
10. Kim K. S. A missense variant of the porcine melanocortin 4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits / K.S. Kim., N. Larsen, T. Short, G. Plastow, M. F. Rothschild // Mammalian Genome. — 2000. — № 11. — P. 131–135.
11. Bard C. R. The role of melanocortin – 3 and -4 receptor in regulating appetite, energy homeostasis and neuroendocrine function in the pig / C. R. Bard, A. S. Robertson, J. B. Barrett, R. R. Kraeling, K. L. Houseknecht // J. Endocrinol. — 2004. — № 181. — P. 39–52.
12. Bruun C. S. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (*MC4R*) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire / C. S. Bruun, C. B. Jorgensen, V. H. Nielsen, L. Andersson, M. Fredholm // Anim. Genet. — 2006. — № 37. — P. 359–362.
13. Park, H.B. Melanocortin-4 receptor (*MC4R*) genotypes have no major effect on fatness in a large white × wild boar intercross / H. B. Park, O. Carborg, S. Marklund, L. Andersson // Animal genetics. — 2002. — № 33. — P. 155–157.
14. Huszar D. Targeted disruption of the melanocortin 4 receptor results in obesity in mice / D. Huszar, C. A. Lynch, V. Fairchild-Huntress et al. // Cell. — 1997. — № 88. — P. 131–141.
15. Farooqi I. S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene / I. S. Farooqi, J. M. Keogh, G. S. Yeo, E. J. Lank, T. Cheetham, O’Rahilly S. // New Engl. J. Med. — 2003. — № 348. — P. 1085–1095.