

А. А. Крутикова, Н. В. Дементьева, О. В. Митрофанова

Перспективные гены для улучшения показателей мясной продуктивности в оленеводстве

(обзор)

Аннотация. *Повышение мясной продуктивности северных оленей — важная задача животноводства регионов Крайнего Севера. В обзоре представлены некоторые гены-кандидаты, которые могут быть использованы в качестве молекулярно-генетических маркеров продуктивных качеств северных оленей. Панель из таких маркерных генов поможет эффективнее использовать генетический потенциал животных, существенно сократить временные затраты на селекционный процесс и в сжатые сроки увеличить показатели мясной продуктивности в оленеводстве. Кроме того, полиморфизм, выявленный в генах, влияющих на формирование продуктивных качеств животных, может стать базисом для разработки и внедрения геномной селекции северных оленей.*

Ключевые слова: генетический полиморфизм; одиночный нуклеотидный полиморфизм (SNP); гены-кандидаты; мясная продуктивность; миостатин; гормон роста; кальпаstatин; кальпаин; стеароил-КоА-дегидрогеназа; северный олень

Авторы:

Крутикова Анна Алексеевна — научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург, пос. Тярлево, Московское шоссе, 55 а, e-mail: anntim2575@mail.ru;

Дементьева Наталия Викторовна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург, пос. Тярлево, Московское шоссе, 55 а, +7 (921) 743-07-43, e-mail: dementevan@mail.ru;

Митрофанова Ольга Викторовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики ФГБНУ ВНИИГРЖ, Санкт-Петербург, пос. Тярлево, Московское шоссе, 55 а, e-mail: mo1969@mail.ru.

Современные тенденции активного освоения территорий Крайнего Севера диктуют необходимость обеспечения увеличивающегося населения полноценными продуктами питания, по возможности, местного производства. Традиционно основной отраслью сельского хозяйства северных территорий является оленеводство, которое не только обеспечивает полноценным диетическим мясом коренное население, но и является единственно возможным средством его выживания, его культурой. В постсоветский период количество домашнего северного оленя резко сократилось, селекция практически не велась, в результате чего основные показатели продуктивности — выход мяса и уровень воспроизводства — стали снижаться. Решить эту проблему и повысить производительность оленеводства позволит применение современных ДНК-технологий.

Одно из перспективных направлений для улучшения основных продуктивных показателей домашних северных оленей является маркер-вспомогательная селекция (MAS), основанная на использовании генетического полиморфизма в качестве молекулярно-генетических маркеров хозяйственно полезных признаков. Полиморфные гены —

это гены, имеющие несколько форм (аллелей), представленных в популяции. Генетический полиморфизм является основой внутривидового разнообразия признаков. В роли маркеров могут выступать различные варианты генетического полиморфизма, приводящие к изменению структуры и функциональной активности белков, участвующих в формировании мышечной массы животного на разных этапах его развития, а так же последовательности ДНК, не влияющие на формирование признака, но сцеплены наследующиеся с генами, отвечающими за проявление того или иного признака. Основными генетическими маркерами являются SNP (одиночный нуклеотидный полиморфизм), indel-полиморфизм (инсерции — делеции как одиночных нуклеотидов, так и достаточно протяженных участков гена), дубликации, микросателлитные последовательности ДНК (Дейкин и др., 2016). Наиболее перспективными среди всех перечисленных маркерных вариантов, на данный момент, являются SNP. Это обусловлено высокой частотой встречаемости SNP по сравнению, например, с indel-полиморфизмом, его умеренной вариабельностью по сравнению с микросателлитными последовательностями, распространенностью

по всему геному и низкая частота мутаций (примерно 10^{-8} на поколение). Благодаря этим качествам, SNP, в отличие от других вариантов генетического полиморфизма, обеспечивают высокую плотность маркеров и удобство популяционно-генетического анализа. Кроме того, для детекции SNP можно использовать автоматизированные методы, такие как ДНК-чипы, позволяющие одновременно выявлять несколько сотен тысяч SNP, что существенно ускоряет процесс.

В настоящее время в молекулярной генетике достигнуты определенные успехи по выявлению связи генетических маркеров с продуктивными качествами основных видов сельскохозяйственных животных: КРС, свиней, овец, кур. Сложнее дело обстоит в оленеводстве, так как геном северного оленя полностью не секвенирован и малоизучен.

В качестве перспективных для оленеводства генов-кандидатов могут выступать гены, физиологическая роль которых в процессе формирования мышечной массы животных уже изучена. Кроме того, выявлена достоверная связь полиморфизма в изучаемых генах-кандидатах с продуктивностью основных видов сельскохозяйственных животных. Генов, задействованных в процессах роста и развития мышечной ткани на разных этапах развития организма, насчитывается несколько сотен. Только в метаболизме липидов и его регуляции задействовано более ста генов (Колчанов и др., 2006). В настоящее время большинство работ, изучающих связь молекулярно-генетических маркеров с мясной продуктивностью основных видов сельскохозяйственных животных, посвящено таким генам как миостатин (MSTN), гормон роста (GH), кальпаstatин (CAST), кальпаин (CAPN) и стеарил-КоА-десатураза (SCD). Причем полиморфизм в двух последних генах связан с показателями качества мяса. Это обусловлено тем, что белки, кодируемые этими генами, являются катализаторами процессов жирового обмена, что, в свою очередь, влияет на нежность и вкусовые качества мяса.

Ген миостатина (MSTN), на данный момент, является самым популярным среди исследователей мясной продуктивности животных. Опубликовано большое количество работ, посвященных изучению структуры, функциональных особенностей, механизмов биологической активности (Lee et al., 2001), а так же вариантам полиморфизма гена миостатина. Миостатин относится к семейству трансформирующих факторов роста (TGF β), является отрицательным регулятором, то есть за-

медляет рост и развитие мышечных тканей у вышших позвоночных на определенном этапе онтогенеза. Он ингибирует активацию клеток-сателлитов, стимулирующих постнатальный рост мышечной массы (McCroskery et al., 2003). Было обнаружено, что миостатин подавляет процесс синтеза белков мышечной ткани, сократительных в том числе, что приводит к значительному замедлению формирования и развития скелетной мускулатуры. Таким образом, миостатин является специфичным физиологическим регулятором роста мышечной ткани (Kocamis et al., 2002), а так же фактором регулирования и поддержания равновесия биохимических процессов биосинтеза и обмена белков и связанных с этим процессов роста и развития скелетной мускулатуры (Glass, 2003).

В исследованиях, направленных на изучение полиморфизма в гене миостатина и его связи с мясной продуктивностью домашних животных, показано, что нуклеотидные замены в кодирующих участках гена (экзонах и регуляторных областях), приводящие к изменению аминокислотной последовательности в белке миостатина и, соответственно, к снижению его функциональной активности приводят к увеличению роста мышечной массы животного, а, следовательно, и повышению показателей мясной продуктивности (Grobet et al., 1998; Митрофанова и др., 2016). Можно предположить, что детальное изучение гена миостатина у северных оленей методом секвенирования позволит выявить варианты генетического полиморфизма и их связь с повышенной живой массой и у этого вида животных.

Ген гормона роста (GH) или соматотропина является одним из основных генов-кандидатов на роль маркерного гена мясной продуктивности, поскольку непосредственно участвует в формировании и развитии организма млекопитающих. Гормон роста — это анаболический гормон, стимулирующий синтез белка в организме и ингибирующий его распад, что положительно влияет на формирование мышечной массы. Кроме того, гормон роста регулирует обмен углеводов, способствует снижению подкожных жировых отложений, что повышает соотношение мышечной ткани по отношению к жировой. Были проведены исследования, направленные на выявление влияния различных вариантов полиморфизма в гене гормона роста на показатели живой массы у основных видов сельскохозяйственных животных. В результате было обнаружено, что мутации в гене гормона роста приводят к изменению показателей мясной продуктивности у животных (Thidar

M. et al., 2008). Так, например, один из вариантов генетического полиморфизма гена гормона роста, ведущий к изменению аминокислотного состава, связан со значительным увеличением живой массы крупного рогатого скота породы Сапс-хим (Pereira et al., 2005).

Исследования участка гена гормона роста были проведены и на северных оленях. В результате секвенирования фрагмента размером 422 пары оснований, включающего в себя 2 и 3 экзона гена гормона роста, было выявлено два SNP (G140A и A253G), которые могут быть перспективными в качестве генетических маркеров показателей мясной продуктивности у северных оленей (Крутикова и др., 2016).

Кальпаstatин (CAST) — специфический ингибитор кальций зависимых протеолитических ферментов, контролирует всю ферментную систему организма. Больше оказывает воздействие на качественные показатели мясной продуктивности, чем на количественные. Уровень кальпа-статина в мышечной ткани влияет на выраженность мягкости мяса, на нежность его текстуры (Tait et al., 2014). Однако, есть научные работы, показывающие, что определенные варианты полиморфизма в этом гене влияют на увеличение скорости набора живой массы у овец (Palmer et al., 1999). Этот ген может быть весьма перспективным и для оленеводства.

Кальпаин (CAPN) — один из белков семейства кальпаинов, представляющий собой систему из целого комплекса протеолитических и цитолитических белков, в том числе и кальций зависимую протеазу, оказывающую существенное влияние на рост мышечной ткани и качество мяса (Sazili et al., 2004). Были попытки выявить влияние кальпаина на увеличение показателей живой массы животных, однако, достоверных данных не обнаружено. Кальпаин и кальпаstatин образуют систему, контролирующую ферментные процессы в мышечных тканях, поэтому могут быть исследованы с целью выявления генетического полиморфизма, оказывающего влияние на рост и развитие мышечной системы северных оленей.

Ген SCD, кодирующий фермент стеароил-КоА-десатуразу, также может оказаться весьма перспективным как молекулярно-генетический маркер показателей не только живой массы у северных оленей, но и качества мяса, при условии наличия в нем вариантов полиморфизма. Фермент стеароил-КоА-десатураза является важным фактором метаболизма липидов в организме животного. При недостатке этого фермента в организме

у животных наблюдали снижение содержание жира в тканях, ускорение обмена веществ, как следствие — метаболическое истощение, нарушение липидного барьера кожных покровов (Ntambi et al., 2002). Актуальность фермента стеароил-КоА-десатуразы именно для оленеводства подтверждается еще и тем фактором, что при его дефиците в организме животного происходит нарушение терморегуляции и устойчивости к пониженным температурам (Sampath et al., 2009). Есть работы, показывающие связь мутаций в гене стеароил-КоА-десатуразы с пониженным темпом роста у крупного рогатого скота.

В нашей лаборатории было просеквенирован небольшой фрагмент (163 п.о.) гена SCD северных оленей. Никаких вариантов генетического полиморфизма на этом участке гена северных оленей выявлено не было. Возможно это связано с высокой степенью консервативности гена, участвующего в жизненно важном для обитателей Крайнего Севера процессе терморегуляции. Мутации в этом гене могли нести негативные последствия для животных и поэтому выводились из популяции с помощью естественного отбора.

Однако количество просеквенированных образцов было небольшим ($n=10$), а сам фрагмент весьма коротким, поэтому полученные данные нельзя считать достоверными и необходимо продолжать исследования гена стеароил-КоА-десатуразы как перспективного.

Следует учитывать, что продуктивные признаки в процессе онтогенеза формируются в результате большого количества взаимосвязанных физиологических процессов, контролируемых целым комплексом генов. В настоящее время актуальны исследования, позволяющие учитывать суммарное влияние большого количества полиморфных генов на продуктивные признаки, а так же их взаимодействие между собой (Goddard, Hayes, 2007). Кроме того, действие генов не однозначно во времени. Одни экспрессируют на протяжении всего онтогенеза, другие включаются на определенной стадии развития и оказывают свое влияние ограниченное количество времени. В связи с этим необходимо исследовать и выявлять полиморфизм в целой панели генов-кандидатов и оценивать их комплексное влияние на продуктивные качества животных. Это позволит внедрить маркер-вспомогательную селекцию в практику оленеводства, что позволит существенно сократить во времени селекционный процесс и заметно повысить показатели мясной продуктивности северных оленей.

Литература

1. Дейкин А. В.. Генетические маркеры в мясном овцеводстве / А. В. Дейкин, М. И. Селионова, А. Ю. Криворучко, Д. В. Коваленко, В. И. Трухачев // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2016 — DOI 10.18699/VJ16.139
2. Колчанов Н. А. Генные сети липидного метаболизма / Н. А. Колчанов, М. И. Воевода, Т. Н. Кузнецова, В. А. Мордвинов, Е. В. Игнатьева // Бюллетень РАМН. — 2006. — № 2(120). — С. 29–42.
3. Крутикова А. А. Полиморфизм гена гормона роста северных оленей / А. А. Крутикова, Н. В. Дементьева, О. В. Митрофанова, В. В. Гончаров, М. В. Позовникова // Генетика и разведение животных. — 2016. — № 2. — С. 8–12.
4. Митрофанова О. В., Дементьева Н. В., Тыщенко В. И., Крутикова А. А. Связь аллельных вариантов генов пролактина, рецептора дофамина и миостатина с показателями живой массы у кур породы корниш. Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения: Сб. науч. тр. международной научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава. 2016. С. 224–227.
5. Goddard M. E. Genomic selection / M. E. Goddard, B. J. Hayes // J. Anim. Breed. Genet. Z. Für Tierz. Zücht. — 2007. 124(6):323–330.
6. Glass D. J. Signaling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy / D. J. Glass // Nature Cell Biology. — 2003. — № 5. — P. 87–90.
7. Grobet L. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double muscling in cattle / L. Grobet, D. Poncelet, L. J. Royo, B. Brouwers, D. Pirottin, C. Michaux, F. Ménéssier, M. Zanotti, S. Dunner, M. Georges // Mammalian Genome. — 1998. — V. 9. — № 3. — P. 210–213.
8. Kocamis H. Myostatin expression and possible functions in animal muscle growth / H. Kocamis, J. Killefer // Domestic Animal Endocrinology. — 2002. — № 23. — P. 447–454.
9. Lee S. J. Regulation of myostatin activity and muscle growth / S. J. Lee, A. C. McPherron // Proc Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — № 98. — P. 9306–9311.
10. McCroskery S. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal / S. McCroskery, M. Thomas, L. Maxwell, M. Sharma, R. Kambadur // J. Cell. Biol. — 2003. — V. 162. — № 6. — P. 1135–1147.
11. Palmer B. R., Morton J. D., Roberts N., Ilian M. A., Bickerstaffe R. Marker-assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 1999. 59:266–268
12. Pereira A.P., Alencar De., De M. M., Oliveira H.N., Regitano L.C. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed // Genetics Molecular Biology 2005. 28: 230-236
13. Sazili A., Lee G., Parr T., Sensky P., Bardsley R., Buttery P. The effect of altered growth rates on the calpain proteolytic system and meat tenderness in cattle. // Meat Sci. 2004. 66(1):195–201.
14. Tait R. G., Shackelford S. D., Wheeler T. L., King D. A., Keele J. W., Casas E., Smith T. P. L., Bennett G. L. CAPN1, CAST, and DGAT1 genetic effects on preweaning performance, carcass quality traits, and residual variance of tenderness in a beef cattle population selected for haplotype and allele equalization. // J. Anim. Sci. 2014. 92(12):5382–5393.
15. Thidar M., Yoshida H., Ito H. T., Inoue He M. H., Kuwayama H. Combined administration of ghrelin and GHRH synergistically stimulates GH release in Holstein pre-weaning calves // Domestic Animal Endocrine 2008. 34: 118–123.

Krutikova A., Dementieva N., Mitrofanova O.

Prospective genes for improving meat productivity indicators in reindeer

(review)

Abstract. *Increasing the meat productivity of reindeer — the most important task of livestock in North regions. The review presents some candidate genes that may be used as molecular genetic markers for productive qualities of reindeer. Panel of these marker genes will help make better use of genetic potential of animals, significantly reduce the time spent on the selection process and in the shortest possible time to increase the*

meat performance in reindeer herding. In addition, the polymorphism identified in genes that affect the formation of the productive qualities of animals, can become the basis for the development of genomic selection in reindeer breeding.

Keywords: genetic polymorphism; a single nucleotide polymorphism (SNP); candidate genes; meat productivity; myostatin; a growth hormone; calpastatin; calpain; stearoyl-CoA desaturase reindeer

Authors:

Krutikova A. — senior researcher of the Laboratory of Molecular Genetics, Russian research institute of farm animal genetics and breeding, St. Petersburg, Russia, Moscovskoe sh., 55-a, e-mail: anntim2575@mail.ru;

Dementieva N. — PhD (Biol. Sci.), leading researcher of the Laboratory of Molecular Genetics, Russian research institute of farm animal genetics and breeding, St. Petersburg, Russia, Moscovskoe sh., 55-a, e-mail: dementevan@mail.ru;

Mitrofanova O. — PhD (Biol. Sci.), senior researcher of the Laboratory of Molecular Genetics, Russian research institute of farm animal genetics and breeding, St. Petersburg, Russia, Moscovskoe sh., 55-a, e-mail: mo1969@mail.ru.

References

1. Dejkin A. V.. Geneticheskie markery v mjasnom ovcevodstve / A. V. Dejkin, M. I. Selionova, A. Ju. Kri-voruchko, D. V. Kovalenko, V. I. Truhachev // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. — 2016 — DOI 10.18699/VJ16.139
2. Kolchanov N. A. Gennye seti lipidnogo metabolizma / N. A. Kolchanov, M. I. Voevoda, T. N. Kuznecova, V. A. Mordvinov, E. V. Ignat'eva // Bjulleten' RAMN. — 2006. — № 2(120). — S. 29–42.
3. Krutikova A. A. Polimorfizm gena gormona rosta severnyh oleney / A. A. Krutikova, N. V. Dement'eva, O. V. Mitrofanova, V. V. Goncharov, M. V. Pozovnikova // Genetika i razvedenie zhivotnyh. — 2016. — № 2. — S. 8–12.
4. Mitrofanova O. V., Dement'eva N. V., Tyshhenko V. I., Krutikova A. A. Svjaz' allel'nyh variantov genov prolaktina, receptora dopamina i miostatina s pokazateljami zhivoj massy u kur породы kornish. Nauchnoe obespechenie razvitiya APK v usloviyah importozameshhenija: Sb. nauch. tr. mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii professorsko-prepodavatel'skogo sostava. 2016. S. 224–227.
5. Goddard M. E. Genomic selection / M. E. Goddard, B. J. Hayes // J. Anim. Breed. Genet. Z. Für Tierz. Zücht. — 2007. 124(6):323–330.
6. Glass D. J. Signaling pathways that mediate skeletal muscle hypertrophy and atrophy / D. J. Glass // Nature Cell Biology. — 2003. — № 5. — P. 87–90.
7. Grobet L. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double muscling in cattle / L. Grobet, D. Poncelet, L. J. Royo, B. Brouwers, D. Pirottin, C. Michaux, F. Méniessier, M. Zanotti, S. Dunner, M. Georges // Mammalian Genome. — 1998. — V. 9. — № 3. — P. 210–213.
8. Kocamis H. Myostatin expression and possible functions in animal muscle growth / H. Kocamis, J. Killefer // Domestic Animal Endocrinology. — 2002. — № 23. — P.447–454.
9. Lee S. J. Regulation of myostatin activity and muscle growth / S. J. Lee, A. C. McPherron // Proc Natl. Acad. Sci. USA. — 2001. — № 98. — P. 9306–9311.
10. McCroskery S. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal / S. McCroskery, M. Thomas, L. Maxwell, M. Sharma, R. Kambadur // J. Cell. Biol. — 2003. — V.162. — № 6. — P. 1135–1147.
11. Palmer B. R., Morton J. D., Roberts N., Ilian M. A., Bickerstaffe R. Marker-assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 1999. 59:266–268
12. Pereira A. P., Alencar De., De M. M., Oliveira H. N., Regitano L. C. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed // Genetics Molecular Biology 2005. 28: 230–236
13. Sazili A., Lee G., Parr T., Sensky P., Bardsley R., Buttery P. The effect of altered growth rates on the calpain proteolytic system and meat tenderness in cattle. // Meat Sci. 2004. 66(1):195–201.
14. Tait R. G., Shackelford S. D., Wheeler T. L., King D. A., Keele J. W., Casas E., Smith T. P. L., Bennett G. L. CAPN1, CAST, and DGAT1 genetic effects on preweaning performance, carcass quality traits, and residual variance of tenderness in a beef cattle population selected for haplotype and allele equalization. // J. Anim. Sci. 2014. 92(12):5382–5393.
15. Thidar M., Yoshida H., Ito H. T., Inoue He M. H., Kuwayama H. Combined administration of ghrelin and GHRH synergistically stimulates GH release in Holstein pre-weaning calves // Domestic Animal Endocrine 2008. 34: 118–123.