

О. Ю. Баркова, А. А. Крутикова, Т. А. Ларкина

Поиск ассоциаций мононуклеотидных замен гена *GOS2* с признаками массы тела и отложением жира у бройлеров

Аннотация.

Цель: поиск мононуклеотидных полиморфизмов гена-кандидата *GOS2*, участвующего в метаболизме липидов, и изучение их связи с содержанием абдоминального жира и массы тела у кур бройлеров.

Материалы и методы. В экспериментах использованы 150 бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» в возрасте 35 дней из частного фермерского хозяйства (2015 года). Для секвенирования использовались куры породы пушкинская (23 особи) в возрасте 475 дней, содержащихся на базе биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких исчезающих пород кур» (г. Пушкин, Санкт-Петербург). Выявление мононуклеотидных полиморфизмов гена *GOS2* проводилось методом секвенирования участков, содержащих кодирующие и регуляторные последовательности. Генотипирование методом амплификации для апробации тест систем проводилось на приборе Thermal Cycler T100 (Bio-Rad, США).

Результаты. С помощью секвенирования регуляторной области гена *GOS2* выявлены два мононуклеотидных полиморфизма: rs29005090(A/G) и rs317858728(A/G), а также достоверное влияние всех трех генотипов (AG, AA, GG) замены rs29005090 на изучаемые признаки. Мононуклеотидная замена rs29005090 относится к мажорной, поскольку эффект замещения аллелей составляет более 0,6–1,5 сигмы. Генотип GG rs29005090 может быть рекомендован для селекции с помощью маркеров для увеличения привесов птицы и уменьшения абдоминального жира тушки курицы в мясном птицеводстве. При проведении дисперсионного анализа данных для расчета эффекта замещения аллелей маркера мононуклеотидной замены rs317858728(A/G) с признаками масса птицы и масса абдоминального жира бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» было выявлено достоверное различие между генотипами AA-GG для признака масса птицы и для признака масса абдоминального жира. Наибольшие показатели по массе тела и массе абдоминального жира наблюдались у кур с генотипом GG. Данная мононуклеотидная замена считается мажорной в отношении признака «абдоминальный жир», поскольку стандартное отклонение составляет более одной сигмы.

Ключевые слова: ДНК, SNP, *Gallus gallus*, секвенирование, мононуклеотидная замена, *GOS2*, абдоминальный жир, масса тел.

Авторы:

Баркова О. Ю. — кандидат биологических наук; e-mail: barkoffws@list.ru;

Крутикова А. А. — кандидат биологических наук; e-mail: anntim2575@mail.ru;

Ларкина Т. А. — кандидат биологических наук; e-mail: tanya.larkina2015@yandex.ru.

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (ВНИИГРЖ); 196601, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Московское шоссе, д. 55а.

Введение. Мясо кур является хорошим источником белка и энергии для человека и одним из самых потребляемых видов мяса. Более половины производимого на сегодняшний день мяса птицы составляют бройлерные кроссы домашней курицы. Современные бройлеры содержат 150–200 г жира на кг массы тела, но 85 % жира не являются физиологически необходимыми, что значительно снижает эффективность кормления, не несет коммерческой целесообразности и снижает потребительскую ценность [1]. Основным местом отложения жира у животных является жировая ткань (подкожная, внутримышечная, абдоминальная). Качество мяса является сложным признаком, который может регулироваться

различными факторами выращивания, такими как кормление, возраст убоя, условия выращивания, климатические условия и генотипом птицы. Содержание внутримышечного жира, аминокислот и ненасыщенных жирных кислот являются важными показателями для оценки качества мяса. Для получения качественного мяса и борьбы с излишней жирностью тушки птиц необходимы пристальное изучение генетических факторов, участвующих в депонировании жира, и разработка методик, улучшающих этот процесс [2]. Ген *GOS2* играет критическую роль в точной пролиферации, апоптозе и метаболизме липидов, что оказывает существенное влияние на жировой обмен. *GOS2* был впервые идентифици-

рован как регулятор клеточного цикла, входящий из фазы G0 в фазу G1 клеточного цикла [3]. Белок G0S2 высоко консервативен между многими видами животных, идентичность составляет 78% между мышью и человеком. Жировая триглицеридлипаза (ATGL) является ферментом, ограничивающим скорость гидролиза триацилглицерина в адипоцитах. Ген *G0S2* является регулятором гена ATGL, продукт которого может напрямую связываться с ATGL, ингибируя активность ATGL и снижая скорость липолиза [4, 5]. Экспрессия *G0S2* была выявлена в различных типах клеток человека и мыши. Как и многие высокорегулируемые и консервативные гены, присутствующие во всем геноме, *G0S2* имеет богатый CpG островок, который потенциально обеспечивает его экспрессию в зародышевой линии [6]. Промоторная область *G0S2* содержит потенциальные сайты связывания транскрипционных факторов AP1, AP2, AP3 и ядерного фактора активированных Т-клеток (NFAT), а также ряд мотивов последовательностей, которые могут реагировать на активацию транскрипции, индуцированную специфическими агентами, включая лектин, ретиноевая кислота (РА), агонисты рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом (PPAR), глюкоза и инсулин [7-12]. В частности, недавние исследования предоставили убедительные доказательства того, что *G0S2* в избытке экспрессируется в метаболически активных тканях, таких как жировая ткань и печень, и действует как молекулярный тормоз катаболизма триглицеридов (ТГ) [13]. Исследователи подтвердили, что *G0S2* связан с содержанием жира крупного рогатого скота, определив различный уровень экспрессии *G0S2* в мышцах при различном содержании внутримышечного жира у быков [14]. *G0S2* высоко экспрессируется в печени свиней и в меньшей степени в жировой ткани сальника и жировой ткани свиней. Более того, выявлено два SNP, ассоциированных с толщиной спинного жира [15]. У домашней птицы функция гена *G0S2* та-

кая же, как и у млекопитающих [16]. Сообщалось, что куры с нокаутом *G0S2* могут уменьшить отложение брюшного жира, не влияя на другие продуктивные признаки, а состав жирных кислот в их крови и брюшном жире изменяется [17]. У мышей нокаут гена *G0S2* приводил к значительному снижению относительного прироста массы тела и значительному увеличению уровня глицерина в сыворотке [18].

Цель исследований — поиск мононуклеотидных полиморфизмов гена-кандидата *G0S2*, участвующего в метаболизме липидов, и изучение их связи с содержанием абдоминального жира и массы тела у кур мясного и мясо-яичного направления.

Материалы и методы. В экспериментах использованы 150 бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» в возрасте 35 дней из частного фермерского хозяйства (2015 года). Для секвенирования использовались куры породы пушкинская (23 особи) в возрасте 475 дней, содержащихся на базе биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких исчезающих пород кур» (г. Пушкин, Санкт-Петербург). У вышеперечисленных кур отобрана кровь для выделения ДНК, измерена масса тела и масса абдоминального жира. Кровь отбиралась из подкрыльной вены кур в микропробирку, содержащую в качестве антикоагулянта 30 мкл 0,5 М ЭДТА. ДНК выделяли стандартным методом фенол-хлороформной экстракции.

Выявление мононуклеотидных полиморфизмов гена *G0S2* проводилось методом секвенирования участков, содержащих кодирующие и регуляторные последовательности у кур содержащихся на базе ВНИИГРЖ «Генетической коллекции редких и исчезающих пород кур». Дизайн праймеров для секвенирования кур, и для амплификации вышеуказанного участка гена на хромосоме кур проводился на основании информации базы данных сети интернет (www.nlm.ncbi.nih.gov) при помощи компьютер-

Таблица 1. Однонуклеотидные замены в локусах гена *G0S2*

SNP	Положение	Замена	Тип мутации
rs29005090	26: 3177302	A>G	3 prime UTR variant
rs10725377	26: 3176848	G>A (GCG>GCA)	synonymous variant
rs10730877	26: 3176856	C>T (GGC>GGT)	synonymous variant
rs315411255	26: 3177001	G>A (TCG>TCA)	synonymous variant
rs10722764	26: 3177130	A>G	3 prime UTR variant
rs317858728	26: 3177190	A>G	3 prime UTR variant
rs314854834	26:3177367	C>T	intron variant

ной программы PRIMER_3 (http://bioinfo.ut.ee/cgi-bin/primer3-0.4.0/primer3_results.cgi).

ПЦР проводили в 10 мкл реакционной смеси, содержащей 67 mM трис-HCl pH 8,6, 2,5 mM MgCl₂, 16,6 mM NH₄OH, 0,125 mM dNTP, 0,5 мкМ праймера, 50-100 нг геномной ДНК и 2,5 ед Taq-полимеразы ("Сибэнзим", Новосибирск), на амплификаторе «Biorad» (США). Режим амплификации: денатурация 95°C – 5 мин, 40X 95°C – 20 сек, 62°C – 20 сек, 72°C – 20 сек, финальная элонгация 72°C – 4 мин. Анализ продуктов ПЦР проводили в 2 % агарозном геле. Очистка ПЦР-продукта для дальнейшего анализа осуществлялась с использованием коммерческого набора для ферментативной очистки продуктов ПЦР ExoSAP-IT Express (Affimetrix) согласно протоколу производителя.

Секвенирование по Сенгеру проводили на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 с применением коммерческого набора "BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit" согласно протоколу изготовителя. Выравнивание сиквенсов проводили с помощью программы MEGA 6 (https://www.megasoftware.net/web_help_10/index.htm#t=Citing_MEGA_In_Publications.htm) для выявления однонуклеотидных замен. Проведен анализ международных баз генетических данных NCBI и ENSEMBL для идентификации выявленных замен.

Амплификацию для апробации тест систем проводили на приборе Thermal Cycler T100 (Bio-Rad, США). Режим амплификации: состоял из 35 циклов: 30 сек – 94°C, 30 сек – 57-62°C, 30 сек – 72°C. Для генотипирования использован метод с использованием аллелеспецифических праймеров. Для электрофореза использовали 1,5 % агарозные гели, содержащие флуоресцентный краситель бромистый этидий и TBE-буфер (45 mM трис-борат, 1 mM ЭДТА). В качестве маркера, позволяющего оценить длину фрагментов ДНК на геле, использовали ДНК-маркер 100bp+ (DNA Ladder ready-to-use, Медиген). Статистическую обработку данных проводили в программе SIGMAPLOT 14 с применением ANOVA by ranks и критерия Крускала–Уоллиса, который предназначен для проверки равенства медиан нескольких выборок, при ненормальном распределении показателей признака.

Результаты и обсуждение. Анализ *in silico* выявил, что ген *GOS2* курицы расположен на 26 хромосоме, протяженностью – 904 п.н., в позиции 3176431-3177334, состоит из двух экзонов: экзон 1 – полностью нетранслируемый, является транскрибируемым регуляторным участком протяженностью 80 п.н. (позиция 3176431 – 3176510); экзон 2 – позиция 3176715 – 3177046, общей протяженностью 619 п.н., кодирующая часть составляет 300 п.н. (позиция 3176747 – 3177046). Белок гена *GOS2* состоит из 99 аминокислот. В результате секвенирования регулятор-

Таблица 2. Разработанные тест-системы для детекции выявленных полиморфизмов гена *GOS2*

Полиморфизм, локус	Метод	Праймеры	Длина амплификата, температура отжига
rs 29005090	PCR	F: AGTGCAGGACTTGAAAGAAAGGAA F: AGTGCAGGACTTGAAAGAAAGGAG R: ACTCATCTGCAAACCCGTCAT	Длина амплификата 121, температура отжига 60
rs10725377	PCR	F: ACGTGCTGGGCAGCGTGCTGGCG F: ACGTGCTGGGCAGCGTGCTGGCA R: ATCTGCGAGCTGGTGTAAGG	Длина амплификата 248, температура отжига 60.00
rs10730877	PCR	F: AGCGTGCTGGCGTTCTTCGGC F: AGCGTGCTGGCGTTCTTCGGT R: AGGAGGAGAGCAAGAGAGGG	Длина амплификата 905, температура отжига 60.00
rs315411255	PCR	F: TTGGAGCAGAGCAAGAAGTCCG F: TTGGAGCAGAGCAAGAAGTCA R: AGGAGGAGAGCAAGAGAGGG	Длина амплификата 761, температура отжига 60.00
rs10722764	PCR	F: AGCGATGGTGTTCCAGTGG F: AGCGATGGTGTTCCAGTGA R: AGGAGGAGAGCAAGAGAGGG 632	Длина амплификата 632, температура отжига 60.00
rs317858728	PCR	F: CAGGACTTGAAAGAAAGGAA F: CAGGACTTGAAAGAAAGGAG R: ACTCATCTGCAAACCCGTCAT	Длина амплификата 321, температура отжига 60.00
rs314854834	PCR	F: AGCTGCATTTCATTTTCATGGAC F: AGCTGCATTTCATTTTCATGGAT R: AGGAGGAGAGCAAGAGAGGG	Длина амплификата 395, температура отжига 60.00

ной нетранслируемой и кодирующей области экзона 2 гена *G0S2* было выявлено семь SNP имеющихся в базе ensemb (<https://www.ensembl.org/index.html>) (табл. 1).

На основании результатов секвенирования были сконструированы аллелеспецифические праймеры для восьми выявленных мононуклеотидных полиморфизмов (табл. 2). С помощью разработанной тест-системы проведена полимеразная цепная реакция у 150 особей бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» по мононуклеотидным заменам rs 29005090 и rs317858728 (табл. 2). Анализ распределения частот генотипов по замене rs317858728 и rs29005090 бройлеров и показал преобладание гетерозиготных генотипов AG (табл. 3).

При статистической обработке данных в программе SIGMAPLOT 14 получены достоверные различия по замене генотипов по замене rs 29005090 (A/ G) бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» по признакам масса абдоминального жира и масса тела (табл. 5). При проведении дисперсионного анализа данных для расчета эффекта замещения аллелей маркера rs29005090 у кур бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» было выявлено достоверное различие генотип — признак для признака «масса абдоминального жира» при

замене всех аллелей AG, AA и GG (табл. 4). Наибольшие показатели по массе тела и наименьшие по массе абдоминального жира наблюдались у кур бройлеров с генотипом GG (табл. 4).

Данная замена может считаться мажорной, то есть оказывающей сильное влияние на проявление признака, в нашем случае на массу тела и абдоминального жира. В настоящее время существует несколько методов выявления QTL, обусловленных применяемыми маркерами. Один из них основан на величине влияния QTL на признак с помощью либо генетической вариации, либо стандартного отклонения. QTLs с значением не менее 0,1–0,2 от сигмы являются минорными, а QTLs с эффектом 0,6–1,5 от сигмы считаются мажорными [19]. В этом случае эффект QTL можно косвенно оценить по величине P – value (ошибка первого рода). Чем меньше значение P, тем больше влияние QTL на признак. Наш вариант оценки рассчитывается как разность значений признака между генотипами, измеренная в шкале стандартного отклонения. Точность такой оценки зависит от числа животных, использованных в анализе. Генетическая архитектура большинства количественных признаков определяется минорными QTL. Влияние rs 29005090 гена *G0S2* мож-

Таблица 3. Сводная таблица выявленных двух полиморфных вариантов гена *G0S2* породах кур 150 особей бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15»

Полиморфизм	Генотип	n	Частота генотипов	Частота аллелей	
rs29005090 n=150	AA	22	0,146	A	144 (0,48)
	AG	100	0,666	G	156 (0,52)
	GG	28	0,186	-	-
rs317858728 n=150	AA	10	0,053	A	103 (0,346)
	AG	83	0,553	G	195 (0,654)
	GG	56	0,373	-	-

Таблица 4. Ассоциация rs29005090 гена *G0S2* с признаками масса птицы и масса абдоминального жира бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15»

Признак	Генотип	N	Среднее значение \pm ошибка среднего	Медиана	Стандартное отклонение	Эффект замещения генотипов (гр)	P/эффект замены генотипа в долях сигмы
Масса птицы	AG	100	2270 \pm 34	2260,5	343,4	AG-AA	0,221
	GG	22	2366 \pm 55	2439,5	257,3	AA-G	0,29
	AA	28	2245,4 \pm 65	2135,5	344,3	AG-GG	0,734
Масса абдоминального жира.	AG	100	22 \pm 0,7	23,5	7,2	AG-AA 7,36	<0,001/ 1,022
	GG	22	13 \pm 0,8	13,5	3,8	AG-GG 8,9	<0,001 / 2,34
	AA	28	29 \pm 0,9	26	4,9	AA-GG 16,22	<0,001 / 3,31

но отнести к мажорным генам. Так как его эффект в ряде случаев составляет или превышает одну сигму, то имеет смысл использовать его в качестве надежного селекционного маркера. При проведении дисперсионного анализа данных для расчета эффекта замещения генотипов маркера мононуклеотидной замены rs317858728 (A/G) с признаками масса птицы и масса абдоминального жира бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15» было выявлено достоверное различие при замещении аллелей AA-GG для признаков «масса птицы» 283 гр., ($p=0,038$) и для признака «масса абдоминального жира» 6,6 гр., ($p=0,042$) (табл. 5). Наибольшие показатели по массе тела и массе абдоминального жира наблюдались у кур с генотипом GG. Данная мононуклеотидная замена считается мажорной в отношении признака «абдоминальный жир», поскольку стандартное отклонение составляет более одной сигмы.

Заключение. В результате проведенных исследований был отсекуирован участок гена *G0S2*, а именно регуляторная нетранслируемая и кодирующая область экзона 2 гена *G0S2*. Выявлено семь вариантов генетического полиморфизма (SNP), разработаны тест-системы для се-

ми полиморфных локусов. Проведены расчеты встречаемости у бройлеров по заменам rs29005090 и rs317858728.

Выявлен достоверный эффект замещения генотипов AA-GG мононуклеотидной замены rs317858728 гена *G0S2* с признаками масса птицы и масса абдоминального жира бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15». Наибольший вес тела и абдоминального жира наблюдался у кур с генотипом GG. Данная мононуклеотидная замена считается мажорной в отношении признака «абдоминальный жир», поскольку эффект замены генотипа в долях сигмы составил более единицы (1,03). Выявлена достоверная ассоциация rs29005090 гена *G0S2* с признаками масса птицы и масса абдоминального жира кур бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15». Данная замена относится к мажорным, поскольку эффект замены генотипа в долях сигмы составил 1,022, 2,34, 3,31. Мононуклеотидная замена rs29005090 с генотипом GG может быть рекомендована для селекции с помощью маркеров для увеличения привесов птицы и уменьшения абдоминального жира тушки курицы в мясном птицеводстве.

Таблица 5. Ассоциация rs317858728 гена *G0S2* с признаками масса птицы и масса абдоминального жира бройлеров кросса «Иза Хаббард Ф-15»

Признак	Генотип	N	Среднее значение массы (гр)	Медиана	Стандартное отклонение	Эффект замещения генотипов (гр)	P/ эффект замены генотипа в долях сигмы
Масса птицы	AG	83	2272,8±36	2260,5	328,9	AG-AA	0,083
	AA	10	2048,5±153	2101,5	483,5	AA-GG 283 гр.	0,038
	GG	56	2331,5±292	2332,5	292, 3	AG-GG	0,3
Масса абдоминального жира.	AG	83	23±1	24	9,2	AG-AA	0,15
	AA	10	17,8±2	15	6,4	AA-GG 6,6	0,042/ 1,03
	GG	56	24,4±1	25	7,4	AG-GG	0,78

Литература

1. Zhang X. *G0S2*: a small giant controller of lipolysis and adipose-liver fatty acid flux / X. Zhang, B. L. Heckmann, L. E. Campbell and J. Liu /// Biochim. Biophys. Acta 1862 (10 Pt B). — 2017. — P. 1146–1154.
2. Park T. S. Disruption of G0/G1 switch gene 2 (*G0S2*) reduced abdominal fat deposition and altered fatty acid composition in chicken/ TS Park, J Park, JH Lee, JW Park, BC Park // FASEB J. — 2019. — V. 33 (1).— P. 1188-1198.
3. Siderovski D. P. A set of human putative lymphocyte G0/G1 switch genes includes genes homologous to rodent cytokine and zinc finger protein encoding genes/ D. P. Siderovski, S. Blum, R. E. Forsdyke, and D. R. Forsdyke // DNA Cell Biol. — 1990. — Vol. 9. — P. 579–587.
4. Haemmerle G. Defective Lipolysis and Altered Energy Metabolism in Mice Lacking Adipose Triglyceride Lipase / Haemmerle G., Lass A., Zimmermann R., Gorkiewicz G., Meyer C., Rozman J., Heldmaier G., Maier R., Theussl C., Eder S. // Science. — 2006. — V. 312. — P. 734–737.

5. Yang X. The G(0)/G(1) switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase/ X. Yang, X. Lu, M. Lombes, G. B. Rha, Y. I. Chi, T. M. Guerin, E. J. Smart, J. Liu. // Cell Metab. — 2010. — V. 11. — P. 194–205.
6. Russell L. A human putative lymphocyte G0/G1 switch gene containing a CpG-rich island encodes a small basic protein with the potential to be phosphorylated/ L. Russell, DR. Forsdyke // DNA Cell Biol. — 1991. — V. 10. — P. 581–591.
7. Heckmann B. L. The G0/G1 switch gene 2 (*G0S2*): regulating metabolism and beyond/ B. L. Heckmann, X. Zhang, X. Xie, J. Liu // Biochim Biophys Acta. — 2013 — Vol. 1831 (2). — P. 276–281.
8. Teunissen B. E. Activation of PPARdelta inhibits cardiac fibroblast proliferation and the transdifferentiation into myofibroblasts/ B. E. Teunissen, P. J. Smeets, P. H. Willemsen, L. J. De Windt, G. J. Van der Vusse, M. Van Bilsen // Cardiovasc Res. — 2007. — V. 75— P. 519–529.
9. Zandbergen F. The G0/G1 switch gene 2 is a novel PPAR target gene/ F. Zandbergen, S. Mandard, P. Escher, NS. Tan, D. Patsouris, T. Jatkoe, S. Rojas-Caro, S. Madore, W. Wahli, S. Tafuri, M. Muller, S. Kersten // Biochem J. — 2005. — Vol. 392. — P. 313–324.
10. Kitareewan S. *G0S2* is an all-trans-retinoic acid target gene/ S. Kitareewan, S. Blumen, D. Sekula, R. P. Bissonnette, W. W. Lamph, Q. Cui, R. Gallagher, E. Dmitrovsky // Int J. Oncol. — 2008. — № 33. — P. 397–404.
11. Parikh H. TXNIP regulates peripheral glucose metabolism in humans/ H. Parikh, E. Carlsson, WA. Chutkow, LE. Johansson, H. Storgaard, P. Poulsen, R. Saxena, C. Ladd PC. Schulze, MJ. Mazzini, CB. Jensen, A. Krook, M. Bjornholm, H. Tornqvist, JR. Zierath, M. Ridderstrale, D. Altshuler, RT. Lee, A. Vaag, LC. Groop, VK. Mootha. // PLoS Med. — 2007. — 4. — P. e158.
12. Nielsen T. S. Fasting, but not exercise, increases adipose triglyceride lipase (ATGL) protein and reduces G(0)/G(1) switch gene 2 (*G0S2*) protein and mRNA content in human adipose tissue/ T. S. Nielsen, M. H. Vendelbo, N. Jessen, S. B. Pedersen, JO. Jorgensen, S. Lund, N. Moller // J Clin Endocrinol Metab. — 2011.— Vol. 96. — P. 1293–1297.
13. Yang X. The G(0)/G(1) switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase/ X. Yang, X. Lu, M. Lombes, G. B. Rha, Y. I. Chi, T. M. Guerin, E. J. Smart, J. Liu // Cell Metab. — 2010. — V. 11. — P. 194–205.
14. Ahn J. Differential expressions of G0/G1 switch gene 2 and comparative gene identification-58 are associated with fat content in bovine muscle/ J. Ahn, X. Li, Y.M. Choi, S. Shin, S. A. Oh, Y. Suh, T. H. Nguyen, M. Baik, S. Hwang, K. Lee // Lipids. — 2014. — Vol. 49. — P. 1–14.
15. Jiang Y. Tissue expression pattern and polymorphism of *G0S2* gene in porcine/ Y. Jiang, W. Cen, S. Xing, J. Chen, H. Xu, A. Wen, L. Zhu, G. Tang, M. Li, A. Jiang // Gene. — 2014. — Vol. 539. — P. 173–179.
16. Yang X. *G0S2* Gene Polymorphism and Its Relationship with Carcass Traits in Chicken / X. Yang, Y. Xian et al. // Animals. — 2022. — Vol.12 (7). — P. 916.
17. Oh S. A. Cloning of avian G(0)/G(1) switch gene 2 genes and developmental and nutritional regulation of G(0)/G(1) switch gene 2 in chicken adipose tissue/ S. A. Oh, Y. Suh, M. G. Pang, K. J. Lee. // Anim. Sci. — 2011. — Vol. 89. — P. 367–375.
19. Weller J. I. Quantitative trait loci analysis in animals, second edition / J. I Weller L.:CABI Publ. — 2012.

Barkova O., Krutikova A., Larkina T.

Search for associations of single-nucleotide substitutions of the *GOS2* gene with signs of body weight and fat deposition in broilers

Abstract.

Purpose: Search for mononucleotide polymorphisms of the candidate gene *GOS2* involved in lipid metabolism and study their relationship with abdominal fat content and body weight in broiler chickens.

Materials and methods. The experiments used 150 broilers of the Isa Hubbard F-15 cross at the age of 35 days from a private farm (2015). For sequencing, we used chickens of the Pushkin breed (23 individuals) aged 475 days, kept on the basis of the bioresource collection of the VNIIGRZh "Genetic collection of rare endangered breeds of chickens" (Pushkin, St. Petersburg). Identification of mononucleotide polymorphisms of the *GOS2* gene was carried out by sequencing regions containing coding and regulatory sequences. Genotyping using the amplification method for testing test systems was carried out on a Thermal Cycler T100 device (Bio-Rad, USA).

Results. Using sequencing of the regulatory region of the *GOS2* gene, two mononucleotide polymorphisms were identified: rs29005090 (A/G) and rs317858728 (A/G), as well as a significant influence of all three genotypes (AG, AA, GG) of the rs29005090 substitution on the studied traits. Mononucleotide substitution rs29005090 is classified as major, since the effect of allele substitution is more than 0.6–1.5 sigma. The GG genotype rs29005090 can be recommended for marker-assisted selection to increase poultry weight gain and reduce abdominal fat of chicken carcasses in meat poultry farming. When conducting an analysis of variance of data to calculate the effect of substitution of alleles of the mononucleotide substitution marker rs317858728 (A/G) with the traits bird weight and abdominal fat weight of broilers of the Isa Hubbard F-15 cross, a significant difference was revealed between genotypes AA-GG for the traits bird weight and for the sign abdominal fat mass. The highest indicators for body weight and abdominal fat mass were observed in chickens with the GG genotype. This mononucleotide substitution is considered major in relation to the trait "abdominal fat", since the standard deviation is more than one sigma.

Key words: DNA, SNP, Gallus gallus, sequencing, mononucleotide substitution, *GOS2*, abdominal fat, body weight.

Authors:

Barkova O. – PhD (Biol. Sci); e-mail: barkoffws@list.ru;

Krutikova A. – PhD (Biol. Sci) ; e-mail: tanya.larkina2015@yandex.ru;

Larkina T. – PhD (Biol. Sci) ; e-mail: anntim2575@mail.ru.

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — the branch of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry (RRIFAGB); 196601, Russia, St. Petersburg, Pushkin, Moscow highway, 55a.

References

1. Zhang X. *GOS2*: a small giant controller of lipolysis and adipose-liver fatty acid flux / X. Zhang, B. L. Heckmann, L. E. Campbell and J. Liu /// Biochim. Biophys. Acta 1862 (10 Pt B). — 2017. — P. 1146–1154.
2. Park T. S. Disruption of G0/G1 switch gene 2 (*GOS2*) reduced abdominal fat deposition and altered fatty acid composition in chicken/ TS Park, J Park, JH Lee, JW Park, BC Park // FASEB J. — 2019. — V. 33 (1).— P. 1188-1198.
3. Siderovski D. P. A set of human putative lymphocyte G0/G1 switch genes includes genes homologous to rodent cytokine and zinc finger protein encoding genes/ D. P. Siderovski, S. Blum, R. E. Forsdyke, and D. R. Forsdyke // DNA Cell Biol. — 1990. — Vol. 9. — P. 579–587.
4. Haemmerle G. Defective Lipolysis and Altered Energy Metabolism in Mice Lacking Adipose Triglyceride Lipase / Haemmerle G., Lass A., Zimmermann R., Gorkiewicz G., Meyer C., Rozman J., Heldmaier G., Maier R., Theussl C., Eder S. // Science. — 2006. — V. 312. — P. 734–737.
5. Yang X. The G(0)/G(1) switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase/ X. Yang, X. Lu, M. Lombes, G. B. Rha, Y. I. Chi, T. M. Guerin, E. J. Smart, J. Liu. / Cell Metab. — 2010. — V. 11. — P. 194–205.

6. Russell L. A human putative lymphocyte G0/G1 switch gene containing a CpG-rich island encodes a small basic protein with the potential to be phosphorylated/ L. Russell, DR.Forsdyke // DNA Cell Biol. —1991. — V. 10. — P. 581–591.
7. Heckmann B. L. The G0/G1 switch gene 2 (*G0S2*): regulating metabolism and beyond/ B. L. Heckmann, X. Zhang, X. Xie, J. Liu // Biochim Biophys Acta. — 2013 — Vol. 1831 (2). — P. 276-281.
8. Teunissen B. E. Activation of PPARdelta inhibits cardiac fibroblast proliferation and the transdifferentiation into myofibroblasts/ B. E. Teunissen, P J. Smeets, P. H. Willemsen, L. J. De Windt, G. J. Van der Vusse, M. Van Bilsen // Cardiovasc Res. — 2007. — V. 75— P. 519–529.
9. Zandbergen F. The G0/G1 switch gene 2 is a novel PPAR target gene/ F. Zandbergen, S. Mandard, P. Escher, NS. Tan, D. Patsouris, T. Jatkoe, S. Rojas-Caro, S. Madore, W. Wahli, S. Tafuri, M. Muller, S. Kersten // Biochem J. — 2005. — Vol. 392. — P. 313–324.
10. Kitareewan S. G0S2 is an all-trans-retinoic acid target gene/ S. Kitareewan, S. Blumen, D. Sekula, R. P. Bissonnette, W. W. Lamph, Q. Cui, R. Gallagher, E. Dmitrovsky // Int J. Oncol. — 2008. — № 33. — P. 397–404.
11. Parikh H. TXNIP regulates peripheral glucose metabolism in humans/ H. Parikh, E. Carlsson, WA. Chutkow, LE. Johansson, H. Storgaard, P. Poulsen, R. Saxena, C. Ladd PC. Schulze, MJ. Mazzini, CB. Jensen, A. Krook, M. Bjornholm, H. Tornqvist, JR. Zierath, M. Ridderstrale, D. Altshuler, RT. Lee, A. Vaag, LC. Groop, VK. Mootha.// PLoS Med. — 2007. — 4. — P. e158.
12. Nielsen T. S. Fasting, but not exercise, increases adipose triglyceride lipase (ATGL) protein and reduces G(0)/G(1) switch gene 2 (*G0S2*) protein and mRNA content in human adipose tissue/ T. S. Nielsen, M. H. Vendelbo, N. Jessen, S. B. Pedersen, JO. Jorgensen, S. Lund, N. Moller// J Clin Endocrinol Metab. — 2011. — Vol. 96. — P. 1293–1297.
13. Yang X. The G(0)/G(1) switch gene 2 regulates adipose lipolysis through association with adipose triglyceride lipase/ X. Yang, X. Lu, M. Lombes, G. B. Rha, Y. I. Chi, T. M. Guerin, E. J. Smart, J. Liu // Cell Metab. — 2010. — V. 11. — P. 194–205.
14. Ahn J. Differential expressions of G0/G1 switch gene 2 and comparative gene identification-58 are associated with fat content in bovine muscle/ J. Ahn, X. Li, Y.M. Choi, S. Shin, S. A. Oh, Y. Suh, T. H. Nguyen, M. Baik, S. Hwang, K. Lee // Lipids. — 2014. — Vol. 49. — P. 1–14.
15. Jiang Y. Tissue expression pattern and polymorphism of *G0S2* gene in porcine/ Y. Jiang, W. Cen, S. Xing, J. Chen, H. Xu, A. Wen, L. Zhu, G. Tang, M. Li, A. Jiang // Gene. — 2014. — Vol. 539. — P. 173–179.
16. Yang X. *G0S2* Gene Polymorphism and Its Relationship with Carcass Traits in Chicken / X. Yang, Y. Xian et al. // Animals. — 2022. — Vol.12 (7). — P. 916.
17. Oh S. A. Cloning of avian G(0)/G(1) switch gene 2 genes and developmental and nutritional regulation of G(0)/G(1) switch gene 2 in chicken adipose tissue/ S. A. Oh, Y. Suh, M. G. Pang, K. J. Lee.// Anim. Sci. — 2011. — Vol. 89. — P. 367–375.
19. Weller J. I. Quantitative trait loci analysis in animals, second edition / J. I Weller L.:CABI Publ. — 2012.