

**ОШ МАМЛЕКЕТТИК УНИВЕРСИТЕТИНИН ЖАРЧЫСЫ. АЙЫЛ
ЧАРБА: АГРОНОМИЯ, ВЕТЕРИНАРИЯ ЖАНА ЗООТЕХНИЯ**

**ВЕСТНИК ОШСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА. СЕЛЬСКОЕ
ХОЗЯЙСТВО: АГРОНОМИЯ, ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ**

**JOURNAL OF OSH STATE UNIVERSITY. AGRICULTURE: AGRONOMY, VETERINARY AND
ZOOTECHNICS**

e-ISSN: 1694-8696
№4(5)/2023, 118-123

ЗООТЕХНИЯ

УДК: 636.32/.38 + 636.3.082
DOI: [10.52754/16948696_2023_4_17](https://doi.org/10.52754/16948696_2023_4_17)

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КРТАР1.1 В ПОПУЛЯЦИИ ОВЕЦ КУЙБЫШЕВСКОЙ
ПОРОДЫ**

**КУЙБЫШЕВ ТУКУМУНДАГЫ КОЙЛОРДУН ПОПУЛЯЦИЯСЫНДА ГЕН КРТАР1.1
ПОЛИМОРФИЗМИ**

KRTAP1.1 GENE POLYMORPHISM IN A POPULATION OF KUIBYSHEV SHEEP BREED

Сенина Роман Юрьевич
Сенина Роман Юрьевич
Senina Roman Yurievich

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»
Федералдык мамлекеттик бюджеттик мекеме
"Бүткүл россиялык илимий изилдөө асыл тукум институту»
All Russian Research Institute of Animal Breeding
ladnatehplem@mail.ru

Калашникова Любовь Александровна
Калашникова Любовь Александровна
Kalashnikova Lyubov Alexandrovna

д.б.н., профессор, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»
б.и.д., профессор, Федералдык мамлекеттик бюджеттик мекеме
"Бүткүл россиялык илимий изилдөө асыл тукум институту»
Doctor.Sc.Biol., Professor, All Russian Research Institute of Animal Breeding
ladnatehplem@mail.ru

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА KRTAP1.1 В ПОПУЛЯЦИИ ОВЕЦ КУЙБЫШЕВСКОЙ ПОРОДЫ

Аннотация

Качество шерсти определяется структурой шерстного волокна. Гены кератинов играют важную роль в формировании шерстных волокон. В данной работе был проанализирован полиморфизм гена KRTAP1.1 в популяции овец куйбышевской породы (n=30). С помощью метода ПЦР-ПДАФ были выявлены три аллеля (А, В, С). Из шести возможных генотипов было выявлено три (АВ, ВВ, ВС). Показано преобладание аллеля В (0,883) над аллелями А (0,033) и С (0,083), а также генотипа ВВ (0,766) над генотипами АВ (0,066) и ВС (0,166) в структуре стада.

Ключевые слова: кератины, KAP1.1, KRTAP1.1, куйбышевская порода

Ген krtap1.1 полиморфизми куйбышев тукумундагы койлордун популяциясында

Krtap1.1 gene polymorphism in a population of kuibyshev sheep breed

Аннотация

Жүндүн сапаты жүн буласынын түзүлүшү менен аныкталат. Жүн талчаларынын пайда болушунда кератин гендеринин ролу чоң. Бул иште Куйбышев породасындагы койлордун популяциясында (n=30) KRTAP1.1 генинин полиморфизми талдоого алынган. PCR-PDAF ыкмасын колдонуу менен бардык үч аллелдик варианттар (А, В, С) аныкталган. Мүмкүн болгон алты генотиптен үчөө гана аныкталган (АВ, ВВ, ВС). Популяциянын структурасында В (0,883) аллелинин А (0,033) жана С (0,083), ошондой эле В (0,766) генотипинин АВ (0,066) жана ВС (0,166) генотиптеринен басымдуулугу көрсөтүлгөн.

Ачык сөздөр: кератиндер, KAP1.1, KRTAP1.1, куйбышев породасы.

Abstract

The quality of wool is determined by the structure of wool fiber. Keratin genes play a major role in the formation of wool fibers. In this work, a polymorphism of KRTAP1.1 gene was analyzed in a population of Kuibyshev breed sheep (n=30). With the use of PCR-AFLP method, all three allele variants (A, B, C) were identified. Of the six possible genotypes, only three were identified (AB, BB, BC). The predominance of allele B (0.883) over alleles A (0.033) and C (0.083), as well as genotype BB (0.766) over genotypes AB (0.066) and BC (0.166) in the population structure was shown.

Keywords: keratins, KAP1.1, KRTAP1.1, kuibyshev sheep breed.

Введение. Шерсть является основным продуктом шерстного и побочным продуктом мясного и мясо-шерстного направлений овцеводства. Производство больших объемов качественной классированной шерсти является одной из целей при развитии отечественной овцеводческой отрасли, в особенности в условиях наполнения рынка текстильной промышленности синтетической продукцией. В последние несколько лет замечается снижение объемов производства шерсти. Так в Российской Федерации за 2022 год было получено 46 тыс. тонн шерсти, тогда как за период 2021 и 2020 годов было получено 47,8 и 51,7 тыс. тонн шерсти соответственно [1].

Одним из способов повышения качества и объемов получаемой шерсти является применение селекции с использованием генетических маркеров (marker assisted selection, MAS) и поиск генов-кандидатов.

При изучении генов-кандидатов по направлению шерстной продуктивности овец выделяют две группы белков, ответственных за формирование шерстного волокна: белки матрикса или кератин-ассоциированные белки (KAP) и белки микрофибрилл или белки кератиновых промежуточных филаментов (KRT) [2]. Группа KAP предположительно состоит из 27 представителей, разбитых на 11 семейств [2]. В данной работе для изучения был выбран KAP1.1 семейства KAP1.

Белок KAP1.1, в прошлом известный как SCMK-B, SCMK-B2 и HS-B2A, относится к белкам матрикса с высоким содержанием серы (HS) и кодируется геном KRTAP1.1, находящимся у овец на 11 хромосоме [3]. В исследовании Роджерса и соавторов был обнаружен декапептидный повтор QTSCCQPTSI, который встречался у ряда белков семейства KAP1, в частности 4 раза у KAP1.1, и было выявлено 2 делеции длиной 30 нуклеотидов [4]. Позже эти данные были подтверждены другими исследователями, и были получены аллели А, В и С, первый из которых не имел делеции, а второй и третий имели 1 и 2 делеции соответственно [5].

Были проведены исследования с целью выявления связи данных мутаций с хозяйственно-полезными признаками овец. В ряде работ была выявлена ассоциация данного полиморфизма с настригом, яркостью и тониной шерсти, длиной и прочностью штапеля. Аллель В был связан с большей длиной штапеля по сравнению с аллелем С, но меньшей яркостью шерсти, а аллель А был ассоциирован с большим настригом, чем аллель В [6]. У овцематок генотип АВ был ассоциирован с большей длиной штапеля, генотип ВС – с большей тониной, а генотип АА – с большим настригом мытой шерсти; у баранчиков генотип ВВ был связан с большей длиной штапеля, генотип ВС – с большей прочностью штапеля, генотип АС – с большим настригом мытой шерсти [7]. Предполагается, что цистеиновые аминокислоты в повторе QTSCCQPTSI могут влиять на показатели настрига, поскольку показано увеличение роста шерсти при доступности цистеина [6]. Результаты этих работ дают основание полагать, что данный полиморфизм может иметь связь показателями шерстной продуктивности.

Цель данной работы – изучить полиморфизм гена KRTAP1.1 у овец куйбышевской породы.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования была группа овцематок (30 голов) куйбышевской породы овец, принадлежащая ООО Племенной завод “Дружба” Самарской области. Для исследования полиморфизма KRTAP1.1 была выбрана PCR-AFLP (amplified fragment length polymorphism) методика [8]. Работа проводилась в лаборатории ДНК-технологий ФГБНУ ВНИИплем.

Для проведения ПЦР были синтезированы праймеры, взятые из вышеуказанной статьи с небольшим изменением.

Праймеры:

KRTAP1.1 F: 5' CAACCCTCCTCTCAACCCAАСТСС 3' (прямой праймер, T_m – 64.7°C);

KRTAP1.1 R: 5' GCTGCTACCCACCTGGCCATA 3' (обратный праймер, T_m – 64.3°C);

Программа амплификации включала в себя следующие стадии: начальная денатурация - 2 минуты при 95°C; 40 циклов амплификации: денатурация - 20 секунд при 95°C, присоединение праймеров - 30 секунд при 62°C, достройка - 30 секунд при 72°C; финальная достройка – 5 минут при 72°C.

Компьютерная визуализация результатов PCR-AFLP осуществлялась после проведения электрофореза амплификатов в 3% агарозном геле с окраской бромистым этидием. В качестве маркера молекулярного веса был использован pUC19/MspI.

Статистическая обработка результатов была выполнена с использованием компьютерной программы PopGene (v. 1.32).

Результаты и обсуждения. По результатам генотипирования животных исследуемой популяции были получены все 3 аллеля (А, В и С), при этом аллель В кратно превосходил аллели А и С по частоте встречаемости (таблица 1). Из шести возможных генотипов были получены 3 – АВ, ВВ и ВС, которым соответствовали длины амплифицированных фрагментов 341/311, 311/311 и 311/281 п.н., соответственно (рисунок 1). Наиболее часто встречался генотип ВВ (0,766). Отклонения от распределения по Харди-Вайнбергу при $p \leq 0,05$ замечено не было.

Таблица 1. Полиморфизм KRTAP1.1 у овец куйбышевской породы (n=30)

Частота аллелей			Частота генотипов			HWE (χ^2)*	N_e^{**}	H_e	H_o	F_{is}^{***}
А	В	С	АВ	ВВ	ВС					
0,033	0,883	0,083	0,066	0,766	0,166	0,44	1,27	0,215	0,233	-0,1

* - отклонение от равновесия Харди-Вайнберга для $p \leq 0,05$

** - число эффективных аллелей

*** - индекс фиксации по всей популяции (коэффициент инбридинга)

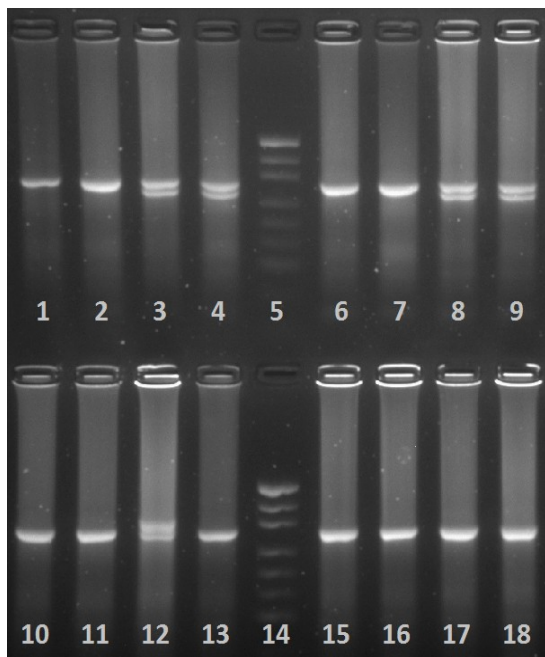


Рисунок 1. Результаты PCR-AFLP анализа гена KRTAP1.1. Дорожки 3, 4, 8 и 9 содержат генотип ВС (311 и 281 п.н.), дорожка 12 содержит генотип АВ (341 и 311 п.н.), дорожки 1, 2, 6, 7, 10, 11, 13, 15-18 содержат генотип ВВ (311 п.н.), дорожки 5 и 14 содержат маркер молекулярного веса pUC19/Msp I.

Показатели ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности составили 0,215 и 0,233 соответственно (таблица 1). Был высчитан индекс фиксации F_{is} , также именуемый коэффициентом инбридинга. Этот показатель используется для оценки недостатка/избытка гетерозигот в структуре популяции.

Несмотря на высокую долю гомозигот ВВ, превалировавших над процентом гетерозигот, показатель F_{is} имел отрицательные значения (-0,1), что свидетельствует об избытке гетерозигот относительно ожидаемых значений (таблица 1). Был посчитан показатель числа эффективных аллелей по методу Нэи, он составил 1,27 (таблица 1), что обусловлено преобладанием аллеля В в структуре популяции.

Полученные результаты находятся в соответствии с данными других исследователей. Среди трех популяций овец (Хиос, Авасси и Кивирчик, $n=45$ в каждой группе) были обнаружены генотипы АА, АВ, ВВ и СС, тогда как генотип ВС отсутствовал, при этом генотип ВВ имел большую частоту встречаемости, а аллель В преобладал над другими аллелями [9]. В исследовании от 2018 года были найдены 5 из 6 генотипов (генотип СС отсутствовал), но отсутствовали данные об их распределении в структуре популяций [7]. В х статьях 2007 и 2010 годов также отсутствуют данные по распределению аллелей и генотипов, но сообщается, что были выявлены все 3 возможных аллеля [5, 6].

Выводы. Все 3 аллеля КRТАP1.1 встречаются у животных разных пород овец — как отечественных, так и зарубежных, при этом генотип ВВ имеет большую частоту встречаемости. В структуре популяции куйбышевской породы овец преобладает аллель В (0,883) и генотип ВВ (0,766).

Литература

1. Шичкин Г.И. Ежегодник по племенной работе в овцеводстве и козоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2022 год) / Г.И. Шичкин, Г.Ф. Сафина, Х.А. Амерханов, В.В. Чернов, Л.Н. Григорян и др. - М.: ФГБНУ ВНИИплем, 2023-292с.
2. Hua Gong. Wool Keratin-Associated Protein Genes in Sheep—A Review / Hua Gong, Huitong Zhou, Rachel H. J. Forrest et al. // Genes (Basel). 2016 May 28;7(6):24
3. Hua Gong. An Updated Nomenclature for Keratin-Associated Proteins (KAPs) / Hua Gong, Huitong Zhou, Grant W. McKenzie, Zhidong Yu, Stefan Clerens et al. // Int. J. Biol. Sci — 2012; 8(2):258-264.
4. Rogers GR. Polymorphism in two genes for B2 high sulfur proteins of wool / Rogers GR, Hickford JG, Bickerstaffe R. // Anim Genet. 1994 Dec;25(6):407-15.
5. Itenge-Mweza TO. Polymorphism of the KAP1.1, KAP1.3 and K33 genes in Merino sheep / Itenge-Mweza TO, Forrest RH, McKenzie GW, Hogan A, Abbott J, Amofo O, Hickford JG. // Mol Cell Probes. 2007 Oct-Dec; 21 (5-6):338-42.
6. Itenge, TO. Association of variation in the ovine KAP1.1, KAP1.3 and K33 genes with wool traits / Itenge, T., J. Hickford, R. Forrest, G. McKenzie and C. Frampton // Int. J. Sheep Wool Sci., 58: 1-15.
7. Ibrahim M. Farag. Effect of Genetic Polymorphisms of the KAP1.1 and KAP1.3 Genes on Wool Characteristics in Egyptian Sheep / Ibrahim M. Farag, Hassan R. Darwish, Ahmed M. Darwish, Haidan M. El-Shorbagy & Ramadan W. Ahmed // Journal of Biological Sciences, Vol 18 (4), 2018: 158-164.

8. Itenge TO. Application of PCR technique to detect polymorphism of the KRTAP1.1 gene in three sheep breeds-A review. Anal. Chemistry-Advancement, Perspect. Appl. 10.5772/intechopen.96941.
9. Hasret Y. Polymorphism of the Kap 1.1, Kap 1.3 and K33 Genes in Chios, Kivircik and Awassi / Hasret Y., Feraye E. Gürsel, Atila A., Iraz A., Neziha H., Kemal Ö. Öztabak // Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 21(4):535-538.