

ГЕНЕТИЧНИЙ ТА АСОЦІАТИВНИЙ АНАЛІЗ ОДНОНУКЛЕОТИДНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ В ГЕНАХ ЛЕПТИНУ І КАТЕПСИНУ F СВИНЕЙ

Є. К. ОЛІЙНИЧЕНКО, аспірант*

І. Б. БАНЬКОВСЬКА, доктор сільськогосподарських наук

В. М. БАЛАЦЬКИЙ, доктор сільськогосподарських наук

К. Ф. ПОЧЕРНЯЄВ, доктор сільськогосподарських наук

Т. В. БУСЛИК, кандидат біологічних наук

М. О. ІЛЬЧЕНКО, кандидат сільськогосподарських наук

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН

E-mail: pigbreeding@ukr.net

Анотація. Подано результати генетичного та асоціативного аналізу однонуклеотидних поліморфізмів (SNP) генів *LEP* g.3469 T > C, *LEP* g.2845 A > T, *LEP* g.3996 T > C, *CTSF* g.22 C ≤ G, проведеного на свинях великої білої породи української селекції. У досліджуваній групі тварин гени *LEP* і *CTSF* характеризувалися поліморфізмом за трьома з чотирьох проаналізованих SNP; SNP *LEP* g.3996 T > C в досліджуваній групі виявився не поліморфним, спостерігався лише алель T. Досліджено асоціації однонуклеотидних поліморфізмів з параметрами якості м'яса і сала свиней. Встановлено, що SNP *LEP* g.3469 T > C впливає на вміст протеїну, втрати вологи в м'яса за термічної обробки, а також на вміст вологи у хребтовому салі; SNP *LEP* g.2845 A > T асоційований з вологоутримуючою здатністю м'яса, вмістом внутрішньом'язового жиру та рівнем вологи у салі; SNP *CTSF* g.22 C ≤ G має зв'язок з показниками вмісту жиру та кальцію в м'ясі. Спостерігаються тенденції щодо впливу: SNP *LEP* g.3469 T > C на ніжність м'яса ($p = 0,06$), вміст жиру ($p = 0,07$); SNP *CTSF* g.22 C ≤ G – на рівень загальної вологи м'яса ($p = 0,07$), на вміст протеїну в м'ясі ($p = 0,07$); SNP *LEP* g.2845 A > T – на показник енергетичної цінності ($p = 0,08$) та вміст протеїну ($p = 0,08$) в м'ясі.

Ключові слова: свині, маркер-асоційована селекція, ген лептину, ген катепсину F, поліморфізм, однонуклеотидний поліморфізм, якість м'яса

Актуальність. Традиційні методи оцінки генотипів свиней, що базуються на показниках власної продуктивності тварин і аналізі продуктивності їх нащадків, не гарантують отримання точної і повної інформації про генетичний потенціал племінного матеріалу, що важливо для ефективної реалізації селекційних програм. У той же час, аналіз генотипів свиней, що здійснюється за допомогою генотипування тварин за

однонуклеотидними поліморфізмами (*SNP*) генів, дозволяє визначити реальну генетичну цінність тварин і прогнозувати їх генетичний потенціал у відношенні конкретних продуктивних і біологічних якостей.

Такий підхід покладений в основу *MAS* селекції (*marker assisted selection*) – селекція за допомогою маркерів або маркер-асоційована селекція, та *GAS*-селекції (*gene assisted selection*) – генна селекція. Використання у селекційній практиці цих інноваційних напрямків значно прискорює темпи створення нових генотипів і отримання тварин з бажаними параметрами продуктивності [1, 2].

Основним пріоритетом вказаних науково-методичних підходів є те, що вже з перших днів життя тварини можна визначити її генетичний потенціал за аналізом поліморфізму генів, що асоційовані з продуктивними якостями і належать до локусів кількісних ознак. До таких генів, які отримали назву кандидатних, відносяться гени лептину (*LEP*) та катепсину F (*CTSF*), що беруть безпосередню участь у прояві відгодівельних якостей свиней і показників якості м'яса та сала [3, 4].

Маркер-асоційована селекція лише набуває розвитку в Україні, саме тому дані про асоціативний зв'язок ДНК-маркерів з ознаками продуктивності свиней вітчизняних порід залишається важливим напрямом генетики сільськогосподарських тварин.

Отже, дослідження поліморфізмів в генах лептину та катепсину F у свиней з метою виявлення асоціативних зв'язків з ознаками якості туші, м'яса і сала свиней є актуальними у контексті прогнозування та подальшому селекційному вдосконаленні м'ясної продуктивності тварин та якості свинини.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Лептин – ключовий гормон енергетичного обміну, який бере участь в регуляції апетиту [3], синтезі інсуліну [5], функціонуванні сечостатевої системи [6] та впливає на репродуктивні якості [7]. Мутації в гені лептину можуть призвести до зміни функції, структури гормону [8], що, в свою чергу, може спричинити певні відхилення в процесах ліполізу та ліпогенезу, результатом чого стане кількісна зміна в параметрах якості м'яса та сала. Свою функцію лептин реалізує через рецептори лептину, які контролюється відповідним геном (*LEPR*). У низці досліджень продемонстровано зв'язок поліморфізмів гена рецептора лептину з параметрами якості м'яса та сала свиней [9, 10], що, загалом, підтверджує важливість *LEP-LEPR* системи у контролі енергетичного обміну.

Ген лептину в геномі свині локалізований в 18-й хромосомі, складається з трьох екзонів і двох інтронів [11]. Встановлена висока нуклеотидна гомологія гена лептину свині, людини і миші. Ця гомологія серед ссавців демонструє високу консервативність гена впродовж еволюції [11]. Виявлено понад 400 однонуклеотидних поліморфізмів в самому гені і його 3'- і 5'- фланкуючих і промоторних ділянках [11, 12]. Інформація щодо рівня поліморфізму досліджуваних *SNPs* в популяціях свиней вітчизняних порід, що необхідна для розробки ДНК-маркерів, на даний час відсутня. Перспективними *SNPs* в плані розробки генетичного

маркеру є однонуклеотидний поліморфізм *LEP* g.2845 $A > T$ (локалізований в другому інтроні) [13], g.3996 $T > C$ (локалізований в 3' *UTR* регіоні) [13], g.3396 $T > C$ (локалізований в другому екзоні) [8].

Катепсини – це лізосомальні протеїнази з широким спектром функцій, що синтезуються у більшості, якщо не у всіх, тканин та типів клітин [14]. Ці ферменти, як правило, синтезуються як препрокатепсини і беруть участь у катаболізмі основних білків, але також мають високо специфічні та спрямовані протеолітичні дії. Вони, наприклад, залучаються до формування антигенної детермінанти, що є пусковою стадією імунної відповіді [15] та активує процеси окислення ліпідів і протеїнів [14]. Висока активність катепсину скелетних м'язів свиней пов'язана з дефектами м'яса, такими як надмірна м'якість, липкість, темний колір, металевий присмак, обумовлений кристалами тирозину та утворення білих плівок на поверхні різання [16].

Ген катепсину F (*CTSF*) у свиней локалізований на хромосомі 2(SSC2) p14-p17. У роботах V. Russo (2004, 2006) показано значну асоціацію поліморфізму g.22 $G > C$ *CTSF* із середньодобовим приростом та товщиною хребтового сала у, так званих, італійських важких свиней [16, 17]. Тварини з генотипом g.22 CC за геном катепсину F характеризувалися підвищеними показниками росту та меншою жирністю туші [17, 18].

Метою роботи було дослідити генетичну структуру стада свиней великої білої породи української селекції за однонуклеотидними поліморфізмами генів лептину (*LEP* g.3469 $T > C$, *LEP* g.2845 $A > T$, *LEP* g.3996 $T > C$) і катепсину F (*CTSF* g.22 $C \leq G$) та провести аналіз асоціацій генотипів з показниками якості м'яса і сала.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктом дослідження було стадо свиней великої білої породи української селекції (102 голови) племзаводу ДП «ДГ Степне» Інститут свинарства і АПВ НААН Полтавської області.

Для проведення фізико-хімічних досліджень після 48-годинного дозрівання півтуші за температури + 4 °C відбирали зразки з найдовшого м'яза спини та підшкірного сала між 9-12 грудних хребців. Для проведення генетичних досліджень відбирали по 1 г м'язової тканини.

Оцінка якості м'яса та сала проводилася за загальноприйнятими методиками [19, 20], чинними нормативними документами, а також з урахуванням рекомендацій ВАСГНІЛ (від 26.09.1986) та ДСТУ ISO2917-2001.

ДНК виділяли з м'язової тканини за використання іонообмінної смоли Chelex-100 [21].

Генотипування за *SNP* g.3469 $T > C$, *LEP* g.2845 $A > T$, *LEP* g.3996 $T > C$, *CTSF* g.22 $C \leq G$ проводили методом ПЛР-ПДРФ з урахуванням протоколів описаних в роботах [8, 13, 16]. Структура праймерів для ПЛР ампліфікації обраного *SNP* було розроблено з використанням програми FastPCR [22].

Ампліфікацію у ПЛР проводили за температурним режимом 94 °C – 2 хв, 40 циклів – 94 °C – 30 с, 63 °C – 30 с, 72 °C – 40 с. Рестрикцію ампліфікатів здійснювали згідно протоколу фірми-виробника (Thermo

Fisher Scientific) до кожної з використаних ендонуклеаз, таблиця 1. Електрофоретичне розділення продуктів рестрикції проводили в 2 % агарозному гелі за напруги електричного поля 120 В.

1. Структура праймерів і рестриктази, використані для генотипування.

SNP	Структура праймерів	Ендонуклеаза рестрикції
<i>LEP</i> g.3996 <i>T > C</i>	F: 5'-AACTCCAAGGCACGACAC-3' R: 5'-ACCCTGCTTGATGGTTCGAAAGGCT-3'	<i>Hinf</i> I
<i>LEP</i> g.3469 <i>T > C</i>	F: 5'-AACAGAGGGTCACCGGTTTG-3' R: 5'-TTTGGGAAGAGCAGCTTAGCG-3'	<i>Bgl</i> II
<i>LEP</i> g.2845 <i>A > T</i>	F: 5'-TTGGGCAGCCTGGGAGCAGTC-3' R: 5'-TCCCCACTTAGGGATGGAGGCTGC-3'	<i>Xba</i> I
<i>CTSF</i> g.22 <i>C ≤ G</i>	F: 5'-AGGGAGGGCTGGAGACGGAGTA-3' R: 5'-TCATTCTGGCTCAGCTCCAC-3'	<i>Rsa</i> I

Частоти алелей і генотипів, рівні гетерозиготності H_o (гетерозиготність, що спостерігається) і H_e (очікувана гетерозиготність) були обчислені за використання програмного забезпечення і методики, описаної GenALEX6.0 [23], індекс інформаційного змісту поліморфізму (PIC - polymorphic information content) - PIC калькулятора [24]. Відхилення фактичного розподілу генотипів від рівноважного визначеного за формулою Гарді-Вайнберга статистично оцінено за використання критерію χ^2 .

Асоціативні зв'язки між генотипами та показниками якості туш, м'яса і сала досліджувалися за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) за використання пакетів прикладних програм *Microsoft Excel* 2007.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати аналізу генетичної структури субпопуляції свиней великої білої породи української селекції за генетичними маркерами SNPs *LEP* g.3469 *T > C*, *LEP* g.2845 *A > T*, *LEP* g.3996 *T > C*, *CTSF* g.22 *C ≤ G* наведено в таблиці 2.

Досліджувані гени характеризувалися поліморфізмом за трьома з чотирьох проаналізованих SNP, для SNP *LEP* g.3996 *T > C* виявлено лише алель Т. В субпопуляції за генетичними маркерами *LEP* g.2845 *A > T* і *CTSF* g.22 *C ≤ G* знайдені всі три можливі генотипи, за маркером *LEP* g.3469 *T > C* – тільки два. За генетичним маркером *LEP* g.2845 *A > T* має місце відхилення у розподілі генотипів, що свідчить про певний селекційний тиск на даний поліморфізм і його можливу асоціацію з продуктивними якостями тварин. Серед досліджених генетичних маркерів оптимальними для проведення асоціативного аналізу рівнями інформативності характеризувалися SNP *LEP* g.2845 *A > T* (PIC = 0,3) та *CTSF* g.22 *C ≤ G* (PIC = 0,3). За збалансованого розподілу генотипів за генетичними маркерами оптимального рівня інформативності у дослідній

групі тварин усі генотипові варіанти можуть бути представлені достатньою для асоціативного аналізу кількістю особин. У нашому випадку така ситуація спостерігається для SNP *CTSF* g.22 $C \leq G$ – за цим генетичним маркером відсутнє статистично підтвержене відхилення у розподілі генотипів. У той же час для SNP *LEP* g.2845 $A > T$ має місце відхилення розподілу генотипів від збалансованого і відповідно генотип g.2845 $A > T$ представлений невеликою кількістю особин. Щодо SNP *LEP* g.3469 $T > C$, який характеризується низьким рівнем інформативності, у дослідній групі тварин генотип g.3469 $T > C$ взагалі не представлений.

2. Генетична характеристика субпопуляції свиней великої білої породи української селекції за одноступеневими поліморфізмами генів лептину та катепсину F.

Ген	SNP	M / m	n	Частоти алелей		Частоти генотипів			Гетерозиготність		χ^2	PIC
				M	m	MM	Mm	mm	H _o	H _e		
<i>LEP</i>	g.3469 T > C	A/T	102	0,57	0,43	0,54	0,41	0,04	0,41	0,38	5,7	0,370
<i>LEP</i>	g.2845 A > T	C/T	102	1,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,000
<i>LEP</i>	g.3996 T > C	T/C	102	0,93	0,07	0,86	0,14	0,00	0,14	0,14	0,64	0,122
<i>CTSF</i> F	g.22 $C \leq G$	C/G	102	0,55	0,45	0,31	0,50	0,19	0,51	0,49	0,08	0,375

Примітки: M – мажорний алель, m – мінорний алель, p – частота мажорного алеля, q – частота мінорного алеля, n – кількість тварин у вибірці, H_o – фактична гетерозиготність, H_e – очікувана гетерозиготність, PIC – показник інформаційного змісту поліморфізму, χ^2 - значення критерію χ^2 під час оцінювання вірогідності відхилення в розподілі генотипів від рівноважного, визначеного за формулою Гарді-Вайнберга

Досліджено асоціації SNP генів лептину та катепсину F з окремими показниками структури туші і якості м'яса і сала свиней великої білої породи української селекції. Результати цього дослідження представлені в таблицях 3-5. Встановлено, що SNP *LEP* с. 3469 $T > C$ асоційований з такими показниками якості м'яса і сала свиней, як втрати вологи в м'ясі за термічної обробки, вміст в ньому протеїну, а також, вміст вологи у салі.

М'ясо тварин генотипу *TT* характеризувалися вищим на 16 % показником втрати вологи та на 4 % вищим вмістом протеїну, а сало – на 17 % більшим вмістом вологи у порівнянні із гетерозиготними тваринами. Також спостерігалась тенденція до впливу цього поліморфізму на ніжність м'яса ($p = 0,06$) і вміст в ньому внутрішньом'язового жиру ($p = 0,07$).

Щодо SNP *LEP* g.2845 $A > T$, встановлено декілька статистично підтверджених асоціацій цього генетичного маркера з досліджуваними показниками, а саме, із вмістом внутрішньом'язового жиру, вологоутримуючою здатністю м'яса, вологою в салі, табл.5.

3. Вплив поліморфізму гена *LEP* SNP g. 3469 T > C на фізичні і хімічні показники якості м'яса і сала свиней, $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$

Показники	Генотип g. 3469		P ≤
	TT	TC	
Показники якості м'яса:			
Вологоутримуюча здатність, %	52,70 ± 0,5	53,97 ± 1,4	0,38
Ніжність, с	10,61 ± 0,1	11,52 ± 0,4	0,06
pH 48	5,50 ± 0,02	5,51 ± 0,02	0,45
Втрати вологи за термічної обробки, %	17,25 ± 0,4	14,89 ± 1,3	0,03
Загальна волога, %	72,86 ± 0,3	73,11 ± 0,2	0,48
Зола, %	1,17 ± 0,01	1,12 ± 0,04	0,08
Протеїн, %	21,67 ± 0,1	20,91 ± 0,4	0,02
Внутрішньом'язовий жир, %	9,47 ± 0,4	6,54 ± 1,36	0,07
Кальцій, %	0,17 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,65
Фосфор, %	0,45 ± 0,01	0,45 ± 0,01	0,59
Енергетична цінність, ккал	138,02 ± 1,	139,32 ± 3,	0,72
Показники якості сала:			
Вміст вологи, %	6,55 ± 0,12	5,58 ± 0,13	0,001
Температура плавлення, °C	34,69 ± 0,3	34,44 ± 0,91	0,78

Примітка: p – рівень статистичної значущості різниці показника між групами; P ≤ 0,06-0,09- тенденція до зміни показника за критерієм t Стьюдента; p ≤ 0,05- p ≤ 0,001 — значуща зміна за критерієм t Стьюдент.

М'ясо тварин генотипу AA характеризувалося меншим на 60 % вмістом внутрішньом'язового жиру і вищим на 6 % показником вологоутримуючої здатності у порівнянні із м'ясом гетерозиготних свиней.

Щодо якості сала, вищий показник вмісту вологи спостерігався у свиней генотипу TT (на 24 % вищий від цього показника у свиней генотипу AA). Дещо нижчим він був у тварин генотипу AT, але вищим на 8 % за показник вмісту вологи у салі гомозиготних тварин AA.

Спостерігається тенденція до впливу SNP *LEP* g.2845 A > T на показники енергетичної цінності м'яса та вміст протеїну в м'ясі свиней.

Достатньо обнадійливим, з точки зору пошуку генетичних маркерів якості м'яса свиней великої білої породи, виглядає і SNP *CTSF* g.22 C ≤ G, табл.5.

Встановлено, що SNP *CTSF* g.22 C ≤ G асоційований з такими показниками якості м'яса свиней: жир; вміст кальцію, фосфору та вологоутримуючою здатністю м'яса.

Тварини з генотипом GC мали на 44 % вищий рівень внутрішньом'язового жиру, на 5,8 % вищу вологоутримуючу здатність і на 3 % більшу температуру плавлення сала в порівнянні з тваринами з GG генотипом. В свою чергу, тварини з генотипом GG у порівнянні з гетерозиготними особинами характеризувалися більшою на 4, 6 % вологоутримуючою здатністю. Тварини з генотипом CC мали менший на 3 % вміст протеїну в м'ясі та характеризувалися вищою на 5 % температурою плавлення сала у порівнянні з гомозиготними (GG) свинями. М'ясу тварин з генотипом GC були притаманні більша на 4,6 %

волого-утримуючу здатність та менша на 4,3 % концентрація фосфору у порівнянні із м'ясом тварин генотипу CC. Спостерігалася тенденція до впливу SNP CTSF g.22 C ≤ G на вміст протеїну у м'ясі та температуру плавлення сала свиней великої білої породи української селекції.

4. Вплив поліморфізму гена g.2845 A > T LEP на фізичні і хімічні показники якості м'яса і сала свиней, $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$

Показник	Генотипи <i>LEP</i> g.2845			<i>P</i> ≤		
	AA	AT	TT	AA/A T	AT/T T	AA/T T
Показники якості м'яса:						
Вологоутримуюча здатність, %	54,76 ± 0,73	51,71 ± 0,72	50,62 ± 3,25	0,001	0,64	0,11
Ніжність, с	10,57 ± 0,26	10,03 ± 0,30	11,41 ± 0,54	0,17	0,13	0,33
pH 48	5,51 ± 0,01	5,51 ± 0,01	5,45 ± 0,03	0,84	0,14	0,10
Втрати вологи за термічної обробки, %	7,66 ± 0,18	7,44 ± 0,28	6,84 ± 1,22	0,50	0,52	0,24
Загальна волога, %	73,15 ± 0,17	72,9 ± 0,22	72,52 ± 0,34	0,58	0,27	0,24
Зола, %	1,17 ± 0,021	1,19 ± 0,02	1,13 ± 0,20	0,37	0,33	0,45
Протеїн, %	21,83 ± 1,03	21,40 ± 1,31	21,11 ± 0,10	0,08	0,65	0,17
Внутрішньом'язовий жир, %	6,82 ± 0,80	10,84 ± 0,84	11,16 ± 2,45	0,001	0,90	0,11
Кальцій, %	0,17 ± 0,002	0,17 ± 0,004	0,16 ± 0,003	0,75	0,36	0,21
Фосфор, %	0,46 ± 0,006	0,45 ± 0,008	0,45 ± 0,02	0,85	0,73	0,62
Енергетична цінність, ккал	134,04 ± 1,65	138,74 ± 2,12	143,79 ± 5,1	0,08	0,44	0,09
Показники якості сала:						
Вміст вологи, %	5,95 ± 0,09	6,39 ± 0,18	7,36 ± 1,24	0,03	0,13	0,001
Температура плавлення, °C	34,54 ± 0,47	34,93 ± 0,57	32,80 ± 0,82	0,59	0,22	0,27

Примітка: *p* – рівень статистичної значущості різниці показника між групами;
P ≤ 0,06-0,09- тенденція до зміни показника за критерієм *t* Стюдента;
p ≤ 0,05- *p* ≤ 0,001—значуща зміна за критерієм *t* Стюдента

5. Вплив поліморфізму гену *CTSF* SNP g.22 C ≤ G на товщину шпикую та фізичні і хімічні показники якості м'яса і сала свиней, $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$

Показники	Генотипи <i>CTSF</i> SNP g.22			<i>P</i> ≤		
	GC	CC	GG	GC/CC	CC/G G	GC/G G
Показники якості м'яса:						
Вологоуртимуюча здатність, %	54,49 ±0,67	52,11 ±1,03	51,50 ±1,17	0,05	0,70	0,02
Ніжність, с	10,39 ±0,29	10,85 ±0,37	10,54 ±0,52	0,33	0,62	0,80
pH 48	5,51 ±0,01	5,51±0,01	5,50 ±0,02	0,92	0,67	0,56
Втрати вологи за термічної обробки, %	15,80 ±0,48	15,17±0,9	16,89 ±0,77	0,52	0,19	0,23
Гігроволога, %	7,67 ±0,24	7,15±0,29	7,51±0,36	0,18	0,44	0,73
Зола, %	1,19 ±0,02	1,17±0,03	1,18±0,03	0,48	0,69	0,87
Протеїн, %	21,69 ±0,16	21,28 ±0,25	21,95 ±0,17	0,15	0,07	0,37
Внутрішньом'язовий жир, %	9,47 ±0,87	9,21±1,12	6,60±0,93	0,86	0,12	0,05
Кальцій, %	0,16 ±0,003	0,17 ±0,004	0,17 ±0,003	0,05	0,73	0,11
Фосфор, %	0,45 ±0,006	0,45 ±0,001	0,47±0,01	0,76	0,16	0,04
Енергетична інність, ккал	133,63 ±1,6	141,33 ±2,85	136,34 ±2,22	0,02	0,21	0,36
Показники якості сала:						
Вміст вологи, %	6,26 ±0,17	6,29±0,2	5,95±0,14	0,91	0,23	0,25
Температура плавлення, °C	34,98 ±0,5	35,00±0,6	33,24±0,8	0,98	0,08	0,06

Примітка: *p* – рівень статистичної значущості різниці показника між групами;
P ≤ 0,06-0,09- тенденція до зміни показника за критерієм *t* Стьюдента;
p ≤ 0,05- *p* ≤ 0,001 — значуща зміна за критерієм *t* Стьюдента

Таким чином, кожен із використаних нами генетичних маркерів, що характеризувалися поліморфізмом у свиней великої білої породи української селекції, був асоційований із певними показниками якості м'яса і сала досліджуваної субпопуляції тварин великої білої породи української селекції. Враховуючи фізіологічну значимість лептину і катепсину F у формуванні м'язової тканини, відкладанні як внутрішньом'язового, так і підшкірного жиру, здаються очікуваними такі асоціації генів лептину і катепсину F. Але, зрозуміло, що, взагалі, не кожний із поліморфних маркерів, які виявляються у певному гені, обов'язково буде асоційований із ознаками, які даний ген контролює. Якщо генетичне маркірування базується, безпосередньо, на поліморфізмі так званого нуклеотиду кількісної ознаки (QTN- quantitative trait

nucleotide), то такий генетичний маркер є оптимальним – він прямо асоційований з проявом ознаки. Напроти, для інших поліморфізмів їх асоціація визначається певним фізичним зчепленням з QTN і може бути взагалі відсутня. У нашому випадку генетичні маркери, як гену лептину, так і катепсину F асоційовані з низкою досліджуваних ознак, але невідомо, чи відносяться ці маркери до QTN, чи фізично з ним зчеплені і разом сегрегують у досліджуваній субпопуляції. Але у будь-якому випадку вони мають перспективу щодо їх використання у маркер-асоційованій селекції свиней.

Висновки та перспективи подальших досліджень.

1. Генетичні маркери *LEP* g.3469 *T > C*, *LEP* g.2845 *A > T*, *CTSF* g.22 *C ≤ G* характеризуються поліморфізмом в субпопуляції свиней великої білої породи української селекції племзаводу ДП «ДГ Степне» Інституту свинарства і АПВ НААН Полтавської області. Рівні інформативності генетичних маркерів SNPs *LEP* g.2845 *A > T* (PIC = 0,31) та *CTSF* g.22 *C ≤ G* (PIC = 0,37) є оптимальними для проведення в субпопуляції асоціативного аналізу.

2. Встановлено, що SNP *LEP* с. 3469 *T > C* асоційований з показниками втрати вологи в м'ясі при термічній обробці, вмісту протеїну в м'ясі, вмісту вологи у салі свиней. М'ясо тварин генотипу *TT* характеризувалися вищим на 16 % показником втрати вологи та на 4 % вищим вмістом протеїну, а сало на 17 % більшою вологою у порівнянні із гетерозиготними тваринами.

3. Встановлено асоціації SNP *LEP* g.2845 *A > T* із вмістом внутрішньом'язового жиру, вологоутримуючою здатністю м'яса і вологою сала свиней великої білої породи. М'ясо тварин генотипу *AA* характеризувалося меншим на 60 % вмістом внутрішньом'язового жиру і більшим на 6 % показником вологоутримуючої здатності у порівнянні із м'ясом гетерозиготних свиней.

4. SNP *CTSF* g.22 *C ≤ G* асоційований із показниками вмісту внутрішньом'язового жиру, вмісту кальцію і фосфора у м'ясі свиней великої білої породи української селекції та його вологоутримуючою здатністю.

Проведені генетичні і асоціативні дослідження в субпопуляції свиней породи велика біла української селекції свідчать про вплив поліморфізмів генів лептину і катепсину F на показники продуктивності тварин, зокрема, на окремі параметри структури туши і якості їх м'яса та сала. Генетичні маркери SNPs *LEP* g.3469 *T > C*, *LEP* g.2845 *A > T* і *CTSF* g.22 *C > G* мають перспективу щодо їх використання у маркер-асоційованій селекції свиней. Асоціативні дослідження в інших породах можуть виявити нові асоціації даних маркерів з показниками якості туш, м'яса та сала свиней.

Список використаних джерел

1. Williams, J. L The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology. Rev Sci Tech. 2005. № 24. P. 379–391.

2. Cui, Y., Zhang, F., Xu, J., Li, Z., Xu, S. Mapping quantitative trait loci in selected breeding populations: A segregation distortion approach. *Heredity* (Edinb). 2015; № 115(6). P. 538–546.
3. Ashima, R. S., Jeffrey, S. J. Leptin. *Ann. Rev. Physiol.* 2000. № 62. P. 413–417.
4. Brix, K., Dunkhorst, A., Mayer, K., Jordans, S. Cysteine cathepsins: Cellular roadmap to different functions. *Biochimie.* 2008. Vol. 90 (2). P. 194–207.
5. Paz-Filho, G., Mastroradi, C., Wong, Ma-Li, Licinio J. Leptin therapy, insulin sensitivity, and glucose homeostasis. *Indian J Endocrinol Metab.* 2012. № 6. P. 549–555.
6. Beltowski, J. Leptin and the regulation of renal sodium handling and renal Na⁺-transporting ATPases: role in the pathogenesis of arterial hypertension. *Curr Cardiol Rev.* 2010. № 6(1). P. 31–40.
7. Elias, C. F., Purohit, D. Leptin signaling and circuits in puberty and fertility. *Cell Mol Life Sci.* 2013 Mar. №70(5). P. 841–862.
8. de Oliveira Peixoto, J., Facioni, C., Lopes, S., Soares, M., Pires, V., Barbosa, C. Associations of Leptin gene polymorphisms with production traits in pigs. *J Anim Breed Genet.* 2006. № 123(6). P. 37–83.
9. Balatsky, V., Bankovska, I., Pena, R. N., Saienko, A., Buslyk, T., Korinnyi, S., Doran, O. Polymorphisms of the porcine cathepsins, growth hormone-releasing hormone and leptin receptor genes and their association with meat quality traits in Ukrainian Large White breed. *Mol. Biol. Rep.* 2016. №43 P. 517–526.
10. Chen, C. C., Chang, T., Su, H. Y. Characterization of porcine leptin receptor polymorphisms and their association with reproduction and production traits. *Anim Biotechnol.* 2004. № 15(1). P. 89–102.
11. Bidwell, C. A., Ji, S., Frank, C. R., Cornelius, S. C., Willis, C. M., Spurlock, M. E. Cloning and expression of the porcine obese gene. *Animal Biotechnology.* 1997. № 8. P. 192–206
12. Mammes, O., Betoulle, D., Aubert, R. Novel polymorphism in the 5' region of LEP gene. *Diabetes.* 1998. № 47. P. 487–489.
13. Kennes, Y. M., Murphy, B. D., Palin, M. F. Characterization of swine leptin (LEP) polymorphisms and their association with production traits. *Animal Genetics.* 2001. № 32. P. 215–218.
14. Virgili, R., Parolari, G., Schivazappa, C., Soresi Bondini, C., Volta, R. Proteases in Fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry-cured ham. *J. Food Biochem.* 1998. Vol. 22. P. 53–63.
15. Zavašnik Bergant, T., Turk, B. Cysteine cathepsins in the immune response. *Tissue antigens.* 2006. Vol. 67(5). P. 349–355.
16. Russo, V., Davoli, R., Costa Nanni, L., Fontanesi, L., Baiocco, C., Buttazzoni, L., Galli, S., Virgili, R. Association of the CTSB, CTSF and CSTB genes with growth, carcass and meat quality traits in heavy pigs. *Italian Journal of Animal Science.* 1998. Vol. 2. P. 67–69.
17. Russo, V., Fontanesi, L., Davoli, R., Galli, S. Linkage mapping of the porcine cathepsin F (CTSF) gene close to the QTL regions for meat and fat deposition traits on pig chromosome 2. *Anim. Genet.* 2004. Vol. 35. P. 155–157.
18. Piórkowska, K., Ropka-Molik, R., Eckert, R., Żukowski, K. The association between polymorphisms of three cathepsins and economically important traits in pigs raised in Poland. *Livestock Science.* 2012. № 150 (1-3). P. 316–323.
19. Попов, А. В., Ковындиков, М. С., Сенник, С. Я. Основы биологической химии и зоотехнического анализа. Москва: Колос, 1973. С. 302.

20. Поливода, А. М. Оценка качества свинины по физико-химическим показателям. Свиноводство. 1976. № 24. С. 57–62.
21. Walsh, P. S., Metzger, A., Higuchi, R. Chelex-100 as a medium for extraction of DNA For PCR-based typing From Forensic material. *BioTechniques*. 1991. Vol. 10. P. 506.
22. Fast PCR. URL: <http://www.primerdigital.com/Fastpcr.html> (дата звернення: 25.04.2017).
23. Peakall, R. Smouse, P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006. № 6. P. 288–295.
24. PIC calculator. URL: <http://www.liv.ac.uk/~kempsj/pic.html> (дата звернення: 05.09.2018).

References

1. Williams, J. L. (2005). The use of marker-assisted selection in animal breeding and biotechnology. *Rev Sci Tech*, 24, 379–391.
2. Cui, Y., Zhang, F., Xu, J., Li, Z., Xu, S. (2015). Mapping quantitative trait loci in selected breeding populations: A segregation distortion approach. *Heredity (Edinb)*, 115(6), 538–546.
3. Ashima, R. S., JeFFrey, S. J. (2000). Leptin. *Ann. Rev. Physiol.*, 62, 413–17.
4. Brix, K., Dunkhorst, A., Mayer, K., Jordans, S. (2008). Cysteine cathepsins: Cellular roadmap to diFFerent Functions, *Biochimie*, 90 (2), 194–207.
5. Pankov, Yu. A. (1999). Adipose tissue as an endocrine organ regulating growth, puberty, and other physiological Functions. *Biochemistry*, 1999, 64, 601–609.
6. Zhang, Y., Proenca, R., MaFFei, M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425–432.
7. Ishikawa, M., Pruneda, M. L., Adams-Huet, B., Raskin, P. (1998). Obesity independent hyperinsulinemia in nondiabetic First degree relatives of individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*, 47(5), 788–792.
8. de Oliveira Peixoto, J., Facioni, C., Lopes, S., Soares, M., Pires, V., Barbosa, C. (2006). Associations of Leptin gene polymorphisms with production traits in pigs. *J Anim Breed Genet.*, 123(6), 37–83.
9. Balatsky, V, Bankovska, I, Pena, R. N., Saienko, A., Buslyk, T., Korinnyi, S., Doran, O. (2016). Polymorphisms of the porcine cathepsins, growth hormone-releasing hormone and leptin receptor genes and their association with meat quality traits in Ukrainian Large White breed. *Mol. Biol. Rep.*, 43, 517–526.
10. Chen, C. C., Chang, T., Su, H. Y. (2004). Characterization of porcine leptin receptor polymorphisms and their association with reproduction and production traits. *Anim Biotechnol.*, 15(1), 89–102.
11. Bidwell, C. A., Ji, S., Frank, C. R., Cornelius, S. C., Willis, C. M., Spurlock, M. E. (1997). Cloning and expression of the porcine obese gene. *Animal Biotechnology.*, 8, 192–206.
12. Mammes, O., Betoulle, D., Aubert, R. (1998). Novel polymorphism in the 5' region of LEP gene. *Diabetes*, 47, 487–489.
13. Kennes, Y. M., Murphy, D., Palin, F. (2001). Characterization of swine LEPTin (LEP) polymorphisms and their association with production traits. *Animal Genetics*, 32, 215 – 218.

14. Virgili, R., Parolari, G., Schivazappa, C., Soresi Bondini, C., Volta, R. (1998). Proteases in Fresh pork muscle and their influence on bitter taste formation in dry-cured ham. *J. Food Biochem.*, 22, 53–63.
15. Zavašnik Bergant, T., Turk, B. (2006). Cysteine cathepsins in the immune response. *Tissue antigens.*, 67(5), 349–355.
16. Russo, V., Davoli, R., Nanni Costa, L., Fontanesi, L., Baiocco, C., Buttazzoni L., Galli S., Virgili R. (1998). Association of the CTSB, CTSF and CSTB genes with growth, carcass and meat quality traits in heavy pigs. *Italian Journal of Animal Science*, 2, 67–69.
17. Russo, V., Fontanesi, L., Davoli, R., Galli, S. (2004). Linkage mapping of the porcine cathepsin F (CTSF) gene close to the QTL regions For meat and Fat deposition traits on pig chromosome 2. *Anim. Genet.*, 35, 155–157.
18. Piórkowska, K., Ropka-Molik, R., Eckert, R., Żukowski, K. (2012). The association between polymorphisms of three cathepsins and economically important traits in pigs raised in Poland, *Livestock Science*, 150 (1-3), 316–323.
19. Popov, A. V., Kovyndikov, M. S., Sennik S. Ya. (1973). *Osnovy biologicheskoy himii i zootehnicheskogo analiza [Fundamentals of Biological Chemistry and Zootechnical Analysis]*. Moscow: Kolos, 302.
20. Polivoda, A. M. (1976). Otsenka Kachestva svininy po fiziko-himicheskim pokazatelyam [Assessment of pork quality by physical and chemical indices]. *Svinarstvo*, 24, 57–62.
21. Walsh, P. S., Metzger, A., Higuchi, R. (1991). Chelex-100 as a medium For extraction of DNA For PCR-based typing From Forensic material. *BioTechniques*. 10, 506.
22. Fast PCR. Available at: <http://www.primerdigital.com/Fastpcr.html>.
23. Peakall, R., Smouse, P.E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes.*, 6, 288–295.
24. PIC calculator. Available at: <http://www.liv.ac.uk/~kempsj/pic.html>.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И АССОЦИАТИВНЫЙ АНАЛИЗ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ В ГЕНАХ ЛЕПТИНА И КАТЕПСИНА F СВИНЕЙ

**Е. К. Олейниченко, И. Б. Баньковская, В. Н. Балацкий,
К. Ф. Почерняев, Т. В. Буслик, М. А. Ильченко**

Аннотация. *Представлены результаты генетического и ассоциативного анализа однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) LEP g.3469 T > C, LEP g.2845 A > T, LEP g.3996 T > C, CTSF g.22 C ≤ G проведенного на свиньях крупной белой породы украинской селекции. В исследуемой группе животных гены LEP и CTSF характеризовались полиморфизмом по трем из четырех проанализированных SNPs, для SNP LEP g.3996 T > C обнаружен только аллель T. Исследованы ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов с параметрами качества мяса и сала свиней. Установлено, что SNP LEP g.3469 T > C влияет на показатели содержания протеина и потерь влаги в мясе при термической обработке, а также на содержание влаги в хребтовом сале; SNP LEP g.2845 A > T ассоциированный с влагоудерживающей*

способностью мяса, содержанием внутримышечного жира и влажностью сала; SNP CTSF g.22 C ≤ G имеет связь с показателями содержания жира и кальция в мясе. Наблюдаются тенденции влияния: SNP LEP g.3469 T > C на нежность мяса (p = 0,06), содержание жира (p = 0,07); SNP CTSF g.22 C > G - на уровень общей влаги мяса (p = 0,07), на содержание протеина в мясе (p = 0,07) SNP LEP g.2845 A > T - на показатель энергетической ценности (p = 0,08) и содержание протеина (p = 0,08) в мясе.

Ключевые слова: свиньи, маркер-ассоциированная селекция, ген лептина, ген катепсина F, полиморфизм, качество мяса

GENETIC AND ASSOCIATED ANALYSIS OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN THE GENE OF LEPTIN AND CATHEPSIN F IN PIGS

Y. K. Oliinychenko, I. B. Bankovska, V. N. Balatsky, K. F. Pochernyaev,
T. V. Buslik, M. O. Ilchenko

Abstract. *Leptin gene (LEP) and Cathepsin F (CTSF) are the potential candidates for marker-associated selection, which directly participates in fat storing processes and meat quality in pigs. The results of genetic and associative analysis of single nucleotide polymorphisms (SNP) of LEP g.3469 T > C, LEP g.2845 A > T, LEP g.3996 T > C, CTSF g.22 C ≤ G studied on the population of Ukrainian Large White. In the studied animal group, the SNPs in LEP and CTSF genes were characterized to be polymorphic in three of the four SNPs, but for SNP LEP g.3996 T > C T allele was missing. The associations of single nucleotide polymorphisms with quality of meat and back fat of pigs, in a total of 16 parameters were studied. It has been established that SNP LEP g.3469 T > C influences on the protein content and loss of moisture in meat SNP LEP g.2845 A > T associated with moisture of fat, moisture retaining capacity of meat, content of intramuscular fat; SNP CTSF g.22 C ≤ G associated with the content of fat, natural, energy value, moisture retention capacity and total moisture in meat. There are tendencies of influence: SNP LEP g.3469 T > C for fat content (p = 0,07), tenderness of meat (p = 0,06), natural ash concentration (p = 0,08) SNP CTSF g.22 C on the index of the melting temperature of fat (p = 0,06), total meat moisture (p = 0,07) SNP LEP g.2845 A > T on the energy value of meat (p = 0,09).*

Keywords: *pigs, marker-associated selection, leptin gene, cathepsin F gene, polymorphism, meat quality*