

УДК 575.162

UDC 575.162

03.00.00 Биологические науки

Biological sciences

**АЛЛЕЛЬНЫЕ ВАРИАНТЫ И
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ
МАССЫ АБДОМИНАЛЬНОГО ЖИРА У
КУР****ALLELIC VARIANTS AND EXPRESSION
CANDIDATE GENES FOR ABDOMINAL
FATMASS IN CHICKENS**

Ларкина Татьяна Александровна, аспирантка
SPIN-код: 2296-8896
tanya.larkina2015@yandex.ru
ФГБНУ «Всероссийский научно-
исследовательский институт генетики и
разведения сельскохозяйственных животных»
196601, Санкт-Петербург, г. Пушкин,
Московское шоссе 55А

Larkina Tatyana Aleksandrovna
Postgraduate student
SPIN-code: 2296-8896
tanya.larkina2015@yandex.ru
Federal State Budget Scientific Institution «All-
Russian Institute of Genetics and breeding of farm
animals», 196601, St. Petersburg-Pushkin,
Moskovskoye sh. 55A

Экспрессия 9 генов-кандидатов для количественных признаков масса и содержание абдоминального жира была исследована в жировой ткани, печени, толстом кишечнике, мышцах, гипофизе и головном мозге кур мясного направления (бройлеров) при помощи ПЦР в реальном времени. Выявлены достоверные различия по уровню экспрессии гена высокой мобильности AT hook1 (HMG1A) отношение средних значений уровней экспрессии составляет 2,90 ($P \leq 0,01$) в группах высоким ($3,5 \pm 0,18\%$) и низким ($1,9 \pm 0,56\%$) содержанием абдоминального жира. Уровень экспрессии этого гена коррелирует с содержанием абдоминального жира ($0,70$, $P \leq 0,01$) и массой абдоминального жира ($0,70$, $P \leq 0,01$). Установлено, что в тех же группах птиц достоверно различается экспрессия гена PPARG в печеночной ткани, отношение средних значений уровней экспрессии составляет 3,34 ($P \leq 0,01$). Коэффициент корреляции экспрессии этого гена с содержанием абдоминального жира составил 0,55 ($P \leq 0,05$), а с массой абдоминального жира равен 0,57 ($P \leq 0,01$). Исходя из этих данных, и данных литературных источников можно сделать вывод о возможном участии генов HMG1A, PPARG и FABP2 в депонировании абдоминального жира у кур. Поиск мононуклеотидных полиморфных сайтов (SNP) в регуляторных областях этих генов может позволить найти маркеры для генной селекции бройлеров по массе и содержанию абдоминального жира

The expression of nine candidate genes for QTL abdominal fat weight and relative abdominal fat content was investigated by real-time polymerase chain reaction (PCR) in the liver, adipose tissue, colon, muscle, pituitary gland and brain of broilers. The high mobility group AT hook1 (HMG1A) gene was up-regulated in liver with a ratio of means of 2,90 ($P \leq 0,01$) in the «fatty» group (relative abdominal fat content $3,5 \pm 0,18\%$, abdominal fat weight $35,4 \pm 6,09$ g) relative to the «lean» group (relative abdominal fat content $1,9 \pm 0,56\%$, abdominal fat weight $19,2 \pm 5,06$ g). Expression of this gene was highly correlated with the relative abdominal fat content ($0,70$, $P \leq 0,01$) and abdominal fat weight ($0,70$, $P \leq 0,01$). The peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) gene was also up-regulated in the liver with a ratio of means of 3,34 ($P \leq 0,01$) in the «fatty» group relative to the «lean» group. Correlation of its expression was significant with both the relative abdominal fat content ($0,55$, $P \leq 0,05$) and the abdominal fat weight ($0,57$, $P \leq 0,01$). These data obtained and the data of references will allow the statement that the HMG1A, PPARG and FABP2 genes were candidate genes for abdominal fat deposition in chickens. Searching of rSNPs in regulatory regions of these genes could provide a tool for gene-assisted selection

Ключевые слова: ЭКСПРЕССИЯ,
АБДОМИНАЛЬНЫЙ ЖИР, МАССА, ГЕН,
АНАЛИЗ, СЕЛЕКЦИЯ, КУРИЦА

Keywords: EXPRESSION, ABDOMINAL FAT,
WEIGHT, GENE, ANALYSIS, SELECTION,
CHICKEN

I. Введение

Мясное птицеводство занимает одно из ведущих мест в обеспечении населения продуктами питания в большинстве стран мира. Доля рынка мясной продукции, занимаемая, птицей постоянно растет и по оценке специалистов к 2020 году этот продукт выйдет на первое место. Интерес потребителя к мясу птицы объясняется высокими вкусовыми и диетическими свойствами при относительно низкой стоимости. Современное птицеводство - высокотехнологичная отрасль промышленности, основанная на использовании узкоспециализированных организмов с многократно увеличенной конверсией потребленных питательных веществ в мышечную ткань или яичную массу. Расходы протеина корма на производство 1 кг белка мяса птицы в 2 раза ниже, чем свинины, и в 5 раз ниже, чем говядины. В условиях ограниченных зерновых ресурсов в птицеводстве, как наиболее "скороспелой" отрасли животноводства достигается наибольшая отдача мясом в расчете на единицу затраченного корма.

Более половины производимого на сегодняшний день мяса птицы составляют бройлерные кроссы домашней курицы. Селекция бройлеров по признаку высокой скорости роста параллельно привела к увеличению жирности тушки, что значительно снижает эффективность кормления, не несет коммерческой целесообразности, и снижает потребительскую ценность. Для борьбы с излишней жирностью тушки птиц требуется пристальное изучение факторов участвующих в депонировании жира и разработка методик ослабляющих этот процесс.

Основываясь на функциональных характеристиках генов, связанных с похожими признаками у других животных (различные формы ожирения у человека и лабораторных грызунов, толщина шпига у свиней), мы

отобрали 9 генов, являющихся функциональными кандидатами массы абдоминального жира - FABP1, FABP2, FABP3, HMGA1, MC4R, PPARG, PPARGC1A, POMC и RPTN1.

Белки FABP - это семейство небольших консервативных цитоплазматических белков, связывающих жирные кислоты. Считают, что белки данного семейства играют заметную роль в транспорте и метаболизме жирных кислот. В опытах, которые проводил Атшавес на мышцах, показано, что FABP1 играет огромную роль в утилизации жирных кислот, транспортирует их по клетке, направляя на окисление в митохондрии и пероксисомы. Этот белок соединяет жирные кислоты с коэнзимом А и перетаскивает в аппарат Гольджи для этерификации, секретит липиды очень низкой плотности в межклеточное пространство, а также участвует в хранении жирных кислот в виде липидных капель [1].

Лопес и соавторы [2] с помощью анализа экспрессии на биочипах показали, что на западной (высококалорийной богатой жирами) диете, у крыс, страдающих ожирением, повышена экспрессия генов этого семейства. Эти авторы также сообщили, что по сравнению с контрольной группой у животных, страдающих ожирением, уровень экспрессии генов гамма - рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом (PPARG) и белков связывающих жирные кислоты FABP увеличен в 50 и в 16 раз соответственно.

Ген HMGA1 кодирует негистоновый белок, принимающий участие во многих процессах в клетке, включая регуляцию транскрипции генов, интеграцию в хромосомы ретровирусов и метастатическую активность раковых клеток. Ким и соавторы сообщают о существенном влиянии генов HMGA1 и MC4R на рост и отложение жира у свиней породы дюрок [3].

Ген MC4R кодирует рецептор 4 меланокортина. У бройлеров в гене MC4R обнаружено несколько мутаций. Замена цитозина на тимин в

5'регуляторной области этого гена приводит к появлению дополнительного сайта связывания транскрипционного фактора NF-E2, повышающего уровень экспрессии гена MC4R. Обнаружена также миссенс-мутация в кодирующей части гена MC4R курицы – замена гуанина на аденин в 61-м положении нуклеотида, в результате которой глицин заменяется на аргинин. Кроме того, в кодирующей части этого гена выявлены еще две синонимических замены – гуанина на тимин в 315-м положении нуклеотида и цитозина на тимин в 336-м положении нуклеотида. В этой же работе сообщается о наличии достоверной корреляции описанных SNP, с весом тушки и массой мышц окорочков, однако связи их с депонированием абдоминального жира не обнаружено [4].

Ген POMC, проопиомеланокортин - прогормон, сложный полипептид, синтезируемый кортикотропными клетками передней доли гипофиза и меланотропными клетками средней доли гипофиза, и состоящий из 241 аминокислоты. Проопиомеланокортин влияет на синтез лептина через рецептор 4 меланокортина (MC4R). Показана связь мутаций в этом гене с развитием ожирения у человека [5].

Ген PPAR γ экспрессируется в клетках печени и кодирует гамма-рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом. Этот фермент регулирует транскрипцию различных генов и играет важную роль в дифференцировке адипоцитов. Исследования показали наличие корреляции гиперэкспрессии гена PPAR γ у человека с болезненным ожирением [6]. Экспрессия гена гамма-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом, связана с развитием болезненного ожирения, диабета, атеросклероза и злокачественных новообразований [7].

Ген PPAR γ C1A кодирует альфа 1 коактиватор гамма-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом. Взаимодействие с PPAR-гамма рецептором, позволяет этому протеину работать с большим числом

транскрипционных факторов. Этот ген играет значительную роль в развитии ожирения у человека [8], а у свиней влияет на отложение абдоминального жира и толщину шпига [9].

Ген *PTPN1* кодирует тирозин-фосфатазу нерецепторного типа 1. Протеиновые фосфатазы являются сигнальными молекулами, которые вовлечены в процессы регуляции большого числа клеточных процессов, таких как рост и дифференцировка клеток, митотический цикл и онкогенная трансформация. У человека в данном гене выявлены мононуклеотидные полиморфные сайты (SNP) *IVS5+3666delT* и *IVS6+G82A*, которые ассоциированы с ожирением [10]. Показано, что у здоровых людей наблюдается подавление активности гена *PTPN1*, который инициирует образование белка, блокирующего распознавание и взаимодействие клеток с инсулином. Примерно у каждого четвертого больного сахарным диабетом 2-го типа данный ген по какой-то причине разблокирован и стимулирует выработку белка, нарушающего процесс взаимодействия инсулина с клетками [11].

II. Цель и задачи исследований

Целью данной работы является анализ экспрессии и выявление аллельных вариантов генов-кандидатов по признаку массы абдоминального жира, а также изучение связи отдельных аллелей с массой абдоминального жира у кур.

Поставлены следующие задачи:

- дизайн праймеров с помощью on-line программы Primer3;
- выделение тотальной матричной РНК из абдоминальной жировой ткани, головного мозга, печени, толстого кишечника, мышц от 10 особей домашней курицы с высоким уровнем абдоминального жира и десяти особей с низким уровнем;
- синтез кДНК с помощью обратной транскриптазы;

- определение профиля экспрессии генов-кандидатов в пяти тканях с помощью количественной ПЦР;
- статистическая обработка полученных данных;
- выделение геномной ДНК для генотипирования;
- анализ частот встречаемости аллелей выявленного полиморфного сайта гена FABP2 в группе кур с высоким и низким содержанием абдоминального жира.

III. Материалы и методы

Материалом для данного исследования послужили образцы печени, толстой кишки, жировой и мышечной ткани, гипофиза и головного мозга бройлеров кросса «Isa» в возрасте 35 дней из экспериментального хозяйства ФГБНУ ВНИИГРЖ. Образцы были получены от 10 особей с высоким ($3,5 \pm 0,18\%$) и 10 птиц с низким ($1,9 \pm 0,56\%$) содержанием абдоминального жира. Для генотипирования по гену FABP2 взяли образцы печени 150 бройлеров кросса «Хаббард» в возрасте 45 дней.

Методы

1. Выделение РНК

Матричную РНК выделяли из печени, головного мозга, кишечника, мышц, и жировой ткани (по 100 мг ткани). РНК выделяли из замороженных биологических образцов, используя набор реактивов для выделения РНК Aurum total RNA Fatty and Fibrous Kit (Bio-Rad, США).

2. Дизайн праймеров

Дизайн геноспецифических олигонуклеотидов-праймеров для генов FABP1, FABP2, FABP3, HMGA1, MC4R, PPARG, PPARGC1A, POMC и RTPN1 проводили на основании информации баз данных сети Интернет (www.nlm.ncbi.nih.gov и www.ensembl.org) с помощью компьютерной программы PRIMER_3 (www.genome.wi.mit.edu). Полученные

последовательности праймеров и ткани, в которых оценивали экспрессию вышеуказанных генов, представлены в таблице 1.

Таблица 1– Последовательности праймеров и условия ПЦР

Локус	Номер	Ткань	Праймеры (отжиг при 60 °С)	Размер (п.н.)
<i>FABP1</i>	NM_204192	печень	FW: GGGGAAGAGTGTGAGATGGA RV: GTTGAGTTCGGTCACGGATT	120
<i>FABP2</i>	NM_001007923	кишечник	FW: TGGCATTTAACGGTACTTGGA RV: TCAGATTATCGTGGGCTCCT	111
<i>FABP3</i>	NM_001030889	мышечная	FW: TGAGGAGTTCGATGAGACCA RV: GTCTCCTCCCATCCCACTT	105
<i>HMGAI</i>	NM_204369	печень	FW: CAGGAAGAAACCGGAGGAT RV: CTGAGGATTTCTGCCTTTG	107
<i>MC4R</i>	NM_001031514	мозг	FW: CTCCAGCCTCTCCATTTCTG RV: AAGCTGATGATGCCAGAGT	146
<i>POMC</i>	NM_001031098	гипофиз	FW: ATGCTGGGAGAACAGCAAGT RV: GAACTTGTTCCAGCGGAAAT	181
<i>PPARG</i>	NM_001001460	печень, жировая	FW: GGGGAAGAGTGTGAGATGGA RV: GTTGAGTTCGGTCACGGATT	120
<i>PPARGCIA</i>	NM_001006457	печень	FW: TGGCATTTAACGGTACTTGGA RV: TCAGATTATCGTGGGCTCCT	111
<i>PTPNI</i>	NM_204875	мозг, кишечник	FW: TGAGGAGTTCGATGAGACCA RV: GTCTCCTCCCATCCCACTT	105

В качестве репортерного гена использовали ген GAPDH. Для оценки экспрессии этого гена методом ПЦР в реальном времени нами были использованы следующие праймеры:

GAPDH FW: CCTCTCTGGCAAAGTCCAAG

GAPDH RV: CATCTGCCCATTTGATGTTG

3. ПЦР в реальном времени

Обратную транскрипцию и ПЦР в реальном времени проводили с помощью набора реактивов iScript One-Step RT-PCR Kit (Bio-Rad, США) в следующем режиме:

50°C – 10 минут; 95 – 5 минут; 95°C – 10 секунд; 60°C – 30 секунд; 72°C – 15 секунд (45 циклов); 7°C – хранение, в амплификаторе IQ5 (Bio-Rad, США).

При температуре от 60°C до 95°C проведён анализ кривой плавления. Для определения уровней экспрессии генов-кандидатов был использован метод $2\Delta\Delta C_t$ (Livak&Schmittgen, 2001). Достоверность различий средних значений уровней экспрессии в 2-х группах оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Все вычисления были выполнены с помощью программы Excel 2003 (Microsoft Corp., Сياتл, США).

4. Выделение геномной ДНК из печени

500 мг замороженной ткани печени гомогенизировали. К полученному гомогенату добавляли 0,5 мл гомогенизирующего буфера 10мМ Трис, хорошо перемешивали центрифугировали в течение 10 минут и сливали верхнюю фазу с буфером, далее проводили процедуру повторно, тем самым промывая образцы печени. После добавляли к смеси 5 мкл протеиназы, и 10% SDS. Полученную смесь ставили в термостат на 2 часа. Далее добавляли 0,5 мл фенола интенсивно перемешивали в течение 15 минут и центрифугировали в течение 20 минут при 10000 об/мин. Затем аккуратно переносили верхнюю (водную) фазу в новую пробирку и добавляли 25 мкл NaCl и доводили равным объёмом охлажденного 96% спирта. После центрифугирования осадок ополаскивали 70% этанолом и после 10-минутного центрифугирования при 10000 об/мин супернатант удаляли, а осадок подсушивали на воздухе и растворяли в 0,5 мл TE.

5. Генотипирование

В работе было использовано 150 образцов ДНК бройлеров кросса «Хаббард». Для амплификации гена FABP2 были использованы праймеры:

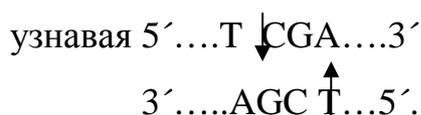
rs 16414509 FW: ACAGAGCATTCACCTGAATGG

rs 16414509 RV: TTGGCCATTCTAATTTGGTGA

Амплификацию ДНК при помощи ПЦР проводили с использованием амплификатора IQ-5 (Bio-Rad, США) в следующем режиме:

95° С – 5 минут; 95° С – 30 секунд; 62° С - 30 секунд; 72° С – 1 минута (30 циклов); 72° С – 7 минут; 7° С – хранение.

Ставили рестрикцию на 2 часа при $t=65^{\circ}\text{C}$, для генотипирования кур по аллелям SNP в гене FABP2 эндонуклеазой рестрикции TaqI, где сайт



Разделение полученных фрагментов проводили методом электрофореза в 1,5 % агарозном геле. Статистическую обработку результатов проводили путем сравнения частот аллелей rSNP в группах при помощи критерия χ^2 и при помощи критерия Стьюдента.

IV. Результаты и обсуждение

С использованием метода ПЦР в реальном времени был исследован уровень экспрессии 9 функциональных генов-кандидатов, оказывающих влияние на массу и содержание абдоминального жира, в жировой ткани, печени, кишечнике, мышцах, гипофизе и головном мозге бройлеров.

Не было выявлено достоверных различий в уровне экспрессии генов FABP1 и PPARGC1A в печени, FABP2 и PTPN1 в кишечнике, MC4R и PTPN1 в мозге, FABP3 в скелетных мышцах, PPARG в жировой ткани и POMC в гипофизе бройлеров, различающихся по содержанию и массе абдоминального жира. Корреляция уровня экспрессии этих генов с изучаемыми признаками также была незначительной (таблица 2).

Таблица 2 – Профилирование экспрессии генов-кандидатов для признака отложение абдоминального жира у бройлеров

Локус / ткань	Отношение средних значений экспрессии жирные/нежирные	Корреляция	
		С массой абдоминального жира	С содержанием абдоминального жира
FABP1 /печень	0.99	-0.04	-0.01
FABP2 / толстая кишка	1.07	0.41	0.32
FABP3 / мышца	1.69	0.35	0.38
HMGA1 / печень	2.90**	0.70**	0.70**
MC4R / головной мозг	0.64	-0.33	-0.23
PPARG / печень	3.34**	0.57**	0.55*
PPARG / жировая ткань	0.92	0.11	0.15
PPARGC1A / печень	0.63	-0.22	-0.22
RTPN1 / толстая кишка	0.56	-0.37	-0.36
RTPN1 / головной мозг	0.97	-0.08	-0.10

*различия статистически достоверны ($P < 0.05$)

** различия статистически достоверны ($P < 0.01$)

В ходе экспериментов нами было обнаружены достоверные различия экспрессии гена HMGA1 в печени «жирных» и «нежирных» бройлеров. Отношение средних значений уровней экспрессии составляет 2,90 ($P \leq 0,01$) в группах высоким ($3,5 \pm 0,18\%$) и низким ($1,9 \pm 0,56 \%$) содержанием абдоминального жира. Уровень экспрессии этого гена коррелирует с содержанием абдоминального жира (0,70, $P \leq 0,01$) и массой абдоминального жира (0,70, $P \leq 0,01$).

Семейство HMGA состоит из четырех белков: HMGA1a, HMGA1b, HMGA1c и HMGA2. Первые три белка являются продуктом одного и того же гена HMGA1, что обусловлено альтернативным сплайсингом. Белки

HMGA участвуют в регуляции активности хроматина. В функциональных регионах промоторов многих генов выявлены сайты связывания ДНК с белками HMGA [12]. Показано, что дифференциация адипоцитов в клеточной линии 3T3-L1 связана с увеличением уровня экспрессии гена HMGA1, а прекращение синтеза белков HMGA1 подавляет дифференциацию жировых клеток [13].

Уровень экспрессии гена PPARG в печени также достоверно различается в группах с различным содержанием и массой абдоминального жира. Отношение средних значений уровней экспрессии составляет 3,34 ($P \leq 0,01$). Коэффициент корреляции равен $-0,55$, $P \leq 0,01$ (Таблица 2). У млекопитающих, продукт гена PPARG представлен двумя изоформами PPARG1 и PPARG2 которые транскрибируются под регуляцией 2-х альтернативных промоторов. В генах ESR1 и PPARG обнаружены три SNP, которые связаны с ожирением у китайцев этнической группы Хань [14].

Ген PPARG вовлечен в активацию экспрессии генов, связанных с депонированием жира, и запускает программы дифференциации адипоцитов. Ванг и соавторы [15] показали, что трансфекция синтезированной *in vitro* короткой интерферирующей РНК (siPPARG) в культивируемые преадипоциты 12-дневных цыплят достоверно ингибирует процессы дифференцировки и усиливает пролиферацию преадипоцитов у кур. Интересно, что оба гена-кандидата (HMGA1 и PPARG) ответственны за пролиферацию адипоцитов и до пяти недельного возраста увеличивают количество жировых клеток (гиперплазия), что имеет решающее значение при отложении абдоминального жира у кур [16].

Эти данные свидетельствуют о том, что гены HMGA1 и PPARG, являются генами-кандидатами, влияющими на депонирование абдоминального жира у кур. Поиск и обнаружение мононуклеотидных

полиморфных сайтов в регуляторной и кодирующей областях генов *HMGA* и *PPARG* могут стать инструментом для создания системы маркеров для генной селекции бройлеров.

Из литературных источников, стало известно, что китайские учёные выявили замену в регуляторной области гена *FABP2*, - 561A>C, и проверили ее на двух линиях бройлеров, различающихся по содержанию брюшного (абдоминального) жира. В добавок к этому они исследовали аддитивный механизм работы гена *FABP2* и фермента ацетил-коэнзим А карбоксилаза альфа (*ACACA*). В гене *ACACA* присутствует замена, в положении 2292G>A. Был проанализирован эпистатический эффект между двумя заменами - 561A>C и 2292G>A в генах *FABP2* и *ACACA* соответственно, что влияет на вес жира (*AFW*) и процент жира (*AFP*). Данные результаты, полезны для дальнейшего понимания генетического взаимодействия между генами-кандидатами [17].

По полученным данным мы провели описательную статистику по гену *FABP2* кросса «Хаббард», посмотрели связь генотипов с весом жира и содержанием жира. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Среднее значение и стандартное отклонение по двум параметрам, вес жира и содержание жира генотипов AA, AC, CC

Признак	AA		AC		CC	
	Среднее значение ± ошибка среднего	Стандартное отклонение	Среднее значение ± ошибка среднего	Стандартное отклонение	Среднее значение ± ошибка среднего	Стандартное отклонение
Вес жира (гр.)	23,7±1,06	8,08	26,05±0,95	8,08	22,9±1,57	7,2
Содержание жира (%)	1,07±0,4	0,33	1,2±0,4	0,3	1,06±0,07	0,33

По табличным данным, можно сделать вывод, что показатели в целом укладываются в распределение Гаусса по содержанию жира (диаграмма 1), и по весу жира (диаграмма 2).

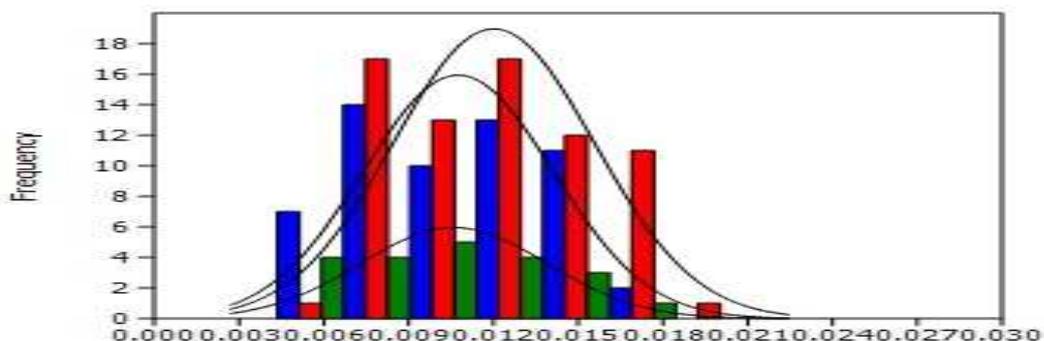


Диаграмма 1 – Ранжирование генотипов в пределах распределения Гаусса. Горизонтальная ось– содержание жира (вес жира (гр.)/вес (гр.) особи). Вертикальная ось– частота встречаемости генотипов. AA генотип – синий цвет, AS– красный цвет, SS генотип– зеленый цвет.

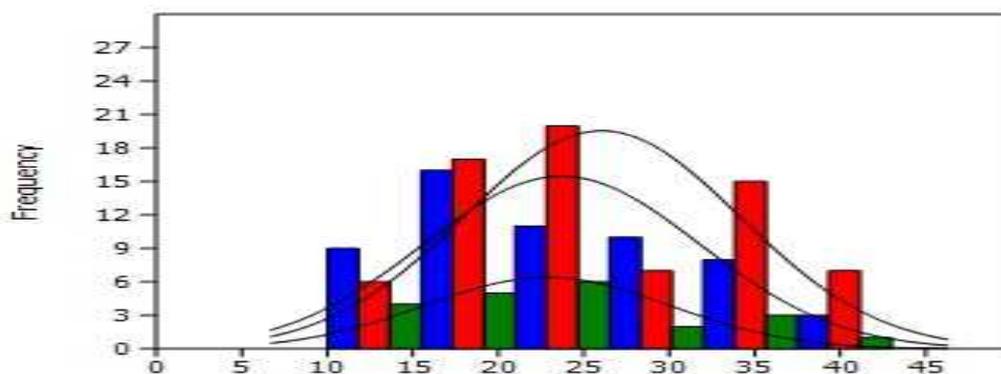


Диаграмма 2 – Ранжирование генотипов в пределах распределения Гаусса. Горизонтальная ось– – вес жира, в граммах. Вертикальная ось–

частота встречаемости генотипов. АА генотип – синий цвет, АС– красный цвет, СС генотип– зеленый цвет.

С помощью дисперсионного анализа были проанализированы данные, по генотипированию кур по признаку масса абдоминального жира, (вес жира (диаграмма 3) и содержание жира (диаграмма 4)).

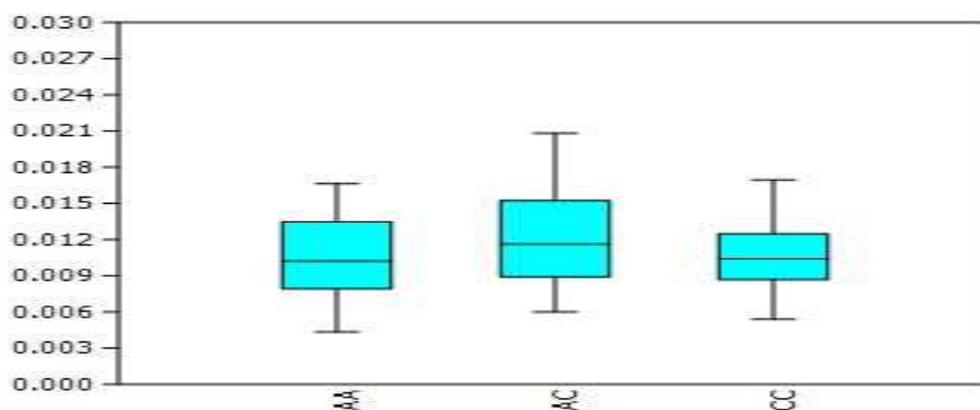


Диаграмма 3 – Связь генотипов с содержанием жира. Горизонтальная ось– частота встречаемости генотипов АА, АС, СС. Вертикальная ось– содержание жира (вес жира (гр.)/вес (гр.) особи). $P = 0,07221$.

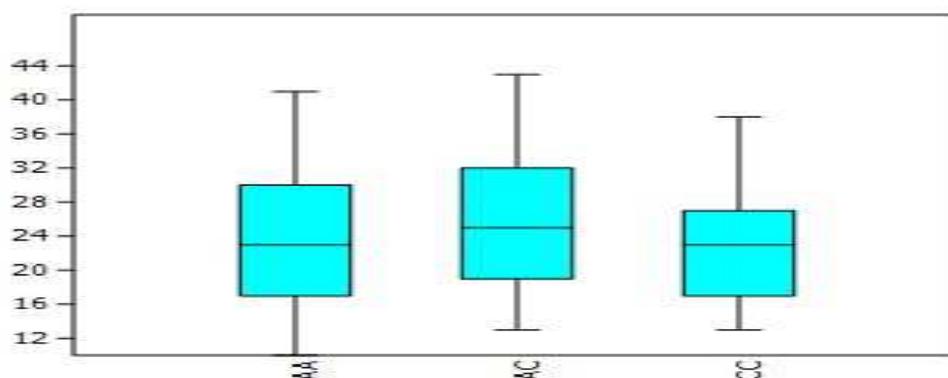


Диаграмма 4 – Связь генотипов с весом жира (гр.). Горизонтальная ось – частота встречаемости генотипов AA, AC, CC. Вертикальная ось – вес жира в (гр). $P = 0,1319$.

Медианы всех трех генотипов находятся на разных уровнях, что говорит о незначительных отличиях, возможно для получения более достоверного результата, требуется увеличить выборку и возможно добавить еще группу кур не содержащих абдоминального жира, чтобы нагляднее проследить связь генотипов с депонированием жира.

V. Выводы

1. В ходе экспериментов нами были обнаружены достоверные различия экспрессии гена *HMGA1* в печени «жирных» и «нежирных» бройлеров. Отношение средних значений уровней экспрессии составляет 2,90 ($P \leq 0,01$) в группах высоким ($3,5 \pm 0,18\%$) и низким ($1,9 \pm 0,56\%$) содержанием абдоминального жира. Уровень экспрессии этого гена коррелирует с содержанием абдоминального жира ($0,70$, $P \leq 0,01$) и массой абдоминального жира ($0,70$, $P \leq 0,01$).

2. Уровень экспрессии гена *PPARG* в печени также достоверно различается в группах с различным содержанием и массой абдоминального жира. Отношение средних значений уровней экспрессии составляет 3,34 ($P \leq 0,01$). Коэффициент корреляции равен $-0,55$, $P \leq 0,01$.

3. Проведен детальный анализ связи частот генотипов AA, AC, CC по мононуклеотидной замене (SNP) гена *FABP2* - 561A>C, с массой абдоминального жира (вес и содержание жира) в группе бройлеров кросса «Хаббард».

Список литературы

1. Atshaves, B. Liver Fatty Acid Binding Protein and Obesity. / Atshaves B., Martin G., Hostetler H., McIntosh A., Kier A., Schroeder F. // *J Nutr Biochem*. 2010. V. 21. P. 1015-1032.
2. Lopez I.P., Marti A., Milagro F.I., et al. DNA microarray analysis of genes differentially expressed in diet-induced (cafeteria) obese rats // *Obesity Research*. 2003. V. 11. P. 188-194.
3. Newberry E.P., Xie Y., Kennedy S.M., et al. Protection against Western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice // *Hepatology*. 2006. V. 44. P. 1191-1205.
4. Meidtner K., Wermter A.K., Hinney A., et al. Association of the melanocortin 4 receptor with feed intake and daily gain in F2 Mangalitsa x Piétrain pigs // *Animal Genetics*. 2006. V. 37. P. 245-247.
5. Bruun C.S., Jorgensen C.B., Nielsen V.H., et al. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire // *Animal Genetics*. 2006. V. 37. P. 359-362.
6. Dubern B., Lubrano-Berthelie C., Mencarelli M., et al. Mutational analysis of the pro-opiomelanocortin gene in French obese children led to the identification of a novel deleterious heterozygous mutation located in the alpha-melanocyte stimulating hormone domain // *Pediatric Research*. 2008. V. 63. P. 211-216.
7. Hindle A.K., Koury J., Mc Caffrey T., et al. Dysregulation of gene expression within the peroxisome proliferator activated receptor pathway in morbidly obese patients // *Surgical Endoscopy*. 2009. V. 23. P. 1292-1297.
8. Qi C., Zhu Y., Reddy J.K. Peroxisome proliferator-activated receptors, coactivators, and downstream targets // *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2000. V. 32. P. 187-204.
9. Okauchi Y., Iwahashi H., Okita K., et al. PGC-1alpha Gly482Ser polymorphism is associated with the plasma adiponectin level in type 2 diabetic men // *Endocrine Journal*. 2008. V. 55. P. 991-997.
10. Stachowiak M., Szydowski M., Cieslak J., et al. SNPs in the porcine PPARGC1a gene: interbreed differences and their phenotypic effects // *Cellular and Molecular Biology Letters*. 2007. V. 12. P. 231-239.
11. Kipfer-Coudreau S., Eberle D., Sahbatou M., et al. Single nucleotide polymorphisms of protein tyrosine phosphatase 1B gene are associated with obesity in morbidly obese French subjects // *Diabetologia*. 2004. V. 47. P. 1278-1284.
12. Cleynen I., Van de Ven W.J. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review) // *International Journal of Oncology*. 2008. V. 32. P. 289-305.
13. Pierantoni G.M., Battista S., Pentimalli F., et al. A truncated HMGA1 gene induces proliferation of the 3T3-L1 pre-adipocytic cells: a model of human lipomas // *Carcinogenesis*. 2003. V. 24. P. 1861-1869.
14. Chen H.H., Lee W.J., Fann C.S., et al. Severe obesity is associated with novel single nucleotide polymorphisms of the ESR1 and PPARGgamma locus in Han Chinese // *American Journal of Clinical Nutrition*. 2009. V. 90. P. 255-262.
15. Wang Y., Mu Y., Li H., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene: a key regulator of adipocyte differentiation in chickens // *Poultry Science*. 2008. V. 87. P. 226-232.
16. Leenstra F.R. Effect of age, sex, genotype and environment on fat deposition in broiler chickens – a review // *World's Poultry Science Journal*. 1986. V. 42 P. 12-25.
17. Hu G., Wang S., Tian J., Chu L., Li H. Epistatic effect between ACACA and FABP2 gene on abdominal fat traits in broilers. // *J Genet Genomics*. 2010. V. 37(8). P. 505-512.

References

1. Atshaves, B. Liver Fatty Acid Binding Protein and Obesity. / Atshaves B., Martin G., Hostetler H., McIntosh A., Kier A., Schroeder F. // *J Nutr Biochem.*– 2010–V. 21. P. 1015-1032.
2. Lopez I.P., Marti A., Milagro F.I., et al. DNA microarray analysis of genes differentially expressed in diet-induced (cafeteria) obese rats // *Obesity Research.* 2003. V. 11. P. 188-194.
3. Newberry E.P., Xie Y., Kennedy S.M., et al. Protection against Western diet-induced obesity and hepatic steatosis in liver fatty acid-binding protein knockout mice // *Hepatology.* 2006. V. 44. P. 1191-1205.
4. Meidtner K., Wermter A.K., Hinney A., et al. Association of the melanocortin 4 receptor with feed intake and daily gain in F2 Mangalitsa x Piétrain pigs // *Animal Genetics.* 2006. V. 37. P. 245-247.
5. Bruun C.S., Jorgensen C.B., Nielsen V.H., et al. Evaluation of the porcine melanocortin 4 receptor (MC4R) gene as a positional candidate for a fatness QTL in a cross between Landrace and Hampshire // *Animal Genetics.* 2006. V. 37. P. 359-362.
6. Dubern B., Lubrano-Berthelier C., Mencarelli M., et al. Mutational analysis of the pro-opiomelanocortin gene in French obese children led to the identification of a novel deleterious heterozygous mutation located in the alpha-melanocyte stimulating hormone domain // *Pediatric Research.* 2008. V. 63. P. 211-216.
7. Hindle A.K., Koury J., Mc. Caffrey T., et al. Dysregulation of gene expression within the peroxisome proliferator activated receptor pathway in morbidly obese patients // *Surgical Endoscopy.* 2009. V. 23. P. 1292-1297.
8. Qi C., Zhu Y., Reddy J.K. Peroxisome proliferator-activated receptors, coactivators, and downstream targets // *Cell Biochemistry and Biophysics.* 2000. V. 32. P. 187-204.
9. Okauchi Y., Iwahashi H., Okita K., et al. PGC-1alpha Gly482Ser polymorphism is associated with the plasma adiponectin level in type 2 diabetic men // *Endocrine Journal.* 2008. V. 55. P. 991-997.
10. Stachowiak M., Szydlowski M., Cieslak J., et al. SNPs in the porcine PPARGC1a gene: interbreed differences and their phenotypic effects // *Cellular and Molecular Biology Letters.* 2007. V. 12. P. 231-239.
11. Kipfer-Coudreau S., Eberle D., Sahbatou M., et al. Single nucleotide polymorphisms of protein tyrosine phosphatase 1B gene are associated with obesity in morbidly obese French subjects // *Diabetologia.* 2004. V. 47. P. 1278-1284.
12. Cleynen I., Van de Ven W.J. The HMGA proteins: a myriad of functions (Review) // *International Journal of Oncology.* 2008. V. 32. P. 289-305.
13. Pierantoni G.M., Battista S., Pentimalli F., et al. A truncated HMGA1 gene induces proliferation of the 3T3-L1 pre-adipocytic cells: a model of human lipomas // *Carcinogenesis.* 2003. V. 24. P. 1861-1869.
14. Chen H.H., Lee W.J., Fann C.S., et al. Severe obesity is associated with novel single nucleotide polymorphisms of the ESR1 and PPARGgamma locus in Han Chinese // *American Journal of Clinical Nutrition.* 2009. V. 90. P. 255-262.
15. Wang Y., Mu Y., Li H., et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene: a key regulator of adipocyte differentiation in chickens // *Poultry Science.* 2008. V. 87. P. 226-232.
16. Leenstra F.R. Effect of age, sex, genotype and environment on fat deposition in broiler chickens – a review // *World's Poultry Science Journal.* 1986. V. 42 P. 12-25.

17. Hu G., Wang S., Tian J., Chu L., Li H. Epistatic effect between ACACA and FABP2 gene on abdominal fat traits in broilers. // J Genet Genomics. 2010. V. 37(8). P. 505-512.