

ГЕН ЭРИТРОПОЭТИНОВОГО РЕЦЕПТОРА (EPOR) – НОВЫЙ ГЕН-МАРКЕР МНОГОПЛОДИЯ СВИНОМАТОК**Дойлидов В.А., Каспирович Д.А.*, Лобан Н.А.**, Банникова А.Д.******УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь**РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству»,
г. Жодино, Минская обл., Республика Беларусь***ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства Россельхозакадемии»,
пос. Дубровицы, Московская обл., Российская Федерация

Приведены результаты исследований по проведению генетического анализа свиней белорусской крупной белой и белорусской мясной пород на характер полиморфизма гена-рецептора EPOR, положительно влияющего на размер и массу гнезда при рождении.

Results of researches on carrying out of the genetic analysis of pigs of the breeds of selection of Belarus on character of polymorphism of gene-receptor EPOR positively influencing for the size and weight of a jack at a birth are resulted.

Введение. Репродуктивные признаки, особенно многоплодие и сохранность поросят, являются одними из наиболее важных экономических показателей в свиноводстве [1]. Свыше 40 последних лет в свиноводстве размеры гнезда пытаются увеличить с помощью селекционных программ с использованием высокопродуктивных линий свиноматок и методов гибридизации. Однако прямая селекция свиней на плодовитость характеризуется малой эффективностью из-за низкой наследуемости признака ($h^2=0,1-0,3$) и ограниченного полом проявления [2, 5].

Благодаря развитию молекулярной биологии стало возможным выявлять индивидуальные гены, контролирующие репродуктивные признаки, определять их полиморфизм и использовать в селекции в качестве маркеров воспроизводства. Так, влияние на размеры гнезда было обнаружено для гена *Booroola* у овец, гена эстрогенового рецептора (ESR) и гена пролактинового рецептора у свиней (PRLR) [4, 8].

В настоящее время в лаборатории молекулярной генетики ВИЖ (Россия) освоена методика генетического анализа свиней на характер полиморфизма гена эритропоэтинового рецептора (EPOR), влияющего на многоплодие свиноматок.

В 1906 году французские ученые Carnot и De Flandre первыми высказали предположение о возможном существовании в организме гормонального фактора, контролирующего эритропоэз, и назвали его эритропоэтином (ЕРО). В чистом виде гормон был выделен в 1977 году. Вырабатывается он, главным образом, в почках и в меньшей степени (от 5 до 15%) в печени, а регуляция данного процесса осуществляется м-РНК [3].

Во многих экспериментальных исследованиях было доказано, что ЕРО является мультифункциональным трофическим фактором, имеет различные сайты экспрессии, специфическую тканевую регуляцию и ряд различных механизмов воздействия. Функциональные рецепторы к ЕРО были найдены не только на мембранах клеток красного костного мозга, но и на клетках миелоидного ряда, лимфоцитах, мегакариоцитах, а также на эндотелиальных и гладкомышечных клетках. Кроме того, идентифицированы и другие участки ЕРО продукции, в частности матка и головной мозг. Кроме того, ЕРО является промотором пролиферации эндотелиальных клеток, эмбриональных стволовых клеток печени и гладкой мускулатуры [6].

Продукция гормона генетически детерминирована. Ключевой регулятор созревания и дифференциров-

ки эритроцитов – фактор GATA-1. Сайты его связывания обнаружены в регуляторных районах практически всех эритроидспецифичных генов. Благодаря этому под действием GATA-1 осуществляется одновременная стимуляция транскрипции всех этих генов. Таким образом происходит включение каскада процессов, обеспечивающих терминальную дифференцировку и созревание эритроцитов [9].

Сайт связывания фактора GATA-1 присутствует также в промоторе гена, кодирующего рецептор эритропоэтина (EPOR). В результате активации транскрипции этого гена увеличивается количество молекул эритропоэтинового рецептора на клеточной мембране, повышается интенсивность прохождения сигнала от эритропоэтина через его рецептор к гену GATA-1. Тем самым обеспечивается дополнительное автоусиление транскрипции гена GATA-1 [7].

Единичный нуклеотидный полиморфизм в гене EPOR (С против Т) создает дополнительный сайт GATA-1. Для обнаружения аллеля EPOR^T в интроне 4 гена рецептора эритропоэтина свиней (EPOR) учеными лабораторией молекулярной генетики ВИЖ (Зиновьева Н. А., Банникова А. Д.) был разработан и апробирован анализ генотипирования SNP. Согласно их исследованиям, наличие аллеля EPOR^T в гене EPOR ассоциативно связано с увеличением внутриутробной вместимости у свиноматок и оказывает, соответственно, влияние на выживаемость эмбрионов. В общей сложности были отобраны случайной выборкой 402 свиноматки, у которых контролировали норму овуляции и утробную вместимость. У исследованных свиноматок размер гнезда был достоверно связан с генотипом EPOR. Было установлено, что у гомозиготных особей по аллелю EPOR^T, по сравнению с аллелем EPOR^C, размер гнезда увеличен на 2,6 поросенка, тогда как эффект гетерозигот незначителен. Эти результаты указывают на связь гена EPOR с размером гнезда, что может быть использовано для повышения многоплодия свиноматок.

Цель работы – выявить влияние полиморфизма гена эритропоэтинового рецептора (EPOR) на продуктивные качества свиноматок и воспроизводительные способности хряков белорусской мясной породы.

Для осуществления этой цели поставлены следующие задачи:

- определить генетическую структуру по гену EPOR популяции свиней белорусской мясной породы, разводимой в условиях СГЦ «Заднепровский» Оршанского района Витебской области;
- определить влияние характера полиморфизма гена эритропоэтинового рецептора (EPOR) на продуктивность свиноматок;
- определить влияние характера полиморфизма гена эритропоэтинового рецептора (EPOR) на качество спермопродукции и оплодотворяющую способность хряков-производителей.

Материал и методы. Генетический анализ свиноголовья белорусской крупной белой и белорусской мясной пород проводился в условиях селекционно-гибридного центра «Заднепровский» Оршанского района и ПЗ «Порплище» Докшицкого района Витебской области. Объектом исследования явились хряки-производители, свиноматки и поросята-сосуны исследуемых пород. В качестве исходного материала отбирались биопробы из ушной раковины хряков-производителей и основных свиноматок, которые консервировались в 100% спирте. В условиях лаборатории молекулярной генетики (ВИЖ, Россия) из образцов была выделена ДНК с последующим анализом полиморфизма гена эритропоэтинового рецептора.

В ходе наших исследований были учтены:

- 1) частота встречаемости генотипов и аллелей гена эритропоэтинового рецептора (EPOR) в популяциях свиней белорусской крупной белой и белорусской мясной пород;
- 2) общее число поросят при рождении, в том числе из них количество живых;
- 3) крупноплодность свиноматок как признак, обратно коррелирующий с многоплодием.

Результаты исследований. Для изучения полиморфизма гена EPOR было проведено ДНК-тестирование 79 свиноматок и 27 хряков-производителей белорусской мясной породы, разводимой в РУСП СГЦ «Заднепровский» Оршанского района, а также 6 хряков-производителей и 25 свиноматок белорусской крупной белой породы, разводимой в ПЗ «Порплище» Докшицкого района Витебской области.

Анализ результатов генетических тестов позволил выявить частоту встречаемости генотипов и аллелей по данному гену (таблица 1).

Таблица 1 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена EPOR

Половозрастные группы	n	Частоты генотипов, %			Частоты аллелей	
		EPOR ^{TT}	EPOR ^{CT}	EPOR ^{CC}	EPOR ^T	EPOR ^C
БМП (РУСП СГЦ «Заднепровский»)						
Хряки	29	29,6	44,5	25,9	0,52	0,48
Свиноматки	79	21,9	56,9	15,2	0,56	0,44
БКБП (ПЗ «Порплище»)						
Хряки	6	-	66,7	33,3	0,34	0,66
Свиноматки	25	-	44,0	56,0	0,22	0,78

По локусу гена EPOR в исследованной группе свиней белорусской мясной породы более половины свиноматок (56,9 %) имели гетерозиготный генотип EPOR^{CT}. Частота встречаемости желательного, гомозиготного генотипа EPOR^{TT} оказалась относительно невысокой: от 21,9 % у свиноматок до 29,6 % у хряков-производителей.

Среди животных белорусской крупной белой породы гомозиготного генотипа EPOR^{TT}, отвечающего за высокое многоплодие, выявлено не было, а более половины маток имели нежелательный генотип EPOR^{CC}.

У исследованных животных была выявлена довольно высокая частота встречаемости аллеля EPOR^C: от 0,48 у хряков белорусской мясной породы до 0,67 у хряков белорусской крупной белой породы. У свиноматок частота встречаемости составила, соответственно, от 0,44 до 0,78.

Поскольку характер полиморфизма гена EPOR связан с размером гнезда, за основной изучаемый пока-

затель было взято многоплодие свиноматок. Результаты исследований влияния различных генотипов маток по гену эритропоэтинового рецептора представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние характера полиморфизма гена EPOR на многоплодие свиноматок

Генотип матки	n	Всего родилось, гол.	Живых при рождении, гол.	Крупноплодность, кг	Масса гнезда при рождении, кг
БМП (РСУП СГЦ «Заднепровский»)					
EPOR ^{TT}	67	11,7±0,33**	11,1±0,31**	1,4±0,02	16,3±0,46**
EPOR ^{CT}	122	11,0±0,26	10,5±0,25*	1,5±0,02	15,9±0,35*
EPOR ^{CC}	37	10,1±0,48	9,4±0,46	1,5±0,04	13,9±0,78
БКБП (ПЗ «Порплище»)					
EPOR ^{CT}	42	10,9±0,36	10,8±0,36	1,06±0,007	11,5±0,38
EPOR ^{CC}	24	10,3±0,41	10,3±0,41	1,08±0,01	11,1±0,39

Примечание: здесь и далее * - P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001

Анализ полученных данных позволил установить, что свиноматки белорусской мясной породы с предпочтительным генотипом (EPOR^{TT}) достоверно (P<0,01) превосходят свиноматок с нежелательным генотипом (EPOR^{CC}) по количеству родившихся поросят на 1,6 гол. По количеству живых поросят при рождении свиноматки с генотипами EPOR^{TT} и EPOR^{CT} также достоверно (P<0,01, P<0,05) превосходят свиноматок с генотипом EPOR^{CC} на 1,7 и 1,1 гол., соответственно. Несмотря на относительно высокую крупноплодность свиноматок с генотипом EPOR^{CC} свиноматки с генотипом EPOR^{TT} отличались более высокой (P<0,01) массой гнезда при рождении – на 2,4 кг.

Среди свиноматок белорусской крупной белой породы также отмечена выраженная тенденция к повышению многоплодия – на 0,5 голов – у особей, несущих в своем генотипе хотя бы один желательный аллель EPOR^T по сравнению с генотипом EPOR^{CC}.

Поскольку многоплодие как репродуктивный признак в определенной степени зависит от возраста свиноматок, нами дополнительно было исследовано влияние генотипов маток на их многоплодие в зависимости от возраста. Результаты исследований представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Влияние полиморфизма гена EPOR на плодовитость свиноматок в зависимости от количества опоросов

Группы маток	Генотип	n	Всего родилось, гол.	Живых при рождении, гол.	Крупноплодность, кг	Масса гнезда при рождении, кг
БМП (РСУП СГЦ «Заднепровский»)						
Первоопороски	TT	20	10,2±0,51	9,6±0,53	1,4±0,04	13,8±0,86
	CT	43	10,3±0,41	9,7±0,39	1,5±0,03	14,1±0,51
	CC	12	9,8±0,81	8,7±0,69	1,4±0,06	12,2±1,24
С двумя и более опоросами	TT	47	12,4±0,39**	11,7±0,36**	1,5±0,02	17,4±0,46*
	CT	79	11,4±0,32	11,0±0,32	1,5±0,02	16,8±0,43
	CC	25	10,2±0,60	9,8±0,60	1,5±0,06	14,7±0,97
БКБП (ПЗ «Порплище»)						
Первоопороски	CT	8	10,2±0,72	10,2±0,72	1,0±0,01	10,8±0,74
	CC	13	10,5±0,43	10,5±0,43	1,0±0,01	11,3±0,44
С двумя и более опоросами	CT	34	11,0±0,41	11,0±0,42	1,0±0,01	11,7±0,43
	CC	11	10,0±0,75	10,0±0,75	1,1±0,02	10,8±0,69

Как видно из таблицы, желательный генотип EPOR^{TT} независимо от возраста свиноматок оказывает положительное влияние на их многоплодие. Так свиноматки белорусской мясной породы с желательным гомозиготным генотипом EPOR^{TT} по первому опоросу превосходили сверстниц с генотипом EPOR^{CC} по количеству живых поросят при рождении на 0,9 голов. Среди свиноматок с двумя и более опоросами данное увеличение (P<0,01) многоплодия составило 1,9 головы.

Среди свиноматок белорусской крупной белой породы с двумя и более опоросами также выявлена зависимость между многоплодием и генотипом. Матки с генотипами EPOR^{CC} и EPOR^{CT} различались по многоплодию на 1 поросенка.

Заключение. Результаты исследований свидетельствуют о возможности использования гена эритропоэтинового рецептора (EPOR) как генетического маркера, определяющего плодовитость свиней пород белорусской селекции.

Частота встречаемости нежелательного аллеля EPOR^C гена EPOR среди исследуемого свиноголовья колебалась в достаточно широком диапазоне: от 44 % у свиноматок белорусской мясной породы до 78 % у свиноматок белорусской крупной белой породы.

Анализ влияния генотипа по гену EPOR на многоплодие свиноматок белорусской мясной породы показал, что свиноматки с предпочтительным генотипом (EPOR^{TT}) достоверно (P<0,01) превосходили свиноматок с нежелательным генотипом (EPOR^{CC}) по количеству живых поросят при рождении на 1,7 гол. Среди свиноматок белорусской крупной белой породы с генотипом EPOR^{CT} превышение по многоплодию над матками EPOR^{TT} составило 0,5 гол.

Желательный генотип EPOR^{TT} независимо от возраста свиноматок оказывает положительное влияние на их многоплодие.

Мы рекомендуем проводить генетическое тестирование по определению полиморфизма гена эритропоэтинового рецептора (EPOR) среди животных белорусской крупной белой и белорусской мясной пород. Подбор родительских пар селекционного ядра проводить с учетом генотипов, отдавая предпочтение животным, несущим аллель EPOR^T.

Литература. 1. Ассоциация гена эстрогенового рецептора с репродуктивными признаками свиноматок белорусской и крупной белой пород / И. П. Шейко [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. / Национальная академия наук Беларуси, Институт животноводства. – Гродно, 2006. – Т.41. – С.103-109. 2. Гладырь, Е. А. Исследование гена эстрогенового рецептора как маркера многоплодия свиней / Е. А. Гладырь, О. Карамчакова, Н. А. Зиновьева // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных: материалы Международной научной конференции 19-20 ноября 2002. – Дубровицы, 2002. – С.114-115. 3. Ермоленко В.М., Николаев А.Ю. Эритропоэтин: биологические свойства и применение в клинике. Тер. арх. 1990;62(11):141-145. 4. Зиновьева, Н. А. Методы исследований в биотехнологии сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева // Новые методы генодиагностики и генотерапии: современное состояние и перспективы использования в сохранении генофонда сельскохозяйственных животных: материалы 5-ой Международной школы-конференции, ВИЖ. – Дубровицы, 2005. – С.132. 5. Лобан, Н. А. Селекционно-генетические методы повышения продуктивности свиней: аналитический обзор / Н. А. Лобан; рец. И. П. Шейко; РУП «Институт животноводства НАН Беларуси». – Минск, 2005. – 55 с. 6. Chikuma M., Masuda S., Kobayashi T. et al. Tissue-specific regulation of erythropoietin production in the murine kidney, brain and uterus. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2000;279:1242-1248. 7. Chin K., Oda N., Shen K., Noguchi C.T. Regulation of transcription of the human erythropoietin receptor gene by proteins binding to GATA-1 and Sp1 motifs. //Nucl. Acids Res., 23, 1995, 3041-3049. 8. Full polymorphisms at the porcine estrogen receptor locus (ESR) / M. F. Rothschild [et al.] // Anim. Genet. – 1991. – Vol.22. – P. 448. 9. Vieille-Grosjean I., Huber P. Transcription factor GATA-1 regulates human HOXB2 gene expression in erythroid cells. //J. Biol. Chem., 270, 1995, 4544-4550.