

ЖЫВЁЛАГАДОЎЛЯ І ВЕТЭРЫНАРНАЯ МЕДЫЦЫНА

ANIMAL HUSBANDRY AND VETERINARY MEDICINE

УДК 636.32/38.082.24:577.21
<https://doi.org/10.29235/1817-7204-2021-59-1-71-80>

Поступила в редакцию 22.06.2020
Received 22.06.2020

А. Ю. Криворучко, О. А. Яцык, Т. Ю. Саприкина, Д. Д. Петухова

Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», Ставрополь, Россия

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ ПОИСК АССОЦИАЦИЙ (GWAS) С ПРОДУКТИВНОСТЬЮ У ОВЕЦ РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ

Аннотация: Использование генетических технологий в селекции мелкого рогатого скота требует поиска новых молекулярных маркеров продуктивных качеств. Наиболее эффективным для этого является полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с хозяйственно ценными признаками. В статье приведены результаты исследования ассоциаций частоты однонуклеотидных полиморфизмов с ранговой оценкой по комплексу продуктивных признаков («супер-элита») у овец романовской породы при помощи ДНК-биочипов Ovine Infinium HD BeadChip 600K. Обнаружено одиннадцать SNP, имеющих достоверную связь с принадлежностью животных к группе «супер-элита». Пять замен находятся в интронах генов, шесть относятся к межгенным полиморфизмам. Наибольшая достоверность ассоциации с продуктивностью наблюдалась у замены rs410516628 ($p = 3,14 \cdot 10^{-9}$), находящейся на 3-й хромосоме. Замена rs422028000 на 2-й хромосоме отличается тем, что в группе «супер-элитных» животных она обнаруживалась в 90 % гаплотипов. Полиморфизмы rs411162754 (1-я хромосома) и rs417281100 (10-я хромосома) в нашем исследовании оказались самыми редкими – только в группе «супер-элитных» особей и только в четверти гаплотипов. Гены, находящиеся рядом с выявленными SNP, преимущественно связаны с обменными и регуляторными процессами. Наше исследование выявило несколько новых генов-кандидатов, полиморфизм которых может быть связан с ранговой оценкой по показателям продуктивности у овец романовской породы: *LTVPI*, *KCNH8*, *LMX1B*, *ZBTB43*, *MSRA*, *CHPF*, *PID1*, *DNER*. Полученные результаты создают теоретическую базу для дальнейшего изучения генов-кандидатов, влияющих на реализацию фенотипических признаков у овец романовской породы. Выявленные полиморфизмы, ассоциированные с продуктивными качествами овец, могут быть использованы в практической селекции как молекулярно-генетические маркеры для подбора родительских пар.

Ключевые слова: овцеводство, овца, баранчики, романовская порода, продуктивность, селекционная работа, геномная селекция, гаплотипы, генетические маркеры, полногеномный поиск ассоциаций, гены-кандидаты, GWAS, SNP

Для цитирования: Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) с продуктивностью у овец романовской породы / А. Ю. Криворучко, О. А. Яцык, Т. Ю. Саприкина, Д. Д. Петухова // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2021. – Т. 59, № 1. – С. 71–80. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2021-59-1-71-80>

Alexander Y. Krivoruchko, Olesya A. Yatsyk, Tatyana Y. Saprikina, Daria D. Petukhova

*All-Russian Research Institute for Sheep and Goat Breeding -
branch of the North Caucasus Federal Agricultural Research Center, Stavropol, Russia*

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY (GWAS) WITH PRODUCTIVITY IN ROMANOV SHEEP BREED

Abstract: Genetic technologies used in breeding of small ruminants requires searching for new molecular markers of productive traits. The most effective for this is genome-wide association study (GWAS) of single nucleotide polymorphisms (SNP) with economically valuable traits. The paper presents results of study of associations of the frequency of single nucleotide polymorphisms with a rank assessment according to complex of productive traits (super-elite) in Romanov sheep

using DNA biochips Ovine Infinium HD BeadChip 600K. Eleven *SNPs* have been found having significant correlation with the animals belonging to the “super-elite” group. Five substitutions are located in the genes introns, six are related to intergenic polymorphisms. The highest reliability of association with productivity was observed in substitution rs410516628 ($p = 3,14 \cdot 10^{-9}$) located on the 3rd chromosome. Substitution rs422028000 on 2nd chromosome differs with the fact that in the “super-elite” group it was found in 90 % of haplotypes. Polymorphisms rs411162754 (1st chromosome) and rs417281100 (10th chromosome) in our study turned out to be the rarest – only in “super-elite” group and only in a quarter of haplotypes. The genes located near the identified *SNPs* are mainly associated with metabolic and regulatory processes. Our study has identified several new candidate genes with polymorphism probably associated with the ranking in terms of productivity in Romanov sheep: *LTBP1*, *KCNH8*, *LMX1B*, *ZBTB43*, *MSRA*, *CHPF*, *PID1* and *DNER*. The results obtained create a theoretical basis for further study of candidate genes affecting implementation of phenotypic traits in Romanov sheep. The revealed polymorphisms associated with the productive traits of sheep can be used in practical breeding as molecular and genetic markers for selection of parental pairs.

Keywords: sheep breeding, sheep, rams, Romanov breed, productivity, breeding work, genomic selection, haplotypes, genetic markers genome-wide associations search, candidate genes, *GWAS*, *SNP*

For citation: Krivoruchko A. Y., Yatsyk O. A., Saprikina T. Y., Petukhova D. D. Genome-wide association study (GWAS) with productivity in Romanov sheep breed. *Vesti Natsyyanal'nykh akademii nauk Belarusi. Seryya agrarnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian series*, 2021, vol. 59, no 1, pp. 71-80 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2021-59-1-71-80>

Введение. Применение современных геномных технологий для прогнозирования продуктивных качеств сельскохозяйственных животных и выведения новых пород является одним из важнейших направлений в животноводстве [1]. Для этого проводится достаточно большое количество исследований по обнаружению новых генов, влияющих на показатели продуктивности у различных пород животных [2]. Оценку параметров генотипа, как правило, проводят по совокупности однонуклеотидных полиморфизмов нуклеиновых кислот (single nucleotide polymorphism, *SNP*), которые также можно применять как молекулярно-генетические маркеры для выбора пар животных при скрещивании в процессе селекционной работы [3].

Для выявления новых генов-кандидатов, связанных с хозяйственно ценными признаками у животных, используют технологию полногеномного поиска ассоциаций (genome-wide association study, *GWAS*) на основе ДНК-чипов, позволяющих одновременно выявлять сотни тысяч *SNP* [4, 5]. В качестве исследуемого признака в этом случае используется или напрямую измеренная величина (вес, высота в холке), или на основе множества подобных величин строится математическая модель, снижающая воздействие на оценку продуктивности случайных факторов [6, 7]. Оба этих варианта не всегда адекватно оценивают хозяйственную ценность животных, поэтому актуальным является разработка новых методов подготовки информации для проведения *GWAS* [8].

Один из таких подходов может быть реализован на основании того, что среди породистых животных в любом стаде имеется определенная дисперсия по показателям продуктивности. На основании этого можно выделить как особей с относительно низкими показателями продуктивности, так и представителей с исключительно высокими для данной породной группы параметрами. Таких животных относят к классу «супер-элитных» и демонстрируют на выставках селекционных достижений. Этим особям, как правило, очень небольшое количество, но они являются наиболее ценными в селекционной работе по улучшению качеств породы. К сожалению, процесс появления животных с наивысшими показателями является в большинстве своем случайным и слабо прогнозируемым, а их потомство далеко не всегда наследует родительский уровень показателей продуктивности. Исходя из этого становится понятным, что чисто фенотипическая оценка в селекции уже не отвечает современным требованиям к селекционному процессу. Если же дополнить ее исследованием совокупности из нескольких сотен тысяч локусов в геноме, что вполне возможно на сегодняшнем уровне развития молекулярно-генетических методов, с точки зрения генетики можно объяснить появление выдающихся представителей в породе и разработать метод прогнозирования для направленного получения таких животных [9]. Наиболее перспективным в этом отношении как раз и является технология полногеномного сканирования по параметрам однонуклеотидных полиморфизмов в процессе *GWAS*, часть из которых уже связана с локусами количественных признаков (quantitative trait loci, *QTL*), а остальные показали достаточный уровень частоты встречаемости в референсных выборках животных для обнаружения сдвигов под давлением отбора [10].

Среди сельскохозяйственных животных наибольшее количество сканирований генома по SNP проведено для молочных пород крупного рогатого скота. Накопление большой базы данных генотипирования позволило повысить эффективность прогнозирования продуктивных качеств быков до 70 %. Используя эти результаты, в ряде стран с высоким уровнем развития животноводства стало возможным включить геномную оценку в список обязательных параметров племенной ценности молочных пород крупного рогатого скота [11].

Однако геномная селекция не является распространенной среди селекционных приемов у овец. Это связано как с наличием большого количества пород, по сравнению с крупным рогатым скотом, где среди молочных пород доминирует голштинская, так и с большой зависимостью продуктивных качеств овец от состояния пастбищ, на которых они почти круглогодично питаются. Из генетических приемов, используемых на овцах, преобладающим является маркер-ассоциированная селекция, основанная на изучении полиморфизмов, достоверно связанных с мясной продуктивностью, например, в генах миостатина и кальпаstatина [12, 13]. Используются тесты для оценки этих полиморфизмов и в научных исследованиях, и в практическом овцеводстве [14]. Но со временем селекция животных по этим полиморфизмам становится все менее эффективной, так как в результате искусственного отбора в большинстве пород овец произошло закрепление положительных аллельных вариантов в виде гомозигот [15]. Для дальнейшего прогресса в использовании генетики для селекции овец необходимо выявление новых генов-кандидатов, функция которых будет связана с продуктивными качествами животных. Целью становится поиск в них полиморфизмов для оценки аллельных вариантов, по которым будет осуществляться отбор [16].

Большой интерес в отношении поиска новых генов-кандидатов представляют породы овец с уникальными свойствами, одной из которых является романовская. Она выведена более 300 лет назад на территории Центральной России. Уникальность ее заключается прежде всего в полиэстричности и высокой плодовитости – более 270 ягнят на 100 маток. У овец высоко оценивается качество получаемой овчины, но при этом мясная продуктивность породы находится на среднем уровне. Масса баранов составляет в среднем 70 кг, маток – 50 кг. Убойный выход обычно не превышает 50 %. Из недостатков породы следует отметить слабую устойчивость к разного рода инфекциям [17, 18].

Цель исследования – проведение полногеномного поиска ассоциаций у овец романовской породы для выявления новых генов-кандидатов продуктивных качеств.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили на базе лабораторий Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства (ВНИИОК) – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский Федеральный научный аграрный центр», Сколковского института науки и технологий «Сколтех», Научно-диагностического и лечебного ветеринарного центра ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» в 2019 г.

Из 270 баранчиков, полученных от маток селекционного ядра, по итогам комплексной оценки признаков продуктивности в селекционную группу были отобраны 60 баранчиков романовской породы в возрасте 12 мес, которые явились объектом исследования. Критериями комплексной оценки (бонитировки) баранчиков явились: густота, длина, тонина шерсти, ее настриг в чистом волокне, качество жиропота, экстерьер, живая масса. По совокупности их выраженности и общей балльной оценки животным присваивался класс – I, элита, «супер-элита». По результатам проведенной бонитировки 50 баранчиков были отнесены к классу элита, 10 – к классу «супер-элита». Последние, как выдающиеся особи, составляли группу выставочных животных. Все баранчики были клинически здоровыми.

Генотипирование. Геномную ДНК выделяли из образцов цельной крови, взятой в асептических условиях из яремной вены, с использованием набора Pure Link Genomic DNA MiniKit (Invitrogen Life Technologies, США) в соответствии с протоколом производителя. Генотипирование животных выполняли с использованием Ovine Infinium HD BeadChip 600K (Illumina, USA) согласно протоколу производителя. Первичную обработку результатов генотипирования выполняли с использованием программного обеспечения Genome Studio 2.0 (Illumina, USA).

Контроль качества генотипирования. Контроль качества генотипирования проводили с использованием программного обеспечения PLINK V.1.07 [19]. В обработку данных были включены образцы с показателем количества выявленных SNP (Call Rate) больше 0,95. Из анализа были

исключены SNP, не имеющие хромосомной или физической локализации, с частотой минорных аллелей (minor allele frequency, MAF) меньше 0,01, частотой потерянных генотипов (missing genotype) больше 0,1. В качестве порогового значения по критерию Харди-Вайнберга (Hardy–Weinberg equilibrium) методом Фишера использовали значение $p = 0,00001$. С положительным результатом контроль качества генотипирования прошли 42 образца из группы элитных животных и 10 образцов «супер-элитных». Из 606 006 SNP для дальнейшего анализа после фильтрации данных были использованы 481 883 полиморфизма.

Генетический и статистический анализ. Полногеномный поиск ассоциаций выполняли с использованием программного обеспечения PLINK V.1.07, функция – assoc [19] на основе оценки значимости влияния SNP на изменчивость фенотипа шерстной и мясной продуктивности особей. Для подтверждения достоверности различий при множественных сравнениях использовали оценку «р» с поправкой Бонферрони. Визуализацию и построение графиков производили с применением пакета «Qqman» на языке программирования R. Поиск ближайших генов-кандидатов выполняли в области 250 000 п.н. вокруг SNP, показавших достоверные различия по встречаемости среди животных исследуемых групп. Для картирования использовали сборку генома OviAri 3.1. Аннотирование генов выполняли с использованием геномных браузеров UCSC (www.genome.ucsc.edu) и Ensembl (www.ensembl.org), а также баз данных National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov).

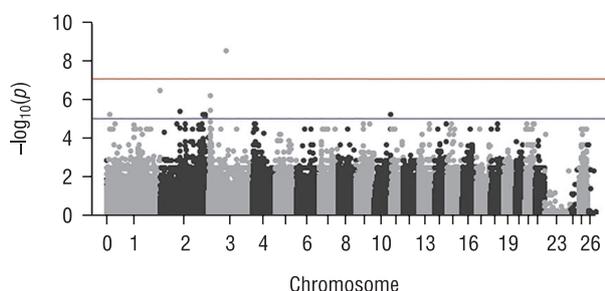


Рис. 1. Манхэттенский график результатов GWAS с набором значений $-\log_{10}(p)$ для исследуемых SNP. Синей линией обозначен порог различий с ожидаемой достоверностью различий при значении $-\log_{10}(p) = 5$, красной линией – порог достоверности различий при значении $-\log_{10}(p) = 7$

Fig. 1. A Manhattan diagram of GWAS results with a set of $-\log_{10}(p)$ values for the studied SNP. The blue line indicates the difference threshold with the expected difference significance at the value $-\log_{10}(p) = 5$, the red line indicates the difference significance threshold at the value $-\log_{10}(p) = 7$

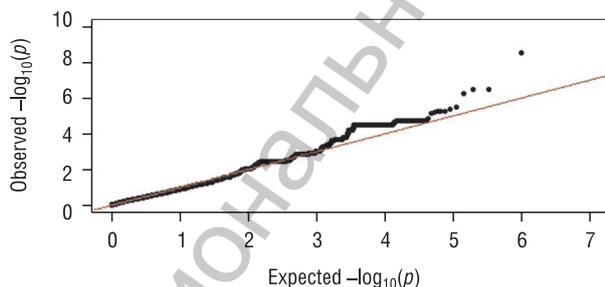


Рис. 2. Q-Q график для вероятностей распределения достоверности оценок SNP по всему геному. Точками обозначены значения $-\log_{10}(p)$ для отдельных SNP. Линия обозначает ожидаемые значения при подтверждении нулевой гипотезы об отсутствии ассоциаций

Fig. 2. Q-Q diagram for probability of SNP estimates significance distribution across the genome. The dots indicate the $-\log_{10}(p)$ values for individual SNPs. The line indicates the expected values when confirming the null hypothesis about absence of associations

Для картирования использовали сборку генома OviAri 3.1. Аннотирование генов выполняли с использованием геномных браузеров UCSC (www.genome.ucsc.edu) и Ensembl (www.ensembl.org), а также баз данных National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Результаты исследования. По результатам выполнения полногеномного поиска ассоциаций между принадлежностью овец романовской породы к «супер-элитной» группе и частотой встречаемости отдельных SNP было обнаружено относительно небольшое количество однонуклеотидных замен с показателем $-\log_{10}(p)$, превышающим пороговое значение, равное 5 (синяя линия на манхэттен-графике, рис. 1).

Проведенный анализ распределения достоверностей различий на квантиль-квантиль графике (рис. 2) показал некоторое отклонение от теоретически ожидаемого распределения в случае подтверждения нулевой гипотезы на участке значений $-\log_{10}(p)$, больше 3, однако в районе $-\log_{10}(p) \sim 4$ расхождение уже практически не наблюдалось. И только при значениях $-\log_{10}(p)$ выше 5 на графике имеется несколько точек, имеющих существенное отклонение от показателя нулевой гипотезы с максимумом, соответствующим $p = 3,14 \cdot 10^{-9}$.

Более строгая проверка нулевой гипотезы с использованием при расчетах поправки Бонферрони устанавливает порог достоверности p на уровне $1,037 \cdot 10^{-7}$ (вычисляется как отношение $p = 0,05$ к количеству SNP, использованных для полногеномного поиска, равному 481 883). При таком варианте порог достоверности преодолевает всего одна замена rs410516628 со значением $-\log_{10}(3,14 \cdot 10^{-9})$, расположенная на 3-й хромосоме (см. рис. 1).

Более подробный анализ результатов оценки достоверностей различий частот SNP на 3-й хромосоме показал, что кроме замены с высокой достоверностью rs410516628 на ней имеется еще две замены, показатель $-\log_{10}(p)$ для которых больше 5 (рис. 3).

Несмотря на то, что эти две замены находятся ниже порога, определенного использованием поправки Бонферрони, они являются частью локуса, включающего несколько замен с постепенно возрастающей достоверностью различий от $-\log_{10}(1 \cdot 10^{-3})$ до $-\log_{10}(1 \cdot 10^{-5})$. Исходя из этого мы сочли возможным включить замены rs413678705 и rs403066131, а также еще несколько SNP, показатель $-\log_{10}(p)$ для которых больше 5, в группу полиморфизмов, маркирующих потенциальные гены-кандидаты, связанные с продуктивностью овец романовской породы.

Всего в рассматриваемую группу SNP попали одиннадцать замен (табл. 1), частота встречаемости которых была достоверно выше в «супер-элитной» группе баранчиков.

Как уже было показано, наибольший показатель достоверности различий был выявлен у замены на 3-й хромосоме. Она присутствовала в половине гаплотипов у группы «супер-элитных» животных и не выявлена ни у одной из элитных особей. Еще четыре SNP не обнаруживались в мутантном варианте у элитной группы, однако частота их встречаемости у «супер-элитных» животных была меньше, чем у замены rs410516628 на 3-й хромосоме.

Замена rs422028000 на 2-й хромосоме отличается тем, что в группе «супер-элитных» баранчиков она обнаруживалась в 90 % гаплотипов, однако и в группе элитных животных она встречается чаще других изучаемых SNP. Самое большое соотношение по встречаемости между группами животных среди замен с наличием полиморфизма в обеих группах показала замена rs413678705 на 3-й хромосоме – 80 % гаплотипов против 13 %.

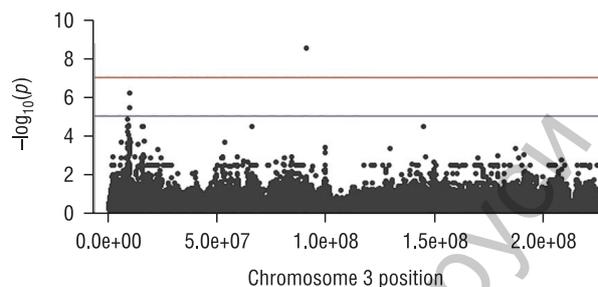


Рис. 3. Манхэттенский график результатов GWAS с набором значений $-\log_{10}(p)$ для исследуемых SNP, локализованных на 3-й хромосоме. Синей линией обозначен порог различий с ожидаемой достоверностью различий при значении $-\log_{10}(p) = 5$, красной линией – порог достоверности различий при значении $-\log_{10}(p) = 7$

Fig. 3. Manhattan diagram of GWAS results with a set of $-\log_{10}(p)$ values for the studied SNPs localized on the 3rd chromosome. The blue line indicates the difference threshold with the expected difference significance at the value $-\log_{10}(p) = 5$, the red line indicates the difference significance threshold at the value $-\log_{10}(p) = 7$

Таблица 1. Характеристика SNP с наибольшими показателями достоверности ассоциации с «супер-элитной» группой животных при проведении GWAS. Центр коллективного пользования в области геномики (ЦКП геномики), Сколковский институт науки и технологий, 2019 г.

Table 1. Characteristics of the SNPs with the highest significance of association with super-elite group of animals during GWAS. Genomic Core Facility, Skolkovo Institute of Science and Technology, 2019

№	SNP	Хромосома/позиция	A1	A2	F_A	F_U	P	Ген/расстояние до гена
1	rs410516628	3/90506946	A	G	0,40	0	3.14E-9	LTBP1-201/интрон 31-32
2	rs404234664	1/275084799	A	G	0,30	0	3.36E-7	KCNH8/184350 п.н.
3	rs399844929	1/275086189	G	A	0,30	0	3.36E-7	KCNH8/185740 п.н.
4	rs413678705	3/9387400	A	G	0,80	0,13	6.34E-7	LMX1B-201/интрон 3-4
5	rs403066131	3/9286107	C	A	0,80	0,15	3.64E-6	ZBTB43-201/49977 п.н.
6	rs408953719	2/103267305	G	A	0,50	0,04	4.31E-6	MSRA-201/интрон 6-7
7	rs422028000	2/220445291	A	G	0,90	0,21	5.89E-6	CHPF-201/интрон 1-2
8	rs411162754	1/12677364	G	A	0,25	0	6.07E-6	UTP11/138661 putp.н.
9	rs417281100	10/83854312	A	G	0,25	0	6.07E-6	lincRNA/37601 п.н.
10	rs406660727	2/230004848	A	C	0,70	0,12	6.42E-6	PID1/91500 п.н.
11	rs401057552	2/230553755	A	G	0,60	0,08	7.67E-6	DNER/интрон 15-16

Условные обозначения: п.н. – пара нуклеотидов; A1 – минорный аллель; A2 – главный аллель; F_A – частота минорного аллеля в группе животных супер-элиты; F_U – частота минорного аллеля в элитной группе.

Полиморфизмы rs411162754 (1-я хромосома) и rs417281100 (10-я хромосома) в нашем исследовании оказались самыми редкими – только в группе «супер-элитных» баранчиков и только в четверти гаплотипов.

Для SNP с наибольшими показателями достоверности ассоциации между частотой встречаемости и хозяйственноценными признаками у овец романовской породы было проведено изучение их расположения в геноме для выявления предполагаемых генов-кандидатов. Среди одиннадцати выбранных SNP пять попали в интроны генов, остальные шесть находятся на различном расстоянии от генов. В экзонах и промотерах генов полиморфизмов с достоверными различиями в частоте встречаемости не выявлено. Наиболее близко от целевого гена, кодирующего белок, находится замена rs403066131 на 3-й хромосоме. Дальше всех удалены rs399844929 и rs404234664 – почти 200 000 п.н. Замена rs417281100 находится близко к гену длиной не кодирующей РНК, биологическая роль которой на сегодняшний день не выяснена.

Обсуждение результатов исследования. Наиболее высокие показатели достоверности различий были обнаружены для замены rs410516628, расположенной на третьей хромосоме в области интрона гена, кодирующего латентный связывающий протеин 1 трансформирующего ростового фактора бета (*LTBP1*). Этот белок является важнейшим компонентом экстрацеллюлярного матрикса, он взаимодействует с фибриллином микрофибрилл. Изоформа протеина номер один участвует в активации трансформирующего ростового фактора бета интегринами, а также регулирует активацию ряда протеаз [20]. Высокая экспрессия гена в большинстве клеток организма указывает на его большую роль в регуляции развития тканей [21]. На основании приведенных данных мы считаем ген *LTBP1* перспективным геном-кандидатом, влияющим на продуктивные качества у романовской породы овец.

Замены rs404234664 и rs399844929 располагаются на первой хромосоме, расстояние между ними составляет около 1500 п.н. Они относятся к межгенным SNP, ближайший ген находится достаточно далеко от них – около 185 000 п.н. Это ген *KCNH8*, кодирующий белок из группы вольтаж-зависимых калиевых каналов. Основная функция этих каналов – регулируемое пропускание ионов калия через клеточную стенку в зависимости от трансмембранного потенциала, что имеет ключевое значение для функции любой клетки организма [22]. Учитывая столь важную физиологическую роль гена *KCNH8*, мы считаем необходимым включить его в список генов-кандидатов показателей фенотипа у исследованных животных для последующего изучения особенностей его структуры.

В интроне гена *LMX1B*, кодирующего транскрипционный фактор 1 бета гомеобокса LIM, расположена замена rs413678705. Этот транскрипционный фактор является одним из важнейших компонентов системы регуляции закладки и развития конечностей у млекопитающих начиная со стадии эмбриона [23]. Исходя из доказанного участия гена *LMX1B* в формировании фенотипических особенностей животных мы относим его к генам-кандидатам продуктивных показателей у овец.

Замена rs403066131 находится на небольшом расстоянии от гена *ZBTB43*. Он расположен на третьей хромосоме, кодирует один из доменов «цинкового пальца» и ВТВ. К этой группе относятся белки, имеющие различные функции: регуляция динамики цитоскелета, сборка ионных каналов, регуляция транскрипции и т.д. [24]. Исходя из этого представляется важным изучить роль этого гена в развитии продуктивных признаков у романовских овец.

На 2-й хромосоме находятся две замены с высокими показателями достоверности различий между группами элитных и «супер-элитных» животных. Одна из них (rs408953719) локализована в интроне гена *MSRA*, кодирующего метионинсульфоксидредуктазу А. Функция этого белка состоит в ликвидации негативных последствий оксидативного стресса и защите клеток от активных форм кислорода [25]. У овец, как и у других млекопитающих, оксидативный стресс связан с целым рядом показателей здоровья и развития организма. Также его активность сказывается на качестве получаемого мяса при убое [26, 27]. Поэтому мы считаем ген-кандидат *MSRA* перспективным для поиска полиморфизмов, напрямую связанных с продуктивностью у овец романовской породы.

Еще одна замена на 2-й хромосоме (rs422028000) находится в интроне гена *CHPF*. Его белковым продуктом является фактор полимеризации хондроитина. Хондроитин сульфат представляет собой один из самых распространенных видов гликозаминогликанов и помимо формирования межклеточного матрикса участвует в большом количестве биологических процессов по обеспе-

чению функции рецепторов, ростовых факторов и других макромолекул [28]. Мы считаем ген *CHPF* перспективным геном-кандидатом, влияющим на продуктивные качества овец.

Замены rs411162754 и rs417281100 хотя и показали достаточный уровень достоверности различий между исследуемыми группами животных, но имеют низкую частоту встречаемости в группе «супер-элитных». Поэтому расположенный рядом с одной из них ген *UTP11* (кодирует малую субъединицу компонента процессомы) и ген длинной не кодирующей РНК рядом с другой мы не считаем целесообразным включать в перечень генов-кандидатов.

Еще две рассматриваемые нами замены находятся на второй хромосоме. Первая (rs406660727) расположена ближе 100 тысяч п.н. к гену домена распознавания фосфотирозина *PIDI*. Его биологическая роль состоит в передаче межклеточных сигналов в процессе пролиферации, дифференцировки, подвижности клеток и апоптоза [29]. По нашему мнению, его стоит рассматривать в качестве гена-кандидата продуктивности у овец романовской породы. Вторая замена (rs401057552) локализована в интроне гена *DNER* – delta/notch-подобного лиганда. Его функция полностью не изучена, однако показано, что в отличие от классических лигандов сигнального пути Notch он не предотвращает дифференцировку миобластов в культуре [30]. Это позволяет предположить его связь с развитием мышечной ткани и включить ген *DNER* в список потенциальных генов-кандидатов.

Выводы. В ходе проделанной работы проведен полногеномный поиск ассоциаций с продуктивностью у овец романовской породы. Выявлены ассоциации между принадлежностью животных к классу «супер-элита» и частотой встречаемости одиннадцати однонуклеотидных полиморфизмов, расположенных на 1-й, 2-й, 3-й и 10-й хромосомах. Наибольшая достоверность ассоциации наблюдалась для замены rs410516628 ($p = 3,14 \cdot 10^{-9}$), расположенной на 3-й хромосоме в области интрона гена *LTBP1*. В результате работы предложено 8 новых генов-кандидатов продуктивных признаков овец: *LTBP1*, *KCNH8*, *LMX1B*, *ZBTB43*, *MSRA*, *CHPF*, *PIDI*, *DNER*. Предложенные гены в той или иной степени связаны с регуляцией роста и развития тканей, однако необходимы дальнейшие исследования, направленные на подтверждение влияния перечисленных генов на формирование экстерьерных особенностей и продуктивные качества овец, а также на определение точных механизмов реализации этого влияния. Перспективным с точки зрения маркерной селекции является использование обнаруженных замен для выявления животных с высоким генетическим потенциалом, а также формирования родительских пар для увеличения количества высокопродуктивных особей в популяции романовских овец.

Список использованных источников

1. Genomic selection and its application in animal breeding / F. Ibtisham [et al.] // Thai J. of Veterinary Medicine. – 2017. – Vol. 47, N 3. – P. 301–310.
2. Georges, M. Harnessing genomic information for livestock improvement / M. Georges, C. Charlier, B. Hayes // Nature Rev. Genetics. – 2019. – Vol. 20, N 3. – P. 135–156. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0082-2>
3. Meuwissen, T. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding / T. Meuwissen, B. Hayes, M. Goddard // Animal Frontiers. – 2016. – Vol. 6, N 1. – P. 6–14. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0002>
4. Advances in genomic strategies to improve growth and meat production traits in sheep: an overview / A. R. Sahu [et al.] // Ind. J. of Small Ruminants. – 2017. – Vol. 23, N 2. – P. 139–147. <https://doi.org/10.5958/0973-9718.2017.00052.6>
5. Genome-wide association study to identify genomic regions affecting prolificacy in Lori-Bakhtiari sheep / R. Abdoli [et al.] // Animal Genetics. – 2018. – Vol. 49, N 5. – P. 488–491. – <https://doi.org/10.1111/age.12700>
6. Benavides, M. V. How efficiently Genome-Wide Association Studies (GWAS) identify prolificacy-determining genes in sheep / M. V. Benavides, C. J. H. Souza, J. C. F. Moraes // Genetics a. Molecular Research. – 2018. – Vol. 17, N 2. – P. 9–14. <https://doi.org/10.4238/gmr16039909>
7. Miller, J. M. Genomic analysis of morphometric traits in bighorn sheep using the Ovine Infinium® HD SNP BeadChip / J. M. Miller, M. Festa-Bianchet, D. W. Coltman // PeerJ. – 2018. – Vol. 6, N 2. – P. e4364. <https://doi.org/10.7717/peerj.4364>
8. Combined GWAS and ‘guilt by association’-based prioritization analysis identifies functional candidate genes for body size in sheep / A. Kominakis [et al.] // Genetics Selection Evolution. – 2017. – Vol. 49, N 41. – Art. 41. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0316-3>
9. Мильчевский, В. Д. Подбор пар родителей в овцеводстве [Электронный ресурс] / В. Д. Мильчевский // Аэкономика: экономика и сел. хоз-во. – 2018. – Т. 27, № 3. – Режим доступа: <https://aeconomy.ru/news/agro/podbor-par-roditeley-v-ovtsevodstve.html>. – Дата доступа: 11.01.2020.

10. Genomic selection in dairy cattle simulated populations / L. O. Seno [et al.] // *J. of Dairy Research*. – 2018. – Vol. 85, N 2. – P. 125–132. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000304>
11. *Weller, J.I.* Invited review: A perspective on the future of genomic selection in dairy cattle / J.I. Weller, E. Ezra, M. Ron // *J. of Dairy Science*. – 2017. – Vol. 100, N 11. – P. 8633–8644. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12879>
12. The effects of the myostatin g+6723G>A mutation on carcass and meat quality of lamb / M. Hope [et al.] // *Meat Science*. – 2013. – Vol. 95, N 1. – P. 118–122. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.029>
13. Single nucleotide polymorphisms in an intron of the ovine calpastatin gene / B.R. Palmer [et al.] // *Animal Biotechnology*. – 2000. – Vol. 11, N 1. – P. 63–67. <https://doi.org/10.1080/10495390009525948>
14. Van der Werf, J.H. J. Marker-assisted selection in sheep and goats / J.H. J. Van der Werf // *Marker-assisted selection: current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish* / ed.: E. Guimarães [et al.] ; FAO. – Rome, 2007. – Chap. 13. – P. 229–247.
15. Evidence for multiple alleles effecting muscling and fatness at the Ovine GDF8 locus / J.W. Kijas [et al.] // *BMC Genetics*. – 2007. – Vol. 8, N 1. – Art. 80. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-8-80>
16. *Gholizadeh, M.* Genomewide association study of body weight traits in Baluchi sheep / M. Gholizadeh, G. Rahimi-Mianji, A. Nejati-Javaremi // *J. of Genetics*. – 2015. – Vol. 94, N 1. – P. 143–146. <https://doi.org/10.1007/s12041-015-0469-1>
17. Ценный мировой генофонд овец – романовская порода / М.М. Корнев [и др.] // *Овцы, козы, шерстяное дело*. – 2017. – № 3. – С. 2–5.
18. Состояние и перспективы романовского овцеводства в России / Н.С. Фураева [и др.] // *Овцы, козы, шерстяное дело*. – 2015. – № 1. – С. 6–9.
19. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell [et al.] // *Amer. J. of Human Genetics*. – 2007. – Vol. 81, N 3. – P. 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
20. Latent TGF- β -binding proteins / I.B. Robertson [et al.] // *Matrix Biology*. – 2015. – Vol. 47. – P. 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.05.005>
21. Transcriptional profiling of the human fibrillin/LTBP gene family, key regulators of mesenchymal cell functions / M.R. Davis [et al.] // *Molecular Genetics a. Metabolism*. – 2014. – Vol. 112, N 1. – P. 73–83. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.12.006>
22. *Satuluri, V.S. A. K.* A quantitative structure-activity relationship study on some series of potassium channel blockers / V.S. A. K. Satuluri, J. Seelam, S.P. Gupta // *Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 5, N 1. – P. 87–92. <https://doi.org/10.2174/157340609787049244>
23. LIM homeobox transcription factors integrate signaling events that control three-dimensional limb patterning and growth / I. Tzchori [et al.] // *Development*. – 2009. – Vol. 136, N 8. – P. 1375–1385. <https://doi.org/10.1242/dev.026476>
24. Sequence and structural analysis of BTB domain proteins / P.J. Stogios [et al.] // *Genome Biology*. – 2005. – Vol. 6, N 10. – P. R82. <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-10-r82>
25. *Jiang, B.* The functions of the mammalian methionine sulfoxide reductase system and related diseases / B. Jiang, J. Moskovitz // *Antioxidants*. – 2018. – Vol. 7, N 9. – Art. 122. – <https://doi.org/10.3390/antiox7090122>
26. *Celi, P.* The role of oxidative stress in small ruminants' health and production / P. Celi // *Rev. Brasileira de Zootecnia*. – 2010. – Vol. 39, suppl. spec. – P. 348–363. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300038>
27. The use of oxidative stress biomarkers in live animals (*in vivo*) to predict meat quality deterioration postmortem (*in vitro*) caused by changes in muscle biochemical components / E.N. Ponnampalam [et al.] // *J. of Animal Science*. – 2017. – Vol. 95, N 7. – P. 3012–3024. – <https://doi.org/10.2527/jas.2016.0887>
28. *Mizumoto, S.* Molecular interactions between chondroitin-dermatan sulfate and growth factors/receptors/matrix proteins / S. Mizumoto, S. Yamada, K. Sugahara // *Current Opinion in Structural Biology*. – 2015. – Vol. 34. – P. 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.06.004>
29. Phosphotyrosine recognition domains: the typical, the atypical and the versatile / T. Kaneko [et al.] // *Cell Communication a. Signaling*. – 2012. – Vol. 10, N 1. – Art. 32. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-10-32>
30. Delta/Notch-Like EGF-Related Receptor (DNER) is not a notch ligand / M. Greene [et al.] // *PLoS ONE*. – 2016. – Vol. 11, N 9. – P. e0161157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161157>

References

1. Ibtisham F., Zhang L., Xiao M., An L., Ramzan M. B., Nawab A., Zhao Y., Li G., Xu Y. Genomic selection and its application in animal breeding. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 2017, vol. 47, no. 3, pp. 301-310.
2. Georges M., Charlier C., Hayes B. Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nature Reviews Genetics*, 2019, vol. 20, no. 3, pp. 135-156. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0082-2>
3. Meuwissen T., Hayes B., Goddard M. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers*, 2016, vol. 6, no. 1, pp. 6-14. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0002>
4. Sahu A. R., Nayak N., Panigrahi M., Kumar S. Advances in genomic strategies to improve growth and meat production traits in sheep: an overview. *Indian Journal of Small Ruminants*, 2017, vol. 23, no. 2, pp. 139-147. <https://doi.org/10.5958/0973-9718.2017.00052.6>
5. Abdoli R., Mirhoseini S. Z., Hossein-Zadeh G. N., Zamani P., Gondro C. Genome-wide association study to identify genomic regions affecting prolificacy in Lori-Bakhtiari sheep. *Animal Genetics*, 2018, vol. 49, no. 5, pp. 488-491. <https://doi.org/10.1111/age.12700>

6. Benavides M. V., Souza C. J. H., Moraes J. C. F. How efficiently Genome-Wide Association Studies (GWAS) identify prolificacy-determining genes in sheep. *Genetics and Molecular Research*, 2018, vol. 17, no. 2, pp. 9-14. <https://doi.org/10.4238/gmr16039909>
7. Miller J. M., Festa-Bianchet M., Coltman D. W. Genomic analysis of morphometric traits in bighorn sheep using the Ovine Infinium® HD SNP BeadChip. *PeerJ*, 2018, vol. 6, no. 2, p. e4364. <https://doi.org/10.7717/peerj.4364>
8. Kominakis A., Hager-Theodorides A. L., Zoidis E., Saridaki A., Antonakos G., Tsiamis G. Combined GWAS and 'guilt by association'-based prioritization analysis identifies functional candidate genes for body size in sheep. *Genetics Selection Evolution*, 2017, vol. 49, no. 41, art. 41. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0316-3>
9. Mil'chevskii V. D. Selection of pairs in sheep breeding. *Aekonomika: ekonomika i sel'skoe khozyaistvo* [Aeconomics: Economics and Agriculture], 2018, vol. 27, no. 3. Available at: <https://aeconomy.ru/news/agro/podbor-par-roditeley-v-ovt-sevodstve.html> (accessed 11.11.2020) (in Russian).
10. Seno L. O., Guidolin D. G. F., Aspilcueta-Borquis R. R., Nascimento G. B. D., Silva T. B. R., Oliveira H. N., Munari D. Genomic selection in dairy cattle simulated populations. *Journal of Dairy Research*, 2018, vol. 85, no. 2, pp. 125-132. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000304>
11. Weller J. I., Ezra E., Ron M. Invited review: A perspective on the future of genomic selection in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 2017, vol. 100, no. 11, pp. 8633-8644. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12879>
12. Hope M., Haynes F., Oddy H., Koohmaraie M., Al-Owaimer A., Geesink G. The effects of the myostatin g+6723G>A mutation on carcass and meat quality of lamb. *Meat Science*, 2013, vol. 95, no. 1, pp. 118-122. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.029>
13. Palmer B. R., Su H. Y., Roberts N., Jonathan G., Hickford H., Bickerstaffe R. Single nucleotide polymorphisms in an intron of the ovine calpastatin gene. *Animal Biotechnology*, 2000, vol. 11, no. 1, pp. 63-67. <https://doi.org/10.1080/10495390009525948>
14. Van der Werf J. H. J. Marker-assisted selection in sheep and goats. *Marker-assisted selection: current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish*. Rome, 2007, chap. 13, pp. 229-247.
15. Kijas J. W., McCulloch R., Edwards J. H., Oddy V. H., Lee S. H., Van der Werf J. Evidence for multiple alleles affecting muscling and fatness at the Ovine GDF8 locus. *BMC Genetics*, 2007, vol. 8, no. 1, art. 80. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-8-80>
16. Gholizadeh M., Rahimi-Mianji G., Nejati-Javaremi A. Genomewide association study of body weight traits in Baluchi sheep. *Journal of Genetics*, 2015, vol. 94, no. 1, pp. 143-146. <https://doi.org/10.1007/s12041-015-0469-1>
17. Korenev M. M., Furaeva N. S., Khrustaleva V. I., Sokolova S. I., Grigoryan L. N., Marzanov N. S. Valuable world gene pool of sheep - Romanov breed. *Ovtsy, kozy, sherstyanoje delo* [Sheep, Goats, Wool Business], 2017, no. 3, pp. 2-5 (in Russian).
18. Furaeva N. S., Khrustaleva V. I., Sokolova S. I., Grigoryan L. N., Marzanov N. S. The state and prospects of Romanov sheep breeding in Russia. *Ovtsy, kozy, sherstyanoje delo* [Sheep, Goats, Wool Business], 2015, no. 1, pp. 6-9 (in Russian).
19. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M., Bender D., Maller J., Sklar P., Bakker P., Daly M., Sham P. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 2007, vol. 81, no. 3, pp. 559-575. <https://doi.org/10.1086/519795>
20. Robertson I. B., Horiguchi M., Zilberberg L., Dabovic B., Hadjiolova K., Rifkin D. B. Latent TGF- β -binding proteins. *Matrix Biology*, 2015, vol. 47, pp. 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.05.005>
21. Davis M. R., Andersson R., Severin J., Hoon M. J., Bertin N., Baillie K., Kawaji H., Sandelin A., Forrest A. R. R., Summers K. Transcriptional profiling of the human fibrillin/LTBP gene family, key regulators of mesenchymal cell functions. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2014, vol. 112, no. 1, pp. 73-83. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.12.006>
22. Satuluri V. S. A. K., Seelam J., Gupta S. P. A quantitative structure-activity relationship study on some series of potassium channel blockers. *Medicinal Chemistry*, 2009, vol. 5, no. 1, pp. 87-92. <https://doi.org/10.2174/157340609787049244>
23. Tzchori I., Day T. F., Carolan P. J., Zhao Y., Wassif C. A., Li L., Lewandoski M., Gorivodsky M., Love P. E., Porter F. D., Westphal H., Yang Y. LIM homeobox transcription factors integrate signaling events that control three-dimensional limb patterning and growth. *Development*, 2009, vol. 136, no. 8, pp. 1375-1385. <https://doi.org/10.1242/dev.026476>
24. Stogios P. J., Downs G. S., Jauhal J. J. S., Nandra S. K., Privé G. G. Sequence and structural analysis of BTB domain proteins. *Genome Biology*, 2005, vol. 6, no. 10, p. R82. <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-10-r82>
25. Jiang B., Moskovitz J. The functions of the mammalian methionine sulfoxide reductase system and related diseases. *Antioxidants*, 2018, vol. 7, no. 9, art. 122. <https://doi.org/10.3390/antiox7090122>
26. Celi P. The role of oxidative stress in small ruminants' health and production. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2010, vol. 39, suppl. spec., pp. 348-363. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300038>
27. Ponnampalam E. N., Hopkins D. L., Giri K., Jacobs J. L., Plozza T., Lewandowski P., Bekhit A. The use of oxidative stress biomarkers in live animals (in vivo) to predict meat quality deterioration postmortem (in vitro) caused by changes in muscle biochemical components. *Journal of Animal Science*, 2017, vol. 95, no. 7, pp. 3012-3024. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.0887>
28. Mizumoto S., Yamada S., Sugahara K. Molecular interactions between chondroitin-dermatan sulfate and growth factors/receptors/matrix proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 2015, vol. 34, pp. 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2015.06.004>
29. Kaneko T., Joshi R., Feller S. M., Li S. S. Phosphotyrosine recognition domains: the typical, the atypical and the versatile. *Cell Communication and Signaling*, 2012, vol. 10, no. 1, art. 32. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-10-32>
30. Greene M., Lai Y., Pajcini K., Bailis W., Pear W. S., Lancaster E. Delta/Notch-Like EGF-Related Receptor (DNER) is not a notch ligand. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11, no. 9, p. e0161157. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161157>

Информация об авторах

Криворучко Александр Юрьевич – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве, Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (пер. Зоотехнический, 15, 355017, г. Ставрополь, Ставропольский край, Россия). E-mail: rcvm@yandex.ru, orcid: 0000-0003-4536-1814

Яцык Олеся Андреевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве, Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (пер. Зоотехнический, 15, 355017, г. Ставрополь, Ставропольский край, Россия). E-mail: malteze@mail.ru, orcid: 0000-0003-2730-2482

Саприкينا Татьяна Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве, Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (пер. Зоотехнический, 15, 355017, г. Ставрополь, Ставропольский край, Россия). E-mail: saprikina.tanya@mail.ru, orcid: 0000-0002-5306-795X

Петухова Дарья Дмитриевна – младший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве, Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства – филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (пер. Зоотехнический, 15, 355017, г. Ставрополь, Ставропольский край, Россия). E-mail: d1319731@yandex.ru, orcid: 0000-0001-6101-7293

Information about the authors

Alexander Y. Krivoruchko - D. Sc. (Biological). All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding - branch of the North Caucasus Federal Scientific Agricultural Center (15 Alley Zootechnical, Stavropol, 355017, Russian Federation). E-mail: rcvm@yandex.ru, orcid: 0000-0003-4536-1814

Olesya A. Yatsyk - Ph.D. (Biological). All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding - branch of the North Caucasus Federal Scientific Agricultural Center (15 Alley Zootechnical, Stavropol, 355017, Russian Federation). E-mail: malteze@mail.ru, orcid: 0000-0003-2730-2482

Tatyana Y. Saprikina - All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding - branch of the North Caucasus Federal Scientific Agricultural Center (15 Alley Zootechnical, Stavropol, 355017, Russian Federation). E-mail: saprikina.tanya@mail.ru, orcid: 0000-0002-5306-795X

Daria D. Petukhova - All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding - branch of the North Caucasus Federal Scientific Agricultural Center (15 Alley Zootechnical, Stavropol, 355017, Russian Federation). E-mail: d1319731@yandex.ru, orcid: 0000-0001-6101-7293