

УДК 577.112; 577.113; 577.21

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ ПРОДУКТИВНЫХ ЖИВОТНЫХ

Лутковская Яна Владимировна, магистрант, направление подготовки 06.04.01 Биология, Оренбургский государственный университет, Оренбург
e-mail: ylutkovskaya@yandex.ru

Научный руководитель: Сизова Елена Анатольевна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биологии и почвоведения, Оренбургский государственный университет, ведущий научный сотрудник, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург
e-mail: sizova.178@yandex.ru

Аннотация. В настоящее время особая роль в развитии животноводства отводится внедрению и применению молекулярно-генетических методов оценки продуктивности сельскохозяйственных животных. Одним из таких методов является определение уровней экспрессии генов-кандидатов. В нашем исследовании представлены результаты проверки качества РНК, выделенной из тонкого кишечника и скелетных грудных мышц цыплят-бройлеров, и определения ее концентрации. Выявлено, что для изучения экспрессии гена *SLC7A1* лучше подходит ткань тонкого кишечника, работа с которой требует дополнительной оптимизации. Приведены результаты ПЦР-РВ с праймерами исследуемого гена с целью оценки воздействия органоминеральной кормовой добавки на экспрессию данного гена в двух типах тканей. Установлено, что использование в питании цыплят-бройлеров указанной кормовой добавки изменяет уровень экспрессии изучаемого гена.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, экспрессия *SLC7A1*, кормовая добавка, тонкий кишечник, скелетные мышцы.

Для цитирования: Лутковская Я. В. Оценка экспрессии генов, связанных с хозяйственно-полезными признаками продуктивных животных // Шаг в науку. – 2022. – № 3. – С. 17–19.

EVALUATION OF GENE EXPRESSION ASSOCIATED WITH ECONOMICALLY USEFUL TRAITS OF PRODUCTIVE ANIMALS

Lutkovskaya Yana Vladimirovna, postgraduate student, training program 06.04.01 Biology, Orenburg State University, Orenburg
e-mail: ylutkovskaya@yandex.ru

Research advisor: Sizova Elena Anatolievna, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Biology and Soil Science of the Orenburg State University, leading researcher of Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the RAS, Orenburg
e-mail: sizova.178@yandex.ru

Abstract. Currently, a special role in the development of animal husbandry is assigned to the introduction and application of molecular genetic methods for assessing the productivity of farm animals. One of these methods is to determine the expression levels of candidate genes. Our study presents the results of checking the quality of RNA isolated from the small intestine and skeletal pectoral muscles of broiler chickens, and determining its concentration. It was revealed that the small intestine tissue is better suited for studying the expression of the *SLC7A1* gene than the muscle tissue, which requires additional optimization. The results of RT-PCR with primers of the studied gene are presented in order to assess the effect of an organomineral supplement on the expression of this gene in two types of tissues. It was found that the use of this feed additive in the diet of broiler chickens changes the expression level of the gene under study.

Key words: broiler chickens, *SLC7A1* expression, feed additive, small intestine, skeletal muscles.

Cite as: Lutkovskaya, Ya. V. (2022) [Evaluation of gene expression associated with economically useful traits of productive animals]. *Shag v nauku* [Step into science]. Vol. 3, pp. 17–19.

Введение

Фундаментальные исследования в области молекулярной генетики направлены на расшифровку генетического потенциала сельскохозяйственных животных, выявление и отбор особей с нужными качествами, например, быстрая скорость роста и накопление массы тела, устойчивость к возбудителям заболеваний, плодовитость и др. К методам оценки продуктивных признаков сельскохозяйственных животных относятся: маркерная и геномная селекция, анализ экспрессии генов. На сегодняшний день маркерная селекция (анализ однонуклеотидных полиморфизмов и микросателлитов) пользуется меньшей популярностью, т. к. дает представление всего лишь о наличии или отсутствии отдельно взятых генов-маркёров в отличие от анализа экспрессии генов, предоставляющего сведения не только о генотипе, но и о функционировании генов в тканях и органах и, следовательно, проявлении хозяйственно-ценных признаков. На экспрессию генов сельскохозяйственных животных можно влиять различными кормовыми добавками, тем самым увеличивая или уменьшая уровни экспрессии представляющих интерес генов [1–3].

Материалы и методы

Исследование проводилось на цыплятах-бройлерах кросса Arbor Acres в двух возрастных периодах (28 и 42 суток), разделенных на три группы в зависимости от кормления: контрольная группа (обычный рацион), I опытная группа (обычный рацион и органоминеральная добавка), II опытная группа (обычный рацион и органоминеральная

добавка без лактулозы). В качестве гена интереса был выбран ген SLC7A1, экспрессирующийся в эпителии тонкого кишечника и в скелетных мышечных тканях, а референса – ген GAPDH. Образцы тканей фиксировали в растворе для стабилизации РНК RNAlater (Invitrogen, США). Тотальную РНК выделяли с помощью набора PureLink RNA Mini kit (Invitrogen, США) и β-меркаптоэтанола (Sigma-Aldrich, США) с использованием гомогенизатора TissueRuptor II (QIAGEN, Германия). Выделенную РНК обрабатывали ДНКазой I (New England Biolabs, США). Качество и количество образцов РНК оценивали на флуориметре Qubit 4 (Invitrogen, США) с использованием наборов Qubit RNA IQ Assay и Qubit RNA HS Assay (Invitrogen, США). ОТ-ПЦР проводили на амплификаторе T100 Thermal Cycler (BioRad, США) с использованием набора Mint (Евроген, Россия). ПЦР-РВ с праймерами таргетного и референсного генов проводили на амплификаторе Real-time CFX96 Connect (BioRad, США) с использованием набора 2.5x Реакционная смесь для проведения ПЦР-РВ в присутствии EVA Green (Синтол, Россия). Полученные результаты анализировали с использованием персонального компьютера и программы Microsoft Excel 2013. Молекулярно-генетическое исследование было выполнено на базе ЦКП БСТ РАН (<https://xn----btbzumgw.xn--plai/>).

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 и в таблице 1 приведены данные, полученные в ходе качественного и количественного анализа образцов тотальной РНК.

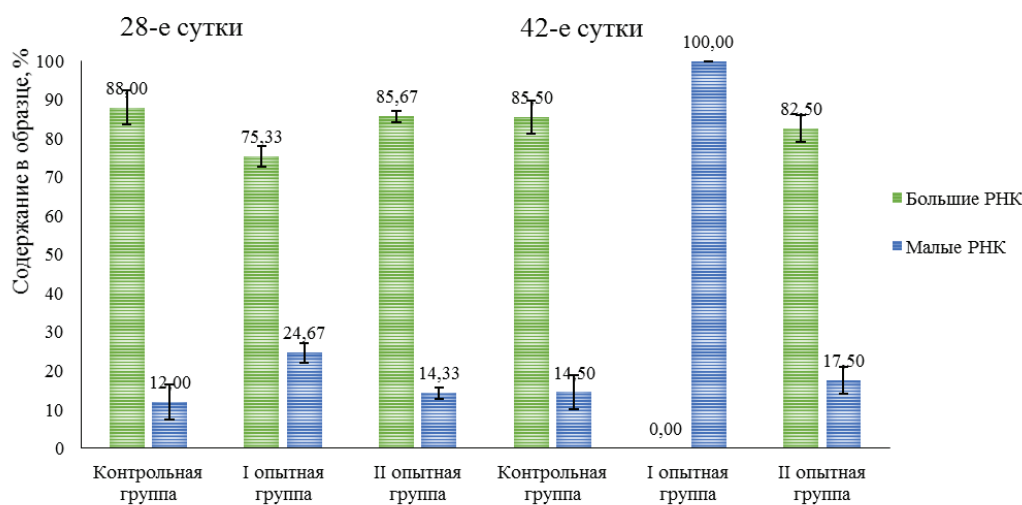


Рисунок 1. Оценка качества РНК, выделенной из эпителиальной ткани тонкого кишечника

Источник: разработано автором

Нами было установлено, что в образцах РНК, экстрагированных из ткани тонкого кишечника цыплят в возрасте 42-х суток I опытной группы, отсутствовали большие длинноцепочечные молекулы РНК, и наблюдалось 100%-ное содержание малых

РНК и/или деградированных короткоцепочечных больших РНК. У остальных групп двух возрастных категорий мы отмечали наибольшее процентное содержание больших длинноцепочечных молекул, что указывает на высокое качество полученной РНК.

Таблица 1. Определение концентрации РНК

Возраст	Группа	Концентрация РНК тонкого кишечника, нг/мкл	Концентрация РНК грудных мышц, нг/мкл
28-е сутки	Контрольная	100,00 ± 0,00	17,17 ± 1,09
	I опытная	100,00 ± 0,00	28,80 ± 5,55
	II опытная	100,00 ± 0,00	21,67 ± 4,35
42-е сутки	Контрольная	82,27 ± 17,73	2,37 ± 0,62
	I опытная	78,67 ± 21,33	9,75 ± 2,58
	II опытная	100,00 ± 0,00	5,94 ± 1,92

Источник: разработано автором

Как следует из полученных нами данных по анализу количества РНК в образцах тонкого кишечника цыплят в возрасте 42-х суток I опытной группы, концентрация данной молекулы была ниже, чем в образцах РНК остальных групп. Это связано с тем, что выделенная РНК была низкого качества.

По данным таблицы 1 видно, что РНК, выделенная из грудных мышц, обладала более низкой концентрацией, вследствие чего определение ее качества было затруднительно. Такая особенность связана с тем, что мышечная ткань, являясь фиброзной тканью со сложным строением, требует усовершенствования методики гомогенизации для получения

большого выхода тотальной РНК [4, 6].

Первичные результаты, полученные после проведения ПЦР в режиме реального времени, отражают влияние дополнительной кормовой добавки на уровень экспрессии гена SLC7A1 в различных типах тканей. Анализ расчета экспрессии при помощи метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$ [5, 7] показал наличие изменений в уровне экспрессии изучаемого гена при применении кормовой добавки. Полученные данные требуют дальнейших исследований по этой теме.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 20-16-00078).

Литература

1. Селионова М. И., Айбазов А.-М. М. Геномные технологии в селекции сельскохозяйственных животных // Сельскохозяйственный журнал. – 2014. – Т. 1. – №. 7. – С. 140–145.
2. Федорова Е. С., Станишевская О. И., Дементьева Н. Ю. Современное состояние и проблемы племенного птицеводства в России (обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2020. – Т. 21. – №. 3. – С. 217–232.
3. Шушпанова К. А. ДНК-тестирование с использованием генетических маркеров в племенном молочном скотоводстве // Современные направления развития науки в животноводстве и ветеринарной медицине. – 2021. – С. 257–236.
4. Li Z. et al. Profiles of expression pattern and tissue distribution of host defense peptides genes in different chicken (*Gallus gallus*) breeds related to body weight // Plos one. – 2020. – Т. 15. – № 12. – С. e0238675, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238675>. (In Eng.).
5. Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method // Methods. – 2001. – Т. 25. – №. 4. – С. 402–408, <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>. (In Eng.).
6. Terry E. E. et al. Transcriptional profiling reveals extraordinary diversity among skeletal muscle tissues // Elife. – 2018. – Т. 7. – С. e34613, <https://doi.org/10.7554/eLife.34613>. (In Eng.).
7. Yoshimura Y. Avian β -defensins expression for the innate immune system in hen reproductive organs // Poultry Science. – 2015. – Т. 94. – № 4. – С. 804–809, <https://doi.org/10.3382/ps/peu021>. (In Eng.).

Статья поступила в редакцию: 23.05.2022; принята в печать: 25.08.2022.

Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.