

УДК 636.52/58:575.113/118

ФУНКЦІОНАЛЬНА ГЕНОМІКА КУРЕЙ

Ю. В. Осадча
seledat@ukr.net

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ,
вул. Героїв Оборони, 12-Б, к. 7-А, 03041, Україна

У статті проаналізовано сучасні наукові роботи, що стосуються функціональної геноміки курей. Показано, що ідентифікація генетичних маркерів локусів кількісних ознак QTL (quantitative trait loci — локуси кількісних ознак) робить можливою оцінку істинного генетичного потенціалу птиці без обліку впливу факторів зовнішнього середовища, а виявлення бажаних, з точки зору селекції, варіантів таких генів дозволяє додатково до традиційного відбору птиці, наприклад, за живою масою, несучістю і т. д., проводити селекцію безпосередньо на рівні ДНК, тобто MAS (marker assisted selection — геномна селекція). Описано основні системи діагностичних маркерів, які застосовують для ідентифікації генів, асоційованих з проявом господарсько корисних ознак. Кожна з цих систем діагностичних маркерів має свої технологічні особливості і переваги, але всі вони дають можливість молекулярного скринінгу генетичного поліморфізму, надійної ідентифікації певних цільових локусів, або тісно зчеплених з ними генів, або фрагментів

послідовностей ДНК цих генів з використанням ефективних сучасних технологій, що мають в основі полімеразну ланцюгову реакцію. Висвітлено численні результати досліджень QTL, асоційованих з яєчною та м'ясною продуктивністю, якістю яєць та м'яса, стійкістю до хвороб та проявами поведінки. Виявлено, що ідентифікація генів, які відповідають за фенотипові характеристики комплексних ознак, все ще є дуже важливим завданням, невідомою залишається можлива функція більшості генів, ідентифікованих у результаті секвенування геномів і комплементарної ДНК. Підкреслюється важливість розробки ряду підходів для зменшення кількості позиціонованих генів-кандидатів.

Ключові слова: МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ, QTL, SNP, ПОЛІМОРФІЗМ, МІКРОСАТЕЛІТИ, ХРОМОСОМА, ГЕНОМ, ГЕН-КАНДИДАТ, КАРТУВАННЯ

CHICKENS FUNCTIONAL GENOMICS

Yu. Osadcha
seledat@ukr.net

National university of life and environmental sciences of Ukraine, Kiev, Geroyv Oborony str. 12-B, k.7-A, 03041, Ukraine

The paper analyzes the current research work concerning on chickens functional genomics. It is shown that the identification of genetic markers of quantitative traits loci QTL (quantitative trait loci) makes it possible to estimate the true genetic potential of birds, excluding the impact of environmental factors, and identify desirable in terms of selection. Variants of these genes allows to the traditional selection birds, such as body weight, egg production, etc., to

conduct selection directly at the DNA level, namely MAS (marker assisted selection). Describe the basic system diagnostic markers that are used to identify genes associated with the manifestation of economically useful characteristics. Each of these systems has its own diagnostic markers technological features and benefits, but they allow molecular genetic polymorphism screening, reliable identification of specific target loci or closely linked with their genes or fragments of

DNA sequences of these genes using efficient modern technologies, that are based on polymerase chain reaction. Deals with numerous research results QTL, associated with meat and egg productivity, quality, resistance to diseases and behavioral manifestations. Revealed that the identification of genes responsible for the phenotypic characteristics of complex traits remains an important challenge remains unknown possible function of most genes identified by genome sequencing and complementary DNA. The

importance of developing a number of approaches to reduce the number of candidate genes positioned is emphasized.

Keywords: MOLECULAR GENETIC MARKERS, QTL, SNP, POLYMORPHISM, MICROSATELLITES, CHROMOSOMES, GENOMES, GENE CANDIDATES, MAPPING

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ГЕНОМИКА КУР

Ю. В. Осадчая
seledat@ukr.net

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев,
ул. Героев Оборона, 12 Б, к. 7-А, 03041

В статье проанализированы современные научные работы, касающиеся функциональной геномики кур. Показано, что идентификация генетических маркеров локусов количественных признаков QTL (quantitative trait loci — локусы количественных признаков) делает возможной оценку истинного генетического потенциала птицы без учета влияния факторов внешней среды, а выявление желаемых, с точки зрения селекции, вариантов таких генов позволяет дополнительно к традиционному отбору птицы, например по живой массе, яйценоскости и т.д., проводить селекцию непосредственно на уровне ДНК, т.е. MAS (marker assisted selection — геномная селекция). Описаны основные системы диагностических маркеров, применяемые для идентификации генов, ассоциированных с проявлением хозяйственно полезных признаков. Каждая из этих систем диагностических маркеров имеет свои технологические особенности и преимущества, но все они дают возможность молекулярного скрининга генетического полиморфизма, надежной идентификации определенных целевых локусов, или тесно сцепленных с ними генов, или фрагментов последовательностей ДНК этих генов с использованием эффективных современных технологий, имеющих в основе полимеразную цепную реакцию. Освещены многочисленные результаты исследований QTL, ассоциированных с яичной и мясной продуктивностью, качеством яиц и мяса, устойчивостью к болезням и проявлениями

поведения. Выявлено, что идентификация генов, отвечающих за фенотипические характеристики комплексных признаков все еще остается очень важной задачей, неизвестной остается возможная функция большинства генов, идентифицированных в результате секвенирования геномов и комплементарной ДНК. Подчеркивается важность разработки ряда подходов для уменьшения количества позиционированных генов-кандидатов.

Ключевые слова:
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
МАРКЕРЫ, QTL, SNP, ПОЛИМОРФИЗМ,
МИКРОСАТЕЛЛИТЫ, ХРОМОСОМЫ,
ГЕНОМ, ГЕН-КАНДИДАТ,
КАРТИРОВАНИЕ

Метою сучасного птахівництва є створення високопродуктивних ліній і порід птиці різного напряму продуктивності. Класичні методи селекції, засновані на підборі особин за фенотипом, вже не задовольняють необхідні мінімальні критерії, що спричинило появу маркерасоційованої селекції — MAS (marker assisted selection — маркерна селекция, геномна селекция) [1, 2]. В основу MAS покладена можливість проводити селекцію птиці за допомогою використання молекулярно-генетичних маркерів [3].

Так, з розвитком молекулярної генетики і молекулярної біології стала можливою ідентифікація генів, які безпосередньо або опосередковано пов'язані з господарсько корисними ознаками (геномний аналіз). Завдання геномного аналізу полягають у дослідженні нуклеотидних послідовностей геному, ідентифікації окремих генів, як структурних, так і функціональних одиниць, і виявлення механізмів дії генів на прояв ознак. Ідентифікація генетичних маркерів локусів кількісних ознак (QTL) робить можливою оцінку істинного генетичного потенціалу птиці без обліку впливу факторів зовнішнього середовища. Виявлення бажаних, з точки зору селекції, варіантів таких генів дозволяє додатково до традиційного відбору птиці, наприклад, за живою масою, несучістю і т. д., проводити селекцію безпосередньо на рівні ДНК, тобто за генотипом (MAS).

Ідентифікація генів, асоційованих з проявом господарсько корисних ознак, є одним з найважливіших завдань геноміки сільськогосподарських тварин. Більшість таких ознак характеризуються широкою варіабельністю експресії генів, що перебувають у певних локусах, названих QTL (quantitative trait loci — локуси кількісних ознак) [4]. Ці локуси поліморфні й асоційовані з варіаціями фенотипових проявів ознак, таких як несучість, маса тіла й інші [5]. Наявність карт груп зчеплення молекулярних маркерів у комбінації з потужними статистичними методами полегшує генетичний аналіз комплексних ознак. Для вивчення геномної основи господарсько корисних ознак застосовують два основні підходи: картування QTL і функціональну геноміку.

Один з розділів сучасної генетики курей отримав назву функціональної геноміки, або технології, за допомогою якої велику кількість генів, контролюючих селекційні ознаки птиці, і в тому числі її якість, можуть бути ідентифіковані, ізольовані і за допомогою діагностичних маркерів з 100 % гарантією передбачені у складі бажаних генотипів курей.

Функціональна геноміка поділяється на кілька суб-дисциплін, таких як власне геноміка, протеоміка та метаболоміка, які оперують відповідно на рівні генної структури та функції біосинтезу білків і ферментів, метаболічних реакцій і взаємодії метаболітів, які беруть участь в реалізації конкретних господарсько корисних ознак птиці. Власне геноміка птиці сьогодні базується майже виключно на використанні в дослідженнях молекулярно-генетичних маркерів.

Картування QTL. У результаті експериментів з картування QTL ідентифікуються ділянки хромосом, за якими виявляють значні ефекти прояву досліджуваної ознаки. Якщо QTL для ознаки-мішені існують, плюс- і мінус-алельні варіанти невідомого гена (Q і q), який відповідає за ознаку, будуть сегреговані спільно з алелями найближчого M_1 маркера (M_1 і m_1), які можна генотипувати в лабораторії. Якщо, M_1 ко-сегрегуючий з Q і m_1 з q , це означає, що M_1 і Q розташовані поруч в одній і тій же хромосомі, а m_1 і q в гомологічній хромосомі (M_1Q і m_1q). Якщо популяція F_2 , отримана від схрещування гетерозиготних індивідів F_1 , генотипована. В результаті генотипування нащадки F_2 групуються відповідно до їх маркерних генотипів (M_1M_1 і m_1m_1 ; M_2M_2 і m_2m_2 ; ... M_nM_n і m_nm_n), і далі порівнюють середні фенотипи цих груп. У випадку відсутності QTL, зчеплених з цим маркером (наприклад, з M_2), тоді відсутні значущі відмінності між середніми фенотиповими значеннями досліджуваної ознаки у нащадків з генотипами M_2M_2 і m_2m_2 . Протилежна ситуація буде спостерігатися якщо у нащадків, згрупованих за генотипом за маркером M_1 , виявиться, що група M_1M_1 здебільшого несе варіант QQ по QTL, а група m_1m_1 представлена головним чином qq . У цьому випадку спостерігаються значні відмінності середніх значень між групами потомків і, отже, визначається присутність QTL. У курей, при розведенні яких, зазвичай, лінії і породи схрещуються в комерційних цілях, така процедура може

бути виконана в експериментальних популяціях (F_2 , BC), тоді як у жуйних використовується аналіз у двох або трьох поколіннях нащадків [6]. Тому, кури є надзвичайно зручним об'єктом для вирішення подібних завдань завдяки невеликій тривалості життєвого циклу й великій кількості нащадків [7].

За стадією картування QTL йде уточнення положення QTL на карті (QTL тонке картування). Для досягнення цієї мети аналізуються додаткові маркери та рекомбінаційні події між ними в досліджуваній ділянці. Слідом за тонким картуванням серед генів, локалізованих у виділеному районі, можуть бути виявлені гени, що визначають прояв ознаки. Ген-кандидат — це ген, який кодує ключові білки, що беруть участь у формуванні ознаки (наприклад, несучості, живої маси, стійкості до хвороб). Однак, у таких генів попередньо невідома наявність алельних варіантів і їх вплив на величину ознаки. Такий ген може бути кандидатом, оскільки локалізований у певному хромосомному районі, який, імовірно, бере участь у контролі ознаки, або вважається, що його білковий продукт може прямо брати участь у формуванні ознаки. Прийнято розрізняти позиційні і функціональні гени-кандидати. Про позиційні гени-кандидати говорять у тому випадку, якщо гени розміщені в ділянці, що прилягає до місця локалізації QTL. Функціональні ж гени — це гени, продукти яких відіграють ключову роль у формуванні конкретної ознаки.

Кінцева мета картування QTL полягає в ідентифікації QTG (гени кількісних ознак) і QTN (гени функціональних мутацій) [6].

Огляд основних методів. У теперішній час мікросателіти є популярними маркерами в дослідженні генетичних характеристик домашніх тварин [8]. Висока швидкість їх мутування і кодомінантний характер успадкування дозволяють оцінювати внутрішньопородну і міжпородну генетичну різноманітність. Мікросателіти, або SSR (Simple Sequence Repeats), або STR (Simple Tandem Repeats)

складаються з ділянок ДНК довжиною в 2–6 п. о. (пар основ) — тандемно повторених багато разів (наприклад, SASACASACASACASA). Вони поширені по всьому еукаріотичному геному. Мікросателіти мають відносно малі розміри і можуть бути легко ампліфіковані при використанні ПЛР, екстрагованої з різних біоматеріалів (крові, коріння волосся, шкіри або навіть фекалій). Поліморфізми можуть бути візуалізовані на секвенуючому гелі і за наявності автоматичного ДНК-секвенатора можна аналізувати велику кількість зразків [9, 10]. Мікросателіти гіперваріабельні, вони часто мають десятки алелей по одному локусу, які відрізняються один від іншого за кількістю повторів. Їх використовують не лише для картування локусів кількісних ознак (QTL), а й для вивчення різноманітності та підтвердження достовірності походження [6].

Однак, останнім часом широкого розповсюдження набуває використання мінісателітів. Мінісателіти характеризують тими ж особливостями, як і мікросателіти, але довжина повторів у них складає від десяти до декількох сотень пар основ. Мікро- і мінісателіти відомі також як VNTR-поліморфізми (Variable Number of Tandem Repeats — варіююча кількість тандемних повторів). Складність використання мінісателітів пов'язана з тим, що розподіл алелів іде лише за молекулярною масою, а це означає, що фрагменти однакової маси, які різняться фланкуючими послідовностями, тобто належать до різних локусів, не можуть бути точно ідентифіковані.

Поліморфізм довжин ампліфікованих фрагментів (Amplified fragment length polymorphisms — AFLP) є методом ДНК-фінгерпринтингу (відбитки пальців), який виявляє фрагменти рестрикції ДНК способом їх ампліфікації в ПЛР [6].

Одним з найперспективніших для вивчення типів поліморфних маркерів є SNP (Single nucleotide polymorphism — одонуклеотидний поліморфізм) — це відмінності послідовності ДНК розміром в

один нуклеотид (А, Т, G або С) у геномі (або в іншій порівнюваній послідовності) представників одного виду або між гомологічними ділянками гомологічних хромосом. Якщо дві послідовності ДНК — ААGССТА і ААGСТТА — відрізняються за одним нуклеотидом, у такому випадку говорять про існування двох алелей: С і Т. SNP зустрічаються по всьому геному. Вони зустрічаються і в геномі людини з частотою один SNP на кожен 1000 пар основ [11]. Більшість SNP локалізуються в некодуючих областях і не мають прямого впливу на фенотип. Однак деякі введені мутації в послідовності або області, що експресуються і впливають на експресію генів (промотори, енхансери), можуть викликати зміни в структурі білка або регуляції. Такі SNP надають певні можливості для виявлення функціональних генетичних варіантів [12].

SNP умовно поділяють на кілька типів:

1. Анонімний (aSNP) — SNP, який не виявляє відомого впливу на функціонування гену. Це найбільш розповсюджений тип SNP;

2. Кодуючий (cSNP) — одонуклеотидний поліморфізм у кодуючих ділянках гену. Наявність цього типу SNP може викликати зміну структури білка шляхом заміни однієї з амінокислот (міс сенс мутація);

3. Синонімічний (sSNP) — належить до того ж типу, що і cSNP, однак зміна нуклеотиду в триплеті не призводить до зміни кодованої амінокислоти внаслідок виродженості генетичного коду.

Також можлива наявність SNP в 5' і 3' некодуючій ділянці гену (5'UTR і 3'UTR) [13].

Кожна з цих систем діагностичних маркерів має свої технологічні особливості і переваги, але всі вони дають можливість молекулярного скринінгу генетичного поліморфізму, надійної ідентифікації певних цільових локусів, або тісно зчеплених з ними генів, або фрагментів послідовностей ДНК цих генів з використанням ефективних сучасних

технологій, що мають в основі полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР).

Результати дослідження QTL курей. Вивчення QTL у курей за допомогою мікросателітних маркерів і методу фінгерпринтингу почалося в середині 90-х років ХХ ст. В одному з таких досліджень для ідентифікації генетичних маркерів, зчеплених з QTL, були використані кроси (гібриди) двох ліній курей яєчного напрямку, що генетично відрізнялися між собою [14]. У результаті аналізу зчеплення індивідуальних смуг ДНК і фенотипових проявів ознак у півнів і їх нащадків були виявлені QTL, зчеплені зі специфічними ознаками росту, репродуктивних якостей і QTL якості яйця. На основі генетичних карт високої точності у курей були ідентифіковані QTL для багатьох ознак, включаючи ріст [14–16], ефективність годівлі [17], якість тушки [18], стійкість до хвороби Марека [7, 19–21], ожиріння [22] і якість яйця [23, 24]. Інформація з картування, отримана в ході досліджень QTL, дозволила надалі локалізувати 45 мікросателітів на консенсусній карті, що включає 2306 маркерів першого й другого типів [25].

QTL яєчної продуктивності курей. У 2002 р. було проведено повногеномне сканування в пошуках QTL геному курей для яєчної продуктивності і якості яйця. Дослідники використовували референтну популяцію курей, яка являла собою крос між двома лініями яєчного напрямку продуктивності [23]. Автори виявили 14 достовірних QTL, асоційованих з конкретними ознаками, і шість можливих QTL, локалізованих на хромосомах 2, 3, 4, 5, 8, і Z. Найбільш переконливі результати були отримані для GGA4, де виявлені QTL маси тіла, маси яйця й ефективності використання корму.

Подібні за методологією дослідження були проведені Wardecka B. та ін. [26]. Вплив генотипів лінії породи род-айленд, відселекціонованої на високу несучість, і локальної польської породи зеленоного куріпчаста на несучість і якість

яйця була проаналізована за зчепленням з 23 мікросателітними локусами. Достовірний вплив алелів мікросателітів на кількісні ознаки було показано для 16 локусів. Виявлені при картуванні QTL маркери можуть бути використані для співвіднесення локусів кількісних ознак з контігами геномних клонів або повними сиквенсами геномів. Так, для двох QTL з викладеної вище роботи були визначені протяжні геномні клони й складені списки генів-кандидатів [27]. Такий методичний підхід називається позиційним клонуванням.

Генетичне картування QTL яйця, що впливають на характеристики їх якості, несучість і масу тіла, було проведено Sasaki O. та ін. на гібридах другого покоління від схрещування білих леггорнів і род-айлендів з використанням 123 мікросателітних локусів [28]. Автори встановили локалізацію 95 маркерів у 25 аутосомних групах зчеплення й 13 — на GGAZ, причому для восьми маркерів група зчеплення була визначена вперше. Статистично достовірні QTL виявлені: в GGA4 і GGA27 — для маси тіла, в GGA4 — маси й поперечного діаметра яйця, в GGA11 — червонуватого забарвлення шкарлупи. В GGAZ був виявлений локус, що суттєво впливає на вік знесення першого яйця. У цілому 6–19 % фенотипової мінливості зазначених вище ознак може бути пояснена цими QTL.

Наразі, база даних QTL курей (<http://www.animalgenome.org/>) включає в себе QTL, асоційовані з якістю білка яєць, розташовані в регіонах хромосом 1, 2, 3 і 4. Повногеномне дослідження показало значні асоціації SNP, асоційовані з якістю білка яєць, на хромосомах 1, 3, 5, 18, 19, 23 і Z [24] і ознаки асоціацій на хромосомах 7, 8, 9, 14, 20 і 24 [29].

У 2012 році Honkatukia M. та ін. [30], на гібридах F₂ білих і червоних род-айлендів, фенотип яких за якістю білка яєць був оцінений на основі одиниць ХАУ та висоти білка у віці 40 тижнів, провели сканування геному за 27 хромосомами з використанням 162 мікросателітних

маркерів. У результаті цього, було виявлено чотири QTL, асоційовані з показниками якості білка яєць. Автори виявили достовірні QTL, що виявляють значний вплив на якість білка на хромосомі 7 і Z, і можливі QTL, локалізовані на хромосомах 4 і 26. Надалі, перевірку отриманих даних провели на промисловому кросі курей. Результати показали, що в курячому геномі є регіони, які паралельно впливають на кілька ознак якості яєць. У виявлених QTL ділянках міститься багато потенційних генів-кандидатів з різними функціями, які асоційовані з якістю білка яєць.

M. Tuiskula-Haavisto та ін. [31], з метою виявлення маркерів, пов'язаних з якістю шкаралупи яєць (товщина шкаралупи, пружна деформація тощо), використовували популяцію F₂ курочок. За допомогою 160 мікросателітних маркерів на 27 хромосомах було виявлено 11 достовірних локусів і 15 можливих QTL, асоційованих з якістю шкаралупи яйця. Локуси, що виявляють вплив на деформацію шкаралупи яйця, були виявлені на хромосомах 1, 2, 6, 10, 14 і Z, на руйнівне зусилля — на хромосомах 2, 3, 10, 12 і Z, на вагу — на хромосомах 6, 12, 24 і Z. У цілому 1,5–15 % фенотипової мінливості зазначених вище ознак може бути пояснена цими QTL. Крім того, не було виявлено ніяких епістатичних ефектів між локусами асоційованими з якістю шкаралупи.

Іншими дослідженнями [32] було виявлено QTL, асоційовані з наявністю м'ясних та кров'яних включень в яйці. Аналіз зчеплення з 27 хромосом за 162 мікросателітними маркерами показав один істотний QTL, асоційований з м'ясними та кров'яними включеннями в яйці. Вчені послідовно дослідили фрагмент гена — кандидата в регіоні ZO-2, що кодує щільний шар білка, і виявили дев'ять випадків поліморфізмів, два з яких було включено до тонкого картування та аналізу асоціацій. Для подальшої оцінки QTL, аналіз асоціацій проводили в двох незалежних племінних лініях курей з

MCW241 маркером і оточуючих SNP. Асоціація була виявлена в основному в 0,8 Mb всій хромосомній ділянці на GGAZ. Таким чином, знайдені варіації в *tight junction protein ZO-2* і microRNA gga-mir-1556, що асоційовані з наявністю м'ясних та кров'яних включень в яйці.

Шляхом докладного опису транскрипту матриці у курей під час формування яєчної шкаралупи, *Jonchère V.* та ін. [33] виявили близько 600 функціональних генів і велику кількість кодованих білків, які виділяються в матковій рідині для формування яєчної шкаралупи та хімічного захисту яйця. Деякі з цих генів можуть виявитися корисними в якості біологічних маркерів для генетичного поліпшення фенотипових проявів якості шкаралупи яйця.

QTL м'ясної продуктивності курей. Для пошуку QTL, асоційованих з ростом курей, були використані чорнові дані повного секвенсу генома й мікросателітні маркери. Van Kaam та ін. [17] проводили повногеномне сканування в пошуках QTL, асоційованих з ростом і ефективністю використання корму у курей, і виявили чотири статистично достовірні QTL на хромосомах GGA1, GGA2, GGA4 і GGA23. Ця ж група дослідників провела повногеномне сканування в пошуках QTL, асоційованих з якістю тушки курей [18]. У ході цього дослідження було показано, що на хромосомах GGA1 і GGA2 локалізовано два QTL, зчеплених з зазначеними ознаками. Ці результати були підтверджені й уточнені за допомогою Байєсовського аналізу [34].

Tatsuda K. та ін. [16] виявили QTL, асоційовані з масою тіла, з використанням референтної популяції, отриманої від схрещування півнів Сацумадори (повільно ростучої легкої місцевої японської породи, використовуваної в якості м'ясної птиці) і курей породи білий плімутрок (скоростиглого важкого бройлера). На хромосомі GGA1 у районі 220 cM і на хромосомі GGA2 на 60 cM були картовані два QTL, що виявляють вплив на масу тіла на 13–16-й тиждень життя птиці.

Найближчі QTL маркери — LEI0071 на GGA1 і LMU0013 і MCW0184 на GGA2.

Sewalem A. та ін. [35] досліджували QTL, асоційовані з масою тіла на 3-, 6-, і 9-й тижні життя птиці, використовуючи крос бройлера і яєчну породу курей. У результаті досліджень на хромосомі GGA13 був виявлений QTL, асоційований з масою тіла упродовж усіх трьох досліджених періодів життя. На геномному рівні були також виявлені QTL на хромосомах 1, 2, 4, 7 і 8, що впливають на масу тіла упродовж двох періодів життя курчат.

У 2004 р. були ідентифіковані QTL для якості м'яса й продуктивності в комерційних лініях бройлерів [36]. За допомогою 52 мікросателітних локусів, що представляють райони дев'яти хромосом курей, шляхом аналізу напівсибсів на основі моделі множинних QTL дослідники встановили зв'язок між цими дев'ятьма районами й ознаками росту, якістю тушки й споживання корму.

QTL, асоційовані з вмістом жиру у тілі курей, були досліджені й картовані Ikeobi C. O. та ін. [22] у популяції F₂ від схрещування ліній бройлерів і яєчних курей. За допомогою внутрішньосімейного регресійного аналізу з використанням 102 мікросателітних локусів з 27 груп зчеплення, були виявлені: QTL для маси абдомінального жиру на хромосомах 3, 7, 15, і 28, для нормалізованої за загальною масою абдомінального жиру — на хромосомах 1, 5, 7 і 28; маси шкірного й підшкірного жиру на хромосомах 3, 7 і 13; нормалізованої за загальною масою шкірного жиру на хромосомах 3 і 28, а маса шкірного жиру, нормалізованого за масою абдомінального жиру на хромосомах 5, 7 і 15. Достовірний позитивний і негативний вплив на досліджувані ознаки було показано для алелів QTL в обох лініях.

Деякі QTL, асоційовані з процесом депонування жиру у бройлерів, були виявлені Jennen D. G. J. та ін. [37]. У своєму дослідженні автори використовували дві неспоріднені лінії самок бройлерів породи білий плімутрок. Генетичний контроль

швидкості росту й екстер'єру вивчали в референтній популяції курей, отриманої схрещуванням племінних півнів з комерційної бройлерної лінії з курми із двох неспоріднених високоінбредних ліній [38]. Передбачалося, що господарсько корисні ознаки, відібрані традиційними методами у бройлерів, контролюються більшим числом генів з невеликими епістатичними ефектами, у той час як на ознаки, пов'язані з життєздатністю, могли впливати деякі гени.

Після одночасного картування епістатуючих QTL у гібридів другого покоління кластери QTL, що виявляють схожий вплив на ріст, були виявлені Carlborg O. та ін. [39]. Автори використовували одночасне картування взаємодіючих QTL для вивчення ознак росту. Цей підхід дозволив збільшити число виявлених QTL на 30 %. Генетична варіанса росту в значній мірі піддається епістазу, особливо на ранніх стадіях розвитку (до шеститижневого віку). Оскільки ранній розвиток, як було показано, пов'язаний з певним набором взаємодіючих локусів, залучених у цей процес, ці результати забезпечили надалі розуміння відмінності генетичної регуляції раннього й пізнього розвитку курей. Такі відмінності виявлені й в інших видів птиці.

Zengrong Z. та ін. [40] дослідили вплив гену кальпастаніну (CAST) на якість тушки курей методом скринінгу одиночних нуклеотидних поліморфізмів (SNP) в 240 курей м'ясного напрямку продуктивності від 5 комерційні чистих ліній (S01, S02, S03, S05 і D99) і 3 гібридних ($S01 \times S05$, $S01 \times S10$ і $S01 \times D99$). У результаті було висловлене припущення, що ген CAST є геном-кандидатом і може бути потенційним основним геном, що впливає на якість тушки, або пов'язаний з основним геном.

Картування SNP LEPR A286G (лептин — гормон, в основному жирової тканини, відіграє ключову роль в споживання корму, регулюванні енергетичного балансу та відтворення ссавців [41]) показало, що він є геном-

кандидатом, асоційованим з м'ясною продуктивністю курей [42].

QTL стійкості до хвороб. Прийнято вважати, що рівень імунної відповіді й стійкість до хвороб можна поліпшити за допомогою селекції. Оскільки ці кількісні ознаки мають низький або середній ступінь успадкованості, припускають, що більшого ефекту щодо них можна досягти за допомогою маркерної селекції [43]. Підвищення спадкової стійкості до хвороби Марека є привабливішим розв'язком проблеми масових спалахів цього важкого захворювання, ніж вакцинація. Генетичне картування QTL, що виявляє вплив на сприйнятливості до пухлин, індукованих вірусом хвороби Марека, було проведено Vallejo R. L. та ін. у 1998 р. [7]. Ці автори були першими, хто повідомив про картування QTL комплексу гістосумісності, залученого в процесі формування чутливості курей до хвороби Марека. У чотирьох районах хромосом було виявлено два достовірні й два передбачувані QTL стійкості до хвороби Марека. Вплив цих локусів визначає 11–23 % фенотипової мінливості хвороби Марека або 32–68 % генетичної мінливості цієї ознаки.

Інші QTL, вплив яких визначає приблизно 7,2 % фенотипової мінливості резистентності до цієї хвороби, були виявлені на хромосомі 4 [20]. У своїй роботі Xu G. та ін. використовували модель гетерогенної залишкової варіанси, яка, як вважається, дає переваги у швидкості розрахунків порівняно із змішаною моделлю. У цих та інших дослідженнях, в яких використовувалися ті ж гібриди, F_2 між двома експериментальними лініями [43–45] ідентифіковані QTL на хромосомах 1, 2, 4, 7, 8, 12 і 17, асоційованих зі стійкістю до хвороби Марека.

QTL, асоційованих із тривалістю життя після появи перших симптомів хвороби Марека, були перевірені на кросі між лініями комерційних яєчних курей [46]. У цьому дослідженні було проведено генотипування з використанням 81 мікросателітів, відібраних на основі попередніх результатів, отриманих з

використанням пулів ДНК. У результаті було виявлено кілька маркерів, асоційованих з виживаністю при хворобі Марека. Один із цих маркерів відповідає QTL, ідентифікованому на хромосомі 2 поблизу району, встановленого Vallejo R. L. [7] і Yonash N. [43] для QTL стійкості до хвороби Марека, що перебуває в області 90 см GGA2 на консенсусній генетичній карті.

Дуже важлива й актуальна проблема для продукції птахівництва, безпеки й споживчої цінності продуктів харчування — це контамінація бактеріями *Salmonella enteritidis*. Kaiser M. G. [46] ідентифікували генетичні маркери антитіл, що виробляються у відповідь на вакцину *enteritidis* у курчат-бройлерів і підтвердили зчеплення в потомства бройлерних кросів.

Деякі QTL, що впливають на імунну відповідь на введення еритроцитів барана, були виявлені Siwek M. та ін. [47] в яєчних курей з використанням 170 мікросателітних маркерів на популяції птиці F₂ від схрещування двох ліній, селекціонованих на високу й низьку імунну відповідь на введення еритроцитів барана. Для ідентифікації QTL були використані модель напівсибсів і модель лінія-гібрид, заснованих на методі регресійного інтервалу. У двох незалежних популяціях яєчних курей в 2003 р. були виявлені QTL, залучені в первинну відповідь на введення гемоцианіну фіссурелли й бактерій *Mycobacterium butyricum* [48]. Передбачалося, що генетична регуляція імунної відповіді на два різні залежні від Т-лімфоцитів антигену різні.

Zhou H. та ін. [49] за допомогою мікросателітів і аналізу порушення рівноваги зчеплення в гібридів високоінбредних самців двох конгенних за МНС ліній курей *Fayoumi* і високоінбредних самок леггорна G-B1 були досліджені QTL, асоційованих з імунною відповіддю. QTL, що впливають на кінетику антитіл, були локалізовані на хромосомах 3, 5, 6 і Z.

Повногеномне сканування з використанням 119 мікросателітів дозволило Zhou H. [49] картувати на хромосомі 1 домашньої курки QTL,

пов'язаний зі стійкістю до пташиного кокцидіозу.

Yonash N. та ін. [43] досліджували QTL, асоційовані з імунною відповіддю на еритроцити барана, вірус хвороби Ньюкасла (NDV) і кишкову паличку. Як було показано в зазначеній роботі, із цими трьома ознаками мають істотну асоціацію три маркери.

QTL поведінки курей. У 2003 р. Buitenhuis A. J. та ін. [50] виявили кілька QTL, асоційованих з вищипуванням пір'я (особливість поведінки, що є проблемою при клітковому утриманні) і стійкістю до стресу курей яєчного напрямку продуктивності. За допомогою 180 мікросателітних локусів дослідники картували один достовірний QTL, асоційований із сильним вищипуванням пір'я, на хромосомі 2 і передбачували QTL для легкого прояву цієї ознаки на хромосомах 1, 2 і 10.

Повногеномне сканування з використанням 104 мікросателітів з метою пошуку QTL, асоційованих з харчовою поведінкою й суспільною мотивацією, було проведено Schutz K. та ін. [51]. У якості матеріалу для дослідження були використані нащадки F₂ від схрещування курей породи білий леггорн і дикої банківської курки. Були виявлені достовірні QTL, пов'язані з перевагою вільного поїдання корму без суспільних стимулів і невеликої кількості штучних добавок на хромосомах 27 і 7 відповідно. Цікаво, що локалізація цих QTL збіглася з відомими QTL для темпу росту й маси тіла.

Висновки

Дослідження QTL у курей дуже швидко розширюються, створена спеціальна база даних з QTL курей (NAGRP, [52]). З появою щільно насичених молекулярними маркерами генетичних карт дослідження з пошуку QTL стають можливими й в інших видів сільськогосподарської птиці [53–55]. Однак, ідентифікація генів, що відповідають за фенотипові характеристики QTG і QTN комплексних ознак все ще

залишається дуже важливим завданням, і необхідно розробити ряд підходів для того, щоб зменшити кількість позиціонованих на карті генів-кандидатів. На сьогодні все ще залишається невідомою можлива функція більшості генів, ідентифікованих у результаті секвенування геномів і комплементарної ДНК.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження доцільно спрямувати на паспортизацію порід курей на основі ідентифікації QTL з метою вдосконалення господарсько корисних ознак та створення на їх основі нових підходів до використання генетичних маркерів у селекції курей.

1. Dodgson J., Cheng H., Okimoto R. DNA marker technology: a revolution in animal genetics. *Poultry Science*, 1997, vol. 76, pp. 1108–1114.
2. Teneva A. Molecular markers in animal genome analysis. *Biotechnology in animal husbandry*, 2009, vol. 25 (5–6), pp. 1267–1284.
3. Podstreshnyi A. P. Perspektivy ispolzovaniya molecularno-geneticheskikh markerov v pticevodstve [Prospects for the use of molecular genetic markers in poultry]. *Obzor statey po materialam XXII Vsemirnogo kongressa po pticevodstvu — XXII World's poultry congress. Book of abstracts*. 8–12 June 2004, Istanbul-Turkey, pp. 27–34 (in Russian).
4. Cheng H. H. Development of a genetic map of the chicken with markers of high utility. *Poultry Science*, 1995, vol. 74, pp. 1855–1874.
5. Grisart B. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutations in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. *Genome Research*, 2002, vol. 12, pp. 222–231.
6. Rischkowsky B., Pilling D. *Sostoyaniye vsemirnykh geneticheskikh resyrsov zhyvotnykh v sphere prodovolstviya i selskogo hozhaystva* [The state of the Worlds Animal Genetic Resourcer for Food and Agriculture], FAO, Rome. P. 512 (in Russian).
7. Vallejo R. L. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting susceptibility to Marek's disease virus induced tumors in F2 intercross chickens. *Genetics*, 1998, vol. 148, pp. 349–360.
8. Sunnucks P. Efficient genetic markers for population biology. *Tree*, 2001, vol. 15, pp. 199–203.
9. Goldstein D. B., Schlotterer C. *Microsatellites: evolution and applications*. Oxford University Press, 1999. Pp. 459–464.
10. Jarne P., Lagoda P. J. L. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Tree*, 1996, vol. 11, pp. 424–429.

11. Sachidanandam R. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 2001, vol. 409, pp. 928–933.
12. Sazanov A. A. *Molekulyarna organizatsiya genoma ptic: monografiya* [The molecular organization of the genome of birds: monograph]. Moskov, 2010. 108 p. (In Russian).
13. Kylibaba R. A. Polimorfizm gena insylinopodobnogo rostovogo faktora-I v linii myaso-yaichnykh kur otechestvennoy selekcii [Polymorphism of insulin-like growth factor-I in the line of meat-and egg-laying domestic breeding]. *Ptahivnytstvo: Mizhvidomchuy tematychnuy naykovuy visnuk — Poultry: Interagency tematychnyy scientific journals*, 2012, vol. 68, pp. 250–256 (in Russian).
14. Groenen M. A. M. QTL mapping in chicken using a three generation full sib family structure of an extreme broiler broiler cross. *Anim Biotechnol*, 1997, vol. 8, pp. 41–46.
15. An Kaam J. B. C. H. M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting body weight in chickens using a three generation design. *Livest Product Science*, 1998, vol. 54, pp. 133–150.
16. Tatsuda K. Genetic mapping of QTL affecting body weight in chickens using a F2 family. *Brasil Poultry Science*, 2001, vol. 42, pp. 333–337.
17. Van Kaam J. B. C. H. M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting growth and feed efficiency. *Poultry Science*, 1999, vol. 78, pp. 15–23.
18. Van Kaam J. B. C. H. M. Whole genome scan in chickens for quantitative trait loci affecting carcass traits. *Poultry Science*, 1999, vol. 78, pp. 1091–1099.
19. Lipkin E. Quantitative trait locus mapping in chickens by selective DNA pooling with dinucleotide microsatellite markers by using purified DNA and fresh or frozen red blood cells as applied to marker-assisted selection. *Poultry Science*, 2002, vol. 81, pp. 283–292.
20. Xu G. A CT repeat in the promoter of the chicken malic enzyme gene is essential for function at an alternative transcription start site. *Archive Biochemistry Biophysics*, 1998, vol. 358, pp. 83–91.
21. Yonash N. High resolution mapping and identification of new quantitative trait loci (QTL) affecting susceptibility to Marek's disease. *Animal Genetics*, 1999, vol. 30, pp. 126–135.
22. Ikeobi C. O. Quantitative trait loci affecting fatness in the chicken, *Animal Genetics*, 2002, vol. 33, pp. 428–435.
23. Tuiskula-Haavisto M. Mapping of quantitative trait loci affecting quality and production traits in eggs layers. *Poultry Science*, 2002, vol. 81, pp. 919–927.
24. Abasht B., Sandford E., Arango J. Extent and consistency of linkage disequilibrium and identification of DNA markers for production and egg quality traits in commercial layer chicken populations. *BMC Genomics*, 2009, vol. 10, pp. 2.

25. Schmidt M. Second report on chicken genes and chromosomes. *Cytogenet Genome Research*, 2005, vol. 109, pp. 415–479.
26. Wardecka B. Relationship between microsatellite marker alleles on chromosome 1–5 originating from the Rhode Island Red and green-legged Partridge breeds and egg production and quality traits in F2 mapping population. *Appl. Genetics*, 2002, vol. 43, pp. 319–329.
27. Sazanov A. A. Chromosomal localization of fifteen large insert BAC clones containing three microsatellites on chicken chromosome 4 (GGA4) which refine its centromere position. *Animal Genetics*, 2005, vol. 36, pp. 161–163.
28. Sasaki O. Genetic mapping of quantitative trait loci affecting body weight, egg character and egg production in F2 intercross chickens. *Animal Genetics*, 2004, vol. 35, pp. 188–194.
29. Liu W. A genome-wide SNP scan reveals novel loci for egg production and quality traits in white leghorn and brown-egg dwarf layers. *PloS one*, 2011, vol. 6, pp. 268–274.
30. Honkatukia M., Tuiskula-Haavisto M., Schmutz M. QTL mapping of egg albumen in a white X rir cross. *Worlds Poultry Science Journal*, 2012, pp. 506–509.
31. Tuiskula-Haavisto M., Honkatukia M., Preisinger R. Quantitative trait loci affecting eggshell traits in an F2 population. *Animal Genetics*, 2011, vol. 42, no 3, pp. 293–299.
32. Honkatukia M., Tuiskula-Haavisto M., Ahola V. Mapping of QTL affecting incidence of blood and meat inclusions in egg layers. *BMC Genetics*, 2011., <http://www.biomedcentral.com/1471-2156/12/55>
33. Jonchère V., Hennequet-Antier C., Cabau C. Gene expression profiling to identify eggshell proteins involved in physical defense of the chicken egg. *BMC Genomics*, 2010, vol. 21, pp. 11–57.
34. Van Kaam J. B. C. H. M. Scaling to account for heterogeneous variances in a Bayesian analysis of broiler quantitative trait loci. *Animal Science Journal*, 2002, vol. 80, pp. 45–56.
35. Sewalem A. etc. Mapping of quantitative trait loci for body weight at three, six, and nine weeks of age in a broiler layer cross. *Poultry Science*, 2002, vol. 81, pp. 1775–1781.
36. De Koning D-J. Segregation of QTL for production traits in commercial meat-type chickens. *Genetic Research*, 2004, vol. 83, pp. 211–220.
37. Jennen D. G. J. Detection and localization of quantitative trait loci affecting fatness in broilers. *Poultry Science*, 2004, vol. 83, pp. 295–301.
38. Deeb N. Use of a novel outbred by inbred F1 cross to detect genetic markers for growth. *Animal Genetic*, 2003, vol. 34, pp. 205–212.
39. Lamont S. J. Genetic markers linked to quantitative traits in poultry. *Animal Genetic*, 1999, vol. 27, pp. 1–8.
40. Zengrong Z., Huarui D., Zhaojun W. Polymorphism of calpastatin (CAST) gene and its association with chicken carcass traits. *Worlds Poultry Science Journal*, 2012, pp. 412–419.
41. Zhang Y. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994, vol. 372, pp. 425–432.
42. De Oliveira Peixoto J., Peri E., Coldebella A. Influence of the A286G polymorphism in the lepr gene on carcass traits in a paternal broiler line. *Worlds Poultry Science Journal*, 2012, pp. 425–428.
43. Yonash N. DNA microsatellites linked to quantitative trait loci affecting antibody response and survival rate in meat-type chickens. *Poultry Science*, 2001, vol. 80, pp. 22–28.
44. Bumstead N. A preliminary linkage map of the chicken genome. *Genomics*, 1992, vol. 13, pp. 690–697.
45. Liu W. Construction and characterization of a novel 13.34-fold chicken bacterial artificial chromosome library. *Animal Biotechnology*, 2003, vol. 14, pp. 145–153.
46. Kaiser M. G. Microsatellite markers linked to Salmonella enterica serovar enteritidis vaccine response in young F1 broiler-cross chicks. *Poultry Science*, 2002, vol. 81, pp. 193–201.
47. Siwek M. Detection of QTL for immune response to sheep red blood cells in laying hens. *Animal Genetic*, 2003, vol. 34, pp. 422–428.
48. Siwek M. Detection of different quantitative trait loci for antibody responses to keyhole limpet hemocyanin and Mycobacterium butyricum in two unrelated populations of laying hens. *Poultry Science*, 2003, vol. 82, pp. 1845–1852.
49. Zhou H. Genetic markers associated with antibody response kinetics in adult chickens. *Poultry Science*, 2003, vol. 82, pp. 699–708.
50. Buitenhuis A. J. Identification of quantitative trait loci for receiving pecks in young and adult laying hens. *Poultry Science*, 2003, vol. 82, pp. 1661–1667.
51. Schutz K. QTL analysis of a red junglefowl. White Leghorn intercross reveals trade-off in resource allocation between behavior and production traits. *Behavior Genetic*, 2002, vol. 32, pp. 423–433.
52. <http://www.animalgenome.org/Otldb/chicken.html>.
53. Beaumont C. A genome scan with AFLPTM markers to detect fearfulness-related Qtls in Japanese quail. *Animal Genetics*, 2005, vol. 36, pp. 401–407.
54. Huang Y. A genetic and cytogenetic map for the duck (Anas platyrhynchos). *Genetics*, 2006, vol. 173, pp. 287–296.
55. Minvielle F. Microsatellite mapping of QTL affecting growth, feed consumption, egg production, tonic immobility and body temperature of Japanese quail. *BMC Genomics*, 2005, vol. 6, pp. 87.