

ВЛИЯНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В  
ГЕНЕ РЕЦЕПТОРА  
ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА  
(FSHR) НА ЯИЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КУР



Куликов Е.И.

# Ген-кандидат



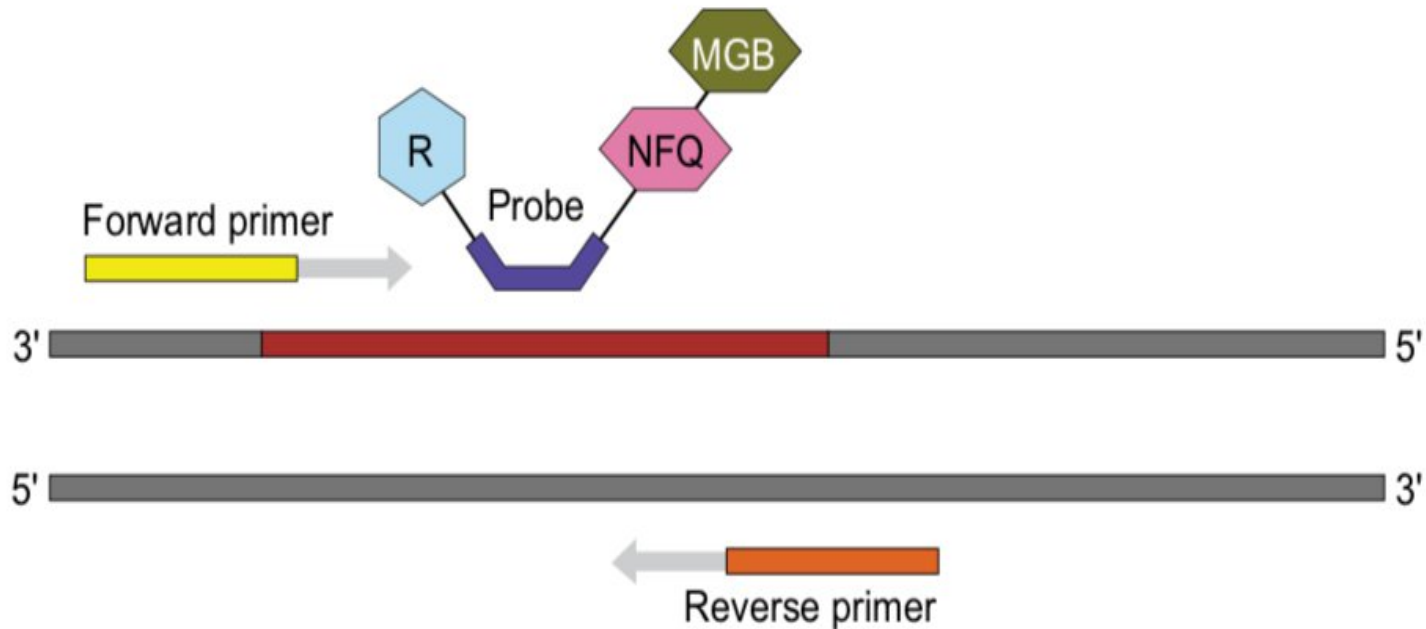
- **FSHR** - специфический трансмембранный рецептор, с которым связывается ФСГ, после высвобождения в циркуляцию. Входит в состав гликопротеинового семейства рецепторов, связанных с G-белком, и находится на клетках мишенях. Вызывает быстрый рост фолликул и влияет на репродуктивные показатели.



# Технология определения SNP при помощи зондов TaqMan



Технология TaqMan представляет собой разновидность ПЦР, в которой кроме двух праймеров используется зонд, комплементарный участку ДНК между праймерами. Данный зонд на 5'-конце несет репортерный флуоресцентный краситель (reporter), а на 3'-конце – гаситель флуоресценции (quencher).



# Создание праймеров и зондов



Seq.	Length	Stop	Prod.C%	Freq.	In-Drif	Qe-Tm	Sm.	Ash.	Sm.	Ash.	S.S.	A.S.	F	A-Seq	S	S-GC	S-Gr	S-4S	F	A-Seq	A	A-GC	A-S
1	111	111	36.04	64.60	2.38	48.18	40.22	42.38	42.86	35.96	4.77	6.13	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
2	111	111	36.20	64.81	1.37	45.30	40.22	43.59	42.86	32.63	4.77	6.94	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
3	114	114	36.84	63.09	0.80	45.53	40.22	43.02	42.86	35.96	4.77	5.83	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
4	115	115	36.52	63.81	1.42	46.47	40.22	44.34	42.86	32.63	4.77	5.83	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
5	116	116	37.07	63.28	3.06	45.66	40.22	43.09	42.86	32.63	4.77	4.83	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
6	117	117	37.61	63.55	0.62	45.85	40.22	44.04	42.86	35.96	4.77	5.40	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
7	118	118	37.25	63.47	2.71	45.80	40.22	42.33	42.86	32.63	4.77	5.40	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
8	119	119	38.97	63.28	2.42	46.24	40.22	42.45	42.86	32.63	4.77	5.40	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
9	121	121	37.19	63.57	3.46	45.87	40.22	42.69	42.86	35.96	4.77	6.37	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
10	122	122	36.89	63.49	3.17	45.81	40.22	43.39	42.86	32.63	4.77	6.37	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
11	123	123	37.40	63.76	0.00	45.99	40.22	42.32	42.86	32.63	4.77	4.80	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
12	124	124	37.33	63.67	1.72	45.84	40.22	42.59	42.86	32.63	4.77	4.80	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
13	125	125	36.80	63.59	4.00	45.88	40.22	43.31	42.86	32.63	4.77	4.80	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
14	127	127	37.80	70.08	2.82	46.23	40.22	43.14	42.86	32.63	4.77	6.11	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
15	128	128	37.50	70.00	1.95	46.17	40.22	42.17	42.86	32.63	4.77	5.36	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
16	129	129	37.90	70.28	2.63	46.24	40.22	43.45	42.86	32.63	4.77	5.36	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
17	130	130	37.60	70.16	1.20	46.28	40.22	43.51	42.86	32.63	4.77	6.89	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
18	131	131	38.17	70.40	4.92	46.45	40.22	43.14	42.86	32.63	4.77	6.89	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
19	132	132	37.80	70.32	2.48	46.36	40.22	42.71	42.86	32.63	4.77	5.87	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
20	133	133	38.25	70.59	4.39	46.56	40.22	44.61	42.86	32.63	4.77	5.87	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
21	134	134	38.03	70.36	4.02	46.71	40.22	44.42	42.86	32.63	4.77	5.75	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
22	135	135	38.26	71.00	4.36	46.87	40.22	44.58	42.86	32.63	4.77	4.83	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00
23	132	132	38.47	71.68	3.17	47.32	40.22	43.39	42.86	44.44	4.77	5.76	AGGCATATATACATGACAG	37	27.24	137.40	363.50	CTCTCCAGGATATGACAG	19	26.80	1	1.00	1.00

## Oligo Analyzer

File Edit Format Help



Oligo Analyzer - 1.0.3

26.09.2022

Primer 1 - Primer 2 annealing:

5'-**TTGGATATTTCAAGGACAAG**-3'

|||

3'-**GATAGGATCGGTAACGAC**-5'

dG: -0,69 kcal/mol

5'-**TTGGATATTTCAAGGACAAG**-3'

: : ||| :

3'-**GATAGGATCGGTAACGAC**-5'

dG: -0,21 kcal/mol

5'-**TTGGATATTTCAAGGACAAG**-3'

||| : :

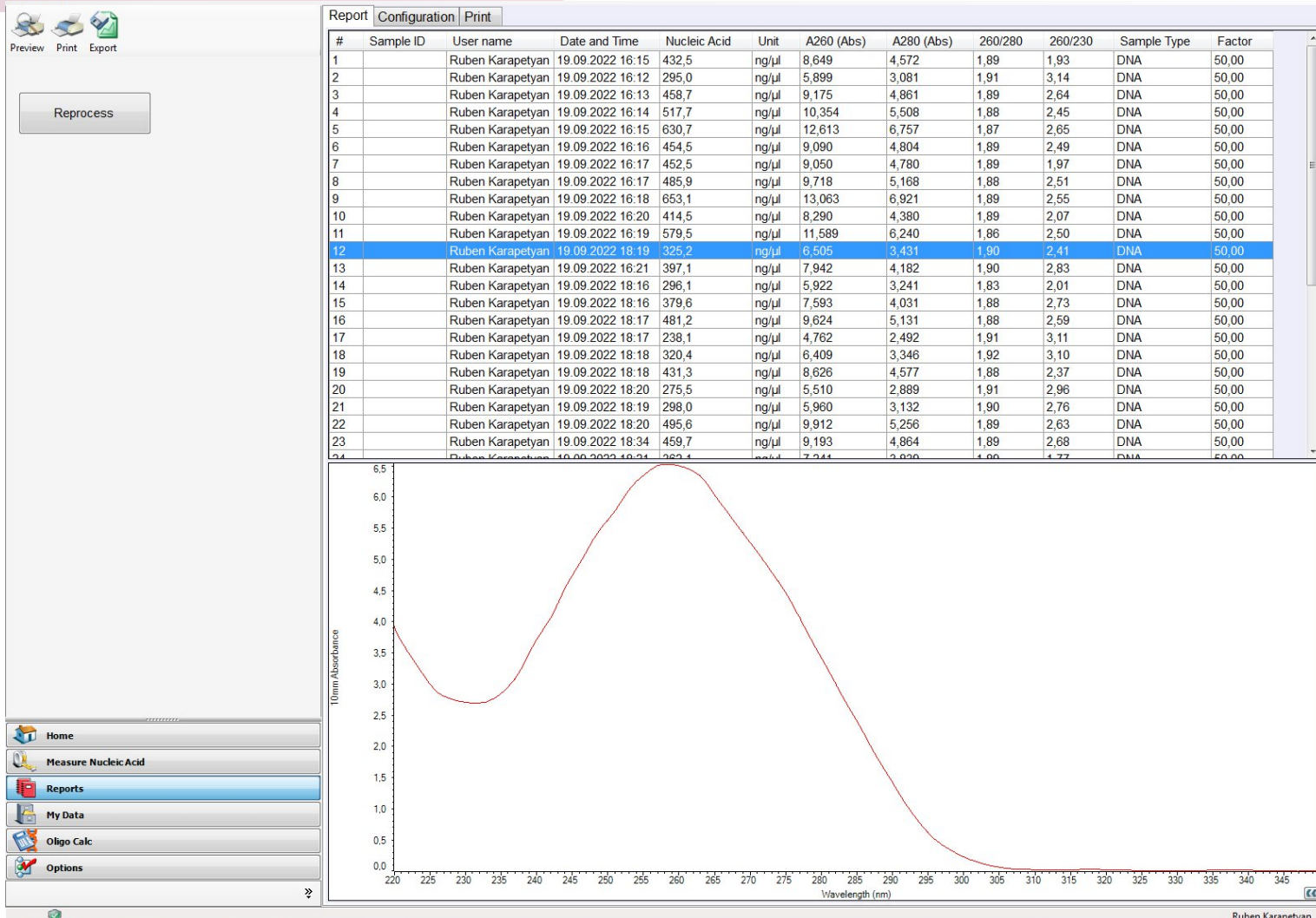
3'-**GATAGGATCGGTAACGAC**-5'

dG: 0,78 kcal/mol

Restrict... Open Res... PCR Prime... Protein Pr... Mutagen... Sequenc... Find and...

37.4%GC dname2seq 1 134 DNA UNOS GCGR NLM NG

# Контроль качества выделенной ДНК

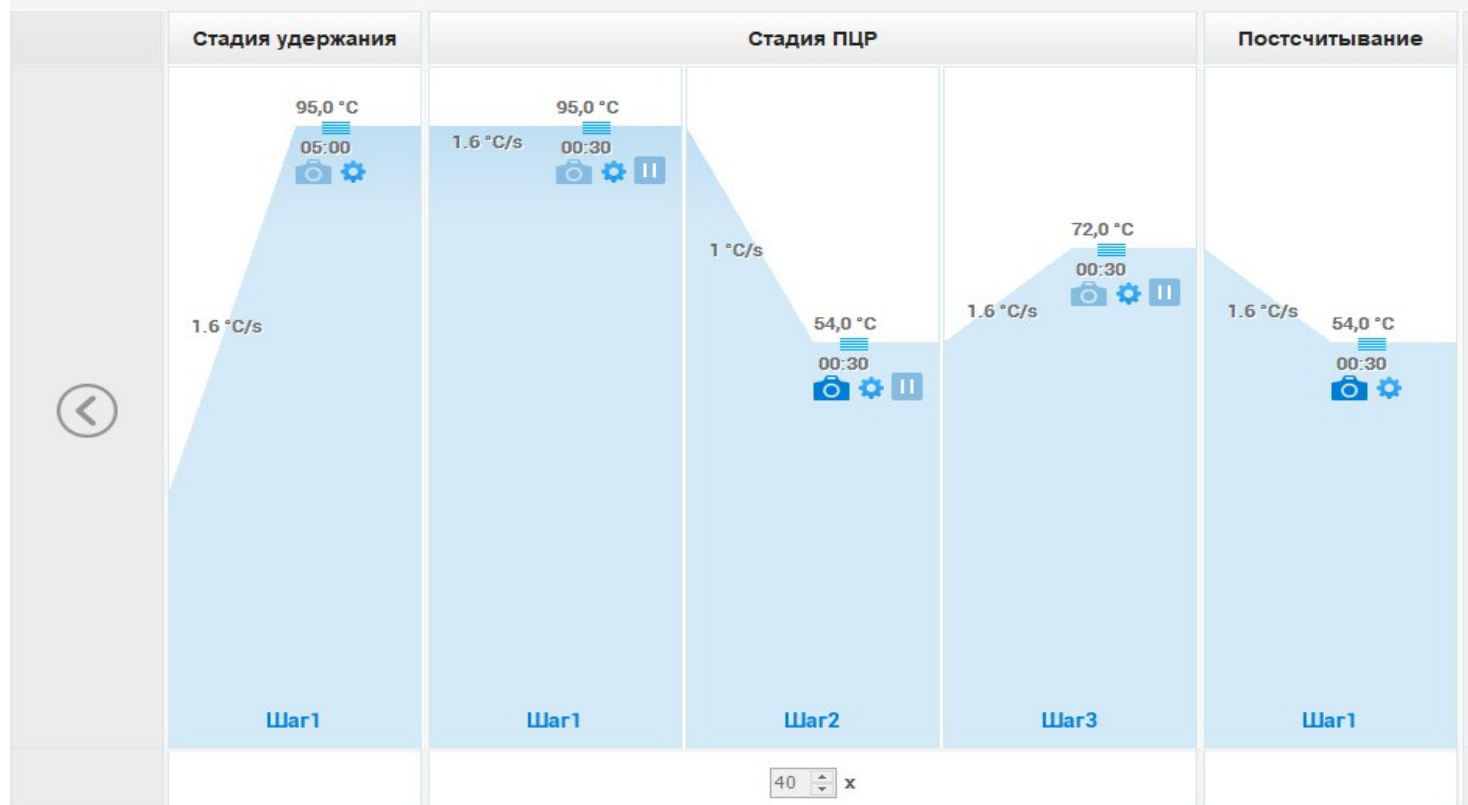


# Настройки режима амплификации



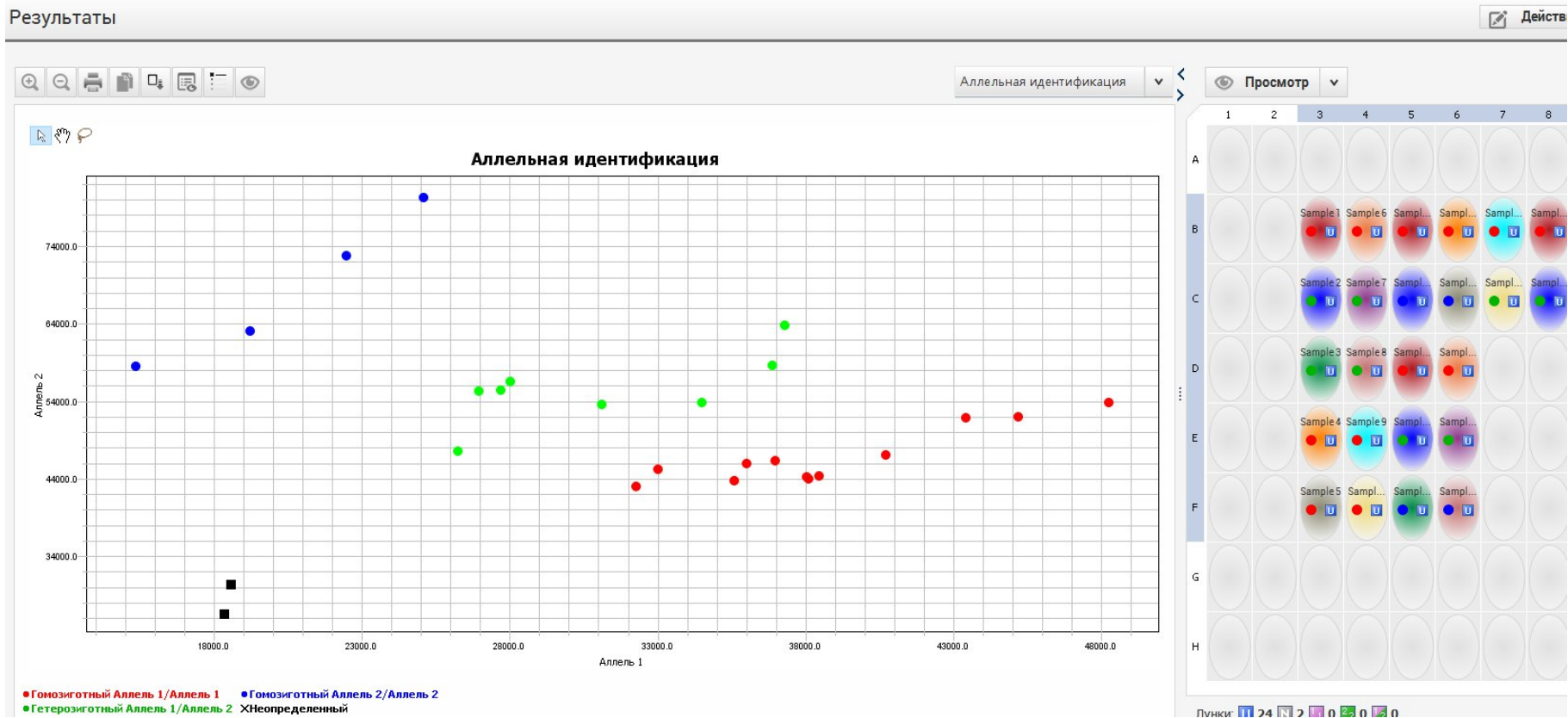
## Протокол эксперимента

Объем	Крышка
25 $\mu$ L	105,0 °C



Примечание Сборданных вкл Сборданных выкл Пауза вкл Пауза выкл Расширенные настройки V VeriFlex

# Аллельная идентификация



# Тест-системы, отобранные для дальнейшей проверки и селекционной работы



Было отобрано 2 SNP, расположенные в гене FSHR, показавшие различие по продуктивным показателям и имеющие дальнейшие перспективы, для включения в селекционный процесс

	rs315726646
Прямой праймер	GTCATTGAAATCACAGGC
Обратный праймер	GCATAAATACTACCTCTCCTTC
Зонд для аллеля G	GCA <u>C</u> ATTTTGTTTGAT
Зонд для аллеля A	GCA <u>T</u> ATTTTGTTTGAT
	rs317093289
Прямой праймер	TTCTCAGCAAGTTTCAGTTC
Обратный праймер	TTCCACTGTAGATACGCAC
Зонд для аллеля A	ACTCCAGTATA <u>I</u> T
Зонд для аллеля T	ACTCCAGTATA <u>A</u> T



# Частота генотипов и аллелей замены rs315726646 у кур



Кросс	Линии	Частота генотипов			Частота аллелей	
		GG	GA	AA	G	A
СП 789	СП 7 (12 головы)	0,75	0,08	0,17	0,79	0,21
	СП 8 (12 головы)	0,25	0,33	0,42	0,41	0,59
	СП 9 (12 головы)	0,08	0,42	0,50	0,29	0,71
Смена 9	СМ 5 (10 голов)	0,70	0,20	0,10	0,80	0,20
	СМ 6 (10 голов)	0,90	0,10	0	0,95	0,05
	СМ 7 (10 голов)	0,40	0,40	0,20	0,60	0,40
	СМ 9 (10 голов)	0,20	0,20	0,60	0,30	0,70

# Ассоциация генотипов rs315726646 с хозяйственно- полезными признаками



Кросс	Показатель	Генотип		
СМ 9		GG (24 голов)	GA (44 голов)	AA (17 голов)
	Живая масса в 35 дней	1,90±0,01	1,893±0,01	1,90±0,02
	Половая зрелость, дн	184,67±1,14a	181,70±0,89b	183,12±1,31ab
	Масса яйца в 30 нед. жизни, г	58,04±0,58	57,57±0,35	57,7±0,93
	Яйценоскость за 30 нед. жизни, шт.	19,83±0,97a	22,95±0,8b	23,00±1,19b
	Яйценоскость за 40 нед. жизни, шт.	96,08±1,59a	97,86±1,73ab	101,59±1,92b

# Частота генотипов и аллелей замены rs317093289 у кур SM9



Генотип	Голов	Частота генотипа	Частота встречаемости аллеля	
TT	22	0,24	A	0,45
TA	38	0,42	T	0,55
AA	31	0,34		
Итого	91	1		

# Ассоциация генотипов rs317093289 с хозяйственно- полезными признаками



Показатель продуктивности	Генотип		
	ТТ	ТА	АА
Живая масса в 35 дней, г	1901±0,01A	1898±0,01B	1887±0,01C
Возраст наступления половой зрелости, дни	184,3±1,02	182,3±1,12	181,9±1,03
Масса яиц в возрасте 210 дней, г	58,2±0,56AB	58,4±0,46B	56,8±0,47A
Яйценоскость за 210 дней, шт.	20,2±0,96A	23,4±0,96B	22,4±1,02AB
Яйценоскость за 308 дней, шт.	96,6±2,06A	99,3±1,51B	97,8±2,16AB

# Праймеры и зонды



Был отобран SNP rs312312510 , расположенный в гене FSHR, показавший различие по продуктивным показателям и имеющий дальнейшие перспективы, для включения в селекционный процесс

Прямой праймер	TGGAACAGAACTAATCACC
Обратный праймер	CATCAATGCCTACAAAAC
Зонд для аллеля А	TGCACC <b>T</b> TATGGACGAC
Зонд для аллеля G	TGCACC <b>C</b> TATGGACGAC

# Замена аминокислоты



SNP rs312312510 находится в экзоне гена FSHR и приводит к замене аминокислоты

AAG	AGG
Лизин	Аргинин

# Частота генотипов и аллелей замены rs312312510 у кур



Линии	Частота генотипов			Частота аллелей	
	AA	AG	GG	A	G
СП7 (48 голов)	0,65	0,33	0,02	0,82	0,19
Х11 (48 голов)	0,52	0,35	0,13	0,70	0,30
СП7.1 (38 голов)	0,61	0,34	0,05	0,78	0,22
Х11.1 (30 голов)	0,63	0,37	0	0,82	0,18
СП8 (12 голов)	0,83	0,17	0	0,92	0,08
СП9 (12 голов)	0,5	0,42	0,08	0,71	0,29

# Ассоциация генотипов rs312312510 с хозяйственно-полезными признаками



Показатель продуктивности	Генотип		
	AA (98 голов)	AG (57 голов)	GG (9 голов)
Живая масса в дней, г	1,32±0,01	1,31±0,01	1,31±0,01
Возраст наступления половой зрелости, дни	156,44±0,81	157,84±1,02	155,44±2,97
Яйценоскость за дней, шт.	107,34±1,05A	104,91±1,31AB	103,11±1,73B
Масса яйца в возрасте дней, г	64,52±0,48	64,64±0,49	64,34±1,15



# Преимущества геномной селекции



- Возможность анализа и точного отбора петухов, несущих желаемые генотипы
- Возможность работы со сложно селекционируемыми признаками
- Независимая от влияния окружающей среды оценка
- Возможность прогнозирования хозяйственно-полезных признаков кур и проведение отбора птицы намного раньше (экономическая выгода)