

Поиск полиморфных вариантов гена *LCORL* с помощью секвенирования по Сенгеру у пород кур различного направления продуктивности

Т. А. Ларкина^{1✉}, А. А. Крутикова¹, Г. К. Пегливанян¹, Н. В. Дементьева¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального научного центра животноводства – ВИЖ им. академика Л. К. Эрнста, Пушкин, Россия

✉ E-mail: tanya.larkina2015@yandex.ru

Аннотация. Выявлено влияние полиморфных вариантов гена *LCORL* у многих видов сельскохозяйственных животных. Предполагается, что ген *LCORL* ассоциирован с размерами скелета у кур, но еще недостаточно изучен. Поэтому перед нами стоит задача найти новые полиморфные варианты в гене *LCORL* у генофондных пород. **Целью исследования** является поиск и анализ полиморфных вариантов в гене *LCORL* с помощью секвенирования по Сенгеру у пород различного типа продуктивности. **Методология и методы.** Исследования проводили на базе лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ. Объектом эксперимента служили популяции 4 пород кур разного направления продуктивности биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (г. Пушкин, Санкт-Петербург): корниш, китайская шелковая, итальянская куропатчатая, пушкинская. **Материалом** для исследования послужил 61 образец ДНК, амплификацию проводили на приборе Thermal Cycler T100 (Bio-Rad, США). Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) в лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ. Для секвенирования использовали набор реагентов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). Биометрическая обработка данных выполнена с помощью программы Microsoft Excel. **Результаты.** В проведенном исследовании выявлена генетическая изменчивость по полиморфным вариантам A30G, G82C, G236T, A342G, A450C, A503G, A508G в интроне гена *LCORL* популяций кур различного направления продуктивности. Полученные результаты позволяют предположить, что полиморфный вариант A30G гена *LCORL* можно рассматривать в качестве ДНК-маркера признака «размеры скелета» у кур.

Ключевые слова: ген, *LCORL*, секвенирование, полиморфный вариант, курица.

Для цитирования: Ларкина Т. А., Крутикова А. А., Пегливанян Г. К., Дементьева Н. В. Поиск полиморфных вариантов гена *LCORL* с помощью секвенирования по Сенгеру у пород кур различного направления продуктивности // Аграрный вестник Урала. 2020. № 09 (200). С. 48–54. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-200-9-48-54.

Дата поступления статьи: 18.06.2020.

Постановка проблемы (Introduction)

Эффективная селекционно-племенная работа с опытными популяциями кур основывается на изучении полиморфизма ДНК, его связи с хозяйственно ценными признаками [1, с. 270]. Под влиянием MAS-селекции (marker-assisted selection) и факторов внешней среды формировались экстерьерные особенности птицы. Экстерьер является внешним выражением конституции [2, с. 997].

Стремительно развивающиеся технологии секвенирования создали возможность определения нуклеотидной последовательности ДНК, находить эффективные SNPs, влияющие на хозяйственно полезные признаки птиц. В каждом из целевых генов может быть выявлено несколько полиморфных вариантов. Изучение двух и более полиморфизмов в пределах одного гена представляет интерес с точки зрения их наследования, аддитивного влияния на признак [3, с. 24].

Ген *LCORL* находится на 4 хромосоме у курицы и, возможно, участвует в формировании экстерьерных призна-

ков, он кодирует лиганд-зависимый ядерный корепрессор [4, с. 524], который является транскрипционным фактором. Обнаруженные SNPs в этом гене связаны с размерами скелета и высотой в холке животного, а также *LCORL* влияет на развитие мышц в эмбриогенезе. Кроме того, обнаружено влияние этого гена на рост человека [5, с. 6372]. SNPs в *LCORL* ассоциированы с размером скелета у различных пород овец [6, с. 514], [7, с. 66], [8, с. 9], свиней [9, с. 224], собак [10, с. 223094], лошадей [11, с. 2], [12, с. 1005], кур [13, с. 669], коз [14, с. 168] и крупного рогатого скота [15, с. 68]. Результаты RT-PCR показали высокий уровень экспрессии гена *LCORL* в таких органах, как сердце, печень, селезенка, легкое, почка, рубец, двенадцатиперстная кишка, мозг (гипоталамус, гипофиз) и мышечной и жировой тканях [16, с. 720].

Целью исследования является поиск и анализ полиморфных вариантов гена *LCORL* с помощью секвенирования по Сенгеру у пород корниш, китайская шелковая, итальянская куропатчатая, пушкинская.

Методология и методы исследования (Methods)

Исследования проводили на базе лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ. Объектом эксперимента служили популяции 4 пород кур разного направления продуктивности (таблица 1) биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (г. Пушкин, Санкт-Петербург).

Материалом для исследования послужил 61 образец ДНК, выделенный из форменных элементов крови методом фенол-хлороформной экстракции. Амплификацию проводили на приборе Thermal Cycler T100 (Bio-Rad, США). Дизайн праймеров осуществляли в информационной сфере NCBI с помощью online-инструмента BLAST. Последовательность праймеров (ООО «Бигль», Санкт-

Петербург), условия амплификации и длина полученного ампликона приведены в таблице 2.

Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific Inc., США) в лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ. Для секвенирования использовали набор реагентов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) с теми же праймерами, с которыми проводилась амплификация. Секвенирование проводили согласно протоколу производителя. Для выравнивания нуклеотидных последовательностей использовали программный пакет MEGA 6.06 (<https://www.megasoftware.net>). Биометрическая обработка данных выполнена с помощью программы Microsoft Excel.

Таблица 1
Характеристика материала для исследования

Направление продуктивности	№ популяции	Поголовье, голов	Порода	Тип конституции
Мясное	1	15	Корниш	Нежная рыхлая
Мясо-яичное	2	19	Пушкинская	Промежуточное положение между плотной и рыхлой
Яичное	3	13	Итальянская куропатчатая	Плотная
Декоративное	4	14	Китайская шелковая	Нежная

Table 1
Characterization of material for research

Productivity direction	Population number	Livestock, heads	Breed	Constitution type
Meat	1	15	Kornish	Soft loose
Meat and egg	2	19	Pushkinskaya	Intermediate position between dense and loose
Egg	3	13	Ital'yanskaya kuropatchataya	Dense
Decorative	4	14	Kitayskaya shelkovaya	Soft

Таблица 2
Условия проведения ПЦР

Ген	Праймеры	Локализация изучаемого района гена (https://www.ensembl.org)	Режим амплификации	Ампликон
LCORL	F: GACTACAGCCCTTGGAGAGC RV: AGCAGGGCAGAAGGGAAAAA	75849344-75849874	95 °C – 5 мин. 35 циклов: 95 °C – 30 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 30 с 72 °C – 10 мин.	531 п. о.

Table 2
PCR conditions

Gene	Primers	Localization of the studied gene region (https://www.ensembl.org)	Amplification mode	Amplicon
LCORL	F: GACTACAGCCCTTGGAGAGC RV: AGCAGGGCAGAAGGGAAAAA	75849344-75849874	95 °C 5 min. 35 cycles: 95 °C – 30 s, 60 °C – 30 s, 72 °C – 30 s, 72 °C – 10 min.	531 b. p.

Результаты (Results)

Первичная структура фрагмента гена *LCORL* длиной 531 пн определена у 61 курицы пород корниш, китайская шелковая, итальянская куропатчатая, пушкинская. При их сравнении было выявлено 7 вариабельных сайтов (1,3 % от общей длины фрагмента). Транзиции встречаются в 57 % опытной выборки кур в позициях A30G, A342G, A503G, A508G. Трансверсии – соответственно у 43 % особей в позициях G82C, G236T, A450C (таблицы 3, 4, 5). Отношение транзиции к трансверсии в суммарной выборке оказалось равным 1,3.

По замене A30G все особи популяции итальянской куропатчатой – носители аллеля G. В пушкинской породе наблюдается равномерное распределение частот аллелей A (0,5) и G (0,5). Частота аллеля A в породе корниш – 0,87. Среди кур китайской шелковой отмечается высокая частота аллеля G (0,78), а частота аллеля A составляет 0,22. Оценка достоверности полученных данных проводилась с применением критерия χ^2 Пирсона. В популяциях кур корниш ($\chi^2 = 26,4$), пушкинская ($\chi^2 = 4,25$) и китайская шелковая ($\chi^2 = 5,25$) наблюдалось смещение генетического равновесия в связи с сильным селекционным давлением в породах. В дальнейших исследованиях нужно увеличить выборку в породах и провести более детальный анализ частот генотипов и аллелей по заменам гена *LCORL*.

По полиморфному сайту G82C высокая частота аллеля C наблюдается в породах корниш (0,80; $\chi^2 = 15,0$), пушкинская (0,58; $\chi^2 = 11,68$), китайская шелковая (0,93; $\chi^2 = 2,17$). Стоит отметить, что в опытной популяции кур породы китайская шелковая значения χ^2 не превысили критического значения 3,84. Таким образом, не наблюдалось достоверной разницы между показателями наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (таблица 3).

Согласно данным таблицы 4, все куры пород корниш, пушкинская и итальянская куропатчатая – носители аллеля G по замене G236T. В популяции китайской шелковой – распределение аллелей G (0,46) и T (0,54). Вариация распределения аллеля A по замене A342G – в популяциях кур от 0 до 1,0 (таблица 4).

Аллель G встречается у 100 % особей популяции китайской шелковой и не встречается вообще в популяции кур итальянская куропатчатая. В выборке кур породы корниш частота аллеля A (0,87) – A450C, G (0,70) – A503G, G (0,93) – A508G. В пушкинской популяции частота аллелей A (0,63), G (0,68), G (0,82) по полиморфным сайтам – A450C, A503G, A508G соответственно. В итальянской куропатчатой породе все особи – носители мономорфного аллеля по заменам A450C, A503G, A508G. Выявлен у кур китайской породы мономорфный аллель C по замене A450C и G по A508G (таблица 5).

Таблица 3
Генетическая гетерогенность популяций кур биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ по заменам A30G и G82C гена *LCORL*

№	Поголовье, голов	Порода	SNPs <i>LCORL</i>											
			A30G			χ^2	Частота аллелей A30G		G82C			χ^2	Частота аллелей G82C	
							A	G	GG	GC	CC		G	C
Частота генотипов			AA	AG	GG		A	G	GG	GC	CC		G	C
1	15	Корниш	0,87	0	0,13	26,4	0,87	0,13	0,20	0	0,80	15,0	0,20	0,80
2	19	Пушкинская	0,37	0,26	0,37	4,25	0,50	0,50	0,36	0,11	0,53	11,68	0,42	0,58
3	13	Итальянская куропатчатая	0	0	1,00	0	0	1,00	0,85	0	0,15	15,4	0,84	0,16
4	14	Китайская шелковая	0,14	0,14	0,72	5,25	0,22	0,78	0,07	0	0,93	2,17	0,07	0,93

Table 3
Genetic heterogeneity of chicken populations of the All-Russian Research Institute of Genetics And Culture of Agricultural Animals bioresource collection by substituting A30G and G82C of the *LCORL* gene

Number	Livestock, heads	Breed	SNPs <i>LCORL</i>											
			<i>A30G</i>			χ^2	<i>Allele frequency A30G</i>		<i>G82C</i>			χ^2	<i>Allele frequency G82C</i>	
			<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>		<i>A</i>	<i>G</i>	<i>GG</i>	<i>GC</i>	<i>CC</i>		<i>G</i>	<i>C</i>
<i>Genotype frequency</i>														
1	15	Kornish	0.87	0	0.13	26.4	0.87	0.13	0.20	0	0.80	15.0	0.20	0.80
2	19	Pushkinskaya	0.37	0.26	0.37	4.25	0.50	0.50	0.36	0.11	0.53	11.68	0.42	0.58
3	13	Ital'yanskaya kuropatchataya	0	0	1.00	0	0	1.00	0.85	0	0.15	15.4	0.84	0.16
4	14	Kitayskaya shelkovaya	0.14	0.14	0.72	5.25	0.22	0.78	0.07	0	0.93	2.17	0.07	0.93

Таблица 4
Генетическая гетерогенность популяций кур биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ по заменам G236T и A342G гена LCORL

№	Поголовье, голов	Порода	SNPs <i>LCORL</i>											
			G236T			χ^2	Частота аллелей G236T		A342G			χ^2	Частота аллелей A342G	
Частота генотипов			GG	GT	TT	G	T	AA	AG	GG	A	G		
1	15	Корниш	1,00	0	0	0	1,00	0	0	0,13	0,87	0,37	0,07	0,93
2	19	Пушкинская	1,00	0	0	0	1,00	0	0	0,37	0,63	5,67	0,19	0,81
3	13	Итальянская куропатчатая	1,00	0	0	0	1,00	0	1,00	0	0	0	1,00	0
4	14	Китайская шелковая	0,28	0,36	0,36	1,16	0,46	0,54	0	0	1,00	0	0	1,00

Table 4

Genetic heterogeneity of chicken populations of the All-Russian Research Institute of Genetics And Culture of Agricultural Animals bioresource collection by substituting G236T and A342G of the LCORL gene

Number	Livestock, heads	Breed	SNPs LCORL											
			G236T			χ^2	Allele frequency G236T		A342G			χ^2	Allele frequency A342G	
							G	T	AA	AG	GG		A	G
Genotype frequency			GG	GT	TT		G	T	AA	AG	GG		A	G
1	15	Kornish	1.00	0	0	0	1.00	0	0	0.13	0.87	0.37	0.07	0.93
2	19	Pushkinskaya	1.00	0	0	0	1.00	0	0	0.37	0.63	5.67	0.19	0.81
3	13	Ital'yanskaya kuropatchataya	1.00	0	0	0	1.00	0	1.00	0	0	0	1.00	0
4	14	Kitayskaya shelkovaya	0.28	0.36	0.36	1.16	0.46	0.54	0	0	1.00	0	0	1.00

Таблица 5

Генетическая гетерогенность популяций кур биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ по заменам A450C, A503G и A342G гена LCORL

Поголовье, голов	Порода	SNPs <i>LCORL</i>																	
		А 450 С			χ^2	Частота аллелей А 450 С		А 503 G			χ^2	Частота аллелей А 503 G		А 508 G			χ^2	Частота аллелей А 508 G	
		АА	АС	СС		А	С	АА	AG	GG		А	G	АА	AG	GG		А	G
Частота генотипов		АА	АС	СС		А	С	АА	AG	GG		А	G	АА	AG	GG		А	G
15	Корниш	0,87	0	0,13	26,4	0,87	0,13	0,20	0,20	0,60	4,07	0,30	0,70	0	0,13	0,87	0,37	0,07	0,93
19	Пушкинская	0,63	0	0,37	18,36	0,63	0,37	0,05	0,53	0,42	0,90	0,32	0,68	0,05	0,26	0,69	0,11	0,18	0,82
13	Итальянская куропатчатая	0	0	1,00	0	0	1,00	1,00	0	0	0	1,00	0	1,00	0	0	0	1,00	0
14	Китайская шелковая	1,00	0	0	0	0	1,00	0,43	0,43	0,14	0,05	0,69	0,31	0	0	1,00	0	0	1,00

Table 5

Genetic heterogeneity of chicken populations of the All-Russian Research Institute of Genetics And Culture of Agricultural Animals bioresource collection by substitutions A450C, A503G and A342G of the LCORL gene

Livestock, heads	Breed	SNPs LCORL																	
		A450C			χ^2	Allele frequency A 450 C		A503G			χ^2	Allele frequency A 503 G		A508G			χ^2	Allele frequency A 508 G	
		AA	AC	CC		A	C	AA	AG	GG		A	G	AA	AG	GG		A	G
Genotype frequency		AA	AC	CC		A	C	AA	AG	GG		A	G	AA	AG	GG		A	G
15	Kornish	0.87	0	0.13	26.4	0.87	0.13	0.20	0.20	0.60	4.07	0.30	0.70	0	0.13	0.87	0.37	0.07	0.93
19	Pushkinskaya	0.63	0	0.37	18.36	0.63	0.37	0.05	0.53	0.42	0.90	0.32	0.68	0.05	0.26	0.69	0.11	0.18	0.82
13	Ital'yanskaya kuropatchataya	0	0	1.00	0	0	1.00	1.00	0	0	0	1.00	0	1.00	0	0	0	1.00	0
14	Kitayskaya shelkovaya	1.00	0	0	0	0	1.00	0.43	0.43	0.14	0.05	0.69	0.31	0	0	1.00	0	0	1.00

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

В проведенном исследовании выявлена генетическая изменчивость по полиморфным вариантам A30G, G82C, G236T, A342G, A450C, A503G, A508G в интроне гена *LCORL* популяций кур различного направления продуктивности. В 2019 году группой ученых проведено полногеномное SNP-сканирование по чипу 600 K, Affymetrix и выявлено 811 полиморфных вариантов в интронах гена *LCORL*, ассоциированных с размерами внутренних органов у цыплят бройлеров, а именно доказаны достоверные различия по длине кишечника между опытными группами [13, с. 669]. Ранее нами было выявлено ассоциации rs15619223 в гене *LCORL* с живой массой у русской белой породы кур с помощью чипа Illumina 60K Bead Chip [1, с. 270].

По частотам встречаемости изученных замен, в 70 % случаев выявлено отклонение наблюдаемого распределения частот генотипов от ожидаемого по Харди – Вайнбергу. Это связано с невысокой численностью выборки и жестким селекционным давлением в изучаемых популяциях кур.

Этот район гена *LCORL* отличается высокой вариабельностью. Популяции мономорфные по замене G236T

аллеля G являются корниш, пушкинская, итальянская куропатчатая. По замене A342G итальянская куропатчатая мономорфна по аллелю A, а китайская шелковая по аллелю G. В корниш и пушкинской популяциях аллель A не встречается.

Итальянская куропатчатая мономорфна по заменам A450C, A503G и A508G аллели C, A, A соответственно. Эти полиморфные варианты представляют интерес для дальнейших исследований, так как могут выступать в качестве эффективных ДНК-маркеров, определяющие породоспецифичность популяций.

По замене A30G в популяции корниш 87 % особей выборки носители генотипа AA. И совсем противоположная ситуация в породах итальянская куропатчатая, там все особи – носители генотипа GG, а в китайской шелковой популяции 72 % особей – носители GG. Эти породы значительно отличаются по экстерьерному профилю, таким образом представляет интерес изучение частоты встречаемости замены A30G. Полученные результаты позволяют предположить, что полиморфный вариант A30G гена *LCORL* можно рассматривать в качестве ДНК-маркера признака «размеры скелета» у кур.

Библиографический список

1. Kudinov A., Dementieva N., Mitrofanova O., Stanishevskaya O., Fedorova E., Larkina T., Mishina A., Plemyashov K., Griffin D., Romanov M. Genome-wide association studies targeting the yield of extraembryonic fluid and production traits in Russian White chickens // BMC Genomics. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 270. DOI: 10.1186/s12864-019-5605-5.
2. Дементьева Н. В., Вахрамеев А. Б., Ларкина Т. А., Митрофанова О. В. Эффективность использования SNP-маркеров в гене *MSTN* в селекции кур пушкинской породы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23. № 8. С. 993–998. DOI 10.18699/VJ19.575.
3. Шулика Л. В., Кулибаба Р. А. Особенности распределения гаплотипов в локусе инсулина в популяциях кур комбинированного направления продуктивности // Животноводство и ветеринарная медицина. 2019. № 1. С. 24–26.
4. Sangang H., Jiang D., Bing H., Lei C., Mingjun L., Wenrong L. Genome-Wide Scan for Runs of Homozygosity Identifies Candidate Genes Related to Economically Important Traits in Chinese Merino // Animals (Basel). 2020 Vol. 10. No. 3. P. 524. DOI: 10.3390/ani10030524.
5. Ying-Ju L., Wen-Ling L., Chung-Hsing W., Li-Ping T., Chih-Hsin T., Chien-Hsiun C., Jer-Yuarn W., Wen-Miin L., Ai-Ru H., Chi-Fung C., Jin-Hua C., Wen-Kuei C., Ting-Hsu L., Chia-Ming W., Chiu-Chu L., Shao-Mei H., Fuu-Jen T. Association of Human Height-Related Genetic Variants With Familial Short Stature in Han Chinese in Taiwan // Scientific Reports. 2017. Vol. 7. No. 1. P. 6372. DOI: 10.1038/s41598-017-06766-z.
6. Signer-Hasler H., Burren A., Ammann P., Drögemüller C., Flury C. Runs of homozygosity and signatures of selection: a comparison among eight local Swiss sheep breeds // Animal Genetics. 2019. Vol. 50. No. 5. Pp. 512–525. DOI: 10.1111 / age.12828.
7. Al-Mamun H., Kwan P., Clark S., Ferdosi M., Tellam R., Gondro C. Genome-wide association study of body weight in Australian Merino sheep reveals an orthologous region on OAR6 to human and bovine genomic regions affecting height and weight // Genetics Selection Evolution. 2015. Vol. 47. No. 1. P. 66. DOI: 10.1186/s12711-015-0142-4.
8. Ruiz-Larranaga O., Langa J., Rendo F., Manzano C., Iriando M., Estonba A. Genomic selection signatures in sheep from the Western Pyrenees // Genetics Selection Evolution. 2018. Vol. 50. No. 1. Pp. 9. DOI: 10.1186/s12711-018-0378-x.
9. Schiavo G., Bertolini F., Galimberti G., Bovo S., Dall'olio S., Nanni Costa L., Gallo M., Fontanesi L. A machine learning approach for the identification of population-informative markers from high-throughput genotyping data: application to several pig breeds // Animal. 2020. Vol. 14. No. 2. Pp. 223–232. DOI: 10.1017/S1751731119002167.
10. Healey E., Murphy R., Hayward J., Castelhana M., Boyko A., Hayashi K., Krotscheck U., Todhunter R. Genetic mapping of distal femoral, stifle, and tibial radiographic morphology in dogs with cranial cruciate ligament disease // Public Library of Science. 2019. Vol. 14. No. 10. P. 223094. DOI: 10.1371/journal.pone.0223094.
11. Bai H., Lu H., Wang L., Wang S., Zeng W., Zhang T. SNPs Analysis of Height Traits in Ningqiang Pony // Animal Biotechnology. 2020. Vol. 24. Pp. 1–7. DOI: 10.1080/10495398.2020.1728288.
12. Ablondi M., Dadousis C., Vasini M., Eriksson S., Mikko S., Sabbioni A. Genetic Diversity and Signatures of Selection in a Native Italian Horse Breed Based on SNP Data // Animals (Basel). 2020. Vol. 10. No. 6. P. 1005. DOI: 10.3390/ani10061005.
13. Moreira G., Salvian M., Boschiero C., Cesar A., Reecy J., Godoy T., Ledur M., Garrick D., Mourão G., Coutinho L. Genome-wide Association Scan for QTL and Their Positional Candidate Genes Associated With Internal Organ Traits in Chickens // BMC Genomics. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 669. DOI: 10.1186/s12864-019-6040-3.

14. Saif R., Henkel J., Jagannathan V., Drögemüller C., Flury C., Leeb T. The *LCORL* Locus Is Under Selection in Large-Sized Pakistani Goat Breeds // *Genes* (Basel). 2020. Vol. 11. No. 2. P. 168. DOI: 10.3390/genes11020168.
15. Chen Q., Huang B., Zhan J., Wang J., Qu K., Zhang F., Shen J., Jia P., Ning Q., Zhang J., Chen N., Chen H., Lei C. Whole-genome Analyses Identify Loci and Selective Signals Associated With Body Size in Cattle // *Journal of Animal Science*. 2020. Vol. 98. No. 3. DOI: 10.1093/jas/skaa068.
16. Purfield D., Evans R., Berry D. Reaffirmation of Known Major Genes and the Identification of Novel Candidate Genes Associated With Carcass-Related Metrics Based on Whole Genome Sequence Within a Large Multi-Breed Cattle Population // *BMC Genomics*. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 720. DOI: 10.1186/s12864-019-6071-9.

Об авторах:

Татьяна Александровна Ларкина¹, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ORCID 0000-0002-7764-1338, AuthorID 813159; +7 904 60-50-882, tanya.larkina2015@yandex.ru
 Анна Алексеевна Крутикова¹, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ORCID 0000-0003-2561-145X, AuthorID 808826; +7 921 87-60-419, anntim2575@mail.ru
 Григорий Карапетович Пегливанян¹, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, ORCID 0000-0001-5194-4851, AuthorID 1044054; +7 981 765-21-81, peglivanian_grig@mail.ru
 Наталия Викторовна Дементьева¹, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной генетики, ORCID 0000-0003-0210-9344, AuthorID 213794; +7 921 74-30-743, dementevan@mail.ru
¹ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального научного центра животноводства – ВИЖ им. академика Л. К. Эрнста, Пушкин, Россия

Search for polymorphic variants of the *LCORL* gene using Sanger sequencing in chickens of various directions of productivity

T. A. Larkina[✉], A. A. Krutikova¹, G. K. Peglivanyan¹, N. V. Dementieva¹

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals – a Branch of the Federal Scientific Center for Livestock –

All-Russian Institute of Livestock named after academician L. K. Ernst, Pushkin, Russia

✉E-mail: tanya.larkina2015@yandex.ru

Abstract. The effect of polymorphic variants of the *LCORL* gene in many species of farm animals was revealed. It is believed that the *LCORL* gene is associated with skeleton sizes in chickens, but has not yet been adequately studied. Therefore, we are faced with the task of finding new polymorphic variants in the *LCORL* gene in gene pool breeds. **The aim of the work** is to search for and analyze polymorphic variants in the *LCORL* gene using Sanger sequencing in breeds of various types of productivity. **Methodology and methods.** The studies were carried out on the basis of the laboratory of molecular genetics of All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals. The object of the experiment was populations of 4 breeds of chickens of different directions in productivity of the All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals Biological Resource Collection “Genetic Collection of Rare and Endangered Breeds of Chickens” (Pushkin, St. Petersburg): Kornish, Kitayskaya shelkovaya, Ital’yanskaya kuropatchataya, Pushkinskaya. 61 DNA samples served as the material for the study. amplification was performed on a Thermal Cycler T100 instrument (Bio-Rad, USA). Nucleotide sequences were determined on an Applied Biosystems 3500 automated sequencer (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) at the All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals Laboratory of Molecular Genetics. The Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA) was used for sequencing. Biometric data processing was performed using Microsoft Excel. **Results.** The study revealed genetic variation in polymorphic variants A30G, G82C, G236T, A342G, A450C, A503G, A508G in the intron of the *LCORL* gene of chicken populations of different directions of productivity. The results suggest that the polymorphic A30G variant of the *LCORL* gene can be considered as a DNA marker for the sign of “skeleton size” in chickens.

Keywords: gene, *LCORL*, sequencing, polymorphic variant, chicken.

For citation: Larkina T. A., Krutikova A. A., Peglivanyan G. K., Dementieva N. V. Poisk polimorfnykh variantov gena *LCORL* s pomoshch'yu sekvenirovaniya po Sengeru u porod kur razlichnogo napravleniya produktivnosti [Search for polymorphic variants of the *LCORL* gene using Sanger sequencing in chickens of various directions of productivity] // *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2020. No. 09 (200). Pp. 48–54. DOI: 10.32417/1997-4868-2020-200-9-48-54. (In Russian.)

Paper submitted: 18.06.2020.

References

1. Kudinov A., Dementieva N., Mitrofanova O., Stanishevskaya O., Fedorova E., Larkina T., Mishina A., Plemyashov K., Griffin D., Romanov M. Genome-wide association studies targeting the yield of extraembryonic fluid and production traits in Russian White chickens // *BMC Genomics*. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 270. DOI: 10.1186/s12864-019-5605-5.
2. Dementyeva N. V., Vakhrameev A. B., Larkina T. A., Mitrofanova O. V. Effektivnost' ispol'zovaniya SNP-markerov v gene MSTN v seleksii kur pushkinskoy porody [The Efficiency of Using SNP Markers in the MSTN Gene in Breeding Pushkinskaya Chickens] // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019. T. 23. No. 8. Pp. 993–998. DOI 10.18699/VJ19.575. (In Russian.)
3. Shulika L. V., Kulibaba R. A. Osobennosti raspredeleniya gaplotipov v lokuse insulina v populyatsiyakh kur kombinirovannogo napravleniya produktivnosti [Peculiarities of the distribution of haplotypes at the insulin locus in chicken populations of a combined direction of productivity] // *Zhivotnovodstvo i veterinarnaya meditsina*. 2019. No. 1. Pp. 24–26. (In Russian.)
4. Sangang H., Jiang D., Bing H., Lei C., Mingjun L., Wenrong L. Genome-Wide Scan for Runs of Homozygosity Identifies Candidate Genes Related to Economically Important Traits in Chinese Merino // *Animals (Basel)*. 2020 Vol. 10. No. 3. P. 524. DOI: 10.3390/ani10030524.
5. Ying-Ju L., Wen-Ling L., Chung-Hsing W., Li-Ping T., Chih-Hsin T., Chien-Hsiun C., Jer-Yuarn W., Wen-Miin L., Ai-Ru H., Chi-Fung C., Jin-Hua C., Wen-Kuei C., Ting-Hsu L., Chia-Ming W., Chiu-Chu L., Shao-Mei H., Fuu-Jen T. Association of Human Height-Related Genetic Variants With Familial Short Stature in Han Chinese in Taiwan // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. No. 1. P. 6372. DOI: 10.1038/s41598-017-06766-z.
6. Signer-Hasler H., Burren A., Ammann P., Drögemüller C., Flury C. Runs of homozygosity and signatures of selection: a comparison among eight local Swiss sheep breeds // *Animal Genetics*. 2019. Vol. 50. No. 5. Pp. 512–525. DOI: 10.1111/age.12828.
7. Al-Mamun H., Kwan P., Clark S., Ferdosi M., Tellam R., Gondro C. Genome-wide association study of body weight in Australian Merino sheep reveals an orthologous region on OAR6 to human and bovine genomic regions affecting height and weight // *Genetics Selection Evolution*. 2015. Vol. 47. No. 1. P. 66. DOI: 10.1186/s12711-015-0142-4.
8. Ruiz-Larranaga O., Langa J., Rendo F., Manzano C., Iriondo M., Estonba A. Genomic selection signatures in sheep from the Western Pyrenees // *Genetics Selection Evolution*. 2018. Vol. 50. No. 1. Pp. 9. DOI: 10.1186/s12711-018-0378-x.
9. Schiavo G., Bertolini F., Galimberti G., Bovo S., Dall'olio S., Nanni Costa L., Gallo M., Fontanesi L. A machine learning approach for the identification of population-informative markers from high-throughput genotyping data: application to several pig breeds // *Animal*. 2020. Vol. 14. No. 2. Pp. 223–232. DOI: 10.1017/S1751731119002167.
10. Healey E., Murphy R., Hayward J., Castelhana M., Boyko A., Hayashi K., Krotscheck U., Todhunter R. Genetic mapping of distal femoral, stifle, and tibial radiographic morphology in dogs with cranial cruciate ligament disease // *Public Library of Science*. 2019. Vol. 14. No. 10. P. 223094. DOI: 10.1371/journal.pone.0223094.
11. Bai H., Lu H., Wang L., Wang S., Zeng W., Zhang T. SNPs Analysis of Height Traits in Ningqiang Pony // *Animal Biotechnology*. 2020. Vol. 24. Pp. 1–7. DOI: 10.1080/10495398.2020.1728288.
12. Ablondi M., Dadousis C., Vasini M., Eriksson S., Mikko S., Sabbioni A. Genetic Diversity and Signatures of Selection in a Native Italian Horse Breed Based on SNP Data // *Animals (Basel)*. 2020. Vol. 10. No. 6. P. 1005. DOI: 10.3390/ani10061005.
13. Moreira G., Salvian M., Boschiero C., Cesar A., Reecy J., Godoy T., Ledur M., Garrick D., Mourão G., Coutinho L. Genome-wide Association Scan for QTL and Their Positional Candidate Genes Associated With Internal Organ Traits in Chickens // *BMC Genomics*. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 669. DOI: 10.1186/s12864-019-6040-3.
14. Saif R., Henkel J., Jagannathan V., Drögemüller C., Flury C., Leeb T. The LCORL Locus Is Under Selection in Large-Sized Pakistani Goat Breeds // *Genes (Basel)*. 2020. Vol. 11. No. 2. P. 168. DOI: 10.3390/genes11020168.
15. Chen Q., Huang B., Zhan J., Wang J., Qu K., Zhang F., Shen J., Jia P., Ning Q., Zhang J., Chen N., Chen H., Lei C. Whole-genome Analyses Identify Loci and Selective Signals Associated With Body Size in Cattle // *Journal of Animal Science*. 2020. Vol. 98. No. 3. DOI: 10.1093/jas/skaa068.
16. Purfield D., Evans R., Berry D. Reaffirmation of Known Major Genes and the Identification of Novel Candidate Genes Associated With Carcass-Related Metrics Based on Whole Genome Sequence Within a Large Multi-Breed Cattle Population // *BMC Genomics*. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 720. DOI: 10.1186/s12864-019-6071-9.

Authors' information:

Tatyana A. Larkina¹, candidate of biological sciences, junior researcher of the molecular genetics laboratory, ORCID 0000-0002-7764-1338, AuthorID 813159; +7 904 60-50-882, tanya.larkina2015@yandex.ru

Anna A. Krutikova¹, candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of molecular genetics, ORCID 0000-0003-2561-145X, AuthorID 808826; +7 921 87-60-419, anntim2575@mail.ru

Grigory K. Peglivanyan¹, graduate student, junior researcher of the laboratory of molecular genetics, ORCID 0000-0001-5194-4851, AuthorID 1044054; +7 981 765-21-81, peglivanyan_grig@mail.ru

Natalia V. Dementieva¹, candidate of biological sciences, head of the laboratory of molecular genetics, ORCID 0000-0003-0210-9344, AuthorID 213794; +7 921 74-30-743, dementevan@mail.ru

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals – a Branch of the Federal Scientific Center for Livestock – All-Russian Institute of Livestock named after academician L. K. Ernst, Pushkin, Russia