

**ОЦІНКА ЗВ'ЯЗКУ ОДНОНУКЛЕОТИДНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ
ГЕНІВ КАЛЬПАЇН-КАЛЬПАСТАТИНОВОЇ СИСТЕМИ
ТА КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК У ТВАРИН АБЕРДИН-АНГУСЬКОЇ ПОРОДИ**

С. Ю. Рубан¹, О. М. Федота², Н. Г. Лисенко², О. І. Колісник³, І. В. Горайчук⁴, Л. П. Понько⁵
n.g.lysenko@gmail.com

¹Інститут розведення і генетики тварин ім. М. В. Зубця НААН,
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Київська обл., 08321, Україна

²Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна,
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022, Україна

³ПП «Агрофірма Світанок»,

вул. К. Маркса, 11, с. Новоселівка, Харківська обл., 63209, Україна

⁴Національний науковий центр

«Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»,

вул. Пушкінська, 83, м. Харків, 61023, Україна

⁵Подільський державний аграрно-технічний університет,

вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., 32300, Україна

Плейотропний ефект генів кальпаїн-кальпастинової системи спостерігається щодо кількісних ознак тварин і характеристик м'язової тканини. У дослідженні проведено аналіз зв'язку однонуклеотидних поліморфізмів CAPN316 і CAST282 генів кальпаїну і кальпастатину з кількісною ознакою тварин — динамікою маси тіла.

Динаміку маси тіла від народження до 5 років оцінювали у тварин абердин-ангуської породи (n=73) у Харківській області. Молекулярно-генетичний аналіз проводили методом ПЛР-ПДРФ. Для порівняння рядів розподілу використовували критерій χ^2 , для аналізу декількох груп — дисперсійний аналіз. Оцінку впливу фактору проводили за Снедекором (h^2). Відмінності між різними групами абердин-ангусів визначали за індексами генетичної дистанції Нея.

Частоти алелей С і G поліморфного варіанту CAPN316 становили 0,404 і 0,586, CAST282 — 0,788 і 0,212. Розподіли генотипів відповідали закону Харді-Вайнберга. Встановлено значущий вплив генотипу CC CAPN316 на масу тіла тварин у віці трьох ($F=3,57$; $h^2=46\%$) і чотирьох років ($F=3,70$; $h^2=47\%$), і генотипу CG CAST282 у віці 15 місяців ($F=3,29$; $h^2=43\%$). Вплив алелей С генів кальпаїну та кальпастатину на приріст живої маси збільшується після дворічного віку, коли знижується експресія генів, що регулюють процеси росту і розвитку в ранньому віці. Відбір тварин у віці до двох років з метою поліпшення якості м'яса не призведе до суттєвого зменшення їхньої маси тіла.

Ключові слова: АБЕРДИН-АНГУСЬКА ПОРОДА, КАЛЬПАЇН, КАЛЬПАСТАТИН, CAPN316, CASTS282, МАСА ТІЛА

**ASSOCIATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM
IN THE CALPAIN/CALPASTATIN SYSTEM GENES
WITH QUANTITATIVE TRAITS OF ABERDEEN-ANGUS**

S. Ruban¹, O. Fedota², N. Lysenko², A. Kolisnik³, I. Goraichuk⁴, L. Ponko⁵
n.g.lysenko@gmail.com

¹Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets NAAS,
1 Pogrebnyaka str., Chubynske, Kyiv region, 08321, Ukraine

²V. N. Karazin Kharkiv National University,

4 Svobody sq., Kharkiv 61022, Ukraine

³PE «Agrofirma Svitanok»,

11 Marksa str., Novoselivka, Kharkiv region, 63209, Ukraine

⁴National Scientific Center “Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine”,
83 Pushkinska str., Kharkiv 61023, Ukraine

⁵State agrarian and engineering university in Podilya,
13 Shevchenko str., Kamyanets-Podilsky, Khmelnytsky region, 32300, Ukraine

Pleiotropic effect of calpain/calpastatin system genes influences both animal's quantitative traits and qualitative characteristics of muscle tissue. The study is aimed to evaluate the association of single nucleotide polymorphisms CAPN316 and CAST282 in calpain and calpastatin genes with quantitative traits — the body weight dynamics.

The body weight dynamics from birth until 5 years of age was evaluated in Aberdeen-Angus cows (n=73) in Kharkiv region. Molecular genetic analysis was performed by PCR-RFLP. Distributions was analyzed with χ^2 criterion, ANOVA was used for multiple comparisons. The influence of individual factor was evaluated by Snedecor (h^2). Differences between Aberdeen Angus groups was studied by Nei's standard genetic distances.

Allele frequencies of SNP CAPN316 are C=0.404 and G=0.586, of SNP CAST282 are C=0.788 and G=0.212. The genotypic distributions were in agreement with the Hardy-Weinberg equilibrium. There were significant impact of CAPN316 CC genotype on body weight at the age of three ($F=3.57$; $h^2=46\%$) and four years ($F=3.70$; $h^2=47\%$) and CAST282 CG genotype on body weight at the age of 15 months ($F=3.29$; $h^2=43\%$). Effect of calpain and calpastatin genes C-alleles on weight gain increases after the age of two years, when the expression of genes regulating growth and development processes at an early age is reduced. Animal selection at the age of two years aimed to the meat quality improvement is unlikely to lead to significant body weight decrease.

Keywords: ABERDEEN-ANGUS, CALPAIN, CALPASTATIN, CAPN316, CASTS282, BODY WEIGHT

ОЦЕНКА СВЯЗИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ КАЛЬПАИН-КАЛЬПАСТАТИНОВОЙ СИСТЕМЫ И КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У ЖИВОТНЫХ АБЕРДИН-АНГУССКОЙ ПОРОДЫ

С. Ю. Рубан¹, А. М. Федота², Н. Г. Лысенко², А. И. Колисник³, И. В. Горайчук⁴, Л. П. Понько⁵
n.g.lysenko@gmail.com

¹Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН,
ул. Погребняка, 1, с. Чубинское, Киевская обл., 08321, Украина

²Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина,
пл. Свободы, 4, г. Харьков, 61022, Украина

³ЧП «Агрофирма Свитанок»,
ул. К. Маркса, 11, с. Новоселовка, Харьковская обл., 63209, Украина

⁴Национальный научный центр
«Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины»,
ул. Пушкинская, 83, г. Харьков, 61023, Украина

⁵Подольский государственный аграрно-технический университет,
ул. Шевченко, 13, г. Каменец-Подольский, Хмельницкая обл., 32300, Украина

Плейотропный эффект генов кальпаин-кальпастатиновой системы проявляется в отношении количественных признаков животного и характеристик мышечной ткани. В исследовании проведен анализ связи однонуклеотидных полиморфизмов CAPN316 и CAST282 генов кальпаина и кальпастатина с количественными признаками животных — динамикой массы тела.

Динамику массы тела от рождения до 5-летнего возраста оценивали у животных абердин-ангусской породы (n=73) в Харьковской области. Молекулярно-генетический анализ проводился методом ПЦР-ПДРФ. Для сравнения рядов распределений использовали критерий χ^2 , для анализа нескольких групп — дисперсионный анализ. Оценка влияния фактора выполнена по Снедекору (h^2). Различия между разными группами абердин-ангусов определяли по индексам стандартных генетических расстояний Нэя.

Частоты аллелей С и G полиморфного варианта CAPN316 составили 0,404 и 0,586, CAST282 — 0,788 и 0,212. Распределения генотипов соответствуют закону Харди-Вайнберга. Установлено значимое влияние генотипа CC по CAPN316 на массу тела в возрасте трех ($F=3,57$; $h^2=46\%$) и четырех лет ($F=3,70$; $h^2=47\%$), и генотипа CG по CAST282 в возрасте 15 месяцев ($F=3,29$; $h^2=43\%$). Влияние аллелей С гена

кальпаина и кальпастатину на прирост живой массы увеличивается после двухлетнего возраста, когда снижается экспрессия генов, регулирующих процессы роста и развития в раннем возрасте. Отбор животных в возрасте до двух лет с целью улучшения качества мяса не приведет к значимому уменьшению их массы тела.

Ключевые слова: АБЕРДИН-АНГУССКАЯ ПОРОДА, КАЛЬПАИН, КАЛЬПАСТАТИН, *CAPN316*, *CASTS282*, МАССА ТЕЛА

Ензими кальпаїн-кальпастатинової системи присутні у клітинах практично всіх еукаріотичних організмів, деяких сімейств бактерій, і відсутні в архей. Ці ензими належать до сімейства кальпаїнів — внутрішньоклітинних кальцій-залежних цистеїнових протеаз, що розщеплюють пептидний зв'язок субстратів за рахунок залишку цистеїну в активному центрі молекули. Протеолітична активність кальпаїну обмежена розщепленням одного-двох пептидних зв'язків молекули білка-мішені, тому проявляється у вигляді модуляції її функції. Кальпаїни беруть участь у регуляції клітинної диференціації, апоптозу, синаптичної передачі, обміну м'язових білків, морфогенезу та інших процесів [12].

В людини порушення функції кальпаїн-кальпастатинової системи, обумовлене мутаціями і поліморфними варіантами відповідних генів, призводить до розвитку таких захворювань, як м'язова дистрофія (ОМІМ *CAPN1* 114220, *CAPN2* 114230, *CAPN3* 114240, *CAST* 114090) [13, 24, 25], спастична паралепгія (ОМІМ *CAPN1* 114220) [8], цукровий діабет 2-го типу (ОМІМ *CAPN10* 605286) [5], вітреоретинопатія (ОМІМ *CAPN5* 602537, *CAPN6* 300146) [17]. Підвищений рівень кальпаїну також спостерігається при порушеннях гладкої мускулатури — ішемії серця, нирок, легенів, печінки та центральної нервової системи [22], хвороби Альцгеймера, хвороби Паркінсона, розсіяному склерозі [10]. Надлишкова активація кальпаїну призводить до модифікації структури сигнальних білків, білків-онкогенів і онкосупресорів, що створює передумови для патогенезу злоякісних утворень і їх прогресування [23].

Гени ензимів кальпаїн-кальпастатинової системи досліджені у багатьох тварин, але найчастіше вивчаються у домашніх ссавців, яких розводять для отримання м'ясної продукції — корів, свиней та овець [6, 1]. У тваринництві м'ясного напряму отримання до-

статньої кількості якісного м'яса полегшується своєчасним проведенням оцінки генетичного потенціалу тварини для визначення її призначення і оптимальних умов годівлі. Встановлено, що від функціонування кальцій-залежних протеаз — кальпаїну та його інгібітора кальпастатину — залежать смакові якості м'яса, такі, як його ніжність [6]. Активність кальпаїну та кальпастатину визначається концентрацією іонів кальцію і поліморфними варіантами відповідних генів, у результаті експресії яких з'являються молекули зі зміненими функціями.

Ензими кальпаїн-кальпастатинової системи регулюють процеси синтезу і розпаду м'язових волокон, які супроводжують ріст м'язів, тобто обумовлюють кількісні характеристики тварин, а також процес постмортального протеолізу (якісні характеристики м'яса). До сьогодні у панель генетичного тестування маркерів смакових якостей м'яса великої рогатої худоби входять поліморфні варіанти генів кальпаїну та кальпастатину: *CAPN316* (AF252504.2:g.5709C>G), *CAPN530* (AF_288054.2:g.4558G>A), *CAPN4751* (AF_288054.2:g.6545C>T), *CAST2959* (AF_159246.1:g.2959A>G), *CAST2870* (AF_159246.1:g.2870A>G), *CAST282* (AY_008267.1:g.282C>G).

Поліморфний варіант *CAPN316* кодує заміну гуанозину на цистидин (C/G) в дев'ятому екзоні гена великої субдиниці кальпаїну *CAPN1* 29-ї хромосоми великої рогатої худоби, що призводить до заміни гліцину на аланін в каталітичному центрі μ -кальпаїну. При експресії алеля C поліморфного варіанту *CAST282* у п'ятому інтроні гена кальпастатину *CAST7*-ї хромосоми великої рогатої худоби спостерігається несинонімічна заміна в амінокислотній послідовності, яка впливає на активність кальпастатину. Для поліморфних варіантів *CAPN316* і *CAST282* алелі C є кращими з точки зору ніжності м'яса. У тварин з генотипом CC за *CAPN316* ніжність м'яса досягається за рахунок надактивності кальпаїну, що руйнує структуру міофібрил після виходу Ca^{2+}

з внутрішньоклітинних депо, а у тварин з генотипом *CC* по *CAST282* — за рахунок експресії нефункціональної молекули кальпастатину, що не інгібує кальпаїн і побічно сприяє продовженню процесу протеолізу.

Серед чисельних публікацій, де продемонстровано асоціацію різних поліморфних варіантів генів кальпаїну і кальпастатину з параметрами ніжності м'яса, рідше трапляються роботи, присвячені аналізу зв'язку поліморфних варіантів цих генів з кількісними ознаками тварин, а отримані результати в деяких випадках суперечливі [4, 9, 11, 16, 19, 20]. У більшості публікацій досліджено зв'язок поліморфного варіанту *CAPN316* з параметрами ніжності м'яса за Warner-Bratzler. Цей метод дозволяє визначити ніжність приготованого м'яса, таким чином, отримати цю інформацію за життя тварини неможливо. В Україні проводилися дослідження іншого поліморфного варіанту кальпаїну — *CAPN530* у шести порід м'ясного напрямку продуктивності [7], але аналіз асоціації з кількісними ознаками не проводився.

Мета дослідження полягала у проведенні оцінки впливу генотипів поліморфних варіантів *CAPN316* і *CAST282*, бажаних з точки зору ніжності м'яса, на динаміку маси тіла тварин від народження до п'ятирічного віку.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були корови абердин-ангуської породи ($n=73$), які становлять племінне ядро ПП «Агрофірми Світанок» у Харківській області. Оцінка динаміки росту проводилася за даними контрольного зважування новонароджених тварин, тварин у 8, 12, 15 і 18 місяців, в два, три, чотири, п'ять років і старших. Середньодобовий приріст тварин визначено як різницю між масою наприкінці молочного періоду (у 7 місяців) і масою новонародженої тварини, поділений на кількість днів (210). Проаналізовано генеалогічну інформацію тварин ($n=68$), які належали до семи заводських ліній.

Виділення ДНК зі зразків венозної крові корів проводили за допомогою наборів для екстракції ДНК «Diatom DNA Prep 100» («Ізоген», РФ). Реакції ампліфікації виконували від-

повідно до протоколів [11, 16], оптимізованих шляхом визначення відповідних термічних та часових параметрів ампліфікаційних циклів. Рестрикційний аналіз проведено з використанням ендонуклеаз рестрикції *RsaI* і *BtgI* («Fermentas», Литва), електрофоретичний аналіз виконано в 2 % агаровому гелі.

Перевірка розподілу дат на відповідність закону нормального розподілу проведена за допомогою показників асиметрії та ексцесу. Для перевірки відповідності розподілу частот закону Харді-Вайнберга і порівняння рядів розподілів використовувався критерій χ^2 . Оцінка сили впливу фактора виконана методом дисперсійного аналізу з розрахунком сили впливу фактора за Снедекором (h^2) на рівні значущості 0,05 [2]. Визначення генетичної відмінності між різними групами абердин-ангусів проводили з визначенням стандартної генетичної відстані Нея [18].

Результати й обговорення

У вибірці тварин абердин-ангуської породи частоти алелей *C* і *G* поліморфного варіанту *CAPN316* гена кальпаїну склали 0,404 і 0,596. Частоти алелей *C* і *G* поліморфного варіанту *CAST282* гена кальпастатину — 0,788 і 0,212. При цьому частоти генотипів *CC*, *CG* і *GG* *CAPN316* склали 13,7 %, 53,4 % і 33,9 %, а частоти генотипів *CC*, *CG* і *GG* *CAST282* — 60,3 %, 37,0 % і 2,7 %. Співвідношення генотипів у вибірці для кожного з генів відповідає рівнянню Харді-Вайнберга, тому популяція є рівноважною. З цього випливає, що збільшення частоти бажаних алелей досліджуваних поліморфних варіантів не буде відбуватися доти, поки не почнеться цілеспрямований відбір у напрямку збільшення частоти цих алелей. У таблиці 1 наведено динаміку маси тіла тварин з різними генотипами за генами кальпаїну і кальпастатину.

У тварин з генотипом *CC* *CAPN316* виявлено найбільшу масу тіла практично в кожному віці. У тварин з різними генотипами спостерігається тенденція до збільшення відмінностей за масою тіла у мірі дорослішання. До дворічного віку відмінності між групами незначні — до 5–10 кг (до 3 % маси тіла),

**Динаміка маси тіла абердин-ангусів з різними генотипами
за генами кальпаїну та кальпастатину, $x \pm s_x$**

Body weight dynamics in Aberdeen-Angus by calpain and calpastatin genotypes, $x \pm s_x$

Параметр / Parameter	Поліморфний варіант / Single nucleotide polymorphism					
	CAPN316			CAST282		
Генотип тварин / Animal genotype	CC	CG	GG	CC	CG	GG
n	10	39	24	44	27	2
Маса тіла новонароджених тварин, кг Birth weight, kg	31,6±1,8	29,9±0,7	29,9±0,8	29,5±0,6	31,3±1,0	28,5±4,5
Середньодобовий приріст, г Average daily gain, g	834±41	761±16	797±21	770±15	808±23	728±57
Маса тіла у 8 міс., кг 8 month weight, kg	225,0±15,4	208,2±4,2	216,1±3,4	210,7±3,4	217,7±6,9	196,0±11,0
Маса тіла в 12 міс., кг 12 month weight, kg	272,8±14,1	275,2±4,2	278,5±5,8	274,4±4,0	282,1±6,0	252,5±2,5
Маса тіла в 15 міс., кг 15 month weight, kg	330,2±8,7	319,6±4,4	325,2±4,9	320,6±4,0*	329,3±4,9*	287,5±7,5*
Маса тіла у 18 міс., кг 18 month weight, kg	373,3±7,9	360,6±4,7	371,6±7,3	363,4±4,7	371,3±5,8	337,5±2,5
Маса тіла в 2 роки, кг 2 year weight, kg	422,7±12,3	412,1±5,9	413,7±5,1	408,6±4,0	424,9±7,8	392,5±2,5
Маса тіла в 3 роки, кг 3 year weight, kg	482,8±20,5*	439,6±7,4*	443,6±5,2*	440,1±4,8	457,8±10,8	408,5±1,5
Маса тіла в 4 роки, кг 4 year weight, kg	529,4±24,4*	478,2±7,1*	482,0±7,9*	478,1±5,6	497,3±11,7	450,0±5,0
Маса тіла в 5 років, кг 5 year weight, kg	612,8±39,2	565,6±16,9	572,3±25,3	580,9±19,3	568,9±18,1	—

Примітка: тут і в наступних таблицях n — кількість тварин в групі; $x \pm s_x$ — середнє значення \pm похибка середнього; * — статистично значущі відмінності на рівні $P < 0,05$.

Note: here and in the next tables n — number of animals per group; $x \pm s_x$ — mean \pm standard error; * — differences are significant at $P < 0,05$.

що пояснюється впливом інших регулюючих рiст і розвитком тварини генів в період життя, коли набір маси проходить найінтенсивніше. Незалежно від впливу CAPN316, процеси росту регулюють гени гормону росту (GH), міостатину (GDF8), соматостатину (SST), лептину (LEP), про-меланін-концентруючого гормону (PMCH), адипонектину (ADIPOQ), інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1), а споживання кормів і депонування жирової тканини — гени тіроглобуліну (TG), диацилгліцерол О-ацилтрансферази (DGAT1), анкирину (ANK1), кортикотропін-релізинг гормону (CRH) тощо [14]. До дворічного віку збільшуються розміри внутрішніх органів, тому в дорослих тварин збільшення маси тіла відбувається переважно за рахунок зростання м'язів і жирової тканини.

Після дворічного віку відмінності за масою тіла між групами тварин з різними генотипами збільшуються і досягають 40–50 кг або 9–10 %, тобто інтенсивність приросту маси при генотипі CC істотно збільшується

(рис. 1). Статистично вірогідний вплив генотипу на масу тіла спостерігається у віці трьох ($F=3,57$; $P=0,035$; $h^2=46\%$) і чотирьох років ($F=3,70$; $P=0,031$; $h^2=47\%$).

В аргентинській популяції ангусів і брангусів [16] проводився аналіз зв'язку генотипів за поліморфним варіантом CAPN316 з кількісними ознаками тварин — досягнутою масою тіла (final weight, FW), середньодобовим приростом маси (average daily gain, ADG), товщиною хребтового жиру (backfat thickness, BFT), середньомісячним приростом товщини жиру (average monthly fat thickness gain, AMFTG) та інших. Групи тварин з генотипами CC (n=4), CG (n=31) і GG (n=44) відрізнялися за досягнутою масою тіла і середньодобовим приростом маси, при цьому найвищі показники спостерігали в групі тварин з генотипом GG ($P < 0,05$). Досягнута маса тіла у цій роботі визначалася у тварин у віці від 22 до 24 місяців і становила: CC — 360,2±14,7 кг, CG — 381,3±5,3 кг і GG — 399,2±4,7 кг, а середньодобовий приріст маси: CC — 675±46 г,

CG — 705±16 г і GG — 765±14 г. Таким чином, алель *C*, кращий, за даними літератури, з точки зору ніжності м'яса, асоціювався з меншим середньодобовим приростом маси і масою тіла у віці двох років. У розширеному дослідженні ангусів Аргентини (n=268 биків) [19] загалом спостерігається негативний ефект алелей, асоційованих з ніжністю м'яса, щодо аналізованих кількісних ознак.

В іншій публікації у шотландської групи ангусів досліджували зв'язок поліморфного варіанту *CAPN316* з ніжністю м'яса і масою задньої частини тіла [9]. Вік тварин на момент проведення дослідження становив від 408 до 912 днів. Маса задньої частини тіла у трьох групах тварин склала *CC* — 73,2±2,2 кг (n=20), *CG* — 66,0±1,1 кг (n=152) і *GG* — 67,3±1,0 кг (n=440). Таким чином, алель *C* асоціювався з більшою масою задньої частини тіла. Розподіли генотипів і частот алелей *C* і *G* в аргентинській [16] і шотландській [9] популяціях тварин були подібні (Аргентина: *CC* — 5,1 %, *CG* — 39,2 %, *GG* — 55,7 %; *C* — 0,25 і *G* — 0,75; Шотландія: *CC* — 4,5 %, *CG* — 34,5 %, *GG* — 61,0 %; *C* — 0,22 і *G* — 0,78). Аналіз розподілу частот алелей *CAPN316* різних порід і ліній засвідчив, що при зниженні частоти алеля, асоційованого з ніжністю м'яса, спостерігається тенденція до збільшення кількісних ознак тварин і їх розміру [4].

На перший погляд, в цих публікаціях наведені суперечливі дані про асоціацію алеля *C* поліморфного варіанту *CAPN316* з масою тіла тварини і їхніх окремих частин тіла. Однак якщо врахувати особливості росту тварини до двох років і отримані в нашому дослідженні результати, то, ймовірно, генотип *CC* *CAPN316* асоціюється з приростом м'язової маси, а генотип *GG* — зі збільшенням маси тіла тварини за рахунок розвитку всіх систем організму до дворічного віку. Після двох років збільшення маси тіла відбувається за рахунок розвитку м'язової тканини і стосується збільшення окремих частин тіла з розвиненою мускулатурою, тому у тварин з генотипом *CC* і, відповідно, вищою протеолітичною активністю кальпаїну щодо м'язових волокон, досягається інтенсивніший ріст м'язової тканини. Це підтверджують дані, отримані для шотландської

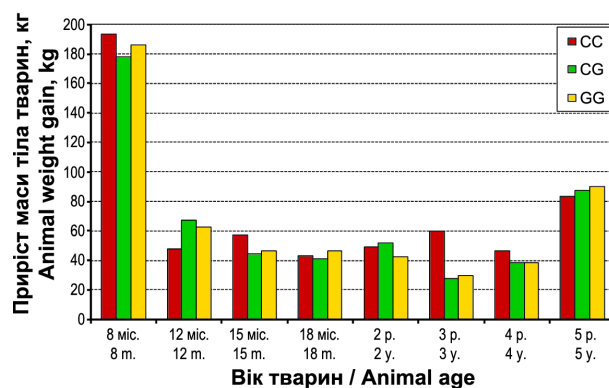


Рис. 1. Динаміка інтенсивності приросту маси відносно попереднього віку в абердин-ангусів з генотипами *CC*, *CG* і *GG* *CAPN316*

Fig. 1. Weight gain dynamics regarding previous age in Aberdeen-Angus with *CC*, *CG* and *GG* *CAPN316* genotypes

Примітка: тут і далі м.с. — місяці, р. — роки.
Note: here and further m. — months, y. — years.

популяції ангусів [9]. У більшості публікацій досягнута маса тіла фіксується у віці близько двох років, тобто тоді, коли ефект *CAPN316* ще не реалізується повністю або маскується внаслідок експресії інших генів.

Для досліджень зарубіжні автори часто використовують комерційні популяції, в умовах яких тварина досягає комерційної кондиції у віці близько двох років і подальший повільніший приріст маси економічно невиправданий за витратами кормів, тому дані про асоціацію маси тіла тварини і генотипу *CAPN316* у віці після двох років відсутні. Тварини дослідженої нами вибірки належать до племінного ядра, тому ми проаналізували динаміку маси тіла тварин до п'ятирічного віку, що дозволило встановити позитивний ефект алеля *C* і генотипу *CC* *CAPN316* на масу тіла тварини у дорослішому віці, ніж це показано у роботах зарубіжних колег. Ефекти *CAPN316* можуть бути пов'язані з експресією інших генів у дистальній ділянці 29-ої хромосоми великої рога тої худоби, які беруть участь у регуляції процесів раннього розвитку [19].

Серед тварин з генотипами *CC*, *CG* і *GG* *CAST282* у кожному віці найбільша маса і приріст спостерігався в групі особин з генотипом *CG*, а найменший — у групі тварин з генотипом *GG*. Відмінності у динаміці росту між тваринами з генотипами *CC* і *CG* невеликі і в різному віці становлять до 10–20 кг (менше

5 % маси тіла). Тварини з генотипом *GG* мають меншу масу тіла, ніж тварини з генотипами *CC* і *CG* у середньому на 7–13 % або на 20–50 кг і маса тіла у різному віці менша на 20–50 кг (рис. 2). Статистично вірогідний вплив генотипу на масу тіла спостерігається у віці 15 місяців ($F=3,29$; $P=0,044$; $h^2=43$ %). Після дворічного віку відмінності за масою тіла між групами збільшуються і досягають 40–50 кг або 9–10 %. Ці спостереження обумовлені вторинною функцією кальпаSTATину як модулятора активності кальпаїну, який активується за вищої концентрації Ca^{2+} , тому опосередковано впливає на інтенсивність процесів росту.

За даними літератури, в популяції ангусів Аргентини [19] спостерігається позитивна асоціація кількості бажаних з точки зору ніжності м'яса алелей *C* з масою тіла тварин у віці 18 місяців. Альтернативним поясненням спостережуваного ефекту *CAST282* є те, що локуси кількісних ознак, наприклад, маси тіла тварини, розташовані в 7-й хромосомі великої рогатої худоби і можуть бути зчеплені з геном *CAST* [28]. У тварин породи Неллор *C*-алель *CAST282* гена кальпаSTATину також позитивно впливає на масу тіла, ефективність споживання кормів і депонування жирової тканини [11]. У канадській групі м'ясних порід (ангуси, шаролє, лимузини, сімментали) алель *C* асоціюється зі збільшенням жирності м'яса і зменшенням розмірів найдовшого м'яза спини [20]. Таким чином, збільшення маси тіла тварини відбувається за рахунок депонування жирової тканини

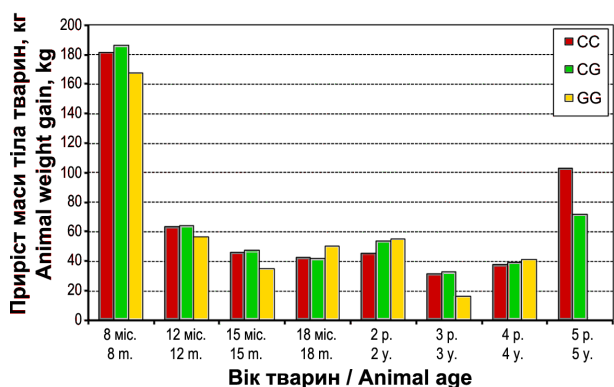


Рис. 2. Динаміка інтенсивності приросту маси відносно попереднього віку у абердин-ангусів з генотипами *CC*, *CG* і *GG* *CAST282*

Fig.2. Weight gain dynamics regarding previous age in Aberdeen-Angus with *CC*, *CG* and *GG* *CAST282* genotypes

більшою мірою, ніж приросту м'язової маси.

Комбінації генотипів за двома генами (*CAPN/CAST*) формують 9 класів, проте у досліджуваній вибірці тварини з генотипами *CC/GG* і *GG/GG* відсутні, що може бути пов'язано з низькою частотою алеля *G* гена *CAST* (табл. 2).

Згідно з отриманими даними, практично у всіх точках контролю найкращі показники живої маси тіла спостерігаються у тварин з генотипом *CC/CG*. Статистично вірогідна різниця між виділеними групами за динамікою маси тіла не спостерігалася. З точки зору ніжності м'яса, кращою комбінацією генотипів є *CC/CC*. Новонароджені тварини з таким генотипом не характеризуються вищою масою і мають проміжне значення середньодобового приросту порівняно з тваринами з іншими генотипами. У віці двох років жива маса цих тварин на 40 кг менша, ніж тварин з генотипом *CC/CG*, після чотирьох років різниця досягає 100 кг. При плануванні відбору в напрямі поліпшення якості м'яса слід врахувати, що у тварин з кращими генотипами у віці до двох років маса тіла у середньому на 20 кг менша, хоча за даними Gill зі співавт. [9] кількість одержуваного м'яса може бути подібною. Вартість ніжного м'яса вища, тому для організації відбору в напрямі такої якості, як ніжність, необхідна економічна оцінка з урахуванням вартості м'яса різної якості і відмінності за виходом м'яса. Вартість м'яса в різних країнах відрізняється, що ускладнює порівняння цін. На українському ринку такий параметр, як ніжність м'яса, переважно не враховується, однак проведення генетичного тестування може суттєво збільшити вартість бугаїв-плідників. Наприклад, за розрахунками [27], при вартості генетичного тестування \$180 ціна найкращих бугаїв-плідників може збільшитись приблизно на 66 % і становити близько \$30000.

Можна очікувати, що м'ясо корів з генотипом *CC/CG* може бути трохи жорсткішим, ніж у корів з генотипом *CC/CC* [20]. Однак від тварин з генотипом *CC/CG* можна отримати більшу кількість м'яса досить високої якості, тому відбір в напрямі цього генотипу може бути виправданим. Тварини з генотипом *CG/GG* відрізняються менш інтенсивним ростом

Динаміка маси тіла абердин-ангусів з різними комбінаціями генотипів за генами кальпаїну (*CAPN316*) і кальпастатину (*CAST282*), $x \pm s_x$
Body weight dynamics in Aberdeen-Angus by calpain (*CAPN316*) and calpastatin (*CAST282*) genotypes combined, $x \pm s_x$

Генотип тварин Animal genotype <i>CAPN316/CAST282</i>	<i>CC/CC</i>	<i>CC/CG</i>	<i>CG/CC</i>	<i>CG/CG</i>	<i>CG/GG</i>	<i>GG/CC</i>	<i>GG/CG</i>
n	5	5	21	16	2	18	6
Маса тіла новонароджених тварин, кг Birth weight, kg	29,8±1,7	33,4±3,2	29,7±0,9	30,3±1,3	28,5±4,5	29,2±1,0	32,2±1,5
Середньодобовий приріст, г Average daily gain, g	784,8±53,4	883,8±58,9	736,5±15,3	795,8±32,6	728,6±57,2	803,2±628,0	779,4±17,4
Маса тіла у 8 міс., кг 8 month weight, kg	215,5±18,0	237,7±29,4	205,4±4,3	214,4±9,0	196,0±11,0	217,2±4,1	213,6±6,5
Маса тіла в 12 міс., кг 12 month weight, kg	258,0±3,0	287,5±27,5	274,7±15,4	279,3±7,3	252,5±2,5	276,0±6,5	289,3±13,8
Маса тіла в 15 міс., кг 15 month weight, kg	319,8±9,3	340,6±14,1	319,5±6,3	324,8±5,7	287,5±2,5	322,9±5,5	329,5±10,2
Маса тіла у 18 міс., кг 18 month weight, kg	367,4±8,9	379,2±13,5	361,2±7,5	363,1±5,8	337,5±2,5	365,3±7,5	384,0±16,7
Маса тіла в 2 роки, кг 2 year weight, kg	402,6±9,8	442,8±19,5	406,8±7,2	422,2±10,7	392,5±2,5	412,8±4,4	415,7±14,6
Маса тіла в 3 роки, кг 3 year weight, kg	452,3±9,3	513,3±32,8	437,5±8,9	446,8±13,3	408,5±1,5	440,3±5,0	453,0±14,2
Маса тіла в 4 роки, кг 4 year weight, kg	492,3±14,1	585,0±15,0	473,1±7,5	489,2±14,1	450,0±5,0	481,6±10,0	483,0±13,5
Маса тіла у 5 років, кг 5 year weight, kg	578,8±50,2	681,0±31,0	580,2±25,3	549,6±20,8	—	585,3±47,0	563,7±31,6

маси і найменшою масою при народженні. Тварини з генотипами *CG/CG* і *GG/CG* відрізняються найнижчою масою тіла у кожному віці. Оскільки ми досліджували племінне ядро, до вибірки могли не потрапити тварини з генотипами *CC/GG* і *GG/GG*, оскільки вони, ймовірно, не мали видатних показників стандарту породи. Ця обставина може також пояснювати низьку частоту алеля *G* гена кальпастатину в досліджуваній вибірці.

Нами проаналізовано генеалогічну інформацію тварин, які належали до семи заводських ліній — Саутхом Екстра, Ілінмера Леда, Бріалхілл Сау, Макхері, Раймонда, Райкіна і Проспектора. Тварини лінії Ілінмера Леда і Саутхом Екстра відрізняються високими показниками динаміки маси тіла [14] (табл. 3).

Кращі тварини лінії Саутхом Екстра, з точки зору динаміки маси тіла, відрізняються вищою частотою алелей *C* за дослідженими однонуклеотидними поліморфізмами. Але у тварин лінії Райкіна частота алелей, бажаних з точки зору ніжності м'яса, ще вища, хоча динаміка маси тіла характеризується найменшими зна-

ченнями. Динаміка маси тіла тварин лінії Райкіна може пояснюватися сформованим у цій лінії комплексом генів, що надають більш виражений вплив на процеси росту і розвитку, ніж алелі генів кальпаїну і кальпастатину. Відмінності за динамікою маси тіла між тваринами різних ліній більші, ніж між групами тварин, виділеними за генотипами *CAPN316* і *CAST282*, що пояснюється спільністю походження тварин, які належать до кожної лінії. Для порівняння наших результатів з даними інших авторів, отриманими у тварин абердин-ангуської породи, ми провели розрахунок генетичної відстані за Неєм (табл. 4, 5).

За *CAPN316* проаналізована нами група абердин-ангусів характеризується найбільшою подібністю до представленої вибірки ангусів США, а найменшою — до груп Канади і Аргентини. Відмінності між групами тварин інших країн за *CAST282* характеризуються меншою варіацією, що відображає більш консервативний характер успадковування кальпастатину, оскільки цей фермент виконує модулюючу функцію.

**Динаміка маси тіла і частоти генотипів/алелів різних ліній абердин-ангусів, $x \pm s_x$
Body weight dynamics and genotypes/alleles frequencies in different lines of Aberdeen-Angus, $x \pm s_x$**

Параметр Parameter	Лінія / Line									
	Саутхом Екстра Southome Extra	Ілінмера Леда Ilmmera Leda	Бріалхілл Сау Bryalhill Sau	Макхері MacHery	Раймонда Raionda	Райкіна Raikina	Проспектора Prospectora			
n	9	13	10	9	3	3	21			
CAPN316 CC:CG:GG	22:45:33 0,44 0,56	8:61:31 0,38 0,62	10:50:40 0,35 0,65	22:45:33 0,44 0,56	0:33:67 0,17 0,83	33:67:0 0,67 0,33	10:57:33 0,38 0,62			
CAST282 CC:CG:GG	67:33:0 0,83 0,17	46:54:0 0,73 0,27	80:20:0 0,90 0,10	56:44:0 0,78 0,22	33:67:0 0,67 0,33	67:33:0 0,83 0,17	71:19:10 0,81 0,19			
Маса тіла новонароджених тварин, кг Birth weight, kg	32,22±2,24	32,14±1,21	29,70±1,39	30,00±0,92	29,67±1,20	24,33±3,28	28,50±0,89			
Середньодобовий приріст, г Average daily gain, g	802,30±29,01	813,27±25,35	760,95±51,59	749,05±26,05	761,88±4,76	769,83±61,13	788,42±25,78			
Маса тіла в 8 міс., кг 8 month weight, kg	225,78±8,99	230,18±7,34	203,33±14,48	202,25±5,42	208,50±2,12	198,50±13,50	204,50±4,43			
Маса тіла в 12 міс., кг 12 month weight, kg	293,57±4,84	296,27±7,37	252,89±10,96	266,78±3,73	276,67±1,86	255,00±5,00	276,21±4,83			
Маса тіла в 15 міс., кг 15 month weight, kg	338,22±7,59	343,61±6,98	322,20±8,60	312,70±5,27	306,67±8,35	297,67±5,36	311,06±3,96			
Маса тіла в 18 міс., кг 18 month weight, kg	382,11±6,46	389,23±9,73	365,33±6,08	358,67±9,50	346,00±7,09	347,33±9,94	348,83±4,48			
Маса тіла в 2 роки, кг 2 year weight, kg	436,44±11,12	432,38±7,37	420,14±20,15	403,57±8,11	398,00±12,78	392,67±5,36	403,28±4,02			
Маса тіла в 3 роки, кг 3 year weight, kg	469,22±12,78	459,64±10,09	489,25±30,45	439,25±14,07	421,33±8,76	407,50±2,50	426,00±3,81			
Маса тіла в 4 роки, кг 4 year weight, kg	522,00±13,95	504,40±11,87	507,40±20,12	475,00±15,00	456,67±11,67	442,50±2,50	458,28±4,04			
Маса тіла в 5 років, кг 5 year weight, kg	548,75±12,97	556,78±16,58	626,33±31,10	650,12±22,20	485,00±0,00	481,67±1,67	489,73±2,46			

Частота алелей *CAPN316* в абердин-ангусів інших країн та генетична дистанція щодо дослідженої групи
***CAPN316* allele frequencies in Aberdeen-Angus from other countries and genetic distance with studied group**

Країна / Country	Літературне джерело Reference	<i>CAPN316</i>		Генетична дистанція, % Genetic distance, %
		C	G	
Канада (n=158) Canada (n=158)	Carruthers, 2009 [3]	0,71	0,29	18,8
Міжнародна популяція ¹ (n=26) International population ¹ (n=26)	Carruthers, 2009 [3]	0,63	0,37	10,6
США (n=213) USA (n=213)	Van Eenennaam et al., 2007 [26]	0,41	0,59	0,0
Швеція (n=13) Sweden (n=13)	Leveau, 2008 [15]	0,40	0,60	1,4
Шотландія ² (n=430) Scotland ² (n=430)	Gill et al., 2009 [9]	0,31	0,69	4,9
Аргентина (n=11) Argentina (n=11)	Soria et al., 2010 [21]	0,22	0,78	12,5

Примітка: ¹ — міжнародна популяція охоплює ембріони Абердин-ангусів елітної селекції, які було отримано від найкращих виробників Аргентини, Австралії, Бразилії, Данії, Ірландії, Шотландії, Уругваю та США й імплантовано канадським коровам; ² — корови м'ясних порід, запліднені спермою абердин-ангусів.

Note: ¹ — international population represents an elite selection of international Angus cattle, the embryos donated by top purebred producers from Australia, Brazil, Denmark, Ireland, Scotland, Uruguay and the USA were implanted to Canadian cows; ² — Aberdeen Angus-sired beef cattle.

Таблиця 5

Частота алелей *CAST282* в абердин-ангусів інших країн та генетична дистанція щодо дослідженої групи
***CAST282* alleles frequencies in Aberdeen-Angus from other countries and genetic distance with studied group**

Країна Country	Літературне джерело Reference	<i>CAPN316</i>		Генетична дистанція, % Genetic distance, %
		C	G	
Швеція (n=13) Sweden (n=13)	Leveau, 2008 [15]	0,75	0,25	1,3
Шотландія ¹ (n=430) Scotland ¹ (n=430)	Gill et al., 2009 [9]	0,64	0,36	6,4
Канада (n=12) Canada (n=12)	Schenkel et al., 2006 [20]	0,63	0,37	7,0

Примітка: ¹ — корови м'ясних порід, запліднені спермою абердин-ангусів.

Note: ¹ — Aberdeen Angus-sired beef cattle.

Висновки

Відмінності між тваринами з різними генотипами за *CAPN316* у віці від 18 місяців до 2 років становлять до 10 кг маси тіла або 3 %, а за *CAST282* — 15–20 кг або 5–7 %. Вплив алеля *C* *CAPN316* на масу тіла збільшується після дворічного віку. Максимальна маса тіла тварин у кожному віці спостерігалася у тварин з генотипом *CC/CG*. Найбільш генетично близькими за цими поліморфними варіантами до досліджуваної групи є американська і шведська групи тварин.

Перспективи подальших досліджень.

З метою уточнення отриманих результатів пла-

нується оцінка ефектів генів кальпаїну та кальпастатину у нащадків досліджених тварин.

1. Aali M., Moradi-Shahrbabak M, Moradi-Shahrbabak H., Sadeghi M. Detecting novel SNPs and breed-specific haplotypes at calpastatin gene in Iranian fat- and thin-tailed sheep breeds and their effects on protein structure. *Gene*, 2014, vol. 537, no. 1, pp. 133–141. DOI: 0.1016/j.gene.2013.12.023.

2. Atramentova L. A., Utyevska A. M. *Statistical methods in biology*: Textbook. Kharkiv, KhNU named after V. N. Karazin, 2007, 288 p. (in Ukrainian)

3. Carruthers C. R. Comparison of Canadian and international Angus Cattle populations using gene variants and microsatellites. MSc thesis. Saskatoon, Canada, 2009, 77 p. Available at: <http://ecommons.usask.ca/bitstream/handle/10388/etd-10262009-135855/CCarruthersThesis.pdf>.

4. Casas E., White S. N., Wheeler T. L., Shackelford S. D., Koohmaraie M., Riley D. G., Chase Jr. C. C., Johnson D. D., Smith T. P. L. Effects of calpastatin and calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*, 2006, vol. 84, pp. 520–525.
5. Cox N. J. Calpain 10 and genetics of type 2 diabetes. *Current Diabetes Reports*, 2002, vol. 2, no. 2, pp. 186–190.
6. Cruzen S. M. Characterization of the skeletal muscle calpain/calpastatin system in growth models in swine and cattle. PhD diss. Ames, Iowa, 2013, 196 p. Available at: http://lib.dr.iastate.edu/etd/Paper_13305.
7. Dobrianska M. L., Dshus P. P., Podoba Y. V., Kopylov K. V., Kopylova K. V., Sydorenko O. V., Yudin N. S. Interpedigree differentiation in beef cattle by the frequencies of alleles and genotypes of calpain gene. *Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders*, 2013, vol. 11, no. 1, pp. 53–57. (in Ukrainian)
8. Gan-Or Z., Bouslam N., Birouk N., Lissouba A., Chambers D. B., Verlepe J., Androschuk A., Laurent S. B., Rochesford D., Spiegelman D., Dionne-Laporte A., Szuto A. Mutations in CAPN1 cause autosomal-recessive hereditary spastic paraplegia. *The American journal of human genetics*, 2016, vol. 98, pp. 1038–1046.
9. Gill J. L., Bishop S. C., McCorquodale C., Williams J. L., Wiener P. Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle. *Genetics Selection Evolution*, 2009, 41:36. DOI: 10.1186/1297-9686-41-36.
10. Goll D. E., Thompson V. F., Li H., Wei W., Cong J. The calpain system. *Physiological Review*, 2003, vol. 83, pp. 731–801.
11. Gomes R. C., Silva S. L., Carvalho M. E., Rezende F. M., Pinto L. F. B., Santana M. H. A., Stella T. R., Meirelles F. V., Rossi Júnior P., Leme P. R., Ferraz J. B. S. Protein synthesis and degradation gene SNPs related to feed intake, feed efficiency, growth, and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. *Genetics and Molecular research*, 2013, vol. 12, no. 3, pp. 2923–2936.
12. Grebinyk D. M. Calpain structural and distributional features as their classification basis. *Physiologiae*, 2012, vol. 20, no. 1–2, pp. 4–8. (in Ukrainian)
13. Grishina D. A., Suponeva N. A., Shvedkov A. V., Belopasova A. V. Inherited progressive limb-girdle muscular dystrophy type 2A (calpainopathy): a review of literature. *Neuromuscular diseases*, 2015, no. 1, pp. 25–36. DOI: 10.17650/2222-8721-2015-1-25-36. (in Russian)
14. Kolisnyk A. I., Lysenko N. G., Mesyats T. K., Ruban S. Y., Fedota A. M. Genealogical analysis of quantitative traits in Aberdeen-Angus. *Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders*, 2004, vol. 12, no. 2, pp. 256–263. (in Russian)
15. Leveau C. Candidate genes for beef quality — allele frequencies in Swedish beef cattle. MSc thesis. Canada, 2008, 48 p. Available at: http://ex-epsilon.slu.se:8080/archive/00002686/01/301_Carina_Leveau.pdf.
16. Miquel M. C., Villareal E., Mezzadra C., Melucci L., Soria L., Corva P., Schor A. The association of CAPN1 316 marker genotypes with growth and meat quality traits of steers finished on pasture. *Genetics and Molecular Biology*, 2009, vol. 32, no. 3, pp. 491–496.
17. Nakamura Y., Fukiage C., Shih M., Ma H., David L. L., Azuma M., Shearer T. R. Contribution of calpain Lp82-induced proteolysis to experimental cataractogenesis in mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2000, vol. 41, pp. 1460–1466.
18. Nei M. Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 1972, vol. 106, pp. 283–292.
19. Pintos D., Corva P. M. Association between molecular markers for beef tenderness and growth traits in Argentinian Angus cattle. *Animal Genetics*, 2011, vol. 42, pp. 329–332.
20. Schenkel F. S., Miller S. P., Jiang Z., Mandell I. B., Ye X., Li H., Wilton J. W. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*, 2006, vol. 84, pp. 291–299.
21. Soria L. A., Corva P. M., Huguet M. J., Miño S., Miquel M. C. Bovine μ -calpain (CAPN1) gene polymorphisms in Brangus and Brahman bulls, 2010, *Journal of Basic & Applied Genetics*, vol. 21, no. 1, pp. 61–69.
22. Sorimachi H., Ono Y. Regulation and physiological roles of the calpain system in muscular disorders. *Cardiovascular Research*, 2012, vol. 96, pp. 11–22.
23. Storr S. J., Thompson N., Pu X., Zhang Y., Martin S. G. Calpain in Breast Cancer: Role in Disease Progression and Treatment Response. *Pathobiology*, 2015, vol. 82, no. 3–4, pp. 133–141.
24. Tidbal J. G., Spencer M. J. Calpains and muscular dystrophies. *The international journal of biochemistry and cell biology*, 2000, vol. 32, no. 1, pp. 1–5.
25. Tretiak B. I. Mutations observed at human undifferentiated progressive inherited neuromuscular disorders. PhD. biological sci. thesis. Kyiv, 2014, 20 p. (in Ukrainian)
26. Van Eenennaam A. L., Li J., Thallman R. M., Quaas R. L., Dikeman M. E., Gill C. A., Franke D. E., Thomas M. G. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *Journal of Animal Science*, 2007, vol. 85, pp. 891–900.
27. Van Eenennaam A. L. Value of DNA information for beef bull selection. *Commercial Tests for Marker-Assisted Selection in Beef Cattle*, 2010. Available at: [http://169.237.28.91/AnimalBiotech/biotechnology/mas/Value_of_DNA_information_for_beef_bull_selection_final\[1\].pdf](http://169.237.28.91/AnimalBiotech/biotechnology/mas/Value_of_DNA_information_for_beef_bull_selection_final[1].pdf).
28. National Animal Genome Research Program: NRSP-8 Bioinformatics Coordination Program. Electronic resource: <http://www.animalgenome.org/>