

Поиск ассоциаций однонуклеотидных замен с показателями молока восточно-фризских овец на основе полногеномного анализа

М. И. СЕЛИОНОВА¹, В. И. ТРУХАЧЕВ¹, Н. А. ЗИНОВЬЕВА², А-М. М. АЙБАЗОВ¹, А. А. БЕЛОУС²

¹Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, ул. Тимирязевская, 49, Москва, 127550, Российская Федерация

²Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, 60, Подольский р-н, Московская обл., 142132, Российская Федерация

Молочное овцеводство – новая для России отрасль животноводства, перспективность развития которой определяет устойчивый спрос на сыры высокого качества. Эффективность селекции молочных овец зависит от использования генетических технологий, что определило цель исследования – поиск однонуклеотидных замен, связанных со свойствами молока восточно-фризских овец, на основе полногеномного анализа ассоциаций. Изучение молока выполняли на автоматическом анализаторе CombiFoss 7 DC, ДНК-профили получены с использованием чипа OvineHDBeadChip600K, биоинформационную обработку данных проводили с помощью программного пакета PLINK 1.90, среды R, идентификацию генов – веб-ресурса Ensembl Genes release 103, структурную аннотацию – DAVID v6.8. Наименьшей изменчивостью характеризовались показатели массовой доли белка и β -казеина (Cv до 6,0%), наибольшей – содержание трансизомеров жирных кислот (Cv 25,5%). Выявлено 199 однонуклеотидных полиморфизмов, из которых 55 ассоциированы с содержанием насыщенных жирных кислот, 47 – мочевины, 40, 37 и 27 – с массовой долей жира, общего и истинного белка соответственно. Аннотацией геномных регионов установлено 23 гена, из которых 11 имеют такие описанные биологические функции, как регуляция иммунного ответа, гликозилирование белка, метаболизм глюкозы с бета-окислением жирных кислот, слияние миоцитов, биосинтез лактозы и триглицеридов, гомеостаз ионов железа. Наиболее перспективны для селекции овец восточно-фризской породы известные гены *DGAT1* и *LALBA*, для которых выявлена связь с показателями молочной продуктивности у коров и коз, а также гены-кандидаты *FCGR3A*, *ADIPOQ*, *CD53*, *DNMT1*, *CIB1* и *FTH1*.

Ключевые слова: GWAS, SNP, QTL, овцы, восточно-фризская порода, молоко

Сведения об авторах: М. И. Селионова, доктор биологических наук, зав. кафедрой (e-mail: selionova@rgau-msha.ru); В. И. Трухачев, доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, ректор; Н. А. Зиновьева, доктор биологических наук, академик РАН, директор; А-М. М. Айбазов, доктор сельскохозяйственных наук, профессор; А. А. Белоус, кандидат биологических наук, зав. лабораторией

Для цитирования: Поиск ассоциаций однонуклеотидных замен с показателями молока восточно-фризских овец на основе полногеномного анализа / М. И. Селионова, В. И. Трухачев, Н. А. Зиновьева и др. // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 9. С. 42–49. doi: 10.53859/02352451_2024_38_9_42

Genome-wide association study of single nucleotide substitutions with milk parameters in East Friesian sheep

M. I. Selionova¹, V. I. Trukhachev¹, N. A. Zinovieva², A-M. M. Aybazonov¹, A. A. Belous¹

¹Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy, ul. Timiryazevskaya, 49, Moscow, 127550, Russian Federation

²L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, pos. Dubrovitsy, 60, Podol'skii r-n, Moskovskaya obl., 142132, Russian Federation

Abstract. Dairy sheep farming is a new branch of animal husbandry for Russia, the development prospects of which determine a stable demand for high-quality cheeses. The efficiency of dairy sheep breeding depends on the use of genetic technologies, which determined the purpose of the study – the search for single nucleotide substitutions associated with the properties of East Friesian sheep milk, based on genome-wide association analysis. Milk was studied on a CombiFoss 7 DC automatic analyser, DNA profiles were obtained using an OvineHDBeadChip600K chip, bioinformatics data processing was carried out using the PLINK 1.90 software package, R environment, gene identification – the Ensembl Genes release 103 web resource, structural annotation – DAVID v6.8. The lowest variability was observed for the mass fraction of protein and β -casein (Cv up to 6.0%), the highest – for the content of trans-isomers of fatty acids (Cv 25.5%). A total of 199 single nucleotide polymorphisms were identified, of which 55 were associated with the content of saturated fatty acids, 47 with urea, 40, 37 and 27 with the mass fraction of fat, total and true protein, respectively. Annotation of genomic regions identified 23 genes, of which 11 have such described biological functions as regulation of the immune response, protein glycosylation, glucose metabolism with beta-oxidation of fatty acids, myoblast fusion, lactose and triglyceride biosynthesis, and iron ion homeostasis. The most promising for breeding East Friesian sheep are the well-known genes *DGAT1* and *LALBA*, for which a relationship with milk productivity in cows and goats has been revealed, as well as the candidate genes *FCGR3A*, *ADIPOQ*, *CD53*, *DNMT1*, *CIB1* and *FTH1*.

Keywords: GWAS; SNP; QTL; sheep; East Friesian breed; milk

Author Details: M. I. Selionova, D. Sc. (Biol.), head of department, prof. (e-mail: selionova@rgau-msha.ru); V. I. Trukhachev, D. Sc. (Agr.), member of the RAS, rector; N. A. Zinovieva, D. Sc. (Biol.), member of the RAS, director; A-M. M. Aybazonov, D. Sc. (Agr.), prof.; A. A. Belous, Cand. Sc. (Biol.), head of laboratory.

For citation: Selionova MI, Trukhachev VI, Zinovieva NA, et al. [Genome-wide association study of single nucleotide substitutions with milk parameters in East Friesian sheep]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2024;38(9):42–9. Russian. doi: 10.53859/02352451_2024_38_9_42

В структуре мирового овцеводства на долю молочных овец приходится 20,8 %. От них в 2020 г. получено порядка 11,0 млн т, или около 2,0 % от общего объема произведенного молока в мире от всех видов животных [FAOSTAT, 2022, <https://www.fao.org/faostat/ru/#data/QCL>]. Несмотря на столь незначительную долю овечьего молока, интерес к разведению овец молочного направления в последние

годы растет и ожидается, что к 2030 г. их доля составит уже 26,0 % [1]. Эта тенденция обусловлена устойчивым потребительским спросом на сыры высокого качества, которые производят из молока овец как в чистом виде, так в смеси с молоком коров. В докладе, посвящённом развитию АПК России в период санкционного давления, министр сельского хозяйства О. Лут отметила, что «настоящий расцвет переживает российское сыроделие,

которое получило большой импульс после введения продэмбарго. Производство сыров (из молока всех видов животных) практически удвоилось за последние 10 лет (с 435 тыс. т до 801 тыс. т). Фактически за эти годы была создана новая индустрия. По всей стране появились сотни крафтовых производств с уникальной продукцией. На сегодняшний день в России работает более 1000 предприятий» [2]. Востребованность продукции молочного овцеводства определила становление этой новой для нашей страны подотрасли животноводства. Первые молочные овцефермы появились в 2015–2018 гг. в Краснодарском крае, Республике Марий Эл, Тверской области, в последующем – в 2021–2022 гг., в Московской и Нижегородской областях. Для разведения были ввезены животные специализированных молочных пород зарубежной селекции – лакон, ассаф, восточно-фризская.

Превосходные сыродельческие качества овечьего молока определяет высокое содержание в нем жира и белка, что обеспечивает значительно больший выход сыра, чем из коровьего молока. Кроме того, основным белковый компонент – казеин, в молоке овец значительно более устойчив к нагреванию и содержит больше неорганического фосфора и кальция, по сравнению с молоком других видов животных, поэтому при производстве сыра не требуется дополнительного внесения хлорида кальция, что обеспечивает технологические преимущества [3].

Экономическая эффективность производства животноводческой продукции во многом определяют, с одной стороны, применение современных технологий, с другой – использование животных таких генотипов, которые максимально соответствуют основным задачам производства. В выявлении таких генотипов в последние годы наиболее информативными и точными признаны методы молекулярной генетики, среди которых следует выделить полногеномное генотипирование. Его проводят или путем секвенирования всего генома, что требует значительных материальных затрат, или с использованием ДНК-чипов, что позволяет сканировать геном в заданных позициях по сотням или тысячам однонуклеотидных вариантов (Single Nucleotide Variant, SNV или чаще употребляемое – Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Последний метод, хотя и имеет определенные ограничения, тем не менее, для выявления участков генома, ассоциированных с фенотипическими признаками, и в дальнейшем использования в селекции вполне достаточен. Разработка ДНК-чипа для овец стала возможной после получения международным консорциумом по генетике овец (ISGC <http://www.sheepmap.org/>) референсного генома (<http://www.livestockgenomics.csiro.au/sheep/oar3.0.php>). Достигнутые результаты легли в основу метода полногеномного поиска ассоциаций (genome-wide association study, GWAS) с ценными признаками продуктивности овец разного направления продуктивности [4]. Хотя GWAS исследований в молочном овцеводстве выполнено значительно меньше, чем в молочном скотоводстве и козоводстве [5, 6], не будет преувеличением утверждение о том, что усилия ученых во многих странах мира привели к получению значимых результатов в этом направлении [7].

Основное внимание исследователей было направлено на выявление генов, которые контролируют формирование основных признаков молочной продуктивности овец – удой, продолжительность лактации, уровень жира и белка, содержание соматических кле-

ток. Так, в работе Jawasreh K. и соавторов (2020) для овец породы авасси путем ассоциативного анализа выявлено, что гены *GAL3ST3* и *SPATA6* значимы для селекции по признакам удоя и продолжительности лактации [8]. У овец породы валле-дель-беллис GWAS идентифицировано 23 SNP, из которых 3 были связаны с удоём, 9 – с общим выходом жира за лактацию и 11 – с его массовой долей в молоке, при этом несколько SNP совпадали с выявленными ранее для признаков молочной продуктивности у разных видов молочного скота [9].

Исследования, проведенные на овцах молочных пород ассаф и чурра, предусматривали определение как основных параметров продуктивности (удой, процентное содержание белка и жира, а также их суммарный выход за период лактации, количество соматических клеток и др), так и дополнительных показателей, связанных с производством сыра (время свертывания, образования и затвердевания творожного сгустка, показатели упругости через 30 и 60 мин. после внесения сычужного фермента). В результате исследований для пород ассаф и чурра выявлено соответственно 84 и 139 значимых ассоциативных SNP, функциональная аннотация которых определила 71 ген-кандидат. Авторы указывают, что дальнейшие исследования позволяют выявить наиболее перспективные гены для использования в селекции не только изученных, но и других молочных пород овец [10].

В GWAS исследовании Argyriadou A. и соавторов (2023) основное внимание было уделено признакам здоровья овец молочных пород хиос и фризарта (степени упитанности, продолжительности лактации, числу соматических клеток). Установлено 19 генов-кандидатов, из которых 2 (*TMEM229A*, *POT1*) были связаны с упитанностью, 4 (*GRID2*, *FAIM*, *CEP70*, *GRIP1*) – с продолжительностью лактации и 13 (*NTAQ1*, *ZHX1*, *ZHX2*, *LOC101109545*, *HAS2*, *DERL1*, *FAM83A*, *ATAD2*, *RBP7*, *FSTL1*, *CD80*, *HCLS1*, *GSK3B*) – с уровнем соматических клеток. Авторы особо отметили, что гены *TMEM229A* и *POT1* были также связаны с параметрами тела, а гены *GRID2* и *CEP70* с уровнем молочной продуктивности у крупного рогатого скота, что выделяет их и делает интересными для селекции молочных овец по признакам здоровья [11].

Аналогии в генах, ассоциированных с признаками молочной продуктивности овец и других видов животных, были отмечены и в работе Li H. и соавторов (2020). GWAS на хромосомах 1, 3, 4, 5, 7 и 11 было выявлено наибольшее число высоко значимых SNP, что позволило сделать предположение о том, что именно они содержат большее число генов, контролирующих молочную продуктивность у овец. Аннотация геномных регионов идентифицировала гены *TTC7B*, *SLC27A6*, *LRP1B*, *GALNT14*, *CNTN4*, *CDH13*, *SLC39A12*, которые также были связаны с липидным и белковым обменом у других видов сельскохозяйственных животных. А такие гены, как *ITPR2* и *SLC27A6*, были определены как кандидаты продуктивности у молочного скота [12].

Таким образом, для некоторых молочных пород овец выполнены полногеномные ассоциативные исследования, выявлены перспективные гены для дальнейшей валидации и использования в селекции. Однако следует признать, что таких исследований выполнено недостаточно, и для накопления большей информации о локусах генома, вовлеченных в формирование признаков продуктивности овец молочных пород, необходимо продолжение работ в таком направлении, что обосновывает актуальность нашей работы.

Цель исследований – поиск ассоциаций однонуклеотидных замен с показателями молока восточно-фризских овец на основе полногеномного анализа.

Условия, материалы и методы. Объектом исследований были овцы восточно-фризской породы первой лактации ($n=96$, КФХ «Эко ферма «Шипчик», Шаховской р-он, Московская обл.). Усредненные суточные пробы молока отбирали при двукратном доении на доильной установке TJKKC Melasty® («Melasty», Турция) в течение трех доений через 14 дней. Анализ молока проводили в ФИЦ животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста на базе ОНИС БиоТехЖ на автоматическом анализаторе CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания). Определяли массовую долю белка общего и истинного (МДБ_о, МДБ_и), β -казеина, жира (МДЖ), насыщенных жирных кислот (НЖК), мочевины (МЧ).

ДНК выделяли с использованием набора реагентов «ДНК-Экстрен», согласно протоколу производителя (Синтол, Москва, Россия); качество оценивали с помощью NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, DE), концентрацию – Qubit (ThermoFisher, США). Все образцы на длинах волн 260 и 280 нм (A260/280) показали соотношение в диапазоне 1,8...2,0 и были использованы для генотипирования, которое выполняли при помощи чипа высокой плотности OvineHDBeaChip600K (Illumina Inc., San Diego, CA). Фильтрацию результатов и контроль качества для каждого SNP и каждого образца осуществляли с использованием программного продукта plink 1.9 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). При этом использовали следующие фильтры: Call-rate по всем исследуемым SNP для индивидуального образца – не ниже 90 % (--mind); Call-rate для каждого из исследованных SNP по всем генотипированным образцам – не ниже 90 % (--geno); частота встречаемости минорных аллелей (MAF) – более 0.03 (--maf 0.03); отклонение SNP-генотипов от распределения Харди-Вайнберга в общей совокупности протестированных образцов – с достоверностью $p\text{-value} < 10^{-6}$ (--hwe). Полиморфизмы, локализованные на половых хромосомах, исключали. После фильтрации данных в анализе использовали 437 639 SNP. Неравновесное сцепление исследуемых SNP (LD оценка) определяли для $r^2 < 0,2$ с шагом 50 kb (--indep-pairwise).

Биоинформационную обработку данных проводили в программной среде R [13]. Для подтверждения достоверного влияния SNP и определения значимых регионов в геноме овец использовали тест для проверки нулевых гипотез по Бонферрони. На геномных графиках $-\log_{10}(p)$, иллюстрирующих ассоциации SNP с изучаемыми признаками, нижняя линия показывает порог значимости $p < 1,4 \times 10^{-4}$, верхняя линия – порог значимости после использования критерия Бонферрони $p < 1,4 \times 10^{-6}$ ($0,05/437\,639$), что составляет $-\log_{10} 1,00$. Преодолевшие верхний (полногеномный) порог значения указываются как высокодостоверные. Полученные значения p для всех выбранных полиморфных сайтов проверяли путем построения графиков квантиль-квантиль (QQ plot), критерием служил коэффициент λ , значение которого выше 1 свидетельствовало о доверии к статистической модели [14].

Статистический анализ выполняли с помощью программы STATISTICA 10 (<https://statsoft-statistica>).

ru), исключение средовых и постоянных эффектов осуществляли методом обобщенной линейной модели (generalizes linear regression, GLM):

$$y = HY_i + b_i \text{ Age} + e,$$

где y – соответствующая GLM оценка животного; HY_i – фиксированный эффект «дата рождения»; Age – регрессионный эффект в днях лактации на момент оценки; b_i – регрессионный коэффициент модели; e – нераспределенный остаток модели.

Идентификацию генов, заданных в соответствии со сборкой генома овец OAR версии 3.1, на расстоянии $\pm 0,20$ Mb от идентифицированных SNP, выполняли с помощью веб-ресурса Ensembl (<https://www.ensembl.org/>), структурную аннотацию – в программе DAVID v6.8 (<https://david.ncifcrf.gov>) по биологической библиотеки (GOTERM_BP). Кроме того, проводили сопоставление локализации выявленных генов с базой локусов количественных признаков овец (Sheep QTL, <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/search>).

Результаты и обсуждение. Наименьшей изменчивостью характеризовались такие показатели молока овец восточно-фризской породы, как общая и истинная массовая доля белка, β -казеина, для которых коэффициент вариации (Cv) не превышал 6,0 % (табл. 1). Далее следовали массовая доля жира, содержание на-

Таблица 1. **Описательная статистика показателей молока овец восточно-фризской породы**

Показатель	Min	Max	Средняя	Ошибка средней	Cv, %
МДБ _о	3,36	5,89	4,51	0,02	5,29
МДБ _и	3,36	5,89	4,39	0,02	4,27
β -казеин	3,05	4,96	3,69	0,02	5,90
МДЖ	3,82	7,14	5,87	0,07	12,36
Насыщенные ЖК (НЖК)	2,04	7,03	3,51	0,05	14,07
Трансизомеры ЖК (ТЖК)	0,04	0,33	0,14	0,01	25,52
Мочевина, мг $\times$ 100 мл ⁻¹	18,2	58,2	37,66	0,51	13,96

сыщенных жирных кислот и мочевины, уровень изменчивости которых составлял 12,5...14,5 %. Наибольшую изменчивость демонстрировал показатель содержания трансизомеров жирных кислот – 25,5 %.

Анализ визуализации результатов GWAS в виде графиков расположения статистически значимых SNP и вероятностного распределения ожидаемого и наблюдаемого отклонений от нормального распределения для значений достоверности по изучаемым показателям в молоке восточно-фризских овец свидетельствует о том, что наибольшее число ассоциативных SNP (55) было характерно для содержания насыщенных жирных кислот. При этом более половины SNP (34) были идентифицированы на 3-ей хромосоме, остальные – от одного до пяти располагались на пяти хромосомах, а именно на 4-ой, 8-ой, 11-ой, 12-ой и 18-ой (рис. 1, 2).

Для уровня мочевины определено 47 значимых однонуклеотидных замен, при этом большинство из них (29 SNP) располагались на 1-ой хромосоме, другие (от двух до четырех SNP) распределялись между семью хромосомами: 5-ой, 7-ой, 9-ой, 14-ой, 20-ой, 21-ой и 22-ой. В том числе один SNP на 22-ой хромосоме демонстрировал наиболее высокую значимость ($p < 1,21 \times 10^{-7}$) среди всех выявленных SNP для всех исследованных качественных показателей молока изученных овец восточно-фризской породы.

Для других признаков (массовая доля жира, общего и истинного белка, β -казеина) распределение значимых нуклеотидных замен было более равномерным – от 2 до 8 SNP, которые располагались на 9-11 хромосомах. Так, для массовой доли жира выявлено 40 SNP на 10

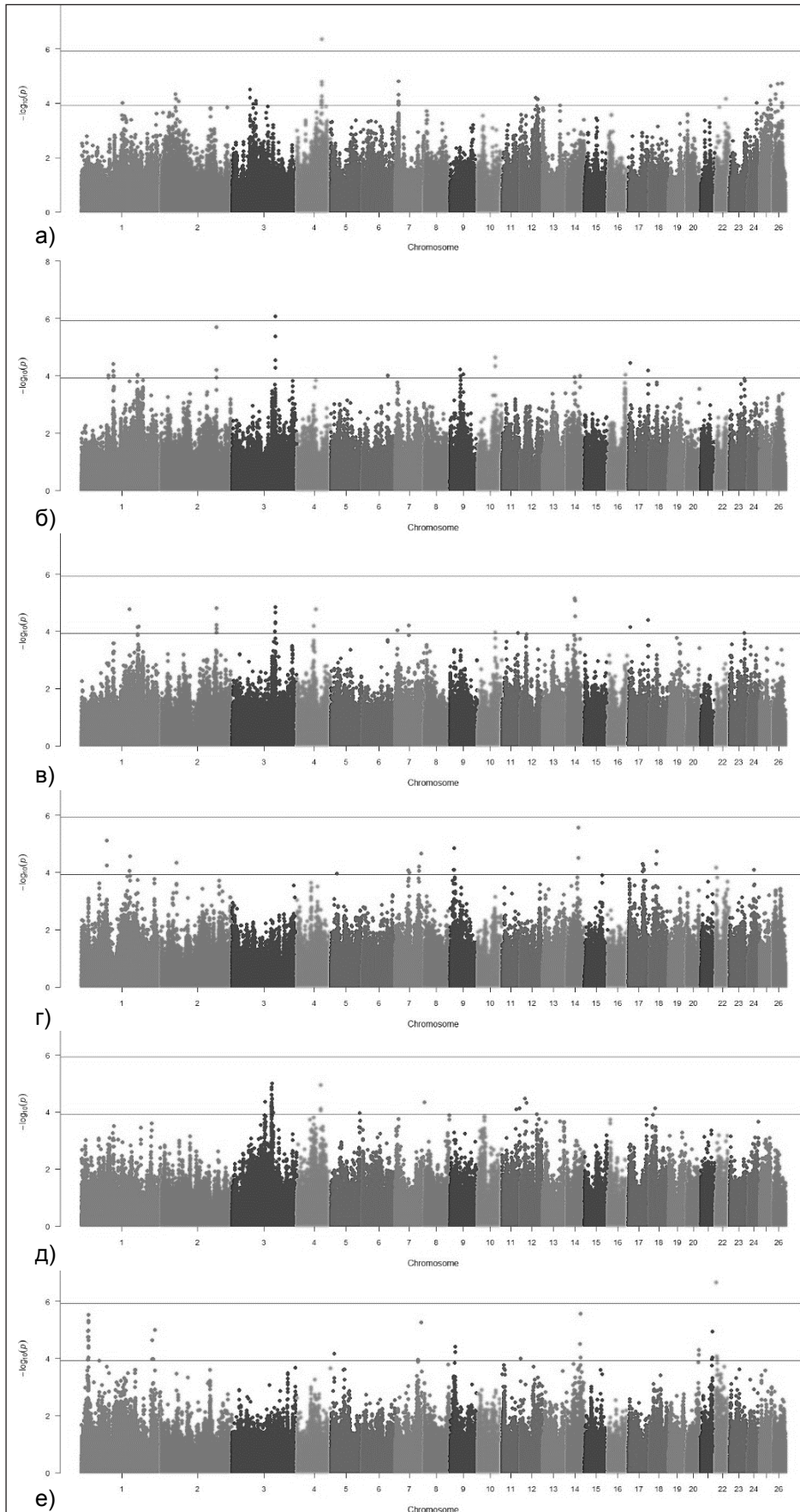


Рис. 1. Распределение SNP по хромосомам овец в связи с уровнем достоверности ($-\log_{10}(p)$) по вероятностному значению (нижняя линия, $p < 1,14 \times 10^{-4}$) и критерию Бонферрони (верхняя линия, $p < 1,14 \times 10^{-6}$) для показателей: а) МДЖ, б) МДБ_о, в) МДБ_и, г) β -казеин, д) НЖК, е) МЧ.

значимости. Для общей и истинной массовой доли белка обнаружены соответственно 37 и 27 SNP на 11 хромосомах (1-4, 6, 7, 9, 10, 14, 16 и 17). При этом по одному SNP высокой значимости ($p < 1,21 \times 10^{-6}$) для МДБ_о и МДБ_и выявлено на 4-ой и 3-ей хромосомах. Для β -казеина идентифицировано 33 SNP на 9 хромосомах (1, 2, 7, 9, 14, 17, 18, 22 и 24).

Из 199 выявленных SNP для исследованных признаков 18 SNP были аналогичными для двух признаков. Так, для МДБ_о и МДБ_и, что представляется вполне логичным, совпадали 16 SNP (s73667.1 на 1 хромосоме, OAR2_205083953.1, OAR2_193533606, OAR2_193554057, OAR2_193574427, OAR2_193590488, OAR2_193599155, OAR2_193646576, OAR2_193669108 на 2 хромосоме, OAR3_150451124, OAR3_150620245, OAR3_150735201 на 3 хромосоме, OAR17_8430183.1, OAR17_69397758 и OAR17_7513838 на 17 хромосоме). Для мочевины и β -казеина таковыми были 2 SNP (OAR7_90405291 на 7 хромосоме и OAR22_2772219 на 22 хромосоме).

Проведенный анализ в базе данных для аннотаций (DAVID) по биологической библиотеке (GO) позволил установить, что из 23 структурно обнаруженных генов, только у 11 имеются описанные биологические функции (табл. 2), среди которых регуляция иммунного ответа (GO:0050777 и GO:0006955), гликозилирование белка (добавление углеводной или производной углеводной единицы к аминокислоте белка, GO:0006486), процесс и регуляция метаболизма глюкозы с бета-окислением жирных кислот (GO:0010906; GO:0031998), положительная регуляция слияния миобластов (ключевое событие при формировании мышечных волокон во время эмбрио-

хромосомах (1-4, 7, 12, 22, 24-26), в том числе один SNP на 4-ой хромосоме показывал высокий уровень

слияния миобластов (ключевое событие при формировании мышечных волокон во время эмбрио-

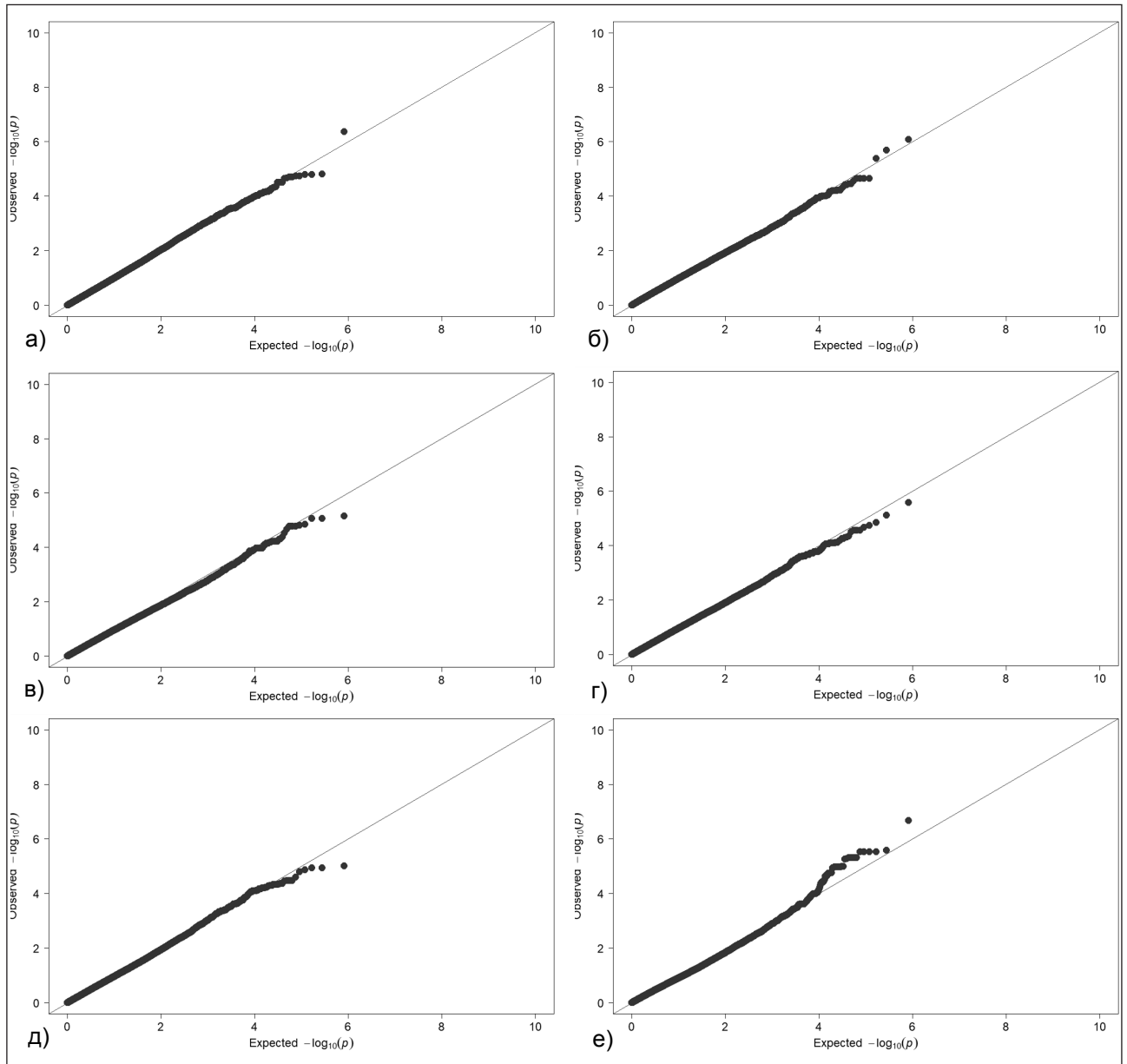


Рис. 2. Квантиль-квантиль вероятностного распределения ожидаемого и наблюдаемого отклонений от нормального распределения для значений достоверности для показателей: а) МДЖ, б) МДБ_о, в) МДБ_и, г) β-казеин, д) НЖК, е) МЧ.

нального развития (GO:1901741), процессы метаболизма (GO:0008152), процесс биосинтеза лактозы (GO:0005990), метилирование (GO:0032259), процесс биосинтеза триглицеридов (GO:0006641), ангиогенез

(GO:0001525), сперматогенез (GO:0007283), внутриклеточный гомеостаз ионов железа (GO:0006879).

Для определения наиболее перспективных генов и использования их в программах геномной селекции путем разработки

Таблица 2. Биологическая аннотация выявленных генов-кандидатов, ассоциированных с показателями состава молока овец восточно-фризской породы

Хромосома	Ген	Биологическая аннотация в базе данных DAVID
1	<i>FCGR3A</i>	регуляция иммунного ответа
	<i>FCGR2B</i>	регуляция иммунного ответа
	<i>ST6GAL1</i>	гликозилирование белка
	<i>ADIPOQ</i>	регуляция метаболизма глюкозы с бета-окислением жирных кислот
3	<i>FCGR2B</i>	регуляция иммунного ответа
	<i>CD53</i>	положительная регуляция слияния миобластов
	<i>LYZ</i>	процессы метаболизма
	<i>LALBA</i>	биосинтез лактозы
5	<i>DNMT1</i>	метилирование
9	<i>DGAT1</i>	биосинтез триглицеридов
18	<i>CIB1</i>	ангиогенез, сперматогенез
21	<i>FTH1</i>	внутриклеточный гомеостаз ионов железа, регуляция иммунного ответа

тест-систем или создания коммерческого ДНК-чипа с точным нанесением выявленных полиморфизмов, связанных с признаками продуктивности овец, необходимо аннотировать представленные гены в базе локусов количественных признаков овец (Sheep QTL, <https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/search>) и аналогичных работах.

Из выявленных генов у овец восточно-фризской породы следует выделить

DGAT1 (diacylglycerol acyltransferase enzymes 1, диацилглицерол О-ацилтрансферазы 1) и *LALBA* (Lactalbumin alpha, альфа-лактальбумин), биологическая роль которых хорошо описана, установлены ассоциации с процессами лактации и параметрами молочной продуктивности у многих видов сельскохозяйственных животных [15...17]. Следовательно, именно эти гены следует рассматривать как наиболее информативные маркеры для признаков молочной продуктивности овец.

Подтверждением такого заключения служит то, что в базе Sheep QTL для гена *DGAT1* обнаружено 14 номеров регистрации, при этом часть из них идентифицирует связь с признаками молочной продуктивности, часть – с мясной. Так, QTL 13985 – это связь гена *DGAT1* с количеством молока за лактацию, QTL 14022 и 14023 – с МДЖ и МДБ в молоке у овец пород альтамурана, джентиле ди апулия и сарда. QTL 160733, 160735 и 160738 описывают ассоциацию с массой тела, QTL 160743, 160744 и 160747 соответственно – с толщиной подкожного жира, длинной мышцы спины и массой парной туши у овец породы текстель. Под номерами QTL 261744, 261745 и 261746 зарегистрирована связь гена *DGAT1* с выходом филейной и передней части туши, а также с массой мякотной части задних ног у овец породы саут даун.

Связь гена *LALBA* со временем свертывания сычужного фермента у овцематок породы сарда идентифицирована под номером QTL 107613. Кроме того, ассоциация этого гена с молочной продуктивностью установлена у испанских молочных [18] и мериносовых и мясных овец [19, 20].

Из девяти других генов (см. табл. 2), для шести в ряде работ были отмечены ассоциации с признаками продуктивности овец. Так, в широкомасштабном исследовании Li R. с соавт. (2023), проведенном на десяти породах овец, с использованием GWAS была установлена высоко значимая связь гена *FCGR3A* (Fc region receptor III-A, рецептор Fc III-A), регулирующего синтез основного белка-рецептора для связывания IgG, с признаками молочной продуктивности этого вида животных [7]. Ген *ADIPOQ* (adiponectin, адипонектин), регулирующий синтез адипоцитами соответствующего гормона, был связан с регуляцией уровня глюкозы и окислением жирных кислот у китайских курдючных пород овец [21], а также с отложением жира у овец породы ху [22]. Исследование экспрессии ряда генов в эмбриональных клетках показало непосредственную вовлеченность гена *CD53* (тетраспанин 25), регулирующего синтез мембранного гликопротеина из семейства тетраспанинов, в процессы имплантации и раннего развития зародыша у овец [23]. На основе транскриптомного анализа фибробластов было показано, что ген *DNMT1* (DNA methyltransferase 1, ДНК-метилтрансфераза 1) участвует в процессе регуляции метилирования гена *WNT2* (wingless-type MMTV integration site family, member 2), определяюще-

го развитие волосяных фолликулов у овец китайской породы супер меринос [24].

Строение гена *CIB1* (calcium and integrin binding protein 1, кальций и интегрин-связывающий белок 1) у овец на основе клонирования и исследования экспрессии впервые была охарактеризована Yu Y. с соавт. (2009). Самая высокая его экспрессия выявлена в клетках семенников. Это позволило авторам предположить связь гена с воспроизводительными функциями баранов [25], что было подтверждено в другом исследовании, проведенном на иранских овцах породы керман [26].

Имеются сведения о том, что ген *FTH1* (ferritin heavy chain, высокомолекулярный ферритин), регулирующий синтез белка, связывающего и обеспечивающего внутриклеточный гомеостаз ионов железа, оказывает влияние на скорость роста мышц как у мясных овец с высокой энергией роста – пород дорпер и мясной меринос цянхуа, так и невысокой – короткохвостой породы хань [27]. Кроме того, выявлена связь гена *FTH1* с развитием, ростом и иммунитетом у ягнят иранской породы белуджи в 4...5 месячном возрасте или в период их отъема от матерей [28].

Выводы. Идентифицированы 199 SNP, ассоциированных с качественными показателями молока у восточно-фризских овец, из которых с содержанием насыщенных жирных кислот связаны 55 SNP, мочевины – 47, с массовой долей жира, общего и истинного белка – соответственно 40, 37 и 27 SNP. Аннотация геномных регионов для обнаруженных SNP выявила 23 гена, из которых 11 имеют описанные биологические функции (регуляция иммунного ответа, гликозилирование белка, метаболизма глюкозы с бета-окислением жирных кислот, слияния миобластов, биосинтеза лактозы и триглицеридов, гомеостаза ионов железа). Наиболее перспективны для селекции известные гены *DGAT1* и *LALBA*, для которых выявлена связь с показателями молочной продуктивности у коров и коз, а также гены-кандидаты *FCGR3A*, *ADIPOQ*, *CD53*, *DNMT1*, *CIB1* и *FTH1*.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансировалась за счет средств Российского научного фонда в рамках проекта № 21-76-20008.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводили в соответствии с Руководством Национального института здравоохранения по уходу и использованию лабораторных животных (<http://oacu.od.nih.gov/regs/index.htm>). Протокол исследований был одобрен Комиссией по биоэтике Института зоотехнии и биологии Российского государственного аграрного университета – Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева (протокол № 15, от 20 октября 2023 года).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Литература.

1. Mazinani M., Rude B. Population, world production and quality of sheep and goat products // *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 2020. Vol. 15. No. 4. P. 291–299. doi: 10.3844/ajavsp.2020.291.299.
2. Лут О. Денежные знаки // *Российская газета*. 2024. № 9415. С. 1.
3. Сравнительная оценка молока-сырья жвачных сельскохозяйственных животных / Е. А. Юрова, Е. С. Семёнова, Д. Н. Мельденберг и др. // *Молочная промышленность*. 2017. № 8. С. 60–63.
4. Rezvannejad E., Asadollahpour Nanaei H., Esmailizadeh A. Detection of candidate genes affecting milk production traits in sheep using whole-genome sequencing analysis // *Vet. Med. Sci.* 2022. Vol. 8 No. 3. P. 1197–1204. doi: 10.1002/vms3.731.
5. Genome-wide association analysis of milk production, somatic cell score, and body conformation traits in Holstein cows

- / P. Wang, X. Li, Y. Zhu, et al. // *Front. Vet. Sci.* 2022. Vol. 9. Article e932034. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2022.932034/full> (дата обращения: 23.07.2024). doi: 10.3389/fvets.2022.932034.
6. Getaneh M., Wondimagegn K. Candidate genes associated with economically important traits in dairy goats // *Cogent Food & Agriculture*. 2022. Vol. 8. P. 1–39. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2022.2149131> (дата обращения: 12.07.2024). doi: 10.1080/23311932.2022.2149131.
7. Genome-wide signal selection analysis revealing genes potentially related to sheep-milk-production traits / R. Li, Y. Zhao, B. Liang, et al. // *Animals*. 2023. Vol. 13. No. 10. Article 1654. URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/10/1654> (дата обращения: 12.07.2024). doi: 10.3390/ani13101654.
8. Genome-wide association study for milk production of Awassi sheep in Jordan / K. Jawasreh, N. Haddad, A. Abulubbad, et al. // *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 2021. Vol. 21. No. 5. P. 302–309. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X21001284?via%3Dihub> (дата обращения: 23.07.2024). doi: 10.1016/j.jssas.2021.09.006.
9. Detection of genomic regions underlying milk production traits in Valle del Belice dairy sheep using regional heritability mapping / A. M. Sutura, M. Tolone, S. Mastrangelo, et al. // *Journal of animal breeding and genetics*. 2021. Vol. 138. No. 5. P. 552–561. doi: 10.1111/jbg.12552.
10. Genome-wide association studies (GWAS) and post-GWAS analyses for technological traits in Assaf and Churra dairy breeds / H. Marina, R. Pelayo, A. Suarez-Vega, et al. // *Journal of dairy science*. 2021. Vol. 104. No. 11. P. 11850–11866. doi: 10.3168/jds.2021-20510.
11. A genome-wide association study reveals novel SNP markers associated with resilience traits in two Mediterranean dairy sheep breeds / A. Argyriadou, S. Michailidou, S. Vouraki, et al. // *Journal Frontiers in genetics*. 2023. Vol. 14. Article e1294573. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2023.1294573/full> (дата обращения: 20.07.2024). doi: 10.3389/fgene.2023.1294573.
12. Genome-wide association study of milk production traits in a crossbred dairy sheep population using three statistical models / H. Li, X.-L. Wu, R. G. Tait, et al. // *Anim Genet*. 2020. Vol. 51. P. 624–628. doi: 10.1111/age.12956.
13. Turner S. qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots // *Journal of Open Source Software*. 2018. Vol. 3. No. 25. Article 731. URL: <https://joss.theoj.org/papers/10.21105/joss.00731> (дата обращения: 23.07.2024). doi: 10.21105/joss.00731.
14. Establishing an adjusted P-value threshold to control the family-wide type 1 error in genome wide association studies / P. Duggal, E. M. Gillanders, T. N. Holmes, et al. // *BMC Genomics*. 2008. Vol. 9. No. 1. Article 516. URL: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-9-516> (дата обращения: 12.07.2024). doi: 10.1186/1471-2164-9-516.
15. Short communication: Association analysis of diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) mutation on chromosome 14 for milk yield and composition traits, somatic cell score, and coagulation properties in Holstein bulls / T. Bobbo, F. Tiezzi, M. Penasa, et al. // *Journal of Dairy Science*. 2018. Vol. 101. No. 9. P. 8087–8091. doi: 10.3168/jds.2018-14533.
16. A genome scan for milk production traits in dairy goats reveals two new mutations in Dgat1 reducing milk fat content / P. Martin, I. Palhiere, C. Maroteau, et al. // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. No. 1. Article 1872. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-02052-0> (дата обращения: 28.07.2024). doi: 10.1038/s41598-017-02052-0.
17. Sadovnikova A., Garcia S. C., Hovey R. C. A comparative review of the extrinsic and intrinsic factors regulating lactose synthesis // *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2021. Vol. 26. No. 2. P. 197–215. doi: 10.1007/s10911-021-09491-6.
18. GWA analysis for milk production traits in dairy sheep and genetic support for a QTN influencing milk protein percentage in the LALBA gene / E. Garcia-Gamez, B. Gutierrez-Gil, G. Sahana, et al. // *PLoS One*. 2012. Vol. 7. No. 10. P. 1115–1126. doi: 10.1371/journal.pone.0047782.
19. Polymorphisms of alpha-lactalbumin, beta-lactoglobulin and prolactin genes are highly associated with milk composition traits in Spanish Merino sheep / P. Padilla, M. Izquierdo, M. Martinez-Trancon, et al. // *Livestock Science*. 2018. Vol. 217. P. 26–29. doi: 10.1016/j.livsci.2018.09.012.
20. Sallam A. M. Effect of genetic polymorphisms in LALBA and Prolactin genes on milk traits in Barki ewes // *Small Ruminant Research*. 2023. Vol. 226. No. 4. P. 226–241. doi: 10.1016/j.smallrumres.2023.107041.
21. Insights into the influence of diet and genetics on feed efficiency and meat production in sheep / S. R. Chacko Kaitoolil, M. H. Mooney, A. Aubry, et al. // *Anim Genet*. 2024. Vol. 55. No. 1. P. 20–46. doi: 10.1111/age.13383.
22. Effect of heat stress on growth performance, carcass characteristics, meat quality and rumen-muscle axis of Hu sheep / S. Zhang, Y. Zhang, Y. Wei, et al. // *Italian Journal of Animal Science*. 2023. Vol. 23. No. 1. P. 87–100. doi: 10.1080/1828051X.2023.2284886.
23. Single-cell transcriptomic characterization of sheep conceptus elongation and implantation / G. X. Jia, W. J. Ma, Z. B. Wu, et al. // *Cell Rep*. 2023. Vol. 42. No. 8. Article e112860. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124723008719> (дата обращения: 28.07.2024). doi: 10.1016/j.celrep.2023.112860.
24. Differential methylation and transcriptome integration analysis identified differential methylation annotation genes and functional research related to hair follicle development in sheep / Y. Tian, X. Yang, J. Du, et al. // *Front Genet*. 2021. Vol. 12. Article e735827. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2021.735827/full> (дата обращения: 28.07.2024). doi: 10.3389/fgene.2021.735827.
25. Molecular characterization of the sheep CIB1 gene / Y. Yu, X. Song, L. Du, et al. // *Mol. Biol. Rep*. 2009. Vol. 36. P. 1799–1809. doi: 10.1007/s11033-008-9383-4.
26. Mohammadabadi M. R., Jafari A. H. D., Bordbar F. Molecular analysis of CIB4 gene and protein in Kermani sheep // *Braz. J. Med. Biol. Res*. 2017. Vol. 50. No. 11. Article e6177. URL: <https://www.scielo.br/j/bjmr/a/KqFvFHqQWwbcHqjXQNZ6Xdz/?lang=en> (дата обращения: 23.07.2024). doi: 10.1590/1414-431X20176177.
27. Sheep skeletal muscle transcriptome analysis reveals muscle growth regulatory lncRNAs / T. Chao, Z. Ji, L. Hou, et al. // *Peer. J*. 2018. Vol. 6. Article e4619. URL: <https://peerj.com/articles/4619/> (дата обращения: 23.07.2024). doi: 10.7717/peerj.4619.
28. Genes and pathways affecting sheep productivity traits: Genetic parameters, genome-wide association mapping, and pathway enrichment analysis / S. M. Esmaili-Fard, M. Gholizadeh, S. H. Hafezian, et al. // *Front Genet*. 2021. Vol. 12. Article e710613. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2021.710613/full> (дата обращения: 28.07.2024). doi: 10.3389/fgene.2021.710613.

References

1. Mazinani M, Rude B. Population, world production and quality of sheep and goat products. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 2020;15(4):291-9. doi: 10.3844/ajavsp.2020.291.299.
2. Lut O. [Money grains]. *Rossiiskaya gazeta*. 2024;(9415):1. Russian.

3. Yurova EA, Semenova ES, Mel'denberg DN, et al. [Comparative evaluation of raw milk of ruminant farm animals]. *Molochnaya promyshlennost'*. 2017;(8):60-3. Russian.
4. Rezvannejad E, Asadollahpour Nanaei H, Esmailzadeh A. Detection of candidate genes affecting milk production traits in sheep using whole-genome sequencing analysis. *Vet. Med. Sci.* 2022;8(3):1197-204. doi: 10.1002/vms3.731.
5. Wang P, Li X, Zhu Y, et al. Genome-wide association analysis of milk production, somatic cell score, and body conformation traits in Holstein cows. *Front. Vet. Sci* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jul 23];9: Article e932034. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2022.932034/full>. doi: 10.3389/fvets.2022.932034.
6. Getaneh M, Wondimagegn K. Candidate genes associated with economically important traits in dairy goats. *Cogent Food & Agriculture* [Internet]. 2022 [cited 2024 Jul 12];8:1-39. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311932.2022.2149131>. doi: 10.1080/23311932.2022.2149131.
7. Li R, Zhao Y, Liang B, et al. Genome-wide signal selection analysis revealing genes potentially related to sheep-milk-production traits. *Animals* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jul 12];13(10): Article 1654. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/10/1654>. doi: 10.3390/ani13101654.
8. Jawasreh K, Haddad N, Abulubbad A, et al. Genome-wide association study for milk production of Awassi sheep in Jordan. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jul 23];21(5):302-9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1658077X21001284?via%3Dihub>. doi: 10.1016/j.jssas.2021.09.006.
9. Sutera AM, Tolone M, Mastrangelo S, et al. Detection of genomic regions underlying milk production traits in Valle del Belice dairy sheep using regional heritability mapping. *Journal of animal breeding and genetics*. 2021;138(5):552-61. doi: 10.1111/jbg.12552.
10. Marina H, Pelayo R, Suarez-Vega A, et al. Genome-wide association studies (GWAS) and post-GWAS analyses for technological traits in Assaf and Churra dairy breeds. *Journal of dairy science*. 2021;104(11):11850-66. doi: 10.3168/jds.2021-20510.
11. Argyriadou A, Michailidou S, Vouraki S, et al. A genome-wide association study reveals novel SNP markers associated with resilience traits in two Mediterranean dairy sheep breeds. *Journal Frontiers in genetics* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jul 20];14: Article e1294573. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2023.1294573/full>. doi: 10.3389/fgene.2023.1294573.
12. Li H, Wu X-L, Tait RG, et al. Genome-wide association study of milk production traits in a crossbred dairy sheep population using three statistical models. *Anim Genet*. 2020;51:624-8. doi: 10.1111/age.12956.
13. Turner S. qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots. *Journal of Open Source Software* [Internet]. 2018 [cited 2024 Jul 23];3(25): Article 731. Available from: <https://joss.theoj.org/papers/10.21105/joss.00731>. doi: 10.21105/joss.00731.
14. Duggal P, Gillanders EM, Holmes TN, et al. Establishing an adjusted P-value threshold to control the family-wide type 1 error in genome wide association studies. *BMC Genomics* [Internet]. 2008 [cited 2024 Jul 12];9(1): Article 516. Available from: <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-9-516>. doi: 10.1186/1471-2164-9-516.
15. Bobbo T, Tiezzi F, Penasa M, et al. Short communication: Association analysis of diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) mutation on chromosome 14 for milk yield and composition traits, somatic cell score, and coagulation properties in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*. 2018;101(9):8087-91. doi: 10.3168/jds.2018-14533.
16. Martin P, Palhiere I, Maroteau C, et al. A genome scan for milk production traits in dairy goats reveals two new mutations in Dgat1 reducing milk fat content. *Scientific Reports* [Internet]. 2017 [cited 2024 Jul 28];7(1): Article 1872. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-017-02052-0>. doi: 10.1038/s41598-017-02052-0.
17. Sadovnikova A, Garcia SC, Hovey RC. A comparative review of the extrinsic and intrinsic factors regulating lactose synthesis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2021;26(2):197-215. doi: 10.1007/s10911-021-09491-6.
18. Garcia-Gamez E, Gutierrez-Gil B, Sahana G, et al. GWA analysis for milk production traits in dairy sheep and genetic support for a QTN influencing milk protein percentage in the LALBA gene. *PLoS One*. 2012;7(10):1115-26. doi: 10.1371/journal.pone.0047782.
19. Padilla P, Izquierdo M, Martinez-Trancon M, et al. Polymorphisms of alpha-lactalbumin, beta-lactoglobulin and prolactin genes are highly associated with milk composition traits in Spanish Merino sheep. *Livestock Science*. 2018;217:26-9. doi: 10.1016/j.livsci.2018.09.012.
20. Sallam AM. Effect of genetic polymorphisms in LALBA and Prolactin genes on milk traits in Barki ewes. *Small Ruminant Research*. 2023;226(4):226-41. doi: 10.1016/j.smallrumres.2023.107041.
21. Chacko Kaitholil SR, Mooney MH, Aubry A, et al. Insights into the influence of diet and genetics on feed efficiency and meat production in sheep. *Anim Genet*. 2024;55(1):20-46. doi: 10.1111/age.13383.
22. Zhang S, Zhang Y, Wei Y, et al. Effect of heat stress on growth performance, carcass characteristics, meat quality and rumen-muscle axis of Hu sheep. *Italian Journal of Animal Science*. 2023;23(1):87-100. doi: 10.1080/1828051X.2023.2284886.
23. Jia GX, Ma WJ, Wu ZB, et al. Single-cell transcriptomic characterization of sheep conceptus elongation and implantation. *Cell Rep* [Internet]. 2023 [cited 2024 Jul 28];42(8): Article e112860. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124723008719>. doi: 10.1016/j.celrep.2023.112860.
24. Tian Y, Yang X, Du J, et al. Differential methylation and transcriptome integration analysis identified differential methylation annotation genes and functional research related to hair follicle development in sheep. *Front Genet* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jul 28];12: Article e735827. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2021.735827/full>. doi: 10.3389/fgene.2021.735827.
25. Yu Y, Song X, Du L, et al. Molecular characterization of the sheep CIB1 gene. *Mol. Biol. Rep.* 2009;36:1799-809. doi: 10.1007/s11033-008-9383-4.
26. Mohammadabadi MR, Jafari AHD, Bordbar F. Molecular analysis of CIB4 gene and protein in Kermani sheep. *Braz. J. Med. Biol. Res* [Internet]. 2017 [cited 2024 Jul 23];50(11): Article e6177. Available from: <https://www.scielo.br/j/bjmr/a/KqFvFHqqWwbcHQjXQNZ6Xdz/?lang=en>. doi: 10.1590/1414-431X20176177.
27. Chao T, Ji Z, Hou L, et al. Sheep skeletal muscle transcriptome analysis reveals muscle growth regulatory lncRNAs. *Peer. J* [Internet]. 2018 [cited 2024 Jul 23];6: Article e4619. Available from: <https://peerj.com/articles/4619/>. doi: 10.7717/peerj.4619.
28. Esmaeili-Fard SM, Gholizadeh M, Hafezian SH, et al. Genes and pathways affecting sheep productivity traits: Genetic parameters, genome-wide association mapping, and pathway enrichment analysis. *Front Genet* [Internet]. 2021 [cited 2024 Jul 28];12: Article e710613. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/genetics/articles/10.3389/fgene.2021.710613/full>. doi: 10.3389/fgene.2021.710613.

Поступила в редакцию 18.08.2024 После доработки 04.09.2024 Принята к публикации 25.09.2024