

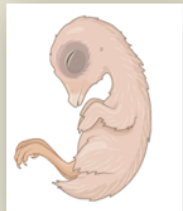


Международная научно-практическая конференция «Современные технологии в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных», посвященная 85-летию ВНИИГРЖ.

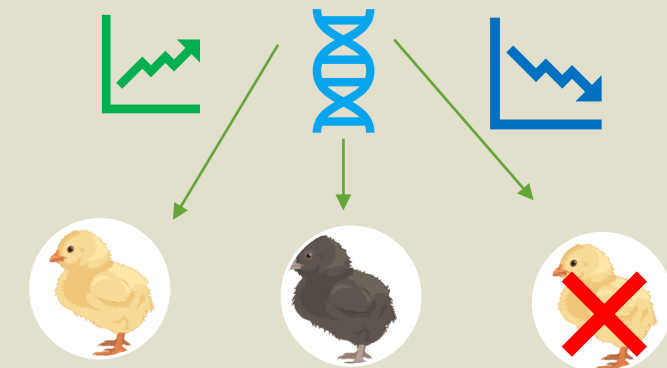
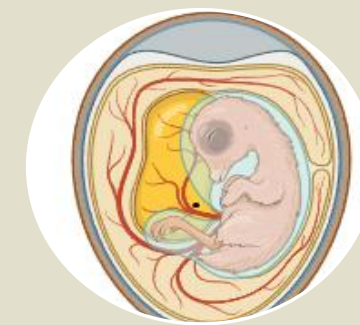
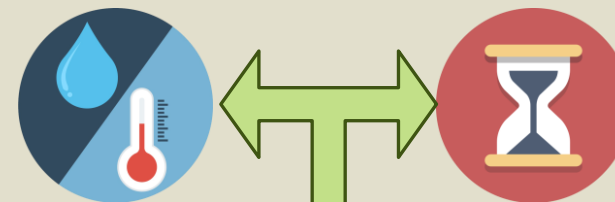
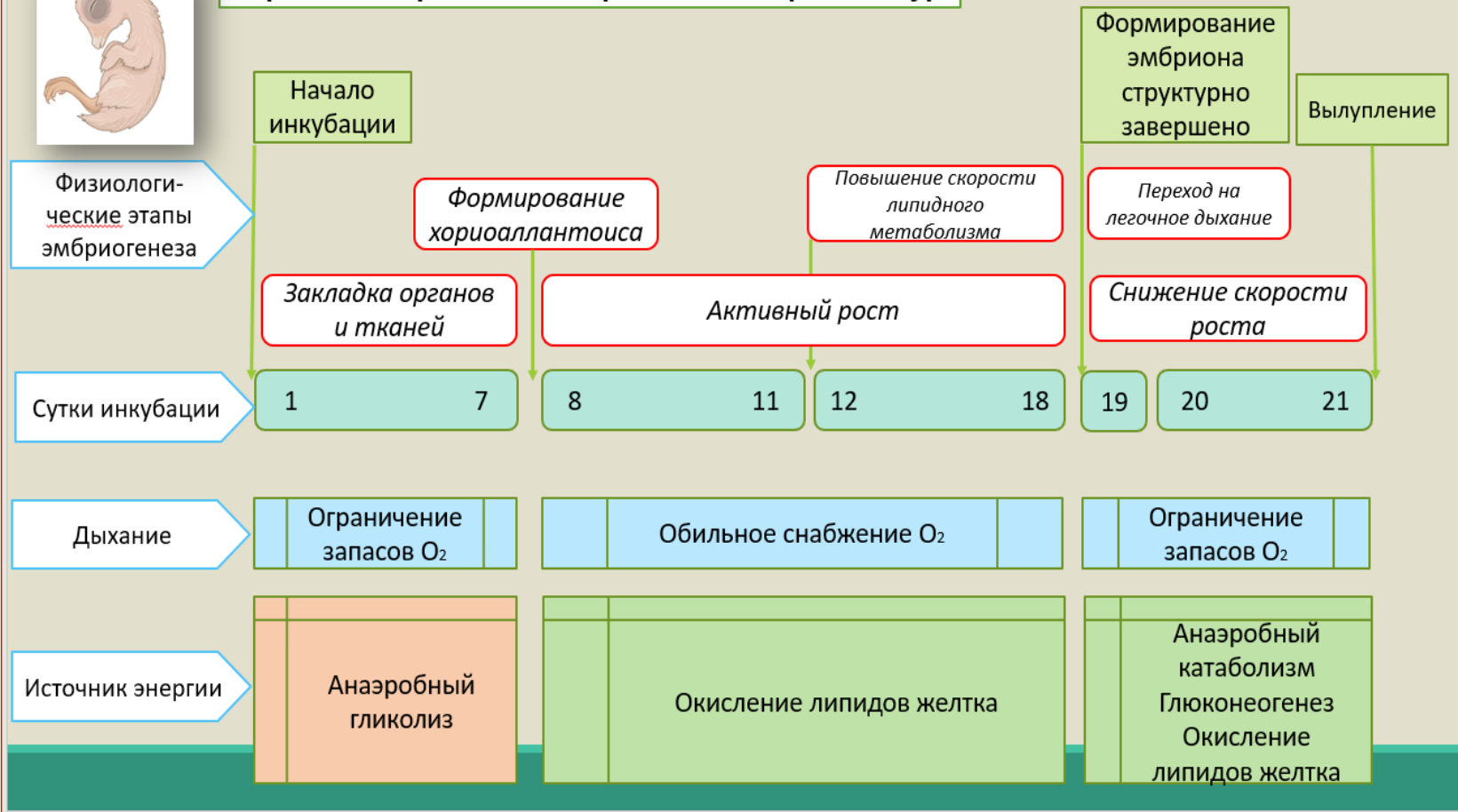
Уровень относительной экспрессии STK25 и miR-22-5p у *Gallus gallus domesticus* при дозированном воздействии холодового стресс-фактора в раннем онтогенезе

ПОЗОВНИКОВА МАРИНА ВЛАДИМИРОВНА

К.Б.Н., С.Н.С. ЛАБОРАТОРИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ ВНИИГРЖ



Периоды эмбрионального развития эмбрионов кур



Основной **целью** исследований было установить возможность управления процессами термоадаптации кур в раннем онтогенезе посредством дозированного низкотемпературного воздействия в чувствительный период эмбриогенеза, а также участие гена *STK25*, и miR-22-5p



12 генов в
RON-районах

Русская белоснежная Яичная

проводилась селекция кур на терморезистентность молодняка в условиях низких температур, а также на устойчивость птицы к неопластическим заболеваниям



Амрокс
Комбинированного типа
селекция на терморезистентность в ней не проводилась.

STK25 (Серин/треониновая киназа 25) – является важным регулятором эктопического накопления липидов, гомеостаза глюкозы и инсулина. Повышает уровень окисления липидов и стимулируемого инсулином поглощения глюкозы в скелетных мышцах. Участвует в аутофагии, клеточной полярности, клеточном апоптозе и клеточной миграции, активируя различные сигнальные пути.

секретируются клетками организма и содержатся во всех биологических жидкостях в составе стабильных белковых или липидных комплексов

Участвуют в самых разных сигнальных путях и клеточных процессах.

регулировать до 60% экспрессии генов на посттранскрипционном уровне.

видоспецифичны и/или тканеспецифичны

МикроРНК -
короткие
некодирующие
РНК длиной
около 22 п.н.

одна мРНК может быть мишенью для множества микроРНК, и их совместное участие определяет степень подавления синтеза белка.

Закодированы в интронах и экзонах генов. Транскрибируются из собственно генов-мишеней, других генов (40%) или межгенного пространства (60%)

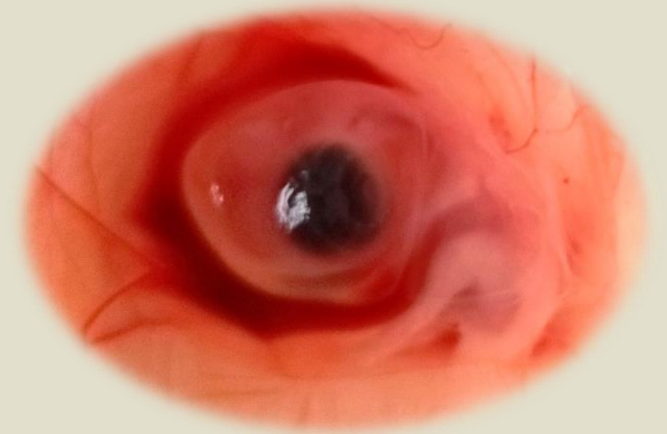
Биомаркеры



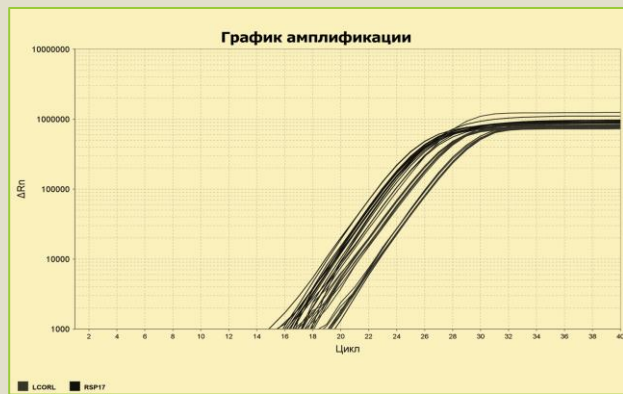
"РЭМИЛ-С"
(REMIL, Россия)



5 сутки
 $t=+16..18^{\circ}\text{C}$, 6 часов



7,5 сут
Отбор проб навески головы и тела



Анализ уровня экспрессии
гена *STK25* и *miR-22-5p*



14-е сутки
12-часовой голодной выдержки
охлаждение в течение 1 часа при $+7^{\circ}\text{C}$
Сыворотка крови; Ткани печени и грудных мышц



Неонатальные цыплята
Сыворотка крови
Ткани печени и грудных мышц

СХЕМА ИССЛЕДОВАНИЯ

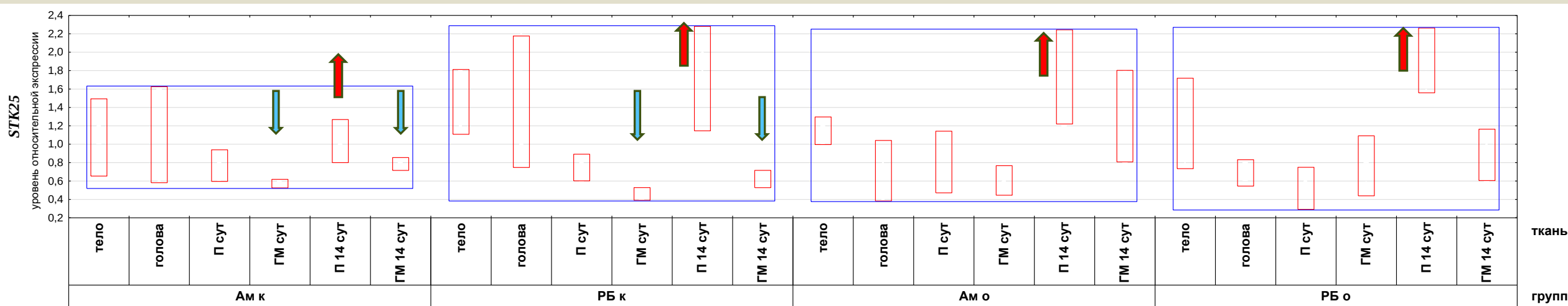


Рисунок 1. Профиль уровня экспрессии гена *STK25*

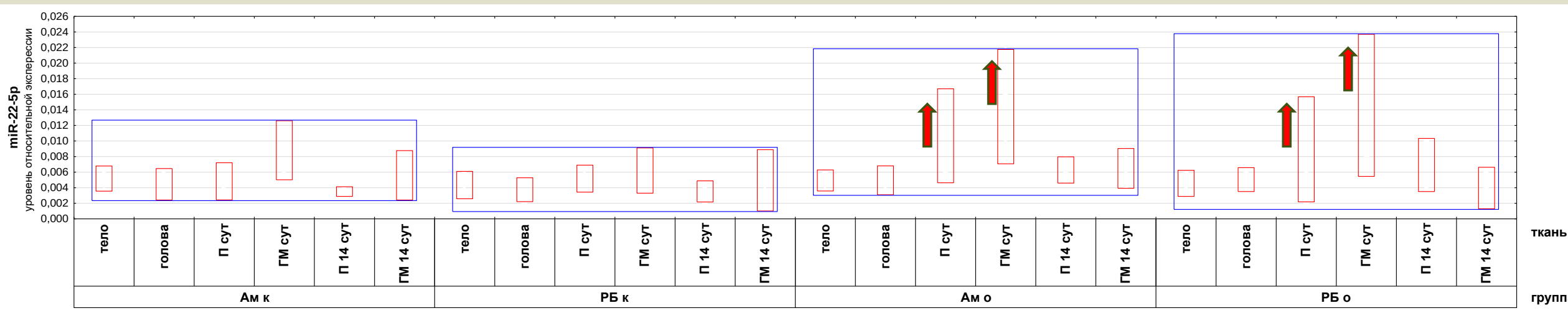
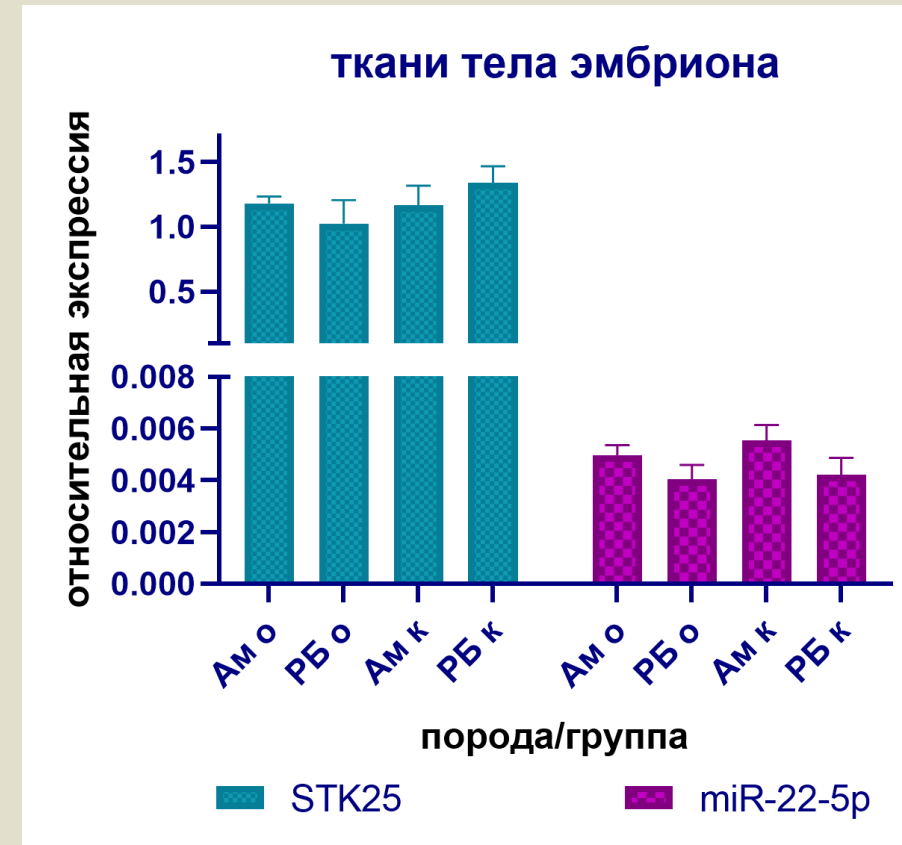
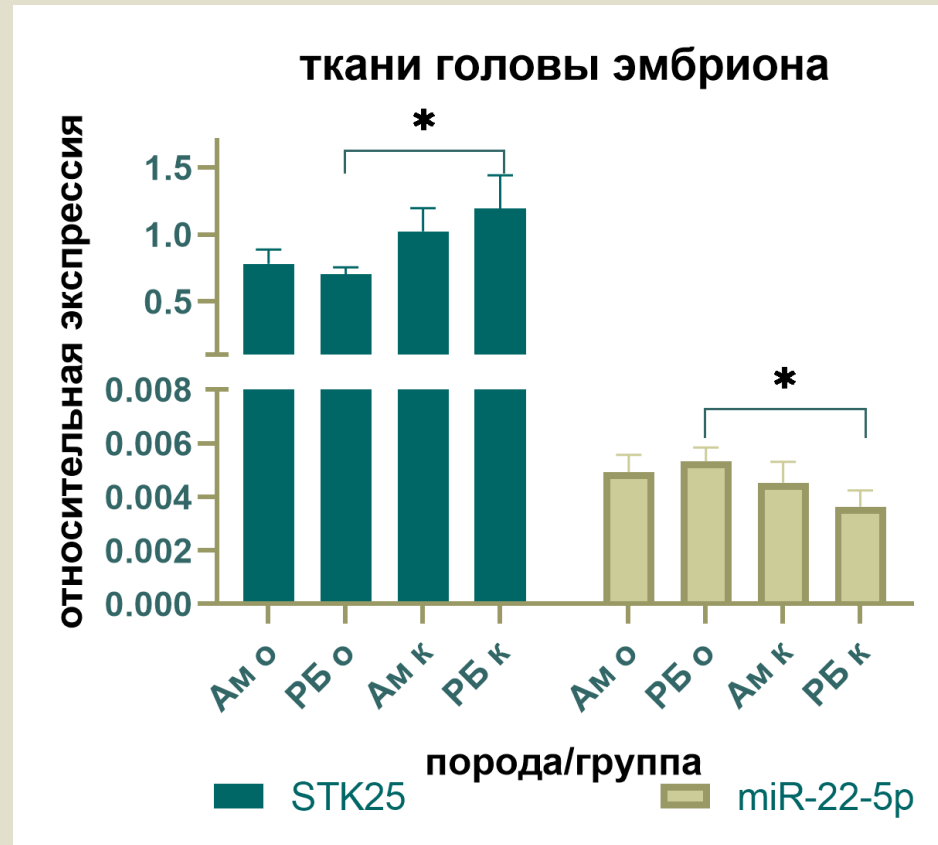


Рисунок 2. Профиль уровня экспрессии микроРНК miR-22-5p

Рисунок 3. Уровень экспрессии гена *STK25* и *miR-22-5p* в тканях эмбрионов кур

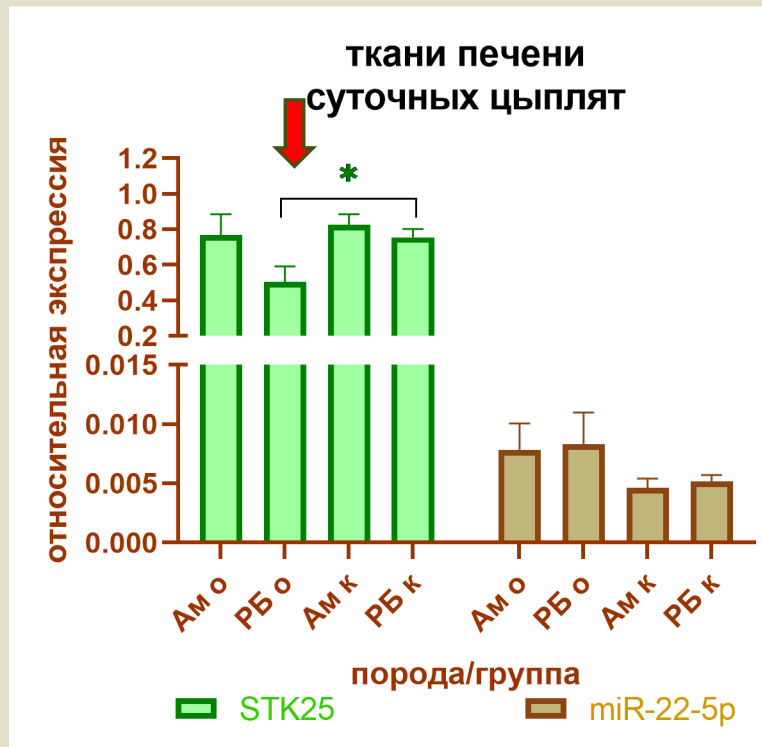
В тканях головы опытных групп эмбрионов кур уровень экспрессии гена *STK25* была ниже чем в контрольных, при этом для микроРНК *miR-22-5p* наблюдалась противоположная картина, что по-видимому связано с активным ростом и дифференцировкой тканей в ранний период эмбриогенеза кур.



* $p < 0,05$

Рисунок . Уровень экспрессии гена *STK25* и *miR-22-5p* в тканях неонатальных цыплят

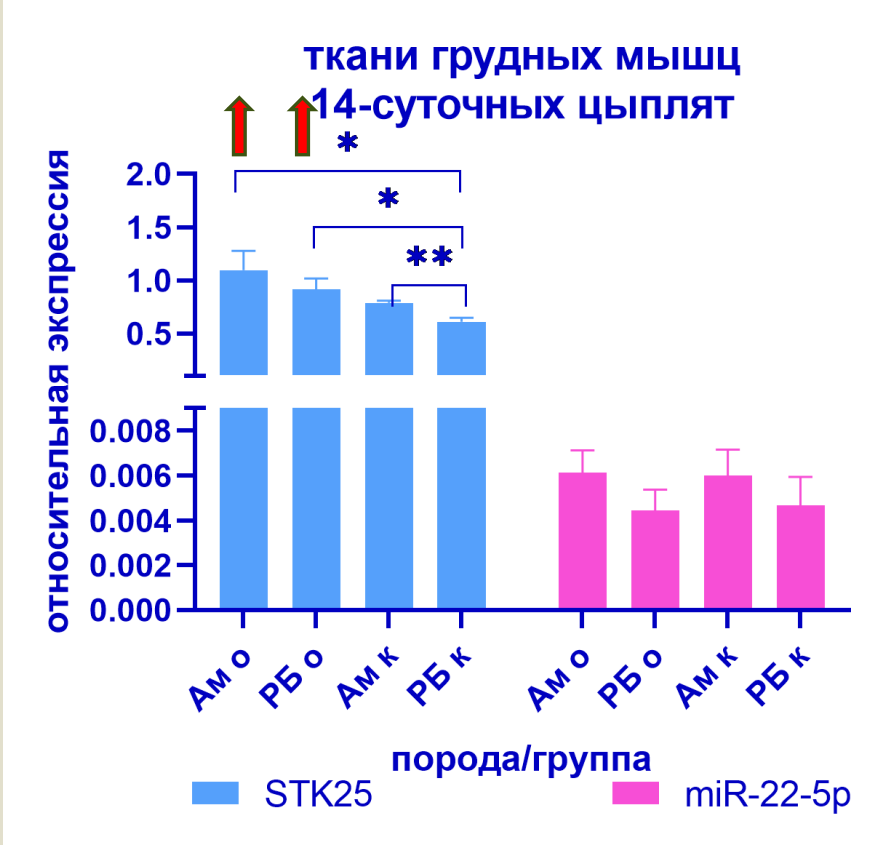
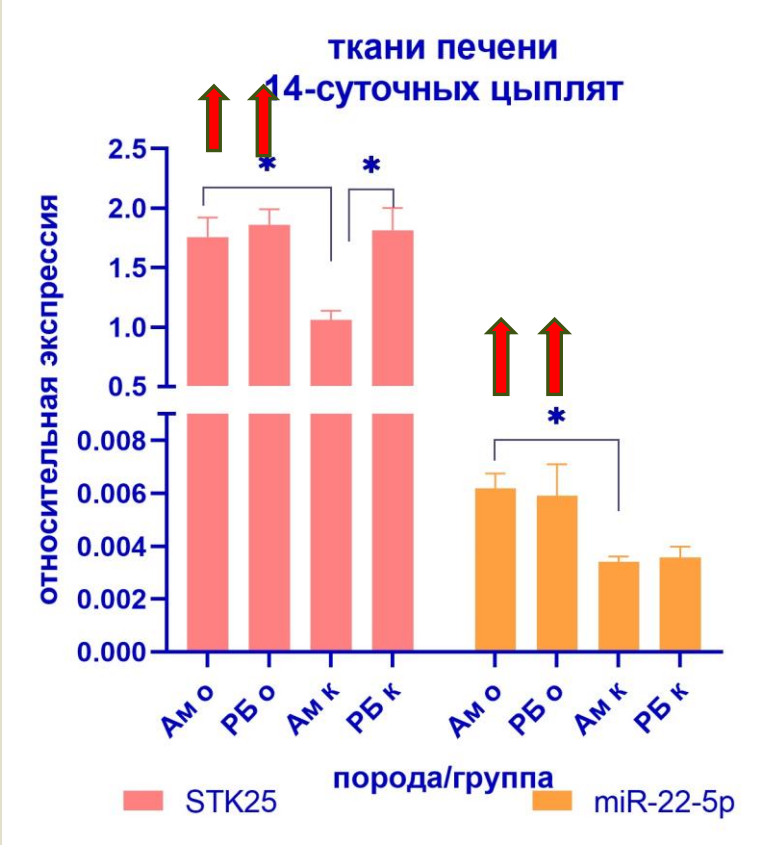
У неонатальных цыплят РБ опытной группы наблюдалась снижение уровня экспрессии гена *STK25* в печени и повышение в тканях грудных мышц, что может быть сопряженными со некоторым стрессом (нахождением в более холодной среде: 23°C в комнате против 37,3°C в инкубаторе). Уровень относительной экспрессии *miR-22-5p* был выше в опытных группах как в тканях печени так и грудных мышц.



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Рисунок 3. Уровень экспрессии гена *STK25* и *miR-22-5p* в тканях 14-суточных цыплят

У 14-суточных цыплят относительная экспрессия гена *STK25*, свидетельствует о повышении уровня окисления липидов. Уровень экспрессии в грудной мышце цыплят и печени опытной группы выше по сравнению с контролем. Предположительно, во время стрессового воздействия цыплята опытной группы для поддержания температуры тела активно задействовали процессы липолиза, характерные для несократительного термогенеза. Высокая активность *miR-22-5p* также была отмечена в тканях печени в опытных группах цыплят.



* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Таблица 3 – Биохимические показатели крови цыплят разного возраста анализируемых групп (n=10 в каждой группе)

Показатель	Группа			
	Контрольная		Опытная	
	Амрокс	Русская белоснежная	Амрокс	Русская белоснежная
Суточные цыплята на выводе				
Триглицериды, ммоль/л	2,2 ^a ± 0,3	1,5 ^b ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,2 ± 0,1
Глюкоза, ммоль/л	15,2 ± 0,4	14,3 ^a ± 0,4	14,2 ^a ± 0,5	12,8 ^b ± 0,4
Общий белок, г/л	41,9 ^a ± 1,9	29,4 ^c ± 3,6	31,1 ^c ± 3,1	28,9 ± 1,9
Креатинин, мкмоль/л	47,2 ± 3,7	30,5 ± 12,0	32,2 ± 8,0	37,5 ± 7,0
14-суточные цыплята после низкотемпературного воздействия				
Триглицериды, ммоль/л	2,6 ^a ± 0,2	0,7 ^c ± 0,1	1,7 ^{ce} ± 0,2	0,7 ^d ± 0,1
Глюкоза, ммоль/л	20,6 ^{ae} ± 0,6	17,6 ^d ± 0,3	15,3 ^c ± 1,7	15,1 ^b ± 0,9
Общий белок, г/л	32,3 ^a ± 1,4	26,9 ^{ce} ± 0,7	31,9 ± 1,2	31,9 ^d ± 1,0
Креатинин, мкмоль/л	29,5 ± 5,2	27,5 ± 3,9	33,0 ± 5,4	23,6 ± 4,8

Различия статистически достоверны при: ab, bd P<0,05, ac P<0,01, ed P<0,001.

Однократное дозированное воздействие сублетальных пониженных температур в чувствительный период эмбриогенеза изменило ориентацию адаптационного паттерна у цыплят опытных групп в сравнении с контрольными. Так, **неонатальные** цыплята амрокс контрольной группы имеют более высокий уровень содержания триглицеридов общего белка в крови. У суточных цыплят РБ, значения всех биохимических показателей крови были ниже, чем у цыплят амрокс. Цыплята опытной группы в большей степени израсходовали углеводные запасы организма, их обмен веществ уклонялся в сторону использования жиров в качестве основного источника энергии.

В 14 сут после вторичного воздействия стресс-фактора цыплята амрокс контрольной группы, которые для поддержания температуры тела активировали механизм глюконеогенеза, то есть синтеза глюкозы из жиров и белков. Косвенно об этом можно судить по высоким уровням триглицеридов и глюкозы в крови.

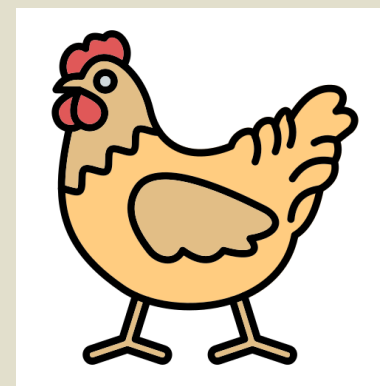
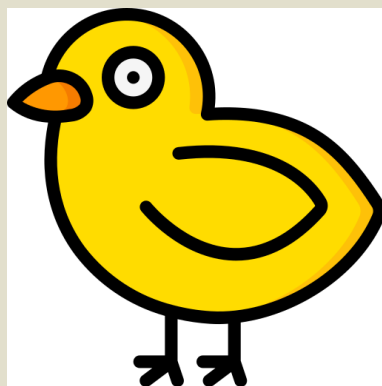
Заключение

Результаты наших исследований показали, что однократное воздействие низких температур в чувствительный период раннего эмбриогенеза способствует активации генетических механизмов адаптации к пониженным температурам окружающей среды, которые сохраняются до 14-суточного возраста цыплят и выражены в разной степени в зависимости от терморезистентности/термочувствительности. Установлено, что уровень относительной экспрессии гена *STK25*, изменяется в различных тканях органов эмбрионов и цыплят, однако наиболее значимые изменения его активности после повторного предъявления стресс-фактора наблюдалось в грудных мышцах 14 суточных цыплят. Полученные данные, включая биохимию крови, подтверждают вовлеченность гена *STK25* в процессы формирования механизмов терморегуляции кур, однако относительно *miR-22-5p* требуются дальнейшие исследования.

Благодарю !



Спасибо за внимание!



МАРИНА ПОЗОВНИКОВА
POZOVNIKOVA@GMAIL.COM