

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА LRP4 В ПОПУЛЯЦИЯХ БЕЛОРУССКОГО СКОТА

Спиридонова Е. С.¹, Симоненко В. П.¹, Ганджа А. И.¹,
Грибанова Ж. А.¹, Михаленко Е. Г.¹, Андриюшина М. И.¹,
Драгун Т. Ю.²

¹ – РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

г. Жодино, Республика Беларусь;

² – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Генетическое маркирование становится действенным инструментом в контроле и управлении рисками, обусловленными распространением генетических дефектов в популяциях племенных животных.

Одним из таких генетических дефектов является синдактилия, которая встречается у животных различных пород: голштинской, герефордской, абердин-ангусской и др. Однако наибольшая встречаемость отмечена среди голштинской породы. На 15 хромосоме была обнаружена область, соответствующая генетическому дефекту синдактилия. Мутация впервые была описана в 2006 г. [1] и представляет собой генетический аутосомно-рецессивный дефект крупного рогатого скота (OMIA:000963-9913). У животных-носителей гомозиготного генотипа наблюдается срастание копыт различной степени, прежде всего, на передних конечностях, из-за чего изменяется походка. Синдактилия не является летальным дефектом, но очевидно, что ни одно из выявленных животных-носителей данного дефекта не может быть отобрано в качестве кандидата для геномной селекции. Причиной дефекта является мутация (замена) в гене LRP4, кодирующем белок 4, связанный с липопротеинами низкой плотности. Активный искусственный отбор в пользу гетерозигот связывают с большей молочной продуктивностью животных, являющихся носителями синдактилии.

Исследования проводились в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». В качестве биопроб использовали образцы ушной ткани и спермы животных голштинской популяции молочного скота отечественной селекции племенных хозяйств республики в количестве 69 голов, а также абердин-ангусской породы в количестве 16 голов и герефордской породы в количестве 15 голов. Протестированные животные в количестве 100 голов были разбиты на 3 группы: быки, бычки и быкопроизводящие коровы (таблица).

Таблица – Протестированные животные по половозрастному признаку

Название породы	Быки	Бычки	Быкопроизводящие коровы
Голштинская	33	21	15
Абердин-ангусская	2	7	7
Герефордская	-	8	7

Для выделения геномной ДНК использовался перхлоратный метод. Все основные растворы для выделения ДНК, амплификации и рестрикции готовились по Т. Маниатису [2] и др.

Подбор условий для эффективного проведения ПЦР включал в себя: подбор специфичных олигонуклеотидных праймеров, оценку стабильности буферной системы, оптимизацию процесса амплификации (по температурно-кинетическому профилю реакции) и режима визуализации.

В ходе исследований были разработаны два аллель-специфичных прямых праймера для CG-дикого типа (F-WT) и AT-мутантного аллеля (F-M). Обратный праймер был сконструирован как общий праймер в downstream последовательности. Были подготовлены две отдельные реакции ПЦР в конечном объеме 25 мкл в двух пробирках, каждая из которых содержала отдельный прямой праймер вместе с другими общими ингредиентами.

В состав реакционной смеси 25 мкл для ПЦР входили: 10x буфер для ПЦР; 50 mM MgCl₂; смесь dNTP 2 mM; 5 ед. акт./мкл ArtStart ДНК-полимеразы; по 25 пМ каждого праймера; H₂O, к которой добавлялось по 100 нг геномной ДНК.

Детекцию результатов амплификации фрагментов гена LRP4 осуществляли электрофоретическим методом в агарозном геле с последующей визуализацией на трансиллюминаторе в проходящем УФ-свете с длиной волны 260 нм при помощи компьютерной видеосистемы. Для оценки результатов проведения ПЦР использовали 2-3 % гель.

Эффективность метода с выбранными температурно-кинетическими параметрами ПЦР составила 95-98 %. Животные-носители Mulefoot среди протестированных животных в количестве 100 голов не идентифицированы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Identification of a doublet missense substitution in the bovine LRP4 gene as a candidate causal mutation for syndactyly in Holstein cattle / A. Duchesne [et al.] // Genomics. – 2006. – Vol. 88(5). – P. 610-621.
2. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сэмбрук. – Москва: Мир, 1984. – 480 с.