

АДАПТАЦИЯ МЕТОДИКИ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНУ МАННОЗА-СВЯЗЫВАЮЩЕГО ЛЕКТИНА

Ситько А. А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

В развитии отрасли молочного скотоводства одним из актуальных направлений в селекции крупного рогатого скота является изучение ассоциации генетических маркеров с хозяйственно полезными признаками и резистентностью животных к заболеваниям различной этиологии [4].

В настоящее время учеными выявлена возможность определения генетической предрасположенности крупного рогатого скота к маститу с использованием полиморфизма генов главного комплекса гистосовместимости (МНС генов), в т. ч. и по гену манноза-связывающего лектина (MBL1) [1].

Под влиянием цитокинов воспалительного процесса в печени происходит процесс выработки белка манноза-связывающего лектина, при этом, попадая в кровь, белок становится частью механизма антиген-специфического иммунитета. Данный белок, кодируемый геном MBL1, может служить молекулярным маркером устойчивости коров к маститу [2, 3].

Целью работы явилась адаптация методики определения генотипов по гену манноза-связывающего лектина (MBL1) у крупного рогатого скота. Исследования проводились в отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» учреждения образования «Гродненский государственный аграрный университет». Объектом исследований являлся генетический материал (ушной выщип) крупного рогатого скота, содержащихся в СПК имени И. П. Сенько Гродненского района.

Определение генотипов по гену MBL1 проводили при помощи метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДРФ). Для выделения ядерной ДНК использовали перхлоратный метод. При проведении амплификации участка гена MBL1 применяли праймеры:

MBL1f: 5/-GTGGTGGCAAATGTTGGCTAAAC-3/ (23 н.)

MBL1r: 5/-TGGCTCTCCCTTTTCTCCCTT-3/ (21 н.).

Режим ПЦР-программы включал в себя следующие стадии: «горячий старт» при 94 °С в течение 5 мин, далее 35 циклов, включающих денатурацию при 94 °С – 30 с, отжиг праймеров при 62°С – 45 с, синтез при температуре 72 °С – 45 с; в завершение элонгация при 72 °С в течение 5 мин.

Для проведения амплификации по гену манноза-связывающего лектина реакционная смесь готовилась в объеме 25 мкл и включала следующие компоненты: 1,5 мкл буфера, 0,5 мкл MgCl₂, 1 мкл dNTP's, 0,5 мкл каждого праймера, 0,5 мкл Taq-полимеразы, 19,5 мкл H₂O, 100-200 нг/мкл геномной ДНК.

Детекция результатов амплификации проводилась в 2%-м агарозном геле (при напряжении 120 В). Длина продукта амплификации составила 255 п. о. Для определения аллельных вариантов гена манноза-связывающего лектина применялась эндонуклеаза HaeIII с сайтом рестрикции GG↑CC, CC↓GG. В течение 16 ч проводилась рестрикция исследуемых проб при температуре 37 °С.

В 3%-м агарозном геле в TBE буфере с использованием бромистого этидия при напряжении 130 В в УФ-свете в системе геледокументирования Gel Doc RX+ (BIORAD) при расщеплении продукта амплификации с помощью эндонуклеазы HaeIII были выявлены следующие генотипы: MBL1^{TT} – 255 п. н., MBL1^{CC} – 178,77 п. н. и MBL1^{TC} – 255, 178, 77 п. н.

Адаптация методики генотипирования крупного рогатого скота по гену манноза-связывающего лектина (MBL1) позволит определять генотип животных и проводить селекцию на увеличение частоты встречаемости желательного аллеля с целью создания стад, устойчивых к маститу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Муханина, Е. Н. Последние достижения в области генетической устойчивости к маститу крупного рогатого скота / Е. Н. Муханина // Актуальные проблемы аграрной науки Республики Татарстан: материалы Республиканской научно-практической конференции (28 июня 2018 г., г. Казань). – Казань: Издательство Казанского ГАУ. – 2018. – С. 19-25.
2. Шамсиева, Л. В. Исследование полиморфизма гена MBL1 у коров голштинской породы методом пцр-пдрф анализа для определения устойчивости к маститам / Л. В. Шамсиева, Г. Р. Юсупова // Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны: сборник материалов международной научной конференции студентов, аспирантов, молодых ученых (Санкт-Петербург, 2016) / Учреждение образования «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, 2016. – С. 232-233.
3. Association analysis of MBL1 gene SNPs, genotype and haplotypes with clinical mastitis in murrh buffaloes/ S. A. Shergoju and [et al.] // Journal of Experimental Agriculture International. – 2021. – Vol. 43 (6). – P. 35-44.
4. Genetics of resistance to clinical mastitis in cows: a review / O. M. Fedota [et al.] // Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety. – 2015. – Vol.1, iss.4. – P. 22-27.