

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНУ DGAT1

Манцевич Е. А., Епишко О. А.

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

Для Республики Беларусь высокоразвитое животноводство является основой для обеспечения продовольственной безопасности страны. Основными ресурсами в обеспечении экономической эффективности сельскохозяйственной отрасли, производства продуктов животноводства наряду с улучшением кормовой базы и созданием прогрессивных технологий содержания, является увеличение продуктивных качеств пород животных, повышение генетического потенциала и рациональное его использование. Маркерная селекция является одним из основных способов достижения этой цели [1].

Содержание жира является одной из основных характеристик молока и селекция крупного рогатого скота в основном направлена на повышение содержания этого показателя, т. к. коэффициент наследования содержания жира в молоке отмечается значительной вариабельностью, это может значительно влиять на традиционные методы селекции [2]. Для совершенствования скота наиболее эффективно использование ДНК-маркеров в качестве инструмента интегрированной генетической системы, одним из таких является диацилглицерол О-ацилтралсфераза1 (DGAT1), ассоциированным с содержанием жира в молоке [3].

Таким образом, целью наших исследований является разработка системы анализа гена DGAT1 у крупного рогатого скота молекулярно-генетическими методами.

Исследования проводились на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет». В качестве объекта исследований использовали крупный рогатый скот черно-пестрой породы, содержащийся в СПК им. Деньщикова Гродненской области. Для изучения полиморфизма гена DGAT1 провели генотипирование животных по адаптированной методике с некоторыми изменениями и модификациями методом ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестриционных фрагментов) анализа.

В качестве материала для исследований использовали биологический материал в виде эпителиальной ткани (ушной выщип). Выделение

нуклеиновых кислот проводили с помощью перхлоратного метода.

Для проведения амплификации гена DGAT1 использовали праймеры:

DGAT1 – F: 5' GCA CCA TCC TCT TCC TCA AG 3',

DGAT1 – R: 5' GGA AGC GCT TTC GGA TG 3'.

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл., которая включает в себя 2,5 ПЦР буфер 10-х, 2,5 мМ MgCl₂, dNTP 2,0 мМ, 25 пМ каждого праймера, 1 е. а. Таг-полимеразы и H₂O до 20 мкл.

Режим проведения ПЦР для гена DGAT1: «Горячий старт» – 4 мин при 94⁰С, 30 циклов: денатурация – 1 мин при 94⁰С, отжиг – 1 мин при 57⁰С, синтез – 1 мин при 72⁰С, достройка – 4 мин при 72⁰С. Продукт амплификации разделяли в 2% агарозном геле в течение 50 мин, используя напряжение 120V. Длина амплифицированного фрагмента 411 п. н.

Для анализа аллельных вариантов гена DGAT1 продукт амплификации обрабатывали рестриктазой AcoI. Рестрикцию проводили в термостате на протяжении 3 ч при температуре 37⁰С. Разделение продуктов рестрикции проводили в 3% агарозном геле. При расщеплении продуктов амплификации гена DGAT1 распознаются следующие генотипы: КК – 203/208 п. н., АК – 203/208/411 п. н., АА – 411 п. н.

В результате проведенных исследований адаптирована методика определения полиморфизма гена DGAT1 методом ПЦР-ПДРФ-анализа. При расщеплении фрагментов ПЦР с помощью эндонуклеазы установлено три генотипа: DGAT1 КК (предпочтителен – более высокое содержание жира в молоке), DGAT1 АК, DGAT1 АА (менее желателен при производстве молока). Дальнейшие исследования ориентированы на изучение полиморфизма гена DGAT1 и его связь с молочной продуктивностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амерханов, Х. Производство говядины и пути его увеличения в России / Х. Амерханов // Молоч. и мясн. скотоводство. – 2003. – № 6. – С. 3-10.
2. Петухов, В. Л. Генетические основы селекции животных: учебн. / В. Л. Петухов, Л. К. Эрнст, И. И. Гудилин и др.; ред. В. Л. Петухова и И. И. Гудилина. – М.: Агропромиздат, 1989. – С. 448.
3. Thaller, G. DGAT1, a new position and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle / G. Thaller, C. Kuhn, A. Winter с соавт. // Anim Genet. – 2003. – Vol. 34 (5). – P. 354-357.