

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА CAST У ОВЕЦ**

**Чебуранова Е. С.<sup>1</sup>, Епишко О. А.<sup>1</sup>, Al-Saedi Raad Raheem Tolee<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь;

<sup>2</sup> – УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»

г. Гродно, Республика Беларусь

В последние годы был достигнут значительный прогресс в животноводстве Республики Беларусь. Такие показатели, как влагоудерживающая способность, содержание и распределение жира, цвет, нежность и текстура являются одними из ключевых факторов, влияющих на показатели качества в мясе. Качество мяса является важным экономическим показателем и обладает количественной характеристикой, которая контролируется многими генами. Научные открытия в молекулярной генетике внесли значительный вклад в поиски генов и маркеров, ответственных за качество мяса [1, 2].

Существует много факторов, влияющих на нежность мяса, таких как размножение, генетический состав, белковый состав мышечных волокон до и после убоя. Генетические исследования факторов, влияющих на степень вязкости мяса, показали, что ген кальпаSTATIN (CAST) является важным маркером, ответственным за качественные показатели мяса. Ген CAST расположен на пятой хромосоме овец и оказывает существенное влияние на нежность мяса, ингибируя кальпаины в посмертном процессе [3].

Таким образом, целью наших исследований является разработка методики, позволяющей изучить и идентифицировать аллельные варианты гена CAST у овец на молекулярно-генетическом уровне.

Исследования проводились на базе отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет». В качестве объекта исследований использовали овец пород Иль-де-Франс, Тексель и Суффолк, разводимых в ИООО «ИстернШип» Минской области, КСУП «Хвиневичы» Гродненской области и КФХ «Виллия-Агро» Брестской области соответственно (n=100).

Полиморфизм гена CAST у овец изучался с помощью полимеразной цепной реакции и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ-анализ).

В качестве материала для исследований использовали биологиче-

ский материал в виде эпителиальной ткани (ушной выщип). Выделение нуклеиновых кислот проводили перхлоратным методом с двойной очисткой. Концентрация выделенных нуклеиновых кислот регистрировалась с помощью спектронанофотометра Implen P330.

Аmplификацию гена CAST проводили с помощью следующей последовательности праймеров:

CAST – F: 5' TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG 3',

CAST – R: 5' GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC 3'.

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, которая включает в себя 10-х ПЦР буфер, 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, dNTP 2,0 mM, 25 пМ каждого праймера, 1 е. а. Таг-полимеразы, 50-100 нг/мкл выделенной ДНК и H<sub>2</sub>O до 25 мкл.

ПЦР-режим для амплификации гена CAST: «Горячий старт» – 4 минут при 95<sup>0</sup>С, 35 циклов: денатурация – 45 с при 94<sup>0</sup>С, отжиг – 45 с при 62<sup>0</sup>С, синтез – 45 с при 72<sup>0</sup>С, достройка – 7 мин при 72<sup>0</sup>С. Продукт амплификации разделяли в 2% агарозном геле в течение 50 мин, используя напряжение 110В. Длина амплифицированного фрагмента – 622 п. н.

Полученные при проведении амплификации фрагменты подвергали действию рестриктазы Msp I при температуре 37<sup>0</sup>С в течение 12-16 часов. Визуализацию полученных результатов проводили в 3% агарозном геле при напряжении 130В с использованием геледокументирующей системы GelDoc XR+, Bio-Rad. При расщеплении продуктов амплификации гена CAST распознаются следующие генотипы: MM – 336/286 п. н., NN – 622 п. н., MN – 622/336/286 п. н.

В результате исследований разработана и адаптирована методика определения полиморфизма гена CAST методом ПЦР-ПДРФ-анализа. При проведении рестрикции идентифицируются три генотипа: CAST<sup>MM</sup>, CAST<sup>MN</sup>, CAST<sup>NN</sup> (предпочтителен). Дальнейшие исследования ориентированы на изучение полиморфизма гена CAST и его связь с мясной продуктивностью.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дейкин А. В., Селионова М. И., Криворучко А. Ю., Коваленко Д. В., Трухачев В. И. Генетические маркеры в мясном овцеводстве. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016; DOI 10.18699/VJ16.139.
2. Selçuk KAPLAN. Determination of Calpastatin Gene Polymorphism in Kivircik Crossbred Ewes by PCR-RFLP Method / Selçuk KAPLAN, Sertaç ATALAY // Selçuk J Agr Food Sci, (2017) 31 (3), 147-150.
3. Palmer B. R., Roberts N., Hickford J. G., Bickerstaffe R. Rapid communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene // J. Anim. Sci. 1998;76(5):1499-1500.