

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА 11 МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

Н.А. Глинская, О.А. Епишко

Полесский государственный университет, dnateh@mail.ru

Повышение эффективности контроля происхождения крупного рогатого скота (КРС) - одна из важнейших задач животноводства. На сегодняшний день единственным наиболее точным способом контроля достоверности происхождения и идентификации племенного поголовья является генетическое тестирование по микросателлитным локусам с последующим определением полиморфизма исследуемых популяций. Проведение мероприятий по генетической экспертизе племенной продукции необходимо также для выявления животных с наличием генетических аномалий и в целях сохранения ценных пород сельскохозяйственных животных [1, 3, 4].

Для проведения генетической экспертизы КРС использовались микросателлитные маркеры. Микросателлиты имеют ряд преимуществ перед другими маркирующими системами: они множественны, высокополиморфны, широко распространены по всем хромосомам, легко выявляются и идентифицируются [2, 5].

На базе Полесского государственного университета в научно-исследовательской лаборатории лонгитудинальных исследований было проведено генетическое тестирование 68 животных КРС черно-пестрой породы, разводимых в РСУП «Шикотовичи» и ГУСП ПЗ «Муховец» по стандартной панели, предложенной фирмой Applied Biosystems, состоящей из 11 микросателлитных локусов: TGLA53, TGLA227, ETH3, SPS115, BM2113, TGLA122, BM1824, INRA023, ETH10, TGLA126, ETH225.

Полимеразная цепная реакция была проведена при помощи набора реагентов StockMarks for the Bovine Kit» на амплификаторе *T1Professional basic* в объеме 15 мкл в смеси, содержащей: 1 мкл геномной ДНК; Stock Marks буфер – 3 мкл; dNTP mix – 4 мкл; Tag-полимераза Gold – 0,5 мкл; primer mix – 5,5 мкл; ионизированная вода - 1 мкл. Режим амплификации состоял из следующих шагов: (1) 95°C – 10 мин, (2) 94°C – 45сек; (3) 61°C – 45 сек; (4) 72°C – 60 сек; (5) 72°C – 60 мин; (6) 25°C – 2 часа; (7) 4°C – hold. Шаги 2-4 были замкнуты в цикл повторяющиеся 31 раз.

Анализ амплифицированных участков ДНК каждого микросателлитного локуса определяли путем разделения продуктов ПЦР на генетическом анализаторе «ABI Prism 3130».

Определение длин выявленных генотипов ДНК в исследуемых локусах проводили при помощи программы GenneMapper Software Version 4.0.

В группе исследованных животных (n=68) наибольшее количество аллельных вариантов обнаружено в локусах TGLA53 и TGLA227.

Согласно результатам ДНК-диагностики, полиморфизм микросателлитного локуса TGLA227 представлен 22 аллелями длиной от 64 до 115 п.н. Чаще встречаются аллели длиной 101, 83, и 93 п.н. По локусу TGLA53 размером 147-197 п.н. обнаружено 23 аллеля. Наибольшее распространение имели аллельные варианты 161, 163 и 158 п.н. Высокий уровень полиморфизма изученных

локусов и большое количество аллельных вариантов явились основой формирования значительного числа генотипов: 40 и 39 соответственно.

Наименьшее количество аллельных вариантов обнаружено в локусах ETH3 и SPS115. Выявлено 12 аллелей локуса ETH3 (с минимальным размером 90 п.н. и максимальным – 135 п.н.) и 12 аллелей локуса SPS115 (размером от 235 п.н. до 265 п.н.).

В исследованной популяции животных по локусам BM2113, TGLA122, BM1824, INRA023, ETH10, TGLA126, ETH225 обнаружено 20, 18, 17, 16, 14, 13 и 13 аллелей, соответственно.

Была проведена оценка гетерозиготности исследованных животных, т.к. она является важным параметром в вопросах динамики генетического состояния популяций. Гетерозиготность, присущее всякому гибридному организму состояние, при котором его гомологичные хромосомы несут разные формы (аллели) того или иного гена или различаются по взаиморасположению генов. Она служит мерой генетической изменчивости популяции и определяется как средняя частота гетерозиготных особей по определенным локусам.

В наших исследованиях в локусах TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, TGLA122, INRA23, ETH3, ETH225, BM1824 значения фактической гетерозиготности и теоретически ожидаемой практически не отличались. В локусах TGLA126 и SPS115 теоретически ожидаемая гетерозиготность превысила фактическую на 30%. Возможно, это связано с тем, что данные локусы менее информативны в качестве маркеров. Однако средняя гетерозиготность по 11 микросателлитным локусам исследованных образцов ДНК крупного рогатого скота черно-пестрой породы ГУСП ПЗ «Муховец» и РСУП «Шикотовичи» составила 85%. Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица. – Уровень аллельных и полиморфных вариантов изучаемых локусов

ЛОКУСЫ											
показатели	ETH 3	INRA 23	SPS 115	TGLA 122	BM 1824	BM 2113	ETH 10	ETH 225	TGLA 126	TGLA 227	TGLA 53
количество аллелей	12	16	12	18	17	20	14	13	13	22	23
фактическая гетерозиготность, %	96	88	66	90	89	95	81	89	65	98	77
ожидаемая гетерозиготность, %	94	96	95	95	95	96	96	95	94	97	94
Средняя фактическая гетерозиготность в популяции, %											85
Средняя ожидаемая гетерозиготность в популяции, %											95

Таким образом, такой высокий показатель гетерозиготности позволяет считать данные полиморфные локусы генетическими маркерами, пригодными для оценки генетического разнообразия животных и достоверности их происхождения с высокой точностью, характеристики аллельного разнообразия и частот генотипов. Высокий полиморфизм используемых локусов позволяет эффективно проводить контроль по одному из родителей, что зачастую было невозможно при использовании генетических систем групп крови, белков и ферментов. Возможно, в будущем, эти маркеры будут использованы в поиске ассоциации с хозяйственно-полезными признаками.

Литература:

1. С. Г. Шумкина, Л.А. Калашникова, Ю.Б. Медведев. Полиморфизм крупного рогатого скота красно-пестрой породы по микросателлитным локусам ДНК.
2. Georges M.D., Nielsen M., Mackinnon M. et al. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*. 1995, 139: 907-920.
3. J. Perret, Y-C. Scia, R. Fries et al. A polymorphic satellite sequence maps to the pericentric region of the bovine Y chromosome. *Genomics*, 1990, 6: 482-490.
4. Soller M. Genetic mapping of the Bovine Genome Using Deoxyribonucleic Acid-Level Markers to Identify Loci Affecting Quantitative Traits of Economic Importance. *J. Dairy Sci.*, 1990, 73: 2682-2646.
5. Vilkki H.J., Koning D.J., Elo K. et al. Multiple marker mapping of quantitative trait loci of Finnish dairy cattle by regression. *J. Dairy Sci.*, 1997, 80, 1: 198-204.

Williams J., Usha A.P., Urquhart B.G., Kirloy M. Verification of identity of bovine semen using DNA microsatellite markers. Vet. Rec. 1997, 140: 446-449.

of human (dC-dA)_n-(dc-dt)_n polymorphism. Genomics. 1990,7:524-530.

5. Weber J.L. and P.E. May. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. 1989 Am. J. Human Genetics, 44: 388.