

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА В ПОПУЛЯЦИИ БЫКОВ
ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ РСУП «БРЕСТПЛЕМПРЕДПРИЯТИЕ»***В. Э. Гулевич, 3 курс**Научный руководитель – Т. И. Епишко, д. с/х н., доцент
Полесский государственный университет*

Возрастающее значение производства белковой продукции в Республике Беларусь диктует необходимость использования современных генетических методов с целью повышения интенсивности и эффективности селекции, направленной на повышение содержания белка в молоке и улучшения его технологических качеств.

В исследованиях ряда авторов показано, что белковомолочность находится в зависимости не только от породы и наследственного влияния быка производителя, но и от полиморфизма белков молока.

Каппа-казеин – один из немногих известных генов, полиморфизм которого однозначно связан с признаками белковомолочности и технологическими свойствами молока: лучшими коагуляционными свойствами, а также более высоким выходом белковомолочных продуктов [2, с. 17-23; 3, с. 2053-2062].

Было установлено, что животные белорусской черно-пестрой породы с генотипом $CSN3^{BB}$ по белковомолочности превосходят особей с генотипами $CSN3^{AA}$ и $CSN3^{AB}$ по первой лактации на 0,10 % и 0,05 %, соответственно; по второй лактации – на 0,1 % [1, с. 71-75].

Зарубежная практика показывает, что высококачественные твердые сыры могут быть изготовлены только из молока, полученного от коров, имеющих в геноме аллель В каппа-казеина ($CSN3^B$) [2, с. 17-23; 3, с. 2053-2062].

Авторами многочисленных исследований предлагается генотипы каппа-казеина использовать в качестве генетических маркеров, позволяющих оценить продуктивные возможности животных и путем отбора и подбора родительских пар закреплять наиболее ценные из них в следующих поколениях.

Ранее была исследована генетическая структура популяции быков-производителей РСУП «Брестплемпредприятия» численностью 160 особей по полиморфным вариантам гена $CSN3$. В ре-

в результате тестирования было выявлено наличие полиморфизма по гену CSN3, представленного двумя аллелями: CSN3^A и CSN3^B. Среди протестированных быков-производителей частота встречаемости аллеля CSN3^A составила 0,834, CSN3^B – 0,166. Установлено, что среди протестированных быков-производителей 29,4% животных имело гетерозиготный генотип CSN3^{AB}, доля гомозиготных особей CSN3^{AA} на составила 68,8% и 1,8% животных имели генотип CSN3^{BB}. Полученные данные свидетельствуют о преобладании в популяции особей с генотипом CSN3^{AA}, что является результатом отсутствия искусственного отбора на повышение концентрации аллеля CSN3^B, детерминирующего повышенную белково-молочность [4, с.65-66].

В связи с чем, целью наших исследований было изучение генетической структуры популяции быков - производителей РСУП «Брестплемпредприятие» для определения генетических ресурсов, которыми располагает молочный скот Припятского Полесья.

На базе УО «Полесский государственный университет» в научно-исследовательской лаборатории промышленной биотехнологии было протестировано 45 животных крупного рогатого скота черно-пестрой породы РСУП «Брестплемпредприятие» по гену каппа-казеина.

Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом. Концентрацию ДНК оценивали на спектрофотометре Nanodrop 1000 (при длине волны 260 нм и 280 нм) (рисунок 1).

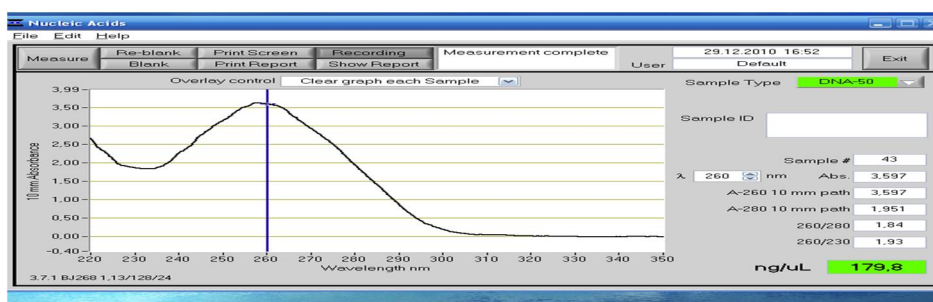


Рисунок 1 – Результат определения концентрации ДНК на спектрофотометре Nanodrop 1000

Для проведения амплификации использовали ДНК концентрацией 150-250 нг/мкл.

Синтез фрагмента гена CSN3 проводили на амплификаторе типа TProfessional basic с использованием праймеров:

CAS1: 5' –ATA GCC AAA TAT ATC CCA ATT CAG T- 3'

CAS2: 5'– TTT ATT AAT AAG TCC ATG AAT CTT G -3'

Для проведения амплификации использовали ПЦР - программу: «горячий старт» - 5 мин при 93⁰ С; 35 циклов: денатурация - 1 мин при 93⁰ С, отжиг - 1 мин при 60⁰ С, синтез - 1 мин при 72⁰ С; достройка – 5 мин при 72⁰ С. Амплифицированные фрагменты гена CSN3, обработанные рестриктазой HindIII, разрезались на определенное количество фрагментов фиксированного размера, т.к. для взятого в анализ фермента количество сайтов и их локализация строго определены. Молекулярная масса фрагмента соответствует определенному количеству пар нуклеотидов, из которых он состоит и которое представляет его длину (два – при наличии генотипа CSN3^{BB}, три - CSN3^{AB}, не расщепляется - CSN3^{AA}). Визуализация и анализ результатов осуществлялись на трансиллюминаторе Quantum (рисунок 2). В ходе проведения ПЦР-ПДРФ анализа идентифицированы генотипы CSN3^{AA}. Гомозиготный CSN3^{BB} и гетерозиготный генотипы CSN3^{AB} не выявлены.

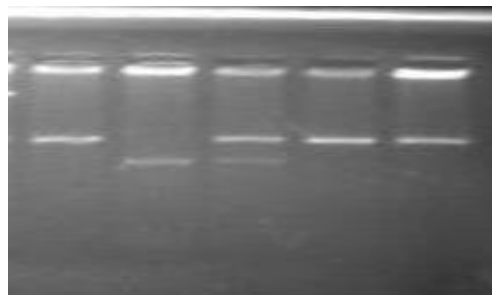


Рисунок 2 – Рестрикция амплификатов (№ 1-5), полученных с использованием рестриктазы HindIII. Электрофорез проводили в 2% агарозном геле, 30 мин, 130 В

Дорожки 1, 4, 5 – генотип CSN3^{AA} – фрагмент 530 п.о.
Дорожка 3 – генотип CSN3^{AB} – фрагменты 530, 400 и 130 п.о.
Дорожка 2 – генотип CSN3^{BB} – фрагменты 400 и 130 п.о.

Полученные данные указывают на необходимость проведения селекции на увеличение концентрации аллеля CSN3^B и частоты встречаемости животных с генотипом CSN3^{BB} и CSN3^{AB} в популяции производителей РСУП «Брестплемпредприятие». Данное мероприятие будет способствовать интенсификации селекционного процесса, направленного на увеличение белкомолочности молочного скота.

ДНК-тестирование племенных быков по гену молочного белка каппа-казеина, позволит не только получить более полную информацию о генетической структуре племенных стад республики по гену CSN3, но и проводить, наряду с традиционной, маркер-сопутствующую селекцию, что будет способствовать созданию стад с высокими технологическими свойствами молока для получения высококачественных сыров и других белкомолочных продуктов, составить генетический паспорт по гену каппа-казеина племенного поголовья республики и исключить импорт животных, не отвечающих селекционным требованиям.

Список использованных источников

1. Епишко, Т.И. Полиморфизм гена каппа-казеина различных популяций крупного рогатого скота черно-пестрой породы / Т.И. Епишко, О.П. Курак // Известия Нац. акад. наук Беларуси. Сер. аграр. наук. – 2008. – № 3. – С. 71-75.

2. Маркарян А.Ю., Шайхаев Г.О., Сулимова Г.Е. Использование метода ПЦР в технологии генотипирования казеинов крупного рогатого скота.// Бюл. науч. тр. ВНИИРГЖ. 1991, т.124, с.17-23.

3. Сулимова Г.Е. Генотипирование локуса каппа-казеина у крупного рогатого скота с помощью полимеразной цепной реакции / Г.Е. Сулимова [и др.]// Генетика. 1991, 27, №12, с.2053-2062.

4. Яцына, О.А. Применение гена каппа-казеина в маркерной селекции белорусской черно-пестрой породы крупного рогатого скота для повышения молочной продуктивности и устойчивости к маститам : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.02.01 / Яцына О.А. – Витебск, 2010. – 126 с.