

Колінчук Руслан

аспірант

Науковий керівник: д.с-г.н., професор Супрович Т. М.
Подільський державний аграрно-технічний університет
Кам'янець-Подільський, Україна

АЛЕЛЬНИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА *BoLA-DRB3* КОРІВ ТОВ НВА «ПЕРЛИНА ПОДІЛЛЯ» ТА ФІЛІЇ «РІДНИЙ КРАЙ» ПРАТ «ЗЕРНОПРОДУКТ» БІЛОГІРСЬКОГО РАЙОНУ ХМЕЛЬНИЦЬКОЇ ОБЛАСТІ

Більшість структурних генів має досить консервативний характер. Однак, існує кілька груп генів, в яких еволюційно закріпився поліморфізм. Найбільш поліморфними з них є гени, що відповідають за групи крові та гени МНС. Гістосумісність проявляється в постнатальному онтогенезі як індивідуальність біологічних тканин, виражена в специфічному антигенному комплексі, що зумовлює її максимальну варіабельність на мембранах клітин. Головний комплекс гістосумісності природним чином пов'язаний з підтриманням біорізноманіття в природі, що дає можливість використовувати поліморфізм МНС для підтримки різноманітності в популяціях. Різні варіанти імунної відповіді, які формувалися в ході еволюції як реакція-відповідь на нові види інфекції, стали можливими лише із-за змін в будові генів імунної відповіді, підсумком чого став наявний поліморфізм. Поліморфізм гена *BoLA-DRB3*, що виникла еволюційно через необхідність існування різноманітних видів будови клітинного рецептора (щілини Бюркмана) [1] по відношенню до чужорідних білкових антигенів, має не тільки географічну, але й внутріпородну мінливість [2]. Це послужило підставою для вивчення особливостей його поліморфізму як всередині кожної породи, так і для ВРХ в цілому.

Метою досліджень було проведення порівняльного аналізу розподілу алелів гена *BoLA-DRB3* в двох популяціях корів української чорно-рябої молочної породи.

Досліджувалися зразки крові від корів ТОВ НВА «Перлина Поділля» (n = 82) та філії «Рідний край» ПРАТ «Зернопродукт» (n = 82). Виділення ДНК із цільної крові проводили з використанням стандартного комерційного набору «ДНК-сорб-В» (виробництво АмпліСенс, Росія). Ампліфікацію фрагменту екзона 2 гену *BoLA-DRB3* проводили в два етапи з використанням праймерів: HLO-30, HLO-31 і HLO-32. Рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації проводили ендонуклеазами *RsaI*, *HaeIII* і *BstYI* при оптимальних для кожного ферменту умовах. Електрофорез проводили в 6%-ому або 9%-ому поліакриламідному гелі в трісборатному буфері. Використовували маркер молекулярних мас 10_bp_LowRange_Ladder_GeneON, «Fermentas».

Алельний поліморфізм субпопуляції корів ТОВ НВА «Перлина Поділля» характеризується наявністю 25 алелів з 54 можливих варіантів алеля *BoLA-DRB3.2* (табл. 1).

Виявлено вісім «інформативних» алелів: *03, *08, *16, *22, *23, *24, *28. Їх сумарна частка перевищує 67%. Найбільш поширеним в даній вибірці виявився алель *22 (12,2%), який знайдено у 18 корів.

Таблиця 1

**Алельний поліморфізм в популяціях корів української чорно-рябії
молочної породи**

ТОВ НВА «Перлина Поділля» (n = 82)			Філія «Рідний край» ПрАТ «Зернопродукт» » (n = 82)		
Алелі BoLA-DRB3.2	Частота %	χ^2	Алелі BoLA-DRB3.2	Частота %	χ^2
*01	4,88	0,19	*01	9,55	10,01***
*02			*02	1,69	1,0
*03	7,32	2,75	*03	7,30	3,9*
*04			*04	1,12	1,68
*05			*05	0,56	2,54
*06	1,83	1,18	*06	2,25	0,49
*07	4,88	0,19	*07	3,37	0,01
*08	10,98	12,2***	*08	5,06	0,62
*10			*10	3,37	0,01
*11	6,71	1,83	*11		
*12	2,44	0,61	*12	1,69	1,0
*13	2,44	0,61	*13	2,25	0,49
*14	0,61	2,87	*14	2,25	0,49
*15	0,61	2,87	*15	0,56	2,54
16	9,15	6,62	*16	7,87	5,16*
*18	1,83	1,18	*18	2,81	0,16
*21	1,22	1,93	*21	1,69	1,0
*22	12,2	16,8***	*22	11,24	16,45***
*23	5,49	0,55	*23	7,30	3,9*
*24	6,71	1,83	*24	8,43	6,6*
*25			*25	1,12	1,68
*26	1,22	1,93	*26	2,25	0,49
28	8,54	5,15	*28	6,74	2,81
*29			*29	1,12	1,68
*32	1,22	1,93	*32	1,12	1,68
*35	1,83	1,18			
*36	1,22	1,93	*36	2,81	0,16
*37	0,61	2,87	*37	2,81	0,16
*39	1,22	1,93			
*41			*41	1,12	1,68
*42			*42	0,56	2,54
*45	3,66	0,03			
*51	1,22	1,93			

Примітка: достовірно при: * - $P < 0,05$; *** - $P < 0,001$

Серед малоінформативних алелів необхідно виділити три – *14, *15 і *37, які виявлялися лише по одному разу з $P(A) = 0,46\%$. У вибірці виявлено 4 «значимих» алелі: *08, *16, *22 і *28. Всі вони проявляються як «інформативні», що дозволяє розглядати їх на рівні головних кандидатів у ДНК-маркери. Виявлений нерівномірний розподіл є достовірним при числі ступенів свободи $dF = 24$ як для загального частотного спектру ($\Sigma\chi^2 = 73,1$; $p > 0,999$), так і для частоти алелів виявлених в генотипі корів ($\Sigma\chi^2 = 445,2$; $p > 0,999$). У вибірці виявлено 65 генотипів (середня частота 1,26) з досить рівномірним розподілом. Рівномірний розподіл генотипів, як

правило, передбачає високий рівень генетичного різноманіття. Спостережувана кількість гетерозигот дещо менша від очікуваної, що підтверджується позитивним значенням індексу фіксації Райта.

Отже, досліджене стадо корів української чорно-рябої молочної породи ТОВ НВА «Перлина Поділля» за геном BoLA-DRB3 необхідно характеризувати, як таке що має нерівномірний розподіл алелів, з яких на інформативні припадає 2/3 алелофонду, досить високою рівномірністю розподілу генотипів з незначним переважанням гомозигот без статистично значимого відхилення від закону HWE.

Генетичний профіль вибірки корів філії «Рідний край» ПрАТ «Зернопродукт» досить різноманітний і представлений 28 алелями. В даному стаді виявлено 8 алелів з частотою понад 5%: *01, *03, *08, *16, *22, *23, *24 і *28, які сумарно займають 63,4% алелофонду. Найбільш поширеним виявився алель BoLA-DRB3.2*22, який має частоту прояву 11,24% і його носієм були 19 корів. Найменше по одному разу виявлялися алелі *05, *15 і *42 (по 0,56%). У вибірці виявлено шість «значимих» алелів: *01, *03, *16, *22, *23, *24. Всі вони проявляються як «інформативні». Характер розподілу алелів для всього спектру нерівномірний, що підтверджується перевіркою за критерієм Пірсона (при $dF = 27$ $\Sigma\chi^2 = 70,9$; $p > 0,999$). У досліджених корів виявлено 67 генотипів, що складає близько 1,33 на одну тварину. Розподіл генотипів, як і для попередніх субпопуляцій рівномірний. Більшість генотипів виявляються по 1-2 рази. Найчастіше визначалися генотипи *01/*24 і *22/*24 по 4 рази з $P(G) = 4,49\%$ та *01/*03, *01/*28, *03/*37 і *16/*23 по 3 рази з $P(G) = 3,37\%$.

Таким чином, досліджене стадо корів української чорно-рябої молочної породи філії «Рідний край» за геном BoLA-DRB3 характеризується як популяція з нерівномірним розподілом алелів, з яких на інформативні припадає 64,5%, рівномірним розподілом генотипів з незначним відхиленням в бік гетерозиготності, яке не вважається статично значимим відносно нормального розподілу за HWE.

Список використаних джерел

1. Brown J. H., Jardetzky T. S., Gorga J. C., Stern L. J., Urban R. G., Strominger J. L. Wiley Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature*. 1993. № 364. P.33-39.
2. Сацук В. Ф., Ковалюк Н. В., Волченко А. Е. Способ повышения гетерогенности по локусу BoLA 011B3 в стадах крупного рогатого скота. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2011. № 4. С.126-129.

