

Супрович Тетяна

д.с-г.н., професор, завідувач кафедри

Супрович Микола

канд. техн. наук, доцент

Чумаков Кирило

головний лікар

Хмельницька державна районна лікарня ветмедицини

Чорний Олександр

асистент кафедри

Подільський державний аграрно-технічний університет

Кам'янець-Подільський, Україна

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА BoLA-DRB3 ЯК МАРКЕР ОЦІНКИ БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА СТІЙКОСТІ ДО ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Дослідження біологічного різноманіття наявних порід великої рогатої худоби та їх генетична диференціація є однією з найважливіших проблем генетики сільськогосподарських тварин. Успіхи в області молекулярної генетики та генної інженерії привели до широкого використання генетичних маркерів в селекції великої рогатої худоби. Одними з найбільш перспективних маркерів даного типу є алелі гена BoLA-DRB3. Унікальність даного гена визначається трьома факторами. По-перше – високий рівень поліморфізму, що дозволяє використовувати його як високоінформативний маркер для вивчення генетичної різноманітності ВРХ. По-друге, поліморфізм екзона 2 цього гена пов'язаний з формуванням імунної відповіді організму на вірусні та бактеріальні інфекції, що допускає його використання як маркера стійкості до захворювань. По-третє, його близька локалізація на 23 хромосомі до гена пролактину дає можливість пов'язати його з господарсько-корисними ознаками ВРХ.

На сьогодні алельне різноманіття гена BoLA-DRB3 вивчено більш, як для 30 порід Bos Taurus, і дослідження продовжуються далі [1, 2].

В Україні ці дослідження проводяться на базі відділу генетики Інституту розведення та генетики імені М.В. Зубця.

Метою представлених досліджень було: вивчення різноманітності та характеру розподілу алелів BoLA-DRB3.2 в українських чорно-рябої, червоно-рябої молочних, сірої порід та проаналізувати поліморфізм алелів щодо стійкості до лейкозу.

Досліджувалися зразки крові від корів української чорно-рябої (n = 114) і червоно-рябої (n = 117) молочних порід з племінних і господарств Хмельницької області і української сірої породи (n = 72) з ДП ДГ "Маркеєво" Херсонської області.

Спектр алелів гена BoLA-DRB3.2 вивчали за допомогою ПЛР-ПДРФ, яку проводили із застосуванням готових наборів "GenPakR PCR Core", ТОВ "Лабораторія Ізоген". Для ампліфікації екзона 2 гена BoLA-DRB3 використовували двоетапний метод проведення ПЛР із застосуванням праймерів HLO-30, HLO-31 і HLO-32. Для рестрикції фрагмента екзона 2 гена DRB3 (284 п.н.) використовували ендонуклеази RsaI, HaeIII, BstYI (XhoII) фірм "Promega", "New England Bio Labs" і НВО "Сіб Ензим". Рестрикційні фрагменти розділяли за допомогою електрофорезу в 4%

агарозному або в 6% (9%) поліакриламідному гелі в трісборатному буфері. Візуалізацію виконували на транслюмінаторі в УФ світлі при довжині хвилі 380 нм після забарвлення гелю етидієм бромідом. Розміри отриманих в ПЛР, або в результаті рестрикції продуктів виявляли за допомогою маркеру молекулярних мас 10_bp_LowRange_Ladder_GeneON, “Fermentas”.

Сучасне стадо української чорно-рябої молочної худоби досить різноманітне за своєю генеалогічною структурою. В породі присутні генотипи декількох відрідів – голландської, естонської, литовської, чорно-рябої Московської та інших селекцій, а зараз відбувається масштабна голштинізація худоби. Тому наявність 31 алеля гена, які ми визначили у корів даної породи цілком відповідає її генеалогії (табл. 1).

Таблиця 1

Алельний поліморфізм гена BoLA-DRB3.2 в групах корів вітчизняних порід

Алелі BoLA-DRB 3.2	Частота, P(%)			Алелі BoLA-DRB 3.2	Частота, P(%)		
	УЧРМ	УЧерРМ	Сіра		УЧРМ	УЧерРМ	Сіра
*01	1,5	7,7	0,6	*26	4,3		
*02	2,5			*27		2,6	
*03	5,9	5,1		*28	7,7	3,4	
*04	2,2	1,3	0,1	*30			1,1
*06			8,0	*31	0,6		
*07	4,9	15,4	0,6	*32	3,1	1,7	0,6
*08	7,4	4,7	12,5	*34			0,6
*09		1,3	1,1	*35	1,3		
*10	5,3	4,7		*36	3,1		1,7
*11	1,5	9,4		*37	3,4		
*12	3,7	1,3		*39			0,6
*13	5,3			*41	0,6		
*14	0,8		2,8	*42	0,6	4,7	
*15	1,9	1,7	4,5	*43			0,6
*16	0,6	5,1	43,2	*44			0,6
*17			0,6	*45		1,7	
*18	2,5			*48	2,4	1,3	
*21	1,9			*51	0,8		
*22	1,2	1,3	1,1	*53			0,6
*23	1,9		2,3	*54			0,8
*24	11,7	8,7	4,0	*jab			0,6
*25	0,6	2,6		*jba			5,1
*19	0,8			*jbb			1,7
*20	0,9	0,013	1,7	*nad			0,6
				*nda			0,6

Примітка: інформативні алелі виділено жирним шрифтом; - алелі, асоційовані з лейкозом (курсивом виділено алелі асоційовані з резистентністю)

Для національних або регіональних порід, які не пройшли шлях тотального поліпшення іншими породами, характерний середній за чисельністю набір алелів. До них належить українська червоно-ряба молочна порода. У популяції корів червоно-рябої молочної породи нами було виявлено 22 алеля. У вибірці із 72 тварин сірої української породи знайдено також 22 алеля із 54 описаних за Van Eijk [3] та 5 алелів, які у цей перелік не входять: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. Спектр алелів та

профіль їх частот неоднаковий для різних порід, що пов'язано з особливостями їх походження та розвитку. Для більшості вивчених раніше світових порід великої рогатої худоби характерна подібна картина [4].

За даними останніх досліджень з резистентністю (Р) до лейкозу асоційовані алелі DRB3.2: *7, *11, *23, *28, зі сприйнятливістю (С) –*8, *16, *22, *24 [5,6]. При аналізі поширення цих алелів у популяціях тварин досліджених вітчизняних порід було встановлено, що у УЧРМ породі частота виявлення алелів, що характеризують сприйнятливість до лейкозу складає 20,9% і переважає частоту резистентних (16%). Для української червоно-рябої молочної породи частота виявлення алелів, які зумовлюють стійкість (28,2%) переважає частоту сприйнятливих до лейкозу (19,8%) алелів не зважаючи на те, що в даній популяції корів резистентний алель *23 зовсім не виявлявся. У тварин аборигенної сірої породи, на жаль, в даній популяції переважають алелі, що є ДНК-маркерами сприйнятливості (60%). ДНК маркери стійкості у досліджених тварин (*11 і *28) взагалі не було виявлено.

Список використаних джерел

1. Смазнова И.А., Козлов А.Л., Заякин В.В., Нам И.Я. Аллельный анализ гена BoLA-DRB3 в стадах крупного рогатого скота Брянской области. *Вестник Брянского государственного университета*. 2010. (4). С. 227-232.
2. Takeshima S.N., Miyasaka T., Polata M., Kikuya M., Matsumoto Y., Mingala C.N., Villanueva M.A, Salces A.J., Onuma M., Aida Y. The great diversity of major histocompatibility complex class II genes in Philippine native cattle. *Meta Gene*. 2014. V.2. P.176-190.
3. van Eijk M.J.T., Stewart-Haynes J.A., Lewin H.A. Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Anim Genet*. 1992. (23). P. 483–496.
4. Mohammadi A., Nassiry M.R., Mosafer J. Distribution of BoLA-DRB3 Allelic Frequencies and Identification of a New Allele in the Iranian Cattle Breed Sistani (*Bos indicus*). *Genetika*. 2009. 44 (2). P. 198-202.
5. Ковалюк Н.В. Шостак В.А., Сацук В.Ф., Фоменко Д.В. Селекционно-генетический способ создания высокопродуктивного и устойчивого к персистентному лимфоцитозу крупного рогатого скота. *Вестник РАСХН*. 2005. № 6. С. 67-69.
6. Сулимова Г.Е., Удина И.Г., Шайхаев Г.О., Захаров И.А. ДНК-полиморфизм гена BoLA-DRB3 у крупного рогатого скота в связи с устойчивостью и восприимчивостью к лейкозу. *Генетика*. 1995. (31). С. 1294–1299.

