

Полиморфизм гена диацилглицерол-ацилтрансферазы-1 у быков отечественного генофонда айрширской породы*

*М.В. Позовникова, ст.н.с., Г.Н. Сердюк, д.б.н., профессор,
О.В. Тулинова, к.б.н., ВНИИГРЖ – филиал ФГБНУ ФНЦ
ВИЖ (ВГИИГРЖ)*

В настоящее время в области молекулярной генетики животных большое количество научных исследований направлено на выявление значимых ассоциаций полиморфных вариантов генов с определёнными хозяйственно ценными признаками крупного рогатого скота. Для скота молочных пород наиболее ценными признаками продуктивности

являются общий удой, содержание жира и белка в молоке. Изучение генов, участвующих в формировании молочной продуктивности, представляет как научный, так и практический интерес.

Более 10 лет назад было показано, что в центромерной зоне 14-й хромосомы крупного рогатого скота (BTA14) идентифицирован локус количественных признаков (Quantitative Trait Loci – QTLs), оказывающий сильное влияние на признаки молочной продуктивности, в частности на процентное содержание жира [1]. В 2002 г. уста-

* Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО (тема ГЗ №АААА-А18-118021590138-1)

новлено, что в гене *DGATI* (BTA14) казуальная мутация K232A оказывает значительное влияние на признаки молочной продуктивности коров. На джерсейской, айрширской и голштино-фризской породах было показано, что аллель К ассоциирован с процентным содержанием жира в молоке, а аллель А – с удоем [2].

Ген *DGATI* расположен на 14-й хромосоме крупного рогатого скота и кодирует фермент диацилглицерол-ацилтрансферазу-1. Фермент DGAT является катализатором финальной стадии в цепи биосинтеза триглицеридов в адипоцитах [3]. Динуклеотидная замена в восьмом экзоне AA-GC в позиции 10433/10434 (генный банк AJ318490) приводит к замене аминокислоты лизина (аллель К) на аминокислоту аланин (аллель А) в позиции 232 полипептида (K232A полиморфизм). В 2016 г. методом полногеномного анализа ассоциаций (genome-wide association study, GWAS) в норвежском красном скоте определено семь различных областей QTL на пяти различных хромосомах (BTA5, BTA14, BTA23, BTA 25, BTA 26), ассоциированных с выходом жира, и восемь QTL, расположенных на шести разных хромосомах (BTA5, BTA14, BTA16, BTA19, BTA20 и BTA25), ассоциированных с удоем. Но только район замены K232A гена *DGATI* показал наиболее значимый эффект [4].

Мы изучили полиморфизм гена *DGATI* в выборке быков айрширской породы, используемых при разведении в РФ. Полученные результаты расширяют знания о генетическом потенциале быков отечественной популяции айрширского скота.

Целью нашего исследования было оценить полиморфизм гена *DGATI* в популяции быков отечественного генофонда айрширской породы.

Материал и методы исследования. Работа выполнена на базе ВНИИГРЖ в период 2017–2018 гг. Для исследования были собраны образцы спермы быков айрширской породы, принадлежащих четырём государственным племпредприятиям: ОАО «Головной центр по воспроизводству сельскохозяйственных животных» (n=12), ОАО «Невское» по племенной работе (n=31), ОАО «Племпредприятие «Череповецкое» (n=36), ОАО «Краснодарское» по

искусственному осеменению (n=7) и двум частным племпредприятиям: ОАО «Племпредприятие «Карельское» (n=37) и ОАО «Племпредприятие «Вологодское» (n=12). Всего протестировано 135 образцов. ДНК выделяли из спермы фенольным методом с применением меркаптоэтанола. ПЦР проводили с использованием праймеров праймеров F: 5'-gtgctggcctgatgtctacacc-3', R: 3'-ctggagctgggtgaggaacagctg-3'с последующей обработкой амплификата рестриктазой AcoI в течение 2 час. при температуре 37°C. Электрофорез проводили на 2-процентной агарозной пластине, содержащей флуорисцентный краситель – бромистый этидий в течение 40 мин. при рабочем напряжении 120 В. Длину фрагментов оценивали относительно маркера молекулярных масс 50 bp DNA Ladder (BIORON GmbH, Германия).

Статистическая обработка результатов выполнена с помощью генетико-математических методов с использованием компьютерной программы «Microsoft Excel».

Результаты исследования. Айрширская порода – это одна из уникальных пород в РФ, характеризующаяся высокой жирномолочностью и белкомолочностью. Анализируемое поголовье производителей в основном представлено животными финской (54,8%) и канадской (3,70%) селекции, и только 42% выборки быков имеют российское происхождение или имеют в родословной предков импортного происхождения, но родились в России.

На рисунке представлена электрофореграмма рестрикции фрагментов ДНК. Генотипу AA гена *DGATI* соответствуют фрагменты 349 и 217 п.н., генотипу АК – 566, 349 и 217 п.н. а генотипу КК – 566 п.н.

Анализ данных таблицы показал, что более 90% быков имеют генотип AA (0,911), и частота аллеля А составила 0,948, а аллель К оказался редким (0,052), и только у двух быков финской селекции определён генотип КК. Показатель вариабельности хи-квадрат 8,27 указывает на сильный сдвиг генетического равновесия, что косвенно свидетельствует о сильном селекционном давлении в анализируемой выборке животных. Стоит отметить, что из

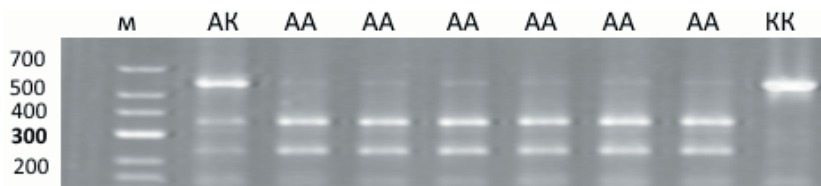


Рис. – Электрофореграмма рестрикции фрагментов ДНК

Частота генотипов и аллелей гена *DGATI* у быков айрширской породы

Частота встречаемости генотипов			Частота встречаемости аллелей		Нехр	Хи-квадрат
AA	AK	KK	A	K		
n=123 0,911	n=10 0,074	n=2 0,015	0,948	0,052	0,098	8,27

10 животных с гетерозиготным генотипом АК 9 быков имели российское происхождение и только 1 бык – канадское.

Проведённый анализ генеалогической принадлежности быков с генотипами АК и КК показал, что, несмотря на то что 6 производителей относятся к линии 13093, 3 – к 15710 и по одному – к линиям 11489, 63640 и 31700, в их родословных имеются общие предки, как с отцовской, так и с материнской стороны при разных степенях родства. Для уточнения связи данных генотипов с линейной принадлежностью тестируемых животных требуется проведение дополнительного анализа родословных быков всей исследуемой выборки.

По литературным данным, частота аллеля К сильно варьируется в зависимости от рассматриваемой популяции и/или породы. Анализ 1748 образцов ДНК 38 пород крупного рогатого скота различных направлений продуктивности, разводимых в 13 странах мира, показал, что частота аллеля К в мясных породах варьировала в пределах 1–34%, а в молочных – 2–69% [5].

Низкая частота аллеля К установлена в породах Montbeliarde – 0,04, Normande – 0,13, голштинская – 0,37 [6]. В популяциях шведских голштинов и шведской красной породы частота аллеля К варьировала в пределах от 0,01 до 0,18 [7]. В российских популяциях коров различных типов продуктивности частота аллеля К составляла: чёрнопёстрая голштинизированная – 0,458, абердин-ангусская – 0,13, калмыцкая – 0,229 [8].

Ранее нами был проведён анализ полиморфизма гена *DGAT1* в выборке коров айрширской породы Новоладожского типа (Ленинградская область).

Показана высокая частота встречаемости аллеля А – 0,912 и генотипа АА – 0,831 [9]. Аналогичные данные по Ленинградской области были получены и рядом других авторов. Так, по данным П.В. Ларионова [10], частота генотипов гена *DGAT1* была следующей: АА – 76,79%, АК – 19,64%, КК – 3,57%.

Накопленные литературные и собственные данные показывают, что аллель А гена *DGAT1* ассоциирован с общим удоём [11]. По данным бонитировки 2016 г., общее поголовье дойных коров айрширской породы снизилось на 14,6%, но при этом валовое производство молока увеличилось на 3640,44 т. Анализ эффективности проводимой селекции свидетельствует, что из года в год увеличивается средний удой айрширских коров. На 01.01.2016 г. в среднем по России удой коров айрширской породы составлял 6363 кг молока. За 5 лет он вырос на 1004 кг. При этом жирность не изменилась, а содержание белка выросло на 0,04%. По данным бонитировки 2016 г., средний удой составлял 6554 кг молока, на племязаводах – 7336 кг, на племрепродукторах – 6319 кг. По сравнению с 2015 г. удой вырос на 191, 161 и 108 кг молока. При этом жирность повысилась на 0,08% [12]. Анализ племенной ценности оценённых производителей в

2016 г. свидетельствует о генетическом прогрессе в айрширской породе крупного рогатого скота РФ. Положительную племенную ценность получили быки Вологодской, Московской и Ленинградской областей.

Племенная ценность животных повышается за счёт целенаправленной селекции и накопления желательных аллелей генов. Учитывая литературные данные, указывающие, что ген *DGAT1* может быть использован как ген-кандидат молочной продуктивности крупного рогатого скота, можно предположить, что целенаправленная селекция на повышение общего удоёя на протяжении последних лет способствовала накоплению в популяции айрширского скота аллеля А гена *DGAT1*.

На основе полученных данных можно сделать **вывод** о высоком генетическом потенциале молочной продуктивности быков айрширской породы, используемых в Российской Федерации. Анализируемая популяция животных характеризуется высокой частотой аллеля А гена *DGAT1*, ассоциированного с высокими удоёями коров.

Литература

1. Coppeters W.A., Riquet J., Arranz J.J., Berzi P., Cambisano N., Grisart B., Karim L., Marcq F., Moreau L., Nezer C., Simon P., Vanmanshoven P., Wagenaar D., Georges M. QTL with major effect on milk yield and composition maps to bovine chromosome 14 // *Mammalian Genome*, 1998. V. 9. № 7. P. 540–544.
2. Spelman R.J., Ford C.A., McElhinney P., Gregory G.C., Snell R.G. Characterization of the *DGAT1* gene in the New Zealand Dairy population // *Journal of Dairy Science*, 2002. V. 85. № 12. P. 3514–3517.
3. Cases S., Stone S.J., Zhou P., Yen E., Tow B., Lardizabal K.D., Voelker T., Farese R.V. Jr. Cloning of *DGAT2*, a second mammalian diacylglycerol acyltransferase, and related family members // *Biological Chemistry*, 2001. V. 276. № 42. P. 38870–38876.
4. Iso-Touru T., Sahana G., Gulbrandtsen, B., Lund, M.S., Vilkki, J. Genome-wide association analysis of milk yield traits in Nordic Red Cattle using imputed whole genome sequence variants // *BMC genetics*, 2016. № 17(1). P. 55.
5. Kaupе B., Brandt H., Prinzenberg E.M., Erhardt G. Joint analysis of the influence of *CYP11B1* and *DGAT1* genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle // *Journal of animal science*, 2007. V. 85. № 1. P. 11–21.
6. Gautier M., Capitan A., Fritz S., Eggen A., Boichard D., Druet T. Characterization of the *DGAT1* K232A and variable number of tandem repeat polymorphisms in French dairy cattle // *Journal of Dairy Science*, 2007. V. 90. № 6. P. 2980–2988.
7. Naeslund J., Fikse W.F., Pielberg G.R., Lunden A. Frequency and effect of the bovine *Acyl-CoA Diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) K232A* polymorphism in Swedish dairy cattle // *Journal of dairy science*, 2008. V. 91. № 5. P. 2127–2134.
8. Глазко В.И. Гены – кандидаты контроля характеристик молочной продуктивности крупного рогатого скота / В.И. Глазко, И.В. Андрейченко, С.Н. Ковальчук [и др.] // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2016. № 5. С. 45–50.
9. Позовникова М.В. Связь полиморфизма гена *DGAT1* с хозяйственно полезными признаками коров / М.В. Позовникова, О.В. Тулинова, Г.Н. Сердюк [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. 2017. № 8. С. 9–12.
10. Ларионова П.В. Разработка и экспериментальная апробация систем анализа полиморфизма генов-кандидатов липидного обмена у крупного рогатого скота: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Дубровицы, 2006. 22 с.
11. Tomka J., Vašičkova K., Oravcova M., Bauer M., Huba J., Vašiček D., Peškovičova D. Effects of polymorphisms in *DGAT1* and *LEP* genes on milk traits in Holstein primiparous cows // *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 2016. V.66. № 2. P. 122–128.
12. Васильева Е.Н. Биологические и селекционные факторы повышения качества генотипа производителей айрширской породы на основе их генетической оценки // Учёные записки Петрозаводского государственного университета. 2018. № 3 (182). С. 67–71.