

## Влияние воздействия генов CSN3 И LGB на показатели молочной продуктивности коров (обзор)\*

*А.В. Харламов, д.с.-х.н., профессор, В.А. Панин, д.с.-х.н., ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН, В.И. Косилов, д.с.-х.н., профессор, ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ*

Цель представленного обзора заключается в выявлении основных стадий взаимодействия аллелей генов CSN3/ $\beta$ -LGB с их обладателем (особью). Поставлена задача детально рассмотреть вопросы, связанные с полиморфизмом сочетаний аллелей гена CSN3,  $\beta$ -LGB и PRL и их влиянием на молочную продуктивность коров.

В современной селекции является важным обнаружение полиморфизма совмещений участков гена, обнаруживающихся в процессе селекционной работы. Выявленный полиморфизм аллелей гена на уровне ДНК разрешает проводить тестирование аллелей маркерных генов, кроме молочных коров, ещё и быков, молодняка и популяции дикого скота. В результате анализа результатов изучения воздействия полиморфизма аллелей генов CSN3 и LGB на некоторые показатели молочной продуктивности коров, состав белка и качество молока, а также современных тенденций в геномной селекции коров молочного направления продуктивности с целью увеличения результативности отбора установлено, что основополагающим развитием тенденции методов геномной селекции является повышение точности племенной оценки коров [1–3].

Видимые внешние проявления генов являются зависимыми от совместимости генотипов. Например, в исследованиях ряда авторов [4, 5] выявлена выраженная межпородная дифференциация по количеству аллелей «молочных» генов. Частота встречаемости статистически достоверно определена более высокой у коров молочных пород в сравнении с коровами пород двойного направления продуктивности. Тем не менее у многих особей молочных пород не выявляется связи между наличием желательных аллелей «молочных» генов по различным локусам. Характеристика показателей молочной продуктивности пород с различным сочетанием генотипов позволяет делать прогноз молочной продуктивности конкретных популяций. При условии соответствующего подбора отцов и матерей желательные гены и их комбинации смогут вовлекаться в действительный селекционный процесс, что будет способствовать скапливанию в популяции или стаде особей с желательными генотипами и, как результат, увеличению показателей молочной продуктивности. При всём том изменение генного равновесия является нежелательным в плане снижения количества характерных аллелей,

воздействующих на адаптационную способность коров. Применение молекулярно-генетических методов раннего прогнозирования величины и направленности продуктивных качеств особи увеличивает темпы селекционного прогресса на половину и способствует получению существенного экономического эффекта [6]. При выполнении исследования на коровах голштинской породы канадской селекции выявлено 30 комбинированных генотипов CSN, BLG, PRL и GH, отмечается большее количество случаев встречаемости генотипа AA, AB, AA, VV (17%) [7].

Самого большого внимания заслуживают ДНК-маркеры локусов количественных признаков (QTL). При этом более важной является оценка коров по генетическим маркерам, объединенным с QTL для качеств, проявляющихся на поздних стадиях в фенотипе или лишь у особей одного пола, и так же для качеств, величина проявления которых зависит в основном от внешних факторов. Кроме того, ген «типирование коров» способствует оценке состояния генетической структуры популяции и уровня единообразия [8, 9].

В процессе исследования коров симментальской и некоторых других пород по некоторым генам GH, PRL, CSN3 было выявлено 26 комплексных генотипов в группе бестужевских коров (n=250), в группе чёрно-пёстрых коров (n=250) выявлено 22 генотипа, в группе симментальских особей (n=100) – 31. Установлено, что у чёрно-пёстрых особей частота встречаемости генотипов AA/AA и LV/CD зафиксирована самой высокой (15,2–17,4%), а у бестужевских и симментальских особей частота встречаемости генотипов LV/CD и AB/AA составила от 8,1 до 13,4% [10]. Обнаружено что более подходящим способом при генотипировании полиморфных генов считается ПЦР, завершающаяся дальнейшим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов. Основой ПЦР является экозона IV [11–13].

При выполнении изучения показателей молочной продуктивности помесных коров (чёрно-пёстрая  $\times$  голштинская), имеющих разные комбинации генотипов CSN3, LGB, выявлена большая продолжительность лактации у индивидуумов, имевших совмещение генотипов AB/AB – 298 сут. и AB/BB – 301 сут. [14]. Продолжительность лактации у них оказалась больше на 2–10 сут. в сравнении с обладательницами генотипов CSN3, LGB. В другом исследовании оценивались генетические параметры основных молочных белков с использованием двумерных и многозначных

\* Исследование выполнено в соответствии с планом НИР на 2019 – 2021 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0761-2019-0006)

моделей, основанных на геномных отношениях между коровами. Рассмотрение охватывало кроме общего процентного содержания белка ещё и состав: S1-казеин (CN), S2-CN,  $\beta$ -CN,  $\kappa$ -CN,  $\alpha$ -лактальбумин и  $\beta$ -лактоглобулин, а также  $\kappa$ -CN и  $\alpha$  S1-CN-8P. Оценки наследуемости (модель с несколькими признаками) изменялись от низких (0,05 для  $\beta$ -CN) до высоких (0,78 для  $\kappa$ -CN). Генетические корреляции между молочными белками и процентом общего молочного белка в целом были низкими, что указывает на возможность изменения состава белка путём селекционного процесса с небольшим влиянием на общий процент белка молока [15]. Следует отметить, что только в ряде ранее опубликованных исследований оценивались генетические параметры конкретных белков молока [16, 17] и их посттрансляционные подформы [18]. И ещё, что более существенно, ни в одном из предыдущих исследований не были оценены генетические параметры профиля молочного белка с использованием анализа с несколькими признаками. В исследованиях на костромской породе коров, обладавших комплексным генотипом CSN3, bPRL, bGH, было обнаружено, что обладавшие генотипом AB, AA, VL животные выделяют молоко, содержащее более высокий процент жира относительно коров – носительниц генотипов AB/AA/LL и BB/AA/LL [19].

Результативность селекционного процесса в отрасли молочного скотоводства на нынешнем периоде её формирования определяется комплексным использованием в ней передовых методов ДНК-технологии [20]. В последнее время образцом потенциальных маркеров молочной продуктивности коров служат аллели генов  $\beta$ -LGB (бета-лактоглобулин), PRL (пролактин) и CSN (казеины), которые являются основными белками молока [21]. Основным сывороточным белком молока коров является  $\beta$ -LGB. Бета-лактоглобулин относится к кислотоустойчивым белкам молока, в нормальном состоянии обладающим рН=6,5. Данный белок находится в молоке в виде дисперсии. В процессе понижения или повышения показателя рН совершается расщепление  $\beta$ -LGB [20].

В большинстве стран мира продукты, изготовляемые из молока, – это важный источник животного белка в рационе населения. Основными белками коровьего молока считаются казеин (CN),  $\alpha$ C1-,  $\alpha$ C2-,  $\beta$ -, и  $\kappa$ -CN, находящиеся в относительном соотношении 4:1:4:1 (ж/б). В составе молока присутствуют два сывороточных белка:  $\beta$ -ЛГ ( $\beta$ -лактоглобулин) и  $\alpha$ -Ла ( $\alpha$ -лактальбумин), которые находятся во взаимном соотношении 3:1(ж/б) в молоке [21–23]. Общий доход, зависящий от содержания количества белка в молоке, является важной частью в системе оплаты за молоко, и поэтому изучение белкового состава молока в зависимости от генотипа было включено в задачи развития молочного скотоводства [24]. Много-

образные генетические комбинации генов CN оказывают воздействие на количественное содержание CN в составе молока, а также на показатели сыропригодности молока [25–27]. Обнаружено при проведении исследования, что образцы молока с низкой коагулирующей способностью получены от коров датской голштинской и датской джерси пород, обладающих преобладающей комбинацией генотипов BB при  $\alpha$  S1-CN, A2/A2 при  $\beta$ -CN и AA при  $\kappa$ -CN [28]. Также при проведении исследований обнаружено, что как количество содержащихся в молоке специфических казеиновых белков, так и их посттрансляционных модификаций оказывают огромное воздействие на его коагуляционные свойства [26, 29]. Поэтому детальное исследование структуры молочного белка привлекло повышенное внимание многих исследователей.

Первоначальное строение белков коровьего молока заключается цепью из 162 аминокислот. Последующий фрагмент белков сформирован  $\beta$ -складчатыми слоями,  $\alpha$ -спиралями а также неуправляемыми структурами [30]. Структурное строение фракции  $\beta$ -лактоглобулина является достаточно сложным строением. В нём складчатыми слоями в форме линий представлены  $\beta$ -фракции, а спиралью –  $\alpha$ -фракции [31]. Молочный белок  $\beta$ -лактоглобулин считается липокалиновым белком [32].

В процессе проведения эксперимента исследователями определено, что LGB активно воздействует на перенос ретинола, а также жирных кислот.  $\beta$ -лактоглобулин активизирует протекание метаболизма липидов [33, 34], напрямую воздействуя на пассивную передачу иммунитета телятам [35].

Кроме того, обнаружена повышенная активность А-аллели гена  $\beta$ -LGB при сравнении с В-аллелью в отношении *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus uberis* [36]. Изучая структуру гена  $\beta$ -LGB молочных коров, был сделан вывод, что ген  $\beta$ -LGB молочного скота располагается в одиннадцатой хромосоме, составлен из семи экзонов и шести интронов [37].

**Вывод.** Результаты обзора исследований свидетельствуют о возросшем интересе к поиску генов, определяющих молочную продуктивность коров, и использованию методов геномного редактирования с целью создания молочного скота с выраженным эффектом увеличения молочной продуктивности и качества молока. В этой связи гены CSN3 и LGB перспективны для дальнейшего изучения у коров молочных пород, разработки надёжных праймеров и их использования при генотипировании молочного скота. Особую актуальность выполнение исследований в области геномной селекции коров молочных пород приобретает в природно-климатических условиях Оренбургской области, так как ранее подобных исследований на популяции разводимого в регионе молочного скота не проводилось.

## Литература

- Lund M.S. A common reference population from four European Holstein populations increases reliability of genomic predictions / M.S. Lund, A.P. Roos, A.G. Vries [et al] // *Sel. Evol.* 2011, P. 43:43.
- Gengler N. Capitalizing on fine milk composition for breeding and management of dairy cows / N. Gengler, H. Soyeurt, F. Dehareng [et al] // *Journal of Dairy Science.* 2015. № 99(5). P. 4071–4079.
- Zhou L. Genomic predictions based on a joint reference population for the Nordic Red cattle breeds / L. Zhou, B. Heringstad, G. Su [et al] // *J. Dairy Sci.* 2014. № 97(7). P. 4485–4496.
- Харченко П.Н., Глазко В.И., Ванюшин Б.Ф. ДНК-технологии в развитии агробиологии. М., 2006. С. 38–43.
- Бейшова И.С., Траисов Б.Б., Косилов В.И. Влияние парных сочетаний генов гормона роста и инсулиноподобного фактора роста-1 на признаки мясной продуктивности скота аулиекольской породы // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* 2018. № 4 (72). С. 267–271.
- Бейшова И.С., Траисов Б.Б., Косилов В.И. Ассоциация snabi-полиморфизма гена инсулиноподобного фактора-1 (bigf-1) с мясной продуктивностью крупного рогатого скота аулиекольской породы // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* 2018. № 3 (71). С. 221–226.
- Бейшова И.С. Влияние полиморфизма генов соматотропинового каскада на мясную продуктивность казахской белоголовой породы / И.С. Бейшова, Т.В. Подлудинская, Б.Б. Траисов [и др.] // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* 2018. № 2 (70). С. 194–199.
- Бейшова И.С. Оценка ассоциации парных сочетаний полиморфных вариантов генов соматотропинового каскада bpr1-1, bgh, bghr и bigf с мясной продуктивностью крупного рогатого скота аулиекольской породы казахстанской селекции / И.С. Бейшова, Е.В. Белая, В.П. Терлецкий [и др.] // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета.* 2018. № 1 (69). С. 160–164.
- Стрекозов Н.И., Зиновьева Н.А., Горелов П.В. Генетическая характеристика созданных типов скота бурой швицкой и счѣвской пород с использованием полиморфизма микросателлитных локусов // *Сельскохозяйственная биология.* 2009. № 2. С. 10–15.
- Ильясов А.Г. Влияние различных сочетаний полиморфных вариантов гена каппа-казеина, пролактина и соматропина на молочную продуктивность крупного рогатого скота // *Актуальные проблемы генетики и молекулярной биологии.* Уфа, 2012. С. 146–153.
- Denicourt, D., Sabour M. Detection of bovine k-casein genomic variants by the polymerase chain reaction method. *Anim. Genet.* 1990. № 21. P. 215–216.
- Medrano, F.J., Cordova A.E. Genotyping of bovine k-casein loci following DNA sequence amplification // *Biotechnology.* 1990. № 8. P. 144–146.
- Barroso, A., Dunner S., Canon J. Detection of Bovine kappa-casein variants A, B, C and E by means of polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) // *J. Anim. Sci.* 1998. № 76 (6). P. 1535–1538.
- Ахметов Т.М., Тюлькин С.В., Валиуллина Э.Ф. Генотипирование коров по локусам каппа казеина, бета-лактоглобулина и VLAD-мутации // *Учѣные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины.* 2011. № 5. С. 11–17.
- Gebreyesus G. Short communication: Multi-trait estimation of genetic parameters for milk protein composition in the Danish Holstein / G. Gebreyesus, M.S. Lund, L. Janss [et al.] // *Journal of dairy science.* 2016. № 99 (4). P. 2863–2866.
- Schopen G.C. Genetic parameters for major milk proteins in Dutch Holstein-Friesians / G.C. Schopen, J.M. Heck, H. Bovenhuis [et al] // *J Dairy Sci.* 2009. № 92(3). P. 1182–91.
- Bonfatti V. P. Genetic analysis of detailed milk protein composition and coagulation properties in Simmental cattle. / V. Bonfatti, A. Cecchinato, L. Gallo [et al] // *J. Dairy Sci.* 2011, № 94. P. 5183–5193.
- Bijl E. Factors influencing casein micelle size in milk of individual cows: genetic variants and glycosylation of k-casein / Bijl E., de Vries R., van Valenberg H. Gallo [et al] // *Int Dairy J.* 2014, 34:135–41.
- Перчун А.В. Полиморфизм генов CSN3, bPRL и bGH у коров костромской породы в связи с показателями молочной продуктивности // *Фундаментальные исследования.* 2012. № 11-2. С. 304–308.
- Kontopidis G., Holt C., Sawyer L.M. Lactoglobulin: Binding Properties, Structure and Function // *Journal of Dairy Science.* 2004. № 87. P. 785–796.
- Walstra P. Casein sub-micelles: Do they exist // *Int Dairy J.* 1999. № 9. P. 189–92.
- Farrell Jr H.M. Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision / Jr H.M. Farrell, R. Jimenez-Flores, G.T. Bleck // *J Dairy Sci.* 2004. № 87(6). P. 1641–1674.
- Fox P.F. *Milk: An overview.* Burlington: Elsevier Inc, 2009. P. 1–54.
- Team avlsvurdering. [http://www.nordicebv.info/wp-content/uploads/2015/04/General-description-from-old-homepage\\_06052015.pdf](http://www.nordicebv.info/wp-content/uploads/2015/04/General-description-from-old-homepage_06052015.pdf). 2013.
- Caroli A.M., Chessa S., Erhardt G.J. Invited review: milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition // *J Dairy Sci.* 2009. № 92 (11). P. 5335–5352.
- Jensen H.B. Milk protein genetic variants and isoforms identified in bovine milk representing extremes in coagulation properties. / Jensen H.B., Holland J.W., Poulsen N.A. [et al] // *J Dairy Sci.* 2012. № 95(6). P. 2891–2903.
- Gustavsson F. Effects of breed and casein genetic variants on protein profile in milk from Swedish Red, Danish Holstein, and Danish Jersey cows / F. Gustavsson, A.J. Buitenhuis, M. Johansson [et al] // *J Dairy Sci.* 2014. № 97(6). P. 3866–3877.
- Poulsen N.A., Bertelsen H.P., Jensen H.B. The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds / N.A. Poulsen, H.P. Bertelsen, H.B. Jensen [et al] // *J Dairy Sci.* 2013. № 96(8). P. 4830–4842.
- Jensen H.B. Genetic variation and posttranslational modifications of bovine k-casein: Effects on caseino-macropptide release during renneting / H.B. Jensen, K. Pedersen, L.B. Johansen [et al] // *J Dairy Sci.* 2015. № 98. P. 747–58.
- Papiz M.Z. The structure of v-lactoglobulin and its similarity to plasma retinol-binding protein / M.Z. Papiz, E. Sawyer, E.E. Eliopoulos [et al] // *Nature.* 1986, № 324. Pp. 383–385.
- Kontopidis G., Holt C., Sawyer L.M. Lactoglobulin: Binding Properties, Structure and Function // *Journal of Dairy Science.* 2004. № 87. P. 785–96.
- Flower D.R. The lipocalin protein family: structure and function. // *Biochemistry Journal.* 1996. № 318. P. 1–14.
- Puyol P. Interaction of bovine beta lactoglobulin and other bovine and human proteins with retinol and fatty acids / P. Puyol, M.D. Perez, M. Ena // *J. Agricultural Biological Chemistry.* 1991. № 10. P. 49–62.
- Perez M.D., Calvo M. Interaction of lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review // *Journal of Dairy Science.* 1995. № 78. P. 978–988.
- Ouweland A.C. Inhibition of pathogen adhesion by lactoglobulin / A.C. Ouweland, S.J. Salminen, M. Skurnik [et al] // *International Dairy Journal.* 1997. № 7. P. 685–692.
- Chaneton L., Pirez S6ez J.M., Bussmann L.E. Antimicrobial activity of bovine v-lactoglobulin against mastitis-causing bacteria // *J. Dairy Sci.* 2011. № 94. P. 138–145.
- Martin P. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks / P. Martin, M. Szymanowska, L. Zwierzcowski [et al] // *Reproduction Nutrition Development.* 2002. № 42. P. 433–459.