

## ВЫЯВЛЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ГЕНА ГОРМОНА ТИРЕОГЛОБУЛИНА (TG5) С МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТЬЮ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПЦР-ПДРФ АНАЛИЗА

Н.Д. Чевтаева<sup>1</sup> – аспирант, Ф.Ф. Зиннатов<sup>2</sup> – к.б.н., доцент, И.Т. Бикчантаев<sup>1</sup> – в.н.с.,  
к.б.н.

<sup>1</sup>ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия, e-mail: chevtaeva\_natasha@mail.ru

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «КГАВМ им. Н.Э. Баумана»

**Аннотация.** Проведено молекулярно-генетическое исследование поголовья коров методом ПЦР-ПДРФ анализа по гену гормона тиреоглобулина (TG5) с последующим выявлением животных с наилучшими показателями молочной продуктивности. Наилучшими показателями хозяйственно-полезных признаков обладают коровы с генотипом TG5<sup>TT</sup>. Частота встречаемости данного генотипа составляет 16% (26 голов).

**Ключевые слова:** гормон, генотип, ДНК, коровы, молочная продуктивность, полиморфизм, ПЦР-ПДРФ анализ, TG5

**Введение.** Животноводство является одной из основных отраслей сельского хозяйства в России. Республика Татарстан входит в тройку лидеров России по АПК по объему сельскохозяйственной продукции. По производству товарного молока Татарстан не имеет равных и уже много лет занимает первое место по объему, по итогам 2022 года произведено свыше 2 млн. тонн молока [4].

Основной целью развития молочного скотоводства является увеличение производства высококачественного молока, производственного долголетия, рост финансовой рентабельности отрасли на основе повышения продуктивности коров, сокращения материальных, энергетических и трудовых затрат [2]. Одним из шагов решения проблем животноводства является более обширное применение в селекционной практике методов ДНК-маркирования и внедрение их результатов для отбора животных желательных генотипов, корректировки программ разведения и выращивания ремонтного молодняка в целях формирования высокопродуктивного, генетически однородного поголовья племенного скота. Преимущество этого ДНК-анализа заключается в том, что можно определить генотип животного независимо от пола, возраста и физиологического состояния, что является важным фактором в селекционной работе [4].

Для оценки потенциала молочной продуктивности разработан метод ДНК-маркирования племенных животных по генам, связанным с молочной продуктивностью, в том числе, гену гормона тиреоглобулина (TG5).

Тиреоглобулин - это предшественник тиреоидных гормонов трийодтиронина (Т<sub>3</sub>) и тетраiodтиронина (Т<sub>4</sub>), гликопротеин, вырабатываемый фолликулярными клетками щитовидной железы. На основании исследований, проведенных на крупном рогатом скоте молочных пород, а также в связи с влиянием этого гена на жировой метаболизм считается, что ген тиреоглобулина связан с молочной продуктивностью и качественным составом молока [1, 2].

Цель данной работы – молекулярно-генетическое тестирование крупного рогатого скота по генетическому маркеру хозяйственно-полезных признаков и изучение ассоциации гена тиреоглобулина у дойных коров с показателями молочной продуктивности с помощью ПЦР-ПДРФ анализа.

**Материалы и методы.** Экспериментальный анализ проводили в условиях отдела агробиологических исследований ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН в 2021 году. Были изучены образцы ДНК, полученные из лейкоцитов крови первотелок голштинской породы,

принадлежащих СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан, в количестве 163 голов.

Выделение ДНК осуществляли в ПЦР-боксе UVC/T-M-AR (BioSan, Латвия) с использованием комплекта реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (ООО НекстБио, Россия), вортекса Vortex V-1 (BioSan, Латвия), миницентрифуги MiniSpin (Eppendorf, Германия). Амплификацию фрагментов ДНК проводили в амплификаторе T100 Thermal Cycler (Applied Biosystems, США) (таблица 1).

Для амплификации фрагментов генов TG5 использовали следующие праймеры (SibEnzyme, Россия):

TG5-F: 5'-GGG-GAT-GAC-TAC-GAG-TAT-GAC-TG-3';

TG5-R: 5'-GTG-AAA-ATC-TTG-TGG-AGG-CTG-TA-3';

Таблица 1. Режим амплификации для гена TG5

Стадия ПЦР	Количество циклов	Температура, °С	Длительность стадии
Первоначальная денатурация ДНК	1	95	3 мин
Денатурация ДНК	35	95	30 сек
Отжиг праймеров	35	63	30 сек
Элонгация	35	72	30 сек
Элонгация	1	72	5 мин

Проводили ПЦР с 2 мкл ДНК-образца. Общий объем реакционной смеси в одной пробирке составил 20 мкл. С целью выявления аллелей гена TG5 ПЦР-фрагменты обрабатывали рестриктазой *BstX2 I* (таблица 2).

Таблица 2. Состав смеси для рестрикции гена TG5

Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	На 1 пробу (мкл)
dH <sub>2</sub> O			2
SE-буфер G	10×	1×	2,5
<i>BstX2 I</i>	10 ед	5 ед	0,5
ПЦР-проба			20
Итого			25

Гидролиз проводили при 37°С в течение 12 часов. Продукты реакции проанализировали при помощи метода электрофореза в агарозном геле, а затем зафиксировали их системой Gel&Doc (BioRad, США). Статистическую оценку признаков между коровами различных генетических групп осуществляли в программе Microsoft Excel (рисунок 1).

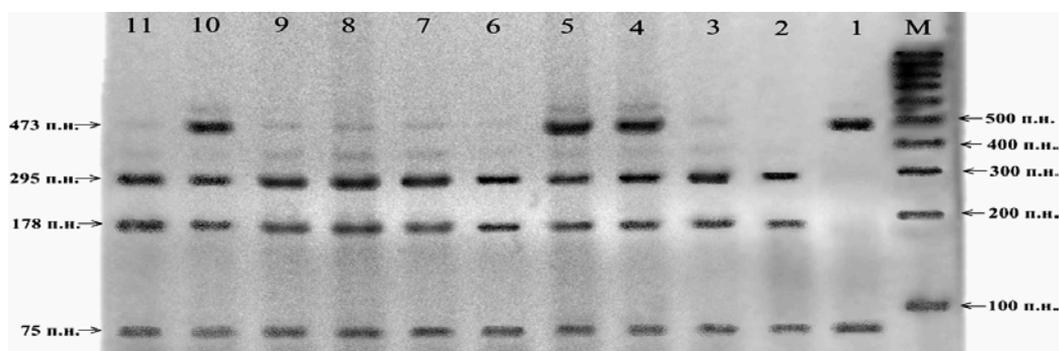


Рисунок 1. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена TG5 крупного рогатого скота с праймерами TG5-F, TG5-R и эндонуклеазным расщеплением ферментом *BstX2 I*.

**Результаты исследований.** В результате амплификации ДНК лейкоцитов крови коров методом ПЦР и последующего анализа продуктов амплификации были получены

специфические фрагменты гена TG5 длиной 548 пар нуклеотидов, так же было выявлено два аллеля тиреоглобулина – Т и С и три генотипа – TG5<sup>TT</sup>, TG5<sup>TC</sup>, TG5<sup>CC</sup>. (они были выявлены после ПДРФ)

Частота встречаемости генотипов гена тиреоглобулина оказалась следующей: генотип TG5<sup>TT</sup> составил 16% (26 голов), генотип TG5<sup>TC</sup> – 32% (52 головы), генотип TG5<sup>CC</sup> – 52% (85 голов). Частота встречаемости аллеля Т – 0,3, аллеля С – 0,7 (таблица 3).

Таблица 3. Частота встречаемости генотипов и отдельных аллелей

Частота генотипов						Частота аллелей	
TT		TC		CC		Т	С
n	%	n	%	n	%		
26	16	52	32	85	52	0,3	0,7

Выполненный анализ по трём полиморфным локусам, связанным с признаками молочной продуктивности, показал наличие ассоциации качественных показателей лактации. Наиболее высокоценными по изученным хозяйственно-полезным признакам оказались животные, несущие генотип TG5<sup>TT</sup>. У них зафиксировали удой в 6674 кг молока в среднем, при этом содержание жира составило 4,21%, белка – 3,19% (таблица 4).

Таблица 4. Состав молока в зависимости от полиморфизма гена TG5

Генотип	Показатели молочной продуктивности коров				
	удой, кг	массовая доля жира, %	массовая доля белка, %	выход молочного жира, кг	выход молочного белка, кг
TT (n=26)	6674 ± 278,6	4,21 ± 0,29	3,19 ± 0,07	239,5 ± 25,9	185,3 ± 11,9
TC (n=52)	6302 ± 139,1	4,02 ± 0,11	3,13 ± 0,04	254,4 ± 9,7	196,3 ± 4,4
CC (n=85)	6264 ± 88,4	4,00 ± 0,10	3,10 ± 0,03	221,2 ± 10,1	172,1 ± 6,9

Коровы с гетерозиготным генотипом TG5<sup>TC</sup> имели в среднем удой 6302 кг; наименьший удой отмечался у коров с гомозиготным генотипом TG5<sup>TC</sup> и составил 6264 кг.

Из 26 коров, несущих желательный гомозиготный генотип TG5<sup>TT</sup>, наивысшую молочную продуктивность зафиксировали у коровы со средним удоём за 305 дней 9241 кг. При этом процент содержания жира и белка составил 2,14% и 3,05 % соответственно. Так же высокими показателями надоя обладали 2 коровы с удоём 8870 кг и 8856 кг, процент жира в молоке составил 4,53% и 4,37%, белка – 2,89% и 3,35% соответственно. Максимальная жирность (4,86%) принадлежала корове с удоём 5937 кг и процентом содержания белка 2,59%. Наибольшим содержанием белка в молоке (3,83%) обладала корова с удоём 6676 кг и процентом содержания жира 3,28%.

Анализ влияния полиморфизма гена липидного обмена TG5 показал высокую продуктивность за 305 дней лактации у животных с гомозиготным генотипом TG5<sup>TT</sup> (6674 кг), где разница по отношению к гомозиготному генотипу TG5<sup>CC</sup> (6264 кг) составила 410 кг. Коровы с гомозиготным генотипом по аллелю Т превосходят гомозиготных особей по аллелю С по содержанию жира в молоке на 0,21%, по выходу молочного жира на 18,3 кг, а так же по выходу белка на 13,2 кг.

**Обсуждение.** Схожая тенденция наблюдается в исследованиях ряда авторов. Из 104 исследованных коров голштинской породы СХПК «Племенной завод им. Ленина» в 2020 году наибольшим удоём характеризовались коровы, несущие гомозиготный генотип TG5<sup>TT</sup> - удой составил в среднем 7119,75 кг молока при наивысшем содержании жира – 4,28% в среднем [1]. По сообщению ученых, изучивших генетический полиморфизм 858 коров в 2018 году от животных с генотипом TG5<sup>TT</sup> было получено больше молока с высоким содержанием

жира и белка. Превосходство в сравнении с коровами с генотипом СС – 1897 кг молока (23,6%), 0,64% жира и 0,06% белка [5].

**Выводы.** При изучении влияния гена гормона тиреоглобулина (TG5) на показатели молочной продуктивности коров голштинской породы установили, что наибольшим удоем, жирномолочностью и белковомолочностью обладали особи с гомозиготным генотипом TG5<sup>TT</sup>. Их удой в среднем составил 6674 кг, содержание жира в молоке – 4,21%, белка – 3,19%.

Таким образом, целесообразнее использовать для дальнейшей селекции коров с гомозиготным генотипом TG5<sup>TT</sup> по гену гормона тиреоглобулина (TG5) по сравнению с группой коров с гетерозиготным генотипом TG5<sup>TC</sup> и гомозиготным генотипом TG5<sup>CC</sup>.

### Библиографический список

1. Зиннатов Ф.Ф., Ахметов Т.М., Зиннатова Ф.Ф., Харисова Ч.А. Полиморфные варианты гена тиреоглобулина (TG5) у коров // Молодежная наука - развитию агропромышленного комплекса: Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Курск, 03–04 декабря 2020 года. Том Часть 2. – Курск: Курская государственная сельскохозяйственная академия имени И.И. Иванова, 2020. – С. 440-444.
2. Зиннатов Ф.Ф., Хайруллин Д.Д., Зиннатова Ф.Ф. ПЦР-ПДРФ анализ в идентификации взаимосвязи гена тиреоглобулина (TG5) с молочной продуктивностью КРС // Физико-химическая биология как основа современной медицины: Тезисы докладов участников Республиканской конференции с международным участием, посвященной 80-летию со дня рождения Т.С. Морозкиной, Минск, 29 мая 2020 года / Под редакцией А.Д. Тагановича, В.В. Хрусталёва, Т.А. Хрусталёвой. – Минск: Белорусский государственный медицинский университет, 2020. – С. 60-62.
3. Коростелёв А.И., Коростелёва О.Н. «АПК – отрасль скотоводства» – Проблемы развития в новых условиях с учётом радиационно-загрязнённых сельскохозяйственных угодий и кормов // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 3. – С. 51-53;
4. Производство молока в Татарстане впервые превысило 2 миллиона тонн в год: ежедневн. интернет-изд. 2022. 18 января. URL: <https://m.business-gazeta.ru/news/580338> (дата обращения: 02.03.2023).
5. Сафина Н.Ю. ДНК-тестирование аллельного полиморфизма генов-маркеров хозяйственно-полезных признаков крупного рогатого скота: специальность 06.02.07 "Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных": диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Казань, 2020. 138 с.
6. Юльметьева Ю.Р., Шакиров Ш.К., Сафина Н.Ю. Динамика молочной продуктивности по лактациям в разрезе полиморфизма гена тиреоглобулина татарстанской популяции голштинского скота // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2018. Т. 235, № 3. С. 200-204. DOI 10.31588/2413-4201-1883-235-3-200-204.