1-ŞÖBA · VETERINARIYA MEDITSINASI VA HAYVONLAR SALOMATLIGI

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕФЕКТОВ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЯСНЫХ ПОРОД

Нурпеисова Раушан Кадирбаевна, Муслимова Жадыра Умирбеккызы, Тургумбеков Асет Абдымаратович, Усенбеков Есенгали Серикович

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет»

DOI
10.66073/ReFocus-Conf/1311019

NASHR SANASI
13.11.2026 · Nukus

SAHIFALAR
121–123

NASHR HAMKORI
Research Focus
ISSN 2181-3833

IQTIBOS UÇUN Нурпеисова Р.К., Муслимова Ж.У., Тургумбеков А.А., Усенбеков Е.С. Молекулярно-генетические методы диагностики генетических дефектов у крупного рогатого скота мясных пород // Veterinariya meditsinasi va çorvaçilikdagi dolzarb muammolar va ularning yeçimlari: xalqaro ilmiy va ilmiy-texnik anjuman materiallari. – Nukus, 2026. – B. 121–123. – DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/1311019

Введение. Согласно информации Американского сайта OMIA – Online Mendelian Inheritance in Animals у сельскохозяйственных животных в настоящее время встречаются 1842 наследственных аномалии, которые сопровождаются снижением жизнеспособности приплода, эмбриональной смертностью, рождением приплода с различными уродствами и наносит значительный экономический ущерб животноводству. Количество генетических дефектов у крупного рогатого скота достиг до 695 и наблюдается тенденция увеличения вредных мутации, особенно у племенных животных в результате высокого уровня инбридинга, интенсивной селекции. В настоящее время хорошо разработаны методы диагностики генетических дефектов у крупного рогатого скота молочных пород, голштинской, симментальской, джерсейской, айрширской пород, у крупного рогатого скота мясных пород часто не проводится диагностика наследственных аномалии из-за отсутствия доступных молекулярно-генетических методов диагностики.

Таким образом, у крупного рогатого скота мясных зарегистрированы следующие генетические дефекты: Hypotrichosis (HY), Dilutor (DL), Idiopathic epilepsy (IE), Maple Syrup Urine Disease Free (MSUD), Mandibulofacial Dysostosis (MD), Delayed Blindness (DB), Developmental Duplications (DD), Arthrogryposis Multiplex (AM), Osteopetrosis (OS), Double muscling (M1), Arachnomelia Syndrome (AS), которые возникли в результате точечной мутации, делеции или инсерции в эзконных частях соответствующих генов [1].

Генетическая аномалия Hypotrichosis (HY) возник у крупного рогатого скота герефордской породы в результате делеции (c.334delTGTGCCCA) в кодирующей части гена KRT71. Есть информация, что генетический дефект HY встречается у крупного рогатого скота породы герефорд. Следовательно, моногенная причина этой

специфичной для герефордской породы формы HY у крупного рогатого скота доказана [2,3]. В другой работе описываются клинические, гистопатологические, трихографические и генетические результаты врожденного гипотрихоза (KRT71), наблюдаемого у телят герефордской породы. Биопсия кожи для гистопатологии, образцы волос для трихограммы и образцы крови для генотипирования были получены от пораженных и контрольных телят, а также быка-отца и коров-матерей. У пораженных животных наблюдалась светло-коричневая шерсть с редким, тонким, вьющимся или пушистым волосяным покровом. ДНК Анализ подтвердил, что гипотрихозные телята были гомозиготными по мутации KRT71, в то время как один контрольный теленок, бык и коровы были гетерозиготными носителями. Таким образом, врожденный гипотрихоз у крупного рогатого скота герефордской породы является результатом 8 нуклеотидной делеции в составе гена KRT71 с клиническим проявлением в виде фолликулярной дисплазии [4].

Материалы и методы исследования. В качестве материала для исследования были использованы замороженные образцы крови коров, быков производителей и молодняка казахской белоголовой, калмыцкой, аулиекольской пород, сантагретруда из крестьянских хозяйств. Выделение геномной ДНК из замороженной крови проводилось классическим фенольным методом. Для детекции носителей Hypotrichosis были использованы следующие праймеры: общего прямого HY F CGGAAGTCGGAGCCTTTACA и обратного праймера для дикого тип аллели гена KRT71 RN ACGCACTTTCTGGATCTCGG, обратного праймера для мутантного типа аллели HY RM CCAGGTCAGTTGGGCACAT, размер амплификата для нормального гомозиготного генотипа 259 п.н. Для генотипирования варианта мутации p.Ala612Glu в части гена PMEL были использованы праймеры: F: 5'-AGCCAGGATCAAGACCAAG -3' и R- 5'-GATAGCTGTTAAGTAAGTGG -3' (размер фрагмента 463 п.н.). Для идентификация аллелей гена PMEL использована рестриктаза BlpI, с сайтом рестрикции G/CTNAGC, где N соответствует нуклеотидам A,G,C,T, после рестрикции рестриктазой BlpI в зависимости от генотипа образуются фрагменты: 463 п.н., 319 п.н., 144 п.н.

Результаты исследования. Для разработки молекулярно-генетических способов диагностики генетических дефектов необходимо иметь информацию о генетической природе наследственных аномалии и место локализации точечной мутации и делеции. Детекция гетерозиготных носителей 8 нуклеотидной делеции (g.27331221delTGTGCCCA) в части гена KRT71 была осуществлена методом TETRA-PRIMER ARMS-PCR реакции. При использовании метода TETRA-PRIMER ARMS-PCR реакции у гомозиготных здоровых особей на электрофореграмме обнаруживаются фрагменты 472 п.н. и 234 п.н., у гетерозиготных носителей выявляются три фрагмента 472 п.н., 292 п.н. и 234 п.н. Преимуществом указанного способа является исключение использования рестриктазы для идентификации дикого и мутантого типов аллелей гена KRT71.

В настоящее время известны две точечные мутации в части гена SILV (c.64A>G) и в части гена PMEL p.Ala612Glu, которые ассоциируются с генетическим дефектом Dilutor (DL) у крупного рогатого скота мясных пород. В результате ПЦР получаем амплификат гена SILV размером 434 п.н. Для идентификации аллелей гена SILV нами была использована эндонуклеаза SfcI и все образцы оказались гомозиготными здоровыми

животными, обнаружены два фрагмента: 244 п.н. и 190 п.н. У крупного рогатого скота интенсивность окраса, масти, разбавление масти зависит от экспрессии гена PMEL (p.Ala612Glu, SNP) и для изучения уровня гетерозиготности у исследуемой популяции был использован метод ПЦР-ПДРФ анализа. Получен амплификат, размером 463 п.н. (фрагмента гена PMEL), идентификация аллелей гена осуществлена путем гидролиза ПЦР продукта рестриктазой BlpI с сайтом рестрикции G/CTNAGC и у исследуемых животных были обнаружены гомозиготный генотип, фрагменты 319 п.н., 144 п.н., гетерозиготный генотип, фрагменты 463 п.н., 319 п.н., 144 п.н.

Выводы. Проведен генетический мониторинг на следующие наследственные заболевания: Hypotrichosis (HY), Dilutor (DL). У исследуемой популяции животных не были выявлены гетерозиготные носители скрытых генетических дефектов: Hypotrichosis (HY), Dilutor (DL). Однако, у всех исследуемых животных выявлен генетический полиморфизм по локусу гена PMEL p.Ala612Glu, который был идентифицирован методом ПЦР-ПДРФ анализа. Разработан, альтернативный способ детекции гетерозиготных носителей синдрома Hypotrichosis методом TETRA-PRIMER ARMS-PCR, где у гетерозиготных носителей хорошо видны фрагменты на электрофореграмме: 472 п.н., 292 п.н., 234 п.н. Следует отметить, что идентификация аллелей гена PMEL, c.64G>A SNP полиморфизма проведена классическим ПЦР-ПДРФ методом. Можно преполагать, что популяция крупного рогатого скота локальных пород, казахской белоголовой, калмыцкой, аулиекольской пород чистая, не является носителями вредных мутации. Интересными были результаты генотипирования по локусу гена PMEL p.Ala612Glu, ассоцированного с разбавлением окраски животного, уровень гетерозиготности по данному локусу был высоким у калмыцкой породы и составил 21,3%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Elena N. Konovalova, Olga S. Romanenkova, Valeria V. Volkova, and Olga V. Kostyunina. DNA analysis of the Russian populations of Aberdeen Angus, Hereford and Belgian Blue cattle.
2. Olson, T.A. Hargrove, D.D. Leipold, H.W. Occurrence of Hypotrichosis in Polled Hereford Cattle. Bov. Pract. 1985, 20, 4–8.
3. Thibaud Kuca, Brandy M Marron, Joana G P Jacinto, Julia M Paris, Christian Gerspach, Jonathan E Beever, Cord Drögemüller. A Nonsense Variant in Hephaestin Like 1 (HEPHL1) Is Responsible for Congenital Hypotrichosis in Belted Galloway Cattle. Genes (Basel). 2021 Apr 26;12(5):643. doi: 10.3390/genes12050643.
4. Agustín Romero-Benavente, Carolina Briano-Rodriguez and Fernando Dutra-Quintela. Hypotrichosis congenita (KRT71 mutation) in Hereford cattle in Uruguay. Pesq. Vet. Bras. 43:e07327, 2023 DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7327