

**Выводы.** Проведенный сравнительный анализ прижизненной оценки показал по ремонтному молодняку собственного производства компании ООО «НАТ», что по глубине мышцы картина несколько изменилась и свинки крупной белой породы (LW) имеют преимущество над гибридными свинками F1 (1050).

Важно подчеркнуть, что гибридные свинки F1 (1050) используются для производства откормочного поголовья, их потомство откармливается и отправляется на мясокомбинат. Товарный молодняк является конечным продуктом гибридизации. Генетическое усовершенствование достигается селекцией и скрещиванием исключительно среди племенных чистопородных животных. Впоследствии эти усовершенствования передаются откормочному поголовью.

#### **Список литературы**

1. Самсонова О. Е., Бабушкин В. А. Современные методы селекции в свиноводстве: Учебное пособие. Минсельхоз России, Мичуринский ГАУ. Тамбов: Консалтинговая компания Юком, 2019. – 60 с.
2. СГЦ без денег и генетики // Агроинвестор. – 2016. – № 10. – С. 10–14.
3. Свиначев И. Ю. Свиноводческая ферма на 100 свиноматок с циклично-туровой системой опоросов / И. Ю. Свиначев, Н. А. Святогоров // Вестник Донского государственного аграрного университета. – 2016. – № 2–1(20). – С. 22–28.
4. Третьякова О. Л. Создание генотипической конструкции линии на основе индексной оценки свиней / О. Л. Третьякова, Л. В. Гетманцева, А. Е. Святогорова, И. Ю. Свиначев //

В сборнике: Современные технологии сельскохозяйственного производства и приоритетные направления развития аграрной науки Материалы международной научно-практической конференции: в 4-х томах, 2014. – С. 226–230.

5. Третьякова О. Л. Оценка инновационных технологий в свиноводстве / О. Л. Третьякова, И. Ю. Свиначев, Н. А. Святогоров // Селекция и технология производства продукции животноводства : Материалы международной научно-практической конференции, пос. Персиановский, 10 февраля 2021 года. – пос. Персиановский: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Донской государственный аграрный университет», 2021. – С. 98–108.

6. Третьякова О. Л. Оценка продуктивности свиноматок породы дюрок / О. Л. Третьякова, А. Е. Святогорова, С. С. Романцова // Современные наукоемкие технологии производства продукции животноводства: Материалы международной научно-практической конференции, пос. Персиановский, 09 февраля 2022 года. – пос. Персиановский: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Донской государственный аграрный университет», 2022. – С. 53–57.

7. Третьякова О.Л., Свиначев И.Ю., Святогор Н.А., Гревцов О.В. Оценка технологий промышленного свиноводства соответствии критериям наилучших доступных технологий / О. Л. Третьякова, И. Ю. Свиначев, Н. А. Святогор, О. В. Гревцов // Эффективное животноводство. – 2017. – № 8(138). – С. 43–45.

DOI: 10.48612/sbornik-2023-1-8  
УДК 636.01

### **НОВАЯ СИСТЕМА ГЕНОТИПИРОВАНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (*BOS TAURUS*)**

**Столповский Юрий Анатольевич**, д-р биол. наук

**Кузнецов Сергей Борисович**, канд. биол. наук

**Солоднева Евгения Владимировна**

*ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия*

Существует два основных направления, связанные с производством продовольствия: индустриальное и органическое. Еда рождается на полях, а не в стойлах промышленных ферм или

в лабораториях генной инженерии (Slow Food, <https://www.slowfood.com>). С нашей точки зрения именно, с помощью молекулярно-генетических методов исследования генофондов животных, растений, возможно получить научное обоснование для устойчивого развития сельского хозяйства при чем как индустриального, так и органического. Для генотипирования одомашненных видов животных предложена новая система, основанная на ДНК-микрочиповой технологии. Создан прототип тест-системы для выявления генетических маркеров продуктивности, определения чистопородности, моногенных заболеваний крупного рогатого скота в формате ДНК-микрочипа. Разработан метод иммобилизации олигонуклеотидов на полимерную основу, фиксации их при помощи ультрафиолетового облучения и гибридизации на него ДНК с последующим мечением и проявлением генотипов. Генотипирование двух генов, кодирующих казеины молока: CSN3 – ген каппа-казеина и CSN2 – ген бета-казеина, у абердин-ангусской и голштино-фризской пород с помощью реал-тайм ПЦР и созданного ДНК-микрочипа показали идентичные результаты.

**Ключевые слова:** ДНК-микрочип; крупный рогатый скот; гены-кандидаты; геномная селекция; генотипирование; генетическое разнообразие

### NEW CATTLE GENOTYPING SYSTEM (BOS TAURUS)

**Stolpovsky Yuri Anatolievich**, Dr. Biol. Sci.

**Kuznetsov Sergey Borisovich**, PhD Biol. Sci.

**Solodneva Eugenia Vladimirovna**

*Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russian Federation*

There are two main areas associated with food production: industrial and organic. Food is born in the fields, not in industrial farm stalls or genetic engineering labs (Slow Food, <https://www.slowfood.com>). From our point of view, it is with the help of molecular genetic methods for studying the gene pools of animals and plants that it is possible to obtain a scientific justification for the sustainable development of agriculture, both industrial and organic. For the genotyping of domesticated animal species, a new system based on DNA microarray technology has been proposed. A prototype test system has been created to identify genetic markers of productivity, determine purebred, monogenic diseases of cattle in the format of a DNA microarray. A method has been developed for immobilizing oligonucleotides on a polymer base, fixing them with ultraviolet irradiation, and hybridizing DNA on it, followed by labeling and genotype manifestation. Genotyping of two genes encoding milk caseins: CSN3 - kappa-casein gene and CSN2 - beta-casein gene, in Aberdeen-Angus and Holstein-Friesian breeds using real-time PCR and the created DNA microchip showed identical results.

**Key words:** DNA microarray; cattle; candidate genes; genomic selection; genotyping; genetic diversity

В настоящее время обнаружены сотни генов с известной функцией, сотни тысяч SNP, расшифрованы геномы основных одомашненных видов животных, начаты работы по геномному редактированию. Изучая функциональную роль генов, их взаимодействие и регуляцию, мы начинаем лучше понимать генетические механизмы создания пород, их продуктивности. Ученые разрабатывают новые подходы для оценки селекционного (племенного) статуса, генетического потенциала сельскохозяйственных животных, где краеугольными камнями становится как генотип, так и фенотип животного. Данные генетики, эпигенетики, зоотехнии, ветеринарии

формируют обширную базу данных о генофонде пород животных.

Развитие геномики привело к созданию и развитию так называемой маркерной селекции, основанной на выявлении и направленном отборе генов и аллелей, оказывающих влияние на важные в сельском хозяйстве количественные признаки. Методом анализа групп сцепления (linkage analysis), а затем и методом полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) был осуществлен масштабный поиск локусов количественных признаков (QTL) – областей ДНК, содержащих гены (либо сцепленные с ними участки), оказывающие значимый эффект на выраженность количе-

ственного признака.

Маркер-опосредованная селекция так и не получила широкого распространения, поскольку считается, что кумулятивный эффект всех обнаруженных QTL относительно мал: значительно ниже общей наследуемости интересующих признаков и поэтому, по мнению ряда исследователей, не может служить достаточно эффективным инструментом оценки племенной ценности в селекционных программах [5]. Вопрос дискуссионный, так как с нашей точки зрения, в настоящее время исследовано все же небольшое количество генов, кроме того, до сих пор не выяснены механизмы их взаимодействия. Сегодня нет информации относительно истинного уровня генетической изменчивости среди большинства видов домашних животных, как нет понимания о количестве генов и их сочетаний, формирующих хозяйственно-полезные признаки. Без знания уровня генетической изменчивости невозможно определять генетическую ценность животных, многочисленных пород и популяций, а также принимать научно-обоснованные решения по сохранению и устойчивому развитию агробиоразнообразия [1, 2].

**Методика исследований.** Выделение ДНК. Из мышц абердин-ангусской и спермы быков голштино-фризской пород КРС была выделена ДНК колоночным методом с помощью набора компании Евроген.

Реал-тайм ПЦР. Анализ ДНК методом реал-тайм ПЦР проводили на приборе LightCycler®96 SW 1.1 при условиях: 1 цикл – 3 мин. при 95 °С 55 циклов: 95 °С – 15 секунд, 55 °С – 15 секунд, 72 °С – 20 секунд, с последующим анализом пиков плавления полученных ампликонов. Генотипировали образцы с помощью праймеров к генетическим маркерам (мутациям) двух генов, кодирующих казеины молока: CSN3 – ген каппа-казеина и CSN2 – ген бета-казеина. Результаты генотипирования методом реал-тайм ПЦР использовали для верификации результатов генотипирования, полученных с помощью разрабатываемого ДНК-микрочипа.

Создание ДНК-чипа. ДНК-микрочип представляет из себя подложку из пластика полиметилметакрилат стандартного размера (25x75x1 мм). На поверхности каждой подложки формировали 16 массивов точек; каждый массив включал в себя 150 точек так, что каждый олигонуклеотид наносили не менее

чем в 3 повторах. Каждый массив включал также позитивный и негативный контроли.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В последние годы активно развиваются методы производства ДНК-микрочипов, которые существенно снижают их стоимость и упрощают их использование [3, 5, 6]. В этих статьях описываются методы иммобилизации олигонуклеотидов на необработанный пластик, фиксации их при помощи ультрафиолетового облучения и гибридизации на него меченых зондов с последующим проявлением. Наиболее перспективными (востребованными на практике) выглядят следующие параметры таких микрочипов: легкость и дешевизна производства, и простота анализа. Проведя серию экспериментов, обобщив опубликованные результаты, адаптировав их под задачи генотипирования одомашненных видов животных была предложена следующая схема производства микрочипов и анализа геномов КРС. Олигонуклеотиды, которые являются аллельспецифичными праймерами, должны иметь на 5'-конце «хвост» из 10 Т и 10 С. Они печатаются на роботизированном принтере на подложки из пластика (polymethyl methacrylate – PMMA), известного как оргстекло, толщиной 1 мм и после высыхания фиксируются на них обработкой в кросслинкере с излучением 254 nm и мощностью 3 mW/cm<sup>2</sup> в течение 10 минут. После чего следуют гибридизация с ДНК и одновременное мечение с последующим выявлением метки.

В результате работы с литературными и геномными базами данных сделан отбор хозяйственно-значимых признаков крупного рогатого скота (КРС), представляющих интерес для заводчиков и исследователей, как промышленных, так и местных пород. Цель проанализировать их генофонд при помощи создаваемого ДНК-микрочипа. Признаки разделены на три группы: молочная продуктивность и качество молока, мясная продуктивность и качество мяса, генетически обусловленные заболевания и генетически обусловленная устойчивость к заболеваниям.

В нашей работе для верификации данных (корректности работы чипа) был исследован полиморфизм двух генов, кодирующих казеины молока: CSN3 – ген каппа-казеина и CSN2 – ген бета-казеина у абердин-ангусской и голштино-фризской пород КРС.

Количественные результаты ПЦР в ре-

альном времени соответствовали результатам данных, полученных с помощью ДНК-микрочипа.

**Выводы.** Можно сделать вывод, что разработанный прототип ДНК-чипа и условия для его печати и анализа генотипа соответствуют предъявляемым условиям для генотипирования КРС по известным SNP генов-кандидатов.

Вопросы изучения генетических: потенциала, разнообразия, структуры в породах отечественных пород сельскохозяйственных животных на основе информации, закодированных в их геномах, с целью использования полученных данных в селекции, поддержаны рядом государственных программ. Технология ДНК-микрочипов низкой плотности может стать эффективным инструментом, альтернативным подходом к традиционному пост-ПЦР-саузерн-блоттингу и стать одной из самых важных технологий последнего времени в отечественном животноводстве. Новая универсальная система генотипирования крупного рогатого скота позволяет анализировать практически все известные и вновь открываемые SNP с известными функциями. То есть является быстрым, недорогим и эффективным инструментом для тестирования полиморфизма генов. С помощью технология ДНК-чипов открываются новые возможности для генетической паспортизации животных, пород и популяций, определения племенной ценности животных, корреляций между полиморфизмами генов их взаимодействием.

Очевидно, что предлагаемая технология может быть использована на других видах животных, а также растений. Это инструмент для генетико-селекционных экспериментов, мониторинга и сохранения генетического разнообразия в породах, племенного дела, искусственного отбора и подбора пар для скре-

щивания и т.д.

*Работа выполнена в рамках государственных заданий Минобрнауки РФ «Генетические технологии в биологии, медицине и сельском хозяйстве»-122022600162-0 и «Изучение генофондов сельскохозяйственных животных»-AAAA-A16-116111610182-7, а также при поддержке гранта РФФ № 23-16-00059.*

#### **Список литературы**

1. Столповский Ю. А. Новая система генотипирования крупного рогатого скота на основе технологии ДНК-микрочипов / Ю. А. Столповский, С. Б. Кузнецов, Е. В. Солоднева, И.Д. Шумов // Генетика. – 2022. – Т. 58(8). – С. 857–871.
2. Столповский Ю. А. Генетические аспекты истории развития скотоводства на территории России / Ю. А. Столповский, Е. Р. Гостева, Е. В. Солоднева // Монография. Москва: Акварель. – 2022. – 88 с.
3. Dufva M. Detection of mutations using microarrays of poly(C)10–poly(T)10 modified DNA probes immobilized on agarose films / M. Dufva, J. Petersen, M. Stoltenborg // Analytical Biochemistry. – 2006. – V. 352. – P. 188–197.
4. Gibriel A. A. Advances in ligase chain reaction and ligation-based amplifications for genotyping assays: Detection and applications / A. A. Gibriel, O. Adel // Mutation Research. – 2017. – V.773. – P. 66–90.
5. Goddard M. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes / M. Goddard, B. Hayes // Nat. Rev. Genet. – 2009. –Vol. 10. – P. 381–391.
6. Sun Yi. Direct immobilization of DNA probes on non-modified plastics by UV irradiation and integration in microfluidic devices for rapid bioassay / Yi. Sun, I. Perch-Nielsen, M. Dufva // Anal. Bioanal. Chem. – 2012. – V. 402. – P. 741–748.