

УДК 575.113:637.12.043

ВЛИЯНИЕ ГЕНА KCNQ3 НА СОДЕРЖАНИЕ ЖИРА В МОЛОКЕ КОРОВ

Ю.В.Мукий*, И.В.Емельянов

INFLUENCE OF THE GENE KCNQ3 ON THE FAT CONTENT IN COW MILK

Yu.V.Mukiy, I.V.Emel'yanov

*Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины,
Институт сельского хозяйства и природных ресурсов НовГУ, ayson@mail15.com

Прогенотипированы 103 быка голштинизированной черно-пестрой породы крупного рогатого скота ОАО «Невское» на наличие нуклеотидной замены С (G), находящейся в интроне гена KCNQ3, в rs41580517. Установлено доминирование аллели G по сравнению с С в исследуемой выборке животных. Проанализированы данные по влиянию исследуемой замены на количество молочного жира и % жира в молоке дочерей быков по отношению к сверстницам. Установлено влияние гена KCNQ3 на содержание жира в молоке коров черно-пестрой породы.

Ключевые слова: одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNP), локусы количественных признаков (QTL), молочный скот, хромосома BTA14, ген KCNQ3, % жира, количество жира (выход)

103 bulls of Holstein black-and-white breed of JSC "Nevskoe" cattle are genotyped for the presence of nucleotide substitution C (G), located in an intron of the gene KCNQ3, in rs41580517. The dominance G allele in comparison with C allele in studied animals is revealed. The data on the influence of the studied substitution on milk fat content and the one in the milk of the bulls' daughters in comparison with their herdmates is presented. The influence of the gene KCNQ3 on the fat content in the milk of cows of black-and-white breed is established.

Keywords: single nucleotide polymorphism (SNP), quantitative trait loci (QTL), milk cattle, chromosome BTA14, gene KCNQ3, fat percentage (FP), fat yield (FY)

Введение

Обнаружение генов, ответственных за такие экономически важные признаки у молочного скота,

как удой, количество и % жира и белка в молоке, является сложной задачей. Эти количественные признаки полигенны и контролируются кумулятивным действием многих генов. Кроме того, число взаимодей-

ствующих генов неизвестно. Факторы окружающей среды также могут усложнить процесс, так как они оказывают смешанное влияние на фенотипы [1,2]. Тем не менее, последние события в области молекулярной биологии и статистической методологии допускают возможность локализовать регионы генов в геноме или хромосомы, отвечающие за ряд интересных признаков [3, 4].

В настоящее время ВТА14 у крупного рогатого скота является одной из наиболее изученных хромосом по локусам количественных признаков (QTL). Проведено большое количество исследований QTL для различных признаков и обнаружено в общей сложности 126 QTL в этой хромосоме. Большинство QTL, локализованных на ВТА14, связаны с молочной продуктивностью: это удои (MY), процентное содержание жира (FP), выход жира (FY), процент белка (PP) и выход белка (PY) [5-8]. Другие признаки, такие как воспроизводство (REPRO): легкость отела, способность к быстрому осеменению, частота образования двоен; клинические: число соматических клеток в молоке, клиническое проявление мастита, анатомические: строение вымени (расположение сосков, ширина вымени и другие признаки), также исследованы на ВТА14.

Исследуемый ген KCNQ3 относится к семейству KCNQ1-5, локализован также на 14 хромосоме. Это ген потенциал-зависимого калиевого канала K^+ . Калиевые каналы — это структуры, которые обеспечивают поток ионов калия через мембрану нейронов и обнаружены практически во всех типах клеток у млекопитающих. Семейство данных генов контролирует электровозбудимость мембраны соматических клеток, передачу нейротрансмиттерного сигнала в нервной системе. Известно, что мутации в генах семейства KCNQ приводят к уменьшению K^+ потенциала, следствием чего является сверхвозбудимость клеточных мембран. Этот механизм взаимосвязан с образованием и выделением молочного жира [9].

Основу используемых в настоящее время методов оценки ПЦ (племенной ценности) животных составляет разница средних значений продуктивности дочерей и сверстниц в абсолютном её выражении (кг, %) Поскольку, в отличие от коров, прямую оценку быков по молочной продуктивности провести невозможно, их ПЦ определяют косвенно — по продуктивности дочерей. В этой связи был разработан единый критерий оценки племенных качеств быков и коров, отражающий свойства их генотипа — передающую способность. В нашей работе использовались данные по модифицированной оценке племенной ценности быков модифицированным методом сравнения со сверстницами (ММСС).

Целью исследования являлась проверка эффекта SNP rs41580517 в гене KCNQ3 на ассоциацию с содержанием жира в молоке.

Материалы и методы

Для генотипирования быков в отношении аллелей соответствующих SNP была использована ДНК, выделенная из спермы 103 быков черно-пестрой породы ОАО «Невское». Данные быки прошли племенную оценку модифицированным методом сравнения со сверстницами (ММСС). Использовались ранее сконструированные аллель-специфичные праймеры с применением программы Primer3 и базы полного сиквенса генома крупного рогатого скота Btau5.2. таким образом, чтобы проверить все известные missens замены в экзонах гена KCNQ3. Амплификация осуществлялась с применением реактивов фирмы «Fermentas» (Латвия) и термоциклера Терцик (ДНК-Технология, Москва). Реакционная смесь включала на 30 мкл: 50—100 нг ДНК, по 5 пмоль праймеров, 1,5 mM $MgCl_2$, 0,2 mM dNTP и 0,3 ед. *Taq*-полимеразы. Всего 35 циклов при следующем режиме: 92 °C 1 мин, 60 °C 1 мин, 72 °C 1 мин и 1 цикл 72 °C. Продукты ПЦР-реакции анализировали в 1,5%-ном агарозном геле. Для статистической оценки полученных данных использовался дисперсионный анализ с помощью программы ANOVA. Расчеты неравновесия по сцеплению (LD), измеряемые как коэффициент корреляции в квадрате (r^2) между SNPs, осуществляли с помощью программы HAPLOVIEW 4.2.

Результаты исследований

В результате проведенных экспериментов получены следующие данные (табл.). Из таблицы видно, что аллель G преобладает в генотипах изучаемых быков. Эта замена находится в маркерном rs41580517 гена KCNQ3. При изменении генотипа меняется содержание жира в молоке коров. При генотипе CC % и количество молочного жира по значениям выше, чем при генотипе GG. Однако чем больше значение, тем больше разброс показателей при сравнении со сверстницами. Гетерозиготы CG имеют усредненное значение по количеству жира в молоке (кг) и отрицательное значение по % содержанию жира. С помощью программы ANOVA был проведен дисперсионный анализ и установлено, что аллели C и G, локализованные в rs41580517, влияют на изменение содержания жира в молоке (см. табл.). Для того чтобы выявить взаимодействие соседних SNP, которые могут тоже быть причинными, рассчитывали LD (неравновесие по сцеплению) между ними (программа HAPLOVIEW 4.2.). Из предыдущих работ [10] нами

Влияние SNP rs41580517 на содержание жира в молоке дочерей (+/- к сверстницам) быков черно-пестрой голштинизированной породы

Генотип быков	% быков из 103 гол.	% жира в молоке	Количество жира в молоке, кг
CC	0,07	0,037 ± 0,014	3,03 ± 2,63
GG	0,31	0,009 ± 0,009	0,39 ± 1,10
CG	0,62	-0,007 ± 0,005	1,91 ± 0,66

установлено, что есть 4 SNP, находящиеся в наибольшем неравновесии по сцеплению с изучаемым маркером (rs41580517): rs133813481, rs109909704, rs110344676, rs110140024, которые также расположены в интроне гена KCNQ3. Их LD по отношению к маркеру составляет соответственно $r^2 = 0,51; 0,4; 0,3; 0,47$. Полное LD равняется 1. В данном случае этого не наблюдается. LD между маркерным и SNP, расположенными по краям гена KCNQ3, $r^2 = 0,04$. Следовательно, они не находятся в одном гаплотипе, а это снижает вероятность их совместной ассоциации с анализируемым признаком.

Заключение

Прогенотипированы 103 быка голштинизированной черно-пестрой породы крупного рогатого скота ОАО «Невское» на наличие нуклеотидной замены C(G), находящейся в интроне гена KCNQ3, в rs41580517. Установлено доминирование аллели G по сравнению с C в исследуемой выборке животных. Проанализированы данные по влиянию исследуемой замены на количество молочного жира и % жира в молоке дочерей быков по отношению к сверстницам. При разных генотипах CC, GG, CG показатели молочной продуктивности у коров изменяются. А так как замена C/G находится в SNP rs41580517, то очевидна его ассоциация с содержанием жира в молоке коров. Таким образом, установлено влияние гена KCNQ3 на содержание жира в молоке коров черно-пестрой породы.

1. Gutiérrez-Gil B., Wiener P., Nute G.R. *et al.* Detection of quantitative trait loci for meat quality traits in cattle // *Anim. Genet.* 2008; 39:51-61.
2. Boichard D., Grohs C., Bourgeois F. *et al.* Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds // *Genet. Sel. Evol.* 2003; 35:77-101.
3. Kim J.J., Farnir F., Savell J., Taylor J.F. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle // *J. Anim. Sci.* 2003; 81:1933-1942.
4. Casas E., Shackelford S.D., Keele J.W., Koohmaraie M., Smith T.P., Stone R.T. Detection of quantitative trait loci for growth and carcass composition in cattle // *J. Anim. Sci.* 2003; 81:2976-2983.
5. Ashwell M.S., Heyen D.W., Sonstegard T.S. *et al.* Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle // *J. Dairy Sci.* 2004; 87:468-475.
6. Bagnato A., Schiavini F., Rossoni A. *et al.* Quantitative trait loci affecting milk yield and protein percentage in a three-country Brown Swiss population // *J. Dairy Sci.* 2008; 91:767-783.
7. Harder B., Bennewitz J., Reinsch N. *et al.* Mapping of quantitative trait loci for lactation persistency traits in German Holstein dairy cattle // *J. Anim. Breed Genet.* 2006; 123:89-96.
8. Schnabel R.D., Sonstegard T.S., Taylor J.F., Ashwell M.S. Whole-genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families // *Anim. Genet.* 2005; 36:408-416. 2004; 167:1873-1881.
9. MacNeil M.D., Grosz M.D. Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford x composite double back-cross populations // *J. Anim. Sci.* 2002; 80:2316-2324.
10. Мукий Ю.В. Поиск и изучение SNP, ассоциирующих с молочной продуктивностью в гене KCNQ3 у крупного рогатого скота // *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* СПб., 2013. № 1. С. 116-119.

Bibliography (Transliterated)

10. Mukij Ju.V. Poisk i izuchenie SNP, associirujushhij s molochnoj produktivnost'ju v gene KCNQ3 u krupnogo rogatogo skota // *Voprosy normativno-pravovogo regulirovanija v veterinarii.* SPb., 2013. №1 S. 116-119.