

COWS OF DIFFERENT EXTERIOR TYPES HAVE BIOCHEMICAL INDEXES OF BLOOD AND THEIR CONNECTION WITH THE SUCKLING PRODUCTIVITY. Kogut M. I.

The biochemical are studied index of blood and their connection with the suckling productivity for the cows of two exterior types – suckling strong and combined.

Exterior type, western interbreeding type, biochemical indexes of blood

УДК 575.113:636.03

В. С. КОНОВАЛОВ

Інститут розведення і генетики тварин НААН

**ДНК-ПОПЕРЕДЖУВАЛЬНИЙ
СКРИНІНГ ЛЕТАЛЬНИХ МУТАЦІЙ
В ГЕНОФОНДІ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ
ХУДОБИ УКРАЇНИ**



Проведено сучасну оцінку структурно-функціональної ролі летальних мутацій обов'язкового скринінгу (1. BLAD, 2. SVM, 3. DUMPS, 4. Дефіцит фактора XI, 5. Цитруліноурія). Обґрунтовано необхідність їхньої елімінації.

ДНК-скринінг, велика рогата худоба, летальні мутації

Сучасний рівень розвитку молочного і м'ясного скотарства характеризується інтенсивними методами застосування різних репродуктивних технологій. В умовах сучасної орієнтації селекційного процесу на обмежене число видатних плідників (від 7 до 10) істотно зростає ймовірність швидкого поширення в генофонді породи тієї чи іншої прихованої летальної мутації. Подібні тенденції негативно відображаються на стабільності геному, посилюючи процеси генетичної корозії генофонду

© В. С. Коновалов, 2011

Розведення і генетика тварин. 2011. № 45

порід. Завдяки комплексному фено-цито-ДНК-скринінгу початок XXI століття характеризується встановленням в генофонді великої рогатої худоби понад 400 мутацій летальної дії. З них 31 точкова мутація виявлена ДНК-скринінгом, з яких п'ять мають тенденцію до швидкого накопичення в генофонді порід. Порівняльна оцінка рівнів прихованого генетичного вантажу в генофонді українських порід молочної та м'ясної худоби становить приблизно 3–5%, в той час як в генофонді комерційних порід західної селекції генетичний вантаж коливається в межах 10–15%. [2–4]. Виходячи з нової хвилі стратегічного розвитку молочного скотарства України за рахунок інтенсивного імпортування високопродуктивної худоби (тобто технології «генетики з коліс») для своєчасного обмеження накопичення імпортованого генетичного вантажу доцільним стає рішуче застосування тактики попереджувального скринінгу нижченаведених летальних мутацій (1.BLAD, 2.CVM, 3.DUMPS, 4.Дефіцит фактора XI, 5.Цитрулліноурія).

Основні характеристики біохімічних мутацій підлягають обов'язковому ДНК-скринінгу в геномі плідників.

Найбільш повчальним прикладом інтенсивного поширення молекулярних хвороб у генофонді комерційних порід і їхньої форсованої елімінації служить приклад імміграції в генофонди різних порід летального гена (синдром BLAD).

1. BLAD (Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency) – дефіцит адгезивності лейкоцитів – хвороба телят голштинської породи (за системою OMNIA порядковий номер 174-ідентифікаційний 000595. Розвиток аномалії асоціюється з дією гена-ITGB2).

Коротка характеристика. Дефіцит адгезивності лейкоцитів – генетично детерміноване захворювання з рецесивним типом успадкування, який контролює синтез глікопротеїдів В-інтегринів. У процесі міграції нейтрофілів до вогнища запалення даний метаболіт відіграє ключову роль. Вперше виявлений у худоби в 1983 р. під назвою «гранулоцитарний синдром». Молекулярна основа виникнення BLAD – точкова заміна (аденін-гуанін) в положенні 383 кодує ДНК (кДНК) гена CD18, який призводить до амінокислотної заміни у по-

слідовності відповідної білкової молекули (аспарагінова кислота – гліцин).

Плейотропна (множинна) дія мутації. У гомозиготних тварин зниження функціональної активності нейтрофілів призводить до порушення імунної відповіді на інфекційні агенти. Гомозиготні носії мутантного гена мають знижену інтенсивність росту. Вперше мутація BLAD проявилася у потомстві голштинського бугая Осборндейла Айвенго 1189870 (лінія М. Чифтейнам 95679) в США. За їхніми даними, у 10 млн. молочних корів (серед яких голштинська порода становить 80%) щорічно народжується 16000 телят з геном BLAD. Економічні затрати становлять близько 5 млн доларів. За 30-річний період поширення даного генетично зумовленого летального гена в генофонд різних порід зроблена різнобічна оцінка стану проблеми в світі, а також Україні та Росії [1, 2]. Висновок – урок перший – не допускати подібних організаційно-селекційних помилок.

2. Комплексна вада хребта (Complex spine defect CVM) (код в системі OMIA-локус 001340; ген асоціюється з мутацією-SLC35A3) – широко поширений рецесивний генетичний недолік голштинської і голштинізованої худоби). У племінних каталогах тварини носії маркуються генетичним кодом CV, а не носії – TV. Код ставиться після індивідуального номера тварини.

Фенотипові маркери у телят – носіїв CVM – загальна недорозвиненість, укорочена шия, деформовані хребці, що злилися, сколіоз, деформація суглобів передніх і задніх кінцівок. До дії цього рецесивного гена відносяться також вади серця. Про комплексну ваду хребта вперше повідомили датські ветеринари в 2000 р. Ми вважаємо, що мова йде про рецесивну мутацію A41 (описану ще в 1958–1972 роки в міжнародному списку летальних дефектів Стермонта і Візнера) Внаслідок явища, описаного нами раніше (мутаційної мікроеволюції летальних генів), виникло кілька множинних алелів даної мутації з різною силою експресивності, клінічна картина яких детально описується у ветеринарній літературі.

Основним носієм цього генетичного дефекта був видатний плідник К.М. Белла 1667366, який одночасно був носієм і мута-

ції BLAD. Тільки у США від К.М. Белла було отримано більше 79 тис дочок, оцінених за продуктивністю, і більше 1200 синів, оцінених за дочками. Таким чином, очевидним є віяловий тип розповсюдження летального дефекту по всьому світу.

Швидкість поширення-мутації SVM. ДНК-маркерна ідентифікація мутації і генетичний тест для виявлення прихованих носіїв SVM розроблені в 2002 р. Вже до 2006 р. застосування тесту показало, що у Голландії та Франції близько 40% плідників – приховані носії SVM, у США – 20, Італії – 15, в Канаді та Німеччині – 7%. В Росії досить докладно проаналізовано шлях імміграції мутації SVM у генофонд російських порід. Частка бугаїв – прихованих носіїв SVM – на плем-підприємствах Росії становить 3,7%. Проникнення захворювання в Росію і Україну відбувається, головним чином, за рахунок завезення плідників лінії Монтвік Чифтейнам 95679 через синів К. М. Белла 1667366: Белтона 1892913, С.Б.К. Білла Боса 1882141CV, Барлея 1964484, К.Б. Джуриста 1875356, а також онуків К. М. Белла 1667366; їхньої сперми або нетелей з Голландії та США, у меншій мірі – з Німеччини та Канади. Настільки швидке поширення мутації зумовило регулярну публікацію повного списку бугаїв, прихованих носіїв SVM, показано на сайті північноамериканської асоціації голштинської худоби [http://www.holstein.com./](http://www.holstein.com/)

Очевидно, що високий відсоток прихованих носіїв SVM у поголів'ї худоби за кордоном загрожує поширенням цього дефекту в країни СНД і, в першу чергу, в Росію та Україну. Системні публікації за специфікою розповсюдження даної летальної мутації в Росії проводяться представниками наукової школи академіка Ернста [3].

3. DUMPS (deficiency of uridine monophosphate synthetase) – дефіцит ферменту уридин-монофосфатсинтетази. (Міжнародний код у системі OMIA-000262 – асоційований з мутацією гена RTPN18). Хвороба зумовлена порушенням останнього етапу синтезу піримідину, тобто перетворення оротової кислоти в уридин-5'-монофосфат (UMP) в результаті дефіциту ферменту уридинмонофосфатсинтетази (UMPS-). Ген RTPN18 локалі-

зований у першій хромосомі. Точкова мутація в гені призвела до заміни в 405 положенні цитозину на тимін. Серія множинних алелів представлена: BDP1; EC 3.1.3.48; PTP-HSCF.

Плейотропний ефект. Недолік активного ферменту є аутосомною рецесивною ознакою і призводить до неправильного синтезу ДНК, який провокує розвиток мегабластоза і аномальне функціонування нервової тканини, призводячи до ранньої ембріональної смертності та ряду інших проявів. У гомозигот летальність починає проявлятися на ранній стадії ембріонального розвитку. Ембріони гинуть на ранній стадії свого розвитку (до 40 днів), тому гомозиготи DUMPS наразі не ідентифіковані. Для гетерозигот характерне 50% зниження ферментної активності УМФС у крові і підвищений вміст уротата у молоці. Очевидно, що настільки значне зниження ферментативної активності у гетерозиготних дочок бугаївності призводить до більш довгого міжотельного періоду.

Частота поширення мутації. Описана хвороба у вигляді аномалії рецесивного гена DUMPS вперше була виявлена в США. Через продаж племінних тварин, ембріонів і сперми голштинської худоби швидко поширилася у усьому світі. У США серед 287 найбільш інтенсивно використовуваних бугаїв США чотири плідники були носіями даної мутації. Аналіз рівня УМФС 85 корів (дочок від 7 биків голштинської породи) показав, що активність УМФС в еритроцитах 43 дочок була в нормі, у решти 42 корів становила половину норми. Встановлено, що дефіцит УМФС призводить до гальмування росту великої рогатої худоби. За результатами досліджень різних авторів, популяційна частота аномальних тварин у голштинів склала 2,34% [5].

4. Дефіцит фактора XI (factor XI deficiency) (код в системі OMIA F11 зареєстрований № 000363) – спадкова рецесивно зумовлена аномалія, ген якої F11 призводить до порушень згортання крові (гемофілії).

Множинні варіанти гена представлені у вигляді алелів: EC 3.4.21.27; FXI; MGC141891; ПТА. Геномні розташування даного гена F11 відносяться до цитогенетичної групи HGNC: мар-

кованої в 4 аутосомі (4q35; 4q35.2). Вперше дефіцит фактора XI описаний в 1969 р. у американських, а потім у різних порід худоби в Європі. При аналізі регуляторних механізмів формування дефіциту за фактором XI важливо враховувати, що в процесі згортання крові беруть участь не менше 12 факторів, кожен з яких виконує специфічну функцію і має свою цитогенетичну локалізацію у різних хромосомах (зокрема в 4 і 17 аутосомі). У Канаді частота зустрічальності дефіциту фактора XI в гетерозиготних тварин становить від 26 до 58%, у той час як гомозиготи мали рівень менше 1% (Gentry I, Black, 1982). Канадський досвід показав, що гетерозиготи за геном дефіциту фактора XI можуть мати схильність до таких захворювань, як пневмонія та порушень репродуктивної здатності [6].

5. Цітрулліноурія – (Tsitrullinonuria) (код в системі OMIA-000194; ген, що асоціюється з мутацією-RPS3A) – захворювання, зумовлене ензимотичним дефектом у циклі біосинтезу сечовини між трьома рибосомними генами FTE1; MFTL; MGC23240). У людини ці гени локалізовані в 4 аутосомі. Займаючи інформаційне поле 5 Мб, вони знаходяться в генетичному локусі GC04P152240 за адресою цитогенетичного маркування: 4q31.2-q31.3; 4q31.3; 4q31.2-q31.3; тип успадкування мутації – аутосомно-рецесивний. При селекційному використанні бугаїв-носіїв гена RPS3A на великому поголів'ї спадкове захворювання швидко поширюється в популяції і завдає значної економічної шкоди.

Біохімічний механізм розвитку спадкового захворювання пов'язаний із одним із найважливіших етапів циклу Крепс-Гензелента, в якому як наслідок порушується утворення аргінінянтарної кислоти. Реакція здійснюється у присутності АТФ за участі ферменту-синтетази аргінінянтарної кислоти. При відсутності цього ензиму порушується синтез сечовини. Процес деградації амінокислот відбувається переважно в печінці. При цьому звільняється аміак, який є клітинною отрутою. При високих концентраціях він пошкоджує, головним чином, нервові клітини. Тому аміак повинен швидко інак-

тивуватись і виводитися з організму. Мутаційні порушення обміну пуринів та піримідинів впливають і на метаболізм нуклеїнових кислот. У зв'язку з цим, внаслідок цитруліноурії утворюється нуклеотидна недостатність, яка призводить до летального результату рецесивних гомозигот, що істотно впливає на економіку ведення тваринництва. За безконтрольної міграції в генофонд тварин гена RPS3A кількість гетерозиготних носіїв може досягати більше 50%. [7]. Подібні частоти мутаційного тиску гена цитруліноурії в генофонді тієї чи іншої породи, стада є критичними і вимагають негайних заходів щодо зниження генетичного ризику. Міжнародний каталог основних носіїв мутації знаходиться в стадії формування.

Висновок. Можливість виявлення за допомогою ДНК-скринінгу раніше прихованої від селекціонера мінливості вже дозволяє глибше аналізувати проблеми генетичного вантажу і диференціювати генетичні ризики в залежності від їхнього впливу на гомеостатичні механізми життєздатності і відтворної здатності організму. Важливо враховувати, що результати системного моніторингу летальних мутацій у поєднанні з автоматизованим первинним зооветеринарним урахуванням, дають можливість оперативно застосовувати програму попереджувального скринінгу на використання в селекційному процесі видатних виробників – носіїв мутацій. Очевидно, що своєчасний фено-цито-ДНК-скринінг перерахованих мутацій суттєво знизить темпи корозії генофонду порід.

1. *Рекомендації з генетичного контролю розповсюдженості мутації VLAD у великої рогатої худоби / В. П. Буркат [та ін.]. – Чубинське, 2005. – 24 с.*

2. *Генетические риски и управление ими в селекционном процессе / В. С. Коновалов [та ін.] // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. НАН України. – 2010. – Т.8. – С. 47–51*

3. *Жигачев, А. И. О накоплении груза мутаций в породах крупного рогатого скота при интенсивных технологиях воспроизводства и улучшения по целевым признакам / А. И. Жигачев, Л. К. Эрнст, А. С. Богачев // С.-х. биология. – 2008. – № 6. – С.25–32.*

4. *Complex vertebral malformation in holstein calves. /J Vet, JS.Agerholm, C. Bendixen, O. Andersen, J. Arnbjerg // Diagn Invest. – 2001. – Jul;13(4). – P. 283–290.*

5. *Ghanem, M. Deficiency of uridine monophosphate synthase (DUMPS) and X-chromosome deletion in fetal mummification in cattle / M.Ghanem, T. Nakao, M. Nishibori // Anim Reprod Sci. – 2006. – Jan; 91(1-2). – P. 45–54.*

6. *Gentry, P .A. Coagulation factor XI deficiency in Holstein cattle: expression and distribution of factor XI activity / P .A. Gentry, M. L. Ross // Can J Vet Res. – 1994. – October; 58(4). – P. 242–247.*

7. *Meydan, H. Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinaemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey / H .Meydan, M. Yildiz, J. Agerholm //Acta Vet Scand.– 2010. – Oct, 7. – P. 52–56.*

ДНК-УПРЕЖДАЮЩИЙ СКРИНИНГ ЛЕТАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ В ГЕНОФОНДЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА УКРАИНЫ. Коновалов В. С.

Проведена современная оценка структурно-функциональной роли летальных мутаций обязательного скрининга (1.BLAD, 2.CVM, 3.DUMPS, 4.Дефицит фактора XI, 5.Цитруллиноурия). Обоснована необходимость их элиминации.

ДНК-скрининг, крупный рогатый скот, летальные мутации

DNA PROACTIVE SCREENING LETHAL MUTATIONS IN THE GENE POOL CATTLE UKRAINE. Konovalov V.S.

Carried out a modern assessment of structural and functional role of the lethal mutations mandatory screening (1.BLAD, 2.CVM, 3.DUMPS, 4.Defitsit factor XI, 5.Tsitruillinonuriya) estimated the need for their elimination.

DNA screening, cattle, lethal mutations