

УДК 636.2:082.21:577.2  
© 2012

*Н.М. Шкавро*

*О.В. Дробязко*

*О.А. Бойко,*

*В.І. Россоха,*  
кандидати сільсько-  
господарських наук

*Т.Е. Ткачик,*

кандидат  
біологічних наук

Інститут  
тваринництва НААН

## **ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА КАППА-КАЗЕЇНУ РІЗНИХ ПОПУЛЯЦІЙ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ**

*Проведено оцінку структури популяцій червоної степової, української чорно-рябої та симентальської порід худоби за геном каппа-казеїну. Переважну більшість становили тварини з генотипом AA, що свідчить про високу молочну продуктивність досліджених порід. Значною кількістю тварин — носіїв В-алеля гена каппа-казеїну характеризується досліджувана популяція червоної степової породи — 19%.*

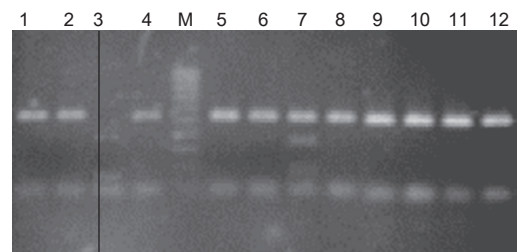
З огляду на інтенсифікацію галузі тваринництва в умовах ринкової економіки особливо заострення набула проблема раціонального використання, стабілізації розвитку та подальшого відродження молочного скотарства. Водночас потрібно проводити всебічну оцінку племінних якостей тварин на основі отримання генетичної інформації, пов'язаної з певними генами або генними комплексами [3, 7]. Як генетичні маркери для дослідження генофонду тварин використовують структурні фрагменти ДНК тварин, які прямо зумовлюють або опосередковано пов'язані з господарсько корисними ознаками у різних порід великої рогатої худоби. До групи алельних варіантів генів, які впливають на молочну продуктивність худоби, належать: гени білків молока (каппа-казеїн, β-лактоглобулін); ліпідного обміну (лептин); гормональної регуляції організму (гормон росту, гіпофізарний специфічний фактор регуляції транскрипції) і молочної залози (пролактин) [1, 4, 5, 8–12]. Каппа-казеїн — білок міцел молока (субстрат дії сичужних ферментів при переробці молока), ген каппа-казеїну пов'язаний з умістом білка в молоці, його зсіданням, якістю та виходом білково-молочних продуктів. Для гена каппа-казеїну описано 7 алельних варіантів, з яких найпоширеніші 2 алеля — А і В. Вони є результатом двох точкових мутацій — у положеннях 136 і 148 п.н., які призводять до амінокислотних замін Tyr-Iso та Ala-Asp відповідно. Алель В асоційований з вищим умістом білка в молоці, високим виходом м'яких і твердих сирів, кращими коагуляційними властивостями молока. Отже, генотип ВВ має переваги за технологічними параметрами виробництва білково-молочних продуктів. Алель А асоційований з підвищенням загальним надоем.

**Мета роботи** — дослідження поліморфізму гена каппа-казеїну великої рогатої худоби 3-х

порід молочного та молочно-м'ясного напрямів продуктивності.

**Матеріали і методи.** Досліди проведено на великій рогатій худобі (n=166), серед якої українська чорно-ряба порода — 62 гол., симентальська — 83 та червона степова — 21 гол. ДНК ізольовано з крові тварин за методами Кавасаки з модифікаціями [14] та гуанідинізоціанатним [2].

Аналіз особливостей генетичної структури великої рогатої худоби за геном каппа-казеїну (CSN3) проводили методом ПЛР-ПДРФ (поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів) [9, 13, 15] за використання праймерів: 5'-GAAA TCCCTACCATCAATACC-3' та 5'-CCATCTACC TAGTTTAGATG-3' за таким температурним режимом: 94°C — 4 хв; 94°C — 30 с; 58°C — 30 с; 72°C — 30 с — 35 циклів; 72°C — 5 хв. Продукти ПЛР оброблено специфічною ендонуклеазою рестрикції HindIII (Fermentas, Литва) за схемою: H<sub>2</sub>O — 3,5 мкл, 10×буфер для ферменту — 1 мкл, рестриктаза — 0,5 мкл та 5 мкл ампліфікату на 10 мкл робочої суміші. Візуалізацію результатів проводили методом електрофоретичного розподілу фрагментів ДНК у 2%-



**Електрофореграма продуктів ПЛР-ПДРФ за геном каппа-казеїну ДНК ВРХ: доріжки 1–12 — зразки ДНК; М — маркер розмірів ДНК М50**

**1. Генетична структура досліджених порід великої рогатої худоби за геном каппа-казеїну**

Порода	Кількість тварин	Частота генотипів		
		AA	AB	BB
Червона степова «Племзавод ім. 20-річчя Жовтня»	21	0,667	0,286	0,047
Симентальська «Племзавод Червоний Велетень»	83	0,807	0,145	0,048
Українська чорно-ряба «СК Восток»	62	0,839	0,161	–

**2. Частота алелів гена каппа-казеїну в дослідженій вибірці великої рогатої худоби**

Порода	Кількість тварин	Частота алелів	
		A	B
Червона степова «Племзавод ім. 20-річчя Жовтня»	21	0,809	0,191
Симентальська «Племзавод Червоний Велетень»	83	0,880	0,120
Українська чорно-ряба «СК Восток»	62	0,919	0,081

му агарозному гелі у 1×TBE-буфері з наступною детекцією за допомогою транслюмінатора ТУВ-1 в ультрафіолетовому світлі 312 нм.

**Результати й обговорення.** Визначення алелів і генотипів тварин проводили способом, зображеним на рисунку.

Після розщеплення ампліфікованих послідовностей ДНК тварин рестриктазою HindIII отримали фрагменти розміром 273, 182 та 91 п.н., що є відповідними алелями гена каппа-казеїну. Так, на доріжках 1, 2, 4, 5, 6, 8–12 спостерігається єдина смуга розміром 273 п.н., що відповідає генотипу AA; на доріжці 3 визначаються 2 смуги розміром 182 та 91 п.н., що відповідає генотипу BB; на доріжці 7 — 3 смуги розміром 273, 182 та 91 п.н., що відповідає гетерозиготному генотипу AB.

Результати проведеного ДНК-тестування виявили наявність у досліджених популяціях великої рогатої худоби поліморфізму гена каппа-казеїну, що представлений двома алелями — A і B (табл. 1, 2).

Серед дослідженої вибірки великої рогатої худоби переважну більшість (77,1%) становили тварини з генотипом AA, алель A асоційований з підвищеним загальним надоем. Алель B гена каппа-казеїну асоційований з вищим умістом білка в молоці, високим виходом м'якого та твердого сиру, кращими коагуляційними властивостями молока. Виявлено 4,7% тва-

рин-гомозигот з бажаним генотипом BB, який має переваги за технологічними параметрами виробництва білково-молочних продуктів, 19,2% тварин є гетерозиготами з генотипом AB.

Серед усіх досліджених тварин лише 13% є носіями алеля B, переважну більшість становить алель A. Це може бути наслідком проведення інтенсивної селекційної роботи в напрямі добору тварин за показниками надою, що призвело до зменшення частоти алеля B [6]. Співвідношення частот алелів A та B у досліджених тварин перебуває на рівні 0,869:0,131.

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що досліджувана популяція симентальської породи характеризується більшою кількістю тварин — носіїв бажаного для виробництва сирів B-алеля гена каппа-казеїну, що асоційований з вищим умістом білка в молоці. Водночас майже 5% тварин є гомозиготами і мають генотип BB, 80% — тварини — носії гомозиготного генотипу AA та 15% — тварини-гетерозиготи з генотипом AB. У досліджуваній вибірці тварини червоної степової породи на 67% є носіями генотипу AA, на 29% — гетерозиготного генотипу AB, а 4% тварин мають генотип BB. Досліджене стадо української чорно-рябої породи на 84% складається з тварин — носіїв гомозиготного генотипу AA, виявлено 16% тварин-гетерозигот, тварин з генотипом BB у цій вибірці не виявлено.

**Висновки**

Досліджені породи великої рогатої худоби, зважаючи на розподіл алельних варіантів гена каппа-казеїну, мають значний генетичний потенціал щодо молочної продуктивності (пе-

ревага гомозиготних генотипів AA), що визначається особливостями селекційної роботи в цьому напрямі.

Широке впровадження типування за геном

каппа-казеїну дасть змогу отримати повнішу інформацію про генетичну структуру племінних стад тварин та інтенсивно впроваджу-

вати маркер-залежну селекцію для створення стад з високими технологічними властивостями молока.

### Бібліографія

1. *Вінничук Д.Т.* Селекція корів за локусами QTL (теоретичний аспект)/Д.Т. Вінничук//Вісн. аграр. науки. — 2001. — № 3. — С. 48–49.
2. *Використання аналізу ДНК у судово-медичних експертизах/За ред. Ю.М. Сиволапа.* — Одеса: Одес. держ. мед. ун-т. — 2001. — 92 с.
3. *Генетико-селекційний моніторинг у молочному скотарстві/М.В. Зубець, В.П. Буркат, М.Я. Єфіменко та ін.; наук. ред. В.П. Бурката.* — К.: Аграр. наука, 1999. — 88 с.
4. *Димань Т.М.* Поліморфна система к-казеїну, її зв'язок із продуктивними якістьями великої рогатої худоби/Т.М. Димань//Вісн. аграр. науки. — 1998. — № 12. — С. 33–35.
5. *Епишко Т.И.* Поліморфізм гена каппа-казеїна різних популяцій крупного рогатого скота черно-пестрой породи/Т.И. Епишко, О.П. Курак//Вісн. нац. акад. наук Білорусі. — 2008. — № 3. — С. 71–75.
6. *Коновалова Е.Н.* Поліморфізм гена каппа-казеїна и его влияние на признаки продуктивности коров симментальской породы/Е.Н. Коновалова, Е.И. Сельцев, Н.А. Зиновьева//Современные достижения и проблемы биотехнологии с.-х. животных: Материалы междунар. конф. — Дубровицы, 2004. — С. 49–54.
7. *Копилов К.В.* Генетичний моніторинг при збереженні племінних ресурсів тварин/К.В. Копилов, Є.Є. Заблудовський//Розведення і генетика тварин. — 2008. — Вип. 42. — С. 119–125.
8. *Копилов К.В.* Характеристика тварин української чорно-рябої молочної породи за поліморфізмом генів (QTL)/К.В. Копилов, О.Д. Бірюкова//Наук. вісн. ЛНУВМБТ ім. С.З. Гжицького. — 2010. — Т. 12. — № 2 (44). — Ч. 3. — С. 98–102.
9. *Копилова К.В.* Поліморфізм генів, асоційованих з господарсько корисними ознаками у великої рогатої худоби/К.В. Копилова, К.В. Копилов, С.І. Тарасюк та ін.//Вісн. аграр. науки. — 2006. — № 10. — С. 52–58.
10. *Новак Н.Б.* Використання молекулярно-генетичних маркерів для оцінки генетичного потенціалу української чорно-рябої породи ВРХ/Н.Б. Новак, Р.В. Облап, М.Д. Мельничук//Біологія тварин. — 2008. — Т. 10. — № 1–2. — С. 282–286.
11. *Пешко В.В.* Оценка быков-производителей различных генотипов в РУП «Гродненское племя-предприятие» по локусу гена каппа-казеїна/В.В. Пешко, Л.А. Танана//Вісн. нац. акад. наук Білорусі. — 2006. — № 5. — С. 174–176.
12. *Сулимова Г.Е.* Анализ полиморфизма ДНК кластерных генов у крупного рогатого скота: гены казеинов и гены главного комплекса гистосовместимости (BoLA)/Г.Е. Сулимова, С.С. Соколова, О.П. Семикозова и др.//Цитология и генетика. — 1992. — Т. 26. — № 5. — С. 18–26.
13. *Kaminski S.* Kappa-casein genotyping of Polish Black-and-White x Holstein-Friesian bulls by polymerize chain reaction/S. Kaminski, L. Figiel//Genetica Polonica. — 1993. — V. 34. — P. 65–72.
14. *Kawasaki E.S.* Sample preparation from blood, cell and oder fluids/E.S. Kawasaki//PCR Protocols; A Guide to methods and applications. — Academic Press. — New York. — 1990. — P. 146–152.
15. *Patel R.K.* Allelic Frequency of kappa-casein and beta-lactoglobulin in Indian crossbred (Bos taurus x Bos indicus) dairy bulls/R.K. Patel, J.B. Chauhan, K.M. Singa, et al.//Turk. J. Vet. Anim. Sci. — 2007. — № 6. — P. 399–402.