



Важнейшие результаты фундаментальных и прикладных исследований ТатНИИСХ, полученные в 2017 году

1.

Разработан способ проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1.

Аннотация. Изобретение относится к области генетики и селекции сельскохозяйственных животных, в частности к оценке аллельного полиморфизма гена DGAT1 (диацилглицерол-О-ацилтрансфераза) крупного рогатого скота молекулярно-генетическим методом исследования.

Разработанный способ проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота (КРС) по аллелям А и К гена DGAT1 в формате гибридизационно-флуоресцентной детекции вместе с его ближайшим прототипом относятся к категории анти-праймер-опосредованной количественной ПЦР в реальном времени (anti-primer-based quantitative real-time PCR, aQRT-PCR), способной эффективно генотипировать биологические объекты на основе полиморфизма единичных нуклеотидных замен.

Цель изобретения – разработка эффективного способа генотипирования крупного рогатого скота по гену DGAT1 на основе ПЦР в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией. Нами разработан способ

проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1 в формате гибридизационно-флуоресцентной детекции, предусматривающий использование двух 5′-флуоресцентно-меченых прямых аллель-специфичных праймеров (DGAT1-A+DGAT1-K), одного обратного общего праймера (DGAT1-R), и одного анти-праймера (DGAT1-S), меченого гасителем флуоресценции с 3′-конца олигонуклеотида (рис. 1).

Основное отличие разработанного способа от прототипа кроется в конструктивных особенностях 5′-флуоресцентно-меченых прямых аллель-специфичных праймеров, полностью состоящих из ген-специфичных последовательностей, на которых, в том числе и путём конкурентной гибридизации, отжигается комплементарный анти-праймер меньшей длины, меченый гасителем флуоресценции с 3′-конца олигонуклеотида.

В результате практических исследований, направленных на апробацию разработанного способа проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1 в формате гибридизационно-флуоресцентной детекции нами был получен обеспечиваемый предложенным способом технический результат, выраженный в эффективной идентификации искомым генотипов (АА, КК, АК) ввиду

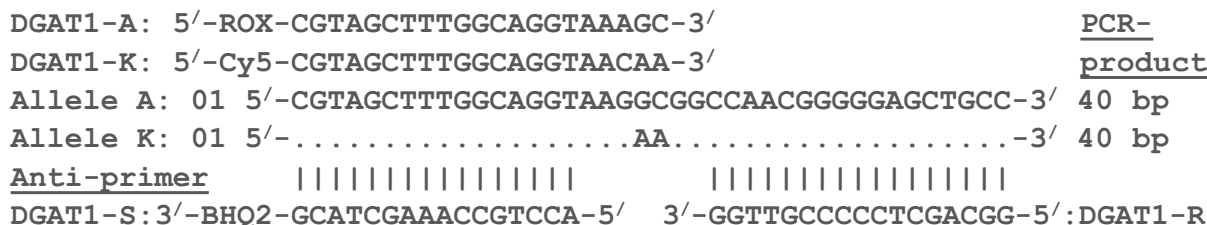


Рис. 1. Выравнивание фланкируемых с праймерами DGAT1-A+DGAT1-K+DGAT1-R нуклеотидных последовательностей аллелей А и К гена DGAT1Bostaurus.

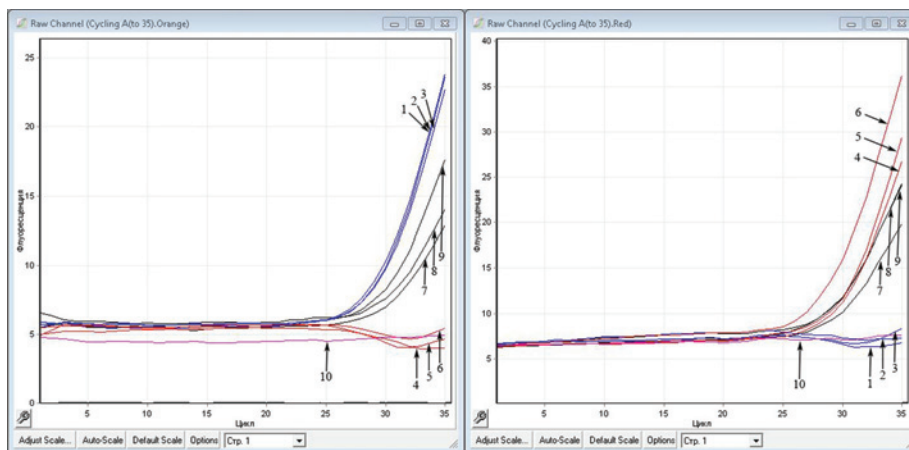


Рис. 2. Результат предложенного способа проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1 (праймеры DGAT1-A+DGAT1-K+DGAT1-R и анти-праймер DGAT1-S). Слева – канал детекции Orange, справа – канал детекции Red. Кривые роста флуоресценции для генотипов AA (1–3), АК (7–9) и КК (4–6). ОКО (10).

корректной интерпретации данных кривых увеличения интенсивности флуоресценции (рис. 2).

Авторский коллектив: Вафин Р.Р., Шакиров Ш.К., Юльметьева Ю.Р., Зиннатова Ф.Ф.

Публикации:

1. Тюлькин С.В., Вафин Р.Р., Ахметов Т.М., Шайдуллин Р.Р., Рачкова Е.Н., Шакиров Ш.К., Юльметьева Ю.Р., Зиннатова Ф.Ф., Валиуллина Э.Ф., Муратова А.В., Загидуллин Л.Р.: Способ проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1 // Патент на изобретение RUS 2619167. Опубликовано: 12.05.2017. Бюл. № 14.

2.

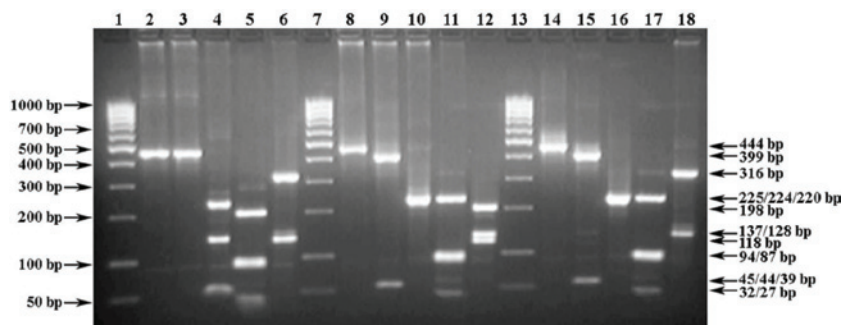
Подготовлена монография “Геноидентификация вируса бычьего лейкоза”.

Аннотация. В монографии представлены сведения о лейкозе крупного рогатого скота – распространённой инфекции, наносящей значительный урон животноводству, о возбудителе этой инфекции – вирусе бычьего лейкоза, о трансформации клеток под действием вируса, что представляет риск развития онкологических болезней человека. Подробно рассматриваются вопросы генотипирования возбудителя, типизации депонированных в генбанке NCBI представителей вируса бычьего лейкоза в зависимости от способа геноидентификации, дается обоснование существования нового восьмого генотипа вируса бычьего лейкоза и случаев его выявления в различных регионах мира, в том числе, в животноводческих хозяйствах Республики Татарстан.

Авторский коллектив: Вафин Р.Р.

Публикации:

1. Хазипов Н.З., Вафин Р.Р., Шаева А.Ю., Закирова З.Р., Алимов А.М., Кабилов Г.Ф.: Геноидентификация вируса бычьего лейкоза. // М.: ИНФРА-М, 2017, 163 с.



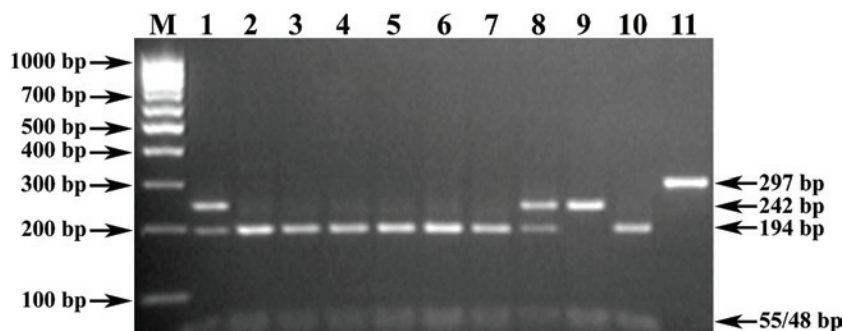
Электрофореграмма ПЦР-ПДРФ-профилей изолятов провируса BLV “N067”, “N006” и “N142” (предложенная стратегия генотипирования BLV). (1, 7, 13) – ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp (СибЭнзим). (2–6) – ПЦР-ПДРФ-профиль изолята провируса BLV “N067” (K41, 7-ой генотип): 2) PvuII-ПДРФ (444 bp); 3) SspI-ПДРФ (444 bp); 4) HphI-ПДРФ (224/137/44/39bp); 5) HaeIII-ПДРФ (198/94/87/32/27/6bp); 6) BstYI-ПДРФ (316/128bp). (8–12) – ПЦР-ПДРФ-профиль изолята провируса BLV “N006” (K43, 8-ой генотип): 8) PvuII-ПДРФ (444 bp); 9) SspI-ПДРФ (399/45 bp); 10) HphI-ПДРФ (224/220 bp); 11) HaeIII-ПДРФ (225/94/87/32/6bp); 12) BstYI-ПДРФ (198/128/118bp). (14–18) – ПЦР-ПДРФ-профиль изолята провируса BLV “N142” (K44, 8-ой генотип): 14) PvuII-ПДРФ (444 bp); 15) SspI-ПДРФ (399/45 bp); 16) HphI-ПДРФ (224/220 bp); 17) HaeIII-ПДРФ (225/94/87/32/6bp); 18) BstYI-ПДРФ (316/128 bp).

3.

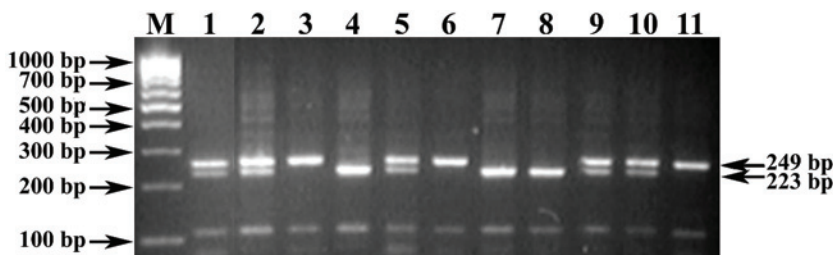
Изучен полиморфизм генов соматотропин-рилизинг-гормона, инсулиноподобного фактора роста и диацилглицерол-О-ацилтрансферазы у быков-производителей Республики Татарстан.

генотипов АВ (249/223/26 bp), ВВ (249 bp) и АА (223/26 bp) гена IGF-1.

Представлена предварительная оценка племенной ценности быков-производителей с разными генотипами диацилглицерол-О-ацилтрансферазы. Изучены признаки молочной продуктивности (удой и содержание жира в мо-



Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей А и В гена соматотропин-рилизинг-гормона (GHRH) *Bostaurus* с использованием праймеров GHRHF+GHRHR и рестриктазы *HaeIII*. М – ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим); 1, 8 – *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа АВ (242/194/55/48 bp); 2–7, 10 – *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа ВВ (194/55/48 bp); 9 – *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа АА (242/55 bp); 11 – цельный ПЦР-продукт (297 bp).



Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей А и В гена инсулиноподобного фактора роста (IGF-1) *Bostaurus* с использованием праймеров IGF-1F+IGF-1R и рестриктазы *BstSNI*. М – ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим); 1, 2, 5, 9, 10 – *BstSNI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа АВ (249/223/26 bp); 3, 6 – *BstSNI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа ВВ (249 bp); 4, 7, 8 – *BstSNI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа АА (223/26 bp); 11 – цельный ПЦР-продукт (249 bp).

Аннотация. В изученной популяции выявлены две аллели (А и В), и три генотипа (АА, АВ и ВВ) генов GHRH и IGF-1. Частота встречаемости А и В аллелей генов GHRH и IGF-1 была равна 0.19 и 0.81, 0.48 и 0.52 соответственно. Частота встречаемости генотипов АА, АВ, и ВВ составила для гена GHRH 2.9, 31.4 и 65.7%; для гена IGF-1 – 25.7, 44.3 и 30.0% соответственно. Встречаемость генотипов ВВ и АВ, аллеля В генов GHRH и IGF-1 у чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей была выше, чем встречаемость генотипа АА и аллеля А соответствующих генов.

При постановке ПЦР использовали соответствующие пары олигонуклеотидных праймеров (GHRHF и GHRHR, IGF-1F и IGF-1R) с подобранными режимами амплификации. На этапе выполнения ПДРФ-анализа применяли эндонуклеазы рестрикции *HaeIII* и *BstSNI*, обеспечивающие проведение генотипирования на основании интерпретации генерируемых *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профилей генотипов АВ (242/194/55/48 bp), ВВ (194/55/48 bp) и АА (242/55 bp) гена GHRH, а также *BstSNI*-ПЦР-ПДРФ-профилей

локе) ближайших женских предков быков-производителей с разными генотипами DGAT1 (АА, АК и КК). Исследования показали, что более высокую оценку по происхождению имели быки-производители с генотипами КК (по удою) и АА (по содержанию жира в молоке) DGAT1.

Коллектив авторов: Вафин Р.Р., Зиннатова Ф.Ф., Юльметьева Ю.Р., Шакиров Ш.К., Тагиров М.Ш., Сафина Н.Ю.

Публикации:

1. Вафин Р.Р., Тюлькин С.В., Загидуллин Л.Р., Муратова А.В., Ахметов Т.М., Зиннатова Ф.Ф., Юльметьева Ю.Р., Шакиров Ш.К., Тагиров М.Ш., Равилов Р.Х.: Полиморфизм генов соматотропин-рилизинг-гормона и инсулиноподобного фактора роста у быков-производителей Республики Татарстан // Достижения науки и техники АПК. 2017, Т. 31, № 4, С. 75–78.
2. Тюлькин С.В., Загидуллин Л.Р., Ахметов Т.М., Сафина Н.Ю., Вафин Р.Р.: Характеристика быков-производителей с разными генотипами диацилглицерол-О-ацилтрансферазы по происхождению // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2017, Т. 230, № 2, С. 155–158.