

Витебск, 2022. – С. 330-334. 4. Сулейманова, Г. Ф. Оценка технологии качества производства мясных полуфабрикатов / Г. Ф. Сулейманова // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка : мат-лы Междун. научно-практ. конф. - Витебск, 2022. – С. 334-338. 5. Сулейманова, Г. Ф. Использование цеолитов для снижения содержания радионуклидов в продукции животноводства / Г. Ф. Сулейманова // Наука молодых – инновационному развитию АПК : мат-лы XII Нац. научно-практ. конф. молодых ученых. - Уфа, 2019. - С. 293-298. 6. Сулейманова, Г. Ф. Использование цеолитов в производстве экологически безопасной продукции животноводства / Г. Ф. Сулейманова // Научные основы повышения эффективности сельскохозяйственного производства. - 2019. - С. 217-220. 7. Сулейманова, Г. Ф. Роль цеолитов в производстве экологически безопасной продукции животноводства / Г. Ф. Сулейманова // Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России. - 2018. -С. 311-314.

УДК 636.22/.28.082.12

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЕННЫХ СТРУКТУР КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ЦЕЛЮ ПОВЫШЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ

***, **Калашников А.Е., *Калашникова Л.А.**

*Всероссийский НИИ племенного дела МСХ РФ, г. Москва, Российская Федерация

**Архангельский НИИ сельского хозяйства приморского филиала ФИЦКИА РАН, г. Архангельск, Российская Федерация

*В ходе исследований оценено генетическое разнообразие генов рецепторов иммунитета. Выявлено более 79 генетических вариантов, подтвержденных по первичному анализу ДНК. Генетическое разнообразие генов рецепторов получено для пород (произошедших от *B. taurus taurus* и *B. taurus indicus*, ангус, шаролеизская, голштинская, лимузинская, брахман, нелор, братфорд, пьемонтская и романьольская (n=40). В исследовании задействованы исторические и современные породы России. Антибактериальная группа генов включала: TLR1, 2, 4, 5 и 6; противовирусная: TLR3, 7, 8, 9 и 10. Найдены новые изменчивости и синонимичные варианты. При проведении генотипирования задействованы породы крупного рогатого скота России: холмогорская, Якутская, ярославская породы, симментальская молочная и мясная породы, черно-пестрая порода и гибрид скота. **Ключевые слова:** крупный рогатый скот, иммунитет, гены иммунитета, иммунный статус, иммуногенетика, гены TLR.*

THE RESEARCH ON THE INFLUENCE OF SAP GENE STRUCTURES IN CATTLE IN ORDER TO INCREASE VITALITY

***, **Kalashnikov A.E., *Kalashnikova L.A.**

*All Russian Research Institute of Animal Breeding of Ministry of Agriculture of Russian Federation, Moscow, Russian Federation

**Arkhangelsk Research Institute of Agriculture, Primorsky Branch of the FITSKIA RAS, Arkhangelsk, Russian Federation

*The survey had evaluated the genetic diversity of immunity receptor genes. More than 79 genetic variants have been identified, confirmed by primary DNA analysis. The genetic diversity of receptor genes was obtained for breeds (agreed from B. taurus taurus and B. taurus indicus, Angus, Charolais, Holstein, Limousin, Brahmin, Nelor, Bratford, Piedmontese and Romagnole (n=40). The study involved historical and modern breeds, the antibacterial group of genes embedded: TLR1, 2, 4, 5 and 6; and antiviral: TLR3, 7, 8, 9 and 10. New mutability and synonymous variants were found in Yaroslavl breeds, Simmental dairy and beef breeds, black-and-white breed and cattle hybrid. **Keywords:** cattle, immunity, immunity genes, immune status, immunogenetics, TLR genes.*

Введение. Молекулы TLR распознают фрагменты бактерий, являются кандидатами устойчивости к паратуберкулезу, респираторным заболеваниям, маститу, инфекционному кератоконъюнктивиту, контролируют экспрессию цитокинов. При поиске QTL, связанных со здоровьем, выявлено перекрытие локусов TLR. Данные молекулярного анализа позволяют определять генетическую ценность животных по показателям здоровья и могут быть включены в комплексный индекс племенной ценности животных.

Целью работы являлось изучение генных структур крови, ответственных за определение показателей жизнеспособности и долголетием скота [1]. Объектом исследования был крупный рогатый скот коммерческих и отечественных пород. Предметом исследований – генные структуры, ответственные за врожденный иммунитет.

Материалы и методы исследований. Биологический материал представлял собой образцы лейкоцитов цельной крови (n=40) пород крупного рогатого скота России: холмогорская, Якутская, ярославская породы, симментальская молочная и мясная породы, черно-пестрая порода и гибрид скота. Выделение ДНК осуществляли при помощи колонок QIAгер (QIAGEN, США) на центрифугах и термостатах Eppendorf (Германия), контроль качества ДНК на спектрофотометре Eppendorf (Германия) и капиллярном электрофорезе Agilent (США). Секвенирование проводили в компании GATC (Германия) на приборе Pacific Biosciences II (США). Геномные библиотеки приготовили при помощи ПЦР фрагментов экзона каждого гена в лаборатории биохимической генетики Института животноводства (г. Прага, Чешская Республика) с любезного разрешения канд. биол. наук К. Новака. Обработку биоинформационных данных осуществляли в лаборатории иммуногенетики отдела генетики сельскохозяйственных животных ФГБНУ ВНИИплем (МСХ РФ).

Результаты исследований. Для решения проблемы снижения показателей жизнеспособности высокопродуктивных животных разрабатываются селекционные методы повышения показателей жизнеспособности. С этой целью исследуются основы наследственности признаков здоровья [2]. Целью работы является изучение генных структур крови и их ассоциации с повышенной жизнеспособностью. Впервые проведен анализ генных структур, ответственных за формирование иммунного ответа. Поиск полиморфизмов сосредоточен на генах паттернов молекул распознавания (PRR, pattern-recognition receptors), включающих в себя NOD-подобные рецепторы (NLR), которые участвуют в распознавании молекулярных паттернов. Молекулы TLR1, 5, 6 и 10 распознают

структуры клеточной стенки и продукты метаболизма бактерий, TLR3, 7, 8 и 9 распознают структуры капсида и генома вирусов, а TLR2 и 4 распознают молекулярные структуры обеих групп. TLR находятся в плазмалемме (антибактериальные типы) и в эндоплазматическом ретикулуме (противовирусные типы). Экспериментальным путем рассчитана типичная пространственная конфигурация рецепторных белков TLR(-4). Оказалось, что молекулярная архитектура генов сложна, но при этом сравнительно едина. Оценка генетического разнообразия TLR для 9-ти пород выявила, что TLR обладают большей вариабельностью, чем это обычно наблюдается у кодирующих последовательностей других генов животных, но изменения в большинстве своем синонимичны. В целом выявлено более 200 полиморфизмов, несущих биологическую функцию. В результате анализа полиморфизма изучены образцы животных холмогорской породы (Печорский тип), якутской породы, ярославской породы, симментальской молочной и мясной пород, черно-пестрой породы, гибрида крупного рогатого скота с лесным бизоном (n= более 275 проб 14-ти российских популяций) (<76 прочтений длиной 400-1200 нуклеотидов, с глубиной 3–12 прочтений на индивидуум, при этом выявлены сайты изменчивости, и новые синонимичные варианты (таблица) [3].

Таблица - Характеристика регионов секвенирования генов рецепторов TLR1-10

Номер GenBank	Наименование	Длина п.н.	Хромосома	Варианты		VeIP молч./ синоним, %
				По Байесу	По SAMTOOLS	
Бактериальные TLR						
NM-001046504	TLR 1	2319	6	24	19	69/31
NM-174197	TLR 2	3513	17	5	1	50/50
NM-174198	TLR 4	3739	8	4	1	0/100
NM-001040501	TLR 5	2800	16	23	6	0/100
NM-001001159	TLR 6	3095	6	9	4	59/41
Вирусные TLR						
NM-001008664	TLR 3	3025	27	64	0	65/35
NM-001033761	TLR 7	3177	X	7	6	59/41
NM-001033937	TLR 8	3075	X	15	5	79/21
NM-183081	TLR 9	3265	22	34	22	65/35
NM-001076918	TLR 10	3163	6	7	6	7/21

Выявлено до 79 генетических вариантов, которые могут оказаться биологически активными. При проведении генотипирования с удлинением праймеров по методу SnaPShot получены данные по полиморфизму генов TLR1,-2,-5 и -6 (15 вариантов) и определено соотношение вариантов в исследуемых позициях (рисунок) [3].

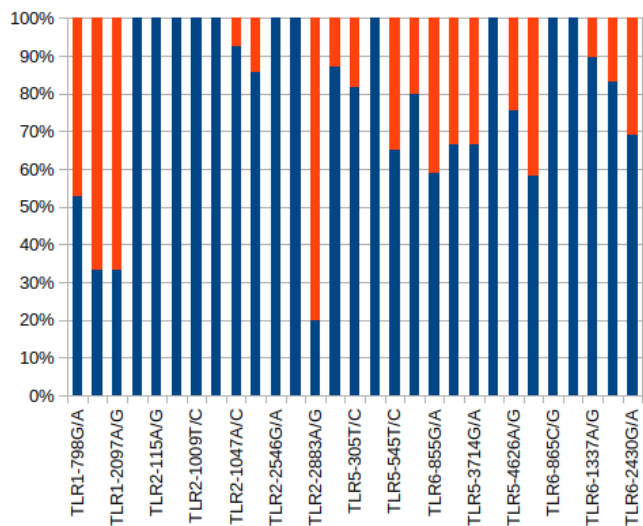


Рисунок - Результаты тестирования изменчивости генов TLR 1,2,5,6

Ожидаемый фенотипический эффект гетеродимеров TLR1 и TLR1/2 позволяет предположить изменчивость по устойчивости к паратуберкулезу. Молекула TLR4 участвует в реакции на респираторные заболевания, формирует устойчивость к маститу, инфекционному кератоконъюнктивиту, контролирует экспрессию цитокинов, а молекулы TLR1, 2, 5 - это микробные агонисты, они вызывают сигналы через PAMP, индуцируемые флагеллином [4]. При поиске QTL (количественные признаки фенотипа), связанных со здоровьем крупного рогатого скота, выявлено перекрытие локусов. В итоге проведен анализ теории и степени изученности врожденного иммунитета и составлена схема структуры иммунного ответа и взаимодействия генов между собой посредством сигнальных путей.

Заключение. Данные молекулярного анализа генов TLR позволят определять генетическую ценность животных по показателям иммунитета и могут быть включены в комплексный индекс племенной ценности животных (с признаками здоровья внутри). Результаты генотипирования животных по генам TLR позволят выбрать лучшие генотипы животных иммунному ответу. Анализ состояния изученности врожденного иммунитета крупного рогатого скота показал, что для оценки племенной генетической ценности племенных животных новых поколений необходим новый селекционный подход, включающий в себя молекулярно-генетический, иммунологический и статистический подход анализа как фенотипического проявления долголетия и здоровья взрослых животных и молодняка. Все это позволит создать оптимальные генетические инструменты выявления особей, которые будут восприимчивы к патогенам и таким образом повысить национальную продовольственную безопасность. Проведено генотипирование генов TLR и анализ биологической значимости генетических вариантов при помощи метода получения сверхдлинных прочтений. Разработана схема получения ампликонов, обработки данных секвенирования и

генотипирования в капиллярном электрофорезе. Для генов 1,2,5 и 6 получены последовательности экзомных областей десяти генов TLR крупного рогатого скота семи коммерческих и аборигенных пород России, в т.ч. используемых в других странах. Метод сверхдлинного высокоэффективного секвенирования позволил идентифицировать до 64 предполагаемых мутаций. Показано, что перечень выявленных вариаций, обладающих биологической значимостью, коррелирует с состоянием иммунитета животных и приведены примеры ожидаемых фенотипических эффектов [4]. Сложно определить ключевые гены и регуляторные механизмы, лежащие в основе иммунного ответа. Для этого необходимо собрать и проанализировать большие объемы различных данных NGS, протеомики, метаболического картирования. Представленная схема врожденного иммунитета крупного рогатого скота и предложенная схема исследований являются основой для разработки стратегии НИР и формированию ФНТП по дальнейшему изучению генетической обусловленности иммунных реакций.

Литература. 1. Проблемы и вопросы при прогнозировании генетической племенной ценности сельскохозяйственных животных / А. Е. Калашников, А. И. Голубков, Н. Ф. Щегольков, Е. Р. Гостева // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2022. – № 4(65). – С. 77-96. – DOI 10.31677/2072-6724-2022-65-4-77-96. – EDN LJJQXQ. 2. Применение методов сетевой биологии для анализа биологических основ иммунитета сельскохозяйственных животных / А. Е. Калашников, Т. В. Новикова, Ю. А. Воеводина [и др.] // Аграрный вестник Верхневолжья. – 2022. – № 3 (40). – С. 56-66. – DOI 10.35523/2307-5872-2022-40-3-56-66. – EDN KYMZXW. 3. Картирование генов врожденного иммунитета крупного рогатого скота отечественных пород для изучения основ формирования селекционнозначимых признаков / А. Е. Калашников, Е. А. Гладырь, А. А. Новиков [и др.] // Зоотехния. – 2019. – № 9. – С. 2-4. – DOI 10.25708/ZT.2019.15.32.001. – EDN DUJRQG. 4. Генетическая изменчивость и функциональные различия толл - подобных рецепторов / К. Новак, А. Е. Калашников, Л. А. Калашникова [и др.] // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2021. – № 2. – С. 22-37. – DOI 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2021.2.22-37. – EDN RDBBFZ.

УДК 616:619.3:615:636.2.053

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «УНИТОКС» В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ БОЛЕЗНЯХ МОЛОДНЯКА, СОПРОВОЖДАЮЩИМИСЯ ТОКСИЧЕСКИМИ ЯВЛЕНИЯМИ

Камолиддинов Г.Х., Макаревич Г.Ф.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Ветеринарный препарат «Унитокс», предназначенный для лечения животных при отравлениях и болезнях, сопровождающихся токсическими явлениями, обладает высокой лечебной эффективностью при комплексном лечении телят в возрасте 2-4 месяца с болезнями органов пищеварения и