

lecular Bacteriology. Washington, DC: American Society for Microbiology. – 1994. – P.21-41.

УДК 636.39.034.575.174.015.3

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CASN2S2 У КОЗ АЛЬПИЙСКОЙ И НУБИЙСКОЙ ПОРОДЫ

Беломестнов Константин Андреевич, аспирант, ФГБОУ ВО Ставропольский ГАУ

Аннотация. Целью исследования являлось выявление полиморфизма гена CASN2S2 у коз альпийской и нубийской пород. С наибольшей частотой встречался аллель CASN2S2^A 0,66 в альпийской породе и 0,88 в нубийской. Для сыроделия более эффективно использование молока коз нубийской породы, чем коз альпийской, у которых желательный генотип CASN2S2^{AA} встречается реже.

Ключевые слова: нубийская порода, альпийская порода, CASN2S2, генотип, RT-PCR, HRM-анализ.

Современное козоводство имеет большое значение из-за хорошей адаптивности домашних коз (*Capra hircus*) к разным условиям окружающей среды, а также из-за высокой пищевой и экономической ценности их молока. Вместе с тем, с учетом стремительного развития данной отрасли сельского хозяйства, классические методы разведения коз становятся недостаточными, не позволяя полностью удовлетворить потребности в современных импортозамещающих продуктах животноводства. В связи с этим, современные ДНК-технологии становятся неотъемлемым инструментом пороодообразования для целенаправленного отбора животных, обладающих желаемыми хозяйственно-полезными свойствами [1, 2].

Гены казеина молока у коз представляют собой высокополиморфные гены с многочисленными синонимичными и несинонимичными мутациями. На сегодняшний день у коз зарегистрировано 20 вариантов белка альфа-S1-казеина, 8 – бета-казеина, 14 – альфа-S2-казеина и 24 – каппа-казеина.

Значительные различия в частоте встречаемости определенных вариантов казеина у различных пород коз разных регионов происхождения и разведения может быть объяснена конкретными целями разведения в отношении предпочтительных особенностей систем производства и переработки молока, специфических свойств для питания и здоровья человека, а также адаптацией к уникальным особенностям окружающей среды.

Казеин является основным нерастворимым белковым компонентом молока, составляющим около 80% от общей фракции молочного белка [3]. Молочные казеины обладают базовой питательной ценностью, поскольку они

обеспечивают поступление кальция и фосфора в организм, что особенно важно в молочный период вскармливания потомства [4].

У коз, как и у других млекопитающих, встречаются четыре эволюционно консервативных гена казеина. Генами, кодирующими альфа-S1-, бета-, альфа-S2- и каппа-казеины, являются CSN1S1, CSN2, CSN1S2 и CSN3 соответственно.

В нашем исследовании мы сосредоточили свое внимание на гене CSN1S2.

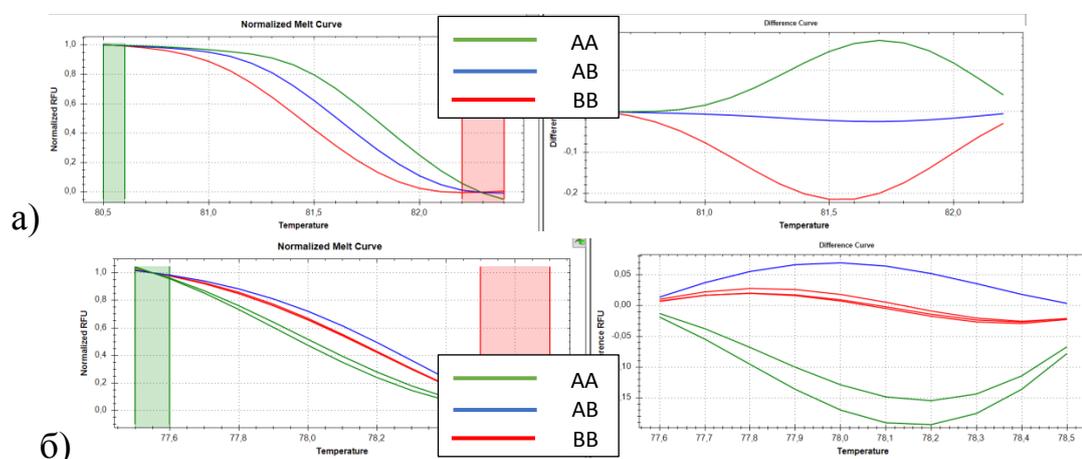
Белок альфа-S2-казеин играет важную роль в транспортировке фосфата кальция. Содержание альфа-S2-казеина в козьем молоке относительно высокое и составляет около 19%, в то время как в коровьем оно достигает лишь 10% [5]. К настоящему времени идентифицировано 14 вариантов альфа-S2-казеинового белка (CSN1S2A, CSN1S2B, CSN1S2C, CSN1S2D, CSN1S2E, CSN1S2F, CSN1S2G, CSN1S2H, CSN1S2I, CSN1S2J, CSN1S2K, CSN1S2O, усеченный субвариант A и усеченный субвариант E) [6]. В то время как варианты белка CSN1S2A, CSN1S2B, CSN1S2C, CSN1S2E, CSN1S2F и CSN1S2G связаны с нормальным количеством α -S2-казеина, составляющим около 2,5 г/л на аллель, CSN1S2D ассоциирован со сниженным до 1,5 г/л на аллель [7]. У CSN1S2O – гомозиготных коз альфа-S2-казеин обнаружен не был [8,12].

Отмечено влияние разных вариантов CSN1S2 на содержание белка в молоке и его удой у сардинских коз из Италии – у животных с генотипом CSN1S2AC содержание жира и белка выше, что влияет на технологические свойства при производстве сыра, а животные с генотипом CSN1S2CF показывают более высокий среднесуточный надой [9]. У китайских молочных коз животные с генотипом CSN1S2FF имеют более высокий процент жира и общего содержания сухих веществ в молоке, чем животные с генотипами CSN1S2AA и CSN1S2AF, и при этом характеризуются достаточно хорошей молочной продуктивностью [10]. Однако, ранее было опубликовано сообщение о том, что у коз породы Синьонг Саанен с генотипом CSN1S2FF молочная продуктивность значительно ниже, чем у коз с другими генотипами [11]. Противоречивые результаты, полученные в исследовании животных Синьонг Саанен с генотипом CSN1S2FF, могут быть объяснены небольшим размером выборки – 69 голов.

Объектом исследования являлись 124 козы альпийской породы (КФХ «Былинкино», г.о. Луховицы, Московская обл.) и 97 коз нубийской породы (КФХ «Ляшенко С.Н.», г.о. Пушкинский, Московская обл.). Генотипирование проводилось в генетической лаборатории ЦКП «Сервисная лаборатория комплексного анализа химических соединений» ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. ДНК выделяли из образцов крови с использованием набора ExtractDNABlood&Cells («Евроген», Москва) в соответствии с протоколом производителя. Для генотипирования были выбраны аллели CSN1S2 A и B, сопряженные с образованием белков α S2-казеина.

Участок гена CSN1S2, охватывающий область в 300-400 нуклеотидов экзонов 5 и 7' был амплифицирован с использованием набора прямых

(5'GCCATTTCATCCCAGAAAG3') и обратных (5'CTCTTCATTTGCGTTCCTTA3') праймеров. Амплификацию осуществляли на приборе CFX96 (BioRad, США) в объеме 20 мкл, включающем 10 мкл 10x ПЦР-буфера, 1 мкл mM MgCl₂ («Синтол», г. Москва), 0,2 мкл SynTaq-ДНК-полимеразы 5 Е/Мкл («Синтол», г. Москва), 2 мкл смеси dNTP (2,5mM), 5,6 мкл бидистиллированной воды и 1,2 мкл ДНК. Температурно-временные параметры амплификации следующие: начальная денатурация 95°C – 5 мин, 40 циклов (95°C – 20 с, отжиг 62°C – 20 с, элонгация 72°C – 30 с), финальная элонгация 72°C – 5 мин. Результаты анализировали с использованием технологии HRM-анализа (High Resolution Melts, HRM), основанного на определении различий в кривых плавления (диссоциации ДНК) после проведения ПЦР-РВ с помощью специального программного обеспечения Precision Melt Analysis™ software. Визуализация результатов генотипирования представлена на рисунке 1.



**Рисунок 1. Результаты HRM-анализа гена CSNIS2 у коз разных пород
а) альпийская порода б) нубийская порода.**

Анализ компонентов молока коз по показателям: массовая доля жира (МДЖ), белка (МДБ, общий), лактозы, казеина, мононенасыщенных жирных кислот (ЖК), полиненасыщенных ЖК, насыщенных ЖК, количество соматических клеток, дифференциальное количество соматических клеток (лимфоциты и полиморфноядерные нейтрофилы), проводился в ФИЦ животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста на базе ОНИС БиоТехЖ с использованием мультипараметрического автоматического анализатора молока CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания). Пробы молока отбирались индивидуально и консервировались с использованием таблеток Broad Spectrum Microtabs II («Bentley Instruments», США) в период проведения контрольных доек в течение трех месяцев. Удой за 305 дней лактации определялся по результатам контрольных доек. В изученной выборке коз животные 1, 2, 3 и старше лактаций были представлены в равной доле. Достоверность разности по показателям продуктивности коз разных генотипов устанавливали с использованием критерия Стьюдента.

В частотах встречаемости генотипов у коз исследуемых пород по гену *CSN1S2* отмечены некоторые особенности. Так, генотип АВ встречался в альпийской и нубийской породе с схожей частотой (0,14 и 0,21 соответственно). Наибольшие различия отмечены в генотипе ВВ, который встречался с частотой 0,27 в альпийской породе и не встречался в нубийской породе (табл. 3).

Таблица 3

Частоты генотипов по гену *CSN1S2* у исследованных животных разных пород

Генотипы	Породы	
	Альпийская (n=124)	Нубийская (n=97)
АА	0,59	0,79
АВ	0,14	0,21
ВВ	0,27	-

При анализе частот встречаемости аллелей гена *CSN1S2* наиболее выраженное межпородное различие отмечено в частоте встречаемости аллеля В. Так, у коз альпийской породы частота его встречаемости достигала 0,34, что в 2,8 раза выше, чем среди животных нубийской породы (рис. 2).

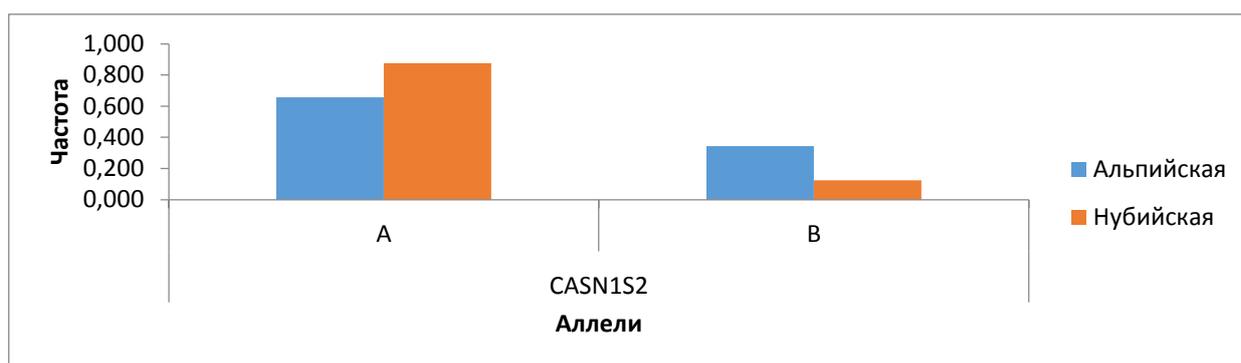


Рисунок 2. Аллельное разнообразие в гене *CSN1S2* у коз разных пород.

Наиболее желательные для производства сыра животные с генотипом *CSN1S2*^{AA} в альпийской породе встречались с частотой 0,66 и 0,88 в нубийской породе соответственно. Для сыроделия более эффективно использование молока коз нубийской породы, чем коз альпийской, в которой желательный генотип *CSN1S2*^{AA} встречается реже.

Библиографический список

1. К вопросу о возможности использования козьего молока и адаптированных смесей на его основе в детском питании / Т.Э. Боровик, Н.Н. Семенова, О.Л. Лукоянова, Н.Г. Звонкова, В.А. Скворцова, И.Н. Захарова, Т.Н. Степанова. – Вопросы современной педиатрии.- 2013.- №1.-Том 12.- С.8-16.
2. Динамика поголовья коз и производства козьего молока и мяса в мире и в России / А.И. Ерохин, Е.А. Карасев, С.А. Ерохин.- Овцы, козы, шерстяное дело. – 2020. – №4. – С. 22-25.

3. Bhat, M. Y., Dar, T. A., and Laishram Rajendrakumar Singh, S. K. (2016). "Casein proteins: Structural and functional aspects," in Milk proteins. Editor I. Gigli (London, UK: IntechOpen), 296.
4. Ghosh, D., Das, S., Bagchi, D., and Smarta, R. B. (2016). Innovation in healthy and functional foods. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
5. McMahon, D. J., and Brown, R. J. (1984). Composition, structure, and integrity of casein micelles: A review. *J. Dairy Sci.* 67, 499–512. doi:10.3168/jds.S0022-0302(84)81332-6.
6. Rahmatalla, S.A., Arends, D., Said Ahmed, A., Hassan, L.M.A., Krebs, S., Reissmann, M. and Brockmann, G.A. (2021) Capture Sequencing to Explore and Map Rare Casein Variants in Goats. *Front. Genet.* 12:620253. doi: 10.3389/fgene.2021.620253.
7. Ramunno, L., Cosenza, G., Pappalardo, M., Longobardi, E., Gallo, D., Pastore, N., et al. (2001a). Characterization of two new alleles at the goat CSN1S2 locus. *Anim. Genet.* 32, 264–268. doi:10.1046/j.1365-2052.2001.00786.x.
8. Ramunno, L., Longobardi, E., Pappalardo, M., Rando, A., Di Gregorio, P., Cosenza, G., et al. (2001b). An allele associated with a non-detectable amount of alpha s2 casein in goat milk. *Anim. Genet.* 32, 19–26. doi:10.1046/j.1365-2052.2001.00710.x.
9. Vacca, G. M., Dettori, M. L., Piras, G., Manca, F., Paschino, P., and Pazzola, M. (2014). Goat casein genotypes are associated with milk production traits in the Sarda breed. *Anim. Genet.* 45, 723–731. doi:10.1111/age.12188.
10. Yue, X. P., Fang, Q., Zhang, X., Mao, C. C., Lan, X. Y., Chen, H., et al. (2013). Effects of CSN1S2 genotypes on economic traits in Chinese dairy goats. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26, 911–915. doi:10.5713/ajas.2013.13018.
11. Lan, X., Chen, H., Zhang, R., Tian, Y., Zhang, Y., Fang, X., et al. (2005). Association of polymorphisms of CSN1S2 gene with average milk yield and body sizes indexes in Xinong Saanen dairy goat. *Acta Veterinaria Zootechnica Sinica* 36, 318–322.

УДК 619 : 636.52/. 58 : 636.5.087.8 : 616.34

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО
ТРАКТА ЖИВОТНЫХ**

Загарин Артем Юрьевич, аспирант, ассистент, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Аннотация. Дан обзор современных исследований микробиома кишечника моногастричных и рубца жвачных животных в зависимости от различных паратипических факторов с применением современных молекулярно-генетических методов исследований – NGS-секвенирования и T-RFLP-анализа.