

DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2022-2-13
 Публикуется на принципах открытого доступа
 Published under an open access license
 Creative Commons Attribution 4.0 International License.
 УДК: 636.2

Селекция на повышение молочной продуктивности у крупного рогатого скота: значение генетических маркеров-предикторов



Скачкова О.А.

Скачкова О.А., научный сотрудник,
 oaskachkova@mail.ru

Бригида А.В., зам. директора, brigida_86@mail.ru
 Институт инновационных биотехнологий в животноводстве – филиал ФГБНУ "Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста"; г. Москва

Ключевые слова: молочный скот, альтернативный сплайсинг, ген рецептора гормона роста, ген рецептора лептина, ген рецептора пролактина, изоформы.

Резюме. Российское молочное скотоводство, развиваясь в русле мировых тенденций, базируется на разведении высокопродуктивного скота, в том числе, с использованием биотехнологии переноса эмбрионов, полученных от генетически ценных телок и коров-доноров. В российских сельскохозяйственных предприятиях с 2014 по 2020 годы произведено более 90 тыс. эмбрионов *in vivo* и *in vitro* крупного рогатого скота с вариациями роста их получаемого ежегодного количества в диапазонах от 195 до 26762 шт. (эмбрионы *in vitro*), от 2746 до 14098 шт. (эмбрионы *in vivo*). Поскольку содержание животных, не имеющих высокой продуктивности, экономически невыгодно, необходимо исключать малопродуктивных особей из производства. Вследствие, является важным прогнозирование наивысшей молочной продуктивности (белки, жир, удои) у предимплантационных эмбрионов, полученных в ветеринарной практике для целей эмбриотрансфера, а также у телят в первые недели их жизни после рождения у высокоудойных коров. Повсеместно растет интерес к использованию генетических маркеров для прогнозирования наследуемых признаков молочной продуктивности. На фоне стремительного развития молекулярно-генетических технологий, нацеленных на более глубокое изучение генов млекопитающих, обнаруживаются всё новые типы данных, в частности, данные о функциональных генных мутациях, опосредованных механизмом альтернативного сплайсинга. В текущее время наметилось новое направление исследований у крупного рогатого скота по изучению функциональных мутаций

Selection for increasing milk production of cattle: the value of genetic predictor markers

Brigida A.V., Skachkova O.A.

Institution of innovative biotechnology in animal husbandry (IIBZH) - a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst" (L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry), Russia

Key words: dairy cattle, alternative splicing, growth hormone receptor gene, leptin receptor gene, prolactin receptor gene, isoforms.

Abstract. Russian dairy cattle breeding, developing in line with global trends, is based on the breeding of highly productive livestock, including the use of biotechnology for the transfer of embryos obtained from genetically valuable heifers and donor cows. From 2014 to 2020, Russian agricultural enterprises produced more than 90 thousand *in vivo* and *in vitro* cattle embryos with variations of the growth of their annual number in the range from 195 to 26762 pcs. (embryos *in vitro*), from 2746 to 14098 pcs. (embryos *in vivo*). Since keeping animals that do not have high productivity is economically unprofitable, it is necessary to exclude unproductive individuals from production. As a result, it is important to predict the highest milk production (proteins, fat, milk yield) of pre-implantation embryos obtained in veterinary practice for the purposes of embryo transfer, as well as in calves in the first weeks of their life after birth in high-yielding cows. There is a growing interest in the use of genetic markers to predict heritable traits of milk production. Against the backdrop of the rapid development of molecular genetic technologies, aimed at a deeper study of mammalian genes, new types of data are being discovered, in particular, data on functional gene mutations mediated by the mechanism of alternative splicing. Currently, a new direction of research of cattle has been outlined to study functional mutations (alternative splicing defects) that favorably or adversely affect phenotypes, including the milk production of cattle. The purpose of this study was to expand knowledge about the predictive value of molecular markers developed based on information about functional mutations in the milk production predictor genes GHR (growth receptor gene), LEPR (leptin receptor gene) and PRLR (prolactin receptor gene). These potentially important markers are shown to be promising for use in breeding aimed at increasing the productivity of dairy cattle.

(дефекты альтернативного сплайсинга), благоприятно или неблагоприятно влияющих на фенотипы, в том числе, на молочную продуктивность. Целью настоящего исследования являлось расширение знаний о прогностической значимости молекулярных маркеров, разрабатываемых на основе информации о функциональных мутациях в генах-предикторах молочной продуктивности GHR (ген рецептора роста), LEPR (ген рецептора лептина) и PRLR (ген рецептора пролактина). Показана перспективность этих потенциально важных маркеров для применения в селекции, направленной на повышение продуктивности молочного скота.

Введение

На фоне проблем в современном молочном скотоводстве, которые состоят в частой выбраковке из стада высокоудойных коров в связи с акушерско-гинекологическими (45,9%), внутренними незаразными (33,4%) и хирургическими болезнями (20,2 %) [1], селекция на повышение молочной продуктивности имеет важное значение.

Для цитирования / For citation

Скачкова О.А., Бригида А.В. Селекция на повышение молочной продуктивности у крупного рогатого скота: значение генетических маркеров-предикторов. // Ветеринария и кормление. – 2022. – №2. – С.47–49.
 Skachkova O.A., Brigida A.V. Selection for increasing milk production of cattle: the value of genetic predictor markers. // Veterinaria i kormlenie. – 2022. – №2. – P.47–49.

В российских сельскохозяйственных предприятиях, разводящих высокопродуктивный молочный скот, в последнее время возрос интерес к использованию репродуктивной биотехнологии переноса эмбрионов *in vivo* и *in vitro*, полученных от генетически ценных телок и коров-доноров [2], а также к использованию сексированной спермы для получения потомства с заранее определенным полом [3]. По итогам 2020 г. по показателю произведенных эмбрионов *in vivo* крупного рогатого скота РФ вошла в пятерку лидеров в рейтинге европейских стран-участниц АЕТЕ (Association of embryo technology in Europe), членом которой страна является уже много лет [2]. В целом, за последние семь лет (2014–2020 гг.) в России произведено более 90 тыс. эмбрионов *in vivo* и *in vitro* крупного рогатого скота, ежегодно их количество растет, варьируя в диапазонах от 2746 до 14098 шт. (эмбрионы *in vivo*), от 195 до 26762 шт. (эмбрионы *in vitro*) [2]. Содержание малопродуктивных животных является неоправданным, поэтому необходима ранняя идентификация особей с повышенным потенциалом молочной продуктивности. В ветеринарной практике хозяйств, занимающихся эмбриотрансфером, большое внимание уделяют селекции лучших эмбрионов с использованием преимплантационного генетического скрининга (ПГА) на основе генетических маркеров-предикторов [4], несмотря на то, что у получаемых эмбрионов-трансплантантов известен анамнез предков и продуктивный потенциал. При этом, метод биопсии, используемый для взятия биологического образца у эмбриона, не наносит вреда для приживляемости эмбриона-трансплантанта и его развития в процессе стельности у реципиента [5].

Развитие молекулярно-генетических технологий, включающих методы секвенирования SBT (sequence-based typing) и NGS (next generation sequencing), открывает доступ к исследованиям генетической составляющей млекопитающих на всё более глубоком уровне. Это требует новых подходов к идентификации потенциально важных генетических маркеров, основанных на новых типах данных, в частности, таких как информация о функциональных генных мутациях. В текущее время в отношении крупного рогатого скота ведутся исследования, направленные на изучение функциональной активности генов, опосредованной механизмом альтернативного сплайсинга, а также на поиск дефектов сплайсинга (функциональные мутации), благоприятно или неблагоприятно влияющих на фенотипы, в том числе, на признаки молочной продуктивности [6]. Сплайсинговые мутации, обнаруженные в таких генах-предикторах молочной продуктивности, как ген рецептора роста GHR, ген рецептора лептина LEPR, ген рецептора пролактина PRLR, могут быть использованы в качестве более эффективных молекулярно-генетических маркеров.

Материалы и методы исследования

Анализ публикаций по областям знаний, касающихся интересующих генов-кандидатов GHR, LEPR и PRLR, базировался на изучении полнотекстовых публикаций на русском и английском языках, отраженных, главным образом на платформе Web of Science, в базах данных eLIBRARY.RU, Scopus, PubMed, Science Direct, Google Scholar. в российских и международных патентных базах данных. Период анализа охватывал, в основном, 2000–2021 гг.

Результаты исследований

При поиске в вышеуказанных базах данных были найдены, в общей сложности, 536 полнотекстовых научных статей, материалы которых были изучены и проанализированы. Из указанного количества публикаций 142 статьи были квалифицированы для изучения роли альтернативного сплайсинга в функциональной активности генов GHR, LEPR и PRLR крупного рогатого скота. Благодаря новым данным становится известным, что гены млекопитающих представляют собой активно функционирующие структуры, имеющие регуляторные механизмы. Одним из важных механизмов регуляции генной активности, по мнению ученых, является альтернативный сплайсинг [7], процесс которого характеризуется изменением структуры первичного транскрипта мРНК путем вырезания интронов и сшивания экзонов в различных комбинациях, в ряде случаев с сохранением интронов [8]. В результате в каждом гене генерируется несколько изоформ мРНК, различающихся аминокислотными последовательностями, что обуславливает возможность регуляции важных функций во всех биологических процессах, происходящих в организме животного [9]. Любые изменения этого процесса могут привести к нарушению клеточного метаболизма и/или функции [10], вызвав сплайсинговые мутации, например, нуклеотидные замены, которые изменяют регуляторные последовательности в конкретном гене, что отражается на пропорциях изоформ мРНК. Понимание физиологического значения этих изоформ важно для разработки биомаркеров на основе обнаруженных "сплайсинговых мутаций".

Взаимосвязи изоформ мРНК генов GHR, LEPR и PRLR, ассоциированные с фенотипами, в том числе, с признаками молочной продуктивности, показаны в таблице. Следует отметить, что сведения, отображенные в таблице по гену рецептора гормона роста (GHR) [11], по гену рецептора лептина (LEPR) [12–14], по гену рецептора пролактина (PRLR) [15], это единичные сведения, найденные в отношении крупного рогатого скота в немногочисленных научных трудах, при этом, данные о сплайсинговых мутациях отсутствуют. Вследствие, на данном этапе исследований не имеется возможности анализировать данные в спектре сплайсинговых

Таблица – Взаимосвязи изоформ мРНК генов GHR, LEPR и PRLR крупного рогатого скота, ассоциированные с фенотипами
Table – Cattle's interconnection isoforms of mRNA genes GHR, LEPR with PRLR isoforms associated with phenotypes

Наимен. гена	Изоформы мРНК генов	Ассоциированные взаимосвязи изоформ мРНК генов с фенотипами
GHR	fl-GHR (полноразмерная)	не определено
	d3-GHR (короткая)	не определено
LEPR	LEPRb (длинная)	Экспрессируется в основном в гипоталамусе, где она участвует в энергетическом гомеостазе и в регуляции активности секреторных органов. Обнаруженная миссенс-мутация С-Т которая вызывает аминокислотную замену треонин-метионин во внутриклеточном домене изоформы LEPR-b, не имела значимой связи с составом молока и с удоем. Выявленная мутация LepRb G506S/G506S у лабораторных мышей, предположительно, была ответственна за развитие ожирения.
	LEPR (a,c,d,f) (короткие)	Короткие изоформы LEPR (a,c,d,f) являются наиболее распространенными изоформами, обнаруженными во многих различных клетках и тканях, включая почки, легкие, печень, селезенку и макрофаги. Их основная функция предположительно связана с интернализацией и деградацией лептина
	LEPRc (секреторная)	не определено
PRLR	l-PRLR (длинная)	- активирует промотор гена β -казеина в эпителиальных клетках молочной железы; - поддерживает секрецию прогестерона в желтом теле яичника с помощью пролактина
	s-PRLR (короткая)	- адаптирует экспрессию гена β -казеина в эпителиальных клетках молочной железы и его активность под конкретное физиологическое состояние; - преобладание s-PRLR в желтом теле яичника КРС на всех лютеиновых стадиях и период стельности предполагает её ключевую роль в регуляции секреции и метаболизма прогестерона во время эстрального цикла и стельности

мутаций, влияющих на молочную продуктивность.

Вместе с тем, в медицине человека проведено множество исследований на предмет поиска сплайсинговых мутаций, которые, как выяснено, вовлечены в широкий спектр заболеваний [16] таких как аутизм, болезнь Альцгеймера, миотоническая дистрофия и другие [17]. По одному из изучаемых нами генов LEPR выявлено, что у человека большинство мутаций в его длинной изоформе (LEPRb) связаны с дисфункцией гипофиза и ожирением, например, у детей с тяжелым ожирением обнаружена мутация в сайте сплайсинга экзона 15 (с.2396-1 G> T) и нонсенс-мутация экзона 10 (с.1675 G> A) [18]. Идентифицированные сплайсинговые мутации используются в медицине в качестве генетически-молекулярных маркеров для диагностики заболеваний, а также в качестве мишеней для лекарственных средств [19]. По всему миру ведутся разработки терапевтических средств, включающих, искусственные молекулы нуклеиновых кислот, посредством которых в организме пациента станет возможной коррекция процесса альтернативного сплайсинга, направленная на замещение в структуре гена мутантного фрагмента с инициацией генерации нормального сплайсинга [20]. Аналогично тому, открываются возможности производить коррекцию aberrантного сплайсинга при его индентификации в генах крупного рогатого скота в случаях неблагоприятного влияния сплайсинговых мутаций на молочную продуктивность.

Выводы

Все возрастающий спрос на эмбрионы-трансплантаты молочного скота диктует необходимость их отбора по максимальной молочной продуктивности. С накоплением экспериментальных данных возможны разработки эффективных маркеров, основанных на информации о сплайсинговых мутациях в генах GHR, LEPR и PRLR крупного рогатого скота, которые благоприятно или неблагоприятно влияют на признаки молочной продуктивности. Ожидается, что с использованием таких маркеров-предикторов станет возможной прижизненная коррекция aberrантных сплайсинговых (функциональных) мутаций, негативно влияющих на молочную продуктивность. Это является новой перспективой в программах разведения крупного рогатого скота наряду с общепринятой практикой, при которой животных при спрогнозированном нежелательном потенциале продуктивности исключают из производства.

Работа выполнена в рамках госзадания №121052600344-8.

Литература

1. Крупин Е.О. Изменение почвенных, климатических, кормовых ресурсов, выбраковка животных в результате болезней м ее ассоциация с продуктивностью // Ветеринария и кормление. - 2020. - №6 - С.36-38.
2. Quinton, H. Commercial Embryo Transfer Activity in Europe 2020 / H. Quinton // Association of Embryo Technology in Europe, 2021. - Режим доступа: <https://www.aete.eu/publications/statistics/>
3. Шишкина М.А. Эффективность применения сексированной спермы в Сибири // Достижения науки и техники АПК, 2015. - Т.29. - №6. - С. 69-71.
4. Юдин, Н.С. Применение репродуктивных технологий для повышения эффективности геномной селекции молочного крупного рогатого скота / Н.С. Юдин, К.И. Лукьянов, М.И. Воевода, Н.А. Колчанов // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2015. - № 19(3) - С. 277-285.
5. Ponsart, C. Reproductive technologies and genomic selection in dairy cattle / Ponsart C., Le Bourhis D., Knijn H., et al. // Reproduction Fertility Development, 2014. - № 26 (1). - P. 12-21. DOI: 10.1071/RD13328
6. Xiang, R. Genome variants associated with RNA splicing variations in bovine are extensively shared between tissues / Xiang, R., Hayes B.J., Vander Jagt C.J., et al. // BMC Genomics, 2018. - № 19. - P. 521. DOI:10.1186/s12864-018-4902-8
7. Rekosh, D. Intron retention in viruses and cellular genes: Detention, border controls and passports / D. Rekosh, M.L. Hammaraskjold // WIREs RNA, 2018. - 9(3). - P.e1470. DOI:10.1002/wrna.1470
8. Chacko, E. Genome-wide analysis of alternative splicing in cow: implications in bovine as a model for human diseases / E. Chacko, S. Ranganathan // BMC Genomics, 2009. - Vol. 10. - P. S11. DOI:10.1186/1471-2164-10-S3-S11
9. Baralle, F. Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity / F. Baralle, J. Giudice // Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2017. - Vol. 18. - P. 437-451. DOI:10.1038/nrm.2017.27
10. Chabot, B. Defective control of pre-messenger RNA splicing in human disease. / B. Chabot, L. Shkreta // Journal of Cell Biology, 2016. - Vol. 212 (1). - P. 13-27. DOI: 10.1083/jcb.201510032
11. Garrido, N.P. Growth hormone receptor gene polymorphism. spontaneous catch up growth in small for gestational age patients / N.P. Garrido, M. Pujana, M. Berger, P. Ramirez, G. Guercio, Alicia Belgorosky, R. Marino // Medicina (Buenos Aires), 2021. - Vol. 81. - P. 574-580.

12. De Matteis, G. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes on milk and morphological traits in Holstein cows / G. De Matteis, M. C. Scat?, F. Grandoni, et al. // Journal of Animal Sciences, 2012. - Vol. 2 (3). - P. 174-182 (2012). <http://dx.doi.org/10.4236/ojas.2012.23024>
13. Piattini, F. A spontaneous leptin receptor point mutation causes obesity and differentially affects leptin signaling in hypothalamic nuclei resulting in metabolic dysfunctions distinct from db/db mice / F. Piattini, C.L. Foll, J. Kisielow, et al. // Molecular Metabolism, 2019. - Vol. 25. - P. 131-141. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.04.010
14. Gorska, E. Leptin receptors / E. Gorska, K. Popko, A. Stelmaszczyk-Emmel, et al. // European Journal of Medical Research, 2010. - Vol. 15 (50). DOI: 10.1186/2047-783X-15-S2-50
15. Abramicheva, P.A. Prolactin receptor isoforms as the basis of tissue-specific action of prolactin in the norm and pathology / P.A. Abramicheva, O.V. Smirnova // Biochemistry, 2019. - Vol. 84. - P. 329-345. DOI: 10.1134/S0006297919040011
16. Жуань Г., Скариа А. Генное редактирование глубоких интронных мутаций. Патент №2759335 Российская Федерация (12.11.2021)
17. Хайтович Ф.Е., Мазин П.В. Способ квантификации статистического анализа альтернативного сплайсинга в данных РНК-Сек. Патент №2752663 Российская Федерация (29.07.2021)
18. Saeed, S. Novel LEPR Mutations in Obese Pakistani Children Identified by PCR-Based Enrichment and Next Generation Sequencing / S. Saeed, A. Bonnefond, J. Manzoor, et al. // Obesity, 2014. - Vol. 22. - P.1112-1117. DOI: 10.1002/oby.20667
19. Akerman M., Pineda M.L. Systems and methods for analysis of alternative splicing. US Patent No. US2021280275 (09 сентября 2021).
20. Дакка А., Грин Л., Карп Г. с соавт. Соединения для лечения спинальной мышечной атрофии. Патент №2673542 Российская Федерация (28.11.2018)

References

1. Krupin E.O. Izmenenie pochvennyh, klimaticheskikh, kormovyh resursov, vybrakovka zhivotnyh v rezul'tate boleznej m ee associaciya s produktivnost'yu // Veterinariya i kormlenie. - 2020. - №6 - С.36-38.
2. Quinton, H. Commercial Embryo Transfer Activity in Europe 2020 / H. Quinton // Association of Embryo Technology in Europe, 2021. - Режим доступа: <https://www.aete.eu/publications/statistics/>
3. SHishkina M.A. Effektivnost' primeneniya seksirovannoy spermy v Sibiri // Dostizheniya nauki i tekhniki APK, 2015. - Т.29. - №6. - С. 69-71.
4. YUdin, N.S. Primenenie reproduktivnyh tekhnologij dlya povysheniya effektivnosti gennomnoy selekcii molochnogo krupnogo rogatogo skota / N.S. YUdin, K.I. Luk'yanov, M.I. Voevoda, N.A. Kolchanov // Vavilovskij zhurnal genetik i selekcii, 2015. - № 19(3) - С. 277-285.
5. Ponsart, C. Reproductive technologies and genomic selection in dairy cattle / Ponsart C., Le Bourhis D., Knijn H., et al. // Reproduction Fertility Development, 2014. - № 26 (1). - P. 12-21. DOI: 10.1071/RD13328
6. Xiang, R. Genome variants associated with RNA splicing variations in bovine are extensively shared between tissues / Xiang, R., Hayes B.J., Vander Jagt C.J., et al. // BMC Genomics, 2018. - № 19. - P. 521. DOI:10.1186/s12864-018-4902-8
7. Rekosh, D. Intron retention in viruses and cellular genes: Detention, border controls and passports / D. Rekosh, M.L. Hammaraskjold // WIREs RNA, 2018. - 9(3). - P.e1470. DOI:10.1002/wrna.1470
8. Chacko, E. Genome-wide analysis of alternative splicing in cow: implications in bovine as a model for human diseases / E. Chacko, S. Ranganathan // BMC Genomics, 2009. - Vol. 10. - P. S11. DOI:10.1186/1471-2164-10-S3-S11
9. Baralle, F. Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity / F. Baralle, J. Giudice // Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2017. - Vol. 18. - P. 437-451. DOI:10.1038/nrm.2017.27
10. Chabot, B. Defective control of pre-messenger RNA splicing in human disease. / B. Chabot, L. Shkreta // Journal of Cell Biology, 2016. - Vol. 212 (1). - P. 13-27. DOI: 10.1083/jcb.201510032
11. Garrido, N.P. Growth hormone receptor gene polymorphism. spontaneous catch up growth in small for gestational age patients / N.P. Garrido, M. Pujana, M. Berger, P. Ramirez, G. Guercio, Alicia Belgorosky, R. Marino // Medicina (Buenos Aires), 2021. - Vol. 81. - P. 574-580.
12. De Matteis, G. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes on milk and morphological traits in Holstein cows / G. De Matteis, M. C. Scat?, F. Grandoni, et al. // Journal of Animal Sciences, 2012. - Vol. 2 (3). - P. 174-182 (2012). <http://dx.doi.org/10.4236/ojas.2012.23024>
13. Piattini, F. A spontaneous leptin receptor point mutation causes obesity and differentially affects leptin signaling in hypothalamic nuclei resulting in metabolic dysfunctions distinct from db/db mice / F. Piattini, C.L. Foll, J. Kisielow, et al. // Molecular Metabolism, 2019. - Vol. 25. - P. 131-141. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.04.010
14. Gorska, E. Leptin receptors / E. Gorska, K. Popko, A. Stelmaszczyk-Emmel, et al. // European Journal of Medical Research, 2010. - Vol. 15 (50). DOI: 10.1186/2047-783X-15-S2-50
15. Abramicheva, P.A. Prolactin receptor isoforms as the basis of tissue-specific action of prolactin in the norm and pathology / P.A. Abramicheva, O.V. Smirnova // Biochemistry, 2019. - Vol. 84. - P. 329-345. DOI: 10.1134/S0006297919040011
16. Ruan G., Scaria A. Gene editing of deep intron mutations. RU Patent No. №2759335 (12.11.2021)
17. Khajtovich F.E., Mazin P.V. Method for quantifying the statistical analysis of alternative splicing in RNA-SEC DATA. RU Patent No. №2752663 (29.07.2021)
18. Saeed, S. Novel LEPR Mutations in Obese Pakistani Children Identified by PCR-Based Enrichment and Next Generation Sequencing / S. Saeed, A. Bonnefond, J. Manzoor, et al. // Obesity, 2014. - Vol. 22. - P.1112-1117. DOI: 10.1002/oby.20667
19. Akerman M., Pineda M.L. Systems and methods for analysis of alternative splicing. US Patent No. US2021280275 (09 сентября 2021)
20. Dакка А., Грин Л., et al. Compounds for treating spinal muscular atrophy. RU Patent No. №2673542 (28.11.2018)