



ІНСТИТУТ
БІОЛОГІ
ТВАРИН
НААН

ДНК-типуння свиней за геном теломеразної зворотної транскриптази (TERT)

А. М. Сасенко, Є. О. Будаква, М. Ю. Пека

Інститут свинарства і агропромислового виробництва НААН України
вул. Шведська Могила, 1, м. Полтава, Україна, 36013



Інститут свинарства і
агропромислового
виробництва НААН України

Вступ

Теломерна ДНК і теломеразний комплекс активно вивчають у різних аспектах впливу на фізіологічні та біохімічні процеси в організмі людини і тварин. Довжина теломерної ДНК і поліморфізм гену TERT (Telomerase Reverse Transcriptase, теломеразна зворотня транскриптаза) можуть бути основою для розроблення молекулярно-генетичних маркерів продуктивних ознак та здоров'я сільськогосподарських тварин, зокрема свиней, і впровадження маркер-асоційованої селекції.

У ряді досліджень показано, що у гені TERT різних тварин наявні поліморфізми, які можуть бути використані у якості молекулярно-генетичних маркерів. Типування свиней за вказаним геном може дати корисну інформацію для відбору тварин зі сприятливим для розвитку продуктивних ознак генотипом. Тим не менше, на даний час невідомо, чи можлива маркерна селекція за вказаним геном. Якщо буде знайдений поліморфізм за геном TERT і встановлений його зв'язок з продуктивними ознаками тварин, це дасть підґрунтя для селекційної роботи, спрямованої на закріплення певних ознак в досліджуваній популяції.

Матеріали і методи

Зразки біоматеріалів (кров, щетина) відібрано у групах 4-х порід свиней.

Виділення ДНК з біоматеріалу здійснювали за допомогою реагенту «Chelex 100». Генотипування тварин за локусом теломеразної зворотної транскриптази проводили на основі стандартних методик ПЛР-ПДРФ.

Результати й обговорення

З метою пошуку однонуклеотидних поліморфізмів проаналізовано бази даних первинної структури гену TERT теломеразної зворотної транскриптази (Ensembl ID: ENSSSCG00000017118 (gene sequence), NCBI Reference Sequence: NM_001244300.2 (mRNA sequence)). Для дослідження обрано фрагмент гену, що містить значну кількість однонуклеотидних поліморфізмів: rs789641834, rs698799571, rs320317081, rs706045634, rs696805316. Для розроблення методу генотипування свиней за геном TERT було обрано SNP rs698799571.

Підібрана структура олігонуклеотидних праймерів для ПЛР-ампліфікації визначеного фрагмента гену теломеразної зворотної транскриптази свині. Виконана оптимізація умов ПЛР-ампліфікації фрагмента гену TERT, його рестрикції ендонуклеазою RsaI і електрофорезу отриманих ДНК-фрагментів рестрикції в поліакриламідному гелі.

Проведено електрофоретичний аналіз продуктів ампліфікації і рестрикції у 8% поліакриламідному гелі, рис 1. Згідно з результатами електрофорезу розміри отриманих ДНК-фрагментів відповідають очікуванім. Фрагмент ампліфікації знаходиться на рівні 270 п.н. Більший фрагмент рестрикції розміром 231 п.н. на електрофореграмі згідно ДНК-маркеру виявляється у відповідному положенні. Менший фрагмент рестрикції розміром 39 п.н. на електрофореграмі має слабо виражене забарвлення та в деяких випадках може не виявлятися.

Підібрані умови ПЛР-ПДРФ для генотипування за геном теломеразної зворотної транскриптази дозволяють коректно визначати генотипи тварин. Наявність на електрофореграмі після рестрикції ПЛР-ампліфікату фрагменту ДНК розміром 231 п.н. відповідає генотипу AA (наявний RsaI-сайт рестрикції, 270 п.н. — генотипу TT (відсутній RsaI-сайт рестрикції), двох ДНК-фрагментів розміром 270 п.н. і 231 п.н. — гетерозиготному генотипу AT.

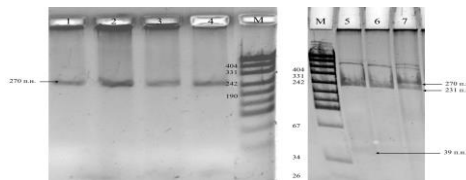


Рис. 1. Електрофореграми продуктів ампліфікації у агарозному 2% гелі (а) та продуктів RsaI рестрикції у 8% поліакриламідному гелі (б) фрагменту ДНК гену TERT. М — маркер молекулярної маси pUC19 DNA/MspI; 1–4 — ампліфікати; 5–7 рестрикції (5–6 — тварини з генотипом AA, 7 — тварини з генотипом AT)

Висновки

Розроблена техніка ДНК-типуння за геном теломеразної зворотної транскриптази була використана для аналізу його поліморфізму в групах 4 порід свиней і гібридних тварин. Виявлено поліморфізм гену TERT за SNP rs698799571 у групі гібридних тварин; в інших проаналізованих групах тварин поліморфізм не виявлено.