

Продолжение таблицы 1

Возбудитель	Мишени для штаммовой идентификации
вирус оспы птиц	ген P4b
вирус бешенства	ген G ψ-регион
вирус классической чумы свиней	ген E2 3' конец NCR-региона

Вакцины для профилактики ньюкаслской болезни птиц из лентогенных штаммов необходимо исследовать на наличие контаминации велогенными и мезогенными изолятами вируса. В соответствии с методическими рекомендациями МЭБ [4] выявление первичной молекулярной детерминанты вирулентности – аминокислотной последовательности сайта расщепления белка F позволяет оценить патогенные свойства штамма. Идентификация этого сайта для вакцин из лентогенных штаммов позволяет удостовериться в отсутствии велогенных и мезогенных изолятов без использования теста на живых цыплятах.

Большинство исследованных вакцин содержали заявленные производителями штаммы. Несоответствие штаммового состава было выявлено в вакцине против классической чумы свиней, трех вакцинах против ньюкаслской болезни птиц и двух – против инфекционной бурсальной болезни. Контаминации вакцин против ньюкаслской болезни из лентогенных штаммов патогенными изолятами вируса отсутствовала.

Контаминация микоплазмами была выявлена в девяти исследуемых образцах: двух сериях вакцины против ньюкаслской болезни, в двух вакцинах (каждая – по две серии) против метапневмовирусной инфекции птиц и в трех сериях вакцины против классической чумы свиней. В образцах последней также была обнаружена РНК BVDV.

**Заключение.** Дальнейшее использование молекулярно-генетических методов для идентификации производственных штаммов и тестирования на наличие контаминации

посторонними микроорганизмами позволит совершенствовать систему контроля качества вакцин, в первую очередь при регистрации и сертификации, обеспечит биологическую и экологическую безопасность.

#### Литература.

1. Солтынская И.В., Давыдова Е.Е., Яцентюк С.П., Обухов И.Л., Смоленский В.И., Панин А.Н. Молекулярно-генетическая идентификация штаммов вируса ньюкаслской болезни в вакцинных препаратах. // Ветеринария, №3, 2013, С. 22-26
2. Урываев Л.В., Ионова К.С., Дедова А.В. и др. Анализ контаминации клеточных культур пестивирусом BVDV и микоплазмами. // Вопросы вирусологии, Т.57, №5, 2012, С. 15-21
3. Farsang A., Wehmann E., Soos T., Lomniczi B. Positive identification of Newcastle disease virus vaccine strains and detection of contamination in vaccine batches by restriction site analysis of the Matrix protein gene // J. Vet. Med. 2003. Vol. 50. P. 311-315.
4. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 2009. <http://www.oie.int>, chapter 2.3.14. Newcastle disease.
5. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods // Molecular Biology and Evolution. 2011. 28: 2731 - 2739.
6. Thornton D. H. A survey of mycoplasma detection in veterinary vaccines. // Vaccine, 1986, 4. P. 237-240

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *MUC4* НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА СВИНЕЙ

Гетманцева Л.В.<sup>1</sup>, Святогорова А.Е.<sup>2</sup>, Леонова М.А.<sup>2</sup>, Усатов А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Донской государственный аграрный университет, п. Персиановский, Россия

<sup>2</sup>Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Россия

Муцины (MUC) относятся к подклассу высокомолекулярных гликопротеинов и играют важную роль в защите поверхностного эпителия, пролиферации и дифференциации клеток. Нормальное развитие эндометрия является одним из основных факторов для успешной имплантации blastocysts и наступления беременности у животных. Различные изменения эндометрия, неполноценная секреторная трансформация могут привести к нарушению имплантации и абортam на ранних сроках беременности. Роль гена муцина-4 (*MUC4*) отмечалась у грызунов и свиней во время беременности, хотя его экспрессия зависит от вида. У мышей и крыс экспрессия гена *MUC4* в покровном эпителии заметно снижается в течение диэструса и становится незаметной перед адгезией blastocysts и, наоборот, у свиней *MUC4* активируется в матке [1]. Нарушение маточной микросреды может повлиять на жизнеспособность эмбрионов и привести к перинатальной смертности свиней от 20 до 46% [2].

Муцины-4 локализованы в эпителии эндометрия и блокирует доступ различных субстратов к поверхности клетки, тем самым играя важную роль в создании оптимальной среды для эмбриональной выживаемости во время беременности.

На полиморфизм гена *MUC4* в 7 интроне (DQ848681:g.8227C>G) впервые обратили внимание при изучении устойчивости к действию штаммов патогенных *E.coli* K88, вызывающих послеродовую диарею у поросят [3, 4]. Ген *MUC4* локализован в 13 свиной хромосоме (SSC13q41) в пределах доверительного интервала QTL, связанного с количеством поросят при рождении и многоплодием [5]. Дальнейшее изучение влияния гена *MUC4* на репродуктивные качества свиней показали, что данный полиморфизм может рассматриваться в качестве маркера плодовитости свиней [6].

**Цель работы** определить влияние полиморфизма гена, обусловленного точечной мутацией (SNP) в 7 интроне

(DQ848681:g.8227C>G) на репродуктивные качества свиноматок породы ландрас.

**Материалы и методы исследований.** Исследования выполняли на свиноматках породы ландрас. Для проведения ДНК-генотипирования у свиней отобрали образцы ткани площадью 1 см<sup>2</sup> (ушные выщипы). Генетический анализ проводили методом ПЦР-ПДРФ (полимеразной цепной реакции – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов). ПЦР-ПДРФ анализ фрагмента гена *MUC4* размером 266 п.н. выполняли с использованием эндонуклеазы *XbaI*. Рестрикционные фрагменты разделяли в 3%-ном агарозном геле. Визуализацию электрофореграмм проводили на трансиллюминаторе в УФ-диапазоне. Наличие одного фрагмента размером 266 п.н. соответствовал генотипу *CC*, фрагмент размером 140 и 126 п.н. (визуализируются в геле как один фрагмент) – генотипу *GG*, два фрагмента 266 и 140+126 п.н. – генотипу *CG*.

По результатам молекулярно – генетического анализа установили наличие и частоту аллелей и генотипов. Влияние генотипов гена *MUC4* на репродуктивные качества опреде-

ляли по количеству поросят при рождении (гол.), количеству живых поросят при рождении (гол.) и массе гнезда при рождении (кг) у свиноматок (n=84). Все свиноматки содержались в одинаковых условиях и имели как минимум три опороса. В анализ включены данные по первым трем опоросам.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам с использованием программного обеспечения MS Excel и STATISTICA 6.0.

**Результаты исследований.** В результате проведенных исследований у свиноматок было установлено наличие всех трех генотипов *CC*, *CG* и *GG* с частотой 14,3; 28,6; 57,1% соответственно. Частота аллеля *G* составила 0,71, аллеля *C* – 0,29.

Проведенный анализ репродуктивных качеств (табл.) показал, что свиноматки генотипа *CC* достоверно превосходили аналогов генотипа *GG* по количеству поросят при рождении на 0,7 гол. (p<0,001), количеству живых поросят при рождении на 1,4 гол. (p<0,001) и массе гнезда при рождении на 1,5 кг (p<0,001).

Таблица  
**Репродуктивные качества свиноматок различных генотипов по гену *MUC4***

Показатели	Генотипы		
	<i>CC</i>	<i>CG</i>	<i>GG</i>
Количество поросят при рождении, гол.	13,2±0,18*	12,9±0,21	12,5±0,19
Количество живых поросят при рождении, гол.	12,8±0,27*	12,2±0,17	11,4±0,31
Масса гнезда при рождении, кг	17,8±0,31*	17,2±0,23	16,3±0,39

\*различия между генотипами *CC* и *GG* при p<0,001

**Выводы.** Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о влиянии полиморфизма гена *MUC4/XbaI* на репродуктивные качества свиней. Для повышения многоплодия свиноматок породы ландрас рекомендуется закрепления генотипа *CC* в популяции.

#### Литература

1. Carraway K.L., Idris N: Regulation of sialomucin complex/ *Muc4* in the female rat reproductive tract // *Biochem Soc Trans.*- 2001.- №29.- P.162-166.
2. Ross J.W., Ashworth M.D., Stein D.R. et al. Identification of differential gene expression during porcine conceptus rapid trophoblastic elongation and attachment to uterine luminal epithelium // *Physiol Genomics.*- 2009.- № 36.- P.140-148.
16. Balcells I., Castelló A., Mercadé A. et al. Analysis of porcine *MUC4* gene as a candidate gene for prolificacy QTL on SSC13 in an Iberian x Meishan F2 population // *BMC Genetics.*- 2011.- № 12.- P.93.
3. Jørgensen C.B., Cirera S., Anderson S.I. et al. Linkage and comparative mapping of the locus controlling susceptibility

towards *E. COLI* F4ab/ac diarrhoea in pigs // *Cytogenet Genome Res.*- 2003.- №102(1-4).- P.157-62.

4. Михайлов Н.В., Гетманцева Л.В. Причины мертворожденности поросят // *Свиноводство.*- 2012.- № 6.- С. 66-67.

19. Peng Q.L., Ren J., Yan X.M. et al. The g.243a>g mutation in intron 17 of *MUC4* is significantly associated with susceptibility/resistance to ETEC F4ab/ac infection in pigs // *Anim Genet.*- 2007.- № 38.- P397-400.

5. Noguera J.L., Rodriguez C., Varona L. et al. A bidimensional genome scan for prolificacy traits in pigs shows the existence of multiple epistatic QTL // *BMC Genomics.*- 2009.- №10.- P.636.

6. Гетманцева Л.В., Михайлов Н.В., Колосов А.Ю., Радюк А.В. Полиморфизм гена *MUC4* и воспроизводительные качества свиней // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование.*- 2013.- Т. 1.- № 3-1 (31). -С. 143-146.