



УДК 636.2.034

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПО КОМПЛЕКСУ ГЕНОТИПОВ ЛОКУСОВ TNF- α И TNFR1*

Т.И. КРЫЦЫНА¹, инженер-биотехнолог,
Н.Н. КОЧНЕВ¹, доктор биологических наук, профессор,
Н.С. ЮДИН², кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

¹Новосибирский государственный аграрный университет
630039, Россия, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160
e-mail: krytsyna@list.ru

²Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики СО РАН
630090, Россия, Новосибирск, ул. ак. Лаврентьева, 10
e-mail: kochnev@nsau.edu.ru

Описана генетическая структура выборочных популяций крупного рогатого скота по частотам аллелей и различным сочетаниям генотипов полиморфных локусов TNF- α (-824 A/G, -793 C/T) и TNFR1. Исследовали стада крупного рогатого скота молочного направления продуктивности Новосибирской области и Алтайского края. Изучены животные красной степной, симментальской и голштинской пород. Ген фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) кодирует многофункциональный цитокин, одна из основных функций которого – участие в формировании иммунного ответа. Биологический эффект цитокина на клетки проявляется через взаимодействие со специфическим рецептором, кодируемым геном TNFR1. Цитокин TNF- α и его рецептор TNFR1 входят в состав так называемого семейства фактора некроза опухоли. Белки семейства фактора некроза опухоли участвуют в метаболических и морфогенетических процессах, влияют на репродуктивные признаки животных. Изучена генетическая структура трех пород крупного рогатого скота по аллелям и различным генотипическим комбинациям полиморфных локусов фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) в позиции -824 A/G и -793 C/T промоторной области и его рецептора (TNFR1). Генотипирование проводили методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов. Установлены достоверные межпородные различия по частотам аллелей ($p < 0,01$). Из 27 возможных сочетаний генотипов по трем полиморфизмам у животных обнаружено лишь 18. В красной степной породе выявлено 16 разных вариантов генотипов, в симментальской и голштинской – 10 и 9 соответственно. Наиболее распространенным генотипом в красной степной породе был гетерозиготный G/A + T/C + T/C (19,9 %), симментальской – гомозиготный G/G + T/T + C/C (61,4), голштинской – вариант сочетания G/A + T/C + C/C (35,7 %). Установлены достоверные различия между породными группами по частотам встречаемости некоторых меж- и внутрилокусных генотипических комбинаций ($p < 0,01$ – $p < 0,001$).

Ключевые слова: комплексный генотип, фактор некроза опухоли, TNF- α , TNFR1, молочный скот, однонуклеотидный полиморфизм.

Современное развитие молекулярной генетики в области разведения сельскохозяйственных животных и сохранения их генетического разнообразия включает пол-

ное секвенирование геномов и исследование полиморфных локусов, доступных для анализа. Идентификация значимых генов, их влияние на проявление желательных фено-

*Исследование выполнено при финансовой поддержке ФАНО России, бюджетный проект № 0324-2016-0002.

типических характеристик имеют большое значение для оценки микроэволюционных процессов и разработки стратегии селекционной работы с породами. Информация по генетическому разнообразию важна для выявления и использования генетических ресурсов популяций, имеющих разное генетическое происхождение и, возможно, уникальное сочетание генов и аллелей, обуславливающих их продуктивные, воспроизводительные и адаптивные признаки. Генетический полиморфизм отдельных локусов, ассоциированных с количественными признаками, достаточно хорошо изучен, например, по генам каппа-казеина, лактоглобулина, соматотропина, пролактина [1–3].

К числу потенциальных кандидатов в маркеры некоторых хозяйственно полезных признаков у молочного скота можно отнести ген фактора некроза опухоли альфа (*TNF-α*). Данный ген кодирует многофункциональный цитокин, одна из основных функций которого – участие в формировании иммунного ответа. Кроме того, цитокин влияет на некоторые репродуктивные функции животных. Например, его недостаток способен блокировать овуляцию [4, 5], в малых дозах он участвует в ремоделировании местных тканей, необходимых для имплантации эмбриона, а в больших дозах способен вызвать аборт [6, 7]. Установлено влияние этого белка на обмен веществ. Небольшие его концентрации снижают активность липопротеинлипазы, ацетил-КоА-карбоксилазы и синтез жирных кислот. При этом высокие дозы белка полностью ингибируют активность липопротеинлипазы, что приводит к истощению организма [8].

Одним из основных рецепторов *TNF-α* на поверхности клеток служит трансмембранный белок, кодируемый геном *TNFR1*. Ранее нами изучено влияние полиморфизма генов *TNF-α* и *TNFR1* на молочную продуктивность коров черно-пестрой [9], красной степной [10, 11], симментальской [12, 13] и голштинской пород [14], на репродуктивные признаки [15], показатели роста и развития у молочного скота [16, 17].

Цель работы – описать генетическую структуру выборочных популяций крупного

рогатого скота по частотам аллелей и различным сочетаниям генотипов полиморфных локусов *TNF-α* (-824 A/G, -793 C/T) и *TNFR1*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в лабораториях молекулярной генетики человека Института цитологии и генетики РАН и энзимного анализа и ДНК-технологий Новосибирского государственного аграрного университета. Изучены пробы крови коров красной степной породы ($n = 148$), разводимых в Алтайском крае, симментальской ($n = 149$) и голштинской ($n = 100$), разводимых в Новосибирской области.

Геномную ДНК выделяли с помощью стандартного метода протеолитической обработки с последующей экстракцией фенол-хлороформом. ДНК-типирование образцов проводили методом ПЦР – ПДРФ. Ген *TNF-α* изучали по двум одонуклеотидным заменам в позиции 824 A/G и 793 C/T промоторной области. Ген *TNFR1* изучен по замене C/T в позиции 1704 мРНК (идентификационный номер в базе Genbank U90937), которая приводит к замене триптофана на аргинин в позиции 471 белка.

Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала ПЦР-буфер («СибЭнзим», Новосибирск), 3 mM $MgCl_2$, по 200 мкМ каждого dNTP (dATP, dTTP, dCTP и dGTP), по 1 мкМ каждого праймера, 2,5 ед. активности Taq-полимеразы («СибЭнзим», Новосибирск) и 0,5–1 мкг геномной ДНК крупного рогатого скота в качестве матрицы. Характеристика используемых праймеров, размеры фрагментов, температуры отжига и количество циклов представлены в табл. 1. Режим амплификации следующий: предварительная денатурация 95 °C – 5 мин, денатурация 95 °C – 30 с, отжиг – 30 с, элонгация 72 °C – 30 с.

Амплифицированные фрагменты обрабатывали эндонуклеазами рестрикции EcoICRI (*TNF-α* -824 A/G), Sse9 I (*TNF-α* -793 C/T), Bse1 I (*TNFR1* C/T) производства «СибЭнзим» (Россия) согласно условиям, рекомендуемым производителем. После инкубации рестрикционные фрагменты разделя-

Таблица 1

Условия и характеристики амплификации фрагментов генов TNF- α (-824 A/G и -793 C/T) и TNFR1 (C/T)

Полиморфизм	Последовательность праймеров	Температура отжига, °C	Размер фрагмента, п.н.	Число циклов
TNF- α (-824 A/G)	5'-CCGAGAAATGGGACAACCT-3 5'-GCCATGTATCCCCAAAGAAT-3	62	145	35
TNF- α (-793 C/T)	5'-CCGAGAAATGGGACAACCT-3 5'-GCCATGTATCCCCAAAGAAT-3	60	145	32
TNFR1 (C/T)	5'-TCGCGTCCGAGCCCCGCCTTCAC-3 5'-GATCGTGCCTGCTCCTCC-3	64	184	30

ли с помощью вертикального электрофореза в 4%-м полиакриламидном геле при постоянном напряжении 300 В. Гель окрашивали бромистым этидием и просматривали на трансиллюминаторе под УФ-лучами.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных компьютерных программ Statistica 8 и Microsoft Excel по общепринятым методикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ генетической структуры с использованием оценки распределения аллелей по трем полиморфным локусам представлен в табл. 2. По полиморфизму промотора в позиции -824 гена TNF- α выборки красной степной и симментальской пород характеризовались высокой частотой аллеля G – 74,7 и 89,9 % соответственно. Выборка голштинского скота показала относительно равную долю встречаемости аллелей G (52,0 %) и A (48,0 %). При сравнительном анализе наблюдали достоверные различия изучаемых выборок скота

красной степной, симментальской и голштинской пород по частотам аллелей гена TNF- α (-824 A/G) ($p < 0,01$).

По полиморфизму TNF- α (-793 C/T) наивысшая частота аллеля Т установлена в симментальской породе (82,7 %), при частоте аллеля С – 17,3 %. Эти значения в симментальской породе достоверно отличались от частоты аллелей как в красной степной (Т – 63,9 и С – 36,1 %), так и в голштинской породе (Т – 51,5 и С – 48,5%) ($p < 0,01$). При этом достоверных различий по частотам аллелей между выборками красной степной и голштинской породы не обнаружено.

Анализ генетической структуры по полиморфизму TNFR1 в трех породах крупного рогатого скота показал, что симментальская и голштинская не различались между собой по частотам встречаемости аллелей С и Т. Обе породы характеризовались высокой частотой аллеля С (87,0 и 78,5 %) и низкой аллеля Т (13,0 и 21,5 %). В красной степной породе частоты аллелей С и Т составляли 51,1 и 48,9 % и достоверно различались от частот двух предыдущих выборок ($p < 0,01$).

Таблица 2

Распределение частот аллелей по генам TNF- α (-824 и -793) и TNFR1, %

Порода	Частота встречаемости аллеля					
	TNF- α -824		TNF- α -793		TNFR1	
	A	G	C	T	C	T
Красная степная	25,3 $\pm$ 2,5 ^a	74,7 $\pm$ 2,5	36,6 $\pm$ 2,8 ^a	63,9 $\pm$ 2,8	51,1 $\pm$ 2,9 ^{ab}	48,9 $\pm$ 2,9
Симментальская	10,1 $\pm$ 1,7 ^a	89,9 $\pm$ 1,7	17,3 $\pm$ 1,9 ^{ab}	82,7 $\pm$ 1,9	87,0 $\pm$ 1,6 ^a	13,0 $\pm$ 1,6
Голштинская	48,0 $\pm$ 3,5 ^a	52,0 $\pm$ 3,5	48,5 $\pm$ 3,5 ^b	51,5 $\pm$ 3,5	78,5 $\pm$ 2,9 ^b	21,5 $\pm$ 2,9

Примечание. Здесь и в табл. 3 буквами *a*, *b* отмечены группы, имеющие достоверные различия по частотам между породами, уровень достоверности указан в тексте.

Следует обратить внимание на то, что в выборках частоты встречаемости по всем локусам, каждый из которых представлен двумя аллелями, имеют относительно высокие значения. Это характерно в отношении селективно-нейтральных генов, поддерживаемых в популяциях стабилизирующим отбором.

В табл. 3 представлена генетическая структура по комплексным генотипам локусов *TNF-α* (-824 A/G, -793 C/T) и *TNFR1*. В результате тестирования установлено, что из 27 возможных комбинаций генотипов в породах встречается лишь 18 вариантов. При

этом количество генотипов различалось в зависимости от породной принадлежности. Так, наибольшее число вариантов выявлено в красной степной породе – 16 генотипов, в симментальской и голштинской – 10 и 9 соответственно.

Большое количество генотипических комбинаций в красной степной породе, возможно, связано с более высоким генетическим разнообразием по сравнению с другими породами, у которых консолидированная наследственность формировалась в условиях более интенсивной селекции.

Таблица 3

Частота встречаемости генотипов по комплексу полиморфизмов генов *TNF-α* (-824 и -793) и *TNFR1*, %

Генотип			Порода		
<i>TNF-α</i> -824 A/G	<i>TNF-α</i> -793 C/T	<i>TNFR1</i> C/T	красная степная (n = 148)	симментальская (n = 149)	голштинская (n = 100)
G/G	T/T	C/C	11,6 ± 2,6 ^a	61,4 ± 3,9 ^{ab}	11,5 ± 3,2 ^b
		T/C	18,5 ± 3,2	11,7 ± 2,6	11,5 ± 3,2
		T/T	8,2 ± 2,3	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
	T/C	C/C	4,8 ± 1,7	4,1 ± 1,6	0,0 ± 0,9
		T/C	8,2 ± 2,3 ^a	2,7 ± 1,3 ^a	0,0 ± 0,9
		T/T	4,1 ± 1,6	1,5 ± 0,9	0,0 ± 0,9
	C/C	C/C	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/C	0,7 ± 0,7	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/T	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
G/A	T/T	C/C	0,7 ± 0,7	0,7 ± 0,7	0,0 ± 0,9
		T/C	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	1,5 ± 1,2
		T/T	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
	T/C	C/C	4,8 ± 1,7 ^a	13,1 ± 2,7 ^a	35,7 ± 4,7 ^a
		T/C	19,9 ± 3,2 ^a	3,4 ± 1,4 ^{a, b}	17,1 ± 3,7 ^b
		T/T	8,2 ± 2,3	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
	C/C	C/C	0,7 ± 0,7	0,0 ± 0,6	1,5 ± 1,2
		T/C	2,7 ± 1,3	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/T	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
A/A	T/T	C/C	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/C	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/T	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
	T/C	C/C	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/C	0,7 ± 0,7	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
		T/T	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,6	0,0 ± 0,9
	C/C	C/C	2,1 ± 1,1	0,7 ± 0,7 ^a	7,1 ± 2,6 ^a
		T/C	4,1 ± 1,6 ^a	0,0 ± 0,6	12,6 ± 3,3 ^a
		T/T	0,0 ± 0,6	0,7 ± 0,7	1,5 ± 1,2

В связи со специфической эволюционной историей создания каждой породы и современными темпами отбора по молочной продуктивности племенные стада отличаются высокой генетической однородностью в результате линейного разведения, использования ограниченного числа производителей. В этом случае генетическая структура во многом связана с уровнем инбридинга и генетическим дрейфом.

Следует заметить, что частота гетерозиготного генотипа $G/A + T/C + T/C$ во всех породах варьировала от 3,4 до 19,9 %. Уровень гомозигот колебался в породах от 0 до 61,4 % с распределением верхних значений у красной степной до 11,6 %, симментальской до 61,4, голштинской до 11,5 %. Не обнаружено животных, в комплексном генотипе которых встречались бы одновременно A/A ($TNF-\alpha$ -824) и T/T ($TNF-\alpha$ -793) независимо от третьего аллельного варианта гена $TNFR1$.

В красной степной породе наиболее часто встречался генотип $G/A + T/C + T/C$ – 19,9 %. У голштинов частота этого генотипа (17,1 %) статистически не отличалась от значения в красной степной породе. У симменталов данный генотип встречался лишь у 3,4 % животных, что достоверно ниже, чем в остальных группах ($p < 0,01$).

Анализируя характер встречаемости гомозиготного генотипа $G/G + T/T + C/C$, следует отметить наибольшую его концентрацию в симментальской породе (61,4 %), что значительно выше, чем у красной степной (11,6 %) и голштинской (11,5 %) пород ($p < 0,001$).

Голштинская порода отличалась наименьшим количеством представленных генотипов. Большая часть животных данной породы (35,7 %) имела генотип $G/A + T/C + C/C$. Эта частота превышала показатель как у красной степной (4,8 %), так и у симментальской породы (13,1 %) ($p < 0,001$). Между частотами последних выборок также наблюдались различия ($p < 0,01$).

Различия также отмечены по частоте генотипа $G/G + T/C + T/C$ между выборками красной степной и симментальской породами ($p < 0,01$), генотипа $A/A + C/C + C/C$ ме-

жду симментальской и голштинской породами ($p < 0,01$), генотипа $A/A + C/C + T/C$ между красной степной и голштинской породами ($p < 0,01$).

Проведенный молекулярно-генетический анализ полиморфизма локусов $TNF-\alpha$ (-824 и -793) и $TNFR1$ у животных трех пород показал их своеобразную генетическую структуру с достаточно высоким уровнем дифференциации и межпородных различий по разным меж- и внутрилокусным комбинациям. Совершенно очевидно, что выявленный полиморфизм генов не является постоянным и изменяется в зависимости от стад, а также зависит от интенсивности и направленности отбора. Необходимо принимать во внимание, что популяции сохраняют генетическое равновесие лишь при условии панмиксии и отсутствия вклада случайных и систематических факторов. В то же время описание генетической структуры пород по однонуклеотидному полиморфизму может быть способом оценки динамического равновесия к изменяющимся условиям среды. По результатам работы следует, что даже при интенсивной селекции по молочной продуктивности в голштинской породе сохраняется генетическая гетерогенность на достаточно высоком уровне, поддерживаемым отбором и рекомбинационными процессами в отношении селективно-нейтральных аллелей. Вместе с тем сокращение генетически эффективной численности популяций из-за использования ограниченного числа производителей и линейного разведения и, как следствие, инбридинга и дрейфа генов требует постоянного анализа генотипической структуры полиморфных локусов для оценки микроэволюционных процессов и дальнейшего практического использования в селекции [18].

ВЫВОДЫ

1. Выявлена межпородная дифференциация по частоте встречаемости аллелей генов фактора некроза опухоли альфа и его рецептора в популяциях красной степной, симментальской и голштинской пород ($p < 0,01$).

2. Установлена генетическая структура пород по различным генотипическим комбинациям полиморфных локусов *TNF-α* (-824 и -793) и *TNFR1*. Сочетание всех гетерозигот в породах варьирует от 3,4 до 19,9 %. Уровень гомозигот в красной степной породе находился от 0 до 11,6 %, симментальской – от 0 до 61,4 %, голштинской – от 0 до 11,5 %.

3. Показаны достоверные различия между породными группами по частотам встречаемости некоторых межлокусных и внутрилокусных генотипических комбинаций ($p < 0,01$ – $p < 0,001$).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Горячева Т.С. Полиморфизм к-казеина и его влияние на молочную продуктивность коров симментальской породы в Республике Алтай // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2011. – № 11-12. – С. 60–64.
2. Сельцов В.И., Костюнина О.В., Загороднев Ю.П. и др. Оценка молочной продуктивности коров разных пород в связи с полиморфизмом по гену альфа-лактальбумина // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 3. – С. 57–60.
3. Урядников М.В. Молочная продуктивность черно-пестрых коров с разным генотипом по гену соматотропина // Зоотехния. – 2010. – № 8. – С. 2–3.
4. Murdoch W.J., Colgin D.C., Ellis J.A. Role of tumor necrosis factor-alpha in the ovulatory mechanism of ewes // J. Anim Sci. – 1997. – Vol. 75. – P. 1601–1605.
5. Shirasuna K., Kawashima C., Murayama C. et al. Relationships between the first ovulation postpartum and polymorphism in genes relating to function of immunity, metabolism and reproduction in high-producing dairy cows // J. Reprod. Dev. – 2011. – N 57. – P. 135–142.
6. Chaouat G., Ledee-Bataille, Dubanchet S. et al. TH1/TH2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the TH1/TH2 paradigm // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2004. – Vol. 134. – P. 93–119.
7. Hansen P.J., Soto P., Natzke R.P. Mastitis and fertility in cattle - possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality // American J. of Reproductive Immunology. – 2004. – Vol. 51, N 4. – P. 294–301.
8. Кевра М.К. Фактор некроза опухолей: изучение роли в организме // Мед. новости. – 1995. – № 8. – С. 3–22.
9. Yudin N.S., Aitnazarov R.B., Voevoda M.I. et al. Association of polymorphism harbored by tumor factor alpha gene and sex of calf with lactation performance in cattle // Asian Australas. J. Anim. Sci. – 2013. – Vol. 26, N 10. – P. 1379–1387.
10. Кочнев Н.Н., Крыцына Т.И., Айтназаров Р.Б. и др. Влияние полиморфизма -824 A/G гена фактора некроза опухоли на молочную продуктивность коров красной степной породы // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2014. – № 4. – С. 68–73.
11. Крыцына Т.И. Полиморфизм гена рецептора фактора некроза опухоли у крупного рогатого скота // Материалы 53-й междунар. науч. студенческой конф. «МНСК–2015». – Новосибирск, 2015. – С. 42.
12. Kochnev N.N., Krytsyna T.I., Smirnova A.M., Yudin N.S. Influence of Polymorphisms -824 A/G Gene of Tumor Necrosis Factor Alpha on the Basic Economic Useful Traits of Cattle // Biosci. Biotech. Res. Asia. – 2015. – Vol. 12 (1). – P. 243–248.
13. Крыцына Т.И., Кочнев Н.Н., Юдин Н.С. Исследование полиморфизма – 793 C/T в промоторе гена *TNF-α* у крупного рогатого скота разной породной принадлежности // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2016. – № 1. – С. 30–38.
14. Крыцына Т.И. Изучение полиморфизма гена *TNFR1* в популяции симментальского скота // Материалы 54-й междунар. науч. студенческой конф. МНСК – 2016. – Новосибирск, 2016. – С. 48.
15. Крыцына Т.И. Полиморфизм -793 C/T в промоторе гена *TNF-α* в популяции скота голштинской породы // Инновационные подходы к развитию агропромышленного комплекса региона: материалы 67-й междунар. науч.-практ. конф. – Рязань: Изд-во Рязанского гос. агротехнол. ун-та. – 2016. – Ч. 1. – 204 с.
16. Крыцына Т.И., Кочнев Н.Н., Айтназаров Р.Б. и др. Полиморфизм -824 A/G гена фактора некроза опухоли альфа и показатели воспроизводства коров // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29, № 1. – С. 39–41.
17. Крыцына Т.И., Кочнев Н.Н., Айтназаров Р.Б. и др. Ассоциация полиморфизма -824 A/G гена фактора некроза опухоли с показателями роста

- телят // Вестн. НГАУ. – 2014. – № 3. – С. 71–75.
18. **Кочнев Н.Н.** Проблема генетической безопасности популяций сельскохозяйственных животных // С.-х. биология. – 2003. – № 4. – С. 21–25.
- ### REFERENCES
1. **Goryacheva T.S.** Polimorfizm k-kazeina i ego vliyanie na molochnuyu produktivnost' korov simmental'skoy породы v Respublike Altay // Sib. vestn. s.-kh. nauki. – 2011. – № 11-12. – С. 60–64.
 2. **Sel'tsov V.I., Kostyunina O.V., Zagorodnev Yu.P. i dr.** Otsenka molochnoy produktivnosti korov raznykh porod v svyazi s polimorfizmom po genu al'fa-laktal'bumina // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2013. – № 3. – С. 57–60.
 3. **Uryadnikov M.V.** Molochnaya produktivnost' chernopestrykh korov s raznym genotipom po genu somatotropina // Zootekhnika. – 2010. – № 8. – С. 2–3.
 4. **Murdoch W.J., Colgin D.C., Ellis J.A.** Role of tumor necrosis factor-alpha in the ovulatory mechanism of ewes // J. Anim Sci. – 1997. – Vol. 75. – P. 1601–1605.
 5. **Shirasuna K., Kawashima C., Murayama C. et al.** Relationships between the first ovulation postpartum and polymorphism in genes relating to function of immunity, metabolism and reproduction in high-producing dairy cows // J. Reprod. Dev. – 2011. – № 57. – P. 135–142.
 6. **Chaouat G., Ledee-Bataille, S. Dubanchet et al.** TH1/TH2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the TH1/TH2 paradigm // Int. Arch. Allergy Immunol. – 2004. – Vol. 134. – P. 93–119.
 7. **Hansen P.J., Soto P., Natzke R.P.** Mastitis and fertility in cattle - possible involvement of inflammation or immune activation in embryonic mortality // American J. of Reproductive Immunology. – 2004. – Vol. 51, N 4. – P. 294–301.
 8. **Kevra M.K.** Faktor nekroza opukholey: izuchenie roli v organizme // Med. novosti. – 1995. – № 8. – С. 3–22.
 9. **Yudin N.S., Aitnazarov R.B., Voevoda M.I. et al.** Association of polymorphism harbored by tumor factor alpha gene and sex of calf with lactation performance in cattle // Asian Australas. J. Anim. Sci. – 2013. – Vol. 26, N 10. – P. 1379–1387.
 10. **Kochnev N.N., Krytsyna T.I., Aytynazarov R.B. i dr.** Vliyanie polimorfizma -824 A/G gena faktora nekroza opukholi na molochnuyu produktivnost' korov krasnoy stepnoy породы // Sib. vestn. s.-kh. nauki. – 2014. – № 4. – С. 68–73.
 11. **Krytsyna T.I.** Polimorfizm gena retseptora faktora nekroza opukholi u krupnogo rogatogo skota // Materialy 53-y mezhhdunar. nauch. studencheskoy konf. MNSK – 2015. – Novosibirsk, 2015. – С. 42.
 12. **Kochnev N.N., Krytsyna T.I., Smirnova A.M., Yudin N.S.** Influence of Polymorphisms -824 A/G Gene of Tumor Necrosis Factor Alpha on the Basic Economic Useful Traits of Cattle // Biosci. Biotech. Res. Asia. – 2015. – Vol. 12 (1). – P. 243–248.
 13. **Krytsyna T.I., Kochnev N.N., Yudin N.S.** Issledovanie polimorfizma – 793 S/T v promotore gena TNF- α u krupnogo rogatogo skota raznoy porodnoy prinalozhnosti // Sib. vestn. s.-kh. nauki. – 2016. – № 1. – С. 30–38.
 14. **Krytsyna T.I.** Izuchenie polimorfizma gena TNFR1 v populyatsii simmental'skogo skota // Materialy 54-y mezhhdunar. nauch. studencheskoy konf. MNSK – 2016. – Novosibirsk. – 2016. – С. 48.
 15. **Krytsyna T.I.** Polimorfizm -793 S/T v promotore gena TNF- α v populyatsii skota golshtinskoy породы // Innovatsionnye podkhody k razvitiyu agropromyshlennogo kompleksa regiona: materialy 67-oy mezhhdunar. nauch.-prakt. konf. – Ryazan': Izd-vo Ryazanskogo gos. agrotekhnol. un-ta. – 2016. – Ch. 1. – 204 s.
 16. **Krytsyna T.I., Kochnev N.N., Aytynazarov R.B. i dr.** Polimorfizm -824 A/G gena faktora nekroza opukholi al'fa i pokazateli vosproizvodstva korov // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2015. – T. 2, № 1. – С. 39–41.
 17. **Krytsyna T.I., Kochnev N.N., Aytynazarov R.B. i dr.** Assotsiatsiya polimorfizma -824 A/G gena faktora nekroza opukholi s pokazatelyami rosta telyat // Vestn. NGAU. – 2014. – № 3. – С. 71–75.
 18. **Kochnev N.N.** Problema geneticheskoy bezopasnosti populyatsiy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh // S.-kh. biologiya. – 2003. – № 4. – С. 21–25.

**GENETIC DIVERSITY OF CATTLE
ON A COMPLEX OF GENOTYPES OF LOCI TNF- α AND TNFR1**

**T.I. KRYTSYNA¹, Biotechnology Engineer,
N.N. KOCHNEV¹, Doctor of Science in Biology, Professor,
N.S. YUDIN², Candidate of Science in Biology, Senior Researcher**

*¹Novosibirsk State Agrarian University
160, Dobrolyubova St, Novosibirsk, 630039, Russia
e-mail: krytsyna@list.ru*

*²Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
10, Akademika Lavrentyeva St, Novosibirsk, 630090, Russia
e-mail: kochnev@nsau.edu.ru*

Genetic structure of certain cattle populations has been described on the basis of allele frequencies and various genotype combinations of polymorphic loci TNF- α (-824A/G, -793 C/T) and TNFR1. Herds of dairy cattle in Novosibirsk Region and Altai Territory were investigated. The animals of Red Steppe (n=148), Simmental (n=149) and Holstein (n=100) breeds were studied. The tumor necrosis factor alpha gene (TNF- α) encodes a multifunctional cytokine, one of the main functions of which is to be involved in the formation of the immune response. The cytokine biological effect on the cells is manifested through interaction with the specific receptor, encoded by the TNFR1 gene. The TNF- α cytokine and its TNFR1 receptor are part of the so-called tumor necrosis factor family. Proteins of the tumor necrosis factor family participate in metabolic and morphogenetic processes, and affect reproductive characteristics of farm animals. Genotypes were determined by the polymerase chain reaction method with subsequent analysis of the lengths of restriction fragments. Statistically significant interbreed differences on frequencies of alleles are set ($p < 0.01$). Of the 27 possible combinations of genotypes for the three polymorphisms in animals, only 18 have been discovered. In Red Steppe breed were identified 16 different variants of genotypes, in Simmental and Holstein breeds 10 and 9, respectively. The most common genotypes were as follows: the G/A+T/C+T/C (19.9 percent) in Red Steppe breed, G/G+T/T+C/C (61.4 percent) in Simmental, a variant of the combination G/A+T/C+C/C (35.7 percent) in Holstein. There were significant differences between breed groups for the frequencies of occurrence of some genotypic intralocus and interlocus combinations ($p < 0.01$ – $p < 0.001$).

Keywords: complex of genotypes, tumor necrosis factor, TNF- α , TNFR1, dairy cattle, single nucleotide polymorphism.

Послупила в редакцию 10.04.2017