

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Министерство образования Республики Беларусь
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ П.М. МАШЕРОВА»
(ВГУ ИМЕНИ П.М. МАШЕРОВА)

УДК 636.22/.28.034.082
Рег.№ 20240563

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по научной работе,
профессор

_____ Е.Я. Аршанский
" " _____ 20__ г.

О Т Ч Е Т
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР КАК МАРКЕР ПРОДУКТИВНОГО ДОЛГОЛЕТИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (заключительный)

Грант аспирантов, докторантов и студентов
Министерства образования Республики Беларусь

Ответственный исполнитель,
аспирант

Г.Г. Пирханов

Научный руководитель
д.б.н., проф., первый заместитель
генерального директора по
научной работе Республиканского
унитарного предприятия "Научно-
практический центр Национальной
академии наук Беларуси по
животноводству

И.П. Шейко

Витебск 2024

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Список исполнителей

Научный руководитель
д.б.н., проф., первый заместитель
генерального директора по
научной работе Республиканского
унитарного предприятия "Научно-
практический центр Национальной
академии наук Беларуси по
животноводству

И.П. Шейко
(заключение)

Ответственный исполнитель,
аспирант ВГУ имени П.М.
Машерова

_____ Г.Г. Пирханов
(реферат, содержание, введение, гл. 1-3,
заключение, список использованных источников,
библиография)

Нормоконтроль

_____ Т.В. Харкевич

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Реферат

Отчет 32 с., 1 кн., 2 табл., 5 рис., 17 источников, 1 прил.

ДОЛГОЛЕТИЕ МОЛОЧНЫХ КОРОВ, ФЕРТИЛЬНОСТЬ, МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ, ДНК-МАРКЕРЫ, ГЕНЫ, ТЕЛОМЕР, ПЦР

Объект исследования: молочные коровы голштинской черно-пестриной породы.

Целью работы является получение научных данных о динамике RLTL у коров голштинской черно-пестриной породы, определение влияющих факторов и оценка потенциала RLTL в качестве биомаркера продуктивной продолжительности жизни для оптимизации селекционных программ в молочном скотоводстве.

Работа выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории ПЦР-анализа Витебского государственного университета имени П. М. Машерова.

Научная значимость полученных результатов: RLTL может служить новым биомаркером для прогнозирования продуктивной продолжительности жизни и оценки генетического потенциала животных, что позволит оптимизировать селекционные программы и повысить эффективность молочного животноводства Республике Беларусь.

Основные результаты работы:

1. Была показана взаимосвязь между длиной теломер и продуктивной продолжительностью жизни у молочных коров.

2. Было показано, что RLTL снижается после рождения, но стабилизируется в зрелом возрасте, а также является наследственным признаком, что делает его потенциальным биомаркером продуктивной продолжительности жизни.

3. Результаты исследования подтверждают возможность использования RLTL в селекционных программах для повышения продуктивности и долголетия молочного скота.

4. Мы пришли к выводу, что RLTL крупного рогатого скота является наследственным признаком, и его связь с продуктивной продолжительностью жизни может быть использована в селекционных программах, направленных на увеличение продолжительности жизни коров.

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Использованные сокращения

В настоящем отчёте о НИР применяют следующие сокращения:

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ТЛ – теломер

RLTL – относительная длина теломер лейкоцитов

В2М – бета-2-микроглобулин

CV – вариация коэффициента

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1 Аналитический обзор литературы.....	7
1.1 Общая характеристика теломер.....	7
1.2 Особенности использования ПЦР для измерения длины теломер.....	9
1.3. Влияние экстракции и хранения ДНК на измерение длины теломер.....	12
Глава 2 Материалы и методика.....	15
2.1 Адаптированный протокол выделения тотальной ДНК из тканей: фенольный метод.....	15
2.2 Стандартный протокол выделения тотальной ДНК: метод выделения ДНК набором «Нуклеосорб С».....	17
2.3 Измерение средней длины теломер с помощью кПЦР.....	18
2.4 Статистический анализ данных о длине теломер.....	20
Глава 3 Результаты исследований и их обсуждение.....	23
3.1 Влияние возраста на относительную длину теломер лейкоцитов у крупного рогатого скота.....	23
3.2 Факторы, влияющие на RLTL независимо от возраста.....	24
3.3 Взаимосвязь между RLTL и продуктивной продолжительностью жизни.....	25
Заключение.....	28
Список использованных источников.....	29
Приложение А.....	31

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

ВВЕДЕНИЕ

Здоровье и выживаемость в настоящее время являются ключевыми целевыми характеристиками селекционного разведения сельскохозяйственных животных. В молочном скотоводстве значительная часть дойных коров отбирается из стада до достижения ими полного продуктивного потенциала из-за плохого состояния здоровья или проблем с фертильностью, что приводит к серьезным экономическим потерям из-за высоких затрат на выращивание телок. Эти затраты не покрываются ожидаемой прибылью от производства молока от взрослой коровы. В связи с этим актуален поиск маркера, с помощью которого будет определяться продуктивное долголетие и здоровье животных. Таким маркером, по мнению ряда ученых, может быть длина теломер [1].

Длина теломер (TL) в клетках крови, измеряемая в лейкоцитах у млекопитающих и эритроцитах у других позвоночных, считается важным показателем здоровья и старения в различных областях, таких как эпидемиология, биомедицина, экология и ветеринария. Накопилось множество данных, указывающих на то, что длина теломер в клетках крови частично обусловлена наследственностью и может предсказывать будущий риск заболеваний и смертность [2].

Целью работы является получение научных данных о динамике RLTL у коров голштинской черно-пестриной породы, определение влияющих факторов и оценка потенциала RLTL в качестве биомаркера продуктивной продолжительности жизни для оптимизации селекционных программ в молочном скотоводстве.

Задачи:

- выделить тотальную ДНК из биоматериала;
- изучить связь между динамикой изменения RLTL и продуктивной продолжительностью жизни молочных коров;
- оценить степень наследуемости RLTL у молочных коров;
- провести статистический анализ корреляции между RLTL, измеренным в раннем возрасте, и продуктивной продолжительностью жизни молочных коров.

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Список использованных источников

1. Albert, D. V. (2020). Symposium review: why revisit dairy cattle productive lifespan. *J. Dairy Sci.* 103, 3838–3845. doi: 10.3168/jds.2019-17361
2. Grandl, F., Furger, M., Kreuzer, M., and Zehetmeier, M. (2019). Impact of longevity on greenhouse gas emissions and profitability of individual dairy cows analysed with different system boundaries. *Animal* 13, 198–208. doi: 10.1017/S175173111800112X
3. Шейко, Р.И. Использование методов ДНК-технологий при повышении продуктивных качеств сельскохозяйственных животных / Р.И. Шейко, И.П. Шейко // Доклады Национальной академии наук Беларуси. - 2013. - Т. 57, № 6. - С. 118-123.
4. Пирханов, Г.Г. Молекулярно-генетические маркеры как инструмент отбора животных, характеризующихся более высоким генетическим потенциалом по признакам молочной продуктивности и фертильности / Г.Г. Пирханов, Д.Д. Жерносеков // IX белорусско-китайский молодежный инновационный форум «новые горизонты - 2022»
5. Laubenthal L, Hoelker M, Frahm J, Dänicke S, Gerlach K, Südekum K-H, et al. Short communication: Telomere lengths in different tissues of dairy cows during early and late lactation. *J Dairy Sci.* American Dairy Science Association; 2016; 1–5. doi: [10.3168/jds.2015-10095](https://doi.org/10.3168/jds.2015-10095)
6. Hu H, Mu T, Ma Y, Wang X, Ma Y. Analysis of Longevity Traits in Holstein Cattle: A Review. *Front Genet.* 2021 Aug 3;12:695543. doi: 10.3389/fgene.2021.695543. PMID: 34413878; PMCID: PMC8369829.
7. Celtikci B, Erkmen GK, Dikmen ZG. Regulation and Effect of Telomerase and Telomeric Length in Stem Cells. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2021;16(7):809-823. doi: 10.2174/1574888X15666200422104423. PMID: 32321410.
8. De Lange T, Lundblad V and Blackburn EH (eds): *Telomeres*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, NY, pp21-48, 2006.
9. Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Mosc).* 2010 Dec;75(13):1563-83. doi: 10.1134/s0006297910130055. PMID: 21417995.
10. Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Mosc).* 2010 Dec;75(13):1563-83. doi: 10.1134/s0006297910130055. PMID: 21417995.
11. Giardini MA, Segatto M, da Silva MS, Nunes VS, Cano MI. Telomere and telomerase biology. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2014; 125:1-40. doi: 10.1016/B978-0-12-397898-1.00001-3. PMID: 24993696
12. Bollmann F.M. (2007). [Targeting ALT: the role of alternative lengthening of telomeres in pathogenesis and prevention of cancer](#). *Cancer Treat. Rev.* **33**, 704–709

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

13. Lee J, Pellegrini MV. Biochemistry, Telomere And Telomerase. 2022 Dec 11. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 35015454.
14. Razgonova MP, Zakharenko AM, Golokhvast KS, Thanasoula M, Sarandi E, Nikolouzakis K, Fragkiadaki P, Tsoukalas D, Spandidos DA, Tsatsakis A. Telomerase and telomeres in aging theory and chronographic aging theory (Review). *Mol Med Rep.* 2020 Sep;22(3):1679-1694. doi: 10.3892/mmr.2020.11274. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32705188; PMCID: PMC7411297.
15. Denham J, Marques FZ, Charchar FJ. Leukocyte telomere length variation due to DNA extraction method. *BMC Res Notes.* 2014 Dec 4;7:877. doi: 10.1186/1756-0500-7-877. PMID: 25475541; PMCID: PMC4289347
16. Raschenberger J, Lamina C, Haun M, Kollerits B, Coassin S, Boes E, Kedenko L, Köttgen A, Kronenberg F. Influence of DNA extraction methods on relative telomere length measurements and its impact on epidemiological studies. *Sci Rep.* 2016 May 3;6:25398. doi: 10.1038/srep25398. PMID: 27138987; PMCID: PMC4853716.
17. Cunningham JM, Johnson RA, Litzelman K, Skinner HG, Seo S, Engelman CD, Vanderboom RJ, Kimmel GW, Gangnon RE, Riegert-Johnson DL, Baron JA, Potter JD, Haile R, Buchanan DD, Jenkins MA, Rider DN, Thibodeau SN, Petersen GM, Boardman LA. Telomere length varies by DNA extraction method: implications for epidemiologic research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013 Nov;22(11):2047-54. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0409. Epub 2013 Sep 9. PMID: 24019396; PMCID: PMC3827976.

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

Приложение А

Библиография

- 1 Пирханов, Г.Г. Выделение тотальной ДНК из корневых окончаний *Picea abies* Karst / П.Ю. Колмаков, Г.Г. Пирханов, А.Ю. Леонов // Наука – образованию, производству, экономике : материалы XXIII (70) Регион. науч.-практ. конф. преподавателей, науч. сотрудников и аспирантов, Витебск, 15 февраля 2018 г. : в 2 т. – Витебск : ВГУ имени П. М. Машерова, 2018. – Т. 1. – С. 71.
- 2 Пирханов Г.Г. Экстракция ДНК и выявление генетического полиморфизма чужеродных видов растений с помощью RAPD-диагностики / П. Ю. Колмаков, Г. Г. Пирханов, А. Ю. Леонов, Ю. И. Высоцкий // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. – 2018. – № 1. – С. 16-25.
- 3 Пирханов, Г.Г. Выявление генетического полиморфизма у сортов винограда, используя методы молекулярного маркирования / Т.В. Никонович, П.Ю. Колмаков, И.Ю. Зайцева, А.Ю. Леонов, Г.Г. Пирханов // Сахаровские чтения 2018 года: экологические проблемы XXI века : материалы 18-й междунар. науч. конф., Минск, 17-18 мая 2018 г. : в 3 ч. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – Ч. 2. – С. 157–158.
- 4 Пирханов, Г.Г. Исследование инвазии микопатогена хвойных *Dothistroma septosporum* на севере Республики Беларусь / Василевич В.В., Пирханов Г.Г. // Молодость. Интеллект. Инициатива: материалы VIII Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов, Витебск, 22 апреля 2020 г. / Витеб. гос. ун-т; редкол.: И.М. Прищепа (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГУ имени П. М. Машерова, 2020. – С. 47–50.
- 5 Пирханов, Г.Г. Молекулярно-генетическое выявление микроспоровых фитопатогенов хвойных в Витебской области с помощью RAPD-ПЦР / Василевич В.В., Леонов А.Ю., Пирханов Г.Г. // XIV Машеровские чтения : материалы международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Витебск, 21 октября 2020 г. \ Витеб. гос. ун-т ; редкол.: Е.Я. Аршанский (гл. ред.) [и др.]. - Витебск: ВГУ имени П.М. Машерова, 2020 - С. 84-85.
- 6 Пирханов, Г.Г. Генотипические особенности гигантских борщевиков на территории Витебской области (на основании данных анализа IGS-Локуса) / Пантелеев С.В., Пирханов, Г. Г. и др // Веснік Віцебскага дзяржаўнага ўніверсітэта. – 2021. – № 3. – С. 29-37.
- 7 Pirhanov G.G., Zhernossekov D.D. Sinorhizobium meliloti AS A PERSPECTIVE OBJECT FOR MODERN BIOTECHNOLOGY. December 2021 Biotechnologia Acta 14(6):23-36 14(6):23-36. DOI:10.15407/biotech14.06.023

ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ

- 8 Пирханов, Г.Г. Исследование полиморфизма –13910 С>Т гена лактазы LCTу детей и подростков со сколиотической деформацией позвоночника / Г.Г. Пирханов, Е.В. Белая [и др.] // Весн. Віцеб. дзярж. ун-та. - 2022. - № 3 (116). - С. 31-36)
- 9 Пирханов, Г.Г. Молекулярно-генетические маркеры как инструмент отбора животных, характеризующихся более высоким генетическим потенциалом по признакам молочной продуктивности и фертильности / Г.Г. Пирханов, Д.Д. Жерносеков // IX белорусско-китайский молодежный инновационный форум «новые горизонты - 2022»
- 10 Пирханов, Г.Г. Особенности нарушений кальций-фосфорного обмена у лактирующих коров / А. П. Курдеко, Д. Д. Жерносеков, Г. Г. Пирханов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины : материалы междунар. науч. конф., посвященной 100-летию кафедр клинической диагностики, внутренних болезней животных им. Синева А.В., акушерства и оперативной хирургии, Санкт-Петербург, 29–30 сентября 2022 г. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – С. 71–74.
- 11 Пирханов, Г.Г. Гены-маркеры продуктивного долголетия крупного рогатого скота / И. П. Шейко, Д.Д. Жерносеков, Г.Г. Пирханов // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. – 2023. – Т. 61, № 2. – С. 141–150. – DOI: 10.29235/1817-7204-2023-61-2-141-150.
- 12 Пирханов, Г.Г. Длина теломер как маркер для определения долголетия крупного рогатого скота / Г.Г. Пирханов, И.П. Шейко, Д.Д. Жерносеков // Животноводство и ветеринарная медицина – 2023. № 3. – С. 31–36.