

Молекулярная генетика

Рубрика

doi.org/10.31043/2410-2733-2024-3-5-12

УДК 636.082.12:577.21:636.32/.38

А. В. Иванникова, О. А. Кошкина, Т. Е. Денискова, Н. А. Зиновьева

Характеристика аллелофонда южной мясной породы овец по гену прионового белка *PRNP*, связанного с генетической резистентностью к скрепи

Аннотация.

Цель: исследование полиморфизма в гене *PRNP* у овец южной мясной породы и определение их генетической устойчивости к классической и атипичной формам скрепи.

Материалы и методы. Биоматериалом послужили ушные выщипы 442 овец генофондного стада южной мясной породы, отобранные из «Племенного завода «Ладожский». Генотипы овец, ассоциированных с устойчивостью к скрепи, определяли на основе секвенирования фрагмента гена *PRNP* овец. Секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена *PRNP* овец проводили на приборе Нанофор 05, согласно методическим рекомендациям Денисковой Т. Е. и соавт. Обработку данных секвенирования проводили с использованием программы Mutation Surveyor V5.1.2 (Release), а полиморфизм аллелей в кодонах 136 (A/T/V), 141 (L/F), 154 (R/H) и 171 (Q/R/H/K) определяли на основании анализа полученных сиквенсов. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel и GenAlEx 6.501.

Результаты. Анализ полиморфизма гена *PRNP* показал наличие в изучаемой выборке овец семи аллелей (ARR, ARQ, AHQ, ARH, AHH, AHR, VRQ). Желательный гаплотип ARR был идентифицирован во всех группах овец, частота по всей изученной выборке составляла 21,43 %. Его минимальная доля составляла 18,18 % в группе овцематок, а максимальная – 23,08 % в группе ярок. Нежелательный аллель VRQ, ассоциированный с чувствительностью к классической форме скрепи, не был обнаружен в группе баранов в изучаемой выборке. В остальных группах этот аллель варьировал в диапазоне от 7,14% у баранчиков до 9,09 % у овцематок, соответственно, а частота встречаемости по всей выборке составила 6,12%. При проведении этого исследования был обнаружен новый редкий гаплотип AHH, не встречавшийся ранее ни в южной мясной, ни в других более изученных породах овец. Аллель AHH присутствовал во всех группах южной мясной породы овец, его частота варьировала от 7,69 % у ярок до 13,64 % у овцематок, соответственно. В результате анализа частот встречаемости генотипов в изучаемой выборке овец южной мясной породы идентифицировано шестнадцать генотипов (ARR/ARR, ARR/AHQ, ARR/ARH, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, ARQ/AHQ, ARQ/ARH, ARQ/AHH, ARH/ARH, ARH/AHH, AHQ/AHQ, AHH/AHH, AHR/AHR, ARR/VRQ, ARQ/VRQ, VRQ/VRQ), отнесенных к пяти классам генетической устойчивости к скрепи. Частоты встречаемости желательных генотипов варьировали в широком диапазоне в разных возрастных группах овец. Аллель F в кодоне 141, ассоциированный с генетической восприимчивостью к штамму Nor98, не был выявлен ни у одной особи в исследуемой выборке. Для эффективной селекционной работы в качестве дополнительного критерия отбора необходимо проводить анализ полиморфизма гена *PRNP* на предмет восприимчивости к классической и атипичной формам скрепи, что позволит существенно повысить генетическую устойчивость к скрепи новых поколений овец южной мясной породы.

Ключевые слова: южная мясная порода; полиморфизм; ген прионового протеина (*PRNP*); аллелофонд; генотип; домашние овцы; генетическая устойчивость; скрепи.

Авторы:

Иванникова А. В. — аспирант; e-mail: ivannikova_sacha@mail.ru;

Кошкина О. А. — кандидат биологических наук; e-mail: olechka1808@list.ru;

Денискова Т. Е. — кандидат биологических наук; e-mail: horarka@yandex.ru;

Зиновьева Н. А. — доктор биологических наук, академик РАН; e-mail: n_zinovieva@mail.ru.

Федеральный научный центр животноводства - ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста; 142132, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, д. 60.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема FGGN-2024-0015).

Введение. Овцеводство — это неотъемлемая часть сельскохозяйственного производства страны, имеющая не только экономическое значение, но и решающая целый ряд социальных вопросов [1]. В современной России овцеводство, несмотря на большое разнообразие производимой продукции, не самая ведущая отрасль животноводства. По данным консалтинговой компании Intesco Research Group поголовье овец к концу 2011 г. увеличилось на 5,1 % и составило около 20,7 млн гол. [2, 3].

Закупка иностранных пород овец мясного направления для наращивания рынка баранины не всегда эффективна, так как зачастую животные не реализуют свой генетический потенциал в специфических условиях российских регионов [4].

Южная мясная порода — полутонкорунная порода мясо-шёрстного направления продуктивности, созданная российскими учёными и селекционерами [5]. Начало создания южной мясной породы овец датируется 1984 годом. По прошествии четверти века, в 2008 году, по результатам породоиспытания работа по созданию новой высокопродуктивной породы была с успехом завершена. В 2009 г. эта порода утверждена как самостоятельная. Единственное в России генофондное стадо овцематок южной мясной породы разводится на базе филиала Центра «Племенной завод «Ладожский» и, на сегодняшний день, реализуется в создании нового типа овец южной мясной породы, отличающихся повышенными показателями роста и развития молодняка, а также мясной продуктивности [6].

Формирование новых генотипов, закладка генеалогических линий и официальное утверждение новых мясных пород — продолжительные процессы, направленные на реализацию в долгосрочной перспективе. В связи с этим создание новых высокопродуктивных типов овец внутри существующих мясных пород весьма актуально, так как это станет генетическим резервом для создания новых форм в овцеводческой отрасли [4].

Скрепи — это смертельное нейродегенеративное заболевание овец и коз, относящееся к группе заболеваний трансмиссивной губчатой энцефалопатии (TSE) [7]. Возбудитель болезни — инфекционный прионный белок (PrP^{Sc}), который представляет собой изоформу нормального клеточного белка (PrP^{C}) [8, 9]. Одна из наиболее негативных эпидемиологических характеристик приона — это его высокая выживаемость в среде обитания и чрезвычайно высокая устойчивость к действию физических и химических факторов [10–12].

Скрепи — инфекционная болезнь, инкубационный период которой в основном зависит от

генетических особенностей животного [13] и дозы возбудителя [14]. Взаимодействие этих факторов определяет особенности вспышек скрепи. Овцы с генотипом, обеспечивающим короткий инкубационный период, заболевают в первую очередь, затем к ним присоединяются другие животные отары с генотипом, соответствующим более длительному инкубационному периоду. Гипотетически по мере увеличения количества инфицированных животных возрастает частота контактов с прионом остальных животных стада и получаемая ими заражающая доза, что может вести к сокращению инкубационного периода болезни. С течением времени это может повлечь за собой изменение симптоматики болезни [7].

На сегодняшний день известны две формы скрепи — классическая и атипичная (или штамм Nor98) [11, 12]. В качестве ДНК-маркера устойчивости овец к скрепи используется ген прионового протеина (PRNP), кодирующий нормальный клеточный белок (PrP^{C}) [3, 7, 12, 15]. С резистентностью или чувствительностью овец к классической скрепи ассоциировано три полиморфизма в аминокислотных кодонах 136 (A/V), 154 (R/H) и 171 (R/Q/H) гена прионового белка PRPN [16]. Основные пять аминокислот, кодирующих три знаковых кодона 136/154/171, определяют формирование 15 возможных генотипов PRNP [17, 18]. Желательным с точки зрения устойчивости считается гаплотип $\text{A}^{136}\text{R}^{154}\text{R}^{171}$. В зависимости от генотипа по PRNP различают пять классов генетической устойчивости к скрепи (G1–G5). К классу G1 относится наиболее предпочтительный генотип ARR/ARR [19, 20].

Вместе с тем открытие атипичной скрепи (Nor98) показало возможность передачи BSE животным различных классов устойчивости, включая G1 (генотип ARR/ARR) [16]. С устойчивостью / чувствительностью к данному заболеванию ассоциирована однонуклеотидная замена $\text{T} \rightarrow \text{C}$ в кодоне 141 (кодон $\text{CTT} \rightarrow \text{TTT}$), приводящая к аминокислотной замене $\text{L} \rightarrow \text{F}$ (лейцина на фенилаланин). Животные с аллелем F в кодоне 141 вне зависимости от генотипа в кодонах 136, 154 и 171 крайне неустойчивы к заражению атипичной формой скрепи. Следует подчеркнуть, что генетическая устойчивость к одной форме скрепи не гарантирует невосприимчивость к другой [11, 12, 21].

Определение генотипов овец по четырем аминокислотным кодонам 136/141/154/171 гена прионового белка PRPN , характеризующее устойчивость овец к обоим известным формам скрепи, является фактором формирования генетически устойчивых стад, устранения патогенного приона из окружающей среды обитания,

предотвращения значительных экономических потерь и производства безопасных для человека продуктов питания [11].

Цель исследований — дать характеристику аллелофонда южной мясной породы овец по гену прионового белка, ассоциированного с генетической устойчивостью к скрепи классической и атипичной формам скрепи.

Материалы и методы. Материалом для исследований служили пробы ткани (ушные выщипы) от 442 предварительно здоровых овец южной мясной породы. Биоматериал был отобран у овец генофондного стада, в которое входило 246 самцов (79 баранов, 167 баранчиков) и 196 самок (43 овцематки, 153 ярки), и получен из «Племенного завода «Ладожский». Работа выполнялась на базе оборудования центра коллективного пользования «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста.

Выделение геномной ДНК было проведено с помощью коммерческого набора «ДНК-Экстрен-2» (ООО «Синтол», Россия) согласно протоколу производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили на амплификаторах SimpliAmp Thermal Cycler (Life Technologies, США) по методике Н.А. Зиновьевой с соавт. [22]. Качество прохождения ПЦР оценивали путем электрофоретического разделения в 2%-ном агарозном геле. Подготовка ПЦР-продуктов к секвенированию и секвенирование по Сэнгеру фрагмента гена прионового белка овец проводили согласно методическим рекомендациям Де-

нисковой Т.Е. с соавт. [12].

Секвенирование проводили на приборе Нанофор 05 согласно инструкции производителя. Обработку «сырых» данных секвенирования проводили с использованием программы Mutation Surveyor V5.1.2 (Release), а полиморфизм аллелей в кодонах 136 (A/T/V), 141 (L/F), 154 (R/H) и 171 (Q/R/H/K) определяли на основании анализа полученных сиквенсов.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. Анализ полиморфизма гена PRPN показал наличие в изучаемой выборке овец семи аллелей (ARR, ARQ, AHQ, ARH, ANH, AHR, VRQ) и шестнадцати генотипов (ARR/ARR, ARR/AHQ, ARR/ARH, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, ARQ/AHQ, ARQ/ARH, ARQ/ANH, ARH/ARH, ARH/ANH, AHQ/AHQ, ANH/ANH, AHR/AHR, ARR/VRQ, ARQ/VRQ, VRQ/VRQ), относящихся ко всем пяти классам генетической устойчивости к классической форме скрепи. На рисунке 1 представлены частоты встречаемости аллелей гена PRPN у овец южной мясной породы. Проведенные исследования показали, что в изученных группах животных не было особо значительных различий по частотам встречаемости аллелей прионового белка.

Наиболее распространенным гаплотипом оказался аллель дикого типа ARQ (24,5 % по всей выборке). Его частота варьировала в диапазоне от 18,18 % у овцематок до 27,27 % в группе баранов. Аллель VRQ, ассоциированный с чувствительностью к классической форме скрепи, в изучаемой выборке не был обнаружен в группе баранов. По данным некоторых авторов, в породах, где аллель VRQ отсутствует или встречается очень редко, именно аллель «дикого» типа ARQ ассоциируется с ограничениями восприимчивости к классическим скрепам [11, 12, 23]. В остальных группах этот аллель варьировал в диапазоне от 7,14 % у баранчиков до 9,09 % у овцематок, соответственно, а частота встречаемости по всей выборке составила 6,12 %.

Желательный гаплотип ARR был обнаружен во всех группах овец, частота по всей выборке составляла 21,43 %. Его минимальная доля составляла 18,18 % в группе овцематок, а максимальная — 23,08 % в группе ярков.

Третьим по распространенности в выборке был аллель ARH, встречающийся во всех группах с частотой 18,37 %. Его наименьшая частота встречаемости была обнаружена у баранчиков (14,29%), а в группах овцематок, ярков и баранов данный аллель встречался с частотами 18,18%, 19,23 % и 22,73 %, соответственно.

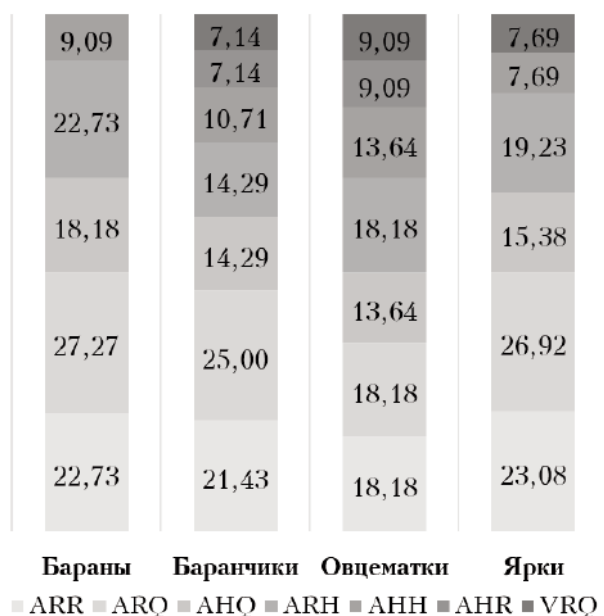


Рис. 1. Частота встречаемости аллелей гена PRPN в кодонах 136, 154 и 171, обуславливающих устойчивость к классической форме скрепи у овец южной мясной породы

Гаплотип АНQ также присутствовал во всех группах с частотой от 13,64 % у овцематок до 18,18 % у баранов. Частота встречаемости этого аллеля во всей выборке составила 15,31 %. Аллель АНR был обнаружен в группах баранчиков (7,14 %) и овцематок (9,09 %), в изучаемой выборке он встречался с наименьшей частотой – 4,08 %.

При проведении данного исследования был обнаружен новый редкий гаплотип АНН, не встречавшийся ранее ни в южной мясной, ни в других более изученных породах овец. Аллель АНН присутствовал во всех изучаемых группах южной мясной породы овец, его частота варьировала от 7,69 % у ярок до 13,64 % у овцематок. Частота встречаемости данного аллеля по всей выборке составила 10,2 %.

Доля овец, входивших в наиболее предпочтительный класс G1, составляла 5,88 % от всей выборки. Больше всего в нём представлено овец, относящихся в группе овцематок, – 23,26 %. Эти животные имеют наибольшую устойчивость к классической форме скрепи.

В классе G2 присутствуют овцы из всех изучаемых групп – от 11,53 % у овцематок до 26,58 % у баранов. Наличие ARR-аллеля позволяет использовать в разведении для закрепления устойчивых генотипов.

Самым многочисленным является класс G3. К этому классу относится большая часть овец из

всех изучаемых групп: 62,79 % овцематок, 66,47 % баранчиков, 70,89 % баранов и 81,05 % ярок. Животные класса G3 из-за отсутствия аллеля ARR характеризуются слабой устойчивостью к классической форме скрепи, их не рекомендуется использовать для разведения.

Классы G4 и G5 немногочисленны. В класс G4 входят 2,4 % овец из группы баранчиков и 0,65 % из группы ярок, а в класс G5 – 2,4 % из группы баранчиков, 2,33 % из группы овцематок и 1,31 % из группы ярок. Животные этих классов наиболее восприимчивы к классической форме скрепи.

При распределении исследуемых групп овец южной мясной породы по классам генетической устойчивости к классической форме скрепи было обнаружено, что изучаемые животные принадлежат ко всем пяти классам (рис. 2).

В результате анализа частот встречаемости генотипов в изучаемой выборке овец южной мясной породы идентифицировано шестнадцать генотипов, отнесенных к пяти классам генетической устойчивости к скрепи (табл. 1). Частоты встречаемости желательных генотипов варьировали в широком диапазоне в разных возрастных группах овец. Желательный генотип ARR/ARR был выявлен во всех возрастных группах от 23,26 % у овцематок до 1,96 % у ярок. Частота встречаемости генотипа по всей изученной выборке составила 5,88 %. Животных,

Таблица 1. Распределение генотипов 136, 154 и 171 и классов устойчивости к классической форме скрепи у овец южной мясной породы

Класс генетической устойчивости	Генотип	Возрастные группы				В среднем
		Бараны (n=79)	Баранчики (n=167)	Овцематки (n=43)	Ярки (n=153)	
G1	ARR/ARR	2,53	6,59	23,26	1,96	5,88
G2	ARR/АНQ	5,06	4,19	-	2,61	19, 46
	ARR/АРН	11,39	5,99	2,33	1,96	
	ARR/АРQ	10,13	11,98	9,3	10,46	
G3	АРQ/АРQ	21,52	26,95	25,58	28,1	71,95
	АРQ/АНQ	18,99	11,98	6,98	20,26	
	АРQ/АРН	8,86	1,2	-	9,8	
	АРQ/АНН	1,27	0,6	-	4,58	
	АРН/АРН	12,66	17,96	13,95	11,76	
	АРН/АНН	5,06	-	2,33	1,96	
	АНQ/АНQ	2,53	6,59	6,98	4,58	
	АНН/АНН	-	0,6	2,33	-	
	АНR/АНR	-	0,6	4,65	-	
G4	ARR/VRQ	-	2,4	-	0,65	1,13
G5	АРQ/VRQ	-	2,4	-	1,31	1,58
	VRQ/VRQ	-	-	2,33	-	

имеющих данный генотип, можно назвать «генетическим резервом» в повышении резистентности к скрепи овец южной мясной породы. Генетический класс устойчивости G2 был представлен тремя генотипами: ARR/АНQ, ARR/ARRH, ARR/ARQ. Все эти генотипы содержали желательный аллель ARR в гетерозиготной форме, позволяющий закреплять устойчивые генотипы в популяции. Гаплотип встречался во всех возрастных группах с частотами от 1,96 % у ярок до 11,98 % у баранчиков (19,46 % по всей выборке), отсутствовали только овцематки с генотипом ARR/АНQ.

В результате исследования выборки овец южной мясной породы на генетическую устойчивость к штамму Nor98 не было обнаружено ни одной головы, которые бы несли нежелательный аллель F в кодоне 141, обуславливающий повышенную восприимчивость к данной форме скрепи.

Заключение. В результате молекулярно-генетических исследований выявлено, что 71,95 % чистопородных овец южной мясной породы относятся к генетическому классу G3 и характеризуются слабой генетической устойчивостью к классической форме скрепи.

Наиболее генетически устойчивой к скрепи оказалась группа баранов, так как в ней отсутствовали животные, относящиеся к классам G4 и G5, имеющие чувствительный аллель VRQ. В группах баранов, баранчиков и ярок наблюдался дефицит животных с генотипом ARR/ARR, относящимся к классу G1, а частота встречаемости устойчивого к скрепи аллеля ARR составляла в среднем 21,43%. Это создает предпосылки для проведения целенаправленной селекционной работы на генетическую резистентность к скрепи и накопление устойчивых к патогенному приону генотипов в генофондном стаде южной мясной породы. Аллель F в кодоне 141, ассоциированный с генетической восприимчивостью к штамму Nor98, не был выявлен ни у одной особи в ис-

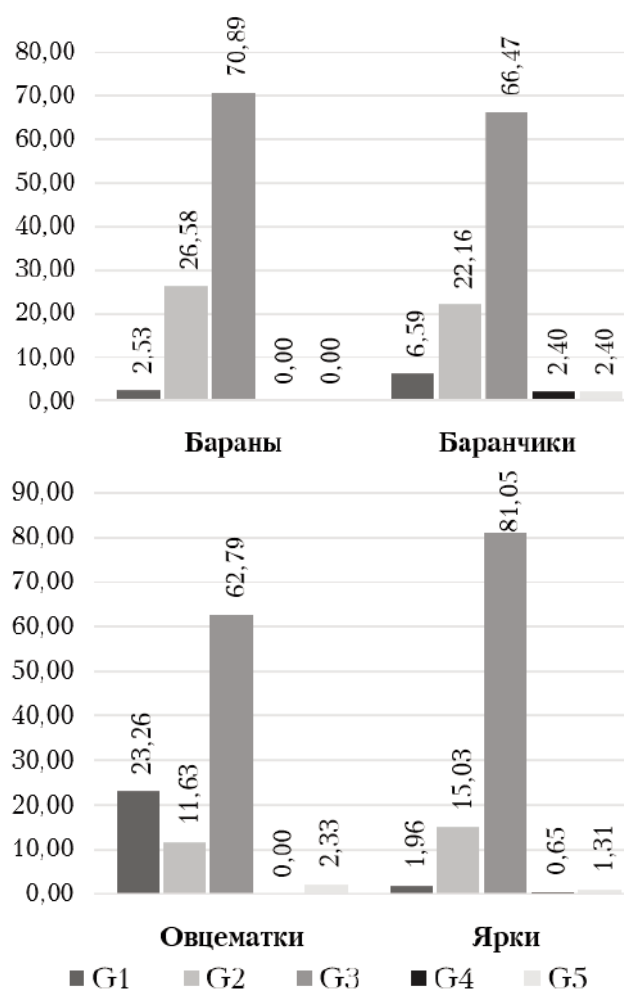


Рис. 2. Распределение овец южной мясной породы по классам генетической устойчивости G1-G5 к классической форме скрепи

следуемой выборке. Для эффективной селекционной работы в качестве дополнительного критерия отбора необходимо проводить анализ полиморфизма гена PRPN на предмет восприимчивости к классической и атипичной формам скрепи, что позволит существенно повысить генетическую устойчивость к скрепи новых поколений овец южной мясной породы.

Литература

1. Кошкина О. А. Генетическое разнообразие пород овец, разводимых в России, на основе исследования полных митохондриальных геномов: дисс. ... канд. биол. наук / О. А. Кошкина ; ФГБНУ «ФИЦ животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста». – Дубровицы, 2023. – 181 с.
2. [Сайт]. – URL: <http://www.tuvaonline.ru/2012/08/13/pogolove-ovec-i-koz-v-2011-godu-v-rossii-uvelichilos-na-51.html/> (дата обращения: 13.08.2012).
3. Гладырь Е. А. Характеристика романовской породы овец по гену прионового протеина / Е. А. Гладырь, Н. А. Зиновьева, А. В. Гусева, А. В. Коновалов, Г. Брем, Л. К. Эрнст // Достижения науки и техники АПК. – Москва, 2012. – № 8. – С. 52–55.
4. Иванникова А. В. Характеристика аллелофонда овец южной мясной породы с использованием микросателлитных маркеров / А. В. Иванникова, А. Д. Соловьева, Т. Е. Денискова // Генетика и разведение животных. – 2023. – № 4. – С. 80–85. doi: 10.31043/2410-2733-2023-4-80-85.

5. Ерохин А. И. Овцеводство: [учебник для вузов] / А. И. Ерохин, С. А. Ерохин // Мин-во сел. хоз-ва РФ, Моск. с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева. — М.: Изд-во МГУП, 2004. — 478 с.
6. ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста: офиц. сайт. — Москва, 1999-2024. — URL: <https://www.vij.ru/novosti2/rabochij-vyezd-14-16-09> (дата обращения: 27.05.2024).
7. Basler K. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene / K. Basler, B. Oesch et al. // Cell. — 1986. — Vol. 46. — P. 417–428.
8. Prusiner, S. B. Molecular biology of prion diseases / S. B. Prusiner // Science. — Vol. 252, no. 5012. — 1991. — P. 1515–1522. doi: 10.1126/science.1675487.
9. Hunter N. Is scrapie solely a genetic disease? / N. Hunter, D. Cairns, J. D. Foster, G. Smith, W. Goldmann, K. Donnelly // Nature. — Vol. 386. — № 6621. — 1997. — P. 137. doi: 10.1038/386137a.
10. Методические указания по патогистологической диагностике прионных инфекций животных. — 1997. — № 13-17-2/939. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/556621354/titles> (дата обращения: 27.05.2024).
11. Денискова Т. Е. Мониторинг овец некоторых грубошерстных пород России по генетической восприимчивости к скрепи / Т. Е. Денискова, О. В. Костюнина, Г. Брем, М. И. Селионова, Н. А. Зиновьева // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. — № 10-1. — Волгоград, 2017. — С. 8–12.
12. Денискова Т. Е. ДНК-диагностика устойчивости овец к скрепи. Методическое руководство / Т. Е. Денискова, О. А. Кошкина, Е. А. Гладырь, С. В. Позябин, Н. А. Зиновьева. — Дубровицы: ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, 2023. — 49 с.
13. Detwiler L. A. The epidemiology of scrapie / L. A. Detwiler, M. Baylis // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. — 2003. — Vol. 22(1). — P. 121–143.
14. Hoinville L. J. A review of the epidemiology of scrapie in sheep / L. J. Hoinville // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. — 1996. — Vol. 15(3). — P. 827–852.
15. Lee I. Y. Complete genomic sequence and analysis of the prion protein gene region from three mammalian species / I. Y. Lee, D. Westaway, F. A. Smit, K. Wang, J. Seto, L. Chen, C. Acharya, M. Ankener, D. Baskin, C. Cooper, H. Yao, S. B. Prusiner, L. E. Hood // Genome Res. — 1998. — Vol. 8. — P. 1022–1037. doi: 10.1101/gr.8.10.1022.
16. Гладырь Е. А. Характеристика аллелофонда романовской породы овец по гену прионового белка, ассоциированного с генетической устойчивостью к скрепи / Е. А. Гладырь, Т. Е. Денискова, В. А. Багиров, О. В. Костюнина, Н. Н. Макарова, Г. Брем, Н. А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология. — Москва, 2017. — Т. 52. — № 6. — С. 1157–1164.
17. Groschup M. H. Classic scrapie in sheep with the ARR/ARR prion genotype in Germany and France / M. H. Groschup, C. Lacroux et al. // Emerg. Infect. Dis. — 2007. — Vol. 13. — № 8. — P. 1201–1207. doi: 10.3201/eid1308.070077.
18. Renaville R. Resistance genetique a la «Tremblante» (aussi appelee scrapie) chez le mouton / R. Renaville // FIOG Gembloux. — Belgique, 2002.
19. Vaccari G. Identification of an allelic variant of the goat PrP gene associated with resistance to scrapie / G. Vaccari, M. A. Di Bari et al. // J. Gen. Virol. — 2006. — Vol. 87. — P. 1395–1402. doi: 10.1099/vir.0.81485-0.
20. Houston F. Prion diseases: BSE in sheep bred for resistance to infection / F. Houston, W. Goldmann, A. Chong, M. Jeffrey, L. Gonzalez, J. Foster // Nature. — 2003. — Vol. 423. — P. 498. doi: 10.1038/423498a.
21. Le Dur A. A newly identified type of scrapie agent can naturally infect sheep with resistant PrP genotypes. / A. Le Dur, V. Beringue, O. Andreoletti, F. Reine, T. L. Lap, T. Baron, B. Bratberg, J. L. Vilotte, P. Sarradin, S. L. Benestad, H. Laude // Proc. Natl. Acad. Sci. — USA, 2005. — Vol. 102. — № 44. — P. 16031–16036. doi: 10.1073/pnas.0502296102.
22. Зиновьева Н. А. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве / Н. А. Зиновьева, А. Н. Попов, Л. К. Эрнст [и др.] // Дубровицы: ВИЖ, 1998. — 47 с.
23. Baylis M. The genetics of scrapie in sheep and goats / M. Baylis, W. Goldmann // Curr. Mol. Med. — 2004. — № 4. — P. 385–396.

Ivannikova A., Koshkina O., Deniskova T., Zinovieva N.

Characteristics of the allele pool of the Southern Meat sheep breed based on the *PRPN* prion protein gene associated with genetic resistance to scrapie

Abstract.

Purpose: to study polymorphism in the *PRPN* gene in sheep of the Southern Meat breed and determine their genetic resistance to the classical and atypical scrapie.

Materials and methods. The biomaterial was ear plucks from 442 sheep of the gene pool herd of the Southern Meat breed, selected from the Ladozhsky Breeding Plant. Sheep genotypes associated with scrapie resistance were determined based on sequencing of a fragment of the ovine *PRNP* gene. Sanger sequencing of the sheep *PRNP* gene fragment was carried out on a NanoFor 05 genetic analyzer, according to the methodological recommendations by T.E. Deniskova et al. Sequencing data were processed using the Mutation Surveyor V5.1.2 program (Release), and allele polymorphism in codons 136 (A/T/V), 141 (L/F), 154 (R/H) and 171 (Q/R/ H/K) were determined based on the analysis of the obtained sequences. Statistical data processing was carried out using Microsoft Excel and GenAlEx 6.501.

Results. Analysis of *PRPN* gene polymorphism showed the presence of seven alleles (ARR, ARQ, AHQ, ARH, AHH, AHR, and VRQ) in the studied sample. The desired haplotype ARR was found in all sheep groups, the frequency across the sample was 21,43 %. Its minimum frequency was 18,18 % in the group of ewes, and the maximum was 23,08 % in the group of young ewes. The undesirable allele VRQ, associated with sensitivity to the classical scrapie, was not detected in the group of rams (sires) in the studied sample. In the remaining groups, this allele varied from 7,14 % in young rams to 9,09 % in ewes, and the frequency in the entire sample was 6,12 %. In this study, we discovered a new rare haplotype AHH, which was not previously reported either in the Southern Meat or in other sheep breeds. The AHH allele was present in all studied groups of the Southern Meat sheep breed with frequency varied from 7,69 % in young ewes to 13,64 % in ewes. The analysis of the frequency of genotypes in the studied sample of sheep of the Southern Meat breed, sixteen genotypes were identified (ARR/ARR, ARR/AHQ, ARR/ARH, ARR/ARQ, ARQ/ARQ, ARQ/AHQ, ARQ/ARH, ARQ/AHH, ARH/ARH, ARH/AHH, AHQ/AHQ, AHH/AHH, AHR/AHR, ARR/VRQ, ARQ/VRQ, VRQ/VRQ), corresponded to five classes of genetic resistance to scrapie. The frequencies of the desired genotypes varied widely among different age groups of sheep. The F allele at codon 141, associated with genetic susceptibility to the Nor98 strain, was not detected in any individual in the studied sample. We recommend analyzing the polymorphism of the *PRPN* gene for susceptibility to classical and atypical scrapie as an additional selection criterion for effective breeding work. This procedure will significantly increase the genetic resistance to scrapie in new generations of sheep of the Southern Meat breed.

Key words: Southern Meat breed; polymorphism; prion protein gene (*PRNP*); allele pool; genotype; domestic sheep; genetic resistance; staple.

Authors:

Ivannikova A. — postgraduate student; e-mail: ivannikova_sacha@mail.ru;

Koshkina O. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: olechka1808@list.ru;

Deniskova T. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: horarka@yandex.ru;

Zinovieva N. — Dr Habil. (Biol. Sci.), Academician of the Russian Academy of Sciences; e-mail: n_zinovieva@mail.ru.

Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia.

References

1. Koshkina O. A. Genetic diversity of sheep breeds bred in Russia, based on the study of complete mitochondrial genomes: dissertation. ...cand. biol. Sciences / O. A. Koshkina; Federal State Budgetary Institution "Federal Research Center for Animal Husbandry - VIZH named after Academician L.K. Ernst." — Dubrovitsy, 2023. — 181 p.
2. [Website]. — URL: <http://www.tuvaonline.ru/2012/08/13/pogolove-ovec-i-koz-v-2011-godu-v-rossii-uvlechilos-na-51.html> / (access date: 13.08 .2012).

3. Gladyr E. A. Characteristics of the Romanov breed of sheep by the prion protein gene / E. A. Gladyr, N. A. Zinovieva, A. V. Guseva, A. V. Konovalov, G. Brem, L. K. Ernst // *Achievements of science and technology of the agro-industrial complex*. — Moscow, 2012. — № 8. — P. 52–55.
4. Ivannikova A. V. Characteristics of the allele pool of sheep of the southern meat breed using microsatellite markers / A. V. Ivannikova, A. D. Solovyova, T. E. Deniskova // *Genetics and animal breeding*. — 2023. — № 4. — P. 80–85. doi: 10.31043/2410-2733-2023-4-80-85.
5. Erokhin A. I. Sheep farming: [textbook for universities] / A. I. Erokhin, S. A. Erokhin // Ministry of Villages, households of the Russian Federation, Moscow. agricultural acad. them. K. A. Timiryazeva. — M.: Publishing house MGUP, 2004. — 478 p.
6. FGBNU FITs VIZh them. OK. Ernsta: official website. — Moscow, 1999-2024. — URL: <https://www.vij.ru/novosti2/rabochij-vyezd-14-16-09> (access date: 05.27.2024)
7. Basler K. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene / K. Basler, B. Oesch et al // *Cell*. — 1986. — Vol. 46. — P. 417–428.
8. Prusiner S. B. Molecular biology of prion diseases / S. B. Prusiner // *Science*. — Vol. 252, no. 5012. — 1991. — P. 1515–1522. doi: 10.1126/science.1675487.
9. Hunter N. Is scrapie solely a genetic disease? / N. Hunter, D. Cairns, J. D. Foster, G. Smith, W. Goldmann, K. Donnelly // *Nature*. — Vol. 386. — № 6621. — 1997. — P. 137. doi:10.1038/386137a.
10. Guidelines for pathohistological diagnosis of prion infections in animals. — 1997. — № 13-17-2/939. — URL: <https://docs.cntd.ru/document/556621354/titles> (access date: 05/27/2024).
11. Deniskova T. E. Monitoring of sheep of some coarse-wool breeds of Russia for genetic susceptibility to scrapie / T. E. Deniskova, O. V. Kostyunina, G. Brem, M. I. Selionova, N. A. Zinovieva // *Actual problems of the humanities and natural sciences*. — № 10-1. — Volgograd, 2017. — P. 8–12.
12. Deniskova T. E. DNA diagnostics of sheep resistance to scrapie. Methodical manual / T. E. Deniskova, O. A. Koshkina, E. A. Gladyr, S. V. Pozyabin, N. A. Zinovieva. — Dubrovitsy: Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Research Center VIZh named after. OK. Ernsta, 2023 — 49 p.
13. Detwiler L. A. The epidemiology of scrapie / L. A. Detwiler, M. Baylis // *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* — 2003. — Vol. 22(1). — P. 121–143.
14. Hoinville L. J. A review of the epidemiology of scrapie in sheep / L. J. Hoinville // *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* — 1996. — Vol. 15(3). — P. 827–852.
15. Lee I. Y. Complete genomic sequence and analysis of the prion protein gene region from three mammalian species / I. Y. Lee, D. Westaway et al. // *Genome Res.* — 1998. — Vol. 8. — P. 1022–1037. doi: 10.1101/gr.8.10.1022.
16. Gladyr E. A. Characteristics of the allele pool of the Romanov breed of sheep according to the prion protein gene associated with genetic resistance to scrapie / E. A. Gladyr, T. E. Deniskova et al. // *Agricultural biology*. — Moscow, 2017. — Vol. 52. — № 6. — P. 1157–1164.
17. Groschup M. H. Classic scrapie in sheep with the ARR/ARR prion genotype in Germany and France / M. H. Groschup, C. Lacroux et al // *Emerg. Infect. Dis.* — 2007. — Vol. 13. — № 8. — P. 1201–1207. doi: 10.3201/eid1308.070077.
18. Renaville R. Resistance genetique a la “Tremblante” (aussi appellee scrapie) chez le mouton / R. Renaville // FIOU Gembloux. — Belgique, 2002.
19. Vaccari, G. Identification of an allelic variant of the goat PrP gene associated with resistance to scrapie / G. Vaccari, M. A. Di Bari et al. // *J. Gen. Virol.* — 2006. — Vol. 87. — P. 1395–1402. doi: 10.1099/vir.0.81485-0.
20. Houston F. Prion diseases: BSE in sheep breeding for resistance to infection / F. Houston, W. Goldmann et al. // *Nature*. — 2003. — Vol. 423. — P. 498. doi: 10.1038/423498a.
21. Le Dur A. A newly identified type of scrapie agent can naturally infect sheep with resistant PrP genotypes. / A. Le Dur, V. Beringue et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. — USA*, 2005. — Vol. 102. — № 44. — P. 16031–16036. doi: 10.1073/pnas.0502296102.
22. Zinovieva N. A. Methodological recommendations for the use of the polymerase chain reaction method in animal husbandry / N. A. Zinovieva, A. N. Popov, L. K. Ernst [etc.] // Dubrovitsy: VIZH, 1998. — 47 p.
23. Baylis M. The genetics of scrapie in sheep and goats / M. Baylis, W. Goldmann // *Curr. Mol. Med.* — 2004. — № 4. — P. 385–396.