

ӘОЖ 618.19-002:575.22:636.234.1
FTAXP 68.41.49

DOI 10.52578/2305-9397-2025-1-1-3-15

Муслимова Ж.У., ауылшаруашылық ғылымдарының магистрі, негізгі автор, <https://orcid.org/0000-0003-3485-7240>

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ-сы, Абая даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Тургумбеков А.А., PhD доктор, <https://orcid.org/0000-0001-6205-909X>

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ-сы, Абая даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Баймұрзаева М. С., PhD доктор, <https://orcid.org/0000-0001-9765-0154>

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ-сы, Абая даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Орынтаев К. Б., ветеринария ғылымдарының кандидаты, <https://orcid.org/0000-0002-4103-8406>

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ-сы, Абая даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Хусайнов Д. М., ветеринария ғылымдарының кандидаты, <https://orcid.org/0000-0002-0244-8381>

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ-сы, Абая даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Усенбеков Е. С., биология ғылымдарының кандидаты, <https://orcid.org/0000-0001-9508-4179>

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ-сы, Абая даңғылы 8, 050010, Қазақстан, info@kaznaru.edu.kz

Muslimova Zh. U., Master of Agricultural Sciences, the main author, <https://orcid.org/0000-0003-3485-7240>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Turgumbekov A.A., PhD doctor, <https://orcid.org/0000-0001-6205-909X>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Baimurzaeva M. S. PhD doctor, <https://orcid.org/0000-0001-9765-0154>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Oryntaev K. B., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-4103-8406>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Khussainov D.M., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-0244-8381>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

Ussenbekov Y. S., Candidate of Biological Sciences, <https://orcid.org/0000-0001-9508-4179>

NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, Abai Ave 8, 050010, Kazakhstan, info@kaznaru.edu.kz

**ГОЛШТЕИН ТҰҚЫМДАС СИЫРЛАРДЫ MX1, CXCR1 ГЕН ЛОКУСТАРЫ
БОЙЫНША ГЕНОТИПТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ ЖӘНЕ ОСЫ ГЕН АЛЛЕЛДЕРІНІҢ
СИЫРЛАРДА ЖЕЛІНСАҒА ТӨЗІМДІЛІКПЕН БАЙЛАНЫСЫ
RESULTS OF GENOTYPING OF COWS HOLSTEIN BREED BY LOCI OF GENES MX1,
CXCR1 AND INFLUENCE OF ALLELES OF THESE GENES ON RESISTANCE TO
MASTITIS**

Аннотация

Мақалада авторлар голштейн тұқымдас сиырларда MX1 g.143182088, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T ген локустары бойынша желінсауға төзімділікке байланысты ДНҚ

үлгілерінің генотипін анықтау нәтижелері берілген. Сиырларда субклиникалық желінсау пайда болуы мүмкіндігі төмен MX1 c.567 T>C, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T ген локустарындағы генетикалық полиморфизмдер анықталған. Зерттеу тобындағы сиырларда келесі ген локустары бойынша генетикалық нұсқалардың таралуы: MX1 - TT -0,12, CT - 0,30, CC - 0,58, CXCR1 c.+291C>T - TT - 0,12, CT - 0,33, CC - 0,55, CXCR1 +1093C>T - TT - 0,47, CT - 0,51, CC - 0,02 болған. Екі ген локустары бойынша MX1 g.143182088 және CXCR1 +1093C>T, гендік тепе-теңдіктің бұзылу фактісі анықталған және соның нәтижесінде χ^2 мәні сәйкесінше, 10,6261 және 9,7137-ге дейін жоғарылауы байқалады. ПТР-РФҰП талдау әдісін қолдана отырып, «Амиран» ЖШС голштейн тұқымының 40 бас сиырларында түрлі нұсқалы кешенді генотиптері анықталды және бақылау жүргізген жыл ішінде сиырларға желінсауға балау жұмыстары жүргізілді. MX1, 567 T>C, CXCR1 c.+291C >T, CXCR1 +1093C>T ген локустары кешенді CCCCCT генотипі бар сиырларда субклиникалық желінсаудың пайда болу мүмкіндігі жоғары болған, ол сиырларға тоқсан сайын балау жүргізілді. Сонымен, MX1 және CXCR1 ген локустар голштейн сиырлардағы субклиникалық желінсауға төзімділікке байланысты потенциалды ДНҚ маркерлері болып табылады.

ANNOTATION

The aim of this work was to conduct genotyping of Holstein cows for the gene loci: MX1 g.143182088, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T, associated with resistance to mastitis in cows, to identify animals with the desired genotype, with a minimal risk of developing subclinical mastitis. Genetic polymorphism was observed at the gene loci MX1 c.567 T>C, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T, the prevalence of genetic variants was: MX1 - TT -0.12, CT - 0.30, CC - 0.58, CXCR1 c.+291C>T - TT - 0.12, CT - 0.33, CC - 0.55, CXCR1 +1093C>T - TT - 0.47, CT - 0.51, CC - 0.02. At two gene loci, MX1 g.143182088 and CXCR1 +1093C>T, a fact of gene imbalance was revealed, as a result of which an increase in the χ^2 value was established to 10.6261 and 9.7137, respectively. The combined genotypes of 40 Holstein cows of Amiran LLC were identified using PCR-RFLP analysis and diagnostics for subclinical mastitis were performed quarterly for a year. A high risk of subclinical mastitis was detected in animals with a combined CCCCCT genotype for the gene loci MX1 c.567 T>C, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T. Thus, the gene loci MX1, CXCR1 are potential DNA markers of resistance to subclinical mastitis in Holstein cows.

Түйін сөздер: *Голштейн тұқымы, желінсауға генетикалық төзімділік, ДНҚ маркерлер, MX1, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T гендер, ПТР-РФҰП талдауы, кешенді генотиптер, оңтайлы генотип.*

Key words: *Holstein breed, genetic resistance to mastitis, DNA markers, genes MX1, CXCR1 c.+291C>T, CXCR1 +1093C>T, PCR-RFLP analysis, combined genotypes, desired genotype.*

Кіріспе. Желінсаумен күресу стратегиялары соның ішінде антибиотикалық терапия, вакцинация мен фермаларда басқаруды жақсарту және азықтандыру айтарлықтай жетістікке жете алмады. Желінсауға генетикалық төзімділікпен байланысты бірнеше тәуелсіз зерттеулер сүтті сиырлардың әртүрлі тұқымдарында дәлелденді. Желінсауға генетикалық төзімді сиырларды таңдау үшін индикатор ретінде соматикалық торшалардың санын немесе клиникалық желінсауды анықтау жоғары нәтиже бермеді. Бұл желінсауды анықтауда полигендік сипатына байланысты, оған көптеген гендер қатысады. Бұл белгінің полигендік сипаты желінсау төзімділікке жауапты кандидат гендерін зерттеу қажеттілігін тудырды. Авторлардың мақалаларының шолуында келесі гендер SNP полиморфизмдерін: TLR 4, Lactoferrin, IL-8, CXCR1, CXCR2, CCL2, IL8, BPI, MBL, CACNA2D1, BRCA1, FEZL, SEMA5A желінсауға төзімділік ДНҚ маркерлері ретінде пайдалану мүмкіндігін ұсынылған [1].

Желінсаумен ауырған сиырлардың сүтінде соматикалық жасушалар санының жоғарылауымен және иммунитеттің төмендеуі, қабынудың үрдісімен байланысты. Желінсауға төзімділікті дәстүрлі селекциямен анықтау нәтижесі төмен, өйткені тұқым қуалаушылық коэффициенті төмен (0,10-0,16). Осылайша, желінсауға төзімділікті жоғарылату мақсатында генетикалық маркерді таңдау бүкіл әлем назарында. Осылайша, ғалымдар иммунитет пен қабынумен байланысты келесі кандидат гендерін қарастырған: CD4, CD14, CD46, TRAPPC9, JAK2, Tf, Lf, TLRs, CXCL8, CXCR1, CXCR2, C4A, C5, MASP2, MBL1, MBL2, LBP, NCF1, NCF4,

MASP2, A2M, CLU, IL-6, интерферон-гамма (IFN-g), IL17, IL8 және тиісті сигналдық жолдар (*Staphylococcus aureus* инфекциясының сигналы, Toll рецепторлардың сигналы, NF-каппа В жолының сигналы, цитокиндік рецепторлар, комплемент және коагуляция каскадтары және т.б.) фенотиптік төзімділікпен байланысты және сүтті малдың желінсауға бейімділігі [2].

Қазіргі уақытта TRAPPC9 генінің кодтау бөлігінде келесі позицияларда үш SNP белгілі: SNP1 - Chr14:2484891, SNP2 (rs110017379), SNP3: Chr14:2525852) және бір SNP CD4 ген бөлігінде Chr5:104010752 орналасқан. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, сүттің құрамындағы ақуыздың болуы, соматикалық жасушалар саны (SCS), қан сарысуындағы цитокин интерлейкин 6 (IL-6) және интерферон-гамма (IFN-g) концентрациялары TRAPPC9 және CD4 аллельдерімен байланысының сәйкестігі ($P < 0,05$) екенін көрсетті. Осылайша, TRAPPC9 және CD4 гендерінің SNP полиморфизмдері сүтті малдың желінсауға төзімділігін анықтау үшін пайдалы генетикалық маркерлер болуы мүмкін [3].

Сиырлардың ұрықтанғыштық және желінсауға төзімділігін реттейтін гендер кластеріне SELP, SELL, SELE және гендерінің кодтау бөлігінде SNP полиморфизмдері кіреді (rs109966956 SNP G/A) 3-ші экзон бөлігінде. Авторлар келесі праймерлерді пайдаланды: F- 5'-TGTCAGCTTTCCTCGTCTC - 3' және R - 5'- GTTCGTTCCCAGCACTCT-3', жабысу температурасы 57 °C, және рестриктаза BsmI ферментін пайдаланған [4].

Бактериялық инфекциялар кезінде туа біткен иммундық жауап маңызды рөл атқарады. Туа біткен иммунитеттің тиімділігі нейтрофилдердің белсенділігімен байланысты көптеген гендердің экспрессиясына байланысты. CXCR1 генімен кодталған интерлейкин 8 (IL-8) α рецепторы нейтрофилдердің бетінде болады және қабынуға қарсы IL-8-ді байланыстырады. Сондықтан ірі қара малдағы CXCR1 гені сиырлардағы желінсауға төзімділіктің потенциалды ДНҚ маркері болып табылады. Зерттеу сынау күнінде әртүрлі CXCR1 генотиптерін тасымалдайтын жануарлардың, соматикалық жасушалардың санының (SCC) және *Staphylococcus aureus* тудырған желінсауға сезімталдықтың арасында айырмашылықтар бар екенін анықтады. Сынақ күніндегі SCC саны CXCR1+472 SNP-мен айтарлықтай байланысты екені анықталды, бірақ CXCR1+735 SNP-мен емес. Зерттелетін табында CXCR1 полиморфизмі мен *S. Aureus* тудырған желінсауға бейімділік арасында статистикалық маңызды байланыс болды. Генотиптеу үшін қолданылатын праймерлер: CXCR1+735 тура: AGCAGAGCAGGAAGACGAG, кері: GTGCCAGAACAAGGTGAC; CXCR1+472 тура: TTATCATCCGCCATTTTCGTT, кері: TATGCCCTGGTCTTCTTGCT [5]. Авторлардың пікірінше, регрессиялық талдау CC генотипі арасында маңызды байланыс бар екенін көрсетеді. CXCR1 генінің локусында + 365T>C және сиырлардың клиникалық желінсауға бейімділігі $P=0,047$ мәнімен. CCCATA/CCCATA аралас гаплотиптерінің жиілігі сиырларда айтарлықтай жоғары болды, $P=0,062$ желінсауға дәлелдікпен анықталған [6].

CXCR1 генінің G аллелінің клиникалық желінсаумен байланысы төмен болды және сүт өнімділігінің көрсеткішіне әсіресе сүт мөлшеріне, ақуызға және майға оңтайлы әсер етті. Нәтижелер көрсеткендей CXCR1 генінің желінсауға төзімді ген ретінде пайдалануға болады [7].

Мақалада авторлар CXCR1 генінің полиморфизмінің болуын және олардың клиникалық желінсау және репродуктивтік қызметтің бұзылулармен байланысын зерттеген. CXCR1 генінің локусында SNP rs211042414 (C>T) генотипін анықтау ПТР-РФҰП талдауы арқылы BsaI рестриктазасымен жүзеге асырылды, нәтижесінде үш генотип анықталды CC, CT және TT, ең көп тараған C аллелі. Хи-квадрат талдауын және логистикалық регрессияны пайдалана отырып, SNP және сиырлардағы клиникалық желінсаудың пайда болуы арасында маңызды байланыстар анықталды. CC генотипі сиырларда клиникалық желінсауға ауру қаупімен жоғары 3,47, басқа TT генотипімен (1,00) және CT (2,90) генотиптерімен ($p < 0,05$) салыстырғанда. Осылайша, анықталған CXCR1 генінің полиморфизмдерін қолданыстағы таңдау критерийлеріне қосу ауруға төзімділікті арттыруға және сүт өндіруді жақсартуға көмектеседі [8].

Лактоферрин және CXCR1 гендері желінсау инфекциясымен байланысты иммундық жауаптарға қатысты екені белгілі. Иранның жергілікті тұқымдарындағы сиырларында интрон 6-дағы LF/EcoRI T>C SNP және CXCR1/BaeGI +735 G>C SNP зерттелген. Генетикалық полиморфизм локустардың екеуінде де анықталды және байқалған генотип нұсқалары AA, AB және BB сәйкесінше LF үшін 52%, 39% және 9%, CXCR1 локусы үшін 67%, 13% және 20% құрады. CXCR1c.+735 генотипі сүттегі соматикалық жасушалардың (SCS) санымен ($p < 0,05$) байланысты болды [9].

Желінсаудың негізгі қоздырғышы бактериялық штаммдар болып табылады, бірақ вирустық желінсау жиі кездеседі. Зерттеулерде дәлелденгендей MX dynamin-like GTPase 1 (MX1) генінің вирусқа қарсы оң әсер беретіні, көптеген вирустарға жауап беретіні және ірі қара малдың сүт бездері ауруларына төзімділігін зерттеу үшін қолайлы кандидат гені болуы мүмкін екендігі көрсетілген [10].

Мүйізді ірі қарада желінсау – экономикалық маңызды ауру, желінің қабыну аурулары бүкіл әлемде сүт өнеркәсібінде өнімділігін төмендетеді [11]. Соңғы 20-25 жылда сүтті мал шаруашылығында сүт өнімділігінің көрсеткіштеріне қарай селекциялық жұмыстар жүргізілді: бір лактациядағы сүт өнімділігі, сүттегі май және ақуыз мөлшері, буаз болу қабілеті, тұяқ патологиясына төзімділігі және т.б. Малдарды желінсау төзімділігіне қарай іріктеу жүргізілмеді, соның нәтижесінде сүтті ірі қара малдарда желінсауға клиникалық және субклиникалық түрлерімен ауырғандардың өсуі байқалды. Демек, сүт өнімділігінің қасиеттері мен әртүрлі ауруларға, соның ішінде желінсауға төзімділігінің төмендеуі арасында теріс генетикалық корреляцияның болуы селекциялық жұмыстың маңызды элементі болып табылады. Бактериялық желінсау ең көп тараған түрі болып табылады, оны инфекциялық қоздырғыштармен немесе қоршаған ортадағы патогендер тудыруы мүмкін [12].

Желінсауға төзімді жануарларды таңдау желінсаудың экономикалық маңыздылығына байланысты әрқашан зерттеушілердің сұранысына ие. Желінсауға төзімділікті анықтау қажетті белгі болып табылады, іріктеу стратегиясы сандық белгілерге дәстүрлі көзқарастардан аздап ерекшеленеді. Ветеринариялық тәжірибеде сүттің соматикалық жасушаларының санын (SCC) анықтау сиырлардағы клиникалық желінсауға жанама көрсеткіші болып табылады [13]. Авторлардың жұмысында LTF, MBL1, TLR9 гендерінің аллельдерінің әсері зерттеліп анықталғандай, LTF-EcoRIAA гомозиготалы генотипі бар сиырлар желінсауға көбірек бейім екені анықталды, ал LTF-EcoRIAB гетерозиготалы генотипті сиырларда сүт бездерінің ауруларына төзімділігі жоғары болды [15]. Басқа жұмыста авторлар сиырлардың эндометритке төзімділігінің ДНҚ маркер ретінде TNF α генінің промоторлық бөлігіндегі SNP полиморфизмі 824 A→G зерттеу нәтижелері ретінде қолдануды ұсынады және гомозиготалы GG генотипті жануарларда репродуктивті функцияның жоғары көрсеткіштерімен сипатталады [16,17].

Голштейн тұқымды сиырлардағы желінсауға төзімділік пен бейімділікпен PRL және BLG гендерінің полиморфты нұсқаларының ассоциациясы талданған. Эксперименттік зерттеу екі топқа бөлінген (сау және желінсау балауы расталған) 3 жастағы 250 голштейн сиырынан биоматериал үлгілерін жинау болған. bBLG-HaeIIIBB генотипі голштейн сиырларында желінсаудың даму қаупінің жоғарылауының маркері ретінде әрекет ете алады, оның ауру жануарлар тобындағы жиілігі бақылау тобындағы жиіліктен 2 есе жоғары (тиісінше 44,0 17,0%). bBLG-HaeIIAB генотипі голштейн сиырларының желінсауға төзімділігімен айтарлықтай байланысты; оның жиілігі бақылау тобына қарағанда 2 есе төмен (28,0-ге қарсы 54,0%) көрсеткен [18].

Ғалымдар голштейн сиырларындағы хламидиоз, бруцеллез және желінсау ауруымен Toll тәрізді рецептор 9 (TLR9), манноза байланыстыратын лектин 1 (MBL1) және лактоферрин (LTF) гендерінің полиморфты нұсқаларының байланысын зерттеген. TLR9-BfaIAA және MBL1-HaeIIIC генотиптері хламидиозға төзімділіктің жоғарылауының генетикалық маркерлері екені анықталған. LTF-EcoRIAA генотипі желінсау қаупінің жоғарылауының генетикалық маркері болды, ал LTF-EcoRIAB генотипі голштейн ірі қара малдарында желінсауға төзімділіктің жоғарылауымен байланысты болды [19].

Желінсаумен ауыратын жануарларда 67 генотип анықталды. PRL үшін ең көп таралған генотип bPRL-RsaIAA (43) және ең аз таралғаны bPRL-RsaIBB (6); NOS2 үшін ең көп таралған генотип bNOS2-HinfIBB (31) және ең аз таралғаны bNOS2-HinfIAA (7) болды. bPRL және bNOS2 полиморфты генотиптерінің таралуы негізінен бірдей, ең көп таралған генотипі bPRL-RsaIBB болып табылады. Атап айтқанда, ірі қара лейкозы бар bNOS2-HinfIAA генотипі бар жануарлардың үлесі сау жануарлардағы 22,4% салыстырғанда 8,7%, желінсаумен ауыратындар 10,3% құрады. [20].

Мақсаты - желінсауға төзімділікпен байланысты MX1, CXCR1 гендерінің кодтау бөлігіндегі SNP полиморфизмдерін зерттеу және зерттелетін ген локустардағы желінсауға генетикалық төзімділік деңгейін анықтау.

Зерттеудің материалдары мен әдістері. MX1 (n=164), CXCR1, с.+291C>T (n=42), CXCR1, +1093C>T (n=164) ген локустары бойынша генотиптеу жүргізу үшін материал ретінде Алматы облысы Талғар ауданында орналасқан «Амиран» ЖШС голштейн тұқымды сиырлардың қатырылған қан үлгілері пайдаланылды. Бұл тауарлы-сүт фермасында сауылатын сүттің көрсеткіші орташа лактациясына 9000-9500 кг құрайды. ДНҚ экстракциясы үшін қан мойын күре тамырынан, кейбір жағдайларда құйрық венасынан 2 мл көлемінде ЭДТА бар вакуумдық түтіктерге алынды. Қатырылған қаннан геномдық ДНҚ-ны бөлу Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университетінің Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының «Жасыл биотехнология және торшалық инженерия» зертханасында екі әдіспен жүргізілді: классикалық фенолдық әдісі және коммерциялық жинақ PureLink™ Genomic DNA Mini Kit өндірушінің нұсқаулықтарына сәйкес. Оқшауланған ДНҚ концентрациясын микроспектрофотометриялық талдау (NanoDrop™ 2000) көмегімен өлшеу арқылы бағаланды, ал ДНҚ тазарту дәрежесі A260/A280 қатынасымен анықталды. Сиырларды MX1, CXCR1 гендік локустарында генотиптеу үшін әдебиеттен алынған праймер тізбектері пайдаланылды [21,22], сонымен қатар Primer 3 бағдарламасы (<https://primer3.ut.ee>) арқылы праймер тізбегі таңдалды. MX1 генінің локусы бойынша ScrFI рестриктаза ферментімен рестрикцияланды - сайт рестрикциясы CC/NGG, арқылы жүзеге асырылды. CXCR1 генінің локусында с.+291C>T эндонуклеаза BsaI пайдаланылды, сайттың тану аймағы- GGTCTC(N), CXCR1 +1093C>T генінің локусында бойынша сайт рестрикциясы C/CGG MspI эндонуклеазасы қолданылды. Рестрикция тиісті буфермен 5-6 сағат бойы жүргізілді, 15 мкл ПТР өнімі алынды және 5-10 U сәйкес рестриктеуші фермент қосылды. Праймерлердің жабысу температурасы 1-кестеде көрсетілген, тура және кері праймерлердің тізбегіндегі GC үлесі 45,00%-дан 60,0%-ға дейін ауытқиды. ПТР өнімінің нәтижелері 3-4% агарозада көлденең электрофорез көмегімен тексерілді. Сигнал Infinity VX2 3026, WL/LC/26M X-Press гель құжаттаушы жүйесінде (VilberLourmat, Америка Құрама Штаттары) айқын көрінеді.

Кесте 1 – Сиырларды ген MX1(-g.143182088), CXCR1 (SNP CXCR1 с.+291C>T, (ss.1052336005) CXCR1 SNP +1093C>T (ss.1052336008) локустар бойынша генотиптеу үшін қолданған праймерлер тізбектері

Ген атауы	Праймер тізбектері 5'→3'	Бөлігі GC %	Праймердің жабысуы	Авторлары
MX1	F-5'-CTTGGGAATGAAGACGAG-3'	50,00	59,00° C	Ningbo Ch et al 2017
MX1	R-5'-AGTGGGAACAGTGACAGG-3'	55,55	59,00° C	
CXCR1 с.+291C>T	F-5'- CACCATGACAATCATCCTGA-3'	45,00	59,00 °C	Pokorska J., 2016
	R-5'-GCAGACTAGGTCTGGAGTACG-3'	60,00	59,00 °C	
CXCR1 +1093C>T	F-5'-GCCTGATCAGCAAGGAGTTC-3'	55,00	59,00° C	біздің дизайн
	F-5'-CCTTGACATGGGACTGTGAA-3'	52,63	59,00° C	

Кесте 2 – MX1, CXCR1 гендік локустарындағы голштейн сиырларының ДНҚ үлгілерін генотиптеу үшін полимеразды тізбекті реакцияны жүргізу шарттары

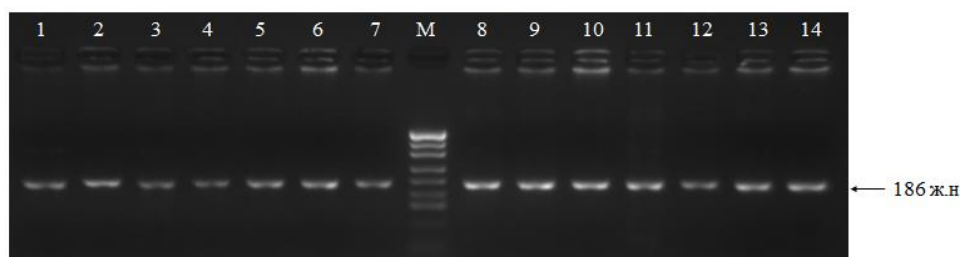
Амплификация шарттары	MX1	CXCR1 с.+291C>T	CXCR1 +1093C>T
Бастапқы денатурация	95°C - 5 мин	95°C - 5 мин	95°C - 5 мин
Денатурация	94°C 35 сек	95°C 45 сек	95°C 45 сек
Праймердің жабысуы	59°C 35 сек	59°C 30 сек	59°C 30 сек
Элонгация	72°C 35 сек	72°C 50 сек	72°C 50 сек
Циклдер саны	35	34	34
Аяқтаушы синтез	72°C 10 мин	72°C 7 мин	72°C 7 мин

Голштейн тұқымының ДНҚ үлгілерін MX1 генінің локусы бойынша генотиптеу (геннің 4-экзонында C>T g.143182088), CXCR1 генінің локусы бойынша (екі SNP полиморфизмі: CXCR1 с.+291C>T ss.105233600) +1093C>T ss 1052336008) ПТР- РФҰП талдауы арқылы жүзеге асырылды және CXCR1 +1093C>T генінің аллельдерін анықтау үшін жеке праймерлердің тізбегі

таңдалды. DeLaval тест жинағы арқылы экспресс-әдіспен субклиникалық желінсауды балау тоқсан сайын жүргізілді.

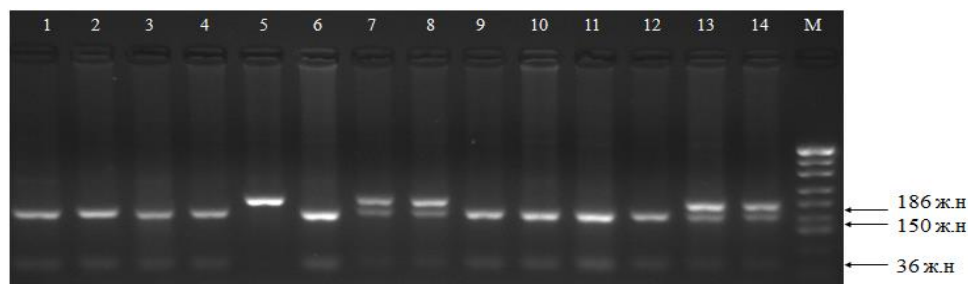
Зерттеу нәтижелері. «Амиран» ЖШС сиырларынан алынған үлгілердегі орташа ДНҚ концентрациясы 174,32 ng/μl болды. Біз микроспектрофотометриялық анализаторды (NanoDrop™ 2000) пайдалана отырып, барлығы 208 ДНҚ үлгілеріндегі A260/A280 арақатынасын өлшеуін жүргіздік және келесі нәтижелерді алдық: «Амиран» ЖШС асыл тұқымды шаруашылығы, 129 үлгінің (62,0%) тазарту дәрежесі 1,86-ден 2,0-ге дейін, 40 үлгі (19,2%) 1,76-дан 1,85-ке дейін және 39 үлгі (18,7%) сапасы төмен және A260/A280 арақатынасы 1,5 пен 1,75.

MX1 генінің локусы бойынша ДНҚ үлгілерін генотиптеу үшін келесі праймерлер пайдаланылды: тура F-CTTGGAATGAAGACGAG-3' және кері R-AGTGGGAACAGTGACAGG-3', жұмыста көрсетілгендей [10]. Амплификат өлшемі 186 ж.н. болғандықтан, амплификат нәтижелерін 4% агарозды геледегі көлденең электрофорез пайдаланылды (1-сурет).



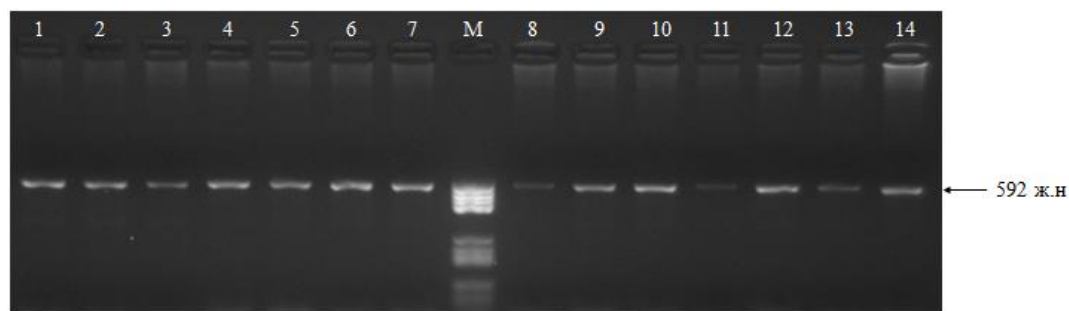
Сурет 1 – MX1 генінің амплификат электрофореграммасы, 4% агароза, 1-7, 8-14 ұяшық алынған амплификат, ұзындығы 186 ж.н., M-ДНҚ маркер pUC19/MspI

MX1 ген локусы бойынша генетикалық нұсқаларды анықтау үшін ScrFI рестриктазасы қолданылды, T аллелінің тасымалдаушыларында ScrFI эндонуклеазасы сайты болмағандықтан амплификат рестрикцияланбайды (кесілмейді) және электрофореграммада тек бір фрагмент анықталады, өлшемі 186 ж.н., MX1 генінің тасымалдаушылары C аллелінің кесу аймағына белгілі және нәтижесінде агарозды геледі визуализациялау кезінде екі фрагмент байқалады - 150 ж.н. және 36 ж.н. (2-сурет)

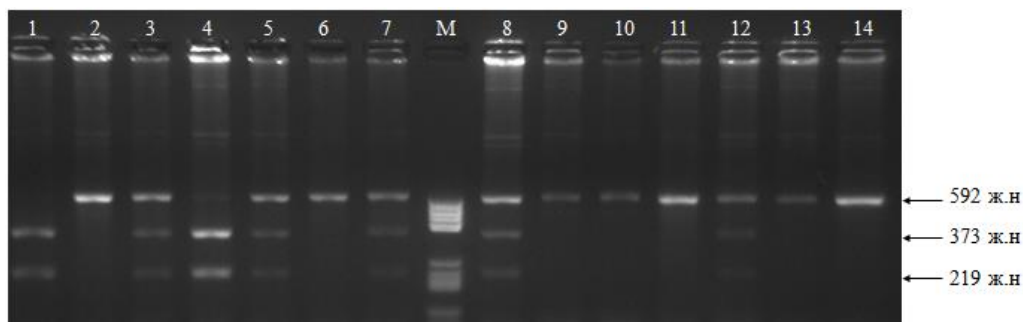


Сурет 2 – MX1 генінің ампликатының электрофореграммасы, ScrFI эндонуклеазамен рестрикциядан кейін, 4,0% агароза, ұяшықтар 1-4, 6, 9-12, гомозиготалы генотип CC (150 ж.н., 36 ж.н.), 5 ұяшық гомозиготалы генотип TT (186 ж.н.), ұяшықтар 7-8, 13-14 гетерозиготалы генотип CT (186 ж.н., 150 ж.н., 36 ж.н.), M-ДНҚ маркер pUC19/MspI

CXCR1 генінің локусында екі SNP полиморфизмі зерттелді - CXCR1 c.+291C>T (ss.1052336005), амплификат ұзындығы 592 ж.н. (3-сурет) және екінші SNP CXCR1 +1093C>T (ss.1052336008), амплификат ұзындығы 168 ж.н. болды. (5-сурет). CXCR1 c.+291C>T (ss.1052336005) SNP бір нуклеотидті алмастыру нәтижесінде пайда болғаны белгілі AAGGTGGTCT[C→T]ACTCCTGAAGGAAGTG. TT генотипі бар гомозиготалы жануарларда BsaI эндонуклеазасымен кесуден кейін электрофореграммада 373 ж.н. және 219 ж.н. фрагменттері анықталады, басқа гомозиготалы CC генотипінің дараларында, керісінше ДНҚ фрагменттерінің электрофорездік бөлінуінің нәтижесінде 592 ж.н. өлшемді бір ғана фрагмент пайда болады, гетерозиготалы жануарларда сәйкесінше барлық үш фрагмент 592 ж.н., 373 ж.н., 219 ж.н., (4-сурет).

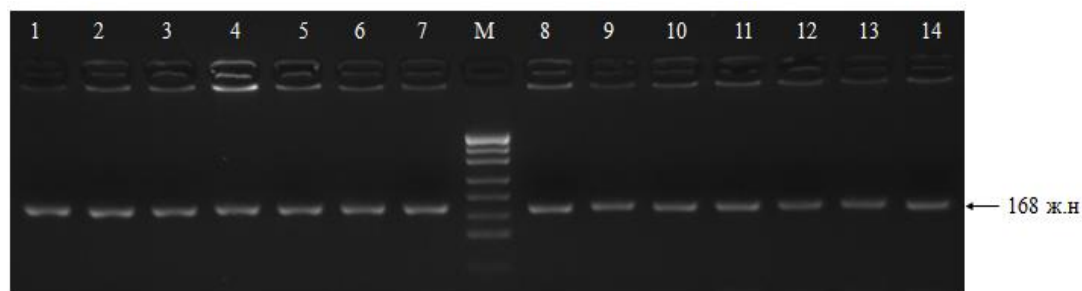


Сурет 3– CXCR1 генінің амплификатының электрофореграммасы 3% агароза, 1-7, 8-14 алынған ПТР өнімі, ұзындығы 592 ж.н., М-ДНК маркер pUC19/MspI

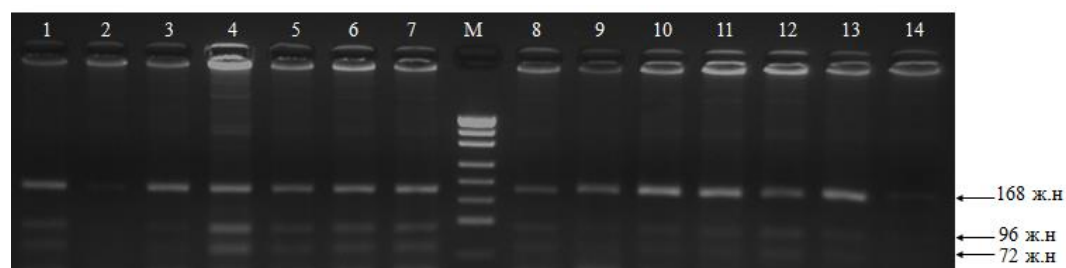


Сурет 4– CXCR1 генінің амплификатының электрофореграммасы, 3% агароза, 1,4 – ұяшық гомозиготалы генотип ТТ (373 ж.н., 219 ж.н.), 2,6,9-11, 13-14 –ұяшық гомозиготалы генотип СС (592 ж.н), 3,5,7,8, 12- ұяшық гетерозиготалы генотип СТ (592 ж.н., 373 ж.н., 219 ж.н.), М-ДНК маркер pUC19/MspI

Голштеин сиырларындағы CXCR1 генінің кодтау бөлігіндегі CXCR1 +1093C>T (ss.1052336008) SNP полиморфизмі аллельдерін анықтау үшін біз Primer 3 бағдарламасын пайдаланып тура және кері праймерлердің ретін таңдадық, праймерді жабысу температурасын 59°C анықтадық. 30 секундқа, ал ПТР өнімінің өлшемі 168 ж.н,



Сурет 5 – CXCR1 генінің амплификатының электрофореграммасы, 4% агароза, 1-7, 8-14- ұяшықтар ПТР өнімі, ұзындығы 168 ж.н., М-ДНК маркер pUC19/MspI



Сурет 6 – CXCR1 генінің амплификатының электрофореграммасы, 1,4,5,6,7,8,10,11,12,13 ұяшықтар гетерозиготалы генотип (168 ж.н., 96 ж.н., 72 ж.н), 2,3,9,14 ұяшықтар гомозиготалы генотип (168 ж.н.) 4% агароза, М-ДНК маркер pUC19/MspI

Кесте 3 – Алматы облысындағы шетелдік селекциядағы голштейн сиырларының зерттелген тобында MX1 және CXCR1 гендік локустардағы (SNP с.+291C>T, SNP +1093C>T) генетикалық нұсқалардың теориялық және нақты таралуы

Жануарларды зерттеу тобы	Зерттелетін гендік локус және жануарлар саны											
	MX1 (n=164) ЖШС «Амиран»				CXCR1, с.+291C>T (n=42) ЖШС «Амиран»				CXCR1, +1093C>T (n=131) ЖШС «Амиран»			
	ТТ	СТ	СС	χ^2	ТТ	СТ	СС	χ^2	ТТ	СТ	СС	χ^2
	Генотиптің теориялық таралуы				Генотиптің теориялық таралуы				Генотиптің теориялық таралуы			
Сиырлар	11,80	64,39	87,80		3,42	17,14	21,42		68,16	52,66	10,16	
	Генотиптің нақты таралуы				Генотиптің нақты таралуы				Генотиптің нақты таралуы			
Сиырлар	20	48	96	10,6261	5	14	23	1,4117	61	67	3	9,7137
Теориялық таралу дан ауытқу	+8,20	-16,39	+8,20		+1,68	-3,14	+1,68		-7,16	+14,34	-6,84	

3-кестеден «Амиран» ЖШС-нің 164 бас сиырда MX1 гені локусы бойынша генотиптеу жүргізілді, CXCR1 генінің локусы бойынша екі с.+291C>T, CXCR1, +1093C>T SNP полиморфизмі зерттелгенін көруге болады, бұл асыл тұқымды «Амиран» ЖШС шаруа қожалықтарындағы CXCR1, с.+291C>T 42 бас және CXCR1, +1093C>T 131 бас сиырдан генотиптеу жүргізілді. Генотиптеудің нәтижелерін талдау көрсеткендей, зерттелетін сиырлардағы MX1 генінің локусында гетерозиготалы СТ генотипі бар сиырлар басым (57 бас, 44,1%), ТТ және СС генотиптері бар гомозиготалылар үлесі 26 (17,8%) және 46 (35,6%) болғанын көрсетеді сәйкесінше. MX1 генінің локусы үшін генетикалық варианттардың нақты таралуының теориялық таралудан ауытқуы байқалады, сондықтан гомозиготалы ТТ, СС генетикалық нұсқалары үшін артық кездесу (әр генотип үшін +2,98 бас), басқа генетикалық нұсқа үшін (гетерозиготалы СТ) пайда болуында дефицит бар (-5,94 бас). Біздің жұмысымызда генетикалық нұсқалардың теориялық жиілігі, аллель жиілігі және χ^2 мәні Equilibrium Hardy-Weinberg компьютерлік бағдарламасы (<https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>). арқылы анықталды. Біздің эксперименттерімізде CXCR1, генінің локусы үшін сандық χ^2 мәні 1,1523 болды. MX1 гендік локусында «Амиран» ЖШС-нің 164 голштейн сиырының ДНҚ үлгісі генотиптелді, мұнда генетикалық нұсқалардың нақты таралу нәтижелері бойынша гомозиготалы СС генотипі бар жануарлар басым (96 бас, 58,5%), гетерозиготалы СТ және басқа гомозиготалы ТТ генотипінің пайда болуы 20 (12,1%) және 48 (29,2%) баста болды. Бұл ген локустары бойынша генотиптердің теориялық таралуынан генетикалық нұсқалардың нақты таралуының айтарлықтай ауытқуы байқалады.

Осылайша, гетерозиготалы СТ генотипінің (-16,39 бас жануарда, ал гомозиготалы СС және ТТ генотипінің жиілігі жоғары екендігі байқалады, сәйкесінше +8,20 және +8,20). MX1 генінің локусы бойынша генетикалық тепеңдіктің бұзылуына байланысты зерттелген сиырлар тобында көрсеткіш жоғары болды χ^2 , 10,6261 құрады. CXCR1 генінің локусы бойынша екі SNP полиморфизм зерттелді, CXCR1, с.+291C>T (n=42) және CXCR1, +1093C>T (n=131). Екі SNP полиморфизм бойыншада зерттелген жануарларда үш генетикалық полиморфизм, генотипінің генетикалық үш нұсқасы анықталды: ТТ, СТ, СС; Генотиптеу нәтижелері CXCR1, с.+291C>T локусында гомозиготалы СС генотипінің жоғары жиілігі бар екенін көрсетеді, ол 54,7% (23 бас), гетерозиготалы СТ және басқа гомозиготалы ТТ генотипі үлгілер саны болды. тиісінше 14 және 5 баста. CXCR1, +1093C>T ген локусы бойынша 131 бас тексерілді, оның ішінде 67 сиыр гетерозиготалы СТ генотипінің және 61 бас гомозиготалы ТТ генотипінің тасымалдаушысы болды, ТТ, СТ, СС генотиптерінің теориялық таралуынан ауытқулары, сәйкесінше -7,16, +14,34, -6,84 бас. Сандық χ^2 мәні CXCR1, с.+291C>T (1,4117) үшін төмен болды және CXCR1 генінің локусы, +1093C>T үшін χ^2 мәні 9,7137 болды. CXCR1, +1093C>T SNP полиморфизмі бойынша гетерозиготалы СТ генотипінің артық болуы (+14,34) және гомозиготалы ТТ, СС генотиптерінің (-7,16 және -6,84) тапшылығы байқалады.

Біздің зерттеуімізде, «Амиран» ЖШС асыл тұқымды мал шаруашылығындағы 164 бас сиырдың генотиптеу нәтижелеріне талдау жүргізілді, MX1, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1

+1093C>T ген локустары бойынша генетикалық полиморфизм анықталды және барлығы 15 аралас генотиптердің нұсқалары табылды (6-кесте); ең көп кездескен CCCCCT, CTCCTT аралас генотиптер, әрбір араласком генотиптен 7 данадан, осы генотиптерді тасымалдаушылардың жалпы үлесі 35,0% құрады. Аралас TTTTTT генотипінің таралуы 12,5% құрады, MX1, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T локустарында басқа генотиптердің кездесуі 2,5-7,5% аралығында болды. Басқа біріктірілген генетикалық нұсқалардың пайда болуы біркелкі болды және L-селектин генінің локусында 2,5%-дан 7,5%-ға дейін ауытқиды, гетерозиготалы СТ генотипі бар мал басы басым болды (44,18%). 2023 жылдың қаңтар-желтоқсан айларында тәжірибелік топтағы сиырлардағы субклиникалық желінсаумен ауырғандар тіркелді, DeLaval mastitis test сынамасы арқылы экспресс-диагностика жүргізілді; «Амиран» ЖШС сүт фермасының 40 бас сиырды тоқсан сайын субклиникалық желінсауға тексерілді, онда аралас генотиптер келесі гендердің локустары бойынша белгілі болды: MX1, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T және 164 бас «Амиран» ЖШС фермасы сиырларында, CXCR1, гені локусы бойынша генотиптелген (6-кесте). Осылайша, субклиникалық желінсауға ең төзімді сиырлар MX1, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T ген локустары бойынша аралас генотипі бар CTCTCT, TTTTTT, CCCTCT, TTTTCC, TTTTCT сиырлар болды, зерттеу барысында оларда желінсауға субклиникалық формалары кездеспеді. «Амиран» ЖШС-нің голштиндік сиырларында желінсаудың субклиникалық түрлері келесі аралас генотиптерімен анықталды: CCTTCT, CCCCCT, CCCTTT, CCCTTT, CCCTTT, CCTTTT, CCCTTT, TTCCCT, CCCTTT, TTCCTT.

Талқылау. Ғалымдардың зерттеу нәтижелеріне сәйкес, голштейн сиырларының желінсаудың субклиникалық түріне төзімділігін генетикалық факторлармен анықталады, күтіп бағу технологиясы, азықтандыру бірдей кейбір жануарларда субклиникалық желінсау пайда болады, ал кейбір жануарларда теріс этиологиялық факторларға төзімді келеді. Осылайша, біз келесі гендердің кодтау бөлігіндегі SNP полиморфизмдерін ДНҚ маркерлері ретінде зерттедік: MX1, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T. Зерттелетін ген локустарындағы аллельдерді анықтау үшін ПТР-РФҰП талдау әдісі қолданылды. «Амиран» ЖШС сиырларының зерттелген сиырлар тобының генетикасы әртүрлі болып шықты: MX1, CXCR1. CXCR1 с.+291C>T ген локусы бойынша барлық үш генетикалық нұсқа гендік локустарда анықталды, генетикалық нұсқалардың біркелкі таралуы байқалады: сәйкесінше TT, CT және CC. 4, 14, 23 үлгілерде, χ^2 мәні - 1,4117. Дегенмен, басқа гендік локустар, MX1 және CXCR1, +1093C>T үшін генетикалық нұсқалардың нақты таралуының генотиптердің теориялық таралуынан айтарлықтай ауытқуы байқалады, нәтижесінде χ^2 мәні сәйкесінше 10,6261 және 9,7137 жоғарылайды. Үш ген локус бойынша MX1 (T=0,27, C=0,73), CXCR1, с.+291C>T (T=0,29, C=0,71), CXCR1, +1093C>T (C=0,72, C=0,28) гендік тепе-теңдігі бұзылған.

Голштейн сиыр тұқымындағы MX1, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T зерттелетін гендік локустар бойынша генетикалық нұсқалардың таралуына қатысты әдебиеттерде әртүрлі мәліметтер бар. Біздің деректеріміз бойынша «Амиран» ЖШС асыл тұқымды шаруашылығының голштейн тұқымды сиырларында C>T MX1-g.143182088 гендік локусында гомозиготалы CC генотипі (0,58) мал басы басым, басқа генотиптері бар жануарлардың үлесі TT және CT 0,12 және 0,30 болды, бұл басқа ғалымдардың [11] зерттеу нәтижелеріне сәйкес келмейді, мұнда гетерозиготалы генетикалық нұсқаның таралуы CT (0,55) болған. Ғалымдардың пікірінше, CXCR1 с.+291C>T ген локусы бойынша генетикалық нұсқалардың таралуы келесідей: TT - 0,10, CT -0,41, CC - 0,49 [14], біз ұқсас нәтиже алдық, TT, CT, CC генотиптерінің кездесуі сәйкесінше 0,11, 0,33 және 0,54 болды. Алайда, біздің нәтижелеріміз бойынша, CXCR1 +1093C>T генінің локусы бойынша гомозиготалы генотип CC тасымалдаушылары төмен жиілікте кездеседі, поляк голштейн сиырларында бұл көрсеткіш 0,30-ға дейін өсті.

Біздің жұмысымызда TT және CC генотиптері бар сиырларда субклиникалық желінсаудың жоғары қаупі анықталды, жиілік пайызы CT генотипімен (8,77%) салыстырғанда сәйкесінше 19,23% және 17,39% құрады. Үш локус MX1-g.143182088, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T гендеріне сыналған 40 сиырдың 2023 жылдың қаңтар-желтоқсан аралығында 14 сиырда субклиникалық желінсау ауруы тіркелді, субклиникалық желінсау деңгейі жоғары болды, аралас CCCCCT генотипі бар жануарлардан табылды (4 сиыр), содан кейін CCCCCT аралас генотипі бар жануарлар (2 сиыр), қалған аралас генотиптері бар жануарларда субклиникалық желінсаумен ауырғандар төмен болды. Айта кету керек, желінсаудың субклиникалық түрлері аралас генотиптердің 5 нұсқасының (12 жануар) тасымалдаушыларында тіркелмеген, бұл

жануарлардың субклиникалық желінсауға төзімділігі туралы алдын ала қорытынды жасауға мүмкіндік береді.

CXCR1 химокиндік рецепторы ірі қара малдың желінсауға төзімділігінің тамаша перспективалы генетикалық маркері екені белгілі, өйткені ол нейтрофилдердің миграциясын, өлтірілуін және тірі қалуын реттейді. Статистикалық талдауға сәйкес, қытай ғалымдары с.337A>G, с.365C>T SNP полиморфизмдері мен сүттегі соматикалық жасушалардың мазмұны арасындағы маңызды байланысты анықтады. Айта кету керек, CCAC/CCGC, CCAC/СТАТ және CCAT/СТАТ біріктірілген генотиптері бар сиырлар сүттегі соматикалық жасушалардың ең аз мөлшеріне ие, сондықтан жұмыс авторлары с.337A>G, с.365C> пайдалануды ұсынады. CXCR1 генінің кодтау бөлігіндегі T SNP [23]. Зерттеушілердің пікірінше, SNP полиморфизмдері с.980AG, с.735C>G, CXCR1+472, CXCR1+777 кодтау бөлігінде және CXCR1-1768 SNP полиморфизмдері 5' CXCR1 генінің фланкирлеу бөлігінде сүттегі соматикалық торшалар құрамымен байланыстырылады [24,25]. Ғалымдардың зерттеу нәтижелері CXCR1 генінің сиырлардағы желінсауға төзімділігінің ықтимал ДНҚ маркері екенін көрсетеді [23]. Осылайша, CXCR1, генінің локусына сәйкес, гетерозиготалы СТ генотипі бар сиырлар MX1 g.143182088, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T гендік локустары, біріктірілген жеке тұлғалар бойынша субклиникалық желінсауға төзімдірек; CCSSST генотипінде желінсаудың субклиникалық формасының даму қаупі жоғары.

Қорытынды. «Амиран» ЖШС-нің сүт-тауарлы фермасының голштейн тұқымды сиырларына MX1 g.143182088, гені бойынша 164 бас, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T ген локусы бойынша 173 бас ДНҚ үлгілеріне генотиптеу жүргізілді. MX1 g.143182088, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T ген локустары бойынша гендік тепе-теңдіктің бұзылуы фактісі анықталды. MX1 g.143182088, CXCR1 +1093C>T ген локустары бойынша генотиптердің нақты таралуы мен генетикалық нұсқалардың теориялық таралуы арасындағы айтарлықтай сәйкессіздікке байланысты χ^2 мәнінің 10,6261 және 9,7137-ге дейін өсуі байқалады. Алынған нәтижелерге қарай қортынды жасасақ, MX1 g.143182088, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T ген локусы бойынша оңтайлы емес кешенді CCCCCT генотипі болып табылады, яғни MX1 g.143182088, CXCR1 с.+291C>T генінің локусы бойынша гомозиготалы CC генотипі және CXCR1 +1093C>T ген локусы бойынша гетерозиготалы СТ генотипі бар жануарларда субклиникалық желінсау ауыруының даму қаупі жоғары. MX1 және CXCR1 гендерінің аллельдері сиырлардың субклиникалық желінсауға төзімділігіне ассоциативті әсер етеді және субклиникалық желінсауға төзімділіктің ДНҚ маркерлері ретінде ұсынылады деп есептейміз

Қаржыландыру. Бұл жұмыс ҚР Ғылым және жоғары білім министрлігінің «Сүт бағытындағы сиырларда, сүттің құрамындағы соматикалық торшалардың мөлшерімен байланысты SNP полиморфизмдерді зерттеу» жобасы аясында жүзеге асырылды, ИРН AP22682970

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Karthikeyan, A. Genetic basis of mastitis resistance in cattle. International Journal of Science, [Text] / A. Karthikeyan //Environment ISSN 2278-3687 (O) and Technology, Vol. 5, No 4, 2016, 2192 – 2199
- 2 Muhammad Zahoor Khan, Genetic polymorphisms in immune- and inflammation-associated genes and their association with bovine mastitis resistance/susceptibility. [Text] / Muhammad Zahoor Khan// Frontiers in Immunology. TYPE Review Published 23 February 2023 DOI 10.3389/fimmu.2023.1082144
- 3 Muhammad Zahoor Khan, Genetic polymorphisms of TRAPPC9 and CD4 genes and their association with milk production and mastitis resistance phenotypic traits in Chinese Holstein. [Text] / Muhammad Zahoor Khan //Frontiers in Veterinary Science. TYPE Original Research PUBLISHED 23 September 2022 DOI 10.3389/fvets.2022.1008497
- 4 Xing Chen, polymorphisms in the selectin gene cluster are associated with fertility and survival time in a population of Holstein Friesian cows. [Text] / Xing Chen// PLoS One. 2017; 12(4): e0175555. doi: 10.1371/journal.pone.0175555
- 5 Adrianna Pawlik, Association between interleukin 8 receptor α gene (CXCR1) and mastitis in dairy cattle. [Text] / Adrianna Pawlik// Central European Journal of Immunology 2015; 40(2) ctp 153-158

6 Pokorska, J. Single nucleotide polymorphisms in the CXCR1 gene and its association with clinical mastitis incidence in Polish Holstein-Friesian cows. [Text] / J. Pokorska // Genetics and Molecular Research 15 (2): gmr.15027247 2016

7 Masoumeh, B. Estimation of dominance effects related to mastitis and production traits for CXCR1 gene using logistic regression analysis in dairy cattle. [Text] / B. Masoumeh // Agri Gene Volume 3, March 2017, Pages 63-66

8 Pushpa Ankit Magotra, Association of CXCR1 gene polymorphism with clinical mastitis, reproductive disorders and performance traits in Hardhenu (*Bos taurus* × *Bos indicus*) cattle. [Text] / Pushpa Ankit Magotra // Reprod Domest Anim. 2023 Sep; 58(9):1234-1243.

9 Hosseini, S.H. Genotyping of Lactoferrin and CXCR1 Genes in Guilan Native Cows and Its Association with Milk Somatic Cell Score. [Text] / S.H. Hosseini Moghaddam, M. Ayatollahi // Iranian Journal of Applied Animal Science (2021) 11(1), 87-93

10 Ningbo Chen, Genetic Variations of the Bovine MX1 and Their Association with Mastitis. [Text] / Ningbo Chen // Czech J. Anim. Sci., 62, 2017 (4): 157–167

11 Russell, C.D. Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine toll-like receptor 1 gene and association with health traits in cattle. [Text] / C.D. Russell // Vet. Res., 43: 17.

12 Awale, M.M. Bovine mastitis: A threat to the economy. [Text] / M.M. Awale // Sci. Rep., 1: 295.

13 Zhang, C. SLC11A1 gene polymorphisms are not associated to somatic cell score and milk yield in Chinese Holstein. [Text] / C. Zhang // Vet. Immunol. Immunopathol., 127(3-4): 389-292.

14 Beishova, I. Marking of Genetic Resistance to Chlamydia, Brucellosis and Mastitis in Holstein Cows by Using Polymorphic Variants of LTF, MBL1 and TLR9 Genes. [Text] / Beishova, I. // American Journal of Animal and Veterinary Sciences 2023, 18 (2): 89.97 DOI: 10.3844/ajavsp.2023.89.97

15 Kawasaki, Y. The effect of single nucleotide polymorphisms in the tumor necrosis factor- α gene on reproductive performance and immune function in dairy cattle [Text] / Y. Kawasaki // J. Reprod. Dev., 2014, vol. 60, no. 3, pp. 173–178. doi 10.1262/jrd.2013-140

16 Bimenova, Z.Z. Reproductive Function of Cows with Different Genotypes for TNF α Locus and Estimation of Sperm Fertility by the DNA Fragmentation Method. [Text] / Z.Z. Bimenova // Cytology and Genetics, 2019, Vol. 53, No. 1, pp. 42–48. © Allerton Press, Inc., 2019

17 Zhou, L. Association of novel single nucleotide polymorphisms of the CXCR1 gene with the milk performance traits of Chinese native cattle. [Text] / L. Zhou // Genetics and Molecular Research 12 (3): 2725-2739 (2013)

18 Beishova, I. Association of polymorphic variants of prolactin (PRL) and beta-lactoglobulin (BLG) genes with resistance/susceptibility to mastitis in holstein cows | Associação de variantes polimórficas dos genes da prolactina (PRL) e betalactoglobulina (BLG) com resistência/suscetibilidade à mastite em vacas holandesas. [Text] / I. Beishova // Brazilian Journal of Biology, 2024, 84, e284961

19 Beishova, I. Marking of Genetic Resistance to Chlamydia, Brucellosis and Mastitis in Holstein Cows by Using Polymorphic Variants of LTF, MBL1 and TLR9 Genes. [Text] / I. Beishova // American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2023, 18(2), страницы 89–97

20 Beishova, I.S. Genetic polymorphism of prolactin and nitric oxide synthase in Holstein cattle. [Text] / I.S. Beishova // Veterinary World, 2023, 16(1), страницы 161–167

21 Adrianna Pawlik, Association between interleukin 8 receptor α gene (CXCR1) and mastitis in dairy cattle. [Text] / Adrianna Pawlik // Central European Journal of Immunology 2015; 40(2) ср 153-158

22 Pokorska, J. Single nucleotide polymorphisms in the CXCR1 gene and its association with clinical mastitis incidence in Polish Holstein-Friesian cows. [Text] / J. Pokorska // Genetics and Molecular Research 15 (2): gmr.15027247 2016

23 Zhou, L. Association of novel single nucleotide polymorphisms of the CXCR1 gene with the milk performance traits of Chinese native cattle. [Text] / L. Zhou // Genetics and Molecular Research 12 (3): 2725-2739 (2013)

24 Leyva-Baca, I. Polymorphisms in the 5' upstream region of the CXCR1 chemokine receptor gene, and their association with somatic cell score in Holstein cattle in Canada. [Text] / I. Leyva-Baca // J Dairy Sci (2008) 91(1):407–17. doi: 10.3168/jds.2007-0142

25 Verbeke, J. Somatic cell count and milk neutrophil viability of dairy heifers with specific CXCR1 genotypes following experimental intra-mammary infection with staphylococcus chromogenes originating from milk. [Text] / J. Verbeke // *Vet J* (2015) 204(3):322–6. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.04.010

REFERENCES

1 Karthikeyan, A. Genetic basis of mastitis resistance in cattle. *International Journal of Science, [Text] / A. Karthikeyan // Environment ISSN 2278-3687 (O) and Technology, Vol. 5, No 4, 2016, 2192 – 2199*

2 Muhammad Zahoor Khan, Genetic polymorphisms in immune- and inflammation associated genes and their association with bovine mastitis resistance/susceptibility. [Text] / Muhammad Zahoor Khan// *Frontiers in Immunology. TYPE Review Published 23 February 2023 DOI 10.3389/fimmu.2023.1082144*

3 Muhammad Zahoor Khan, Genetic polymorphisms of TRAPPC9 and CD4 genes and their association with milk production and mastitis resistance phenotypic traits in Chinese Holstein. [Text] / Muhammad Zahoor Khan // *Frontiers in Veterinary Science. TYPE Original Research PUBLISHED 23 September 2022 DOI 10.3389/fvets.2022.1008497*

4 Xing Chen, polymorphisms in the selectin gene cluster are associated with fertility and survival time in a population of Holstein Friesian cows. [Text] / Xing Chen// *PLoS One. 2017; 12(4): e0175555. doi: 10.1371/journal.pone.0175555*

5 Adrianna Pawlik, Association between interleukin 8 receptor α gene (CXCR1) and mastitis in dairy cattle. [Text] / Adrianna Pawlik// *Central European Journal of Immunology 2015; 40(2) str 153-158*

6 Pokorska, J. Single nucleotide polymorphisms in the CXCR1 gene and its association with clinical mastitis incidence in Polish Holstein-Friesian cows. [Text] / J. Pokorska // *Genetics and Molecular Research 15 (2): gmr.15027247 2016*

7 Masoumeh, B. Estimation of dominance effects related to mastitis and production traits for CXCR1 gene using logistic regression analysis in dairy cattle. [Text] / B. Masoumeh // *Agri Gene Volume 3, March 2017, Pages 63-66*

8 Pushpa Ankit Magotra, Association of CXCR1 gene polymorphism with clinical mastitis, reproductive disorders and performance traits in Hardhenu (*Bos taurus* $\times$ *Bos indicus*) cattle. [Text] / Pushpa Ankit Magotra// *Reprod Domest Anim. 2023 Sep; 58(9):1234-1243.*

9 Hosseini, S.H. Genotyping of Lactoferrin and CXCR1 Genes in Guilan Native Cows and Its Association with Milk Somatic Cell Score. [Text] / S.H. Hosseini Moghaddam, M. Ayatollahi// *Iranian Journal of Applied Animal Science (2021) 11(1), 87-93*

10 Ningbo Chen, Genetic Variations of the Bovine MX1 and Their Association with Mastitis. [Text] / Ningbo Chen // *Czech J. Anim. Sci., 62, 2017 (4): 157–167*

11 Russell, C.D. Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine toll-like receptor 1 gene and association with health traits in cattle. [Text] / C.D. Russell // *Vet. Res., 43: 17.*

12 Awale, M.M. Bovine mastitis: A threat to the economy. [Text] / M.M. Awale // *Sci. Rep., 1: 295.*

13 Zhang, C. SLC11A1 gene polymorphisms are not associated to somatic cell score and milk yield in Chinese Holstein. [Text] / C. Zhang // *Vet. Immunol. Immunopathol., 127(3-4): 389-292.*

14 Beishova, I. Marking of Genetic Resistance to Chlamydia, Brucellosis and Mastitis in Holstein Cows by Using Polymorphic Variants of LTF, MBL1 and TLR9 Genes. [Text] / Beishova, I. // *American Journal of Animal and Veterinary Sciences 2023, 18 (2): 89.97 DOI: 10.3844/ajavsp.2023.89.97*

15 Kawasaki, Y. The effect of single nucleotide polymorphisms in the tumor necrosis factor- α gene on reproductive performance and immune function in dairy cattle [Text] / Y. Kawasaki // *J. Reprod. Dev., 2014, vol. 60, no. 3, pp. 173–178. doi 10.1262/jrd.2013-140*

16 Bimenova, Z.Z. Reproductive Function of Cows with Different Genotypes for TNF α Locus and Estimation of Sperm Fertility by the DNA Fragmentation Method. [Text] / Z.Z. Bimenova // *Cytology and Genetics, 2019, Vol. 53, No. 1, pp. 42–48. © Allerton Press, Inc., 2019*

- 17 Zhou, L. Association of novel single nucleotide polymorphisms of the CXCR1 gene with the milk performance traits of Chinese native cattle. [Text] / L. Zhou // Genetics and Molecular Research 12 (3): 2725-2739 (2013)
- 18 Beishova, I. Association of polymorphic variants of prolactin (PRL) and beta-lactoglobulin (BLG) genes with resistance/susceptibility to mastitis in holstein cows | Associação de variantes polimórficas dos genes da prolactina (PRL) e betalactoblobulina (BLG) com resistência/suscetibilidade à mastite em vacas holandesas. [Text] / I. Beishova // Brazilian Journal of Biology, 2024, 84, e284961
- 19 Beishova, I. Marking of Genetic Resistance to Chlamydia, Brucellosis and Mastitis in Holstein Cows by Using Polymorphic Variants of LTF, MBL1 and TLR9 Genes. [Text] / I. Beishova // American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2023, 18(2), stranic 89–97
- 20 Beishova, I.S. Genetic polymorphism of prolactin and nitric oxide synthase in Holstein cattle. [Text] / I.S. Beishova // Veterinary World, 2023, 16(1), stranic 161–167
- 21 Adrianna Pawlik, Association between interleukin 8 receptor α gene (CXCR1) and mastitis in dairy cattle. [Text] / Adrianna Pawlik // Central European Journal of Immunology 2015; 40(2) str 153-158
- 22 Pokorska, J. Single nucleotide polymorphisms in the CXCR1 gene and its association with clinical mastitis incidence in Polish Holstein-Friesian cows. [Text] / J. Pokorska // Genetics and Molecular Research 15 (2): gmr.15027247 2016
- 23 Zhou, L. Association of novel single nucleotide polymorphisms of the CXCR1 gene with the milk performance traits of Chinese native cattle. [Text] / L. Zhou // Genetics and Molecular Research 12 (3): 2725-2739 (2013)
- 24 Leyva-Baca, I. Polymorphisms in the 5' upstream region of the CXCR1 chemokine receptor gene, and their association with somatic cell score in Holstein cattle in Canada. [Text] / I. Leyva-Baca // J Dairy Sci (2008) 91(1):407–17. doi: 10.3168/jds.2007-0142
- 25 Verbeke, J. Somatic cell count and milk neutrophil viability of dairy heifers with specific CXCR1 genotypes following experimental intra-mammary infection with staphylococcus chromogenes originating from milk. [Text] / J. Verbeke // Vet J (2015) 204(3):322–6. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.04.010

РЕЗЮМЕ

Авторами статті проведено генотипування корів голштинської породи по локусам генів: MX1 g.143182088, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T, асоційованих з резистентністю к маститам у корів, виявлення живих тварин з бажаним генотипом, з мінімальним ризиком захворюваності субклінічним маститом. По локусам генів MX1 с.567 T>C, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T спостерігається генетичний поліморфізм, поширеність генетичних варіантів була: MX1 - TT – 0,12, CT – 0,30, CC – 0,58, CXCR1 с.+291C>T - TT - 0,12, CT – 0,33, CC – 0,55, CXCR1 +1093C>T - TT - 0,47, CT – 0,51, CC – 0,02. По двом локусам генів, MX1 g.143182088 і CXCR1 +1093C>T виявлено факт порушення генного рівноваги і внаслідок цього, встановлено збільшення значення χ^2 до 10,6261 і 9,7137, відповідно. Методом ПЦР-ПДРФ аналізу були ідентифіковані комбіновані генотипи 40 корів голштинської породи ТОО «Аміран» і в течение року ежеквартально проводилась діагностика на субклінічний мастит, у тварин з комбінованим СССССТ генотипом по локусам генів MX1 с.567 T>C, CXCR1 с.+291C>T, CXCR1 +1093C>T виявлено високий ризик захворюваності субклінічним маститом. Таким чином, локуси генів MX1, CXCR1 є потенційними ДНК маркерами стійкості к субклінічним маститам у корів голштинської породи.

UDC 619: 616.995.121:599.735.53
IRSTI 68.41.55

DOI 10.52578/2305-9397-2025-1-1-15-27

Kushaliyev K.Zh., Doctor of Veterinary Science, professor, **the main author**, <https://orcid.org/0000-0003-3188-1755>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir Khan», Uralsk, st. Zhangir Khan 51, 090009, Kazakhstan, gosha196060@mail.ru

Kozhayeva A.R., Doctor PhD, <https://orcid.org/0000-0003-4994-5737>