

Полиморфизм гена фактора роста фибробластов 2 (*FGF2*) у крупного рогатого скота голштинской породы в условиях Республики Татарстан

Екатерина Николаевна Муханина¹, Наталья Юрьевна Сафина¹, Зилия Фидаилевна Фаттахова^{2,3}, Эльза Равиловна Гайнутдинова¹, Шамиль Касымович Шакиров¹

¹Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

²Селекционно-семеноводческий центр СП ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

³ГБУ «Республиканская ветеринарная лаборатория» РТ, г. Казань, Россия

e-mail: natysafina@gmail.com

Аннотация. Основным фактором роста фибробластов – сигнальный белок, кодируемый геном *FGF2*. Ген *FGF2* экспрессируется эндометрием крупного рогатого скота и является важным фактором, способствующим сохранению беременности у жвачных животных, регулирует активность интерферона- τ (IFNT), принимающего участие в продуцировании молока. Рассмотрена идентификация полиморфизма гена *FGF2* SNP11646 (замена А → Г) в интроне 1 в татарстанской популяции коров голштинской породы. Генотипировали 270 дойных коров голштинской породы методом ПЦР-ПДРФ. В результате идентификации были выявлены три генотипа: АА – 19,6 %, АГ – 42,6 % и ГГ – 37,8 %, наблюдаемое распределение аллелей А и Г составило 0,409 и 0,591. Популяция находится в генетическом равновесии, но наблюдается смещение в сторону наращивания гетерозиготности особей.

Ключевые слова: ген *FGF2*; ПЦР-ПДРФ; фактор роста фибробластов; молочная продуктивность; воспроизводство; крупный рогатый скот.

Для цитирования: Муханина Е. Н., Сафина Н. Ю., Фаттахова З. Ф., Гайнутдинова Э. Р., Шакиров Ш. К. Полиморфизм гена фактора роста фибробластов 2 (*FGF2*) у крупного рогатого скота голштинской породы в условиях Республики Татарстан // Аграрный научный журнал. 2023. № 8. С. 79–82. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2023i8pp79-82>.

VETERINARY MEDICINE AND ZOOTECHNICS

Original article

Polymorphism of the fibroblast growth factor 2 gene (*FGF2*) in Holstein cattle in the conditions of the Republic of Tatarstan

Ekaterina N. Mukhanina¹, Natalia Yu. Safina¹, Ziliya F. Fattakhova^{2,3},

Elza R. Gaynutdinova¹, Shamil K. Shakirov¹

¹Tatar Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

²Selection and Seed Center structural subdivision of FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

³SBI Republican Veterinary Laboratory RT, Kazan, Russia

e-mail: natysafina@gmail.com

Abstract. The basic fibroblast growth factor is a signaling protein encoded by the *FGF2* gene. The *FGF2* gene is expressed by the endometrium of cattle and is an important factor contributing to the preservation of pregnancy in ruminants, regulates the expression of interferon- τ (IFNT), which is involved in the production of milk. The aim of the work is to identify the polymorphism of the *FGF2* gene (SNP11646 A → G substitution) in intron 1 in the Tatarstan population of Holstein cows. 270 Holstein dairy cows were genotyped by PCR-RFLP. As a result of identification, three genotypes were identified: AA – 19.6%, AG – 42.6 and GG – 37.8 %, and the observed distribution of alleles A – 0.409 and G – 0.591. The population is in genetic equilibrium balance, but there is a shift an increase towards heterozygosity of individuals.

Keywords: *FGF2* gene; PCR-RFLP; fibroblast growth factor; milk production; reproduction; cattle.

For citation: Mukhanina E. N., Safina N. Yu., Fattakhova Z. F., Gaynutdinova E. R., Shakirov Sh. K. Polymorphism of the fibroblast growth factor 2 gene (*FGF2*) in Holstein cattle in the conditions of the Republic of Tatarstan. Agrarnyy nauchnyy zhurnal = The Agrarian Scientific Journal. 2023; (8): 79–82. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2023i8pp79-82>.





Введение. Эндокринная ветвь суперсемейства FGF (фактор роста фибробластов) отвечает за регуляцию разнообразных процессов, происходящих в организме, не свойственных для классических FGF. Исследователи сообщают, что белки семейства FGF обладают гепатопротекторными свойствами, играют роль эндокринных гормонов и отвечают за энергетический и желчный баланс, метаболизм глюкозы и липидов, гомеостаз фосфатов и витамина D [2].

Основной фактор роста фибробластов является сигнальным белком, кодируемым геном *FGF2*. Этот протеин связывается и оказывает воздействие через специфические белки-рецепторы фактора роста фибробластов (*FGFR*), которые представляют собой семейство тесно взаимосвязанных молекул [4]. Белок фактора роста фибробластов был впервые выделен в 1975 г. [5]. Вскоре после этого были выделены три его варианта: основной фактор роста фибробластов 2 (*FGF2*); гепариносвязывающий фактор роста-2 и фактор роста эндотелиальных клеток-2. Секвенирование генов показало, что эта группа представляет собой тот же белок FGF2 и является членом семейства белков FGF [6].

Основной фактор роста фибробластов отличается митогенной (ростостимулирующей) активностью и оказывает влияние на выживаемость клеток. FGF-факторы участвуют в разнообразных биологических процессах, среди которых эмбриональное развитие, рост клеток, морфогенез, восстановление тканей, рост опухолей. FGF модифицирует миграцию эндотелиальных клеток и играет роль ангиогенного фактора. Служит митогенным фактором для мезодермальных и нейроэктодермальных клеток *in vitro*, из чего следует, что белок *FGF2* принимает участие в органогенезе [7].

Основной фактор роста фибробластов (*FGF2*) экспрессируется эндометрием крупного рогатого скота на протяжении всего полового цикла и на ранних сроках стельности. Он регулирует активность интерферона- τ (IFNT) в трофэктодерме, является важным фактором, способствующим сохранению беременности у жвачных животных и выработке молока [10].

Ген крупного рогатого скота *FGF2* общей длиной более 59 kb расположен на хромосоме 17 между генами *BBS12* и *NUDT6*. Три экзона кодируют белок из 155 аминокислот (регистрационный номер GenBank NC_007304) [11].

К сожалению, в российской литературе не встречаются исследования влияния полиморфных вариантов гена *FGF2* крупного рогатого скота на продуктивность и воспроизводительные качества. Изучение этого гена должно помочь в разработке планов по увеличению продуктивности, улучшению здоровья дойных коров, наибольшему раскрытию генетического потенциала, что благоприятно скажется на рентабельности молочной отрасли России.

Цель нашей работы заключалась в идентификации полиморфизма гена *FGF2* (SNP11646 замена A $\rightarrow$ G) в интроне 1 в татарстанской популяции коров голштинской породы.

Методика исследований. Исследование проводили на 270 племенных полновозрастных коровах голштинской породы отечественной селекции в СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан. ДНК из цельной крови выделяли с помощью готового набора «АмплиПрайм» ДНК-сорб-В (Некст БИО, Россия), согласно инструкции производителя. Полиморфизм гена *FGF2* (SNP11646 замена A $\rightarrow$ G) определяли методом ПЦР-ПДРФ с использованием комплекта праймеров (Евроген, Россия), разработанных X. Wang и соавторами (2008).

Реакционную смесь для полимеразной цепной реакции с внесенной очищенной ДНК и праймерами (СибЭнзим, Россия), имеющими олигонуклеотидную последовательность (F: 5' – CAT AGT TCT GTA GAC TAG AAG – 3'; R: 5' – CCT CTA AAG AAG GAT TAA GTC AAA ATG GGG CTG GTA – 3'), амплифицировали в программируемых термоциклерах T-100 Thermal Cycler и MyCycler (Bio-Rad, США). При этом температурно-временные режимы были следующими:

предварительная денатурация – 5 мин, при 95 °C;

32 цикла: денатурация 10 с, при 94 °C, отжиг 10 с, при 50 °C, элонгация 10 с, при 72 °C;

заключительная элонгация – 8 мин, при 72 °C.

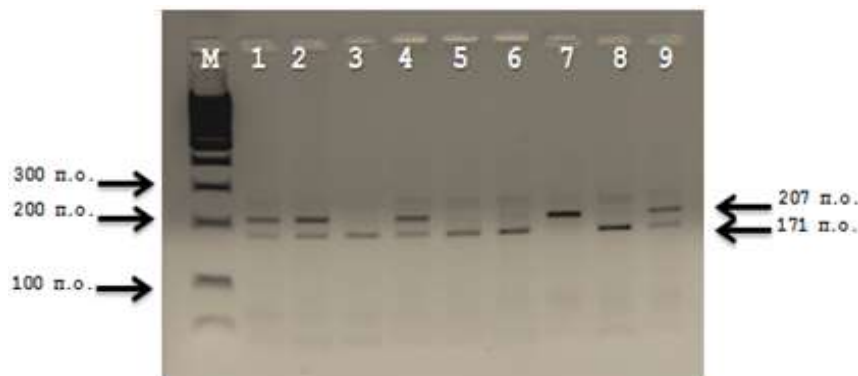
Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов определяли посредством эндонуклеазы рестрикции *RsaN I* (*Rhodopseudomonas sphaeroides*), BSA и буфера В (СибЭнзим, Россия) в течение 2 ч при 37 °C.

Электрофоретическое разделение было выполнено в 2,6%-м агарозном геле в присутствии этидиума бромид (10 %). Выявленный полиморфизм визуализировали и задокументировали в системе Gel&Doc (Bio-Rad, США).



Частоту встречаемости аллелей и генотипов, а также генетическое равновесие в изучаемой популяции рассчитывали, следуя методическим рекомендациям по биометрии в селекции и генетике сельскохозяйственных животных [2].

Результаты исследований. В процессе генотипирования на выявление SNP11646 (A → G) для гена *FGF2*, с использованием эндонуклеазы рестрикции *RsaN I* (штамм *E. coli*, несущий ген *RsaI* *Rhodopseudomonas sphaeroides*), было установлено три генотипа: AA, AG и GG (см. рисунок).



Электрофореграмма разделения продуктов ПЦР-ПДРФ в агарозном геле.

Обозначения: М – ДНК-маркер 1500-50 bp (СибЭнзим);

1, 2, 4, 9 – генотип AG (207, 171 bp); 3, 5, 6, 8 – генотип GG (171 bp); 7 – AA (207 bp)

На рисунке продемонстрировано электрофоретическое разделение продуктов гидролиза в агарозном геле, видно различное сочетание фрагментов, в зависимости от генотипа животного. Генотипы представлены следующим количеством оснований: AA – 207 п.о.; AG – 207, 171 п.о.; GG – 171 п.о.

Распределение аллелей и генотипов гена фактора роста фибробластов 2 в изучаемом поголовье коров представлено в таблице.

Частота встречаемости аллелей и генотипов гена *FGF2* ($n = 270$)

Распределение	Генотип						Аллель		χ^2
	AA		AG		GG		A	G	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
Наблюдаемое	53	19,6	115	42,6	102	37,8	0,409	0,591	3,84*
Ожидаемое	45	16,7	131	48,4	94	34,9			

* $p < 0,05$

В исследуемой популяции голштинского скота с небольшим перевесом преобладают животные гетерозиготного генотипа AG – 42,6 % (115 голов) от всего поголовья. Носителями генотипа GG являются 102 коровы (37,8 %). Наименее распространены в анализируемой популяции особи гомозиготного генотипа AA – 19,6 % (53 гол.). Частота встречаемости аллеля A составила 0,409, аллеля G – 0,591.

По методу хи-квадрат сопоставили ожидаемое и реальное число коров по каждому генотипу и произвели расчеты. Получили значение хи-квадрат равное 3,84. Исходя из того, что значение χ^2 незначительно ниже $\chi^2_{\text{крит}(0,05)} = 5,9$, мы можем наблюдать смещение в сторону увеличения доли гетерозиготных животных. Тем не менее, генетическое равновесие согласно закону Харди-Вайнберга в данной популяции не нарушено.

У гена *FGF2* в исследуемой популяции встречаемость «желательного» аллеля немного выше частоты «нежелательного» аллеля. О связи между однонуклеотидным полиморфизмом, возникающим при замене A → G в гене *FGF2*, и оплодотворением, а также сохранностью плода, сообщил Н. Khatib с коллегами. В своей работе они указали на более высокую выживаемость эмбрионов, имеющих генотип GG, по сравнению с носителями генотипов AG и AA гена *FGF2* [6].

Следует отметить, что при изучении иностранной литературы, установлен аналогичный характер распределения гетерозиготного и гомозиготного генотипов в популяциях, рассматриваемых зарубежными авторами.



Имеются сообщения о вариативности частоты аллеля А в различных популяциях голштинского скота, например, G. Oikonomou и др. выявили частоту 0,42 в Северной Греции [8], X. Wang и др. – 0,45 в Израиле [11], Н. Khatib и др. – 0,53 в США [7].

Частота аллелей А и G в чешской популяции голштинского скота составила 0,35 и 0,65, а частоты генотипов – 0,13; 0,43 и 0,43 % для генотипов AA, AG и GG соответственно [3].

Заключение. В результате генотипирования 270 коров голштинской породы по гену *FGF2* идентифицированы два аллеля (А и G) и три генотипа (AA, AG и GG). В исследованной популяции выявлено преобладание генотипа AG и аллеля G. Согласно методу хи-квадрат, популяция имеет генетическую равновесность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Меркурьева Е. К., Шангин-Березовский Г. Н. Генетика с основами биометрии. М.: Колос, 1983. 400 с.
2. Сафина Н. Ю., Шакиров Ш. К., Гайнутдинова Э. Р., Фаттахова З. Ф. Влияние полиморфизма гена *FGF21* (g. 940 C/T) на биохимические показатели в сыворотке крови крупного рогатого скота голштинской породы // *Международный вестник ветеринарии*. 2022. Т. 4. С. 314–321. DOI: 10.52419/2072-2419-2022-4-314.
3. Effect of the *FGF2* SNP11646 on milk production and fertility traits of Holstein cattle / M. Brzakova et al. // *Czech J. Anim. Sci.* 2016. No. 61(8). P. 377–382. DOI: 10.17221/61/2015-CJAS.
4. Basic fibroblast growth factor gene expression / R. Z. Florkiewicz et al. // *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1991. Vol. 638. No. 1. P. 109–126. DOI:10.1111/j.1749-6632.1991.tb49022.
5. Gospodarowicz D. Purification of a fibroblast growth factor from bovine Pituitary // *J. Biol. Chem.* 1975. Vol. 250. P. 2515–2520. DOI:10.1016/S0021-9258(19)41631-1.
6. Hawkes C. P., Lorraine E., Katz L. Growth factor regulation of fetal growth // *Fetal and Neonatal Physiology (Fifth Edition)*. 2017. Vol. 50. No. 4. P. 1461–1470. DOI:10.1016/B978-0-323-35214-7.00143-8.
7. Khatib H., Monson R. L., Huang W. Short communication: Validation of in vitro fertility genes in a Holstein bull population // *J Dairy Sci.* 2010. Vol. 93. No. 5. P. 2244–2249. DOI: 10.3168/jds.2009-2805.
8. Effect of polymorphisms at the *STAT5A* and *FGF2* gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows / G. Oikonomou et al. // *Res Vet Sci.* 2011. Vol. 91. No. 2. P. 235–239. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.01.009.
9. Associations between *GH*, *PRL*, *STAT5A*, *OPN*, *PIT-1*, *LEP* and *FGF2* polymorphisms and fertility in Holstein-Friesian heifers / Y. Oner et al. // *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2017. Vol. 23. No. 4. P. 527–534. DOI: 10.9775/kvfd.2016.17192.
10. Effect of polymorphism in *FGF2* gene on first lactation milk yield and milk composition traits in Karan-Fries cattle / A. P. Singh et al. // *International Journal of Livestock Research*. 2019. Vol. 9. No. 3. P. 297–304. DOI: 10.5455/ijlr.20190110073220.
11. Association of bovine fibroblast growth factor 2 (*FGF2*) gene with milk fat and productive life: an example of the ability of the candidate pathway strategy to identify quantitative trait genes / X. Wang et al. // *J Dairy Sci.* 2008. Vol. 91. No. 6. P. 2475–2480. DOI: 10.3168/jds.2007-0877.

REFERENCES

1. Merkuryeva E. K., Shagin-Berezovsky G. N. Genetics with the basics of biometrics. Moscow: Kolos; 1983. 400 p. (In Russ).
2. Safina N. Yu., Shakirov Sh. K., Gainutdinova E. R., Fattakhova Z. F. The effect of *FGF21* gene polymorphism (g. 940C/T) on biochemical metabolic parameters in blood serum of Holstein cattle. *International Journal of Veterinary Medicine*. 2022;4: 314–321. DOI: 10.52419/2072-2419-2022-4-314 (In Russ).
3. Effect of the *FGF2* SNP11646 on milk production and fertility traits of Holstein cattle / M. Brzakova et al. *Czech J. Anim. Sci.* 2016;61(8):377–382. DOI: 10.17221/61/2015-CJAS.
4. Basic fibroblast growth factor gene expression / R. Z. Florkiewicz et al. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1991;638(1):109–126. DOI:10.1111/j.1749-6632.1991.tb49022.
5. Gospodarowicz D. Purification of a fibroblast growth factor from bovine Pituitary. *J. Biol. Chem.* 1975;250:2515–2520. DOI:10.1016/S0021-9258(19)41631-1.
6. Hawkes C. P., Lorraine E., Katz L. Growth factor regulation of fetal growth. *Fetal and Neonatal Physiology (Fifth Edition)*. 2017;50(4):1461–1470. DOI:10.1016/B978-0-323-35214-7.00143-8.
7. Khatib H., Monson R. L., Huang W. Short communication: Validation of in vitro fertility genes in a Holstein bull population. *J Dairy Sci.* 2010;93(5): 2244–2249. DOI: 10.3168/jds.2009-2805.
8. Effect of polymorphisms at the *STAT5A* and *FGF2* gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows / G. Oikonomou et al. *Res Vet Sci.* 2011;91(2):235–239. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.01.009.
9. Associations between *GH*, *PRL*, *STAT5A*, *OPN*, *PIT-1*, *LEP* and *FGF2* polymorphisms and fertility in Holstein-Friesian heifers / Y. Oner et al. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2017;23(4):527–534. DOI: 10.9775/kvfd.2016.17192.
10. Effect of polymorphism in *FGF2* gene on first lactation milk yield and milk composition traits in Karan-Fries cattle / A. P. Singh et al. *International Journal of Livestock Research*. 2019;9(3):297–304. DOI: 10.5455/ijlr.20190110073220.
11. Association of bovine fibroblast growth factor 2 (*FGF2*) gene with milk fat and productive life: an example of the ability of the candidate pathway strategy to identify quantitative trait genes / X. Wang et al. *J Dairy Sci.* 2008;91(6): 2475–2480. DOI: 10.3168/jds.2007-0877.

Статья поступила в редакцию 24.04.2023; одобрена после рецензирования 26.06.2023; принята к публикации 30.06.2023.
The article was 24.04.2023; approved after reviewing 26.06.2023; accepted for publication 30.06.2023.