

УДК: 636. 082.12

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2026.1.414

ГАПЛОТИП НН6: ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОСИТЕЛЕЙ У ГОЛШТИНСКОГО СКОТА

Хабибрахманова Я.А.* – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0009-0001-0995-3614); **Калашникова Л.А.** – д-р биол. наук, проф., гл. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0000-0002-9760-5254); **Рыжова Н.В.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0009-0000-2496-788X); **Багаль И.Е.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0009-0000-9365-0544); **Павлова И.Ю.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0009-0001-6329-6414); **Ганченкова Т.Б.** – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0009-0005-7552-0099); **Тетюркин Е.А.** – канд. техн. наук, ст. науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий; **Сенина Р.Ю.** – науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий (ORCID 0009-0007-9131-7677); **Макаров Д.О.** – науч. сотр. лаборатории ДНК-технологий.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
племенного дела»

*hyazilya@bk.ru

Ключевые слова: крупный рогатый скот, голштинская порода, летальные аллели, ДНК-тестирование, селекция, гаплотип фертильности НН6, ген *SDE2*.

Key words: cattle, Holstein breed, lethal alleles, DNA testing, selection, fertility haplotype НН6, *SDE2* gene.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания МСХ РФ №1024032500159-4-4.2.1-4.2.1 от 01.07.2024. «Проведение исследований по разработке методов диагностики генетических заболеваний крупного рогатого скота. Этап 1. Изучение генетической природы и разработка методов диагностики генетически детерминированных заболеваний голштинского скота».

Поступила: 21.10.2025

Принята к публикации: 05.03.2026

Опубликована онлайн: 01.04.2026



РЕФЕРАТ

В статье представлены результаты мониторинга распространенности летального рецессивного гаплотипа фертильности НН6 у голштинского скота, актуального для современной селекции. Исследование проведено на выборке из 194 животных (94 быка-производителя и 100 коров), отобранных с трех ведущих племенных предприятий Российской Федерации. Для генотипирования использовали комбинацию методов ПЦР-ПДРФ и ПЦР в реальном времени, направленных на детекцию точковой мутации (g.29020700 A>G) гена *SDE2* - гомолога гена обслуживания теломера (telomere maintenance homolog). Метод ПЦР-ПДРФ заключался в амплификации фрагмента гена размером 524 п.н. с последующим анализом рестрикционных паттернов. Для валидации результатов проводили ПЦР в реальном времени с использованием коммерческого набора реагентов «НН6-RT-100» (ООО «ВетГеномика», г. Новосибирск). В результате анализа был идентифицирован один бык-

носитель мутации НН6 среди 94 быков-производителей, что соответствует частоте носительства 1,1%. Среди коров носителей мутации не обнаружено. Полученные данные подчеркивают важность продолжения системного скрининга для контроля над распространенностью гаплотипа НН6. Методика ПЦР-ПДРФ доказала свою надежность и рекомендуется для внедрения в практику племенных предприятий и лабораторий, занимающихся геномной селекцией. Реализация ДНК-тестирования позволит предотвратить инбредные спаривания и минимизировать экономические потери, обусловленные эмбриональной смертностью, тем самым способствуя совершенствованию селекционно-племенной работы в молочном скотоводстве.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современная селекция молочного скота, в особенности голштинской породы, базируется на интенсивном использовании ограниченного числа быков-производителей методом искусственного осеменения. Данный подход привел к существенному сужению генетического разнообразия и накоплению в популяциях рецессивных летальных мутаций [1]. В гомозиготном состоянии такие мутации вызывают эмбриональную смертность, приводя к прямым экономическим потерям вследствие снижения выхода телят и повышения затрат на воспроизводство стада.

В последние годы у голштинского скота было идентифицировано семейство рецессивных гаплотипов фертильности, нарушающих репродуктивную функцию. Одним из них является гаплотип НН6 (OMIA ID 002149-9913), расположенный на 16-й хромосоме.

Гаплотип НН6 представляет собой летальный рецессивный генетический дефект, вызванный точковой мутацией A>G в кодоне-инициаторегена *SDE2*. Название гена является историческим и восходит из периода его первоначальной идентификации у дрожжей, где он был охарактеризован как SAN1-dependent 2 (*SDE2*). Важно отметить, что эта этимология не отражает фундаментальной функции белка, установленной в дальнейшем. Основная физиологическая роль белка *SDE2* заключается в критически важном участии в поддержании стабильности генома, в регуляции репарации повреждений ДНК и обеспечении стабильности теломер.

Мутация в гене приводит к сокращению белка-предшественника на 83 аминокислоты и полной потере его функции.

Дефицит данного белка является причиной гибели эмбрионов на ранних стадиях развития. Установлено, что мутация в гаплотипе НН6 происходит от быка HO-LUSAM000002070579 (MOUNTAIN, 1987 г. рождения), широко использовавшегося в селекционных программах, что обусловило риск ее распространения в популяциях по всему миру [2].

Распространенность гаплотипа НН6 варьирует в широких пределах: от 1,3% во французской популяции голштинского скота (n=29 000) [2] до 57,47% в выборке польских быков-производителей голштинской породы (n=87) [3]. В российских популяциях голштинского скота зафиксированы следующие значения частоты: 0,8% (n=123) [4], 2,4% (n=85) [5] и 1,74% (n=628) [6]. Общий диапазон частот генотипа НН6в России составляет 0,8–2,4%. Целью настоящего исследования являлась идентификация носителей мутации НН6 в гене *SDE2* в популяции голштинского скота России и оценка частоты встречаемости данного аллеля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Молекулярно-генетические исследования проводили в лаборатории ДНК-технологий ФГБНУ ВНИИплем. В работе использовали пробы биологических материалов (кровь, криоконсервированная сперма), отобранные от 194 животных голштинской породы из племенных предприятий России. Пробы семени были от быков-производителей из Республики Татарстан АО «ГПП «ЭЛИТА» (n=94), пробы крови были от коров с хозяйств Московской области АО «Зеленоградское» (n=50) и ООО «Лесные Поляны» (n=50). Выделение геномной

ДНК из крови проводили с использованием набора реагентов «ДНК-ЭКСТРАН-2» (ЗАО «Синтол», г. Москва) в соответствии с протоколом производителя. Для проб семени применяли предварительный лизис смесью ДТТ и протеиназы К с последующей экстракцией ДНК тем же набором.

Генотипирование по мутации в гене *SDE2* выполняли методами ПЦР-ПДРФ и ПЦР в реальном времени.

Метод ПЦР-ПДРФ заключался в амплификации фрагмента гена *SDE2* длиной 524 п.н., содержащего целевой SNP (g.29020700 A>G, rs434666183). Использовали специфические праймеры:

прямой 5'-
GACGGAAGCCCTCACTATCA-3' и
обратный 5'-
CTTCTCTTAGCAACGCCTCG-3'.

Реакцию проводили в амплификаторе в конечном объеме 25 мкл, содержащем: 10X буфер для Taq-полимеразы с 1,5 мМ MgCl₂, 0,5 ед. Taq-полимеразы, смесь dNTP по 200 мкМ каждого, по 0,8 мкМ каждого праймера и 50 нг матричной ДНК.

Режим амплификации включал: первичную денатурацию при 94°C в течение 5 мин; 30 циклов (денатурация при 94 °C – 30 с, отжиг праймеров при 60°C – 30 с, элонгация при 72°C – 30 с); финальную элонгацию при 72 °C в течение 5 мин.

Продукты ПЦР подвергали рестрикции эндонуклеазой *BclI* (New England Biolabs, ООО «СкайДжин» г. Москва) в соответствии с рекомендациями производителя. Полученные фрагменты разделяли электрофорезом в 3% агарозном геле с последующей визуализацией в УФ-свете.

Для подтверждения результатов часть образцов была проанализирована методом ПЦР в реальном времени с использованием набора реагентов «НН6-RT-100» (ООО «ВетГеномика», г. Новосибирск) для детекции полиморфизма g.29020700A>G в гене *SDE2* в соответствии с инструкцией производителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил достовер-

но идентифицировать генотипы животных по гену *SDE2*. В качестве метода детекции однонуклеотидного полиморфизма (SNP) A>G была применена ПЦР-ПДРФ (Полимеразная цепная реакция – полиморфизм длин рестриционных фрагментов). Ампликон длиной 524 п.н. подвергали рестрикции эндонуклеазой *BclI* последующей визуализацией продуктов расщепления методом электрофореза в агарозном геле (Рис. 1).

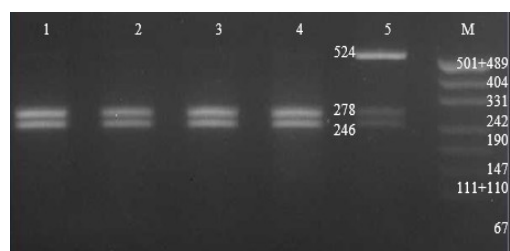


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов рестрикции ампликона гена *SDE2* эндонуклеазой рестрикции *BclI*, дорожки: М – маркер молекулярной массы *pUC19 DNA/MspI*; 1-4 свободные от мутации НН6 (фрагменты 278 и 246 п.н.); 5 – носитель мутации НН6 (фрагменты 524, 278 и 246 п.н.).

В результате анализа были выявлены следующие генотипы AA и AG. Гомозиготы по аллелю А (AA) имели два фрагмента длиной 278 и 246 п.н., что соответствует полному расщеплению ампликона в сайте рестрикции, характерном для аллеля дикого типа. Гетерозиготы (AG) были с комбинацией из трех фрагментов нерасщепленного исходного ПЦР-продукта (524 п.н.) и двух рестриционных фрагментов (278 и 246 п.н.). Данный паттерн является диагностическим для гетерозиготного состояния и обусловлен наличием как мутантного, так и дикого аллеля, что обусловлено заменой сайта рестрикции для *BclI* вследствие замены A>G.

Результаты, полученные методом ПЦР в реальном времени, полностью подтвердили данные ПЦР-ПДРФ (Рис. 2).

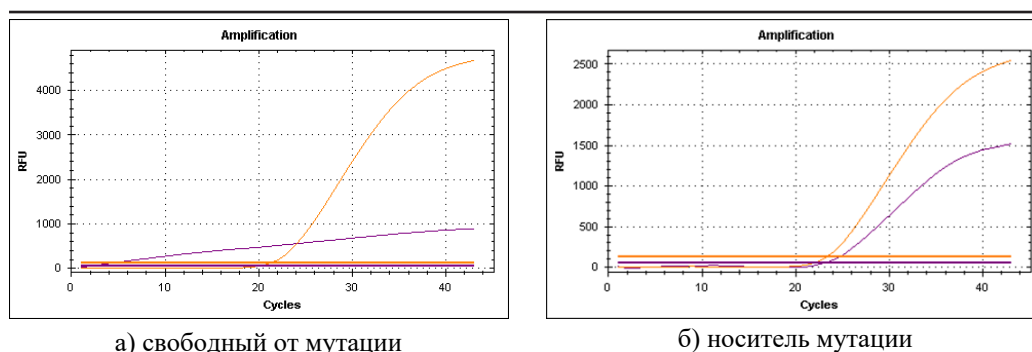


Рисунок 2 – Детекция мутации HH6 методом ПЦР в реальном времени с использованием набора «HH6-RT-100»: а – свободный от мутации; б – носитель мутации.

Анализ распределения генотипов показал, что частота встречаемости мутации HH6 в исследованной выборке является относительно низкой. Генетическая аномалия гена *SDE2* среди исследованных 100 коров не была определена, среди 94 быков-производителей было выявлено 1 животное с гетерозиготным генотипом (частота встречаемости генотипа составила 1,1 %).

Выявление быка-носителя летальной генетической аномалии в группе производителей имеет существенное селекционное значение. Учитывая высокий потенциал распространения аллелей от одного производителя, неконтролируемое его использование способно привести к значительному увеличению частоты дефектного аллеля в популяции. При спаривании двух гетерозиготных животных гаплотипа HH6 с вероятностью 25 % происходит гибель эмбрионов в результате проявления летального действия рецессивной мутации, что приводит к повторам осеменений и снижению выхода телят, негативно влияя на экономическую эффективность молочного животноводства.

Полученные данные согласуются с результатами других исследований крупного рогатого скота голштинской породы в РФ, где частота мутации в гаплотипе HH6 варьирует в пределах 0,8–2,4% [4-6]. Низкая частота распространения исследованной аномалии в отдельных стадах может быть следствием как случайного рас-

пределения аллеля, так и результатом целенаправленной селекционной работы.

Идентификация конкретного быка с мутантным аллелем позволяет скорректировать селекционные программы: исключить его использование в маточных стадах с риском инбридинга или применять его сперму для осеменения коров, гарантированно свободных от данной мутации.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенное исследование подтвердило наличие летального рецессивного гаплотипа HH6 в популяции голштинского скота Российской Федерации. Разработанная и апробированная методика ПЦР-ПДРФ для детекции мутации в гене *SDE2* показала свою надежность и может быть рекомендована для применения в практике племенных предприятий и лабораторий, занимающихся геномной селекцией.

Несмотря на относительно низкую общую частоту встречаемости аномалии, выявление быка-производителя с мутацией HH6 свидетельствует о необходимости проведения системного ДНК-мониторинга всего племенного поголовья, особенно быков активного и резервного состава. Своевременная идентификация носителей и грамотное планирование спариваний позволят предотвратить эмбриональную смертность, минимизировать экономические убытки и контролировать частоту неблагоприятных аллелей в популяции, обеспечивая ее долгосрочное генетическое здоровье.

HAPLOTYPE HH6: IDENTIFICATION OF CARRIERS IN HOLSTEIN CATTLE

Khabibrakhmanova Ya.A.* – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of DNA Technologies (ORCID 0009-0001-0995-3614); **Kalashnikova L.A.** – Doctor of Biology, Professor, Chief Scientific Officer at the Laboratory of DNA Technologies (ORCID 0000-0002-9760-5254); **Ryzhova N.V.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of DNA Technologies (ORCID 0009-0000-2496-788X); **Bagal I.E.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of DNA Technologies (ORCID 0009-0000-9365-0544); **Pavlova I.Y.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of DNA Technologies (ORCID 0009-0001-6329-6414); **Ganchenkova T.B.** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of DNA Technologies (ORCID 0009-0005-7552-0099); **Tetyurkin E.A.** – Candidate of Technical Sciences, Senior researcher at the Laboratory of DNA Technologies; **Senina R.Yu.** – scientific. at the Laboratory of DNA Technologies; **Makarov D.O.** – Scientific director. comp. DNA technology laboratories. laboratory of DNA technologies

All-Russian Scientific Research Institute of Breeding

*hyazilya@bk.ru

Financing: *The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation №1024032500159-4-4.2.1-4.2.1 dated 07/01/2024. "Conducting research on the development of diagnostic methods for genetic diseases of cattle. Stage 1. Study of the genetic nature and development of diagnostic methods for genetically determined diseases of Holstein cattle".*

ABSTRACT

The article presents the results of monitoring the prevalence of the HH6 fertility haplotypes, a lethal recessive genetic defect

relevant to modern Holstein cattle breeding. The study was conducted on a sample of 194 animals (94 bulls and 100 cows) selected from three leading breeding enterprises in the Russian Federation. Genotyping was performed using a combination of PCR-RFLP and real-time PCR methods aimed at detecting a point mutation (g.29020700 A>G) in the *SDE2* gene (telomere maintenance homolog). The PCR-RFLP method involved the amplification of a 524 bp gene fragment, followed by analysis of restriction patterns. To validate the results, real-time PCR was performed using the commercial reagent kit «HH6-RT-100» (VetGenomika LLC, Novosibirsk). The analysis identified one carrier bull of the HH6 mutation among the 94 bulls tested, corresponding to a carrier frequency of 1.1%. No carrier cows were detected. The obtained data underscore the importance of continued systematic screening to control the spread of the HH6 haplotype. The developed PCR-RFLP methodology proved to be reliable and is recommended for implementation in the practice of breeding farms and laboratories engaged in genomic selection. The implementation of DNA testing will prevent inbred matings and minimize economic losses associated with embryonic mortality, thereby contributing to the improvement of breeding and selection programs in dairy cattle farming.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Гоздек, М. Селективные моногенные генетические заболевания у голштинского скота – обзор / М. Гоздек, С. Муха, А. Простек, Т. Садковски // *Genes*. – 2024. – Vol. 15. – No. 8. – P. 1052. – DOI: 10.3390/genes15081052. Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/genes15081052>
2. Фриц, С. Мутация инициаторного кодона в гене SDE2 вызывает рецессивную эмбриональную летальность у голштинского скота / С. Фриц, К. Хозе, Э. Ребур и др. // *Journal of Dairy Science*. – 2018. – Vol. 101. – No. 7. – P. 6220–6231. – DOI: 10.3168/jds.2017-14119. Режим доступа: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14119>
3. Каминский, С. Миссенс-мутация в гене SDE2 – новый летальный дефект,

- передаваемый в польской породе голштинско-фризского скота / С. Каминский // Polish Journal of Veterinary Sciences. – 2019. – Vol. 22. – No. 3. – P. 627–630. – DOI: 10.24425/pjvs.2019.129974. Режим доступа: <https://doi.org/10.24425/pjvs.2019.129974>
4. Ковалюк, Н. В. Новый гаплотип фертильности голштинского скота / Н. В. Ковалюк, В. Ф. Сацук, Е. В. Мачульская, Ю. Шахназарова // Молочное и мясное скотоводство. – 2020. – № 4. – С. 8–9. DOI: 10.33943/MMS.2020.27.45.002. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43864634>
5. Спиридонова, Е. С. Идентификация гаплотипа HH6 у голштинской популяции молочного скота отечественной селекции / Е. С. Спиридонова // Научное обеспечение животноводства Сибири / Красноярский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН. – 2024. – С. 283–285. – DOI: 10.52686/conferencearticle_67597cedba9ec9.23164121. Режим доступа: https://doi.org/10.52686/conferencearticle_67597cedba9ec9.23164121
6. Степанов, А. В. Идентификация гаплотипов, определяющих плодовитость крупного рогатого скота / А. В. Степанов, О. А. Быкова, О. В. Костюнина, А. А. Зырянова, О. А. Шевкунов // Аграрный вестник Урала. – 2024. – Т. 24. – № 7. – С. 921–931. – DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-07-921-931. Режим доступа: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-07-921-931>
- REFERENCES**
1. Gozdek, M. Selected Monogenic Genetic Diseases in Holstein Cattle—A Review / M. Gozdek, S. Mucha, A. Prostek, T. Sadkowski // Genes. – 2024. – Vol. 15. – No. 8. – P. 1052. – DOI: 10.3390/genes15081052. URL: <https://doi.org/10.3390/genes15081052>
2. Fritz, S. An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle / S. Fritz, C. Hoze, E. Rebours et al. // Journal of Dairy Science. – 2018. – Vol. 101. – No. 7. – P. 6220–6231. – DOI: 10.3168/jds.2017-14119. URL: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14119>
3. Kamiński, S. Missense mutation in SDE2 gene – new lethal defect transmitted into Polish Holstein-Friesian cattle / S. Kamiński // Polish Journal of Veterinary Sciences. – 2019. – Vol. 22. – No. 3. – P. 627–630. – DOI: 10.24425/pjvs.2019.129974. URL: <https://doi.org/10.24425/pjvs.2019.129974>
4. Kovalyuk, N.V. New haplotype of Holstein cattle fertility / N.V. Kovalyuk, V.F. Satsuk, E.V. Machulskaya, Y. Shakhnazarova // Dairy and Beef Cattle Breeding. – 2020. – No. 4. – P. 8–9. DOI: 10.33943/MMS.2020.27.45.002. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=43864634> (In Russ.)
5. Spiridonova, E.S. Identification of haplotype HH6 in the Holstein dairy cattle population of domestic selection / E.S. Spiridonova // Scientific support for livestock farming in Siberia. – 2024. – P. 283–285. – DOI: 10.52686/conferencearticle_67597cedba9ec9.23164121. URL: https://doi.org/10.52686/conferencearticle_67597cedba9ec9.23164121 (In Russ.)
6. Stepanov, A.V. Identification of haplotypes determining fertility in cattle / A.V. Stepanov, O.A. Bykova, O.V. Kostyunina, A.A. Zyryanova, O.A. Shevkunov // Agrarian Bulletin of the Urals. – 2024. – Vol. 24. – No. 7. – P. 921–931. – DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-07-921-931. URL: <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-07-921-931> (In Russ.)